

Aus dem Zentrum für Kinderheilkunde

Abteilung für Allgemeine Pädiatrie, Neonatologie und
Gastroenterologie, Stoffwechsel und Ernährung

Kommissarischer Leiter: Universitätsprofessor Dr. H.-G. Lenard

**Behandlungsqualität und intellektuelles, neurologisches und schulisch-berufliches
Outcome bei der klassischen Form der Ahornsirupkrankheit (MSUD)**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Christoph Helbling

2003

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. phil. Alfons Labisch, MA,
Dekan

Referent: Univ.-Prof. Dr. Wendel

Koreferent: Univ.-Prof. Dr. Steingrüber

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
BCAA	Verzweigtkettige Aminosäuren
BCAAT	Verzweigtkettige-Aminosäuren Aminotransferase
BCKA	Verzweigtkettige α -Ketosäuren
BCKADH	Dehydrogenasekomplex der verzweigtkettigen α -Ketosäuren
EEG	Elektroenzephalogramm
KIC	α -Ketoisocapronsäure
KIV	α -Ketoisovaleriansäure
KMV	α -Keto- β -methylvaleriansäure
MIM	Mendelian Inheritance in Man
MSUD	Ahornsirupkrankheit
MW	Mittelwert
n.s.	nicht signifikant
PKU	Phenylketonurie
SD	Standardabweichung
SDS	Standard Deviation Score
sign.	Signifikant
SSIEM	Society for the study of Inborn Errors of Metabolism
Tab.	Tabelle
ZNS	Zentralnervensystem

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	6
1.1	Pathobiochemie der Ahornsirupkrankheit	6
1.2	Genetische Heterogenität	8
1.3	Epidemiologie	9
1.4	Klassische Form der MSUD: Diagnosestellung	9
1.5	Klassische Form der MSUD: Therapie und klinischer Verlauf	10
1.6	Variante Formen der MSUD	11
1.7	Neuropathologie	12
1.8	Untersuchungen zur Intelligenzentwicklung bei MSUD-Patienten	14
1.9	Entwicklung der Fragestellung	15
1.10	Ziele der Untersuchung	17
2	MATERIAL UND METHODEN	18
2.1	Datenerhebung	18
2.2	Beschreibung der Krankheitsverläufe	19
2.3	Beschreibung des Outcome	20
2.4	Statistische Auswertung	21
3	ERGEBNISSE	22
3.1	Umfrage in europäischen Stoffwechsellazentren zum Vorkommen der MSUD	22
3.2	Patientenkollektiv der Studie	23
3.3	Erstmanifestation der MSUD in der Neonatalperiode	24
3.4	Langzeitverlauf der Plasmaleucinkonzentration von allen Patienten der Studie	25
3.5	Bildung einer Patientengruppe mit deutlich verzögertem Abfall des Plasmaleucinspiegels zum Zeitpunkt der Erstmanifestation	27
3.6	Clusteranalyse in der Gruppe von Patienten mit „kurzdauernder“ Erhöhung der Plasmaleucinspiegel während der Erstmanifestation	30
3.7	Langzeitverlauf der Plasmaleucinkonzentrationen in den einzelnen Clustern	36

3.8	Häufigkeit von Stoffwechsellentgleisungen in den drei Clustern	39
3.9	Mögliche Einflussfaktoren auf die Qualität der Langzeitstoffwechseleinstellung	41
3.10	Beziehung zwischen der Qualität der Langzeiteinstellung der Plasmaleucinspiegel und dem intellektuellen und neurologischen Outcome	47
4	DISKUSSION	61
4.1	Gedanken zum Verhalten der Plasmaleucinspiegel in den einzelnen Untergruppen	63
4.2	Mögliche Einflussfaktoren auf die Qualität der Stoffwechselkontrolle	65
4.3	Beziehung zwischen der Qualität der Langzeiteinstellung der Plasmaleucinspiegel und dem intellektuellen Outcome	67
5	ZUSAMMENFASSUNG	71
6	LITERATURVERZEICHNIS	74
7	ANHANG	79
7.1	Anhang I : Fragebogen europäische Stoffwechselzentren	79
7.2	Anhang II: Fragebogen deutschsprachige Stoffwechselzentren	80
7.3	Anhang III: Statistische Parameter der Clusteranalyse	85
7.4	Anhang IV: Verzeichnis der Intelligenz- und Entwicklungstestverfahren	87

1 Einleitung

1.1 Pathobiochemie der Ahornsirupkrankheit

Der Ahornsirupkrankheit oder *Maple Syrup Urine Disease* (MSUD) liegen verschiedene autosomal-rezessiv vererbte Defekte innerhalb des Multienzymkomplexes der verzweigtkettigen α -Ketosäuren-Dehydrogenase (BCKADH) zugrunde. In Folge kommt es bei kataboler Stoffwechsellage oder durch alimentäre Proteinzufuhr zu einer Akkumulation der verzweigtkettigen Aminosäuren (BCAA) Leucin, Isoleucin und Valin und ihrer korrespondierenden Ketosäuren (BCKA): α -Ketoisokapron- (KIC), α -Keto- β -methylvalerian- (KMV) und α -Ketoisovaleriansäure (KIV). Die Erkrankung wurde 1954 erstmalig von Menkes und Mitarbeitern beschrieben. Der Stoffwechselweg der verzweigtkettigen Aminosäuren ist in Abbildung 1 dargestellt.

Die reduzierte Aktivität der BCKADH führt zur deutlichen Einschränkung oder fast vollständigen Blockade des Abbaus der verzweigtkettigen Aminosäuren auf der Stufe ihrer α -Ketosäuren. Letztere werden aus den entsprechenden Aminosäuren, welche Bestandteile von Nahrungs- und Gewebsproteinen sind, durch reversible Transaminierung gebildet. Infolge des gestörten Stoffwechselschritts kommt es zum Anstieg der drei BCAA und zusätzlich der Aminosäure Alloisoleucin, sowie der zugehörigen Ketosäuren in allen Körperflüssigkeiten und Geweben. Die temporär oder permanent stark erhöhten BCKA- und BCAA- Spiegel können zu schwerwiegenden Funktionsstörungen bzw. Schäden am Zentralnervensystem als ausschließlichem Organ führen. Im Plasma liegen Leucin und KIC, die beiden Komponenten des bei weitem am stärksten neurotoxisch wirkenden Metabolitenpaars, in etwa äquimolaren Konzentrationen vor. Bei akuten Stoffwechselentgleisungen erreichen beide Substanzen immer die höchsten Plasmaspiegel. Somit sind bei Untersuchungen zur Neurotoxizität bei dieser Stoffwechselkrankheit in erster Linie diese beiden Metabolite zu betrachten.

In Abhängigkeit vom Ausmaß des Enzymaktivitätsmangels existieren verschiedene Schweregrade der MSUD. Bei der schwersten (klassischen) Form fehlt die Enzymaktivität nahezu vollständig ($< 2\%$ Restaktivität in Fibroblastenkulturen); bei den verschiedenen, leichter verlaufenden varianten Formen (intermediäre, intermittierende Formen) betragen die Enzymaktivitäten zwischen 2 und 30% der Norm (Dancis et al. 1972; Schadewaldt et al. 1989).

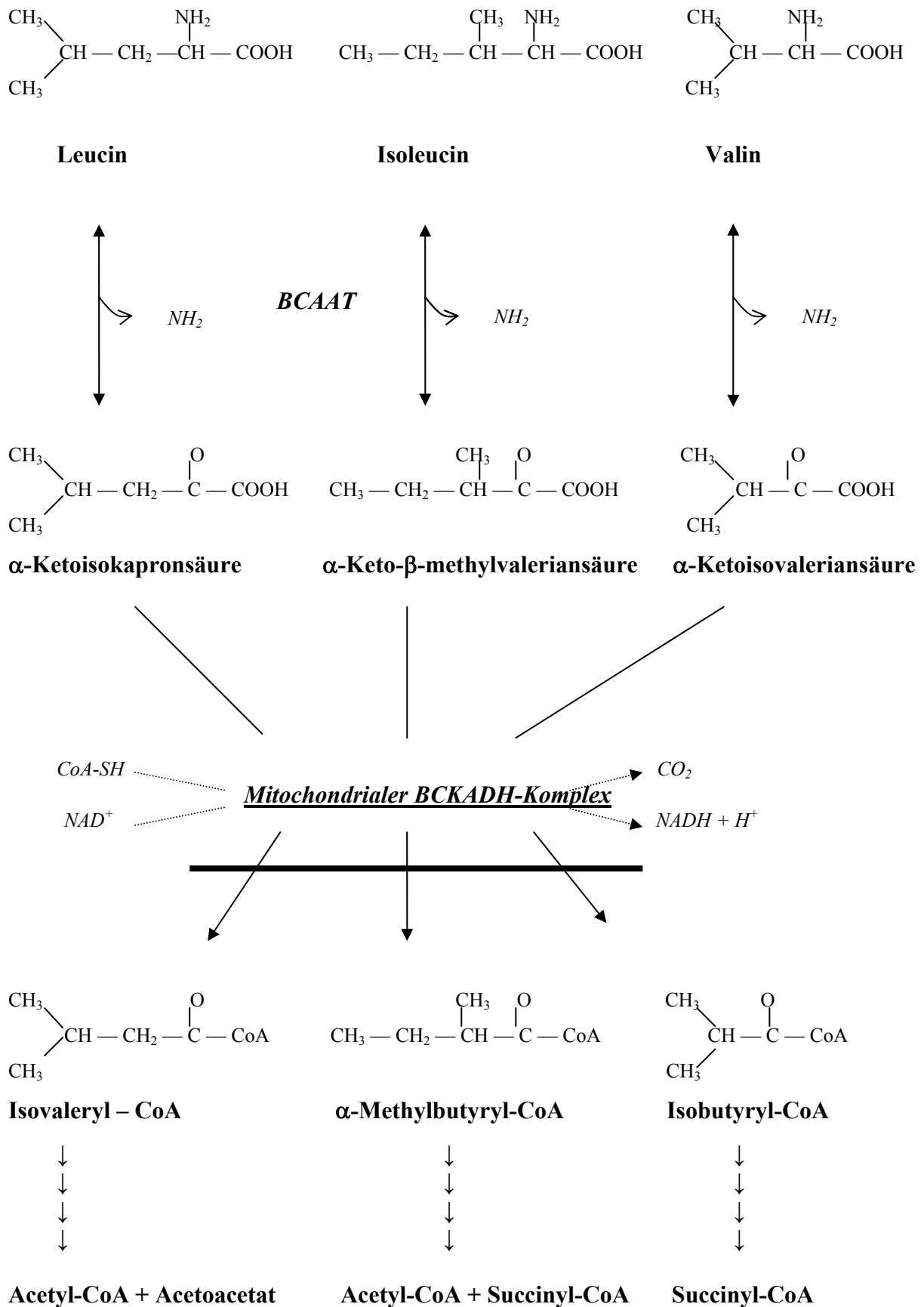


Abbildung 1: Abbauweg der verzweigt-kettigen Aminosäuren und Enzymdefekt bei MSUD
 BCAAT: Verzweigt-kettige-Aminosäuren Aminotransferase
 BCKADH: Verzweigt-kettige-Ketosäuren Dehydrogenase-Komplex

Der BCKADH-Komplex setzt sich aus drei Enzymkomponenten zusammen, wobei insgesamt vier katalytische Untereinheiten zu unterscheiden sind: E₁ ist eine thiaminpyrophosphatabhängige Decarboxylase und setzt sich aus je zwei α und β -Einheiten zusammen. E₂ bildet als Dihydrolipoyl-Transacylase das kubische Zentrum des Komplexes. Neben der Funktion als Dehydrogenase im BCKADH-Komplex bildet die E₃-Untereinheit (Dihydrolipoyl-Dehydrogenase) auch einen funktionellen Bestandteil der Pyruvat- und α -Ketoglutarat-Dehydrogenase. Reguliert wird der gesamte Enzymkomplex durch eine assoziierte spezifische Kinase und Phosphatase (Chuang & Shih 2001).

1.2 Genetische Heterogenität

Es wurden bislang 63 unterschiedliche Mutationen bei MSUD-Patienten in den für die vier BCKADH-Enzymkomplexuntereinheiten kodierenden Gene identifiziert (Aevarsson et al. 2000, Chuang & Shih 2001).

Tabelle 1 zeigt die Zuordnung der katalytischen Untereinheiten zu definierten Chromosomenabschnitten. Parallel ist die Klassifizierung „molekularer Phänotyp“ von Chuang & Shih (2001) und der entsprechende MIM-Eintrag von McKusick et al. (2001; 1999), wiedergegeben.

Tab. 1: Molekularer Phänotyp der MSUD

Molekularer Phänotyp	Defiziente BCKADH-Untereinheit	Genlokalisierung	McKusick MIM Nr.
I A	E 1 α	19q13.1-q13.2	248600
I B	E 1 β	6p21-p22	248611
II	E 2	1p31	248610
III	E 3	7q31-q32	246900

Soweit aus der Literatur ersichtlich, gibt es bis auf den aus der besonderen Stellung der E3-Untereinheit (Typ III-Mutation) resultierenden klinischen Verlauf erst wenig Hinweise auf eine Korrelation von klinischem und molekularem Phänotyp.

1.3 Epidemiologie

Aus der Zusammenführung weltweit im Neugeborenen-Screening erhobener Daten ist eine Frequenz von 1:185.000 ermittelt worden. Hierbei wurden alle klassischen und einige variante MSUD-Formen erfasst. Das Auftreten der Erkrankung ist panethnisch, jedoch gibt es Häufungen von Erkrankungsfällen in Ländern mit einem hohen Prozentsatz von Verwandtenehen. Die höchste beobachtete Inzidenz liegt mit 1:176 Neugeborenen in der Mennonitischen Bevölkerungsgruppe im US-Bundesstaat Pennsylvania (Chuang & Shih 2001).

1.4 Klassische Form der MSUD: Diagnosestellung

Säuglinge mit der klassischen Form der MSUD sind bei Geburt unauffällig. Im Nabelschnurblut sind die Konzentrationen der verzweigtkettigen Amino- und Ketosäuren normal, aber sie steigen kontinuierlich während der nächsten Stunden. Typischerweise wird das Neugeborene am 4. bis 5. Lebenstag lethargisch, sobald Leucin und sein Ketoanalog nach Überschreiten einer kritischen Konzentration in Blut und Geweben ihre volle neurotoxische Wirkung entfalten. Das Kind zeigt zunächst Trinkschwäche und selten Erbrechen und entwickelt eine progrediente neurologische Symptomatik mit Hypo- und Areflexie, einer Rumpfhypotonie in Kombination mit muskulärer Hypertonie der Extremitäten von alternierender Intensität, eine vorgewölbte Fontanelle (als Zeichen eines Hirnoedems), cerebrale Krampfanfälle, eine respiratorische Insuffizienz (mit der Notwendigkeit der maschinellen Beatmung) und wird schließlich tief komatös. Gleichzeitig mit der neurologischen Symptomatik beginnt das Kind intensiv süßlich, karamell- oder ahornsirupähnlich zu riechen, wonach die Krankheit benannt ist. Während der Erstmanifestation der klassischen Verlaufsform sind die verzweigtkettigen Aminosäuren und ihre korrespondierenden α -Ketosäuren in Plasma, Urin und Liquor cerebrospinalis stark erhöht. Insbesondere Leucin und KIC erreichen innerhalb weniger Tage Blutspiegel von 2-4 mmol/l (Normwerte der einzelnen BCAA <0,2 mmol/l, der einzelnen BCKA < 0,04 mmol/l). Die quantitative Bestimmung der Amino- und Ketosäuren erfolgt mittels Säulen- oder Gaschromatographie. Der Nachweis von Alloisoleucin im Plasma ist pathognomonisch für die MSUD (Schadewaldt 1999) und

differentialdiagnostisch hilfreich bei der Aufdeckung varianter Formen. Bei der MSUD eignet sich als einfacher Screening-Test die Dinitrophenylhydrazin (DNPH) Probe im Urin, durch die die stark erhöhte renale Ausscheidung von α -Ketosäuren angezeigt wird.

1.5 Klassische Form der MSUD: Therapie und klinischer Verlauf

Solange es kein frühes Neonatalscreening für die MSUD gibt, sind die Patienten mit der klassischen Form der MSUD zum Zeitpunkt der Diagnosestellung (meistens jenseits des 10. Lebenstags) aufgrund der sehr hohen Leucin /KIC Konzentrationen schwer krank und im Coma. Nur durch rasches Senken der akut neurotoxischen Metabolitspiegel durch Blutaustauschtransfusion oder heute bevorzugt durch extrakorporale Dialyse (Jouvet et al. 1997) in einen Bereich von 1 mmol/l sind bleibende Zerebralschäden weitestgehend zu vermeiden. Findet diese Akutbehandlung erst nach dem 10. Lebenstag statt, so ist mit einer späteren Intelligenzminderung zu rechnen (Kaplan et al. 1991). Bei längerfristig hohen Metabolitspiegeln (Plasmaleucin > 1,0 mmol/l), etwa über die ersten beiden Lebensmonate, entwickelt sich eine spastische Zerebralparese (Hilliges et al. 1993, Snyderman 1988).

Nach Abschluss der Akutbehandlung wird in Analogie zur Phenylketonurie mit der lebenslang erforderlichen Diättherapie begonnen. Diese ist im Vergleich zu einer normalen Ernährung im Gehalt an verzweigkettigen Aminosäuren und damit im Proteingehalt sehr stark reduziert. Im Prinzip enthält die Diät diese Aminosäuren nur in solchen Mengen, die für die Aufrechterhaltung der körpereigenen Proteinsynthese erforderlich sind. Auf diese Weise werden die Plasmakonzentrationen der verzweigkettigen Aminosäuren und damit auch der entsprechenden Ketosäuren im Bereich normaler bis mäßig erhöhter Werte gehalten. Plasmaleucinspiegel von 0,2 – 0,4 mmol/l werden als gefahrlos für die neurologische Entwicklung angesehen. Neben natürlichen Nahrungsproteinen muss ein Teil des Proteinbedarfs durch ein Gemisch an essentiellen Aminosäuren ohne Zusatz von Valin, Leucin und Isoleucin gedeckt werden.

Die Patienten sind in hohem Maß während kataboler Stoffwechselphasen, z.B. bei infektiösen und interkurrenten Erkrankungen gefährdet. Die gesteigerte Muskelproteolyse lässt die verzweigkettigen Amino- und Ketosäuren dann rasch auf neurotoxische Werte ansteigen. Die Kinder werden lethargisch, ataktisch, zeigen Dysarthrie, Halluzinationen, selten Krampfanfälle. Begleitet werden diese neurologischen Symptome von typischen EEG-Veränderungen und einem Hirnödem (Levin et al. 1993). Im Allgemeinen sind die neurologischen Störungen unter frühzeitig begonnener Intensivierung der Therapie rasch

reversibel. Dabei ist die exogene Zufuhr natürlichen Proteins frühzeitig zu beenden und der Katabolismus durch hohe Kalorienzufuhr (Glukose, evtl. mit Insulin) zu unterbrechen.

1.6 Variante Formen der MSUD

In einem nicht genau bekannten Prozentsatz der Fälle von MSUD liegt aufgrund einer höheren Restaktivität der BCKADH eine leichtere Variante vor, mit milderem klinischem Verlauf. Bei der so genannten **intermittierenden Form** reagieren die Kinder oftmals erst im Alter von einigen Monaten auf Infekte, Impfungen, Operationen oder auf plötzliche übermäßige Proteinzufuhr mit akuten neurologischen Symptomen wie Ataxie, Somnolenz und Koma. Solche außergewöhnlichen Stoffwechselbelastungen lassen die sonst nur mäßig erhöhten Metabolitspiegel in den neurotoxischen Bereich ansteigen. Der typische Karamellgeruch tritt auf, und im Urin werden die Ketosäuren in großen Mengen ausgeschieden. Oft wird die richtige Diagnose erst nach mehreren Episoden gestellt; einige Kinder starben in solchen Krisen. Im Allgemeinen entwickeln sie sich aber geistig normal.

Bei der so genannten **intermediären Form** fallen die Patienten erstmals im 2. Lebensjahr mit verzögerter psychomotorischer Entwicklung auf, ohne dass es zum episodenhaften, intermittierenden Krankheitsverlauf gekommen wäre. Diese Kinder litten wahrscheinlich langfristig unter höheren Metabolitspiegeln in Blut und Geweben.

Es scheint, dass in der Gruppe der MSUD-Varianten mit steigender Restaktivität des Enzyms die Neigung zu Stoffwechselkrisen sinkt und die Leucintoleranz steigt. Diese reicht von leicht höheren Leucinmengen als bei der klassischen Form über ein eingeschränktes bis hin zu einem normalen Proteinangebot in der Nahrung. Es gibt Fälle von varianter MSUD, die zeitlebens asymptomatisch bleiben, da Leucin und KIC niemals in neurotoxische Bereiche ansteigen (Chuang & Shih 2001, Ogier et al. 1995, Wendel et al. 1990). Bisher konnte das häufig postulierte Vorkommen von **thiaminabhängigen** MSUD-Varianten, die auf pharmakologische Dosen von Thiamin, einem Kofaktor im Enzymkomplex, mit einem drastischen Abfall des Plasmaleucins reagieren, nicht überzeugend nachgewiesen werden.

Eine biochemisch definierte Variante ist die **Dihydrolipoyl-dehydrogenase(E3-)defiziente** Form, bei der neben dem BCKADH-Komplex auch die Pyruvat- und die α -Ketoglutarat-dehydrogenase defizient sind. Sie führt zumeist erst im späteren Säuglingsalter zu progressiven Symptomen wie Hypotonie und Entwicklungsretardierung bei moderat erhöhten BCAA und BCKA-Spiegeln und Laktazidose (Chuang & Shih 2001).

1.7 Neuropathologie

Encephalopathische Neugeborene mit sehr hohen BCAA-/BCKA-Plasmaspiegeln (jeweils > 3 mmol/l) haben ein diffuses, mit Therapiebeginn rasch reversibles Hirnoedem. In bestimmten Regionen (Kleinhirnmarklager, Hirnstamm, Hirnschenkel, Capsula interna, Centrum semiovale) soll, in typischer Weise für MSUD, das Oedem verdichtet sein (Brismar et al. 1990). Nach Rückbildung des Hirnoedems können Signalintensitätsänderungen im MRT im Sinne einer Dysmyelinisierung von Bahnsystemen im Bereich des Hirnstamms, periventrikulär und in den Basalganglien bestehen bleiben (Brismar et al. 1990).

Chronische neurodegenerative Veränderungen betreffen vor allem die weiße Substanz und sind nicht spezifisch für die MSUD. In erster Linie wird eine verzögerte Myelinisierung vornehmlich nachgeburtlich myelinisierender zentralnervöser Bahnen beschrieben. Hier sind besonders das Rückenmark, Pyramidenbahnen und die weiße Substanz der Großhirnhemisphären betroffen (Chuang & Shih 2001).

In Sektionspräparaten unbehandelter MSUD-Patienten wurden komplette Nekrosen der cerebellären Granulosazellschicht und unspezifische Veränderungen der weißen Substanz im Sinne einer postnatalen Myelinisierungsstörung (spongiöse Hirnveränderungen, Dysmyelinisierung großer Bahnsysteme) gefunden. Bemerkenswert ist, dass Neurone und Axone nicht oder nur in sehr geringem Ausmaß pathologisch verändert waren (Chuang & Shih 2001). Für behandelte MSUD-Patienten gibt es bislang keine vergleichbaren postmortem durchgeführten Untersuchungen. Doch zeigten vier im Langzeitverlauf kontinuierlich schlecht eingestellte klassische Patienten in einer Untersuchung von Treacy et al. (1992) eine deutliche Dichteminderung der periventrikulären weißen Substanz im kranialen Computertomogramm.

Bezüglich der intracerebralen Konzentrationsmessung der neurotoxischen Metabolite BCAA und BCKA mittels Protonen-Magnetresonanzspektroskopie liegen kaum Daten vor. In Phasen hoher Plasmaspiegel (z.B. Summe der BCAA und BCKA 2,5 mmol/l) wurde die intracerebrale Konzentration dieser Metabolite mit etwa einem Drittel der Plasmakonzentration bestimmt (Heindel et al. 1995). Die getrennte Messung der einzelnen BCAA oder BCKA ist mit dieser Methode nicht möglich (Schwahn et al. 2000).

Neben der für die verzögerte Myelinisierung verantwortlichen veränderten cerebralen Lipidzusammensetzung sind pathologische Veränderungen im Neurotransmitterhaushalt

nachgewiesen worden. Diese betreffen vor allem den Zyklus des excitatorischen Neurotransmitters Glutamat, in dem Leucin als wichtiger Aminogruppendonor dient.

Bei hohen KIC-Konzentrationen in den Astrozyten wird die Pufferfunktion gestört, welche KIC in physiologisch niedriger Konzentration bei der Wiederaufnahme des durch Depolarisation freigesetzten Glutamats in die präsynaptische Zelle hat (Yudkoff et al. 1994).

Die Wiederaufnahme von Glutamat in präsynaptische Vesikel wird im Tiermodell (Ratte) in Anwesenheit von Leucin/KIC und Isoleucin/KMV signifikant gehemmt (Tavares et al. 2000). Aufgrund dieses Befundes wird angenommen, dass die extrazellulären Konzentrationen von Glutamat im ZNS von MSUD-Patienten chronisch erhöht sind. Lipton et al. (1994) und Price et al. (1999) postulieren die Excitotoxizität erhöhter Konzentrationen dieses Neurotransmitters im synaptischen Spalt als wichtigen Faktor in der Genese akuter und chronischer neurologischer Krankheitsbilder. In physiologischen Mengen ist Glutamat an kognitiven Entwicklungsprozessen wie Lernen, Plastizität und Gedächtnisbildung beteiligt (Ozawa et al. 1998).

Auf zellulärer Ebene wirkt KIC in hohen Konzentrationen inhibitorisch auf wichtige Enzyme (z.B. α -Ketoglutarat-Dehydrogenase) und an verschiedenen Membranen der Zelle sowie an der Blut-Hirn-Schranke hemmt es schon in leicht bis mäßig erhöhten Konzentrationen den Transport anderer für den Hirnstoffwechsel wichtiger Substanzen wie Pyruvat, Lactat und Ketonkörper. In-vitro-Untersuchungen haben gezeigt, dass KIC dosisabhängig die Myelinisierung von Ratten-Cerebellum-Kulturen (Silberberg et al. 1969) und in Hirnschnitten die Proteinsynthese hemmt (Appel et al. 1966).

Die deutlich reduzierte Anzahl von postsynaptischen GABA-Rezeptoren an Synaptosomen von Gehirnen verstorbener MSUD-Kälber lässt die Deutung zu, dass bei der MSUD-Encephalopathie die Verminderung der GABA-vermittelten inhibierenden Neurotransmission eine Rolle spielt (Dodd et al. 1992). Aufgrund der Datenlage wurde die Hypothese entwickelt, dass der bei hohen Plasma-BCKA-Spiegeln zu beobachtende neurotoxische Effekt durch eine Depletion von GABA hervorgerufen sein könnte (Korein et al. 1994). Zu einem entsprechenden Mangelzustand könnte es in bestimmten Hirnkompartimenten kommen, wenn die BCKA in größeren Mengen durch die Blut-Hirn-Schranke in das Gehirn eindringen und dort zu BCAA transaminiert werden. Die Folge wäre eine Depletion und ungenügende Bereitstellung von Aminogruppen für andere Transaminierungsreaktionen, so für die Bildung der wichtigen Aminosäure Glutamat und nachfolgend Glutamin und GABA (Korein et al. 1994).

1.8 Untersuchungen zur Intelligenzentwicklung bei MSUD-Patienten

In einer Untersuchung von Nord und Mitarbeitern (1991) wurden 9 Patienten mit MSUD nach dem Schweregrad der neonatalen Entgleisung in vier Gruppen eingeteilt. Bei allen Patienten, deren Eltern und Geschwistern wurde ein altersadaptierter Wechsler-Intelligenztest durchgeführt. Alle MSUD-Patienten erreichten niedrigere Testergebnisse als ihre gesunden Familienangehörigen. Bemerkenswert waren die jeweils deutlich schlechteren Resultate in Handlungs- als in Verbalskalen. Bei Erstdiagnose mäßig bis schwer entgleiste Patienten erreichten insgesamt niedrigere Intelligenzquotienten als die neonatal asymptomatischen oder nur leicht entgleisten MSUD-Patienten. Die Langzeitstoffwechseleinstellung wurde bei der Erklärung für die gestörte Intelligenzentwicklung in dieser Untersuchung nicht herangezogen.

In einer kontrollierten Studie fanden Hilliges und Mitarbeiter (1993) bei einer Kohorte von 21 klassischen und varianten MSUD-Patienten mit dem non-verbale Snijders-Oomen Intelligenztest signifikant niedrigere Intelligenzleistungen als bei einer altersgematchten Kontrollgruppe von Gesunden und Patienten mit Phenylketonurie. Tendenziell konnte ein inverser Zusammenhang zwischen niedrigeren Testleistungen und Höhe der mittleren Plasmaleucinspiegel in den ersten drei Lebensjahren gezeigt werden. Alle Patienten mit erstmaligem Unterschreiten von 1mmol/L Plasmaleucin nach dem 16. Lebenstag erreichten ein unterdurchschnittliches Testergebnis.

Kaplan und Mitarbeiter (1991) identifizierten in einer kontrollierten Studie mit 16 MSUD-Patienten, in der die Intelligenztestleistungen der Patienten mit denen ihrer Eltern und gesunden Geschwister verglichen wurden, das Alter bei Diagnosestellung (in Lebenstagen) und den mittleren Langzeit-Plasmaleucinspiegel bis zum Zeitpunkt der Intelligenzmessung (im Alter von 13 bis 65 Monaten) als die wichtigsten Einflussfaktoren auf die erreichten intellektuellen Leistungen.

1.9 Entwicklung der Fragestellung

Bei der Verlaufsbeobachtung zweier prospektiv¹ behandelter Patienten mit klassischer Form der MSUD fiel auf, dass es trotz jeglicher fehlender Beeinträchtigung des Zentralnervensystems in der Neonatalperiode im Rahmen einer Enzephalopathie und damit trotz Ausbleiben eines typischen neonatalen Schädigungsfaktors bei der klassischen MSUD zu einer ganz unterschiedlichen intellektuellen Entwicklung kam. Die Patientin Nr. 11 wies, wie in Abb.2 gezeigt wird, während der ersten sieben Lebensjahre einen mittleren Plasmaleucinspiegel auf, der dauerhaft etwa beim Vierfachen der Norm lag. Sie erreichte bei einer Testung im siebten Lebensjahr einen Intelligenzquotienten, der im Bereich leichter geistiger Behinderung lag und besuchte eine Sonderschule für Lernbehinderte.

Abbildung 2 und 3 zeigen jeweils den Plasmaleucinspiegelverlauf der beiden Patienten:

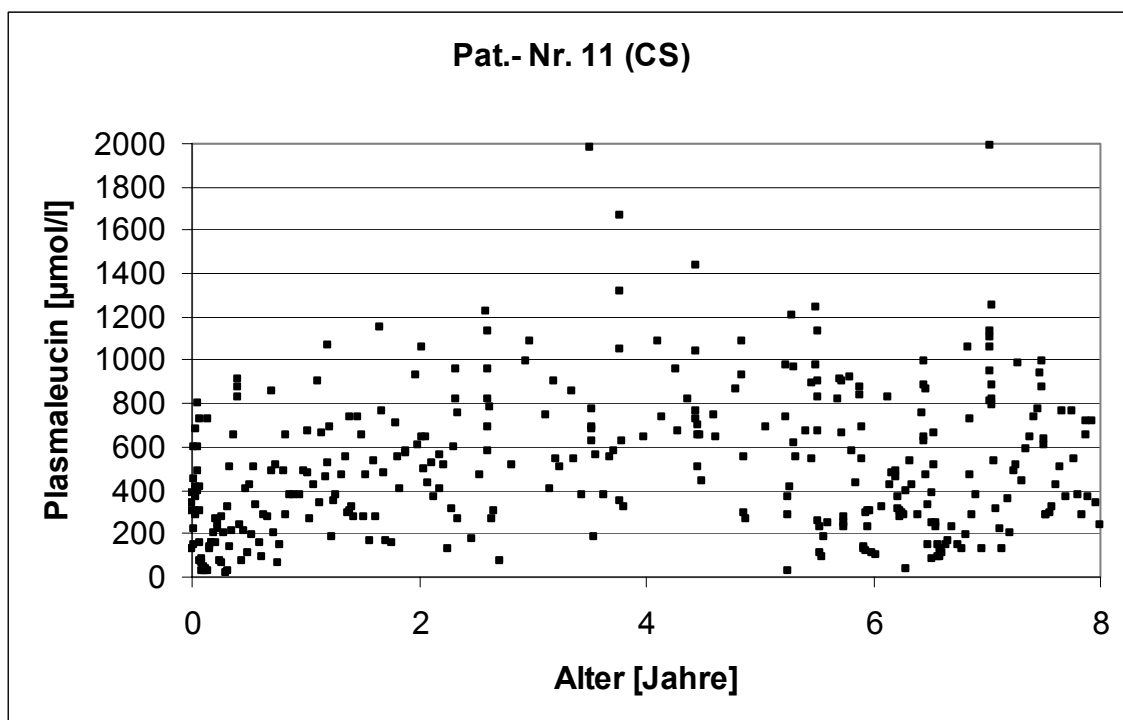


Abb. 2: Vollständige Darstellung der Plasmaleucinspiegel von Pat. 11 bis zum 8. Lebensjahr

¹ In den Familien war jeweils ein älteres Geschwisterkind an MSUD erkrankt bzw. verstorben. Beide wurden von Geburt an behandelt und erlebten keine encephalopathische Entgleisung in der Neonatalperiode.

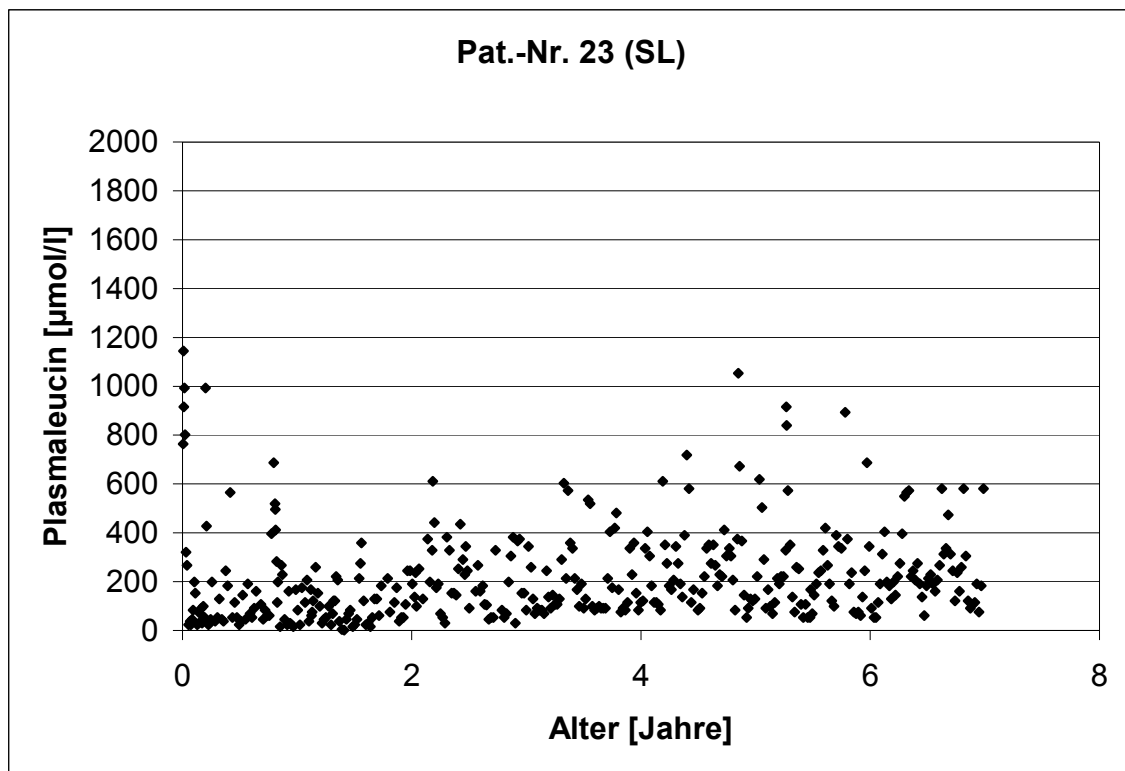


Abb. 3: Vollständige Darstellung der Plasmaleucinspiegel von Pat. 23 bis zum 7. Lebensjahr

Demgegenüber wies die Patientin Nr. 23 während der ersten sieben Lebensjahre dauerhaft eine normwertnahe Einstellung ihres Plasmaleucinspiegels auf (siehe Abb.3). Sie war eine gute bis sehr gute Schülerin in der Regelgrundschule und hatte vergleichbare, zum Teil sogar bessere Leistungen in Einzelfächern als ihre nicht von der MSUD betroffene zweieiige Zwillingschwester.

Aus diesem Vergleich ergab sich die Fragestellung nach dem Einfluss der Höhe des longitudinalen Plasmaleucinspiegels - als Maß für die Qualität der Stoffwechseleinstellung durch die Diättherapie - auf das intellektuelle Outcome bei Patienten mit klassischer MSUD.

1.10 Ziele der Untersuchung

Hauptziel der Untersuchung war es, Aufschluss darüber zu bekommen, in welchem Ausmaß bei Patienten mit klassischer MSUD die Höhe des longitudinalen Plasmaleucinspiegels die intellektuelle Leistungsfähigkeit beeinflusst.

Um für eine solche Untersuchung ein genügend großes Patientenkollektiv rekrutieren zu können, wurde eine Umfrage in den relevanten europäischen Stoffwechsellzentren nach Anzahl und klinischer Verlaufsform der von ihnen betreuten Patienten mit MSUD durchgeführt. Ein nachgeordnetes Ziel dieser Umfrage war es, Aufschluss über den Anteil von varianten Formen an der Gesamtgruppe von Patienten mit MSUD zu bekommen und für eine zukünftige Untersuchung nach Schweregrad und Klassifikation innerhalb der Gruppe der varianten MSUD eine Patientenliste zu erstellen.

Ein weiteres Ziel der Arbeit war es, mögliche Faktoren, wie z.B. Geschlecht, bereits erfolgte Behandlungsdauer und ethnische Herkunft zu identifizieren, die einen Einfluss auf die Qualität der therapeutischen Stoffwechseleinstellung und damit auf die Höhe des longitudinalen Plasmaleucinspiegels bei Patienten mit klassischer MSUD haben.

2 Material und Methoden

2.1 Datenerhebung

Um einen Überblick über die in Deutschland und im europäischen Ausland bekannten/behandelten MSUD-Patienten zu bekommen, wurde unter spezialisierten pädiatrischen Stoffwechselzentren (entnommen aus dem Verzeichnis der SSIEM²-Mitglieder) eine Umfrage zu Anzahl und klinischer Verlaufsform ihrer Patienten durchgeführt. Die angeschriebenen Zentren wurden auf dem im Anhang I wiedergegebenen Fragebogen um anonymisierte Meldung ihrer und eventuell weiterer im selben Land bekannter MSUD-Patienten gebeten. Zur Einschätzung des biochemischen Phänotyps der Erkrankung wurde um Mitteilung der eventuell bereits ermittelten BCKADH-Restaktivität in kultivierten Fibroblasten oder der Allosioleucin/Isoleucin-Ratio im Plasma der Patienten unter konstanten Stoffwechselbedingungen (Wendel et al. 1989) gebeten.

Der in Anhang II abgedruckte Fragebogen wurde im Anschluss daran an diejenigen Kliniken im deutschsprachigen Raum versandt, die angegeben hatten, Patienten mit der klassischen Form der MSUD zu behandeln. Nach fast vollständigem Rücklauf der Fragebögen wurden fehlende Angaben durch telefonische Nachfrage in den Kliniken oder direkt bei den Patienten ergänzt. In den Universitäts-Kinderkliniken Hannover, Bonn, Münster, Heidelberg, Erlangen, Gießen und Düsseldorf hat der Untersucher die Daten persönlich anhand des Fragebogens aus den Krankenakten erhoben.

Von den gemeldeten Patienten wurden nur diejenigen in die Untersuchung einbezogen, die klinisch als klassische Form oder als sehr schwere MSUD-Variante (mit nahezu klassischem Verlauf) einzustufen waren. Alle Patienten erhielten eine strenge, im BCAA-Gehalt stark eingeschränkte Diät. Die Erkrankung wurde jeweils in der Neonatalperiode diagnostiziert und seitdem kontinuierlich behandelt. Ausgeschlossen wurde eine Patientin mit klassischer Verlaufsform, deren Eltern sich im Alter von 18 Monaten zum Abbruch der Behandlung entschlossen hatten und in ihr Heimatland zurückgekehrt waren. Nach zwei Jahren wurde das Mädchen, inzwischen schwerst behindert, wieder der Behandlung in Deutschland zugeführt. Es liegen keine Daten über den Verlauf in diesen zwei Jahren vor.

² Society for the Study of Inborn Errors of Metabolism, Europäische Vereinigung der Spezialisten für angeborene Stoffwechselstörungen

In dieser Untersuchung werden nur Patienten bis zum Geburtsjahrgang 1993 berücksichtigt, die somit zum Untersuchungsstichtag, dem 01.01.2000 das sechste Lebensjahr vollendet hatten.

2.2 Beschreibung der Krankheitsverläufe

Als Determinanten der mentalen und neurologischen Entwicklung bei der MSUD gelten zum einen die Dauer und das Ausmaß der neonatalen Krise bis zum erstmaligen Erreichen einer als unschädlich anzusehenden Höhe des Blutleucinspiegels, zum anderen die Qualität der metabolischen Langzeiteinstellung unter Berücksichtigung der Häufigkeit schwerwiegender Stoffwechselentgleisungen.

Für jeden Patienten wurden aus den Unterlagen das Alter bei Diagnosestellung, die Dauer und das Verfahren der Detoxifizierung sowie der Verlauf der BCAA-Plasmaspiegel von der ersten Messung bei Diagnosestellung an entnommen. In Anlehnung an bisher publizierte Untersuchungen zum Outcome der MSUD wurden der Lebensstag bei Diagnosestellung, die maximale Plasmaleucinkonzentration und der Zeitpunkt des erstmaligen Unterschreitens einer angenommenen kritischen Plasmaleucinkonzentration von 1 mmol/l als Eckwerte für die Beschreibung der neonatalen Krise definiert.

Es wurden alle bis zum Stichtag (31. 12. 1999) vorhandenen Daten der Leucin-, Valin-, und Isoleucin-Plasmakonzentrationen eines jeden Patienten in eine computergestützte Datenbank aufgenommen. Grundlage hierfür waren die in den Stoffwechsellabors einsehbaren Originalbefundbögen der säulenchromatographisch gemessenen Plasmaamino­säuren. In den oben genannten pädiatrischen Stoffwechselzentren wurden die Daten vor Ort aus den Befundordnern entnommen. Aus den nicht persönlich besuchten Stoffwechselzentren wurden dem Auswerter lückenlos kopierte Verlaufsbögen mit den entsprechenden Laborbefunden zugesandt. Für die Untersuchung wird nur der longitudinale Verlauf des Plasmaleucinspiegels herangezogen.

Als gegen Ausreißer robustes Lagemaß wurde der Median aller in einem Lebensjahr gemessenen Plasmaleucinkonzentrationen berechnet. Bei Mehrfachmessungen an einem Tag wurde nur der höchste Wert dieses Tages berücksichtigt. Mittelwert und Standardabweichungen wurden für alle Jahresmediane des bereits erreichten Lebensalters

und, im Sinne einer altershomogenen Vergleichsgruppe, für die ersten 6 Lebensjahre eines jeden Patienten berechnet.

Der Definition einer schwerwiegenden Stoffwechsellage lag die gemessene Plasmaleucinkonzentration von > 1 mmol/l zugrunde. Die Tage an denen dieser Wert erreicht oder überschritten wurde, wurden altershomogen bis zum 6. Lebensjahr gezählt und aufsummiert. Dabei fanden Art und Ausmaß klinischer Symptome, die die Patienten während der hohen Plasmaleucinkonzentrationen boten, keine Berücksichtigung.

2.3 Beschreibung des Outcome

Als Indikatoren für die mentale Entwicklung der Patienten wurden die Ergebnisse psychometrischer Tests und die Schul- und Berufskarriere der Patienten herangezogen. Mögliche bestehende neurologische Folgeerscheinungen wurden gesondert betrachtet.

Die Intelligenzleistung der Patienten wurde in den jeweiligen Stoffwechselzentren mit unterschiedlichen psychometrischen Tests jeweils in unregelmäßigen Abständen wiederholt gemessen. Der im Einzelfall durchgeführte Intelligenztest und das Testergebnis wurden aus den Patientenunterlagen entnommen. Die entsprechenden Angaben sind im Ergebnisteil dokumentiert. Ein Teil der IQ-Werte entstammt einer gut kontrollierten Untersuchung von Hilliges et al. (1993). In dieser Untersuchung wurden 22 Patienten mit MSUD, davon 19 mit der klassischen Form, mit dem altersadaptierten sprachfreien Intelligenztest von Snijders-Oomen von einer einzigen Untersucherin getestet.

Soweit in den Patientenunterlagen dokumentiert, wurden die Angaben zu neurologischen Symptomen miterhoben. Bildgebende Verfahren des Zentralnervensystems und elektroenzephalographische Untersuchungen wurden bei der Mehrzahl der Patienten im Behandlungsverlauf durchgeführt. Auszüge aus den Originalbefunden sind im Ergebnisteil wiedergegeben.

Anhand eines Fragebogens wurde die Schulkarriere der Patienten und ihrer Geschwister anlässlich klinischer Verlaufskontrollen oder in Telefoninterviews erfragt. Die von den Patienten besuchten Schulformen wurden mit denen der gesunden Geschwisterkinder verglichen.

2.4 Statistische Auswertung

Die Patienten wurden aufgrund des Verlaufs der Jahresmediane der Plasmaleucinspiegel in den ersten sechs Lebensjahren mit Hilfe der Prozedur „Hierarchische Clusteranalyse“ der Statistik Software SPSS Version 10.0 gruppiert. Da die Plasmaleucinspiegel Messwerte auf Verhältnisskalenniveau sind, kann das Verfahren nach Ward zur Anwendung kommen. Als Distanzmaß wurde die quadrierte euklidische Distanz verwendet. Auch alle weiteren statistischen Berechnungen wurden mit der Statistik-Software SPSS Version 10.0 durchgeführt. Die zur Prüfstatistik angewendeten Tests sind im Ergebnisteil unter den entsprechenden Abschnitten erwähnt. Als „signifikant“ wird ein geprüfter Unterschied bezeichnet, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit p bei Ablehnung der Nullhypothese (Gruppengleichheit) kleiner als 0,05 beträgt.

Patienten, die aufgrund einer späten Diagnosestellung oder einer stark verzögerten Absenkung der Plasmaleucinspiegel in der Neonatalperiode bleibende neurologische Folgeschäden aufwiesen, wurden bei der Clusteranalyse nicht berücksichtigt. Sie werden als eigenständige Gruppe behandelt.

3 Ergebnisse

3.1 Umfrage in europäischen Stoffwechszentren zum Vorkommen der MSUD

Tabelle 2 stellt eine Zusammenstellung der aus den europäischen Stoffwechszentren gemeldeten Patienten mit MSUD dar. Die Zuordnung zur klinischen Verlaufsform wurde jeweils aus den Angaben der Behandlungszentren übernommen. Ziel der Umfrage war es auch, Aufschluss über die Verteilung zwischen der klassischen MSUD und den varianten Formen zu bekommen. Schweregrad und Klassifikation der Patienten mit varianter MSUD soll Gegenstand einer zukünftigen Untersuchung sein.

Der Zusammenstellung ist zu entnehmen, dass etwa ein Viertel der Patienten dieses großen europäischen Kollektivs eine variante Verlaufsform aufweist.

Tab. 2: MSUD-Patienten, die aus europäischen Behandlungszentren gemeldet wurden

MSUD – Verlaufsform	Anzahl Patienten	Anteil (%)
Klassisch	98	72,6
Variante	36	26,7
Davon Intermittierend	6	
Intermediär	4	
Thiaminresponsiv	4	
Variante nicht näher bezeichnet	21	
Verlaufsform nicht angegeben	1	0,7
Gesamtzahl gemeldeter Patienten	135	100

3.2 Patientenkollektiv der Studie

Die in der ersten Umfrage gewonnenen Patientendaten stellen die Grundlage dar für die sich anschließende ausführlichere Erhebung der Verlaufsdaten aller in Deutschland, Österreich und der Schweiz behandelten Patienten mit klassischer MSUD. Dabei wurden nur solche Patienten berücksichtigt, die am Stichtag (31.12.1999) das sechste Lebensjahr vollendet hatten. Diese 31 Patienten sind in Tabelle 3 mit Initialen, Alter am Stichtag und Geschlecht aufgelistet. Sie stellen das Patientenkollektiv der eigentlichen Untersuchung dar. Das mittlere Alter des Kollektivs betrug 15 Jahre mit einem Bereich von 6 bis 29 Jahre. Die Geschlechtsverteilung war mit 16 männlichen und 15 weiblichen Studienpatienten nahezu ausgeglichen.

Tabelle 3: Übersicht über das Patientenkollektiv der Studie

Pat.-Nr.	Initialen	Alter	Geschlecht
1	QA	29	W
2	TG	25	W
3	EA	24	M
4	YM	23	M
5	UL	23	M
6	SA	21	W
7	FJ	19	M
8	CV	19	W
9	AB	18	W
10	GL	18	W
11	SC	18	W
12	ÖS	17	M
13	RR	16	W
14	MA	16	M
15	KM	16	M
16	MM	16	M
17	SS*	14	M
18	ÖH	14	W
19	SG	13	M
20	UF	12	W
21	SK	12	M
22	SD	11	M
23	SL	8	W
24	AT	7	W
25	KI	7	W
26	WH	6	W
27	SA	6	M
28	HA	6	M
29	BB	6	M
30	KS	6	W
31	SE	6	M

* Patient ist im Alter von 14 Jahren verstorben

3.3 Erstmanifestation der MSUD in der Neonatalperiode

Tabelle 4: Parameter der Erstmanifestation für jeden Patienten

Pat.-Nr.	Lebenstag bei Diagnosestellung	Lebenstag bei Max. Leucinspiegel*	Maximaler Leucinspiegel* [µmol/l]	Lebenstag mit Plasmaleucin < 1mmol/l
1	9		3603	34
2	13	14	2700	34
3	7		1122	8
4	12	14	2573	21
5	22		3183	33
6	12		3411	13
7	10		2480	12
8	15		2745	16
9	8	9	2840	16
10	20	40 [#]	3282 [#]	63
11	1		802	1
12	17		3618	19
13	8		1496	16
14	9		3794	11
15	7		1481	11
16	21	23	2107	33
17	24		4131	27
18	14		3344	16
19	9	8	4505	17
20	7	8	2878	11
21	16		1240	21
22	12		2644	18
23	2		1145	4
24	15		2560	17
25	11	12	3450	14
26	12		2824	13
27	11		2336	15
28	10		2733	14
29	9		2744	20
30	13		1700	14
31	11		2870	15

* Höchster gemessener Plasmaleucinspiegel während der Erstmanifestation

Pat.-Nr. 10 wurde erst am 60. Lebenstag einer wirksamen Therapie zugeführt; zu den vorherigen therapeutischen Versuchen liegen nur vereinzelte Angaben vor.

In Tabelle 4 sind die Daten zur Beschreibung der Erstmanifestation der MSUD in der Neonatalperiode (Erstmanifestation) für jeden Patienten der Studiengruppe wiedergegeben. Außer dem Alter in Tagen bei Diagnosestellung ist, falls von diesem abweichend, der Lebenstag dokumentiert, an dem der maximale Plasmaleucinspiegel (Spalte 4) im Rahmen der Erstmanifestation gemessen wurde. Unter „Lebenstag mit Plasmaleucin < 1mmol/l“ ist der Zeitpunkt angegeben, ab dem der Plasmaleucinspiegel beim Neugeborenen erstmals dauerhaft unter 1 mmol/l gesenkt worden war. In Tabelle 5 sind die Mittelwerte,

Standardabweichungen und Wertebereiche dieser Daten für das gesamte Studienkollektiv aufgeführt.

Tabelle 5: Parameter der Erstmanifestation - Mittelwerte (MW), Standardabweichungen (SD) und Wertebereiche (MAX/MIN) für das Studienkollektiv

	MW	SD	MAX	MIN
Lebenstag bei Diagnosestellung	11,8	5,3	24	1
Maximaler Leucinspiegel [µmol/l]	2656	920	4505	802
Lebenstag mit Plasmaleucin < 1 mmol/l	18,6	11,5	63	1

3.4 Langzeitverlauf der Plasmaleucinkonzentration von allen Patienten der Studie

Voraussetzung für die Beurteilung der Qualität der langfristigen Stoffwechseleinstellung der untersuchten Patienten war die vollständige Erfassung sämtlicher Plasmawerte für die verzweigtkettigen Aminosäuren. Zur Auswertung gelangten in der vorliegenden Untersuchung nur die Plasmaleucinspiegel. Für Plasmaleucin allein bilden insgesamt 14.138 Einzelbestimmungen (im Mittel 32 ± 14 Bestimmungen pro Patientenjahr) die Grundlage für die Berechnung der Jahresmediane aller Studienpatienten.

Tabelle 6 zeigt eine Übersicht über den Langzeitverlauf der Plasmaleucinkonzentrationen (in Form der Jahresmediane) für alle Studienpatienten. Bei den Patienten Nr. 5 und 9 waren die Plasmaleucinspiegel vom fünften bis zum siebten bzw. im ersten und zweiten Lebensjahr nur unvollständig zu erheben, so dass Mediane aus diesen Zeiträumen nicht berechnet werden konnten.

Tabelle 6: Jahresmediane der Plasmaleucinspiegel von allen Studienpatienten [$\mu\text{mol/l}$]

Lebensjahr Pat.-Nr	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
1	115	408	214	176	237	328	359	469	420	397	431	519	565	821	603	595	401	382	332	271	370	359	458	435	471	400	465	561	357	492
2	626	374	588	542	198	427	431	515	443	336	305	183	111	172	282	282	286	214	160	153	313	183	435	576	426	419				
3	302	321	420	187	336	443	592	210	496	550	462	489	351	618	538	550	489	603	527	519	565									
4	290	328	298	298	382	412	481	753	811	684	526	701	878	618	809	916	466	840	1221	874	1179	1149	1868	1307						
5	282	237	412	466				347	321	335	306	315	240	340	270	310	290	369	406	466	479	390	391							
6	187	208	183	282	221	210	261	185	264	239	245																			
7	130	252	412	466	321	351	351	324	366	328	351	313	137	382	427	496	477	462	672	553										
8	375	527	462	553	908	695	397	527	607	556	260	405	828	824	771	832	1023	753	822											
9			92	49	179	135	201	92	221	258	131	123	86	495	470	400	540													
10	287	294	225	328	478	519	430	237	168	267	84	84	321	240	382	298	374	373												
11	275	481	573	626	733	546	313	622	466	565	622	740	328	321	603	489	609	593	805											
12	321	271	443	336	450	538	462	573	519	496	569	641	649	611	267	602	725	426												
13	191	321	397	374	450	450	435	355	405	443	260	309	649	500	534															
14	363	527	573	519	611	191	542	405	565	649	687	622	649	660	863	910	1203													
15	183	198	332	384	377	426	496	445	405	372	384																			
16	221	542	634	473	443	359	115	336	225	183	214	271	420	237	527	496	366													
17	286	477	527	626	553	344	290	340	443	344	34	412	244	61																
18	282	557	294	496	500	515	550	779	653	740	718	672	852	935	896															
19	305	313	183	218	176	237	122	149	168	198	221	183	206																	
20	271	378	344	656	374	485	534	515	737	305	462																			
21	208	583	58	98	379	755	370	538	767																					
22	168	168	397	336	580	473	450	511	550	335	701	362																		
23	88	84	179	134	221	221	206																							
24	466	901	134	439	267	322	377	658																						
25	92	115	176	103	92	172	237																							
26	313	252	263	282	114	142	196																							
27	256	105	116	322	266	195	146																							
28	340	202	343	80	98	250																								
29	563	298	359	466	412	401	486																							
30	115	74	68	79	99	291	468																							
31	244	153	763	649	862	863	715																							

3.5 Bildung einer Patientengruppe mit deutlich verzögertem Abfall des Plasmaleucinspiegels zum Zeitpunkt der Erstmanifestation

Aufgrund der Tatsache, dass es in der Neonatalperiode durch besonders lang anhaltend hohe Plasmaleucin-/KIC-Spiegel zu bleibenden neurologischen Schäden kommt, wurden die Patienten mit einem Abfall des Plasmaleucinspiegels unter 1 mmol/l erst jenseits der Neonatalperiode (>27. Lebenstag) zu einer gesonderten Gruppe zusammengefasst. Diese Patienten fielen schon im Säuglingsalter durch Retardierung der psychomotorischen Entwicklung auf. Im weiteren Verlauf entwickelten sich bleibende neurologische Schäden und körperliche Behinderungen mit Spastizität der Extremitäten, ataktischen Bewegungsstörungen und eingeschränkter Grob- und Feinmotorik. Eine Patientin (Nr. 1) entwickelte im ersten Lebensjahr eine Atrophie des Nervus opticus.

Eine Zusammenstellung der relevanten Parameter für die Gruppe von Patienten mit anhaltend hohem Plasmaleucinspiegel (> 1mmol/l) während der gesamten Neonatalperiode findet sich in Tabelle 7. Daten der intellektuellen Entwicklung, des neurologischen Befundes und der Schul- und Berufskarriere sind in Tabelle 8 wiedergegeben.

Tabelle 7: Parameter in der Gruppe von Patienten mit anhaltend hohem Plasmaleucinspiegel (>1mmol/l) während der gesamten Neonatalperiode

Pat.-Nr.	Lebenstag bei		Max. Leucinspiegel Initial [$\mu\text{mol/l}$]	Anzahl Entgleisungen [d (>1mmol/l)]	MW (SD) der Jahresmediane	
	Diagnose-Stellung	P-Leucin <1mmol/l			1.–6. Jahr	> 6. Jahr
1	9	34	3603	12	246 (106)	456 (115)
2	13	34	2700	47	459 (160)	311 (133)
5	22	33	3183	8	349 (107) [#]	349 (66) [#]
10	20	63	* n. b.	5	355 (117)	271 (115)
16	21	33	2107	8	445 (144)	308 (132)
17	24	27	4131	38	469 (130)	271 (151)

* siehe Tab.4

fehlende Werte - siehe 3.2.2

Das mittlere Alter in dieser Patientengruppe, die 3 weibliche und 3 männliche Patienten umfasst, betrug 21, der Altersbereich 14 bis 29 Jahre.

In Tab. 7 ist in Spalte 4 die Anzahl der Tage mit metabolischer Entgleisung (Plasmaleucinspiegel $> 1\text{ mmol/l}$) in den ersten sechs Lebensjahren jenseits der neonatalen Erstmanifestation aufgeführt. Ausmaß und Dauer der Stoffwechsellentgleisungen sind in dieser Gruppe individuell sehr verschieden: z.B. wiesen die Patienten 2 und 17 während der ersten 6 Lebensjahre an 47 bzw. 38 Tagen Plasmaleucinspiegel deutlich über 1 mmol/l auf. Für den Patienten 2 kam das dadurch zustande, dass die Plasmaleucinspiegel schon kurz nach erfolgter Senkung im Rahmen der Ersttherapie, also noch im frühen Säuglingsalter, erneut in „toxische“ Bereiche anstiegen und insgesamt im ersten Lebensjahr für eine relativ lange Zeit über 1 mmol/l lagen. Patient 17 zeigte demgegenüber während der gesamten ersten 6 Lebensjahre häufig kurzdauernde Erhöhungen der Plasmaleucinkonzentration auf $> 1\text{ mmol/l}$, das allerdings auf dem Hintergrund einer zunächst mäßig guten, später sogar guten Stoffwechseleinstellung. Dieser Patient verstarb mit 15 Jahren während einer akuten Stoffwechselkrise mit Enzephalopathie.

In Spalte 5 wird den gemittelten Jahresmedianen der ersten 6 Lebensjahre das Mittel der Mediane aus den nachfolgenden Jahren gegenübergestellt. Aus den Unterschieden im Patientenalter resultiert ein ungleiches n für die Mittelwertberechnung nach dem sechsten Lebensjahr. Die Mittelwerte sind hier trotzdem orientierend zum Abschätzen der weiteren Entwicklung der Stoffwechseleinstellung angegeben.

Tab. 8: Intelligenz und neurologisches Outcome der Patienten mit anhaltend hohem Plasmaleucinspiegel während der gesamten Neonatalperiode

Pat.-Nr.	IQ (Test) Alter beim Test	Schulform	Schulabschluss	ZNS-Schädigung	Berufstätigkeit	Bemerkung
1	86 (Hawik-R) 16;0	Sehbehindertenschule	Abschlusszeugnis der Körperbehindertenschule	Optikusatrophie Pendelnystagmus	beschützende Werkstatt	
2	50 (SSON) 14;3	Geistigbehindertenschule		Sprachbehinderung Spastische Tetraparese, keine eigenständige Fortbewegung	beschützende Werkstatt	
5	78 (SSON) 12;0	Hauptschule	Erweiterter Hauptschulabschluss		Gärtnerlehre	Ungewöhnlich gutes Outcome für einen spät behandelten Patienten
10	55 (SON) 6;10	Geistigbehindertenschule		Sprachbehinderung	beschützende Werkstatt	
16	65 (SIT) 5;0	Geistigbehindertenschule		Sprachbehinderung	beschützende Werkstatt	
17	85 (SIT) 7;0	Integrative Hauptschule	Schulleistungen zuletzt im Bereich „befriedigend“ bis „ausreichend“.	Beinbetonte spastische Tetraparese mit Spitzfuß, deutlich beeinträchtigte Feinmotorik		Patient 1998 in enzephalopathischer Krise verstorben

3.6 Clusteranalyse in der Gruppe von Patienten mit „kurzdauernder“ Erhöhung der Plasmaleucinspiegel während der Erstmanifestation

Alle Patienten (N=21) mit „kurzdauernder“ enzephalopathischer Symptomatik und Absenkung des initialen Plasmaleucinspiegels auf $< 1\text{mmol/l}$ innerhalb der ersten 15 ± 3 Lebenstage (MW \pm SD) und die prospektiv behandelten Patienten (N=3) ohne jegliche enzephalopathische Krise in der Neonatalzeit wurden aufgrund der Jahresmediane der Plasmaleucinspiegel während der ersten sechs Lebensjahre mit Hilfe der Clusteranalyse gruppiert. Bei einer Gesamtzahl von 24 zu gruppierenden Fällen³ à 6 Variablen ist die Anwendung der auf paarweisem Fallvergleich basierenden Hierarchischen Clusteranalyse sinnvoll möglich. Es wurden nur Patienten mit in den ersten sechs Lebensjahren vollständig erhobenen Plasmaleucinspiegeln in die Berechnung einbezogen. Drei Geschwisterkinder (Pat.-Nr. 3, 11, 23) von zuvor bekannten MSUD-Patienten wurden prospektiv behandelt und durchliefen keine oder nur sehr milde neonatale Entgleisungen ohne Coma. Die Daten dieser Patienten gehen zunächst mit in die Clusteranalyse ein, werden aber später im Gruppenvergleich als besondere Verläufe gekennzeichnet.

In Anhang III ist die Zuordnungsübersicht mit der Distanz („Koeffizient“) der jeweils auf einer Stufe vereinigten Cluster wiedergegeben. Im ebenfalls aufgeführten Dendrogramm (graphische Umsetzung der einzelnen Vereinigungsstufen bei der Clusterbildung) sind diese Distanzen reskaliert abgebildet. Die absoluten Zahlen werden auf einen Wertebereich von 0 bis 25 standardisiert, somit entsteht eine Verzerrung der tatsächlichen Distanzen innerhalb und zwischen den Clustern.

³ Bei Patientin Nr. 9 war der Werteverlauf des ersten und zweiten Lebensjahres nicht mehr vollständig zu erheben, sie wird deshalb nicht in die Clusteranalyse einbezogen. Der besondere klinische Verlauf wird jedoch in Kap. 3.10 beschrieben.

Besser geeignet zur Überprüfung der Plausibilität der im Folgenden gewählten Anzahl von drei Clustern, ist die Betrachtung des Anstiegs der Distanzgröße auf den jeweiligen Vereinigungsstufen. Je größer die Distanz zwischen den im nächsten Vereinigungsschritt zusammenzuführenden Clustern ist, desto weitläufiger wird die innere Konsistenz dieser Gruppe. In Abbildung 4 bezeichnet die x-Achse die Anzahl von 1 bis 23 möglichen Clustern und die y-Achse den Distanzkoeffizienten bei Zusammenführung zur nächst kleineren Anzahl Cluster, bis im letzten Schritt alle Fälle zu einer einzigen Gruppe vereinigt worden sind.

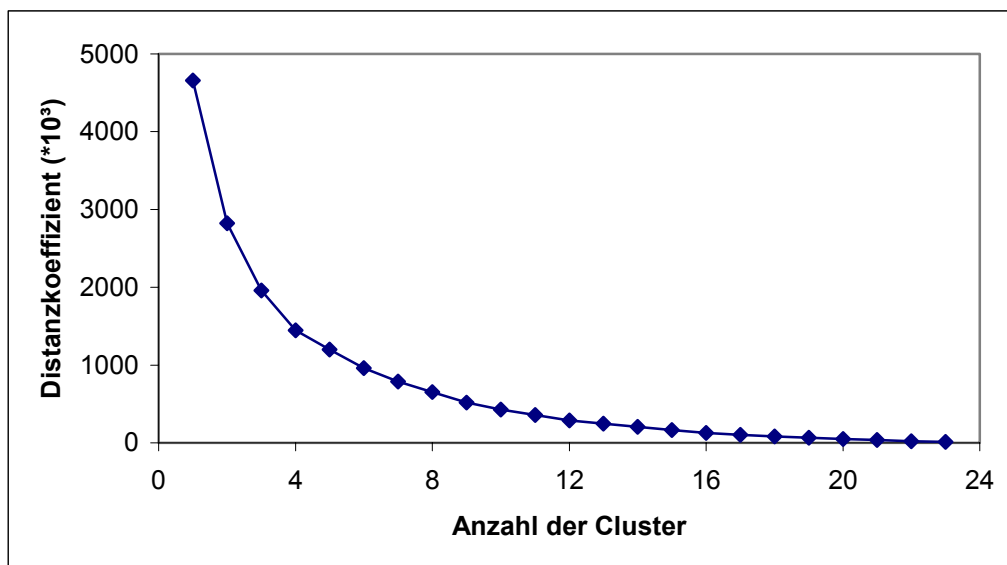


Abbildung 4: Distanzkoeffizienten nach Zahl der gebildeten Cluster

Ein deutlich sichtbarer Distanzsprung entsteht erstmals auf der Vereinigungsstufe von 4 zu 3 Clustern. Darüber hinaus führt eine weitere Zusammenführung der Fälle zu weniger als 3 Gruppen zu einer unplausiblen, sehr inkonsistenten Clusterstruktur.

Die Entscheidung zugunsten von 3 anstatt 4 Clustern erfolgte nach näherer Betrachtung der Gruppenzusammensetzung. Wie aus dem Dendrogramm (Anhang III) ersichtlich ist, besteht Cluster 4 aus zwei Fällen (21 und 24), die als Besonderheit in ihrem Verlauf einen hohen Plasmaleucin-Jahresmedian im zweiten und einen sehr niedrigen im dritten Lebensjahr haben. Als zufällige Koinzidenz zweier ähnlicher Variablen spricht der Verlauf der übrigen vier mitbetrachteten Wertepaare für eine Belastung dieser beiden Fälle in einem großen Cluster mittlerer Stoffwechseleinstellung.

Somit ergeben sich bei der Clusteranalyse drei Gruppen von Patienten in denen in den ersten sechs Lebensjahren der mittlere Plasmaleucinspiegel jeweils sehr ähnlich verläuft.

Cluster 1 besteht aus 8 Patienten, die in den ersten sechs Lebensjahren einen mittleren Jahresmedian der Plasmaleucinkonzentration von $189 \pm 82 \mu\text{mol/L}$ aufwiesen. Das entspricht – ausgehend von einem Normwert für den Plasmaleucinspiegel von $134 \pm 23 \mu\text{mol/L}$ – einer im Durchschnitt **1,5 fachen** Erhöhung des Plasmaleucinspiegels. In dieser Patientengruppe wird fortan die Stoffwechseleinstellung als **exzellent** bezeichnet.

Cluster 2 besteht aus 13 Patienten, die einen mittleren Jahresmedian der Plasmaleucinkonzentration von $379 \pm 147 \mu\text{mol/L}$ aufwiesen. Das entspricht einem etwa **3-fach** erhöhten mittleren Plasmaleucinspiegel. Die Stoffwechseleinstellung in dieser Gruppe wird fortan als **mäßig** bezeichnet.

Cluster 3 besteht aus 3 Patienten, bei denen, ähnlich dem Cluster 2, in den ersten zwei Lebensjahren mittlere Jahresmediane der Plasmaleucinkonzentration um $380 \mu\text{mol/L}$ vorlagen, es danach aber zu einer dauerhaften Erhöhung der Plasmaleucinspiegel auf über $500 \mu\text{mol/L}$ kam. Der mittlere Jahresmedian der Plasmaleucinspiegel lag in dieser Gruppe während der ersten 6 Lebensjahre bei $572 \pm 217 \mu\text{mol/L}$ und somit beim **4,5 fachen der Norm**. Diese Patienten werden als **schlecht eingestellt** bezeichnet.

Tabelle 9 zeigt die Mittelwerte (MW) und Standardabweichungen (SD) der Jahresmediane der Plasmaleucinkonzentrationen für die einzelnen Cluster. In Abbildung 5 sind diese Daten graphisch dargestellt.

Tab. 9: Mittelwerte und SD der ersten 6 Jahresmediane der Plasmaleucinspiegel für die Cluster 1 bis 3

Lebensjahr		1.	2.	3.	4.	5.	6.
Cluster 1 <i>n=8</i>	MW	212	169	189	188	161	215
	SD	105	87	84	100	69	46
Cluster 2 <i>n=13</i>	MW	288	393	343	389	418	443
	SD	123	201	132	145	99	130
Cluster 3 <i>n=3</i>	MW	298	387	599	609	834	701
	SD	68	204	152	50	91	159

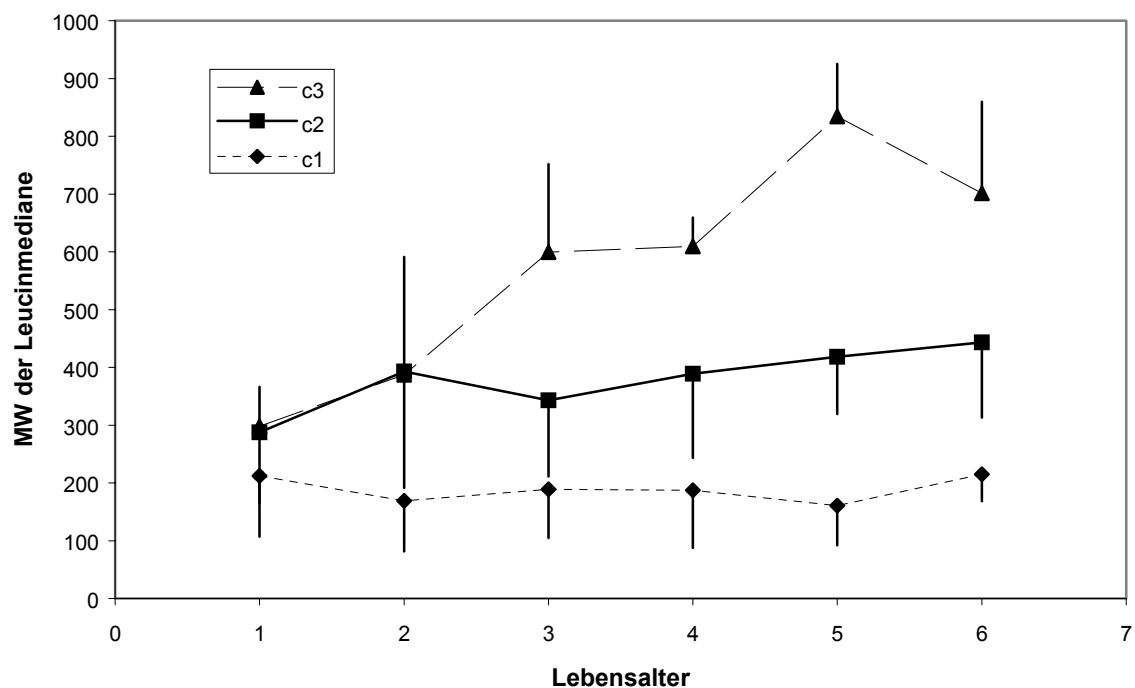


Abb. 5: MW (± SD) der ersten 6 Jahresmediane der Plasmaleucinspiegel für die Cluster 1 - 3 (c1-c3) im Vergleich

Es fällt auf, dass die Mittelwerte der Jahresmediane der ersten beiden Lebensjahre in Cluster 2 und 3 nahezu identisch sind; sie divergieren erst ab dem dritten Lebensjahr. Während dann die Plasmaleucinkonzentrationen in Cluster 3 dauerhaft auf Werte steigen, die 4- bis 5-fach oberhalb des Normbereiches liegen, bleiben die Plasmaleucinspiegel in Cluster 2 bis zum sechsten Lebensjahr in einem Bereich, der das Dreifache des mittleren Normwertes darstellt. In Cluster 1 liegen die mittleren Plasmaleucinspiegel permanent – und das schon vom ersten Lebensjahr an - im sehr guten Wertebereich um 200 $\mu\text{mol/L}$.

Zur Validierung der sich aus dem Ergebnis der Clusteranalyse ergebenden Gruppenzusammensetzung wird eine Diskriminanzanalyse durchgeführt. Abbildung 6 zeigt die ausgewerteten Fälle als Punktwolken in den Dimensionen der errechneten kanonischen Variablen der Diskriminanz, diese sind hier graphisch als drei separate Cluster identifizierbar. Die Gruppenzuordnung ist auch nach den Kriterien der Diskriminanzanalyse eindeutig.

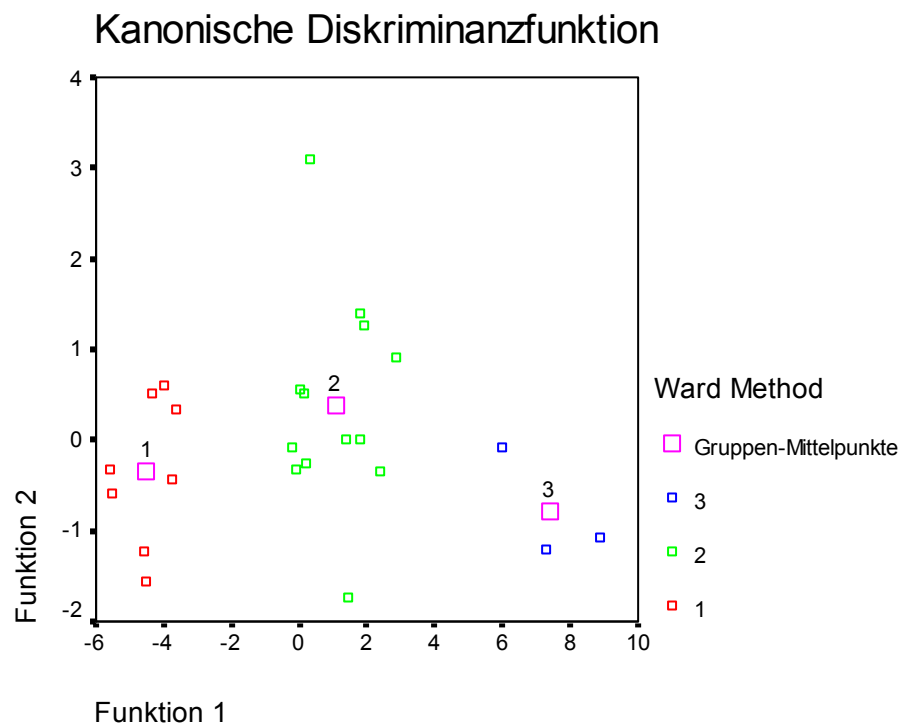


Abb. 6: Alle Patienten der **Cluster 1, 2 und 3** in den Variablen der Diskriminanzfunktion

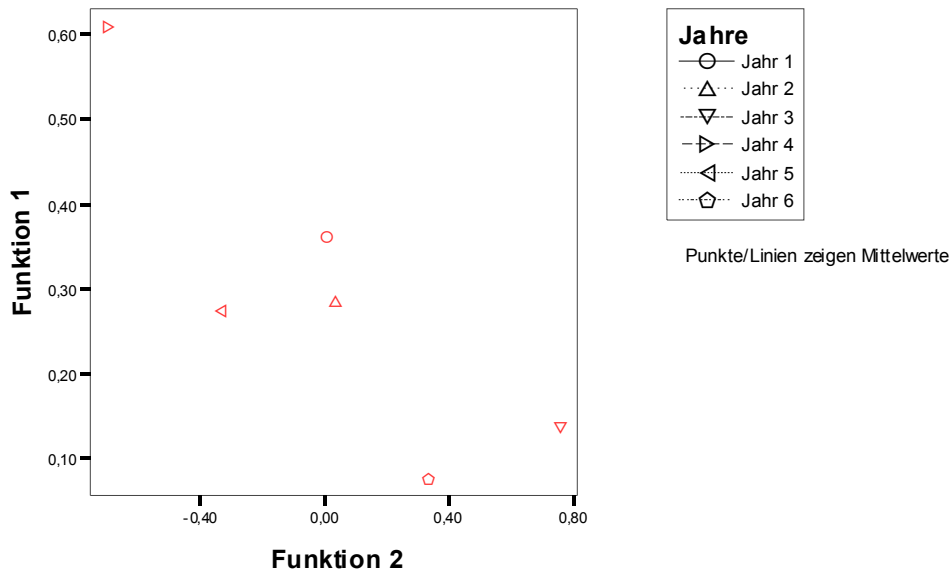


Abb. 7: Gewichtung der **Jahresmediane** in der Diskriminanzberechnung

In Abbildung 7 sind die Funktionsvariablen der Diskriminanzfunktion nach den ersten sechs Lebensjahren aufgetragen. Hohe positive oder negative Werte zeigen die Variablen, die für die Diskriminierung der drei Cluster besonders charakteristisch sind: hiernach tragen besonders das dritte und vierte und, im geringeren Ausmaß das fünfte und sechste Lebensjahr zur Unterscheidung der drei Gruppen bei.

3.7 Langzeitverlauf der Plasmaleucinkonzentrationen in den einzelnen Clustern

Die Clusterbildung erfolgte anhand der longitudinalen Plasmaleucinspiegel der ersten sechs Lebensjahre mit den Daten der 24 Patienten mit „kurzdauernder“ neonataler Enzephalopathie. Im Folgenden wird der Langzeitverlauf der Plasmaleucinspiegel (als Jahresmediane) über das 6. Lebensjahr hinaus für das jeweils erreichte Alter eines jeden Patienten in den einzelnen Clustern dargestellt.

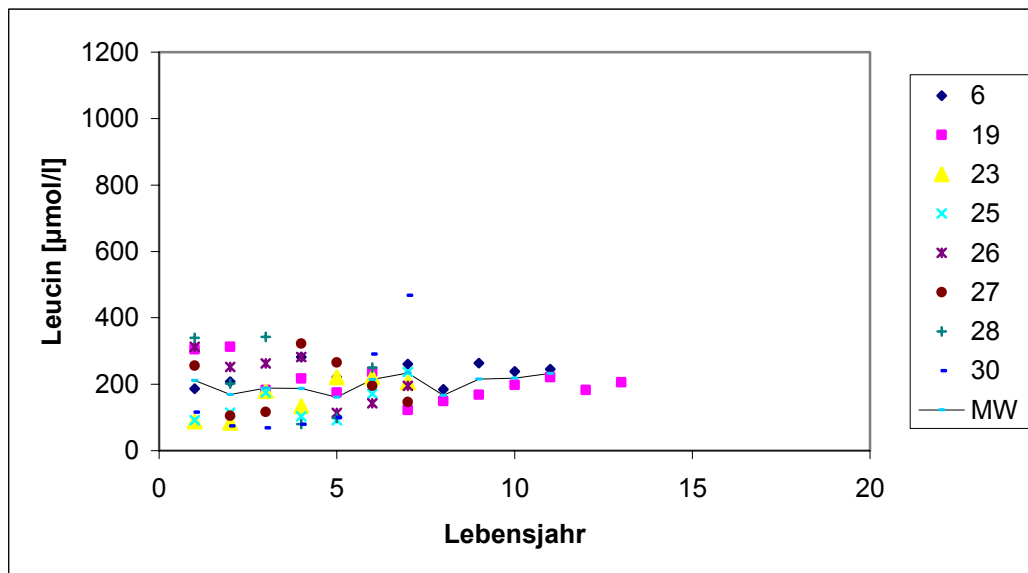


Abb. 8: Longitudinaler Verlauf der Plasmaleucinkonzentration (dargestellt in Form der Jahresmediane) der 8 Patienten in Cluster 1

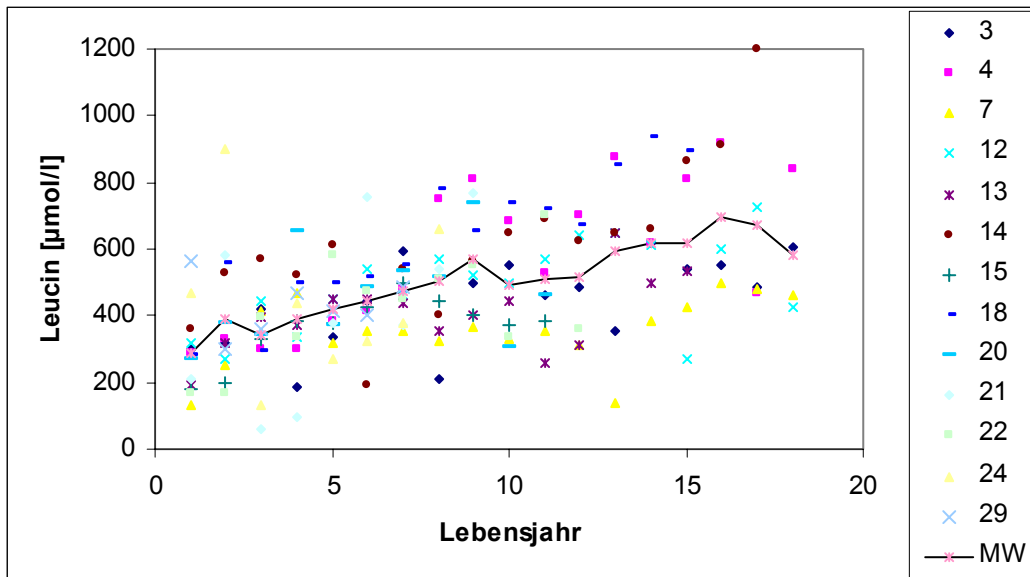


Abb. 9: Longitudinaler Verlauf der Plasmaleucinkonzentration (dargestellt in Form der Jahresmediane) der 13 Patienten in Cluster 2

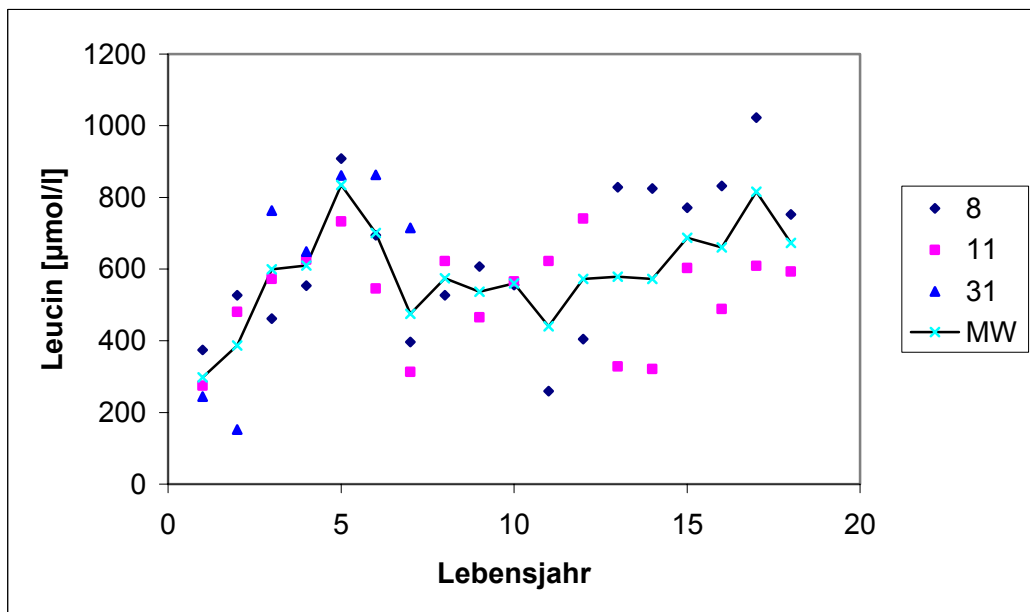


Abbildung 10: Longitudinaler Verlauf der Plasmaleucinkonzentration (dargestellt in Form der Jahresmediane) der 3 Patienten in Cluster 3

Betrachtet man, wie in den Abbildungen 8, 9 und 10, den Verlauf der Jahresmediane der Plasmaleucinspiegel über das sechste Lebensjahr hinaus, so erkennt man für Cluster 1, dass die bis zum sechsten Lebensjahr durch die Diätbehandlung sehr gut eingestellten Patienten ihre hervorragende Stoffwechselkontrolle auch später beibehalten. In Cluster 2 ist dagegen bereits in den ersten Lebensjahren ein Anstieg des Gruppenmittelwertes zu beobachten. Nach dem sechsten Lebensjahr liegt der mittlere Plasmaleucinspiegel in einem Bereich um 500 $\mu\text{mol/L}$, um später in höhere Bereiche um 600 $\mu\text{mol/L}$ und noch darüber hinaus anzusteigen. Bei Betrachtung der Einzelwerte stellt sich die Clusterstruktur, der die Analyse der Plasmaleucinspiegel der ersten sechs Lebensjahre zugrunde liegt, für die Cluster 2 und 3 in den späteren Lebensjahren weniger trennscharf dar. Bei den Patienten 4, 14 und 18 wurden dauerhaft stark erhöhte Jahresmediane der Plasmaleucinspiegel mit Werten zwischen 700 und 800 $\mu\text{mol/L}$ registriert, so dass diese, bei Einbeziehung auch der longitudinalen Plasmaleucinspiegel während der späteren Lebensjahre, dem Cluster 3 der schlecht eingestellten Patienten zugeordnet würden.

Cluster 3 ist bereits in den ersten sechs Lebensjahren durch einen raschen Anstieg der mittleren Plasmaleucinspiegel in einen Bereich von 600 bis 800 $\mu\text{mol/L}$ charakterisiert. Bei den beiden ältesten Patienten der Gruppe mit einem bis zum 18. Lebensjahr dokumentiertem Langzeitverlauf der Plasmaleucinspiegel liegen deren Jahresmediane nahezu konstant bei 600 $\mu\text{mol/l}$ (Patient 11) und 800 $\mu\text{mol/l}$ (Patient 8).

3.8 Häufigkeit von Stoffwechselentgleisungen in den drei Clustern

Es konnte gezeigt werden, dass die Patienten mit zunehmend schlechter Stoffwechseleinstellung bis zum Alter von 6 Jahren auch zunehmend mehr Tage mit Stoffwechselentgleisungen (Plasmaleucinspiegel $> 1\text{ mmol/l}$) erlebten. Dies lässt sich aus Tabelle 10 ersehen, in der für die Patienten der Cluster 1 bis 3 die Summen der registrierten Behandlungstage mit Plasmaleucinkonzentrationen $> 1\text{ mmol/l}$ verzeichnet sind. Bei dieser Betrachtung ist aber anzumerken, dass die Anzahl der akuten Stoffwechselentgleisungen schon in einer gewissen Form auch in die Berechnung der Langzeitplasmaleucinspiegel einging: Bei der Berechnung der Jahresmediane der Plasmaleucinkonzentrationen wurde kein oberer Cut-off-Wert definiert, der die Tage mit Stoffwechselentgleisungen aus der mittleren Langzeitbewertung ausschließt. Dieses Vorgehen wurde bewusst gewählt, um die mittlere Stoffwechselsituation des Patienten im Jahresverlauf möglichst vollständig abzubilden. Allerdings ist der Median ein gegen Ausreißer robustes Lagemaß, wodurch die Beeinflussung des Wertes der mittleren Einstellung durch die Anzahl der Entgleisungen bei der insgesamt hohen Messwertdichte⁴ als gering anzusehen ist.

⁴ siehe Kapitel 3.4

Tab. 10: Häufigkeit von metabolischen Entgleisungen⁵ der Patienten bis zum 6. Lebensjahr in den Clustern 1 – 3

	Pat.-Nr.	Anzahl Entgleisungen
Cluster 1	6	4
	19	16
	23	2
	25	1
	26	2
	27	8
	28	2
	30	1
MW (SD)	n = 8	4,5 (5,2)
Cluster 2	3	2
	4	11
	7	7
	12	8
	13	1
	14	16
	15	3
	18	19
	20	5
	21	11
	22	9
	24	21
	29	12
	MW (SD)	n = 13
Cluster 3	8	19
	11	18
	31	16
MW (SD)	n = 3	17,7 (1,5)

Einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA)⁶: F=6,165 p=0,008 (sign.)

⁵ Anzahl Behandlungstage mit Plasmaleucinspiegeln > 1mmol/l

⁶ Levene's Test auf Varianzgleichheit: F=1,715 p=0,204 (n.s.)

3.9 Mögliche Einflussfaktoren auf die Qualität der Langzeitstoffwechseleinstellung

Aus der Zuordnung der Patienten mit „kurzdauernder“ neonataler Enzephalopathie zu drei qualitativ unterschiedlichen Verlaufsformen der langfristigen Stoffwechselkontrolle ergibt sich die Frage nach möglichen prädiktiven Faktoren wie

- Geschlecht
- „Historischem“ Behandlungszeitraum
- Ethnischer Herkunft
- Schweregrad der Erstmanifestation

Im Folgenden wird die mögliche Bedeutung dieser Einflussfaktoren mithilfe der beschreibenden und der prüfenden Statistik untersucht. Es ist aber vorzuschicken, dass trotz der für diese seltene Stoffwechselkrankheit relativ großen Studienkohorte die Patientenzahl in Hinblick auf eine statistisch zuverlässige Aussagekraft der Ergebnisse nach wie vor als zu klein anzusehen ist. Z.B. erscheint eine Untersuchung auf gegenseitige Beeinflussung einzelner Faktoren wie Intelligenz, soziale Schicht und ethnische Herkunft der Eltern hinsichtlich der Qualität der Diäteeinhaltung mithilfe der Kovarianzanalyse hier nicht sinnvoll.

Tabelle 11: Clusterzugehörigkeit und Geschlecht

Anzahl	männlich	weiblich	Summe
Cluster 1	3	5	8
Cluster 2	9	4	13
Cluster 3	1	2	3
Summe	13	11	24

{Pearson's $\chi^2 = 2,608^*$, $df=2$, $p=0,271$ }

*ungültig, da 66,7 % der Zellen eine erwartete Häufigkeit < 5 haben⁷

⁷ Das hier für nominalskalierte Variablen vorzusehende statistische Verfahren zur Testung der Nullhypothese auf Gruppengleichheit, der Chi-Quadrat-Test, kann nicht angewendet werden, da das Kriterium „weniger als 20 % der Zellen haben eine erwartete Häufigkeit unter 5“³ nicht erfüllt wird.

Aus Tabelle 11 geht eine annähernd gleiche Geschlechtsverteilung in Cluster eins, zwei und drei hervor.

Tabelle 12: Alter [Jahre] der Patienten der einzelnen Cluster am Ende der Datenerhebung

	N	Mittelwert	SD	Median	Minimum	Maximum
Cluster 1	8	9,1	5,357	6,5	6	21
Cluster 2	13	14,8	5,383	16	6	24
Cluster 3	3	14,3	7,234	18	6	19
Gesamt	24	12,9	5,980	12,5	6	24

Einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA)⁸: $F=2,723$ $p=0,089$ (n.s.)

Kruskal-Wallis-Rangtest $4,554$ $df=2$ $p=0,102$ (n.s.)

In Tabelle 12 ist das **mittlere Alter** der Patienten am Stichtag (Ende der Datenerhebung) wiedergegeben. Hinsichtlich des Alters der Patientengruppen ergeben sich keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 13: Herkunftsland der Eltern der Patienten

	Anzahl Pat.	Prozent
Türkei	10	41,7
D/CH/A	9	37,5
Italien	2	8,3
Sonstige*	3	12,5
Gesamt	24	100,0

* jeweils eine Familie aus dem Libanon, Ägypten und Afghanistan

⁸ Levene's-Test auf Homogenität der Varianzen: $F=0,298$ $p=0,746$, Nullhypothese der Varianzgleichheit in den Clustern wird beibehalten, Voraussetzung für die Varianzanalyse gegeben

Tabelle 13 zeigt die relative Verteilung der Herkunftsländer **der Patienteltern** in den Clustern 1 bis 3. Hier soll noch einmal in Erinnerung gerufen werden, dass alle hier untersuchten Patienten mit klassischer MSUD sowohl in Deutschland, Österreich oder der Schweiz geboren, diagnostiziert und von Anfang an kontinuierlich behandelt wurden.

Um die Häufigkeiten in den einzelnen Zellen der Kreuztabelle nicht zu klein werden zu lassen, werden in Tabelle 14 die Cluster 1 bis 3 nur in Bezug auf ihren Anteil an ursprünglich aus Deutschland, Österreich oder der Schweiz (D/A/CH) stammenden Familien gegenüber dem Anteil von Immigrantenfamilien auf Gruppengleichheit geprüft.

Tabelle 14: Herkunftsland der Eltern im Clustervergleich

	D/A/CH	Andere	Summe
Cluster 1	5	3	8
Cluster 2	4	9	13
Cluster 3	0	3	3
Gesamt	9	15	24

{Pearson's $\chi^2=4,185^*$ df=2 p=0,123}

*ungültig, da 66,7 % der Zellen eine erwartete Häufigkeit < 5 haben⁹

Hier sind nur rein deskriptive Aussagen möglich: 62% der Patienten aus Cluster 1 bis 3 stammen aus Immigrantenfamilien, 38% stammen ethnisch aus Deutschland, Österreich oder der Schweiz. Patienten aus Immigrantenfamilien sind in der Gruppe mit hervorragender Diätkontrolle (Cluster 1) mit 38 % deutlich unterrepräsentiert und in der mittelmäßig bis schlecht eingestellten Gruppe (Cluster 2 und 3 zusammengefasst) mit 75% leicht überrepräsentiert. Jedoch ist dieser Unterschied bei der kleinen Fallzahl nicht deutlich genug, um statistisch signifikant zu sein. {Fisher's exact test (2-seitig) p=0,099}

Die Parameter der Erstmanifestation in der Gruppe der Patienten mit anhaltend hohem Plasmaleucinspiegel während der gesamten Neonatalperiode, die nicht in die Clusteranalyse einbezogen wurden, sind bereits in Tabelle 7 aufgeführt. Tabelle 15 zeigt nun die Parameter der Erstmanifestation für die Patienten der Cluster 1 bis 3 an. Mittelwerte und

⁹ Trotz der Datenaggregation in Tabelle 14 liegen wiederum die Häufigkeiten in 4 Zellen (=66,7%) unter dem für den Chi-Quadrat-Test geltenden Schwellenwert von 5.

Standardabweichungen wurde für die drei dargestellten Parameter pro Cluster berechnet. Ausgenommen sind drei prospektiv behandelte Patienten ohne neonatale enzephalopathische Krise.

Tab. 15: Parameter der Erstmanifestation der Patienten: Vergleich der Cluster 1, 2 und 3

	Pat.-Nr.	Lebenstag bei Diagnose	Maximaler Leucinspiegel ($\mu\text{mol/l}$)	Erster Lebenstag Leucin < 1 mmol/l
Cluster 1	6	12	3411	13
	19	9	4505	17
	[23]	[2]	[1145]	[4]
	25	11	3450	14
	26	12	2824	13
	27	11	2336	15
	28	10	2733	14
	30	13	1700	14
MW (SD)	n = 7	11,1 (1,4)	2994 (901)	14,3 (1,4)
Cluster 2	[3]	[7]	[1122]	[8]
	4	12	2573	21
	7	10	2480	12
	12	17	3618	19
	13	8	1496	16
	14	9	3794	11
	15	7	1481	11
	18	14	3344	16
	20	7	2878	11
	21	16	1240	21
	22	12	2644	18
	24	15	2560	17
	29	9	2744	20
MW (SD)	n=12	11,3 (3,5)	2571 (823)	16,1 (3,9)
Cluster 3	8	15	2745	16
	[11]	[1]	[802]	[1]
	31	11	2870	15
MW (SD)	n=2	13,0 (-)	2808 (-)	15,5 (-)

[]: Prospektiv behandelte Patienten wurden nicht in die Mittelwertberechnung einbezogen

* Standardabweichung wird für n=2 nicht berechnet

Nach Ausklammerung des prospektiv behandelten Patienten Nr. 11 enthält Cluster 3 nur noch zwei Fälle. Die Berechnung von Standardabweichung und Varianzanalyse ist nicht mehr sinnvoll. Zunächst werden deshalb für die Prüfstatistik Cluster 2 und 3 als eine zusammengefasste Gruppe der mäßig bis schlecht eingestellten Patienten behandelt und die Signifikanzprüfung mittels t-Test mit den beiden verbliebenen unabhängigen Stichproben durchgeführt.

Die zuvor dargestellte Zusammenführung zweier Cluster ist praktikabel, löst aber das Ergebnis der Clusteranalyse in Teilen wieder auf. Trotz des Intervallskalenniveaus der Variablenwerte ist es bei der hier vorliegenden kleinen Fallzahl gerechtfertigt, zur Signifikanzprüfung auch nichtparametrische Tests anzuwenden. Somit ist zusätzlich jeweils der Kruskal-Wallis-Rangtest für die drei im Folgenden geprüften Variablen durchgeführt worden.

a) Signifikanzprüfung bezüglich möglicher Unterschiede im Zeitpunkt (Lebenstag) bei Diagnosestellung

Cluster 1 gegen Cluster 2 + 3	t-Test zweier unabhängiger Stichproben bei ungleichen Varianzen ¹⁰ :	t=0,412 p=0,685 (n.s.)
Cluster 1 gegen 2 gegen 3	Kruskal-Wallis-Test:	$\chi^2=0,620$ df=2 p= 0,734 (n.s.)

¹⁰ Levene's Test auf Varianzgleichheit: F=7,727 p=0,012 (sign.)

b) Signifikanzprüfung bezüglich möglicher Unterschiede in der maximalen Plasmaleucinkonzentration bei der Ersmanifestation

Cluster 1 gegen Cluster 2 + 3	t-Test zweier unabhängiger Stichproben bei gleichen Varianzen ¹¹ :	t=1,041 p=0,311 (n.s.)
Cluster 1 gegen 2 gegen 3	Kruskal-Wallis-Test:	$\chi^2=1,144$ df=2 p=0,564 (n.s.)

c) Signifikanzprüfung bezüglich möglicher Unterschiede im Lebenstag mit erstmals Plasmaleucin < 1mmol/l

Cluster 1 gegen Cluster 2 + 3	t-Test zweier unabhängiger Stichproben bei ungleichen Varianzen ¹² :	t=-1,554 p=0,137 (n.s.)
Cluster 1 gegen 2 gegen 3	Kruskal-Wallis-Test:	$\chi^2=1,449$ df=2 p=0,485 (n.s.)

Die Signifikanzprüfung hat ergeben, dass hinsichtlich der Parameter der Erstmanifestation kein signifikanter Unterschied zwischen der exzellent eingestellten Patientengruppe und der Gruppe der mäßig bis schlecht eingestellten Patienten besteht.

¹¹ Levene's Test auf Varianzgleichheit: F=0,336 p=0,569 (n.s.)

¹² Levene's Test auf Varianzgleichheit: F=5,007 p=0,037 (sign.)

3.10 Beziehung zwischen der Qualität der Langzeiteinstellung der Plasmaleucinspiegel und dem intellektuellen und neurologischen Outcome

Ausgehend von der Clusterzugehörigkeit und damit vom Verlauf der langfristigen Stoffwechseleinstellung wurde geprüft, in welchem Ausmaß die Höhe des longitudinalen Plasmaleucinspiegels die intellektuelle Leistungsfähigkeit der Patienten beeinflusst. Neurologische Befunde sowie die Schul- und Berufskarriere sind in tabellarischer Form aufgeführt und gehen deskriptiv mit in die Auswertung ein.

In den Tabellen 16-18 sind für jeden Patienten sämtliche aus den Unterlagen entnommenen Daten zu entwicklungsneurologischen Untersuchungen und Intelligenztests, zum Alter bei Testung und zu den angewendeten Testmethoden, jeweils nach Clusterzugehörigkeit verzeichnet. Kursiv dargestellt sind die Ergebnisse von entwicklungsneurologischen Tests. Fettgedruckt hervorgehoben sind alle Intelligenztestergebnisse, die in die Signifikanzprüfung eingehen.

Die folgenden Intelligenz- und *Entwicklungstests*¹³ wurden verwendet:

- (a) *Bühler-Hetzer*; (b) Kramer; (c) HAWIK-R; (d) HAWIE-R; (e) SON-R 2 ½ - 7;
- (f) *Griffiths*; (g) K-ABC; (h) SON-R 5 ½ - 17; (i) *MFED*.

¹³ Autorennachweis in Anhang IV

Tabelle 16: *Entwicklungs-* und Intelligenzquotienten der Patienten in Cluster 1

Pat.-Nr. Lebensjahr	6	19	25	26	28	30
1			92 (f)			
2						
3	123 (a)		110 (f)			
4		102(e)				
5	108 (b)					
6	109(b)					
7	98 (b)		108 (g)	104 (g)	87 (g)	86 (g)
8	100 (b)					
9						
10						
11	87 (c)					
12						
13	98 (c)					
14						
15	98 (c)					
16						
17						
18	108 (d)					

Fehlende Werte für Pat.-Nr. 23 und 27 aus Cluster 1

Tabelle 17: *Entwicklungs-* und Intelligenzquotienten der Patienten in Cluster 2

Pat.-Nr. Lebensjahr	[3]	4	7	12	13	14	15	18	21	22	24
1											
2							100 (i)				
3											
4							100 (b)	87 (e)			
5						57 (e)			84 (b)		
6				57 (e)	77 (e)	65 (e)					75 (e)
7							77 (b)				
8			99 (h)								63 (g)
9							108 (b)				
10										86 (g)	
11							95 (b)			83 (g)	
12											
13	[57 (c)]	60 (h)									
14	[57 (h)]						76 (c)	75 (g)			
15						<55 (e)					

Fehlende Werte für Pat.-Nr. 20 und 29 aus Cluster 2

Tab. 18: Entwicklungs- und Intelligenzquotienten der Patienten in Cluster 3

Pat.-Nr. Lebensjahr	8	[11]	31
1			
2			
3			
4			
5			
6			< 50 (e)
7		[65 (e)]	
8	64 (e)		
9			
10		[62 (h)]	
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17	51 (c)		
18			
19		[59 (d)]	

[]: prospektiv behandelte Patienten ohne neonatale Enzephalopathie in Tab. 17-19

Da die Zuordnung zu den Clustern aufgrund des longitudinalen Plasmaleucinspiegels in den ersten sechs Lebensjahren erfolgte, erscheint es sinnvoll, auch die Intelligenzleistung zunächst bis zum Ende des sechsten Lebensjahres zum Vergleich heranzuziehen. Somit gehen alle um das sechste Lebensjahr erhobenen Intelligenzmessungen in die Prüfung auf einen überzufälligen Unterschied in der Intelligenzleistung der drei Cluster ein. Ausnahmen bilden die Patienten Nr. 4 und 22, bei denen die erste Intelligenztestung im 13. bzw. 10. Lebensjahr erfolgte. Bei 4 von 24 Patienten waren am Stichtag des Endes der Datenerhebung noch keine Intelligenztests durchgeführt worden. Bei den Patienten Nr. 6, 15 und 21 waren um das sechste Lebensjahr nur die Ergebnisse eines Kramer-Tests dokumentiert, die nicht zum statistischen Vergleich mit den Intelligenzquotienten aus dem SON- und K-ABC-Tests herangezogen werden konnten.

Abbildung 11 zeigt die im statistischen Clustervergleich berücksichtigten IQ-Werte:

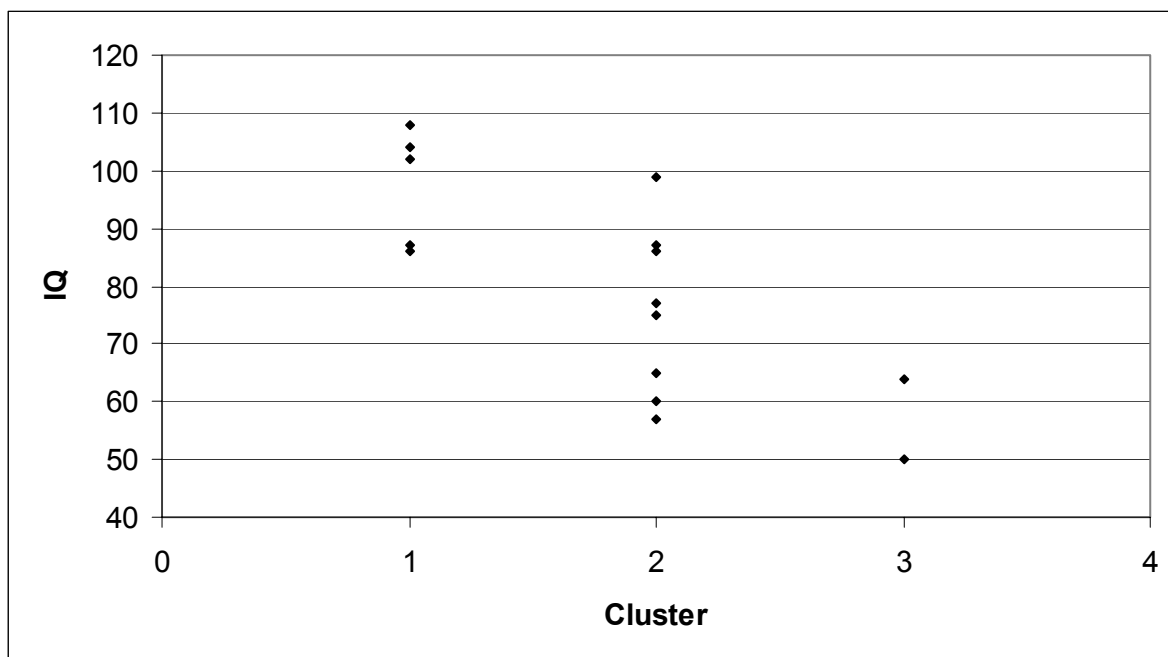


Abb. 11: Intelligenzleistung der Patienten im Alter von 6 Jahren: Cluster 1 bis 3

Die durchschnittlichen, mit Ausnahmen um das 6. Lebensjahr erhobenen Intelligenzquotienten sind für die Patienten der Cluster 1 – 3 in Tabelle 19 wiedergegeben. Nicht in die Berechnung der Mediane und in die Signifikanztestung miteinbezogen wurden die drei prospektiv behandelten Fälle; sie werden gesondert aufgeführt.

Tabelle 19: Durchschnittliche IQ-Werte der Patienten : Vergleich zwischen den Clustern

Cluster Nr.	1	2	3
IQ - Median (range) ¹⁴	102 (86-108) n=5	76 (57-99) n=8	57 (50-64) n=2
IQ der prospektiv behandelten Patienten	[Pat.-Nr. 23] noch keine Testung ¹⁵	[Pat.-Nr. 3] 57 (13. LJ)	[Pat.-Nr. 11] 65 (7. LJ) 59 (19. LJ)

Kruskal-Wallis-Test: Cluster 1 gegen 2 gegen 3 $\chi^2=8,089$ df=2 p=**0,018** (sign.)

¹⁴ ohne prospektiv behandelte Patienten

¹⁵ Patientin besucht die Regelgrundschule mit gutem Erfolg, zeigt in einzelnen Fächern bessere Leistungen als die gesunde, zweieiige Zwillingschwester (Zeugnisse liegen vor)

Die Daten zur Intelligenzmessung wurden, wie bereits im Methodenteil beschrieben, aus den Krankenakten entnommen. Es ist darauf hinzuweisen, dass im Allgemeinen keine prospektiv geplanten Messungen durchgeführt wurden, dass in den einzelnen Behandlungszentren die Testung von verschiedenen Untersuchern durchgeführt wurde und dass auch verschiedene Testverfahren Anwendung fanden. In Cluster 2 wurden bei zwei Patienten größere Abweichungen vom angestrebten Testzeitpunkt toleriert. Zur Überprüfung, ob die beobachteten Differenzen der Intelligenzquotienten zwischen den Patienten der drei Cluster auf zufälligen Schwankungen beruht, wurde der nichtparametrische Kruskal-Wallis-Rangtest verwendet, der ordinalskalierte Variablen voraussetzt.

Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p=0,018$ wird die Nullhypothese, dass der Werteunterschied in den drei Clustern allein durch zufällige Schwankungen zu erklären ist, zurückgewiesen. Somit konnte für diese Gruppe von Patienten mit klassischer MSUD mit „kurzdauernder“ Erhöhung der Plasmaleucinspiegel während der Erstmanifestation in der Neugeborenenzeit gezeigt werden, dass ein Zusammenhang zwischen der Höhe der Plasmaleucinspiegel im Langzeitverlauf und der intellektuellen Entwicklung besteht.

Tabelle 20: Entwicklung/ Neurologie/ Schullaufbahn der Patienten in Cluster 1

Pat.-Nr.	Entwicklung/ Psychomotorik/ Neurologie	Schullaufbahn/ Berufstätigkeit	Vergleich mit Geschwistern ohne MSUD	Beruf der Eltern	Besonderheiten
6	Unauffällige neurologische Entwicklung	Realschulabschluss/ Krankenschwester	Zwei Schwestern mit regulärer Schulausbildung	V: Landwirt M: Kauffrau	
19	Zunächst leicht verzögerte Sprachentwicklung, ab dem 3. LJ normale psychomotorische Entwicklung	Erstklassiger Hauptschulabschluss (3x sehr gut, 9 x gut, Durchschnitt 1,9)	Älterer Bruder: Realschulabschluss Jüngere Schwester (2. Zwilling): Regelgrundschule	V: Arbeiter M: Verkäuferin	Älterer Bruder v. Pat.-Nr. 23 Herniotomie im 2. Lebensmonat ohne Probleme
[23]	Vollständig altersgerechte neurologische Entwicklung	Gute, zum Teil sehr gute Schülerin in der Regelgrundschule	Zweieiige Zwillingsschwester: In einzelnen Fächern schlechtere schulische Leistungen (Regelgrundschule) als die Patientin selbst Älterer Bruder: Realschulabschluss	V: Arbeiter M: Verkäuferin	Jüngere Schwester v. Pat.-Nr. 19, Alopezia areata Wachstumsverzögerung gegenüber Zweieiigem Zwilling
25	Bei Diagnosestellung: leichte Seitenbetonung. 3. LJ: leicht unsicherer Gang, leicht verwaschene Sprache, befolgt Anweisungen. 6. LJ: vollständig altersgerechte statomotorische Entwicklung	Leistungen im oberen Viertel der Grundschulklasse	Älterer Bruder: Gymnasium	V: Kaufmann M: Hausfrau	
26	immer altersentsprechend	Gute Leistung in der ersten Grundschulklasse	Zwillingbruder im 5. LJ körperlich größer und kräftiger, aber intellektuell gleich entwickelt	n. b.	„Schütteres Haar“ bei letzter Vorstellung
27	3 J: altersentsprechende Befunde	Guter Schüler in der Regelgrundschule, belastbar	Zwei ältere Geschwister in Afghanistan im Säuglings-/Kleinkindalter an Infektionen verstorben. Vier ältere Geschwister besuchen Grund- und Hauptschulen in Deutschland	n. b.	
28	7. LJ: Teilleistungsschwäche in optischer Differenzierung	Regelgrundschule	Im Libanon: Ein Kind am 40. LT unter Krampfanfällen verstorben, ein Bruder mit 2 Jahren an einer Infektion. Drei ältere Geschwister besuchen Regelschulen in Deutschland	n. b.	
30	(0;7) leichte Hypotonie und statomotorische Retardierung (1;6): nahezu altersgerechte statomotorische Entwicklung (6;0) ohne neurologisches Defizit	Regelkindergarten	Eine 6 Jahre ältere Schwester besucht eine Regelschule.	n. b.	Ernährung über PEG-Sonde in den ersten Jahren Alopezia areata

(): Alter der Patienten (Jahre; Monate) []: prospektiv behandelte Patienten n. b.: nicht bekannt

Tabelle 21: Entwicklung / Neurologie/ Schullaufbahn der Patienten in Cluster 2

Pat.-Nr.	Entwicklung/ Psychomotorik/ Neurologie	Schullaufbahn/ Berufstätigkeit	Vergleich mit Geschwistern ohne MSUD	Beruf/Ausbildung der Eltern	Besonderheiten
[3]	Keine	Besuch der Schule für Körperbehinderte, jetzt betriebliche handwerkliche Ausbildung (Holzbearbeiter) mit Förderung. Führerschein Kl. III	Zwei ca.10 Jahre ältere Geschwister, jeweils mit Fachhochschulabschluss	V: Landwirt M: Hausfrau	7. LJ: Alopezie 11. LJ: Komplette US-Fraktur und 12. LJ Unkomplizierte Fraktur bei Osteoporose
4	(25): ausgeprägte psychomotorische Retardierung, Entwicklungsstufe eines Kleinkindes	Sonderschule kein Lesen und Schreiben	Insgesamt drei ältere und jüngere Geschwister: Sonderschule, Berufsschule, Realschule	V: Arbeiter M: kein Schulabschluss	21.LJ: Ausgeprägte Osteopenie, Knochendichte - 3 SD, LWS
7	n. b.	Fachoberschule f. Techniker, Fachabitur angestrebt	Keine	n. b.	keine
12	Verwaschene Sprache, leichte Extremitätenataxie	Geistigbehindertenschule	Keine	V: Arbeiter	Gitelman-Syndrom; Kompletter Haarausfall nach Krise (8;3) Circumcision unproblematisch
13	n. b.	n. b.	Ältere Schwester: Kauffrau Älterer Bruder: Student	V: Techniker M: Friseurin	keine
14	(0;5) mangelnde Kopfkontrolle (3;5) mental retardiert, statomotorisch altersadäquat	Sonderschule für Lernbehinderte	n. b.	n. b.	keine
15	ab 12. LJ fokale epileptische Anfälle, unter Antiepileptika stabil (siehe EEG)	n. b.	Drei jüngere Geschwister, jeweils in Regelschulen	V: Taxifahrer M: Wäscherin	keine

Tabelle 21: – Fortsetzung –

Pat.-Nr.	Entwicklung/ Psychomotorik/ Neurologie	Schullaufbahn/ Berufstätigkeit	Vergleich mit Geschwistern ohne MSUD	Beruf/Ausbildung der Eltern	Besonderheiten
18	Gangunsicherheit bei hohen Werten	Sonderschule für Lernbehinderte, mittlere Leistungen. Übersetzt türkisch/deutsch für die Eltern	Zwei ältere Geschwister, Ausbildungswege n. b.	V: Arbeiter im Bergbau	keine
21	weitgehend unauffällig	ein Jahr später eingeschult, derzeit Volksschule	Keine	V: Händler M: Kindergärtnerin	keine
22	Verzögerte motorische Entwicklung, Hinweise auf Störung der auditiven und visuellen Wahrnehmung	nicht so gute Leistungen in der Grundschule, jetzt i.d. Hauptschule: befriedigende bis ausreichenden Noten	Keine	V: Fach-Arbeiter	keine
24	schwer verständliche Sprache	Regelkindergarten, Vorschulklasse, Sprachheilschule, jetzt: Lernbehindertenschule	Keine	V: Arbeiter M: Friseurin	(2;7) schwere enzephalopathische Entgleisung bei Heimaturlaub (Türkei) Alopezie (reversibel)
29	(0;3) deutliche muskuläre Hypertonie, Asymmetrie nach rechts (4;0) spastische Diplegie, fahrig ataktische Bewegungen, psychomotorische Retardierung um 1 Jahr.	Integrativer Sonderkindergarten	Ältere Schwester: Regelgrundschule	V: Hauptschule M: Hauptschule	keine

() Alter der Patienten (Jahre; Monate) [] prospektiv behandelte Patienten n. b.: nicht bekannt V/M: Vater/ Mutter

Tabelle 22: Entwicklung / Neurologie/ Schullaufbahn der Patienten in Cluster 3

Pat.-Nr.	Entwicklung/ Psychomotorik/ Neurologie	Schulkarriere/Beruf	Vergleich mit Geschwistern ohne MSUD	Beruf/Ausbildung der Eltern	Besonderheiten
8	(18;5) Diskrete Ataxie, keine Seitendifferenz	Sonderschule für Lernbehinderte, Praktikum, Arbeit als Küchenhilfe	Zwei jüngere Geschwister auf Haupt- und Gesamtschule	V: Metallarbeiter M: Hausfrau	Alopezia areata
[11]	(4;2) deutliche Rückstände in Feinmotorik und Sprachentwicklung	Sonderschule für Lernbehinderte, Berufsbildungswerk (Fortbildung Lagertechnik)	Älterer Bruder: selbständiger Kaufmann	V+M: Gastwirte	keine
31	Unauffällig	Integrativer Kindergarten	19 jähriger Bruder, Ausbildungsweg n. b.	n. b.	keine

() Alter der Patienten (Jahre; Monate), [] prospektiv behandelte Patienten, n. b.: nicht bekannt

In den vorangegangenen Tabellen wurden Daten der Patienten zur psychomotorischen Entwicklung, neurologischen Symptomen sowie der Schul- und Berufslaufbahn im Vergleich mit ihren Geschwistern ohne MSUD und ihren Eltern nach Clusterzugehörigkeit aufgeführt.

In dieser Zusammenstellung wird deutlich, dass alle Patienten mit einer sehr guten Langzeiteinstellung des Plasmaleucinspiegels ohne neurologische Schädigung geblieben sind. Beobachtet wurden bei einigen Patienten im Kleinkindesalter vorübergehende Verzögerungen der sprachlichen und motorischen Entwicklung, die spätestens bis zum Ende des sechsten Lebensjahres ausgeglichen waren. Demgegenüber waren bei den Patienten der Cluster 2 und 3 mit dauerhaft mäßiger bis schlechter Stoffwechseleinstellung vermehrt auch bleibende neurologische Symptome vorhanden. Diese reichten von eher diskreten Veränderungen wie leichter Ataxie, Tremor und verwaschener Sprache (Dysarthrie) bis hin zu einer dauerhaften beinbetonten Spastik bei Patient Nr. 29.

Nicht aufgeführt wurde die Patientin Nr. 9, die aufgrund fehlender Jahresmediane im ersten und zweiten Lebensjahr nicht in der Clusterbildung berücksichtigt wurde. Sie hatte vom dritten bis 13. Lebensjahr exzellente Plasmaleucinwerte, die während der folgenden Jahre bis in den Bereich dreifach der Norm erhöhter Werte anstiegen¹⁶. Im sechsten Lebensjahr wurde bei ihr ein Intelligenzquotient von 100 (HAWIVA) ermittelt, zum Ende des Untersuchungszeitraums (18. LJ) besuchte sie mit gutem Erfolg ein Gymnasium.

Patienten des Clusters 1 besuchten durchweg Regelschulen, zum Teil mit gutem bis sehr gutem Erfolg. In Einzelfällen wurden Leistungsvorsprünge der Patienten gegenüber ihren etwa gleichaltrigen Geschwistern ohne MSUD berichtet.

Demgegenüber besuchte die Hälfte der Patienten in Cluster 2 Schulen für Lern- und Geistigbehinderte. Drei Patienten erreichten das Niveau einer Regelschule. Für einen Patienten wurde durch intensive Förderung die Ausbildung in einem handwerklichen Beruf und der Erwerb des PKW-Führerscheins möglich.

Patient Nr. 31 aus Cluster 3 besuchte einen integrativen Kindergarten, die beiden anderen Patienten befanden sich am Stichtag der Erhebung im Übergang von der Lernbehindertenschule zu speziell geförderten Maßnahmen der Berufseingliederung.

¹⁶ Der Verlauf der Jahresmediane ist in Tabelle 6 dargestellt.

Sofern bis zum Stichtag der Datenerhebung eine apparative bildgebende Diagnostik des Gehirns oder eine EEG-Diagnostik durchgeführt worden war, wurden die Ergebnisse in den nachfolgenden Tabellen für die Patienten nach Clusterzugehörigkeit geordnet dargestellt.

Tabelle 23: Kraniale Bildgebung und EEG-Diagnostik der Patienten in Cluster 1

Pat.-Nr.	Kraniale Bildgebung	EEG –Diagnostik
6	n.d.	(1;10): normales EEG (2;8): in akuter Entgleisung komatös, 10 Tage später normales Wach-EEG 4. – 5. LJ: hypersynchrone epileptogene Potentiale kontinuierlich nachweisbar klinisch ohne Krampfeignis ab 6. bis 18. LJ: Befundnormalisierung
19	MRT (15;10): keine Myelinisierungsstörung, keine Hirnatrophie	10. LT bis 5.LJ: mehrfach ohne sicher pathologischen Befund
[23]	1. LJ: normales Schädelsono	2 LJ: altersnormal
25	1. LJ: Schädelsono: geringe Erweiterung des Extrazerebralraums, kein sicher pathologischer Befund, 3.LJ: MRT – kein Hinweis auf metabolische Enzephalopathie.	3.LJ: Grenzwertig zu langsame Grundaktivität, im wesentlichen unauffällig
26	1. LJ: Schädelsono o.p.B. 3. LJ: kraniales Nativ-CT unauffällig	Nach Austauschtransfusion im 1. LM unauffällig ohne Seitendifferenz
27	CT (4;4): Angedeutete diffuse, nicht herdförmige Dichteminderung des Marklagers beider Hemisphären, keine pathologische Vaskularisation	(0;1) unauffällig (3;0) keine Seitendifferenz., frontopräzentrale epileptogene Potentiale ohne klinisches Korrelat
28	CT (3;0): unauffälliger Befund	(0;1) altersentsprechend (2;8) unauffällig (3;5) Anzeichen von hypersynchroner Aktivität
30	n. d.	(0;1) pathologisches EEG mit langen Suppressionsstrecken, im weiteren Verlauf Besserung des Befundes (5;4) altersentsprechende Grundaktivität, frontal betonte Dysrhythmie, keine HSA, kein Herdbefund

() Alter der Patienten (Jahre ; Monate), [] prospektiv behandelte Patienten, n. d: nicht durchgeführt

Tabelle 24: Kraniale Bildgebung und EEG-Diagnostik der Patienten in Cluster 2

Pat.-Nr.	Kraniale Bildgebung	EEG
[3]	n. d.	(1;0) altersentsprechender Normalbefund (11;0) allgemeinverändertes EEG nach Krampfanfall.
4	MRT(20;3): Ausgedehnte Leukodystrophie im Hirnstamm, Kleinhirn und Großhirn. Gliotische Veränderungen der Stammganglien	EEG 13. LJ ohne path. Befund
12	CT (4;0): erweiterte innere und äußere Liquorräume	(4;0) pathologisches EEG (17;2) dysrhythmische Grundaktivität. Hypersynchrone Aktivität in Form isolierter Spike-Wave-Komplexe. Diffuse Verlangsamung
14	MRT (15;7): geringe symmetrische Signalanhebung im parietooccipitalen Marklager	(6;1): Normalbefund
15	n. d.	norm. EEG bis (10;0), dann erste Epilepsiezeichen, ab (10;0) Therapie mit Phenytoin, (12;0) Umstellung auf Tegretal; (13;0) leichte Verschlechterung und diskrete epileptogene Potentiale (HSA)
18	MRT (10;1) auffallende Erweiterung der inneren Liquorräume bei normal abgrenzbaren Hirnfurchen	(1;6) leichte Allgemeinveränderung, verlangsamte Grundaktivität (10;1) dysrhythmische, streckenweise verlangsamte Grundaktivität
21	MRT (3;6) zytotoxisches Ödem in akuter Entgleisung, drei Wochen später Intensitätsveränderung (T2-gewichtet) der weißen Substanz	(0;2) altersentsprechend (3;6) altersentsprechend
22	MRT (1;7) geringgradig erweiterte Seitenventrikel Sono (0;1): ausgeprägtes Hirnödema	(0;1): fragliche Allgemeinveränderung (0;5): keine Allgemeinveränderung, (11;0): verlangsamte Grundaktivität nach Krampfanfällen
24	n. d.	(0;1): multifokale Krampfbereitschaft (5;0): mittelschwere Allgemeinveränderungen, bei dysrhythmischer Grundaktivität
29	n. d.	(0;6): β -Überlagerung und polymorphe δ -Aktivität (1;0): normales altersgerechtes EEG

(): Alter der Patienten (Jahre ; Monate), []: prospektiv behandelte Patienten, n. d: nicht durchgeführt

Tabelle 25: Kraniale Bildgebung und EEG-Diagnostik der Patienten in Cluster 3

Pat.-Nr.	Kraniale Bildgebung	EEG
8	MRT: (16;5) Dysmyelinisierung von Bahnen im Hirnstammbereich. Abnormalitäten im Globus pallidus	(0;1) keine Auffälligkeiten (12;0): Normalbefund (16;5): altersentsprechend normal
[11]	MRT (9;5): keine morphologische Schädigung (14;4): unauffällig, ohne Marklagerläsion	(2;0) Z. n. Krampfanfall, Allgemeinveränderung, rasche Wellen (5;2) normales EEG, rechts steile Abläufe, keine HSA (7;6) normal
31	n. d.	(0;1) normales EEG ohne Seitendifferenz

() Alter der Patienten (Jahre ; Monate), [] prospektiv behandelte Patienten, n. d: nicht durchgeführt

Die kraniale Bildgebung und die EEG-Diagnostik ergaben für die Patienten in Cluster 1 fast durchgängig Normalbefunde mit einzelnen Ausnahmen (Patient Nr. 27 und 30) von temporären, im Rahmen von Entgleisungen beobachteten pathologischen Veränderungen.

Bei Patienten in Cluster 2 sind in fünf von 6 Fällen mit auffälligen Befunden in der kranialen Bildgebung diese Auffälligkeiten erst jenseits des Säuglingsalters erhoben worden. Die Veränderungen betrafen vornehmlich die myelinisierten Bahnen; außerdem wurden Erweiterungen des Ventrikelsystems beschrieben. Bei den Patienten Nr. 12, 15, 18, 22 und 24 wurden persistierend Allgemeinveränderungen im EEG beschrieben; zum Teil erhielten Patienten nach mehrfachen cerebralen Krampfereignissen Antikonvulsiva.

Patient Nr. 8 aus Cluster 3 zeigte im 17. Lebensjahr deutliche Dysmyelinisierungszeichen im kranialen MRT. EEG-morphologische Veränderungen oder Krampfereignisse wurden bei diesem Patienten nicht beobachtet. Der prospektiv behandelte Patient Nr. 11 zeigt weder im zehnten noch fünfzehnten Lebensjahr kernspintomographische Zeichen für eine chronische Veränderung der myelinisierten Bahnen. Bei dem Jüngsten dieser dauerhaft sehr schlecht eingestellten Patienten wurde bis zum Stichtag der Datenerhebung noch keine kraniale Bildgebung durchgeführt.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass bei den dauerhaft schlecht eingestellten Patienten aus Cluster 2 und 3 häufiger mit Verzögerungen der psychomotorischen Entwicklung, chronischen, in der kranialen Bildgebung darstellbaren hirmorphologischen Veränderungen und dem Nachweis epilepsietypischer Potentialen im EEG gerechnet werden muss. Bei exzellent langzeit-eingestellten Patienten waren in Einzelfällen im Rahmen von akuten Stoffwechsellentgleisungen EEG-Veränderungen nachweisbar, die jeweils vollständig reversibel waren.

4 Diskussion

In allen bisher durchgeführten Untersuchungen wiesen Patienten mit MSUD unter Behandlung immer geringere Intelligenzleistungen auf als ihre nicht von der MSUD betroffenen Eltern und Geschwister (Nord et al. 1991; Hilliges et al. 1993, Kaplan et al. 1991). Auch in einem Vergleich zwischen Patienten mit Ahornsirupkrankheit und einer sorgfältig gematchten Kontrollgruppe von Patienten mit früh behandelter PKU erreichten erstere deutlich geringere IQ-Werte (Hilliges et al. 1991). Diese vergleichende Untersuchung unterstreicht die Tatsache, dass das Potential für chronische ZNS-Schäden für die Substanzen Leucin/KIC größer ist als für äquimolare Plasmakonzentrationen von Phenylalanin.

Bisher standen in den publizierten Untersuchungen an Patienten mit MSUD zur Beeinflussung der später erreichten Intelligenzleistung der Schweregrad und die Dauer der neonatalen Entgleisung ganz im Vordergrund (Nord et al. 1991, Snyderman 1988, Hilliges et al. 1993, Kaplan et al. 1991). Bezüglich des Intelligenzquotienten (IQ) ergab sich eine negative Korrelation zu Schwere und Dauer der neonatalen Krise verursacht durch die sehr hohen Plasmaleucinspiegel zum Zeitpunkt der Erstmanifestation. Basierend auf solchen Untersuchungen haben Snyderman (1988) einen Cut-off-point sehr hoher Plasmaleucinspiegel von 10 Lebenstagen und Kaplan et al. (1991) einen solchen von 5 Lebenstagen angegeben, jenseits dessen kein normaler IQ-Wert mehr erreicht wird.

Das Ziel der vorliegenden Untersuchung war es, den Einfluss der Höhe des longitudinalen Plasmaleucinspiegels als Maß für die Qualität der Stoffwechseleinstellung durch die Diättherapie, auf das intellektuelle Outcome bei Patienten mit klassischer MSUD zu untersuchen.

Eine solche Untersuchung konnte nur durchgeführt werden mit einem Patientenkollektiv, von dem erwartet werden konnte, dass die stattgehabte Schädigung des Zentralnervensystems durch hohe Leucin/KIC - Spiegel in der Neonatalperiode etwa gleichwertig und gering war. Um diese Voraussetzung zu gewährleisten, wurden von der Gesamtzahl der untersuchten Patienten mit klassischer MSUD die Patienten abgetrennt, welche in der gesamten Neugeborenenphase (> 27. Lebenstag) einen Plasmaleucinspiegel > 1mmol/l aufwiesen. Für diese Gruppe war hierdurch ein deutlicher funktionell-neurologischer Schaden gesetzt

worden, von dem nicht mehr erwartet werden konnte, dass er selbst durch eine langfristige exzellente Stoffwechseleinstellung günstig zu beeinflussen wäre (Chuang & Shih 2001, Hilliges et al. 1993, Kaplan et al. 1991, Naughten et al. 1982, Clow et al. 1981). Dementsprechend wiesen die Patienten in dieser Gruppe auch bereits im Säuglingsalter eine gestörte psychomotorische Entwicklung und eindeutige neurologische Symptome mit Spastik auf. Diese Patientengruppe wurde von vornherein getrennt behandelt.

Die restlichen 24 Patienten der Untersuchung wurden einer Gruppe mit „kurzdauernder neonataler Enzephalopathie“ (< 21 Tagen) zugeordnet und innerhalb dieser Gruppe wurde das Ausmaß der stattgehabten zerebralen Schädigung durch hohe Plasmaleucinspiegel als gering und etwa gleichwertig eingestuft. Bis auf drei Patienten, die sehr früh prospektiv behandelt wurden, also kein neonatales Coma hatten, unterscheiden sich die Patienten aus dieser Gruppe nicht bezüglich der klinischen und laborchemischen Parameter während der Erstmanifestation. Der für das Ausmaß der Schädigung wahrscheinlich bedeutsamste Parameter, der Zeitpunkt des erstmaligen Unterschreitens des Plasmaleucinspiegels von 1 mmol/l betragen für Cluster Nr. 1 im Mittel 14,3, für Cluster Nr. 2 16,1 und für Cluster Nr. 3 15,5 Lebensstage. Diese Patienten haben sich während der ersten Lebensjahre psychomotorisch normal und weitgehend ohne neurologische Symptome entwickelt.

In dieser Patientengruppe wurde das Gehirn nach der Neonatalperiode als weitgehend ungeschädigt angesehen, so dass die Gruppe für eine Untersuchung nach dem ZNS-schädigenden Einfluss unterschiedlich hoher Plasmaleucinspiegel im Langzeitverlauf als geeignet erschien. Bei diesen Patienten wurde unter Heranziehung der Jahresmediane der Plasmaleucinspiegel während der ersten sechs Lebensjahre eine Clusteranalyse durchgeführt. Dabei wurden im Längsschnitt der ersten sechs Lebensjahre drei unterschiedliche Formen der Stoffwechselkontrolle durch die Diätbehandlung identifiziert, so dass in Analogie zur deutschen Verbundstudie zur Phenylketonurie (Burgard et al. 1996) auch bei der Behandlung der klassischen MSUD bezogen auf die Höhe der durch Therapie erreichten Metabolitenspiegel (Leucin versus Phenylalanin) von einer guten, mäßigen und schlechten Stoffwechseleinstellung gesprochen werden kann. Es sei aber bereits hier darauf hingewiesen, dass im Vergleich zur Phenylketonurie bei der MSUD schon eine nur mäßiggradige und erst recht eine schlechte Diätführung in der Kindheit mit langfristig erzielten Plasmaleucinspiegeln, die 3- bis 4,5-fach oberhalb der Norm liegen, eine ernstzunehmende

Gefahr für das Erreichen einer normalen Intelligenz darstellen. Das weist wiederum auf die stärkere intrinsische ZNS-schädigende Wirkung von Leucin/KIC im Vergleich zu Phenylalanin hin.

4.1 Gedanken zum Verhalten der Plasmaleucinspiegel in den einzelnen Untergruppen

Die dem Cluster 1 zugeordneten Patienten mit klassischer MSUD hatten während der ersten sechs Lebensjahre eine exzellente, dem Normwert sehr nahe Stoffwechseleinstellung. Diese hervorragende Behandlung der Kinder setzt sich, wenn auch erst bei einer kleineren Zahl älterer Patienten sichtbar, offenbar auch über das sechste Lebensjahr hinaus fort.

Dem Cluster 2 sind Patienten zugeordnet, die während der ersten 6 Lebensjahre mittlere Plasmaleucinspiegel aufwiesen, die etwa dreifach oberhalb des normalen Spiegels lagen. Während diese Gruppe in den ersten 6 Lebensjahren bezüglich der Plasmaleucinspiegel noch homogen erscheint, spaltet sie sich mit zunehmenden Alter der Patienten auf. Einige Patienten halten ihren mittelhohen Plasmaleucinspiegel der ersten 6 Lebensjahre auch später, bei anderen steigen aber die mittleren Plasmaleucinspiegel deutlich bis auf Werte von > 600 und $800 \mu\text{mol/l}$ an. Diese Patienten befinden sich unserer Meinung nach permanent in einer kritischen Stoffwechselsituation, die einer Entgleisung nahe kommt.

Dass die älteren Patienten selbst bei lang anhaltend sehr hohen Plasmaleucinspiegeln von über $1000 \mu\text{mol/l}$ im allgemeinen frei von neurologischen Symptomen wie Ataxie und Benommenheit sind, dürfte darauf deuten, dass es zu einer Gewöhnung an dermaßen hohe Konzentrationen kommt. Ähnliches wurde von Treacy et al. (1992) berichtet. Inwieweit es aber während derart hoher Plasmaleucinspiegel zu subtilen oder auch stärkeren neuropsychologischen Beeinträchtigungen z.B. im Bereich der Aufmerksamkeit und Reaktionszeit kommt, bedarf dringend einer sorgfältig angelegten Studie. Eine solche Untersuchung ist in der Düsseldorfer Arbeitsgruppe in der Planung.

Die 3 Patienten mit Zuordnung zum Cluster 3 hatten bereits im 2. Lebensjahr deutlich höhere mittlere Plasmaleucinspiegel als Patienten des Clusters 2. Sie befinden sich bereits zwischen dem 3. und 6. Lebensjahr in einer ähnlich prekären Situation mit mittleren

Plasmaleucinspiegeln von vier- bis fünffach oberhalb der Norm wie die soeben erwähnten älteren Patienten des Clusters 2.

An diesem Punkt wird eine Schwäche der vorliegenden Untersuchung offenbar. In Analogie zur Deutschen PKU-Verbundstudie wäre es wünschenswert gewesen, auch bei der vorliegenden Studie zur MSUD die Clusteranalyse der Einstellungsqualität aufgrund der Jahresmediane des Plasmaleucinspiegels der ersten 12 Lebensjahre durchzuführen. Es kann erwartet werden, dass sich bei einer solchen Clusteranalyse durch die Auswirkung einer größer werdenden Unabhängigkeit der Patienten von den Eltern in der Präpubertät auf die Diätcompliance die Clusterzuordnung von einigen Patienten geändert hätte. Mehr Patienten wären dem Cluster 3 mit schlechter Stoffwechseleinstellung zugeordnet worden. Für ein solches Vorgehen bei der Clusteranalyse war aber die Zahl der Patienten > 12 Jahre zu gering. Ob sich allerdings durch diese unterschiedliche Clusterzuordnung der Patienten die Aussage hinsichtlich einer Störung der Intelligenzentwicklung verändert gegenüber einer Clusterzuordnung auf Grund der Daten der ersten 6 Lebensjahre muss bezweifelt werden.

Interessant sind die Verläufe der mittleren longitudinalen Plasmaleucinspiegel in der Gruppe der Patienten mit übermäßig lang anhaltend hohen Plasmaleucinspiegeln (> 1mmol/l) in der gesamten Neugeborenenphase. Diese Patientengruppe wurde von der Clusteranalyse ausgeschlossen, da zu erwarten war, dass es durch die lang anhaltend hohen Leucin/KIC Konzentrationen zu einer stärkeren Hirnschädigung gekommen war. In dieser Gruppe lagen die Mittelwerte der Jahresmediane der Plasmaleucinspiegel vor und nach dem 6. Lebensjahr gleichbleibend zwischen 246 und 469 $\mu\text{mol/l}$ vor dem 6. Lebensjahr und danach, bis hin ins Erwachsenenalter, weiter zwischen 271 und 456 $\mu\text{mol/l}$, was eine mittelmäßige bis gute Stoffwechseleinstellung anzeigt. Bis auf einen Patienten wiesen alle Kinder in dieser Gruppe von früh an deutliche neurologische Symptome, meist mit ausgeprägter Spastik in den verschiedenen Muskelgruppen auf. Auch die mentale Leistung der primär neurologisch geschädigten Patienten lag überwiegend im Bereich der (leichten) geistigen Behinderung. Verursacht durch diese Handicaps führen die Patienten aus dieser Gruppe überwiegend ein in der Selbstbestimmung und in der Fortbewegung eingeschränktes Leben und sind somit von Pflegepersonen abhängig. Sie haben einen regelmäßigen Tagesablauf mit kontrollierten Mahlzeiten und können sich nicht selbständig und frei in der Umgebung bewegen.

Es ist offenbar diese deutlich eingeschränkte Lebenssituation der Patienten, die sich im Vergleich zu Patienten der Cluster 2 und 3 während der Pubertät und im Erwachsenenalter in den relativ niedrigen Plasmaleucinspiegeln widerspiegelt und dafür sorgt, dass sich die Patienten an die Diätvorschriften halten müssen und deshalb eine recht gute Stoffwechseleinstellung haben.

Andererseits weist der häufig vorkommende Anstieg der Plasmaleucinspiegel in der Pubertät bei den Patienten des Clusters 2 und 3 darauf hin, dass bei den frei agierenden Patienten trotz hoher Plasmaleucinspiegel das Wohlbefinden nicht wesentlich beeinträchtigt ist, jedenfalls nicht in einem Maße, dass dadurch die Einhaltung der Diät verbessert würde.

4.2 Mögliche Einflussfaktoren auf die Qualität der Stoffwechselkontrolle

Nachdem aufgrund der longitudinalen Plasmaleucinspiegel der ersten 6 Lebensjahre als Maß für die therapeutische Stoffwechselkontrolle 3 Cluster identifiziert worden sind, schloss sich die Frage nach Faktoren an, die die Qualität der Behandlung beeinflusst haben könnten. Will man eine solche Analyse von Faktoren durchführen, so sollten grundsätzlich die Behandlungsrichtlinien und die Empfehlungen über die langfristig anzustrebenden Plasmaspiegel von Leucin, Valin und Isoleucin in den einzelnen Behandlungszentren identisch sein. Das dürfte nicht der Fall gewesen sein. Man kann aber davon ausgehen, dass allgemein für die verzweigtkettigen Aminosäuren Plasmaspiegel unter 0,3 mmol/l empfohlen worden sind. Einen Konsens hat es aber nicht gegeben.

Denkbar ist, dass es im Laufe der Jahre infolge erweiterter Erkenntnisse über die Behandlung der Ahornsirupkrankheit und der verbesserten Behandlungsmöglichkeiten (z.B. Verbesserung der Qualität der Aminosäuremischungen) auch zu einer Verbesserung der Behandlung gekommen wäre. Vergleicht man die Altersverteilung der Patienten innerhalb der Gruppen, so fällt eine diese These unterstützende größere Zahl jüngerer Patienten (75 % sind 8 Jahre und jünger) in der Gruppe mit guter Stoffwechseleinstellung auf, die im Vergleich zwischen den Clustern jedoch statistisch nicht signifikant ist.

Im Vergleich zur Zusammensetzung der Wohnbevölkerung in Deutschland, Österreich und der Schweiz sind Patienten aus Emigrantenfamilien in dieser Untersuchung mit 58 %

überrepräsentiert. Aus der Erfahrung im klinischen Alltag ist bekannt, dass die Langzeitbetreuung der Patienten aus solchen Familien durch sprachliche und kulturelle Barrieren erschwert sein kann. Häufig stehen traditionelle Konzepte über Krankheiten im Vordergrund, die eine intensive Beratung mit Hilfe von Dolmetschern und speziell erarbeiteten muttersprachlichem Informationsmaterial erfordert, um eine konsequente Diättherapie zu gewährleisten. In der Gruppe der gut eingestellten Patienten sind Kinder aus Emigrantenfamilien relativ seltener und im mittleren Cluster 2 sind sie stärker repräsentiert als in der Gesamtgruppe. In Cluster 3 mit schlechter Stoffwechseleinstellung sind ausschließlich Patienten aus Einwandererfamilien vertreten. Insgesamt ist die Stichprobe aber zu klein, um aus diesen Unterschieden auch eine statistische Bedeutung abzuleiten.

Die durchschnittliche Anzahl der Tage mit einem Plasmaleucinspiegel über 1 mmol/l während der Behandlung in den ersten Lebensjahren unterscheidet sich signifikant für die Patienten aus den Clustern mit exzellenter, mäßig guter und schlechter Langzeitkontrolle. Schlecht eingestellte Patienten entgleisen signifikant häufiger als solche unter einer strengen Diätkontrolle. In diesem Punkt bleibt zu klären, ob die Entgleisungsneigung als Folge einer kontinuierlich schlechten Diätcompliance zu erklären ist und ob, im Falle exzellenter Diätcompliance, gut geschulte Eltern durch eine kompetente Diätanpassung schwere Entgleisungen frühzeitig verhindern oder mildern helfen können.

4.3 Beziehung zwischen der Qualität der Langzeiteinstellung der Plasmaleucinspiegel und dem intellektuellen Outcome

Betrachtet man das Outcome der Patienten mit relativ kurzer Erhöhung der Plasmaleucinspiegel während der Erstmanifestation in Bezug auf die Qualität der Langzeitstoffwechseleinstellung, so lassen sich in mehreren Einzelaspekten relevante Unterschiede nachweisen.

Die Intelligenzleistungen der Patienten mit relativ kurzdauernder Erhöhung der Plasmaleucinspiegel während der Erstmanifestation unterschieden sich um das 6. Lebensjahr für die 3 Cluster signifikant. Fünf Patienten in Cluster 1 erreichen für den IQ einen Median von 102 (Bereich: 86 - 108), acht Patienten in Cluster 2 erreichen einen Median von 76 (Bereich: 57 - 99) und zwei Patienten aus Cluster 3 einen Median von 57 (Bereich: 50 – 64). Hierbei ist kritisch anzumerken, dass die Ergebnisse der Intelligenztests retrospektiv erhoben wurden und diese von unterschiedlichen Untersuchern mit verschiedenen Testverfahren durchgeführt worden waren.

Bemerkenswert ist, dass von den drei prospektiv behandelten Patienten, ohne jede Erhöhung des Plasmaleucinspiegels während der Neonatalperiode auf über 1 mmol/l, nur die Patientin mit einer später exzellenten Stoffwechselkontrolle ein vollständig normales und altersgerechtes intellektuelles und neurologisches Outcome erreicht hat.

Für die Patienten mit schlechter Langzeiteinstellung (Cluster 3) bleibt das erreichte schulisch-berufliche Niveau, parallel zu den Intelligenzleistungen, recht tief im Bereich einer Sonderschule für Lernbehinderte. Nur einzelne Patienten in Cluster 2 mit langfristig mäßiger Einstellung des Plasmaleucinspiegels weisen eine normale Schullaufbahn auf; die Mehrzahl benötigt spezielle Fördermaßnahmen und besucht die Sonderschule für Körper- oder Geistigbehinderte. Von einer im Vergleich zu den nicht von der MSUD betroffenen Geschwistern vollkommen normalen Schullaufbahn mit vergleichbar guten Leistungen wird bei allen Patienten des Clusters 1 mit langfristig exzellenter Stoffwechselkontrolle berichtet.

Ausgeprägte neurologische Symptome (Lethargie, Muskeltonus-Veränderungen, Koma) waren regelmäßig bei den Patienten mit klassischer MSUD im Neugeborenenalter während sehr hoher Konzentrationen von Leucin/KIC vorhanden; sie kamen auch später während

akuter Stoffwechselentgleisungen mit Ataxie, Lethargie und beginnendem Coma vor. Mit Senkung der Plasmaleucinspiegel gingen diese immer innerhalb weniger Tage vollkommen zurück. Dauerhafte neurologische Symptome kamen bei den Patienten mit "relativ kurz dauernder" (<21 Tage) Erhöhung der Plasmaleucinspiegel in der Neonatalzeit später nicht vor. Bei einigen Patienten wurde über das Vorkommen einer gewissen Verzögerung der statomotorischen Entwicklung berichtet, die sich aber schon im Kleinkindesalter ausgeglichen hatte. Hingegen waren schwerwiegende und überdauernde neurologische Symptome (meist mit Spastik) als Ausdruck eines bleibenden Hirnschadens die Regel, sobald die Plasmaspiegel für Leucin in der Neonatalperiode mit >27 Tagen lang anhaltend erhöht waren.

Über charakteristische Veränderungen im EEG bei Neugeborenen mit MSUD während der enzephalopathischen Phase mit hohen Leucin/KIC-Spiegeln, sowie bei Säuglingen während Stoffwechselentgleisungen wurde mehrfach berichtet (Tharp et al. 1992; Estivill et al. 1985; Trottier et al. 1975). Diese verschwanden aber mit Senkung des Leucinspiegels. Des Weiteren wurde in der Literatur auch über pathologische Befunde im EEG bei älteren Patienten mit klassischer MSUD im Rahmen von Stoffwechselentgleisungen berichtet, im Sinne von Allgemeinveränderungen und epileptogenen Potentialen, die aber zumeist in den Phasen mit guter Stoffwechseleinstellung nicht reproduzierbar waren (Korein et al. 1994). Ähnliches wurde von Snyderman (1988) über Patienten mit MSUD unter Leucin-Belastung berichtet. Bei insgesamt 5 Patienten dieser Studie, alle zur Gruppe mit mittelmäßiger Stoffwechseleinstellung gehörend, wurden chronisch - außerhalb von Stoffwechselentgleisungen - Allgemeinveränderungen nachgewiesen. Bei 2 Patienten hatten die EEG-Veränderungen zu einer prophylaktischen Behandlung mit Antikonvulsiva geführt.

Bei einigen Patienten der vorliegenden Studie wurde in unterschiedlichem Alter jenseits der Neugeborenenphase eine kraniale Bildgebung mittels CT oder MRT durchgeführt. Ziel dieser Untersuchungen war nicht die systematische Fahndung nach morphologischen Veränderungen ähnlich einer Dysmyelinisierung, wie sie bei wenigen Patienten mit längerfristig hohen Plasmaleucinspiegeln beschrieben wurden (Treacy et al. 1992). Inzwischen hat sich aber bei den in Düsseldorf betreuten jugendlichen Patienten dieser Studie gezeigt, dass nahezu konstant ausgeprägte Zeichen der Dysmyelinisierung in verschiedenen Hirnregionen (weiße Substanz, bis hinunter in die Medulla oblongata) vorhanden sind, wie sie auch für Patienten mit Phenylketonurie unter anhaltend hohen Plasmaphenylalaninspiegeln

von $>1,2$ mmol/l fast regelmäßig beschrieben wurden (Ullrich et al. 1994). Was dies zu bedeuten hat, besonders auch in Hinblick auf mögliche Zerebralschäden, ist ebenso wie bei den Patienten mit Phenylketonurie, völlig unbekannt. Ein systematischer Vergleich von Ausmaß und Ausdehnung dieser Zeichen von Dysmyelinisierung mit dem durchschnittlichen Plasmaleucinspiegel während unterschiedlich langer, der Untersuchung vorangehender Zeiträume wurde bereits begonnen.

Eingehende Untersuchungen zum Schädigungsmechanismus chronisch erhöhter Blutspiegel der toxischen Metabolite Leucin/KIC liegen bislang nicht vor. Es darf angenommen werden, dass die bislang beschriebenen Mechanismen der akuten Neurotoxizität auch bei chronisch erhöhten Plasmakonzentrationen dieser Substanzen unterhalb der manifesten metabolischen Entgleisung ZNS-schädigend wirksam sind. Im ZNS können erhöhte extrazelluläre Konzentrationen von Leucin/KIC die Wiederaufnahme von Glutamat in präsynaptische Vesikel hemmen, wie in Tierversuchen belegt wurde (Tavares et al. 2000). Hier sei nochmals auf die in der Einleitung angesprochene neurotoxische Wirkung permanent erhöhter Glutamatkonzentrationen im synaptischen Spalt als mögliche Ursache chronischer Neurotoxizität hingewiesen, wie von Lipton & Rosenberg (1994) und Price (1999) beschreiben. Von einem solchen Schädigungsmuster sollen besonders das Lernen und die Gedächtnisbildung betroffen sein (Ozawa et al. 1998).

Resumée:

Durch die vorliegende Untersuchung wird deutlich, dass optimale Ergebnisse hinsichtlich der intellektuellen und neurologischen Entwicklung sowie des schulisch-beruflichen Outcomes nur dann erreicht werden, wenn die Einwirkung sehr hoher Konzentrationen der neurotoxischen Substanzen Leucin und KIC auf das Zentralnervensystem während der Neonatalzeit von nur relativ kurzer Dauer (unbedingt < 21 Tage) ist und langfristig eine gute Stoffwechseleinstellung mit Plasmaleucinspiegeln im normnahen Bereich erfolgt.

Nach Einführung der Tandem-Massenspektrometrie in das Neugeborenencreening in Deutschland (Liebl et al 2002) ist zu erwarten, dass sich die Ausgangssituation beim Neugeborenen mit klassischer MSUD deutlich verbessern wird. Mit dieser Methode ist auch die MSUD zusammen mit vielen anderen Stoffwechselstörungen bereits im Blut am dritten Lebenstag zu erkennen. Bei kurzen Laufzeiten des Neugeborenencreenings (Versand des

Trockenbluts, Messung, Meldung eines positiven Befundes an die einsendende Klinik) wird man schließlich einen Patienten mit klassischer MSUD noch zu Beginn einer schweren Enzephalopathie mit Koma bei noch nicht extrem hohen Plasmaleucinspiegeln identifizieren, so dass Maßnahmen der extrakorporalen Detoxifizierung unterbleiben können und – sehr wichtig – das Risiko einer Schädigung des ZNS in dieser vulnerablen Phase geringer als bisher ist.

Durch die Untersuchung bleibt offen, ob es, wie für die PKU berichtet, eine alterskorrelierte Reduktion der Vulnerabilität des ZNS für Leucin/KIC gibt, d.h. ob es einen Zeitpunkt gibt, zu dem die Intelligenzentwicklung stabilisiert ist und auch gegenüber mäßiggradig erhöhten Leucin/KIC-Konzentrationen nicht mehr anfällig ist. Für die Phenylketonurie scheint dieser Zeitpunkt mit dem 10. Lebensjahr erreicht zu sein (Burgard 2000). In der vorliegenden Untersuchung ist der Vergleich der Höhe des longitudinalen Plasmaleucinspiegels mit der erreichten Intelligenz am Ende des 6. Lebensjahres der Patienten erfolgt. Für eine Untersuchung zur alterskorrelierten Vulnerabilität des ZNS gegenüber Leucin/KIC müsste man für einen Vergleich der beiden Größen ein höheres Alter, z.B. das 12. Lebensjahr heranziehen und nur Patienten des Clusters 1. Eine solche Studie ist aber wegen der sehr beschränkten Patientenzahl unrealistisch. Auf keinen Fall wird man bei der MSUD für die Konzentration des Plasmaleucins, kontrolliert oder unkontrolliert, ähnlich hohe (ca. 20-fach erhöhte) Werte zulassen, wie etwa für den Plasmaphenylalaninspiegel bei Patienten mit Phenylketonurie, da Leucin (und KIC) im Vergleich mit Phenylalanin bei äquimolaren Konzentrationen eine sehr viel höhere intrinsische Neurotoxizität aufweist. Diese würde bei derart hohen Konzentrationen immer zu akuten Beeinträchtigungen des ZNS führen mit Ataxie, weiteren funktionellen Störungen und Koma. Über Art und Ausmaß von funktionellen Störungen des ZNS in Abhängigkeit vom Plasmaleucinspiegel ist bei der MSUD bisher nichts bekannt, ebenso wenig über die klinische Auswirkung der oben erwähnten Zeichen der Dysmyelinisierung bei langfristig hohen Plasmaleucinspiegeln.

5 Zusammenfassung

Bei der klassischen Form der Ahornsirupkrankheit (MSUD) kommt es wenige Tage nach der Geburt aufgrund eines erblichen Enzymdefekts zu einem starken Anstieg der Konzentrationen der drei verzweigtkettigen Aminosäuren Leucin, Valin und Isoleucin sowie ihrer korrespondierenden α -Ketosäuren in Blut und Geweben. Gleichzeitig weisen die Neugeborenen eine schwere metabolische Enzephalopathie mit Koma auf, die eindeutig durch die neurotoxische Wirkung hoher Konzentrationen des Aminosäure/ α -Ketosäurepaars Leucin/KIC entsteht. Nach Diagnosesstellung hat eine rasche extrakorporale Detoxifizierung zu erfolgen, um die Leucin/KIC Spiegel innerhalb weniger Tage in den ungefährlichen, nur noch mäßig erhöhten Bereich zu senken und so einen schweren bleibenden Schaden am vulnerablen Gehirn des Neugeborenen zu vermeiden. Es schließt sich eine lebenslange Diät mit einer deutlich reduzierten Zufuhr der drei verzweigtkettigen Aminosäuren in der Nahrung an. Es gilt als sicher, dass es, wenn der Plasmaleucinspiegel während der Neonatalperiode über eine zu lange Zeit (>27 Tage) stark erhöht (> 1,0 mmol/l) bleibt, zu einer bleibenden Beeinträchtigung des ZNS kommt mit ausgeprägten neurologischen Symptomen, im Allgemeinen mit einer ausgeprägten Spastik in allen Muskelgruppen. Bleiben die sehr hohen Leucin/KIC-Spiegel und die Enzephalopathie hingegen von relativ kurzer Dauer (<<21 Tage), so ist mit einer Normalisierung der Beeinträchtigung des ZNS innerhalb weniger Tage und mit einer normalen neurologischen Entwicklung zu rechnen. Frühere Untersuchungen hatten ergeben, dass es bereits beim Bestehen einer metabolischen Enzephalopathie von länger als 5-10 Tagen zu einer späteren Beeinträchtigung der Intelligenzleistungen kommt.

Mit dieser Arbeit wurde erstmals der Versuch unternommen, bei Patienten mit klassischer MSUD das intellektuelle, neurologische sowie schulisch-berufliche Outcome mit der Höhe der mittleren longitudinalen Plasmaleucinspiegel der ersten sechs Lebensjahre zu korrelieren. Es war das Ziel, dadurch Aufschluss darüber zu erhalten, in welchem Ausmaß die Höhe des longitudinalen Plasmaleucinspiegels die intellektuelle Leistungsfähigkeit der Patienten mit klassischer MSUD beeinflusst. Zu diesem Thema gab es bislang in der internationalen Literatur keine Daten.

Die geplante Untersuchung hatte zu berücksichtigen, dass es bei den Patienten während der ersten Lebenstage bis zum Zeitpunkt der Diagnosesstellung im Rahmen der Enzephalopathie

bereits zu einer gewissen Schädigung des ZNS gekommen war. Dabei musste in erster Linie sichergestellt sein, dass die Beeinträchtigung des ZNS reversibel und die Schädigung so gering war, dass noch die ganze Spannbreite einer möglichen intellektuellen Beeinträchtigung durch unterschiedlich hohe longitudinale Leucinspiegel bestand.

Um diese Voraussetzung zu gewährleisten, wurden von der Gesamtzahl der untersuchten Patienten mit klassischer MSUD die Patienten abgetrennt, welche in der gesamten Neugeborenenphase (> 27. Lebenstag) einen Plasmaleucinspiegel > 1mmol/l aufwiesen. Für diese Gruppe war hierdurch ein deutlicher funktionell-neurologischer Schaden gesetzt worden, dementsprechend zeigten die Patienten bereits im Säuglingsalter eine gestörte psychomotorische Entwicklung und eindeutige neurologische Symptome mit Spastik. Diese Patientengruppe (N=6) wurde von vornherein getrennt behandelt.

Die vorgenannte Bedingung schien für eine Gruppe von 24 Patienten aus einem Gesamtkollektiv von 31 Patienten mit klassischer MSUD (mittleres Alter 15 Jahre; Bereich 6-29 Jahre) erfüllt zu sein. Diese Patienten hatten entweder gar keine Enzephalopathie, da prospektiv behandelt (N=3), oder der Plasmaleucinspiegel hatte innerhalb der ersten 15 ± 3 Lebenstage einen Spiegel von 1mmol/l unterschritten. Alle diese Patienten wiesen später nach Senkung der Plasmaleucinspiegel in den ungefährlichen Bereich keine neurologischen Symptome auf.

Für diese Patientengruppe wurde unter Heranziehung der Jahresmediane der Plasmaleucinspiegel während der ersten sechs Lebensjahre eine Clusteranalyse durchgeführt. Dadurch wurden drei Verlaufstypen der Langzeiteinstellung des Plasmaleucinspiegels identifiziert und statistisch validiert.

Patienten des Clusters 1 (N=8) waren bezüglich ihres Plasmaleucinspiegels exzellent eingestellt und weisen im Durchschnitt während der ersten sechs Lebensjahre durchschnittlich eine 1,5-fache Erhöhung des Plasmaleucinspiegels auf. Cluster 2 bestand aus 13 Patienten mit mäßiggradiger Einstellung und einem langfristigem mittleren Plasmaleucinspiegel vom 3-fachen der Norm. Patienten in Cluster 3 (N=3) waren schlecht eingestellt und wiesen im Durchschnitt während der ersten Jahre durchschnittliche Plasmaleucinspiegel vom 4,5-fachen

der Norm auf. Mit zunehmendem Alter der Patienten stellte sich heraus, dass nach dem sechsten Lebensjahr nur die Patienten im Cluster 1 weiterhin exzellent eingestellt blieben, während die anderen Patienten im allgemeinen deutliche Anstiege des Plasmaleucins aufwiesen mit durchschnittlichen Spiegeln ab der Pubertät von 600 –800 $\mu\text{mol/l}$.

Die Intelligenzleistungen der Patienten unterschieden sich um das 6. Lebensjahr für die drei Cluster signifikant. Patienten in Cluster 1 erreichten für den IQ einen Median von 102 Punkten (Bereich 86 -108), in Cluster 2 erreichten sie einen Median von 76 (Bereich: 57-99) und die Patienten aus Cluster 3 einen Median von 57 (Bereich: 50-64). Für die Patienten mit schlechter Langzeiteinstellung (Cluster 3) blieb das erreichte schulisch - berufliche Niveau parallel zu den Intelligenzleistungen recht tief im Bereich einer Sonderschule für Lernbehinderte. Nur ausnahmsweise wiesen Patienten in Cluster 2 eine normale Schullaufbahn auf; die Mehrzahl benötigte spezielle Fördermaßnahmen und besuchte die Sonderschule für Körper- und Geistigbehinderte. Von einer im Vergleich zu den nicht von der MSUD betroffenen Geschwistern vollkommen normalen Schullaufbahn mit vergleichbar guten Leistungen wurde bei Patienten des Clusters 1 mit langfristig exzellenter Stoffwechseleinstellung berichtet. Von den drei prospektiv behandelten Patienten, ohne jede Erhöhung des Plasmaleucinspiegels während der Neonatalperiode auf über 1 mmol/l , erreichte nur die Patientin mit einer später exzellenten Stoffwechselkontrolle ein vollständig normales und altersgerechtes intellektuelles und neurologisches Outcome.

Vorbestehende, die Compliance und damit die Qualität der Diätkontrolle beeinflussende Faktoren konnten in dieser Untersuchung nicht auf Signifikanzniveau nachgewiesen werden.

Ein optimales Ergebnis hinsichtlich der intellektuellen und neurologischen Entwicklung sowie des schulisch-beruflichen Outcomes kann nur dann erreicht werden, wenn die Einwirkung sehr hoher Konzentrationen der neurotoxischen Substanzen Leucin und KIC auf das Zentralnervensystem während der Neonatalzeit von nur relativ kurzer Dauer (unbedingt < 21 Tage) ist und langfristig eine gute Stoffwechseleinstellung mit Plasmaleucinspiegeln im normnahen Bereich erfolgt.

6 Literaturverzeichnis

1. Aevarsson A, Chuang JL, Wynn RM, Turley S, Chuang DT, Hol WG. Crystal structure of human branched-chain alpha-ketoacid dehydrogenase and the molecular basis of multienzyme complex deficiency in maple syrup urine disease. *Structure Fold Des* 8: 277-291, 2000
2. Al-Essa M, Al-Hussein K, Ozand PT. 2-[fluorine-18]fluoro-2-deoxy-D-glucose PET scan of the brain in maple syrup urine disease. *Clin Nucl Med* 24: 612-613, 1999
3. Aoki K, Yoshiro W. Outcome of the patients detected by newborn screening in Japan. *Acta Paediatr Jpn* 30: 429-434, 1988
4. Appel SH. Inhibition of brain protein synthesis: an approach to the biochemical basis of neurological dysfunction in the amino acidurias. *Trans N Y Acad Sci* 29: 63 – 70, 1966
5. Araujo P, Wassermann GF, Tallini K, Furlanetto V, Vargas CR, Wannmacher CMD, Dutra-Filho CS, Wyse ATS, Wajner M. Reduction of large neutral amino acid levels in plasma and brain of hyperleucenemic rats. *Neurochem Int* 38: 529-537, 2001
6. Backhouse O, Leitch RJ, Thompson D, Kriss A, Charris D, Clayton P, Russel-Eggitt I. A case of reversible blindness in maple syrup urine disease. *Br J Ophthalmol* 83: 250-251, 1999
7. Brismar J, Aqeel A, Brismar G, Coates R, Gascon G, Ozand P. Maple syrup urine disease: findings on CT and MRI scans of the brain in 10 infants. *AJNR* 11: 1219-1228, 1990
8. Brosius G, Brosius F. SPSS. Base System und Professional Statistics 1.Aufl.- Bonn; Albany [u.a.]:International Thomson Publishing 1995
9. Burgard P, Schmidt E, Rupp A, Schneider W, Bremer HJ. Intellectual development of the patients of the german collaborative study of children treated for phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 155: S33-S38, 1996
10. Burgard P, Rey F, Rupp A, Abadie V, Rey J. Neuropsychologic functions of early treated patients with phenylketonuria, on and off diet: results of a cross-national and cross-sectional study. *Pediatric Research* 41: 368-374, 1997
11. Burgard P. Die Phenylketonurie als Modell zur Untersuchung des Einflusses biologischer Variablen auf die Intelligenzentwicklung in der mittleren und späten Kindheit. Habilitationsschrift. Universität Heidelberg 1997
12. Burgard P. Development of intelligence in early treated phenylketonuria. *Eur J Pediatr* 159 Suppl 2:S74-79, 2000
13. Chuang D. Maple syrup urine disease: it has come a long way. *J Pediatr* 132: S17-S23, 1998

14. Chuang DT, Shih VE. Maple syrup urine disease (branched-chain ketoaciduria). In: *Scriver CR, Beaudet AL, Sly W, Valle D (eds.). The metabolic and molecular bases of inherited disease. 8th ed., pp 1971-2005, 2001*
15. Clow CL, Reade TM, Scriver CR. Outcome of early and long-term management of classical maple syrup urine disease. *Pediatrics* 68: 856-862, 1981
16. Coitinho AS, De Mello CF, Fortes Lima TT, De Bastiani J, Rechia Figera M, Wajner M. Pharmacological evidence that α -ketoisovaleric acid induces convulsions through GABAergic and glutamatergic mechanisms in rats. *Brain Research* 894: 68-73, 2001
17. Dancis J, Hutzler J, Snyderman SE, Cox RP. Enzyme activities in classical and variant forms of maple syrup urine disease. *J Pediatr* 81: 312-320, 1972
18. Dodd PR, Williams SH, Gundlach AL, Harper PA, Healy PJ, Dennis JA, Johnston GA. Glutamate and γ -aminobutyric acid neurotransmitter systems in the acute phase of maple syrup urine disease and citrullinemia encephalopathies in newborn calves. *J Neurochem* 59: 582 – 590, 1992
19. Estivill E, Sanmarti FX, Vidal R, Alvira R, Lizarraga I, Linares J. Comb-like rhythm: an EEG pattern peculiar to leucinosi. *An Esp Pediatr* 22: 123 – 127, 1985
20. Heindel W, Kugel H, Wendel U, Roth B, Benz-Bohm G. Proton magnetic resonance spectroscopy reflects metabolic decompensation in maple syrup urine disease. *Pediatr Radiol* 25: 296-9, 1995
21. Hilliges C, Awiszus D, Wendel U. Intellectual performance of children with maple syrup urine disease. *Eur J Pediatr* 152: 144-147, 1993
22. Jouvett P, Rustin P, Taylor DL, Pocock JM, Felderhoff-Mueser U, Mazarakis ND, Sarraf C, Joashi U, Kozma M, Greenwood K, Edwards AD, Mehmet H. Branched chain amino acids induce apoptosis in neural cells without mitochondrial membrane depolarization or cytochrome c release: Implications for neurological impairment associated with maple syrup urine disease. *Molecular Biology of the Cell* 11: 1919-1932, 2000
23. Kaplan P, Mazur A, Field M, Berlin J, Berry GT, Heidenreich R, Yudkoff M, Segal S. Intellectual outcome in children with maple syrup urine disease. *J Pediatr* 119: 46-50, 1991
24. Kleopa KA, Raizen DM, Friedrich CA, Brown MJ, Bird SJ. Acute axonal neuropathy in maple syrup urine disease. *Muscle Nerve* 24: 284-287, 2001

25. Korein J, Sansaricq C, Kalmijn M, Honig J, Lange B. Maple syrup urine disease: clinical, EEG, and plasma amino acid correlations with a theoretical mechanism of acute neurotoxicity. *Intern J Neuroscience* 79: 21 – 45, 1994
26. Lang F, Schwahn B, Huisman J, Helbling C, Wendel U. Einsatz von gebrauchsfertiger leuzin-, isoleuzin- und valinfreier Säuglingsnahrung für die Ernährung bei Ahorn-sirupkrankheit im ersten Lebensjahr. *Aktuelle Ernährungsmedizin* 23: 230-233, 1998
27. Liebl B, Nennstiel-Ratzel U, von Kries R, Fingerhut R, Olgemoller B, Zapf A, Roscher AA. Expanded newborn screening in Bavaria: tracking to achieve requested repeat testing. *Prev Med* 34: 132-137, 2002
28. Lipton SA, Rosenberg PA. Excitatory amino acids as a final common pathway for neurologic disorders. *New Engl J Med* 330: 613-622, 1994
29. Menkes JH, Hurst PL, Craig JM. A new syndrom: progressive familial infantile cerebral dysfunction associated with an unusual urinary substance. *Pediatrics* 14: 462-464, 1954
30. Menkes JH. A didactic autobiography. *J Child Neurol* 10: 191-198, 2001
31. Naughten ER, Jenkins J, Francis DEM, Leonard JV. Outcome of maple syrup urine disease. *Arch Dis Child* 57: 918-921, 1982
32. Nord A, van Doorninck J, Greene C. Developmental profile of patients with maple syrup urine disease. *J Inher Metab Dis* 14: 881-889, 1991
33. Nyhan WL, Rice-Kelts M, Klein J, Barshop BA. Treatment of the acute crisis in maple syrup urine disease. *Arch Pediatr Adolesc Med* 152: 593-598, 1998
34. Ogier H, Wendel U, Saudubray JM. Branched-chain organic acidurias. In: Fernandes J, Saudubray JM, van den Berghe G (Hrsg.) *Inborn Metabolic Diseases*: S. 207 – 221. Springer, 1995
35. Online Mendelian Inheritance in Man. OMIM™. Johns Hopkins University Baltimore, MD. 248600; 248611; 248610: 2001. 246900: 1999. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>
36. Ozawa S, Kamiya H, Tsuzuki K. Glutamate receptors in the mammalian central nervoussystem. *Prog Neurobiol* 54: 581-618, 1998
37. Price DL. New order from neurologic disorders. *Nature* 399 suppl. 24: A3-A5, 1999
38. Rousson R, Guibaud P. Long term outcome of organic acidurias: survey of 105 french cases (1967-1983). *J Inher Metab Dis* 7 Suppl 1: 10-12, 1984
39. Rupp A, Burgard P. Comparison of different indices of dietary control in phenylketonuria. *Acta Paediatr* 84: 521-527, 1985
40. Schadewaldt P, Beck K, Wendel U. Analysis of maple syrup urine disease in cell culture: use

of substrates. *Clin Chim Acta* 184: 47 – 56, 1989

41. Schadewaldt P, Wendel U. Metabolism of branched-chain amino acids in maple syrup urine disease. *Eur J Pediatr* 156: S62-S66, 1997
42. Schadewaldt P, Bodner A, Brösicke H, Hammen HW, Wendel U. Assessment of whole body L-leucine oxidation by noninvasive L-[1-¹³C]leucine breath test: a reappraisal in patients with maple syrup urine disease, obligate heterozygotes and healthy subjects. *Pediatric Research* 43: 592-600, 1998
43. Schadewaldt P, Bodner-Leidecker A, Hammen HW, Wendel U. Significance of L-alloisoleucine in plasma for diagnosis of maple syrup urine disease. *Clinical Chemistry* 45: 1734-40, 1999
44. Schaefer F, Straube E, Oh J, Mehls O, Mayatepek E. Dialysis in neonates with inborn errors of metabolism. *Nephrol Dial Transplant* 14: 910-918, 1999
45. Schwahn B, Wendel U, Kugel H. Cerebral metabolite quantification by proton magnet resonance spectroscopy in patients with maple syrup urine disease. *J Inher Metab Dis* 23 Suppl 1: 80, 2000
46. Silberberg DH. Maple syrup urine disease metabolites studied in cerebellum cultures. *J Neurochem* 16: 1141 – 1146, 1969
47. Skladal D, Grissenauer G, Konstantopoulou V, Felber S, Sperl W. Very high plasma leucine concentrations without neurological symptoms in a patient with classical maple syrup urine disease. *J Inher Metab Dis* 23: 513-514, 2000
48. Snydermann SE. Treatment outcome of maple syrup urine disease. *Acta Paediatr Jpn* 30: 417-424, 1988
49. Taccone A, Schiaffino MC, Cerone R, Fondelli MP, Romano C. Computed tomography in maple syrup urine disease. *Eur J Radiol* 14: 207-212, 1992
50. Tavares RG, Santos CES, Tasca CI, Wajner M, Souza DO, Dutra-Filho CS. Inhibition of glutamate uptake into synaptic vesicles of rat brain by the metabolites accumulating in maple syrup urine disease. *J Neurol Sci* 181: 44-49, 2000
51. Tharp BR. Unique EEG pattern (comb-like rhythm) in neonatal maple syrup urine disease. *Pediatr Neurol* 8: 65-68, 1992

52. Treacy E, Clow CL, Reade TR, Chitayat D, Mamer OA, Scriver CR. Maple syrup urine disease: interrelations between branched chain amino-, oxo-, and hydroxyacids; implications for treatment; associations with CNS dysmyelination. *J Inher Metab Dis* 15: 121-135, 1992
53. Trottier A, Metrakos G, Geoffroy G, Anderman F. A characteristic EEG finding in newborns with maple syrup urine disease (branched-chain ketoaciduria). *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 38: 108, 1975
54. Ullrich K, Moller H, Weglage J, Schuierer G, Bick U, Ludolph A, Hahn-Ullrich H, Funders B, Koch HG. White matter abnormalities in phenylketonuria: results of magnetic resonance measurements. *Acta Paediatr Suppl* 407: 78-82, 1994
55. Wajner M, Coelho DM, Barschak AG, Araújo PR, Pires RF, Lulhier FLG, Vargas CR. Reduction of large neutral amino acid concentrations in plasma and CSF of patients with maple syrup urine disease during crises. *J Inher Metab Dis* 23: 505-512, 2000
56. Wajner M, Vargas CR. Reduction of plasma concentrations of large neutral amino acids in patients with maple syrup urine disease during crises. *Arch Dis Child* 50:579, 1999
57. Wendel U, Langenbeck U, Seakins JWT. Interrelation between the metabolism of L-isoleucine and L-allo-isoleucine in patients with maple syrup urine disease. *Pediatr Research* 25: 11-14, 1989
58. Wendel U, Lombeck I, Bremer H. Maple syrup urine disease. *NEJM* 308:1100-1001, 1983
59. Wendel U, Saudubray JM, Bodner A, Schadewaldt P. Liver transplantation in maple syrup urine disease. *Eur J Pediatr* 158: S60-S64, 1999
60. Yudkoff M. Brain metabolism of branched-chain amino acids. *Glia* 21: 92-98, 1997

7 Anhang

7.1 Anhang I : Fragebogen europäische Stoffwechselzentren

Questionnaire about Variant MSUD

Number of patients with MSUD cared for at our hospital _____
of them: classic forms _____
variant forms _____
of patients with variant forms: (a) intermediate _____
(b) intermittent _____
of thiamine-responsive patients _____

Alloisoleucine/Isoleucine-Ratio (in the variants) Residual BCOAD-activity in fibroblasts

*Of course we do the calculations of the
Allo-ile/Ile-ratio on our own, if you like!
(However then we need a set of data)*

Do you know the residual enzyme activity of the Branched-Chain
Oxoacid-Dehydrogenase in the variant patients?
Please give in percent of normal activity.

Patient No.1 (variant:)		Patient No.2 (variant:)	
mean Alloisoleucine (mmol/l):	mean Isoleucine (mmol/l):	mean Alloisoleucine (mmol/l):	mean Isoleucine (mmol/l):
Residual BCOAD-activity (in%):		Residual BCOAD-activity (in%):	
Patient No.3 (variant:)		Patient No.4 (variant:)	
mean Alloisoleucine (mmol/l):	mean Isoleucine (mmol/l):	mean Alloisoleucine (mmol/l):	mean Isoleucine (mmol/l):
Residual BCOAD-activity (in%):		Residual BCOAD-activity (in%):	

Thank you very much for your help!

7.2 Anhang II: Fragebogen deutschsprachige Stoffwechsellzentren

Fragebogen zu Behandlung und Entwicklung von MSUD-Patienten

Patient(ID):

Geburtsdatum:

Behandelnde Klinik:

1. Familienanamnese

Herkunft der Eltern:

Todesfälle in der
Familie der/des :

Mutter

Vaters

Eltern konsanguin?

Schulabschluß und Beruf der Eltern:

Geschwister (Anzahl, betroffen/gesund):

Ausbildung und Beruf der Geschwister:

Wurde pränatale Diagnostik in der Familie durchgeführt?

2. Form der MSUD

Erste klinische Anzeichen im Alter von :

Welcher Art?

Wurde auf Geruch geachtet bei Neugeborenen mit Enzephalopathie?

Diagnosestellung im Alter

bei BCAA-Plasmaspiegeln von

Leucin
Valin
Isoleucin
Alloisoleu

Wurde eine Belastungsuntersuchung zur Charakterisierung
des Schweregrades durchgeführt?

Wurden Enzymuntersuchungen in Leukozyten/
Fibroblasten veranlaßt? Wenn ja, wo?

Restaktivität des Enzyms in % der Norm: _____

Sind molekulargenetische Untersuchungen durchgeführt worden?

3. Akutbehandlung

Welche Art der Toxinelimination wurde durchgeführt? :

AT / PD / Hämofiltration / keine Toxinelimination

Unmittelbarer Ausgangsspiegel : _____ Val
(im Plasma) _____ Ile

... nach Beendigung der Elimination: _____ Val
_____ Ile

_____ Leu
von (_____) Tag, Uhrzeit

_____ Leu
bis (_____)

Wann wurde Plasma-Leucin unter 1 mM (13,1 mg/dl) erreicht?

Zusätzlich Insulingabe während der Toxinelimination ?

Bitten spezifizieren Sie die Maßnahmen, falls keine Toxinelimination durchgeführt wurde:

Nahrungsaufbau

Wann (bei welchen Leu-Spiegeln) wurden Valin/Isoleucin getrennt zugesetzt ?

Wenn ja, wieviel an welchem Tag?

Wann war volle orale Ernährung erreicht (Tage nach Toxinelimination)?

Wann war das Kind klinisch deutlich besser?

4. Stationäre Aufenthalte

Alter	Anlaß	Bitte nennen Sie den Plasmaleucinwert bei Aufnahme, die Art der Akutbehandlung und Notfalltherapie. Wurde eine Dialyse durchgeführt? Evtl. Behandlungsfehler, klin. Auffälligkeiten

Gibt es bei Ihnen einen Plasma-Leucin-Grenzwert, bei dessen Überschreiten der Patient aufgenommen werden muß?

Waren operative Eingriffe nötig, welche Spezialtherapie wurde dabei durchgeführt?

5. Psychomotorische Entwicklung

Neurologische Befunde:

„Apparative Neurologie“

Alter	EEG	MRT	CT

Intelligenztestung?

Zeitpunkt:		
Verfahren:		
Ergebnisse:		

Sprachentwicklung:

Schulbildung / Beruf:

Wachstumsdaten

Wachstum auf welcher Perzentile? Länge _____ Gewicht _____

Messung bei letzter Vorstellung: Alter _____ Länge _____ Gewicht _____

Skeletalter (in Relation zu chronologischem Alter) :

Größe des Vaters _____ der Mutter _____ der Geschwister _____

Pubertätsentwicklung

Tannerstadien bei letzter Vorstellung :

6. Sonstiges

Komplikationen (Alopezie, Hauterscheinungen, Pankreatitis):

Diät-Compliance:

7. Regelmäßige Überwachung

Welches sind Ihre Zielwerte bezüglich der Plasma-BCAA:

Wie oft werden die Plasmaamino­säuren gemessen?
(Altersabhängigkeit darstellen)

Messen Sie die BCAA im Kurzprogramm?

Wie oft messen Sie die Aminosäuren im Gesamtlauf?

Führen Sie regelmäßig Bestimmungen zum Carnitin,
Vitamin- und Eisenstatus durch?

Setzen Sie bei der Behandlung Thiamin ____
Liponsäure ____ ein?

Können Sie genaue Angaben zur Diät machen?

Alter	Leuzinzufuhr (mg)	Körpergewicht (kg)	Leuzin/kgKG
3 Mo.			
6 Mo.			
9 Mo.			
12 Mo.			
18 Mo.			
24 Mo.			
3 J.			
4 J.			
5 J.			
6 J.			
7 J.			
8 J.			
9 J.			
10 J.			
11 J.			

Können Sie Angaben zu den mittleren Plasmaleucinspiegeln machen?
 (Gerne bieten wir Ihnen unsere Hilfe an)

Alter	Plasma-Leucin (Median)
< 6 Mo.	
6-12 Mo.	
12-18 Mo.	
18-24 Mo.	
2-3 J.	
3-4 J.	
4-5 J.	
5-6 J.	
6-7 J.	
7-8 J.	
8-9 J.	
9-10 J.	
10-11 J.	

Wenn Sie Mediane berechnet haben, geben Sie bitte Ihre Kriterien für die Berechnung an. (Wieviele Mehrfachmessungen innerhalb kurzer Zeiträume bei Stoffwechsellentgleisungen wurden berücksichtigt?)

Nur zu Varianten MSUD: Bitte weitere, genauere Angaben zu Diagnosezeitpunkt, Behandlung und Verlauf.

Vielen Dank für Ihre Mitarbeit!

7.3 Anhang III: Statistische Parameter der Clusteranalyse

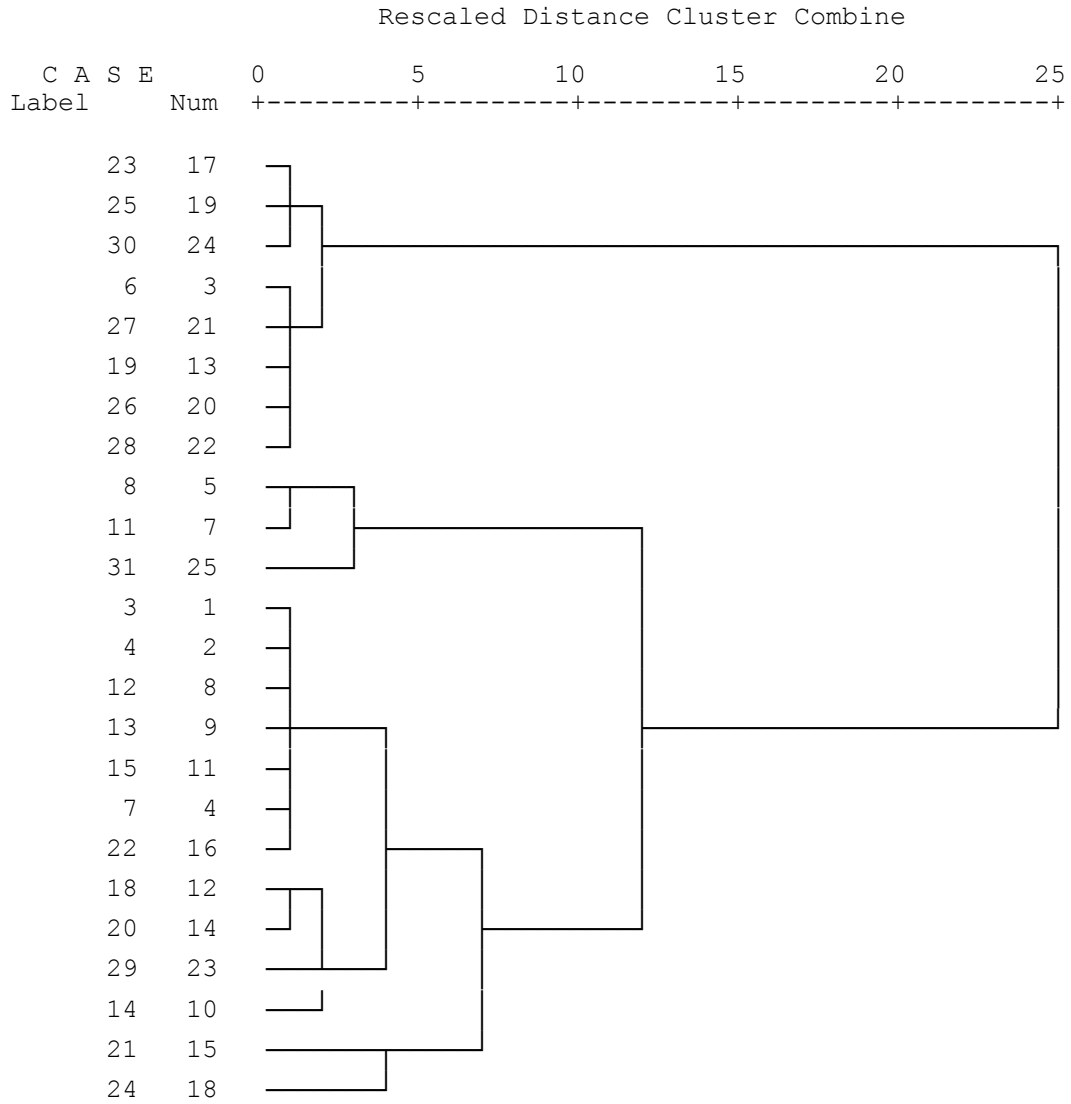
a) Zuordnungsübersicht, Vereinigungsschritte und Distanzkoeffizienten

Vereinigungsschritt	Zusammengeführte Cluster		Koeffizienten
	Cluster 1	Cluster 2	
1	17	19	10494,500
2	3	21	22349,000
3	9	11	35060,500
4	13	20	48635,500
5	1	2	63873,000
6	17	24	81914,500
7	4	9	101418,336
8	1	8	127936,172
9	13	22	165676,500
10	12	14	204195,500
11	5	7	245491,500
12	4	16	287805,906
13	3	13	356423,688
14	1	4	426136,875
15	12	23	516095,875
16	10	12	652065,125
17	3	17	790289,625
18	5	25	959690,313
19	1	10	1199675,625
20	15	18	1444564,625
21	1	15	1960576,000
22	1	5	2823482,500
23	1	3	4660840,000

b) Dendrogramm

**** H I E R A R C H I C A L C L U S T E R A N A L Y S I S ****

Dendrogram using Ward Method



7.4 Anhang IV: Verzeichnis der Intelligenz- und Entwicklungstestverfahren

- (a) Bühler C, Hetzer H. Bühler-Hetzer-Kleinkindertest (BHKT), 1932
- (b) Kramer J. Kramer-Test. 4. Auflage, 1972
- (c) Tewes U. Hamburg-Wechsler Intelligenztest für Kinder - Revision 1983 (HAWIK-R)
- (d) Tewes U. Hamburg-Wechsler Intelligenztest für Erwachsene – Revision 1991 (HAWIE-R)
- (e) Tellegen PJ. Snijders-Oomen Non-verbaler Intelligenztest (SON-R 2 ½ - 7), 1996
- (f) Brandt I. Griffiths-Entwicklungsskalen (GES), Deutsche Bearbeitung, 1982
- (g) Kaufmann AS, Kaufmann NL. Kaufmann Assessment Battery for Children (K-ABC), Deutsche Version, 3. Auflage 1994
- (h) Tellegen PJ. Snijders-Oomen Non-verbaler Intelligenztest (SON-R 5 ½ - 17), 1987
- (i) Hellbrügge T. Münchner Funktionelle Entwicklungsdiagnostik (MFED), 4. Aufl., 1994

Danksagung

An erster Stelle möchte ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Wendel für die Überlassung des Themas und die hervorragende, engagierte und motivierende Betreuung in allen Phasen der Untersuchung danken.

Für die freundliche Hilfe und kooperative Zusammenarbeit bei der Bereitstellung von Patientenunterlagen und dem Ausfüllen des Fragebogens möchte ich mich besonders bei den im Folgenden genannten Kolleginnen und Kollegen bedanken. Ohne ihre Unterstützung wäre diese Untersuchung nicht realisierbar gewesen:

Herrn Dr. Niederhoff, Freiburg; Herrn PD Dr. Mayatepek, Heidelberg; Frau Dr. Leupold, Ulm; Herrn PD Dr. Kreuder, Gießen; Herrn PD Dr. Koch und Frau van Teffelen-Heithoff, Münster; Frau PD Dr. Schweitzer-Krantz, Düsseldorf/Hannover; Herrn PD Dr. Mallmann, Essen; Herrn PD Dr. Bökenkamp, Bonn; Frau Dr. Knerr und Herrn Dr. Renner, Erlangen; Herrn Dr. Ahring, Köln; Herrn Prof. Dr. Mönch, Berlin; Frau Dr. Baumgartner, Basel; Herrn Dr. Skladal, Innsbruck; Frau Dr. Plecko, Graz.

Für die Anregungen während mehrerer intensiver Gesprächsrunden zur Auswertung der erhobenen Daten möchte ich Herrn Prof. Dr. Schadewaldt, Diabetes-Forschungsinstitut der Universität Düsseldorf, sehr herzlich danken.

Für ihre auf die Intelligenztestung der Patienten gerichtete Durchsicht des Manuskriptes und die konstruktiven Verbesserungsvorschläge möchte ich mich bei Frau Dipl.-Psych. Kamp, Universitätskinderklinik Düsseldorf ebenfalls sehr herzlich bedanken.

Allem voran bleibt mir, meiner Frau und meinem Sohn für ihre Geduld und die positive Motivation zur Fertigstellung des Manuskriptes Dank zu sagen.

Behandlungsqualität und intellektuelles, neurologisches und schulisch-berufliches Outcome bei der klassischen Form der Ahornsirupkrankheit (MSUD)

vorgelegt von Christoph Helbling

Bei Patienten mit klassischer Form der Ahornsirupkrankheit (MSUD) ist eine möglichst frühzeitige Diagnosestellung in der Neugeborenenzeit sowie eine rasche und effiziente Detoxifizierung entscheidend für die Vermeidung irreversibler neurologischer Folgeschäden. Eine konsequente Stoffwechseleinstellung unter Monitoring der verzweigt-kettigen Aminosäuren im Plasma sollte sich anschließen. Ziel der Therapie ist eine dauerhafte Senkung des Leucinspiegels im Plasma in den Normbereich sowie das rechtzeitige Erkennen und Vermeiden metabolischer Entgleisungen im Rahmen von interkurrenten Infekten oder Diätfehlern.

In der vorliegenden Untersuchung wurde erstmals der Versuch unternommen, bei Patienten mit klassischer MSUD das intellektuelle, neurologische sowie schulisch-berufliche Outcome mit der Höhe der mittleren longitudinalen Plasmaleucinspiegel der ersten sechs Lebensjahre zu korrelieren. Hierzu wurde der Langzeitverlauf von 31 Patienten mit klassischer MSUD retrospektiv untersucht. Bei 6 Patienten bestand eine Enzephalopathie in der gesamten Neonatalzeit mit erstmaligem Unterschreiten von 1 mmol/l Plasmaleucin jenseits des 27. Lebensjahres. Alle Betroffenen hatten funktionell-neurologische Folgeschäden, die Hälfte war geistig behindert. Alle Patienten mit relativ kurzdauernder Entgleisung ($\ll 21$ Tage) bei Erstmanifestation wiesen nach Senkung der Plasmaleucinspiegel keine bleibenden neurologischen Schäden auf. Für diese Patienten wurde eine Clusteranalyse im Längsschnitt der ersten sechs Plasmaleucin-Jahresmediane durchgeführt und die gefundene Clusterstruktur in der Diskriminanzanalyse validiert.

Es konnten drei verschiedene Verlaufstypen der Langzeiteinstellung identifiziert werden. In Cluster 1 (n=8) hatten die Patienten eine im Mittel um das 1,5-fache des Normwertes eingestellte, exzellente Stoffwechselkontrolle. Die mittleren Plasmaleucinspiegel der Patienten in Cluster 2 (n=13) waren etwa dreifach der Norm erhöht und damit mittelmäßig eingestellt. In Cluster 3 (n=3) haben die Patienten mit dauerhaft vier- bis fünffach der Norm erhöhten Leucinwerten eine sehr schlecht eingestellte Stoffwechsellage. Die Intelligenzquotienten der Patienten unterschieden sich um das 6. Lebensjahr für die drei Cluster signifikant: Die Patienten in Cluster 1 erreichten einen Median von 102 (Bereich 86 - 108), in Cluster 2 einen Median von 76 (Bereich: 57-99) und Cluster 3 einen Median von 57 Punkten (Bereich: 50-64). Gut eingestellte Patienten erreichten, im Gegensatz zu den Patienten mit mittlerer und schlechter Diätkontrolle, eine normale Schullaufbahn. Von drei prospektiv behandelten Patienten erreichte nur die Patientin mit später exzellenter Stoffwechselkontrolle ein vollständig normales und altersgerechtes intellektuelles und neurologisches Outcome.

Eine optimales Ergebnis hinsichtlich der intellektuellen und neurologische Entwicklung sowie des schulisch-beruflichen Outcomes kann bei Patienten mit klassischer MSUD nur dann erreicht werden, wenn die Einwirkung sehr hoher Konzentrationen der neurotoxischen Substanzen Leucin und Ketoisocapronsäure auf das Zentralnervensystem während der Neonatalzeit von nur relativ kurzer Dauer (unbedingt $\ll 21$ Tage) ist und langfristig eine gute Stoffwechseleinstellung mit Plasmaleucinspiegeln im normnahen Bereich erfolgt.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Christoph Helbling
Geburtsdatum	18.04.1972
Geburtsort	Lippstadt
Familienstand	verheiratet
Kinder	Luis Samuel *02.04.2001 Nico Joel * 30.11.2002
Staatsangehörigkeit	deutsch
Konfession	römisch-katholisch
Anschrift	Hausdorffstr. 61 53129 Bonn
Telefon	0228-2094909

Ärztliche Tätigkeit

Januar 2001 – Juni 2002	Arzt im Praktikum, Universitätskinderklinik Bonn, Abteilung für Pädiatrische Hämatologie und Onkologie Leiter: Prof. Dr. Bode
Seit Juli 2002	Assistenzarzt , Universitätskinderklinik Bonn, Abteilung für Allgemeine Pädiatrie, Intensivstation Leiter: Prof. Dr. Lentze

Hochschulstudium

SS 1994 – SS 2000	Humanmedizin an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
1997	Famulatur Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Rom
1999 – 2000	Praktisches Jahr Innere Medizin – Universitätsklinik Düsseldorf, Klinik für Gastroenterologie, Leiter: Prof. Dr. Häussinger Chirurgie – Ospedale Regionale di Lugano, Schweiz Pädiatrie – Universitätskinderklinik Düsseldorf, Allgemeine Pädiatrie, Leiter: Prof. Dr. Lenard
16. Mai 2000	Studienabschluss mit der Ärztlichen Prüfung

Zivildienst

Oktober 1992 – Dezember 1993	DRK-Krankenhaus Hamburg-Rissen, Abteilung für Anästhesie
------------------------------	---

Schulabschluss

Mai 1992	Abitur am Ostendorf-Gymnasium Lippstadt
----------	---

Auslandsaufenthalt

Januar 1989 – Januar 1990	Gastfamilienaufenthalt mit Schulbesuch in Kolumbien und der Dominikanischen Republik
------------------------------	---

Bonn, 06.05.2003