

Aus der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere
des Fachbereiches Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Erythrozytäre Pyruvatkinase-Defizienz bei Somali- und Abessinierkatzen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Christine Fumi
Tierärztin aus Sassnitz

Berlin 2009

Journal-Nr. 3290

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.- Prof. Dr. Leo Brunnberg
Erster Gutachter: Univ.-Prof. Dr. B. Kohn
Zweiter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Dr. R. Einspanier
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. A. Gruber

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

cats, cat diseases, pyruvate kinase, deficiency, anaemia, hereditary diseases,
enzyme deficiencies, jaundice, reticulocytes, hyperbilirubinaemia, clinical
aspects

Tag der Promotion: 29.04.2009

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen
Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über
<<http://dnb.ddb.de>> abrufbar.

ISBN: 978-3-86664-605-6

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2009

Dissertation, Freie Universität Berlin

D 188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder
Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in
irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet,
vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch
ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der
Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von
jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written
authorization of the publisher.

Coverbild © antares - Fotolia.com

alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© **mensch und buch** verlag 2009

choriner str. 85 - 10119 berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Widmung

Meiner Mutter

Inhalt

I	Einleitung	1
II	Literaturübersicht	2
II.1	Feline Erythrozyten und Retikulozyten	2
II.1.1	Erythrozytenmembran	3
II.1.1.1	Aufbau	3
II.1.1.2	Membrantransport	4
II.1.2	Erythrozytenmetabolismus	5
II.1.2.1	Adenylatmetabolismus	5
II.1.2.2	Kohlenhydratmetabolismus	6
II.1.2.3	Schutzmechanismen gegen oxidative Schädigung	8
II.1.3	Hämoglobin	9
II.1.3.1	Aufbau	9
II.1.3.2	Funktion	10
II.1.4	Abbau der Erythrozyten	11
II.1.4.1	Alterung der Erythrozyten (Senescence)	11
II.1.4.2	Eryptose	11
II.1.4.3	Signalwege der Eryptose	12
II.1.4.4	Vorkommen und Bedeutung der Eryptose	12
II.2	Hereditäre Erkrankungen der Erythrozyten	13
II.2.1	Erythroenzymopathien	13
II.2.1.1	Pyruvatkinase-Defizienz Humanmedizin	13
II.2.1.1.1	Biochemie und molekulare Biologie	13
II.2.1.1.2	Pathogenese	15
II.2.1.1.3	Klinische Charakteristika	16
II.2.1.1.4	Diagnose	17
II.2.1.1.5	Therapie	18
II.2.1.2	Pyruvatkinase-Defizienz Veterinärmedizin - Katze	18
II.2.1.2.1	Vorkommen	18
II.2.1.2.2	Ätiologie und Pathogenese	19
II.2.1.2.3	Anamnese, Klinik, bildgebende Diagnostik	19
II.2.1.2.4	Laborveränderungen	20
II.2.1.2.5	Diagnostik	21
II.2.1.2.6	Therapie	21
II.2.1.2.7	Prognose und Verlauf	22
II.2.1.2.8	Histopathologie / Zytologie	23
II.2.1.3	Pyruvatkinase-Defizienz Veterinärmedizin - Hund	23
II.2.1.3.1	Vorkommen	23
II.2.1.3.2	Ätiologie und Pathogenese	23
II.2.1.3.3	Symptome und Laborwertveränderungen	24
II.2.1.3.4	Diagnostik	24
II.2.1.3.5	Therapie	25
II.2.1.4	Hexokinase-Defizienz	26
II.2.1.5	Glukosephosphat-Isomerase-Defizienz	26
II.2.1.6	Phosphofruktokinase-Defizienz	27
II.2.1.7	Aldolase-Defizienz	28
II.2.1.8	Trisosephosphat-Isomerase-Defizienz	28
II.2.1.9	Phosphoglyceratkinase-Defizienz	29
II.2.1.10	Glukose-6-phosphat Dehydrogenase-Defizienz	29
II.2.1.11	Methämoglobinreduktase-Defizienz	30

II.2.1.12	Porphyrrie	30
II.2.1.13	Enzymdefizienzen im Nukleotid-Metabolismus	31
II.2.2	Erythrozytenmembranstörungen	31
II.2.2.1	Humanmedizin	31
II.2.2.1.1	Hereditäre Sphärozytose (HS).....	31
II.2.2.1.2	Hereditäre Elliptozytose (HE).....	31
II.2.2.1.3	Hereditäre Stomatozytose	32
II.2.2.2	Kleintiermedizin.....	32
II.2.2.2.1	Hereditäre Abnormalitäten der Erythrozytenmembran bei der Katze	32
II.2.2.2.2	Hereditäre Abnormalitäten der Erythrozytenmembran beim Hund.....	33
II.2.3	Produktions- und Reifungsdefekte.....	34
II.3	Diagnostik bei hereditären Erythrozytendefekten.....	34
II.3.1	Diagnostische Tests bei Verdacht einer hereditären Stoffwechselfunktionsstörung der Erythrozyten.....	35
II.3.2	Diagnostische Tests bei Verdacht auf Abnormalitäten der Erythrozytenmembran.....	36
II.3.3	Diagnostische Tests bei Verdacht auf Hämoglobinabnormalitäten	38
III	Material und Methoden	39
III.1	Verbreitung Pyruvatkinase-Defizienz	39
III.2	Patienten und Besitzerbefragung.....	39
III.3	Hämatologie	40
III.3.1	Rotes Blutbild, Leukozyten, Thrombozyten	40
III.3.2	Retikulozyten	40
III.3.3	Differentialblutbild und Erythrozytenmorphologie	41
III.3.4	Osmotische Fragilität der Erythrozyten (OF).....	41
III.3.5	Objektträgeragglutination der Erythrozyten.....	43
III.4	Klinisch-chemische Blutuntersuchung.....	43
III.5	Histopathologische Untersuchungen	44
III.6	Stammbaumanalysen	44
III.7	Statistische Auswertung.....	44
IV	Ergebnisse	45
IV.1	Vorkommen und Verbreitung der Pyruvatkinase-Defizienz	45
IV.2	Patienten und Besitzerbefragung.....	46
IV.2.1	Fragebogen	46
IV.2.2	Krankheitsverlauf.....	46
IV.3	Hämatologie	47
IV.3.1	Rotes Blutbild.....	47
IV.3.2	Erythrozytenmorphologie.....	56
IV.3.3	Osmotische Fragilität der Erythrozyten	57
IV.3.4	Objektträgeragglutination.....	57
IV.4	Klinisch-chemische Blutuntersuchung.....	57
IV.5	Therapie und Verlauf.....	60
IV.6	Zuchteinsatz.....	64
IV.7	Histopathologische Untersuchung	64
IV.8	Stammbaumanalysen	66
V	Diskussion	68
V.1	Vorkommen und Verbreitung der Pyruvatkinase-Defizienz	68
V.2	Besitzerbefragung.....	68
V.3	Patienten.....	95

V.4	Hämatologische Untersuchungen	70
V.4.1	Osmotische Fragilität der Erythrozyten	72
V.5	Klinisch-chemische Blutuntersuchungen	72
V.6	Differentialdiagnosen	73
V.7	Therapie und Verlauf	74
V.8	Histopathologische Untersuchungen	75
VI	Schlussfolgerung	75
VII	Zusammenfassung	76
VIII	Summary	78
IX	Zitierte Literatur	80
X	Anhang	111

Verwendete Abkürzungen:

Abb.	Abbildung
Ak	Antikörper
Aqua dest.	Destilliertes Wasser
ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
AS	Aminosäure
AST	Aspartat-Aminotransferase
ATP	Adenosintriphosphat
BH	Basishämolyse
bp	Basenpaare
bzw.	beziehungsweise
Ca	Kalzium
D	Durchschnitt
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EDTA	Ethylen-Diamin-Tetraacetat
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
Epo	Erythropoetin
evt.	eventuell
FAD	Flavinadenindinucleotid
FeLV	Felines Leukosevirus
FIV	Felines Immundefizienzvirus
GLDH	Glutamatdehydrogenase
GSH	Glutathion
Hb	Hämoglobin
HE	Hämatoxylin + Eosin
HK	Heinzkörperchen
HKi	Hexokinase
Hkt	Hämatokrit
HPLC	Hochdruckflüssigkeitschromatographie
Hrsg.	Herausgeber
IBD	Inflammatory Bowel Disease
Ig	Immunglobulin
IHA	Immnhämolytische Anämie
IU	International Units
K	Kalium
m	männlich
M	Median
MCH	Mittlere Hämoglobinkonzentration der Einzelerythrozyten
MCHC	Mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozytenmasse
MCV	Mittleres Erythrozytenvolumen
Met-Hb	Methämoglobin
Mg	Magnesium
min	Minute
mk	männlich kastriert
ml	Milliliter
MOF	Mittlere Osmotische Fragilität
mRNA	Messenger RNA
MW	Mittelwert

n	Anzahl
Na	Natrium
NADH	Nikotinamid-Adenin-Dinukleotid
NADP	Nikotinamid-Adenin-Diphosphat
NaHCO ₃	Natriumhydrogencarbonat
Na ₂ HPO ₄	Natriumhydrogenphosphat
nm	Nanometer
OF	Osmotische Fragilität
OD	Optische Dichte
PCR	Polymerasekettenreaktion
PCV	packed cell volume
PFK	Phosphofruktokinase
PS	Phosphatidylserin
PK	Pyruvatkinase
RBC	Red Blood Cells
RFLP	Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus
RNA	Ribonukleinsäure
RP-HPLC	Umkehrphasen-Hochdruckflüssigkeitschromatographie
SDS-Page	Sodiumdodecylsulfat-Polyacrylamidgel-Elektrophorese
sog.	sogenannt
Tab.	Tabelle
U	Umdrehungen
u.a.	unter anderem
v.a.	vor allem
w	weiblich
wk	weiblich kastriert
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil
μl	Mikroliter
μmol	Mikromol
2,3-DPG	2,3-Diphosphoglycerat

I Einleitung

Ineffektive Erythropoese, die extra- oder intramedullär bedingt sein kann, und Blutverlust gelten als die häufigsten Anämieursachen bei der Katze. Allerdings werden auch hämolytische Anämieformen bei der Katze in zunehmendem Maße beobachtet. Eine wichtige Differentialdiagnose einer hämolytischen Anämie bei Abessinier- und Somalikatzen ist die erythrozytäre Pyruvatkinase (PK) -Defizienz.

Der anaerobe Abbau von Glukose ist der wichtigste Energielieferant der Erythrozyten (Ec), da er ca. 90 % des ATP-Bedarfes deckt. Die PK ist eines der regulierenden Schlüsselenzyme dieses Stoffwechselweges und katalysiert die Umwandlung von Phosphoenolpyruvat zu Pyruvat, dem letzten energieliefernden Schritt bei der anaeroben Glykolyse. Durch einen Mangel an PK entsteht ein Energiedefizit in den Ec, was zur Hämolyse der roten Blutkörperchen führt. Vier homotetramere PK-Isoenzyme, für die zwei verschiedene Gene (PKLR, PKM) kodieren, werden bei Säugern abhängig von Entwicklungsstufe und Gewebe exprimiert. Die Isoenzyme kommen in Leber (L-Form), Muskel und Gehirn (M₁), Milz, Leukozyten und Thrombozyten (M₂) und Ec (R) vor (BEUTLER, 1983; MIWA und FUJII, 1985).

Beim Menschen stellt der PK-Mangel eine der häufigsten hereditären hämolytischen Anämien dar, die durch eine Enzymopathie verursacht wird (PAGLIA, 1995). Zahlreiche Mutationen des PKLR-Gens, die autosomal rezessiv vererbt werden, können eine Defizienz des R-PK-Isoenzym zur Folge haben (MIWA und FUJII, 1996). Die klinischen Symptome bei PK-defizienten Patienten sind sehr variabel und reichen von einer geringgradigen kompensierten hämolytischen Anämie bis hin zur schweren transfusionsabhängigen Anämie (PAGLIA, 1995).

Ein Mangel an PK führt nicht nur beim Menschen, sondern auch beim Hund zu einer stark regenerativen chronischen hämolytischen Anämie. Bei der Hunderasse Basenji wurde der PK-Mangel erstmals vor über 30 Jahren beschrieben (TASKER et al., 1969; GIGER und NOBLE, 1991a). In den letzten Jahren wurde die Erkrankung bei einigen weiteren Rassen identifiziert. PK-defiziente Hunde haben eine deutlich regenerative mittel- bis hochgradige Anämie. Sie entwickeln aus bisher unbekanntem Grund eine progressive Myelofibrose und Osteosklerose und sterben zwischen dem 1. und 9. Lebensjahr an den Folgen der Anämie oder an Leberversagen (GIGER, 2000a). Der PK-Mangel wird durch rassespezifische Mutationen im PKLR-Gen verursacht, für die molekulardiagnostische Screening-Tests zur Verfügung stehen (GIGER, 2000a,b).

Der erste Fall einer PK-Defizienz wurde 1990 bei einem Abessinierkater in den USA diagnostiziert (FORD et al., 1992; GIGER, 2001). Seither wurde die Erkrankung neben weiteren Abessiniern auch bei Somalis und wenigen Domestic Shorthair Katzen festgestellt (GIGER, 2000b). Die erythrozytäre PK-Aktivität erkrankter Katzen war deutlich reduziert und die asymptotischen Anlageträger hatten etwa die Hälfte der PK-Aktivität gesunder Katzen. Der molekulare Defekt bei Katzen wurde vor einigen Jahren als Splicingdefekt identifiziert und ein DNA-Suchtest zur Diagnose der PK-Defizienz wurde etabliert (GIGER et al., 1997). Da dieser Test eine eindeutige Identifizierung von gesunden, Anlageträgern und PK-defizienten Tieren erlaubt, stellt er einen entscheidenden Fortschritt in der Diagnostik dieser Erkrankung dar.

Bisher liegen nur wenige Daten über die Verbreitung der Erkrankung in Deutschland oder anderen Ländern vor. Klinik und Laboruntersuchungen PK-defizienter Katzen wurden bisher nur in wenigen Fallberichten beschrieben (FORD et al., 1992; GIGER, 2001; KOHN, 2001; MANSFIELD und CLARK, 2005; VAN GEFFEN et al., 2005; HARVEY et al., 2007).

Ziel dieser Untersuchung war es, die Verbreitung der PK-Defizienz bei Katzen in Deutschland und Europa zu ermitteln und eine möglichst große Anzahl erkrankter Katzen hinsichtlich Symptomen, Krankheitsverlauf und Laborwertveränderungen zu untersuchen.

II Literaturübersicht

II.1 Feline Erythrozyten und Retikulozyten

Die Blutzellen werden im hämatopoetischen Gewebe gebildet, das sich beim Fetus in Leber und Milz und beim Adulten im roten Knochenmark befindet. Das hämatopoetische Gewebe enthält Stammzellen, aus denen sämtliche Blutzelltypen gebildet werden, also Ec, alle Formen der Leukozyten sowie Thrombozyten.

Im Gegensatz zu anderen Zellen hat die rote Blutzelle keine zytoplasmatischen Strukturen oder Organellen und keinen Nukleus.

Bei der Katze, wie auch bei anderen Tierarten, verändern sich Ec-Zahl, -Größe und Hämoglobin (Hb)-Konzentration mit zunehmendem Alter (WINDLE et al., 1940; ANDERSON et al., 1971; MEYERS-WALLEN et al., 1984). So beträgt das mittlere Ec-Volumen (MCV) bei der Geburt etwa 90 fl und bei der adulten Katze etwa 39 – 55 fl. Die großen fetalen Zellen werden insbesondere in den ersten 4 Lebenswochen durch kleinere Zellen ersetzt, was zum Abfall des Mikro-Hämatokrit (Hkt), der Hb-Konzentration, des MCV und der mittleren Hb-Konzentration der Ec (MCHC) bei wenig Änderung der Ec-Zahl führt. Im 3. – 4. Lebensmonat ist die Ec-Zahl des Adulttieres in etwa erreicht, die Hb-Konzentration je nach Eisengehalt im Futter etwa im 5. – 6. Monat. Männliche erwachsene Katzen haben etwas höhere Ec-Zahlen und Hb-Werte als weibliche (WINDLE et al., 1940).

Die Überlebenszeit der Ec im Blut beträgt bei der Katze etwa 68 Tage (JAIN, 1993); andere Autoren geben eine Zeitdauer von 72 – 78 Tagen an (VALENTINE et al., 1951; KANEKO et al., 1966; MARION und SMITH, 1983; GIGER und BÜCHELER, 1991). Die Überlebenszeit der Ec steht in Relation zum Körpergewicht bzw. zur Stoffumsatzrate (VACHA, 1983). Bei Hund und Mensch ist die erythrozytäre Überlebenszeit deutlich länger und beträgt 110 bzw. 120 Tage (JAIN, 1993). Der Durchmesser von feline Ec ist mit 6 µm kleiner als bei Hund und Mensch mit 7 bzw. 8 µm. Daher haben feline Ec auch nur eine kleine zentrale Aufhellung im Blutausschlag (CLINKENBEARD und MEINKOTH, 2000).

Die Ec besitzen eine große Fähigkeit zur Deformation, da ihr Durchmesser von etwa 6-8 µm bei weitem den Kapillardurchmesser von 2-3 µm übersteigt. Die Fähigkeit zur Deformation der roten Blutzellen beruht auf ihrer Gestalt oder Geometrie, der Viskosität des Zytoplasmas, welche durch die intrazelluläre Hb-Konzentration reguliert wird und den Materialeigenschaften der Membran (MOHANDAS, 1995).

Retikulozyten sind unreife rote Blutzellen, die zwar keinen Zellkern mehr besitzen, aber noch über die Fähigkeit zur Proteinbiosynthese verfügen. Die Polysomen (mRNA mit Ribosomen), die praktisch nur noch Globin-mRNA enthalten und weiterhin Hb synthetisieren, können durch Spezialfärbungen sichtbar gemacht werden. Im Gegensatz zum Hund müssen bei der Katze aufgrund verschiedener Reifungszeiten unterschiedliche Retikulozytentypen nach Anfärbung mit Methylenblau oder Brillantkresylblau gezählt werden. Man kann die Retikulozyten in Typ I (Zellen mit schwach angefärbten Granula), Typ II (mit deutlich dunklen Granula) und Typ III (mit deutlich dunklem Retikulum) unterteilen (JAIN, 1986). In einer Studie von FAN et al. (1978) wurde festgestellt, dass nach Blutabnahmen zwischen 15 und 45 % des Blutvolumens zunächst, d.h. nach 2 Tagen, Typ II- und III-Retikulozyten anstiegen. Die höchste Anzahl wurde zwischen Tag 4 und 6 festgestellt, eine deutliche Abnahme 12 bis 14 Tage nach Blutabnahme. Typ I-Retikulozyten stiegen nach Tag 4 an, hatten ihren Höhepunkt nach 10 – 12 Tagen und waren noch erhöht, nachdem das Packed Cell Volume (PCV) bereits im Normalbereich war. Die Reifungszeit von Typ II- und III- Zellen betrug 12 Std., während diejenige der Typ I-Zellen sowohl in vivo als auch in vitro 3 Tage betrug. Die aggregierten Retikulozyten (Typ II und III) reifen also zu punktierten Formen (Typ I), die länger, bis zu 3 Wochen, im Blut persistieren (TVEDTEN, 1994). Eine Retikulozytengesamtzahl gibt damit nicht die aktuelle Knochenmarkantwort nach Blutverlust oder Hämolyse wieder. Eine Unterteilung in aggregierte und punktierte Formen dient der Unterscheidung von aktiver und kumulativer Regeneration. Die aggregierten Retikulozyten

entsprechen den polychromatophilen Zellen auf Blutaussstrichen, die z.B. nach Pappenheim oder Wright gefärbt wurden (ALSAKER et al., 1977).

II.1.1 Erythrozytenmembran

II.1.1.1 Aufbau

Die Ec-Membran stellt eine Lipiddoppelschicht dar, an die ein Netzwerk von Proteinen, welches der zytoplasmatischen Oberfläche der Membran anliegt, gekoppelt ist (Abb. 1). Die Ec-Membran ist insbesondere beim Menschen biochemisch gut charakterisiert (WAYS und HANAHAH, 1964): ungefähr 52 % der Membran bestehen aus Proteinen, 40 % aus Lipiden und 8 % aus Kohlenhydraten.

Die Lipiddoppelmembran besteht aus Phospholipiden, welche asymmetrisch so angeordnet sind, dass ihre hydrophoben, apolaren Gruppen nach innen, also gegeneinander gerichtet sind und die hydrophilen, polaren Gruppen nach außen ins Zytoplasma auf der einen Seite und ins Plasma auf der anderen Seite. Neben den Phospholipiden ist unverestertes Cholesterol eine wichtige Lipidkomponente. Freie Fettsäuren und Glykolipide kommen nur in geringen Mengen vor. Das normale Cholesterol / Phospholipid – Verhältnis der menschlichen roten Blutzelle beträgt 1:1,1. Jede deutliche Änderung dieses Verhältnisses resultiert in einer veränderten Zellmorphologie und verkürzter Ec-Überlebenszeit (JAIN, 1993). Die Phospholipide setzen sich aus Phosphatidylcholin (30 %), Sphingomyelin (25 %), Phosphatidylethanolamin (28 %) und Phosphatidylserin (14 %) zusammen sowie zu etwa 2 – 3 % aus anderen Phospholipiden (MOHANDAS, 1995). Cholinphospholipide (Phosphatidylcholin, Sphingomyelin) kommen insbesondere in der äußeren Schicht, die Aminophospholipide (Phosphatidylserin, Phosphatidylethanolamin) insbesondere in der inneren Schicht der Doppelmembran vor (KUYPERS et al., 1993). Letzteres ist von Bedeutung, da die Exposition der Aminophospholipide die Koagulationskaskade auslösen und zur Adhäsion von Ec an Phagozyten führen kann.

In einigen Studien wurde die Membranzusammensetzung bei der Katze und anderen Spezies untersucht (NELSON, 1967; GARNIER et al., 1984). Der Lipidgehalt bei der Katze betrug $3,57 \text{ mg}/10^{10}$ RBC (Red Blood Cells), beim Hund 5,29 und beim Menschen 5,0.

Der Gehalt an Phosphatidylserin betrug bei der Katze 0,22 mg/mg Protein (Hund: 0,26, Mensch: 0,12), an Phosphatidylcholin 0,34 (Hund: 0,22, Mensch: 0,46), an Sphingomyelin 0,17 (Hund: 0,14, Mensch: 0,08), an Phosphatidylethanolamin 0,23 (Hund 0,26, Mensch: 0,20) und an freiem Cholesterol 0,27 (Hund: 0,34, Mensch: 0,20).

Die Proteine der Ec-Membran können nach Solubilisieren der Membran in einer 1 %igen SDS-Lösung durch Sodiumdodecylsulfat-Polyacrylamidgel-Elektrophorese (SDS-PAGE) getrennt werden. Das sich daraus ergebende Elektropherogramm einer Ec-Membran zeigt eine Reihe von Proteinbanden, wenn es mit Coomassie Brilliant Blau (färbt Proteine an) oder mit Periodsäure / Schiff's-Reagens (PAS, färbt Kohlenhydrate an) behandelt wurde. Die Banden 3 und 7 und die PAS-Banden 1-4 (Glykoproteine) entsprechen den integralen Proteinen. Sie können nur durch Extraktion mit Detergenzien und organischen Lösungsmitteln aus der Membran herausgelöst werden. Das Protein der Bande 3, das mehr als 30 % der Membranproteine ausmacht, ist ein Anionenkanal, der den Austausch von z.B. HCO_3^- durch die Membran ermöglicht und die Lipidschicht mit dem Membranskelett verbindet (SCHRIER, 1985; CHASIS und MOHANDAS, 1992). Bande 3 interagiert unter anderem mit Ankyrin, Protein 4.1 und 4.2, Hämoglobin und verschiedenen glykolytischen Enzymen (MOHANDAS, 1995). Die Glykoproteine bewirken die negative Ladung der Zelloberfläche, fungieren als Rezeptor- oder Transportproteine und tragen die Ec-Antigene, welche für die Blutgruppenspezifitäten verantwortlich sind (CHASIS und MOHANDAS, 1992; MOHANDAS und CHASIS, 1993; SCHRIER, 1985).

Die bikonkave, diskusartige Form der Ec gewährleistet die schnelle Diffusion von O_2 an die Hb-Moleküle im Innern der roten Blutzellen, da keines weiter als $1 \mu\text{m}$ von der Zelloberfläche

entfernt ist. Allerdings nehmen „Wulst“ und „Delle“ eines Ec keine feste Position auf der Zellmembran ein, sondern die Membran rollt um die Zelle herum, während ihre Form erhalten bleibt. Diese mechanische Eigenschaft der Ec-Membran beruht auf dem Vorhandensein eines submembranen Netzwerks aus Proteinen, das auch als Membran-Skelett bezeichnet wird (MOHANDAS, 1995).

Etwa 75 % des Ec-Membranskeletts besteht aus dem Protein Spektrin. Es setzt sich aus zwei ähnlichen Polypeptidketten zusammen, der Bande 1 (α -Untereinheit, 280 kD) und der Bande 2 (β -Untereinheit, 246 kD). Zwei Heterodimere lagern Kopf an Kopf zusammen und bilden ein Tetramer, dessen Enden mit Proteinen der Banden 4.1 und 5 vernetzt sind. So entsteht ein dichtes und unregelmäßiges Maschenwerk aus Proteinen, das unter der Ec-Membran liegt. Das Protein der Bande 5 ist globulär, bildet filamentöse Oligomere aus und wurde als Aktin identifiziert. Spektrin assoziiert auch mit dem Protein Bande 2.1, das als Ankyrin bekannt ist. Es assoziiert seinerseits mit dem integralen Anionenkanalprotein, welches der Bande 3 entspricht (MOHANDAS und CHASIS, 1993) (Abb. 1).

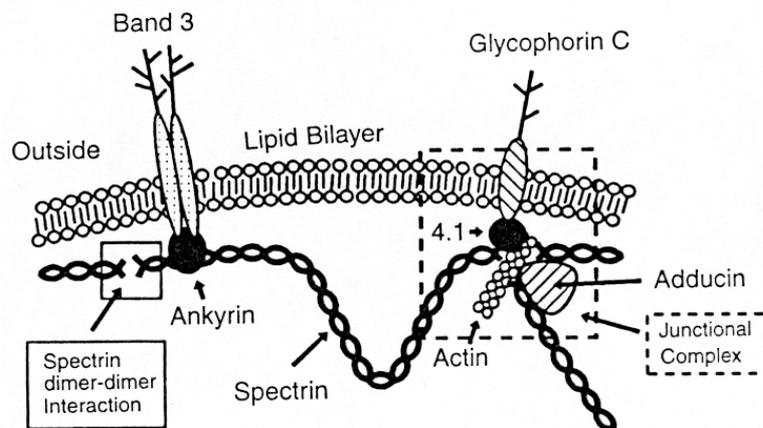


Abb. 1: Querschnitt durch die Lipiddoppelschicht und das Membranskelett der Erythrozytenmembran (modifiziert nach MOHANDAS, 1995).

II.1.1.2 Membrantransport

Die Lipiddoppelschicht der Ec ist für die meisten Moleküle undurchlässig und der Molekülaustausch erfolgt mittels verschiedener Membrantransportsysteme.

Anionen und Wasser: Das Protein Bande 3 dient als Kanal für den Austausch von Anionen (z.B. Bicarbonat, Chlorid, Phosphat), Wasser, verschiedenen Nichtelektrolyten und wahrscheinlich in gewissem Maße auch Kationen (HARVEY, 2000a). Die Rate des Anionenaustausches ist abhängig vom Phosphatidylcholin- und Sphingomyelinanteil und beträgt bei der Katze für Phosphat $4,1 \pm 0,7$ pmoles/cm²/min (DEUTICKE und GRUBER, 1971).

Natrium und Kalium: Beim Kationenaustausch und demzufolge auch bei den intrazellulären Na⁺- und K⁺-Konzentrationen herrschen deutliche Unterschiede zwischen den Spezies. Im Gegensatz zum Menschen und verschiedenen anderen Tierarten verlieren feline und canine Ec durch Proteolyse ihre Na⁺/K⁺-ATPase während später Reifungsstadien im Knochenmark. Daher sind die hohen Na- und niedrigen K-Konzentrationen der Ec ähnlich den Serumelektrolyten und es kommt nach intravaskulärer Hämolyse in der Regel nicht zu einer Hyperkaliämie. Der Kaliumgehalt der Ec liegt bei der Katze bei $5,9 \pm 1,9$ mmol/l und der Natriumgehalt bei $105,8 \pm 14,4$ mmol/l (HARVEY, 1997). Andere Transportmechanismen für Na⁺ und K⁺ kommen in unterschiedlichem Maße in bestimmten Spezies vor: passive

Diffusion, Na^+ - K^+ - Cl^- - Kotransporter, Na^+ - Na^+ - Antiporter, Bande 3-Anionentransport als NaCO_3^- , Na^+ -abhängiger Aminosäuretransport, K^+ - Cl^- - Kotransporter, Na^+ - H^+ - Austausch und ein Ca^{2+} -abhängiger K^+ -Transport (ELLORY und TUCKER, 1983; CONTRERAS et al., 1986; HAAS, 1989).

Das Volumen feline und canine Ec wird vom Kationen-Fluss beeinflusst. Der Natrium-Fluss ist erhöht, wenn die Zellen geschrumpft sind und der Kalium-Fluss, wenn die Zellen geschwollen sind. Der Na^+ - K^+ - Cl^- - Kotransporter und der Na^+ - H^+ - Austausch werden durch eine Zellschrumpfung aktiviert und der K^+ - Cl^- - Kotransporter wird durch eine Schwellung der Zelle aktiviert (HAAS, 1989).

Kalzium: Ein Übermaß an intrazellulärem Kalzium ist schädlich für Ec; daher transportieren sie Ca^{2+} aktiv über eine Kalziumpumpe, die durch ein Ca^{2+} -bindendes Protein (Calmodulin) aktiviert wird (HARVEY, 1997). Canine Ec sind im Gegensatz zu Ec von Katzen und anderen Spezies unter alkalischen Bedingungen sehr fragil, vermutlich aufgrund eines erleichterten Kalziumeinstroms unter diesen Bedingungen (GIGER, 2000a).

Aminosäuren: Aminosäuren müssen für die Synthese von Glutathion in die Ec transportiert werden (HARVEY, 1997). Acht verschiedene Aminosäuretransportsysteme sind in Säuger-Ec gefunden worden. Katzen-Ec besitzen ein Lysin^+ -System für den Transport dibasischer Aminosäuren (YOUNG, 1983). Der Bande 3-Anionentransporter kann ebenfalls Glycin und einige andere Aminosäuren transportieren.

Ec von Katzen und Hunden besitzen einen Na^+ -abhängigen Aminosäuretransporter, der optimal Glutamat und Aspartat transportiert (SATO et al., 1994).

Glukose: Glukose wird mittels passiver Diffusion in die Ec transportiert. Die Permeabilität der Ec-Membran für Glukose variiert zwischen den Spezies, wobei humane Ec sehr gut und porcine Ec kaum permeabel sind. Die mittlere Glukosetransportaktivität von caninen Ec liegt bei 6,0 nmol/min/mg Protein und bei der Katze beträgt sie ein Drittel der des Hundes (ARAI et al., 1992). Sowohl Bande 3 als auch ein integrales Membranprotein scheinen in den insulinunabhängigen Glukosetransport involviert zu sein (HARVEY, 1997). Ec von adulten Individuen haben ihren Glukosetransporter während der Reifung verloren und haben deshalb eine limitierte Fähigkeit, Glukose für die Gewinnung von Energie zu nutzen. Außer bei der Katze haben fetale und neonatale Ec eine höhere Glukosetransportaktivität als adulte Individuen (MOONEY und YOUNG, 1978).

Nucleoside: Die Ec-Membranen der meisten Spezies haben einen Nucleosidtransporter (YOUNG, 1983). Feline und canine Ec weisen eine Adeninaufnahme und Inkorporation in Nucleotide auf, wobei die Aufnahmerate viel niedriger als beim Menschen ist (LALANNE und WILLEMOT, 1980). Die Ec von Katzen zeigen eine niedrigere Adenosinaufnahme als Hunde. Feline und canine Ec sind nahezu impermeabel für Inosin (DUHM, 1974).

II.1.2 Erythrozytenmetabolismus

II.1.2.1 Adenylatmetabolismus

Adenylat besteht aus der Base Adenin, dem Zucker Ribose und einer oder mehreren Phosphatgruppen. Reife Ec können Adeninnucleotide nicht de novo synthetisieren, aber sie können die einzelnen Komponenten im so genannten „salvage pathway“ produzieren (BREWER, 1974). AMP kann aus Adenin (mittels Adeninphosphoribosyltransferase) oder Adenosin (mittels Adenosinkinase) synthetisiert werden. In der Adenylatkinase-Reaktion interagiert ein Molekül AMP mit einem Molekül ATP, um zwei Moleküle ADP zu regenerieren. Das benötigte ATP wird in der Glykolyse aus ADP gebildet.

II.1.2.2 Kohlenhydratmetabolismus

Ec benötigen Energie in Form von ATP, um ihre Form und Deformierbarkeit aufrechterhalten zu können, um Membranphospholipide und Proteine zu phosphorylieren, für den aktiven Membrantransport verschiedener Moleküle und für die Synthese von Nukleotiden und Glutathion. Das reduzierende Potential von NADH und NADPH wird benötigt, um oxidativen Prozessen entgegen zu wirken (LEHNINGER et al., 1993).

In den Ec wird die aufgenommene Glukose in der Hexokinase-reaktion (HKi) zu Glukose-6-phosphat (G6P) phosphoryliert. G6P kann durch die Glykolyse oder den Pentosephosphatweg weiter verstoffwechselt werden (LEHNINGER et al., 1993).

Obwohl Glukose das primäre Substrat für die Energiegewinnung in Ec darstellt, können auch andere Stoffe wie Ribose, Fruktose, Mannose, Galaktose, Dihydroxyaceton, Glycerinaldehyd, Adenosin und Inosin in unterschiedlichem Ausmaß metabolisiert werden.

Die **Glykolyse** stellt mit 90 % den Hauptabbauweg der Glukose in den Ec dar. In der Glykolyse wird ein Molekül Glukose in einer Reihe von enzymkatalysierten Reaktionen zu zwei Molekülen Pyruvat abgebaut (Abb. 2). Der Abbau der Glukose erfolgt in zehn Schritten, wobei die ersten fünf die so genannte Vorbereitungsstufe ausmachen. In diesem ersten Teil der Glykolyse werden durch die Hexokinase- und die Phosphofruktokinase-reaktion (PFK) je ein Molekül ATP verbraucht, um Glukose bzw. Fruktose-6-phosphat (F6P) zu phosphorylieren. Im zweiten Teil der Glykolyse, der pro Molekül Glukose zweimal abläuft, werden in der Phosphoglyceratkinase- und der PK-Reaktion je ein Molekül ATP gewonnen. Daraus folgt, dass pro Molekül Glukose 2 Moleküle ATP gebildet werden. Da die roten Blutzellen während der Reifung ihre Mitochondrien verlieren, stellt die Glykolyse den einzigen Energielieferanten der Ec dar (LEHNINGER et al., 1993).

Das Enzym Phosphofruktokinase katalysiert die irreversible Phosphorylierung von Fruktose-6-phosphat (F6P) in Fruktose-1,6-bisphosphat und ist ein wichtiges Schlüsselenzym der Glykolyse. Die Aktivität des Enzyms wird von verschiedenen Effektoren beeinflusst, wobei ATP den wichtigsten Inhibitor und AMP und anorganisches Phosphat die wichtigsten Aktivatoren darstellen (JAKOBASCH et al., 1974). Durch die Aktivierung der PFK wird die HKi sekundär aktiviert durch die Reduktion der Konzentration an G6P, welches einen Inhibitor der HKi darstellt (RAPOPORT, 1968).

Die PK ist das zweite wichtige Schlüsselenzym und wird ebenfalls durch hohe ATP-Konzentrationen allosterisch gehemmt, indem die Affinität des Enzyms zu seinem Substrat Phosphoenolpyruvat (PEP) gesenkt wird (siehe II.2.1.1.7).

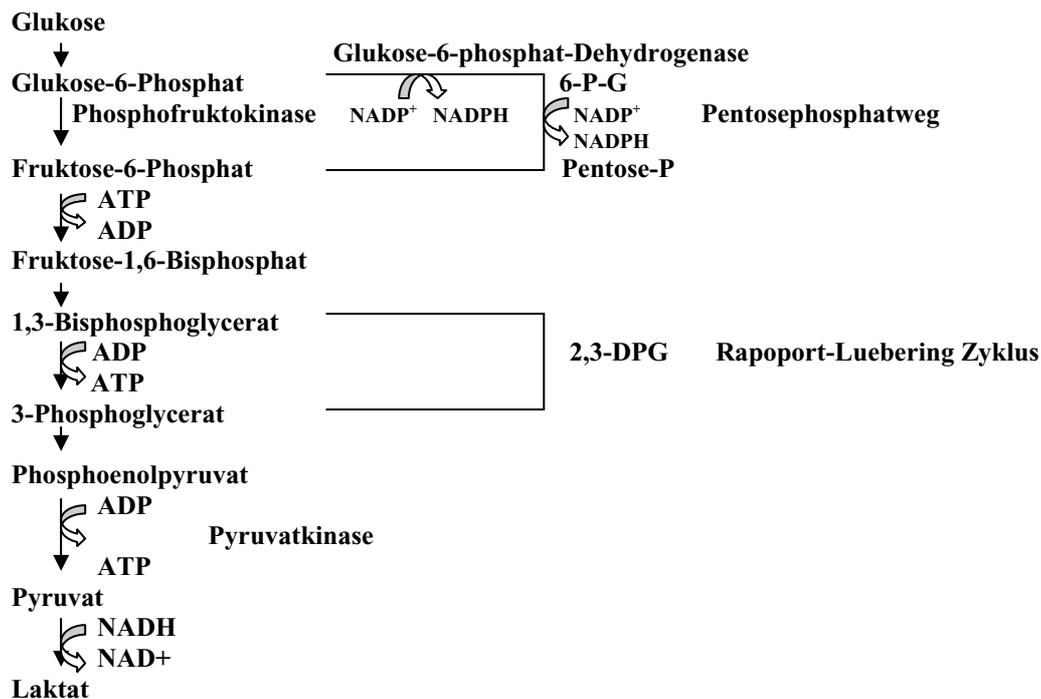


Abb. 2: Glykolyse und untergeordnete Erythrozytenenzymssysteme

Rapoport-Luebering Zyklus: Das im sechsten Schritt der Glykolyse durch die Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase (GAPD) gebildete 1,3-Diphosphoglycerat (1,3-DPG) kann in der Glykolyse weiter verstoffwechselt werden oder durch die Diphosphoglyceratmutase (DPGM) in 2,3-DPG umgewandelt werden. Das Enzym Diphosphoglyceratphosphatase (DPGP) wandelt 2,3-DPG in 3-Phosphoglycerat (3-PG) um. Durch den auch Diphosphoglyceratweg genannten Zyklus kann der ATP generierende Phosphoglyceratkinase- (PGK) Schritt der Glykolyse umgangen werden, so dass in der Bilanz der Glykolyse kein ATP entsteht (BREWER, 1974). In den Ec durchlaufen 10-30 % der Triosephosphate diesen Weg (JACOBASCH et al., 1974). Ob 1,3-DPG durch die PGK oder DPGM metabolisiert wird, hängt von der ADP-Konzentration ab (RAPOPORT, 1968). ATP und 2,3-DPG beeinflussen den Stoffumsatz durch die jeweilige Route, indem sie eine Produkthemmung ihrer eigenen Synthese bewirken. 2,3-DPG inhibiert die HKi, PFK und GAPD (JAKOBASCH et al., 1974).

Die Konzentration von 2,3-DPG kann durch eine erniedrigte PK-Aktivität beeinflusst werden. Wenn die PK-Aktivität gegenüber der PFK-Aktivität reduziert ist, steigen die Konzentrationen von phosphorylierten Zwischenprodukten zwischen der PK- und der GAPD-Reaktion (MUEGGLER und BLACK, 1982). Durch den Anstieg der 1,3-DPG-Konzentration steigt auch die Synthesegeschwindigkeit von 2,3-DPG im Rapoport-Luebering Zyklus an.

1,3-DPG bindet an Desoxyhämoglobin und stabilisiert so den T-Zustand des Hämoglobins. Dadurch wird dessen Sauerstoffaffinität vermindert. Daher verändern vererbte Schäden in der Glykolyse von Ec die Sauerstoffbindungskapazität des Blutes, was in der Sauerstoffsättigungskurve des Hb sichtbar wird (Abb. 3). Beispielsweise sind in Ec, welche einen Hexokinase-mangel aufweisen, die Konzentrationen an Zwischenprodukten der Glykolyse gering, da die HKi den ersten Reaktionsschritt der Glykolyse katalysiert. Daraus resultieren eine verringerte 2,3-DPG-Konzentration und eine erhöhte Sauerstoffaffinität des Hb. Umgekehrt nimmt bei einem Mangel an PK, der die 2,3-DPG-Konzentration durch Blockade der letzten Reaktion ansteigen lässt, die Sauerstoffaffinität des Hb ab (BUNN et al., 1974).

Katzen haben im Gegensatz zu Hunden und Menschen sehr niedrige 2,3-DPG-Konzentrationen in ihren Ec (Katze 874 ± 317 nmol/ml RBC, Hund 5989 ± 632 nmol/ml RBC, Mensch 4171 ± 636 nmol/ml RBC) (BUNN et al., 1974). Die Ursache dafür liegt in einer geringeren Aktivität des Enzyms Diphosphoglyceratkinase, die aus 1,3-DPG 2,3-DPG bildet (HARKNESS et al., 1969). Die Sauerstoffaffinität des Hb in Ec von Katzen (geringe Konzentration an 2,3-DPG) ist nicht beeinflussbar durch Zugabe von 2,3-DPG, da das Hb in der 2,3-DPG-bindenden β -Kette eine andere Struktur aufweist als z.B. das Hb von Hunden oder Menschen (hohe Konzentrationen an 2,3-DPG) (BUNN, 1981).

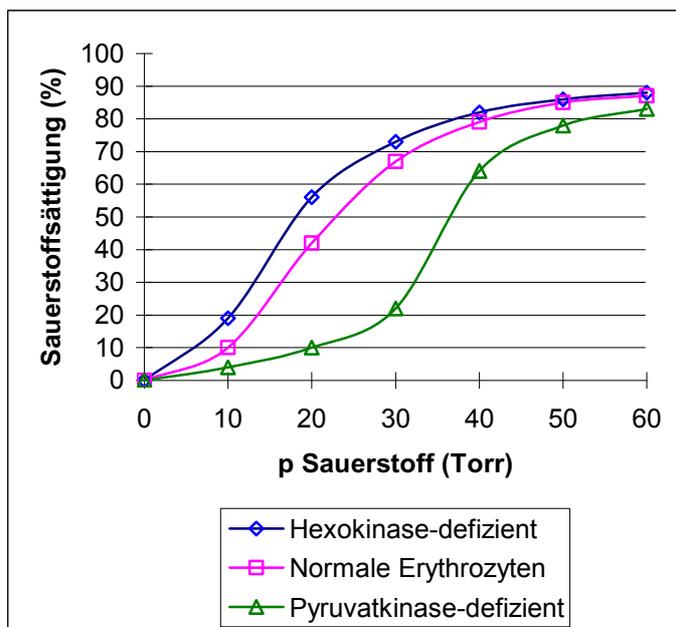


Abb. 3: Sauerstoffsättigungskurve des Hämoglobins in normalen Erythrozyten und Erythrozyten mit Pyruvatkinase- und Hexokinasemangel beim Menschen (DELIVORIA-PAPADOPOULUS et al., 1969)

Der **Pentosephosphatweg** (PPP) regeneriert NADPH, welches das wichtigste Reduktionsäquivalent für den Schutz der Ec gegen oxidative Schädigung darstellt.

Die bei der Reduktion von Peroxiden gebildete oxidierte Form des Glutathions wird durch die NADPH-abhängige Glutathion-Reduktase wieder in die reduzierte aktive Form überführt. Außerdem wird NADPH für die Regeneration der aktiven Form der Katalase benötigt, die während der Reduktion von H_2O_2 inaktiviert wird (KIRKMAN et al., 1987).

Das in diesem Stoffwechselweg gebildete Ribose-5-phosphat (R5P) wird für die Nukleotidsynthese benötigt (AGAR und BOARD, 1983).

II.1.2.3 Schutzmechanismen gegen oxidative Schädigung

Zirkulierende Ec sind oxidativer Schädigung durch Superoxidradikale (O_2^-) und Peroxide ausgesetzt. Diese Art der Schädigung spielt eine entscheidende Rolle im Alterungsprozess der Ec und bei der Aktivierung des mononukleären Phagozytosesystems.

Glutathion (GSH) ist ein Tripeptid aus Glutamat, Cystein und Glycin, das in den Ec synthetisiert wird. Glutathion wird durch endogene Peroxide und eine Vielzahl von Medikamenten oxidiert, indem sich eine Disulfidgruppe zwischen den Thiolgruppen von 2 GSH-Molekülen oder zwischen einem GSH-Molekül und einer Sulfhydrylgruppe von erythrozytären Proteinen bildet. Glutathion schützt damit die Protein-SH-Gruppen von Hb und anderen Ec-Bestandteilen vor oxidativer Schädigung. Das GSH feliner Ec ist weniger stabil und schneller verbraucht als bei anderen Säugetieren (CHRISTOPHER, 2000). Die

Regeneration von GSH wird durch die Glutathion-Reduktase katalysiert, die dazu NADPH aus dem Pentosephosphatweg benötigt (AGAR und BOARD, 1983). Mit Ausnahme von Katzen haben die Ec von Haustieren eine geringere Glutathion-Reduktase-Aktivität als die von Menschen (Mensch $3,37 \pm 0,69$ IU/g Hb, Hund $1,38 \pm 0,15$ IU/g Hb, Katze $3,69 \pm 1,02$ IU/g Hb) (AGAR et al., 1974; HARVEY, 1997).

Die Enzyme Glutathion-Peroxidase und Katalase katalysieren die Umwandlung von H_2O_2 in H_2O und beseitigen organische Peroxide. Ec von Haustieren (ausgenommen Hunden) weisen eine höhere Katalase-Aktivität auf als die von Menschen (SUZUKI et al., 1984).

Die Superoxiddismutase (SOD) ist ein Enzym, das Kupfer und Zink enthält und zwei O_2^- in H_2O_2 und O_2 umwandelt. Die Aktivität der SOD ist in Ec von Katzen und Hunden genauso hoch bzw. höher als in humanen Ec (HARVEY und KANEKO, 1977). Die Glutathion-S-Transferase (GST) katalysiert die Bildung von Glutathion-S-Konjugaten zwischen GSH und elektrophilen Substraten. Das Enzym konnte in den Ec aller Haustiere nachgewiesen werden, wobei die Bedeutung im Schutz gegen oxidative Schädigung noch unklar ist (HARVEY, 1997). In caninen Ec konnte eine direkte Korrelation zwischen GST-Aktivität und GSH-Konzentration nachgewiesen werden (GOTO et al., 1992). Die GST spielt eine entscheidende Rolle beim Schutz des Körpers gegen verschiedene Karzinogene und Medikamente, indem es Konjugate mit diesen Substraten in der Leber bildet (CHASSEAUD, 1979). Vitamin E ist ein fettlösliches Vitamin, das durch die Lieferung von Reduktionsäquivalenten freie Radikale in der Membran neutralisiert. Dadurch wird die Oxidation von vielfach ungesättigten Fettsäuren in der Membran verhindert.

Durch Oxidationsmittel kann das zweiwertige Eisen im Häm der Ec zum dreiwertigen oxidiert werden. Das dadurch entstehende Methämoglobin (MetHb) ist nicht mehr in der Lage, gebundenen Sauerstoff wieder abzugeben. Für die Wiederherstellung des Hb ist die NADH-Methämoglobin-Reduktase (NADH-MR) (Cytochrom- b_5 -Reduktase) verantwortlich. Ec enthalten außerdem eine NADPH-Methämoglobinreduktase (NADPH-MR), die ebenfalls fähig ist, MetHb zu reduzieren, wenn die entsprechenden Elektronencarrier vorhanden sind. Da NADPH in den Ec aber in geringeren Konzentrationen als NADH vorkommt, spielt dieses Enzym eine untergeordnete Rolle (HULTQUIST et al., 1993).

II.1.3 Hämoglobin

Der rote Blutfarbstoff, das Hämoglobin (Hb), ist der funktionell wichtigste Anteil der Ec und verantwortlich für den Sauerstofftransport.

Die Regulation der Hb-Synthese sowie Besonderheiten in Aufbau und Funktion des Hb bei den verschiedensten Tierarten waren in den letzten Jahrzehnten Gegenstand zahlreicher Untersuchungen.

II.1.3.1 Aufbau

Das Hb ist ein Chromoprotein, das aus vier Polypeptidketten und vier prosthetischen Häm-Gruppen besteht. Das Hb-Molekül besitzt annähernd kugelförmige Gestalt, mit einem Durchmesser von 5,5 nm. Die Häm-Gruppe wird aus einem zentralen zweiwertigen Eisenatom (Fe^{2+}), das von einem substituierten Porphyrinring (Protoporphyrin) umgeben ist, gebildet. Jedes Protoporphyringerüst besteht aus vier fünfgliedrigen stickstoffhaltigen Pyrrolringen. Der Aufbau des Häms ist bei Mensch und Tier gleich (EDER, 1987; THEWS, 1997). Häm kommt nicht nur im Hb vor, sondern auch in Cytochromen, Peroxidase, Katalase und Myoglobin (JAIN, 1986). Der Globinanteil ist beim Menschen und den einzelnen Tierarten unterschiedlich aufgebaut und in einem Individuum können verschiedene Hb-Varianten nebeneinander bzw. im Laufe der Entwicklung nacheinander vorkommen. Normales Hb eines adulten Menschen (HbA) enthält zwei α - und zwei β -Polypeptidketten. Neben HbA enthalten die Ec zu einem geringen Teil auch HbA₂, das statt der β -Ketten zwei δ -Ketten enthält. Beim Menschen und bei Wiederkäuern kommen im Laufe der Entwicklung

3 unterschiedlich aufgebaute Hb-Arten vor: embryonales, fetales und adultes Hb (HARVEY, 1997). Das Hb des menschlichen Fetus (HbF) hat an Stelle der β -Ketten sog. γ -Ketten eingebaut (THEWS, 1997).

Bei Katzen wird das embryonale Hb während der fetalen Phase direkt durch adultes Hb ersetzt (BUNN und KITCHEN, 1973). In adulten Ec können, je nach Spezies, ebenfalls unterschiedliche Hb vorkommen. Bei der adulten Katze konnten 2 verschiedene Hb identifiziert werden, HbA und HbB (TAKETA und MORELL, 1966). Mittels Hochdruckdurchfluss-Chromatographie wurden die felines Globine aus einem Ec-Lysat separiert und 1 α -Globin und 6 β -Globin-Ketten identifiziert, wobei jede Katze 1-4 verschiedene β -Globin-Ketten aufwies. Mit Hilfe von Stammbaumanalysen und Restriktionsfragmentlängen-Polymorphismus-Analysen wurde eine autosomal kodominante Vererbung der β -Globin-Ketten mit 7 Haplotypen vermutet (KOHN et al., 1998 und 1999).

Der Vergleich von feline und humanem Hb ergab 22 unterschiedliche AS für die α -Kette (15,6 %), 28 (19,1 %) für β^B und 25 (17,1 %) für β^A . Alle Regionen, die für den Bohr-Effekt verantwortlich sind, waren unverändert. 50 % der für die 2,3-DPG-Bindung zuständigen Regionen waren verändert (ABBASI und BRAUNITZER, 1985). Durch eine Mutation der 2. AS in beiden β -Globinketten, die einen Austausch von Histidin mit Phenylalanin verursacht, ist die DPG-Bindung erschwert (TAKETA, 1974). Hinzu kommt, dass durch eine Acetylierung der β^B -Kette eine Bindung von 2,3-DPG unmöglich ist.

Eine weitere Besonderheit des felines Hb ist das Vorkommen von 8-10 reaktiven Sulfhydrylgruppen pro Hb-Molekül, im Gegensatz zu 2 beim Menschen und 4 beim Hund (TAKETA et al., 1968). Dieses führt zu einer erhöhten Oxidationsanfälligkeit des felines Hb, was die Bildung von Heinzkörperchen (HK) begünstigt. Das Vorkommen von instabilem Gluthation in felines Ec und die 10-mal schnellere Dissoziation der Hb-Tetramere zu Dimeren bei der Katze im Gegensatz zu Mensch und Hund begünstigen ebenfalls die Bildung von HK (HARVEY und KANEKO, 1976a; HARVEY und KANEKO, 1977). Eine Folge davon ist, dass auch bei gesunden Katzen vereinzelt HK vorkommen. Gesunde Katzen jeden Alters haben weniger als 5 % HK. Bei Zahlen über 10 % sollte nach einer zugrunde liegenden Ursache oder Erkrankung gesucht werden (CHRISTOPHER, 2000). Das Vorkommen von HK verkürzt die Überlebenszeit der Ec von etwa 75 auf 7-8 Tage (DESNOYERS, 2000).

Ungefähr 75 % der Globinpolypeptidketten bilden durch Schleifen voneinander getrennte α -helikale Segmente, die eine Faltung der Polypeptide erlauben (HUISMAN und SCHROEDER, 1971). Durch die Faltung des Proteins kommt die Tertiärstruktur zustande, durch die eine hydrophobe Nische für den Häm-Ring geschaffen wird. In der Quartärstruktur stehen die vier Polypeptidketten des Hämoglobins in tetraedischer Anordnung zueinander.

II.1.3.2 Funktion

Das Hb dient dem Sauerstofftransport und kann molekularen O_2 in Abhängigkeit vom O_2 -Partialdruck in den Lungenkapillaren aufnehmen und in den Gewebekapillaren wieder abgeben. Ein Molekül Hb kann maximal 4 Moleküle O_2 reversibel binden und wird in der oxygenierten Form auch als Oxy-Hb bezeichnet. Das Eisen bleibt dabei in seiner zweiwertigen Form. Weiterhin ist Hb in der Lage, einen Teil des im Zellstoffwechsel entstandenen CO_2 zu binden und in der Lunge wieder freizusetzen (THEWS, 1997).

Die O_2 -Bindungskurve des Hb beschreibt die Beziehung zwischen O_2 -Bindungsfähigkeit des Hb und O_2 -Partialdruck. Die O_2 -Bindungskurve nimmt einen charakteristischen S-förmigen (sigmoiden) Verlauf, was erstmals durch Bohr gezeigt wurde (BOHR et al., 1904). Die Bindung eines O_2 -Moleküls an Desoxy-Hb führt zur Konformationsänderung des Hb und einer erhöhten O_2 -Affinität der anderen O_2 -Bindungsstellen. Die sigmoide Kurvenform kommt also dadurch zustande, dass die O_2 -Affinität umso höher wird, je mehr O_2 -Moleküle gebunden sind (allosterischer Effekt) (LEHNINGER et al., 1993). Die physiologische Bedeutung dieses sigmoiden Kurvenverlaufs liegt darin, dass das Hb sich bei hohen O_2 -

Partialdrücken, wie z.B. in der Lunge, nahezu vollständig mit O₂ beladen kann. Bei niedrigeren O₂-Partialdrücken, wie sie im Gewebe vorkommen, ist die Kurve steiler, O₂ kann leichter abgegeben werden (EDER, 1987).

Die Affinität des Hb zu O₂ ist abhängig von pH (indirekt von der CO₂-Konzentration), Temperatur und der Konzentration von 2,3-DPG im Ec (EDER, 1987). Nicht alle Hb-Typen sprechen jedoch auf 2,3-DPG an, was zu einer Klassifizierung der Hb in 2 Gruppen führte. Das Hb von der Katze weist eine intrinsische niedrige O₂-Affinität auf, die durch Phosphate nicht verändert wird, wohingegen das Hb des Hundes und auch des Menschen eine intrinsische hohe O₂-Affinität besitzt, die in Gegenwart von Phosphaten gesenkt wird (BUNN, 1981).

Ein weiterer Faktor, welcher neben erniedrigtem pO₂ und Anämie die 2,3-DPG-Konzentration beeinflusst, ist der pH-Wert. Da Azidose die erythrozytäre Glykolyse hemmt, sinkt die 2,3-DPG-Konzentration bei niedrigem pH (EDER, 1987).

II.1.4 Abbau der Erythrozyten

II.1.4.1 Alterung der Erythrozyten (Senescence)

Der Abbau der Ec durch das mononukleäre Phagozytosesystem findet vor allem in Milz und Leber statt, aber auch das Knochenmark kann involviert sein. Die Milz der Katze stellt mit ihrem nicht-sinusoidalen Aufbau eine Besonderheit dar, da sie weniger effizient veränderte Ec aus der Blutbahn filtern kann (SEKI und ABE, 1985). Die Mechanismen, die zum Abbau defekter oder alter Ec führen, sind noch nicht bis ins Detail aufgeklärt.

Da die Lebensspanne der Ec relativ konstant und artspezifisch ist, muss es sich um einen gesteuerten Prozess handeln. Eine entscheidende Rolle spielt die Bindung von Autoantikörpern an ein Antigen, welches aus einem veränderten Membranprotein (Anionentauscher/Bande 3) hervorgeht (BOSMAN et al., 2005). Dadurch werden die Ec opsoniert und somit durch Makrophagen aus dem Kreislauf entfernt. Durch Abgabe kleiner Vesikel schrumpfen die Ec und werden durch die Phosphatidylserin (PS)-Exposition von den Makrophagen aufgenommen (WILLEKENS et al., 2003). Die Bildung dieser Vesikel wird in der Milz angeregt. Dadurch verlieren die Ec bis zu 20 % ihrer Masse. Welche Rolle PS für die Alterung und Phagozytose der Ec spielt, ist bislang strittig (KUYPERS und JONG, 2004; LUTZ, 2004). Auch die Frage, ob und inwieweit es sich bei diesem Alterungsprozess um eine Form der Apoptose handelt, ist bislang unbeantwortet.

II.1.4.2 Eryptose

Den Ec fehlen entscheidende Bausteine der normalen Apoptosemaschinerie, nämlich die Mitochondrien und der Zellkern. Gibt man Kalzium-Ionophor, einem maximalen Kalziumeinstrom auslösendes Agens, zu Ec, so zeigen sie sehr rasch PS-Exposition, Zellschrumpfung und bilden Membranvesikel (Blebbing) (BERG et al., 2001). Bei diesen Vorgängen handelt es sich um wohlbekanntes Charakteristika der Apoptose bei kernhaltigen Zellen. Ec, die PS auf der Zelloberfläche zeigen, werden von Makrophagen aufgenommen (BOAS et al., 1998; KIEFER und SNYDER, 2000) und innerhalb einer Stunde nahezu vollständig aus der Blutbahn entfernt (SCHROIT et al., 1985). Außerdem aktiviert der Kalzium-Einstrom sog. Calpaine. Dabei handelt es sich um Ca²⁺-abhängige Proteasen, die u.a. das Cytoskelett zerlegen und ebenfalls bekanntermaßen eine Bedeutung für die Apoptose haben (MIYOSHI et al., 1996; SORIMACHI et al., 1997). Man begann vor einigen Jahren zu erkennen, dass Ec eine besondere Form der Apoptose zeigen (BERG et al., 2001; BRATOSIN et al., 2001; DAUGAS et al., 2001). Schließlich wurde dafür der Begriff der Eryptose geprägt (LANG et al., 2005a).

II.1.4.3 Signalwege der Eryptose

Die entscheidende, gemeinsame Endstrecke der Apoptose beim Ec ist die Aktivierung des Enzyms Scramblase. Dieses verschiebt PS auf das äußere Blatt der Doppelmembran und sorgt damit für die PS-Exposition (ZHOU et al., 2002). Normalerweise stellt das Enzym Translokase ATP-abhängig sicher, dass PS nur auf dem inneren Blatt der Zellmembran vorkommt (SEIGNEURET und DEVAUX, 1984). Das so exponierte PS wird von Makrophagen erkannt, was zur Phagozytose führt (MESSMER und PFEILSCHIFTER, 2000; FADEEL, 2004).

Die Scramblase wird durch intrazelluläres Ca^{2+} aktiviert (WOON et al., 1999; DEKKERS et al., 2002), gleichzeitig wird die Translokase gehemmt. Dadurch wird Kalziumeinstrom in die Zelle zu einem der Hauptsignalgeber der Eryptose. Erhöhtes intrazelluläres Kalzium sorgt zugleich auch für die Aktivierung Ca^{2+} -abhängiger Kalium-Kanäle (Gardos-Kanal), wodurch das Zellvolumen abnimmt (LANG et al., 2003a), da konsekutiv auch Chlorid und Wasser aus der Zelle getrieben werden. Schließlich aktiviert intrazelluläres Kalzium die Calpain-Proteasen, welche das Zytoskelett angreifen (PANT et al., 1983).

Die Eintrittspforte des Ca^{2+} -Einstroms sind unspezifische Kationenkanäle (LANG et al., 2003b). Physiologische Inhibitoren, die auf den Kanal einwirken, sind zum einen Erythropoetin (Epo) (MYSSINA et al., 2003), das somit also nicht nur Einfluss auf die Blutbildung ausübt, sondern auch das Ec-Überleben reguliert (POLENAKOVIC und SIKOLE, 1996). Zum anderen gehören dazu auch die Katecholamine (LANG et al., 2005b). Letztere wirken allerdings in nur unphysiologischen Dosen. Gleichwohl wurde gezeigt, dass Dopamin die Hämatoxizität von Cyclophosphamid vermindert (LAKSHMI et al., 2005). Chlorid schließlich ist ein weiterer Inhibitor dieser Kationenkanäle (HUBER et al., 2001). Daher ist die Wegnahme von Chlorid aus dem Medium ein effektiver Eryptose-Stimulus. Dieselben Kanäle werden auch durch oxidativen Stress (DURANTON et al., 2002) und schlagartige Erhöhung der Menge gelöster Substanzen im Medium (osmotischer Schock) aktiviert (LANG et al., 2005a). Bei hyperosmotischem und chloridfreiem Medium vollzieht sich eine Aktivierung der Cyclooxygenase und damit erfolgt die Freisetzung von PGE_2 (LANG et al., 2005c). COX-Inhibitoren hemmen die Eryptose in chloridfreiem Medium (LANG et al., 2005c). PGE_2 stellt also einen entscheidenden Mediator der Eryptose dar. Die Wegnahme von Glukose führt zu einer größeren Empfindlichkeit gegenüber oxidativem Stress durch Zusammenbrechen der Glutathion-Regeneration und damit ebenfalls zur Eryptose (LANG et al., 2002). Weiterhin ist die Aktivierung der Proteinkinase C am erhöhtem Ca^{2+} -Einstrom nach Glukose-Depletion beteiligt (KLARL et al., 2006). Oxidativer Stress aktiviert zusätzlich weitere Signalwege, etwa die Caspasen (MATARESSSE et al., 2005).

Ein zweiter Signalweg zur Anregung der PS-Exposition ist die Bildung von Ceramid (LANG et al., 2005d). Der genaue Mechanismus beim Ec ist noch unklar, möglicherweise wird die Scramblase durch Ceramid für intrazelluläres Kalzium sensitiviert (LANG et al., 2004). Platelet activating factor, der auch von der Zelle selbst bei Hyperosmolarität ausgeschüttet wird, löst Eryptose Ceramid-vermittelt und Kalzium-unabhängig aus (LANG et al., 2005d).

In jüngster Zeit wurde die PS-Exposition durch die Aktivierung von Membranrezeptoren wie CD47 und Glycophorin-Rezeptor gezeigt (HEAD et al., 2005). Das genaue Zusammenspiel der verschiedenen Mediatoren und das höchst wahrscheinliche Vorhandensein weiterer Signalwege muss durch weitere Forschung aufgeklärt werden.

II.1.4.4 Vorkommen und Bedeutung der Eryptose

Der Kalzium-Einstrom durch Kalzium-Ionophor oder die Aktivierung des Kationenkanals durch Chloridwegnahme stellen an und für sich unphysiologische Stimuli dar. Dennoch ist anzunehmen, dass die Eryptose bei einer Vielzahl von Erkrankungen eine Rolle spielt (LANG et al., 2006a). Bei Thalassämie, Sichelzellanämie und Glukose-6-Phosphat-dehydrogenase-

Mangel wird eine verkürzte Ec-Lebensdauer beobachtet. Diese ist zumindest teilweise durch Eryptose bedingt (LANG et al., 2002). Dasselbe gilt für die verkürzte Lebensspanne der Ec bei der Eisenmangelanämie (KEMPE et al., 2006) oder bei Phosphatmangel (BIRKA et al., 2004). Auch die Anämien bei verschiedenen Schwermetallvergiftungen könnten durch die beobachtete höhere Eryptose bedingt sein (KEMPE et al., 2005). Oxidativer Stress, der wie bereits erwähnt Eryptose auslöst, spielt eine Rolle bei zahlreichen Erkrankungen, darunter auch HIV (REPETTO et al., 1996). Eryptose scheint ein Teil der komplexen Pathophysiologie von Krankheiten wie dem Hämolytisch-urämischem-Syndrom (LANG et al., 2006b) oder der Sepsis zu sein. Hier könnte auch die stärkere Endotheladhäsion der betroffenen Ec nach PS-Exposition (GALLAGHER et al., 2003) involviert sein, welche unter Umständen eine Rolle für Mikrozirkulation und Hämostase spielt. Einen protektiven Faktor stellt Eryptose vermutlich bei Malaria dar, da infizierte Ec PS exponieren und damit aus der Blutbahn entfernt werden (DURANTON et al., 2004). Allerdings versucht sich der Erreger dagegen zu schützen, indem er Ca^{2+} aufnimmt (LANG et al., 2006a). Schließlich wurde gezeigt, dass Ec auf Hämolysine mit Eryptose reagieren. Dies weist auf die eigentliche physiologische Hauptrolle der Eryptose hin, welche darin besteht, Hämolyse zu vermeiden (LANG et al., 2006a).

II.2 Hereditäre Erkrankungen der Erythrozyten

In den letzten zwei Jahrzehnten wurden auch in der Tiermedizin viele vererbare Erkrankungen entdeckt. Hereditäre Ec-Defekte stellen eine heterogene Gruppe von Erkrankungen dar, die oftmals viele Übereinstimmungen mit ähnlichen Erkrankungen in der Humanmedizin aufweisen.

In der Humanmedizin werden die hereditären Ec-Defekte in 4 Gruppen unterteilt:

1) Häm-Defekte und Hämoglobinopathien, 2) Enzymdefizienzen, 3) Membrandefekte und ähnliche Abnormalitäten und 4) Produktions- und Reifungsdefekte.

Im Gegensatz zur Humanmedizin, in der die Thalassämie (verminderte Produktion von Hb-Ketten) und die Sichelzellanämie (Strukturdefekte der Globin-Ketten) bekannte Erkrankungen sind, treten in der Veterinärmedizin keine „echten“ Hämoglobinopathien auf. Störungen in der Hämoglobinsynthese werden durch Enzymopathien verursacht (GIGER, 2000a).

II.2.1 Erythroenzymopathien

Die physiologische Funktion und die Überlebenszeit der Ec hängt von wenigen Stoffwechselwegen ab. 90 % der benötigten Energie werden durch die Glykolyse bereitgestellt. Enzymopathien in Ec rufen je nach Funktion des betroffenen Enzyms unterschiedliche Krankheitsbilder hervor.

Durch Mutationen entstehen Enzyme, die katalytisch inaktiv oder instabil sind, die kinetische Abweichungen oder veränderte Reaktionen auf Aktivatoren, Inhibitoren oder Cofaktoren aufweisen (LEHNINGER et al., 1993).

II.2.1.1 Pyruvatkinase-Defizienz Humanmedizin

II.2.1.1.1 Biochemie und molekulare Biologie

Die Pyruvatkinase (PK) katalysiert den letzten energieliefernden Schritt der Glykolyse, die Hydrolyse von Phosphoenolpyruvat (PEP), wobei ATP gebildet wird und Pyruvat entsteht. Die HKi, PFK und PK bilden die Schlüsselenzyme der Glykolyse.

Die PK wurde aus vielen Organismen isoliert und charakterisiert. Die Primärstruktur der humanen PK weist eine hohe Ähnlichkeit mit dem M₁-PK-Enzym der Katze und anderen Spezies auf (ALLEN und MUIRHEAD, 1996). Das Enzym ist ein Tetramer mit einem Molekulargewicht von über 240 kDa und jede Untereinheit besteht prinzipiell aus drei

Domänen: A, B und C. Eine vierte kleine N-terminale Domäne wird durch ein Helix-turn-Helix-Motiv geformt (Abb. 4).

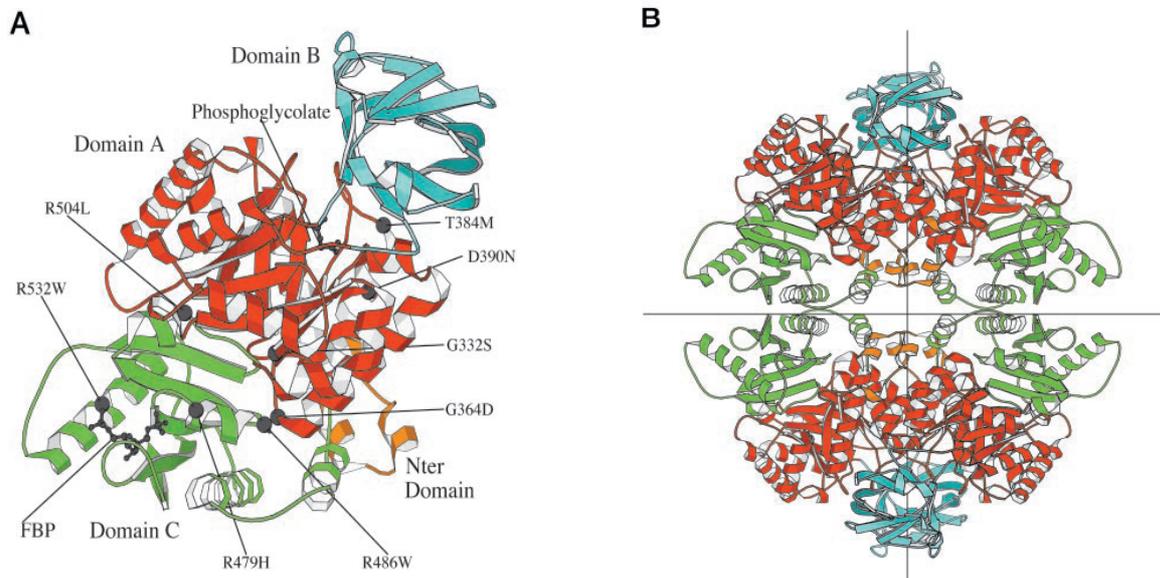


Abb. 4: Drei-dimensionale Struktur von R-PK: N-terminale Domäne gelb, A-Domäne rot, B-Domäne blau, C-Domäne grün. A: R-PK-Untereinheit. B: R-PK-Tetramer (VALENTINI et al, 2002)

Die PK benötigt für ihre optimale Aktivität Mg^{2+} und K^+ . Das Enzym tritt in zwei Konformationszuständen auf: R (relaxed) und T (tight). Der Übergang in den R-Zustand wird durch das Substrat PEP und den allosterischen Aktivator Fruktose-1,6-biphosphat (F1,6BP) begünstigt, wodurch die Substrataffinität und die katalytische Aktivität erhöht werden. Im T-Zustand sind die Substrataffinität und die katalytische Aktivität erniedrigt und die PK ist hoch sensibel für die Inhibition durch ATP. Vier homotetramere PK-Isoenzyme werden bei Säugern abhängig von Entwicklungsstufe und Gewebe exprimiert (Abb. 5). Für die Isoenzyme kodieren zwei verschiedene Gene: PK-M auf Chromosom 15 kodiert für die Isoenzyme M_1 und M_2 und PK-L auf Chromosom 1 kodiert für die Isoenzyme L und R (IMAMURA et al., 1973).

PK- M_2 ist das vorherrschende Isoenzym im fetalen Gewebe. Während der Reifung in der späten fetalen bzw. frühen postnatalen Periode treten in verschiedenen Geweben andere Isoenzyme auf, während PK- M_2 in Leukozyten, Thrombozyten, Lunge, Nieren, Milz, Fettgewebe und zu einem geringen Teil auch in der Leber erhalten bleibt. Das Isoenzym PK- M_1 entsteht durch unterschiedliches Splicing ebenfalls aus dem PK-M-Gen und kommt in quergestreifter Muskulatur und im Gehirn vor. PK- M_1 ist das einzige Isoenzym, das keiner allosterischen Modulation durch Substrate oder Cofaktoren unterliegt (NOGUCHI und TANAKA, 1982). PK-L ist das dominierende Isoenzym in den Hepatozyten und kommt zu einem geringen Anteil auch in den Nieren und im Dünndarm vor. PK-R und PK-L werden von demselben Gen kodiert, wobei sich aber die mRNA für PK-R von der für PK-L unterscheidet, hervorgerufen durch gewebespezifische Promotoren (NOGUCHI et al., 1987). Während der Reifung beginnen die Ec-Vorläuferzellen L-Untereinheiten zu synthetisieren und die Synthese von PK- M_2 geht zurück (TAKEGAWA et al., 1983). In jungen Ec haben die PK-L Untereinheiten ein höheres molekulares Gewicht als die PK-L Untereinheiten in Hepatozyten und werden als L' -Untereinheiten bezeichnet. Das PK-R Isoenzym in unreifen Ec besteht hauptsächlich aus L' -Homotetrameren (L'_4) und wird als PK-R $_1$ bezeichnet. Durch Proteolyse werden die L'_4 -Homotetramere von PK-R $_1$ in Heterotetramere (L'_2L_2) in PK-R $_2$ umgewandelt, die in reifen Ec hauptsächlich vorkommen. PK-R $_1$ in jungen Ec hat im

Gegensatz zu PK-R₂ in reifen Ec eine geringere Substrataffinität und Stabilität (SPRENGERS und STAAL, 1979).

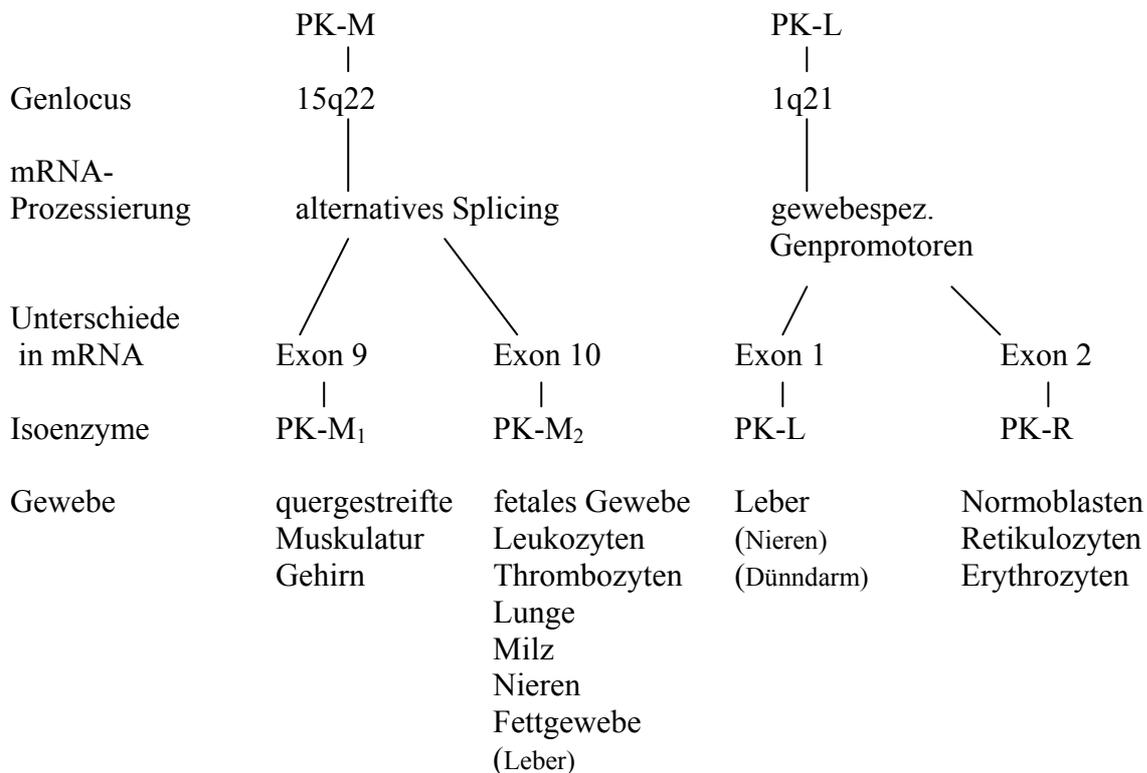


Abb. 5: Natürliche Isoenzyme der humanen Pyruvatkinase (TANAKA und PAGLIA, 1989)
() = geringer Gehalt

II.2.1.1.2 Pathogenese

Die PK-Defizienz wird autosomal rezessiv vererbt und die Mutation befindet sich im PK-L-Gen. Bisher wurden über 180 verschiedene Mutationen, wie Punktmutationen oder Splicing-site Mutationen identifiziert, die zu Deletionen, Substitutionen oder Insertionen von Basen führen (PISSARD et al., 2006). Die meisten betroffenen Personen weisen eine gemischte Heterozygotie auf, mit 2 unterschiedlich mutierten Allelen (TANAKA und PAGLIA, 1989). Die wenigen homozygot erkrankten Menschen treten in blutsverwandten Familien auf. Die mutierten Enzyme sind gekennzeichnet durch eine verminderte Aktivität, durch Instabilität und durch veränderte Regulierbarkeit. Außerdem kann der Übergang von PK-M₂ in PK-R während der Ec-Reifung gestört sein (TAKEGAWA und MIWA, 1984). In den meisten Fällen der erythrozytären PK-Defizienz ist das PK-L-Isoenzym der Leber ebenfalls betroffen, jedoch ohne metabolische oder klinische Konsequenzen (NAKASHIMA et al., 1977). Da die Hepatozyten zur Proteinbiosynthese befähigt sind, kann der Mangel durch eine Erhöhung der Enzymsynthese kompensiert werden (TANAKA und PAGLIA, 1989).

In seltenen Fällen wird in reifen Ec das M₂-Isoenzym anstelle des R-Isoenzym exprimiert (IMAMURA et al., 1973). Da das M₂-Isoenzym weniger stabil ist als das R-Isoenzym (MIWA et al., 1975), kommt es trotzdem zu einer Verringerung der Glykolyserate und zu einem Energiedefizit in den roten Blutzellen.

Durch die verminderte Aktivität des mutierten Enzyms bzw. des M₂-Ersatzenzyms kommt es zu einer Anreicherung der Metaboliten oberhalb des von der PK katalysierten Schrittes, besonders von 2,3-DPG und G6P (GIGER und NOBLE, 1991). Die stark erhöhten 2,3-DPG-Konzentrationen erleichtern durch eine Verminderung der O₂-Affinität des Hb die O₂-Abgabe ans Gewebe und tragen so zu einer Milderung der Symptome bei (TANAKA und PAGLIA,

1989). Außerdem können die hohen 2,3-DPG-Konzentrationen zu einer Inhibition anderer Schlüsselenzyme der anaeroben Glykolyse, wie HKI und PPK führen und die Aktivität des Pentosephosphat-Shunts unterdrücken (TOMODA et al., 1983). Die Konzentrationen von NAD⁺ und NADH können bis auf die Hälfte ihres normalen Levels reduziert sein und beeinträchtigen so die Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase-Reaktion.

Durch die reduzierte Energiebereitstellung in den Ec wird die Kationenpermeabilität beeinflusst – es kommt zum Kalium- und Wasserausstrom aus der Zelle. Die Ec dehydrieren, die Membranstabilität nimmt ab und es kommt zum vorzeitigen Abbau der Zellen durch das mononukleäre Phagozytensystem (ZANELLA et al., 1978). In neueren Untersuchungen wurde festgestellt, dass die R-PK auch einen Einfluss auf die Reifung von Ec-Vorläuferzellen hat, indem oxidativer Stress vermindert wird. Es wurde herausgefunden, dass bei R-PK-defizienten Mäusen Zellzyklusgene, die DNA-Reparation sowie Antioxidantien herunterreguliert sind. Gene, die eine Apoptose induzieren, werden durch R-PK inaktiviert (AISAKI et al., 2007). In einer Studie wurde Pyruvat zu proliferierenden Thymozyten hinzugegeben und festgestellt, dass Pyruvat als Antioxidanz und ROS-Fänger (reactive oxygen species) fungiert (BRANDT et al. 2000). NEUMANN et al. (2003) und LEE et al. (2003) berichteten über die essentielle Rolle von Peroxiredoxin (Prdx) 1 und 2 in Ec zum Schutz vor oxidativem Stress. Eine Inaktivierung führte zur Proteinoxidation und HK-Formation. In R-PK-defizienten Mäusen wurde festgestellt, dass die Genexpression von Prdx 1 erhöht ist und es wurde vermutet, dass Prdx in die initiale Antwort auf eine Glykolyse-Defizienz einbezogen ist. Bei der Reifung der Ec-Vorläuferzellen muss die Glykolyse gesteigert werden, um die Formation von intrazellulärem ROS zu vermindern. AISAKI et al. (2007) schlussfolgern aus den Ergebnissen der genannten Studien, dass die frühzeitige Zerstörung der Ec und die Apoptose von Ec-Vorläuferzellen an der Pathogenese der PK-Defizienz beteiligt sind.

II.2.1.1.3 Klinische Charakteristika

Zusammen mit der Glukose-6-phosphat-Dehydrogenase Defizienz stellt die PK-Defizienz die häufigste Erythroenzymopathie dar, die eine chronische Hämolyse auslöst (VALENTINE et al., 1989). Diese hereditäre Erkrankung wurde erstmals 1961 beschrieben und scheint weltweit verbreitet zu sein (VALENTINE et al., 1961). Der Defekt wird autosomal rezessiv vererbt und klinische Konsequenzen weisen nur Homozygote oder gemischte Heterozygote auf. Die primäre klinische Manifestation bei Patienten mit PK-Defizienz ist eine chronische hämolytische Anämie, die von asymptomatischen, voll kompensierten bis hin zu schweren, lebenslang transfusionsabhängigen Fällen reichen kann (PAGLIA, 1995). Ikterus und Splenomegalie können in unterschiedlichem Ausmaß auftreten. In den meisten Fällen werden Anämie bzw. Ikterus schon im Säuglingsalter bzw. in früher Kindheit auffällig. Der durch die erhöhten Konzentrationen an 2,3-DPG gehemmte Pentosephosphatweg trägt möglicherweise zu einer erhöhten Anfälligkeit der Ec gegenüber oxidativem Stress bei, da weniger NADPH für die Glutathion-Reduktase gebildet wird. Der oxidative Stress kann zu akut auftretenden hämolytischen Krisen führen, wie sie bei einigen Patienten auftreten (TANAKA und PAGLIA, 1989). Diese hämolytischen Krisen kommen vor allem in der Schwangerschaft und bei akuten Infektionen (Parvovirus) vor (DUNCAN et al., 1983).

Andere klinische Symptome der PK-Defizienz können eine Wachstumsverzögerung, selten ein Hydrops fetalis, chronische Beinulcerationen, sekundäre, akute Pankreatitis durch Cholelithiasis, Milzabszesse, Rückenmarkskompression durch extramedulläres hämatopoetisches Gewebe und Phlebitis mit arterieller Thrombose sein (TANAKA und PAGLIA, 1989).

Verschiedene unspezifische Veränderungen der Ec-Morphologie, wie Makrozytose, Stechapfelformen, Targetzellen, Howell-Jolly-Körperchen, Akanthozyten und Sphärozyten lassen sich je nach Schweregrad bei der PK-Defizienz finden. Die Anämie ist meistens

normochrom und makrozytär und geht mit einer Retikulozytose einher. Der Hkt betroffener Personen schwankt i.d.R. von 0,17-0,37 l/l bei Hb-Werten von 3,7-7,5 mmol/l. Die Leukozyten- und Thrombozytenzahlen sind normal oder wenig erniedrigt (TANAKA und PAGLIA, 1989). Die OF der Ec war in einer Studie von ZANELLA und BIANCHI (2000) in 60 % der Fälle normal und zu 40 % erhöht. Der Coombs-Test fällt negativ aus.

Eine neonatale Hyperbilirubinämie tritt häufig auf und kann auch im späteren Leben je nach Schweregrad der Hämolyse vorkommen. Gallensteine kommen ebenfalls häufig vor und 20 % der Fälle einer Studie von ZANELLA und BIANCHI (2000) benötigten eine Cholezystotomie.

Untersuchungen mit Chrom-markierten Zellen ergaben, dass die Überlebenszeit der Ec verkürzt ist. Obwohl Retikulozyten durch ihre mitochondriale oxidative Phosphorylierung mehr ATP als reife Ec bilden können, konnte herausgefunden werden, dass auch diese Zellen schon in der Milz abgebaut werden. Durch ihre verminderte Deformierbarkeit werden die Retikulozyten in der Milz zurückgehalten und durch das dort vorherrschende Milieu wird der Prozess der oxidativen Phosphorylierung vermindert (MATSUMOTO et al., 1972). Durch diesen Vorgang kommt es nach einer Splenektomie zu einer Erhöhung der Retikulozytenzahlen.

Histopathologische Untersuchungen verschiedener Gewebe PK-defizienter Patienten ergaben eine erythroide Hyperplasie des Knochenmarkes, extramedulläre Hämatopoese, Hämosiderose in Milz und Leber, Kongestion und retikuloendotheliale Hyperplasie in der Milz und Erythrophagozytose durch die Milzmakrophagen (TANAKA und PAGLIA, 1989).

Hämatologische Erkrankungen wie die Thalassämie, Ec-Enzymdefizienzen oder Hämoglobinopathien führen zu einer Überproduktion an Growth Differentiation Faktor 15 (GDF15), der während der Erythropoese von Erythroblasten freigesetzt wird. Dieser Faktor bewirkt die Inhibition der Hecpidin-Expression (DEUGNIER et al., 2008). Hecpidin ist ein Peptid, das in der Leber produziert wird und die Eisenabsorption im Darm reduziert, indem es den Eisentransporter Ferroportin in den Enterozyten abbaut (GANZ, 2005). Durch die Inhibition der Hecpidin-Expression werden bei anhaltenden Anämiezuständen die intestinale Absorption von Eisen und somit auch die Eisenkonzentrationen im Plasma erhöht. Eine Splenektomie bei PK-defizienten Patienten kann die Entwicklung einer Hämosiderose und als Folge daraus eine Leberzirrhose begünstigen. Eine durch Eisen-induzierte toxische Kardiomyopathie kann zu einer verminderten Auswurfleistung des Herzens führen (HILGARD und GERKEN, 2005). Erhöhtes redox-aktives Eisen in Häm-Proteinen oder im zytosolischen Eisen-Pool kann oxidative Schäden an Lipiden, Proteinen und Nukleinsäuren verursachen (LESNEFSKY, 1994).

Durch die kompensatorische erythroide Hyperplasie können radiologisch neben einer Hepatosplenomegalie erweiterte Knochenmarksräume auffallen (BECKER et al., 1971).

II.2.1.1.4 Diagnose

Die definitive Diagnose PK-Defizienz erfordert den Nachweis von spezifischen Enzymabnormalitäten in den Ec. Die Aktivität der PK ist in homozygot betroffenen Individuen deutlich erniedrigt und liegt bei 5-25 %. Heterozygote Träger weisen eine Aktivität von 40-60 % auf (TANAKA und PAGLIA, 1989). Die Bestimmung der Enzymaktivität ist sehr störanfällig, da in der Ec-Präparation keine Leukozyten enthalten sein dürfen. Leukozyten weisen eine 300mal höhere PK-Aktivität als Ec auf und würden das Ergebnis verfälschen. Durch den Block in der Glykolyse steigen die Konzentrationen von verschiedenen Intermediärprodukten an. Es wurden verschiedene Assays entwickelt, um z.B. die Konzentration von 2,3-DPG zu bestimmen. Methoden zur biochemischen Charakterisierung mutanter PK-Isoenzyme wurden entwickelt, sind jedoch heutzutage weitestgehend von molekularbiologischen Techniken, die eine genaue Identifikation der Mutation erlauben, verdrängt worden (PISSARD, 2006). Mit Hilfe von PCR und

Restriktionsendonukleasen-Analysen kann die PK-Defizienz auch pränatal identifiziert werden (BARONCIANI und BEUTLER, 1994).

II.2.1.1.5 Therapie

Die therapeutischen Möglichkeiten bei der PK-Defizienz sind begrenzt und beschränken sich auf unterstützende Maßnahmen. In schweren Fällen können die Patienten bei hämolytischen Krisen ein Leben lang auf Bluttransfusionen angewiesen sein.

Eine Splenektomie kann in solchen Fällen einen Anstieg der Ec- und Retikulozytenzahlen und der Hämoglobinkonzentration bewirken und die Transfusionsabhängigkeit vermindern oder sogar ganz eliminieren. Es kommt gewöhnlich zu einem Hb-Anstieg von 1-3 g/dl (DACIE, 1985). Eisen-Chelatbildner sollten eingesetzt werden, da eine Eisenüberladung häufig bei PK-defizienten Patienten vorkommt (ZANELLA et al., 2007).

Im Jahre 1982 (THOMAS et al.) wurde die erste erfolgreiche Knochenmark- (KM) transplantation zur Therapie einer hereditären hämolytischen Anämie (Thalassämie) veröffentlicht.

Eine KM-Transplantation bei einer PK-Defizienz wurde erfolgreich bei einem 5-jährigen Jungen durchgeführt. Der Junge litt nach seiner Geburt an neonatalem Ikterus und entwickelte eine transfusionsabhängige Hämolyse. Im Alter von 8 Jahren, 3 Jahre nach der KM-Transplantation, wies der Patient einen normalen Hb-Gehalt und eine normale PK-Aktivität der Ec auf (TANPHAICHITR et al., 2000). Durch die relativ hohe Mortalität und Toxizität und die Möglichkeit von Transfusionen und begleitenden Therapien wird eine KM-Transplantation zum jetzigen Zeitpunkt jedoch nur bei sehr schweren Fällen durchgeführt. Die Möglichkeit einer Gentherapie wurde erstmals von TANI et al. (1994) beschrieben, der humane L-PK cDNA in murine und humane leukämische Zelllinien und in Mäuse-KM-Zelllinien mit Hilfe eines retroviralen Vektors verbrachte. Sie demonstrierten so die anhaltende Expression von humaner L-PK mRNA im Blut und hämatopoetischem Gewebe nach KM-Transplantation. KANNO et al. (2007) verwendeten in einem Mausmodell Tiere mit hämolytischer Anämie und Splenomegalie, die homozygot für die missense-Mutation Gly338Asp auf dem murinen PK-LR-Gen waren. Es wurden 2 transgene Linien hergestellt: eine mit niedriger (hRPK_lo) und eine mit hoher Expression (hRPK_hi) des Transgens. hRPK_lo wies die gleiche PK-Aktivität in Ec wie die Kontrolltiere auf und hRPK_hi-Mäuse hatten eine doppelt so hohe PK-Aktivität und wiesen keine hämolytische Anämie mehr auf. Auch die Retikulozytenwerte hatten sich normalisiert. Die Autoren bemerkten eine negative Korrelation zwischen der PK-Aktivität in den Ec und der Anzahl an apoptotischen Ec-Vorläuferzellen in der Milz. Sie schlussfolgerten daraus, dass die PK-Defizienz auch die Reifung der Ec beeinflusst und in einer ineffektiven Erythropoese resultiert. Zusammenfassend kann man sagen, dass eine Überexpression der wild-type-PK zu einem vollkommenen Verschwinden der hämolytischen Anämie in homozygot PK-defizienten Mäusen führen kann. Weitere Studien sind nötig, um die dazugehörigen Enhancer/Promoter-Systeme zu identifizieren, damit eine zügige und in therapeutischen Ausmaßen durchführbare Expression erreicht werden kann.

II.2.1.2 Pyruvatkinase-Defizienz Veterinärmedizin - Katze

II.2.1.2.1 Vorkommen

Die feline PK-Defizienz wurde erstmals 1992 von FORD et al. bei einer Abessinierkatze in den USA beschrieben. Seither wurde die Erkrankung bei weiteren Abessiniern, Somalis und Domestic Shorthair Katzen in den USA, Belgien, England und Australien beschrieben (GIGER et al., 1997; GIGER, 2001; KOHN, 2001; MANSFIELD und CLARK, 2005; VAN GEFFEN et al., 2007; HARVEY et al., 2007a; HARVEY et al., 2007b). Bisher wurde nur in England eine Reihenuntersuchung zur Verbreitung der Erkrankung durchgeführt. Dabei wurden 126 Somalis und Abessinier untersucht: 38 % waren Trägertiere und 6 % homozygot

betroffen von der PK-Defizienz (HARVEY et al., 2007b). In Belgien wurden 14 verwandte Katzen einer PK-defizienten Somali untersucht und 7 Träger und 3 erkrankte Katzen identifiziert (VAN GEFFEN et al., 2007). Im Jahre 2002 wurde die PK-Defizienz erstmals bei einem deutschen Somali-Zuchtkater in der Klinik für kleine Haustiere, FU Berlin diagnostiziert.

II.2.1.2.2 Ätiologie und Pathogenese

Die PK-Defizienz wird bei der Katze durch einen Splicingdefekt verursacht, der eine Deletion von 13 bp am Ende von Exon 5 in der R-PK cDNA hervorruft (Abb. 6). In PK-defizienten Katzen wurden 2 veränderte Basen im Intron 5 identifiziert, die vermutlich für das abnormale Splicing verantwortlich sind und zu einem veränderten Leseraster mit frühzeitigem Stoppcodon führen (GIGER et al., 1997; GIGER 2000b). Der Defekt wird wie auch beim Menschen und beim Hund autosomal rezessiv vererbt. Erkrankte Katzen exprimieren im Gegensatz zum Hund kein M₂-Ersatzenzym (FORD et al., 1992).

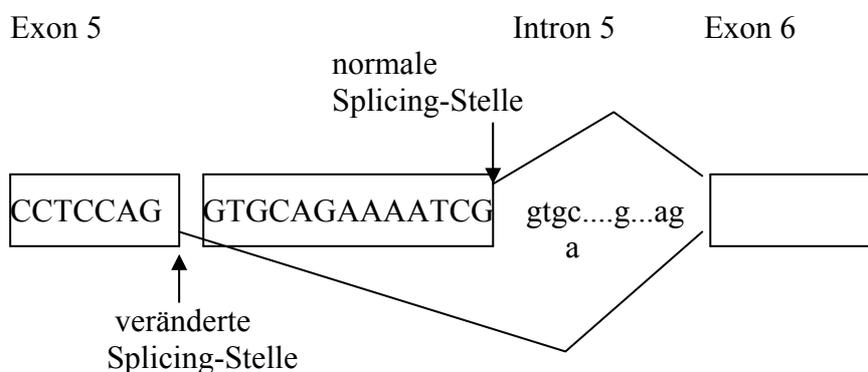


Abb. 6: Deletion von 13 bp am Ende von Exon 5 in der R-PK-cDNA bei Somali- und Abessinierkatzen mit PK-Defizienz (GIGER et al., 1997)

II.2.1.2.3 Anamnese, Klinik, bildgebende Diagnostik

Die ersten Anzeichen einer PK-Defizienz können schon mit wenigen Monaten oder aber auch erst im fortgeschrittenen Alter auffallen (GIGER, 2000b; KOHN, 2001).

Durch die chronische, intermittierende Hämolyse kann das klinische Bild sehr unterschiedlich ausfallen und von symptomlos bis hin zu schweren Anämieanzeichen reichen (GIGER et al., 1997). Der erste beschriebene Fall einer felines PK-Defizienz wurde wegen Bewegungsunlust beim Tierarzt vorgestellt (FORD et al, 1992). Bei 5 amerikanischen PK-defizienten Somalis und Abessiniern waren den Besitzern Apathie (3), blasse Schleimhäute (2), Fressen von Katzenstreu (2) oder gelegentliches Erbrechen (1) aufgefallen (KOHN, 2001). In zwei Fallberichten aus Australien und England war der Vorstellungsgrund beim Tierarzt Ikterus und Polydipsie bzw. Ikterus und Erbrechen (MANSFIELD und CLARK, 2005; HARVEY et al., 2007a). Eine 2,5 Jahre alte Somalikatze aus Belgien wurde wegen Ikterus, Lethargie, Anorexie und intermittierendem Erbrechen beim Tierarzt vorgestellt (VAN GEFFEN et al., 2007). Bei einer Reihenuntersuchung von 126 Somalis und Abessiniern in England wurden 7 Katzen als „affected“ (homozygot erkrankt) identifiziert, die alle zum Zeitpunkt der Untersuchung symptomlos waren. Eine Anamnese wurde nicht erhoben (HARVEY et al., 2007b).

Bei der Palpation des Abdomens bzw. durch Röntgen oder Sonographie konnte bei 2 von 2 Katzen eine Splenomegalie festgestellt werden (KOHN, 2001). Auch der erste beschriebene Kater aus dem Jahre 1992 wies eine vergrößerte Milz auf (FORD et al., 1992). Dies traf auch auf eine 2,5 Jahre alte weibliche Somalikatze aus Belgien zu, sonographisch stellte sich die Milz homogen vergrößert und von normaler Echogenität dar (VAN GEFFEN et al., 2007).

Bei einer 7 Jahre alten Somalikatze konnte mittels Sonographie eine Hepatosplenomegalie festgestellt werden. Die Leber wies eine verstärkte Echogenität auf, der Gallengang war verbreitert und die Milz war grobkörnig (MANSFIELD und CLARK, 2005). Eine vergrößerte Gallenblase und ein Gallengangstau wurden auch in 2 weiteren Fällen beschrieben (VAN GEFFEN et al., 2007; HARVEY et al., 2007a). Während einer Cholezystozentese und Choledochotomie wurden in dem Fallbericht von HARVEY et al. (2007a) 2 obstruierende Cholelithen entfernt, die zu 100 % aus Bilirubin bestanden.

II.2.1.2.4 Laborveränderungen

Bei der hämatologischen Untersuchung können die Zahl der Ec, die Hb-Konzentration und der Hkt bei der PK-Defizienz normal bis hochgradig vermindert sein. Bei 5 PK-defizienten Somali- und Abessinierkatzen in einer Studie schwankte der Hkt zwischen 0,13 und 0,37 l/l (M = 24,5) (KOHN, 2001). In den 3 Fallberichten aus England, Australien und Belgien wurden die Katzen mit einem Hkt von 0,18, 0,14 bzw. 0,20 l/l vorgestellt (MANSFIELD und CLARK, 2005; VAN GEFFEN et al., 2007; HARVEY et al., 2007a). Es handelt sich um eine makrozytäre-hypochrome Anämie, die gering bis hochgradig regenerativ sein kann (GIGER et al., 1997; GIGER, 2001; VAN GEFFEN et al., 2007). Durch die Retikulozytose kommt es zu einer Polychromasie; Poikilozyten treten nicht auf (KOHN, 2001). Die absoluten Retikulozyten lagen bei 5 PK-defizienten Katzen aus den USA bei 48.000/μl bis 860.000/μl (M = 418.000) und bei der belgischen Katze bei 126.000/μl (KOHN, 2001; VAN GEFFEN et al., 2007). Beim australischen Fall lag der korrigierte Retikulozytenwert bei 4,3 % (MANSFIELD und CLARK, 2005);

Eine Ec-Agglutination liegt im Gegensatz zur immunhämolytischen Anämie nicht vor und der Coombs-Test fiel bei allen 5 amerikanischen Katzen negativ aus (KOHN, 2001). Bei der Katze aus Belgien war der Test geringgradig positiv, was nicht näher begründet wurde (VAN GEFFEN et al., 2007). Die OF der Ec ist normal oder nur geringgradig erhöht (GIGER, 2001; KOHN, 2001). Die 5 Katzen einer Studie aus den USA wiesen Werte von 0,44 – 0,63 (Ref. 0,43 – 0,54 %) auf. Die MOF lag bei 2 Katzen im Referenzbereich, war bei 1 Katze geringgradig erniedrigt und bei 2 Katzen geringgradig erhöht. Das MCV war bei allen diesen Katzen erhöht (51 – 70 fl, M = 62) (KOHN, 2001). In 2 von 3 weiteren Fallberichten wurde das MCV angegeben und war ebenfalls erhöht (MANSFIELD und CLARK, 2005; VAN GEFFEN et al., 2007). Zwei von 5 PK-defizienten Katzen aus den USA wiesen im Krankheitsverlauf eine Lymphozytose mit Werten von 5000 – 7500/μl auf (KOHN, 2001). Im Fallbericht aus Australien entwickelte die Katze eine Lymphopenie (MANSFIELD und CLARK, 2005).

Bei der klinisch-chemischen Blutuntersuchung können erhöhte Leberenzyme und eine Hyperbilirubinämie auffallen. In den beiden Fallberichten aus England und Belgien wurde eine Cholelithiasis festgestellt und die Katzen wiesen Leberenzymwerterhöhungen und eine hochgradige Hyperbilirubinämie auf (HARVEY et al., 2007a; VAN GEFFEN et al., 2007). Bei den PK-defizienten Katzen aus den USA lagen die Leberenzyme bei 3 von 3 Katzen im Normbereich und das Gesamtbilirubin war bei 2 von 3 Katzen nur leicht erhöht (KOHN, 2001). Als Auslöser einer hämolytischen Krise wurde bei einer männlichen Somalikatze eine Cholangiohepatitis vermutet. Auch diese Katze wies erhöhte Leberenzyme und eine hochgradige Hyperbilirubinämie auf (MANSFIELD und CLARK, 2005). Eine hochgradige Hyperbilirubinämie bei einer PK-defizienten Katze kann als Folge einer Bilirubin-Cholelithiasis mit extrahepatischer Gallengangsobstruktion, verursacht durch eine chronische Hämolyse, auftreten (HARVEY et al., 2007a; VAN GEFFEN et al., 2005).

Ein weiterer Befund der klinisch-chemischen Blutuntersuchung kann eine Hyperglobulinämie sein. Bei 2 von 3 amerikanischen Katzen war der Globulingehalt mit Werten von 4 – 6,3 g/dl erhöht. Die PK-defiziente Katze aus Australien wies ebenfalls eine Hyperglobulinämie mit Werten von 42 – 52 g/l auf, ebenso die PK-defiziente Katze aus Belgien (60 g/l)

(MANSFIELD und CLARK, 2005; VAN GEFFEN et al., 2007). Eine Hyperglobulinämie kommt auch bei der Immunhämolytischen Anämie oder dem Krankheitsbild der erhöhten OF der Ec vor. Als Ursache dafür wird eine chronische Stimulation des Immunsystems vermutet (KOHN et al., 2000 und 2006). Eine Bilirubinurie wurde mittels Harnuntersuchung bei 1 von 2 amerikanischen PK-defizienten Katzen und bei der PK-defizienten Katze aus Belgien festgestellt (KOHN, 2001; VAN GEFFEN et al., 2007). In den anderen Studien wurde keine Harnuntersuchung durchgeführt. Über eine verlängerte plasmatische Gerinnung aufgrund einer Hepatopathie wurde in den Fallberichten von HARVEY et al. (2007a) und VAN GEFFEN et al. (2007) berichtet.

II.2.1.2.5 Diagnostik

Die angegebenen Symptome und Laborwertveränderungen geben die ersten Hinweise auf das mögliche Vorliegen einer PK-Defizienz. Die endgültige Diagnose lässt sich jedoch nur mit Hilfe spezieller Ec-Studien bzw. einem DNA-Test stellen.

Die erythrozytäre PK-Aktivität war bei 7 homozygot betroffenen Katzen mit 6 – 20 % im Vergleich zu gesunden Katzen im Gegensatz zum Hund deutlich reduziert (GIGER et al., 1997). Fünf PK-defiziente Katzen aus der Studie von KOHN (2001) wiesen eine Aktivität von 8 – 27 % auf. Bei 5 Trägertieren lag die PK-Aktivität bei 28 – 68 %. Aus diesen Zahlen wird deutlich, dass es unter Umständen schwer sein kann, anhand von Enzymaktivitätsbestimmungen eindeutig zwischen Anlageträgern und PK-defizienten Katzen zu unterscheiden. Außerdem sind Enzymaktivitätsbestimmungen aufwändig und störanfällig und können insbesondere bei Katzen mit regenerativen Anämien und fragilen Ec anderer Ursachen schwierig bzw. unmöglich sein (KOHN, 2001). Erst durch weitere Untersuchungen wie der Celluloseacetatelektrophorese und der Western Blot-Analyse kann in solchen Fällen eine Diagnose gestellt werden. Bei 7 PK-defizienten Katzen ließ sich kein R-PK-Isoenzym nachweisen (GIGER et al., 1997).

Wie auch für einige Hunderassen existiert für Somalis und Abessinier ein spezifischer DNA-Test (GIGER et al., 1997). Durch Vervielfältigung des betroffenen DNA-Abschnittes mittels PCR, Einsatz einer spezifischen Restriktionsendonuklease (REN) und Auftrennung der gewonnenen Fragmente durch eine Gelelektrophorese kann sicher zwischen homozygot betroffenen Katzen und Anlageträgern unterschieden werden.

II.2.1.2.6 Therapie

Die therapeutischen Möglichkeiten beim feline PK-Mangel sind begrenzt (GIGER 2000a, 2001). Obwohl experimentell durchgeführte KM-Transplantationen bei Hunden mit PK-Defizienz eine Heilung bewirkten, wurden sie bei der Katze noch nicht durchgeführt (WEIDEN et al., 1981). Bei Katzen mit chronischer hämolytischer Anämie aufgrund von PK-Defizienz kann eine Splenektomie bei rezidivierendem Hkt-Abfall oder bei hochgradiger Milzvergrößerung, die eine verminderte Ausdehnung des Magens oder Inappetenz bedingen kann, durchgeführt werden. Die Splenektomie soll den frühzeitigen Abbau der Ec in der Milz verhindern. Bei der ersten diagnostizierten PK-defizienten Abessinierkatze wurde eine Erhöhung des Hkt nach Splenektomie festgestellt (von 10 – 27 %, M = 12 % auf 23 – 31 %, M = 26 %) und die Katze war 10 Jahre nach der Operation noch am Leben (FORD et al., 1992; GIGER, 2001). Bei einer weiteren PK-defizienten Katze stabilisierte sich der Hkt (von 13 – 28 %, D = 20 % auf 23 – 31 %, D = 26 %), bei einer dritten besserte sich das Allgemeinbefinden nach Splenektomie, wobei jedoch der durchschnittliche Hkt von 28 auf 24 % sank (KOHN, 2001).

Da die PK-Defizienz häufig als Immunhämolyse oder Hämoplasmose fehlinterpretiert wird, werden die betroffenen Tiere oft mit Prednisolon und Doxyzyklin behandelt. Eine evt. günstige Auswirkung einer Prednisolontherapie könnte auf dem membranstabilisierenden Effekt von Glukokortikoiden und der Hemmung des mononukleären Phagozytosesystems in

der Milz beruhen und damit eine Verhinderung oder Verzögerung der Phagozytose von geschädigten Ec bedingen (CHAPMAN und GIGER, 1990). In der Studie von KOHN (2001) wurden 4 Katzen mit Prednisolon bis zu einer Dosis von 4 mg/kg täglich behandelt, jedoch konnte kein eindeutiger Einfluss dieser Behandlungen auf den Hkt-Verlauf festgestellt werden. Eine australische PK-defiziente Katze wurde mit Prednisolon 1 – 2 mg/kg täglich behandelt. Die Therapie brachte keine Verbesserung und es wurde als weiteres Immunsuppressivum Chlorambucil eingesetzt. Die Katze mußte kurze Zeit später mit einem Hkt von 10 % euthanasiert werden (MANSFIELD und CLARK, 2005). Eine 2,5 Jahre alte, PK-defiziente Somalikatze wurde wegen Cholelithiasis operiert und erhielt nach der Operation Prednisolon 1 mg/kg am Tag. Die Katze blieb 3 weitere Monate anämisch und wurde schließlich ebenfalls euthanasiert (VAN GEFFEN et al., 2007).

Bei schweren hämolytischen Krisen mit starkem Hkt-Abfall unter 10 – 15 % bzw. geplanten chirurgischen Eingriffen können Bluttransfusionen notwendig werden bzw. lebensrettend sein (WEINGART et al., 2004). Zwei PK-defiziente Katzen erhielten vor einer Probelaparotomie eine Bluttransfusion und eine von 5 Katzen aus einer amerikanischen Studie erhielt 2 Transfusionen wegen einem Hkt-Abfall bis auf 13 % (KOHN, 2001; MANSFIELD und CLARK, 2005; HARVEY et al., 2007a).

II.2.1.2.7 Prognose und Verlauf

Bisher ist unklar, warum hämolytische Krisen mit schweren Symptomen bei einigen Katzen schon im jungen Alter auftreten und bei anderen die Erkrankung im fortgeschrittenen Alter ein Zufallsbefund ist. Der Ausbruch von hämolytischen Krisen ist möglicherweise mit bestimmten Stresssituationen oder auslösenden Grunderkrankungen in Zusammenhang zu bringen. Eine damals 1-jährige Somalikatze aus England wurde wegen intermittierendem Erbrechen und Durchfall beim Haustierarzt vorgestellt. Die Untersuchungen führten zur Diagnose chronische entzündliche Gastroenteritis (lymphoplasmacytic inflammatory bowel disease (IBD)) und die Katze wurde erfolgreich mit Diät und Prednisolon behandelt. Ein Jahr später wurde sie wegen Apathie und Ikterus wieder beim Tierarzt vorgestellt. Die Katze wies zu diesem Zeitpunkt einen Hkt von 18 % auf und es wurde eine Cholelithiasis diagnostiziert (HARVEY et al., 2007a). Die Autoren des australischen Fallberichtes vermuteten als Auslöser einer hämolytischen Krise bei einer 7-jährigen Somalikatze eine Cholangiohepatitis oder die Infektion mit *Mycoplasma haemominutum* (MANSFIELD und CLARK, 2005).

Bei der von FORD et al., (1992) beschriebenen Abessinierkatze wurde eine Stabilisierung des Hkt nach Splenektomie festgestellt und die Katze war 10 Jahre nach der Operation noch am Leben. Von den 5 Katzen (Alter 2-10 Jahre) einer amerikanischen Studie mussten 4 behandelt werden: Doxycyclin und Prednisolon (4), Splenektomie (2), Bluttransfusion (1) und alle 5 Katzen waren am Ende des 1,5 – 2-jährigen Beobachtungszeitraumes noch am Leben (KOHN, 2001). Eine 7-jährige Somalikatze erholte sich nach einer Probelaparotomie, die wegen eines gestauten Gallenganges durchgeführt wurde, nicht mehr und musste euthanasiert werden. Die Katze wurde mit Amoxicillin/Clavulansäure, Doxycyclin, Prednisolon und schließlich Chlorambucil behandelt (MANSFIELD und CLARK, 2005). Eine 2-jährige Somalikatze wurde wegen einer Cholelithiasis erfolgreich operiert und vor der Operation mit Infusion, Vitamin K und einer Bluttransfusion behandelt. Nach der Operation wurde die Katze mit Amoxicillin/Clavulansäure, Metronidazol, Vitamin K, Cephalixin und Ursodeoxycholsäure therapiert. 20 Monate nach der Operation war die Katze bei gutem Allgemeinbefinden (HARVEY et al., 2007a).

Eine weitere Katze wurde aufgrund einer Cholelithiasis operiert und erhielt ähnliche Medikamente, jedoch keine Bluttransfusion (Blutgruppe B). Die Katze erholte sich nicht und musste 3 Monate nach der Operation euthanasiert werden (VAN GEFFEN et al., 2007).

II.2.1.2.8 Histopathologie / Zytologie

Die zytologische Untersuchung von 3 Knochenmarkaspiraten ergab eine milde bis mittelgradige erythroide Hyperplasie (KOHN, 2001).

Die histopathologische Untersuchung der Milz und Leber von PK-defizienten Abessinierkatzen ergab eine ausgeprägte extramedulläre Hämatopoese und eine Hämosiderose bedingt durch die chronische Hämolyse (KOHN, 2001; MANSFIELD und CLARK, 2005; VAN GEFFEN et al., 2007). Die Autopsie einer jungen PK-defizienten Somalikatze, die initial wegen Ikterus und Erbrechen vorgestellt wurde, ergab eine geringgradige Hepatomegalie, einen erweiterten Gallengang, 3 Cholelithen und eine massiv vergrößerte Milz (VAN GEFFEN et al., 2007).

Im Gegensatz zum Hund entwickeln Katzen keine Osteosklerose oder Myelofibrose (FORD et al., 1992; HARVEY, 1997; GIGER, 2001).

II.2.1.3 Pyruvatkinase-Defizienz Veterinärmedizin - Hund

II.2.1.3.1 Vorkommen

Die PK-Defizienz wurde 1969 erstmals bei einem Basenji diagnostiziert (TASKER et al., 1969; SEARCY et al., 1971). Seit dem wurde die Erkrankung auch beim Beagle (PRASSE et al., 1975; GIGER et al., 1991), West Highland White Terrier (CHAPMAN und GIGER, 1990; SKELLY et al., 1999), Cairn Terrier (SCHAER et al., 1992), Kleinpudel (GIGER, 2000a), Chihuahua, Mops, American Eskimo Toy Dog (HARVEY, 1997; GIGER, 2000a) und bei einem Langhaardackel (KOHN et al., 1999) nachgewiesen.

II.2.1.3.2 Ätiologie und Pathogenese

Der Defekt wird autosomal rezessiv vererbt und beruht beim Basenji auf der Deletion eines Basenpaares (bp) im Exon 5 des R-PK-Gens. Durch die Mutation entsteht ein nonsense Codon und die Termination erfolgt vorzeitig. Das resultierende Proteinprodukt besteht aus 166 anstatt aus 574 Aminosäuren wie im normalen Protein und besitzt keinerlei enzymatische Aktivität (WHITNEY et al., 1994; WHITNEY und LOTHROP, 1995).

Beim West Highland White Terrier (WHWT) kommt die PK-Defizienz durch die Insertion von 6 Basenpaaren am 3'-Ende von Exon 10 im R-PK-Gen zustande. Die Insertion ist an vier verschiedenen Stellen möglich. Das mutierte Gen besteht damit aus 123 anstatt 117 bp und das resultierende Protein weist zwei zusätzliche Aminosäuren auf (Lysin, Threonin), wodurch die katalytische Aktivität des Enzyms verloren geht (SKELLY et al., 1999).

Beim Cairn Terrier wird durch die bestehende Rasseverwandtschaft der gleiche molekulare Hintergrund wie beim WHWT vermutet (SCHAER et al., 1992).

Bei den anderen Rassen wurde die zugrunde liegende Mutation bisher nicht publiziert. Beim Beagle befindet sich die Mutation wahrscheinlich im Exon 1, da der Rest der R-PK-cDNA normal ist (GIGER, 2000b).

Die Überlebenszeit der Ec ist bei der PK-Defizienz verkürzt. Die in-vivo-Halbwertszeit von ⁵¹Chromium-markierten Ec bei einem betroffenen Basenji betrug nur 5,8 Tage, im Gegensatz zu 19 – 28 Tagen bei gesunden Kontrolltieren (GIGER und NOBLE, 1991).

Alle PK-defizienten Hunde exprimieren ein sogenanntes „Ersatzenzym“, das fetale M₂-Isoenzym. Im gesunden Organismus wird das M₂-Isoenzym der Ec-Vorläuferzellen durch R-PK in Normoblasten, Retikulozyten und reifen Ec ersetzt (BEUTLER, 1983). Heterozygote Trägertiere mit einem normalen und einem mutierten Allel exprimieren kein Ersatzenzym. Die Expression des M₂-Isoenzyms kommt selten auch beim Menschen mit PK-Mangel vor (TAKEGAWA und MIWA, 1984). Die mangelnde Funktionsfähigkeit von M₂-PK wird bei der Bestimmung von Metaboliten der Glykolyse deutlich. Metabolitkonzentrationen oberhalb des von PK katalysierten Schrittes, wie z.B. 2,3-DPG sind deutlich erhöht. Durch die erhöhte 2,3-DPG-Konzentration in PK-defizienten caninen Ec wird durch eine Verminderung der O₂-

Affinität des Hämoglobins die Sauerstoffabgabe ans Gewebe erleichtert. Dieser Mechanismus trägt dazu bei, dass PK-defiziente Hunde meist nur geringe Symptome zeigen (DHINDSA et al., 1976).

Wie auch beim Menschen könnte durch die Inhibition der Hepsidin-Expression bei anhaltenden Anämiezuständen die intestinale Absorption von Eisen und somit auch die Eisenkonzentrationen im Plasma erhöht werden (STEWART et al., 1953). Als Folge daraus entwickeln PK-defiziente Hunde eine Hämosiderose, Hämochromatose und Fibrose (Zirrhose) in der Leber (HARVEY, 2006). Möglicherweise ist die Myelofibrose ebenfalls eine Folgeerscheinung des Eisen-Overloads (ZAUCHA et al., 2001).

II.2.1.3.3 Symptome und Laborwertveränderungen

Die Hunde werden meist im jungen Alter wegen intermittierender Leistungsschwäche und blassen Schleimhäuten auffällig. Trotz hochgradiger Anämiezustände können die Symptome durch die Chronizität des Prozesses und die dadurch mögliche Anpassung des Organismus an das verminderte Sauerstoffangebot mild ausfallen (KOHN et al., 1999). Bei der hämatologischen Untersuchung findet man eine regenerative Anämie mit Hkt-Werten von 0,17 – 0,28 l/l, ein erniedrigtes MCHC (25 – 32 g/dL), ein erhöhtes MCV (86 – 105 fl) und Retikulozytenzahlen von 12 bis 66 % (HARVEY, 2006). Im Blutausstrich fallen makrozytäre und hypochrome Ec auf. Eine Poikilozytose wurde bisher nur nach Splenektomie beobachtet (PRASSE et al., 1975; SCHAER et al., 1992).

Durch die Hämosiderose und extramedulläre Hämatopoese kann es zu einer Vergrößerung von Milz und Leber kommen. Die meisten Hunde sterben vor Erreichen des 4. Lebensjahres an den Folgen der Leberzirrhose oder Myelofibrose. Ein PK-defizienter Cairn Terrier, der eine sekundäre Hämochromatose entwickelte, zeigte Symptome wie Lethargie, Hyperpigmentierung der Haut, Hyperglykämie und Hepatopathie (SCHAER et al., 1992). Eine Osteosklerose kann bei PK-defizienten Hunden ab dem 1. Lebensjahr röntgenologisch an den langen Röhrenknochen nachgewiesen werden (GIGER und NOBLE, 1991).

II.2.1.3.4 Diagnostik

Eine Verdachtsdiagnose kann bei den betroffenen Hunderassen gestellt werden, wenn in jungem Alter eine regenerative Anämie und eine Osteosklerose festgestellt werden (GIGER, 2000b). Die PK-Aktivität PK-defizienter Hunde ist durch die Expression des M₂-Isoenzym höher als bei gesunden Tieren. Heterozygote Trägertiere weisen eine um die Hälfte reduzierte Aktivität des Enzyms auf, da sie kein M₂-Isoenzym exprimieren. Durch die Expression des Ersatzenzym ist die Bestimmung der Enzymaktivität für eine Diagnosestellung nicht geeignet. Bei der Bestimmung der Konzentrationen von Metaboliten der Glykolyse oberhalb des von der PK katalysierten Schrittes können erhöhte Werte von z.B. 2,3-DPG und PEP festgestellt werden (GIGER und NOBLE, 1991). Aber auch mit dieser Methode lassen sich Trägertiere nicht identifizieren. Bei der Celluloseacetat-Elektrophorese findet man bei der Auftrennung von frischem Ec-Hämolyat bei PK-defizienten Hunden das M₂-PK-Isoenzym und kein R-PK-Isoenzym. Die Abwesenheit des R-PK-Isoenzym kann auch mit Hilfe von immunologischen Studien nachgewiesen werden, wie Immunoblotting und Immunopräzipitation (GIGER, 2000b). Bei der Immunopräzipitation wird auch durch die Zugabe eines Kaninchen-R-PK-Antikörpers zu einer Ec-Suspension die PK-Aktivität durch den Ersatz des R-PK-Isoenzym durch das M₂-Isoenzym nicht gesenkt (GIGER und NOBLE, 1991).

Die bekannten Genmutationen beim Basenji und beim WHWT ermöglichten die Entwicklung von Gentests bei diesen Rassen. Der Test beim Basenji beinhaltet eine Vervielfältigung des betroffenen Genabschnittes (Exon 5) mit Hilfe der Polymerasekettenreaktion (PCR). Die beiden eingesetzten Primer PK1 und PK2 sind komplementär zu einer Sequenz im Intron 4 (PK1) bzw. im Intron 5 (PK2). Die Amplifikation eines normalen caninen PK-Allels resultiert

in einem 228 bp langen Produkt, welches die Schnittstelle für eine Restriktionsendonuklease (Aci I) enthält. Das Ergebnis der Vervielfältigung eines mutierten Allels ist ein 227 bp langes Stück, welches durch die Deletion eines Basenpaares die Schnittstelle für die Restriktionsendonuklease verloren hat.

Bei der anschließenden Digestion wird das gewonnene PCR-Produkt eines normalen Allels in zwei Fragmente mit 92 und 136 bp geschnitten, wobei das Produkt des mutierten Allels intakt bleibt (227 bp). Die unterschiedlich langen Fragmente werden mit Hilfe der Agarose-Gel-Elektrophorese sichtbar gemacht, welche beim gesunden Hund 2 Banden aufweist, beim kranken Hund 1 Bande und beim Trägartier 3 Banden (92 bp, 136 bp, 227 bp) (Abb. 7) (WHITNEY und LOTHROP, 1995).

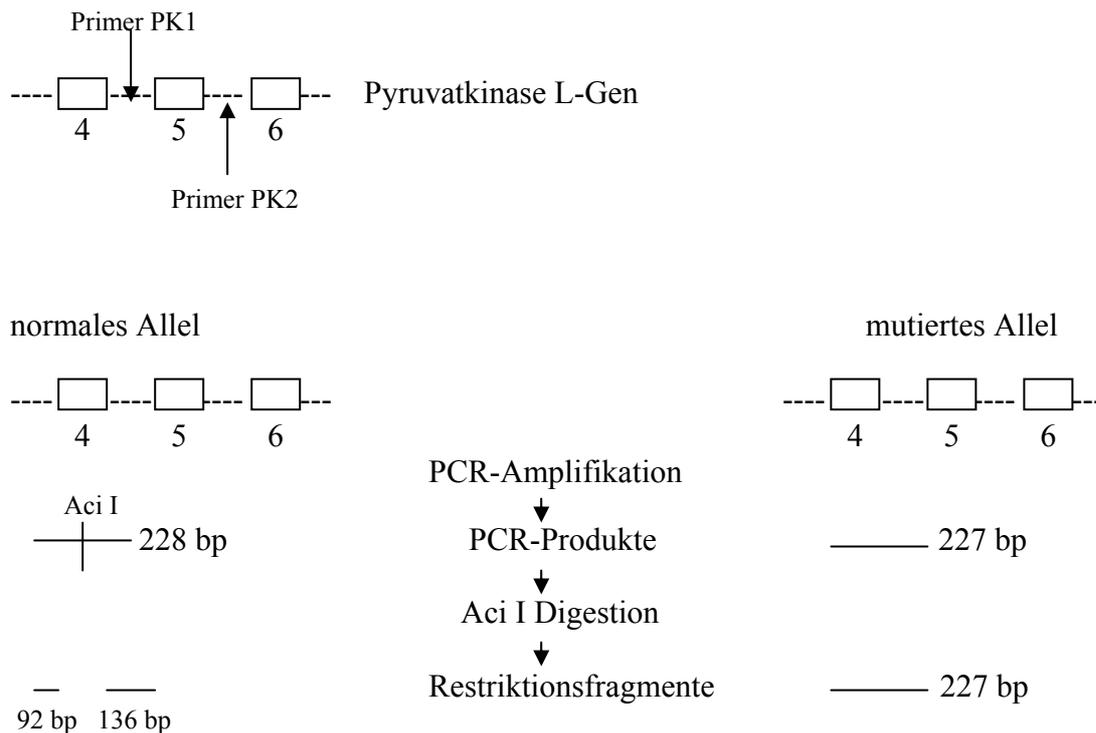


Abb. 7: Hauptschritte im genetischen Test zur Identifizierung des PK-Genotypes beim Basenji (WHITNEY und LOTHROP, 1995)

Da beim WHWT eine Insertion von 6 bp am 3'-Ende von Exon 10 vorliegt, werden für die Durchführung der PCR 2 Primer verwendet, die komplementär zu Regionen im Exon 10 und Intron 10 sind (SW1, AW2). Die Produkte der PCR-Amplifikation sind beim gesunden Hund 117 bp lang und beim PK-defizienten Hund 123 bp. Die unterschiedliche Länge der Stücke wird mit Hilfe der Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese sichtbar gemacht. Trägartiere weisen 2 Banden auf (SKELLY et al., 1999).

II.2.1.3.5 Therapie

Wie bei der Katze sind die therapeutischen Möglichkeiten auch beim Hund beschränkt. Ein geringgradig transientser Hkt-Anstieg unter Prednisolontherapie könnte auf einem membranstabilisierenden Effekt und einer Hemmung der Makrophagenaktivität und damit verlängerter Überlebenszeit der Ec beruhen (KOHN et al., 1999). In anderen Fallbeispielen konnte dieser Einfluß allerdings nicht beobachtet werden (TASKER et al, 1969; SCHAER et al., 1992).

Eine in der Humanmedizin in schweren Fällen durchgeführte Splenektomie führte bei Basenjis zu keiner klinischen Besserung (GIGER und NOBLE, 1991). Beim Basenji wurde im Jahre 2001 (ZAUCHA et al.) eine nicht-myeloablative, allogene KM-Transplantation

durchgeführt. Das KM wurde von gesunden Wurfgeschwistern (gleiches Dog-Leukocyte-Antigen (DLA) –Muster) entnommen und den PK-defizienten Hunde nach einer Ganzkörperbestrahlung mit 200 cGy (subletale Dosis) transplantiert. Nach der Transplantation wurden die Hunde einer immunsuppressiven Therapie unterzogen. Von 5 transplantierten Hunden wiesen 3 schon vor dem Eingriff eine Leberzirrhose und Myelofibrose auf. Es kam zu 2 Abstoßungen des Transplantates und ein Hund verstarb an den Folgen der Leberzirrhose 27 Tage nach der Transplantation. Zwei Hunde waren zum Abschluss der Untersuchungen, 1 Jahr nach der Transplantation, noch am Leben. Der mediane Spenderanteil hinsichtlich der kernhaltigen Zellen im peripheren Blut betrug 12 bzw. 85 % und das Ausmaß der klinischen Besserung korrelierte mit diesem Anteil. Bei beiden Hunden konnte eine R-PK-Aktivität von >50 % nachgewiesen werden. Der Hund mit 85 % Spenderanteil entwickelte keine Hämolyse mehr, der Hkt lag im Normbereich und die bestehende KM-Fibrose verschwand vollständig. Aufgrund der progressiven Leberzirrhose musste der Hund 53 Wochen nach der Transplantation euthanasiert werden. Beim zweiten Hund sank der mediane Spenderanteil auf 12 % in der 24. Woche nach der Transplantation ab. Der Hund entwickelte erneut eine Hämolyse, aber der Hkt betrug 34 % in der 81. Woche und lag damit höher als vor der Transplantation. Um den Anteil der Donor-Stammzellen nach einer KM-Transplantation zu erhöhen und die Gefahr des Wiederauftretens einer Hämolyse zu verhindern, kann man den Patienten Spender-Lymphozyten infundieren (TAKATU et al., 2003).

II.2.1.4 Hexokinase-Defizienz

Humanmedizin: Die Hexokinase (HKi) katalysiert den ersten Schritt in der Glykolyse und wandelt Glukose in Glukose-6-phosphat (G6P) um. Es existieren 4 Isoenzyme der HKi (HKi I, II, III und IV), die in unterschiedlichen Geweben vorkommen (STOCCHI et al., 1982). In den Ec kommt hauptsächlich Typ I in 3 Formen vor: HKi Ia, Ib und Ic. Die HKi-Defizienz wurde in der Humanmedizin erstmals 1967 dokumentiert und ist sehr selten (VALENTINE et al., 1967; WIJK et al., 2003). Der Defekt wird hauptsächlich autosomal rezessiv vererbt, wobei aber auch autosomal dominante Fälle bekannt sind. Betroffene Personen entwickeln eine chronische milde bis mäßige Anämie. Heterozygote Träger zeigen keine Symptome. Die molekulare Grundlage der Erkrankung ist vielfältig und äußert sich z.B in einer herabgesetzten Affinität der HKi für Glukose und ATP und einer variablen Thermostabilität. In HKi-defizienten Ec ist der Glukoseabbau vermindert und der Gehalt an 2,3-DPG, ATP und G6P erniedrigt. Der daraus resultierende Energiemangel ist der Grund für den frühzeitigen Abbau der Ec und die Entwicklung einer Anämie.

Veterinärmedizin: In der Veterinärmedizin wurde ein Mangel an HKi bisher nicht beschrieben.

II.2.1.5 Glukosephosphat-Isomerase-Defizienz

Humanmedizin: Die Glukosephosphat-Isomerase (GPI) -Defizienz stellt nach der PK-Defizienz die zweithäufigste Erythroenzymopathie der Glykolyse dar und wurde erstmals 1968 beschrieben (BAUGHAN et al., 1968). Das Enzym katalysiert die reversible Isomerisierung von G6P zu F6P. Es existieren keine Isoenzyme der GPI und folglich liegt bei einer Defizienz nicht nur in den Ec, sondern auch in anderen Zellen und Geweben ein erniedrigter Gehalt an GPI vor. Als Folge der GPI-Defizienz ist die Fähigkeit der Ec, F6P in den Pentosephosphatweg einzuschleusen, erniedrigt (<1 – 10 %). In den meisten Fällen ist der Erbgang autosomal rezessiv (PAGLIA und VALENTINE, 1974). Bisher konnten 29 Mutationen identifiziert werden, die sich vor allem in einer Instabilität des Enzyms äußern (MENTZER und GLADER, 1989; KUGLER und LAKOMEK, 2000). Zellen, die zur Proteinsynthese befähigt sind, können diese Labilität durch eine Erhöhung der Enzymsynthese kompensieren. Da Ec dazu nicht in der Lage sind, werden sie durch den

entstehenden Energiemangel verfrüht abgebaut. Daher ist eine milde bis schwere hämolytische Anämie meistens das einzige klinische Zeichen dieser multisystemischen Erkrankung. Neuromuskuläre oder mentale Störungen können auftreten (EBER et al., 1986).

Veterinärmedizin: Diese Erkrankung wurde bisher nicht beim Tier beschrieben.

II.2.1.6 Phosphofruktokinase-Defizienz

Humanmedizin: Die Phosphofruktokinase (PFK) spielt eine entscheidende Rolle in der Regulation der Glykolyse und katalysiert die Phosphorylierung von Fruktose-6-phosphat in Fruktose-1,6-bisphosphat. Das Enzym wird durch ATP gehemmt und durch ADP, AMP und Fruktose-2,6-bisphosphat aktiviert. Die PFK ist ein tetrameres Enzym, das aus drei verschiedenen Untereinheiten besteht: L, M und P (oder F). Die Untereinheiten sind nach ihrem Vorkommen in unterschiedlichen Geweben benannt: Leber/Leukozyten, Muskulatur und Plättchen (oder Fibroblasten) (WATERBURY und FRANKEL, 1972). Der M-Typ dominiert in Geweben mit starker Glykolyse, wie Skelett-, Herzmuskulatur und Gehirn, während der L-Typ in Geweben vorkommt, die von der Glukoneogenese abhängig sind, wie z.B. Leber und Fettgewebe. In *Ec* besteht die PFK zu gleichen Teilen aus M- und L-Untereinheiten, angeordnet in den fünf möglichen Tetrameren: L₄, L₃M₁, L₂M₂, L₁M₃ und M₄. Die PFK-Defizienz wird autosomal rezessiv vererbt und die meisten Fälle einer PFK-Defizienz sind das Ergebnis einer homozygot vorliegenden, mutanten M-Untereinheit. Die Erkrankung äußert sich in diesem Fall durch Hämolyse und/oder Myopathie in unterschiedlicher Stärke. Schwere Fälle eines PFK-Mangels in der Muskulatur rufen eine metabolische Myopathie hervor (Glykogen-Speicherkrankheit Typ VII) (BROWN und BROWN, 1968). Die seltener vorkommenden Fälle, in denen nur eine Hämolyse auftritt, weisen die Mutation in der L-Untereinheit auf. Wenn bei einer Mutation in der M-Untereinheit nur noch das L₄-Tetramer in den roten Blutzellen gebildet wird, ist die Gesamt-PFK-Aktivität auf die Hälfte reduziert und die Hämolyse kann meist gut kompensiert werden. Acht Missense-Mutationen, 1 Nonsense-Mutation, 1 Frameshift-Mutation und 5 Splicing-Mutationen konnten im PFK-M-Gen identifiziert werden (FUJII und MIWA, 2000).

Veterinärmedizin: Beim Hund existieren wie auch beim Menschen drei Isoformen der PFK: M (muscle), L (liver) und P (platelet), die von drei verschiedenen Genen kodiert werden. Die PFK liegt als Homo- oder Heterotetramer vor, die sich aus einer oder mehreren Isoformen zusammensetzen. Humane *Ec* enthalten zu gleichen Teilen M-PFK und L-PFK, wogegen in caninen *Ec* zu 86 % M-PFK, 12 % P-PFK und 2 % L-PFK vorkommen (GIGER et al., 1985; MHASKAR et al., 1992). Die canine M-PFK Defizienz wurde erstmals beim Englischen Springer Spaniel beschrieben (GIGER et al, 1986a; GIGER und HARVEY, 1987; GIGER, 2000a). Der Mangel wird autosomal rezessiv vererbt und kommt durch eine Nonsense-Mutation im letzten Exon des M-PFK-Gens zustande (SMITH et al., 1996a; SMITH et al., 1996b). Der daraus resultierende Austausch von Tryptophan gegen ein Stop-Codon verursacht ein 40 Aminosäuren kürzeres M-PFK-Protein und somit eine komplette Defizienz des M-PFK-Enzyms (SMITH et al., 1996b). Betroffene Hunde weisen keine PFK-Aktivität im Muskel auf und 8 – 22 % der Aktivität von gesunden Kontrolltieren in *Ec* (GIGER et al., 1988b). Durch den Block des PFK-Schrittes in der Glykolyse kommt es zu einer ATP- und 2,3-DPG-Defizienz in den *Ec* und zu einer Akkumulation von Zuckerphosphaten und Glykogen im Muskel (GIGER et al., 1986a; GIGER et al., 1986b; GIGER et al., 1988b). Beim American Cocker Spaniel kommt die PFK-Defizienz ebenfalls vor und wird durch die gleiche Mutation ausgelöst. Bei einem betroffenen weiblichen American Cocker Spaniel konnten keine Englischen Springer Spaniel-Vorfahren identifiziert werden, so dass man davon ausgeht, dass die Mutation vor der Separation der beiden Rassen entstanden ist (GIGER et al., 1992).

Betroffene Hunde entwickeln eine chronische, kompensierte Hämolyse, die von hämolytischen Krisen begleitet wird und eine Myopathie. Da canine Ec empfindlicher auf basische pH-Werte reagieren als die Ec anderer Spezies, wird vermutet, dass bei der PFK-Defizienz eine Erhöhung des pH-Wertes für die intravasale Hämolyse der roten Blutzellen verantwortlich ist. Da PFK-defiziente Ec eine deutlich erniedrigte 2,3-DPG-Konzentration aufweisen, können Chlorid-Ionen in die roten Blutzellen wandern und so den pH-Wert erhöhen (GIGER et al., 1986b; HARVEY et al., 1988). PFK-defiziente Ec beginnen bei einem pH von 7,4 zu hämolysieren.

Die niedrige 2,3-DPG-Konzentration in den Ec bewirkt außerdem eine Erhöhung der O₂-Affinität des Hämoglobins. Die relative Gewebehypoxie beeinträchtigt den Metabolismus der Muskulatur und anderer Gewebe und stimuliert die renale Erythropoetinsynthese und die Erythropoese. Dadurch wird die Hämolyse vollständig kompensiert und der Hämatokrit befindet sich, abgesehen von den hämolytischen Krisen, im Normalbereich. Die hämolytischen Krisen werden ausgelöst durch mit Hyperventilation einhergehenden Ereignissen, wie z.B. körperliche Anstrengung oder hohe Umgebungstemperaturen. Durch die Hyperventilation wird eine systemische Alkalämie induziert, durch die es zur intravasalen Hämolyse der caninen PFK-defizienten Ec kommt (GIGER und HARVEY, 1987; GIGER, 2000a). Die Krisen können schon im Alter von wenigen Monaten auftreten; sie können aber auch, bei vorsichtigem Umgang mit dem Hund, komplett fehlen. Die hämolytischen Episoden dauern in der Regel ein bis mehrere Tage und die Hunde zeigen blasse bis ikterische Schleimhäute, Lethargie, Inappetenz und oft Fieber. Außerdem kann eine Splenomegalie auftreten. Bei der Anämie handelt es sich um eine makrozytäre, hypochrome und regenerative Blutarmut, die mit korrigierten und absoluten Retikulozytenwerten von über 4 % bzw. über 200.000/μl einhergeht. Im Blutausstrich fallen Polychromasie, Anisozytose und Normoblastose auf. Leukozytose und Hyperglobulinämie können ebenfalls beobachtet werden. Die Halbwertszeit von Chrom-markierten PFK-defizienten Ec beträgt lediglich 16 Tage im Vergleich zu 20 – 28 Tagen bei gesunden caninen Ec (GIGER 2000b).

II.2.1.7 Aldolase-Defizienz

Humanmedizin: Die Aldolase katalysiert Reaktionsschritt 4 der Glykolyse, die Spaltung von Fruktose-1,6-bisphosphat unter Bildung der beiden Triosen Glycerinaldehyd-3-phosphat (GAP) und Dihydroxyacetonphosphat (DHAP). Es handelt sich um ein tetrameres Enzym, das in 3 gewebespezifischen Isoenzymen (A, B und C) vorkommt. In Ec und im Muskel ist A die dominierende Form. Die Aldolase-Defizienz ist selten und wird autosomal rezessiv vererbt. In den wenigen publizierten Krankheitsfällen lag meist eine milde bis mäßige hämolytische Anämie vor (BEUTLER et al., 1973), selten treten schwere Anämien und Rhabdomyolyse auf (YAO et al., 2004).

Veterinärmedizin: Beim Tier wurde dieser Mangel noch nicht dokumentiert.

II.2.1.8 Trisosephosphat-Isomerase-Defizienz

Humanmedizin: Das Enzym katalysiert die Isomerisierung von DHAP in GAP in der Glykolyse. Die Triosephosphat-Isomerase (TPI) ist ein dimeres Enzym. Die beiden Untereinheiten sind identisch und werden von einem Gen kodiert. Die TPI-Defizienz ist der schwerwiegendste Enzymdefekt hinsichtlich der klinischen Konsequenzen in der Glykolyse, da nahezu alle Gewebe von diesem Mangel betroffen sind. Der TPI-Mangel verursacht eine multisystemische Erkrankung, die mit einer chronischen hämolytischen Anämie, progressiven neurologischen Dysfunktion, erhöhten Infektionsanfälligkeit und Kardiomyopathien einhergeht. Die Patienten sterben meist schon in der frühen Kindheit (SCHNEIDER, 2000). Durch den TPI-Mangel ist die Konzentration des Substrates DHAP deutlich erhöht. Der Zusammenhang zwischen erhöhten DHAP-Konzentrationen und Hämolyse ist noch unklar, aber ein zytotoxischer Effekt ist wahrscheinlich (TANAKA und PAGLIA, 1989; PAGLIA,

1995). Die TPI Defizienz wird autosomal rezessiv vererbt und heterozygote Träger sind klinisch unauffällig, obwohl in den Ec nur die Hälfte der Enzymaktivität festgestellt werden konnte.

Veterinärmedizin: Die Triosephosphat-Isomerase-Defizienz wurde beim Tier bisher nicht beschrieben.

II.2.1.9 Phosphoglyceratkinase-Defizienz

Humanmedizin: Die Phosphoglyceratkinase (PGK) katalysiert die Bildung von 3-Phosphoglycerat aus 1,3-Biphosphoglycerat unter der Bildung von ATP. Dieses Enzym ist das einzige bekannte der Glykolyse, das von einem Gen auf dem X-Chromosom kodiert wird (VALENTINE und PAGLIA, 1984). Es existieren 2 Isoenzyme, PKG-1 und PKG-2. PKG-1 wird vom X-Chromosom kodiert und kommt in allen somatischen Körperzellen vor, während PKG-2 von einem autosomalen Gen nur in Spermatozoen exprimiert wird (McCARRY und THOMAS, 1987).

Die PGK-Defizienz ist eine seltene Erkrankung, und die Mutation kommt in der Regel durch die Substitution einer Aminosäure zustande (FLANAGAN et al., 2006). Der PKG-Mangel äußert sich bei betroffenen Männern in einer hämolytischen Anämie unterschiedlicher Stärke, neurologischen oder mentalen Veränderungen und einer Myopathie. Erkrankte Frauen entwickeln eine milde Anämie (McMULLIN, 1999). Heterozygote Träger der PGK-Defizienz entwickeln keine oder eine milde hämolytische Anämie.

Veterinärmedizin: Diese Erkrankung wurde bisher nur in der Humanmedizin beschrieben.

II.2.1.10 Glukose-6-phosphat Dehydrogenase-Defizienz

Humanmedizin: Die Glukose-6-phosphat Dehydrogenase (G6PD) katalysiert den ersten Schritt im Pentosephosphatweg, den Nettotransfer eines Hydridions vom C1-Atom des G6P auf NADP^+ , wobei 6-Phosphogluconolacton und $\text{NADPH} + \text{H}^+$ entstehen. NADPH wird in Ec benötigt, um oxidiertes Glutathion in der Glutathion-Reduktase-Reaktion zu reduzieren. Das reduzierte Glutathion kann dann wieder für die Reduktion von anfallenden Peroxiden und organischen Hydroperoxiden zur Verfügung stehen.

Beim G6PD-Mangel handelt es sich um die häufigste Enzymopathie beim Menschen. Das Gen für die G6PD liegt auf dem X-Chromosom und heterozygote Träger bleiben in der Regel symptomlos (PAGLIA, 1995). Die Mutation wird hauptsächlich durch die Substitution einer Aminosäure hervorgerufen (MIWA und FUJII, 1985). Die Ec der Patienten mit G6PD-Mangel sind besonders anfällig für oxidativen Stress und die Symptome der Erkrankung reichen von chronischen, hämolytischen Anämien über Medikamenten-induzierte akute Hämolyse bis hin zu asymptomatischen Verlaufsformen (MIWA und FUJII, 1996).

Veterinärmedizin: SMITH et al. (1976) untersuchten die G6PD-Aktivität von 3000 Hunden und fanden einen männlichen Weimaraner mit einer Aktivität von 44 %. Der defiziente Hund wies keine Anämie oder andere Symptome auf. Die Erkrankung konnte auch beim Pferd diagnostiziert werden. Ein Fohlen wies eine G6PD-Aktivität von weniger als 1 % auf und litt an einer persistierenden hämolytischen Anämie mit Exzentrozytose, Pyknozytose, Anisozytose, Makrozytose und Howell-Jolly-Körperchen. Die Aktivitäten von HKi und PK waren erhöht (STOCKHAM et al., 1994). DNA-Analysen des G6PD Gens ergaben eine Mutation, bei der die Base G gegen A ausgetauscht war und so aus einem Arginin-Codon ein Histidin-Codon entstand (NONNEMAN et al., 1993). Exzentrozyten und Pyknozyten wurden bei Pferden auch bei einer Flavinadenindinucleotid (FAD)-Defizienz in den Ec beobachtet. Der Mangel zieht eine verminderte Aktivität der FAD-abhängigen Enzyme Glutathion-Reduktase und Cytochrom-b₅-Reduktase nach sich und führt so zur oxidativen Schädigung der Ec (HARVEY et al., 2003).

Bei der Katze wurden diese Erkrankungen bisher nicht beschrieben.

II.2.1.11 Methämoglobinreduktase-Defizienz

Humanmedizin: Im Methämoglobin (Met-Hb) ist das zweiwertige Eisen des Häms zum dreiwertigen oxidiert und steht so nicht mehr für den Sauerstofftransport zur Verfügung. Eine Methämoglobinämie rührt entweder von einer erhöhten Produktion aufgrund von Oxidantien her oder einer verringerten Met-Hb-Reduktion bei Mangel an erythrozytären Met-Hb-Reduktaseenzymen. Das Met-Hb macht normalerweise weniger als 1 % des Gesamt-Hb aus, da gebildetes Met-Hb im Organismus kontinuierlich von der NADH-Methämoglobinreduktase (Cytochrom b₅ Reduktase) zu Hb reduziert wird.

Die rezessive, kongenitale Methämoglobinämie wird durch Defekte der erythrozytären und/oder mikrosomalen Met-Hb-Reduktase hervorgerufen. Beim Typ I der Erkrankung ist nur das erythrozytäre Enzym defekt und Betroffene entwickeln eine Zyanose; beim Typ II der Erkrankung ist zusätzlich das mikrosomale Enzym verändert und die Patienten weisen auch neurologische Dysfunktionen auf. Es wurden bisher über 30 verschiedene Mutationen identifiziert, die zu einer reduzierten Proteinstabilität und verminderten katalytischen Aktivität führen (PERCY et al., 2006).

Veterinärmedizin: Isolierte Fälle einer Met-Hb-Reduktase Defizienz wurden bei Hunden verschiedener Rassen (HARVEY et al., 1991, 1994) und bei Domestic Shorthair Katzen (HARVEY et al., 1997; GIGER et al., 1999) beschrieben. Wie beim Menschen wird ein autosomal rezessiver Erbgang vermutet, allerdings liegen detaillierte Pedigree-Analysen nicht vor. Bei den betroffenen Tieren können zyanotische Schleimhäute, Belastungsintoleranz oder Lethargie auffallen, aber häufig treten keine Symptome auf. Das Blut ist bräunlich verfärbt, aber der arterielle pO₂ ist normal (HARVEY, 2006). Der Met-Hb-Gehalt bei defizienten Hunden variiert von 13 – 41 % des Gesamt-Hb und lag bei Domestic Shorthair Katzen bei 44 – 52 % (GIGER et al., 1999; HARVEY et al., 1994). Während der Hkt bei Met-Hb-Reduktase-defizienten Hunden im Normbereich liegt, war er bei 4 von 5 Domestic Shorthair Katzen leicht bis mäßig erniedrigt (GIGER et al., 1999). Die betroffenen Tiere erreichen ein normales Lebensalter und müssen in der Regel nicht behandelt werden (HARVEY, 2006).

Ein sekundärer Mangel an Met-Hb-Reduktase wurde beim Pferd durch eine FAD-Defizienz beschrieben (HARVEY, 2006).

II.2.1.12 Porphyrie

Humanmedizin: In der Humanmedizin sind die Porphyrien angeborene oder erworbene Störungen des Pigmentstoffwechsels, die auf spezifischen Enzymdefekten der Hämbiosynthese beruhen. Die seltenen hereditären Formen werden in 8 Typen unterteilt (POBLETE-GUTIERREZ et al., 2006). Es kommen sowohl autosomal dominante als auch rezessive Erbgänge vor. Die kongenitale erythropoetische Porphyrie wird autosomal rezessiv vererbt und äußert sich in einer Anämie und ausgeprägter Lichtempfindlichkeit.

Veterinärmedizin: In einer Familie von Siamesen wurde eine Anhäufung von Uroporphyrin I, Coproporphyrin I und Protoporphyrin IX in Ec, Urin, Kot und verschiedenen Geweben festgestellt. Die Tiere zeigten Photosensitivität und Photodermatitis, schwere Anämie und Niereninsuffizienz. Als Hauptdefekt wurde bei diesen Katzen eine Defizienz von Uroporphyrinogen III-Cosynthase ähnlich wie bei Menschen und Rindern vermutet (GIDDENS et al., 1975; HASKINS und PATTERSON, 1987).

Eine andere Form der Porphyrie wurde bei Hauskatzen festgestellt und führte zu einer Verfärbung und Fluoreszenz der Zähne unter UV-Licht. Der Urin der Katzen war ebenfalls verfärbt und enthielt Uroporphyrin, Coproporphyrin und Porphobilinogen. Allerdings waren die Tiere nicht anämisch oder photosensitiv. Bei dieser Form der Porphyrie wurde ein autosomal rezessiver Erbgang vermutet (KANEKO, 2000).

II.2.1.13 Enzymdefizienzen im Nukleotid-Metabolismus

Humanmedizin:

a) *Adenosin-Deaminase-Defizienz:*

Das Enzym katalysiert die irreversible Deaminierung von Adenosin und Deoxyadenosin im Nukleotid-Stoffwechsel. Die Adenosin-Deaminase-Defizienz wird dominant vererbt und es konnten bisher verschiedene Mutationen identifiziert werden; bei den meisten handelt es sich um den Austausch einer Aminosäure (NYHAN, 2005). Betroffene Personen zeigen nahezu keine Enzymaktivität in den Ec und entwickeln schwere Immunerkrankungen, da für Lymphozyten toxische Konzentrationen von dATP entstehen (NYHAN, 2005).

b) *Adenylatkinase-Defizienz:*

Die Adenylatkinase katalysiert die Phosphorylierung von AMP zu ADP in allen Zellen des Körpers. ADP fließt anschließend in die Glykolyse ein. Die Adenylatkinase-Defizienz geht mit einer mäßigen bis schweren hämolytischen Anämie einher. Bei 2 Patienten mit Ikterus und Anämie konnte kürzlich eine Missense-Mutation und eine Deletion identifiziert werden (CORRONS et al., 2003).

c) *Pyrimidin 5`-Nukleotidase-Defizienz:*

Das Enzym katalysiert die Spaltung von Nukleosid-Monophosphaten in Nukleoside und anorganisches Phosphat. Bei einem Mangel an Pyrimidin 5`-Nukleotidase akkumulieren Pyrimidinnukleotide in den Ec und im Blutausschlag fällt eine basophile Tüpfelung der roten Blutzellen auf. Die Erkrankung wird autosomal rezessiv vererbt und bisher konnten 15 Mutationen identifiziert werden (CHIARELLI et al., 2006). Betroffene Personen entwickeln eine geringgradige bis mäßige hämolytische Anämie.

Veterinärmedizin: Enzymdefizienzen im Nukleotidmetabolismus konnten bisher nur in der Humanmedizin identifiziert werden.

II.2.2 Erythrozytenmembranstörungen

II.2.2.1 Humanmedizin

II.2.2.1.1 Hereditäre Sphärozytose (HS)

Die hereditäre Sphärozytose ist weltweit verbreitet und äußert sich in einer regenerativen hämolytischen Anämie, die durch osmotisch fragile, zum Teil sphärisch veränderte Ec gekennzeichnet sind.

Wenn die Erkrankung autosomal dominant vererbt wird, kann sie asymptomatisch bzw. mild verlaufen und erst in fortgeschrittenem Alter auffallen. Die selteneren schweren Fälle sind meist an einen autosomal rezessiven Erbgang gekoppelt (DACIE, 1985).

Der HS liegen verschiedene Proteindefekte bzw. -defizienzen zugrunde, die alle zum gleichen klinischen Bild führen. Betroffen können sein: 1) α -Spektrin, 2) β -Spektrin, 3) Ankyrin, 4) Bande 3 und 5) Protein 4.2 (GALLAGHER, 2005).

II.2.2.1.2 Hereditäre Elliptozytose (HE)

Die Elliptozytose beschreibt eine Gruppe von hereditären Ec-Defekten, die durch das Auftreten von elliptischen roten Blutzellen gekennzeichnet ist. Die Erkrankung wird autosomal dominant vererbt.

Die Erkrankung ist klinisch weniger bedeutend als die HS, da nur 10 – 15 % der Patienten eine deutliche Hämolyse entwickeln.

Ähnlich wie bei der Sphärozytose liegen der Elliptozytose verschiedene Proteindefekte (α - und β -Spektrin, Protein 4.1 und Glycophorin C) zugrunde (GALLAGHER, 2005).

Durch die unterschiedlichen molekularen Defekte, die der Erkrankung zugrunde liegen, sind die klinischen Erscheinungsformen sehr variabel und reichen von asymptomatischen Formen bis hin zu lebensbedrohlichen hämolytischen Anämien.

II.2.2.1.3 Hereditäre Stomatozytose

Stomatozyten sind Ec mit einer „mundähnlichen“ Öffnung im Zellzentrum, die bei verschiedenen erworbenen und vererbten Erkrankungen beobachtet werden. Das Auftreten von Stomatozyten ist assoziiert mit Veränderungen der Kationenpermeabilität der Ec-Membran. Eine einheitliche Theorie ihrer Entstehung existiert nicht (GALLAGHER, 2005). Verschiedene Krankheitsbilder, wie die hereditäre Stomatozytose oder die hereditäre Xerozytose gehen mit der Bildung von Stomatozyten einher. Bei der hereditären Stomatozytose liegt der Defekt im integralen Membranprotein Stomatin.

II.2.2.2 Kleintiermedizin

II.2.2.2.1 Hereditäre Abnormalitäten der Erythrozytenmembran bei der Katze

Erhöhte OF der Erythrozyten:

Die erhöhte OF der Ec stellt eine wichtige Differentialdiagnose zur PK-Defizienz dar, da diese Erkrankung ebenfalls bei Abessinern und Somalis auftritt und ähnliche Symptome verursacht.

In der Studie von KOHN et al. (2000) wurden 13 Abessinier und 5 Somalis mit chronisch hämolytischer Anämie untersucht. Den Besitzern waren unter anderem Symptome wie Lethargie, Anorexie, Gewichtsverlust und blasse Schleimhäute aufgefallen. Bei 10 von 18 Katzen wurde eine Splenomegalie festgestellt. Einige Katzen entwickelten im Untersuchungszeitraum z.T. starke hämolytische Krisen mit einem Hkt-Abfall bis auf 5 %. Das MCV der betroffenen Katzen lag zwischen 45 und 102 fl und die Retikulozytenzahlen betragen 0,1 – 28,5 %. Sechs Katzen wiesen zum Zeitpunkt der Vorstellung eine Leukozytose auf und 11 Katzen hatten im Untersuchungszeitraum eine Lymphozytose. Die OF der Ec war mit 0,66 – 0,78 % deutlich erhöht (Ref. 0,48 – 0,58 %) und im Blutausschlag fiel eine Anisozytose, Polychromasie und Makrozytose auf. Bei 12 Katzen wurde eine Hyperglobulinämie festgestellt, die sich in der Elektrophorese als polyklonal herausstellte. Die Katzen wurden z.T. mit Doxycyclin, Antibiotika und Prednisolon behandelt, jedoch konnte kein eindeutiger Einfluss auf den Hkt-Verlauf festgestellt werden. Bei 6 Katzen wurde eine Splenektomie durchgeführt und der Hkt stabilisierte sich. Vier Katzen mussten jedoch 8 bis 16 Monate nach dem Eingriff wegen Wiederauftretens einer Hämolyse euthanasiert werden. Von den übrigen 12 Katzen starben 6 Katzen innerhalb von 2 Monaten bis 7 Jahren nach Auftreten der Anämie bzw. sie wurden euthanasiert. 5 Katzen waren am Ende des Beobachtungszeitraumes nach 1,5 – 2 Jahren noch am Leben und eine Katze konnte nur 3 Monate verfolgt werden.

Die histologische Untersuchung von Milz und Leber ergaben eine Kongestion, extramedulläre Hämatopoese und eine Hämosiderose.

In 6 Knochenmark-Aspiraten wurde eine erythroide Hyperplasie diagnostiziert.

Die erythrozytäre PK-Aktivität wurde bei 6 Katzen untersucht und betrug 105 – 167 % der Enzymaktivität gesunder Kontrollkatzen. Die Erhöhung der Enzymaktivität war vermutlich auf das vermehrte Auftreten junger Ec zurückzuführen. Bei 10 Katzen wurde der DNA-Test auf PK-Defizienz durchgeführt: kein Tier war homozygot und eine Katze heterozygot betroffen. Die molekulare Basis der Erkrankung konnte nicht ermittelt werden, aber ein Membrandefekt ist wahrscheinlich.

Poikilozytose:

GIGER et al. (1994) berichteten von einer jungen Domestic Shorthair Katze, die eine deutlich regenerative Anämie und eine ausgeprägte Poikilozytose im Blutausschlag zeigte. Der vermutete Membrandefekt konnte allerdings nicht näher charakterisiert werden.

II.2.2.2 Hereditäre Abnormalitäten der Erythrozytenmembran beim Hund

Hereditäre Protein Bande 4.1 Defizienz:

Bei einem nicht-anämischen Mischlingshund wurde von SMITH et al. (1983) eine Elliptozytose, Mikrozytose und Poikilozytose festgestellt. Die mechanische Stabilität der Ec war vermindert und die OF erhöht. Auf molekularer Ebene wurde ein Mangel an dem Protein Bande 4.1 charakterisiert. Die Elterntiere des Probanden wiesen ebenfalls einen verminderten Gehalt (50 %) an dem Protein Bande 4.1 in ihrer Ec-Membran auf und im Blutausschlag konnten einige Elliptozyten gefunden werden. Die Spektrin-Aktin-Bindungsregion des Proteins Bande 4.1 bildet die 10-kDa Domäne aus und die Aminosäuresequenz wird durch das 21-AS codierende alternative Exon und durch das 59-AS codierende konstitutive Exon verschlüsselt. Immunoblotting-Untersuchungen der Ec-Membran des Probanden ergaben das Vorhandensein eines geringen Gehalts an 76-kDa Polypeptiden, denen das 21-AS-Segment fehlte und eine sehr schwache Bande an normalem Protein 4.1. RT-PCR-Analysen und die Sequenzierung der geklonten Protein 4.1-cDNA aus Retikulozyten zeigten übereinstimmend, dass die mRNA mit einer Deletion des alternativen Exons die dominante Form war und nur eine kleine Menge normale mRNA vorhanden war.

Hereditäre Stomatozytose:

Bei der HS handelt es sich um eine autosomal rezessiv vererbte Erkrankung, die beim Alaskan Malamute (FLETCH et al., 1975), beim Drentse Patrijshond (SLAPPENDEL et al., 1991; SLAPPENDEL et al., 1994), beim Zwergschnauzer (GIGER et al., 1988; BROWN et al., 1994) und beim Mittelschnauzer (BOFANTI et al., 2004; PALTRINIERI et al., 2007) beschrieben wurde; ihre Ätiologie ist unbekannt. Die HS verursacht beim Schnauzer keine klinischen Symptome. Hämatologisch kann eine Stomatozytose, Makrozytose, Anisozytose, ein relativ hoher Hkt, ein vermindertes MCHC, eine erhöhte OF und erhöhte Konzentrationen an intrazellulärem Na^+ und K^+ und 2,3-DPG beobachtet werden. Die Überlebenszeit der Ec ist nur wenig verkürzt. In der Studie von PALTRINIERI et al. (2007) wurde untersucht, ob bei der Stomatozytose der Schnauzer ebenso wie bei einem ähnlichen Krankheitsbild beim Menschen das Protein Stomatin defekt ist. Es konnte nachgewiesen werden, dass die Erkrankung beim Hund mit keiner Stomatin-Defizienz einhergeht.

Eine Besonderheit beim Alaskan Malamute ist die gleichzeitig vorliegende Chondrodysplasie; zusätzlich zeigen die Tiere eine Splenomegalie. Die Anämie ist durch Stomatozytose, Makrozytose, ein tiefes MCHC, erhöhte OF, verkürzte Ec-Überlebenszeit, Retikulozytose sowie erythroide Hyperplasie im Knochenmark charakterisiert. Natrium- und Wassergehalt in den Ec sind erhöht (PINKERTON et al., 1974).

Die Stomatozytose beim Drentse Patrijshond geht mit einer hypertrophen Gastritis einher und ähnelt damit der Menetrier's Erkrankung beim Menschen. Betroffene Tiere zeigen eine hämolytische Anämie, erhöhte OF, normales MCV, einen normalen Kationengehalt der Ec und ein normales Proteinprofil der Membran. Der Phosphatidylgehalt ist erniedrigt und der Sphingomyelingehalt in der Ec-Membran und im Plasma erhöht. Es wird ein Defekt im Lipidmetabolismus vermutet, der durch die Veränderungen in der Lipidzusammensetzung des Plasmas die Deformierung der Ec hervorruft (SLAPPENDEL et al., 1991; SLAPPENDEL et al., 1994).

Nichtsphärozytäre Anämie:

Diese autosomal rezessiv vererbte Erkrankung wurde beim Beagle beschrieben und geht mit einer chronischen Anämie, Splenomegalie und Retikulozytose einher. Die Ec waren morphologisch normal, aber ihre Halbwertszeit war verkürzt und die OF geringgradig erhöht. Eine mögliche Ursache könnte eine Störung der Kalzium-Pumpe sein (MAGGIO-PRICE et al., 1988; HINDS et al., 1989).

Hereditäre Sphärozytose:

Diese Erkrankung wurde von SLAPPENDEL (1998) beim Golden Retriever beschrieben. Mittels Radioimmunoassay konnte ein deutlich erniedrigter Spektringegehalt in den Ec nachgewiesen werden. Die Spektrindefizienz scheint beim Golden Retriever in den Niederlanden häufiger vorzukommen und ist vermutlich autosomal dominant vererbt. Unklar blieb, ob dieser Defekt zu einer hämolytischen Anämie führt.

Erhöhte OF der Erythrozyten:

Eine erhöhte OF der Ec wurde bei einem Englischen Springer Spaniel beschrieben. Der Hund war nicht anämisch, aber im Blutausschlag fiel eine Retikulozytose, Polychromasie und Poikilozytose auf. Außerdem zeigte der Hund eine anstrengungsinduzierte Hyperthermie (RAND und O'BRIEN, 1987).

Erhöhter Kaliumgehalt der Erythrozyten:

Canine Ec verlieren ihre Na^+/K^+ -ATPase normalerweise bereits während der späten Reifungsphase im Knochenmark (INABA und MAEDE, 1986). Daher haben die Ec einen hohen Natrium- und tiefen Kaliumgehalt ähnlich den Serumelektrolyten und eine Hyperkaliämie nach intravaskulärer Hämolyse ist in der Regel nicht zu erwarten. Ec von Shiba Inus und Akita Inus stellen eine Ausnahme dar, da sie ihre Na^+/K^+ -ATPase während der Erythropoese nicht verlieren (INABA und MAEDE, 1986). Kürzlich wurde auch über eine Pseudohyperkaliämie bei einem Shar Pei berichtet (BATTISON, 2007). Ec von diesen Rassen sind in vitro „undicht“ und wenn Serum nicht sofort von geronnenem Blut getrennt wird, kann eine Pseudohyperkaliämie resultieren (DEGEN, 1987).

Familiäre Mikrozytose:

Die Mikrozytose wurde in der Familie der Akita Inus und Shiba Inus beschrieben. Es konnten keinen sonstigen Blutveränderungen oder Symptome beobachtet werden (GOOKIN et al., 1998).

II.2.3 Produktions- und Reifungsdefekte

Produktions- und Reifungsdefekte resultieren gewöhnlich nicht nur in einer nicht-regenerativen Anämie, sondern können auch andere Zellreihen betreffen. Das klassische Beispiel für solch eine Erkrankung ist die Zyklische Hämatoopoese bei grauen Collies (JONES, 1983). Eine selektive Cobalamin (Vitamin B12) Malabsorption durch einen intrinsischen Cobalamin-Rezeptor-Defekt im Ileum wurde beim Riesenschnauzer (FYFE et al., 1989) und beim Border Collie (OUTERBRIDGE et al., 1996) beschrieben.

Bei der familiären Makrozytose des Pudels handelt es sich vermutlich um einen Reifungsdefekt, der mit einer Leukopenie, neutrophilen Hypersegmentierung und Thrombozytopenie, aber keiner Anämie einhergeht (SCHALM, 1976).

II.3 Diagnostik bei hereditären Erythrozytendefekten

An eine vererbte Erkrankung sollte gedacht werden, wenn:

1. andere Ursachen der Erkrankung wie Infektionen, Intoxikationen oder Tumorerkrankungen ausgeschlossen werden können,
2. Geschwistertiere des erkrankten Tieres ähnliche Symptome aufweisen,
3. die Symptome schon in jungem Alter zu beobachten sind oder
4. die Symptome progressiv, persistierend oder intermittierend auftreten (GIGER, 2001).

Auf dem Weg zur Diagnose eines hereditären Ec-Defektes sollten zunächst verschiedene Routinelabortests wie eine hämatologische Untersuchung, klinisch-chemische

Blutuntersuchungen, Urinanalyse, Untersuchungen auf verschiedene Infektionserkrankungen, wie bei der Katze FeLV, FIV und Hämoplasmen und ein Coombs-Test durchgeführt werden. Die hämatologische Untersuchung sollte die Bestimmung der Ec-Indizes und eine Zählung der Retikulozyten beinhalten.

Von einer regenerativen Anämie spricht man, wenn die Retikulozytenzahl erhöht ist, wobei die Angaben zu den normalen Werten aggregierter Retikulozyten bei der Katze sehr unterschiedlich sind: 0,5 – 2 % bzw. bis 60.000/µl (KRAFT et al., 1999), 0,4 – 0,9 % (TVEDTEN, 1994) und 0 – 0,4 % bzw. <15.000/µl (TVEDTEN und WEISS, 1999).

Heute spricht man bei Retikulozytenzahlen > 0,4 % (> 40.000/µl) von einer regenerativen Anämie (GIGER, 2001). PERKINS et al. (1995) bestimmten die Retikulozytenzahl mittels Durchflusszytometrie und gaben Werte für aggregierte Retikulozyten von 0,1 – 0,5 % (8.500 – 42.000/µl) und für punktierte Retikulozyten von 2 – 17 % (225.000 – 1.270.000/µl) an. Mittels manueller Methode gab TVEDTEN (1994) 1,4 – 10,8 % punktierte Retikulozyten als Referenzwert an.

Spezielle Untersuchungen zur Identifizierung hereditärer Ec-Defekte sind:

- Ec-Membran-Elektrophorese
- Bestimmung der OF der Ec
- Hb-Chromatographie
- Hb-Sauerstoff-Dissoziationskurve
- Bestimmung von erythrozytären Enzymaktivitäten
- Bestimmung der Konzentration von verschiedenen Metaboliten
- DNA-Test zur Identifikation von Mutationen

II.3.1 Diagnostische Tests bei Verdacht einer hereditären Stoffwechselfunktionsstörung der Erythrozyten

Zur Identifizierung von Enzymdefizienzen bzw. -mutationen stehen verschiedene Verfahren zur Verfügung.

Mittels **Enzymaktivitätsbestimmung** lässt sich der Enzymgehalt einer Probe feststellen. Dabei wird die Reaktionsgeschwindigkeit gemessen, mit der ein von diesem Enzym katalysierter Substratumsatz erfolgt. Sind die Reaktionspartner im Überschuss vorhanden, so ist die Geschwindigkeit des Substratumsatzes proportional der Menge des Enzyms (LEHNINGER et al., 1993).

Zur **Reindarstellung eines Enzyms** stehen verschiedene Methoden zur Verfügung:

- Fraktionierte Fällung durch verschiedene Salzkonzentrationen oder Lösungsmittel
- Denaturierung unerwünschter Proteine bei verschiedenen Hitze- oder pH-Stufen
- Fraktionierte Zentrifugation
- Gelfiltration
- Elektrophorese
- Chromatographische Methoden

Die **quantitative Bestimmung von Isoenzymen** ist z.B. durch Ionenaustauschchromatographie möglich. Durch quantitative Hemmung mit einem nur gegen eine Untereinheit gerichteten Antikörper lässt sich eine differenzierte Bestimmung der Aktivität der Isoenzyme durchführen (LEHNINGER et al., 1993).

Die durch Enzymdefizienzen entstehenden Einschränkungen von Reaktionen lassen sich auch anhand von **Konzentrationsmessungen von Substraten oder Produkten** dieser Enzyme verdeutlichen.

Mittels **PCR und Restriktionsendonukleasen-Analysen** lassen sich Enzymdefizienzen sicher identifizieren, wenn der genetische Defekt bekannt ist.

Mit Hilfe der PCR-Untersuchung wird der gesuchte DNA-Abschnitt vervielfältigt und anschließend an bestimmten Stellen mit Restriktionsendonukleasen fragmentiert. Gehen diese Schnittstellen durch Mutationen verloren, weisen die resultierenden Fragmente eine andere

Größe auf. Die Größenunterschiede können wiederum mittels Gelelektrophoresen sichtbar gemacht werden. So lassen sich auch heterozygote Träger von Mutationen sicher identifizieren.

II.3.2 Diagnostische Tests bei Verdacht auf Abnormalitäten der Erythrozytenmembran

Einfach durchzuführende Untersuchungsmöglichkeiten bei Verdacht einer Membranstörung sind die Beurteilung der Ec-Morphologie und die Bestimmung der Osmotischen Fragilität (OF) der Ec.

Morphologie der Erythrozyten: Fast alle Membranstörungen führen zu diagnostisch verwertbaren Veränderungen der Ec-Gestalt wie Sphärozyten, Elliptozyten, Membranfragmenten, Poikilozyten, Stomatozyten, Akanthozyten oder Target-Zellen (HARVEY, 2001).

Osmotische Fragilität der Erythrozyten: Durch die Bestimmung der OF wird die in vitro stattfindende Lyse von Ec, die zunehmend hypotoneren NaCl-Lösungen ausgesetzt werden, gemessen. Dabei wird die Menge von Hb im Überstand kolorimetrisch bestimmt und zu einer Probe vollständiger Hämolyse in Relation gesetzt. Die mittlere OF (MOF) gibt die NaCl-Konzentration an, bei der 50 % der Ec lysiert sind (BEUTLER, 1990). Die OF ist ein grober Index für das Verhältnis von Ec-Oberfläche zum Volumen. Wenn Ec in zunehmend hypotone Lösungen verbracht werden, wird Wasser osmotisch in die roten Blutzellen aufgenommen, was zu einer Schwellung der Zelle führt. Wenn das kritische Volumen erreicht ist, wird die Ec-Membran zunächst undicht und platzt dann. Die OF korreliert mit der Größe der Zellen, da große Zellen mehr Wasser aufnehmen können. Hunde-Ec sind aufgrund ihrer Größe von 70 fl demzufolge bedeutend resistenter als die kleineren Katzen-Ec (JAIN, 1986). Junge Ec (Retikulozyten) sollten aufgrund ihrer Größe eine höhere osmotische Resistenz aufweisen. Bei 124 Coombs-negativen anämischen Hunden bestand eine negative Korrelation zwischen der OF und der Retikulozytenzahl (SLAPPENDEL, 1978). Eine positive Korrelation konnten HARRIS und KELLERMEYER (1970) zwischen Abnormalitäten der OF und einer verkürzten Überlebenszeit der Ec feststellen. Verschiedene extrinsische (pH, Temperatur, Oxygenation) und intrinsische (Alter, Rasse, Lipämie, Alter der Ec) Faktoren können die OF beeinflussen und die Werte sind daher laborabhängig (CRIBB et al., 1986; OYEWALE, 1992). Normalerweise sind etwa die Hälfte der Ec bei einer NaCl-Konzentration von 0,36 – 0,48 % (Hund) und 0,46 – 0,64 % (Katze) hämolysiert (JAIN, 1973a). Dieser Wert kann bei pathologischen Zuständen, die mit Ec-Membranveränderungen einhergehen, erhöht sein, d.h. die Zellen hämolysieren bereits bei Konzentrationen, die näher der physiologischen Konzentration von 0,9 % liegen. Bei zahlreichen hereditären Ec-Defekten des Menschen ist die OF erhöht, wie bei der hereditären Sphärozytose, Elliptozytose, Stomatozytose und RH-Defizienzsyndrom (PALEK und JAROLIM, 1995) sowie bei erworbenen Erkrankungen, wie der autoimmunhämolytischen Anämie (BEUTLER, 1990). Sphärozyten und Stomatozyten haben ein verringertes Oberflächen/Volumen-Verhältnis und können weniger als normale Zellen anschwellen, bevor sie lysieren.

Bei verschiedenen erworbenen Erkrankungen beim Hund wie der Immunnhämolytischen Anämie (JAIN, 1973a; SLAPPENDEL, 1978; BARASCUD et al., 1998) und der Babesiose (MAKINDE und BOBADE, 1994), jedoch auch bei angeborenen Ec-Membranstörungen wie Stomatozytose (PNKERTON et al., 1974; GIGER et al., 1988a; SLAPPENDEL et al., 1998), Elliptozytose (SMITH et al., 1983) oder Sphärozytose (SLAPPENDEL, 1998), wurde über eine erhöhte OF berichtet. Bei Enzymdefizienzen wie der PK-Defizienz (PRASSE et al., 1975; CHAPMAN und GIGER, 1990; GIGER und NOBLE, 1991) oder der PFK-Defizienz (GIGER et al., 1985) war die OF normal.

Bedeutend weniger ist über Veränderungen der OF bei verschiedenen Erkrankungen bei der Katze bekannt. JAIN (1973a) bestimmte die OF bei 49 gesunden Katzen, wobei das PCV von 27 – 45 % und die Retikulozytenzahl von 0 – 0,6 % schwankte. HK befanden sich in 1 – 56 % der Ec, wobei 10 Katzen über 10 % HKi und 2 Katzen über 50 % HK aufwiesen. Die Hämolyse begann meist bei einer NaCl-Konzentration von 0,55 – 0,75 % und eine vollständige Hämolyse war bei 0,5 % oder niedrigeren Konzentrationen erreicht. Das Blut einiger Katzen hämolysierte auch bei Konzentrationen von 0,1 % nicht vollständig. Die MOF schwankte zwischen 0,46 und 0,64 % (D 0,54 %). Die OF korrelierte weder mit der Prozentzahl an HK noch mit dem PCV, dem Alter oder dem Geschlecht. Wurde das Blut bei 4°C für 3 – 4 Tage aufbewahrt, so hatte dies keinen signifikanten Einfluss auf die OF.

JAIN (1973a) bestimmte bei jeweils einer Katze mit Hämobartonellose und vermutlich autoimmunhämolytischer Anämie die OF und stellte eine erhöhte OF der Ec bei diesen Erkrankungen fest. Dies wurde von MAEDE und HATA (1975) und MAEDE (1980) bei 15 bzw. 5 experimentell mit Hämobartonellen infizierten Katzen bestätigt. Nach Splenektomie nahm die OF der infizierten Katzen deutlich ab (MAEDE, 1978). Über eine erhöhte OF wurde bei einer jungen Katze mit Verdacht auf eine angeborene Ec-Membranabnormalität und hochgradiger Poikilozytose berichtet (GIGER et al., 1994). In einer Studie von KOHN et al. (2000) wurde von einer erhöhten OF bei 13 Abessinern und 5 Somalis berichtet (siehe II.2.3.2.1).

In der Studie von KOHN (2001) und ECKMANN (2006) war die OF bei 17 Katzen mit hämolytischer Anämie erhöht. Die Katzen mit Hämolyse wiesen die höchsten Werte auf. KOHN (2001) untersuchte zusätzlich die OF bei 6 Katzen mit PK-Defizienz. Bei 4 nicht-splenektomierten Katzen lag die MOF mit 0,49 % nicht oder nur geringgradig (0,59, 0,60, 0,61 %) über dem Medianwert (0,54 %) der Kontrollkatzen. Bei den splenektomierten Katzen mit PK-Defizienz lagen die Werte mit 0,44 und 0,47 % noch niedriger, wobei auch bei Katzen mit erhöhter OF der Ec niedrigere Werte nach Splenektomie festgestellt wurden. JAIN (1973a) bestimmte bei jeweils einer Katze mit Hämobartonellose und vermutlich autoimmunhämolytischer Anämie die OF und stellte eine erhöhte OF der Ec bei diesen Erkrankungen fest. Dies wurde von MAEDE und HATA (1975) und MAEDE (1980) bei 15 bzw. 5 experimentell mit Hämobartonellen infizierten Katzen bestätigt. Nach Splenektomie nahm die OF der infizierten Katzen deutlich ab (MAEDE, 1978). Das glukosearme Milieu in der Milz kann zu einem Verlust an Cholesterol und Phospholipiden in der Ec-Membran führen und dadurch eine erhöhte MOF verursachen (MAEDE, 1980). Bei bereits vorgeschädigten Ec kann es also in der Milz zu einer weiteren Schädigung kommen, die in einer erhöhten MOF resultieren. In einer weiteren Studie von KOHN et al. (2006) wiesen 10 Katzen mit primärer immunhämolytischer Anämie eine erhöhte OF (MOF 0,62 – 0,79 %) auf. KOHN (2001) und ECKMANN (2006) haben die MOF auch bei anderen Anämieformen untersucht. Die MOF-Werte bei Hämolyse lagen deutlich über derjenigen der Gruppen akute Blutungsanämie und Entzündung/Neoplasie, allerdings war kein signifikanter Unterschied zu den Gruppen intra- und extramedullär bedingte nichtregenerative Anämie feststellbar. Bei Katzen mit chronischer Blutungsanämie wurden die niedrigsten MOF-Werte gemessen. Über niedrige MOF-Werte bei Eisenmangelanämien wurde bei Mensch und Hund berichtet (SLAPPENDEL, 1978; BEUTLER, 1990; RAO et al., 1999). Mit einem Median von 0,54 % lag die MOF bei 41 % der Katzen mit akuter Blutungsanämie deutlich über den Werten der Kontrollkatzen. Der Median der MOF der Katzen mit intramedullär bedingter nicht regenerativer Anämie war mit 0,67 % nach den hämolytischer Anämien der höchste. 67 % der Katzen hatten eine erhöhte MOF. Der Median der MOF von den Katzen aus der Gruppe der extramedullär bedingten nicht regenerativen Anämie betrug 0,58 %. 75 % der Katzen mit Fettgewebsnekrosen, Abszessen oder parenchymatösen Entzündungen, beide Tiere mit FIP und 67 % der Patienten mit Neoplasien und Begleitentzündung hatten eine erhöhte MOF. Modifizierung der Membranproteine durch Oxidantien oder Proteasen von aktivierten

Neutrophilen (WEISS und LABUGLIO, 1980) sowie eine Membranlipidoxidation (CLASTER et al., 1987) könnten ursächlich sein. Zusätzlich wurde eine vermehrte IgG-Bindung an Ec bei entzündlichen Erkrankungen beschrieben (WEISS und MCCLAY, 1988). In der Studie von OTTENJANN et al. (2006) wiesen 2 von 14 Katzen mit Anämie aufgrund chronischer Entzündungen eine erhöhte OF auf.

Sodiumdodecylsulfat-Polyacrylamidgelelektrophorese (SDS-Page) und andere Membranproteinanalysen: Mittels SDS-Page lassen sich fehlende Membranproteine oder Proteinmutanten von verändertem Molekulargewicht identifizieren. Die eindimensionale Gelelektrophorese kann Informationen über die Größe und Reinheit der Proteine sowie über die Anzahl und Größe der Untereinheiten geben. Mit der zweidimensionalen Gelelektrophorese erhält man zusätzlich Informationen über die Ladung der Proteine (AUSBEL et al., 1991).

Die SDS-Page-Technik kann verfeinert werden, wenn sie mit einer Antikörpermarkierung (Immunoblot oder Western Blot) kombiniert wird.

Spektrindefekte können auch durch eine tryptische Proteolyse untersucht werden (PALEK und JAROLIM, 1993). Die Größe der resultierenden Fragmente ist bei vielen elliptozytischen Spektrinen verändert. Solche Spektrine sind oft hitzelabil und führen zu einer Fragmentierung der Ec bei niedrigeren Temperaturen als normal (Ec-Hitzestabilitätstest).

II.3.3 Diagnostische Tests bei Verdacht auf Hämoglobinabnormalitäten

Zur Auftrennung der verschiedenen Hb- oder Globinketten dienen Elektrophorese oder Ionenaustauschchromatographie. In den letzten Jahren fand insbesondere die Hochdruckflüssigkeitschromatographie (HPLC) in die Hb-Analytik Eingang. Anionen- und Kationen-Austauschchromatographie dienen der Auftrennung und Quantifizierung der Hb-Tetramere (HUISMAN, 1987). Die Umkehrphasen-Hochdruckflüssigkeitschromatographie (RP-HPLC) ist gegenwärtig die Standardmethode, um Globinketten aufzutrennen, zu identifizieren und zu quantifizieren.

Weitere diagnostische Möglichkeiten zur Identifizierung von Hämoglobinopathien sind die Fingerprint-Peptidanalyse und molekulare Analysen mittels PCR (PUCCI et al., 1985; GALBIATA et al., 2006).

Eine verschobene Sauerstoffdissoziationskurve kann ebenfalls Hinweise auf eine angeborene Hb-Fehlfunktion geben (IMAI et al., 2001).

III Material und Methoden

III.1 Verbreitung Pyruvatkinase-Defizienz

Über einen Untersuchungszeitraum von 4,5 Jahren (Mai 02 – Oktober 06) wurden über Züchter- bzw. Besitzerkontakte PK-Testergebnisse von Somalis und Abessinern insbesondere aus Deutschland, aber auch aus anderen europäischen Ländern zusammengetragen. Die Untersuchung auf PK-Mangel wurde mittels PCR-Testung am Josephine Deubler Genetic Disease Testing Laboratory, University of Pennsylvania und ab Anfang 2006 bei Laboklin, Bad Kissingen durchgeführt. Mit Hilfe der Züchter und durch Datenbanken im Internet wurden die 4-Generationen umfassenden Stammbäume der getesteten Abessinier und Somalis gesammelt. Die Verteilung der Testergebnisse auf die europäischen Länder wurde je nach Land in dem die Katzen gezüchtet wurden bzw. Zwingernamen bestimmt.

III.2 Patienten und Besitzerbefragung

Besitzer von homozygot betroffenen Katzen wurden kontaktiert und mit Hilfe eines Fragebogens Herkunft der Katzen, Zuchteinsatz, Symptome, Verlauf und etwaige Behandlungen in Erfahrung gebracht.

Fragebogen zur Pyruvatkinase-Defizienz

- 1) Züchten Sie Somali oder Abessinier oder beide Rassen?
Somali Abessinier Beides
- 2) Wie viele Katzen dieser Rasse befinden sich in Ihrem Bestand?
___ Somali Alter: ___ Geschlecht: w ___ m ___
___ Abessinier Alter: ___ Geschlecht: w ___ m ___
- 3) Seit wann züchten Sie diese Rasse / wie viele Würfe pro Jahr?
- 4) Wie viele und welche externen Kater sind an Ihrer Zucht beteiligt?
- 5) Woher stammen die Katzen, mit denen Sie Ihre Zucht begonnen haben?
- 7) Züchten Sie mit Carrier-Tieren (Anlageträgern)?
- 8) Setzen Sie nur noch getestete Tiere zur Zucht ein?
- 9) Falls Sie bedauerlicherweise Besitzer kranker Katzen sind:
 - a) Wurden die kranken Tiere selbstgezüchtet oder zugekauft?
 - b) Haben Sie mit den Katzen bereits gezüchtet?
 - c) Ist Ihnen bekannt, ob es unter den evt. Nachkommen Carrier bzw. erkrankte Tiere gibt?
- 10) Wann bzw. in welchem Alter sind Ihnen die ersten Symptome bei den betroffenen Tieren aufgefallen?

	ja	nein	Alter
• Blasse Schleimhäute	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
• Abnahme der Aktivität	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
• Mangelnde Fresslust	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
• Umfangsvermehrung Bauch	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
• Andere	<input type="radio"/>	<input type="radio"/>	
- 11) Welche Veränderungen sind Ihnen im Krankheitsverlauf aufgefallen?
- 12) Waren die Symptome intermittierend, d.h. erholte sich das Tier immer wieder oder wurde die Katze zunehmend schwächer?
- 13) Können Sie einen Zusammenhang zwischen Verschlechterung und bestimmten Umständen feststellen, z.B. Stress?
- 14) Wie hat die Katze, falls Sie gezüchtet haben, Trächtigkeit / Geburt überstanden?

- 15) Haben Sie Daten von PK-defizienten Katzen von Ihrem Tierarzt–z.B. Blutbilder, Röntgenbilder etc.?
 Würden Sie uns diese Unterlagen zur Verfügung stellen?
 Ja nein bereits beigelegt
 Wer ist Ihr Tierarzt, dürfen wir ihn ggf. kontaktieren?
- 16) Es ist sinnvoll, bei Ihrer erkrankten Katze regelmäßig ein Blutbild anfertigen zu lassen. Wären Sie bereit, uns Blut für ein Blutbild zu schicken, damit wir den Verlauf der Erkrankung verfolgen können?

Bisher angefertigte Laboruntersuchungsergebnisse von PK-defizienten Katzen wurden über die Besitzer oder den Haustierarzt erfragt und ausgewertet. Die Besitzer wurden aufgefordert, EDTA-Blut und Plasma zur Durchführung von Verlaufsuntersuchungen an die Klinik für kleine Haustiere der FU Berlin zu senden. Folgende labordiagnostischen Untersuchungen wurden durchgeführt: hämatologische Untersuchung (Hb, Ec-Zahl, Hämatokrit, MCV, MCH, MCHC, Leukozytenzahl, Thrombozytenzahl) und klinisch-chemische Blutuntersuchung (Natrium, Kalium, Glukose, Harnstoff, Kreatinin, Gesamteiweiß, Albumin, ALT, AP, AST, GLDH und Bilirubin). Weiterhin wurden eine manuelle Zählung der aggregierten und punktierten Retikulozyten und eine manuelle Erstellung des Differentialblutbildes durchgeführt. Die Ec-Morphologie wurde beurteilt und die OF der Ec bestimmt. Der Krankheitsverlauf wurde über wiederholte Kontakte (e-mail, Telefon) genau erfragt und möglichst lange erfasst.

III.3 Hämatologie

III.3.1 Rotes Blutbild, Leukozyten, Thrombozyten

Die Anzahl der Ec, Leukozyten und Thrombozyten sowie die Parameter Hb, Hkt, MCV, MCH und MCHC wurden mit dem Analysegerät CELL-DYN 3500 (Abbott Diagnostika, Wiesbaden) aus EDTA-Blut untersucht. Bei jeder Probe wurde zusätzlich der Mikrohämatokrit bestimmt (Mikro-Hkt, Packed Cell Volume, PCV). Da Katzen kleine Ec und große Thrombozyten haben, kann es bei der Bestimmung im Analysegerät zu Falschmessungen kommen. Da die Thrombozyten nicht manuell anhand eines Blutausriches ausgezählt wurden, gehen die Werte nicht in die Auswertung ein.

Tab. 1: Referenzbereiche für die hämatologische Untersuchung nach ROLEFF (2004). Ein Hkt von 0,25 – 0,31 l/l wurde als geringgradige, von 0,17 – 0,24 l/l als mittelgradige und < 0,17 l/l als schwere Anämie bezeichnet.

Parameter	Referenzbereiche
Hämatokrit (l/l)	0,32 – 0,49
Hämoglobin (mmol/l)	6,7 – 10,0
Erythrozyten ($\times 10^{12}/l$)	7,1 – 12,0
MCV (fl)	36 – 47
MCHC (mmol/l)	20 – 22
Leukozyten (G/l)	6 – 15
Thrombozyten (G/l)	150 – 500

III.3.2 Retikulozyten

Die Darstellung der Retikulozyten erfolgte durch Färbung von 100 μ l Kalium-EDTA-Blut in 100 μ l einer 1 %igen Brilliantkresylblaulösung (Firma Sarstedt, Nümbrecht). Bei der Auszählung im Ölimmersionsfeld wurde zwischen Retikulozyten mit punktierter und mit aggregierter Substantia granulofilamentosa unterschieden (WEISER, 1994). Aus dem

relativen Gehalt aggregierter Retikulozyten in Prozent der Ec wurde durch Multiplikation mit der Ec-Zahl/ μl Blut die absolute Anzahl an Retikulozyten/ μl Blut errechnet:

$$\text{Absolute Retikulozytenzahl } (/ \mu\text{l}) = \frac{\text{Retikulozyten } (\%) \times \text{Erythrozyten } (/ \mu\text{l})}{100 \%}$$

Die Beurteilung der erythroiden Regeneration erfolgt bevorzugt anhand der absoluten Retikulozytenzahl. GIGER (2000a) bezeichnet eine Anämie als regenerativ bei einer aggregierten Retikulozytenzahl $> 40.000/\mu\text{l}$.

Das Ausmaß der Regeneration lässt sich des Weiteren in Relation zum Schweregrad der Anämie beurteilen. Hierzu wird die korrigierte Retikulozytenzahl nach folgender Formel errechnet:

$$\text{Korrigierte Retikulozytenzahl } (\%) = \frac{\text{Retikulozyten } (\%) \times \text{Hämatokrit des Patienten } (\%)}{\text{Hämatokrit } 37 \% \text{ (Normwert)}}$$

Eine Anämie wird bei einer korrigierten Retikulozytenzahl von $> 0,4 \%$ als regenerativ bezeichnet, wobei als normaler Hkt der Katze $0,37 \text{ l/l}$ eingesetzt wird (GIGER, 2000a).

III.3.3 Differentialblutbild und Erythrozytenmorphologie

Bei 12 Patienten wurde mindestens ein Blutausstrich zur Beurteilung des Differentialblutbildes angefertigt. Nach Lufttrocknung und Färbung mittels May-Grünwald Färbelösung wurden die Ausstriche unter dem Lichtmikroskop Axiophot® (Firma Zeiss) bei 1000-facher Vergrößerung im Ölimmersionsfeld beurteilt (Tab.2). Es wurden 100 weiße Blutzellen ausgezählt.

Tab. 2: Referenzwerte für das Differentialblutbild (nach KRAFT et al. [2005])

Zellen	Relative Zahl (%)	Absolute Zahl ($10^3/\text{l}$)
Neutrophile stabkernige Granulozyten	0 – 4	0 – 0,6
Neutrophile segmentkernige Granulozyten	60 – 78	3 – 11
Eosinophile Granulozyten	0 – 6	0,04 – 0,6
Basophile Granulozyten	< 1	$< 0,04$
Lymphozyten	15 – 38	1 – 4
Monozyten	0 - 4	0,04 – 0,5

Die Beurteilung der Ec-Morphologie erfolgte ebenfalls anhand dieser Blutausstriche. Folgende Parameter wurden bewertet: Größe, Farbintensität (Hämoglobingehalt) und Form der Ec. Der Grad der Anisozytose und Polychromasie wurde semiquantitativ beurteilt und mit 1+, 2+, 3+ und 4+ angegeben. Die Auswertung erfolgte nach den Bewertungskriterien nach WEISS (1984). Der Grad der Anisozytose wurde bei 7-15 morphologisch veränderten Zellen pro Gesichtsfeld mit 1+, bei 16-20 mit 2+, bei 21-29 mit 3+ und bei > 30 Zellen mit 4+ angegeben. Je nach Anzahl der polychromatischen Zellen erfolgte die Einteilung der Polychromasie folgendermassen: 2-7 polychromatische Zellen 1+, 8-14 Zellen 2+, 15-29 Zellen 3+ und über 30 polychromatische Zellen 4+.

III.3.4 Osmotische Fragilität der Erythrozyten (OF)

Für die Bestimmung der erythrozytären OF wurde in unterschiedlich konzentrierte Salzlösungen EDTA-Blut pipettiert und nach einer Inkubationszeit mit anschließendem Zentrifugieren die optische Dichte des Überstandes photometrisch bestimmt (modifiziert nach BEUTLER, 1990).

Die laboreigenen Referenzwerte wurden 2005 im Rahmen einer Dissertation (ECKMANN) erstellt: MOF 0,43 – 0,54 %.

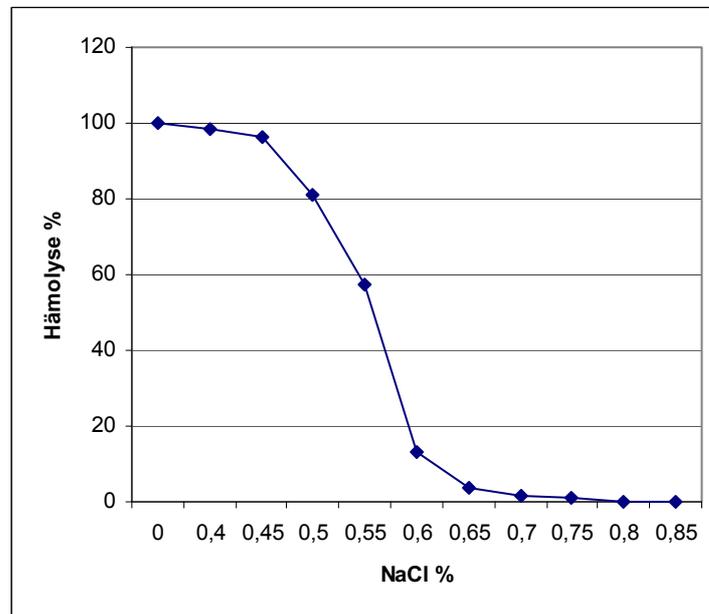


Abb. 8: Erythrozytäre osmotische Fragilitätskurve einer gesunden Kontrollkatze (Mittlere osmotische Fragilität 0,57 %)

III.3.5 Objektträgeragglutination der Erythrozyten

Ein Tropfen EDTA-Blut wurde auf einen Objektträger gegeben und auf Agglutination der Ec untersucht. War makroskopisch keine Agglutination sichtbar, wurde der Blutstropfen bei 100-facher Vergrößerung unter dem Mikroskop beurteilt. Um agglutinierende Ec von einer Rouleaux-Bildung zu unterscheiden, wurde dem Blutstropfen physiologische Kochsalzlösung zugesetzt und danach erneut mikroskopisch untersucht. Bei Vorliegen einer Agglutination wurden die Ec dreimal gewaschen und danach erneut beurteilt. Zum Waschen der Ec wurden diese mit NaCl oder Phosphate Buffered Saline (PBS) (Dulbecco, Biochrom, Berlin) vorsichtig vermischt und 2-3 Minuten bei 1500 Umdrehungen zentrifugiert. Der Überstand wurde danach vorsichtig entfernt und der Vorgang insgesamt 3-mal wiederholt. Blieb nach dem Waschen die Agglutination bestehen, handelte es sich um eine persistierende Ec-Agglutination (Autoagglutination).

III.4 Klinisch-chemische Blutuntersuchung

Mit dem Analysegerät COBAS MIRA PLUS (Fa. Hoffmann-La Roche Diagnostica, Grenzach-Wyhlen) wurden folgende Parameter aus Heparinplasma bestimmt: Natrium, Kalium, Glukose, Harnstoff, Kreatinin, ALT, AST, AP, GLDH, Bilirubin, Protein und Albumin. In Tabelle 4 sind die Referenzwerte zusammengefasst:

Tab. 4: Referenzwerte für die klinisch-chemische Blutuntersuchung nach KRAFT et al. (2005)

Parameter	Referenzbereich
Natrium (mmol/l)	145 – 158
Kalium (mmol/l)	3,6 – 4,8
Glukose (mmol/l)	5,0 – 10,0
Protein (g/l)	60 – 75
Albumin (g/l)	25 – 40
Globulin (g/l)	< 40
Alanin-Amino-Transferase (ALT) (U/l)	≤ 70
Aspartat-Amino-Transferase (AST) (U/l)	≤ 30
Glutamat-Dehydrogenase (GLDH) (U/l)	≤ 6
Alkalische Phosphatase (AP) (U/l)	≤ 76
Bilirubin (µmol/l)	< 5,1
Harnstoff (mmol/l)	5,0 – 11,3
Kreatinin (µmol/l)	≤ 168,0

III.5 Histopathologische Untersuchungen

Gewebeproben von 3 Abessinierkatzen (1 verstorben, 2 euthanasiert) wurden in Formalin fixiert und zur Untersuchung an die Tierpathologie der FU Berlin geschickt.

Die technische Aufarbeitung und Auswertung wurde durch zertifizierte Pathologen durchgeführt. Mit dem TISSUE-TEK VIP wurden die Proben über Nacht mit 70 %igem, 96 %igem, 100 %igem Alkohol und Xylol entwässert und in Paraffin getränkt.

Eine Metallwanne mit der Probe wurde mit flüssigem Paraffinöl aufgegossen und erhärtet.

Mit dem Schlitten-Paraffin-Mikrotom wurden 1-3 µm dicke Scheiben abgehoben und diese auf einen Objektträger verbracht. Von den vorliegenden Organen wurden jeweils zwei Präparate hergestellt, die anschließend mit Hämotoxylin-Eosin (HE-Färbung) bzw. Berliner Blau gefärbt wurden.

Die HE-Färbung dient der Übersichtsdarstellung/-beurteilung und mit der Berliner Blau-Färbung lässt sich das Hämosiderin bzw. das Eisen identifizieren.

III.6 Stammbaumanalysen

Die 4 Generationen umfassenden Stammbäume PK-defizienter Katzen wurden hinsichtlich gemeinsamer Vorfahren und vorliegender Verwandtschaftsverhältnisse untersucht. Die verwandtschaftlichen Verhältnisse wurden in einem Stammbaum graphisch dargestellt.

III.7 Statistische Auswertung

Bei der statistischen Auswertung wurde von einer nicht-symmetrischen Verteilung der Parameter ausgegangen. Daher erfolgte die Auswertung mittels nicht-parametrischer Statistik mit Angaben von Minimal- und Maximalwerten sowie Median (M) und Mittelwert (arithmetisches Mittel, MW).

Zum Vergleich von 2 Gruppen wurde der Mann-Whitney-U-Test angewendet. Dabei galt $p < 0,05$ als statistisch signifikant. Als statistische Software wurde SPSS 14 für Windows (Microsoft, 2005) verwendet.

IV Ergebnisse

IV.1 Vorkommen und Verbreitung der Pyruvatkinase-Defizienz

Im Untersuchungszeitraum konnten PK-Testergebnisse von insgesamt 503 Somali- und Abessinierkatzen gesammelt und ausgewertet werden. Die Ergebnisse der DNA-Testung sind in Abb. 9 graphisch dargestellt und in Tab. 5 mit Rasse- und Geschlechtsverteilung angegeben.

Insgesamt unterschied sich die Anzahl der Testergebnisse zwischen Somalis und Abessiniern kaum. Die Verteilung von PK-defizienten, Carriern und normalen Katzen war bei beiden Rassen ähnlich. Das Verhältnis von PK-defizienten Katzen und Anlageträgern unterschied sich zwischen männlichen und weiblichen Tieren ebenfalls nur unwesentlich.

Tab. 5: Ergebnisse der DNA-Testung auf erythrozytäre Pyruvatkinase-Defizienz bei 503 Abessinier- und Somalikatzen

Parameter	Gesamt (n)	PK-defizient % (n)	Anlageträger % (n)	Normal % (n)
Katzen	503	7,5 (38)	23,3 (117)	69,2 (348)
Abessinier	239	8,0 (19)	23,8 (57)	68,2 (163)
Somali	264	7,2 (19)	22,7 (60)	70,1 (185)
Abessinier m / mk	84	9,5 (8)	29,8 (25)	60,7 (51)
Abessinier w / wk	155	7,1 (11)	20,6 (32)	72,3 (112)
Somali m / mk	94	8,5 (8)	22,3 (21)	69,2 (65)
Somali w / wk	170	6,5 (11)	22,9 (39)	70,6 (120)

m – männlich, w – weiblich, k – kastriert, PK – Pyruvatkinase, n – Anzahl

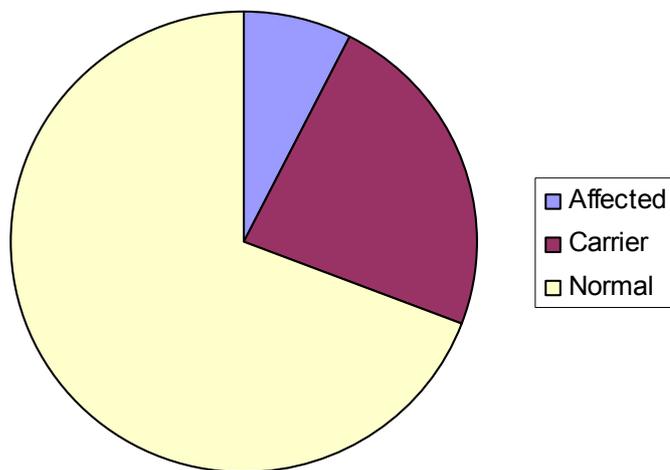


Abb. 9: Verteilung der Ergebnisse der Testung auf PK-Defizienz bei 503 Abessinier- und Somalikatzen

Die Verteilung der 503 PK-Testergebnisse auf die europäischen Länder wurde je nach Land, in dem die Katzen gezüchtet wurden bzw. Zwingernamen bestimmt (Tab. 6).

Tab. 6: Verteilung von 503 auf PK-Defizienz getesteten Abessiniern und Somalis auf die verschiedenen europäischen Länder

Land	Gesamt (n)	PK-defizient (n)	Anlageträger (n)	Normal (n)
Belgien	4	-	1	3
Dänemark	31	-	6	25
Deutschland	329	32	87	210
England	6	-	1	5
Finnland	37	1	7	29
Frankreich	3	-	1	2
Italien	7	-	2	5
Niederlande	26	1	4	21
Norwegen	5	-	-	5
Österreich	2	2	-	-
Schweden	32	-	5	27
Schweiz	18	2	3	13
Tschechien	3	-	-	3

IV.2 Patienten und Besitzerbefragung

IV.2.1 Fragebogen

Von den insgesamt 38 PK-defizienten Katzen konnte an 24 Besitzer von 28 dieser Katzen (4 Besitzer hatten jeweils 2 PK-defiziente Katzen) ein Fragebogen verschickt werden. Von den restlichen 10 Katzen konnte der derzeitige Besitzer nicht kontaktiert oder ermittelt werden.

Von den 28 Fragebögen wurden 16 vollständig beantwortet (8 Züchter, 4 Besitzer). Von 12 weiteren Besitzern PK-defizienter Katzen konnten Informationen zum Krankheitsverlauf nicht anhand des Fragebogens, aber per e-mail oder Telefon erhalten werden.

Von 8 Züchtern züchteten 4 Somalis, 3 Abessinier und einer beide Rassen. In 12 verschiedenen Haushalten lebten 1 – 20 Katzen (M = 3) mit einem durchschnittlichen Alter pro Privathaushalt zwischen 1,8 und 7,3 Jahren. Weibliche Katzen wurden sowohl von Züchtern als auch von Besitzern häufiger gehalten (1 – 10/Haushalt, M = 5) als männliche Tiere (0 – 5/Haushalt, M = 1). Die verschiedenen Zuchten bestanden seit 1 – 17 Jahren (M = 10). Im Durchschnitt hatten die 8 Züchter 2 Würfe pro Jahr und die Katzen, mit denen die Zucht begonnen wurde, stammten aus Deutschland (6), USA (3), England (1), Niederlande (1) und der Schweiz (1). Es wurden durchschnittlich 4 (0 – 7) externe Kater zur Zucht eingesetzt. Alle befragten Züchter würden auch weiterhin mit Carriern züchten und 2 Züchter setzen auch nicht getestete Tiere zur Zucht ein. Die Antworten der Fragen 9 – 16 des Fragebogens sind unter dem folgenden Abschnitt zusammengefasst.

IV.2.2 Krankheitsverlauf

Der Krankheitsverlauf konnte mit Hilfe der Fragebögen und persönlichen Kontakten von 27 der 38 PK-defizienten Katzen über einen Zeitraum von 0,8 bis 11,3 Jahren (M = 4,2 Jahre) erfasst werden. Elf Tiere waren laut Besitzerangaben bis zu einem Alter von 0,8 bis 7,8 Jahren (Median [M] = 4,4 Jahre) symptomlos. 15 Katzen zeigten ab einem Alter von 0,1 bis 5 Jahren (M = 1,7 Jahre) (Abb. 10; Tab. 7) intermittierend verschiedene Symptome: Apathie (n=11), Durchfall (8), blasse Schleimhäute (6), Inappetenz (6), schlechte Fellqualität (6), Ikterus (5), Gewichtsverlust (4), Umfangsvermehrung Abdomen (4) und Fressen von Katzenstreu (3). Eine bis zu diesem Zeitpunkt symptomlose Katze verstarb nach einer Geburt im Alter von 1,7 Jahren. Vier Besitzer stellten einen Zusammenhang zwischen Stresssituationen (Ausstellungen n = 2, Hitze n = 1, Stress allgemein n = 1) und der Ausbildung von Symptomen fest.

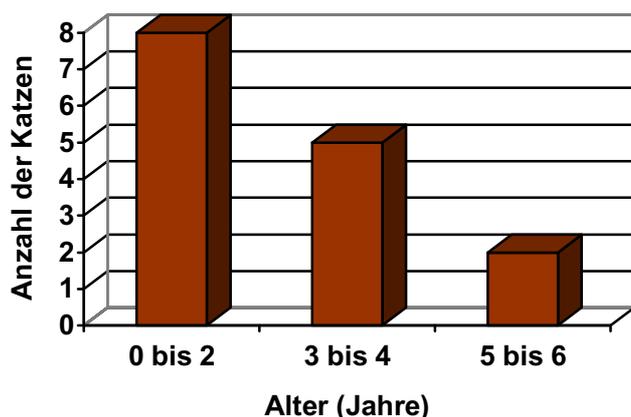


Abb. 10: Altersverteilung bei Beginn der Symptome von 15 PK-defizienten Somalis und Abessiniern

Tab. 7: Krankheitsverlauf bei 15 PK-defizienten Somalis und Abessiniern mit Symptomen (siehe auch Tab. 12)

Katze	Rasse	Geschlecht	Geburt	Alter Beginn Symptome (Jahre)	euthanasiert/ gestorben (Jahre)
1	S	wk	08/2002	1,5	nein
2	A	w	01/2001	1,5	gest. 2,7
3	A	w	04/1999	5	eutha. 8,2
4	A	m	04/2002	4,3	eutha. 4,4
5	A	w	01/2004	2,5	eutha. 3,3
6	A	w	08/2002	0,5	eutha. 1,3
7	A	wk	08/2002	0,5	nein
8	A	m	09/2001	1,3	gest. 3,8
9	S	m	12/1990	4	gest. 11,3
10	S	mk	06/1997	3,3	gest. 6,5
11	S	mk	01/2003	1,8	nein
12	S	wk	03/2001	4,5	nein
13	S	w	01/2006	0,1	nein
14	S	w	01/2006	0,1	nein
15	S	mk	01/2003	4,4	nein

A – Abessinier, S – Somali, m – männlich, w – weiblich, k – kastriert, gest. – gestorben, eutha. – euthanasiert

IV.3 Hämatologie

IV.3.1 Rotes Blutbild

Eine hämatologische Untersuchung konnte bei 22 PK-defizienten Katzen durchgeführt werden (Tab. 8 und 13). 14 der 22 Katzen wiesen Symptome auf; 8 waren symptomlos. Von 5 der 22 Katzen standen Blutuntersuchungen sowohl von der Klinik für kleine Haustiere der FU Berlin als auch vom Haustierarzt zur Verfügung, 5 Katzen wiesen ausschließlich Laboruntersuchungen vom Haustierarzt auf und die Blutproben von 12 Katzen wurden nur an der Klinik für kleine Haustiere untersucht. Von 14 Katzen konnten 2 – 10 Folgeuntersuchungen (M = 4) über einen Zeitraum von 1 – 70 Monaten (M = 18) ausgewertet werden.

Tab. 8: Ergebnisse der initialen hämatologischen Untersuchung von 22 PK-defizienten Katzen

Parameter	Bereich	Median	Referenz-Bereich	Abnorme Werte	
				n	%
Hämatokrit (l/l)	0,13 – 0,44	0,29	0,32 – 0,49	↓ 16/22	73
Hämoglobin (mmol/l)	2,5 – 10,6	6,6	6,7 – 10,0	↓ 11/22 ↑ 1/22	50 5
Erythrozyten (x 10 ¹² /l)	2,2 – 11,4	5,9	7,1 – 12,0	↓ 17/22	77
MCV (fl)	41 – 71	53	36 – 47	↑ 15/22	68
MCHC (mmol/l)	17 – 27	21	20 – 22	↑ 5/22 ↓ 6/22	23 27
Abs. aggr. Retik. (x 10 ⁹ /l)	5 - 936	98	< 40	↑ 17/19	90
Leukozyten (G/l)	3,6 – 32,1	12,6	6,0 – 18,0	↑ 7/22 ↓ 1/22	32 5

Abs. – absolut, aggr. – aggregiert, Retik. – Retikulozyten

Hämatokrit, Hämoglobin, Erythrozyten:

Die initiale Untersuchung der 22 Katzen ergab einen **Hkt** von 0,13 – 0,44 l/l (M = 0,29). Der Hkt betrug bei den 8 symptomlosen Katzen 0,25 – 0,44 l/l (M = 0,32) und bei den 14 Katzen mit Symptomen 0,13 – 0,37 l/l (M = 0,29) (Abb. 11).

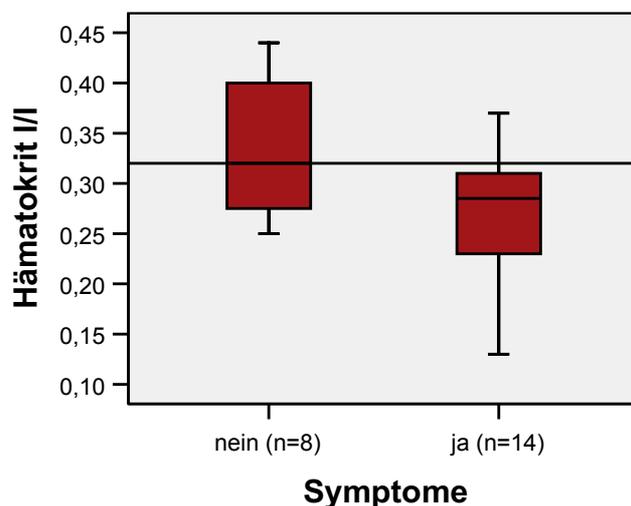


Abb. 11: Initialer Hkt bei 8 symptomlosen PK-defizienten Katzen und 14 PK-defizienten Katzen mit Symptomen (p = 0,11)

Bei der initialen Untersuchung wiesen 16 von 22 Katzen eine Anämie mit Werten von 0,13 – 0,31 l/l (M = 0,28) auf (Abb. 12).

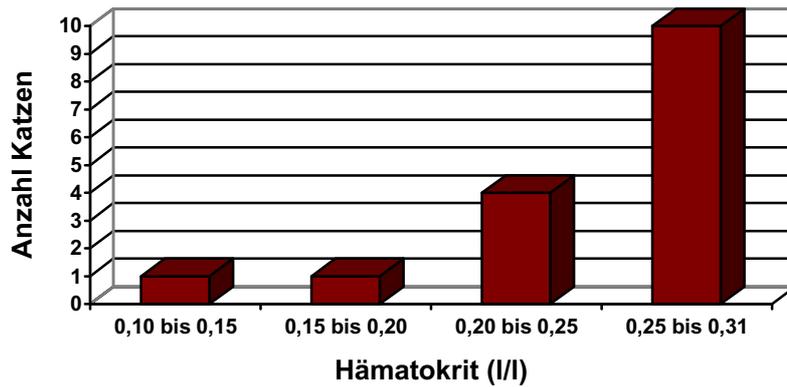


Abb. 12: Schweregrad der Anämie bei 16 Katzen mit PK-Defizienz bei der initialen Untersuchung

5 der 14 Katzen mit Folgeuntersuchungen des Blutbildes wiesen initial und bei jeder Kontrolle eine Anämie auf (M für jede Katze: 0,11, 0,18, 0,22, 0,26, 0,28 l/l); 6 Katzen wiesen Perioden mit Hkt-Werten im Referenzbereich und mit Hkt-Werten zwischen 0,14 – 0,31 l/l auf und 3 Katzen wiesen zu keinem Zeitpunkt eine Anämie auf und der Hkt blieb über einen Zeitraum von 1, 2,9 und 3,8 Jahren stabil (Abb. 13 und 14).

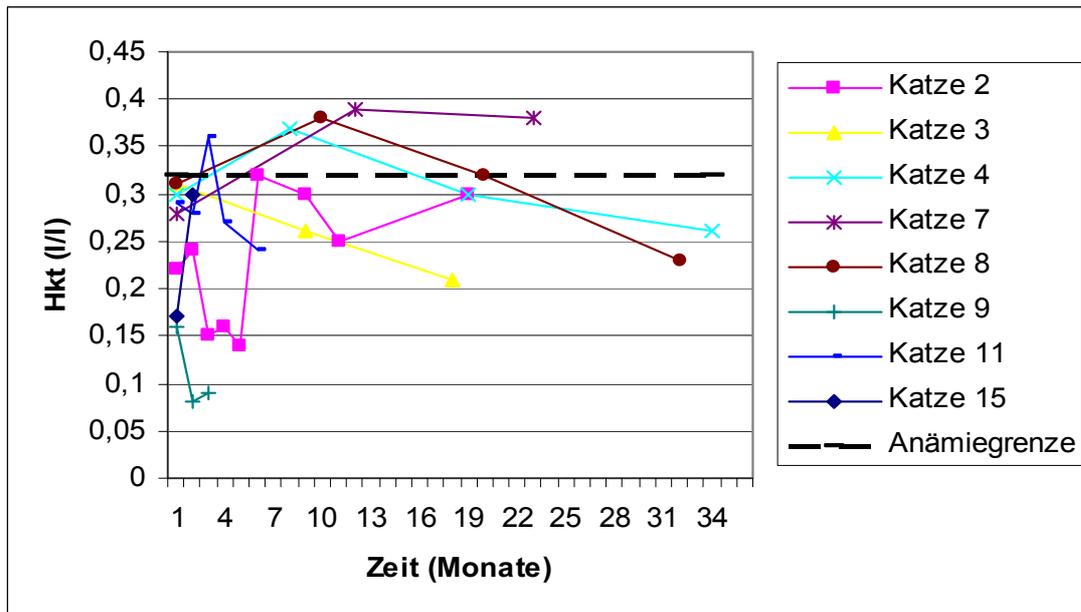


Abb. 13: Hämatokritverlauf bei 8 PK-defizienten Katzen mit Symptomen

Bemerkung: Katze 7 wies 4 Hkt-Werte auf (Monat 0, 68, 69, 70) – der 0-Wert wurde zur besseren graphischen Darstellung weggelassen

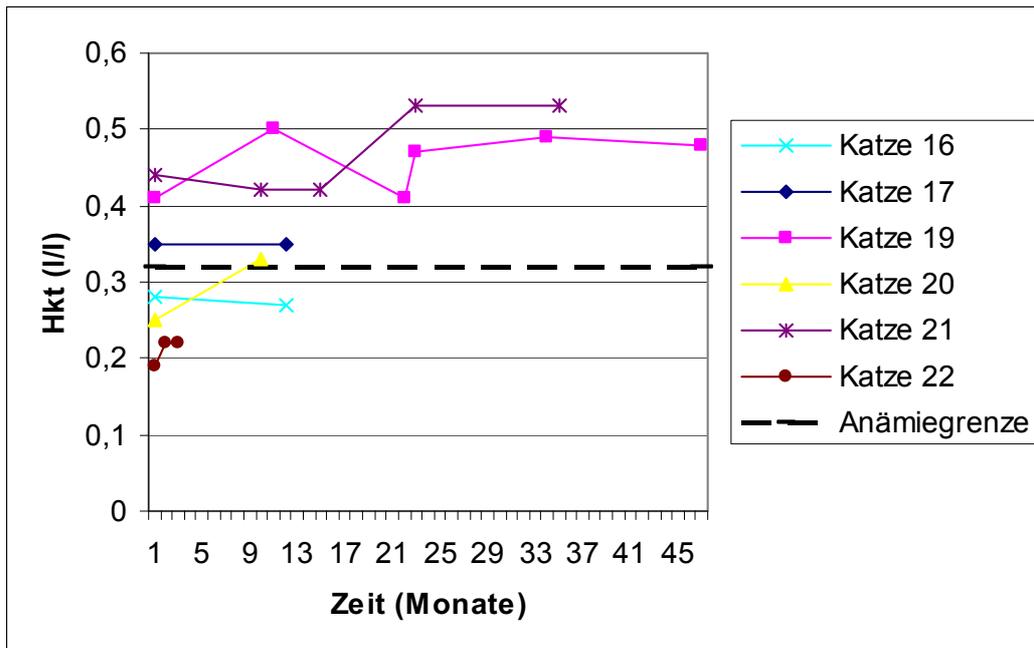


Abb. 14: Hämatokritverlauf bei 6 PK-defizienten Katzen ohne Symptome

Von den 16 Katzen mit Anämie (0,13 – 0,31 l/l, M = 0,28) wiesen 12 Tiere laut Besitzerangaben verschiedene Symptome auf und 4 Katzen waren mit Hkt-Werten von 0,25, 0,27, 0,27 und 0,29 l/l klinisch unauffällig.

Der tiefste Hkt aller Untersuchungen bei den symptomlosen Katzen lag bei 0,25 l/l. Von den Katzen mit Symptomen wiesen 3 Katzen als tiefsten Hkt einen Wert zwischen 0,25 – 0,31 l/l, 5 Katzen zwischen 0,20 - 0,25 l/l, jeweils 1 Katze einen Hkt unter 0,10 l/l und zwischen 0,15 und 0,20 l/l und 2 Katzen einen Hkt zwischen 0,10 und 0,15 l/l auf. Zwei Katzen mit Symptomen hatten keine Anämie (Abb. 15).

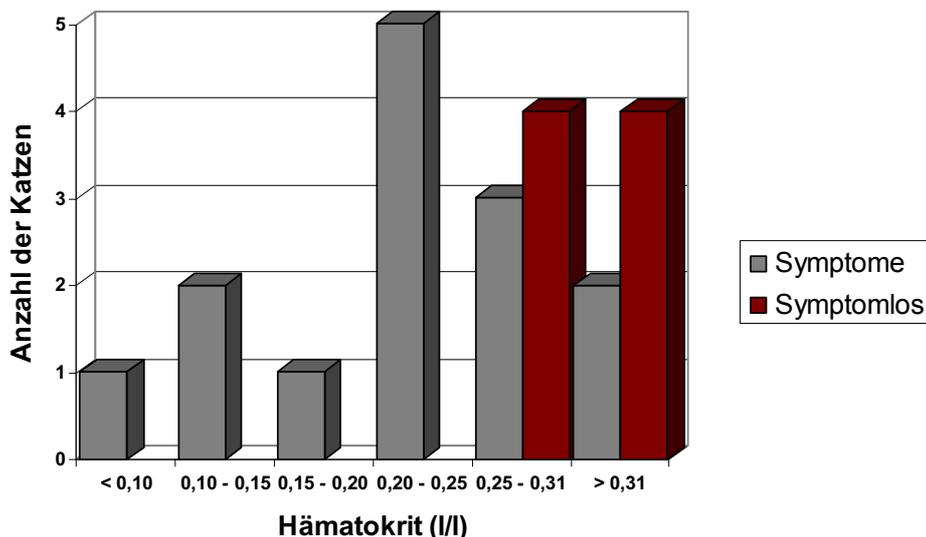


Abb. 15: Tiefste Hämatokrit-Werte aller Untersuchungen von 22 Katzen mit PK-Defizienz unterteilt nach dem Vorhandensein von Symptomen

Der initiale **Hb-Gehalt** betrug bei den 22 PK-defizienten Katzen bei der initialen Untersuchung 2,5 – 10,6 mmol/l (M = 6,6). 11 von 22 Katzen wiesen mit Werten von 2,5 – 6,5 mmol/l (M = 5,5) einen Hb-Gehalt unter dem Referenzbereich auf. Bei den 8

symptomlosen Katzen betrug der initiale Hb-Wert 5,0 – 10,6 mmol/l (M = 6,9); bei den 14 Katzen mit Symptomen lagen die Werte bei 2,5 – 10,4 mmol/l (M = 6,6) (Abb. 16). Bei den 8 symptomlosen Katzen lag der tiefste Hb-Wert aller Untersuchungen bei 5,0 mmol/l (5,0 – 8,3; M = 6,5) und bei den 14 Katzen mit Symptomen lag der niedrigste Hb-Wert bei 1,6 mmol/l (1,6 – 10,4; M = 5,4).

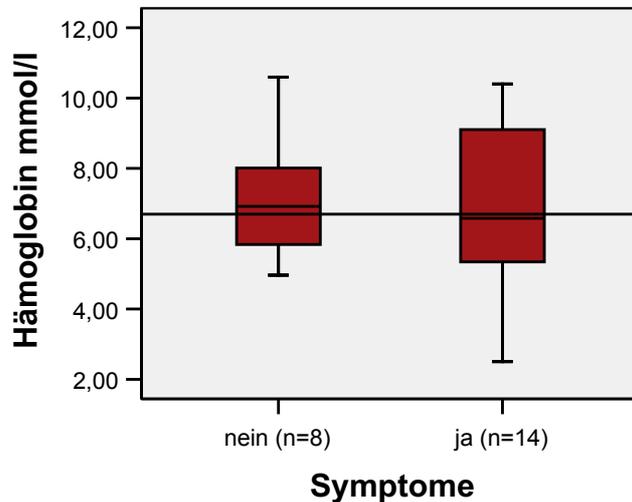


Abb. 16: Initiale Hb-Konzentration bei 8 symptomlosen PK-defizienten Katzen und 14 PK-defizienten Katzen mit Symptomen ($p = 0,616$)

Die 22 PK-defizienten Katzen wiesen bei der initialen Untersuchung **Ec-Werte** von 2,2 – 11,4 T/l (M = 5,7) auf. Bei 17 Katzen war die Ec-Zahl vermindert (2,2 – 7,0 T/l; M = 5,2). Die 8 symptomlosen PK-defizienten Katzen wiesen eine Ec-Zahl von 4,7 – 11,4 T/l (M = 7,1) auf und die 14 Katzen mit Symptomen hatten Werte von 2,2 – 7,3 T/l (M = 5,2) (Abb. 17).

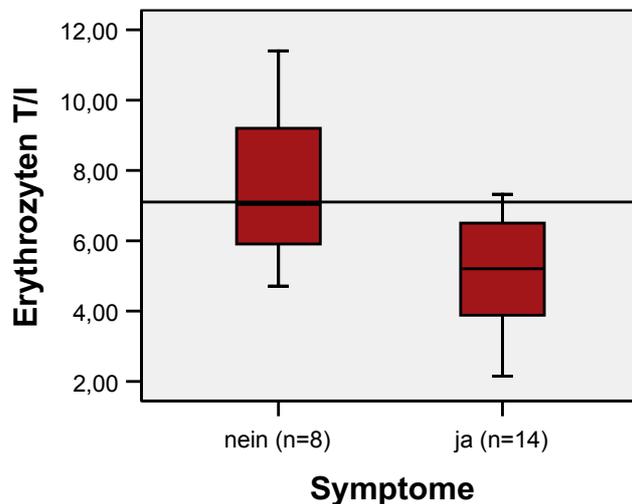


Abb. 17: Initiale Erythrozytenzahl bei 8 symptomlosen PK-defizienten Katzen und 14 PK-defizienten Katzen mit Symptomen ($p = 0,029$)

Erythrozytenindizes:

Das **MCV** lag bei den 22 Katzen bei der initialen Untersuchung bei 41 – 71 fl (M = 53). Bei 15 von 22 Katzen lagen die MCV-Werte über dem Referenzbereich (48 – 71 fl, M = 57). Von den 15 Katzen mit erhöhtem MCV lag von 12 Katzen die Anzahl der aggregierten Retikulozyten vor: 11 der 12 Katzen wiesen eine Retikulozytose ($55 - 936 \times 10^9/l$, M = 111)

auf. Von den 7 Katzen mit einem MCV im Referenzbereich (41 – 46 fl, M = 44) hatten 6 Katzen eine Retikulozytose ($43 - 195 \times 10^9/l$, M = 102).

Betrachtet man die MCV-Werte aller angefertigten Untersuchungen lagen 75 % der Werte über dem Referenzbereich.

Die 8 symptomlosen Katzen wiesen MCV-Werte von 41 – 54 fl (M = 47) auf und 7 dieser Katzen hatten eine Retikulozytose ($43 - 301 \times 10^9/l$, M = 71). Bei den Katzen mit Symptomen lagen die MCV-Werte bei 42 – 71 (M = 57) (Abb. 18). 10 von 11 dieser Katzen wiesen eine Retikulozytose auf ($74 - 936 \times 10^9/l$, M = 140).

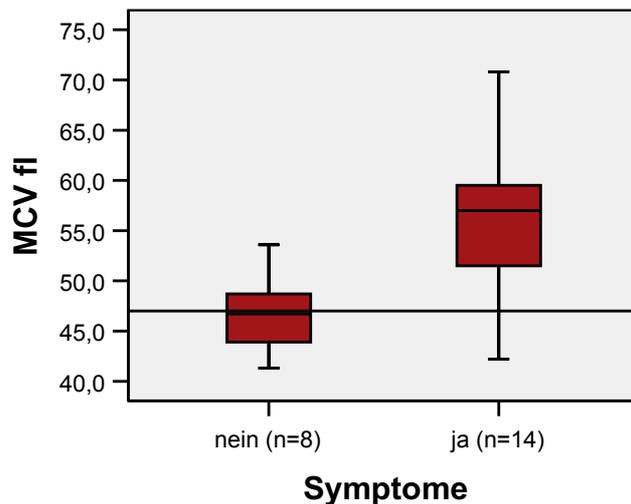


Abb. 18: Initiale MCV-Werte bei 8 symptomlosen PK-defizienten Katzen und 14 PK-defizienten Katzen mit Symptomen ($p = 0,013$)

Die MCV-Untersuchung bei 16 anämischen Katzen ergab Werte von 42 bis 62 fl (M = 56) und bei 6 nicht-anämischen Katzen Werte von 41 – 71 fl (M = 47) (Abb. 19).

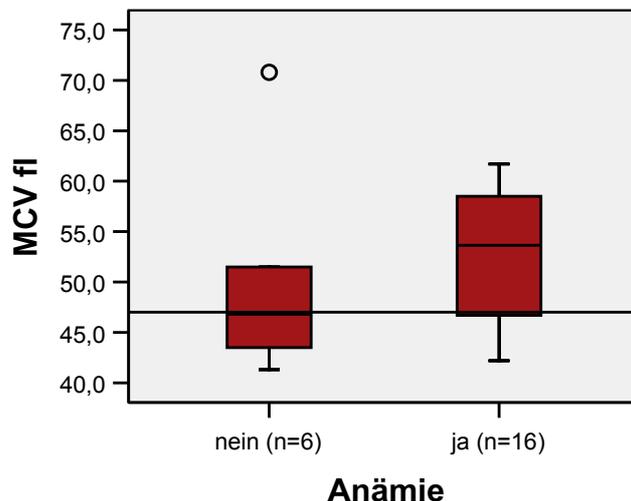


Abb. 19: Initiale MCV-Werte bei 16 anämischen und 6 nicht-anämischen Katzen mit PK-Defizienz ($p = 0,231$)

Die initiale **MCHC**-Untersuchung ergab bei den 22 Katzen Werte von 17 – 27 mmol/l (M = 21). Sechs Katzen wiesen MCHC-Werte unter dem Referenzbereich auf (17 – 19 mmol/l, M = 19) und 5 Katzen Werte darüber (23 – 27 mmol/l, M = 23). Bei den symptomlosen Katzen lagen die Werte bei 19 – 23 mmol/l (M = 20) und bei den Katzen mit Symptomen bei 17 – 27 mmol/l (M = 21) (Abb. 20). Bei den 6 Katzen mit einem Hkt im Referenzbereich lagen die

MCHC-Werte bei 19 – 27 mmol/l (M = 21) und die 16 anämischen Katzen wiesen Werte von 17 – 26 mmol/l (M = 21) auf.

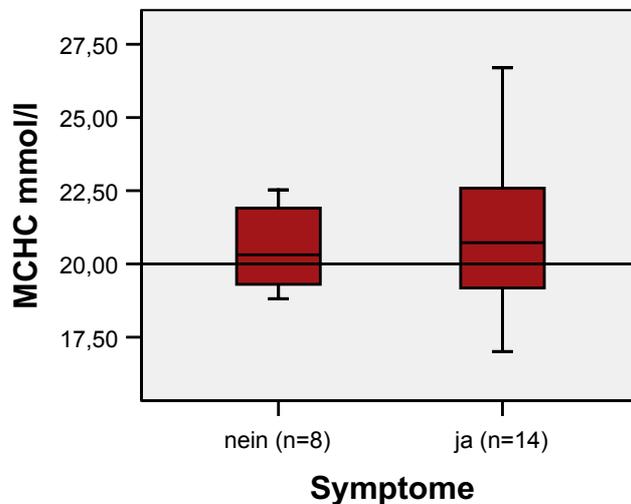


Abb. 20: Initiale MCHC-Werte bei 8 symptomlosen PK-defizienten Katzen und 14 PK-defizienten Katzen mit Symptomen (p = 0,815)

Von den 16 anämischen Katzen wiesen 5 eine makrozytär-hypochrome (0,19 – 0,31 l/l), 4 eine makrozytär-normochrome (Hkt 0,13 – 0,29 l/l) und 3 eine normozytär-normochrome (Hkt 0,28 – 0,31 l/l) Anämie (Hkt 0,30 l/l) auf. 4 Katzen hatten ein MCHC von über 22 mmol/l („Hyperchromasie“).

Retikulozyten:

Von 19 Katzen lagen die **Retikulozytenzahlen** vor. Die initiale Untersuchung ergab bei diesen Katzen aggregierte Retikulozytenwerte von 5 – 936 x 10⁹/l (M = 98). Acht symptomlose Katzen wiesen Werte von 20 – 301 x 10⁹/l (M = 64) auf und bei 11 symptomatischen Katzen lagen die Werte bei 5 – 936 x 10⁹/l (M = 156) (Abb. 21). 17 von 19 Katzen wiesen initial erhöhte absolute aggregierte Retikulozytenwerte auf (43 – 936 x 10⁹/l, M = 106 x 10⁹/l), während die Werte bei 2 Katzen unter 40 x 10⁹/l lagen. Eine der beiden Katzen mit einer initialen Retikulozytenzahl von 20 x 10⁹/l hatte bei der Kontrolluntersuchung erhöhte Retikulozytenzahlen (51 x 10⁹/l). Bei der anderen Katze wurde nur eine Messung durchgeführt. Zu diesem Zeitpunkt hatte die Katze (Katze Nr. 4) 5 x 10⁹/l Retikulozyten bei einem Hkt von 0,09 l/l und verstarb kurze Zeit später.

12 der 18 Katzen mit Retikulozytose (55 – 352 x 10⁹/l, M = 91) wiesen eine Anämie auf mit einem Hkt von 0,19 – 0,31 l/l (M = 0,28). Bei den anderen 6 Katzen mit aggregierten Retikulozyten von 43 – 936 x 10⁹/l (M = 195) lag der Hkt im Referenzbereich.

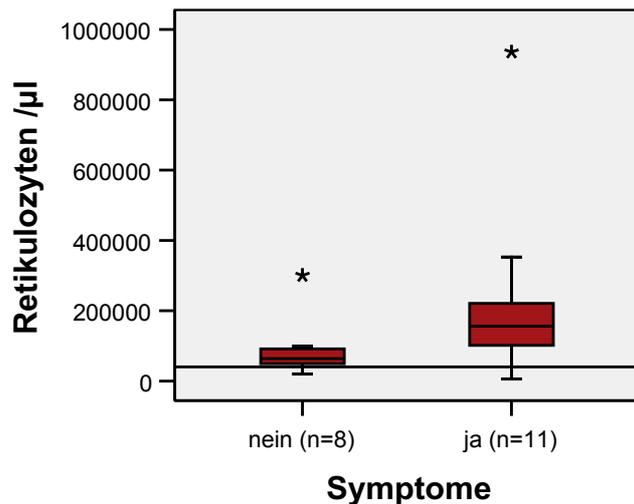


Abb. 21: Initiale Anzahl der absoluten aggregierten Retikulozyten bei 8 symptomlosen und 11 symptomatischen Katzen mit PK-Defizienz ($p = 0,041$)

Die Anzahl der absoluten aggregierten Retikulozyten lag initial bei den 6 anämischen Katzen bei $5 - 352 \times 10^9/l$ ($M = 85$) und bei den 13 nicht-anämischen Katzen bei $20 - 936 \times 10^9/l$ ($M = 195$) (Abb. 22).

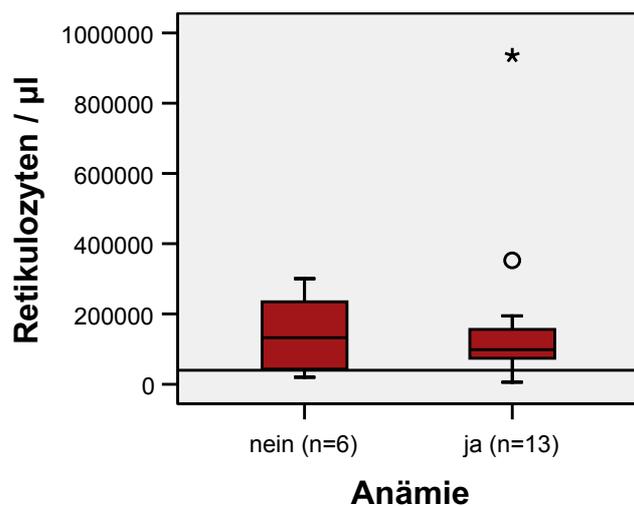


Abb. 22: Initiale Anzahl der absoluten aggregierten Retikulozyten bei 13 anämischen und 6 nicht-anämischen PK-defizienten Katzen ($p = 0,89$)

Beim Vergleich der Abbildungen 21 und 22 fällt auf, dass Katzen mit Symptomen eine deutlichere Retikulozytose aufweisen als symptomlose Katzen, aber die Retikulozytenwerte von anämischen und nicht anämischen Katzen sich kaum unterscheiden (Abb. 23).

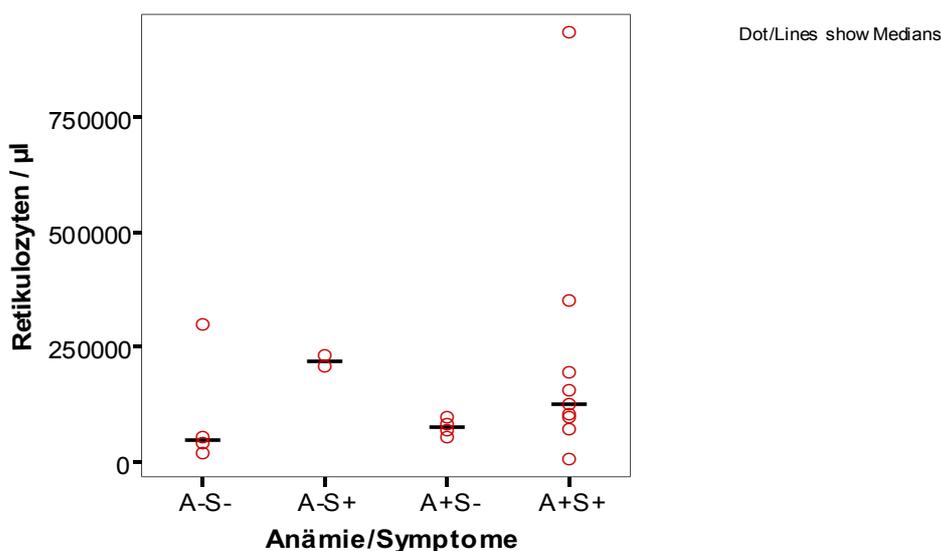


Abb: 23: Vergleich der Retikulozytenwerte bei anämischen (A+) und nicht anämischen (A-) und symptomatischen (S+) und symptomlosen (S-) Katzen.

Leukozyten:

Sieben von 22 Katzen wiesen initial eine Leukozytose auf (15,1 – 32,1 G/l, M = 20,2) und 14 Katzen hatten normale **Leukozytenwerte**. Eine Katze, die bei der Initialuntersuchung eine Leukopenie (3,6 G/l) aufwies, hatte bei 3 Folgeuntersuchungen Werte im Referenzbereich. Erhöhte Leukozytenwerte (17,3 und 19,5 G/l) wurden bei 2 Katzen, die initial keine Leukozytose hatten, 0,9 und 1,5 Jahre nach Erstvorstellung gefunden. Eine dieser beiden Katzen (Katze Nr. 3) wies kurz vor ihrem Tod Leukozyten von 80,2 G/l auf. Die Pathologie ergab eine hochgradige Kokzidiose. Bei 11 von 14 Katzen mit wiederholten Untersuchungen des Blutbildes lagen die Leukozyten während 1-6 Kontrolluntersuchungen (M = 2) im Referenzbereich.

Ein Differentialblutbild wurde bei 12 PK-defizienten Katzen angefertigt (Tab. 9).

Tab. 9: Differentialblutbild von 12 PK-defizienten Katzen

Zellen	Relative Zahl % (M)	Absolute Zahl x10 ³ /l (M)	Abnorme Werte	
			n	%
Neutroph. stabkernige Gr.	0 – 3 (0)	0 – 9 (0)	↑ 1/12	8
Neutroph. segmentkernige Gr.	37 – 65 (48)	4 – 11 (6)	-	-
Eosinophile Gr.	1 – 11 (7)	0,2 – 1,2 (0,8)	↑ 8/12	67
Basophile Gr.	0	0	-	-
Lymphozyten	22 – 55 (34)	1,5 – 9,6 (4,6)	↑ 7/12	58
Monozyten	1 – 6 (3)	0,1 – 0,9 (0,4)	↑ 2/12	17

Gr. – Granulozyten, Neutroph. – Neutrophile

Bei der initialen Untersuchung des Differentialblutbildes konnte bei einer Katze eine Linksverschiebung mit $9 \times 10^3/l$ festgestellt werden. Bei 7 Katzen wurden Folgeuntersuchungen des Differentialblutbildes erstellt und eine Katze hatte nach 1,5 Jahren eine Linksverschiebung mit $7 \times 10^3/l$.

Acht von 12 Katzen wiesen bei der initialen Untersuchung eine Eosinophilie auf ($0,7 - 1,2 \times 10^3/l$; M = 0,9). Bei 2 von 4 Katzen ohne initiale Eosinophilie wurde eine Folgeuntersuchung

angefertigt, in der die Katzen ebenfalls erhöhte Eosinophilenzahlen aufwiesen ($0,9$ und $1,2 \times 10^3/l$).

Eine meist deutliche Lymphozytose ($4,2 - 9,6 \times 10^3/l$; $M = 6,3$) wiesen 7 Katzen initial auf. Eine von 7 Katzen mit Folgeuntersuchung entwickelte eine Lymphozytose nach 1 Jahr.

Eine initiale Monozytose zeigten 2 Katzen ($0,8$ und $0,9 \times 10^3/l$). 2 von 7 Katzen mit Folgeuntersuchung ohne initiale Monozytose entwickelten diese nach 1,5 und 1 Jahr ($0,9$ und $1,5 \times 10^3/l$).

IV.3.2 Erythrozytenmorphologie

Angaben zur Ec-Morphologie lagen von 12 Katzen mit PK-Defizienz vor (Tab. 10). Abweichungen in der Form der Ec, wie z.B. Poikilozyten, wurden bei keiner Katze gefunden.

Tab. 10: Erythrozytenmorphologie von 12 Katzen mit PK-Defizienz

Katze/Untersuchung	Symptome	Anisozytose	Polychromasie	Anämie
2 / 1	+	2 +	2 +	-
3 / 1	+	4 +	4 +	+
4 / 1	+	4 +	2 +	+
4 / 2	+	1 +	-	-
4 / 3	+	4 +	4 +	+
6 / 1	+	1 +	1 +	-
7 / 1	+	4 +	4 +	+
7 / 2	+	1 +	1 +	-
7 / 3	+	4 +	4 +	-
8 / 1	+	4 +	3 +	+
8 / 2	+	4 +	4 +	+
16 / 1	-	1 +	1 +	+
16 / 2	-	1 +	-	+
17 / 1	-	2 +	3 +	-
17 / 2	-	2 +	2 +	-
18 / 1	-	3 +	1 +	-
19 / 1	-	1 +	1 +	-
19 / 2	-	1 +	-	-
19 / 3	-	1 +	-	-
20 / 1	-	1 +	1 +	+
21 / 1	-	1 +	1 +	-
21 / 2	-	1 +	-	-
21 / 3	-	1 +	-	-

Anisozytose: 7-15 morphologisch veränderte Zellen pro Gesichtsfeld (1000-fache Vergrößerung) = 1+, 16-20 Zellen = 2+, 21-29 Zellen = 3+, > 30 Zellen = 4+ ; Polychromasie: 2-7 polychromatische Zellen 1+, 8-14 Zellen 2+, 15-29 Zellen 3+, > 30 Zellen 4+.

Die Beurteilung der **Ec-Morphologie** ergab bei 6 PK-defizienten Katzen mit Symptomen initial eine mediane Anisozytose von 4+ und 3+ Polychromasie, wohingegen die 6 symptomlosen Katzen im Medianen einen Wert von 1+ sowohl bei der Anisozytose als auch bei der Polychromasie aufwiesen. Ähnlich verhielt es sich beim Vergleich von anämischen Katzen (Anisozytose $M = 4+$, Polychromasie $M = 3+$) und nicht-anämischen Katzen (Anisozytose $M = 2+$, Polychromasie $M = 1+$).

IV.3.3 Osmotische Fragilität der Erythrozyten

Die mittlere Osmotische Fragilität (MOF) der Ec von 14 PK-defizienten Katzen lag bei 0,50 – 0,68 % (M = 0,55); die Werte lagen bei 11 Katzen im Referenzbereich (0,50 – 0,59 %) des Kliniklabors. Die MOF war bei 2 Katzen geringgradig (0,60, 0,61 %) und bei 1 Katze mittelgradig erhöht (0,68 %).

IV.3.4 Objektträgeragglutination

Eine Objektträgeragglutination konnte sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch bei keiner Katze festgestellt werden.

IV.4 Klinisch-chemische Blutuntersuchung

Eine klinisch-chemische Blutuntersuchung lag von 16 PK-defizienten Katzen vor (Tab. 13). Bei 4 von 16 Katzen lagen lediglich Fremdlabore vor. Bei 13 Katzen konnten 2 – 5 Folgeuntersuchungen (M = 3) durchgeführt werden.

Die Ergebnisse der initialen klinisch-chemischen Blutuntersuchung sind in Tabelle 11 zusammengefasst.

Tab. 11: Ergebnisse der initialen klinisch-chemischen Blutuntersuchung bei 16 Katzen mit PK-Defizienz

Parameter	Bereich	Median	Referenz-Bereich	Abnorme Werte	
				N	%
Natrium (mmol/l)	112 – 164	149	145 – 158	↓ 5/15 ↑ 1/15	33 7
Kalium (mmol/l)	3,6 – 5,7	4,4	3,0 – 4,8	↑ 1/13	8
Harnstoff (mmol/l)	2,7 – 17,5	8,8	5,0 – 11,3	↑ 1/16	6
Kreatinin (µmol/l)	78 – 153	122	< 168	-	-
Bilirubin (µmol/l)	2,6 – 513	4,0	< 5,1	↑ 5/16	31
ALT (U/l)	10 – 603	46	< 70	↑ 4/16	25
AST (U/l)	5 – 77	23	< 30	↑ 5/16	31
AP (U/l)	6 – 241	56	< 76	↑ 5/16	31
Protein (g/l)	59 – 95	74	60 – 75	↑ 6/16	38
Albumin (g/l)	27 – 50	32	25 – 40	↑ 1/16	6
Globulin (g/l)	28 – 62	43	< 40	↑ 10/16	63

ALT – Alanin-Amino-Transferase, AST – Aspartat-Amino-Transferase, AP – Alkalische Phosphatase

Bilirubin:

Die initiale Untersuchung der Bilirubinkonzentrationen ergab Werte von 2,6 – 513 µmol/l (M = 4). 5 Katzen zeigten bei der Initialuntersuchung eine Hyperbilirubinämie (8,7 – 513 µmol/l, M = 37,3) und weitere 2 Katzen entwickelten eine Hyperbilirubinämie nach 0,1 und 0,9 Jahren (5,4, und 6,7 µmol/l). Von den 7 Katzen mit einer Hyperbilirubinämie zeigten 6 Katzen Symptome. Die Katze mit initial 8,7 µmol/l war symptomlos.

Die initiale Bilirubinkonzentration lag bei 5 nicht-anämischen Katzen bei 2,6 – 5,1 $\mu\text{mol/l}$ ($M = 2,7$) und bei 11 anämischen Katzen bei 2,6 – 513 $\mu\text{mol/l}$ ($M = 4,1$) (Abb. 24).

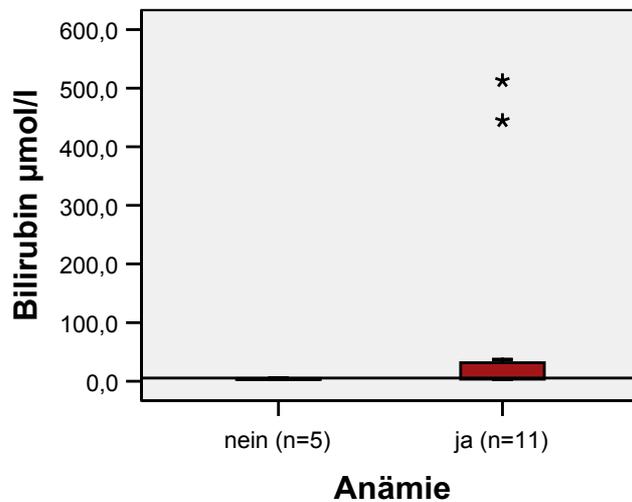


Abb. 24: Initiale Bilirubinkonzentration bei 11 anämischen und 5 nicht-anämischen PK-defizienten Katzen ($p = 0,145$).

Leberenzyme:

Die ALT-Konzentrationen lagen initial bei 5 symptomlosen Katzen bei 25 – 66 U/l ($M = 46$) und bei 11 PK-defizienten Katzen mit Symptomen bei 10 – 603 U/l ($M = 46$). Vier von 16 Katzen wiesen bei der initialen Untersuchung eine Erhöhung der ALT-Konzentration mit 79, 84, 395 und 603 U/l auf. Drei weitere Katzen zeigten geringgradig erhöhte ALT-Werte (75, 79 und 86 U/l) 5, 15 und 22 Monate nach der Erstvorstellung.

Fünf nicht-anämische PK-defiziente Katzen wiesen ALT-Werte von 25 – 66 U/l ($M = 46$) auf und die Konzentrationen bei 11 anämischen Katzen lagen bei 10 – 603 U/l ($M = 46$) (Abb. 25).

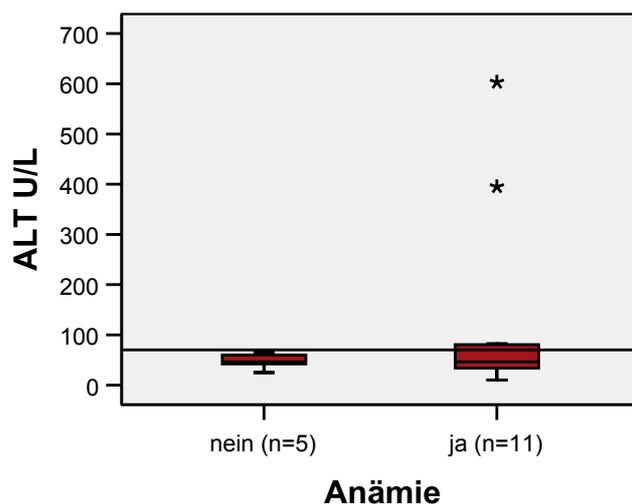


Abb. 25: Initiale ALT-Konzentration bei 11 anämischen und 5 nicht-anämischen Katzen ($p = 0,743$).

Ergebnisse der AST-Untersuchung lagen bei 15 PK-defizienten Katzen vor und ergaben initial Werte von 5 – 77 U/l ($M = 21$). Bei 5 von 15 Katzen lagen die Werte geringgradig über

dem Referenzbereich (31 - 77 U/l, M = 32); eine weitere Katze hatte nach 22 Monaten eine geringgradige Erhöhung der AST mit 34 U/l entwickelt.

Die AST-Konzentration lag initial bei 10 anämischen PK-defizienten Katzen bei 5 – 77 U/l (M = 25) und bei 5 nicht-anämischen Katzen bei 12 – 31 U/l (M = 15) (Abb. 26).

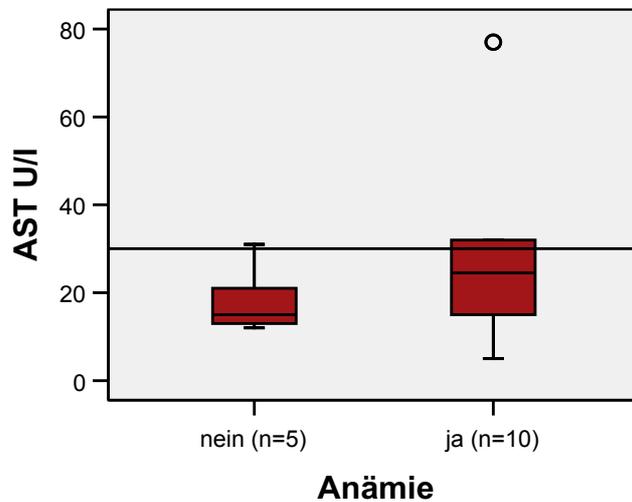


Abb. 26: Initiale AST-Konzentration von 10 anämischen und 5 nicht-anämischen PK-defizienten Katzen ($p = 0,371$).

Die initiale Untersuchung der AP ergab bei 16 PK-defizienten Katzen Werte von 6 – 241 U/l (M = 56). Bei 5 Katzen lagen die Konzentrationen mit 78 – 241 U/l (M = 108) über dem Referenzbereich. Die 5 symptomlosen Katzen wiesen Werte zwischen 33 – 105 U/l (M = 66) und die 11 Katzen mit Symptomen Werte von 6 – 241 U/l (M = 46) auf.

Fünf nicht-anämische Katzen wiesen bei der initialen Untersuchung AP-Konzentrationen von 8 – 78 U/l (M = 46) auf und 11 anämische Katzen Werte von 6 – 241 U/l (M = 65) (Abb. 27).

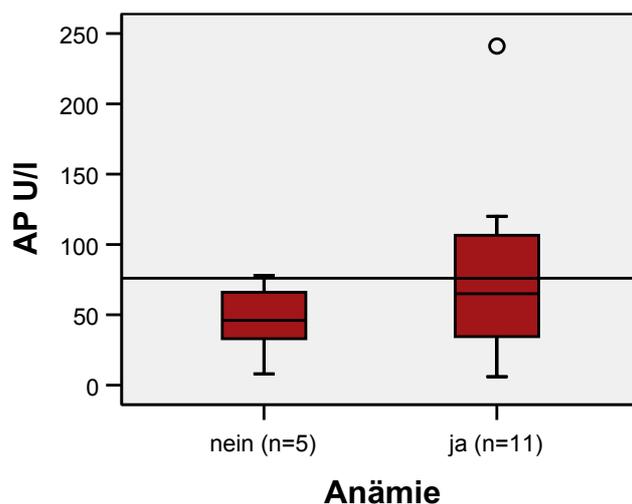


Abb. 27: Initiale AP-Konzentration bei 11 anämischen und 5 nicht-anämischen PK-defizienten Katzen ($p = 0,583$).

Insgesamt lagen bei der initialen Untersuchung bei 9 Katzen alle Leberwerte im Normbereich, 1 Katze wies ein erhöhtes Enzym auf, 2 Katzen 2, 3 Katzen 3 und bei 1 Katze waren alle 4

Leberenzyme erhöht. Die 3 Katzen mit den höchsten Leberwerten waren auch die mit den höchsten Bilirubinerhöhungen.

Protein:

Die initiale Proteinuntersuchung bei 16 PK-defizienten Katzen ergab Werte zwischen 59 und 95 g/l. Sechs Katzen wiesen somit eine Hyperproteinämie auf (80 – 95 g/l, M = 86). Sechs weitere Katzen, die initial einen Proteingehalt im Normbereich aufwiesen, hatten nach 1 bis 22 Monaten (M = 18) eine Hyperproteinämie mit 76 – 89 g/l (M = 78) entwickelt.

Von den insgesamt 12 Katzen mit einer Hyperproteinämie waren 8 zum Untersuchungszeitpunkt anämisch.

Eine Hyperglobulinämie (40 – 62 g/l, M = 46) wiesen bei der initialen Untersuchung 10 von 16 Katzen auf. Weitere 4 Katzen entwickelten eine Erhöhung der Globulinkonzentration innerhalb von 0,8 – 1,8 Jahren. Somit hatten insgesamt 88 % der Katzen eine Hyperglobulinämie. Der Globulingehalt lag initial bei 5 symptomlosen Katzen bei 30 – 62 g/l (M = 40) und bei 11 PK-defizienten Katzen mit Symptomen bei 37 – 54 g/l (M = 43)

(Abb. 28). Albumin lag bei der initialen Untersuchung bei 26,6 – 50,0 g/l. Keine Katze hatte eine Hypoalbuminämie und lediglich eine Katze wies einen erhöhten Albuminwert auf.

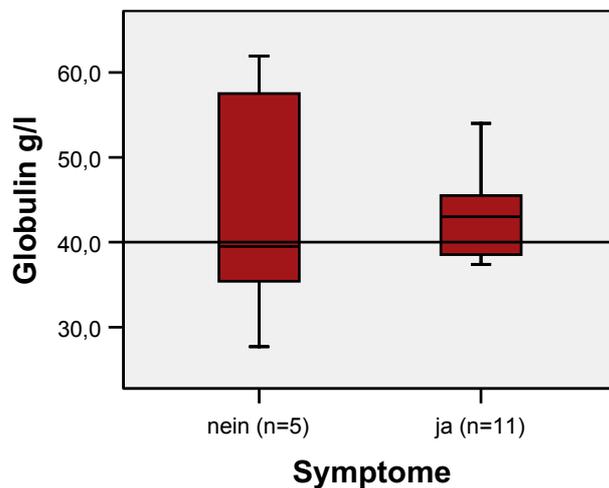


Abb. 28: Initiale Globulin-Konzentration bei 11 symptomatischen und 5 symptomlosen PK-defizienten Katzen ($p = 0,913$)

IV.5 Therapie und Verlauf

Von den 15 Katzen mit Symptomen verstarben 8 im Untersuchungszeitraum; von weiteren 5 Katzen ist lediglich bekannt, dass sie verstarben, ohne nähere Angaben zum Krankheitsverlauf. Somit verstarben insgesamt 13 von 30 PK-defizienten Katzen, von denen diesbezüglich Informationen vorhanden waren, im Alter von 1,3 – 11,3 Jahren (M = 4,8 Jahre) bzw. wurden euthanasiert (Abb. 29).

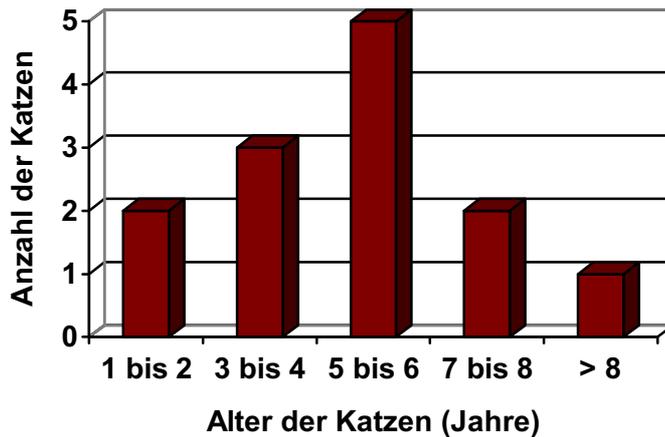


Abb. 29: Todeszeitpunkt von 13 PK-defizienten Katzen

Von den 15 Katzen mit Symptomen wurden 9 behandelt, 5 wurden nicht behandelt und bei 1 Katze konnte die Therapie nicht in Erfahrung gebracht werden (Nummerierung der Katzen wie in Tab.7).

Katze Nr. 1, die bis zu einem Alter von 1,5 Jahren keine Auffälligkeiten zeigte, entwickelte nach einem Ausstellungsbesuch blasse Schleimhäute, Apathie, Inappetenz Gewichtsverlust und eine Verschlechterung der Fellqualität und wurde daraufhin mit Prednisolon behandelt. Die Katze erholte sich nach ca. 1,5 Monaten, wurde kastriert, besucht keine Ausstellungen mehr und blieb weitere 2,5 Jahre symptomlos.

Die **zweite Katze** litt ab einem Alter von 1,5 Jahren an blassen Schleimhäuten, Inaktivität, Inappetenz und Gewichtsverlust und erhielt neben einem Antibiotikum Fenbendazol und Interferon. Die Therapie brachte keinen Erfolg und die Katze verstarb mit 2,7 Jahren. Von dieser Katze wurden Milz und Leber histopathologisch untersucht (siehe IV.6).

Kater Nr. 4, der bis zum Alter von 4,3 Jahren symptomlos war, entwickelte ohne ersichtlichen Auslöser plötzlich Schwäche, blasse Schleimhäute, Inappetenz, Durchfall und eine Abnahme der Fellqualität. Er wurde mit Prednisolon, Vitamin K, Amoxicillin und Fenbendazol behandelt, erholte sich aber nicht und musste einen Monat später euthanasiert werden. Der Kater wurde pathologisch untersucht (siehe IV.6)

Eine **weibliche Abessinierkatze (Katze Nr. 6)** wies ab einem Alter von 0,5 Jahren Symptome (Apathie, blasse Schleimhäute, Durchfall) auf, die sich nach Stress verschlechterten. Die Katze wurde mit Antibiotika behandelt und musste mit 1,3 Jahren euthanasiert werden.

Eine **weibliche Abessinierkatze (Katze Nr. 7)** zeigte ab einem Alter von 0,5 Jahren intermittierend Durchfall. Zur Bekämpfung erhielt sie immer wieder Doxycyclin, was auch jeweils eine deutliche Verbesserung ergab.

Ein **weiterer Kater (Katze Nr. 9)**, der ab einem Alter von 4 Jahren mehrere, unterschiedlich schwere hämolytische Krisen (Apathie, Inappetenz, Ikterus) überstand, zeigte für die Besitzer auf Prednisolon und Antibiotika keine eindeutige Besserung. Der Kater überstand trotzdem mehrere Krisen und verstarb erst mit 11,3 Jahren.

Kater Nr. 10 entwickelte mit 3,3 Jahren Symptome mit blassen Schleimhäuten, Inaktivität, Durchfall, Abnahme der Fellqualität, Fressen von Katzenstreu und eine Umfangsvermehrung des Abdomens. Er wurde daraufhin mit Prednisolon (5 mg/d) über 2 Jahre behandelt und der Hkt blieb während dieser Zeit stabil bei 0,27 l/l. Bei einem erneuten Hkt-Abfall auf 0,23 l/l wurde die Prednisolon-Dosis verdoppelt (10 mg/d). Das Tier verstarb mit 6,5 Jahren.

Eine männliche Somalikatze (Katze Nr. 11) erlitt ab einem Alter von 1,8 Jahren mehrere Krisen unterschiedlicher Intensität. Er wurde jedes Mal mit Prednisolon (5 mg 2 x tgl) und Butafosfan behandelt und erholte sich in der Regel innerhalb einer Woche.

Katze Nr. 15, ein männlich-kastrierter Somalikater zeigte ab einem Alter von 4,4 Jahren Symptome wie Durchfall, Fressen von Katzenstreu, Apathie, Umfangsvermehrung des Abdomens und schließlich Ikterus. In einer Klinik wurden eine zunehmende Anämie (0,27 - 0,21 - 0,11 l/l) und eine Hyperbilirubinämie (513 µmol/l) festgestellt. Der Kater wurde am 1. Tag mit Prednisolon (5 mg BID), Enrofloxacin, Ursochol und Infusionen behandelt. Bei einem Hkt von 0,11 l/l wurde die Katze 2 Tage später mit 50 ml Vollblut transfundiert (Blutgruppe A). Der Hkt stieg auf 0,18 l/l an und das Allgemeinbefinden verbesserte sich. Die Prednisolondosis wurde erhöht (10 mg 2 x tgl.) und die Katze entlassen. Bei einer Kontrolle 3 Tage später hatte die Katze einen Hkt von 0,12 l/l, war aber bei gutem Allgemeinbefinden. Das Prednisolon wurde in der Dosierung noch 1,5 weitere Wochen gegeben. Die Katze wurde wegen guten Allgemeinbefindens erst 1 Monat später zur Kontrolle vorgestellt und der Hkt betrug 0,30 l/l. Das Prednisolon war zu diesem Zeitpunkt seit 3 Wochen abgesetzt.

Eine der 10 symptomlosen Katzen erhielt wegen einer Hausstaubmilbenallergie und felinem Asthma Cortison und ein Antihistaminikum. Die anderen 9 symptomlosen Katzen erhielten keine Medikamente und ihr Alter betrug am Ende des Beobachtungszeitraumes 0,8 – 7,8 Jahre (M = 4,5).

Tab. 12: Krankheitsverlauf und Laborveränderungen von 15 PK-defizienten Katzen mit Symptomen

↑ - Zunahme, ↓ - Abnahme, Hkt - Hämatokrit, MCV - mittleres Erythrozytenvolumen, MCHC - mittlere Hämoglobinkonzentration der Erythrozyten, WBC - Leukozyten,

Katze	Beginn der Symptome (Jahre)	Klinische Symptome	Laborabnormalitäten	Weitere Befunde	Therapie	Verlauf
1	1,5	Lethargie, blasse SH, Inappetenz, Fellqualität ↓, Gewicht ↓	Hkt ↓, MCV ↑, WBC ↑ (keine Chemie)		Prednisolon	Lebend mit 4,2 Jahren
2	1,5	Lethargie, blasse SH, Inappetenz, Gewicht ↓	Hkt ↓, MCV ↑, WBC ↑, Retik ↑, Bili ↑, Leberwerte ↑	FeLV und FIV negativ, Giardien positiv; Patho	Antibiotika, Fenbendazol, Interferon	Gestorben mit 2,7 Jahren
3	5	Lethargie, blasse SH, Inappetenz, Gewicht ↓	Hkt ↓, MCV ↓, Retik ↑		keine	Euthanasie mit 8,2 Jahren
4	4,3	Lethargie, blasse SH, Inappetenz, Diarrhoe, Fellqualität ↓	Hkt ↓, MCV ↓, MCHC ↓, Retik ↑, Bili ↑, Leberwerte ↑, Prot ↑, Glob ↑	Patho	Prednisolon, Antibiotika, Fenbendazol, Vitamin K,	Euthanasie mit 4,4 Jahren
5	2,5	Lethargie, Diarrhoe, (Dyspnoe)	Retik ↑, MCV ↑ (keine Chemie)	Patho	keine	Euthanasie mit 3,3 Jahren
6	0,5	Lethargie, blasse SH, Diarrhoe	MCV ↑, MCHC ↓, Retik ↑, WBC ↑		Antibiotika	Euthanasie mit 1,3 Jahren
7	0,1	Diarrhoe, (Schnupfen)	Hkt ↓, MCV ↑, MCHC ↓, Retik ↑, WBC ↑, Bili ↑, Prot ↑, Glob ↑		Antibiotika	Lebend mit 4,2 Jahren
8	1,3	Lethargie, blasse SH, Inappetenz, Ikterus	Hkt ↓, MCV ↑, MCHC ↓, Retik ↑, Bili ↑, Prot ↑, Glob ↑		keine	Gestorben mit 3,8 Jahren
9	4	Lethargie, blasse SH, Inappetenz, Ikterus	Hkt ↓, MCV ↑, MCHC ↓, WBC ↑, Bili ↑, Leberwerte ↑, Prot ↑, Glob ↑	Coombs, Mykoplasmen, FeLV, FIV negativ	Prednisolon, Antibiotika	Gestorben mit 11,3 Jahren
10	3,3	Lethargie, blasse SH, Diarrhoe, Fellqualität ↓, Fressen von Katzenstreu, UV Abdomen	Hkt ↓, MCV ↑, MCHC ↓, Bili ↑, Leberwerte ↑, Prot ↑, Glob ↑		Prednisolon	Gestorben mit 6,5 Jahren
11	1,8	Lethargie, Inappetenz, Diarrhoe, Ikterus, Fellqualität ↓, Fressen von Katzenstreu, UV Abdomen	Hkt ↓, MCV ↑, Retik ↑, Bili ↑, Prot ↑, Glob ↑		Prednisolon, Butafosfan	Lebend mit 4,8 Jahren
12	4,5	Lethargie, Ikterus, UV Abdomen, Erbrechen	Kein Labor		Unbekannt	Lebend mit 5,3 Jahren
13	0,1	Fellqualität ↓, Gewicht ↓	Kein Labor		keine	Lebend mit 10 Monaten
14	0,1	Fellqualität ↓, Gewicht ↓	Kein Labor		keine	Lebend mit 10 Monaten
15	4,5	Lethargie, Diarrhoe, Ikterus, Fressen von Katzenstreu, UV Abdomen, Erbrechen	Hkt ↓, MCV ↑, WBC ↑, Bili ↑, Leberenzyme ↑, Prot ↑, Glob ↑	Coombs, Mycoplasmen, FeLV, FIV negativ	Prednisolon, Antibiotika, Ursochol, Infusion, Vollblut	Lebend mit 4,8 Jahren

Retik - Retikulozyten, Bili - Bilirubin, Prot - Protein, Glob - Globulin, UV - Umfangsvermehrung, FeLV - felines Leukosevirus, FIV - felines Immundefizienzvirus

IV.6 Zuchteinsatz

Von 25 der 38 PK-defizienten Katzen (15 w, 10 m) konnte die Häufigkeit des bisherigen Zuchteinsatzes in Erfahrung gebracht werden. Elf weibliche Katzen hatten im Alter von 1,8 – 7,5 Jahren (M = 4,4) mindestens 1-mal geworfen; 4 weibliche Katzen wurden nicht zur Zucht eingesetzt. Fünf PK-defiziente Kater wurden bis zu einem Alter von 4,4 – 11,3 Jahren (M = 4,8) mindestens 1-mal zum Decken eingesetzt und ebenfalls 5 wurden nicht zur Zucht verwendet. Von den Katzen mit Krankheitsverlauf ist lediglich von einer weiblichen Abessinierkatze bekannt, dass sie im Alter von 1,8 Jahren wenige Wochen nach einer Geburt verstarb. Weitere 7 PK-defiziente Kätzinnen haben zum Teil mehrere Geburten problemlos überstanden.

IV.7 Histopathologische Untersuchung

Eine histopathologische Untersuchung konnte bei 3 PK-defizienten Katzen von den Pathologen des Institutes für Tierpathologie, FU-Berlin durchgeführt werden.

Eine weibliche Abessinierkatze (**Katze Nr. 2**) verstarb im Alter von 2,7 Jahren.

Zur Untersuchung gelangten Gewebeproben von Leber und Milz.

Leber: prominente, großflächige degenerative, regenerative und reparative Umbauprozesse; hochgradige Eisenpigmentspeicherung in den Kupffer- und Leberzellen; schwerwiegende Degenerationen des Parenchyms mit prominenten nodulären Hyperplasien; brückenbildenden Fibrosierungen zwischen benachbarten Periportalfeldern (Abb. 30 und 31).

→ hochgradige, chronische Leberzirrhose und hochgradige Eisenpigmentablagerung

Milz: hochgradige Eisenpigmentspeicherung;

periarterielläre Lymphozytenscheiden überwiegend depletiert

→ weitgehende Depletion der weißen Pulpa, hochgradige Hämosiderose, aktivierte extramedulläre Hämatopoese (Abb. 32 und 33).

Ein Abessinierkater (**Katze Nr. 3**), wurde im Alter von 4,4 Jahren euthanasiert.

Zur histopathologische Untersuchung gelangten Gewebeproben von Niere, Leber, Milz und Jejunum.

Niere: interstitielle, lymphozytäre, chronische Nephritis; mittelgradige, diffuse, glomeruläre Amyloidose; membranöse Glomerulonephritis; dezente Eisenablagerungen

Leber: hochgradige Eisenpigmentablagerungen in Kupffer- und Leberzellen

Milz: lymphozytäre Depletion mit atrophischen Parenchymveränderungen; Depletion der periarterielläre Lymphozytenscheiden; schwerwiegende Eisenablagerungen in den Retikulumzellen

Jejunum: hochgradiger Befall mit Kokkizidien, Krypthyperplasie; weitgehende Depletion der lymphatischen Einrichtungen

Eine weibliche Abessinierkatze (**Katze Nr. 5**) wurde im Alter von 3,3 Jahren mit Verdacht auf ein Lungenödem mit Aortenthrombose euthanasiert. Zur Untersuchung gelangten folgende Gewebe:

Niere: chronische, interstitielle, lymphozytäre und fibrosierende Nephritis; Mineralisierung der glomerulären Kapillarschlingen

Herz: mittelgradige, interstitielle, lymphozytäre Myokarditis

Milz: hochgradige Parenchymatrophie; mittelgradige, diffuse, extramedulläre Hämatopoese

Leber: hochgradige, brückenbildende, diffuse Fibrose des Parenchyms, hochgradige Hämosiderose der Kupffer- und Leberzellen; dezente lymphoplasmazelluläre Cholangiohepatitis; mittelgradige Gallengangsproliferation; geringgradige, extramedulläre Hämatopoese; mittelgradige, diffuse, zentrolobuläre, hepatozelluläre Dystrophie mit beginnender Zentralvenenfibrose

Lunge: hochgradige Stauungshyperämie; hochgradiges, diffuses, alveoläres Ödem; hochgradige Alveolarhistiozytose; multifokal akute Fibrinthromben in kleineren Gefäßen; multifokale alveoläre Emphyse; multifokale, interalveoläre Fibrosen

Knochenmark: hochgradige, medulläre Hämatopoese mit betonter Aktivierung der Erythropoese.

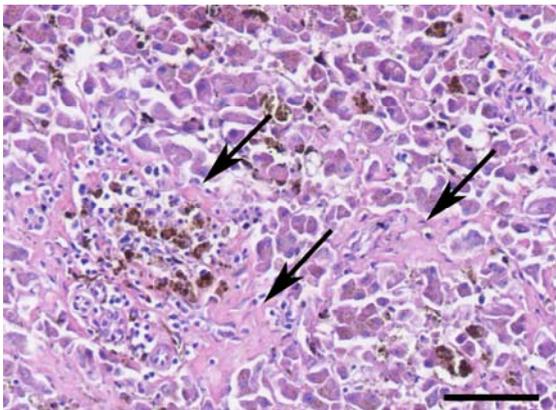


Abb. 30: Leberzirrhose: hochgradige Ablagerungen eines bräunlichen, fein granulären Pigmentes in den Kupfferzellen sowie feinstaubige, bräunliche Pigmentablagerungen in den Hepatozyten, neben degenerativen und regenerativen Veränderungen der Hepatozyten prominente Fibrosen zu erkennen (Pfeile) → Brückenbildung zwischen benachbarten Periportalfeldern, Hämatoxylin und Eosin-Färbung, Balken: 50 µm.

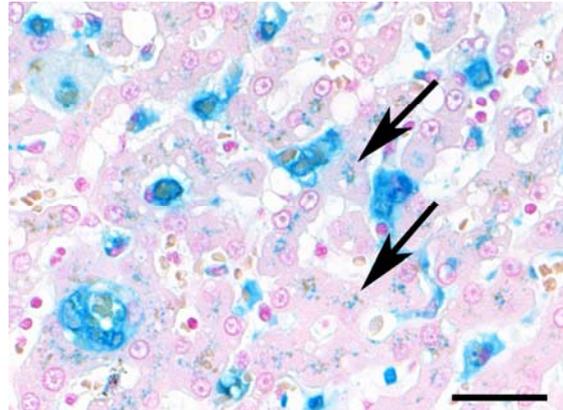


Abb. 31: Der Turnbull-Blau-Nachweis identifizierte hochgradige Eisenablagerungen sowohl in den Kupfferzellen (große, blaue Niederschläge) als auch in fein-disperser Verteilung in den Hepatozyten (Pfeile), Balken: 50 µm

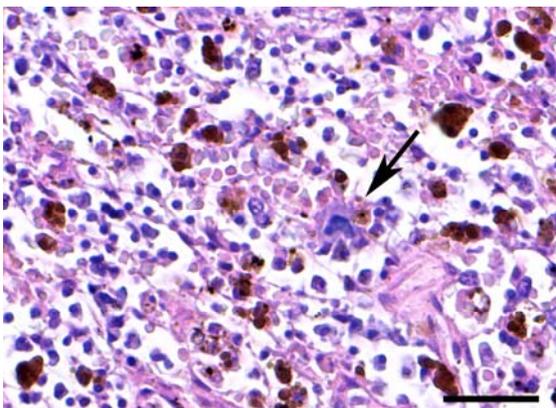


Abb. 32: Milz-EMH: hochgradige Speicherung eines bräunlichen Pigmentes sowie aktivierte extramedulläre Hämatopoese (Pfeil). Hämatoxylin und Eosin-Färbung, Balken: 50µm

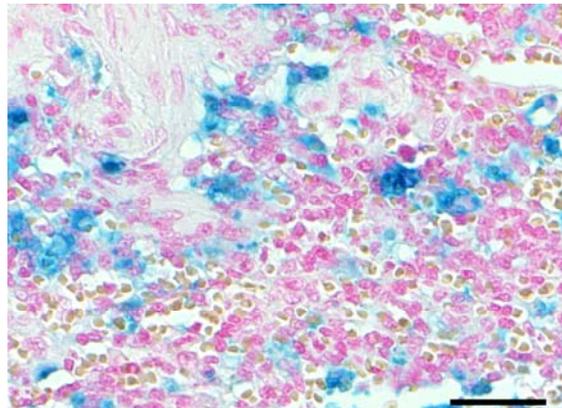


Abb. 33: Milz-Turnbull: Mittels eines Färbeverfahrens zum Eisennachweis wurde das bräunliche Pigment als Hämosiderin identifiziert (blaue Färbung), Balken: 50 µm.

IV.8 Stammbaumanalysen

Von 36 der 38 PK-defizienten Katzen lag der 4 Generationen umfassende Stammbaum vor. 15 Katzen waren eng miteinander verwandt (Abb. 34). Von den restlichen 21 PK-defizienten Somalis und Abessinern hatten 11 ebenfalls gemeinsame Vorfahren (Abb. 35).

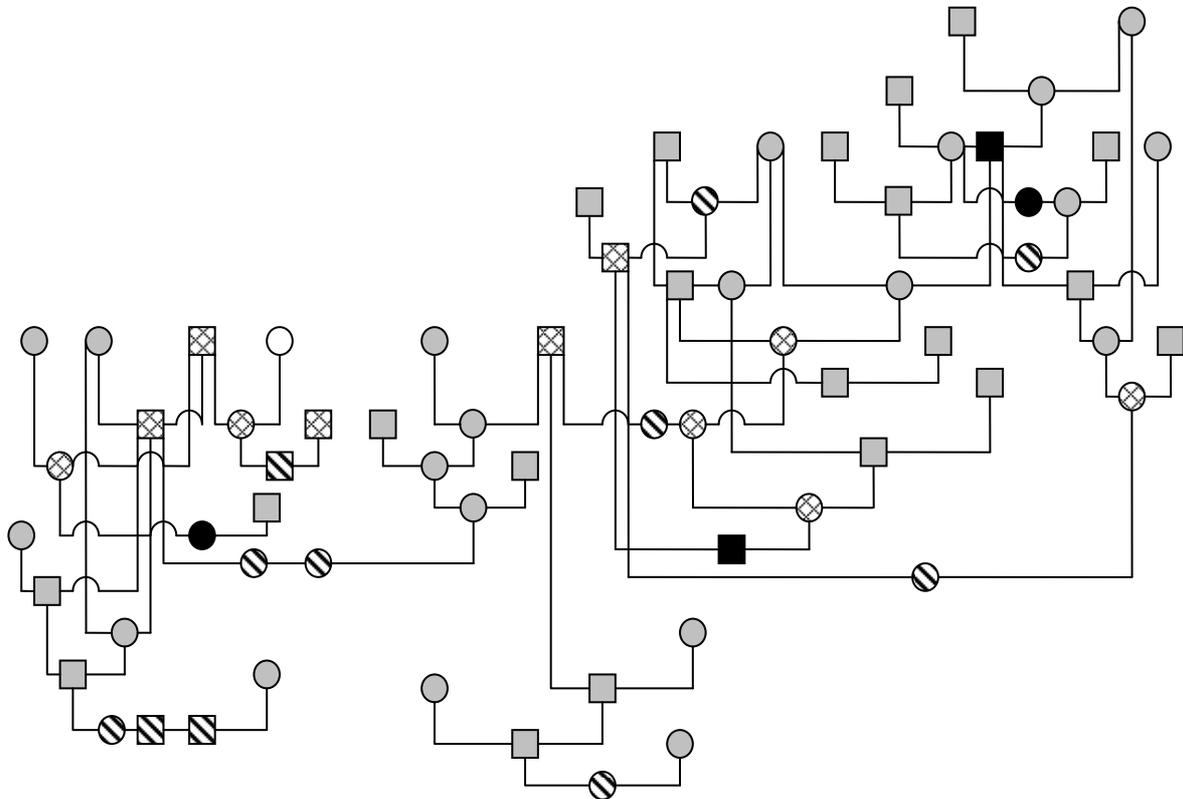


Abb. 34: Stammbaum von 15 Katzen mit PK-Defizienz (14 Somalis, 1 Abessinier)

= PK-defizient, lebend
 = PK-defizient, tot
 = PK Carrier
 ○ = PK Normal
 ◻ = keine Information
 ◻ = männlich ○ = weiblich

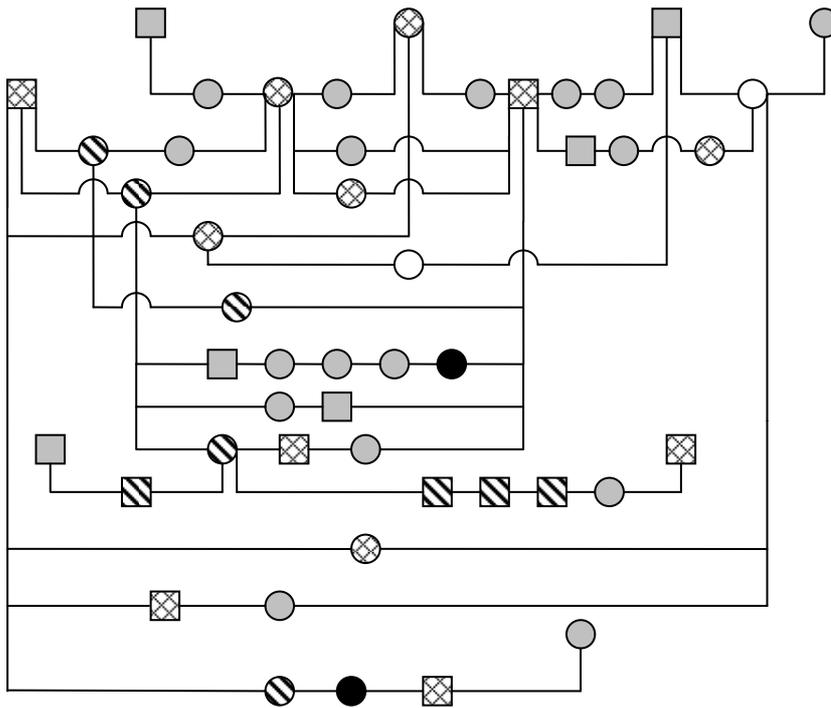


Abb. 35: Stammbaum von 11 Abessiniern mit PK-Defizienz
 ▨ = PK-defizient, lebend ■ = PK-defizient, tot ⊠ = PK Carrier □ = PK Normal
 ▩ = keine Information □ = männlich ○ = weiblich

V Diskussion

V.1 Vorkommen und Verbreitung der Pyruvatkinase-Defizienz

Nachdem im Jahre 2002 in Deutschland der erste Fall einer feline PK-Defizienz diagnostiziert wurde, wurden über einen Zeitraum von 4,5 Jahren PK-Testergebnisse von 503 Abessinier- und Somalikatzen aus Deutschland und anderen europäischen Ländern gesammelt und ausgewertet. Von den 239 getesteten Abessiniern und 264 Somalis waren 7,5 % PK-defizient und wiesen den Defekt auf beiden Allelen auf, 23,3 % waren Anlageträger mit einem betroffenen Allel und 69,2 % waren frei von diesem Gendefekt. In Deutschland wurden von 329 Katzen 9,7 % als „affected“ und 26,4 % als Anlageträger getestet. Von den 13 verschiedenen Ländern, aus denen Testergebnisse vorlagen, wurden PK-defiziente Katzen neben Deutschland auch in der Schweiz, Österreich, Finnland und Niederlande identifiziert.

In den wenigen bisherigen Veröffentlichungen über die feline PK-Defizienz wurde nur über wenige Katzen berichtet bzw. es handelte sich um Fallberichte (FORD et al., 1992; GIGER, 2001; KOHN, 2001; MANSFIELD und CLARK, 2005; VAN GEFFEN et al., 2005; HARVEY et al., 2007a). Lediglich in England wurde bisher eine größere Anzahl von Somalis und Abessiniern auf das Vorliegen einer PK-Defizienz untersucht. Von den 126 getesteten Katzen waren 38 % Trägartiere und 6 % erkrankt (HARVEY et al., 2007b), was mit unseren Daten vergleichbar ist. In einem Fallbericht einer PK-defizienten Somalikatze aus Belgien wurde der PK-Status von 14 verwandten Katzen erhoben. Davon waren 3 Katzen PK-defizient, 7 Anlageträger und 4 normal. Die Vorfahren dieser Katzen stammten aus Belgien, Deutschland, England, Schweiz, Frankreich und den USA (VAN GEFFEN et al., 2005). Auch in der vorliegenden Arbeit wurden in von PK-Defizienz betroffenen Zuchten Katzen aus Deutschland, England, den USA und der Schweiz zur Zucht verwendet.

Die Daten unserer Arbeit deuten auf eine hohe Verbreitung der PK-Defizienz in deutschen bzw. europäischen Abessinier- und Somalizuchten hin. Allerdings muss bei der Interpretation der Zahlen berücksichtigt werden, dass insbesondere Züchter, bei denen kranke oder Trägartiere vorkamen, weitere Zuchttiere testen ließen und es sich daher nicht um repräsentative Stichproben aus allen Abessinier- und Somalizuchten handelt. Auch bei der Testung der 14 Somalikatzen aus Belgien wurden nur verwandte Katzen einer PK-defizienten Katze getestet (VAN GEFFEN et al., 2005).

V.2 Besitzerbefragung

Von den 28 verschickten Fragebögen an Besitzer PK-defizienter Katzen wurden nur 16 vollständig beantwortet. 12 weitere Besitzer gaben jedoch Informationen zum Krankheitsverlauf ihrer Katzen nicht anhand des Fragebogens sondern per e-mail oder Telefon. Die Rassen Abessinier und Somalis wurden gleich häufig gezüchtet und nur 2 Züchter zogen beide Rassen in einem Haushalt auf. Die Zuchttiere, mit denen PK-Defizienz-betroffene Zuchten ursprünglich begonnen wurden, stammten vor allem aus Deutschland und den USA. Die Befragung ergab weiterhin, dass zwar fast alle Züchter ihre Zuchttiere testen ließen, aber dennoch auch Anlageträger weiterhin verpaart wurden, wenn auch nur mit gesunden Katzen. Eine Besitzerin zweier PK-defizienter Katzen setzte auch diese zur Zucht ein.

V.3 Patienten

Von den 38 PK-defizienten Katzen waren jeweils 19 Abessinier bzw. Somalis. Die Anzahl an männlichen und weiblichen Tieren unterschied sich kaum.

Von 27 der 38 an PK-Mangel erkrankten Katzen konnte der Krankheitsverlauf erfasst werden. 11 Katzen zeigten bis zu einem Alter von 0,8 – 7,8 Jahren (M = 4,4) keinerlei Auffälligkeiten. Eine bis dahin symptomlose Katze verstarb nach einer Geburt mit 1,7 Jahren. Bei einer 10-

jährigen weiblichen Zuchtkatze aus einer Studie, in der 5 PK-defiziente Somalis und Abessinier beschrieben wurden, war die Anämie ein Zufallsbefund, da die Katze ebenfalls symptomlos war (KOHN, 2001). Bei der Untersuchung von 14 symptomlosen, verwandten Katzen einer PK-defizienten, erkrankten Somalikatze wurden 3 homozygot betroffene Katzen identifiziert. Die PK-defizienten Katzen waren zum Zeitpunkt der Testung 12 – 36 Monate (M = 22) alt (VAN GEFFEN et al., 2005). Die PK-Defizienz kann also lange Zeit symptomlos verlaufen, wodurch auch homozygot betroffene Katzen zur Zucht eingesetzt werden, was dazu führt, dass die Mutation sich weiter verbreitet.

15 von 26 PK-defizienten Katzen dieser Arbeit zeigten ab einem Alter von 0,1 – 5 Jahren (M = 1,7) Symptome wie Apathie, Durchfall, blasse Schleimhäute, Inappetenz, schlechte Fellqualität, Ikterus, Gewichtsverlust, umfangsvermehrtes Abdomen und Fressen von Katzenstreu. Bei 13 von 15 dieser Katzen (87 %) traten die ersten Anzeichen einer Erkrankung vor dem 4. Lebensjahr auf. Beim ersten Fallbericht einer PK-defizienten Abessinierkatze aus dem Jahre 1992 handelte es sich um eine 1-jährige Katze, die wegen Apathie und Splenomegalie vorgestellt wurde (FORD et al., 1992). Bei 4 von 5 an PK-Defizienz erkrankten Katzen (2 Abessinier, 3 Somalis; Alter 2-10 Jahre, D = 5,4), die an der School of Veterinary Medicine, University of Pennsylvania untersucht wurden, waren ähnliche Symptome wie in unserer Studie aufgefallen, wie Apathie, blasse Schleimhäute, Fressen von Katzenstreu und gelegentlichem Erbrechen. Die ersten Anzeichen einer Anämie wurden mit 1, 2, 4 und 6 Jahren beobachtet (KOHN, 2001). In einem Fallbericht aus Australien (MANSFIELD und CLARK, 2005) wurde von einem 7 Jahre alten kastrierten Somaliker berichtet, der wegen Ikterus und Polydipsie vorgestellt wurde und bis zu diesem Zeitpunkt für die Besitzer unauffällig war. In einem Fallbericht aus England wurde eine 2-jährige Somalikatze wegen Erbrechen, Lethargie, Inappetenz und Ikterus in der Klinik vorgestellt (HARVEY et al., 2007a). Eine belgische 2,5 Jahre alte Somalikatze zeigte rezidivierenden Ikterus seit einem halben Jahr. Die Episoden gingen mit Symptomen wie Lethargie, Inappetenz und intermittierendem Vomitus einher (VAN GEFFEN et al., 2005). PK-defiziente Hunde werden ebenfalls im jungen Alter mit Symptomen wie Leistungsschwäche und blassen Schleimhäuten vorgestellt (GIGER, 2000b). Auch bei den Katzen vorliegender Studie waren die Symptome mit Apathie, Diarrhoe, blassen Schleimhäuten und Inappetenz meist unspezifisch. Nur bei vier von 15 Katzen mit Symptomen war ein Ikterus als möglicher Hinweis auf eine hämolytische Anämie aufgefallen. Der Auslöser von hämolytischen Krisen ist unklar. Mit Stress verbundene Ereignisse, wie z.B. Infektionen oder Ausstellungen könnten zu plötzlicher Verschlechterung des Krankheitsbildes durch eine unspezifische Aktivierung des Makrophagensystems, eine Schädigung der Ec-Membran oder Suppression der Hämatopoese führen. Die Autoren des australischen Fallberichtes vermuteten als Auslöser der hämolytischen Krise einer 7-jährigen Somalikatze die Infektion mit *Mycoplasma haemominutum* und eine Cholangiohepatitis. In der vorliegenden Studie war ein Kater bis zu einem Alter von 4,3 Jahren symptomlos und zeigte dann blasse Schleimhäute, Schwäche, wässrigen Durchfall, Inappetenz und Gewichtsverlust. Die pathologische Untersuchung des einen Monat später euthanasierten Katers ergab zusätzlich zu den typischen Befunden in Leber und Milz eine hochgradige Kokkzidiose im Jejunum. Dieser schwere Parasitenbefall könnte Auslöser einer hämolytischen Krise gewesen sein. In der Niere dieses Katers wurde eine mittelgradige, glomeruläre Amyloidose nachgewiesen, die bei Somalis und Abessiniern ebenfalls erblich bedingt ist (VAN ROSSUM et al., 2004). Vier Besitzer der vorliegenden Studie sahen einen Zusammenhang zwischen der Verschlechterung des Zustandes und verschiedenen Stresssituationen (Ausstellungen, Hitze). In neueren Untersuchungen wurde herausgefunden, dass die R-PK oxidativen Stress vermindert und dass in R-PK-defizienten Mäusen Gene für die DNA-Reparation sowie Antioxidantien herunterreguliert sind. Außerdem muss bei der Reifung der Ec die Glykolyse gesteigert werden, um die Formation von intrazellulären, reaktiven Sauerstoffradikalen zu

vermindern. Das bedeutet, dass bei PK-defizienten Individuen nicht nur die Überlebenszeit der Ec verkürzt ist, sondern auch die Reifung der Ec-Progenitorzellen gestört ist (AISAKI et al., 2007). Auch beim Menschen mit PK-Mangel wurde über das vermehrte Vorkommen von hämolytischen Krisen bei Schwangerschaft oder akuten Infektionen berichtet (DUNCAN et al., 1983). In der Studie von ZANELLA et al., (2007) werden die Phänotypen in verschiedene Schweregrade eingeteilt und diesen unterschiedliche Mutationen zugeordnet. Aber auch hier wird von einer individuellen Variabilität der klinischen Symptome gesprochen, abhängig vom Vermögen der Kompensation bzw. Vorhandensein anderer Erkrankungen.

Bei Hunden mit PK-Mangel kann außerdem eine Myelofibrose und Osteosklerose auftreten und zusammen mit der stets hochgradigen Anämie diagnostisch einen Hinweis auf diese Erkrankung geben (GIGER et al., 1991). Diese Knochenveränderungen bei Hunden sind vermutlich ebenfalls Folge des Eisenüberschusses (ZAUCHA et al., 2001), wurden aber bei der Katze und beim Menschen nicht beobachtet.

V.4 Hämatologische Untersuchungen

73 % der PK-defizienten Katzen wiesen bei der initialen hämatologischen Untersuchung eine Anämie auf. 12 von 16 anämischen Katzen zeigten laut Besitzerangaben verschiedene Symptome und 4 Katzen waren mit **Hkt**-Werten von 0,25 - 0,29 l/l völlig unauffällig. Von den 22 PK-defizienten Katzen hatten laut Besitzer 14 verschiedene Symptome – der Hkt dieser Katzen betrug 0,13 – 0,37 l/l (M = 0,29). 8 Katzen waren klinisch unauffällig und der Hkt lag bei 0,25 – 0,44 l/l (M = 0,32). Beim Vergleich der symptomlosen Katzen mit denen mit Symptomen lagen die Medianwerte für Hkt, Hb und Ec der symptomlosen Katzen über dem der Katzen mit Symptomen; der Unterschied war aber nur bei der Ec-Anzahl statistisch signifikant. In 3 Fallberichten über PK-defiziente Katzen mit Symptomen lag der Hkt bei 0,10 – 0,20 l/l (MANSFIELD und CLARK, 2005; VAN GEFFEN et al., 2005; HARVEY et al., 2007a). Beim Screening von 14 symptomlosen, verwandten Katzen einer erkrankten Somali wiesen 3 homozygot betroffene Katzen einen Hkt von 0,18, 0,24 und 0,29 l/l auf. Bei einer Reihenuntersuchung in England wurden 126 Somalis und Abessinier getestet und 7 Katzen waren homozygot erkrankt, wiesen jedoch zum Zeitpunkt der Testung keine Symptome auf. Vier von 5 PK-defizienten Somalis und Abessinern in einer Studie aus den USA zeigten milde Symptome, wie Apathie, blasse Schleimhäute, Fressen von Katzenstreu und gelegentliches Erbrechen. Bei einer 10-jährigen weiblichen Zuchtkatze war die Anämie ein Zufallsbefund. Der Hkt der 5 Katzen lag bei 0,13 – 0,37 l/l (M = 0,245) (KOHN, 2001).

Das **MCV** lag bei 75 % der Katzen über dem Referenzbereich. Der mediane MCV-Wert lag bei den symptomatischen Katzen mit 57 fl deutlich über dem medianen Wert der symptomlosen Katzen mit 47 fl; der Unterschied war signifikant. Beim Vergleich des MCV bei anämischen und nicht-anämischen Katzen unterschieden sich die Medianwerte auch deutlich, aber eine Signifikanz lag nicht vor. Auch bei 5 amerikanischen PK-defizienten Katzen und in 2 Fallberichten war das MCV erhöht (KOHN, 2001; VAN GEFFEN et al., 2005; HARVEY et al., 2007a). Zu einer Erhöhung des MCV kommt es durch die vermehrte Anzahl an jungen, großen Ec. Zu einem falsch erhöhten Ergebnis kann es durch Agglutination von Ec kommen, was aber in vorliegender Studie nicht auftrat. Auch bei zu langer Lagerung in EDTA-Röhrchen kann es zu einer Schwellung der Ec kommen (WEISS und TVEDTEN, 2004). Eine Makrozytose ohne Regenerationsanzeichen wie Polychromasie wird häufig bei anämischen Katzen mit Myelodysplasie oder myeloproliferativen Erkrankungen infolge einer FeLV-Infektion beobachtet, was hier aber auszuschließen war. Ein Folsäuremangel führt beim Menschen zur Makrozytose, jedoch nicht bei Haustieren (THRALL, 2004).

Bei 45 % der getesteten Katzen lag das **MCHC** unter dem Referenzbereich. Die MCHC-Werte unterschieden sich kaum zwischen anämischen und nicht-anämischen und symptomatischen und symptomlosen Katzen. Auch eine PK-defiziente Somalikatze aus Belgien wies ein erniedrigtes MCHC auf und bei Hunden wurde ebenfalls darüber berichtet

(HARVEY, 2006). Tiere mit PK-Defizienz weisen also typischerweise eine makrozytäre und z.T. hypochrome Anämie auf mit einer erhöhten Anzahl von Retikulozyten. Retikulozyten sind relativ größer als Ec (MCV ↑) und, da ihre Hb-Synthese noch nicht abgeschlossen ist, hypochrom (MCHC ↓) (WEISS und TVEDTEN, 2004). In dieser Studie lag bei 75 % der anämischen Katzen eine makrozytäre Anämie vor und bei 31 % waren die Ec hypochrom.

Bei 5 von 22 Katzen war das MCHC erhöht. Zu einer Erhöhung kann es durch Hämolyse, durch vermehrtes Vorkommen von Heinz-Körperchen oder ein falsches Mischungsverhältnis von EDTA und Blut kommen (THRALL, 2004).

Da die Blutproben nicht direkt nach der Abnahme untersucht, sondern verschickt wurden, können auch transportbedingte Veränderungen auftreten. In einer Studie wurden die Veränderungen von caninen Ec während der Lagerung in EDTA getestet. Der Hkt und das MCV stiegen innerhalb von 48 h signifikant an und das MCHC fiel ab. Außerdem stieg der Anteil an normozytär-hypochromen und makrozytär-normochromen Zellen an (FURLANELLO et al., 2006), Ec-Anzahl und Hb-Konzentration blieben aber stabil (MÉDAILLE et al., 2006).

Obschon die erythrozytäre PK-Defizienz einen Energiemangel und dadurch eine verkürzte Überlebenszeit der Ec bewirkt, können einige Katzen den Abbau offensichtlich gut kompensieren. 95 % der Katzen wiesen erhöhte **Retikulozyten**werte auf. 67 % der Katzen mit Retikulozytose ($55 - 352 \times 10^9/l$, $M = 91$) wiesen eine Anämie auf mit einem Hkt von $0,19 - 0,31 l/l$ ($M = 0,28$). Bei den anderen 33 % mit aggregierten Retikulozyten von $43 - 936 \times 10^9/l$ ($M = 195$) lag der Hkt im Referenzbereich, was auf den erhöhten Turnover und eine gute Kompensation hindeutet. Bei 4 von 5 Somali- und Abessinierkatzen aus den USA lagen die Retikulozytenwerte zwischen $48 - 860 \times 10^9/l$. Eine Katze mit normalem Hkt hatte nur punktierte Retikulozyten (KOHN, 2001). Beim Vergleich der Retikulozytenzahlen hinsichtlich Anämie und dem Vorliegen von Symptomen fällt auf, dass Katzen mit Symptomen signifikant mehr Retikulozyten aufwiesen als symptomlose Katzen, sich aber die Retikulozytenwerte von anämischen und nicht-anämischen Katzen kaum unterscheiden. Auch bei anderen hämolytischen Erkrankungen ist das Ausmaß der Retikulozytose nicht proportional zum Schweregrad der Hämolyse (ZANELLA et al., 2005). Der Grund dafür ist, dass junge PK-defiziente Ec vermehrt von der Milz sequestriert werden im Vergleich zu gesunden Ec (MENTZER et al., 1971). Als Konsequenz daraus steigen nach einer Splenektomie die Retikulozytenwerte an (ZANELLA et al., 2007).

Die Beurteilung der **Ec-Morphologie** ergab beim Vergleich von symptomlosen mit symptomatischen Katzen und von anämischen mit nicht-anämischen Katzen jeweils einen höheren Grad an Anisozytose und Polychromasie bei den symptomatischen und den anämischen Katzen.

Bei 7 von 22 Katzen konnte eine Leukozytose festgestellt werden und das **Differentialblutbild** ergab bei 67 % der Katzen eine Lymphozytose. Von einer Lymphozytose wurde auch bei 2 von 5 amerikanischen PK-defizienten Katzen und bei Somalis und Abessinierkatzen mit erhöhter OF berichtet (KOHN et al., 2000; KOHN, 2001). Eine chronische Antigenstimulation könnte Ursache dafür sein und auch eine Splenomegalie bedingen. Andere Ursachen einer Lymphozytose sind starke Immunstimulation durch chronische Infektionen, Virämie, immunmedierte Erkrankungen oder eine kürzlich erfolgte Immunisierung (WEISS und TVEDTEN, 2004). Die Ursache der bei 83 % der Katzen vorliegenden Eosinophilie blieb unklar. Ursachen für ein verstärktes Auftreten von Eosinophilen sind parasitäre Erkrankungen oder IgE-vermittelte Hypersensitivitätsreaktionen (WEISS und TVEDTEN, 2004).

V.4.1 Osmotische Fragilität der Erythrozyten

Die OF der Ec war in dieser Studie bei 11 von 14 PK-defizienten Katzen normal, bei zweien geringgradig und bei einer mittelgradig erhöht. Da das Blut innerhalb von 24 – 48 h zur Untersuchung eingeschickt wurde, könnte die Erhöhung bei den 3 Katzen auf transportbedingte Veränderungen der Ec-Membran zurückzuführen sein.

In einer Studie von KOHN (2001) war die OF von 5 Somalis und Abessinern ebenfalls normal oder nur geringgradig erhöht. Von einer normalen OF wurde auch bei der caninen PK-Defizienz (PRASSE et al., 1975; CHAPMAN und GIGER, 1990; GIGER und NOBLE, 1991; KOHN et al., 1999) berichtet. Die Bestimmung der OF kann zur Unterscheidung gegenüber anderen hämolytischen Erkrankungen dienen. Die OF war bei allen Katzen mit einer Immunhämolytischen Anämie erhöht, da das Oberflächen-Volumen-Verhältnis bei dieser Erkrankung verändert ist (KOHN et al., 2006). Der Körper bildet Antikörper gegen die Ec-Membran und bewirkt dadurch eine Aktivierung von Makrophagen und des Komplementsystems. Es kommt zur Ausbildung eines „Membrane Attack Complex“, der die Ec-Membran beschädigt und somit die OF erhöht (STEWART und FELDMANN, 1993). Die OF kann außerdem bei Erkrankungen wie Haemoplasmose, Lymphom, Hypophosphatämie, FeLV, Niereninsuffizienz oder entzündlichen Geschehen (z.B. FIP) erhöht sein (KOHN, 2001).

V.5 Klinisch-chemische Blutuntersuchungen

Ergebnisse von klinisch-chemischen Blutuntersuchungen von Katzen mit PK-Mangel liegen in der Literatur nur vereinzelt vor. Bei 3 von 16 Katzen in der vorliegenden Untersuchung war das **Bilirubin** hochgradig und bei 2 weiteren Katzen mittelgradig erhöht. Der Unterschied der Bilirubinkonzentration bei anämischen ($M = 4,1$) und nicht anämischen Katzen ($M = 2,7$) war statistisch nicht signifikant, jedoch waren die Katzen mit den höchsten Bilirubinkonzentrationen anämisch. Sechs von 10 Katzen mit Bilirubinkonzentrationen im Normbereich waren bei der initialen Untersuchung anämisch. Auch bei 2 von 3 amerikanischen Katzen mit PK-Mangel wurde eine nur geringgradige Erhöhung der Serumbilirubinkonzentration festgestellt, was auf eine gute Kompensation des beschleunigten Ec-Abbaus hinwies (KOHN, 2001). In der Humanmedizin ist das Bilirubin ebenfalls oftmals nur geringgradig erhöht und bei größeren Abweichungen von der Norm wird nach hepatischen oder posthepatischen Ursachen einer Hyperbilirubinämie gesucht (ZANELLA et al., 2007). Als Ursache einer hochgradigen Hyperbilirubinämie bei einer PK-defizienten Katze wurde eine Cholelithiasis identifiziert (VAN GEFFEN et al., 2005). Bei einer englischen Katze war der Vorstellungsgrund ein Ikterus und die Katze wies ebenfalls eine hochgradige Hyperbilirubinämie auf. In der Sonographie fielen eine gestaute Gallenblase und ein gestauter Gallengang auf. Bei dieser Katze wurden mittels Choledochotomie 2 Bilirubin-Cholelithen entfernt (HARVEY et al., 2007a). Auch beim Menschen wird über Gallensteine infolge der chronischen Hämolyse bei PK-defizienten Patienten berichtet. Mehr als 20 % der Erwachsenen benötigen eine Cholezystotomie (ZANELLA und BIANCHI, 2000).

Zehn von 16 Katzen unserer Studie wiesen eine **Leberenzymerrhöhung** auf, wobei bei einer Katze ein Enzym erhöht war, bei 2 Katzen 2, bei 3 Katzen 3 und bei einer Katze alle 4 untersuchten Leberenzyme erhöht waren. Die 3 Katzen mit der hochgradigen Hyperbilirubinämie hatten auch die höchsten Leberenzyme, was darauf hindeutet, dass die Ursache der Hyperbilirubinämie nicht nur die Hämolyse war, sondern vermutlich auch intra- bzw. posthepatisch zu finden ist. Der Vergleich der Leberenzyme bei anämischen und nicht-anämischen Katzen war statistisch nicht signifikant.

Durch die Inhibition der Hcpidin-Expression werden bei anhaltenden Anämiezuständen die intestinale Absorption von Eisen und somit auch die Eisenkonzentrationen im Plasma erhöht (DEUGNIER et al., 2008). Die chronische Hämolyse kann somit beim Menschen und beim Hund sekundär zu einem hepatozellulären Eisenüberschuß und einer Leberzirrhose führen

(HILGARD und GERKEN, 2005). Eisenablagerungen in den Kupffer- und auch den Leberzellen konnten auch bei 2 Katzen unserer Studie nachgewiesen werden, jedoch lagen keine Anzeichen einer Zirrhose vor. Bei ausgeprägter Eisenüberladung kommt es zu einer Sättigung der Eisentransport- und -speicherproteine, das überschüssige Eisen geht mit anderen niedermolekularen Plasmaproteinen eine schwache Bindung ein und das intrazelluläre labile Eisen steigt an. Durch Radikalbildung (oxidativer Stress) werden die Zellorganellen geschädigt und es kann zu Funktionsstörungen der Zelle bis hin zum Zelltod kommen (SCHAER et al., 1992; HILGARD und GERKEN, 2005). Hypoxien in der Leber verursacht durch akute hämolytische Krisen oder Kreislaufinsuffizienzen können ebenfalls zur Schädigung von Hepatozyten und damit zu einer erhöhten Aktivität der Leberenzyme und zum Bilirubinanstieg führen. Zwei von 9 Katzen mit einer erhöhten Aktivität der Leberenzyme wiesen eine hochgradige Anämie auf (0,09 und 0,14 l/l). Hypoxie-bedingte Leberzellzerstörungen konnten bei Hunden mit IHA nachgewiesen werden (McMANUS und LINDEN, 2001). Eine Leberwerterhöhung hatten auch 3 PK-defiziente Katzen aus Fallberichten, wobei bei 2 Katzen eine Stauung des Gallenganges vorlag (MANSFIELD und CLARK, 2005; VAN GEFFEN et al., 2005; HARVEY et al., 2007a). Ebenfalls erhöhte Leberwerte wurden bei immunhämolytischen Anämien (IHA) und der erhöhten OF der Ec gefunden (KOHN et al., 2000 und 2006).

Eine **Hyperglobulinämie** lag bei 88 % der Katzen unserer Studie vor und wurde auch bei anderen PK-defizienten Katzen festgestellt (KOHN, 2001; MANSFIELD und CLARK, 2005; VAN GEFFEN et al., 2007). Eine Hyperglobulinämie wurde ebenfalls bei Katzen mit „Erhöhter erythrozytärer OF“ (KOHN et al., 2000) und immunhämolytischer Anämie (KOHN et al., 2006) gemessen und kann, wie auch eine Splenomegalie und Lymphozytose, auf eine chronische Stimulation des Immunsystems hindeuten, wurde jedoch bei Menschen und Hunden mit PK-Defizienz nicht beschrieben.

V.6 Differentialdiagnosen

Die durch den PK-Mangel verursachte hämolytische Anämie wird nicht selten als Immunhämolyse fehlinterpretiert. Der Coombs-Test wurde in vorliegender Arbeit bei 2 Katzen durchgeführt und fiel negativ aus. Ebenfalls negativ getestet wurde der 1. Fall einer feline PK-Defizienz aus dem Jahre 1992 (FORD et al., 1992). Einen schwach positiven Wert ergab die Testung einer belgischen, PK-defizienten Somalikatze, was die Autoren des Fallberichtes jedoch auf fragliche Referenzwerte des Coombs-Testes im gewählten Labor zurückführten (VAN GEFFEN et al., 2005). In vorliegender Studie wurden alle Blutproben makroskopisch und mikroskopisch auf das Vorliegen einer Agglutination der Ec untersucht, da eine nach dreimaligem Waschen mit physiologischer Kochsalzlösung persistierende Autoagglutination nahezu pathognomisch für eine IHA ist (GIGER, 2005). Keine Katze zeigte eine Agglutination der Ec. Weiterhin kann zur Abgrenzung einer IHA die OF der Ec untersucht werden. In einer Studie von KOHN et al. (2006) war die MOF bei allen Katzen mit IHA erhöht. In vorliegender Studie lag die MOF bei den meisten Katzen mit PK-Defizienz im Referenzbereich des Kliniklabors. 3 Katzen zeigten eine vermutlich transportbedingte Erhöhung der OF. Ursache einer einer Hämolyse können weiterhin eine FeLV- oder Hämoplasmose-Infektion, aber auch Neoplasien oder Medikamente sein. Weiterhin können Toxine bzw. Chemikalien (z.B. Propylenglykol, Zwiebeln) und eine mechanische Schädigung der Ec (z.B. disseminierte intravasale Koagulation) eine Hämolyse auslösen (CHRISTOPHER, 2000; GIGER, 2000a; GIGER, 2005). Eine wichtige Differentialdiagnose zum PK-Mangel stellt die „Erhöhte osmotische Fragilität (OF) der Ec“ dar, da diese Erkrankung ebenfalls bei Abessinern und Somalis auftritt und ein sehr ähnliches Krankheitsbild verursacht. Beide Erkrankungen können bereits im jugendlichen Alter offensichtlich werden und gehen mit einer chronischen hämolytischen Anämie bzw. hämolytischen Krisen einher (KOHN et al., 2000). Die „Erhöhte OF der Ec“ wurde bisher in

den USA und einer Katze in der Schweiz (unveröffentlichte Daten) diagnostiziert und als Ursache wird ein Membrandefekt vermutet. Im Gegensatz zu den Katzen mit „Erhöhter OF“ war die osmotische Fragilität der Ec bei Katzen mit PK-Mangel in unserer Studie jedoch normal oder nur geringgradig erhöht.

V.7 Therapie und Verlauf

Da die PK-Defizienz häufig als Immunhämolyse oder Mykoplasmosose fehlinterpretiert wird, werden die betroffenen Tiere, wie auch in unserer Studie, oft mit Prednisolon und Antibiotika behandelt. Der positive Effekt einer Prednisolontherapie könnte auf dem membranstabilisierenden Effekt von Glukokortikoiden und der Hemmung des Mononukleären Phagozytosesystems in der Milz beruhen und damit eine Verhinderung oder Verzögerung der Phagozytose von geschädigten Ec bedingen.

Von 15 Katzen mit Symptomen wurden 9 behandelt. Jeweils 6 Katzen erhielten verschiedene Antiinfektiva und Prednisolon. Von den 6 Katzen, die mit Glukokortikoiden behandelt wurden, blieb eine Katze bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes für 2,5 Jahre symptomlos und eine weitere überstand mehrere Krisen. Ein Kater erhielt während einer hämolytischen Krise Prednisolon und der Hkt blieb über 2 Jahre stabil. Während eines erneuten Hkt-Abfalls brachte jedoch eine Verdopplung der Glukokortikoiddosis keine Besserung mehr und er verstarb. Die Besitzer eines anderen Katers konnten zwar keinen positiven Einfluss des Prednisolons auf das Krankheitsgeschehen feststellen, jedoch überstand das Tier mehrere Krisen und verstarb erst in einem fortgeschrittenen Alter. Mit Hilfe einer Bluttransfusion und Prednisolon überstand ein Kater eine hämolytische Krise und der Hkt normalisierte sich vollständig. Insgesamt zeigte das Prednisolon also bei 5 von 6 Katzen zumindestens einen teilweisen Erfolg, jedoch war die Anzahl der behandelten Tiere zu gering, um eine Aussage treffen zu können. Von den 3 Katzen, die lediglich mit Antiinfektiva behandelt wurden, verstarben 2 innerhalb von 0,8 bzw. 1,2 Jahren. Die 3. Katze zeigte lediglich Durchfall und keine Anzeichen einer hämolytischen Krise.

Bei schweren hämolytischen Krisen mit starkem Hkt-Abfall unter 0,10 – 0,15 l/l können Blut- oder Oxyglobintransfusionen lebensrettend sein (WEINGART et al., 2004; WEINGART und KOHN, 2008). Nur eine Katze der vorliegenden Studie wurde während eines bedrohlichen Hkt-Abfalls mit einer Vollbluttransfusion behandelt und erholte sich unter zusätzlicher Prednisolontherapie vollständig. Eine Knochenmarktransplantation konnte experimentell beim Hund eine Heilung bewirken (WEIDEN et al., 1981). Bei Katzen mit chronischer hämolytischer Anämie aufgrund von PK-Defizienz kann eine Splenektomie bei rezidivierendem Hkt-Abfall oder bei hochgradiger Milzvergrößerung, die eine verminderte Ausdehnung des Magens oder Inappetenz bedingen kann, durchgeführt werden (FORD et al., 1992; GIGER 2000a). Auch in der Humanmedizin wird in schweren transfusionsabhängigen Fällen eine Splenektomie in Erwägung gezogen (PAGLIA, 1995). Die Splenektomie soll den frühzeitigen Abbau der Ec in der Milz verhindern. Bei Basenjhis mit PK-Mangel führte diese Maßnahme jedoch zu keiner klinischen Besserung (GIGER und NOBLE, 1991). Bei der ersten in der Literatur beschriebenen PK-defizienten Abessinierkatze wurde eine Stabilisierung des Hämatokrits nach Splenektomie festgestellt und die Katze war 10 Jahre nach der Operation noch am Leben (FORD et al., 1992; GIGER, 2001). Bei einer weiteren PK-defizienten Katze stabilisierte sich der Hkt, bei einer dritten besserte sich das Allgemeinbefinden nach Splenektomie (KOHN, 2001). Eine Splenektomie wurde bei keiner Katze der vorliegenden Studie vorgenommen. In der Humanmedizin wird die Splenektomie auch bei anderen hämolytischen Anämien, wie der hereditären Sphärozytose oder der autoimmunhämolytischen Anämie eingesetzt. Eine Splenektomie kann die Hämolyse nicht verhindern, führt aber auch bei PK-defizienten Patienten zu einer Verminderung oder Eliminierung der Transfusionsabhängigkeit und zu einem Hb-Anstieg von 1-3 g/l (ZANELLA und BIANCHI, 2000). Durch sorgfältige prä- und postoperative Versorgung und Einsetzen

neuerer mikroinvasiver Methoden wie der laparoskopischen Splenektomie kann das Risiko minimiert werden. Trotz allem sollte dieser Eingriff wegen möglicher Komplikationen nach der Splenektomie wie bakterieller Sepsis oder thromboembolischer Komplikationen ausgewählten Fällen vorbehalten bleiben. In der Humanmedizin kann es nach Splenektomie zur Entwicklung einer Häm siderose und auch Leberzirrhose kommen (HILDGARD und GERKEN, 2005).

Um hämolytischen Krisen vorzubeugen, sollten PK-defiziente Katzen keinen Stresssituationen, wie z.B. Ausstellungen ausgesetzt werden, da diese eine plötzliche Verschlechterung des Krankheitsbildes bedingen können.

In vorliegender Studie verstarben 43 % der Katzen im Alter von 1,3 – 11,3 Jahren (M = 4,8 Jahre) bzw. wurden euthanasiert. 10 dieser 13 Katzen verstarben bis zu einem Alter von 6 Jahren. PK-defiziente Hunde starben zwischen dem 1. und 9. Lebensjahr an den Folgen der Anämie oder an Leberversagen hervorgerufen durch den Eisenüberschuss (SCHAER et al., 1992; GIGER, 2000b).

V.8 Histopathologische Untersuchungen

Bei Katzen mit PK-Mangel wurde mehrfach eine leicht- bis mittelgradige Splenomegalie beschrieben (FORD et al., 1992; GIGER, 2000b; KOHN, 2001; MANSFIELD und CLARK, 2005). Die histopathologische Untersuchung der Milz von 3 PK-defizienten Katzen unserer Studie ergab eine ausgeprägte extramedulläre Hämatopoese, eine Häm siderose und lymphozytäre Depletion bedingt durch die chronische Hämolyse. Bei 2 Abessinern einer anderen Studie wurden ähnliche Befunde erhoben (KOHN, 2001). Post mortem wurde bei einer 2,5 Jahre alten Somalikatze eine Häm siderose in der Leber und extramedulläre Hämatopoese in der Milz festgestellt (VAN GEFFEN et al., 2005). Die Leber einer 2,7 Jahre alten Abessinierkatze unserer Untersuchungen wies neben hochgradigen Eisenablagerungen eine Zirrhose auf, wovon bisher nur beim Hund und beim Menschen berichtet wurde. Beim Menschen kommt es zu zirrhotischen Veränderungen der Leber bei wiederholten Transfusionen oder nach Splenektomie (HILDGARD und GERKEN, 2005). Eine Eisenüberladung hat präfibrogene Effekte auf das Lebergewebe und induziert oxidativen Stress, wodurch es zur Zirrhose kommen kann (LESNEFSKY, 1994).

Die zytologische Untersuchung von 3 Knochenmarkaspiraten von PK-defizienten Katzen ergab eine milde bis mittelgradige erythroide Hyperplasie (KOHN, 2001). In der vorliegenden Studie wurde das Knochenmark einer Katze post mortem untersucht und eine hochgradige, medulläre Hämatopoese mit betonter Aktivierung der Erythropoese identifiziert.

VI Schlussfolgerung

Da die PK-Defizienz auch in Deutschland weit verbreitet ist, sollten alle Zuchtkatzen vor ihrem Einsatz getestet werden. Um die Erkrankung langfristig zu eliminieren, sollten sowohl homozygot betroffene Katzen als auch Anlageträger von der Zucht ausgeschlossen werden. Da durch weitere Erbkrankheiten bei Abessiniern und Somalis (z.B. progressive Retinaatrophie, renale Amyloidose) nur ein begrenzter Genpool zur Verfügung steht, sollten beim Einsatz von Anlageträgern diese nur mit gesunden Partnern verpaart werden.

Ziel weiterer Untersuchungen könnte es sein, die Ursachen für die unterschiedlichen klinischen Konsequenzen dieser monogenen Erbkrankheit zu untersuchen. Möglicherweise kommt es durch das Auftreten zusätzlicher Mutationen im gleichen Gen zu kompensatorischen Mechanismen hinsichtlich der Energiegewinnung im Ec.

VII Zusammenfassung

Die PK-Defizienz stellt beim Menschen eine der häufigsten hereditären hämolytischen Anämien dar, die durch eine Enzymopathie verursacht wird, und führt auch beim Hund zu einer stark regenerativen, chronischen hämolytischen Anämie. Im Jahre 1992 wurde der erste Fall einer PK-Defizienz bei einem Abessinierkater in den USA und 2002 in Deutschland diagnostiziert. Seither wurde die Erkrankung neben weiteren Abessiniern auch bei Somalis und wenigen Domestic Shorthair Katzen festgestellt.

Bisher liegen kaum Daten über die Verbreitung, den Verlauf der Erkrankung und labordiagnostische Veränderungen bei Katzen mit PK-Defizienz vor. Ziel dieser Arbeit war es daher, eine große Anzahl von Testergebnissen von Somalis und Abessiniern zu erfassen, um die Verbreitung in Deutschland und anderen europäischen Ländern zu evaluieren. Die Krankengeschichten homozygot betroffener Katzen wurden mittels Fragebogen erfasst und alle vorhandenen Laboruntersuchungen ausgewertet.

PK-Testergebnisse von insgesamt 503 Somali- und Abessinierkatzen aus Deutschland und anderen europäischen Ländern waren vorhanden. 7,5 % der Katzen waren homozygot von PK-Defizienz betroffen, 23,3 % waren Anlageträger und 69,2 % waren frei von diesem Defekt. PK-defiziente Katzen konnten in Deutschland, in der Schweiz, Österreich, Finnland und den Niederlanden identifiziert werden.

Das Verhältnis von PK-defizienten Katzen, Anlageträgern und normalen Katzen unterschied sich zwischen den beiden Rassen und zwischen den Geschlechtern nur unwesentlich.

Der Krankheitsverlauf konnte von 26 der 38 PK-defizienten Katzen über einen Zeitraum von 0,8 bis 11,3 Jahren (M = 4,2 Jahre) erfasst werden. 11 Tiere waren laut Besitzerangaben bis zu einem Alter von 0,8 bis 7,8 Jahren (Median [M] = 4,4 Jahre) symptomlos. 15 Katzen zeigten ab einem Alter von 0,1 bis 5 Jahren (M = 1,7 Jahre) intermittierend verschiedene Symptome, wie Apathie, Durchfall, blasse Schleimhäute und Ikterus. Vier Besitzer stellten einen Zusammenhang zwischen Stresssituationen und der Ausbildung von Symptomen fest. Eine hämatologische Untersuchung konnte bei 22 Katzen durchgeführt werden, wovon 16 Katzen eine Anämie mit Hkt-Werten von 0,13 – 0,31 l/l (M = 0,28) aufwiesen. 12 der anämischen Katzen wiesen verschiedene Symptome auf und 4 Katzen waren mit Hkt-Werten von 0,25 – 0,29 l/l klinisch unauffällig. Fünf von 14 Katzen mit Folgeuntersuchungen des Blutbildes wiesen initial und bei jeder Kontrolle eine Anämie auf; 6 Katzen wiesen Perioden mit Hkt-Werten im Normbereich und mit Hkt-Werten unter dem Referenzbereich auf und 3 Katzen wiesen zu keinem Zeitpunkt eine Anämie auf und der Hkt blieb über einen Zeitraum von 1, 2,9 und 3,8 Jahren stabil. 95 % der Katzen wiesen erhöhte absolute aggregierte Retikulozytenwerte auf. Die OF der Ec lag bei den PK-defizienten Katzen meist im Referenzbereich, was zur Abgrenzung des bei den gleichen Rassen vorkommenden Krankheitsbildes der „Erhöhten OF der Ec“ dienen kann.

Bei der klinisch-chemischen Blutuntersuchung hatten 44 % der Katzen eine gering- bis hochgradige Hyperbilirubinämie und bei ebenfalls 44 % war mindestens ein Leberenzym erhöht. 88 % der Katzen wiesen eine Hyperglobulinämie auf.

13 von 30 PK-defizienten Katzen verstarben in einem Alter von 1,3 – 11,3 Jahren (M = 4,8 Jahre) spontan bzw. wurden euthanasiert. Die restlichen Katzen waren mindestens bis zu einem Alter von 0,8 – 7,8 Jahren (M = 4,3) am Leben.

Von 15 Katzen mit Symptomen wurden 9 behandelt, davon 6 mit Prednisolon. Fünf von 6 Katzen sprachen eventuell darauf an, jedoch war die Anzahl der behandelten Tiere zu gering, um eine Aussage treffen zu können. Eine Katze mit schwerer hämolytischer Krise erhielt eine Bluttransfusion.

Eine histopathologische Untersuchung wurde bei 3 Katzen durchgeführt. Neben Hämosiderose und extramedullärer Hämatopoese in Leber und Milz konnte bei einer Katze eine Leberzirrhose mit hochgradigen Eisenablagerungen identifiziert werden.

Diese Arbeit verdeutlicht die hohe Verbreitung der PK-Defizienz in Deutschland und angrenzenden Ländern. Da die Krankheit lange Zeit klinisch und auch labordiagnostisch symptomlos verlaufen kann, sollten alle Somalis und Abessinier vor einem Zuchteinsatz mittels DNA-Untersuchung getestet werden. Grundsätzlich sollten sowohl homozygot betroffene Katzen als auch Anlageträger von der Zucht ausgeschlossen werden, um die Erkrankung zu eliminieren. Sollten aufgrund züchterischer Belange Anlageträger eingesetzt werden, so dürfen diese nur mit gesunden Partnern verpaart werden.

VIII Summary

Erythrocytic pyruvate kinase deficiency in Abyssinian and Somali cats

In humans, PK deficiency is one of the most common hereditary forms of haemolytic anaemia caused by an enzymopathy. PK deficiency has also been described in several canine breeds.

In 1992, the first case of feline PK deficiency has been described in the United States in an Abyssinian male cat and in 2002 the first case was described in Germany. Since then, the disease was identified in other Abyssinians, Somalis, and a few domestic shorthair cats.

Since only limited clinical data has been published until now, the objective of this study was to evaluate clinical signs, laboratory parameters, and the progression of the disease in PK deficient cats. Moreover the prevalence of PK deficiency in Germany and other European countries should be evaluated. The progression of the disease in affected cats was evaluated with a questionnaire and all available laboratory parameters were analysed.

PK DNA test results of 503 Somali and Abyssinian cats from Germany and other European countries were available. 7.5 % were homozygous affected, 23.3 % were heterozygous carriers, and 69.2 % had no mutation of the PK allele. Affected cats were identified in Germany, Switzerland, Austria, Finland, and the Netherlands.

The distribution of affected cats, carriers and healthy cats was similar in both breeds and showed no remarkable difference between males and females.

The progression of the disease of 26 PK deficient cats could be followed over a time of 0.8 to 11.3 years (median 4.2). In 11 cats, the owners did not notice any signs of disease up to an age of 0.8 to 7.8 years (median 4.4). 15 cats started displaying various clinical signs at ages ranging from 0.1 to 5 years (median 1.7). The clinical signs included lethargy, diarrhoea, pale mucous membranes, and icterus. Four owners observed a relationship between stressful situations and the appearance of clinical signs. A haematological examination was performed for 22 PK deficient cats and the CBC revealed anaemia with PCV values of 0.13 - 0.31 l/l (median 0.28) in 16 cats. In 12 cats, the owners noticed no signs of disease and 4 cats were clinically healthy despite PCV values of 0.25 - 0.29 l/l. In 5 of 14 cats with follow-up examinations the PCV was below the reference range in every sample, 6 other cats had periods with normal PCV values as well as periods with PCV values below the reference range and 3 cats did not display anaemia at any time and had a stable PCV over a time period of 1, 2.9, and 3.8 years. The absolute number of aggregated reticulocytes was increased in 95 % of the cats. In contrast to cats suffering from the disease "Increased osmotic fragility of erythrocytes", the mean erythrocytic osmotic fragility of most cats suffering from PK deficiency was within the reference range. Therefore, the osmotic fragility test can be useful to differentiate between these two diseases. 44 % of the cats displayed mild to severe hyperbilirubinaemia and in another 44 % at least one liver enzyme was increased. Hyperglobulinaemia was present in 88 % of the cats.

13 of 30 affected cats died or were euthanised at ages ranging from 1.3 - 11.3 years (median 4.8), the others were alive until to an age of 0.8 - 7.8 years (median 4.3).

Nine of 15 cats with clinical signs were treated by different veterinarians, 6 of them with prednisolon. In 5 of these 6 cats a transient or partial effect was observed, but the number of treated cats did not warrant any conclusions. One cat did develop a severe haemolytic crisis and required a transfusion.

For 3 cats a histopathologic examination was performed. Next to haemosiderosis and extramedullary haematopoiesis, a cirrhosis caused by severe iron deposits could be shown in one cat.

Based upon this survey, the mutant PK allele appears to occur frequently in Somalis and Abyssinians from Germany and other European countries. Since PK deficiency can be asymptomatic in regard to clinical and laboratory parameters for a long time, DNA analysis in

Abyssinian and Somali cats before use for breeding is strongly recommended. Carriers and affected cats should be excluded from breeding to eliminate this disease. Should carriers be used because of breeding aspects they should paired only with healthy cats.

IX Zitierte Literatur

- ABBASI, A., und G. BRAUNITZER (1985)
The primary structure of hemoglobins from the domestic cat (*Felis catus*, Felidae).
Biol. Chem. 366, 699-704
- ADAMS, L.G., R.M. HARDY, D.J. WEISS und J.W. BARTGES (1993)
Hypophosphatemia and hemolytic anemia associated with diabetes mellitus and hepatic lipidosis in cats.
J. Vet. Int. Med. 7, 266-271
- AGAR, N.S., M. GRUCA und J.D. HARLEY (1974)
Studies on glucose-6-phosphate dehydrogenase glutathion reductase and regeneration of reduced glutathione in the red blood cells of various mammalian.
Aust. J. Exp. Biol. Med. Sci. 52, 607-614
- AGAR, N.S., und P.G. BOARD (1983)
Red cell metabolism.
In: AGAR, N.S., P.G. BOARD (Hrsg.): *Red blood cells of domestic mammals.*
Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 227-251
- AISAKI, K., S. AIZAWA, H. FUJII, J. KANNO und H. KANNO (2007)
Glycolytic inhibition by mutation of pyruvate kinase gene increases oxidative stress and cause apoptosis of a pyruvate kinase deficient cell line.
Exp. Hematol. 35, 1190-1200
- ALLEN, S.C., und H. MUIRHEAD (1996)
Refined three-dimensional structure of cat-muscle (MI) pyruvate kinase at a resolution.
Acta Crystallographica 52, 499
- ALSAKER, R.D., J. LABER, J. STEVENS und V. PERMAN (1977)
A comparison of polychromasia and reticulocyte counts in assessing erythrocytic response in the cat.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 170, 39-41
- ANDERSON, L., R. WILSON und D. HAY (1971)
Hematological values in normal cats from four weeks to one year of age.
Res. Vet. Sci. 12, 579-583
- ANDRESS, J.L., T.K. DAY und D.G. DAY (1995)
The effects of consecutive day propofol anesthesia of feline red blood cells.
Vet. Surg. 24, 277-282
- ARAI, T., T. WASHIZU, T. SAKO, M. SASAKI und S. MOTOYOSHI (1992)
D-glucose transport activities in erythrocytes and hepatocytes of dogs, cats and cattle.
Comp. Biochem. Physiol. Comp. Physiol., 102(2):285-7.

- AUSBEL, F.M., R. BRENT, R.E. KINGSTON, D.D. MOORE, J.G. SEIDMAN, J.A. SMITH und K. STRUHL (1991)
Current protocols in molecular biology.
Supplement 13, John Wiley & Sons, Inc., 10.2.1-10.2.21
- BARASCUD, Y., J.F. GUELFY, D. CONCORDET, O. DOSSIN und J.P. BRAUN (1998)
La fragilité osmotique des erythrocytes du chien: validation préanalytique et analytique, valeurs usuelles, variations pathologiques.
Rev. Med. Vet. 148 (8-9), 867-874
- BATTISON, A. (2007)
Apparent pseudohyperkalemia in a Chinese Shar Pei dog.
Vet. Clin. Pathol. 36 (1), 89-93
- BAUGHAN, M.A., W.N. VALENTINE, D.E. PAGLIA, P.O. WAYS, E.R. SIMON und Q.B. DeMARSH (1968)
Hereditary hemolytic anemia associated with glucosephosphate isomerase (GPI) deficiency – A new enzyme defect of human erythrocytes.
Blood 32, 236
- BECKER, M.H., N.B. GENIESER, S. PIOMELLI, D. DOVE und R.D. MENDOZA (1971)
Roentgenographic manifestations of pyruvate kinase deficiency hemolytic anemia.
Am. J. Roentgenol. Radium. Ther. Nucl. Med. 113, 491
- BERENT, L.M., J.B. MESSICK und S.K. COOPER (1998)
Detection of Haemobartonella felis in cats with experimentally induced acute and chronic infections, using a polymerase chain reaction assay.
Am. J. Vet. Res. 59 (10), 1215-1220
- BERG, C. P., I.H. ENGELS, A. ROTHBART, K. LAUBER, A. RENZ, S.F. SCHLOSSER, K. SCHULZE-OSTHOFF und S. WESSELBORG (2001)
Human mature red blood cells express caspase-3 and caspase-8, but are devoid of mitochondrial regulators of apoptosis.
Cell Death Differ. 8 (12), 1197-1206
- BEUTLER, E., S. SCOTT, A. BISHOP, N. MARGOLIS, F. MATSUMOTO und W. KUHL (1973)
Red cell aldolase deficiency and hemolytic anemia: A new syndrome.
Trans. Assoc. Am. Physicians. 86, 154
- BEUTLER, E. (1983)
Hereditary nonspherocytic hemolytic anemia, pyruvate kinase deficiency and other abnormalities.
In: WILLIAMS, J.W., E. BEUTLER, A.J. ERSLEV und M.A. LICHTMAN (Hrsg.):
Hematology. McGraw Hill Publishing Company, New York, 574-582

- BEUTLER, E. (1990)
Osmotic fragility.
In: WILLIAMS, J.W., E. BEUTLER, A.J. ERSLEV und M.A. LICHTMAN (Hrsg.):
Hematology. McGraw Hill Publishing Company, New York, 1726–1728
- BIRKA, C., P.A. LANG, D.S. KEMPE, L. HOEFLING, V. TANNEUR, C. DURANTON, S. NAMMI, G. HENKE, S. MYSSINA, M. KRIKOV, S.M. HUBER, T. WIEDER und F. LANG (2004)
Enhanced susceptibility to erythrocyte "apoptosis" following phosphate depletion.
Pflugers Arch. 448 (5), 471-477
- BOAS, F. E., L. FORMAN und E. BEUTLER (1998)
Phosphatidylserine exposure and red cell viability in red cell aging and in hemolytic anemia.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95 (6), 3077-3081
- BOFANTI, U., S. COMAZZI, S. PALTINIERI und W. BERTAZZOLO (2004)
Stomatocytosis in 7 related Standard Schnauzers.
Vet. Clin. Pathol. 33 (4), 234-239
- BOHR, C., K.A. HASSELBACH und A. KROGH (1904)
Über einen in biologischer Beziehung wichtigen Einfluß, den die Kohlensäurespannung des Blutes auf dessen Sauerstoffbindung übt.
Skand. Arch. Physiol. 16, 402-412
- BORONCIANI, L., und E. BEUTLER (1994)
Prenatal Diagnosis of Pyruvate Kinase Deficiency.
Blood 84, 2364
- BOSMAN, G. J., F.L. WILLEKENS und J.M. WERE (2005)
Erythrocyte aging: a more than superficial resemblance to apoptosis?
Cell. Physiol. Biochem. 16 (1-3), 1-8
- BRATOSIN, D., J. ESTAQUIER, F. PETIT, D. ARNOULT, B. QUATANNENS, J.P. TISSIER, C. SLOMIANNY, C. SARTIAUX, C. ALONSO, J.J. HUART, J. MONTREUIL und J.C. AMEISEN (2001)
Programmed cell death in mature erythrocytes: a model for investigating death effector pathways operating in the absence of mitochondria.
Cell Death. Differ. 8 (12), 1143-1156
- BREWER, G.J. (1974)
In D.M. SURGENOR (Hrsg.): The Red Cell, 2nd ed.,
Academic Press, New York, 387-433
- BROWN, B.I., und D.H. BROWN (1968)
Glycogen storage diseases: Types I, III, IV, V, VII and unclassified glycogenoses.
In: DICKENS, F., P.J. RANDLE und W.J. WHELAN (Hrsg.): Carbohydrate Metabolism and Its Disorders.
New York, Academic. Vol. 2, 123

- BROWN, D.E., M.G. WEISER, M.A. THRALL und U. GIGER (1994)
Erythrocyte indices and volume distribution in a dog with stomatocytosis.
Vet. Pathol. 31, 247-250
- BUNN, H.F., und H. KITCHEN (1973)
Hemoglobin function in the horse: the role of 2,3-diphosphoglycerate in modifying the oxygen affinity of maternal and fetal blood.
Blood 42, 471-479
- BUNN, H.F., U.S. SEAL und A.F. SCOTT (1974)
The role of 2,3-diphosphoglycerate in mediating haemoglobin function of mammalian red cells.
Ann. NY Acad. Sci. 241, 498-512
- BUNN, H.F. (1981)
Evolution of mammalian haemoglobin function.
Blood 58, 189-197
- CHAPMAN, R.L., und U. GIGER (1990)
Inherited erythrocyte pyruvate kinase deficiency in the West Highland white terrier.
J. Small Anim. Pract. 31, 610-616
- CHASIS, J.A., und N. MOHANDAS (1992)
Red blood cell glycoporphins.
Blood 80 (8), 1869-1879
- CHASSEAUD, L.F. (1979)
The role of glutathione and glutathione S-transferase in the metabolism of chemical carcinogens and other electrophilic agents.
Adv. Cancer Res. 29, 175-274
- CHIARELLI, L.R., E. FERMO, A. ZANELLA und G. VALENTINI (2006)
Hereditary erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase deficiency: A biochemical, genetic and clinical overview.
Hematology 11 (1), 67-72
- CHRISTOPHER, M.M. (1989)
Relation of endogenous Heinz bodies to disease and anemia in cats: 120 cases (1978-1987).
J. Am. Vet. Med. Assoc. 194, 1089-1095
- CHRISTOPHER, M.M., und S.E. LEE (1995)
Red cell morphologic alterations in cats with hepatic disease.
Vet. Clin. Pathol. 23, 7-12
- CHRISTOPHER, M.M. (2000)
Disorders of feline red blood cells.
In: BONAGURA, J.D. (Hrsg.): Kirk's Current Veterinary Therapy XIII, W.B. Saunders Co, Philadelphia, 421-424

- CLINKENBEARD, K.D., und J.H. MEINKOTH (2000)
Normal Hematology of the Cat.
In: FELDMAN, B.F., J.G. ZINKL und N.C. JAIN (Hrsg.): Schalm's Veterinary Hematology. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, 1064-1068
- CONTRERAS, A., R. MARTINEZ, R. DEVES und E.T. MARUSIC (1986)
An unusual pattern of Na⁺ and K⁺ movements across the horse erythrocyte membrane.
Biochem. Biophys. Acta 856, 388-391
- CORRONS, J.L., E. GARCIA, J.J. TUSELL, K.I. VARUGHESE, C. WEST und E. BEUTLER (2003)
Red cell adenylate kinase deficiency: molecular study of 3 new mutations (118G>A, 190 G>A, and GAC deletion) associated with hereditary haemolytic anemia.
Blood 102 (1), 353-356
- COTTER, S.M. (1979)
Anemia associated with feline leukemia virus infections.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 175, 1191-1194
- CRIBB, P.H., E.A. OLFERT und F.B. REYNOLDS (1986)
Erythrocyte osmotic fragility testing and the prediction of canine malignant hyperthermia susceptibility.
Can. Vet. J. 27 (12), 517-522
- DACIE, J. (1985)
The Haemolytic Anaemias.
3rd Ed. Churchill Livingstone, Edinburgh, 114
- DAUGAS, E., C. CANDE und G. KROEMER (2001)
Erythrocytes: death of a mummy.
Cell Death Differ. 8 (12), 1131-1133
- DEETJEN, P. (1994)
Atmung und Säure-Basen-Haushalt.
In: DEETJEN, P., und E.-J. SPECKMANN (Hrsg.): Physiologie.
Urban & Schwarzenberg, München, 241-270
- DEGEN, M. (1987)
Pseudohyperkalemia in Akitas.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 190 (5), 541-543
- DEKKERS, D. W., P. COMFURIUS, E.M. BEVERS und R.F. ZWAAL (2002)
Comparison between Ca²⁺-induced scrambling of various fluorescently labelled lipid analogues in red blood cells.
Biochem. J. 362 Pt 3, 741-747
- DELIVORIA-PAPADOPOULUS, M., F.A. OSAKI und A.J. GOTTLIEB (1969)
Oxygen-hemoglobin dissociation curves: effect of inherited enzyme defects of the red cell.
Science 165 (893), 601-602

- DE LORIMIER, L.P. MESSICK und J.B. MESSICK (2004)
 Anemia associated with „*Candidatus Mycoplasma haemominutum*“ in a feline leukemia virus-negative cat with lymphoma.
 J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 40, 423-427
- DESNOYERS, M. (2000)
 Anemias associated with Heinz bodies.
 In: FELDMAN, B.F., J.G. ZINKL und N.C. JAIN (Hrsg.): Schalm's Veterinary Hematology. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, 178-184
- DEUTICKE, B., und W. GRUBER (1970)
 Anion permeability of mammalian red blood cell: Possible relation to membrane phospholipid patterns.
 Biochim. Biophys. Acta. 211, 369-372
- DHINDSA, D.S., J.A. BLACK, R.D. KOLER, D.A. RIGAS, J.W. TEMPLETON, und J. METCALFE (1976)
 Respiratory characteristics of blood from Basenji dogs with classical erythrocyte pyruvate kinase deficiency.
 Resp. Physiol. 26, 65-75.
- DUHM, J. (1974)
 Inosine permeability and purine nucleoside phosphorylase activity as limiting factors for the synthesis of 2,3- diphosphoglycerat from inosine, pyruvate and inorganic phosphate in erythrocytes of various mammalian species.
 Biochim. Biophys. Acta 343, 89-100
- DUNCAN, J.R., C.G. POTTER, M.D. CAPPELLINI, J.P. KURTZ, M.J. ANDERSON und D.J. WEATHERALL (1983)
 Aplastic crises due to parvovirus infection in pyruvate kinase deficiency.
 Lancet 2, 14
- DURANTON, C., S.M. HUBER und F. LANG (2002)
 Oxidation induces a Cl(-)-dependent cation conductance in human red blood cells.
 J. Physiol. 539 Pt 3, 847-855
- DURANTON, C., S.M. HUBER, V. TANNEUR, V.B. BRAND, C. AKKAYA, E.V. SHUMILINA, C.D. SANDU und F. LANG (2004)
 Organic osmolyte permeabilities of the malaria-induced anion conductances in human erythrocytes.
 J. Gen. Physiol. 123 (4), 417-426
- EBER, S.W., M. GAHR, M. LAKOMEK, G. PRINDULL und W. SCHRÖTER (1986)
 Clinical symptoms and biochemical properties of three new glucose-phosphat isomerase variants.
 Blood 53, 21

- ECKMANN, V.M. (2005)
Anämien bei der Katze: Inzidenz, Differentialdiagnosen, diagnostisches Vorgehen und diagnostische Wertigkeit von Coombs-Test und erythrozytärer osmotischer Fragilität.
Vet. Med. Diss. FU-Berlin
- EDER, H. (1987)
Blut und Lymphe.
In: A. SCHEUNERT und A. TRAUTMANN (Hrsg.): Lehrbuch der Veterinärphysiologie, Paul Parey, Berlin, 160-209
- ELLORY, J.C., und TUCKER, E.M., (1983)
In: N.S. AGAR und P.G. BOARD (Hrsg.): Red Blood Cells of Domestic Mammals, Elsevier, Amsterdam, 291-314
- FADEEL, B. (2004)
Plasma membrane alterations during apoptosis: role in corpse clearance.
Antioxid. Redox. Signal. 6 (2), 269-275
- FAN, L.C., J.L. DORNER und W.E. HOFFMANN (1978)
Reticulocyte response and maturation in experimental acute blood loss anemia in the cat.
J. Am. Anim. Hosp. Ass. 14, 219-224
- FINCO, D.R., J.R. DUNCAN, W.D. SCHALL und K.W. PRASSE (1975)
Acetaminophen toxicosis in the cat.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 166, 469-472
- FLANAGAN, J.M., M. RHODES, M. WILSON und E. BEUTLER (2006)
The identification of a recurrent phosphoglycerate kinase mutation associated with chronic haemolytic anaemia and neurological dysfunction in a family from USA.
Br. J. Haematol. 134 (2), 233-237
- FLETCH, S.M., P.H. PINKERTON und P.J. BRUECKNER (1975)
The Alaskan malamute chondrodysplasia (dwarfism-anemia) syndrome: A review.
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 11, 353-361
- FOLEY, J.E., S. HARRUS, A. POLAND, B. CHOMEL und N.C. PEDERSEN (1998)
Molecular, clinical, and pathologic comparison of two distinct strains of *Haemobartonella felis* in domestic cats.
Am. J. Vet. Res. 59, 1581-1588
- FORD, S., U. GIGER, C. DUESBERG, E. BEUTLER und P. WANG (1992)
Inherited erythrocyte pyruvate kinase (PK) deficiency causing hemolytic anemia in an Abyssinian cat.
J. Vet. Intern. Med. 6, 123
- FUJII, H., und S. MIWA (2000)
Other erythrocyte enzyme deficiencies associated with non-haematological symptoms: phosphoglycerate kinase and phosphofructokinase deficiency.
Baillieres Best. Pract. Res. Clin. Haematol. 13 (1), 141-148

- FURLANELLO, T., S. TASCA, M. CALDIN, E. CARLI, C. PATRON, M. TRANQUILLO, G. LUBAS und L. SOLANO-GALLEGO (2006)
Artificial changes in canine blood following storage, detected using the ADVIA 120 hematology analyzer.
Vet. Clin. Pathol. 35 (1), 42-46
- FYFE, J.C., P.F. JEZYK und U. GIGER (1989)
Inherited selective malabsorption of vitamin B12 in giant schnauzers.
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 25, 533
- GALBIATI, S., G RESTAGNO, B. FOGLIENI, S. BONALUMI, M. TRAVI und A. PIGA (2006)
Different approaches for noninvasive prenatal diagnosis of genetic diseases based on PNA-mediated enriched PCR.
Ann. NY Acad. Sci. 1075, 137-143
- GALLAGHER, P.G. (2005)
Red Cell Membrane Disorders.
Am. Soc. Hematol. 13-18
- GALLAGHER, P. G., S.H. CHANG, M.P. RETTIG, J.E. NELLY, C.A. HILLERY, B.D. SMITH und P.S. LOW (2003)
Altered erythrocyte endothelial adherence and membrane phospholipid asymmetry in hereditary hydrocytosis.
Blood 101 (11), 4625-4627
- GARNIER, M., G. DE PREVILLE, P. PILARDEAU und D. BOUDIA (1984)
Relationship between the intra-erythrocytic sodium composition and the membrane lipoprotein composition among different mammal species.
Comp. Biochem. Physiol. A 77 (2), 315-317
- GEKAKIS, N., S.C. GEHRICH und H.S. SUL (1989)
Phosphofructokinase isozyme expression during myoblast differentiation.
J. Biol. Chem. 264, 3658-3661
- GIDDENS, W.E. Jr., R.F. LABBE, L.J. SWANGO und G.A. PADGETT (1975)
Feline congenital erythropoietic porphyria associated with severe anemia and renal disease.
Am. J. Pathol. 80, 367-386
- GIGER, U., J.W. HARVEY, R.A. YAMAGUCHI, P.K. McNULTY, A. CHIAPELLA und E. BEUTLER (1985)
Inherited phosphofructokinase deficiency in dogs with hyperventilation-induced hemolysis: increased in vitro and in vivo alkaline fragility of erythrocytes.
Blood 65 (2), 345-351
- GIGER, U., M. REILLY, T. ASAKURA, C.J. BALDWIN und J.W. HARVEY (1986a)
Autosomal recessive inherited phosphofructokinase deficiency in English springer spaniels.
Anim. Genet. 17, 15-23

- GIGER, U., P. TENO, M.P. REILLY, T. ASAKURA und A.C. McLAUGHLIN (1986b)
Phosphofruktokinase-deficient canine erythrocytes studied in vitro.
Blood 68, 35a
- GIGER, U., und J.W. HARVEY (1987)
Hemolysis caused by phosphofruktokinase deficiency in English Springer spaniels:
seven cases (1983-1986).
J. Am. Vet. Med. Assoc. 191, 453-459
- GIGER, U., A. AMADOR, V. MEYERS-WALLEN und D.F. PATTERSON (1988a)
Stomatocytosis in miniature schnauzers.
In: Proceedings of the 6th Annual Veterinary Medical Forum, Vancouver, 754
- GIGER, U., A.M. KELLY und P.S. TENO (1988b)
Biochemical studies of canine muscle phosphofruktokinase deficiency.
Enzyme 40, 25-29
- GIGER, U., und J. BÜCHELER (1991)
Transfusion of type-A and type-B blood to cats.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 198, 411-418
- GIGER, U., und N.A. NOBLE (1991)
Determination of erythrocyte pyruvate kinase deficiency in Basenjis with chronic
hemolytic anemia.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 198 (10), 1775-1761
- GIGER, U., G.D. MASON und P. WANG (1991)
Inherited erythrocyte pyruvate kinase deficiency in a Beagle.
Vet. Clin. Pathol. 20, 83-86
- GIGER, U., B.F. SMITH, C.B. WOODS, D.F. PATTERSON und H. STEDMAN (1992)
Inherited phosphofruktokinase deficiency in an American cocker spaniel.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 201 (10), 1569-1571
- GIGER, U., Y. RAJPUROHIT, P. WANG, S. FORD, B. KOHN, D.F. PATTERSON,
E. BEUTLER und P.S. HENTHORN (1997)
Molecular basis of erythrocyte pyruvate kinase (R-PK) deficiency in cats.
Blood 90 (Suppl), 5b
- GIGER, U., Y. RAJPUROHIT, B. SKELLY, P. WANG, S. FORD, B. KOHN,
A. NIGGEMEIER, D.F. PATTERSON und P.S. HENTHORN (1998)
Erythrocyte pyruvate kinase deficiency in cats.
Proceedings of the first International Feline Genetic Disease Conference, University of
Pennsylvania, Philadelphia
- GIGER, U., P. WANG und M. BOYDEN (1999)
Familial methemoglobin reductase deficiency in domestic shorthair cats.
Feline Pract. Suppl. 31, 14

- GIGER, U. (2000a)
Hereditary erythrocyte disorders.
In: BONAGURA, J.D. (Hrsg.): Kirk's Current Veterinary Therapy XIII. W.B. Saunders Co, Philadelphia, 414-420
- GIGER, U. (2000b)
Erythrocyte phosphofructokinase and pyruvate kinase deficiencies.
In: FELDMAN, B.F., J.G. ZINKL und N.C. JAIN (Hrsg.): Schalm's Veterinary Hematology. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, 1020-1025
- GIGER, U. (2001)
Hereditary Erythrocyte Disorders
In: AUGUST, J.R. (Hrsg.): Consultations in Feline Internal Medicine 4th Ed. W.B. Saunders Co, Philadelphia, 484-489
- GIGER, U. (2005)
Regenerative anemias caused by blood loss or hemolysis.
In: ETTINGER, S.J., und E.C. FELDMAN (Hrsg.): Textbook of Veterinary Internal Medicine. W.B. Saunders Co, Philadelphia, 1886-1907
- GOOKIN, J.L., S.E. BUNCH, L.J. RUSH und C.B. GRINDEM (1998)
Evaluation of microcytosis in 18 Shibas.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 212 (8), 1258-1259
- GOTO, I., N.S. AGAR und Y. MAEDE (1992)
The relationship between reduced glutathione level and glutathione S-transferase activity in sheep erythrocytes.
Jpn. J. Vet. Res. 40, 99-104
- GUNN-MOORE, D.A., M.J. DAY, M.E.A. GRAHAM, S.M. CUE und D.A. HARBOUR (1999)
Immune-mediated haemolytic anaemia in two sibling cats associated with multicentric lymphoblastic infiltration.
J. Fel. Med. Surg. 1, 209-214
- HAAS, M. (1989)
In: P. AGRE und J.C. PARKER (Hrsg.): Red Blood Cell Membranes. Marcel Dekker, New York, 663-690
- HAMMON, W.D. (1940)
Cellular blood elements of normal kittens.
Anat. Rec. 76, 259
- HARKNESS, D.R., J. PONCE und V. GRAYSON (1969)
A comparative study on the phosphoglyceric acid cycle in mammalian erythrocytes.
Comp. Biochem. Physiol. 28, 129-138
- HARRIS, J.W., und R.W. KELLERMEYER (1970)
The red cell, production, metabolism, destruction: Normal and abnormal.
Harvard University Press, Cambridge, Mass.

- HARVEY, J.W., und J.J. KANEKO (1976a)
Oxidation of human and animal haemoglobins with ascorbate, acetylphenylhydrazine, nitrite, and hydrogen peroxide.
Br. J. Haematol. 32 (2), 193-203
- HARVEY, J.W., und J.J. KANEKO (1976b)
Glucose metabolism of mammalian erythrocytes.
J. Cell Physiol. 89, 219-224
- HARVEY, J.W., und J.J. KANEKO (1977)
Mammalian erythrocyte metabolism and oxidant drugs.
Toxicol. Appl. Pharmacol. 42, 253-261
- HARVEY, J.W., J.J. KANEKO und E.B. HUDSON (1977)
Erythrocyte pyruvate kinase deficiency in a beagle dog.
Vet. Clin. Pathol. 6, 13-17
- HARVEY, J.W., und A.S. KEITT, (1983)
Studies of the efficacy and potential hazards of methylene blue therapy in aniline-induced methaemoglobinaemia.
Br. J. Haematol. 54 (1), 29-41
- HARVEY, J.W., W.A. SUSSMANN, M.G. PATE (1988)
Effect of 2,3-diphosphoglycerate concentration on the alkaline fragility of phosphofructokinase-deficient canine erythrocytes.
Comp. Biochem. Physiol. (B) 89, 105-109
- HARVEY, J.W., R.R. KING, C.R. BERRY und J.T. BLUE (1991)
Methemoglobin reductase deficiency in dogs.
Comp. Haematol. Int. 1, 55-59
- HARVEY, J.W., M. DAHL und M.E. HIGH (1994)
Methemoglobin reductase deficiency in a cat.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 205, 1290-1291
- HARVEY, J.W. (1997)
The erythrocyte: Physiology, metabolism, and biochemical disorders.
In: KANEKO, J.J., J.W. HARVEY und K.L. BRUSS (Hrsg.): Clinical biochemistry of domestic animals, 5. Ausgabe, Academic Press, San Diego, 157-203
- HARVEY, J.W. (1998)
Haemobartonellosis.
In: GREENE, C.E. (Hrsg.): Infectious diseases of the dog and cat. W.B. Saunders, Philadelphia, 434-449
- HARVEY, J.W. (2000a)
Erythrocyte Metabolism.
In: FELDMAN, B.F., ZINKL, J.G., JAIN, N.C. (Hrsg.): Schalm's Veterinary Hematology. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, 125-128

- HARVEY, J.W. (2000b)
Hereditary Methemoglobinemia.
In: FELDMAN, B.F., ZINKL, J.G., JAIN, N.C. (Hrsg.): Schalm's Veterinary Hematology. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, 1008-1011
- HARVEY, J.W. (2001)
Erythrocytes.
In: HARVEY, J.W. (Hrsg.): Atlas of Veterinary Hematology
WB Saunders Company, Philadelphia, 22-44
- HARVEY, J.W., S.L. STOCKHAM, M.A. SCOTT, P.J. JOHNSON, J.J. DONALD und C.J. CHANDLER (2003)
Methemoglobinemia and Eccentrocytosis in Equine Erythrocyte Flavin Adenine Dinucleotide Deficiency
Vet. Pathol. 40, 632-642
- HARVEY, J.W. (2006)
Pathogenesis, laboratory diagnosis, and clinical implications of erythrocyte enzyme deficiencies in dogs, cats, and horses.
Vet. Clin. Pathol. 35 (2), 144-156
- HARVEY, A.M., P.E. HOLT, F.J. BARR, F. RIZZO und S. TASKER (2007a)
Treatment and long-term follow-up of extrahepatic biliary obstruction with bilirubin Cholelithiasis in a Somali cat with pyruvate kinase deficiency
J. Fel. Med. Surg. 9 (5), 424-431
- HARVEY, A.M., C.R. HELPS, A.S. SENG, U. GIGER und S. TASKER (2007b)
Survey of erythrocyte pyruvate kinase deficiency in Somali cats from the United Kingdom.
17th ECVIM Kongress, Budapest, Abstract
- HASKINS, M.E., und D.F. PATTERSON (1987)
Inherited metabolic diseases.
In: HOLZWORTH, J. (Hrsg.): Diseases of the cat. W.B. Saunders Co, Philadelphia, 808-819
- HEAD, D. J., Z.E. LEE, M.M. SWALLAH und N.D. AVENT (2005)
Ligation of CD47 mediates phosphatidylserine expression on erythrocytes and a concomitant loss of viability in vitro.
Br. J. Haematol. 130, 5, 788-790
- HILDGARD, P., und G. GERKEN (2005)
Liver cirrhosis as a consequence of iron overload caused by hereditary nonspherocytic haemolytic anemia.
World J. Gastroenterol. 11(8), 1241-1244
- HINDS, T.R., W.P. HAMMOND, L. MAGGIO-PRICE, R.A. DODSON und F.F. VINCENZI (1989)
The activity of the red blood cell Ca pump is decreased in hemolytic anemia of the beagle dog.
Blood Cells 15, 421-426

- HITT, M.E., und D.L. MCCAWE (1988)
 FeLV Infection, hemolytic anemia and hypocellular bone marrow in a cat: Treatment with protein A and prednisolone.
 Can. Vet. J. Volume 29, 737-739
- HUBER, S. M., N. GAMPER und F. LANG (2001)
 Chloride conductance and volume-regulatory nonselective cation conductance in human red blood cell ghosts.
 Pflugers Arch. 441, 4, 551-558
- HUISMAN, T.H.J., und W.A. SCHROEDER (1971)
 New aspects of the structure, function and synthesis of hemoglobin.
 CRC Press, Boca Raton, Florida
- HUISMAN, T.H. (1987)
 Separation of hemoglobins and hemoglobin chains by high-performance liquid chromatography.
 J. Chromatogr. 17 (418), 277-304
- HULTQUIST, D.E., F. XU, K.S. QUANDT, M. SHLAFER, C.P. MACK, G.O. TILL, A. SEEKAMP, A.L. BETZ und S.R. ENNIS (1993)
 Evidence that NADPH-dependent methemoglobin reductase and administered riboflavin protect tissues from oxidative injury.
 Am. J. Hematol. 42 (1), 13-18
- IMAI, K., P. TIENTADAKUL, N. OPARTKIATTIKUL, P. LUENEE, P. WINICHAGOON, J. SVASTI und S. FUCHAROEN (2001)
 Detection of haemoglobin variants and inference of their functional properties using complete oxygen dissociation curve measurement.
 Br. J. Haematol. 112 (2), 483-487
- IMAMURA, K., T. TANAKA, T. NISHINA, K. NAKASHIMA und S. MIWA (1973)
 Studies on pyruvate kinase (PK) deficiency. II. Electrophoretic, kinetic, and immunological studies on pyruvate kinase of erythrocytes and other tissues.
 J. Biochem. (Tokyo) 74, 1165
- INABA, M., und Y. MAEDE (1986)
 Na,K-ATPase in dog red cells. Immunological identification and maturation-associated degradation by proteolytic system.
 J. Biol. Chem. 261, 16099-16105
- JACOBASCH, G., S. MINAKAMI und S.M. RAROPORT (1974)
 In: H. YOSHIKAWA und S.M. RAPOPORT (Hrsg.): Cellular and Molecular Biology of Erythrocytes. University Park Press, Baltimore, 55-92
- JAIN, N.C. (1973a)
 Osmotic fragility of erythrocytes in dogs and cats in health and in certain hematologic disorders.
 Cornell Vet. 63, 411-423

- JAIN, N.C. (1986)
Schalm's Veterinary Hematology. Lea & Febiger, Philadelphia, 514–526, 527-562
- JAIN, N.C. (1993)
Erythrocyte Physiology and Changes in Disease.
In: JAIN, N.C. (Hrsg.): Essentials of Veterinary Hematology.
Lea & Febiger, Philadelphia, 133-158
- JAROLIM, P., H.L. RUBIN, V. BRABEC, L. CHOBRAK, A.S. ZOLOTAREV, S.L.
ALPER, C. BRUGNARA, H. WICHTERLE und J. PALEK, J. (1995)
Mutations of conserved arginines in the membrane domain of erythroid band 3 lead to a decrease in membrane-associated band 3 and to the phenotype of hereditary spherocytosis.
Blood 85, 634-640
- JONES, J.B. (1983)
Cyclic haematopoiesis: Animal models.
Exp. Hematol. 11, 571
- JUSTIN, R.B., und A.E. HOHENHAUS (1995)
Hypophosphatemia associated with enteral alimentation in cats.
J. Vet. Intern. Med. 9, 228-233
- KAHN, A., J. MARIE, C. GALAND und P. BOIVIN (1975)
Molecular mechanism of erythrocyte pyruvate kinase deficiency.
Humangenetik 29, 271-280
- KANEKO, J.J., R.A. GREEN und A.S. MIA (1966)
Erythrocyte survival in the cat as determined by glycine-2-C14.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 77, 783-784
- KANEKO, J.J. (2000)
The porphyrias and the porphyrinurias.
In: FELDMAN, B.F., J.G. ZINKL, N.C. JAIN (Hrsg.): Schalm's Veterinary Hematology. Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, 1002-1007
- KEMPE, D. S., P.A. LANG, K. EISELE, B.A. KLARL, T. WIEDER, S.M. HUBER, C. DURANTON und F. LANG (2005)
Stimulation of erythrocyte phosphatidylserine exposure by lead ions.
Am. J. Physiol. Cell. Physiol. 288 (2), C396-C402
- KEMPE, D. S., P.A. LANG, C. DURANTON, A. AKEL, K.S. LANG, S.M. HUBER, T. WIEDER und F. LANG (2006)
Enhanced programmed cell death of iron-deficient erythrocytes.
Faseb. J. 20 (2), 368-370
- KIEFER, C. R., und L.M. SNYDER (2000)
Oxidation and erythrocyte senescence.
Curr. Opin. Hematol. 7 (2), 113-116

- KIRKMAN, H.N., S. GALIANO und G.F. GAETANI (1987)
The function of catalase-bound NADPH.
J. Biol. Chem. 262 (2), 660-666
- KISHI, H., T. MUKAI, A. HIRONO, H. FUJII, S. MIWA und K. HORI (1987)
Human aldolase A deficiency associated with a hemolytic anemia: Thermolabile aldolase due to a single base mutation.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84, 8623
- KITCHEN, H. (1972)
Fetal hemoglobins.
Am. Soc. Vet. Clin. Pathol. 1:25
- KLARL, B. A., P.A. LANG, D.S. KEMPE, O.M. NIEMOELLER, A. AKEL, M. SOBIESIAK, K. EISELE, M. PODOLSKI, S.M. HUBER, T. WIEDER und F. LANG (2006)
Protein kinase C mediates erythrocyte "programmed cell death" following glucose depletion.
Am. J. Physiol. Cell. Physiol. 290 (1), C244-C253
- KOBAYASHI, K. (1981)
Onion poisoning in the cat.
Feline Pract. 11, 22-27
- KOHN, B., M.P. REILLY, T. ASAKURA und U. GIGER (1998)
Polymorphism of feline beta-globins studied by reversed-phase high-performance liquid chromatography.
Am. J. Vet. Res. 59 (7), 830-5
- KOHN, B., P.S. HENTHORN, Y. RAJPUROHIT, M.P. REILLY, T. ASAKURA und U. GIGER (1999)
Feline Adult β -Globin Polymorphism Reflected in Restriction Fragment Length Patterns.
J. Hered. 90 (1), 177-81.
- KOHN, B., R. FREISTEDT, A. PEKRUN, P. WANG und U. GIGER (1999)
Chronische hämolytische Anämie und Osteosklerose aufgrund einer Erythrozyten-Pyruvatkinase-Defizienz bei einem Langhaardackel.
Kleintierpraxis 44 (6), 437-445
- KOHN, B., M.H. GOLDSCHMIDT, A.E. HOHENHAUS und U. GIGER (2000)
Anemia, splenomegaly, and increased osmotic fragility of erythrocytes in Abyssinian and Somali cats.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 217, 1483-1491
- KOHN, B. (2001)
Erythrozytenstudien bei gesunden und anämischen Katzen.
Habilitationsschrift, Freie Universität Berlin

- KOHN, B., und U. GIGER (2006)
Anämien, Polyzythämien, Gerinnungsstörungen.
In: SUTER, P.F., und B. KOHN (Hrsg.): Praktikum der Hundeklinik.
Blackwell, Berlin, 582 – 613
- KOHN, B, C. WEINGART, V. ECKMANN, M. OTTENJANN und W. LEIBOLD (2006)
Primary Immune-Mediated Hemolytic Anemia in 19 Cats: Diagnosis, Therapy, and
Outcome (1998-2004).
J. Vet. Intern. Med. 20, 159-166
- KRAFT, W., U.M. DÜRR, M. FÜRLI, H. BOSTEDT und K. HEINRITZI (2005)
Hämatologie.
In: KRAFT, W., und U.M. DÜRR (Hrsg): Klinische Labordiagnostik in der
Tiermedizin. Schattauer, Stuttgart, 49-92
- KUGLER, W., und M. LAKOMEK (2000)
Glucose-6-phosphate isomerase deficiency.
Baillieres. Best. Pract. Res. Clin. Haematol. 13(1), 89-101
- KUYPERS, F. A., und DE K. JONG (2004)
The role of phosphatidylserine in recognition and removal of erythrocytes.
Cell Mol. Biol. 50 (2), 147-158
- LAKSHMI, C., C. DEB, C. RAY und M.R. RAY (2005)
Reduction of hematotoxicity and augmentation of antitumor efficacy of
cyclophosphamide by dopamine.
Neoplasma 52 (1), 68-73
- LALANNE, M., und J. WILLEMOT (1980)
Adenine and hypoxanthine salvage in erythrocytes of eight mammalian species.
Comp. Biochem. Physiol. B 66 B, 367-372
- LANG, K. S., B. ROLL, S. MYSSINA, M. SCHITTENHELM, H.G. SCHEEL-WALTER, L.
KANZ, J. FRITZ, F. LANG, S.M. HUBER und T. WIEDER (2002)
Enhanced erythrocyte apoptosis in sickle cell anemia, thalassemia and glucose-6-
phosphate dehydrogenase deficiency.
Cell Physiol. Biochem. 12 (5-6), 365-372
- LANG, P. A., S. KAISER, S. MYSSINA, T. WIEDER, F. LANG und S.M. HUBER (2003a)
Role of Ca²⁺-activated K⁺ channels in human erythrocyte apoptosis.
Am. J. Physiol. Cell. Physiol. 285, 6, C1553-C1560
- LANG, K. S., C. DURANTON, H. POEHLMANN, S. MYSSINA, C. BAUER, F. LANG, T.
WIEDER und S.M. HUBER (2003b)
Cation channels trigger apoptotic death of erythrocytes.
Cell Death Differ 10 (2), 249-256
- LANG, K. S., S. MYSSINA, V. BRAND, C. SANDU, P.A. LANG, S. BERCHTHOLD, S.M.
HUBER, F. LANG und T. WIEDER (2004)
Involvement of ceramide in hyperosmotic shock-induced death of erythrocytes.
Cell Death Differ 11 (2), 231-243

- LANG, K. S., P.A. LANG, C. BAUER, C. DURANTON, T. WIEDER, S.M. HUBER und F. LANG (2005a)
Mechanisms of suicidal erythrocyte death.
Cell Physiol. Biochem. 15 (5), 195-202
- LANG, P. A., D.S. KEMPE, A. AKEL, B.A. KLARL, K. EISELE, M. PODOLSKI, T. HERMLE, O.M. NIEMOELLER, P. ATTANASIO, S.M. HUBER, T. WIEDER, F. LANG und C. DURANTON (2005b)
Inhibition of erythrocyte "apoptosis" by catecholamines.
Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 372 (3), 228-235
- LANG, P. A., D.S. KEMPE, S. MYSSINA, V. TANNEUR, C. BIRKA, S. LAUFER, F. LANG, T. WIEDER und S.M. HUBER (2005c)
PGE(2) in the regulation of programmed erythrocyte death.
Cell Death Differ 12 (5), 415-428
- LANG, P. A., D.S. KEMPE, V. TANNEUR, K. EISELE, B.A. KLARL, S. MYSSINA, V. JENDROSSEK, S. ISHII, T. SHIMIZU, M. WAIDMANN, G. HESSLER, S.M. HUBER, F. LANG und T. WIEDER (2005d)
Stimulation of erythrocyte ceramide formation by platelet-activating factor.
J. Cell. Sci. 118 Pt 6, 1233-1243
- LANG, F., K.S. LANG, P.A. LANG, S.M. HUBER und T. WIEDER (2006a)
Mechanisms and significance of eryptosis.
Antioxid. Redox. Signal. 8 (7-8), 1183-1192
- LANG, P. A., O. BERINGER, J.P. NICOLAY, O. AMON, D.S. KEMPE, T. HERMLE, P. ATTANASIO, A. AKEL, R. SCHAFFER, B. FRIEDRICH, T. RISLER, M. BAUR, C.J. OLBRICHT, L.B. ZIMMERHACKL, P.F. ZIPFEL, T. WIEDER und F. LANG (2006b)
Suicidal death of erythrocytes in recurrent hemolytic uremic syndrome.
J. Mol. Med. 84 (5), 378-388
- LEHNIGER, A.L., D.L. NELSON und M.M. COX (1993)
Principles of biochemistry.
Worth, New York
- LESNEFSKY, E.J. (1994)
Tissue iron overload and mechanisms of iron-catalyzed oxidative injury.
Adv. Exp. Med. Biol. 366, 129-146
- LOAR, S.S. (1994)
Anemia: Diagnosis and Treatment.
In: AUGUST, J.R. (Hrsg.): Consultations in Feline Internal Medicine (2), W.B. Saunders, Philadelphia, 469 – 487
- LUTZ, H. U. (2004)
Innate immune and non-immune mediators of erythrocyte clearance.
Cell Mol. Biol. 50 (2), 107-116

- MACKEY, L., W. JARRETT, O. JARRETT und H. LAIRD (1975)
Anemia associated with feline leukemia virus in cats.
J. Natl. Cancer Inst. 54, 209-217
- MADEWELL, B.R., und B.F. FELDMAN (1980)
Characterizations of anemias associated with neoplasia in small animals.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 176, 419-425
- MAEDE, Y., und R. HATA (1975)
Studies of feline haemobartonellosis. II. The mechanism of anemia produced by infection with *Haemobartonella felis*.
Jpn. J. Vet. Sci. 37 (1), 49-54
- MAEDE, Y. (1978)
Studies on feline haemobartonellosis. V. Role of the spleen in cats infected with *Haemobartonella felis*.
Jpn. J. Vet. Sci. 40, 691-695
- MAEDE, Y. (1980)
Studies on feline haemobartonellosis. VI. Changes of erythrocyte lipids concentration and their relation to osmotic fragility.
Jap. J. Vet. Science 42 (3), 281-288
- MAGGIO-PRICE, L., C.L. EMERSON, T.R. HINDS, F.F. VINCENZI und W.R. HAMMOND (1988)
Hereditary nonspherocytic hemolytic anemia in Beagles.
Am. J. Vet. Res. 49 (7), 1020-1025
- MAKINDE, M.O., und P.A. BOBADE (1994)
Osmotic fragility of erythrocytes in clinically normal dogs and dogs infected with parasites.
Res. Vet. Sci. 57, 343-348
- MANSFIELD, C.S., und P. CLARK (2005)
Pyruvate kinase deficiency in a Somali cat in Australia.
Aust. Vet. J. 83 (8), 483-485
- MARION, R.S., und J.E. SMITH (1983)
Survival of erythrocytes after autologous and allogenic transfusion in cats.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 183, 1437-1439
- MATARESSE, P., E. STRAFACE, D. PIETRAFORTE, L. GAMBARDELLA, R. VONA, A. MACCAGLIA, M. MINETTI und W. MALORNI (2005)
Peroxynitrite induces senescence and apoptosis of red blood cells through the activation of aspartyl and cysteinyl proteases.
Faseb J. 19 (3), 416-418

- MATSUMOTO, N., T. ISHIHARA, K. NAKASHIMA, S. MIWA, F. UCHINO und M. CONDO (1972)
Sequestration and destruction of reticulocyte in the spleen in pyruvate kinase deficiency hereditary nonspherocytic hemolytic anemia.
Acta. Haematol. Jpn. 35, 525
- MAX-AUDIT, J., D. KECHEMIR, M.T. MITJAWILA, W. VAINCHENKER, D. ROTTEN, und R. ROSA (1988)
Pyruvate kinase synthesis and degradation by normal and pathologic cells during erythroid maturation.
Blood 72, 1039 – 1044
- McCARRY, J.R., und K. THOMAS (1987)
Human testis specific PGK gene lacks introns and possesses characteristics of a processed gene.
Nature 326, 501
- McMANUS, P.M., und E.C. LINDEN (2001)
Correlation between leukocytosis and necropsy findings in dogs with immune-mediated hemolytic anemia: 34 cases (1994-1999).
J. Am. Vet. Med. Assoc. 218, 1308 – 1313
- McMULLIN, M.F. (1999)
The molecular basis of disorders of red cell enzymes.
J. Clin. Pathol. 52, 241-244
- MÈDAILLE, C., A. BRIEND-MARCHAL und J.P. BRAUN (2006)
Stability of selected hematology variables in canine blood kept at room temperature in EDTA for 24 and 48 hours.
Vet. Clin. Pathol. 35 (1), 18-23
- MENTZER, W.C., R.L. BAEHNER, H. SCHMIDT-SCHONBETH, D.G. ROBINSON und D.G. NATHAN (1971)
Selective reticulocyte destruction in erythrocyte pyruvate kinase deficiency.
J. Clin. Invest. 50, 688-699
- MENTZER, W.C., und B.E. GLADER (1989)
Disorder of erythrocyte metabolism.
In: MENTZER, W.C., und G.M. WAGNER (Hrsg.): *The Hereditary Hemolytic Anemias*.
New York, Churchill Livingstone, 267
- MESSMER, U. K., und J. PFEILSCHIFTER (2000)
New insights into the mechanism for clearance of apoptotic cells.
Bioessays 22 (10), 878-881
- MEYERS-WALLEN, V.N., M.E. HASKINS, D.F. PATTERSON (1984)
Hematological values in healthy neonatal, weanling, and juvenile kittens.
Am. J. Vet. Res. 45, 1322-1327

- MHASKAR, Y., J.W. HARVEY und G.A. DUNAWAY (1992)
 Developmental changes of 6-phosphofructo-1-kinase subunit levels in erythrocytes from normal dogs and dogs affected by glycogen storage disease type VII.
 Comp. Biochem. Physiol. 101, 303-307
- MIWA, S., K. NAKASHIM und K. SHINOHARA (1975)
 Physiological and pathological significans of inherited variants with hemolytic anemia.
 In: MARKERT, C.L. (Hrsg.): Isozymes II, Physiological Function.
 New York, Academic Press, 497
- MIWA, S., und H. FUJII (1985)
 Molecular aspects of erythroenzymopathies associated with hereditary hemolytic anemia.
 Am. J. Hematol. 19, 293 – 305
- MIWA, S., und H. FUJII (1996)
 Molecular basis of erythroenzymopathies associated with hereditary hemolytic anemia. Tabulation of mutant enzymes.
 Am. J. Hematol. 51, 122-128
- MIYOSHI, H., K. UMESHITA, M. SAKON, S. IMAJOH-OHMI, K. FUJITANI, M. GOTOH, E. OIKI, J. KAMBAYASHI und M. MONDEN (1996)
 Calpain activation in plasma membrane bleb formation during tert-butyl hydroperoxide-induced rat hepatocyte injury.
 Gastroenterology 110 (6), 1897-1904
- MOHANDAS, N., und J.A. CHASIS (1993)
 Red cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids.
 Semin. Hematol. 30, 171-192
- MOHANDAS, N. (1995)
 The red cell membrane.
 In: HOFFMAN, R., E.J. BENZ, S.J. SHATTIL, B. FURIE, H.J. COHEN und L.E. SILBERSTEIN (Hrsg.): Hematology. Basic Principles and Practice. Ed Churchill Livingstone, New York, 438-443
- MOONEY, N.A., und N.D. YOUNG (1978)
 Nucleoside and glucose transport in erythrocytes from new born lambs.
 J. Physiol. 284, 229-239
- MUEGGLER, P.A., und J.A. BLACK (1982)
 Postnatal regulation of canine oxygen delivery: control of erythrocyte 2,3-DPG levels.
 Am. J. Physiol. 242 (4), H500-H506
- MYSSINA, S., S.M. HUBER, C. BIRKA, P.A. LANG, K.S. LANG, B. FRIEDRICH, T. RISLER, T. WIEDER und F. LANG (2003)
 Inhibition of erythrocyte cation channels by erythropoietin.
 J. Am. Soc. Nephrol. 14 (11), 2750-2757

- NAKASHIMA, K., S. MIWA, K. SINOHARA, E. ODA, M. TAJIRI (1975)
Electrophoretic, immunologic and kinetic characterization of erythrocyte pyruvate kinase in the basenji dog with pyruvate kinase deficiency.
Tohoku J. Exp. Med. 117, 179-185
- NAKASHIMA, K., S. MIWA, H. FUJII, K. SINOHARA, K. YAMAUCHI, Y. TSUJI und M. YANAI (1977)
Characterization of pyruvate kinase from the liver of a patient with aberrant erythrocyte pyruvate kinase, PK Nagasaki.
J. Lab. Clin. Med. 90, 1012
- NELSON, G.J. (1967)
Lipid composition of erythrocytes in various mammalian species
Biochim. Biophys. Acta 144 (2), 221-232
- NOGUCHI, T., und T. TANAKA (1982)
The M₁ und M₂ subunits of rat pyruvate kinase are encoded by different messenger RNAs.
J. Biol. Chem. 257, 1110
- NOGUCHI, T., K. YAMADA, K. INOUE, T. MATSUDA und T. TANAKA (1987)
The L- and R-type isoenzymes of rat pyruvate kinase are produced from a single gene by use of different promoters.
J. Biol. Chem. 262, 14366
- O'KEEFE, D.A., und D.J. SCHAEFFER (1992)
Hematologic toxicosis associated with doxorubicin administration in cats.
J. Vet. Intern. Med. 6, 276-282
- O'SULLIVAN, S.T., C.M. REARDON, J.A. O'DONNELL, W.O. KIRWAN und M.P. BRADY (1994)
"How safe is splenectomy?"
Ir. J. Med. Sci. 163 (8), 374-378
- OROSZ, F., J. OLÀH, M. ALVAREZ, G.M. KESERÜ, B. SZABÒ, G. WAGNER, Z. KOVARI, M. HORANYI, K. BAROTI, J.A. MARTIAL, S. HOLLAN und J. OVADI (2001)
Distinct behaviour of mutant triosephosphate isomerase in hemolysate and in isolated form: molecular basis of enzyme deficiency.
Blood 98 (10), 3106-3112
- OTTENJANN, M, C. WEINGART, G. ARNDT und B. KOHN (2006)
Characterization of the anemia of inflammatory disease in cats with abscesses, pyothorax, or fat necrosis.
J. Vet. Intern. Med. 20 (5), 1143-50
- OUTERBRIDGE, C.A., S.L. MEYERS und U. GIGER (1996)
Hereditary cobalamin deficiency in Border Collie dogs.
In: Proceedings of the 14th Annual Veterinary Medical Forum, American College of Veterinary Internal Medicine, San Antonio, Texas, 751

- OYEWALE, J.O. (1992)
 Changes in osmotic resistance of erythrocytes of cattle, pigs, rats and rabbits during variation in temperature and pH.
 J. Vet. Med. A 39, 98-104
- PAGLIA, D.E. (1995)
 Enzymopathies.
 In: HOFFMAN, R., E.J. BENZ, S.J. SHATTIL, B. FURIE, H.J. COHEN, L.E. SILBERSTEIN (Hrsg.): Hematology. Basic Principles and Practice. Churchill Livingstone, New York, 656-667
- PAGLIA, D.E., und W.N. VALENTINE (1974)
 Hereditary glucosephosphate isomerase deficiency. A review.
 Am. J. Clin. Pathol. 62, 740
- PALEK, J., und P. JAROLIM (1993)
 Clinical expression and laboratory detection of red blood cell membrane protein mutations.
 Semin. Hematol. 30 (4), 249-283
- PALEK, J., und P. JAROLIM (1995)
 Red cell membrane disorders.
 In: HOFFMAN, R., E.J. BENZ, S.J. SHATTIL, B. FURIE, H.J. COHEN und L.E. SILBERSTEIN (Hrsg.): Hematology. Basic Principles and Practice. Churchill Livingstone, New York, 667-709
- PALTRINIERI, S., S. COMAZZI, F. CECILIANI, R. PROHASKA und U. BONFANTI (2007)
 Stomatocytosis of Standard Schnauzers is not associated with stomatin deficiency.
 Vet. J. 173 (1), 200-203
- PANT, H. C., M. VIRMANI und P.E. GALLANT (1983)
 Calcium-induced proteolysis of spectrin and band 3 protein in rat erythrocyte membranes.
 Biochem. Biophys. Res. Commun. 117 (2), 372-377
- PENNY, R.H.C., C.H. CARLISLE und H.A. DAVIDSON (1970)
 The blood and marrow picture of the cat.
 Brit. Vet. J. 126, 459-464
- PERKINS, P.C., C.B. GRINDEM und L.D. CULLINS (1995)
 Flow cytometric analysis of punctate and aggregate reticulocyte responses in phlebotomized cats.
 Am. J. Vet. Res. 56, 1564-1569
- PETERSON, M.E., A.I. HURWITZ, M.S. LEIB, P.G. CAVANAUGH und R.E. DUTTON (1984)
 Propylthiouracil-associated hemolytic anemia, thrombocytopenia, and antinuclear antibodies in cats with hyperthyroidism.
 J. Am. Vet. Med. Assoc. 184, 806-808

- PINKERTON, P.H., S.M. FLETCH, P.J. BRUECKNER und D.R. MILLER (1974)
Hereditary stomatocytosis with hemolytic anemia in the dog.
Blood 44 (4), 557-567
- PISSARD, S., I. MAX-AUDIT, L. SKOPINSKI, A. VASSON, P. VIVIEN, C. BIMET, M. GOOSSENS, F. GALACTEROS und H. WAJCMAN (2006)
Pyruvate kinase deficiency in France: a 3-year study reveals 27 new mutations.
Br. J. Haematol. 133(6), 683-689
- POLENAKOVIC, M., und A. SIKOLE (1996)
Is erythropoietin a survival factor for red blood cells?
J. Am. Soc. Nephrol. 7 (8), 1178-1182
- PRASSE, K.W., D. CROUSER, E. BEUTLER, M. WALKER und W.D. SCHALL (1975)
Pyruvate kinase deficiency anemia with terminal myelofibrosis and osteosclerosis in a beagle.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 166, 1170-1175
- PRASSE, K.W., E.A. MAHAFFEY, S.M. COTTER und J. HOLZWORTH (1988)
The hematopoietic system.
In: HOLZWORTH, J. (Hrsg.): Diseases of the cat: Medicine and Surgery. W.B. Saunders, Philadelphia, 739-807
- PUCCI, P., C. CARESTIA, G. FIORETTI, A.M. MASTROBUONI und L. PAGANO (1985)
Protein fingerprint by fast atom bombardment mass spectrometry: characterization of normal and variant human haemoglobins.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 130 (1), 84-90
- RAND, J.S., und P.J. O'BRIEN (1987)
Exercise-induced malignant hyperthermia in an English springer spaniel.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 190, 1013-1014
- RAPOPORT, S. (1968)
The regulation of glycolysis in mammalian erythrocytes.
Essays Biochem. 4, 69-103
- REPETTO, M., C. REIDES, M.L. GOMEZ CARRETERO, M. COSTA, G. GRIEMBERG und S. LLESUY (1996)
Oxidative stress in blood of HIV infected patients.
Clin. Chim. Acta 255, 2, 107-117
- ROBERTSON, J.E., M.M. CHRISTOPHER und Q.R. ROGERS (1998)
Heinz body formation in cats fed baby food containing onion powder.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 212, 1260-1266
- ROLEFF, S. (2004)
Klinische Evaluierung des automatischen Blutzellzählgerätes CA530-Vet durch Vergleich mit dem CELL-DYN 3500 und Standardmethoden für die Tierarten Hund, Katze und Pferd.
Vet. Med. Diss. FU-Berlin

- ROWLAND, L.P., S. DIMAURO und R.B. LAYZER (1986)
Phosphofruktokinase deficiency.
In: ENGEL, A., B.Q. BANKER (Hrsg.): Myology.
McGraw-Hill, New York, 1603-1617
- SASS, M.D., C.J. CARUSO und D.R. AXELROD (1969)
Mechanism of the TPNH-linked reduction of methemoglobin by methylene blue.
Clin. Chim. Acta. 24 (1), 77-85
- SATO, T., M. INABA und Y. MAEDE (1994)
Characterization of Na⁺-dependent L-glutamate transport in canine erythrocytes.
Biochim. Biophys. Acta Bio-Membr. 1195, 211-217
- SCHAER, M., J.W. HARVEY, M. CALDERWOOD-MAYS und U. GIGER (1992)
Pyruvate kinase deficiency causing hemolytic anemia with secondary
hemochromatosis in a Cairn Terrier.
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 28, 233 – 239
- SCHALM, O.W. (1976)
Erythrocyte macrocytosis in miniature and toy poodles.
Canine Pract. Dec, 55
- SCHALM, O.W. (1977)
Heinz body hemolytic anemia in the cat.
Feline Pract. 30-32
- SCHECHTER, R.D., O.W. SCHALM und J.J. KANEKO (1973)
Heinz body hemolytic anemia associated with the use of urinary antiseptics containing
methylene blue in the cat.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 162, 37-44
- SCHMAUCH, G. (1899)
Über endoglobuläre Körperchen in den Erythrozyten der Katze.
Virchow Arch. (Path. Anat.) 156, 201
- SCHNEIDER, A.S. (2000)
Triosephosphate isomerase deficiency: historical perspectives and molecular aspects.
Baillieres. Best. Pract. Res. Clin. Haematol. 13, 119-140
- SCHRIER, S.L. (1985)
Red cell membrane biology - introduction.
Clin. Haematol. 14, 1-12
- SCHROIT, A. J., J.W. MADSEN und Y. TANAKA (1985)
In vivo recognition and clearance of red blood cells containing phosphatidylserine in
their plasma membranes.
J. Biol. Chem. 260 (8), 5131-5138
- SCOTT, D.W., R.D. SCHULTZ, J.E. POST, G.R. BOLTON und C.A. BALDWIN (1973)
Autoimmune hemolytic anemia in the cat.
J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 9, 530-539

- SEARCY, G.P., D.R. MILLER und J.B. TASKER (1971)
 Congenital hemolytic anemia in the Basenji dog due to erythrocyte pyruvate kinase deficiency.
 Can. J. Comp. Med. Vet. Sci. 35, 67-70
- SEARCY, G.P., J.B. TASKER und D.R. MILLER (1979)
 Animal model: Pyruvate kinase deficiency in dogs.
 Am. J. Pathol. 94, 689-692
- SEKI, A., und M. ABE (1985)
 Scanning electron microscopic studies on the microvascular system of the spleen in the rat, cat, dog, pig, horse and cow.
 Nippon Juigaku Zasshi 47 (2), 237-249
- SEIGNEURET, M., und P.F. DEVAUX (1984)
 ATP-dependent asymmetric distribution of spin-labeled phospholipids in the erythrocyte membrane: relation to shape changes.
 Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A 81 (12), 3751-3755
- SKELLY, A., M. WALLACE, Y. RAJPUROHIT, P. WANG und U. GIGER (1999)
 Identification of a 6 base pair insertion in West Highland White Terriers with erythrocyte pyruvate kinase deficiency.
 Am. J. Vet. Res. 60, 1169-1172
- SLAPPENDEL, R.J. (1978)
 Hemolytic anemia in the dog.
 Proefschrift, University of Utrecht
- SLAPPENDEL, R.J., I. VAN DER GAAG, J.J. VAN NES, T.S. VAN DEN INGH und R.P. HAPPE (1991)
 Familial stomatocytosis - hypertrophic gastritis (FSHG), a newly recognised disease in the dog (Drentse patrijshond).
 Vet. Q. 13 (1), 30-40
- SLAPPENDEL, R.J., W. RENOOIJ und J.J. DEBRUIJNE (1994)
 Normal cations and abnormal membrane lipids in the red blood cells of dogs with familial stomatocytosis - hypertrophic gastritis.
 Blood 84, 904-909
- SLAPPENDEL, R.J. (1998)
 Hereditary spherocytosis associated with spectrin deficiency in Golden Retrievers.
 Proceedings ESVIM, Vienna, 131
- SMITH, J.E., K. RYER und L. WALLACE (1976)
 Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in a dog.
 Enzyme 21 (4), 379-382
- SMITH, J.E., K. MOORE, M. ARENS, G.A. RINDERKNECHT und A. LEDET (1983)
 Hereditary elliptocytosis with protein band 4.1 deficiency in the dog.
 Blood 61, 373-377

- SMITH, B.F., P.S. HENTHORN, Y. RAJPUROHIT, H. STEDMAN, J.H. WOLFE, D.F. PATTERSON und U. GIGER (1996a)
A cDNA coding canine muscle type phosphofructokinase.
Gene 168, 275-276
- SMITH, B.F., H. STEDMAN, Y. RAJPUROHIT, P.S. HENTHORN, J.H. WOLFE, D.F. PATTERSON und U. GIGER (1996b)
The molecular basis of canine muscle-type phosphofructokinase deficiency.
J. Biol. Chem. 271, 20070-20074
- SORIMACHI, H., S. ISHIURA und K. SUZUKI (1997)
Structure and physiological function of calpains.
Biochem. J. 328 (Pt 3), 721-732
- SPRENGERS, E.D., und G.E.J. STAAL (1979)
Functional changes associated with the sequential transformation of L₄' into L₄ pyruvate kinase.
Biochim. Biophys. Acta. 570, 259
- STEWART, W.B., P.S. VASSAR und R.S. STONE (1953)
Iron absorption in dogs during anemia due to acetylphenylhydrazine.
J. Clin. Invest. 32, 1225-1228
- STEWART, A.F., und B.F. FELDMANN (1993)
Immune-mediated hemolytic anemia. Part I. An overview.
Comp. Cont. Educ. Pract. Vet. 15, 372-381
- STOCCHI, V., M. MAGNANI, F. CANESTRARI, M. DACHA und G. FORNAINI (1982)
Multiple forms of human red blood cell hexokinase. Preparation, characterization, and age dependence.
J. Biol. Chem. 257, 2357
- STOCKHAM, S.L., J.W. HARVEY und D.A. KINDEN (1994)
Equine glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency.
Vet. Pathol. 31 (5), 518-527
- SUZUKI, T., N.S. AGAR und M. SUZUKI (1984)
Red cell metabolism: a comparative study of some mammalian species.
Comp. Biochem. Physiol. B 79 (4), 515-520
- TAKATU, A., R.A. NASH, J.M. ZAUCHA, M.T. LITTLE, G.E. GEORGES, G.E. SALE, E. ZELLMER, C.S. KUHR, C.D. LOTHROP Jr., und R. STORB (2003)
Adoptive Immunotherapy to Increase the Level of Donor Hematopoietic Chimerism after Nonmyeloablative Marrow Transplantation for Severe Canine Hereditary Hemolytic Anemia.
Biol. Blood Marrow Transplant. 9, 674-682
- TAKEGAWA, S., H. FUJII und S. MIWA (1983)
Change of pyruvate kinase isozymes from M₂- to L-type during development of the red cell.
Br. J. Haematol. 54, 467

- TAKEGAWA, S., und S. MIWA (1984)
Change of pyruvate kinase (PK) isozymes in classical type PK deficiency and other PK deficiency cases during red cell maturation.
Am. J. Hematol. 16, 53-58
- TAKETA, F., und S.A. MORELL (1966)
Oxygen affinity of cat hemoglobin.
Biochem. Biophys. Res. Comm. 24 (5), 705-713
- TAKETA, F. (1974)
Organic phosphates and hemoglobin structure- function relationships in the feline.
Ann. N. Y. Sci. 241, 524-537
- TANAKA, K.R., und D.E. PAGLIA (1989)
Pyruvate Kinase and Other Enzymopathies of the Erythrocyte.
In: SCRIVER, C.R., A.L. BEAUDET, W.S. SLY, D. VALLE (Hrsg): The Metabolic Basis of Inherited Disease, 6. Ausgabe, McGraw-Hill, New York, 3485-3503
- TANI, K., T. YOSHIKUBO, K. IKEBUCHI, K. TAKAHASHI, T. TSUCHIYA, S. TAKAHASHI, M. SHIMANE, H. OGURA, K. OZAWA, Y. TAKAHARA, H. NAKAUCHI, D. MARKOWITZ, A. BANK und S. ASANO (1994)
Retrovirus-Mediated Gene Transfer of Human Pyruvate Kinase (PK) cDNA Into Murine Hematopoietic Cells: Implications for Gene Therapy of Human PK Deficiency.
Blood 83, 2305-2310
- TANPHAICHITR, V.S., V. SUVATTE, S. ISSARAGRISIL, C. MAHASANDANA, G. VEERAKUL, V. CHONGKOLWATANA, W. WAIYAWUTH und H. IDEGUCHI (2000)
Successful bone marrow transplantation in a child with red blood cell pyruvate kinase Deficiency.
Bone Marrow Transplant. 26 (6), 689-690
- TASKER, J.B., G.A. SEVERIN, S. YOUNG, und E.L. GILLETTE (1969)
Familial anemia in the basenji dog.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 154, 158-165
- THEWS, G. (1997)
Atemgastransport und Säure-Basen-Status des Blutes.
In: SCHMIDT, R.F., und G. THEWS (Hrsg.): Physiologie des Menschen.
Springer-Verlag, Berlin, 604-623
- THOMAS, E.D., C.D. BUCKNER und J.E. SANDERS (1982)
Marrow transplantation for thalassaemia.
Lancet. 2, 227-229
- TOMODA, A., N.A. LACHANT, N.A. NOBLE und K.R. TANAKA (1983)
Inhibition of the pentose phosphat shunt by 2,3-diphosphoglycerate in erythrocyte pyruvate kinase deficiency.
Br. J. Haematol 54, 475

- THRALL, M.A. (2004)
Laboratory Evaluation of Bone Marrow.
In: THRALL, M.A. (Hrsg): Veterinary Hematology and Clinical Chemistry.
Lippincott Williams und Wilkins, Philadelphia, 149-178
- TVEDTEN, H. (1994)
Erythrocyte Disorders.
In: WILLARD, M.D., H. TVEDTEN und G.H. TURNWALD (Hrsg): Small animal clinical diagnosis by laboratory methods. 2. Ausgabe, W.B. Saunders Co, Philadelphia, 31-51
- TVEDTEN, H. (1999)
Reference Values.
In: WILLARD, M.D., H. TVEDTEN und G.H. TURNWALD (Hrsg): Small animal clinical diagnosis by laboratory methods. 3. Ausgabe, W.B. Saunders Co, Philadelphia, 370-372
- TVEDTEN, H., und D. WEISS (1999)
Erythrocyte Disorders.
In: WILLARD, M.D., H. TVEDTEN und G.H. TURNWALD (Hrsg): Small animal clinical diagnosis by laboratory methods. 3. Ausgabe, W.B. Saunders Co, Philadelphia, 31-51
- VACHA, J. (1983)
Red cell life span.
In: AGAR, N.S., und P.G. BOARD (Hrsg.): Red blood cells of domestic mammals.
Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 67-132
- VALENTINE, W.N., M.L. PEARCE, R.F. RILEY, E. RICHTER und J.S. LAWRENCE (1951)
Heme synthesis and erythrocyte life span in the cat.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 77, 244-245
- VALENTINE, W.N., K.R. TANAKA und S. MIWA (1961)
A specific erythrocyte glycolytic enzyme defect (pyruvate kinase) in three subjects with congenital nonspherocytic hemolytic anemia.
Trans. Assoc. Am. Physicians. 74, 100
- VALENTINE, W.N., F.H. OSKI, D.E. PAGLIA, M.A. BAUGHAN, A.S. SCHNEIDER und J.L. NAIMAN (1967)
Hereditary hemolytic anemia with hexokinase deficiency. Role of hexokinase in erythrocyte aging.
N. Engl. J. Med. 276, 1
- VALENTINE, W.N., und D.E. PAGLIA (1984)
Erythrocyte enzymopathies, hemolytic anemia, and multisystemic disease.
Blood 64, 583

- VALENTINE, W.N., K.R. TANAKA und D.E. PAGLIA (1989)
 Pyruvate kinase and other enzyme deficiency disorders of the erythrocyte.
 In: SCRIVER, C.R., A.L. BEAUDET, W.S. SLY, D. VALLE (Hrsg.): The Metabolic Basis of Inherited Disease, 6th ed.
 New York, McGraw-Hill, 2341
- VAN GEFFEN, C., S. DAMINET und K. SAVARY-BATAILLE (2005)
 Pyruvate kinase deficiency and bile duct obstruction with bilirubin cholelithiasis in a Somali cat and PK status in 15 related cats.
 In: Proceedings of the 48th Annual British Small Animal Veterinary Association Congress, Birmingham, UK, 596
- VAN ROSSUM, M., F.J. VAN ASTEN, J. ROFINA, J.A. LENSTRA, M.D. BENSON und E. GRUYS (2004)
 Analysis of cDNA sequences of feline SAAs.
 Amyloid 11 (1), 38 – 43
- WATERBURY, L., und E.P. FRANKEL (1972)
 Hereditary nonspherocytic hemolysis with erythrocyte phosphofructokinase deficiency.
 Blood 39, 415
- WAYS, P., und D.J. HANAHAN (1964)
 Characterization and quantitation of red cell lipids in normal man.
 J. Lipid. Res. 5, 318-328
- WEIDEN, P.L., R. STORB und M.L. SCHROEDER (1976)
 Severe hereditary haemolytic anaemia in dogs treated by marrow transplantation.
 Br. J. Haematol. 33 (3), 357-362
- WEIDEN, P.L., R.C. HACKMAN, H.J. DEEG, T.C. GRAHAM, E.D. THOMAS, und R. STORB (1981)
 Long-term survival and reversal of iron overload after marrow transplantation in dogs with congenital hemolytic anemia.
 Blood 57, 66-70.
- WEINGART, C., U. GIGER und B. KOHN (2004)
 Whole blood transfusions in 91 cats: a clinical evaluation.
 J. Fel. Med. Surg. 6 (3), 139-148
- WEINGART, C., und B. KOHN (2008)
 Clinical use of a haemoglobin-based oxygen carrying solution (Oxyglobin®) in 48 cats (2002-2006).
 J. Fel. Med. Surg. 10 (5), 431-438
- WEISS, D.J., und J.D. KREHBIEL (1983)
 Studies of the pathogenesis of anemia of inflammation: Erythrocyte survival.
 Am. J. Vet. Res. 44, 1830-1831

- WEISS, D., und H. TVEDTEN (2004)
Veränderungen des roten Blutbildes.
In: WILLARD, M.D., H. TVEDTEN (Hrsg.): Labordiagnostik in der Kleintierpraxis.
4. Ausg., Urban und Fischer, 43-72
- WHITNEY, K.M., S.A. GOODMAN, E.M. BAILEY und C.D. LOTHROP (1994)
The molecular basis of canine pyruvate kinase deficiency.
Exp. Hematol. 22, 866-874
- WHITNEY, K.M., und C.D. LOTHROP (1995)
Genetic test for pyruvate kinase deficiency in Basenjis.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 207, 918-921
- WIJK, VAN R., G. RIJKSEN, E.G. HUIZINGA, H.K. NIEUWENHUIS und W.W. VAN SOLINGE (2003)
HK Utrecht: missense mutation in the active site of human hexokinase associated with Hexokinase deficiency and severe nonspherocytic haemolytic anemia.
Blood 101, 345-347
- WILLARD, M.D., C.A. ZERBE, W.D. SCHELL, C. JOHNSON, S.E. CROW und R. JONES (1987)
Severe hypophosphatemia associated with diabetes mellitus in six dogs and one cat.
J. Am. Vet. Med. Assoc. 190, 1007-1010
- WILLEKENS, F. L., B. ROERDINKHOLDER-STOELWINDER, Y.A. GROENEN-DOPP, H.J. BOS, G.J. BOSMAN, A.G. VAN DEN BOS, A.J. VERKLEIJ und J.M. WERE (2005)
Hemoglobin loss from erythrocytes in vivo results from spleen-facilitated vesiculation.
Blood 101 (2), 747-751
- WILLI, B., F.S. BORETTI, V. CATTORI, S. TASKER, M.L. MELI, C.E. REUSCH, H. LUTZ und R. HOFMANN-LEHMANN (2005)
Identification, molecular characterization, and experimental transmission of a new hemoplasma isolate from a cat with haemolytic anemia in Switzerland.
J. Clin. Microbiol. 43, 2581-2585
- WILLI, B., S. TASKER, F.S. BORETTI, M.G. DOHERR, V. CATTORI, M.L. MELI, R.G. LOBETTI, R. MALIK, C.E. REUSCH, H. LUTZ und R. HOFMANN-LEHMANN (2006)
Phylogenetic Analysis of "*Candidatus* Mycoplasma turicensis" Isolates from Pet Cats in the United Kingdom, Australia, and South Africa, with Analysis of Risk Factors for Infection.
J. Clin. Microbiol. 44 (12), 4430-4435
- WINDLE, W.F. et al. (1940)
Some aspects of prenatal and postnatal development of the blood of the cat.
Anat. Rec. 78, 321
- WOON, L. A., J.W. HOLLAND, E.P. KABLE und B.D. ROUFOGALIS (1999)
Ca²⁺ sensitivity of phospholipid scrambling in human red cell ghosts.
Cell Calcium 25 (4), 313-320

- YAO, D.C., D.R. TOLAN, M.F. MURRAY, D.J. HARRIS, B.T. DARRAS, A. GEVA und E.J. NEUFELD (2004)
Hemolytic anemia and severe rhabdomyolysis caused by compound heterozygous mutations of the gene for erythrocyte/muscle isoenzyme of aldolase, ALDOA^(Arg303X/Cys338Tyr)
Blood 103 (6), 2401-2403
- YOUNG, J.D. (1983)
Erythrocyte amino acid and nucleoside transport.
In: AGAR, N.S., P.G. BOARD (Hrsg): Red blood cells of domestic mammals.
Elsevier Science Publishers B.V., Amsterdam, 271-290
- ZANELLA, A., P. REBULLA, C. VULLO, C. IZZO, F. TEDESCO und G. SIRCHIA (1978)
Hereditary pyruvate kinase deficiency: Role of the abnormal enzyme in red cell pathophysiology.
Br. J. Haematol. 40, 551-562
- ZANELLA, A., und P. BIANCHI (2000)
Red cell pyruvate kinase deficiency: from genetics to clinical manifestations.
Baillière's Clinical Haematology 13 (1), 57-81
- ZANELLA, A., E. FERMO, P. BIANCHI, und G. VALENTINI (2005)
Red cell pyruvate kinase deficiency: molecular and clinical aspects.
Br. J. Haematol. 130, 11-25
- ZANELLA, A., E. FERMO, P. BIANCHI, L.R. CHIARELLI und G. VALENTINI (2007)
Pyruvate kinase deficiency: The genotype-phenotype association.
Blood Reviews 21, 217-231
- ZAUCHA, J.M., C. YU, C.D. JR. LOTHROP, R.A. NASH, G. SALE, G. GEORGES, H.P. KIEM, G.P. NIEMEYER, M. DUFRESNE, Q. CAO und R. STORB (2001)
Severe Canine Hereditary Hemolytic Anemia Treated by Nonmyeloblastic Marrow Transplantation.
Biol. Blood Marrow Transplant. 7, 14-24
- ZHOU, Q., J. ZHAO, T. WIEDMER und P.J. SIMS (2002)
Normal hemostasis but defective hematopoietic response to growth factors in mice deficient in phospholipid scramblase
Blood 99 (11), 4030-4038

X Anhang

Tab. 13: Erfolgte Untersuchungen bei 27 PK-defizienten Katzen

Katze	Symptome	Blutbild	Retikuloz.	OF	Klin. Chemie	Diff.-blutbild	Folgeunters.
1	ja	ja	nein	nein	nein	nein	nein
2	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja
3	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja
4	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja
5	ja	ja	ja	ja	nein	nein	nein
6	ja	ja	ja	ja	ja	ja	nein
7	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja
8	ja	ja	ja	ja	ja	ja	ja
9	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja
10	ja	ja	nein	nein	ja	nein	nein
11	ja	ja	ja	nein	ja	nein	ja
12	ja	nein	nein	nein	nein	nein	nein
13	ja	ja	ja	ja	nein	nein	nein
14	ja	nein	nein	nein	nein	nein	nein
15	ja	ja	nein	nein	ja	nein	ja
16	nein	ja	ja	ja	ja	ja	ja
17	nein	ja	ja	ja	ja	ja	ja
18	nein	ja	ja	ja	nein	ja	nein
19	nein	ja	ja	ja	ja	ja	ja
20	nein	ja	ja	ja	ja	ja	ja
21	nein	ja	ja	ja	ja	ja	ja
22	nein	ja	Ja	nein	ja	nein	ja
23	nein	ja	Ja	nein	nein	nein	nein
24	nein	ja	Ja	nein	nein	nein	nein
25	nein	nein	Nein	nein	nein	nein	nein
26	nein	nein	Nein	nein	nein	nein	nein
27	nein	nein	Nein	nein	nein	nein	nein

Retikuloz. – Retikulozyten, OF – Osmotische Fragilität der Erythrozyten, Klin. Chemie – Klinische Chemie, Diff.-blutbild – Differentialblutbild, Folgeunters. – Folgeuntersuchung

Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Frau Prof. Dr. B. Kohn für die Überlassung des Themas, die intensive Betreuung und sorgfältige Korrektur des Manuskriptes. Herrn Prof. Dr. L. Brunnberg danke ich für die jederzeit gewährte Unterstützung während der Arbeit an meinem Promotionsthema.

Den Abessinier- und Somalizüchtern möchte ich danken für die bereitwilligen Auskünfte bzgl. der PK-defizienten Katzen und die Übersendung von Blutproben. Besonders Frau Angermund war immer sehr engagiert und hat mich tatkräftig unterstützt.

Prof. Dr. U. Giger und seinem Team und Laboklin möchte ich für die Durchführung der Untersuchungen auf die PK-Mutation danken.

Bei den Mitarbeiterinnen des Labors der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere der FU Berlin möchte ich mich für die Unterstützung bei allen Laboruntersuchungen bedanken.

Allen Tierärzten und Mitarbeitern der Klinik und Poliklinik für kleine Haustiere danke ich für die freundschaftliche Zusammenarbeit. Dr. Mareike Ottenjann danke ich für die sorgfältige Korrektur meiner Dissertation.

Ganz besonderer Dank gilt meinem Vater für die finanzielle Hilfe und liebevolle und geduldige Unterstützung während meines Studiums und während der Erstellung der Dissertation.

Selbständigkeitserklärung:

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe. Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Auszüge der Dissertation wurden bereits veröffentlicht.

FUMI, C., und B. KOHN (2006)

Pyruvatkinase- Defizienz bei Somali und Abessinierkatzen in Deutschland.
14. Jahrestagung der Fachgruppe "Innere Medizin und Klinische
Laboratoriumsdiagnostik ". München, 13. – 14.05.2006 (Vortrag)

FUMI, C., und B. KOHN (2006)

Pyruvatkinase- Defizienz bei Somali und Abessinierkatzen in Deutschland.
Tierärztliche Praxis 03/06, A1 (Abstract)

FUMI, C., und B. KOHN (2007)

Erythrozytärer Pyruvatkinase-Mangel bei Abessinier- und Somalikatzen.
53. DGK- DVG Jahreskongress, Berlin, 15. – 18.11.2007 (Poster)
Referatezusammenfassung, Sonntag, 18.11.2007, S. 126
ISBN 987-3-939902-49-2

FUMI, C., und B. KOHN (2007)

Erythrozytärer Pyruvatkinase-Mangel bei Abessinier- und Somalikatzen.
Kleintierpraxis 52 (12), 803 (Abstract)

FUMI, C., und B. KOHN (2008)

Vorkommen und Klinik des felinen erythrozytären Pyruvatkinase-Mangels.
16. Jahrestagung der Fachgruppe "Innere Medizin und Klinische
Laboratoriumsdiagnostik ". Gießen, 02. – 03.02.2008 (Poster)

FUMI, C., und B. KOHN (2008)

Vorkommen und Klinik des felinen erythrozytären Pyruvatkinase-Mangels.
Tierärztliche Praxis 36 (K), P25 (Abstract)

KOHN, B., C. FUMI, A. SENG und U. GIGER (2005)

Anämie infolge erythrozytären Pyruvatkinase-Mangels und deren Verbreitung bei Somali-
und Abessinierkatzen in Deutschland.
Kleintierpraxis 50 (5), 305-312

KOHN, B., und C. FUMI (2005)

Pyruvatkinasedefizienz bei Abessinier- und Somalikatzen in Deutschland.
51. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Kleintiermedizin
Berlin, 17.-20.11.2005 (Vortrag)
Referatezusammenfassung, Samstag, 19.11.2005, S. 213 – 215
ISBN 3-938026-47-2

KOHN, B., und C. FUMI (2007)

Clinical course of pyruvate kinase deficiency in Abyssinian and Somali cats.
J. Fel. Med. Surg. 10 (2), 145-153