

**Aus der Klinik für Allgemeine Pädiatrie, Neonatologie und Kinderkardiologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor: Universitäts-Professor Dr. med. Ertan Mayatepek**

**Korrelation der Methylmalonsäurekonzentration im
Urin und der Entwicklung einer chronischen
Niereninsuffizienz bei Kindern mit
Methylmalonazidurie**

Dissertation

**zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf**

**vorgelegt von
Sabrina Julia Dominique Brüske
2017**

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

gez.:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachterin: Prof. Dr. med. Ute Spiekerkötter

Zweitgutachterin: Prof. Dr. med. Dagmar Wieczorek

Zusammenfassung

Die Methylmalonazidurie ist eine seltene, autosomal-rezessiv vererbte Stoffwechselerkrankung, bei der eine Störung im Abbau der verzweigt-kettigen Aminosäuren und ungeradzahlig-fettsäuren vorliegt. Dies führt zur Akkumulation von organischen Säuren und deren toxischen Metaboliten, wie der Methylmalonsäure, die über den Urin ausgeschieden werden.

Man unterscheidet je nach zugrunde liegendem Defekt die mut^0 - und mut^- -Varianten (vollständiger oder teilweiser Defekt der Methylmalonyl-CoA-Mutase), sowie verschiedene Defekte der 5-Desoxyadenosylcobalamin-Synthese, dem Kofaktor der Methylmalonyl-CoA-Mutase. Die unterschiedlichen Formen manifestieren sich klinisch unterschiedlich schwer.

Diese Arbeit untersucht den Zusammenhang zwischen der Entwicklung einer chronischen Niereninsuffizienz bei Kindern mit Methylmalonazidurie und der Höhe der Methylmalonsäure (MMA)-Ausscheidung im Urin.

Es wurden 33 Kinder mit einer Methylmalonazidurie der Universitätskinderklinik Düsseldorf in die retrospektive Studie eingeschlossen, auswertbar waren die Datensätze von 29 dieser Kinder.

Mittels Cystatin C und Creatinin im Serum wurde die Nierenfunktion quantifiziert um möglichst frühzeitige Daten der Nierenfunktion erheben zu können. Nur bei wenigen Patienten waren Daten der glomerulären Filtrationsrate in den ersten Lebensjahren verfügbar. Die Kinder wurden anhand der altersentsprechenden Normwerte in zwei Gruppen aufgeteilt, solche ohne und solche mit Niereninsuffizienz.

Alle dokumentierten Werte der MMA-Ausscheidung im Spontanurin wurden erfasst und die Höhe der MMA-Ausscheidung und der Beginn der Niereninsuffizienz für jeden Patienten korreliert. Außerdem erfolgte eine Korrelation mit der genetischen Variante der Methylmalonazidurie.

Es ergab sich eine signifikante Korrelation der Höhe der MMA-Ausscheidung im Urin und der Entwicklung einer chronischen Niereninsuffizienz. Das heißt, die Kinder, die im Verlauf ihrer Erkrankung eine chronische Niereninsuffizienz entwickelten, zeigten eine signifikant höhere MMA-Ausscheidung als die Kinder, bei denen im Beobachtungszeitraum keine chronische Niereninsuffizienz auftrat. Dennoch ließ sich kein direkter linearer Zusammenhang zwischen der Höhe der MMA-Ausscheidung und dem Alter bei Einsetzen der Niereninsuffizienz feststellen. Eine mögliche Ursache könnte sein, dass in dieser Arbeit nicht differenziert wurde, welche MMA-Konzentrationen im Urin aus Zeiten einer Stoffwechsellage stammen und welche aus kompensierten Stoffwechselsituationen im Rahmen von ambulanten Kontrollen. Isolierte hohe Werte reflektieren damit nicht die Konzentrationen der Dauerausscheidung.

Es konnte in dieser Studie nachgewiesen werden, dass die Kinder mit der mut^0 -Variante signifikant häufiger eine Niereninsuffizienz entwickeln als die Kinder mit einer cbl -Variante. Die Kinder mit der mut^0 -Variante weisen eine signifikant höhere Ausscheidung von MMA im Urin auf.

Zusammenfassend korreliert die Höhe der MMA-Ausscheidung im Urin eindeutig mit der Entwicklung einer chronischen Niereninsuffizienz und muss als ursächlich angesehen werden. Welche weiteren pathologischen Faktoren noch eine Rolle spielen bedarf prospektiver Studien. Eine frühe systematische Untersuchung der Nierenfunktion mittels glomerulärer Filtrationsrate im Sammelurin ist bei Patienten mit mut^0 -Methylmalonazidurie sicherlich bereits ab dem ersten Lebensjahr angeraten.

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung	mmHg	Millimeter
AdoCbl	Adenosylcobalamin		Quecksilbersäule
AUC	Area under Curve	mmol/l	Millimol pro Liter
cbl	Cobalamin Variante der Methylmalonazidurie	mmol/mol Krea	Milimol pro Mol Kreatinin
CO₂	Kohlendioxid	mut⁰	mut null Variante der Methylmalonazidurie
CoA	Coenzym A	mut⁻	mut minus Variante der Methylmalonazidurie
EC	Enzyme Commission number	N	Anzahl der Werte
g/dl	Gramm pro Deziliter	NI	Niereninsuffizienz
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate	OMIM	Online Mendelian Inheritance in Man
ID	Identifikationsnummer	o.V.	ohne Verfasser
IL-1β	Interleukin 1 beta	pmol/l	Pikomol pro Liter
i.m.	intramuskulär	ROC	Receiver Operating Characteristic
i.v.	intravenös	r_s	Spearman'sche Rangkorrelationskoeffizient
Max	Maximum	SDA	Standardabweichung
MCM	Methylmalonyl-CoA-Mutase	TGF-beta	Transforming growth factor beta
mg/dl	Milligramm pro Deziliter	TNF-alpha	Tumornekrosefaktor alpha
mg/kgKG/d	Milligramm pro Kilogramm Körpergewicht pro Tag	μmol/l	Mikromol pro Liter
mg/l	Milligramm pro Liter	25% - Perz.	25% Perzentile
Min	Minimum	75% - Perz.	75% Perzentile
ml/min	Milliliter pro Minute		
MMA	Methylmalonic acid / Methylmalonsäure		

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Was ist Methylmalonazidurie?	1
1.1.1	Biochemische Grundlagen und Varianten der Methylmalonazidurie	2
1.1.2	Klinik	4
1.1.3	Diagnostik	8
1.1.4	Therapie	9
1.1.5	Prognose	11
1.2	Zielstellung der Arbeit	12
2	Material und Methoden	14
2.1	Zusammensetzung des Patientenkollektives	14
2.2	Durchführung	15
2.2.1	Datensammlung	15
2.2.2	Auswertung	17
3	Ergebnisse	23
3.1	Methylmalonsäureausscheidung im Urin	24
3.1.1	Werte der einzelnen Kinder	24
3.1.2	Vergleich der Kohorten (niereninsuffiziente und nicht niereninsuffiziente Kinder)	26
3.1.3	Diagnostische Güte	27
3.2	Enzymatische Varianten der Methylmalonazidurie	28
3.2.1	Häufigkeitsverteilung	28
3.2.2	Häufigkeit der Niereninsuffizienz: Vergleich der mut ⁰ - und cbl- Varianten	29
3.2.3	MMA-Ausscheidung: Vergleich der mut ⁰ - und cbl-Varianten	30
3.3	Alter bei Beginn der Niereninsuffizienz	31
3.4	Ausmaß der MMA-Ausscheidung im Urin und Alter bei Beginn der Niereninsuffizienz	33
4	Diskussion	35
5	Schlussfolgerung und Ausblick	43
6	Literaturverzeichnis	44
7	Anhang	50
	Danksagung	
	Eidesstattliche Versicherung	

1 Einleitung

1.1 Was ist Methylmalonazidurie?

Die Methylmalonazidurie ist eine seltene angeborene Stoffwechselerkrankung und gehört zu den Organoazidopathien. Das heißt ihr liegt eine Störung im Intermediärstoffwechsel, besonders im Abbau der verzweigtkettigen Aminosäuren zugrunde. Dadurch kommt es zur Akkumulation von organischen Säuren, welche für den Organismus toxisch sind. (vgl. Wendel und De Baulny 2006; Fenton und Rosenberg 1995)

Ihre Inzidenz ist nicht exakt bekannt, aber sie wird für Neugeborene in Massachusetts (1968-1980) mit 1:48.000 angegeben (vgl. Coulombe et al. 1981).

Die Methylmalonazidurie wird autosomal-rezessiv vererbt. In Populationen mit hohem Grad der Konsanguinität wie in der Türkei tritt sie häufiger auf. (vgl. Fenton und Rosenberg 1995; Stöckler-Ipsiroglu et al. 2005; Wendel und de Baulny 2006)

Man unterscheidet je nach genetischem Defekt verschiedene Formen der Methylmalonazidurie. Aufgrund von Mutationen im Gen des Apoenzyms der Methylmalonyl-CoA-Mutase (MCM, EC 5.4.99.2) treten die klassischen Formen der Methylmalonazidurie, die sogenannte mut⁰-Variante und mut⁻-Variante auf. (vgl. Fenton und Rosenberg 1995)

Defekte in der 5-Desoxyadenosylcobalamin- (AdoCbl-) Synthese sind Ursache der sogenannten cblA-Variante und cblB-Variante. Das 5-Desoxyadenosylcobalamin ist Cofaktor der Methylmalonyl-CoA-

Apomutase und ruft daher ähnliche Krankheitssymptome wie die voran genannten Varianten hervor. (vgl. Fenton und Rosenberg 1995; Wendel und de Baulny 2006)

Die verschiedenen Varianten der Methylmalonazidurie werden im Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) unter den Nummern 251000 (mut⁰- und mut⁻- Variante), 251100 (cbIA-Variante), 251110 (cbIB-Variante), 277400 (cbIC-Variante), 277410 (cbID-Variante1) und 277380 (cbIF-Variante) geführt (vgl. www.omim.org 24.02.2015, Morath et al. 2008).

1.1.1 Biochemische Grundlagen und Varianten der Methylmalonazidurie

Bei der isolierten Methylmalonazidurie kommt es durch einen Defekt der Methylmalonyl-CoA-Mutase (MCM) zu einer Störung im Abbau der verzweigt-kettigen Aminosäuren Isoleucin, Methionin, Threonin und Valin sowie der ungeradzahigen Fettsäuren. Die MCM katalysiert die Umwandlung von Methylmalonyl-CoA zu Succinyl-CoA, so dass es bei einem Defekt der MCM zu einem Anstau von Methylmalonyl-CoA sowie von Propionsäure und anderen Propionyl-CoA-Metaboliten durch eine sekundäre Hemmung der Propionyl-CoA Carboxylase kommt (vgl. *Abbildung 1*). (vgl. Fenton und Rosenberg 1995)

Man unterscheidet bei dem Defekt der Methylmalonyl-CoA-Mutase zwischen dem kompletten Funktionsverlust, welcher klinisch als mut⁰-Variante der Methylmalonazidurie bezeichnet wird und der mut⁻-Variante, bei der eine Restaktivität der Methylmalonyl-CoA-Mutase, insbesondere in Anwesenheit einer großen Menge ihres Cofaktors Cobalamin besteht. (vgl. Fenton und Rosenberg 1995; Willard und Rosenberg 1980)

Bei der fehlerhaften Synthese des Cofaktors 5-Desoxyadenosylcobalamin differenziert man ebenfalls verschiedene klinische Subtypen. Diese werden

unter anderem als Cobalamin (cbl) A-, cblB- und cblD-Variante bezeichnet. (vgl. Fenton und Rosenberg 1995; Wendel und de Baulny 2006)

Die cblA-Variante (OMIM 251100) wird durch eine Mutation im MMAA-Gen verursacht. Die cblB-Variante (OMIM 251110) wird durch eine Mutation im MMAB-Gen hervorgerufen, dieses verschlüsselt die Cobalamin Adenosyltransferase, die Cobalamin in Adenosylcobalamin umwandelt. (vgl. Fenton und Rosenberg 1995; Wendel und de Baulny 2006; www.omim.org 24.02.2015)

Weitere cbl-Varianten sind bekannt (cblC, cblD, cblF). Diese Formen manifestieren sich als Kombination aus Methylmalonazidurie und Homocysturie, da Cobalamin auch Cofaktor der Methionin Synthase ist, die Homozystein zu Methionin verstoffwechselt. (vgl. Fenton und Rosenberg 1995)

Somit kommt es bei allen Varianten zum vermehrten Anfall von Methylmalonyl-CoA. Diese Ansammlung von Methylmalonyl-CoA verursacht wiederum nachfolgend einen Rückstau von Propionyl-CoA. Hierdurch bilden sich über den alternativen Stoffwechselweg im Abbau von Propionyl-CoA β -Hydroxypropionat und Methylcitrat als toxische Metabolite. (vgl. Fenton und Rosenberg 1995)

Die vermehrt akkumulierende Methylmalonsäure wird über die Niere mit dem Urin ausgeschieden, sodass die betroffenen Patienten eine stark erhöhte Konzentration von Methylmalonsäure (MMA) nicht nur im Plasma, sondern auch im Urin aufweisen. (vgl. Fenton und Rosenberg 1995; Wendel und de Baulny 2006)

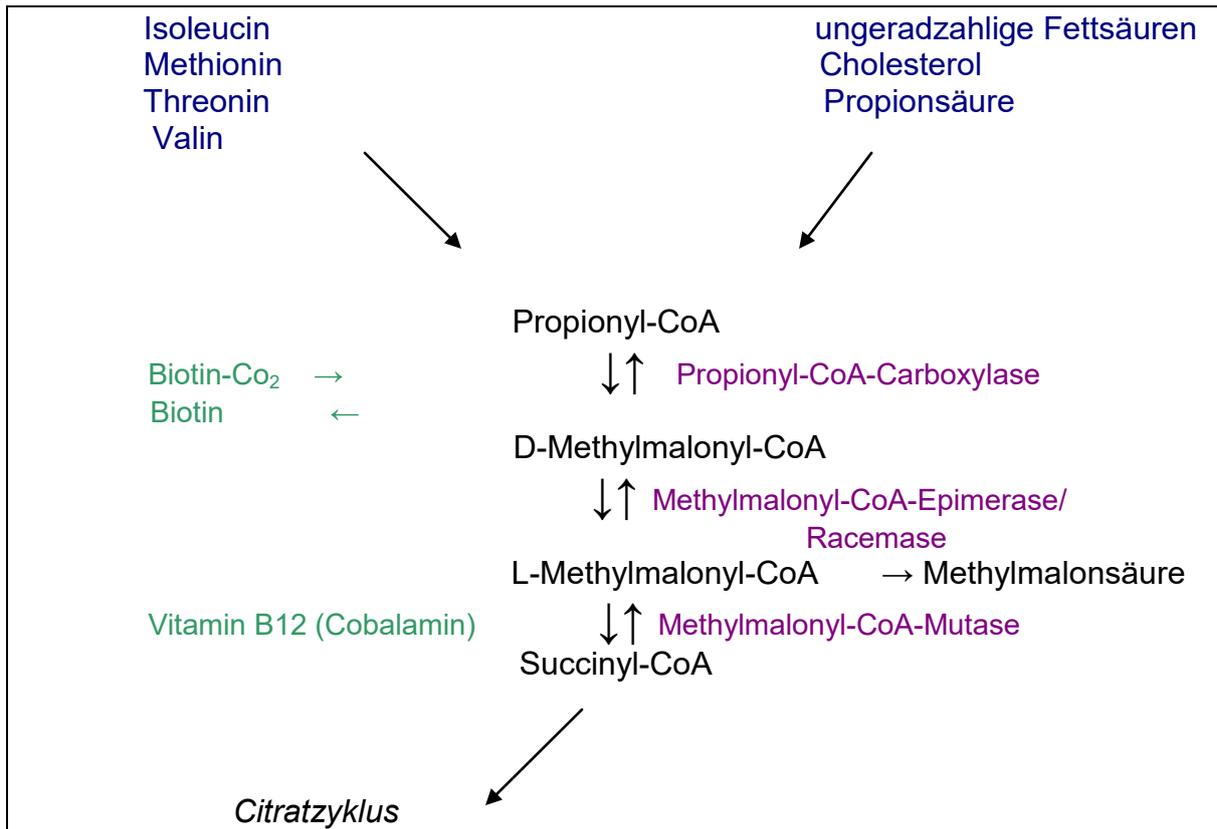


Abb. 1: Biochemische Grundlagen zum Verständnis der Methylmalonazidurie

(modifiziert nach Fenton und Rosenberg 1995; o.V. Stoffwechsel- und Formelsammlung Biochemie 2006; Morath et al. 2007)

Propionyl-CoA, ein Metabolit des Stoffwechsels der Aminosäuren Isoleucin, Methionin, Threonin und Valin, der ungeradzahligen Fettsäuren, von Cholesterin und Propionsäure wird über die Propionyl-CoA-Carboxylase zu D-Methylmalonyl-CoA unter Anwesenheit des Cofaktors Biotin umgewandelt. Die Methylmalonyl-CoA-Epimerase isomerisiert D-Methylmalonyl-CoA in L-Methylmalonyl-CoA, dieses wird über die Methylmalonyl-CoA-Mutase mit Hilfe von Adenosylcobalamin als Cofaktor zu Succinyl-CoA umgewandelt. Liegt ein Defekt in der Methylmalonyl-CoA-Mutase vor akkumuliert unter anderem Methylmalonsäure.

1.1.2 Klinik

Die Symptome der Methylmalonazidurie sind vielfältig, jedoch zeigen sich je nach Form (mut⁰-, mut⁻-, cblA- oder cblB-Variante) unterschiedliche Schweregrade. Vor allem die mut⁰-Variante zeigt eine frühe klinische Manifestation und den schwersten klinischen Verlauf. Oft manifestiert sich hier die Erkrankung in den ersten Lebenswochen. Der Verlauf der cbl-Varianten

beginnt meist etwas später und ist oft milder ausgeprägt. (vgl. Fenton und Rosenberg 1995; Hörster et al. 2007)

Die Patienten mit einer cblA- oder mut⁻-Variante haben meist den mildesten Verlauf, vor allem wenn diese Vitamin B12 (Cobalamin) sensibel sind. (vgl. Hörster et al. 2007; Fenton und Rosenberg 1995; Nicolaidis et al. 1998) Es sollte daher bei jedem Patienten ein Vitamin B12 Substitutionsversuch unternommen werden, da eine Cobalamin sensible Form eine bessere Prognose hat. (vgl. Wendel und de Baulny 2006; Nicolaidis et al. 1998)

Manifestationsformen

Bei der Manifestation der Methylmalonazidurie werden drei Formen unterschieden. Die akute neonatale Form, die spätmanifeste Form sowie die chronisch progrediente Form. (vgl. Fenton und Rosenberg 1995; Wendel und de Baulny 2006)

Die **neonatale Form** tritt typischerweise bei einem Großteil der Kinder mit mut⁰-Variante der Methylmalonazidurie auf, allerdings zeigen auch Kinder mit der mut⁻-Variante oder den Cbl-Varianten diesen Verlauf.

Die erste Manifestation der neonatalen Form kann bereits im Alter von wenigen Stunden sein, aber auch in den ersten Lebenswochen. Die betroffenen Neugeborenen beziehungsweise Säuglinge werden nach einer in der Regel unauffälligen Schwangerschaft und Geburt sowie einem symptomfreien Intervall im Katabolismus symptomatisch. Die ersten Symptome sind meist eine Trinkschwäche und eine vermehrte Schläfrigkeit des Kindes. Zudem zeigt sich Erbrechen, eine zunehmende Dehydratation, Lethargie sowie muskuläre Hypotonie. Die Symptome können bis zum Koma fortschreiten. Klinisch zeigen sich somit Symptome einer Enzephalopathie, die sich auf eine Ketoazidose und Hyperammonämie zurückführen lassen.

Weitere Symptome können ein Hirnödem mit vorgewölbter Fontanelle, Bradykardien, Apnoe und Hypothermie sein.

Eine milde Hepatomegalie, leichte Hypokalzämie und Hyperlaktatämie, Blutglukose Veränderungen im Sinne einer Hypo- oder Hyperglykämie sowie Neutro- und Thrombozytopenien sind ebenfalls möglich. Diese letztgenannten

Blutbildveränderungen lassen sich durch die erhöhten organischen Säuren erklären, welche zur Hemmung der hämatopoetischen Stammzellen führen. (vgl. Lentze et al. 2007; Fenton und Rosenberg 1995; Wendel und de Baulny 2006).

Bei fehlender Behandlung verschlechtert sich der Zustand der betroffenen Kinder sehr rasch und ist lebensbedrohlich. (vgl. Lentze et al. 2007; Fenton und Rosenberg 1995; Wendel und de Baulny 2006)

Bei der **spätmanifesten Form** bleiben die betroffenen Kinder im ersten Lebensjahr, zum Teil auch bis in die ersten Lebensjahre symptomfrei. Diese Form betrifft circa ein Viertel der Patienten mit Methylmalonazidurie. Typischerweise fallen die Kinder in einer katabolen Episode, zum Beispiel während eines Infektes, aufgrund von Nüchternheit vor einer Narkose oder bei Umstellung auf proteinreichere Beikost auf. So fallen vermehrt Aminosäuren beziehungsweise Substrate für die defekte Methylmalonyl-CoA-Mutase an, welche wiederum zur Ketoazidose und Enzephalopathie führen. Vorausgehend können bereits Dehydratation, Untergewicht, chronisches Erbrechen oder Gedeihstörungen auffallen. Auch die spätmanifeste Form kann sich akut präsentieren mit Koma und Ataxie. Die typische Ketoazidose kann auch ausbleiben. Beschreiben sind Hypo- oder Hyperglykämie und milde Hyperammonämie. Einige Patienten entwickeln auch akute Hemiplegien, Hemianopsien oder Symptome eines Hirnödems. Neben den neurologischen Symptomen kann sich die spätmanifeste Form auch mit hepatischen, hämatologischen oder immunologischen Symptomen manifestieren. So stehen bei einigen Patienten neben dem Koma und Hirnödem auch Hepatomegalie, Leberfunktionsstörungen, Hyperammonämie und Verfettung der Leber im Vordergrund. Neutropenie, Thrombozytopenie zusammen mit Ketoazidose und Koma können ebenfalls eine typische Manifestation der spätmanifesten Form der Methylmalonazidurie sein. (vgl. Lentze et al. 2007; Wendel und de Baulny 2006)

Die **chronisch progrediente Form** äußert sich in der Regel nicht akut, sondern langsam fortschreitend. Es können gastrointestinale Symptome im Vordergrund stehen wie Gedeihstörungen, rezidivierendes Erbrechen aber auch Osteoporose. Auch neurologische Symptome können das Krankheitsbild dominieren, unter anderem sind muskuläre Hypotonien, psychomotorische Retardierung oder Krampfanfälle beschrieben. So kommt es initial oft zu Fehldiagnosen. Im Verlauf kann es aber auch hier zu rezidivierendem Erbrechen mit Ketose kommen. Oft wird die Diagnose erst bei einer akuten neurologischen Krise mit Koma gestellt. (vgl. Wendel und de Baulny 2006)

Folgeschäden

Bereits durch eine einmalige Episode einer Stoffwechsellentgleisung können Folgeschäden entstehen, die insbesondere das Gehirn und die Nieren betreffen. Es werden aber auch Kardiomyopathien beschrieben und es kann sich frühzeitig eine Osteoporose entwickeln. Seltenerer Komplikationen sind Hautschuppungen, Haarausfall sowie Ulzerationen der Kornea. Auch eine akute Pankreatitis kann Folge einer Methylmalonazidurie sein. (vgl. Wendel und de Baulny 2006; de Baulny et al. 2005; Leonard 1995; Nicolaidis et al. 1998 ; Rutledge et al. 1993 ; Hörster et al. 2007).

Hirnschäden mit Nekrosen der Basalganglien sind beschrieben, die sich klinisch in extrapyramidalen Bewegungsstörungen wie Dystonien, Choreoathetosen, Rigidität sowie Bradykinesen manifestieren. Auch pyramidale Symptome können sich entwickeln, sehr selten kommt es zur Ausbildung einer akuten Hemiplegie und Hemianopsie. Zudem können die betroffenen Kinder auch autistische Züge zeigen. Die meisten der Kinder zeigen eine Verminderung ihrer geistigen Fähigkeiten mit einem reduzierten Intelligenzquotienten. (vgl. Wendel und de Baulny 2006; De Baulny et al. 2005; Nicolaidis et al. 1998)

Gravierend sind die renalen Komplikationen. Vor allem durch das schmerzfreie Fortschreiten bleiben diese initial oft unbemerkt. Es kommt zu einer chronischen tubulointerstitiellen Nephritis, die bis zur chronischen

Niereninsuffizienz fortschreitet. Erste Zeichen einer Niereninsuffizienz können bei schweren Formen bereits in den ersten Lebensjahren auftreten. (vgl. Wendel und de Baulny 2006; Rutledge et al. 1993; Hörster et al. 2007)

Die Möglichkeit einer Nierentransplantation oder kombinierten Leber-/Nierentransplantation kann bei weit fortgeschrittener Erkrankung mit Notwendigkeit der Dialyse die Lebensqualität und Lebenserwartung deutlich verbessern. (vgl. Wendel und de Baulny 2006 ; Lubrano et al. 2007; De Baulny et al. 2005; Leonard et al. 1995)

1.1.3 Diagnostik

Neugeborenencreening und selektive Acylcarnitin Analyse

Die Methylmalonazidurie ist in Deutschland keine Erkrankung, die in das erweiterte Neugeborenen Screening aufgenommen wurde. Dies liegt daran, dass es keinen ausreichenden Screening Parameter gibt. Das Propionylcarnitin, das bei der Methylmalonazidurie erhöht zu finden ist, ist häufig auch bei Gesunden unspezifisch erhöht und deutet ebenfalls auf die Propionazidurie hin. In anderen Ländern hat sich teilweise die Methode bewährt bei erhöhtem Propionylcarnitin im Neugeborenen Screening als *second tier* Test aus der gleichen Trockenblutkarte die Methylmalonsäure zu bestimmen.

In Deutschland wird die Diagnose einer Methylmalonazidurie aktuell nur über das selektive Screening bei klinischem Verdacht auf eine derartige Erkrankung gestellt. Eine pathologische Acylcarnitin Analyse bedarf jedoch immer weitere Konfirmationsdiagnostik, insbesondere auch um die verschiedenen Formen der Methylmalonazidurie unterscheiden zu können. (vgl. Roscher et al. 2001)

Biochemische Urindiagnostik

Weitere wichtige diagnostische Marker der Methylmalonazidurie sind die erhöhte Ausscheidung von organischen Säuren im Urin wie Methylmalon-,

Methylzitronen-, 2-Methyl-3-oxovalerian- und 3-Hydroxypropionsäure (vgl. Fenton und Rosenberg 1995; Wendel und de Baulny 2006)

Enzymatik und genetische Diagnostik

Zur Differenzierung der unterschiedlichen Methylmalonazidurie-Varianten dient die enzymatische Diagnostik an kultivierten Fibroblasten. Durch diese Untersuchung kann auch festgestellt werden, ob Vitamin B12 Responsivität besteht. Nach enzymatischer Einordnung schließt sich in der Regel die genetische Diagnostik an. (vgl. Fenton und Rosenberg 1995; Willard und Rosenberg 1980)

Pränataldiagnostik

Bei positiver Familienanamnese oder begründetem Verdacht gibt es die Möglichkeit einer Pränataldiagnostik mittels Amniozentese im zweiten Schwangerschaftstrimenon. Bei Kenntnis der Mutation des Indexpatienten ist eine Pränataldiagnostik auf genetischer Basis am sichersten. (vgl. Fenton und Rosenberg 1995)

1.1.4 Therapie

Ein kurativer Therapieansatz ist nicht vorhanden, das Therapieziel besteht daher darin, die betroffenen Kinder möglichst gut diätetisch zu behandeln und ständig in anaboler Stoffwechsellage zu halten, um die Anzahl der (schweren) Stoffwechsellentgleisungen möglichst gering zu halten. Somit besteht die Chance Folgeschädigungen zu reduzieren und damit die Lebensqualität und -erwartung zu verbessern. Wichtig ist daher die rechtzeitige und richtige Diagnose eines betroffenen Kindes. (vgl. Fenton und Rosenberg 1995; Leonard 1995; Wendel und de Baulny 2006).

Akuttherapie

Die Akuttherapie hat das Ziel toxische Metabolite zu eliminieren und gleichzeitig zügig wieder einen Anabolismus herzustellen. Hierzu erfolgt je nach Ausmaß der Entgleisung ein Stopp oder eine Reduktion der Eiweißzufuhr. Es wird die Kalorienzufuhr erhöht und Insulin intravenös infundiert um die katabole Stoffwechsellage zu unterbrechen. Eine forcierte Diurese dient der Elimination der toxischen Metabolite. Die Gabe von L-Carnitin intravenös wird ebenfalls empfohlen, da Carnitin die toxischen Metabolite bindet und über die Niere ausscheidet. Wenn eine komatöse Bewusstseinslage bei Hyperammonämie vorliegt ist eine Hämodialyse notwendig. (vgl. Wendel und de Baulny 2006; Fenton und Rosenberg 1995; Cosson et al. 2009; de Baulny et al. 2005)

Dauertherapie

Durch die lebenslange Dauertherapie soll die Anzahl und die Schwere der Stoffwechselentgleisungen reduziert werden. Diese besteht aus einer eiweißarmen und eiweißbilanzierten Diät und der Substitution von Isoleucin-, Methionin-, Threonin- und Valin-freien Aminosäurepräparaten. In katabolen Stoffwechselsituationen wie zum Beispiel bei Infekten muss die Eiweißmenge noch weiter reduziert werden. Zudem wird L-Carnitin 100mg/kgKG/d zur Elimination toxischer Metabolite verabreicht. Eventuell kann eine Magensonde oder eine perkutane endoskopische Gastrostomie (PEG) zur Ernährung notwendig werden um eine ausreichende Kalorienzufuhr sicherzustellen. Bei den Vitamin B12-sensiblen Verlaufsformen der Methylmalonazidurie ist eine Substitution von Hydroxycobalamin intramuskulär Therapie der Wahl. (vgl. Cosson et al. 2009; Fenton und Rosenberg 1995; Wendel und de Baulny 2006)

1.1.5 Prognose

Allgemein lässt sich sagen, dass die Prognose der an einer Methylmalonazidurie erkrankten Kinder eingeschränkt ist. Die Prognose ist jedoch abhängig von der genetischen Variante und der Cobalamin-Empfindlichkeit. Die Anzahl und Ausprägung der Stoffwechsellentgleisungen und die damit verbundenen Folgeerscheinungen beeinflussen deutlich das Outcome. (vgl. Fenton und Rosenberg 1995; Wendel und de Baulny 2006; Nicolaidis et al. 1998; Hörster et al. 2007; Hörster et al. 2009)

Die Prognose der von der mut⁰-Variante betroffenen Kinder ist am ungünstigsten. Insbesondere zeigen sich bei dieser Patientengruppe vermehrt neurologische Symptome bis zur geistigen Behinderung und chronischer Niereninsuffizienz. Außerdem besteht in diese Patientengruppe auch die höchste Mortalitätsrate. (vgl. Fenton und Rosenberg 1995; Cosson et al. 2009; Hörster et al. 2009)

Die beste Prognose haben Kinder mit der cbIA-Variante, wenn sie auf Cobalamin sensibel sind. Diese Kinder können eine unauffällige Entwicklung durchmachen.

Kinder mit einer mut⁻- und cbIB-Variante können sich sehr unterschiedlich entwickeln. Milde Verläufe mit geringen Entwicklungseinschränkungen, aber auch schwere geistige Behinderung oder frühzeitiger Tod sind möglich. (vgl. Fenton und Rosenberg 1995; Hörster et al. 2007)

Im Verlauf entwickelt sich bei den meisten von Methylmalonazidurie betroffenen Kindern eine Nierenschädigung, die sich durch eine verminderte glomerulären Filtrationsrate (GFR) quantifizieren lässt. Die Niereninsuffizienz kann bereits im Kindesalter dialysepflichtig werden, eine frühzeitige Transplantation erforderlich machen oder zu frühzeitigem Versterben führen. (vgl. Cosson et al. 2009; Wendel und de Baulny 2006)

1.2 Zielstellung der Arbeit

Durch diese Arbeit soll ein Zusammenhang zwischen der Höhe der Methylmalonsäureausscheidung im Urin und der Entwicklung einer chronischen Niereninsuffizienz bei Kindern mit Methylmalonazidurie erarbeitet werden. Es könnte ein weiterer Monitoring Parameter definiert werden, der als Maß der Stoffwechseleinstellung dienen kann. Ähnlich wie bei Cytinurie oder Primären Hyperoxalurie könnte eine Reduktion der Methylmalonsäure Konzentration im Urin durch vermehrte Flüssigkeitszufuhr, den Zeitpunkt der Entwicklung einer Niereninsuffizienz hinauszögern.

Bisher ist bekannt, dass viele Kinder mit Methylmalonazidurie an einer chronischen Niereninsuffizienz erkranken, deren genauer Pathomechanismus bisher nicht geklärt ist. Die Aufklärung der Pathomechanismen kann diese Arbeit nicht erfüllen, aber ein Zusammenhang zwischen der MMA-Ausscheidung und der MMA Konzentration im Urin und der Niereninsuffizienz soll herausgearbeitet werden.

Da Kinder mit Methylmalonazidurie zum Teil sehr früh an einer Niereninsuffizienz erkranken, stellt sich die Frage, wie dies verhindert werden kann. Haben Kinder mit einem sehr milden Verlauf ein geringeres Risiko für eine Niereninsuffizienz oder haben Kinder mit bestimmten Varianten wie der mut^0 -Variante generell früher und öfter eine chronische Niereninsuffizienz? Oder ist die Entwicklung der Niereninsuffizienz von der Qualität der Stoffwechseleinstellung abhängig? Bei Hörster et al. (2007 und 2009) wurde bereits ein Zusammenhang zwischen der Entwicklung einer Niereninsuffizienz und der mut^0 -Variante beobachtet.

Es ist zu hoffen, dass diese Arbeit Hinweise liefert, die dazu dienen können, prophylaktische Maßnahmen einzuleiten, um die Entstehung einer Niereninsuffizienz in Zukunft etwas hinauszuzögern und somit den schwerwiegenden Verlauf dieser Erkrankung etwas verlangsamen zu können. Eine Absenkung der MMA Konzentration im Urin durch bessere metabolische Kontrolle oder gesteigerte Flüssigkeitszufuhr könnten therapeutische Maßnahmen sein.

In Abgrenzung zu den bereits existierenden Studien zur Niereninsuffizienz bei Methylmalonazidurie (vgl. Morath et al. 2008; Hörster et al. 2007), bei Hörster et al. (2007) soll die vorliegende Arbeit untersuchen, ob die Höhe der MMA-Ausscheidung vor Eintreten der Niereninsuffizienz Rückschlüsse auf das Alter bei Eintritt der Niereninsuffizienz geben und somit die MMA-Ausscheidung als Prognoseparameter bzw. Monitoring Parameter bei Methylmalonazidurie gelten kann.

Zusammenfassend ist die Hypothese dieser Arbeit, dass ein Zusammenhang zwischen der Höhe der MMA-Ausscheidung im Urin und dem Zeitpunkt des Eintretens einer Niereninsuffizienz besteht.

2 Material und Methoden

2.1 Zusammensetzung des Patientenkollektives

Zu Beginn der Arbeit wurden alle Patienten mit der Diagnose einer Methylmalonazidurie, welche in der Klinik für Allgemeine Pädiatrie und Neonatologie des Universitätsklinikums Düsseldorf in Behandlung sind, ermittelt. Es wurden Patienten mit mut^0 -, mut^- - und cbl -Varianten eingeschlossen. Die Diagnose war entweder genetisch oder enzymatisch gesichert. Entsprechend erfolgte auch die Klassifikation der unterschiedlichen Methylmalonazidurie Varianten. Insgesamt wurden Daten von 33 Patienten gesammelt. Bei einem Patienten konnte die genaue Form der Methylmalonazidurie nicht genetisch oder enzymatisch festgelegt werden. Aufgrund eines nicht vollständigen Datensatzes wurde ein Patient aus der Studie ausgeschlossen (ID 25). Im weiteren Verlauf wurden noch drei weitere Patienten ausgeschlossen (ID 23,26,29), da diese nicht eindeutig in die Gruppe der niereninsuffizienten beziehungsweise nicht niereninsuffizienten Kinder einzuordnen waren, da sie entweder bereits sehr jung (unter zwei Jahren) verstorben waren, oder zum Ende der Datensammlung jünger als vier Jahre waren und somit nicht zu definieren war, ob sie eine chronische Niereninsuffizienz entwickeln. Insgesamt wurden somit 29 Kinder in die Studie eingeschlossen.

Die in dieser Studie eingeschlossenen Patienten wurden zwischen 1988 und 2009 geboren. Aufgrund zunehmend besserer Dokumentation ergab sich eine unterschiedliche Datendichte für jedes Kind im zeitlichen Verlauf. Zudem variierte die Datendichte durch den unterschiedlich stark ausgeprägten Krankheitsverlauf.

Fünf Kinder waren zum Zeitpunkt der Datenerhebung bereits verstorben, diese wurden initial mit in die Studie aufgenommen. Eines dieser Kinder (ID 23) gehörte zu den als nicht eindeutig niereninsuffizient beziehungsweise nicht niereninsuffizient klassifizierbaren Kindern und musste so im Verlauf noch ausgeschlossen werden.

Die Studie wurde durch die Ethikkommission genehmigt (Studiennummer 5510).

2.2 Durchführung

2.2.1 Datensammlung

In einer Excel Tabelle wurden anfänglich 41 Parameter erfasst, welche im Verlauf auf 30 Parameter reduziert und zusammengefasst wurden. So wurden zum Beispiel die Therapie mit Natriumbicarbonat, Eisenbergsche Lösung oder Natriumcitrat als Pufferung zusammengefasst und die Furosemid-, Lasix-, Esidrix-, Captopril- oder Aldactone-Substitution als antihypertensive Therapie dokumentiert.

Für die endgültige Auswertung wurde allerdings nur ein geringer Anteil der Parameter herangezogen, da viele Parameter weniger relevant für die endgültige Fragestellung waren. Besonders relevant waren die Creatinin- und Cystatin C-Werte im Blut zur Diagnosestellung einer Niereninsuffizienz und die MMA-Ausscheidung im Urin als Bezugsparameter. Der noch bessere Parameter zur Beurteilung einer Niereninsuffizienz, die glomeruläre Filtrationsrate im Sammelurin, konnte bei den wenigsten Patienten im frühen Lebensalter erhoben werden.

Die Datensammlung erfolgte aus den vorhandenen Papier-Akten und wurde durch die elektronische Dokumentation der Laborwerte, Briefe, Aufnahme- und Entlassdaten ergänzt. So wurden die Laborwerte jedes stationären Aufenthaltes und jeder ambulanten Kontrolle analysiert und dokumentiert. Aus den Entlassungs- und Verlaufsbriefen wurden die Parameter Größe, Gewicht, Blutdruck, der allgemeinen Verlauf der Erkrankung sowie die Medikamenteneinnahme, Diätbehandlung und das Skeletalter dokumentiert. Aus den Ernährungsplänen wurde die Zufuhr des natürlichen Eiweißes und des synthetischen Eiweißes pro Kilogramm Körpergewicht bestimmt.

Jedes Kind wurde mit Initialen, Geburtsdatum und Datum der aktuellen Werte zur Altersbestimmung erfasst. In der Folge erhielt jeder Patient pseudonymisiert eine Nummer.

Folgenden Parameter wurden in der Excel Datei erfasst:

Enzymatik; Molekulargenetik; Leitsymptom; stationäre Aufenthalte (Tage pro Jahr); Methylmalonsäureausscheidung (mmol/mol Krea); Creatinin (mg/dl); Cystatin C (mg/l); Glomeruläre Filtrationsrate im Serum (ml/min) berechnet anhand MDRD Formel; Parathormon (pmol/l); Calcium (mmol/l); Phosphat (mmol/l); Hämoglobin (g/dl); Blutdruck (mmHg); Wachstumsperzentile; Skeletalter; Allopurinoltherapie; tägl. Eiweißzufuhr (g/kgKörpergewicht) (natürliches und synthetisches Eiweiß wurde zusammengefügt, da keine einheitliche Dokumentation aufzufinden war); Novidroxinsubstitution (Hydroxycobalamin); Calciumacetateinnahme; Calciumcarbonateinnahme; Insulintherapie; Kreongabe; Nationalität; Pufferung: Natriumbicarbonat, Eisenbergsche Lösung, Natriumcitrat; Erythropoetintherapie; Vitamin D/Rocaltrol; Wachstumshormontherapie (Genotropin); Antihypertensive Therapie: Furosemid, Lasix, Esidrix, Captopril, Aldactone.

Am 02. Mai 2011 wurde die Datensammlung beendet, alle Datensätze wurden auf den aktuellen Zeitpunkt vervollständigt. Die Datensammlung erfolgte somit von August 2009 bis Mai 2011.

2.2.2 Auswertung

Vorbereitung

Nach Abschluss der Datensammlung wurde die komplette Datei mit allen Daten überarbeitet und unverwertbare oder unplausible Werte entnommen. So wurde zum Beispiel die Angabe „Normwert“ gelöscht, da diese Angabe kein präziser Wert ist und so nicht in Relation zu anderen Werten zu setzen ist. Es wurden Werte mit anderen Einheiten, die aus anderen Kliniken stammen, umgerechnet.

Einige der Kinder nahmen im Rahmen ihrer Therapie auch synthetisches Eiweiß ein. Da aber bei einigen Kindern nur die tägliche Gesamteiweißzufuhr bekannt war, wurde die tägliche Zufuhr von natürlichem und synthetischem Eiweiß addiert und als tägliches Gesamteiweiß dokumentiert.

Außerdem musste für jeden Wert ein Alter als Bezugswert bestimmt werden, um die betroffenen Kinder untereinander vergleichen zu können. So wurde aus dem Geburtsdatum und dem Datum der Bestimmung des Parameters das tagesgenaue Alter berechnet. Bei Werten die nicht mit dem genauen Datum, sondern nur mit dem Monat und Jahr dokumentiert waren, wurde jeweils der Erste des Monats zur Altersberechnung genutzt. Ebenso wurde der erste Tag des Krankenhausaufenthaltes für die Altersberechnung ausgewählt, wenn der betreffende Wert nicht mit genauem Datum dokumentiert war.

Durchführung

Um den Zeitpunkt der Diagnose der chronischen Niereninsuffizienz festzustellen, wurden altersabhängige Grenzwerte festgelegt und der Zeitpunkt des ersten pathologischen Wertes als Niereninsuffizienz dokumentiert. Hierzu wurden Cystatin C und Creatinin Werte im Blut hinzugezogen. Es war nicht möglich für alle Kinder anhand von Cystatin C den Zeitpunkt der Niereninsuffizienz zu dokumentieren, da dieser Laborwert als sensitiverer Parameter erst in den letzten Jahren zunehmend bestimmt wurde. Die glomeruläre Filtrationsrate konnte nicht zu Hilfe gezogen werden, da dieser Wert zwar bei 23 Kindern erhoben wurde, aber in der Regel erst später im

Verlauf. Anhand der vorliegenden Werte (Cystatin C und Creatinin im Serum) musste bereits früher von einer Niereninsuffizienz ausgegangen werden, sodass die GFR in der Regel im Rahmen dieser retrospektiven Studie für die Diagnose einer chronischen Niereninsuffizienz zu spät bestimmt wurde.

Für diese Studie wurde definiert, dass der erste pathologische Wert im Serum für Creatinin und Cystatin C (altersentsprechende Normwerte zugrunde legend) den Beginn der Niereninsuffizienz festlegt. Allerdings wurden nur einmalig erhöhte Werte nicht berücksichtigt, sondern der erste Wert von zwei pathologischen Werten wurde als Zeitpunkt der Diagnose Niereninsuffizienz definiert.

Als Definitionsgrundlage wurden die Normwerte des Labors der Universität Düsseldorf zur Verfügung gestellt. So konnte der Cystatin C-Wert für Kinder ab einem Jahr angewandt werden mit der Grenze 1 mg/l, das heißt ab 1,1 mg/l¹ wurden die Kinder als niereninsuffizient beurteilt. Beim Creatinin im Serum wurden die altersabhängigen Normwerte, wie sie in *Tabelle 1* dargestellt sind, verwandt.

Tabelle 1: Altersabhängige Normwerte für Creatinin im Serum

Maximum des Creatinin im Serum in mg/dl	Alter
0,8499	14 Tage
0,4199	12 Monate
0,4099	3 Jahre
0,4699	5 Jahre
0,5899	7 Jahre
0,5999	9 Jahre
0,7299	11 Jahre
0,7899	13 Jahre
0,8999	15 Jahre

Nach Heil 2004: Schlebusch H, Liappis N, Klein G. Creatinine and ultrasensitive CRP: Reference intervals from infancy to childhood. Poster Euromedlab 2001, Prag (mg/dl = Milligramm pro Deziliter)

¹ Vgl. Packungsbeilage Siemens

Ein Cystatin C-Wert konnte nur bei vier Kindern zur Diagnose der Niereninsuffizienz genutzt werden, da der Großteil der Kinder bereits über den Creatinin-Wert als niereninsuffizient eingestuft wurde. Creatinin-Werte der ersten zwei Lebenswochen wurden nicht zur Diagnose Niereninsuffizienz genutzt, da die Kinder in diesem Zeitraum oft ihre initiale Stoffwechselentgleisung mit einer Dehydratation aufwiesen und somit der Wert höchstwahrscheinlich nicht verwertbar war. (vgl. Fenton und Rosenberg 1995; Prosielg und Weber 2010; Nicolaidis et al. 1998)

9 der 29 in die Studie aufgenommenen Kinder waren zum Zeitpunkt der Datenerhebung als noch nicht niereninsuffizient einzustufen und 20 Kinder als niereninsuffizient. Bei drei Kindern (ID 8, 22 und 27) war nur einmalig ein auffälliger Wert zu beobachten und danach lagen sowohl Cystatin C, Creatinin als auch die berechnete GFR im Normbereich. Diese Kinder blieben somit in der Gruppe der nicht niereninsuffizienten Patienten, da der auffällige Wert nur einmalig bestand und dann durchgehend Normwerte bestimmt wurden.

Von den initial 33 Kindern der Datensammlung mussten nun vier Kinder ausgeschlossen werden (ID 23, 25, 26, 29). Eines, da keine Daten vorhanden waren (ID 25) und drei Kinder (ID 23, 26, 29) wurden ganz aus der Auswertung genommen, da sie noch nicht eindeutig einer Gruppe zuzuordnen waren. Sie waren erst zwei Jahre alt, beziehungsweise eines der Kinder war bereits mit 15 Monaten verstorben, sodass diese Kinder noch keinen auffälligen Laborwert für die Niereninsuffizienz zeigten. Aber es ist nicht ausgeschlossen, dass sie eigentlich in die Gruppe der Kinder mit früher Niereninsuffizienz gehören. Denn die Kinder mit einer chronischen Niereninsuffizienz haben diese im Alter zwischen 0,6 und 6,8 Jahren entwickelt. Das mittlere Alter bei Diagnosestellung der chronischen Niereninsuffizienz liegt im Alter von 2,875 Jahren (vgl. 3.4).

Im Folgenden wurden der Mittelwert und der Median der MMA-Ausscheidung im Urin bei jedem Patienten bestimmt. Zudem wurde dokumentiert, wie viele Werte (N) für jedes Kind vorhanden waren.

Zur Auswertung der Fragestellung, ob ein Zusammenhang zwischen der MMA-Ausscheidung im Urin und dem Zeitpunkt des Eintrittes der Niereninsuffizienz besteht, wurde mit Hilfe von Statistical Analysis System wie folgt vorgegangen. Die betroffenen Kinder wurden nach „Nicht Niereninsuffizient“ und „Niereninsuffizient“ eingeteilt. Aufgelistet wurden zu jedem Patienten die Identifikationsnummer (ID), der Enzymatikbefund, der die Methylmalonazidurie festlegt, die Anzahl der bekannten MMA-Werte vor Eintritt der Niereninsuffizienz, der Mittelwert der MMA-Ausscheidung vor Eintritt der Niereninsuffizienz, die Standardabweichung, die Extrema, das heißt die geringste und die höchste MMA-Ausscheidung vor Eintreten der Niereninsuffizienz, das 25%-Perzentil, der Median, das 75%-Perzentil und das Maximum der MMA-Ausscheidung (vgl. 3.1.1).

Im nächsten Schritt wurden die Daten der einzelnen Kinder in eine Gruppe mit Niereninsuffizienz (N=18) und eine Gruppe ohne Niereninsuffizienz (N=9) zusammengefasst. Erneut wurden nun die Mittelwerte, Standardabweichungen, Median, Extrema (Minimum und Maximum), 25%- und 75%-Perzentil berechnet. Allerdings konnten in dieser Auswertung nur 18 der 20 niereninsuffizienten Kinder einbezogen werden, da bei zwei Kindern das Alter des Eintretens der Niereninsuffizienz nicht bekannt war. Die ersten Daten dokumentierten hier bereits eine Niereninsuffizienz und es waren keine Vorwerte bekannt.

Des Weiteren wurde zum Vergleich der Werte miteinander der Mann-Whitney U-Test angewandt. Dies ist ein nichtparametrischer Test, welcher anzeigen soll, ob die zentrale Tendenz zweier Stichproben unterschiedlich ist. Hierbei werden zwei Rangreihen (Rangsummentest) miteinander verglichen, und es sollte sich die Tendenz ergeben, dass sich die Daten einer gemeinsamen Rangreihe gleichmäßig verteilen. Die Rangsumme wurde berechnet und daraus dann der p-Wert bestimmt (vgl. 3.1.2). (vgl. Bortz 2005; Hirsig 2001 zitiert nach <http://www.methodenberatung.uzh.ch/datenanalyse/unterschiede/zentral/mann.html>; Weiß und Rzany 2010)

Um die potenziell diagnostische Güte der individuellen Kenngrößen der MMA-Werte zu untersuchen, wurde für jede Kenngröße eine ROC-Analyse durchgeführt. Bei einer ROC (Receiver Operating Characteristic)-Analyse wird für jeden Datenpunkt ausgerechnet, wie die Sensitivität und Spezifität wäre, wenn der Datenpunkt den Schwellwert zur Trennung von krank und gesund darstellen würde. (vgl. Weiß und Rzany 2008)

Für jeden Schwellenwert wird der Anteil der falsch positiven (1- Spezifität) gegen den Anteil der richtig positiven (Sensitivität) aufgetragen, sodass eine Kurve entsteht. Die Fläche unter dieser Kurve wird berechnet und so entsteht die AUC (=Area Under Curve). Diese liegt zwischen 0,5 und 1 und ist ein Maß für die diagnostische Güte des untersuchten Parameters. Ein Wert von 1 ist das bestmögliche Ergebnis, während ein Wert von 0,5 besagt, dass der Parameter nicht geeignet ist als diagnostischer Test. Folglich gilt, je größer die AUC, desto besser ist die diagnostische Güte (vgl. 3.1.3). (vgl. Weiß und Rzany 2008)

Als nächstes wurde der Einfluss der verschiedenen MMA-Varianten auf die Entwicklung einer chronischen Niereninsuffizienz untersucht. Allerdings gab es nur ein Kind in dieser Studie, welches die mut⁻-Variante aufwies, sodass diese aus diesem Vergleich ausgeschlossen werden musste. Daher bezog sich der Vergleich nur auf Kinder mit der mut⁰- und der cbl-Varianten.

Im Ersten Schritt wurde die Anzahl der Kinder der jeweiligen Variante bestimmt und in Prozentwerte umgerechnet, sodass sich die absolute und relative Häufigkeit von mut⁰-Patienten und cbl-Patienten ergab.

Im nächsten Schritt wurde dann zwischen niereninsuffizient und nicht niereninsuffizient differenziert und ebenfalls die relative Häufigkeit bestimmt. Im Anschluss wurde der Exakte Test nach Fisher berechnet und hiermit der p-Wert bestimmt (vgl. 3.2.1 und 3.2.2).

Bei dem Exakten Test nach Fisher handelt es sich um einen Test zum Gruppenvergleich zweier Zielgrößen (vgl. du Prel et al. 2010).

Im nächsten Schritt wurden die MMA-Daten nach mut⁰-Variante und cbl-Varianten getrennt dokumentiert. Hierbei wurde erneut für jede der beiden

Gruppen der Mittelwert, die Standardabweichung, das Minimum, das 25%- und 75%-Perzentil, der Median sowie das Maximum der MMA-Ausscheidung bestimmt. Für jeden dieser Werte wurden wiederum jeweils der Mittelwert, die Standardabweichung, das Minimum, das 25%- und 75%-Perzentil, der Median sowie das Maximum bestimmt. Im Anschluss wurde erneut mit dem Mann-Whitney-U-Test der p-Wert für jeden dieser Parameter bestimmt (vgl. 3.2.3).

Als letzte Auswertung wurde eine Zusammenhangsanalyse von dem Alter bei Beginn der Niereninsuffizienz und den individuellen Kenngrößen der MMA-Werte (Mittelwerte, Standardabweichungen, Median, Extrema (Minimum und Maximum), 25%- und 75%-Perzentil) vor Diagnosestellung der Niereninsuffizienz durchgeführt. Hierfür wurden Spearmansche Rangkorrelationskoeffizienten gebildet. Der Korrelationstest nach Spearman stellt bei zwei Variablen die Stärke des Zusammenhanges dieser Variablen dar. Die Werte liegen zwischen -1 und +1, der Zusammenhang ist am größten bei 1 (vgl. 3.3). (vgl. du Prel et al. 2010)

Im Verlauf wurde von allen Kindern mit Niereninsuffizienz das Alter erhoben, in welchem sie niereninsuffizient wurden und anhand dieser Daten der Mittelwert und der Median des Alters bei Diagnosestellung der Niereninsuffizienz berechnet (vgl. 3.4).

3 Ergebnisse

In die Auswertung wurden 29 Kinder mit einer Methylmalonazidurie eingeschlossen. Darunter waren 14 Mädchen und 15 Jungen. Am Ende der Datensammlung waren die Kinder, wie in *Abbildung 2* dargestellt, zwischen 0,67 Jahre und 20,83 Jahre alt (Median 7,13 Jahre, Mittelwert 8,45 Jahre), zwei dieser Kinder befanden sich zum Zeitpunkt der Auswertung nicht mehr in der Betreuung der Kinderklinik der Universität Düsseldorf und vier der in die Auswertung einbezogenen Kinder waren bereits verstorben.

Die Kinder wiesen unterschiedliche Varianten der Methylmalonazidurie auf. 20 Kinder wiesen die mut^0 -Variante auf, acht Kinder hatten eine Form der cbl -Varianten. Außerdem gab es ein Kind mit enzymatisch oder molekulargenetisch nicht genau charakterisierter Form und ein Kind mit nachgewiesener mut^- -Variante, welches aus der weiteren Auswertung ausgeschlossen wurde.

Die Kinder wurden in zwei Gruppen unterteilt. Die eine Gruppe beinhaltet die Kinder, welche im Verlauf eine chronische Niereninsuffizienz entwickelten und die andere Gruppe die Kinder, die im Beobachtungszeitraum keine chronische Niereninsuffizienz entwickelten.

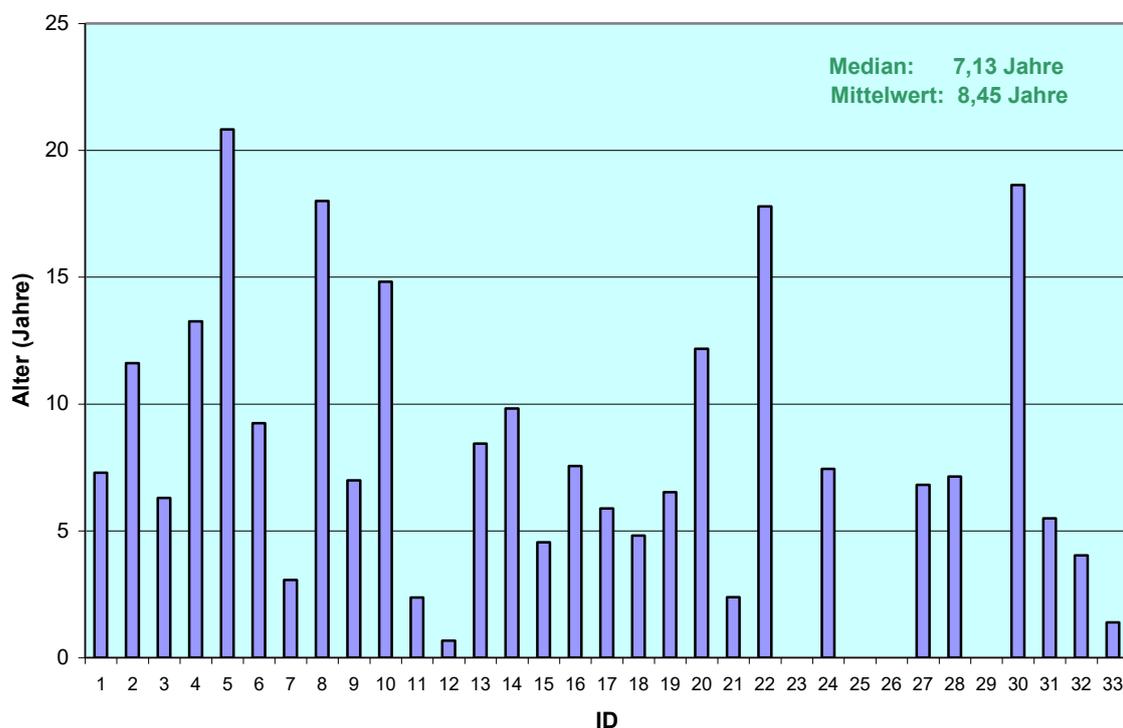


Abb. 2: Alter der einzelnen Kinder bei Abschluss der Datensammlung

Die vier Kinder mit der ID 23, 25, 26 und 29 wurden aus der Auswertung ausgeschlossen. Im Studienverlauf verstorben sind die Kinder mit der ID 2, 4, 7, 21 und 23. (ID=Identifikationsnummer)

3.1 Methylmalonsäureausscheidung im Urin

3.1.1 Werte der einzelnen Kinder

Das Hauptaugenmerk dieser Studie liegt auf der MMA-Ausscheidung im Urin und dem Zusammenhang zur Entwicklung einer Niereninsuffizienz. Die im Folgenden abgebildete Tabelle (vgl. *Tabelle 2*) beinhaltet die Darstellung der MMA-Ausscheidung im Urin der einzelnen Kinder im Blickwinkel unterschiedlicher deskriptiver Kenngrößen. Die MMA-Ausscheidung wurde hier

nur vor dem Eintreten der Niereninsuffizienz berücksichtigt, um die Niereninsuffizienz nicht als Ursache für eine veränderte MMA-Ausscheidung betrachten zu müssen. Zudem erfolgt eine Unterteilung nach „niereninsuffizient“ und „nicht niereninsuffizient“.

Hierbei wurden folgende Betrachtungsweisen der MMA-Werte gewählt: Mittelwert (Mittel), Standardabweichung (SDA), Minimum (Min) und Maximum (Max), 25%- und 75%- Perzentil (25%- / 75%-Perz.) und Median.

Tabelle 2: Deskriptive Kenngrößen der Methylmalonsäureausscheidung (in mmol/mol Krea) im Urin vor Manifestation der Niereninsuffizienz der 29 Kinder dieser Studie

Niereninsuffizienz	ID	Enzymatik	N	Mittel	SDA	Min	25%-Perz.	Median	75%-Perz.	Max	
Nein	1	Cbl C/D	19	436	346	60	214	340	522	1538	
	3	Cbl C/D	21	424	553	54	97	243	450	2129	
	8	Mut 0	28	2864	3147	559	1194	1530	3250	16000	
	11	Cbl C	17	296	223	84	169	240	261	848	
		AdoCbl	8	397	459	19	61	280	537	1400	
	12	+MeCbl									
	13	CblA/B	3	158	156	23	23	122	329	329	
	22	CblA	14	575	499	109	157	377	1120	1600	
	27	Mut 0	14	2114	3460	57	370	704	1535	11350	
	30	CblA	19	2473	5146	57	545	900	2646	23169	
Ja	2	Mut 0	11	8229	8217	357	1360	6936	10378	30000	
	4	Mut 0	27	4422	3821	340	840	3750	5950	13260	
	5	Mut 0			keine Werte vor Niereninsuffizienz						
	6	Mut 0	12	7032	2933	3800	5134	6057	8502	14202	
	7	Mut 0	27	6403	3560	1500	3390	6166	8962	15784	
	9	Mut 0	6	4130	2444	1915	2794	3410	4430	8821	
	10	Mut 0	9	13050	5649	1061	12000	13800	14771	20500	
	14	Mut 0			keine Werte vor Niereninsuffizienz						
	15	Mut 0	8	7224	1335	5267	6212	7228	8271	9105	
	16	Mut 0	14	5093	2179	318	3767	5028	6765	7999	
	17	Mut 0	12	7689	5047	2184	3422	5440	12839	14761	
	18	Mut 0	9	6759	3246	1501	5201	6509	9127	11210	
	19	Mut 0	10	16141	23216	701	1345	3880	23417	65158	
	20	unbekannt	16	2977	3633	562	1026	1500	3440	14449	
	21	Mut 0	19	19216	28243	750	3600	12400	24100	122240	
	24	Cbl B	25	10098	5050	983	6031	10211	11661	22916	
	28	Mut 0	16	8023	5266	1494	3618	8397	10690	18356	
	31	Mut 0	7	3304	3681	933	1417	1895	3651	11430	
	32	Mut 0	12	4006	4488	694	1572	2078	4290	13729	
	33	Mut 0	11	2239	649	1008	2041	2347	2820	3149	

(mmol/mol Krea = Millimol pro Mol Kreatinin, ID = Identifikationsnummer, N = Anzahl der Werte, Mittel = Mittelwert, SDA = Standardabweichung, Min = Minimum, 25%Perz. = 25%Perzentil, 75%Perz. = 75%Perzentil, Max = Maximum)

Es zeigten sich bereits im groben Überblick deutlich höhere MMA-Ausscheidungen bei den Kindern die eine chronische Niereninsuffizienz entwickelten im Vergleich zu den Kindern ohne eine Niereninsuffizienz. Dies zeigt sich über alle Kenngrößen, aber vor allem Mittelwert, Median und Maximum sind bei den niereninsuffizienten Kindern deutlich höher.

Des Weiteren fällt auf, dass die Kinder mit der mut⁰-Variante im Beobachtungszeitraum größtenteils eine chronische Niereninsuffizienz entwickelt haben (18 niereninsuffizient, zwei nicht niereninsuffizient). Die Kinder mit einer cbl-Variante der MMA weisen geringere MMA-Ausscheidungen auf (Ausnahme ID 24, 30) und wurden zudem fast ausschließlich (Ausnahme ID 24) als nicht niereninsuffizient eingeteilt.

3.1.2 Vergleich der Kohorten (niereninsuffiziente und nicht niereninsuffiziente Kinder)

Im Nachfolgenden wurden die individuellen Werte der einzelnen Kinder zu einer Gruppe „niereninsuffizient“ und einer Gruppe „nicht niereninsuffizient“ zusammengefasst und ebenfalls wieder ihre deskriptiven Kenngrößen bestimmt. Auch hier zeigte sich bereits beim ersten Sichten der Werte eine zentrale Tendenz zu höheren Werten in der Gruppe mit folgender Niereninsuffizienz (*vgl. Tabelle 3*). Zudem zeigte sich nach Berechnung des p-Wertes eine über alle individuellen Kenngrößen bestehende Signifikanz für eine höhere MMA-Ausscheidung im Urin bei der Gruppe der niereninsuffizienten Kinder (p-Werte zwischen $<0,001$ und $0,013$, also deutlich unter $0,05$). Am stärksten ausgeprägt war diese Signifikanz für den Mittelwert, das Minimum, den Median und das 25%- und 75%-Perzentil nachzuweisen, aber auch die Standardabweichung und das Maximum wiesen noch signifikante Werte auf.

Tabelle 3: MMA-Ausscheidung (in mmol/mol Krea) im Urin vor Manifestation der Niereninsuffizienz im Vergleich von niereninsuffizienten und nicht niereninsuffizienten Kindern mit Methylmalonazidurie

Größe	Nieren-				25%-		75%-		p-Wert*	
	Insuffizienz	N	Mittel	SDA	Min	Perz.	Median	Perz.		Max
Mittelwert	Nein	9	1082	1074	158	397	436	2114	2864	<
	Ja	18	7558	4582	2239	4130	6896	8229	19216	0.001
Standard-abweichung	Nein	9	1555	1856	156	346	499	3147	5146	<
	Ja	18	6259	7340	649	2933	3751	5266	28243	0.004
Minimum	Nein	9	114	169	19	54	57	84	559	<
	Ja	18	1409	1278	318	694	995	1501	5267	0.001
25% - Perzentil	Nein	9	315	368	23	97	169	370	1194	<
	Ja	18	3598	2708	840	1417	3406	5134	12000	0.001
Median	Nein	9	526	450	122	243	340	704	1530	<
	Ja	18	5946	3525	1500	3410	5748	7228	13800	0.001
75% - Perzentil	Nein	9	1183	1090	261	450	537	1535	3250	<
	Ja	18	9670	6153	2820	4430	8732	11661	24100	0.001
Maximum	Nein	9	6485	8332	329	1400	1600	11350	23169	<
	Ja	18	23171	28117	3149	11210	14326	20500	122240	0.013

* p-Wert des Mann-Whitney-U Tests

(mmol/mol Krea = Millimol pro Mol Kreatinin, N = Anzahl der Werte, Mittel = Mittelwert, SDA = Standardabweichung, Min = Minimum, 25%Perz. = 25%Perzentil, 75%Perz. = 75%Perzentil, Max = Maximum)

3.1.3 Diagnostische Güte

Die folgenden Ergebnisse stammen aus einer ROC-Analyse, um zu testen, ob die Kenngrößen auch potentiell diagnostische Güte besitzen (zum genauen Ablauf siehe Kapitel 2.3.4). Hierfür wurde für jeden Wert die theoretische Sensitivität und Spezifität ausgerechnet, wenn dieser Wert den Schwellenwert zur Trennung zwischen krank und gesund darstellen würde. Im Folgenden wurde jeweils die Fläche unter der Kurve (AUC) bestimmt. Die AUC ist ein Maß für die diagnostische Güte des untersuchten Parameters und liegt zwischen 0,5 und 1. Die diagnostische Güte ist umso besser anzusehen, je näher die AUC an 1 liegt. (vgl. Weiß und Rzany 2008)

Die durchgeführte ROC-Analyse stellte eine gute diagnostische Güte dar. Bei der Berechnung der ROC-Analyse zeigte sich eine geschätzte AUC zwischen

0,994 und 0,803, zudem wurden 95%-Konfidenzintervalle bestimmt. Hierbei zeigte sich eine Bestätigung der vorherigen Ergebnisse. Die höchste AUC erzielte der Median und das 75%-Perzentil, gefolgt von Mittelwert und 25%-Perzentil, Minimum, Standardabweichung und als geringste AUC das Maximum (vgl. Tabelle 4).

Tabelle 4: Ergebnisse der ROC-Analyse: Area Under Curve der Kenngrößen der MMA-Ausscheidung vor Manifestation der Niereninsuffizienz

Größe	AUC	Standardfehler AUC	95% - Konfidenzintervall	
			untere Grenze	obere Grenze
Mittelwert	0.988	0.015	0.959	1.000
Standardabweichung	0.852	0.090	0.676	1.000
Minimum	0.982	0.021	0.940	1.000
25% - Perzentil	0.988	0.015	0.958	1.000
Median	0.994	0.009	0.977	1.000
75% - Perzentil	0.994	0.009	0.977	1.000
Maximum	0.803	0.113	0.581	1.000

(AUC = Area under Curve/Fläche unter der Kurve)

3.2 Enzymatische Varianten der Methylmalonazidurie

Im Folgenden wurden nun die verschiedenen Methylmalonazidurie-Varianten (mut⁰ und cbl) miteinander verglichen.

3.2.1 Häufigkeitsverteilung

Im ersten Schritt wurden die betroffenen Kinder nach der bei ihnen vorliegenden enzymatischen Variante eingeteilt (vgl. Tabelle 5). Wie bereits

eingangs beschrieben fiel die mut⁻-Variante aus der Studie heraus, sodass nur mut⁰-Varianten mit cbl-Varianten verglichen werden konnten. Hier zeigte sich, dass der größte Teil der untersuchten Kinder die mut⁰-Variante aufwiesen (71,4%).

Tabelle 5: Häufigkeit der Methylmalonazidurie-Varianten unter den untersuchten Kindern

Enzymatik	Anzahl	%*
Unbekannt	1	
Mut ⁰	20	71,4
Cbl	8	28,6

*Die Prozentzahlen beziehen sich auf die Anzahl gültiger Werte (N=28).

(Mut⁰ = Mutation Null Variante der Methylmalonazidurie, Cbl = Cobalamin Varianten der Methylmalonazidurie)

3.2.2 Häufigkeit der Niereninsuffizienz: Vergleich der mut⁰- und cbl-Varianten

Die betroffenen Kinder wurden nun noch einmal in „nicht niereninsuffizient“ und „niereninsuffizient“ unterteilt, sodass sichtbar wird, wie viele Kinder mit der mut⁰-Variante eine Niereninsuffizienz entwickelt haben und wie viele es bei den cbl-Varianten waren (vgl. Tabelle 6).

Tabelle 6: Häufigkeit der Niereninsuffizienz in Abhängigkeit von der Enzymatik

Enzymatik	keine Niereninsuffizienz		Niereninsuffizienz	
	Anzahl	%*	Anzahl	%*
Mut ⁰	2	10	18	90
Cbl	7	87,5	1	12,5

*Die Prozentzahlen beziehen sich auf die Anteile von Niereninsuffizienz ja/nein innerhalb der Enzymatik-Gruppe (Zeilensumme = 100%).

(Mut⁰ = Mutation Null Variante der Methylmalonazidurie, Cbl = Cobalamin Varianten der Methylmalonazidurie)

Hier wird eine ausgeprägte Differenzierung deutlich. So haben nur 10% der mut^0 -Patienten keine chronische Niereninsuffizienz ($n=2$), während die restlichen 90% eine chronische Niereninsuffizienz aufweisen ($n=18$). Im Vergleich dazu waren 87,5% der Kinder mit den cbl -Varianten nicht niereninsuffizient ($n=7$) und nur 12,5% niereninsuffizient ($n=1$). Bei diesem Patienten handelt es sich um einen Cbl B -Variante. Um die Signifikanz nachzuweisen wurde Fishers exakter Test angewandt und ein p -Wert von $< 0,001$ ermittelt. So lässt sich eindeutig zeigen, dass die Kinder mit der mut^0 -Variante der MMA signifikant häufiger niereninsuffizient werden.

3.2.3 MMA-Ausscheidung: Vergleich der mut^0 - und cbl -Varianten

Im nächsten Schritt wurde untersucht, ob die Kinder mit der mut^0 -Variante der Methylmalonazidurie auch höhere MMA-Ausscheidungen gegenüber den Kindern mit den cbl -Varianten aufzeigen, da die Kinder mit der mut^0 -Variante eine deutlich höhere Rate an Niereninsuffizienz aufwiesen.

Die Signifikanz wurde mittels des Mann-Whitney-U-Tests berechnet.

Es zeigten sich stets signifikant höhere Werte bei den Patienten mit der mut^0 -Variante mit p -Werten zwischen 0,001 und 0,021 im Vergleich zu den Kindern mit den cbl -Varianten (vgl. *Tabelle 7*).

Tabelle 7: MMA-Ausscheidung (in mmol/mol Krea) vor Manifestation der Niereninsuffizienz differenziert nach der Variante der Methylmalonazidurie

Größe	Enzymatik	N	Mittel	SDA	Min	25%- Perz.	Median	75%- Perz.	Max	p- Wert*
Mittelwert	Mut 0	18	7108	4712	2114	4006	6581	8023	19216	0.003
	Cbl	8	1857	3411	158	346	430	1524	10098	
Standard- abweichung	Mut 0	18	6143	7376	649	2933	3620	5266	28243	0.012
	Cbl	8	1554	2192	156	285	479	2802	5146	
Minimum	Mut 0	18	1358	1315	57	559	970	1501	5267	0.001
	Cbl	8	174	328	19	39	59	96	983	
25 % - Perzentil	Mut 0	18	3293	2729	370	1360	3092	3767	12000	0.003
	Cbl	8	912	2075	23	79	163	379	6031	
Median	Mut 0	18	5420	3559	704	2347	5234	6936	13800	0.003
	Cbl	8	1589	3492	122	242	310	639	10211	
75 % - Perzentil	Mut 0	18	9097	6427	1535	4290	8386	10690	24100	0.002
	Cbl	8	2191	3906	261	390	530	1883	11661	
Maximum	Mut 0	18	22614	28231	3149	11210	13965	18356	122240	0.021
	Cbl	8	6741	10076	329	1124	1569	12522	23169	

*p-Wert des Mann-Whitney-U-Tests

(mmol/mol Krea = Millimol pro Mol Kreatinin, N = Anzahl der Werte, Mittel = Mittelwert, SDA = Standardabweichung, Min = Minimum, 25%Perz. = 25%Perzentil, 75%Perz. = 75%Perzentil, Max = Maximum)

Die größte Signifikanz zeigte sich beim Minimum der MMA-Ausscheidung, gefolgt von dem 75%- und 25%-Perzentil, dem Median und dem Mittelwert. Auch in dieser Auswertung zeigte sich wieder der höchste aber auch noch signifikante p-Wert für die Standardabweichung und das Maximum der MMA-Ausscheidung.

3.3 Alter bei Beginn der Niereninsuffizienz

Grundsätzlich lässt sich feststellen, dass die 20 Kinder mit Methylmalonazidurie, welche eine Niereninsuffizienz entwickelt haben, im Alter zwischen 0,666 Jahren und 6,811 Jahren laborparametrisch auffielen (vgl.

Tabelle 9) und die Niereninsuffizienz im Mittel im Alter von 2,8749 Jahren auftrat (vgl. Tabelle 10).

Tabelle 9: Alter bei Diagnosestellung chronische Niereninsuffizienz (aufsteigend nach Alter)

ID	Enzymatik	Alter in Jahren
14	Mut 0	0,666
2	Mut 0	0,956
20		1,011
33	Mut 0	1,025
4	Mut 0	1,036
16	Mut 0	1,049
10	Mut 0	1,592
21	Mut 0	1,619
5	Mut 0	2,118
17	Mut 0	2,512
15	Mut 0	2,737
31	Mut 0	2,814
18	Mut 0	2,841
7	Mut 0	3,027
32	Mut 0	4,022
6	Mut 0	4,745
28	Mut 0	5,005
19	Mut 0	5,641
24	Cbl B	6,271
9	Mut 0	6,811

Tabelle 10: Median und Mittelwert des Alters bei Diagnose chronische Niereninsuffizienz

Median des Alters in Jahren bei Manifestation der Niereninsuffizienz	Mittelwert des Alters in Jahren bei Manifestation der Niereninsuffizienz
2,6245	2,8749

(Mut⁰ = Mutation Null Variante der Methylmalonazidurie, CblB = Cobalamin B Varianten der Methylmalonazidurie)

3.4 Ausmaß der MMA-Ausscheidung im Urin und Alter bei Beginn der Niereninsuffizienz

Im Folgenden wurde untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen der Höhe der MMA-Ausscheidung vor Manifestation der chronischen Niereninsuffizienz und dem Alter, in dem die Niereninsuffizienz eintritt, besteht.

Hierfür wurden 18 Kinder mit chronischer Niereninsuffizienz nochmals speziell auf ihre MMA-Ausscheidung und dem Alter bei der Diagnose Niereninsuffizienz untersucht. Zwei Kinder konnten nicht mit einbezogen werden, da keine MMA-Ausscheidung vor der Diagnosestellung der chronischen Niereninsuffizienz bestimmt worden war, sodass 18 Kinder beurteilt wurden. Es wurde der Spearmansche Rangkorrelationskoeffizient (r_s) zu Hilfe gezogen. Dieser wurde ebenfalls für alle Kenngrößen der MMA-Ausscheidung berechnet und der p-Wert bestimmt (vgl. *Tabelle 8*).

Tabelle 8: Spearmanscher Rangkorrelationskoeffizient r_s vom Beginn der Niereninsuffizienz (Alter) und den Kenngrößen der MMA-Ausscheidung vor Manifestation der Niereninsuffizienz

Größe	N	r_s	p-Wert*
Mittelwert	18	0.121	0.633
Standardabweichung	18	-0.038	0.880
Minimum	18	0.507	0.032
25% - Perzentil	18	0.243	0.332
Median	18	0.042	0.868
75% - Perzentil	18	0.141	0.576
Maximum	18	0.030	0.906

*Test auf $r_s \neq 0$
(N = Anzahl, r_s = Spearmanscher Rangkorrelationskoeffizient)

In dieser Zusammenhangsberechnung zeigte sich der größte Rangkorrelationskoeffizient für das Minimum der MMA-Ausscheidung mit einem Rangkorrelationskoeffizienten von 0,507. Dieser Rangkoeffizient ist allerdings nicht sehr hoch, sodass im Gegensatz zu den vorherigen Analysen nur ein schwacher Zusammenhang zwischen der Höhe der MMA-

Ausscheidung im Urin und dem Alter bei Eintreten der chronischen Niereninsuffizienz nachgewiesen werden kann. Der daraus resultierende p-Wert des Minimums beträgt 0,032. Die anderen individuellen Kenngrößen lagen weiter darunter. So stellt sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Minimum der MMA-Ausscheidung und dem Alter bei Diagnose der Niereninsuffizienz dar. Dieser Zusammenhang bestand bei steigendem Minimum, das heißt es zeigte sich ein höheres Alter bei Eintritt der Niereninsuffizienz bei höherem Minimum (*vgl. Abbildung 3*). Allerdings ist der Zusammenhang nicht sehr stark ausgeprägt, dies zeigt sich auch im vorliegenden Streudiagramm. So konnte sich zwar ein signifikanter Zusammenhang zwischen Alter bei Beginn der Niereninsuffizienz und dem Minimum der MMA-Werte vor Manifestation der Niereninsuffizienz zeigen, allerdings ist der Korrelationskoeffizient recht klein, sodass davon auszugehen ist, dass der Zusammenhang nicht sehr deutlich ausgeprägt ist.

Es ist auch zu erwägen, dass aufgrund der hohen Standardabweichung die Signifikanz nicht sehr hoch ist und somit mit einer größeren Stichprobe eindeutigere Ergebnisse zu erlangen wären.

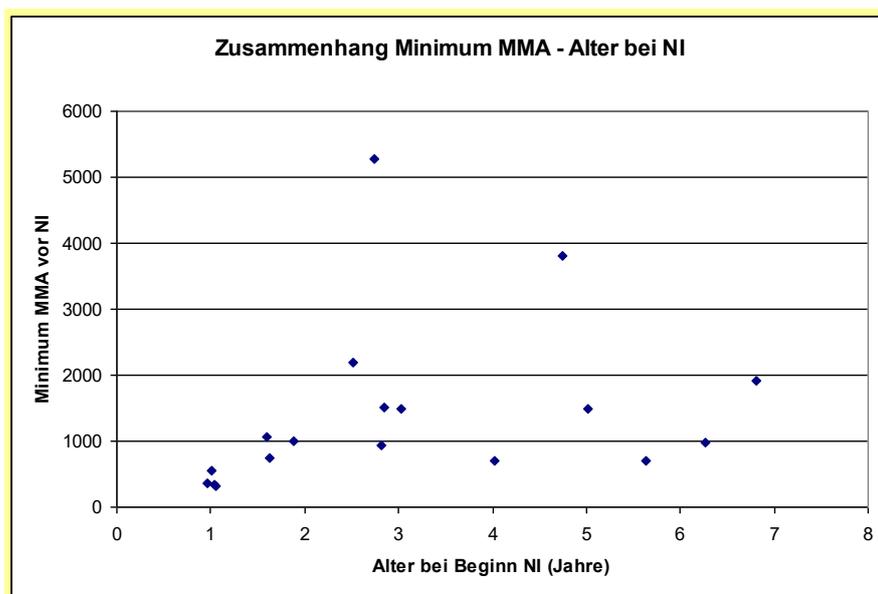


Abb. 3: Alter bei Diagnose Niereninsuffizienz im Zusammenhang zum Minimum der MMA-Ausscheidung (mmol/mol Krea) im Urin vor der Diagnose chronische Niereninsuffizienz

4 Diskussion

Die Methylmalonazidurie ist auch heute noch eine Erkrankung mit gravierenden Folgeschäden. Die Mortalität der mut⁰-Variante ist zwar in den letzten Jahrzehnten zurückgegangen, aber die Folgeschäden scheinen aktuell schwer aufhaltbar. Insbesondere die chronische Niereninsuffizienz beeinflusst neben den neurologischen Auswirkungen die Krankheitsprognose negativ. (vgl. Hörster et al. 2007)

Ein klarer Pathomechanismus der Nierenschädigung ist bis heute nicht bekannt, es werden immer wieder Vermutungen und Thesen aufgestellt, dass die Höhe der Ausscheidung der Methylmalonsäure (MMA) an der Nierenschädigung mitbeteiligt ist (vgl. Morath et al. 2008).

Goyenchea et al. (2012) beschreibt eine erhöhte Expression von TNF-alpha und TGF-beta im Rattenmodell, als Ursache der Schädigung deuten die Autoren einen Entzündungsprozess und oxidativen Stress. Da dieser Anstieg im Tiermodell nach Injektion von MMA zu verzeichnen ist, stellt sich die Vermutung, dass MMA auf die Nieren schädigend wirkt. Da eine höhere MMA-Gabe höhere Werte von TGF-beta und TNF-alpha bewirken, lässt sich der Verdacht eines Zusammenhanges zwischen MMA und Niereninsuffizienz weiter bekräftigen. Bei Ribeiro et al. (2013) wird ebenfalls im Rattenmodell auf einen Anstieg von TNF-alpha und zusätzlich IL-1 β hingewiesen, in dieser Studie werden allerdings vor allem die schädigenden zerebralen Effekte beschrieben.

Bei Manoli et al. (2013) wird im Mausmodell nachgewiesen, dass bei einer hohen Proteinzufuhr bei defekter Methylmalonyl-CoA-Mutase neben einem Anstieg der MMA im Plasma die GFR (FITC-labeled inulin clearance) sinkt. Es entwickelt sich eine chronische tubulointerstitielle Nephritis mit sinkender tubulärer Funktion, vor allem im proximalen Tubulus lassen sich vergrößerte Mitochondrien mit auffälligen Cristae nachweisen. Hier wird die mitochondriale Dysfunktion als pathogenetischer Faktor der Niereninsuffizienz beschrieben, die aber aufgrund vermehrter MMA-Produktion auftritt. Allerdings haben

alleinige Injektionen von MMA in gesunden Mäusen keine Nierenschädigung verursacht. Hier stellt sich jedoch die Frage, ob bei uneingeschränkter Enzymtätigkeit die MMA über die intakte Methylmalonyl-CoA-Mutase nicht direkt wieder abgebaut wird und somit bei gesunden Mäusen keine Nephrotoxizität nachweisbar ist.

Die bei Manoli et al. (2013) beschriebenen veränderten Mitochondrien in den Nierentubuli konnten auch bei drei Patienten anhand von Nierenbiopsien nachvollzogen werden. Allerdings gibt es keinen klaren Erklärungsansatz, woher die Veränderung der Mitochondrien kommt beziehungsweise ob diese die Ursache für den Funktionsverlust der Niere darstellt. So lässt sich aktuell nicht klar sagen, aus welchem Grund es zur Niereninsuffizienz kommt. Insgesamt gibt es eine Reihe von Hinweisen, dass die verstärkte MMA-Produktion und -Ausscheidung einen Anteil an der Entwicklung der Niereninsuffizienz hat. Lipocalin-2 wird als früher Biomarker für die Nierenschädigung betrachtet, da er sowohl im Mausmodell als auch bei Patienten mit Methylmalonazidurie parallel zum Sinken der GFR ansteigt. Als Therapieoption bewirkte im Mäusemodell eine antioxidative Therapie mit Coenzym Q10 und Vitamin E eine Verbesserung der GFR und Lipocalin-2 normalisierte sich hierunter. (Manoli et al. 2013)

In dieser Arbeit wurden die Daten von 29 Kindern mit Methylmalonazidurie ausgewertet, um die Fragestellung des Zusammenhanges zwischen der Höhe der MMA-Konzentration im Urin und der Entwicklung einer Niereninsuffizienz bei Kindern mit Methylmalonazidurie zu untersuchen.

Es wurden sowohl die MMA-Ausscheidungen im Urin jedes einzelnen Kindes als auch die MMA-Ausscheidungen zusammengefasst als Gruppe der niereninsuffizienten beziehungsweise nicht niereninsuffizienten Kinder untersucht. Weiterhin wurde die MMA-Ausscheidung differenziert untersucht nach der vorliegenden enzymatischen Variante der Methylmalonazidurie (mut⁰- oder cbl-Varianten).

Die Ergebnisse der einzelnen Analysen zeigen einen signifikanten Zusammenhang zwischen der MMA-Ausscheidung im Urin und der Entwicklung einer Niereninsuffizienz. Quantitativ lässt sich sagen, dass eine hohe MMA-Ausscheidung im Urin mit einem höheren Risiko für eine Niereninsuffizienz einhergeht, wie dies auch schon bei Hörster et al. (2007) beschrieben wurde. Über diese bereits vormals beschriebene Beobachtung hinaus hat sich diese Arbeit auch mit dem Zusammenhang der Höhe der MMA-Ausscheidung im Urin und dem Alter bei Eintritt einer chronischen Niereninsuffizienz beschäftigt. Die vorliegenden Daten erlauben nicht die Schlussfolgerungen eines plausiblen linearen Zusammenhangs zwischen dem Alter bei Eintreten der Niereninsuffizienz und der Höhe der bis dahin ausgeschiedenen MMA-Mengen im Urin. Allerdings lässt sich hieraus auch interpretieren, dass das Minimum der MMA-Ausscheidungen nicht der relevante Parameter für das Eintreten der Niereninsuffizienz sein muss, sondern vermutlich die hohen Konzentrationen entscheidend sind. Dies lässt sich so interpretieren, dass eine hohe MMA-Ausscheidung oft im Rahmen von Stoffwechselentgleisungen auftritt und die Kinder mit einer erhöhten Anzahl von schweren Stoffwechselentgleisungen gefährdeter sind, eine Niereninsuffizienz zu entwickeln. Der Zusammenhang von Anzahl der Stoffwechselentgleisungen und Entwicklung einer Niereninsuffizienz wurde in dieser Arbeit allerdings nicht untersucht.

Die hohen MMA-Ausscheidungen, gerade in den Gruppen der Kinder die eine chronische Niereninsuffizienz entwickeln, sprechen stark für einen Zusammenhang der Niereninsuffizienz mit der MMA-Ausscheidung im Urin. Allerdings ist nicht auszuschließen, dass trotz nachgewiesenen signifikanten Zusammenhangs noch andere Faktoren eine Rolle spielen. Der genaue Pathomechanismus ist aktuell nicht bekannt.

Limitation der retrospektiven Studie ist sicherlich, dass nur bei wenigen Patienten bereits in jungem Alter regelmäßige Untersuchungen der GFR im 24-Stunden-Sammelurin erfolgt sind. Auch wäre es sinnvoll, die MMA-Konzentration im Urin aus standardisierten Urinproben (Spontan- oder Sammelurin) zu bestimmen, da die individuellen Standardabweichungen der

Ausscheidung bei allen Patienten jeweils sehr groß sind. Weitere frühe Biomarker der Nierenschädigung wie das Lipocalin-2 wären im Rahmen einer prospektiven Studie sicherlich sehr hilfreich, um das genaue Alter bei Beginn einer Nierenschädigung zu definieren.

Einzelne Ergebnisse im Blickpunkt

- **Methylmalonsäureausscheidung im Urin** (vgl. 3.1.1 und 3.1.2)

In dieser Arbeit wurde die Höhe der MMA-Ausscheidung im Urin der Kinder vor dem Eintreten der Niereninsuffizienz charakterisiert.

Der Hintergrund dieses Vorgehens ist der Gedanke, dass eine bereits vorliegende chronische Niereninsuffizienz ebenfalls Auswirkungen auf die Höhe der MMA-Ausscheidung und MMA-Konzentration im Urin hat. Bis zum Eintreten der Niereninsuffizienz ist von einer normalen Nierenfunktion auszugehen und somit auch von vergleichbaren Werten der MMA-Ausscheidung.

Sicherlich wäre auch der Gedanke interessant, wie sich die MMA-Ausscheidung bei Niereninsuffizienz verändert. Allerdings führt dieser Ansatz nicht zum Detektieren eines Zusammenhanges zwischen dem Eintreten der Niereninsuffizienz und der Höhe der MMA-Ausscheidung.

In den Fallberichten von Mc Guire et al. (2008) und Lubrano et al. (2001), in denen von Nierentransplantation und kombinierter Leber- und Nierentransplantation berichtet wird, zeigt sich nach einer Transplantation eine Verminderung der MMA-Ausscheidung im Urin. Dies deutet eindeutig darauf hin, dass die Fragestellung der vorliegenden Untersuchung bei bereits eingetretener Nierenschädigung nur begrenzt bewertet werden kann.

Bereits in der ersten Ausarbeitung (vgl. 3.1.1 Tab. 2) stellte sich eine deutliche Differenzierung zwischen niereninsuffizienten und nicht niereninsuffizienten Kindern in Bezug auf ihre enzymatische Variante

dar. Die Kinder mit der mut⁰-Variante zeigten sowohl höhere MMA-Ausscheidungen als auch eine signifikante Disposition zur frühen Niereninsuffizienz. Hieraus lässt sich interpretieren, dass eine hohe MMA-Ausscheidung mit einer Niereninsuffizienz einhergeht (vgl. 3.1.2 Tab. 3). Allerdings ist unklar, ob weitere Faktoren die frühe Niereninsuffizienz verursachen.

- **Diagnostische Güte** (vgl. 3.1.3)

In den Auswertungen bezüglich der diagnostischen Güte zeigen sich insbesondere für den Median und das 75%-Perzentil, aber auch für den Mittelwert, 25%-Perzentil und Minimum signifikante Werte beziehungsweise die höchste diagnostische Güte. Insbesondere das Maximum zeigte sich als der Parameter mit der geringsten diagnostischen Güte. Dies lässt vermuten, dass eine dauerhaft erhöhte MMA-Ausscheidung den relevanten Parameter für die Schädigung der Nieren darstellt und nicht einzelne hohe Werte zum Beispiel während einer einmaligen Stoffwechsellage die Ursache für die Schädigung der Nieren darstellen, wenn ansonsten eine gute Stoffwechseleinstellung besteht. Dies lässt sich auch bei Betrachtung der Maxima in *Tabelle 2* (vgl. 3.1.1) nachvollziehen. Zum Beispiel zeigt sich bei dem Kind mit der ID 30, welches als nicht niereninsuffizient eingeteilt wurde, ein sehr hohes Maximum. Dennoch ist es ein nicht niereninsuffizientes Kind, während zum Beispiel das Kind mit der ID 15 niereninsuffizient ist und ein geringeres Maximum aufweist. Allerdings ist der Mittelwert der MMA-Ausscheidung bei dem Kind mit der ID 15 fast dreifach höher als bei dem Kind mit der ID 30. Dies unterstützt die Vermutung, dass eine dauerhaft hohe MMA-Ausscheidung im Urin die Niere stärker schädigt als einzelne stark erhöhte Werte.

Daraus lässt sich folgern, dass ein Therapieziel für die von Methylmalonazidurie betroffenen Kindern sein muss möglichst niedrige und konstante MMA-Ausscheidungen zu erzielen. Allerdings ist dies oft schwer zu realisieren und von der Form der Methylmalonazidurie

abhängig, da auch unter Einhaltung einer proteinarmen Ernährung bei Kindern mit der mut^0 -Variante hohe MMA-Ausscheidungen vorliegen (vgl. Hörster et al. 2007).

- **Enzymatische Varianten der MMA** (vgl. 3.2)

Es findet sich signifikant häufiger eine Niereninsuffizienz bei Kindern mit der mut^0 -Variante, als bei Kindern mit den cbl -Varianten. Allerdings wurde in dieser Studie nicht weiter differenziert, in wie weit bei den einzelnen cbl -Varianten Unterschiede bestehen. Im Gegensatz wurde bei Hörster et al. (2007) berichtet, dass cblB -Patienten ebenso oft unter chronischer Niereninsuffizienz leiden wie mut^0 -Patienten.

Insgesamt lässt sich schließen, dass Kinder mit cbl -Varianten eine geringere MMA-Ausscheidung aufweisen als Kinder mit der mut^0 -Variante. Die höhere MMA-Ausscheidung bei mut^0 -Kindern wurde auch bereits in anderen Studien beschrieben (vgl. Cosson et al. 2009; Hörster et al. 2007).

Aus diesen Ergebnissen lässt sich schließen, dass eine hohe MMA-Ausscheidung im Urin einhergeht mit früher Niereninsuffizienz.

- **Alter bei Eintritt der Niereninsuffizienz** (vgl. 3.4)

Das Alter bei Eintreten der Niereninsuffizienz lag in dieser Studie zwischen 0,67 Jahren und 6,81 Jahren, im Median bei 2,62 Jahren und durchschnittlich bei 2,87 Jahren. Damit liegt das Alter bei Diagnosestellung einer chronischen Niereninsuffizienz in diesem Patientenkollektiv deutlich niedriger als bisher in der Literatur beschrieben wurde. Zum Vergleich betrug der Median des Alters bei Einsetzen der Niereninsuffizienz bei Hörster et al. (2009) 7,5 Jahre (Range 2-33 Jahre), bei Hörster et al. (2007) 8 Jahre (Range 2-18 Jahre) und bei Cosson et al. (2009) betrug der Median 6,5 Jahre (Range 1,5-18,6 Jahre). Zu berücksichtigen ist dabei allerdings auch der hohe Anteil der Patienten mit mut^0 -Variante (71,4%), wobei dieser Anteil in

den eben erwähnten Studien variiert. So ist ein ähnlich hoher Anteil bei Cosson et al. (2009) zu verzeichnen mit 68% mut⁰-Varianten, während bei Hörster et al. (2007) ein Anteil von 50,6% besteht. Daher ist auch ein hoher Anteil an betroffenen Kindern mit mut⁰-Variante nicht allein erklärend für den frühen Eintritt der Niereninsuffizienz. Ein wichtiger Punkt in diesem Zusammenhang ist die Verfügbarkeit und der Einsatz sensitiver Parameter zur frühzeitigen Beurteilung einer Nierenschädigung.

In dieser Studie wurde die chronische Niereninsuffizienz durch Creatinin und Cystatin C im Serum bestimmt, während die Niereninsuffizienz in den anderen erwähnten Studien mit Hilfe der Glomerulären Filtrationsrate (GFR) oder Creatinin Clearance definiert wurde, anerkannte Parameter zur Bestimmung der Nierenfunktion. Da diese Analysen in der Regel aber nicht routinemäßig bei der Verlaufskontrolle der Patienten im Kleinkindalter durchgeführt werden, liegen für diese Altersgruppe entsprechende Ergebnisse nicht vor.

Die Creatininbestimmung beziehungsweise die Creatinin-Konzentration sind abhängig von der Muskelmasse. Bei Kindern, die an einer Methylmalonazidurie leiden, muss man davon ausgehen, dass sie eine geringe Muskelmasse haben. Insbesondere da sie eine proteinarme Ernährung erhalten und oft schlechter gedeihen. Daher müsste man bei der Creatininbestimmung bei Kindern mit Methylmalonazidurie von falsch niedrigen Werten ausgehen (vgl. Thomas und Thomas 2009).

Zudem wurde auch Cystatin C zur Bestimmung der Niereninsuffizienz herangezogen und dies ist unabhängig von Alter beziehungsweise Muskelmasse ein sehr sensitiver Parameter der Nierenfunktion (vgl. Thomas und Thomas 2009).

Es bleibt festzustellen, dass die Niereninsuffizienz in dem untersuchten Patientenkollektiv alarmierend früh einsetzt. Umso wichtiger ist es für die Zukunft Strategien zu finden, welche diesen Prozess aufhalten oder zumindest verlangsamen können.

- **Zusammenhang der MMA-Ausscheidung im Urin und des Alters bei Entwicklung einer chronischen Niereninsuffizienz** (vgl. 3.3)

Die Untersuchung eines Zusammenhangs zwischen dem Alter bei Eintritt der Niereninsuffizienz und der Höhe der MMA-Ausscheidungen konnte keine eindeutigen Ergebnisse liefern. Es zeigte sich zwar ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Minimum der MMA-Ausscheidung und dem Alter bei Eintreten der Niereninsuffizienz, allerdings ist der Korrelationskoeffizient klein, sodass davon auszugehen ist, dass der Zusammenhang nicht sehr deutlich ausgeprägt ist. Überdies waren die Ergebnisse überraschend, da im Gegensatz zu den Erwartungen bei niedrigem Minimum ein früheres Eintreten der Niereninsuffizienz beobachtet wurde. Da dies mit den vorhergehenden, fast durchgehend signifikanten Ergebnissen einer erhöhten MMA-Ausscheidung bei niereninsuffizienten Patienten nicht in Einklang zu bringen ist, liegt eine andere Interpretation nahe, nämlich dass die Entwicklung einer frühen Niereninsuffizienz eher auf dauerhaft erhöhte Werte zurückzuführen ist, was durch die Einzelmessungen zu nicht definierten Zeiten und Stoffwechselluständen nicht erfasst wurde.

Mögliche andere pathogenetische Faktoren der Niereninsuffizienz bei Methylmalonazidurie spielen bei der weiteren Interpretation sicherlich auch eine Rolle.

So könnte zum Beispiel, wie bei Manoli et al. (2013) formuliert wurde, oxidativer Stress oder aktuell noch nicht bekannte Einflussfaktoren mitbestimmend sein. Unklar ist auch, ob diese Faktoren sekundär bei erhöhter Methylmalonsäurekonzentration auftreten oder primär vorliegen.

Für eine prospektive Studie wäre wichtig, die MMA-Ausscheidung unter standardisierten Bedingungen zu messen, um erneut den Zusammenhang zwischen Höhe der Ausscheidungen und Alter zu beurteilen.

5 Schlussfolgerung und Ausblick

Es ließ sich in dieser Arbeit eine signifikante Korrelation zwischen der Höhe der MMA-Ausscheidung im Urin und der Entwicklung einer Niereninsuffizienz feststellen. Allerdings ist ein Zusammenhang zwischen dem Alter bei Eintreten der Niereninsuffizienz und der Höhe der MMA-Ausscheidung nicht signifikant nachweisbar. Es muss berücksichtigt werden, dass bei der Datenerhebung in dieser Studie nicht mit einfließen konnte, welche Urinwerte der MMA-Ausscheidung während einer Entgleisung des Stoffwechsels und welche unter optimalen, stabilen Stoffwechselbedingungen bestimmt worden sind. Ein signifikant höheres Risiko einer frühen Niereninsuffizienz tragen Kinder mit der mut⁰-Variante, der mittlere Beginn erster Zeichen einer Nierenschädigung liegt bei 2,87 Jahren, dies ist wesentlich früher als in vorangegangenen retrospektiven Studien beschrieben.

Die vorliegenden Daten fassen die Häufigkeit einer Niereninsuffizienz und das Alter des Auftretens in einem Kollektiv von 29 Patienten mit einer Methylmalonazidurie zusammen. Die Studie macht aber auch die Limitation eines retrospektiven Vorgehens deutlich. Zum einen bedarf es definierter, sensitiver Parameter zur Feststellung früher Zeichen einer Niereninsuffizienz, die bei allen Patienten bereits ab Geburt regelmäßig in der Verlaufskontrolle eingesetzt werden können. Zum anderen müssen die zu vergleichenden Parameter unter standardisierten Bedingungen bestimmt werden. Die vorliegende Arbeit ist damit zusammenfassend eine wichtige Vorarbeit für die Entwicklung einer prospektiven Studie zur Untersuchung der Niereninsuffizienz bei Methylmalonazidurie. Außerdem richtet sie die Niereninsuffizienz weiter in den Fokus der behandelnden Ärzte und belegt, dass die Bestimmung der MMA-Ausscheidung im Urin eine Relevanz als Monitoring Parameter bei der Methylmalonazidurie hat. Therapeutische Konzepte zur Reduktion der MMA-Konzentration im Urin wie zum Beispiel eine vermehrte Flüssigkeitszufuhr sollten in Zukunft in prospektiven Studien geprüft werden.

6 Literaturverzeichnis

Bortz 2005

Bortz, J. (2005): Statistik für Human- und Sozialmedizin. 6.Auflage. Heidelberg: Springer-Verlag

Zitiert nach:

<http://www.methodenberatung.uzh.ch/datenanalyse/unterschiede/zentral/mann.html> (siehe Anhang)*

Bodamer et al. 2007

Bodamer, O.A.; Hoffmann, G.F.; Lindner, M. (2007): Expanded newborn screening in Europe 2007. In: Journal of Inherited Metabolic Disease, 2007; 30:439-444

Cosson et al. 2009

Cosson, M. A.; Benoist, J. F.; Touati, G.; Déchaux, M.; Royer, N. ; Grandin, L. ; Jais, J.P. ; Boddaert, N.; Barbier, V.; Desguerre, I.; Campeau, P.M.; Rabier, D.; Valayannopoulos, V.; Niaudet, P.; de Lonlay, P. (2009): Long-term outcome in methylmalonic aciduria: A series of 30 French patients. In : Molecular genetics and metabolism, 2009; 97:172-178

Coulombe et al. 1981

Coulombe, J.T. ; Shih, V.E.; Levy, H.L. (1981) : Massachusetts Metabolic Disorders Screening Program. II.Methylmalonic Aciduria. In: Pediatrics, 1981; 67:26-31

De Baulny et al. 2005

De baulny, H.O.; Benoist, J.F.; Rigal, O.; Touati, G.; Rabier, D.; Saudubray, J.M. (2005): Methylmalonic and propionic acidaemias: Management and Outcome. In: Journal of Inherited Metabolic Disease, 2005; 28:415-423

du Prel et al. 2010

du Prel, J.-B.; Röhrig, B.; Hommel, G. ; Blettner, M. (2010): Auswahl statistischer Testverfahren: Teil 12 der Serie zur Bewertung wissenschaftlicher Publikationen. In: Deutsches Ärzteblatt 2010; 107(19): 343-8

Etuwewe et al. 2009

Etuwewe, B.; Jones, C. A.; Mathur, S.; Wright, K. P.; Morris, A. A. M. (2009): Peritoneal dialysis for chronic renal failure in a patient with methylmalonic acidaemia. In: Pediatr Nephrol 2009; 24:1085-1087

Fenton und Rosenberg 1995

Fenton, W.A. ; Rosenberg, L.E. (1995): Disorders of Propionat and methylmalonate Metabolism. In Scriver et al. 1995: The metabolic and Molecular bases of inherited disease: Disorder of Propionate and Methylmalonate Metabolism: Mc Graw-Hill, Inc. : S. 1423-1443
The metabolic and Molecular bases of inherited disease: Inherited disorders of Cobalamin transport and Metabolism: Mc Graw-Hill, Inc. : S. 3129-3144

Goyenchea et al. 2012

Goyenchea, E.; Andrade, F.; de Las Heras, J.; Lage, S.; Prieto, J. Á.; Ruiz, N.; Aldámiz-Echevarria, L. (2012): Expression of Proinflammatory Factors in Renal Cortex Induced by Methylmalonic Acid. In: Renal failure, 2012; 43(7): 885-91

Heil 2004

Schlebusch, H.; Liappis, N.; Klein, G. (2004): Creatinine and ultrasensitive CRP: Reference intervals from infancy to childhood. Poster Euromedlab 2001, Prag
(Information aus dem Labor der Uniklinik Düsseldorf vom 13.02.2013)

Hirsig 2001

Hirsig, R. (2001): Statistische Methoden in den Sozialwissenschaften: Eine Einführung im Hinblick auf computergestützte Datenanalysen mit SPSS für Windows: Band 1. 3. Auflage. Heidelberg: Springer-Verlag, zitiert nach
<http://www.methodenberatung.uzh.ch/datenanalyse/unterschiede/zentral/mann.html> (siehe Anhang)*

Hörster et al. 2007

Hörster, F.; Baumgartner, M. R.; Viardot, C.; Suormala, T.; Burgard, P.; Fowler, B.; Hoffmann, G. F.; Garbade, S. F.; Kölker, S.; Baumgartner, E. R. (2007): Long-term outcome in methylmalonic acidurias is influenced by the underlying defect (mut^o, mut-, cblA, cblB). In: Pediatric research, 2007; 62:225-230

Hörster et al. 2009

Hörster, F.; Garbade, S. F.; Zwicker, T.; Aydin, H. I.; Bodamer, O. A.; Burlina, A. B.; Das, A. M.; DeKlerk, J.B.C.; Dionisi-Vici, C.; Geb, S. ; Gökçay, G. ; Guffon, N. ; Maier, E.M. ; Morava, E. ; Walter, J.H. ; Schwahn, B. ; Wijburg, F.A. ; Lindner, M. ; Grünewald, S. ; Baumgartner, M.R. ; Kölker, S. (2009): Prediction of outcome in isolated methylmalonic acidurias : combined use of clinical and biochemical parameters. In: Journal of inherited metabolic disease 2009, 32:630-639

Lentze et al. 2007

Lentze, M.; Schaub, J.; Schulte, F.-J.; Spranger, J. (2007): Pädiatrie: Grundlagen und Praxis. 3. Auflage. Heidelberg: Springer Verlag, S. 360-361

Leonard 1995

Leonard, J.V. (1995): The management and outcome of propionic and methylmalonic acidemia. In: Journal of Inherited Metabolic Disease 1995, 18: 430-434

Leonard et al. 2001

Leonard, J.V.; Walter, J.H.; McKiernan P.J. (2001): The management of organic acidemias: The rule of transplantation. In: Journal of Inherited Metabolic Disease 2001, 24: 309-311

Lubrano et al. 2001

Lubrano, R.; Scoppi, P.; Barsotti, P.; Travasso, E.; scateni, S.; Cristaldi, S.; Castello, M.A. (2001): Kidney transplantation in a girl with methylmalonic acidemia and end stage renal failure. In: Pediatric Nephrology 2001, 16:848-851

Lumbrano et al. 2007

Lumbrano, R.; Elli, M.; Rossi, M.; Travasso, E.; Raggi, C.; Barsotti, P.; Carducci, C.; Berloco, P. (2007): Renal transplant in methylmalonic acidemia: could it be the best option? In: Pediatric Nephrology 2007, 22:1209-1214

Manoli et al. 2013

Manoli, I.; Sysol, J.R.; Li, L.; Houillier, P.; Garone, C.; Wang, C.; Zervas, P.M.; Cusmano-Ozog, K.; Young, S.; Trivedi, N.S.; Cheng, J.; Sloan, J.L.; Chandler, R.J.; Abu-Asab, M.; Tsokos, M.; Elkahloun, A.G.; Rosen, S.; Enns, G.M.; Berry, G.T.; Hoffmann, V.; DiMauro, S.; Schnermann, J.; Venditti, C.P. (2013): Targeting proximal tubule mitochondrial dysfunction attenuates the renal disease of methylmalonic acidemia. In: Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS) 2013, 110 No33: 13552-13557

Mc Guire et al. 2008

Mc Guire, P.J.; Lim-Melia, E.; Diaz, G.A.; Raymond, K.; Larkin, A.; Wasserstein, M.P.; Sansaricq, C. (2008): Combined liver-kidney transplant for the management of methylmalonic aciduria: A case report and review of literature. In Molecular Genetics and Metabolism 2008, 93: 22-29

Maier und Muntau 2007

Maier, E.; Muntau A.C. (2007): Hyperammonämie. In Kiess, W.; Merckenschlager, A.; Pfäffle, R.; Siekmeyer, W. (2007): Therapie in der Kinder- und Jugendmedizin: Strategien für Klinik und Praxis. München: Elsevier Verlag: S. 340 und S. 601-602

Morath et al. 2008

Morath, M.A.; Okun, J.G.; Müller, I.B.; Sauer, S.W.; Hörster, F.; Hoffmann, G.F.; Kölker, S. (2008): Neurodegeneration and chronic renal failure in methylmalonic aciduria – a pathophysiological approach. In: Journal of inherited metabolic disease, 2008; 31:35-43

Nicolaidis et al. 1998

Nicolaidis, P.; Leonard, J.; Surtees, R. (1998): Neurological outcome of methylmalonic acidemia. In: Archives of Disease in Childhood 1998; 78: 508-512

Prosiegel und Weber 2010

Prosiegel, M.; Weber, S. (2010): Dysphagie: Diagnostik und Therapie: Ein Wegweiser für kompetentes Handeln. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, S.72

Ribeiro et al. 2013

Ribeiro, L.R.; Della-Pace, I.D.; de Oliveira Ferreira, A.P.; Funck, V.R.; Pinton, S.; Bobinski, F.; de Oliveira; C.V.; da Silva Fiorin, F.; Madeiros Frescura Duarte, M.M.; Furian, A.F.; Schneider Oliveira, M.; Wayne Nogueira,C.; Soares dos Santos, A.R.; Freire Royes, L.F.; Rechia Figuera, M. (2013): Chronic administration of methylmalonate on young rats alters neuroinflammatory markers and spatial memory. In: Immunobiology 2013, 218:1175-1183

Roscher et al. 2001

Roscher, A. A.; Fingerhut, R.; Liebl, B.; Olgemöller, B. (2001): Erweiterung des Neugeborenen Screenings durch Tandemmassenspektrometrie. In: Monatsschrift Kinderheilkunde 2001, 149:1297-1303

Rutledge et al. 1993

Rutledge, S.L.; Geraghty, M.; Mroczek, E.; Rosenblatt, D.; Kohout, E. (1993): Tubulointestinal nephritis in methylmalonic acidemia. In: Pediatric Nephrology 1993, 7:81-82

Stöckler-Ipsiroglu et al. 2005

Stöckler-Ipsiroglu, S.; Herle, M.; Nennstiel, U.; Wendel, U.; Burgard, P.; Plecko, B.; Ipsiroglu, O.S. (2005): Angeborene Stoffwechselerkrankungen: Besonderheiten in der Betreuung von Kindern aus Migrantenfamilien. In: Monatsschrift Kinderheilkunde 2005, 135:22-28

Thomas und Thomas 2009

Thomas, C.; Thomas, L. (2009): Niereninsuffizienz – Bestimmung der glomerulären Funktion. In: Deutsches Ärzteblatt International 2009, 106(51-52): 849-54

Weiß und Rzany 2008

Weiß, C.; Rzany, B. (2008): Basiswissen Medizinische Statistik. 4. Auflage. Heidelberg: Springer-Verlag, S. 282-284

Weiß und Rzany 2010

Weiß, C.; Rzany, B. (2010): Basiswissen Medizinische Statistik. 5. Auflage. Heidelberg: Springer-Verlag, S. 208

Wendel und de Baulny 2006

Wendel, U.; De Baulny, O. (2006): Branched-Chain Organic Acidurias/Acidemias. In: Inborn Metabolic Diseases. 4. Auflage. Wiesbaden: Springer-Verlag, 246-260

Willard und Rosenberg 1980

Willard, H.F.; Rosenberg, L.E. (1980): Inherited Methylmalonyl CoA Mutase Apoenzyme Deficiency in Human Fibroblasts: Evidence for allelic heterogeneity, genetic compounds, and codominant expression. In: The Journal of clinical investigation 1980; 65(3):690-698

Zwicker et al. 2008

Zwicker, T.; Lindner, M.; Aydin, H.I.; Baumgartner, M.R.; Bodamer, O.A.; Burlina, A.B.; Das, A.M.; deKlerk, J.B.C.; Gökçay, G.; Grünewald, S.; Guffon, N.; Maier, E.M.; Morava, E.; Geb, S.; Schwahn, B.; Walter, J.H.; Wendel, U.; Wijburg, F.A.; Müller, E.; Kölker, S.; Hörster, F. (2008): Diagnostic work-up and management of patients with isolated methylmalonic acidurias in European metabolic centres. In: Journal of inherited metabolic disease, 2008; 31:361-367

o.V.

Stoffwechsel- und Formelsammlung Biochemie. München: Elsevier-Verlag, 2005: S.8

www.omim.org

Online Mendelian Inheritance in Man
An Online Catalog of Human Genes and Genetic Disorders
Updated 23 February 2015

*<http://www.methodenberatung.uzh.ch/datenanalyse/unterschiede/zentral/man.html> (abgerufen am 22.01.2012) -> Literaturangabe: Bortz, J. (2005). *Statistik für Human- und Sozialwissenschaftler* (6.Auflage). Heidelberg: Springer; Hirsig, R. (2001). *Statistische Methoden in den Sozialwissenschaften: Eine Einführung im Hinblick auf computergestützte Datenanalysen mit SPSS für Windows: Band 1* (3.Auflage). Zürich: Seismo.

7 Anhang

UZH - Methodenberatung - Mann-Whitney-U-Test <http://www.methodenberatung.uzh.ch/datanalyse/unterschiede/zentr...>

Universität Zürich » Startseite Methodenportal » Datenanalyse » Unterschiede » Zentrale Tendenz » Mann-Whitney U



**Universität
Zürich**
UZH

Methodenberatung

Mann-Whitney-U-Test

- [1. Einführung](#)
- [2. Vorgehen](#)
 - [2.1. Modellformulierung](#)
 - [2.2. Berechnung der Teststatistik](#)
 - [2.3. Prüfung auf Signifikanz](#)
- [3. Mann-Whitney mit SPSS](#)
- [4. Literatur](#)



abstand
→ zurück zur Übersicht

1. Einführung

Ein Mann-Whitney-Test für unabhängige Stichproben ist ein nichtparametrischer Test zur Überprüfung, ob die zentrale Tendenz von zwei verschiedenen Stichproben unterschiedlich ist. Die abhängige Variable muss dabei nicht normalverteilt, aber mindestens ordinalskaliert sein. Ein Mann-Whitney-Test sollte daher auch bei intervallskalierten Merkmalen eingesetzt werden, wenn die Voraussetzung der Normalverteilung zu stark verletzt wird.

Beim Mann-Whitney-Test handelt es sich um einen Rangsummentest bzw. Rangtest. Die Berechnung der Teststatistik basiert also auf dem Vergleich von zwei Rangreihen. Dahinter steht die Überlegung, dass sich die Daten in einer gemeinsamen Rangreihe gleichmässig verteilen, wenn sich die zentrale Tendenz zweier Rangreihen nicht unterscheiden.

Im einfachsten Fall können mit so einem Test die Mittelwertsunterschiede von zwei unterschiedlichen Stichproben untersucht werden, beispielsweise zwischen Mädchen und Jungen. Am häufigsten werden diese Tests jedoch angewendet, um Mittelwertsunterschiede zwischen zwei Experimental-Stichproben oder einer Experimental- und einer Kontrollgruppe zu untersuchen.

Beispiele für Anwendungen in den Erziehungswissenschaften

- Eine Schulpsychologin möchte wissen, welche von zwei möglichen Interventionen in einem bestimmten Typ von Situation zu besseren Ergebnissen führt. Sie lässt daher die Lehrpersonen der von ihr therapierten Kinder das Verhalten nach der Intervention auf einer dreistufigen Skala beurteilen.
- Antworten Mädchen und Jungen auf einer 4-stufigen Antwortskala von "gar nicht" bis "sehr gerne" unterschiedlich?
- Unterscheiden sich die Treatment- und die Kontrollgruppe in den von ihnen erreichten Ranplätzen beim Sporttag?

2. Vorgehen

- 2.1. Modellformulierung
- 2.2. Berechnung der Teststatistik
- 2.3. Prüfung auf Signifikanz

Das Vorgehen bei der Durchführung eines Mann-Whitney-Tests wird an folgender Fragestellung erklärt:

Gibt es Unterschiede hinsichtlich der zentralen Tendenz der Schulnoten zwischen Schulklasse A und Schulklasse B?

Diese Frage kann beispielsweise dann von Interesse sein, wenn zwei verschiedene Unterrichtsmethoden miteinander verglichen werden sollen.

2.1. Modellformulierung

Zur Beantwortung dieser Frage kann zunächst ein Modell erstellt werden. Für die Beispielfrage könnte dieses Modell so aussehen:



Abbildung 1: Beispielmotell

2.2. Berechnung der Teststatistik

Um das Modell zu überprüfen, wurden die folgenden Daten für zwei Schulklassen erhoben:

	Schulnoten										Median	
Schulklasse A	4.2	6	4.5	4.9	3.9	5	3.6	4.7	5.5	4.3	4.6	4.6
Schulklasse B	4.8	5.8	5.9	4	5.4	3.5	3.8	3.7	5.3	4.4	4.1	4.4

Tabelle 1: Beispieldaten

Anhand dieser Daten lässt sich schnell erkennen, dass es einen Unterschied des Medians zwischen den Klassen gibt. Mit einem Mann-Whitney-Test lässt sich nun überprüfen, ob dieser Unterschied auch signifikant ist.

Die Berechnung der Teststatistik beruht auf einer Rangreihe über beide Stichproben. Für die Beispieldaten sähe die gemeinsame Rangreihe nun so aus:

Schulnoten	3.5	3.6	3.7	3.8	3.9	4	4.1	4.2	4.3	4.4	4.5	4.6	4.7	4.8	4.9	5	5.3	5.4	5.5	5.8	5.8	5
Schulklasse	B	A	B	B	A	B	B	A	A	B	A	A	A	B	A	A	B	B	A	B	B	A
Gemeinsamer Rangplatz	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22

Tabelle 2: gemeinsame Rangreihe

Bei zwei Stichproben mit identischer zentraler Tendenz würden sich die Rangplätze der beiden Stichproben gleichmässig verteilen und beispielsweise folgende Muster ergeben:

ABABABAB oder ABBBBBAA

Bei zwei Stichproben mit unterschiedlichen zentralen Tendenzen weichen die Rangplätze von diesen Mustern ab und ergeben im Extremfall folgendes Muster:

AAAABBBB

Die Teststatistik U überprüft nun die Gleichmässigkeit der Verteilung der Rangplätze in der gemeinsamen Rangreihe.

Die Teststatistik lässt sich für die erste Stichprobe (Schulklasse A) wie folgt berechnen:

$$U_1 = n_1 \cdot n_2 + \frac{n_1 \cdot (n_1 + 1)}{2} - T_1$$

mit

n_k = Stichprobengrösse der Stichprobe k

T_1 = Rangsumme der Stichprobe 1

Entsprechend lässt sich die Teststatistik auch für die zweite Stichprobe (Schulklasse B) berechnen:

$$U_2 = n_1 \cdot n_2 + \frac{n_2 \cdot (n_2 + 1)}{2} - T_2$$

mit

n_k = Stichprobengrösse der Stichprobe k

T_2 = Rangsumme der Stichprobe 2

Aussserdem besteht zwischen beiden Werten folgender Zusammenhang:

$$U_1 + U_2 = n_1 \cdot n_2$$

Die Rangsumme für Schulklasse A wird berechnet, indem alle Rangplätze der gemeinsamen Rangreihe, die von einem Wert aus Schulklasse A eingenommen werden, zusammengerchnet werden. Für das Beispiel errechnet sich so eine Rangsumme von 132 (2+5+8+9+11+12+13+15+16+19+22) für Schulklasse A, daraus ergibt sich ein U_1 von 55. Für Schulklasse B errechnet sich die Rangsumme zu 121, woraus sich ein U_2 von 66 ergibt. Als Prüfgrösse wird immer der kleinere der beiden Werte verwendet, in diesem Fall also 55.

U gibt die Summe der Rangplatzüberschreitungen an. Diese lässt sich auch ermitteln, indem für jeden Rang der einen Stichprobe A abgezählt wird, wie häufig ein Rang aus der anderen Stichprobe vor ihm steht. Da dieses Abzählen für grössere Stichprobenumfänge sehr mühsam werden kann, ist es einfacher, U über die Rangsummen zu ermitteln.

SPSS berechnet die Rangsumme für beide Stichproben und gibt als Prüfgrösse das kleinere U aus. SPSS setzt dabei die Daten automatisch in eine gemeinsame Rangreihe, so dass die Messdaten nicht in Rangplätze umcodiert oder in aufsteigender Reihenfolge in SPSS eingegeben werden müssen.

Die berechnete Teststatistik muss dann mit dem kritischen Wert auf der durch die Stichprobengrössen bestimmten Testverteilung verglichen werden.

2.3. Prüfung auf Signifikanz

Die berechnete Teststatistik müssen nun noch auf Signifikanz überprüft werden. Der berechnete kleinere U-Wert wird hierzu mit dem kritischen Wert auf der theoretischen U-Verteilung verglichen. Falls $n_1 > 10$ und $n_2 > 10$ ist U nahezu normalverteilt, so dass die Teststatistik normiert und mit dem kritischen Wert auf der z-Verteilung verglichen werden kann. In SPSS lässt sich dieser Vergleich an der ausgegebenen Signifikanz ablesen. Bei kleinen Stichproben ($n_1 < 10$ und $n_2 < 10$) lässt sich die Signifikanz bei SPSS in der Zeile „Exakte Signifikanz“ ablesen. Bei grösseren Stichproben sollte die Signifikanz in der Zeile „Asymptotische Signifikanz“ verwendet werden.

SPSS gibt für das Beispiel eine Signifikanz (p-Wert) von 0.718 aus. Da dieser Wert über dem Signifikanzniveau von 0.05 liegt, kann davon ausgegangen werden, dass kein statistisch signifikanter Unterschied der zentralen Tendenz zwischen den Klassen vorliegt.

3. Mann-Whitney mit SPSS

Die folgenden Abbildungen zeigen die Ergebnisse des Mann-Whitney-Tests in der Reihenfolge wie SPSS sie ausgibt:

Ränge				
	Schulklasse	N	Mittlerer Rang	Rangsumme
Schulnoten	Schulklasse A	11	12,00	132,00
	Schulklasse B	11	11,00	121,00
	Gesamt	22		

Abbildung 2: Rangsummen

Aus dieser Tabelle lassen sich die Rangsummen für die jeweilige Stichprobe ablesen.

	Schulnoten
Mann-Whitney-U	55.000
Wilcoxon-W	121.000
Z	-.961
Asymptotische Signifikanz (2-seitig)	.718
Exakte Signifikanz (Z*1-seitig Sig.)	.748 ^b

a. Nicht für Bindungen korrigiert.

b. Gruppenvariable: Schulklasse

Abbildung 3: Teststatistik

Aus dieser Abbildung lässt sich die Teststatistik U ablesen, SPSS gibt automatisch den kleineren Wert aus.

SPSS-Befehle

Klicksequenz: Analysieren > Nichtparametrische Tests > zwei unabhängige Stichproben

Syntax: NPAR TESTS M-W

SPSS-Datensatz

Verwendeter Beispieldatensatz zum [Download](#)

4. Literatur

Bortz, J. (2005). *Statistik für Human- und Sozialwissenschaftler* (6.Auflage). Heidelberg: Springer.

Hirsig, R. (2001). *Stetliche Methoden in den Sozialwissenschaften: Eine Einführung im Hinblick auf computergestützte Datenanalysen mit SPSS für Windows: Band 1* (3.Auflage). Zürich: Seismo.

[top](#)

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau Prof. Dr. med. Ute Spiekerkötter für die Bereitstellung des interessanten Themas, der Hilfe und Unterstützung bei der Planung und Durchführung dieser Arbeit, sowie der freundlichen Betreuung.

Der Zweitprüferin Frau Prof. Dr. med. Dagmar Wieczorek danke ich für die freundliche Übernahme des Koreferates.

Weiterhin möchte ich Frau Dr. med. Andrea Schlune danken, die mich stets gut betreut hat und bei Fragen zur Verfügung stand.

Ein Dankeschön auch an Frau Prosch, die so nett bei der Beschaffung der Akten geholfen hat.

Danke auch an das Koordinierungszentrum für Klinische Studien für die statistische Beratung.

Vielen Dank auch an Marcus, der bei EDV-Problemen so enorm hilfsbereit war und an Sven für die vielen Korrekturstunden und große Unterstützung.

Ein großer Dank geht an meine Eltern, die mich während meines Studiums und meiner Dissertation immer unterstützt haben.

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen Medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

27. Oktober 2016, Sabrina Brüske

Datum, Unterschrift