

Aus der Klinik für Neurologie

der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Sven Meuth

**Kollektivtrennung von Patienten mit definitivem Morbus Wilson
und vermutlichen heterozygoten ATP7B-Genträgern mit
zusätzlicher Symptomatik**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Max Alican Arslan

2023

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Philipp Albrecht

Zweitgutachter: PD Dr. med. Jan-Peter Graßmann

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht in:

Arslan, M., et al., Cholinesterase Deficiency Syndrome-A Pitfall in the Use of Butyrylcholinesterase as a Biomarker for Wilson's Disease. *Biomolecules*, 2022. 12(10).

Hefter, H., et al., Pseudocholinesterase as a Biomarker for Untreated Wilson's Disease. *Biomolecules*, 2022. 12(12)

Zusammenfassung

Der Morbus Wilson ist eine autosomal-rezessiv vererbte seltene Erkrankung des Kupferstoffwechsels mit schätzungsweise 3.000 Patienten in Deutschland. Betroffene Patienten entwickeln im Jugend- bis mittleren Erwachsenenalter Symptome mit vorwiegend neurologischem oder hepatologischem Fokus bei großer Streubreite. Unbehandelt verläuft die Erkrankung tödlich, unter medikamentöser Therapie ist die Symptomlast jedoch gering und die Lebenserwartung nur minimal verkürzt.

Innerhalb der klinischen Versorgung fiel ab dem Jahr 2013 in der Morbus Wilson-Ambulanz des Universitätsklinikums Düsseldorf eine zunehmende Anzahl an klinisch vermutet heterozygot mutierten Patienten auf, welche sich mit verschiedenen anderen, vorwiegend neurologischen Erkrankungen vorstellten. Diese Patienten wurden durch die im Jahr 2012 in der AWMF (Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften)-S1-Leitlinie „Morbus Wilson“ erstmalig genutzten *Leipzig Score* jedoch falsch-positiv als an Morbus Wilson erkrankt diagnostiziert. Zielsetzung dieser Arbeit war die Etablierung eines Modells zur suffizienten rein laborchemischen Trennung von heterozygoten Konduktoren sowie an Morbus Wilson erkrankten Patienten.

Hierzu erfolgte retrospektiv eine Analyse der gezeigten Symptome sowie eine Auswertung von laborchemischen Blut- und Urinparametern von 31 vermutet heterozygot mutierten Konduktoren aus den Jahren 1997 bis 2019. Als Vergleichsgruppe dienten 19 neudiagnostizierte und bisher keiner Therapie zugeführte Patienten mit Morbus Wilson. Hierbei zeigte sich, dass die Parameter Cholinesterase im Serum sowie Coeruloplasmin im Serum in Kombination eine suffiziente Trennung beider Gruppen erreichten. Die gleiche Trennung konnte zwischen den Konduktoren und den neudiagnostizierten Patienten nach Beginn der medikamentösen Therapie nicht erreicht werden. Supportiv erfolgte die Darstellung von zwei ausgesuchten Patientenberichten zur Veranschaulichung der Fehldiagnostik durch den *Leipzig Score* sowie eine detaillierte Literaturdarstellung der Diagnosegüte der einzelnen Score-Items.

Summary

Wilson's disease is an autosomal recessively inherited rare disease of copper metabolism with an estimate of about 3,000 patients in Germany. Affected patients develop symptoms in adolescence to middle age with a broad spectrum of symptoms, predominantly neurological or hepatological ones. Untreated, the disease is fatal, but with drug therapy the symptom burden is low and life expectancy only mildly reduced.

Within clinical care, an increasing number of clinically suspected heterozygous carrier patients presenting with various other, predominantly neurological diseases were noticed in the Wilson disease outpatient clinic of the University Hospital Düsseldorf from 2013 onwards. However, these patients were misdiagnosed as having Wilson disease by the Leipzig Score, which was used for the first time in 2012 in the AWMF-S1 guideline "Morbus Wilson". The aim of this study was to establish a suitable model for the adequate separation of heterozygous carriers and patients with Wilson's disease.

For this purpose, a retrospective analysis of the symptoms and an evaluation of blood and urine parameters of 31 suspected heterozygous carriers between the years 1997 and 2019 was performed. 19 newly diagnosed patients with Wilson's disease who had not yet received any therapy served as a comparison group. Parameters cholinesterase in serum and ceruloplasmin in serum in combination achieved a sufficient separation of both groups. A similarly good separation could not be achieved between the carriers and the newly diagnosed patients after the start of drug therapy. Additionally, to illustrate the misdiagnosis by the Leipzig Score two detailed patient reports were presented as well as a detailed literature review of the diagnostic quality of the individual score items.

Abkürzungsverzeichnis

| | | | |
|-----------------|--|-------------------------------|--|
| AAS | Atomabsorptionsspektroskopie | CCS | <i>Copper Chaperone for Superoxide Dismutase</i> |
| ACE | <i>Angiotensin converting enzyme</i> | CFS | <i>chronic fatigue syndrome</i> |
| ADHS | Aufmerksamkeitsdefizit- /Hyperaktivitätsstörung | CHE | Cholinesterase |
| ALT | Alanin-Aminotransferase | CP | Coeruloplasmin |
| ANA | antinukleäre Antikörper | CRISPR | <i>Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats</i> |
| ANOVA | <i>analysis of variance</i> , einfaktorielle Varianzanalyse | CRP | C-Reaktives Protein |
| ANCA | anti-neutrophile cytoplasmatische Antikörper | CRPS | <i>complex regional pain syndrome</i> |
| ANNA-1/2 | <i>anti-neuronal nuclear antibodies</i> 1 bzw. 2 | CRST | <i>Clinical Rating Scale for Tremor</i> |
| aPTT | Aktiviert Thromboplastinzeit | CTR | <i>Copper Transporter</i> |
| AST | Aspartat-Aminotransferase | Cu | Kupfer |
| ATOX1 | <i>Antioxidant 1 Copper Chaperone</i> | CV2/ | <i>collapsin response mediator protein 2 antibodies</i> |
| ATP | Adenosintriphosphat | CMRP5 | |
| ATP7A | Adenosintriphosphatase 7A | DBS | <i>deep brain stimulation</i> |
| ATP7B | Adenosintriphosphatase 7B | DGN | Deutsche Gesellschaft für Neurologie |
| ATPase | Adenosintriphosphatase | DMPS | Dimercaptopropansulfonsäure |
| AUROC | <i>Area under the curve of the receiver operating characteristic curve</i> | D-PA | D-Penicillamin |
| AWMF | Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften | EASL | <i>European Association for the Study of the Liver</i> |
| BFM | <i>Burke-Fahn-Marsden Dystonia Scale</i> | EMG | Elektromyogramm |
| BMI | <i>Body-Mass-Index</i> | ENA | extrahierbare nukleäre Antikörper |
| Cas | <i>CRISPR-associated protein</i> | GAD-AK | Glutamat-Decarboxylase-Antikörper |
| | | GFR | glomeruläre Filtrationsrate |
| | | GGT/μGT | μ -Glutamyltransferase |
| | | GOT | Glutamat-Oxalacetat-Transaminase |
| | | GPT | Glutamat-Pyruvat-Transaminase |

| | | | |
|----------------------|---|--------------|--|
| Hb | Hämoglobin | MW | Mittelwert |
| hCTR | <i>human Copper Transporter</i> | NMDA | <i>N-Methyl-D-Aspartat</i> |
| HELLP-Syndrom | <i>Haemolysis, Elevated Liver Enzyme Levels, Low Platelet-Syndrom</i> | NMOSD | <i>Neuromyelitis optica spectrum disorders</i> |
| HLPC | <i>High-performance liquid chromatography, Hochleistungsflüssigkeitschromatographie</i> | NPLE | nicht-paraneoplastische limbische Enzephalitis |
| HOO | <i>hepatic outflow obstruction</i> | OIH | <i>Oxidative Injury Hypothesis</i> |
| Ig | Immunglobulin | PCR | <i>Polymerase chain reaction, Polymerasekettenreaktion</i> |
| INR | <i>International normalized Ratio</i> | PKU | Phenylketonurie |
| iPS | idiopathisches Parkinsonsyndrom | PLE | paraneoplastische limbische Enzephalitis |
| kPa | Kilopascal | PNMA2 | <i>paraneoplastic antigen MA2 antibody</i> |
| LLN | <i>lower limit of normal</i> | ROC | <i>receiver operating characteristic</i> |
| MARS | <i>Molecular Adsorbents Recirculation System</i> | ROS | <i>reactive oxygen species, reaktive Sauerstoffspezies</i> |
| MCH | Mittleres korpuskuläres Hämoglobin | SA | Standardabweichung |
| MCHC | Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration | SR | <i>stepwise regression</i> |
| MCV | Mittleres Erythrozyteneinzelvolumen | TSH | <i>Thyroidea-stimulierendes Hormon</i> |
| MELD | <i>Model of End-Stage Liver Disease</i> | TZ | Thrombozyten |
| mmHg | Millimeter Quecksilbersäule | U/l | <i>Unit/Liter</i> |
| MRT | Magnetresonanztomografie | UHDRS | <i>Unified Huntington's Disease Rating Scale</i> |
| MS | Multiple Sklerose | ULN | <i>upper limit of normal</i> |
| MSA | Multisystematrophie | UPDRS | <i>Unified Parkinson Disease Rating Scale</i> |
| MSUD | <i>maple syrup urine disease, Ahornsirupkrankheit</i> | UWRDS | <i>Unified Wilson's Disease Rating Scale</i> |
| MTR | Methylen-Tetrahydrofolat-Reduktase | WD | <i>Wilson's Disease</i> |
| | | WHO | <i>World Health Organisation</i> |
| | | Yo | <i>Purkinje cell antibodies</i> |
| | | ZPM | Zentrale pontine Myelinolyse |

Inhaltsverzeichnis

| | | |
|--------|---|----|
| 1. | Einleitung..... | 1 |
| 1.1. | Überblick | 1 |
| 1.2. | Ätiopathogenese des Morbus Wilson | 1 |
| 1.3. | Epidemiologie des Morbus Wilson..... | 7 |
| 1.4. | Symptome des Morbus Wilson | 9 |
| 1.4.1. | Die hepatische Krise als Sonderform der hepatischen Manifestation | 11 |
| 1.5. | Therapie des Morbus Wilson | 12 |
| 1.5.1. | D-Penicillamin | 12 |
| 1.5.2. | Zink | 13 |
| 1.5.3. | Dimercaprol..... | 13 |
| 1.5.4. | Triethylentetramin | 14 |
| 1.5.5. | Tetrathiomolybdate | 14 |
| 1.5.6. | Substanzwahl innerhalb der Pharmakotherapie..... | 15 |
| 1.6. | Andere Maßnahmen der Therapie des Morbus Wilson..... | 16 |
| 1.7. | Diagnostik des Morbus Wilson..... | 17 |
| 1.7.1. | Kayser-Fleischer-Kornealringe..... | 18 |
| 1.7.2. | Neurologische Symptome | 18 |
| 1.7.3. | cMRT-Befund..... | 19 |
| 1.7.4. | Coeruloplasmin im Serum | 19 |
| 1.7.5. | Coombs-negative hämolytische Anämie..... | 20 |
| 1.7.6. | Quantitative Kupferbestimmung im Leberbiopsat..... | 20 |
| 1.7.7. | Kupfer im Sammelurin | 21 |
| 1.7.8. | Genetische Testung..... | 21 |
| 1.8. | Ziele der Arbeit..... | 22 |
| 2. | Patienten und Methoden | 24 |
| 2.1. | Generelle Vorbemerkungen und Einschlusskriterien | 24 |
| 2.2. | Beschreibung der Patientenkollektive | 25 |
| 2.3. | Analysierte Laborparameter | 26 |

| | | |
|--------|--|----|
| 2.4. | Statistik..... | 26 |
| 3. | Ergebnisse..... | 27 |
| 3.1. | Fallbericht 1: Patient Studiennummer 4..... | 28 |
| 3.2. | Fallbericht 2: Patient Studiennummer 8..... | 30 |
| 3.3. | Ergebnisse der Datenanalyse..... | 35 |
| 3.3.1. | Datenanalyse des Vergleichs der hK- und dnMW-Gruppe..... | 36 |
| 3.3.2. | Datenanalyse des Vergleichs der hK- und dnMWt-Gruppe..... | 42 |
| 3.4. | Fallbericht 3: Kombination von Morbus Wilson und Cholinesterasemangel..... | 44 |
| 4. | Diskussion..... | 47 |
| 4.1. | Der <i>Leipzig Score</i> nach Ferenci et al..... | 54 |
| 4.1.1. | Genetische Testung..... | 54 |
| 4.1.2. | Kayser-Fleischer-Kornealringe..... | 55 |
| 4.1.3. | Neurologische Symptome..... | 55 |
| 4.1.4. | cMRT-Befund..... | 56 |
| 4.1.5. | Coeruloplasmin im Serum..... | 56 |
| 4.1.6. | Coombs-negative hämolytische Anämie..... | 57 |
| 4.1.7. | Kupfer im Sammelurin..... | 57 |
| 4.1.8. | Kupfer im Lebertrockenbiopsat..... | 57 |
| 4.2. | Krankheitswert einer heterozygoten Genträgerschaft..... | 58 |
| 4.3. | Ausblick..... | 60 |
| 4.4. | Schlussfolgerungen..... | 62 |
| 5. | Literaturverzeichnis und Quellen..... | 63 |
| 6. | Danksagung..... | 68 |

1. Einleitung

1.1. Überblick

Der Morbus Wilson wurde im Jahr 1912 erstmalig als *progressive lenticular degeneration* durch Samuel Alexander Kinnier Wilson als Fallberichtssammlung in Form einer Zusammenfassung mehrerer Symptome zu einer eigenständigen Krankheitsentität beschrieben. Aufgrund des häufig bei Auftreten klinischer Symptomatik gleichzeitig erscheinenden Befalls von Leber und zentralem Nervensystem, insbesondere des *Nucleus lentiformis*, wurde die Erkrankung von Wilson dementsprechend auch als hepatolenticuläre Degeneration bezeichnet, wobei keine Degeneration im eigentlichen Sinne vorliegt.[1, 2]

Erst sehr viel später wurde die Rolle von Kupfer (Cu) durch Cumings bei dieser Erkrankung hervorgehoben.[3] Heute gilt der Morbus Wilson als ein Modell für eine Erkrankung monogenetischer Ursache und als erfolgsversprechender Kandidat einer kurativen Genterapie.[4]

Aus Gründen der besseren Lesbarkeit wird im Folgenden auf die gleichzeitige Verwendung weiblicher und männlicher Sprachformen verzichtet und das generische Maskulinum verwendet. Sämtliche Personenbezeichnungen gelten jedoch außer im Fall der besonderen Kennzeichnung gleichermaßen für beide Geschlechter.

1.2. Ätiopathogenese des Morbus Wilson

Der Morbus Wilson, im Englischen *Wilson's disease* (WD) genannt, bezeichnet eine autosomal-rezessiv vererbte Erkrankung, bei der es zu Kupferakkumulation und daraus nachfolgender Organdysfunktion im gesamten menschlichen Organismus kommt. Die Akkumulation von Kupfer und nachfolgende Schädigung zentraler Strukturen des menschlichen Stoffwechsels wird im Folgenden in Grundzügen dargelegt, um das diagnostische und therapeutische Vorgehen bei symptomatischen Patienten darstellen zu können.

Elementares Kupfer fungiert im menschlichen Körper als Cofaktor im enzymatischen Stoffwechsel, als Katalysator des intermolekularen Elektronentransfers und als Substratbindungsmittel für anorganische Ionen.[5] Insbesondere wichtig ist die Rolle von

Kupfer innerhalb der Biosynthese von Neurotransmittern, dem Aufbau von Bindegewebe, der Oxidation von Eisen und der mitochondrialen Atmungskette.[5-7] Die Aufnahme von Kupfer erfolgt mit der Nahrung. In Lebensmitteln enthaltenes Kupfer wird im Darm aufgenommen und über die *Vena portae* zu den Hepatozyten befördert, welche eine zentrale Rolle im menschlichen Kupferstoffwechsel einnehmen. Die Aufnahme in die Hepatozyten erfolgt über die Kupfertransporter (*copper transporter*, CTR beziehungsweise *humane copper transporter*, hCTR) CTR1 beziehungsweise hCTR1. *In vitro* Untersuchungen zeigen eine Herabregulierung der Expression von CTR1/hCTR1 zur Senkung der zelleigenen Kupferaufnahme bei übermäßiger Zufuhr von Kupfer und *in vivo* eine Letalität postpartum bei CTR1-Knockout-Mäusen.[8] Dies unterstreicht die Schlüsselposition der Kupferaufnahme im eukaryotischen Kupferstoffwechsel. Weitere mögliche Aufnahmewege abseits von CTR1/hCTR1 werden in der Literatur aktuell diskutiert. Ein sicherer Nachweis gelang bis zum jetzigen Zeitpunkt jedoch noch nicht.

Die Ätiopathogenese des Morbus Wilson ist nicht abschließend geklärt. Gleichwohl gibt es einen in der Literatur durchgehend beschriebenen Erklärungsansatz: Die auf Chromosom 13q14.3 codierte P-Adenosintriphosphatase (ATPase) ATP7B als durch Genmutation primär geschädigte Struktur liegt im trans-Golgi-Netzwerk der Hepatozyten und hat physiologisch zwei Funktionen.[9, 10] Zum einen wird Kupfer in das Vorläuferprotein Apo-Coeruloplasmin eingebunden, wodurch Coeruloplasmin (CP) entsteht. Die Schreibweise des Proteins Coeruloplasmin ist in der deutschsprachigen Literatur uneinheitlich, bekannte Varianten sind unter anderem Ceruloplasmin, Caeruloplasmin, Holoceruloplasmin, Holocoeruloplasmin oder Zäruloplasmin. Diese Begriffe beschreiben alle das Protein mit der UniProt-ID P00450. Im vorliegenden Text wurde durchgehend Coeruloplasmin als Schreibweise gebraucht.

Coeruloplasmin wirkt als Regler des Eisenhaushalts der Zelle über eine exkretorische Funktion, gleichzeitig sorgt Coeruloplasmin für einen Transport von Kupfer zu nicht-hepatischen Zellen des Körpers. [7, 11] Zum anderen sorgt ATP7B für eine Exkretion von Kupfer aus Hepatozyten über die apikale Membran in die Gallenflüssigkeit. Hierbei wird unter anderem durch eine posttranslationale kupfer-induzierte Phosphorylierung von ATP7B eine Aktivitätssteuerung vorgenommen.[12, 13] Die Struktur des ATP7B-Proteins besteht aus sechs unabhängigen Kupferdomänen, einer Transduktionsdomäne, einer ATP

(Adenosintriphosphat)-bindenden Domäne und acht Transmembranproteinen. Durch die Bindung von Kupfer an einer oder mehreren der kupfer-aufnehmenden Domänen kommt es zu einer Veränderung der Sekundär- und Tertiärstruktur des Proteins und einer Induktion der Vesikelausschüttung in die Gallenflüssigkeit mit nachfolgendem Recycling von ATP7B.[6, 10] Eine Fehlfunktion von ATP7B führt durch fehlende Induktion der Vesikelausschüttung zu einer Akkumulation von Kupfer in den Hepatozyten, welche nachfolgend eine Zerstörung der Hepatozyten mit Freisetzung des intrazellulären Kupfers bewirken.[14, 15] Die alternative Elimination von Kupfer kann teilweise in den Urin durch bisher unbekannte Stoffwechselwege übernommen werden. Ob dabei der Kupfertransporter CTR2 innerhalb der menschlichen Zelle eine Rolle spielt, bleibt unklar. Vermutungen der Funktion von CTR2 gehen von einer Hilfestellung beim Recycling kupferhaltiger Enzyme aus dem Lysosom in das Zytoplasma aus.[16] Innerhalb der Zelle werden als Metallochaperone bezeichnete Proteine zum Transport von Kupfer genutzt. Diese beinhalten unter anderem die *Copper Chaperone for Superoxide Dismutase* (CCS) mit der nachgeschalteten *Cu/Zn Superoxide Dismutase* (SOD1) und auch das Protein *Antioxidant 1 Copper Chaperone* (ATOX1), welches Kupfer für ATP7A und ATP7B verfügbar macht. Weiterhin gibt es neben der vorrangigen Synthese von Coeruloplasmin in der Leber auch Hinweise auf Coeruloplasmin-Isoform-Bildung in der Milz, den Hoden und dem zentralen Nervensystem.[5, 7] Während die Funktion des nicht hepatisch gebildeten Coeruloplasmin bisher nicht geklärt wurde, gibt es Vermutungen, dass eine in der Zellmembran verankerte Isoform des Coeruloplasmin wichtige Funktionen im Transfer von Eisen in der Blut-Hirn-Schranke beziehungsweise der Blut-Hoden-Schranke übernimmt.[7] Im Serum befindliches Coeruloplasmin hat unter physiologischen Bedingungen eine Halbwertszeit von etwa 132 Stunden, diese beträgt bei Apo-Coeruloplasmin nur etwa fünf Stunden. Dieser Unterschied der Halbwertszeiten dient als Erklärungsansatz für die verminderte Coeruloplasmin-Konzentration bei Morbus Wilson.[5, 7, 17, 18]

Ferenci et al. verwiesen 2005 in einem Beitrag auf eigene noch unveröffentlichte Daten, die in einem Kollektiv von 80 Patienten mit Morbus Wilson ohne nachweisbare ATP7B-Mutation auch keine Mutation in ATOX1 nachweisen konnten. Laut Literaturrecherche wurden diese Daten jedoch niemals veröffentlicht.[10] 2019 wurde von Zarina et al. in

einem Kollektiv von 64 Patienten nur eine ATOX1-Variante gefunden, die jedoch laut den Autoren keinen Einfluss auf das Erscheinungsbild des Morbus Wilson hatte.[17] Mutationen von ATP7B sind damit weiterhin die vorrangige Erklärung für die Ätiopathogenese des Morbus Wilson.

Die weitere Ätiopathogenese auf molekularpathologischer Ebene ist ungeklärt: Einige bekannte ATP7B-Mutationen sorgen für eine Fehllokalisierung im Recyclingprozess im endoplasmatischen Retikulum statt des trans-Golgi-Netzwerkes.[6, 18, 19] Gleichzeitig gibt es auch Hinweise auf Veränderungen im mitochondrialen Stoffwechsel bei intrazellulärer Kupferakkumulation.[20] ATP7A und CTR1 können auch auf Endothelzellen der Blut-Hirn-Schranke nachgewiesen werden. Bereits 2006 konnten Schlieff et al. zeigen, dass Kupfer innerhalb des Hippocampus modulierend auf *N*-Methyl-*D*-Aspartat-Rezeptoren (NMDA-Rezeptoren) wirkt und damit einen Erklärungsansatz für psychiatrische und neurologische Symptome bereitstellen.[21] Unklar bleibt weiterhin, weshalb gerade die Basalganglien ein typischer Ort der Kupferakkumulation im zentralen Nervensystem sind.[7, 21-25]

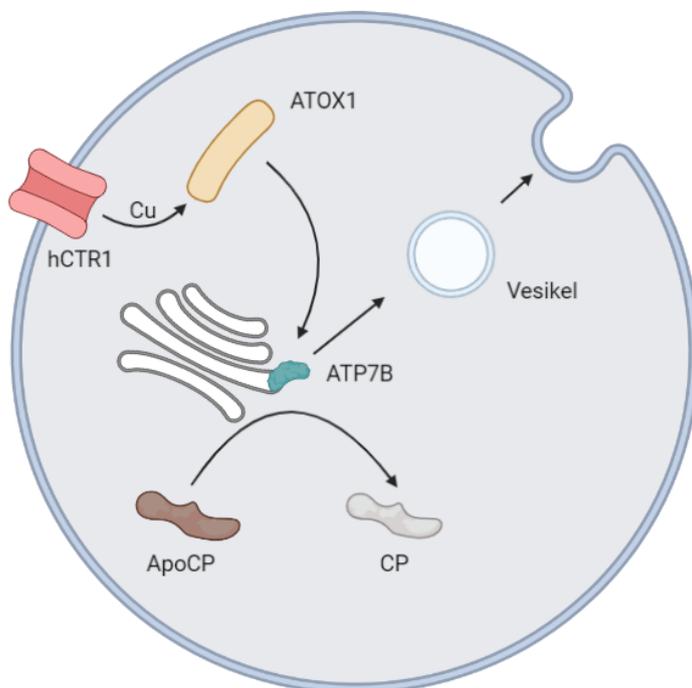


Abb. 1: Schematische Darstellung des physiologischen Kupferstoffwechsels eines Hepatozyten. Über den human Copper Transporter (hCTR1) wird Kupfer in den Hepatozyten aufgenommen. Der intrazelluläre Transport geschieht über ATOX1 an ATP7B, welches die Umwandlung von Apo-Coeruloplasmin (ApoCP) zu Coeruloplasmin (CP) vermittelt und für die biliäre Ausscheidung von Kupfer über Vesikel sorgt. Eigene Darstellung, modifiziert nach [16, 20]

Ein weiterer Faktor zur Regulierung des menschlichen Kupferstoffwechsels besteht in den sogenannten Metallothioneinen. Diese intrazellulär vorhandenen Proteine binden vornehmlich Zink, können jedoch auch Kupfer und Cadmium binden. Die Bindungsfunktion für Metalle der Metallothioneine kommt durch mehrere durch Cystein vermittelte Bindungsstellen zustande. Cystein stellt ca. ein Drittel aller Aminosäuren der Metallothioneine.[14, 15] Die Anzahl der Metallothioneine und Metallothionein-ähnlichen Proteine innerhalb des menschlichen Stoffwechsels wird momentan mit vier respektive 13 beziffert.[14] Die Metallothioneine werden als sogenannte „*second barrier*“[15] neben einer gesteigerten biliären Ausscheidung von Kupfer bezeichnet. Gleichzeitig erfüllen sie eine Schutzfunktion gegen oxidativen Stress wie beispielsweise Sauerstoffradikale.

Grundlage der Schädigung durch exzessives Kupfer sind sowohl die sogenannte Fenton- als auch die Haber-Weiss-Reaktion, die schon 1996 von Britton im Rahmen der „*Oxidative Injury Hypothesis*“ (OIH) als Hauptkomponenten der hepatischen Schädigung durch Bildung von Hydroxylradikalen als Teil der sogenannten Reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) beschrieben wurden.[26] Innerhalb der Hepatozyten sind mit steigender Expositionsdauer auf licht- beziehungsweise elektronenmikroskopischer Ebene Veränderungen der mitochondrialen Funktion, Vergrößerungen des endoplasmatischen Retikulums und Kupferablagerungen in Lysosomen beschrieben worden.[27] Mit weiter fortschreitender Expositionsdauer kommen sowohl Nekrose als auch Entzündungsreaktionen mit Auftreten von an Hitzeschockproteinen gebundenen Zytokeratinen, sogenannten *Mallory-Körpern*, der einzelnen Hepatozyten hinzu. Auf der makroskopischen Ebene führt eine zunehmende Toxikose der Leber zu einer klassischen Fibrose-Zirrhose-Sequenz, wie sie beispielsweise auch bei einem äthyltoxischen Leberschaden zu finden ist.[9, 27-29] Neben der primären Schädigung der Hepatozyten treten auch eine Vergrößerung der Gallengänge sowie eine biliäre Fibrose auf, die zu einem rein mechanischen Ablaufproblem der Gallenflüssigkeit führen. Dies kann einen durch ROS verursachten Schaden durch eine verminderte Ausschüttung von Kupfer in die Gallenflüssigkeit aggravieren. Sowohl in Untersuchungen *in vivo* als auch im Mausmodell konnte keine Korrelation der aufgenommenen Menge an Kupfer und dem Ausmaß der hepatischen Schädigung festgestellt werden.[26, 29-33] Innerhalb der Funktion der Leber

gibt es unter Schädigung durch Kupfer eine Herauf- und Herabregulierung verschiedenster Synthesewege des Lipidstoffwechsels, die im Mausmodell bereits vor einer mikroskopisch feststellbaren Pathologie der Hepatozyten nachgewiesen werden konnten.[26, 27, 34] α -Tocopherol-Konzentrationen (Vitamin E) in Patienten mit Morbus Wilson sind erniedrigt, solange das freie Kupfer im Serum erhöht ist. Unter Erhaltungstherapie kehren die α -Tocopherol-Konzentrationen im Serum wieder in den Normbereich zurück.[35] Desweiteren konnte in nach einer Transplantation aufgrund einer hepatischen Krise als Erstmanifestation eines Morbus Wilson gewonnenen Lebern erniedrigte Spiegel von Glutathion nachgewiesen werden. Dieses im menschlichen Körper vorkommende Tripeptid ist genauso wie α -Tocopherol ein weiterer wichtiger Baustein des antioxidanten Stoffwechsels des menschlichen Körpers. Die Schädigung der Leber allein aufgrund der oxidativen Funktion freien Kupfers erscheint somit nicht haltbar. Vielmehr ist von einem Zusammenspiel mehrerer schädigender und schützender Funktionen auszugehen, die das individuelle hepatische und damit restliche Erkrankungsbild bestimmen.[34]

Die Mitochondrien konnten im Tiermodell von Borchard et al. als weiteres geschädigtes Zellorganell sowohl im zentralen Nervensystem als auch in der Leber identifiziert werden. Hierbei spielen Verluste des Transmembranpotentials wie auch strukturelle Veränderungen eine Rolle, wobei schlussendlich eine herabgesetzte Synthesefähigkeit von Adenosintriphosphat als Folge einer Störung der mitochondrialen Atmungskette festzustellen ist.[36] Methanobactin, ein in den Prokaryoten *Methylococcus capsulatus* sowie *Methylosinus trichosporium OB3b* natürlich vorkommendes, kupfer-bindendes Protein, kann im Tiermodell explizit diese mitochondriale Schädigung aufheben und auch Leberschädigungen in der Akutphase der Erkrankung verhindern. Methanobactin wurde bisher noch nicht beim Menschen angewendet.[37]

Iatrogen oder akzidentiell induzierte Kupfertoxikosen sind extrem selten, jedoch kann auch bei physiologischem Kupferstoffwechsel bzw. Kupfermangel eine langfristige suprathérapeutische Kupfersubstitution zu einer Symptomlast äquivalent zu einer Morbus Wilson-Erkrankung führen. Dies unterstreicht wiederum die vermutete Ätiopathogenese.[38]

1.3. Epidemiologie des Morbus Wilson

Die Prävalenz von Morbus Wilson ist laut Literatur sehr unterschiedlich. Verschiedene Schätzungen gehen von 1:250.000[39] bis zu 1:7.026[30, 40] aus. Dies entspricht einer Differenz der geschätzten Prävalenz um den Faktor 35. Die Prävalenz unterscheidet sich in verschiedenen geographischen Gebieten der Erde.[30, 40] Morbus Wilson gilt aufgrund der niedrigen Prävalenz als seltene Erkrankung. Die Europäische Union in Form des Europäischen Rats hat im Jahr 2009 eine Krankheit dann als seltene Krankheit (*rare disease*) klassifiziert, wenn die Prävalenz 1:2.000 unterschreitet. Selbst bei liberalen Prävalenzberechnungen, wie etwa von Coffey et al. 2013 in einer schottischen Subpopulation geschehen, wird diese Prävalenzdefinition um mindestens den Faktor 3,5 unterschritten. [40] Dieser Definition folgen sowohl internationale Forschungsgruppen als auch Gesundheitsorganisationen wie etwa die *World Health Organisation* (WHO).[41] Epidemiologische Studien außerhalb entwickelter Länder gestalten sich als erschwert, weshalb sich einige Autoren um Validitätsanalysen vereinfachter Scoring-Systeme bemühen.[42] Die in der deutschsprachigen Literatur häufig angeführte Schätzung einer Prävalenz von 1:30.000 nach Maier-Dobersberger et al. würde bei einer Bevölkerungsanzahl von 83 Millionen Menschen in Deutschland etwa 2767 homozygot ATP7B-mutierte Morbus Wilson-Patienten ergeben.[43]

Wenn man von einer monogenetischen autosomal-rezessiven Vererbung mit hundertprozentiger Penetranz ausgeht, kann die Häufigkeit von Trägern nur einer Mutation anhand der Prävalenz der erkrankten und damit zwei Mutationen tragenden Patienten durch das idealisierte Hardy-Weinberg-Gleichgewicht geschätzt werden. Dies ist insbesondere für die Abschätzung der Größe verschiedener Patientengruppen wichtig, die sich zu einer klinischen Ausschlussdiagnostik bzw. Diagnosestellung vorstellen. Die Unsicherheit, mit der diese Schätzung behaftet ist, wird bei den einzelnen Diagnoseitems des *Leipzig Scores* weiter ausgeführt (vgl. 4.1. Der *Leipzig Score* nach Ferenci et al.).[44] Insbesondere die hundertprozentige Penetranz einer homozygoten Mutation, welche die Grundlage einer Schätzung anhand des Hardy-Weinberg-Gleichgewicht darstellt, wird zunehmend in Frage gestellt. Grund hierfür ist unter anderem eine fehlende Genotyp-Phänotyp-Korrelation auch bei bekannter gleicher Mutation.[17, 30, 44-47].

$$(p + q)^2 = p^2 + 2pq + q^2 = 1$$

Im hier dargestellten Hardy-Weinberg-Gleichgewicht wird p^2 hier als Frequenz der zweifach das Merkmal p tragenden und damit homozygot mutierten, also erkrankten Mitglieder einer Population beschrieben, während $2pq$ die Frequenz der heterozygoten Konduktoren mit der Kombination der Merkmale p und q darstellt. q^2 wird hier als Frequenz der zweifach das Merkmal q tragenden und damit nicht mutierten Mitglieder einer Population beschrieben. Eine Aufschlüsselung verschiedener Prävalenzschätzungen nach Autoren wird in der folgenden Tabelle vorgenommen.

| Autoren | Prävalenz | $2pq/q^2$ | $p^2/2pq$ |
|----------------------------------|------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| Coffey et al. (2013) | 1:7.026 | 1:42 | 1:168 |
| Maier-Dobersberger et al. (1999) | 1:30.000 | 1:86 | 1:385 |
| Park et al. (1991) | 1:250.000 | 1:250 | 1:1.000 |

Tabelle 1: Aufstellung des Hardy-Weinberg-Gleichgewichts nach geschätzten Prävalenzen der Autoren [36, 37, 40]

Mithilfe der Prävalenzschätzungen der Autoren im Sinne von p^2 lassen sich auch andere Parameter der Prävalenzverteilungen errechnen: Hierbei gibt $\frac{2pq}{q^2}$ die Frequenz der heterozygoten Konduktoren im Verhältnis zu keiner Mutation tragenden Individuen innerhalb einer Population an. Die eigentliche Kenngröße des Verhältnisses von heterozygoten Konduktoren zur Restpopulation, das Verhältnis von heterozygoten Konduktoren zu homozygot mutierten sowie keiner Mutation tragenden Individuen würde mit $\frac{2pq}{(p^2+q^2)}$ beschrieben werden, ist aufgrund der niedrigen Prävalenz jedoch nahezu identisch und damit vernachlässigbar.

Zur Schätzung des Verhältnisses kann die Kenngröße $\frac{p^2}{2pq}$ herangezogen werden, diese beschreibt das Verhältnis homozygot mutierter Individuen zu heterozygot mutierten Patienten. Für die Wahrscheinlichkeitsschätzung der Erkrankung an Morbus Wilson kann diese Kenngröße keine diagnostische Hilfe bieten, jedoch ermöglicht sie eine bessere Vorstellung über die quantitative Verteilung der mit Morbus Wilson diagnostizierten Patienten im Vergleich zu den heterozygoten Konduktoren und soll für die Fragestellung dieser Arbeit sensibilisieren (vgl. 4.2. Krankheitswert einer heterozygoten Genträgerschaft).

Die Prävalenzangaben aller drei Autoren sind durch statistische Schätzungen entstanden und wurden nicht anhand einer Querschnittsstudie gesichert.[39, 40, 43] Die

Prävalenzschätzungen bei *rare diseases* sind generell ungenau, fehlerbehaftet und wenig mit Daten unterfüttert. Neuartige Konzepte wie beispielsweise die *diagnostic awareness-adjusted prevalence* können jedoch dabei helfen, eine genauere Vorstellung der Feldprävalenz von *rare diseases* wie etwa Morbus Wilson zu entwickeln.[48, 49]

1.4.Symptome des Morbus Wilson

Symptome eines Morbus Wilson sind vielseitig und führen zu der Bezeichnung „Chamäleon“.[9, 50] Sie resultieren aus Affektionen von Leber und zentralem Nervensystem als Hauptmanifestationsorte. Es können aber auch andere Organsysteme betroffen sein.

Eine Übersicht über relevante bekannte Symptome des Morbus Wilson wird in Tabelle 2 präsentiert.

| Organsystem | Symptom |
|------------------------|---------------------------------|
| Leber | Splenomegalie |
| | <i>Steatosis hepatis</i> |
| | Fulminantes Leberversagen |
| | Chronische Hepatitis |
| | Leberzirrhose |
| | Portale Hypertension |
| Zentrales Nervensystem | Tremor |
| | Dysarthrie |
| | Ataxie |
| | Nystagmus |
| | Hypo- bzw. Bradykinesie |
| | Rigor |
| | Dystonie |
| | Choreatische Bewegungsstörungen |
| | Mikrographie |
| | Dysphagie |
| | (Pseudo-)hypersalivation |
| | Gangstörungen |
| | Epileptische Anfälle |

| | |
|-------------------------|--|
| Psychiatrische Symptome | Affektive Störungen Kognitive Störungen Verhaltensstörungen Depressive Störungen Psychosen Insomnie |
| Nieren | Renale tubuläre Azidose Tubuläre Dysfunktionen Urolithiasis Proteinurie |
| Auge | Kayser-Fleischer-Kornealring Sonnenblumenkatarakt Nachtblindheit Strabismus divergens <i>Neuritis nervi optici</i> |
| Herz | Kardiomyopathie Herzrhythmusstörungen |
| Bewegungsapparat | Rhabdomyolyse Osteoporose Osteomalazie Degenerative Wirbelsäulenerkrankungen Arthritis |
| Haut | <i>Acanthosis nigricans</i> |

Tabelle 2: Bekannte Symptome des Morbus Wilson, modifiziert nach [9, 10, 12, 29, 50-52]

Innerhalb der Literatur wird in verschiedene Formen einer Erkrankung an Morbus Wilson unterschieden. Während es in jüngerem Alter (≤ 20 Lebensjahre) eher zu einer hepatischen Verlaufsform mit der Sonderform einer hepatischen Krise kommt, kann es im jüngeren Erwachsenenalter (≥ 20 Lebensjahre) eher zu einer neurologischen Verlaufsform kommen.[9, 29, 32, 50]

Die Häufigkeit des Auftretens einzelner Symptome ist laut Literaturrecherche bisher nicht für größere Studienpopulationen ausgewertet worden. Des Weiteren kann keine Aussage darüber getroffen werden, ob es eine Vergesellschaftung verschiedener Symptome im Sinne einer Phänotyp-Phänotyp-Korrelation außerhalb der in der Literatur beschriebenen

hepatischen und neurologischen Manifestationsformen gibt. Diese sind jedoch auch von Autor zu Autor verschieden und haben insbesondere keine spezifischen Exklusionscharakteristika.[9, 10, 12, 32, 33, 45, 51, 53-55] Bisher konnte auch nicht nachgewiesen werden, dass es eine häufigere Assoziation beispielsweise einzelner neurologischer Symptome untereinander im Sinne einer Formierung von Subgruppen von Symptomen innerhalb der Manifestationsformen gibt. Hierzu wurden von Oder et al. 1993 in einem Kollektiv von 47 deutschen Morbus Wilson-Patienten mit vorwiegend neurologischem Erkrankungsbild zwar eine Subtypisierung in „*pseudoparkinsonian syndrome with hypokinesia and rigidity*“, „*pseudosclerosis syndrome with ataxia and tremor*“ und „*syndrome with dyskinesia and dysarthria*“[53] anhand der klinischen Symptomatik vorgenommen, diese wurde jedoch von anderen Autoren zurückgewiesen und nicht mehr genutzt.[10, 12, 51] Eine Validierung der Subtypisierung ist laut Literaturrecherche bisher nicht explizit erfolgt. Insbesondere konnten in klinischen Genotyp-Phänotyp-Vergleichsstudien die Subtypisierung einzelner Symptomgruppen nicht anhand der Mutation H1069Q nachgewiesen werden.[30, 45, 47, 51]

1.4.1. Die hepatische Krise als Sonderform der hepatischen Manifestation

Eine Erstmanifestation des Morbus Wilson innerhalb einer hepatischen Krise (früher „*Wilson-Krise*“[56] genannt) kann eine konservative Maximaltherapie inklusive intensivmedizinischer Unterstützung bis hin zur Lebertransplantation erforderlich machen. Diese Symptomatik entwickelt sich eher bei einem vorwiegend hepatischen Erscheinungsbild und weist einen dramatisch akzelerierten Verlauf auf. Oftmals wird von den Patienten eine Erkrankung aus völliger Gesundheit heraus wahrgenommen.[9, 29, 50, 51, 57-59]

Hierbei werden mehr Frauen als Männer (circa im Verhältnis 4:1) auffällig. Ein Erklärungsansatz für die sonst geschlechtsgleichmäßige Verteilung an Neuerkrankungen existiert bisher nicht. Neben einem akuten Leberversagen wird häufig auch ein Nierenversagen beobachtet. Bei nicht erfolgreicher Therapie kann ein Multiorganversagen mit Todesfolge auftreten. Begleitend kann eine Coombs-negative hämolytische Anämie auftreten, dies ist trotz hoher Suggestivität für eine hepatische Krise im Rahmen einer Erstmanifestation jedoch nicht pathognomonisch. [57, 60] Eine Lebertransplantation als *ultima ratio* kann eine kurative Option darstellen, jedoch wurde mehrfach schon gezeigt, dass auch durch eine konservative Behandlung beispielsweise in Kombination von

Chelatbildnern und einem Leberdialyseverfahren wie etwa dem *Molecular Adsorbents Recirculation System* (MARS) oder der Kombination aus Chelatbildnern und einem Plasmaphereseverfahren zur Lebertransplantation gleichwertige Ergebnisse erzielt werden können.[58, 59]

Erklärungsansätze für das Auftreten einer hepatischen Krise finden sich in den vielfältigen, teilweise synergistisch arbeitenden Systemen des Schutzes vor Kupferüberladung. Es wird angenommen, dass alle vorhandenen Schutzsysteme wie etwa biliäre Exkretion, Speicherfunktion der Metallothioneine, Glutathion und eine vermehrte Synthese von CTR1/ATOX1 zunächst genutzt werden, diese dann jedoch bei einer fortgesetzten gestörten Kupferexkretion nahezu schlagartig und gleichzeitig dekompensieren.[8, 11, 13, 15, 26] *In vitro* konnte jedoch bisher kein reliables Tier- oder Zellmodell für diese These etabliert werden.

1.5. Therapie des Morbus Wilson

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich schwerpunktmäßig mit diagnostischen Problemen des Morbus Wilson. Daher wird diese Thematik unmittelbar der Zielsetzung der Arbeit vorangestellt und die Therapie des Morbus Wilson der Diagnose des Morbus Wilson vorgezogen. In der Praxis sollte die Therapie des Morbus Wilson unverzüglich nach der Diagnosestellung einsetzen.

Aktuelle Therapien des Morbus Wilson können sowohl medikamentös, lebensführungsbasiert wie auch chirurgisch erfolgen. Zur medikamentösen Therapie stehen derzeit international fünf verschiedene Medikamente zur Auswahl. Diese sind D-Penicillamin, Zinksulfat, Dimercaprol, Triethylentetramin und Tetrathiomolybdate. Diätetische Maßnahmen unterstützen die medikamentöse Therapie. Als *ultima ratio* der Therapie besteht die Option einer Lebertransplantation. Hiermit erfolgt eine kausale Behandlung unter Inkaufnahme einer Notwendigkeit der lebenslangen Immunsuppression unter einer nicht zu verachtenden Last an Nebenwirkungen.[9, 10, 31, 33, 51, 61, 62]

1.5.1. D-Penicillamin

Die Behandlung mit dem Chelatbildner D-Penicillamin (D-PA) ist eine seit über 60 Jahren bekannte Möglichkeit der Therapie eines Morbus Wilson.[2] Die Wirkweise von D-Penicillamin als enantiomere Aminosäure beruht auf einer direkten Komplexbildung mit

Schwermetallen, welche zum einen die Radikalwirkung des freien Kupfers unterbinden und zum anderen die Ausscheidung des D-Penicillamin-Kupfer-Komplexes über die Nieren erleichtern. Mit der Behandlung sind jedoch teilweise deutliche Nebenwirkungen verknüpft: In einzelnen Fällen wird von Vaskulitiden und Panzytopenien mit möglichem letalem Ausgang berichtet. In einer Datenanalyse konnten Maselbas et al. 2019 zeigen, dass etwa 57% der Patienten unter Einnahme von D-Penicillamin leichte bis mittelschwere Nebenwirkungen wie etwa Hautausschlag oder nur laborchemische Blutbildveränderungen ohne klinische Relevanz hatten.[54]

D-Penicillamin sollte möglichst frühzeitig gegeben werden. Eine frühzeitige Gabe von D-Penicillamin kann eine Lebertransplantation verhindern.[31, 61, 62] Es wird eine Substitution mit Pyridoxin von 20mg täglich empfohlen.[56]

1.5.2. Zink

Zink induziert eine vermehrte Synthese von Metallothioneinen, welche eine essentielle Rolle in der Schutzfunktion vor freien Kupfer-Radikalen spielen.[14, 15] Hierbei wird die höhere Affinität der Methallothionein-Isoformen zu Kupfer im Vergleich zu Zink ausgenutzt. Weshalb die Syntheseinduktion der Metallothioneine von Zink therapeutisch wirksam ist, aber physiologisch nicht in therapeutischer Form geschieht, ist weiterhin unklar. Gleichzeitig wirkt Zink auch als Signalmodulator im Energiehaushalt der hepatischen Zelle sowie modulierend auf Apoptose und Proliferation.[14] Insbesondere in den Niederlanden ist die Zink-Monotherapie beliebt, da sie dort erstmals eingeführt wurde. Die Effektivität von Zink-Monotherapie wird von einigen Autoren in Frage gestellt, da insbesondere bei hepatischen Verlaufsformen eine Verschlechterung unter Zink berichtet wurde.[29] Zink ist im Vergleich mit D-Penicillamin und Triethylentetramin weniger effektiv, aber bis auf leichte Beschwerden des Gastrointestinaltrakts nebenwirkungsarm. Die Therapie erfolgt typischerweise mit 150mg Zinksulfat oral in drei Dosen etwa dreißig Minuten vor den Mahlzeiten. Eine Zinktoxikose ist beim Menschen nur in Ausnahmefällen durch suprathérapeutische Substitution beschrieben worden und stellt damit eine extrem seltene Komplikation dar.[29, 38, 51, 63]

1.5.3. Dimercaprol

Dimercaprol ist ein Schwermetallchelator der ersten Generation und als dieser der funktionelle Vorgänger der nun häufig bei Schwermetallvergiftungen eingesetzten

Dimercaptopropansulfonsäure (DMPS), welche ähnlich wie Dimercaprol über eine funktionelle Thiolgruppe eine Chelatbildung bewirkt. Die Ausscheidung erfolgt bei beiden Stoffen renal. Aufgrund der Nebenwirkungen wie etwa Nephrotoxizität, Fieber, medikamentösem Hypertonus und der Applikation als sehr schmerzhaft beschriebene intramuskuläre Injektion mit häufig beschriebener Abszedierung der Injektionsstelle wird Dimercaprol auch international nur noch selten angewendet.[29, 63] Dimercaprol wird in Deutschland aktuell nicht mehr zur medikamentösen Therapie des Morbus Wilson empfohlen.[56]

1.5.4. Triethylentetramin

Triethylentetramin ist ein aliphatisches Amin, welches als Chelator für Kupferionen fungiert. Insbesondere Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Triethylentetramin sind bisher nur unzureichend verstanden. Es wird laut aktueller Datenlage davon ausgegangen, dass nur Acetyltrien als Metabolit eine Chelatorfunktion einnimmt und etwa acht Prozent der aufgenommenen Menge Triethylentetramin damit therapeutisch wirksam sind. Beschriebene Nebenwirkungen sind unter anderem eine unspezifische Kolitis, Übelkeit, Hautausschlag und bei längerer Anwendung eine Eisenmangelanämie, da Triethylentetramin unspezifisch sowohl Kupfer- als auch Eisenionen bindet. Die wasserlösliche Verbindung aus Triethylentetramin und Wasser wird renal ausgeschieden. Hierbei kann in wenigen Fällen eine Blaufärbung des Urins beobachtet werden. Triethyltetramin hat insgesamt ein wesentlich besseres Nebenwirkungsprofil als D-Penicillamin. Historisch wurde Triethyltetramin nicht zuletzt aufgrund wesentlich höherer Kosten als Zweittherapeutikum bei starken Nebenwirkungen von D-Penicillamin empfohlen, aktuell wird jedoch international Triethylentetramin gleichwertig zu D-Penicillamin als Therapeutikum der ersten Wahl empfohlen. In Deutschland wird bei der hepatischen Verlaufsform des Morbus Wilson D-Penicillamin vorgezogen.[10, 12, 29, 51, 52, 61, 63, 64]

1.5.5. Tetrathiomolybdate

Tetrathiomolybdate ist ein bisher in Deutschland nicht zugelassenes Therapeutikum. Seine therapeutische Wirkung entfaltet Tetrathiomolybdate durch eine Komplexbildung mit Kupfer sowohl im Darm und im Kreislauf. Der genaue Wirkmechanismus bleibt weiterhin unklar, es gibt jedoch Hinweise darauf, dass Tetrathiomolybdate unlösliche und damit nicht stoffwechselaktive Komplexe mit Kupfer bildet, welche nicht ausgeschieden werden, da

diese innerhalb der Leber im Rattenmodell nachgewiesen werden konnten.[65] Tetrathiomolybdate entkupfert Patienten schneller und effektiver als Triethyltetramin. Nebenwirkungen umfassen beispielsweise Knochenmarksdepression und Hepatotoxizität. Es könnte hiermit durch eine zu effektive Entkupferung zu einem klinisch apparenten Kupfermangel unter der Behandlung mit Tetrathiomolybdate kommen. Dies kann gegebenenfalls durch einen Wechsel nach der Entkupferungsphase in die Erhaltungsphase von Tetrathiomolybdate auf Triethyltetramin, D-Penicillamin oder Zinksulfat verhindert werden. [29]

1.5.6. Substanzwahl innerhalb der Pharmakotherapie

Von diesen Medikamenten werden in der S1-Leitlinie der AWMF unter der Federführung der Deutschen Gesellschaft für Neurologie (DGN) aktuell nur drei zur Therapie empfohlen.

Die Initialtherapie bei symptomatischen Patienten sollte mit den Chelatbildnern D-Penicillamin oder Triethyltetramin erfolgen. Eine Erhaltungstherapie kann dann sowohl mit D-Penicillamin als auch mit Triethyltetramin oder Zink erfolgen. Bei asymptomatischen Patienten sollte trotz fehlender Symptomatik eine sofortige Therapie begonnen werden, die zur Primärprophylaxe dient. Hierbei sind Zink, D-Penicillamin und Triethyltetramin gleichwertig empfohlen. Bei sekundärem Therapie- bzw. Prophylaxeversagen sollte ein Wechsel von Zink auf D-Penicillamin erfolgen, worauf die Behandlung dann analog zur Initialtherapie des symptomatischen Patienten erfolgt.

Die Entscheidung zwischen der Therapie mit Triethyltetramin oder D-Penicillamin ist nach aktuellem Konsens Einzelfallentscheidung. Laut einer Untersuchung von Weiss et al. ist die Therapieadhärenz unter D-Penicillamin wesentlich geringer als bei Triethyltetramin ($p=0,039$), es kommt jedoch unter Triethyltetramin häufiger zu einer neurologischen Verschlechterung ($p=0,018$).[61] Hierbei ist wahrscheinlich eine zu niedrige Erhaltungsdosis als Ursache für diesen Sachverhalt anzusehen. Die im Vergleich geringere Therapieadhärenz wird nicht kausal begründet. Denkbar ist unter anderem ein größeres Nebenwirkungsprofil. Die Therapieadhärenz ist neben den vorbestehenden neurologischen Symptomen der größte prädiktive Faktor für eine Besserung der Symptomlast.[52] Das auch aus den vorherigen Leitlinien und Therapieempfehlungen historisch gewachsene Konzept des Wechsels von D-Penicillamin auf Triethyltetramin bei Auftreten schwerwiegender Nebenwirkungen wird auch durch die aktuelle S1-Leitlinie unterstützt.[56] Eine klare Empfehlung zur Bevorzugung

von D-Penicillamin über Triethylentetramin kann ähnlich wie die konträre Empfehlung, Triethylentetramin D-Penicillamin vorzuziehen, aufgrund der aktuellen Datenlage nicht getroffen werden.

Insbesondere bei schwangeren Patientinnen ist das Auftreten einer Coombs-negativen hämolytischen Anämie gefürchtet, da der aufgrund möglicher teratogener Effekte erfolgte Wechsel von Triethylentetramin oder D-Penicillamin auf Zink eine möglicherweise insuffiziente Therapie des Morbus Wilson darstellen kann. Eine Symptomatik der Coombs-negativen hämolytischen Anämie kann hier beispielsweise mit einem *haemolysis, elevated liver enzymes, low platelet count*-Syndrom (HELLP-Syndrom) verwechselt werden und zu einer frühzeitigen Schnittentbindung führen.[29]

Die Therapieadhärenz spielt bei der medikamentösen Therapie des Morbus Wilson eine große Rolle.[52] Maselbas et al. konnten etwa in einem polnischen Kollektiv 2019 zeigen, dass nur etwa 74% aller Patienten über einen Zeitraum von etwa zwölf Jahren regelmäßig die ihnen verschriebenen Medikamente einnahmen. Ähnlich wie bei anderen chronischen Erkrankungen sank die Therapieadhärenz der Patienten mit vergangener Zeit seit Diagnosestellung. Hierbei stellten die Autoren im direkten Vergleich von D-Penicillamin und Zinksulfat heraus, dass die initiale Wahl des Wirkstoffes zur Behandlung keine so große wie bisher angenommene Rolle spielt ($p=0.85$). Bei der Reduktion der Symptomlast, welche in 98% der Fälle erreicht werden konnte, war die Therapieadhärenz sehr wichtig. Diese wurde vor allem positiv durch einen hohen Bildungsstand und soziale Unterstützung beispielsweise in der Familie beeinflusst.[54]

1.6. Andere Maßnahmen der Therapie des Morbus Wilson

Der Wert der kupferarmen Ernährung wird kontrovers diskutiert. In der Anfangsphase einer Behandlung kann eine kupferarme Ernährung sinnvoll sein. Eine streng kupferarme Diät führt allerdings zu einem erheblichen Verlust an Lebensqualität, da Nahrungsmittel wie Fleisch, Fisch, Nüsse, Schokolade oder Kaffee als kupferhaltig gelten und nach der Vorgabe von Diätbefürwortern vom Speiseplan der Morbus Wilson-Patienten zu streichen sind. Die klinische Erfahrung hat aber gezeigt, dass bei guter Therapieadhärenz kein radikaler Verzicht auf solche Nahrungsmittel notwendig ist. Adhärenz bei der medikamentösen Therapie ist einer der wichtigsten Faktoren in der Rekonstitution der Patienten.[52, 54, 61]

Die chirurgische Therapie im Sinne einer Lebertransplantation sollte aufgrund der assoziierten Morbidität und Mortalität nur im Vollbild einer hepatischen Krise gewählt werden. Wie mehrere Autoren zeigen konnten, kann eine Rescue-Therapie beispielsweise mit D-Penicillamin über mehrere Wochen eine indizierte Lebertransplantation nach dem *Model for End Stage Liver Disease-Score* (MELD-Score) abwenden (vgl. 1.4.1. Die hepatische Krise als Sonderform der hepatischen Manifestation).[29]

Bei vorwiegend neurologischer Symptomatik und dem Auftreten eines therapieresistenten Tremors oder einer therapierefraktären Dystonie kann die Implantation eines *Deep Brain Stimulators* (DBS) erwogen werden. Dies ist jedoch nur in Einzelfällen beschrieben worden. Durch Chelatbildner steht prinzipiell eine kausale Therapie zur Verfügung. Sollte diese nicht greifen, ist von einer schweren Schädigung der Basalganglien auszugehen. Dies stellt keine gute Voraussetzung für einen DBS dar und hat damit bisher einen rein experimentellen Charakter.[66]

1.7. Diagnostik des Morbus Wilson

Die Beurteilung der Wahrscheinlichkeit einer Erkrankung erfolgt in der Praxis international unterschiedlich.[67-69] Der nach dem *8th international meeting on Wilsons disease* 2001 in Leipzig stattgefundenen Symposion benannte *Leipzig Score* beinhaltet

- 1.) das Vorhandensein eines Kayser-Fleischer-Ringes auf mindestens einem Auge
- 2.) das Vorliegen neurologischer Symptome
- 3.) das Vorliegen eines passenden cMRT-Befundes
- 4.) die Höhe des gemessenen Coeruloplasmins im Serum
- 5.) das Vorliegen einer Coombs-negativen hämolytischen Anämie
- 6.) die Höhe des gemessenen Kupfers im Lebertrockenbiopsat
- 7.) die Höhe des gemessenen Kupfers im Sammelurin ohne beziehungsweise nach D-Penicillamin-Stimulation
- 8.) das Ergebnis einer ATP7B-Mutationsanalyse

Jedem dieser acht Items wird ein Punktwert zugewiesen, welcher jedoch nicht äquivalent zu werten ist. Die Punktwerte werden addiert und in die Bewertungskategorien „*gesicherte Erkrankung*“ (\geq vier Punkte), „*mögliche Erkrankung*“ (drei Punkte) und „*unwahrscheinliche Erkrankung*“ (\leq zwei Punkte) gruppiert.[10, 28, 29] Hierbei auffällig ist der schmale Bereich

von nur zwei Punkten Unterschied zwischen „gesicherter“[28] und „unwahrscheinlicher“[28] Erkrankung.

Ohne therapeutische Intervention ist bei einer Erkrankung an Morbus Wilson von einer akzelerierenden Tendenz der Symptomlast auszugehen.[10, 12, 28, 29, 51, 63, 70] Simultan zu den möglichen Symptomen einer Erstmanifestation bei Morbus Wilson ist auch mit der ambulanten Erstvorstellung beim Allgemeinmediziner sowie bei dem jeweiligen Symptomkomplex zugeordneten Facharzt zu rechnen. Dieser muss aber nicht zwangsläufig mit dem Gesamterscheinungsbild eines Morbus Wilson vertraut sein und kann somit Schwierigkeiten haben, den *Leipzig Score* anzuwenden. Zusätzlich hat jeder Einzelpunkt des *Leipzig Score* problematische Aspekte, die zu falsch-positiven Diagnosestellungen führen können, was nun im Einzelnen dargelegt werden soll.

1.7.1. Kayser-Fleischer-Kornealringe

Die sogenannten Kayser-Fleischer-Kornealringe, auch Kayser-Fleischer-Ringe genannt, bezeichnen Kupferablagerungen in der Descemet-Membran der Kornea. Die Kayser-Fleischer-Ringe sind nach den deutschen Augenärzten Bernhard Kayser und Bruno Fleischer benannt, die Anfang des 20. Jahrhunderts eine Erstbeschreibung vornahmen. Mehrfach ist in der Literatur beschrieben worden, dass bei einem vorwiegend hepatischen Erkrankungsbild entweder nur eine schwache oder gar keine Korrelation von Morbus Wilson mit dem Auftreten von Kayser-Fleischer-Ringen nachgewiesen werden kann.[9, 32, 33, 50, 51, 69, 71, 72]

Bei vorwiegend neurologischem Erkrankungsbild kann jedoch in vielen Fällen ein Kayser-Fleischer-Ring nachgewiesen werden, wobei von keinem Autor eine quantitative Korrelation des Auftretens von Kayser-Fleischer-Kornealringen mit dem Auftreten neurologischer Symptome durchgeführt wurde. Gleichzeitig gibt es vermehrt Fallbeschreibungen von Kayser-Fleischer-Ringen in Fällen von kryptogener Leberzirrhose, äthyltoxischer Leberzirrhose, Autoimmunhepatitis und Gallenwegserkrankungen.[72-74]

1.7.2. Neurologische Symptome

Neurologische Symptome innerhalb einer Erkrankung an Morbus Wilson können sich außerordentlich divers (vgl. Tabelle 2) darstellen. Während es einige eher typische Verläufe mit motorischen Symptomen wie etwa Dystonie, Tremor und Dysarthrie gibt, kann es in

anderen Fällen nur einzelne, eher als untypisch geltende Symptome mit einer weitreichenden Differentialdiagnostik geben. Hierunter wären beispielsweise unilaterale Kopfschmerzen, Myoklonien oder Pseudohypersalivation zu fassen.[29] Unspezifische Dysästhesien wie bei Multipler Sklerose (MS) und Polyneuropathie zum Beispiel sind neurologische Symptome und können zu einer falsch-positiven Punktvergabe führen.

Eine Möglichkeit der Evaluation und Kontrolle fortschreitender oder regredienter Symptomatik unter medikamentöser Therapie stellt die beispielsweise die *Unified Wilson's Disease Rating Scale* (UWDRS) dar.[75] Hierbei explizit zu beschreiben ist insbesondere das Hinzufügen des sogenannten *wing-beating tremors*, während die UWDRS sonst ein Konglomerat von Items aus dem Barthel Index, der *Clinical Rating Scale for Tremor* (CRST), der *Unified Parkinson Disease Rating Scale* (UPDRS), der *Burke-Fahn-Marsden Dystonia Scale* (BFM) und der *Unified Huntington's Disease Rating Scale* (UHDRS) darstellt. Eine ausführliche Übersicht über die beschriebenen Symptome eines Morbus Wilson erfolgt in Tabelle 2.

1.7.3. cMRT-Befund

Verschiedene cMRT-Befunde werden als pathognomisch für einen Morbus Wilson gewertet. Hierunter werden das „*face of the giant panda sign*“ und das „*face of the miniature panda sign*“ bzw. „*panda cub sign*“ als „*double panda sign*“ gezählt.[76, 77] Beide werden in der T2-Gewichtung dargestellt. Ähnliche Veränderungen können jedoch auch bei Eisenspeichererkrankungen des zentralen Nervensystems auftreten. Eine Berücksichtigung dieser Erkrankungen lässt sich im Scoring nicht nachvollziehen.[10, 28, 29] Weitere berichtete pathologische Befunde umfassen unter anderem hyperintense bilaterale Signale in den Basalganglien. Hierunter können komplexe globale Anreicherungen wie auch abgrenzbare Anreicherungen jeweils im Nucleus caudatus, im Putamen oder im Globus pallidus zusammengefasst werden. Des Weiteren wurden „*central pontine myelinolysis-like changes*“ innerhalb der Pons beschrieben, welche generell als selten zu bezeichnen sind, jedoch in drei voneinander abgrenzbaren und typischen Formen auftreten können.[76-79]

1.7.4. Coeruloplasmin im Serum

Coeruloplasmin im Serum gilt als Surrogatparameter des gestörten Kupferstoffwechsels bei Morbus Wilson. Ferenci et al. unterscheiden innerhalb ihres *Leipzig Scores* in zwei pathologische (10-20 mg/dl beziehungsweise <10 mg/dl) sowie einen physiologischen (>20mg/dl) Wert.[10, 28] Anhand dieser Klassifizierung erfolgt auch die Punktezuweisung

mit null, einem oder zwei Punkten. Erst in einem 2019 erschienen Cochrane-Review von Ryan et al. wurden Spezifität und Sensitivität für diese *Cutoff*-Werte bestimmt.[80]

Eine Messung der enzymatischen Aktivität von Coeruloplasmin, der sog. Coeruloplasmin-Oxidase-Aktivität, wurde 2009 von Merle et al. beschrieben, jedoch fand die Messung bisher keinen Eingang in die standardmäßige Patientenversorgung. Diese ersetzt eine rein quantitative Messung durch eine kombiniert quantitativ-qualitative Messung.[81]

1.7.5. Coombs-negative hämolytische Anämie

Das Auftreten einer Coombs-negativen hämolytischen Anämie wird in vorwiegend hepatischen Verlaufsformen des Morbus Wilson mit deutlichem Leberschaden beobachtet, kann jedoch auch in Abwesenheit einer laborchemisch bestimmbaren Leberschädigung auftreten. Von einer Assoziation der Coombs-negativen hämolytischen Anämie mit neurologischen Verlaufsformen wird nur in Einzelfällen anhand eines anamnestisch transienten Ikterus berichtet.[29] In einigen Fällen der hepatischen Krise ist neben einer massiven Leberschädigung nur eine Coombs-negative hämolytische Anämie in der Maximalform als hämolytische Krise beschrieben.[57]

Die Prävalenz der Coombs-negativen hämolytischen Anämie unter einer Erkrankung an Morbus Wilson ist laut Literatur unterschiedlich. Während es in einer Beschreibung einer japanischen Population von 283 erstmalig erfolgten Diagnosen eine Prävalenz von drei (1,06%) gibt, wurde in einer geographisch nicht weiter beschriebenen Population eine Prävalenz von 25 von 220 Fällen (11,3%) beschrieben. Hierbei erfolgte keine explizite Beschreibung der Häufigkeit einer hepatischen, psychiatrischen oder neurologischen Verlaufsform respektive der Vergesellschaftung einer Coombs-negativen hämolytischen Anämie mit einer dieser Verlaufsformen.[29]

1.7.6. Quantitative Kupferbestimmung im Leberbiopsat

Eine durchgeführte transkutane Biopsie der Leber kann zur Bestimmung des Kupfergehaltes im Lebertrockenbiopsat genutzt werden. Die Auswertung erfolgt hierbei quantitativ über eine Atomabsorptionsspektroskopie (AAS). Der festgestellte Kupfergehalt muss für eine Punktzuweisung von einem Punkt zwischen dem ein- bis fünffachen *upper limit of normal* (ULN) liegen, eine über die fünffache Erhöhung der ULN hinausgehende Festsetzung ergibt

zwei Punkte. Falls der Kupfergehalt unterhalb der ULN liegt, gibt es einen Punkt Abzug innerhalb des Scoringsystems.[28]

Gleichzeitig kann eine Darstellung kupferhaltiger Granulae innerhalb der Hepatozyten mittels des Thiazol-Derivats Rhodanin als Nachweis eines erhöhten intrazellulären Kupfergehalts erfolgen und zu einer Punktevergabe führen. Dies wird innerhalb des *Leipzig Scores* jedoch nur dann empfohlen, falls eine quantitative Analyse des Kupfergehaltes nicht möglich sein sollte. Hierbei kann eine Zuordnung von Punktwerten von null bzw. einem Punkt innerhalb des Scorings erfolgen, falls es zu keinem beziehungsweise doch zu einem Nachweis von Rhodanin-gefärbten Granulae kommt.[28]

1.7.7. Kupfer im Sammelurin

Die quantitative Messung des Kupfers im Sammelurin wird über das Sammeln des 24h-Sammelurins und eine laborchemische Messung durchgeführt. Diese erfolgt meist in Form einer AAS. Hierbei gelten laut des *Leipzig Scores* eine ein- bis zweifache beziehungsweise eine über zweifache Erhöhung über den hausinternen ULN als Gründe für ein Scoring mit einem bzw. zwei Punkten. Ein sowohl innerhalb dieser Arbeit als auch von allen reviewten Autoren verwendetes ULN beträgt 40µg Kupferausscheidung in 24h. Dementsprechend erfolgt eine Punktevergabe bei Werten von 41-80µg/24h von einem Punkt beziehungsweise von zwei Punkten bei Werten $\geq 81\mu\text{g}/24\text{h}$. Dabei ist problematisch, dass auch weder heterozygot noch homozygot mutierte Personen einen Wert von $>80\mu\text{g}/24\text{h}$ unter D-Penicillamin-Stimulation leicht erreichen können.[9, 10, 42, 50, 54, 61]

1.7.8. Genetische Testung

Es sind über 656 mit Morbus Wilson verbundene Mutationen des ATP7B-Gens bekannt.[30, 46] Die Anzahl der bekannten Mutationen und auch die stetige Neuentdeckung weiterer Mutationen macht eine genaue Zuordnung schwierig. Eine Genotyp-Phänotyp-Korrelation wird in der Literatur diskutiert, konnte jedoch bisher nicht bewiesen werden.[30, 47] Gleichzeitig sind Fallberichte und retrospektive Studien vorhanden, die eine Genotyp-Phänotyp-Korrelation in Frage stellen.[45, 47] Vrabelova et al. konnten in einem Kollektiv von 227 an Morbus Wilson erkrankten Patienten bei 80,3% mindestens zwei für eine Erkrankung bekannte Mutationen nachweisen, diese konnten in 67,75% der Fälle zu einer von sechs bekannten Mutationen (H1069Q, 3402delC, W779X, R778G, 1340del4, 2299insC) zugeordnet werden. Besonders auffällig innerhalb der angesprochenen Arbeit ist die

Häufigkeit, mit der die Mutation H1069Q hier beschrieben wurde (57%).[47] Innerhalb der 49 Patienten mit einer homozygoten H1069Q-Mutation auf beiden Allelen konnte jedoch keine Genotyp-Phänotyp-Korrelation festgestellt werden, insbesondere kann die Mutation H1069Q nicht mit einem späten Erstauftreten mit neurologischen Symptomen in Verbindung gebracht werden. Die Untersuchung fand in einer homogenen ostkaukasischen Population statt.[47] Die H1069Q-Mutation gilt als die häufigste in Europa und Nordamerika auftretende Mutation.[30, 32] In anderen geographischen Gebieten gibt es jedoch nur vereinzelt Beschreibungen von H1069Q-Mutationen, weltweit dominieren beispielweise die P1379S- oder die T991M-Mutation.[44] Dies zeigt die Diversität und Heterogenität der bekannten Mutationen und die Schwierigkeit, einen nationalen und internationalen Vergleich sowohl der Genotypen als auch der Genotyp-Phänotyp-Korrelation zu bewerkstelligen.

In europäischen Studienprotokollen wird oftmals ein zweistufiges Verfahren gewählt, bei welchem aufgrund der Häufigkeit der H1069Q-Mutation zuerst diese mittels Polymerasekettenreaktion (*polymerase chain reaction*, PCR) untersucht wird, während bei negativem Ergebnis mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (*high-performance liquid chromatography*, HPLC) auf weitere Mutationen untersucht wird.[60]

1.8.Ziele der Arbeit

In der Morbus Wilson-Ambulanz der Neurologischen Klinik des Universitätsklinikums Düsseldorf fiel ab dem Jahr 2013 ein sprunghafter Anstieg an Neuvorstellungen auf. Dies umfasste neben Patienten, welche zur Abklärung und definitiven Diagnosestellung eines Morbus Wilson vorgestellt wurden, auch solche Patienten, bei denen bereits ein Morbus

Wilson diagnostiziert worden war und die begonnene Therapie optimiert werden sollte.

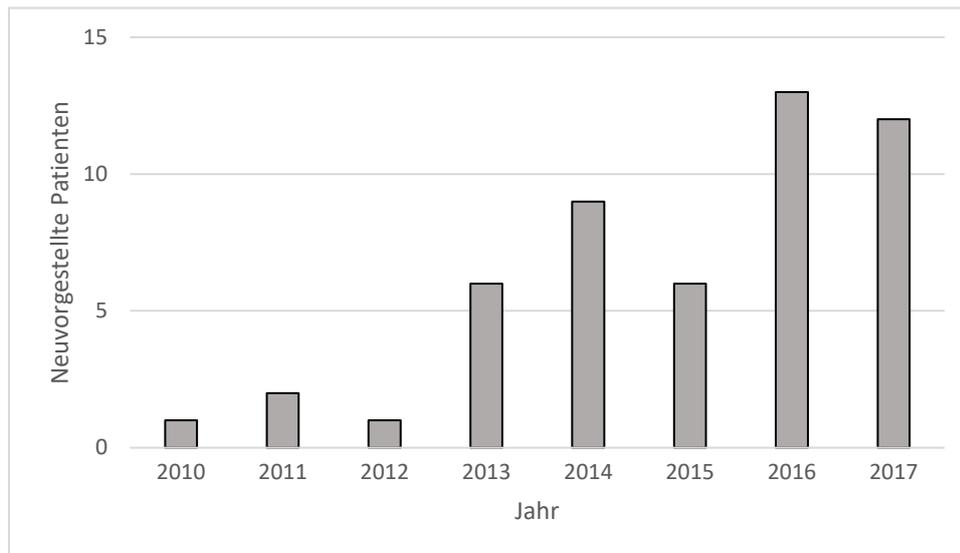


Abbildung 2: Neuvorstellungen per annum im Zeitraum 2010 bis 2017 in der Morbus Wilson-Ambulanz der Neurologischen Klinik des Universitätsklinikums Düsseldorf

Da einiger der Patienten in ihren Unterlagen Hinweise auf den *Leipzig Score* aufwiesen – in den wenigsten Fällen war dieser komplett erhoben worden – lag nahe, dass dieser plötzliche Anstieg von Morbus Wilson-Patienten mit der Verwendung des 2012 erstmals in der S1-Leitlinie *Morbus Wilson* eingebundenen *Leipzig Score* nach Ferenci et al. zusammenhing.[56] In den Jahren vor 2012 lag die Rate von *de novo* Morbus Wilson-Patienten konstant bei 2-3 *per annum*. Die Diagnosestellung konnte in vielen Fällen jedoch nicht nachvollzogen werden, da die Patienten aus der klinischen Diagnostik heraus entweder andere neurologische Erkrankungen oder einen heterozygoten Genträgerstatus mit Veränderungen des Kupferstoffwechsels aufwiesen.

Die Trennbarkeit dieser Patientenpopulationen gestaltete sich mit dem *Leipzig Score* als nicht möglich. Vielmehr begünstigte der *Leipzig Score* eine falsch-positive Diagnostik heterozygoter Konduktoren mit Veränderungen des Kupferstoffwechsels und stand in einem direkten zeitlichen Zusammenhang mit dem Anstieg der Neuvorstellungen. Die Notwendigkeit einer suffizienten Trennung der Konduktoren und der sicheren Morbus Wilson-Patienten ergibt sich schon daraus, dass keine medikamentöse Fehltherapie bei einem von einer hohen Nebenwirkungslast bedrohten Patientenkollektiv eingeleitet werden sollte.

Zielsetzung dieser Arbeit war:

- 1.) die Untersuchung der laborchemisch erhobenen Parameter des Kupferstoffwechsels sowie weiterer basaler Stoffwechselfparameter bei Patienten, die zur Therapieoptimierung oder Sicherung eines Morbus Wilson vorgestellt wurden, bei welchen klinisch oder zusatzdiagnostisch ein Morbus Wilson ausgeschlossen werden konnte, jedoch der Verdacht auf einen heterozygoten Konduktorenstatus bestand.
- 2.) die Möglichkeit einer rein laborchemischen Trennung von an Morbus Wilson erstdiagnostizierten Patienten vor und nach Therapieeinleitung sowie aus dem klinischen Kontext vermuteten Konduktoren zu testen. Die Konduktoren wurden aus den letzten zehn Jahren rekrutiert. Die Daten der in demselben Zeitraum sicher diagnostizierten Morbus Wilson-Patienten wurden in einer anderen Doktorarbeit von Theo Samuel Kruschel zusammengestellt und für den Vergleich zur Verfügung gestellt
- 3.) die Testung, ob die Trennung der Konduktoren von den definitiven Morbus Wilson-Patienten besser vor oder nach Einleitung einer spezifischen und suffizienten Therapie möglich war. Dieser Aspekt war wichtig, da bei einigen Patienten ein D-PA-Stimulationstest durchgeführt worden war, um die Diagnose zu sichern.
- 4.) Die Analyse von Fehlerquellen in der Diagnostik bei Anwendung des *Leipzig Score* nach Ferenci et al. anhand von zwei eingeschlossenen Konduktoren mit bestätigten anderen neurologischen Erkrankungen.

Zusammengefasst war also die Zielsetzung, eine Kombination von Laborparametern im Sinne eines Modells zu finden, welches sicher Morbus Wilson-Patienten und Konduktoren trennt.

2. Patienten und Methoden

2.1. Generelle Vorbemerkungen und Einschlusskriterien

Ein schriftliches positives Ethikvotum lag zum Zeitpunkt der Datenerhebung und des Beginns des prospektiven *Follow-Up* vor. Die Studie wurde bei der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität unter der Studiennummer 5778R und der Registrierungs-ID 2016095612 geführt.

Einschlusskriterien waren ein Alter über 18 Jahren, eine persönliche primäre Vorstellung in der Morbus Wilson-Ambulanz oder eine konsiliarische Vorstellung des Studienteilnehmers in der Morbus Wilson-Ambulanz aus einer anderen Klinik und die Fragestellung nach dem

Vorliegen eines Morbus Wilson. Ausschlusskriterien waren ein bereits auswärtig sicher diagnostizierter Morbus Wilson.

2.2. Beschreibung der Patientenkollektive

Es wurden 31 Patienten in die vorliegende Studie eingeschlossen, bei welchen ein heterozygoter Konduktorenstatus vermutet wurde (hK-Gruppe). Die Erhebung aller patientengebundenen Daten erfolgte innerhalb der Regelversorgung der Morbus Wilson-Ambulanz der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Düsseldorf. Hierbei wurde eine retrospektive Datenanalyse mit einem prospektiven telefonischen sowie persönlichen *Follow-Up* kombiniert. Eine explizite persönliche Vorstellung einzig aufgrund der Studie erfolgte in keinem Fall.

Es erfolgte nach der Datenerhebung eine Pseudonymisierung der Teilnehmer. Der Pseudonymisierungsschlüssel der Studie wurde auf einem separaten Rechner der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikums Düsseldorf passwortgeschützt gespeichert. Er war damit nur Prof. Dr. Dr. Harald Hefter und Max Arslan als Mitarbeiter der Studie zugänglich.

Die Daten der körperlichen Untersuchung zum Vorstellungszeitpunkt wurden zwar innerhalb der Regelversorgung der Patienten in Papierform erhoben, jedoch von einem dazu nicht autorisierten Mitarbeiter vor der Möglichkeit der Digitalisierung vernichtet. Aufgrund dessen war eine dezidierte Auswertung klinischer Symptomatik nur in Einzelfällen möglich, ein systematisches Review der Vorstellungsgründe war damit nicht möglich. Erhobene Daten umfassten die motorische sowie extramotorisch-neurologische Symptomatik sowie zusätzliche Angaben einer subjektiven Symptomlast und die aktuelle Medikation. Die Erhebung der Daten erfolgte teilweise digital und teilweise primär in physischer Form, welche dann innerhalb weniger Stunden digitalisiert und datenschutzkonform vernichtet wurden.

Der Vergleich mit definitiv diagnostizierten Wilsonpatienten (dnMW-Gruppe) erfolgte unter Zuhilfenahme bereits erhobener Daten durch Herrn Theodor Samuel Kruschel innerhalb der Arbeitsgruppe Hefter. Hierbei wurden dieselben Parameter von erstdiagnostizierten Morbus Wilson-Patienten zum Zeitpunkt der Erstdiagnose eines Morbus Wilson sowie zu einem späteren Zeitpunkt mit mindestens sechs Monaten kontinuierlicher Chelatbildnertherapie

mit den Daten der hK-Gruppe verglichen. Zur Unterscheidbarkeit der Morbus Wilson-Patienten vor und nach Therapie wurden diese mit dnMWt bezeichnet.

2.3. Analysierte Laborparameter

Die erhobenen Parameter wurden vor Beginn der Studie bestimmt. Nach Abschluss der Datenerhebung erfolgte keine Sekundärerhebung von Daten. Erhobene Daten umfassten (in nicht-gewichteter Reihenfolge) die Anzahl der Leukozyten, den Gehalt an Hämoglobin (Hb), das mittlere Erythrozyteneinzelvolumen (*mean corpuscular volume*, MCV), das mittlere korpuskuläre Hämoglobin (*mean corpuscular haemoglobin*, MCH), die mittlere korpuskuläre Hämoglobin-Konzentration (*mean corpuscular haemoglobin concentration*, MCHC), die Anzahl der Thrombozyten, der Gehalt an Eisen im Blut, der Gehalt an Transferrin im Blut, der Gehalt an Ferritin im Blut, der Gehalt an Bilirubin im Blut, Aspartat-Aminotransferase (AST, auch als Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) bezeichnet) im Blut, Alanin-Aminotransferase (ALT, auch als Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) bezeichnet) im Blut, γ -Glutamyltransferasen (GGT) im Blut, Albumingehalt im Blut, die Aktivität der Cholinesterase (CHE), die aktivierte partielle Thromboplastinzeit (*activated partial thromboplastin time*, aPTT), den Parameter der *International Normalized Ratio* (INR), die Einstufenthrombinzeit in Form des Quick-Wertes, das Serumkreatinin sowie die nach dem Serumkreatinin errechnete glomeruläre Filtrationsrate (GFR) nach der *Chronic Kidney Disease-Epidemiology Collaboration*-Formel, das *Thyroidea*-stimulierende Hormon (TSH), der Nachweis an antinukleären Antikörpern (ANA), das Kupfer im Serum, der Gehalt an Coeruplasmin im Serum, der Gehalt an Kupfer im 24h-Urin (sowohl relativ als auch absolut), den Gehalt an Eiweiß im Urin, die Größe und das Gewicht des Probanden sowie das Geburtsdatum (zur Altersberechnung) und das Geschlecht.

2.4. Statistik

Die Digitalisierung der Daten erfolgte mit Microsoft Excel Version 15.0 für Windows, nachfolgend mit Microsoft Excel in Version 16.0 für Windows. Die statistische Auswertung erfolgte nach Übertragung der Daten mit IBM SPSS Statistics Version 25.0 beziehungsweise Version 27.0. Grafiken wurden mit Microsoft Excel Version 16.0, Microsoft PowerPoint Version 16.0 sowie IBM SPSS Statistics Version 25.0 beziehungsweise Version 27.0 angefertigt.

Es wurde mittels SPSS eine einfaktorielle Varianzanalyse (*analysis of variance*, ANOVA) der erhobenen Daten durchgeführt, um die oben genannten Parameter der Gruppe der 31 hK-Patienten mit den 19 Patienten der dnMW- sowie dnMWt-Gruppe zu vergleichen. Bei studienbedingter ungleicher Gruppengröße wurde das harmonische Mittel der Gruppengrößen verwendet, um mittels des Tukey-B-Test als *post-hoc*-Test einen signifikanten Unterschied zwischen den definierten Gruppen zu finden. Als Signifikanzniveau wurde $\alpha = 0,05$ gesetzt und für multiple Vergleiche von vorneherein korrigiert.

Hiernach wurde mittels einer Operationscharakteristik in Form der *receiver operating characteristic*-Kurve (ROC-Kurve) durchgeführt und *area under the curve* (AUROC) für verschiedene Parameter bestimmt, um eine Bewertung der in der ANOVA als signifikant eingeschätzten Parameter hinsichtlich ihrer Sensitivität im Sinne einer Richtig-Positiv-Rate gegen die Falsch-Positiv-Rate vorzunehmen.

Dann wurde eine logistische Regressionsanalyse mittels Maximum-Likelihood-Methode vorgenommen, um die nominalkategorisierte, binäre Aussage „ATP7B heterozygot mutiert“ gegen „ATP7B homozygot mutiert“ in Form einer Vorhersage treffen zu können. Ziel dieser Anstrengung war es, eine möglichst hohe Korrektklassifikationsrate (*accuracy*) innerhalb der Unterscheidung von mutmaßlich heterozygoten Konduktoren und erstdiagnostizierten Patienten mit Morbus Wilson sowohl vor als auch nach mindestens sechs Monaten einer kontinuierlichen Chelatbildnertherapie durch die Kombination mehrerer Parameter zu generieren.

Danach wurden die erhobenen Parameter der hK-Gruppe identisch zu dem beschriebenen Vorgehen mit den dnMWt-Daten verglichen: Zunächst erfolgte die ANOVA, anschließend die Kurvenanalyse sowie logistische Regressionsanalyse.

3. Ergebnisse

Zunächst werden zwei sehr ausführliche Fallberichte von Studienpatienten vorangestellt, um zu zeigen, dass Patienten mit Verweis auf die Kriterien des *Leipzig Score* als Morbus Wilson-Patienten fehldiagnostiziert wurden, obwohl Befunde vorlagen, die andere Diagnosen wahrscheinlicher machten. Dies wird in der Diskussion erneut aufgegriffen.

3.1. Fallbericht 1: Patient Studiennummer 4

Der männliche Patient mit der Studiennummer 4 stellte sich im Alter von 33 Jahren in einer mittelgroßen Klinik mit der Funktion eines Regionalversorgers mit neurologischer Klinik vor. Vorstellungsgrund waren ein vor etwa drei Wochen erstmals aufgetretener Tremor der rechten Hand, der sich progredient präsentierte. Zusätzlich berichtete der Patient, dass bei seiner Arbeit als Schlosser aufgefallen sei, dass er verlangsamt arbeite. Im Alter von 31 Jahren habe der Patient eine Retrobulbärneuritis des rechten Auges gehabt, die jedoch ohne Residuen abgeklungen sei. Eine damals durchgeführte cMRT sei unauffällig gewesen, eine Lumbalpunktion sei auf seinen Wunsch nicht durchgeführt worden.

Im klinisch-neurologischen Aufnahmebefund zeigte sich kein Meningismus, der Patient war wach und orientiert. Die Pupillen waren rund, isokor und mittelweit. Die Lichtreaktion war direkt und indirekt intakt. Es war kein pathologischer Nystagmus feststell- oder auslösbar. Die Muskeleigenreflexe waren seitengleich mittellebhaft auslösbar. Stand, Gang und Koordination waren regelrecht. Pathologische Befunde waren eine diskrete Feinmotorikstörung sowie ein inkonstanter Ruhetremor der rechten Hand. Der Patient wies eine Hypomimie auf und wirkte psychomotorisch verlangsamt. Zusätzlich fand sich eine Hypästhesie im Bereich des rechten Beines, der rechten Stirn und des rechten Kinnbereiches.

In einer problemlos durchgeführten Liquorpunktion zeigte sich keine Pleozytose bei normwertiger Glucose, normwertigem Lactat und Eiweiß. Im Reiber-Schema bestand der Verdacht auf eine intrathekale Immunglobulin (Ig) G-Synthese bei fehlenden Hinweisen auf eine intrathekale IgA- oder IgM-Synthese. Borrelien-Antikörper wurden nicht gefunden. In der Liquorzytologie zeigte sich ein „unspezifisches Reizsyndrom“ ohne sicheren Nachweis von Plasmazellen.

In der durchgeführten Magnetresonanztomographie von Kopf und Wirbelsäule bis zur Höhe des Brustwirbelkörperübergangs 3/4 zeigten sich ein unauffälliges Hirnparenchym sowie ein unauffälliges Rückenmark. In der venösen Darstellung ergab sich jedoch der Verdacht auf eine abgelaufene Sinusvenenthrombose des Sinus transversus der rechten Seite, differentialdiagnostisch bestand der Verdacht auf eine Hypoplasie des rechten Sinus transversus im Raum. Zusätzlich zu einer beginnenden Bandscheibendegeneration in Höhe

des Halswirbelkörperübergangs 4/5 und 5/6 war ein mäßiger lateraler Bandscheibenvorfall auf Höhe des Brustwirbelkörperübergangs 3/4 festzustellen.

Zusammenfassend wurde die Verdachtsdiagnose Morbus Wilson in Verweis auf die zum damaligen Zeitpunkt aktuelle S1-Leitlinie Morbus Wilson der Deutschen Gesellschaft für Neurologie gestellt. „Diese[sic!] Befunden nach erscheint ein M. Wilson orientiert an dem empfohlenen Score-System nach Ferenci et al., 2003 möglich.“

Die Empfehlung der zuweisenden Kollegen zur ambulanten Weiterbetreuung umfasste folgende Zusatzuntersuchungen „im Rahmen der erweiterten Diagnostik“: Augenärztliche Untersuchung zur Bestimmung des Vorhandenseins eines Kayser-Fleischer-Kornealrings, eine Haplotypenanalyse des Patienten sowie ein Familienscreening für alle Geschwister und Kinder ab dem 5. Lebensjahr, eine Oberbauchsonographie mit der Fragestellung einer Hepatosplenomegalie, eine transthorakale Echokardiographie mit der Fragestellung einer Kardiomyopathie und eine Vitamin D-Bestimmung mit der Fragestellung eines Vitamin D-Mangels.

Es erfolgte eine Vorstellung in der Morbus Wilson-Ambulanz der Klinik für Neurologie des Universitätsklinikum Düsseldorf. Hierbei konnte innerhalb der laborchemischen Diagnostik des Kupferstoffwechsels ein leicht erniedrigtes Coeruloplasmin mit 16mg/dl sowie eine leicht erhöhte Kupferausscheidung im 24h-Sammelurin von 44µg/24h festgestellt werden. Konsiliarisch wurden durch die Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und Infektiologie des Universitätsklinikums Düsseldorf eine Abdomensonographie ohne pathologischen Befund sowie eine Messung der Lebersteifigkeit (*FibroScan*TM) durchgeführt und weitere Laborparameter bestimmt. Die gemessene Steifigkeit war mit 3,9 Kilopascal (kPa) im physiologischen Bereich. Eine Leberbiopsie ergab histologische Anzeichen für eine minimale portale Fibrose, keine Verfettung, keinen bindegewebigen Parenchymbau, keine pathologischen Eisenablagerungen sowie keine histologischen Hinweise auf einen α 1-Antitrypsinmangel. Augenscheinliche fokale Kupferablagerungen konnten nicht festgestellt werden. Der Kupfergehalt im Trockenbiopsat war mit 30,9 µg/g Trockenbiopsat normwertig. Des Weiteren erfolgte der Ausschluss einer Abetalipoproteinämie, einer Acoeruloplasminämie beziehungsweise Hypocoeruloplasminämie, einer Citrullinämie, der Ahornsirupkrankheit (*maple syrup urine disease*, MSUD), einer Phenylketonurie (PKU), eines

Morbus Gaucher, eines α -Tocopherol-Mangels sowie eines Mangels an Methylen-Tetrahydrofolat-Reduktase (MTR).

Eine durchgeführte Dopamintransporter-Szintigraphie des Gehirns (DaTSCAN™) mittels J-123-Ioflupan ergab eine ausgeprägte bilaterale Minderung der striatalen Dopamin-Transporter-Dichte ohne signifikante Seitendifferenz (rechts 1,01, links 1,12 bei Normwerten von rechts 2,90, links 2,88). Der Befund wurde als eine fortgeschrittene Degeneration dopaminerger Neurone gewertet. Aufgrund dieses Befundes wurde ein idiopathisches Parkinson-Syndrom (mit typischer asymmetrischer Manifestation) diagnostiziert.

Der Patient wurde zur weiteren Behandlung an das Zentrum für Bewegungsstörungen und Neuromodulation überwiesen. Nach einer Einstellung mittels Pramiprexol 1,05mg *per os* pro Tag kam es zu einer nahezu vollständigen Regredienz der Symptomatik.

In einem etwa drei Jahre nach Diagnosestellung durchgeführten telefonischen *Follow-Up* klagte der Patient lediglich über eine minimale Einschränkung seiner Beweglichkeit.

Nach dem *Leipzig Score* hätten die neurologische Symptomatik, das erniedrigte Coeruloplasmin und die leicht erhöhte Kupferausscheidung zu einem Score-Wert von vier und damit zu einer gesicherten Morbus Wilson-Diagnose geführt.

3.2. Fallbericht 2: Patient Studiennummer 8

Der männliche Patient mit der Studiennummer 8 stellte sich im Alter von 41 Jahren in einem Krankenhaus der Bundeswehr mit angeschlossener Klinik für Neurologie vor. Hierbei erfolgte die Abklärung eines seit zwei Jahren bestehenden rechtsseitigen Tremors. Eine initial erfolgte Abklärung des Tremors sei ohne Befund gewesen, in Abstimmung mit dem Patienten wurde ein gemeinsames Abwarten und Wiedervorstellung bei Befundverschlechterung im Sinne eines *watchful waiting* beziehungsweise einer *active surveillance* beschlossen. Insbesondere in psychischen Stresssituationen sei aktuell eine deutliche Zunahme des Tremors „bis zur Handlungsunfähigkeit“ festzustellen gewesen, während der Tremor bei sportlichen Aktivitäten vollkommen verschwunden gewesen sei.

Bei der Vorstellung in der auswärtigen Klinik berichtete der Patient außer einer Arthrose beider Sprunggelenke (Erstdiagnose etwa vor drei Jahren) und einem adulten Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung (ADHS) über keine bekannten Vorerkrankungen. Die Familienanamnese war vollkommen unauffällig, insbesondere in

Bezug auf hereditäre neurologische Erkrankungen. Der Patient wog zum Erhebungszeitpunkt 88 Kilogramm bei einer Körpergröße von 1,90 Meter. Dies entspricht einem alterskorrigiertem *Body-Mass-Index* (BMI) von 24,4 und damit einem normalgewichtigen Befund. Miktion, Stuhlgang, Schlafverhalten und Gewichtsdyamik wurden vom Patienten als unauffällig beschreiben.

Die bisherige Medikation bestand aus einer täglichen morgendlichen peroralen Einnahme von 40mg Atomoxetin zur Behandlung seiner Aufmerksamkeitsdefizit-/Hyperaktivitätsstörung und 80mg Magnesium-Dragees am ehesten im Sinne einer Nahrungsergänzung ohne weitere Angabe.

Innerhalb der körperlichen Untersuchung waren keine Auffälligkeiten zu verzeichnen: Insbesondere konnte keine Struma festgestellt werden, sowohl Herz als auch Lunge waren ohne einen pathologischen Befund. Der Patient hatte einen Ruhepuls von 60 Schlägen pro Minute und einen Blutdruck von 120/80 Millimeter Quecksilbersäule (mmHg).

Im neurologischen Befund zeigte sich eine Hypomimie mit Fassadengesicht. Weitergehend war die Untersuchung der Hirnnerven unauffällig, es zeigten sich keine Gesichtsfeldausfälle, keine sensiblen Ausfälle oder Fazialis paresen. Die Sensorik war uneingeschränkt. Es war kein Meningismus feststellbar. Die Muskeleigenreflexe waren seitengleich lebhaft auslösbar ohne Hinweis auf positive Pyramidenbahnzeichen. Innerhalb der Koordination waren Knie-Hacke-Versuch, Finger-Nase-Versuch, Diadochokinese, Unterberger-Tret-Versuch, Romberger-Steh-Versuch und der Blindgang unauffällig. Zehengang, Hackengang, Einbeinstand und Seiltanzgang waren für den Patienten ohne pathologischen Befund durchzuführen. Der Patient wies einen ausgeprägten, grobschlägigen, niederfrequenten Tremor der gesamten rechten Körperhälfte mit einer deutlichen Betonung des Armes auf. Es ließen sich keine Paresen, Veränderungen der Trophik, Tonuserhöhungen sowie kein Rigor feststellen.

Im psychopathologischen Befund wurde eine normwertige Orientierung erhoben, es waren keine Defizite im Bereich der Aufmerksamkeit, der Konzentration und des Gedächtnisses festzuhalten. Weder Störungen des inhaltlichen und formalen Denkens, des Ich-Erlebens oder der Wahrnehmung konnten festgestellt werden. Des Weiteren gab es keine Ängste, Phobien oder Zwänge. Die Grundstimmung war ausgeglichen. Es bestanden keine dysphorischen, depressiven oder manischen Stimmungsauslenkungen. Es zeigte sich eine normale Schwingungsfähigkeit ohne Hinweis auf Eigen- oder Fremdgefährdung.

Ein durchgeführter Schellong-Test erbrachte eine physiologische Orthostasereaktion. Die Auswertung eines Ruhe-Elektrokardiogramms erbrachte den Befund eines normofrequenten Sinusrhythmus mit einer der Auskultation entsprechenden Frequenz und einer elektrischen Lagebestimmung als Indifferenztypen. Es waren keine Blockbilder, Komplexzeitveränderungen, Erregungsleitungsstörungen oder Erregungsrückbildungsstörungen festzustellen.

Eine native cMRT (3 Tesla) inklusive 3D-Rekonstruktion zeigte als pathologischen Befund eine deutlich verplumpte Substantia nigra beidseitig mit fehlendem Schwalbenschwanz-Phänomen (*absent swallow tail sign*). Dies wurde innerhalb der überweisenden Fachklinik mit einer „diagnostischen Sicherheit größer 90%“ für das Vorliegen eines Morbus Parkinson gewertet. Ein *face of the giant panda*-Zeichen konnte explizit nicht festgestellt werden. Eine neurophysiologische Untersuchung erfolgte an zwei aufeinander folgenden Tagen, da am ersten Untersuchungstag keinerlei Tremoraktivität festzustellen war. Während der zweiten Untersuchung konnte mittels simultanem Oberflächenelektromyogramms vom *Musculus flexor carpi ulnaris* und *Musculus extensor carpi ulnaris* sowie einer Akzelerometrie rechts ein grobschlägiger niederfrequenter rechtsseitiger Ruhetremor mit einer Frequenz von circa 5 Hertz gemessen werden. Dieser wurde innerhalb der überweisenden Fachklinik als „mit einem ‚Parkinson-Tremor‘ vereinbar“ gewertet.

Eine durchgeführte Liquorpunktion zeigte ein Liquoreiweiß von 32,7 mg/dl (Referenzbereich: 15,0-45,0 mg/dl) und eine Zellzahl von 7 pro μl Liquor (Referenzbereich der externen Klinik: <15 pro μl Liquor). Glukose, Laktat und Chlorid waren normwertig. Das *Angiotensin converting enzym* (ACE) im Serum lag auch im Normbereich. Es konnten keine oligoklonalen Immunglobulin-Banden, keine intrathekale Immunglobulin-Synthese, keine Störung der Blut-Liquor-Schrankenfunktion und keine Pathologie der zytopathologischen Untersuchung nachgewiesen werden. Die Liquorinfektiologie auf Varizella zoster, Borrelia burgdorferi, Masern, Mumps, Röteln, Herpes-Viren, Enteroviren und Treponema pallidum blieben genau wie die Infektionsserologie auf Adenoviren-, Toxoplasma gondii-, Mykoplasma pneumoniae-, Influenzae-, Herpes simplex-, Varizella zoster-, Epstein-Barr-Virus-, Leptospiren-, Borrelia burgdorferi-, Treponema pallidum- und Frühsommer-Meningoenzephalitis-Antikörper unauffällig. Die weiterhin durchgeführten Blutuntersuchungen des Patienten inklusive eines Blutbildes, einer Blutsenkungsgeschwindigkeit, der Elektrolyte, Blutfettparameter, des C-

reaktiven Proteins (CRP), der Enzyme von Leber, Niere und Pankreas, des Bilirubins, des Blutzuckers, einer erweiterten Urindiagnostik, einer Schilddrüsenhormonbestimmung und einer Eiweißelektrophorese blieben bis auf die Parameter des Kupferstoffwechsels ohne pathologischen Befund.

Das Coeruloplasmin war mit 14,7 mg/dl (Referenzbereich: 20-60 mg/dl) und einer Verifizierungskontrolle in einem externen Labor mit 19,2 mg/dl (Referenzbereich: 20-60 mg/dl) erniedrigt. Das Kupfer im 24h-Sammelurin war mit 135 mg/dl (Referenzbereich: <50 mg/dl) mehr als zweifach erhöht.

Gleichzeitig wurde ein erweitertes Vaskulitis-Screening durchgeführt, welches auf extrahierbare nukleäre Antikörper (ENA), antinukleäre Antikörper (ANA), anti-neutrophile cytoplasmatische Antikörper (ANCA), Glutamat-Decarboxylase-Antikörper (GAD-AK), onkoneuronale Antikörper in Form von *anti-neuronal nuclear antibody 1* (ANNA-1), *anti-neuronal nuclear antibody 2* (ANNA-2) p54, *Purkinje cell antibodies* (Yo) p62, *collapsin response mediator protein 2 antibodies* (CV2/CMRP-5), *paraneoplastic antigen MA2 antibody* (PNMA 2), Amphiphysin-Antikörper, Cardiolipin-IgG und -IgM testete. Dieses blieb ohne pathologischen Befund. Die Abklärung einer paraneoplastischen limbischen Enzephalitis (PLE) beziehungsweise nichtparaneoplastischen limbischen Enzephalitis (NPLE) erfolgte über die Bestimmung von zusätzlich zu den oben genannten, jedoch nicht weiter ausgeführten Oberflächen-Antikörpern.

Eine durchgeführte Dopamintransporter-Szintigraphie des Gehirns (DaTSCAN™) mittels J-123-loflupan zeigte eine linksseitig deutlich reduzierte Anreicherung im Striatum. Ein durchgeführter L-Dopa-Test mit peroral eingenommen 100mg Levodopa nach einer Prämedikation mit einer nicht näher bezeichneten Menge Domperidon brachte laut der überweisenden Abteilung keine objektivierbare Besserung im *Unified Parkinsons Disease Rating Scale*, wobei nachfolgend von einer Verbesserung der Hypomimie berichtet wird. Dies entspricht einem UPDRS-Score-Wert-Wechsel von sieben ohne Medikation auf sechs mit Medikation. Von einer subjektiven Besserung des Patienten unter der Einmaleinnahme konnte auch nicht berichtet werden.

Die nachgewiesenen Antikörper gegen CRMP-5 sowie CV-2 im Serum wurden als im Zusammenhang mit einer „vorhanden Schädigung im Bereich der Basalganglien“ stehend gewertet.

In Zusammenhang mit der Verdachtsdiagnose eines Morbus Wilson wurde die Aussage „Gemäß [sic!] dem Ferenci-Score ist die Diagnose eines Morbus Wilson bei dem Patient [sic!] mit einem Punktwert von 5 hoch wahrscheinlich.“ getroffen.

Hierbei wurden „Diagnoseunsicherheiten“ aufgrund des Fehlens eines Kayser-Fleischer-Kornealrings und eines normwertigen Coeruloplasmin bei der initialen Abklärung des Tremors vor zwei Jahren angesprochen. Die Sicherung der Diagnose sollte jedoch durch eine Leberbiopsie mit quantitativer Bestimmung des Kupfergehaltes des Biopsats und durch eine humangenetische Untersuchung auf das Vorhandensein einer H1069Q-Mutation ergänzt werden. Hierzu sollte eine Vorstellung in einem Zentrum für hereditäre Stoffwechselerkrankungen mit einem Fokus auf neurologische Symptomatik erfolgen. Vorgeschlagene Zentren umfassten die Uniklinika Heidelberg, Gießen und Düsseldorf. Insbesondere das Universitätsklinikum Düsseldorf wurde als Zentrum für Bewegungsstörungen und Neuromodulation (zum damaligen Zeitpunkt unter der Leitung von Prof. Dr. Alfons Schnitzler) mit gleichzeitiger Anbindung an die neurologisch geführte Ambulanz für hereditäre Stoffwechselerkrankungen (zum damaligen Zeitpunkt unter der Leitung von Prof. Dr. Harald Hefter) empfohlen.

Nach der in der Morbus Wilson-Ambulanz der Neurologischen Klinik des Universitätsklinikums Düsseldorf gestellten Diagnose eines idiopathischen Parkinsonsyndroms (iPS) und dem Vorliegen einer asymptomatischen heterozygoten Genträgerschaft für Morbus Wilson erfolgte die sukzessive leitliniengerechte Steigerung der Levodopa-Medikation bis zur Symptombefreiheit des Patienten.

In einem etwa drei Jahre nach Diagnosestellung durchgeführten telefonischen *Follow-Up* berichtete der Patient über eine exzellente Einstellung seiner Symptome.

Diese beiden Fälle, die typisch für falsch-positive Einordnungen für Morbus Wilson-Patienten sind, werden in der Diskussion noch einmal aufgegriffen. Es wird behandelt werden, dass trotz der der typischen Befundkonstellation nicht das sehr viel häufigere und passendere idiopathische Parkinson-Syndrom diagnostiziert wurde, sondern der seltene Morbus Wilson mit einer untypischen Befundkonstellation. Hierbei wurde jedoch zumindest eine Überweisung an ein spezialisiertes Zentrum getätigt.

3.3. Ergebnisse der Datenanalyse

Die Gruppe der heterozygoten Konduktoren (hK-Gruppe) umfasste 31 Probanden, von denen 15 Männer und 16 Frauen waren. Hierbei waren die Probanden im Mittel 41,96 Jahre alt, der Median betrug 42,5 Jahre. In der Gruppe der manifest an Morbus Wilson Erkrankten (dnMW-Gruppe) gab es 19 Probanden, von denen acht Männer und elf Frauen waren. Hierbei waren die Probanden zum Zeitpunkt der Erstvorstellung im Mittel 29,1 und im Median 27 Jahre alt. Diese beiden Patientengruppen unterschieden sich weder in Geschlecht, Größe noch Gewicht signifikant. Das Alter beider Gruppen unterschied sich jedoch signifikant voneinander ($p=0,02$). Die Erstvorstellung erfolgte im Mittel etwa 13 Jahre früher in der Gruppe der neudiagnostizierten Morbus Wilson-Patienten im Vergleich zu den heterozygoten Konduktoren. Dies deckt sich mit den Literaturangaben, welche häufig ein Alter von unter 40 Jahren für die Erstdiagnose eines Morbus Wilson angeben.[29, 56] Für die hier vorgestellte Trennung der hK- und dnMW-Gruppe wurde jedoch das Alter nicht herangezogen.

Die Einordnung in die dnMW- und hK-Gruppe erfolgte auf Grund der Klinik und der nicht laborchemischen Zusatzdiagnostik. Morbus Wilson weist ein breites Spektrum an Symptomen auf, welche sich atypisch präsentieren können.[9, 29, 50] Aufgrund dieser in der Literatur beschriebenen und nach der im klinischen Kontext zu beobachtenden Symptomvarianz (siehe Tabelle 3) war es nicht möglich, eine Trennung aufgrund des klinischen Phänotyps vornehmen zu können.[82]

| Subgruppe | n= | dnMW | n= | hK | |
|-----------|----|-------------------------------------|----|---|---------------------------------------|
| | | Hauptsymptom | | Hauptsymptom | Diagnose |
| ASYMPT | 1 | Keine Angabe | 8 | Keine Angabe | Genträger |
| N-TRE | 7 | Extremitäten- und Körperstammtremor | 6 | 3 Patienten: Symmetrischer Kopf- und Handtremor | Essentieller Tremor |
| N-PARK | 5 | | | 3 Patienten: Asymmetrischer Handtremor | iPS |
| N-OTHMD | 3 | Symmetrische Bradykinesie | 2 | Reduziertes Armschwingen | iPS |
| N-OTHMD | 3 | Cerebelläre Ataxie | 4 | Psychogene Bewegungsstörungen | Psychogene Bewegungsstörungen |
| HEP-MIL | 2 | Chorea Dystonie | 4 | | |
| HEP-MIL | 2 | Eingeschränkte Selbstversorgung | 1 | Eingeschränkte Selbstversorgung | Hepatitis |
| HEP-MOD | 1 | Erworbene Intelligenzminderung | 0 | | |
| HEP-SEV | 1 | Akutes Leberversagen | 0 | | |
| N-PAIN | 0 | | 3 | Gelenk- und Muskelschmerzen | Rheumatoide Arthritis, Arthrose, CRPS |
| N-INFL | 0 | | 3 | Parästhesie, Spastik | Autoimmunerkrankung (MS, NMOSD) |
| N-FATIGUE | 0 | | 2 | Starke Müdigkeit | MS, CFS |
| N-DEGEN | 0 | | 1 | Gleichgewichtsstörung | MSA |
| N-PSYCH | 0 | | 1 | Fatigue | Depression |

Tabelle 3: Aufstellung der vermutet heterozygoten Konduktoren gegen die neudiagnostizierten Morbus Wilson-Patienten vor Therapieeinleitung. Die Einteilung erfolgte nach Trennung in vorwiegend neurologisch/psychiatrische (Vorsilbe N-) sowie hepatische (Vorsilbe HEP-) Subgruppen. Die Angabe der Enddiagnose erfolgt in Spalte sechs. Nur in einer Patientengruppe auftretende Symptomgruppen sind grau hinterlegt. dnMW= de novo diagnostizierte Morbus Wilson-Patienten vor Therapieeinleitung, hK = vermutet heterozygote Konduktoren, iPS = idiopathisches Parkinson-Syndrom, CRPS = complex regional pain syndrome, CFS = chronic fatigue syndrome, MS = multiple Sklerose, MSA = Multisystematrophie, NMOSD = Neuromyelitis optica spectrum disorders

3.3.1. Datenanalyse des Vergleichs der hK- und dnMW-Gruppe

Mit Hilfe einer ANOVA wurden 27 laborchemische Parameter zwischen den mutmaßlichen heterozygoten Konduktoren (hK-Gruppe) und den neudiagnostizierten Morbus Wilson-Patienten vor Therapiebeginn (dnMW) verglichen. Es konnten mehr als sieben Parameter identifiziert werden, welche sich zwischen der hK- und der dnMW-Gruppe bei gesetztem Signifikanzniveau von $\alpha=0,05$ signifikant voneinander unterschieden. Die sieben Parameter mit den höchsten signifikanten Unterschieden werden in Tabelle 4 (linker Teil) präsentiert

und nach dem Signifikanzniveau (siehe linke Spalte: p-Wert/Rang) geordnet. Es zeigt sich, dass die Cholinesterase den Unterschied mit der größten Signifikanz zwischen der hK- und dnMW-Gruppe aufweist, gefolgt von Coeruloplasmin und der Thrombozytenzahl. Die Parameter des Kupferstoffwechsels (Kupfer im Serum (Cu(S), 24h-Kupferausscheidung (Cu(24h)) und Kupferkonzentration im 24h-Sammelurin (Cu(mg/l))) unterscheiden sich weniger signifikant (vgl. Tabelle 4, Spalte 3).

| Item | hK- dnMW AUROC | p-Wert Rang | dnMW MW(SA) | p-Wert | hK MW (SA) | p-Wert | p-Wert Rang | dnMWt MW (SA) | hK- dnMWt AUROC |
|----------|----------------------|----------------|----------------|------------------------|---------------|-----------------------|----------------|------------------|-----------------------|
| CHE | 0,97 | 1 | 2999(1801) | 4,58*10 ⁻¹⁴ | 8035(1388) | 8,12*10 ⁻⁸ | 1 | 5048(1634) | 0,93 |
| CP | 0,93 | 2 | 10,1(4,1) | 1,69*10 ⁻⁷ | 20,2(6,4) | 3,98*10 ⁻⁷ | 3 | 9,7(5,1) | 0,91 |
| TZ | 0,89 | 3 | 139(57) | 1,80*10 ⁻⁶ | 249(72) | 1,19*10 ⁻⁵ | 5 | 154(47) | 0,89 |
| Quick | 0,88 | 4 | 68,3(22,1) | 2,36*10 ⁻⁵ | 93,5(15,4) | 2,89*10 ⁻³ | 7 | 79,3(17,0) | 0,86 |
| Cu(S) | 0,82 | 5 | 51,6(27,2) | 1,96*10 ⁻⁴ | 93,0(36,8) | 2,49*10 ⁻⁷ | 2 | 35,1(22,1) | 0,96 |
| Cu(24h) | 0,96 | 6 | 966(1292) | 4,42*10 ⁻⁴ | 31,0(42,5) | 1,19*10 ⁻⁵ | 4 | 160,1(138,1) | 0,88 |
| GPT | 0,88 | 7 | 9(95,1) | 1,17*10 ⁻³ | 24,0(16,1) | 3,38*10 ⁻² | >7 | 47,7(47,1) | 0,65 |
| Cu(mg/l) | 0,95 | >7 | 519(753) | 1,47*10 ⁻³ | 24,5(44,8) | 6,76*10 ⁻⁴ | 6 | 113,3(121,2) | 0,86 |

Tabelle 4: Auswertung der Signifikanz und Güte der Trennung anhand von acht Parametern der drei untersuchten Gruppen (hK, dnMW, dnMWt). In der ersten Spalte die Auflistung der Parameter, in der zweiten die Auswertung der AUROC der in der vierten sowie sechsten Spalte beschriebenen Mittelwerte sowie Standardabweichungen. In der dritten Spalte erfolgte das interne Ranking nach Orientierung der in der fünften Zeile dargestellten p-Werte. Als Vergleich dient die Auswertung der simultan versuchten Trennung mit Angabe von p-Wert sowie Güte der Trennung anhand AUROC in den Spalten sieben respektive zehn. Die Verschiebung des Rankings nach p-Wert unterstreicht die Wichtigkeit insbesondere der Cholinesterase. AUROC = Area under the receiver operating characteristics curve, MW = Mittelwert, SA = Standardabweichung, CHE = Cholinesterase, CP = Coeruloplasmin, TZ = Thrombozyten, Cu(S) = Kupfer im Serum, GPT = Glutamat-Pyruvat-Transaminase, hK = vermutet heterozygote Konduktoren, dnMW = de novo diagnostizierte Morbus Wilson-Patienten vor Therapieeinleitung, dnMWt = de novo diagnostizierte Morbus Wilson-Patienten nach Therapieeinleitung

Um die Verteilung der Parameter in der hK- und der nMW-Gruppe zu verdeutlichen, wurden für die Cholinesterase im Serum, für das Coeruloplasmin im Serum sowie für die Kupferausscheidung im 24h-Urin Boxplots in den Abb. 3-5 dargestellt.

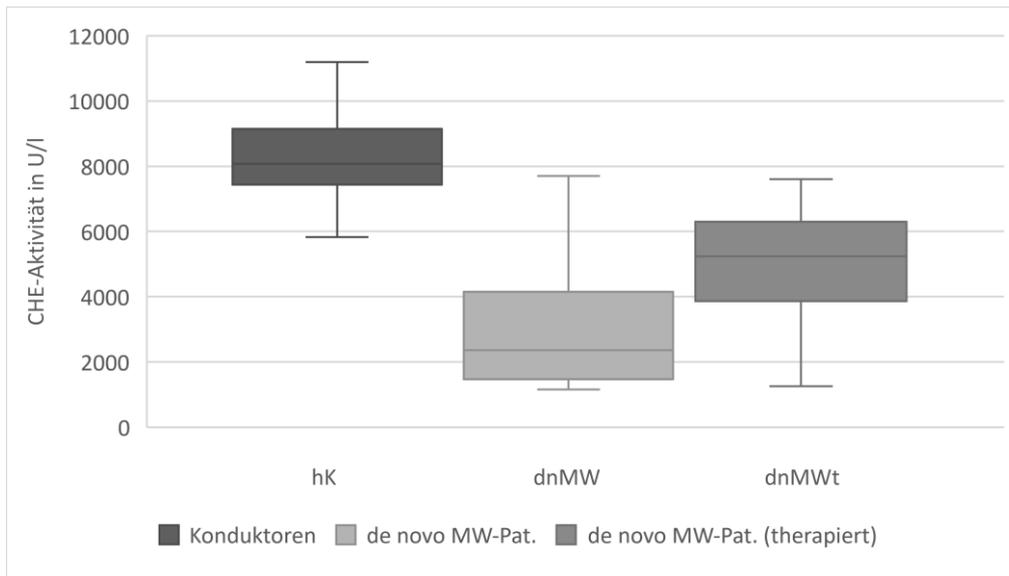


Abb. 3: Darstellung der Aktivität der Cholinesterase im Mittel sowie innerhalb des 95%-Konfidenzintervalls für die drei untersuchten Datengruppen (hK, dnMW, dnMWt). CHE = Cholinesterase

Die Cholinesterase liegt bei allen hK-Patienten über 5000 U/l und damit im Normbereich. Bei den meisten neudiagnostizierten Morbus Wilson-Patienten vor Therapiebeginn (dnMW-Gruppe) liegt die Cholinesterase unter 4000 U/l. Dennoch trennt die Cholinesterase die hK- und dnMW-Gruppe nicht vollständig, da es Ausnahmepatienten in der dnMW-Gruppe mit einer normalen Cholinesterase gibt. Darauf wird im weiteren Textverlauf erneut eingegangen.

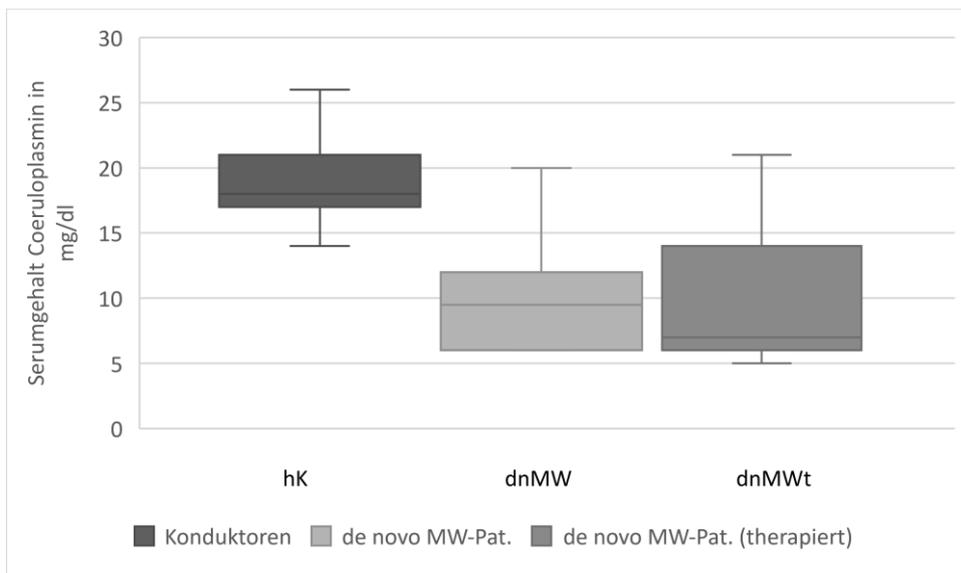


Abb. 4: Darstellung des Serumgehalts von Coeruloplasmin im Mittel sowie innerhalb des 95%-Konfidenzintervalls für die drei untersuchten Datengruppen (hK, dnMW, dnMWt)

Der mittlere Serumspiegel des Coeruloplasmins der dnMW-Gruppe liegt deutlich unter dem unteren normalen Limit von 20mg/dl. Nur bei drei Ausnahmepatienten liegt der

Coeruloplasminspiegel zwischen 15 und 20mg/dl. Da aber auch bei den hK-Patienten der mittlere Coeruloplasminwert (knapp) unterhalb des *lower limit of normal* (LLN) von 20mg/dl liegt, trennt Coeruloplasmin die hK- und dnMW-Gruppe nicht ganz so gut wie die Cholinesterase.

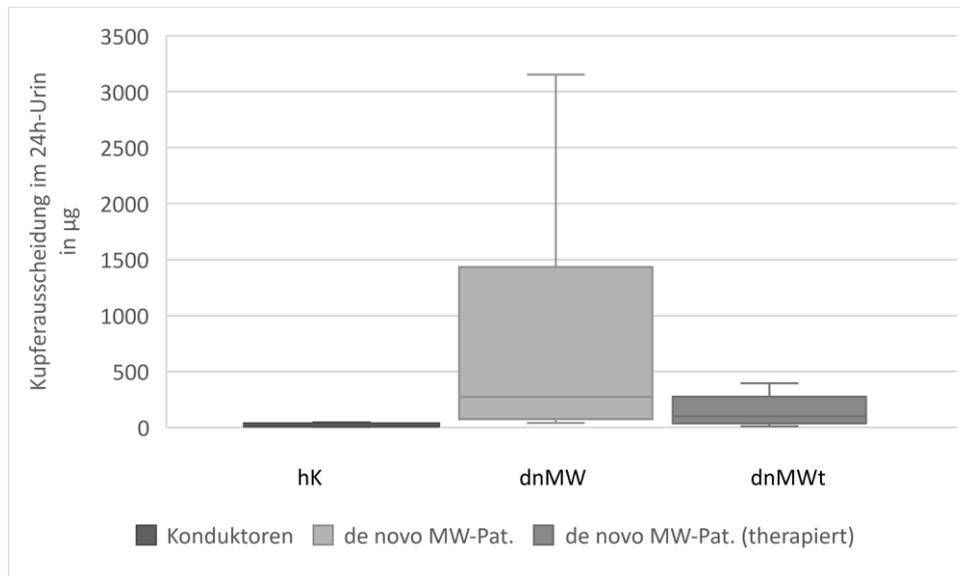


Abb. 5: Darstellung der Kupferausscheidung im 24h-Urin im Mittel sowie innerhalb des 95%-Konfidenzintervalls für die drei untersuchten Datengruppen (hK, dnMW, dnMWt)

Die Kupferausscheidung im 24h-Urin der Konduktoren ist normwertig (Abb. 5). Dagegen ist die Kupferausscheidung der manifest Erkrankten deutlich erhöht. Aufgrund der ausgeprägten Variabilität ist der Unterschied der 24h-Kupferausscheidung zwischen den hK- und dnMW-Gruppen deutlich weniger signifikant als der Unterschied der Cholinesterase oder des Coeruloplasmins (vgl. Tabelle 4).

In einem nächsten Schritt wurden für 11 Parameter *Receiver Operating Characteristic*-Kurven (ROC-Kurven) untersucht. Dafür wurden die Gruppen dnMW und hK zusammengefasst, die Sensitivität (y-Achse) gegen 1-Spezifität (x-Achse) aufgetragen und die Fläche unter der Kurve (AUROC) für jeden Parameter bestimmt. Je näher der AUROC-Wert eines Parameters an 1 liegt, desto eher sagt dieser Parameter das Vorliegen einer definitiven Morbus Wilson-Erkrankung voraus. In Abbildung 6 werden für sieben Parameter und in Abbildung 7 für weitere vier Parameter die ROC-Kurven präsentiert. Die Kurven für die Cholinesterase und das Coeruloplasmin verlaufen ganz nahe an der Außenkante des Graphen, was zu einem AUROC-Wert nahe 1 führt. Die AUROC-Werte von 8 Parametern sind in Spalte 2 von Tabelle 4 angegeben. Wie bei den Signifikanzniveaus wird für die

Cholinesterase der beste Wert (0,97) beobachtet. Den zweitbesten AUROC-Wert (0,96) weist die 24h-Kupferausscheidung auf gefolgt von der Kupferkonzentration im 24h-Urin (0,95) und dem Coeruloplasmin mit einem Wert von 0,93. Alle anderen AUROC-Werte liegen unter 0,9 (Tabelle 4). Die Bestimmtheitsmaße *Cox & Snell* R^2 und *Nagelkerkes* R^2 betragen 0,73 respektive 1,00. Der durchgeführte Hosmer-Lemeshow-Test zeigte wiederum eine hohe Güte der Anpassung des Modells an die Daten.[82]

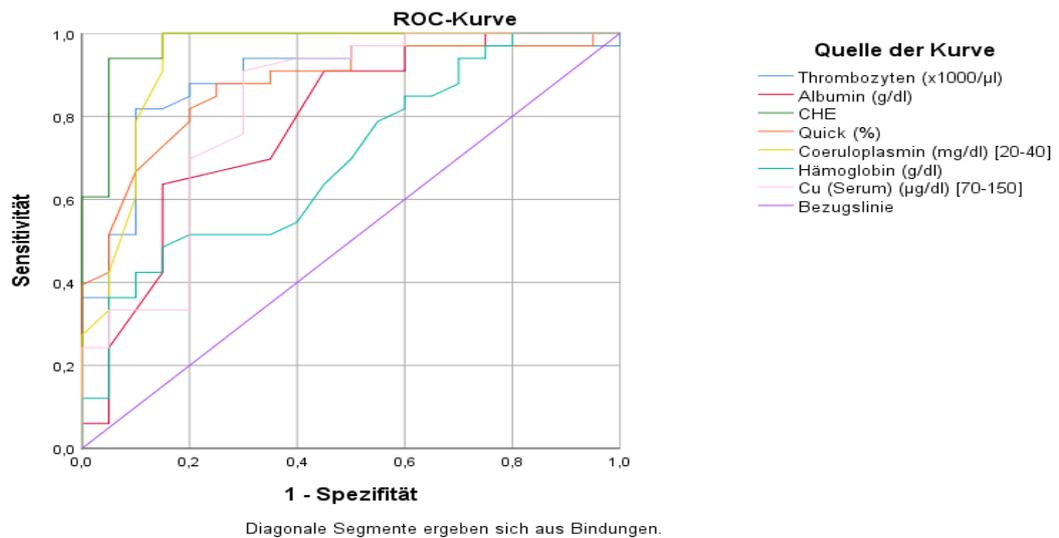


Abbildung 6: Gütedarstellung der signifikanten Parameter mittels Receiver Operating Characteristic-Kurve innerhalb der Trennung der neudiagnostizierten Morbus Wilson-Patienten vor Therapiebeginn gegen die heterozygoten Konkurrenten

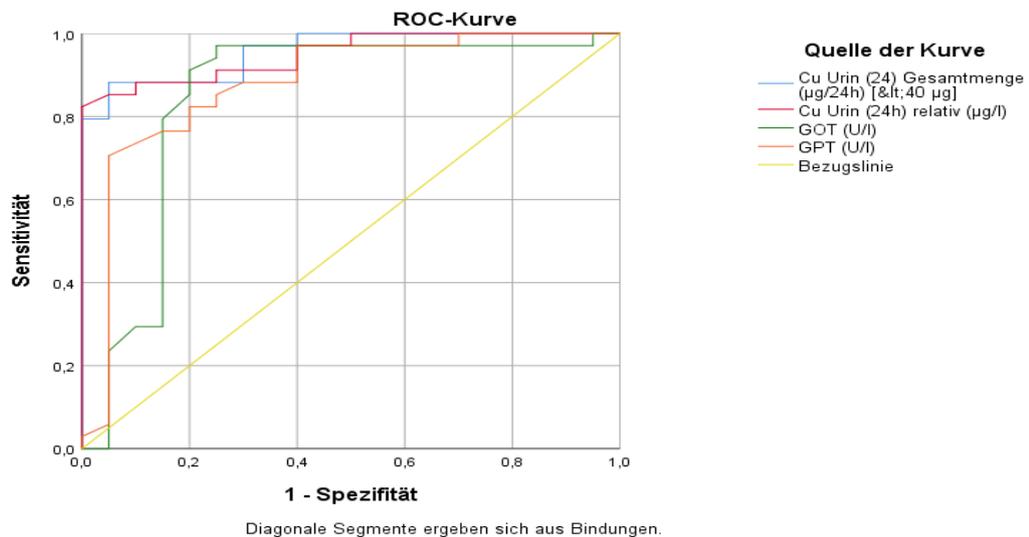


Abbildung 7: Gütedarstellung der signifikanten Parameter nach Inversierung mittels Receiver Operating Characteristic-Kurve innerhalb der Trennung der neudiagnostizierten Morbus Wilson-Patienten vor Therapiebeginn gegen die heterozygoten Konkurrenten

In einem nächsten Schritt wurde mit Hilfe einer schrittweisen, logistischen Regressionsanalyse (*stepwise regression*, SR) getestet, welcher Parameter am besten die korrekte Einteilung in die Gruppen hK und dnMW erlaubt. Coeruloplasmin sowie Cholinesterase erlauben hier Klassifikationsergebnisse von knapp über respektive knapp unter 90%. Durch eine Kombination der Parameter Coeruloplasmin und Cholinesterase lässt sich eine korrekte Klassifizierung aller Patienten in 100% der Fälle erreichen.[82] Die grafische Aufarbeitung hiervon erfolgt in Abb. 8.

Mittels der Geradengleichung $f(CHE) = -\frac{38}{9300} * CHE + 38$ lassen sich die manifest erkrankten Morbus Wilson-Patienten auch graphisch dargestellt komplett von den heterozygoten Konduktoren trennen.

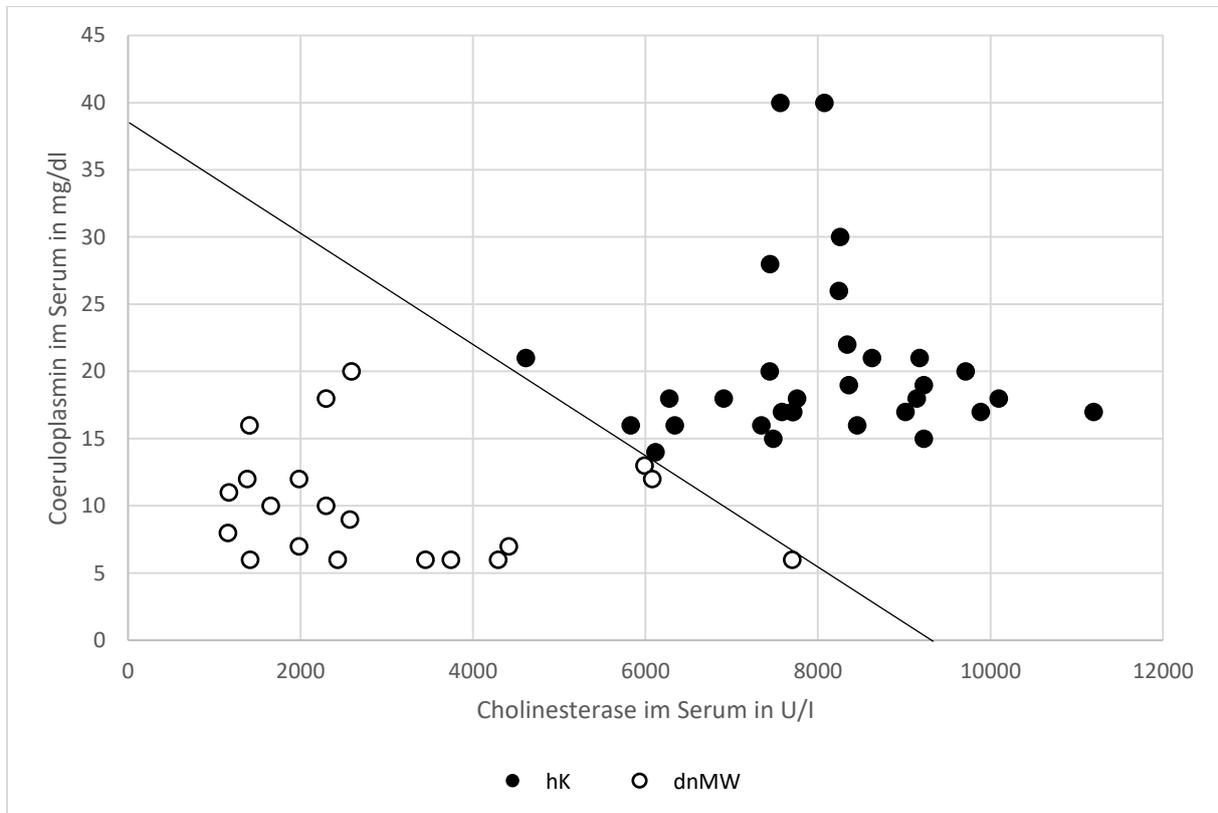


Abbildung 8: Trennung der Morbus Wilson-Patienten vor Therapieeinleitung (dnMW) sowie der vermutet heterozygoten Konduktoren (hK) mittels Paarung von Cholinesterase im Serum (x-Achse) sowie Coeruloplasmin im Serum (y-Achse) nebst Ausgleichsgerade mit der Funktionsgleichung $f(CHE) = -\frac{38}{9300} * CHE + 38$

Diese Trennbarkeit lässt sich nicht mehr weiter steigern, die Signifikanz der Trennung nimmt jedoch noch weiter zu, wenn das 2-Item-Modell (aus Cholinesterase und Coeruloplasmin) auf ein 3-Item-Modell inklusive des Kupfergehalts im 24h-Urin erweitert wird.

3.3.2. Datenanalyse des Vergleichs der hK- und dnMWt-Gruppe

Nachfolgend wurden die Daten der hK-Gruppe mit den Daten der manifest erkrankten Morbus Wilson-Patienten nach Therapie verglichen. Zur besseren Unterscheidung der Morbus Wilson-Patienten vor und nach Einleitung der Therapie wurden die Datensätze als dnMWt-Daten oder dnMWt-Gruppe bezeichnet. Die Datenanalyse erfolgt wie äquivalent wie in der Analyse der hK- und dnMW-Gruppe: einfaktorielle Analyse für die Unterschiede hk versus dnMWT, entsprechende Boxplots, AUROC-Kurven und schließlich eine weitere

schrittweise, logistische Regressionsanalyse (SR). Die Ergebnisse werden nicht mehr so ausführlich wie im Vergleich der hK- und dnMW-Gruppe präsentiert.

Nach der einfaktoriellen ANOVA, die die hK- mit den dnMWt-Daten vergleicht, ist es wieder die Cholinesterase, die den deutlichsten Unterschied zeigt (Ranking der Parameter in Spalte 8 von Tabelle 4). Da die Cholinesterase unter der Therapie steigt, trennt sie nicht mehr so gut wie vor der Therapie. Die durch die Chelatbildnertherapie einsetzende Entkupferung sorgt für die Steigerung des Signifikanzniveaus des Kupfers im Serum (vgl. Tabelle 4). Das Kupfer im Serum verdrängt daher das Coeruloplasmin im Ranking.

Die Boxplotdarstellung in Abb. 3 verdeutlicht eindrucksvoll, wie die Cholinesterase nach der Therapie ansteigt. Der Mittelwert des Coeruloplasmins unter der Therapie (Abb. 4; vergl. dnMW- mit dnMWt-Daten) steigt leicht an, die Variabilität nimmt zu, was die Reduktion der Signifikanz in der ANOVA erklärt. Unter der Therapie sinkt längerfristig die 24h-Kupferausscheidung (vgl. Abb. 5, dnMW- mit dnMWt-Daten). Vor allem aber wird die Variabilität in der Gruppe reduziert, was zu einer Verbesserung der Signifikanz führt.

Die Analyse der ROC-Kurven (in Abb. 9 sind für 9 Parameter die ROC-Kurven dargestellt) spiegeln ebenfalls den Einfluss der Therapie auf einzelne Parameter wider. Sieht man einmal von dem AUROC-Wert des Kupfers im Serum ab, nehmen für die anderen in Tabelle 4 dargestellten Parameter die AUROC-Werte ab (vgl. Spalte 2 und 10 in Tabelle 4). Das bedeutet, dass Spezifität und/oder Sensitivität der Parameter unter der Therapie eher ab- als zunehmen.

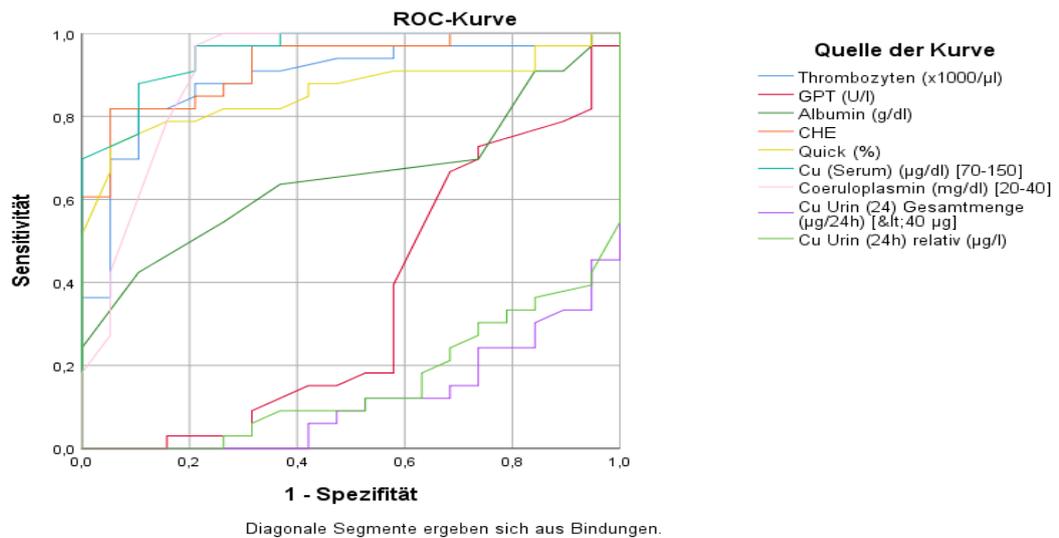


Abbildung 9: Gütedarstellung der signifikanten Parameter nach Inversierung mittels Receiver Operating Characteristic-Kurve innerhalb der Trennung der neudiagnostizierten Morbus Wilson-Patienten nach suffizienter Therapie gegen die heterozygoten Konduktoren

Die SR zeigt, dass für die hk- und dnMWt-Daten keine Parameterkombination mehr gefunden werden kann, die eine vollständige Trennbarkeit ermöglicht. Die beste Klassifikation von in 92% der Fälle korrekten Einteilungen wird durch die Kombination von Cholinesterase, Coeruloplasmin und 24h-Kupferauscheidung erreicht. Durch die Therapie wird also die Trennbarkeit der manifest Erkrankten von den heterozygoten Konduktoren eher verschlechtert als verbessert.

3.4. Fallbericht 3: Kombination von Morbus Wilson und Cholinesterasemangel

Im folgenden Teil der Ergebnisse wird eine Familie vorgestellt, in welcher ein Morbus Wilson sowie ein hereditärer Cholinesterasemangel vererbt wird. Die beschriebenen Patienten sind drei leibliche Kinder nicht-konsanguiner Eltern italienischer Herkunft. Die Erhebung der Daten erfolgte innerhalb der Regelversorgung der Morbus Wilson-Ambulanz sowie in einem telefonischen *Follow-Up*. [83]

Während der Explantation eines Paukenröhrchens in Vollnarkose kam es bei einem acht Jahre alten Jungen (Pat. 1) zu einer klinisch signifikanten Verlängerung der Muskelrelaxation. Der klinische Verdacht auf einen hereditären Cholinesterasemangel wurde geäußert und durch die Testung der Dibucain-Zahl bestätigt. Gleichzeitig waren im präoperativen Screening erhöhte Leberwerte aufgefallen. Innerhalb einer diagnostischen Abklärung wurde bei dem Jungen gendiagnostisch ein Morbus Wilson mit einer H1069Q-Doppelmutation

festgestellt. Der zwei Jahre ältere Bruder (Pat. 2) wies in einem durchgeführten Familienscreening die gleiche Mutation und damit eine Erkrankung an Morbus Wilson auf, während die drei Jahre jüngere Schwester (Pat. 3) keine Mutation auf dem ATP7B-Genlokus aufwies. Bei ihr konnte jedoch auch ein hereditärer Cholinesterasemangel festgestellt werden. Die beiden männlichen Patienten wurden zunächst pädiatrisch betreut und beim Erreichen der Volljährigkeit in der Morbus Wilson-Ambulanz der Neurologischen Klinik des Universitätsklinikums Düsseldorf vorgestellt. Hierbei zeigten sich beide Patienten asymptomatisch. Angesichts des deutlich höheren Körpergewichtes von Pat. 2 wurde die D-Penicillamin-Dosis bei Pat. 1 leicht und bei Patient 2 deutlich erhöht. Das führte initial zu einer deutlichen Zunahme der Kupferausscheidung und dann zu einer deutlichen Abnahme und Normalisierung im Sinne einer therapeutischen Entkupferung.[83]

Auffällig ist innerhalb des therapeutischen Monitorings die nicht erfolgte Erholung der Cholinesterase von Pat. 1. Es erfolgte kein Einschluss der Patienten in die retrospektive Datenanalyse, da beide zum Zeitpunkt der Diagnose ein Alter von weniger als 18 Jahren aufwiesen. Bei Pat. 1 wurde versucht, durch die Umstellung von D-Penicillamin auf Triethyltetramin den niedrigen Cholinesterase-Spiegel günstig zu beeinflussen, was aber zu keinerlei Veränderungen des Cholinesterase-Spiegels führte (vgl. Abb. 10-14).[83]

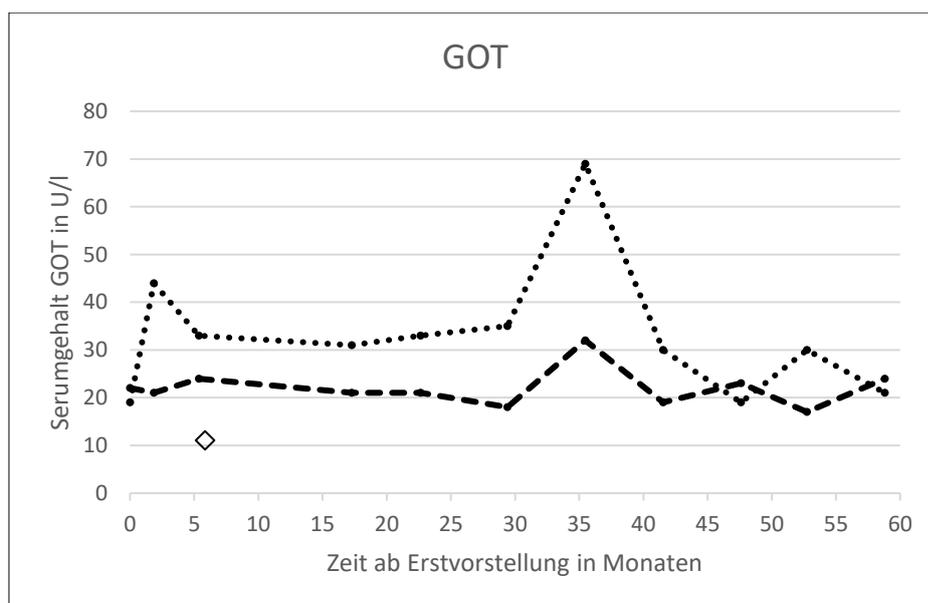


Abb. 10: Darstellung der GOT der drei berichteten Patienten. Die ungefüllte Raute beschreibt eine Einzeluntersuchung von Pat. 3, die gestrichelten und gepunkteten Linien den Trend von Pat. 1 sowie Pat. 2. GOT = Glutamat-Oxalacetat-Transaminase

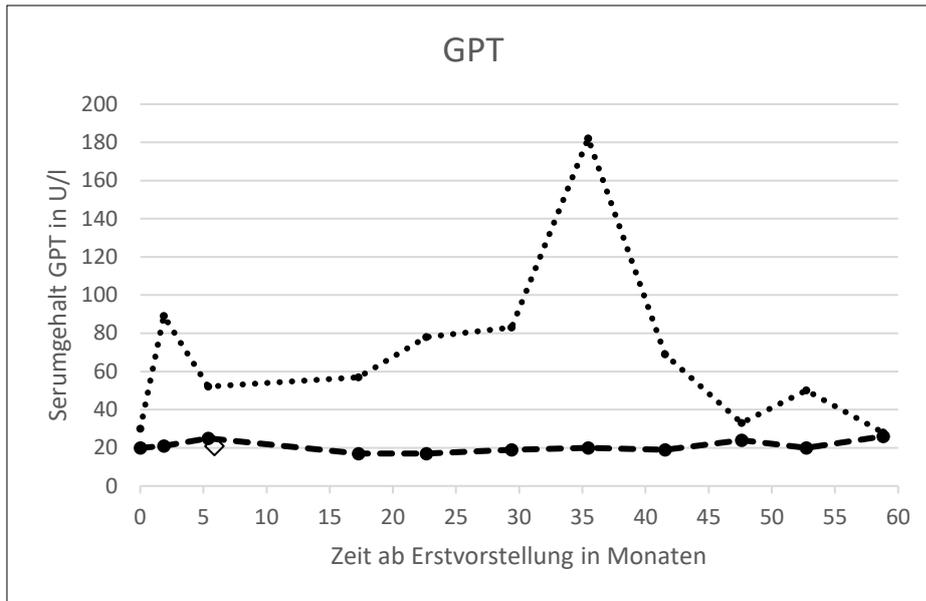


Abb. 11: Darstellung der GPT der drei berichteten Patienten. Die ungefüllte Raute beschreibt eine Einzeluntersuchung von Pat. 3, die gestrichelten und gepunkteten Linien den Trend von Pat. 1 sowie Pat. 2. GPT = Glutamat-Pyruvat-Transaminase

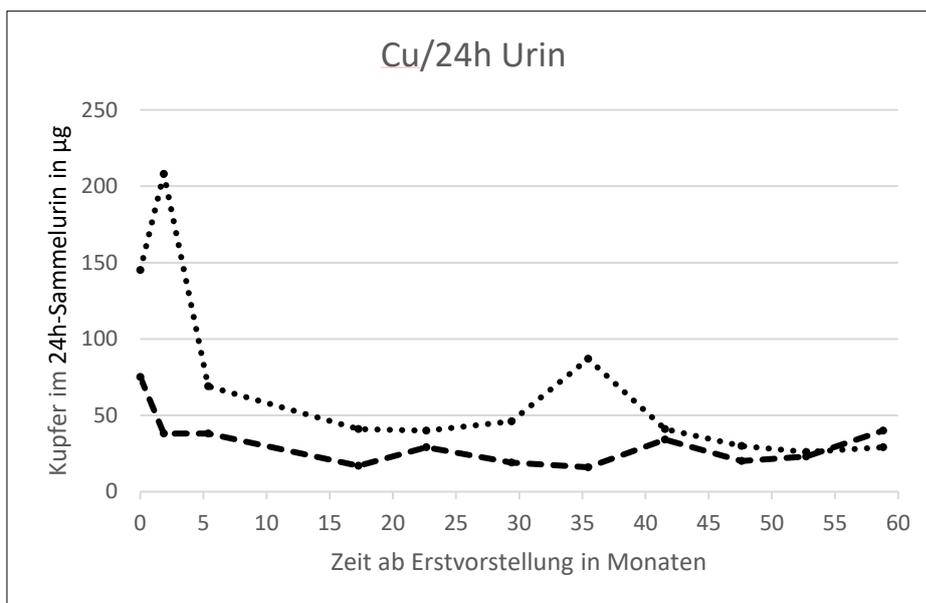


Abb. 12: Darstellung des Kupfers im 24h-Urin von zwei der drei berichteten Patienten. Die gestrichelten und gepunkteten Linien zeigen den Trend von Pat. 1 sowie Pat. 2. und zeigen eine gute Entkupferung innerhalb der observierten Therapie. Für Pat. 3 lag kein 24h-Urin vor.

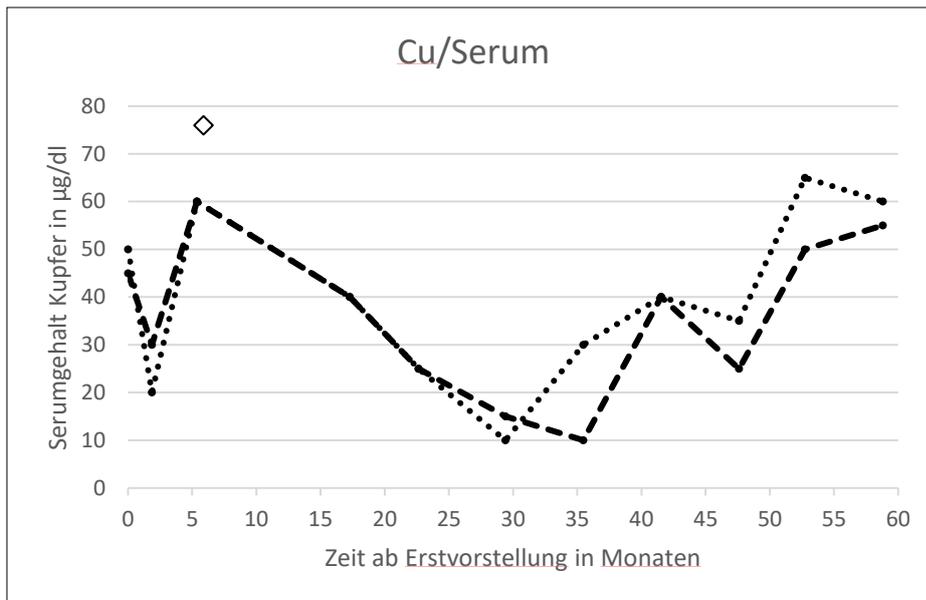


Abb. 13: Darstellung des Serumgehalts an Kupfer der drei berichteten Patienten. Die ungefüllte Raute beschreibt eine Einzeluntersuchung von Pat. 3, die gestrichelten und gepunkteten Linien den Trend von Pat. 1 sowie Pat. 2.

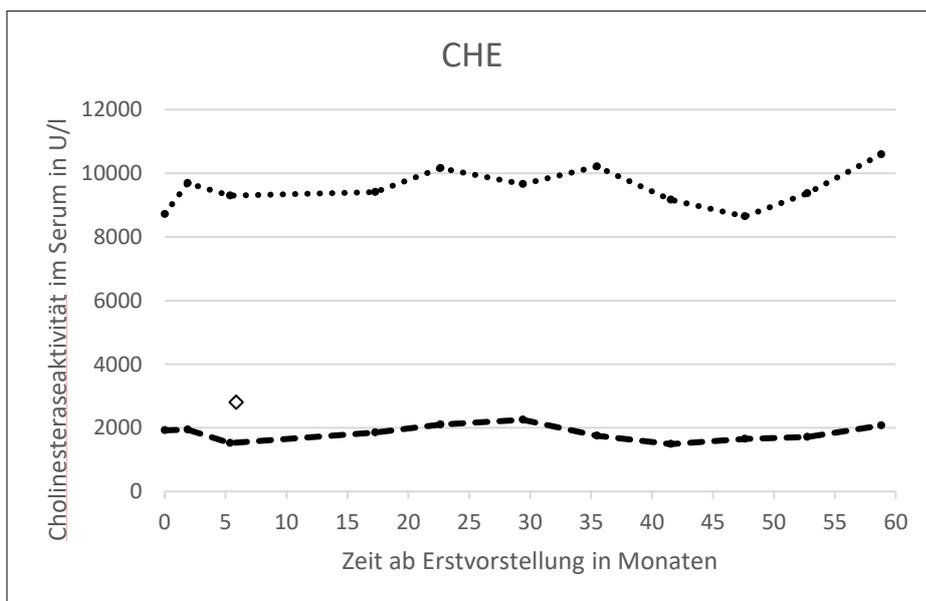


Abb. 14: Darstellung der Cholinesterase im Serum der drei berichteten Patienten. Die ungefüllte Raute beschreibt eine Einzeluntersuchung von Pat. 3, die gestrichelten und gepunkteten Linien den Trend von Pat. 1 sowie Pat. 2. Sowohl Pat. 1 wie auch Pat. 3 erreichten trotz adäquater Therapieadhärenz bzw. keiner Erkrankung an Morbus Wilson keine Erholung der Cholinesterase aufgrund des hereditären Cholinesterasemangels

4. Diskussion

Das 2-Item-Modell (mit Cholinesterase und Coeruloplasmin) zur Trennung der mutmaßlichen heterozygoten Konduktoren sowie der neudiagnostizierten Morbus Wilson-Patienten umfasst zwei wichtige laborchemische Parameter, die für den Morbus Wilson zum typischen klinischen Erscheinungsbild gehören und wahrscheinlich die wesentlichen

pathophysiologischen Mechanismen reflektieren (vgl. 1.2. Ätiopathogenese des Morbus Wilson).

Coeruloplasmin ist als direkt von ATP7B abhängiges Protein bei einer Erkrankung an Morbus Wilson im Sinne einer homozygoten Mutation in der Literaturbeschreibung sowohl qualitativ als auch quantitativ vermindert ausgeprägt.[7, 43, 84, 85] Es kann damit in der bisher etablierten Ätiopathogenese als direkter Surrogatparameter der Mutationsfunktion und damit des Mutationsstatus aufgefasst werden. Der Coeruloplasminspiegel im Serum zeigt eine partielle Fehlfunktion von ATP7B an und ist im Vergleich zur q^2 -Population erniedrigt und im Vergleich zur p^2 -Population (vgl. Hardy-Weinberg-Gleichgewicht) erhöht. Es wurde sich in der vorliegenden Arbeit nur auf die Trennbarkeit der vermuteten Konduktoren von den homozygot mutierten Morbus Wilson-Patienten vor medikamentöse Behandlung konzentriert.

Coeruloplasmin ist ein exzellenter Biomarker für Morbus Wilson, während es jedoch auch Morbus Wilson-Patienten mit normwertigem Coeruloplasminspiegel im Serum gibt.[81, 84] Im beschriebenen dnMW-Kollektiv ist dies bei einem Patienten der Fall, wenn man als LLN 20mg/dl. Ansetzt. Es ist also nicht zu erwarten, dass eine komplette Trennung der hK- und dnMW-Gruppe allein auf Grund einer Coeruloplasmin-Bestimmung möglich ist. Innerhalb der ANOVA wurde CP auf Platz 2, bei der AUROC-Bestimmung sogar noch hinter den Parametern des Kupferstoffwechsels eingestellt. Unter der Chelatbildner-Therapie stieg der der Coeruloplasminspiegel leicht an, gleichzeitig ist jedoch auch eine verbreiterte Streuung festzustellen, so dass die Signifikanz des Unterschieds zwischen den hK- und den dnMWt-Daten leicht abnahm.

Ein Vorteil der Beurteilung des Coeruloplasmin gegenüber beispielsweise der genetischen Testung liegt damit in einer dynamischen funktional-orientierten Messung, die zwar einer Streubreite (vgl. Abb. 8), hierbei jedoch nicht einer falsch-positiven Diagnostik bei etwa einer Doppelmutation eines Allels unterliegt.[68]

Der Kupfergehalt im 24h-Sammelurin ist dem Coeruloplasmin innerhalb des Stoffwechselweges des elementaren Kupfers im menschlichen Körper nachgeschaltet. Die quantitative Gesamtausscheidung dient nach der beschriebenen Ätiopathogenese als dynamischer indirekter Funktionsparameter der gestörten biliären Kupferausscheidung (vgl. 1.2. Ätiopathogenese des Morbus Wilson). Die hohe Güte der Trennbarkeit anhand des

Kupfergehalts im 24h-Sammelurin innerhalb des erweiterten 3-Item-Modells weist nun darauf hin, dass hierüber eine annähernde Beschreibung der Kupferstoffwechsellage der Patienten erreicht werden kann. In der dnMW-Gruppe ist der Kupfergehalt im 24h-Urin sehr hoch und variabel (vgl. Abb. 5 und Tabelle 4). Er führt zwar zu einem signifikanten Unterschied zwischen der hK- und der dnMW-Gruppe, für die Trennbarkeit ist er wegen der hohen Variabilität jedoch kein geeigneter Faktor, da er von der Dauer der Erkrankung und der oralen Kupferaufnahme abhängt. Unter der spezifischen Therapie der dnMW-Patienten sinkt nach einer initialen Erhöhung der Mittelwert und die Variabilität, so dass der Unterschied zu den hK-Patienten zunimmt.

Die Cholinesterase im Serum ist ein indirekter Parameter für die Leberfunktion und damit semiquantitativ invers mit einer Leberfunktionsstörung vergesellschaftet. Cholinesterasen katalysieren als hydrolysierende Enzymfamilie den Umbau von Acetylcholin in Cholin und Acetylsäure. Hierbei werden innerhalb des menschlichen Organismus die Acetylcholinesterase sowie die Pseudocholinesterase unterschieden. Letztere wird vornehmlich in Hepatozyten synthetisiert und ins Blut abgegeben, eine spezifische Funktion der Pseudocholinesterase ist jedoch bisher nicht bekannt. Sie wird jedoch bei unterschiedlichen hepatologischer Erkrankungsbilder sowie zur Überwachung umwelttoxikologischer Noxen als preiswerter und ausreichend sensibler Parameter genutzt.[86-89]

Bei der Cholinesterase wurde die höchste Signifikanz für den Unterschied zwischen der hK- und der dnMW-Gruppe und der höchste AUROC-Wert gefunden. (vgl. Abb. 6 und Tabelle 2). Anhand der nachvollziehbaren Pathogenese der Erkrankung ist ein heterozygoter Konduktorenstatus jedoch nicht mit einer Verringerung der Cholinesterase im Serum verbunden (vgl. 4.2. Krankheitswert einer heterozygoten Genträgerschaft). Innerhalb der untersuchten Population der vermeintlich heterozygoten Konduktoren betrug die Cholinesterase im Mittel 8035 U/l und ist damit völlig normwertig. In keinem Fall kam es zur Feststellung eines unterhalb der vom eigenen Labor festgelegten Grenzwerte. Im Vergleich dazu hatten die neudiagnostizierten Patienten regelhaft einen erniedrigten Spiegel an Cholinesterase im Serum, der sich jedoch nach Therapieeinstellung mittels eines Chelatbildners erholte. Dennoch konnte das hK- und dnMW-Kollektiv nicht allein durch die Cholinesterase zu 100% getrennt werden.

Nach Beginn der Chelatbildnertherapie wies die Cholinesterase weiter die höchste Signifikanz für die Unterscheidung zwischen der hK- und der dnMW-Gruppe auf (vgl. Tabelle 2, Spalte 8). Der AUROC-Wert war nach Therapie jedoch für das Kupfer im Serum höher als für die Cholinesterase (vgl. Tabelle 2, Spalten 2 und 10). Die Cholinesterase erholte sich in allen Fällen deutlich unter Therapie. Dies ist eine Erklärung dafür, weshalb die Cholinesterase nur vor einer Therapieeinstellung zur Unterscheidung einer gegebenenfalls bestehenden heterozygoten Genträgerschaft von einem homozygoten Status genutzt werden kann. Hierbei nimmt nach Einleitung einer Kupfereliminationstherapie die Trennschärfe der Cholinesterase deutlich ab.

Innerhalb des diagnostischen Monitorings wird die Cholinesterase als Marker für die stattgehabte Leberschädigung genutzt. Aus dem aktuellen Verständnis der Ätiopathogenese der Morbus Wilson-Erkrankung ergibt sich, dass auch bei vorwiegend neurologischen Symptomen eine latente Leberstörung vorliegt. Deshalb ist mit einer deutlichen Erniedrigung der Cholinesterase bei unbehandelten, neu diagnostizierten Patienten wie der dnMW-Gruppe zu rechnen (vgl. Tabelle 2). Dies liegt auf der Linie der allgemeinen Nutzung der Cholinesterase zur Bestimmung von Leberzirrhosen jedweder Genese. Des Weiteren kann die Cholinesterase auch zum Monitoring einer Herzinsuffizienz mit begleitendem venösem Rückstau sowie *Cirrhose cardiaque* genutzt werden.[90, 91]

Zusammenfassend spiegeln die drei bestimmten Parameter (Coeruloplasmin, 24h-Kupferausscheidung, Cholinesterase) die für eine klinische Diagnostik entscheidenden Aspekte wider: Die Mutationsfunktion, die gestörte Kupferstoffwechselfunktion und die bisherige Zellschädigung insbesondere der Leber. Zu diesen drei Aspekten können die beschriebenen Parameter als Surrogatparameter wahrgenommen werden. Damit wird zusätzlich zur schwerlich objektivierbaren Symptomlast eine reliable Momentaufnahme des Erkrankungsstatus bestimmt.

Blutbildveränderungen wie die Reduktion der Thrombozytenzahl (vgl. Tabelle 2) sind als Symptom eines Morbus Wilson beschrieben worden, erreichen jedoch sowohl in Sensitivität als auch Spezifität nicht Cholinesterase, Coeruloplasmin und Kupfer im 24h-Urin. Innerhalb der Literaturrecherche konnte keine vorbeschriebene Veränderung beziehungsweise Korrelation der Thrombozytenanzahl bei heterozygoten ATP7B-Konduktoren oder Morbus Wilson-erkrankten Patienten abgesehen von der hepatischen Krise ermittelt werden.[10, 29,

51] Ein vorliegendes HELLP-Syndrom als Differentialdiagnose ist innerhalb der Literatur nur einmalig beschrieben worden und als Kausalzusammenhang für eine verringerte Thrombozytenanzahl nur in wenigen Einzelfällen denkbar.[92] Demzufolge kann die Thrombozytenanzahl nicht als suffizient trennender Parameter herangezogen werden.

Beschränkungen in der Anwendung des 2- bzw. 3-Item-Modells ergeben sich unter speziellen Umständen und bei speziellen Patienten: So wird Coeruloplasmin bei schwangeren Patientinnen vermehrt exprimiert, was dazu führen könnte, dass bei einer an Morbus Wilson erkrankten schwangeren Frau ein etwaiger Coeruloplasminmangel durch eine schwangerschaftsbedingte Erhöhung des Coeruloplasmin-Spiegels im Vergleich zur Subpopulation der an Morbus Wilson erkrankten Patienten maskiert würde.[93] Innerhalb der Datenerhebung wurde keine Frau während einer Schwangerschaft untersucht. Die Rekrutierung einer Subpopulation aus schwangeren Patientinnen, welche vor ihrer Schwangerschaft einen heterozygoten Konduktorenstatus zugewiesen bekommen haben und die zur besseren Erfassung der vermeintlich steigenden Coeruloplasmin-Konzentration im Serum engmaschig klinisch überwacht werden können, erscheint aufgrund der niedrigen Fallzahlen nicht realisierbar. Insbesondere das mittlere sowie mediane Alter (41,96 respektive 42,5 Jahre) der Subpopulation der heterozygoten Konduktoren würde bei angenommener paralleler Normalverteilung die Rekrutierung erschweren. Da Coeruloplasmin auch als Akute-Phase-Protein agiert und diese bei beispielsweise Autoimmunerkrankungen sowohl vermehrt als auch verringert sein können, ist eine unreflektierte Anwendung der Coeruloplasmin-Konzentration innerhalb des 3-Item-Modells nicht angebracht.

Auch für die Cholinesterase gibt es einen wesentlichen einschränkenden Aspekt: Bei Vorhandensein einer normwertigen Cholinesterase ist der diagnostische Wert erhalten, es muss jedoch zwingend an einen Cholinesterase-Mangel gedacht werden, falls die Cholinesterase erniedrigt ist. Dies konnte an einer Familie demonstriert werden, in der sowohl ein hereditärer Cholinesterasemangel als auch ein Morbus Wilson vererbt wurde. Diese Beobachtung hat die klinische Relevanz, dass alle Morbus Wilson-Patienten, bei denen sich die Cholinesterase trotz suffizienter Therapie nicht erholt, auf einen Cholinesterasemangel untersucht werden sollten. Es ist mit ca. 60-120 Patienten mit dieser Erkrankungskombination in Deutschland zu rechnen. Hierbei wird von geschätzten 3000

Morbus Wilson-Patienten bei einer Prävalenz der atypischen Cholinesterase beziehungsweise eines Cholinesterasemangels von 1:25 bis 1:50 und einer unabhängigen Vererbung ausgegangen. Das Vollbild eines absoluten Cholinesterasemangels hat weit niedrigere Prävalenzen von 1:100.000.[40, 43, 86, 94]

Pädiatrische Patientenkollektive erscheinen aufgrund der niedrigeren kumulativen Kupferexposition sowohl für Diagnostik als auch für Intervention im Sinne einer Sekundärprophylaxe besonders geeignet. Nicht alle Veränderungen des Kupferstoffwechsels und der Surrogatparameter einer etwaigen Schädigung von Leber oder zentralem Nervensystem können jedoch bei jungen und damit eher als symptomfrei geltenden Patienten beobachtet werden. Die Erniedrigung der Cholinesterase kann zwar als Mittel zur Überwachung der Therapieadhärenz herangezogen werden, sie unterliegt jedoch auch einer Erholung bei regelmäßiger Chelatbildner-Einnahme, sodass sie nur als Surrogatparameter für eine Leberschädigung verwendet werden kann. Eine *Restitutio ad integrum* ist hiermit rein laborchemisch möglich, sodass eine frühzeitige Diagnostik bei noch nicht explizit vorhandener Schädigung erschwert sein kann. Dies konnte explizit durch das Fehlen einer vollständigen Trennung von heterozygoten Konduktoren und an Morbus Wilson erkrankten Patienten nach Therapieeinleitung gezeigt werden.

Die innerhalb der klinischen Analyse erhobenen Daten können auch nicht vorbehaltlos auf jede Gruppe von Morbus Wilson-Patienten angewendet werden: Zum einen unterliegen die hier vorgestellten Daten einem nicht vollkommen zu beschreibenden Selektionsbias, da allen Patienten eine Vorstellung in einem spezialisierten Zentrum gemein ist. Zwar erfolgte eine Rekrutierung aller in der Morbus Wilson-Ambulanz vorstelligen Patienten, sodass für den gewählten Zeitraum alle Patientendaten erhoben werden konnten. Jedoch waren beide Patientengruppen eher klein angesetzt. Aufgrund dieser Einschränkung wurde der Status einer Pilot-Studie gewählt, da die Rekrutierung eines validen Patientenkontingents an einem einzigen Studienstandort für eine große Studie als klinisch nicht praktikabel eingeschätzt wurde.

Die nicht ausreichende Trennbarkeit der Patientengruppen der heterozygoten Konduktoren und der Morbus Wilson-Patienten nach Therapieeinleitung diente auch als Vortest für die Validitätsabschätzung einer suffizienten Trennung von heterozygoten Konduktoren und nicht ATP7B mutierten Patienten nach einem Chelatbildner-Belastungstest. Dieses mehrfach

in der Literatur propagierte Mittel sorgt bei atypischer Kupferspeicherung, wie etwa bei Erkrankung an einem Morbus Wilson, für eine massiv erhöhte Kupferausscheidung. Auch bei nicht mutierten Patienten kommt es durch die Gabe von Chelatbildner zu einer erhöhten Kupferausscheidung, welche jedoch die endogenen Kupferreserven aufbrauchen. Der Mehrwert dieser Testung liegt in der Bewertung der relativen Erhöhung der Kupferausscheidung im Verhältnis zur basalen Kupferausscheidung. Eine falsch durchgeführte Testung, beispielsweise durch Nutzung eines metallischen Behältnisses für die Gewinnung des 24h-Urins ohne vorausgehende kupferarme Diät, würde die Testung falsch-positiv ausfallen lassen können. Eine rein probatorische Gabe eines Chelatbildners kann also die weiterführende Diagnostik sowie Neubewertung der laborchemischen Surrogatparameter des Kupferstoffwechsels entscheidend verändern. Die damit einhergehende falsche Diagnose kann den Patienten beträchtlich schädigen.[10, 12, 28, 29, 51, 63, 70] Der Chelatbildner-Belastungstest sollte auch deshalb nur innerhalb spezialisierter Morbus Wilson-Zentren durchgeführt werden.

Die Ergebnisse dieser Pilot-Studie erscheinen sowohl valide als auch in der Praxis anwendbar. Es gab durch die geringe Fallzahl und eine intensivierete Nachverfolgung keine Studienausfälle, sodass eine hohe interne Integrität der Ergebnisse besteht. Die Problematik der Unklarheit des mit einem heterozygoten Konduktorenstatus verbundenen Krankheitswerts wird später in der Diskussion erneut aufgegriffen, jedoch bietet allein die Fragestellung der Diagnostik und der spezifischen Kriterien der Diagnose eines Morbus Wilson mehrere Ansatzpunkte der Kritik: Die aus der klinischen Arbeit heraus beobachtete Erhöhung der Fallzahl an überwiesenen Fehldiagnosen und eine literaturgestützte Kritik des *Leipzig Score* sorgt nicht für eine Verringerung der Validität des *Leipzig Score*. Dieses Problem ist bereits von anderer Seite erkannt worden und mit Hilfe der Bestimmung von Sensitivität und Spezifität der beiden im *Leipzig Score* angegebenen LLN bearbeitet worden.[80] Die vorliegende Arbeit weist lediglich von neurologischer Seite auf die Probleme einer unkritischen Anwendung des von hepatologischer Seite dominierten *Leipzig Score* hin.

Das 2-Item-Modell bestehend aus Coeruloplasmin und Cholinesterase im Serum sowie das 3-Item-Modell mit zusätzlicher Kupferausscheidung im 24h-Urin soll als Ergänzung, nicht als Ersatz des *Leipzig Score* verstanden werden. Die fehlende Validierung an einer externen Patientenpopulation ist durch mehrere Einschränkungen problematisch: So kann

beispielsweise nicht abgeschätzt werden, wie groß die Menge an Patienten ist, die schon in peripheren Einrichtungen des Gesundheitssystems als heterozygote Konduktoren identifiziert und einer weiteren Diagnostik ihrer eigentlichen Erkrankung zugeführt wurden. Des Weiteren ist die Fallzahl der untersuchten heterozygoten Konduktoren und Morbus Wilson-Patienten eher gering, wodurch einige Effekte unter- beziehungsweise überschätzt werden können. Eine vermehrte Rekrutierung und Evaluierung von Patienten wird sich aufgrund der Seltenheit der Erkrankung jedoch äußerst schwierig gestalten.

4.1. Der *Leipzig Score* nach Ferenci et al.

Der *Leipzig-Score* wurde mit einer Aufforderung zur Validitätsprüfung im Jahr 2003 veröffentlicht.[10, 28] Diese ist bis zum jetzigen Zeitpunkt laut der durchgeführten intensiven Literaturrecherche nicht erfolgt. Allein Einzelaspekte wie der LLN des Serumgehalts an Coeruloplasmin wurde evaluiert, jedoch nicht der gesamte Score.[80] Gleichzeitig ist der *Leipzig Score* kein Produkt eines Reviews oder einer gezielten retrospektiven Analyse von Patientendaten im Rahmen einer Studie, sondern Konsensentscheidung von Experten.[10, 28] Dwahan konnte schon 2005 zeigen, dass in einer Kohorte von 142 Fällen, in der bei Patienten unter 18 Jahren die Verdachtsdiagnose Morbus Wilson gestellt wurde, neben den 54 als Morbus Wilson bestätigten Fällen auch drei Fälle einer Autoimmunhepatitis über den *Leipzig Score* als erkrankt eingestuft wurden.[55] Dagegen konnten Xuan et al. 2007 drei als atypisch beschriebene Diagnosen über den *Leipzig Score* sichern und die Patienten einer Therapie zuführen.[95] Ryan et al. bemängelten 2019 in einer systematischen retrospektiven Auswertung von laborchemischen Biomarkern für die Diagnose von Morbus Wilson ebenfalls die fehlende Validierung des *Leipzig Score*. [80]

4.1.1. Genetische Testung

Die Aussage „*Genetic testing [...] allows an unequivocal diagnosis.*“ [28] aus der Originalarbeit zum *Leipzig Score* von Ferenci et al. von 2003 kann nach aktuellem Kenntnisstand nicht mehr gestützt werden. Während mehrere Arbeiten die Unsicherheit einer genetischen Testung behandelten, konnten Antos et al. 2020 den Fallbericht einer Patientin präsentieren, die mindestens zwei bereits als pathogen beschriebene Mutationen auf einem Allel aufwies. [29, 30, 32, 46, 68] Damit wäre die Patientin aus der genetischen Testung heraus fälschlicherweise als erkrankt identifiziert worden.

4.1.2. Kayser-Fleischer-Kornealringe

Obwohl sie in der Literatur mehrfach als pathognomonisch für Morbus Wilson bezeichnet werden[96], gibt es Beschreibungen über Kayser-Fleischer-Ringe bei Erkrankung an primär biliärer Cholangitis, äthyltoxischer Leberzirrhose oder Neugeborenencholestase.[71, 72] Die erste Erwähnung des Fehlers einer erfolgten pathognomonischen Zuordnung von Kayser-Fleischer-Kornealringen zu Morbus Wilson findet sich schon 1990 bei Crumley et al.[70] Choudhury et al. konnten 2019 zeigen, dass nur fünf von 212 neu diagnostizierten Patienten einen Kayser-Fleischer-Kornealring aufwiesen.[69] Hierbei muss jedoch beachtet werden, dass die Diagnose eines Morbus Wilson allein aufgrund einer Kupferausscheidung über 100µg im 24h-Sammelurin gestellt wurde. Die Autoren sehen diesen Verzicht als methodischen Schwachpunkt ihrer Arbeit, verweisen hierbei jedoch auf die Schwierigkeiten einer mehr als einen Parameter umfassenden Diagnostik in einem Entwicklungsland wie Bangladesch.[69] Das Auftreten von Kayser-Fleischer-Kornealringen ist in der Literatur demzufolge als ein nicht unbedingt wegweisender Bestandteil der Diagnostik aufzufassen. Zugunsten einer recht hohen Sensitivität bei hoher Prätestwahrscheinlichkeit im Sinne des Vorliegens neurologischer Symptome wird ein niedriger negativer prädiktiver Wert in Kauf genommen.

4.1.3. Neurologische Symptome

Das Auftreten neurologischer Symptome ist bei bestimmten Verlaufsformen eines Morbus Wilson beschrieben worden. Andererseits gibt es beim Morbus Wilson aber auch Krankheitsverläufe, während derer bis zu einem Vollbild der hepatischen Krise keine neurologischen Symptome auftreten.[29] Bezeichnenderweise wird aber die als nahezu pathognomonisch beschriebene Tremor-Form des *flapping tremor* nicht als Scorewert-veränderndes Symptom gewertet. [23, 28, 76-79, 97, 98] Von neurologischer Seite ist anzumerken, dass die Vielfalt möglicher Differenzialdiagnosen völlig unzureichend betrachtet wird, wenn lediglich das Vorliegen von neurologischen Symptomen bewertet wird. Falls ein heterozygoter Genträger mit auffälligem Coeruloplasmin-Spiegel im Serum und leicht erhöhter Kupferausscheidung beispielsweise aufgrund kupferreicher Ernährung irgendeine neurologische Symptomatik aufweist, läuft er Gefahr, aufgrund des *Leipzig Scores* als sicherer Morbus Wilson-Patient eingestuft zu werden. Die beiden vorgestellten

Fallberichte stellen Beispiel dieser Fehldiagnose dar. Dies ist ein offensichtlicher Schwachpunkt des *Leipzig Scores*, der durch das 2-Item-Modell ergänzt werden sollte.

4.1.4. cMRT-Befund

Das Auftreten eines pathologischen cMRT-Befundes ist nach aktueller Kenntnislage für die Diagnose eines Morbus Wilson umstritten. Zwar konnten mehrere als pathognomisch bezeichnet magnetresonanztomographisch beschreibbare Strukturveränderungen definiert werden, allerdings sind diese mit einer diagnostischen Unsicherheit verbunden. Das „*face of the giant panda sign*“ [78] konnte von Vella und Grech 2018 als Fallbericht bei einer hypoxischen Enzephalopathie beschrieben werden. [78] Weitere Krankheitsbilder, bei denen ein „*face of the giant panda sign*“ [78] innerhalb einer cMRT gefunden werden kann, umfassen unter anderem zentrale pontine Myelinolyse (ZPM), Eisenspeichererkrankungen, Methanolintoxikation und Japanische Enzephalitis. [78] Bei Vorliegen einer neurologischen oder hepatischen Symptomatik wird als Prätestwahrscheinlichkeit mit dem Vorliegen eines pathologischen cMRT-Befundes also gegebenenfalls eher das Vorliegen einer einzelnen ATP7B-Mutation getestet, wobei die Erkrankung an einem Morbus Wilson hiervon strikt getrennt werden muss.

4.1.5. Coeruloplasmin im Serum

Coeruloplasmin ist ein Akute-Phase-Protein und als solches in Fällen erhöhter Ausschüttung pro-inflammatorischer Zytokine erhöht. [7] Mehrfach sind Fälle normwertigen Coeruloplasmins bei Morbus Wilson-Patienten beschrieben worden. [84] Auch innerhalb der eigenen Datenerhebung wies einer von 19 Patienten, bei denen Morbus Wilson diagnostiziert wurden, ein normwertiges Coeruloplasmin auf.

Coeruloplasmin kann bei Verwendung hormonaler Kontrazeptiva zur Verhütung erhöht sein. In der Gruppe der Frauen im Alter von 14 bis 25 Jahren beträgt der Anteil der hormonellen Kontrazeptiva-Nutzerinnen aktuell etwa 54 bis 64%, sodass von einer regelhaften Erschwernis der Auswertung von Coeruloplasmin im Serum in einem typischen Alter für die Erstdiagnostik ausgegangen werden muss. [29, 56, 99] Eine entsprechende Anamnese sollte bei allen Patientinnen erfolgen. [28]

Eine Messung der enzymatischen Aktivität von Coeruloplasmin, der sogenannten Coeruloplasmin-Oxidase-Aktivität wurde 2009 von Merle et al. beschrieben, jedoch fand die Messung bisher keinen Eingang in die standardmäßige Patientenversorgung.[81]

4.1.6. Coombs-negative hämolytische Anämie

Außerhalb der hepatischen Krise als Erstmanifestation der Erkrankung an Morbus Wilson tritt eine Coombs-negative hämolytische Anämie äußerst selten auf und ist damit als schwerwiegende Komplikation einer Morbus Wilson-Erkrankung zu werten. Keiner der Patienten innerhalb der Vergleichspopulation von neudiagnostizierten Morbus Wilson-Patienten wies eine Coombs-negative hämolytische Anämie auf. Auch in der Gruppe der heterozygoten Konduktoren fand sich keine diagnostizierte hämolytische Anämie. Das auch in der Literatur als selten beschriebene Auftreten (1-11%) erschwert die Nachvollziehbarkeit der beispielsweise zu einem nicht-normwertigen Coeruloplasmin gleichwertigen Punkteverteilung innerhalb des *Leipzig Score*. [10, 28, 29]

4.1.7. Kupfer im Sammelurin

Kupfer im Sammelurin wird als indirekter Parameter der gestörten beziehungsweise verringerten biliären Kupferausscheidung genutzt. Durch diffuse Leberzellschädigung kann es jedoch zu einem ähnlichen, nicht durch ATP7B vermittelten Effekt innerhalb der Kupferausscheidung kommen: Zirrhotische Lebererkrankungen sind oftmals mit einem erhöhten Kupfer im Sammelurin vergesellschaftet.[10] Des Weiteren gibt es eine Erhöhung der Kupferausscheidung bei oraler Zufuhr von kupferhaltigen Nahrungsmitteln und erst recht nach Stimulation mit einem Chelatbildner.[29]

4.1.8. Kupfer im Lebertrockenbiopsat

Eine Leberbiopsie unterliegt verfahrensgemäß einem nicht genauer eingrenzbaeren *sampling error*. Spezifische Untersuchungen zur Größe der zu entnehmenden Probe liegen nach aktueller Literaturrecherche nicht vor. Es werden anhand des *Leipzig Score* keine Hinweise auf die Größe der zu entnehmenden Probe oder die Lokalisation gegeben. Bei anderen Erkrankungen konnten Vetter et al. nachweisen, dass eine gewisse Mindestgröße an Leberbiopsat zur fachgerechten Aufbereitung und Diagnostik notwendig ist.[100, 101] Bei differentialdiagnostischem Tumorverdacht kann durch eine Leberbiopsie auch ein *tumor seeding* erfolgen.[29, 100, 101] Als invasives Verfahren birgt die Leberbiopsie inhärent die Gefahr von Infektion, Trauma und Blutung (explizit bei Leberschädigung und daraus

folgender Koagulopathie). Die Magnetresonanztomographie kann gegebenenfalls in der Zukunft eine risikoarme Alternative zur Leberbiopsie bieten.[102]

Eine positive Rhodanfärbung kann nach der Literaturrecherche heraus nicht als ein suffizient zur Prädiktion der Erkrankungswahrscheinlichkeit nutzbarer Faktor genutzt werden. In einzelnen Fällen und retrospektiven Analysen sind eine positive Rhodanfärbung in mehreren Erkrankungsbildern mit *hepatic outflow obstruction* (HOO) beschrieben worden. Damit wird die Genauigkeit einer als Zusatzuntersuchung gedachten Methode bei vorwiegend hepatischem Erkrankungsbild weiter verringert.[103]

4.2. Krankheitswert einer heterozygoten Genträgerschaft

Der Krankheitswert einer heterozygoten Genträgerschaft ist Gegenstand einer lebhaften Kontroverse. Zwar gibt es Hinweise auf Akkumulation von freiem Kupfer in den Basalganglien bei heterozygoten Genträgern [22, 97] und einen Fallbericht über eine *early onset*-Parkinson-Erkrankung bei einer beschriebenen heterozygoten Cys1079Gly-Mutation-Trägerschaft [104], bisher konnte jedoch kein kausaler Zusammenhang zwischen einer heterozygoten Genträgerschaft und einem zu definierenden Krankheitsbild festgestellt werden.[45, 47, 97, 104]

Die fälschlicherweise erfolgte Diagnose eines Morbus Wilson bei einem nicht an Morbus Wilson erkrankten heterozygoten Genträger kann sowohl zu einer nicht notwendigen medikamentösen Therapie mit entsprechenden Nebenwirkungen als auch zu einer nicht erfolgenden Diagnose einer anderen psychiatrischen, neurologischen oder hepatischen Erkrankung führen. Das Verhältnis von homozygoten zu heterozygoten Genträgern und damit der Auftretenswahrscheinlichkeit einer Konstellation eines heterozygoten Genträgers mit einer anderen Erkrankung innerhalb der klinischen Regelversorgung und Diagnostik verändert sich innerhalb des idealisierten Hardy-Weinberg-Gleichgewichts (vgl. Tabelle 1) je nach Prävalenz der Erkrankung. Diese Wahrscheinlichkeit lässt sich nicht genauer beziffern: Innerhalb der in dieser Arbeit untersuchten Population gab es zu wenige Patienten, anhand derer man eine gematchte Parallelgruppe aus einem Kollektiv beispielsweise einer Kohortenstudie hätte generieren können. Aus der klinischen Arbeit heraus mag folgende Beobachtung helfen: Im Jahr 2016 konnten innerhalb des gesamten Jahres nur zwei Patienten als Neuvorstellungen mit einem Morbus Wilson diagnostiziert werden, während es

bei zehn Patienten zur Diagnose eines klinisch heterozygoten Konduktorenstatus anhand der laborchemischen Surrogatparameter des Kupferstoffwechsels kam.

„*Heterozygotes with clinical symptoms have not been reported.*“[28] Diese in der Vorstellung des *Leipzig Score* 2003 von Ferenci et al. getroffene Aussage ist bivalent. Es wird weiter ausgeführt, dass nur eine detektierbare Mutation in Verbindung mit dem Fehlen eines klinischen Erscheinungsbildes und dem Fehlen einer laborchemischen Diagnostik außerhalb der Normalverteilung nicht zur Diagnose führen sollte, allerdings wird weiter keine Aussage getroffen, wie mit einer bewiesenen Heterozygotie mit neurologischen, hepatischen oder psychiatrischen Symptomen umgegangen werden sollte. Wie in Tabelle 1 dargestellt, kann es zum Auftreten einer heterozygoten ATP7B-Mutation und einer anderen Erkrankung kommen, da eine heterozygote ATP7B-Mutation zwar nach aktuellem Kenntnisstand keinen Krankheitswert besitzt, jedoch auch nicht als protektiver Faktor vor anderen Erkrankungen fungiert. Innerhalb der retrospektiven Datenerhebung wurden mehrere Patienten mit mutmaßlicher heterozygoter ATP7B-Mutation identifiziert, bei denen eine strikte Anwendung des *Leipzig Scores* eine Fehldiagnose ermöglicht hat und die sowohl eine positive diagnostische Testung als auch eine Besserung der Symptomatik unter der Medikation ihrer Primärerkrankung aufwiesen (vgl. 3.2. Fallbericht 2: Studiennummer 8). Dies schließt zwar keine gleichzeitige Erkrankung an Morbus Wilson aus, macht eine Erkrankung aufgrund der aktuellen Datenlage jedoch höchst unwahrscheinlich.[9, 30, 31, 51, 52, 61, 68] Gleichzeitig wurde von Ilyechova et al. 2019 ein weiterer Patient identifiziert, der neben einer heterozygoten ATP7B-Mutation an einem *early onset*-Parkinson-Syndrom erkrankte.[104]

Wie in dieser Arbeit gezeigt werden konnte, kann die unkritische Anwendung des *Leipzig Score* zu einer falsch-positiven Diagnose eines Morbus Wilson führen.

Durch die Seltenheit der Erkrankung und die schwache Datenlage können aktuell keine validen Schätzungen darüber abgegeben werden, inwiefern systematisch durch eine Anwendung des *Leipzig Score* falsch-positive Diagnosestellungen zustande kommen. Die statistische Assoziation der im *Leipzig Score* beschriebenen Merkmale zur Anwendung der Diagnosestellung von Morbus Wilson und der damit erfolgten richtigen Diagnose eines Morbus Wilson muss weiter untersucht werden. Es erscheint insgesamt ratsam, eine Weiterentwicklung des Scoring-Systems anzustreben, in welchem auch explizit auf die

Möglichkeit einer heterozygoten Genträgerschaft verwiesen wird. Innerhalb der Morbus Wilson-Ambulanz der Neurologischen Klinik der Universitätsklinik Düsseldorf stellten sich in den Jahren 2010 bis 2019 31 Patienten mit der neu gestellten Diagnose eines Morbus Wilson oder mit dem hochgradigen Verdacht auf einen Morbus Wilson vor, bei denen die Diagnose des Morbus Wilson nicht bestätigt werden konnte. Nach dem *Leipzig Score* erreichten einige Patienten den kritischen Punktwert von vier oder höher, ab dem ein gesicherter Morbus Wilson vorliegen soll.[10, 28, 29]

Aufgrund der geringen Prävalenz der Erkrankung und des breiten klinischen Erscheinungsbilds ist die vorliegende Auswertung kritisch zu bewerten. Doch sensibilisiert die erstaunlich hoch anmutende Zahl der mutmaßlich heterozygoten Genträger mit laborchemisch nachweisbar verändertem Kupferstoffwechsel für die Problemstellung der Unterscheidung oder sicheren Trennung von manifest erkrankten Patienten und Konduktoren mit verändertem Kupferstoffwechsel und zusätzlicher, nicht durch eine Störung des Kupferstoffwechsels bedingte Symptomatik.

4.3.Ausblick

Innerhalb der Verbesserung der Diagnostik konnten in den letzten Jahren viele Felder aufgezeigt werden, bei denen noch erheblicher Bedarf zur Klärung diverser Sachverhalte besteht. Sowohl in der Grundlagenforschung als auch in der klinischen Praxis wurden viele mögliche Fehlerquellen bei der Identifizierung von heterozygoten ATP7B-Genträgern und der Diagnostik von an Morbus Wilson erkrankten Patienten benannt, die einer Klärung bedürfen.[16, 30, 32, 38, 42, 45, 46, 50, 51, 64, 67-69, 78, 92]

Beispielsweise konnte bisher keine valide Aussage zur Rolle von ATOX1 im Erscheinungsbild des Morbus Wilson getroffen werden: Im Gegensatz zu einer von Ferenci et al. 2005 getätigten Aussage, dass ATOX1-Mutationen an klinisch manifesten Morbus Wilson-Patienten eine Rolle spielen würde, wurde von Zarina et al. 2019 die Aussage getroffen, dass eine ATOX1-Variante keinen Einfluss auf das Erscheinungsbild eines Morbus Wilson hat. Hierbei wies jedoch nur einer von 64 Patienten aus einem Kollektiv mit über den *Leipzig Score* mit Morbus Wilson diagnostizierten Patienten eine ATOX1-Variante auf.[10, 17] Deshalb besteht auch bezüglich dieser Fragestellung weiterhin Klärungsbedarf.

Die monogenetisch vermutete Ätiopathogenese des Morbus Wilson macht die Erkrankung zu einem exzellent geeigneten Forschungsfeld für moderne Gentherapien. Hierbei ist insbesondere auf die Ergebnisse der Arbeitsgruppe um Pöhler et al. zu verweisen.[4]

Eine Sensibilisierung der wenigen mit Morbus Wilson befassten Forschungsgruppen auf das klinische Vorkommen von heterozygoten Genträgern mit neurologischen oder hepatischen Erkrankungen könnte helfen, den diagnostischen Algorithmus sowohl homozygoter erkrankter als auch heterozygoter Genträger weiter zu verbessern. Während es bereits Einzelbeschreibungen der Schwierigkeit einer zuverlässigen Diagnostik gibt, werden weiterhin sowohl national der originale *Leipzig Score* als auch international modifizierte Abwandlungen des *Leipzig Score* genutzt. Hierbei werden heterozygote Genträger nicht erfasst.[9, 10, 12, 23, 29, 32, 33, 42, 50, 51, 56, 67, 68]

Gleichzeitig wurde während der vorliegenden Literaturrecherche festgestellt, dass es eine Vielzahl an Patienten in medizinisch unterversorgten Bereichen des globalen Südens gibt, bei denen eine Erkrankung an Morbus Wilson differentialdiagnostisch bedacht werden muss, die jedoch aufgrund zu hoher finanzieller Belastung für das jeweilige nationale Gesundheitssystem nicht dem gesamten Repertoire technischer Diagnostik wie etwa einer cMRT oder einer genetischen Testung zugeführt werden können.[69] Jedoch kann eine gegebenenfalls kostengünstige Untersuchung nebst patientenferner Interpretation wie durch Blutuntersuchungen möglich ähnlich wie in der Telemedizin ein Gewinn für diese Patientenkollektive darstellen.

Außer in einigen wenigen Fällen erfolgte in der internationalen Literatur kaum eine Auswertung zu falsch-positiv erfolgter Diagnosestellung, welche innerhalb einer retrospektiven Analyse Hinweise darauf geben könnte, welche Items des *Leipzig Score* innerhalb der diagnostischen Kette eine höhere Fehleranfälligkeit und Ungenauigkeit als andere Items aufweisen könnten.[55, 80, 95] Die Auswertung von Kupfer im Sammelurin, des Coeruloplasmins im Serum und die neurologische Befunderhebung konnten innerhalb dieser Arbeit als vulnerabler Faktor der Diagnosestellung identifiziert werden. Die Verwendung der Cholinesterase in Kombination mit Coeruloplasmin könnte helfen, heterozygote Konduktoren von Patienten mit einem gesicherten Morbus Wilson zu trennen und dazu führen, dass die neurologische Symptomatik vor dem Hintergrund der

laborchemischen Veränderungen von einem Spezialisten für Bewegungsstörungen kritisch bewertet wird.

4.4. Schlussfolgerungen

Zielsetzung dieser Arbeit war die Untersuchung einer rein laborchemischen Trennung der definitiv an Morbus Wilson Erkrankten und der als Konduktoren mit zusätzlicher neurologischer Symptomatik identifizierten Patientengruppe. Die Relevanz dieser Fragestellung liegt in der falsch-positiven Diagnosestellung heterozygoter Konduktoren mit anderen Erkrankungen und einer möglichen Überversorgung mit nicht notwendigen Therapien wie der Chelatbildnereinnahme und die mögliche Unterversorgung mit notwendiger Therapie (beispielsweise der L-Dopamin-Präparate in den zwei vorgestellten Fallbeispielen). Hierbei wurden 50 Patienten aus der Morbus Wilson-Ambulanz während der Jahre 1997 bis 2019 in die Datenanalyse eingeschlossen. Innerhalb einer retrospektiven Analyse mit prospektivem *Follow-Up* konnten 31 Patienten, welche als vermeintliche heterozygote Konduktoren identifiziert wurden, und 19 neudiagnostizierte Morbus Wilson-Patienten einer Therapie zugeführt werden. Die vollständige Trennung dieser Kollektive gelang durch die Parameter der Cholinesterase, den Gesamtkupfergehalt im 24h-Sammelurin und das Coeruloplasmin im Serum.

Diese Parameter können aus dem bisherigen Verständnis der Ätiopathogenese von Morbus Wilson nachvollzogen werden. Es gelang keine vollständige Trennung von vermeintlich heterozygoten Konduktoren und neudiagnostizierten Morbus Wilson-Patienten, nachdem eine medikamentöse Ersttherapie mittels eines Chelatbildners erfolgte. Anhand von zwei exemplarischen Fallberichten konnte verdeutlicht werden, weshalb es bei unkritischer Anwendung des *Leipzig Score* aus dem Jahr 2003 zu einer Fehldiagnose von heterozygoten ATP7B-Konduktoren kommen kann. Das in dieser Arbeit in den Ergebnissen etablierte 2-Item-Modell kann in Ergänzung des *Leipzig Scores* zur Unterscheidung heterozygoter Genträger und an Morbus Wilson erkrankter Patienten genutzt werden. Es wird eine Validierung des erarbeiteten Regressionsmodells an einem externen Patientenkollektiv angestrebt. Die laborchemische Trennung von heterozygoten Konduktoren und Normalpersonen sollte auch durchgeführt werden, wird sich jedoch wahrscheinlich leichter als die hier präsentierte Trennung der heterozygoten Konduktoren von den manifest erkrankten Morbus Wilson-Patienten etablieren lassen.

5. Literaturverzeichnis und Quellen

1. WILSON, S.A.K., *PROGRESSIVE LENTICULAR DEGENERATION: A FAMILIAL NERVOUS DISEASE ASSOCIATED WITH CIRRHOSIS OF THE LIVER*. Brain, 1912. **34**(4): p. 295-507.
2. Teive, H.A., E.R. Barbosa, and A.J. Lees, *Wilson's disease: the 60th anniversary of Walshe's article on treatment with penicillamine*. Arq Neuropsiquiatr, 2017. **75**(1): p. 69-71.
3. CUMINGS, J.N., *THE COPPER AND IRON CONTENT OF BRAIN AND LIVER IN THE NORMAL AND IN HEPATO-LENTICULAR DEGENERATION*. Brain, 1948. **71**(4): p. 410-415.
4. Pöhler, M., et al., *CRISPR/Cas9-mediated correction of mutated copper transporter ATP7B*. PLoS One, 2020. **15**(9): p. e0239411.
5. Madsen, E. and J.D. Gitlin, *Copper and iron disorders of the brain*. Annu Rev Neurosci, 2007. **30**: p. 317-37.
6. Hsi, G., et al., *Sequence variation in the ATP-binding domain of the Wilson disease transporter, ATP7B, affects copper transport in a yeast model system*. Hum Mutat, 2008. **29**(4): p. 491-501.
7. Hellman, N.E. and J.D. Gitlin, *CERULOPLASMIN METABOLISM AND FUNCTION*. Annual Review of Nutrition, 2002. **22**(1): p. 439-458.
8. Nose, Y., B.E. Kim, and D.J. Thiele, *Ctr1 drives intestinal copper absorption and is essential for growth, iron metabolism, and neonatal cardiac function*. Cell Metab, 2006. **4**(3): p. 235-44.
9. Stremmel, W., U. Merle, and R. Weiskirchen, *Clinical features of Wilson disease*. Annals of translational medicine, 2019. **7**(Suppl 2): p. S61-S61.
10. Ferenci, P., *Wilson's Disease*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2005. **3**(8): p. 726-33.
11. Mukhopadhyay, C.K., Z.K. Attieh, and P.L. Fox, *Role of Ceruloplasmin in Cellular Iron Uptake*. Science, 1998. **279**(5351): p. 714.
12. Ala, A., et al., *Wilson's disease*. Lancet, 2007. **369**(9559): p. 397-408.
13. Veldhuis, N.A., et al., *Phosphorylation regulates copper-responsive trafficking of the Menkes copper transporting P-type ATPase*. Int J Biochem Cell Biol, 2009. **41**(12): p. 2403-12.
14. Ruttkay-Nedecky, B., et al., *The role of metallothionein in oxidative stress*. International journal of molecular sciences, 2013. **14**(3): p. 6044-6066.
15. Palmiter, R.D., *The elusive function of metallothioneins*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1998. **95**(15): p. 8428-8430.
16. Wang, Y., et al., *Advances in the understanding of mammalian copper transporters*. Adv Nutr, 2011. **2**(2): p. 129-37.
17. Zarina, A., et al., *Association of Variants in the CP, ATOX1 and COMMD1 Genes with Wilson Disease Symptoms in Latvia*. Balkan J Med Genet, 2019. **22**(2): p. 37-42.
18. Forbes, J.R. and D.W. Cox, *Copper-dependent trafficking of Wilson disease mutant ATP7B proteins*. Hum Mol Genet, 2000. **9**(13): p. 1927-35.
19. Huster, D., et al., *Defective cellular localization of mutant ATP7B in Wilson's disease patients and hepatoma cell lines*. Gastroenterology, 2003. **124**(2): p. 335-45.
20. Cobine, P.A., S.A. Moore, and S.C. Leary, *Getting out what you put in: Copper in mitochondria and its impacts on human disease*. Biochim Biophys Acta Mol Cell Res, 2020. **1868**(1): p. 118867.
21. Schlieff, M.L. and J.D. Gitlin, *Copper homeostasis in the CNS: a novel link between the NMDA receptor and copper homeostasis in the hippocampus*. Mol Neurobiol, 2006. **33**(2): p. 81-90.
22. Skowronska, M., et al., *Transcranial sonography changes in heterozygotic carriers of the ATP7B gene*. Neurol Sci, 2020. **41**(9): p. 2605-2612.

23. Page, R.A., et al., *Clinical correlation of brain MRI and MRS abnormalities in patients with Wilson disease*. Neurology, 2004. **63**(4): p. 638-43.
24. Mercer, J.F. and R.M. Llanos, *Molecular and cellular aspects of copper transport in developing mammals*. J Nutr, 2003. **133**(5 Suppl 1): p. 1481s-4s.
25. Llanos, R.M. and J.F.B. Mercer, *The Molecular Basis of Copper Homeostasis Copper-Related Disorders*. DNA and Cell Biology, 2002. **21**(4): p. 259-270.
26. Britton, R.S., *Metal-induced hepatotoxicity*. Semin Liver Dis, 1996. **16**(1): p. 3-12.
27. Huster, D. and S. Lutsenko, *Wilson disease: not just a copper disorder. Analysis of a Wilson disease model demonstrates the link between copper and lipid metabolism*. Mol Biosyst, 2007. **3**(12): p. 816-24.
28. Ferenci, P., et al., *Diagnosis and phenotypic classification of Wilson disease*. Liver Int, 2003. **23**(3): p. 139-42.
29. Ferenci, P., et al., *EASL Clinical Practice Guidelines: Wilson's disease*. Journal of hepatology, 2012. **56**: p. 671-85.
30. Wallace, D.F. and J.S. Dooley, *ATP7B variant penetrance explains differences between genetic and clinical prevalence estimates for Wilson disease*. Hum Genet, 2020. **139**(8): p. 1065-1075.
31. Weiss, K.H. and W. Stremmel, *Clinical considerations for an effective medical therapy in Wilson's disease*. Ann N Y Acad Sci, 2014. **1315**: p. 81-5.
32. Lo, C. and O. Bandmann, *Epidemiology and introduction to the clinical presentation of Wilson disease*. Handb Clin Neurol, 2017. **142**: p. 7-17.
33. Liu, J., et al., *Epidemiology, diagnosis, and treatment of Wilson's disease*. Intractable & rare diseases research, 2017. **6**(4): p. 249-255.
34. Huster, D., et al., *High copper selectively alters lipid metabolism and cell cycle machinery in the mouse model of Wilson disease*. J Biol Chem, 2007. **282**(11): p. 8343-55.
35. von Herbay, A., et al., *Low vitamin E content in plasma of patients with alcoholic liver disease, hemochromatosis and Wilson's disease*. J Hepatol, 1994. **20**(1): p. 41-6.
36. Borchard, S., et al., *The exceptional sensitivity of brain mitochondria to copper*. Toxicol In Vitro, 2018. **51**: p. 11-22.
37. Lichtmanegger, J., et al., *Methanobactin reverses acute liver failure in a rat model of Wilson disease*. J Clin Invest, 2016. **126**(7): p. 2721-35.
38. Lizaola-Mayo, B.C., et al., *Exogenous copper exposure causing clinical wilson disease in a patient with copper deficiency*. BMC Gastroenterology, 2021. **21**(1): p. 278.
39. Park, R.H., et al., *Wilson's disease in Scotland*. Gut, 1991. **32**(12): p. 1541-5.
40. Coffey, A.J., et al., *A genetic study of Wilson's disease in the United Kingdom*. Brain, 2013. **136**(Pt 5): p. 1476-87.
41. *Implementation report on the Commission Communication on Rare Diseases: Europe's challenges and Council Recommendation of 8 June 2009 on an action in the field of rare diseases (2009/C 151/02)*, t.C. Commission to the European Parliament, the European Economic and Social Committee and the Committee of the Regions, Editor. 2009.
42. Adhikari, S., P. Shah, and Y. Sharma, *Case Report: Using basic liver function tests as a guide to suspected Wilson's disease [version 1; peer review: 1 approved with reservations]*. F1000Research, 2021. **10**(608).
43. Maier-Dobersberger, T., *[Wilson's disease. The making of a diagnosis by conventional and molecular biology methods]*. Dtsch Med Wochenschr, 1999. **124**(16): p. 493-6.
44. Gao, J., S. Brackley, and J.P. Mann, *The global prevalence of Wilson disease from next-generation sequencing data*. Genet Med, 2019. **21**(5): p. 1155-1163.
45. Sapuppo, A., et al., *Genotype-phenotype variable correlation in Wilson disease: clinical history of two sisters with the similar genotype*. BMC Med Genet, 2020. **21**(1): p. 128.
46. Kumar, M., et al., *WilsonGen a comprehensive clinically annotated genomic variant resource for Wilson's Disease*. Scientific Reports, 2020. **10**(1): p. 9037.
47. Vrabelova, S., et al., *Mutation analysis of the ATP7B gene and genotype/phenotype correlation in 227 patients with Wilson disease*. Mol Genet Metab, 2005. **86**(1-2): p. 277-85.

48. Auvin, S., et al., *The Problem of Rarity: Estimation of Prevalence in Rare Disease*. Value in Health, 2018. **21**(5): p. 501-507.
49. Schieppati, A., et al., *Why rare diseases are an important medical and social issue*. The Lancet, 2008. **371**(9629): p. 2039-2041.
50. Hedera, P., *Wilson's disease: A master of disguise*. Parkinsonism Relat Disord, 2019. **59**: p. 140-145.
51. Poujois, A. and F. Woimant, *Wilson's disease: A 2017 update*. Clin Res Hepatol Gastroenterol, 2018. **42**(6): p. 512-520.
52. Hefter, H., O. Tezayak, and D. Rosenthal, *Long-term outcome of neurological Wilson's disease*. Parkinsonism Relat Disord, 2018. **49**: p. 48-53.
53. Oder, W., et al., *Wilson's disease: evidence of subgroups derived from clinical findings and brain lesions*. Neurology, 1993. **43**(1): p. 120-4.
54. Maselbas, W., et al., *Persistence with treatment for Wilson disease: a retrospective study*. BMC Neurol, 2019. **19**(1): p. 278.
55. Dhawan, A., *Evaluation of the scoring system for the diagnosis of Wilson's disease in children*. Liver International, 2005. **25**(3): p. 680-681.
56. Hermann, W.H., Domink; Ransmayr, Gerhard; Boltshauser, Eugen, *S1-Leitlinie: Morbus Wilson*. 2012.
57. Degenhardt, S., et al., *[A hemolytic crisis with liver failure as the first manifestation of Wilson's disease]*. Dtsch Med Wochenschr, 1994. **119**(42): p. 1421-6.
58. Hassoun, J., et al., *Management of Acute Wilsonian Hepatitis with Severe Hemolysis: A Successful Combination of Chelation and MARS Dialysis*. Case Reports in Hepatology, 2021. **2021**: p. 5583654.
59. Mirza, N., et al., *Wilson Disease-Induced Acute Liver Failure (NWI = 13) Salvaged without Liver Transplant by Plasmapheresis*. Journal of Child Science, 2021. **11**(01): p. e145-e147.
60. Eisenbach, C., et al., *Diagnostic criteria for acute liver failure due to Wilson disease*. World J Gastroenterol, 2007. **13**(11): p. 1711-4.
61. Weiss, K.H., et al., *Efficacy and safety of oral chelators in treatment of patients with Wilson disease*. Clin Gastroenterol Hepatol, 2013. **11**(8): p. 1028-35.e1-2.
62. Durand, F., et al., *Wilson's disease with severe hepatic insufficiency: beneficial effects of early administration of D-penicillamine*. Gut, 2001. **48**(6): p. 849-52.
63. Leggio, L., et al., *Wilson's disease: clinical, genetic and pharmacological findings*. Int J Immunopathol Pharmacol, 2005. **18**(1): p. 7-14.
64. Tisato, F., et al., *Copper in diseases and treatments, and copper-based anticancer strategies*. Med Res Rev, 2010. **30**(4): p. 708-49.
65. Ogra, Y. and K.T. Suzuki, *Targeting of tetrathiomolybdate on the copper accumulating in the liver of LEC rats*. J Inorg Biochem, 1998. **70**(1): p. 49-55.
66. Hedera, P., *Treatment of Wilson's disease motor complications with deep brain stimulation*. Ann N Y Acad Sci, 2014. **1315**: p. 16-23.
67. Pfeiffer, R.F., *Diagnosing Wilson's Disease under the sword of Damocles*. Neurol Neurochir Pol, 2020. **54**(5): p. 364-365.
68. Antos, A., et al., *Pitfalls in diagnosing Wilson's Disease by genetic testing alone: the case of a 47-year-old woman with two pathogenic variants of the ATP7B gene*. Neurol Neurochir Pol, 2020. **54**(5): p. 478-480.
69. Choudhury, N., et al., *High Prevalence of Wilson's Diseases with Low Prevalence of Kayser-Fleischer Rings among Patients with Cryptogenic Chronic Liver Diseases in Bangladesh*. Euroasian J Hepatogastroenterol, 2019. **9**(2): p. 67-70.
70. Crumley, F.E., *Pitfalls of Diagnosis in the Early Stages of Wilson's Disease*. Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry, 1990. **29**(3): p. 470-471.
71. Pandey, N. and S. John, *Kayser-Fleischer Ring*, in *StatPearls*. 2020, StatPearls Publishing: Treasure Island (FL).

72. Williams, E.J., et al., *Kayser-Fleischer like rings in alcoholic liver disease: a case report*. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2003. **15**(1): p. 91-3.
73. Zargar, S.A., et al., *Kayser-Fleischer like ring in autoimmune chronic active hepatitis*. Indian J Gastroenterol, 1991. **10**(3): p. 101-2.
74. Nagral, A., et al., *Kayser-Fleischer rings or bile pigment rings?* Indian J Gastroenterol, 2015. **34**(5): p. 410-2.
75. Leinweber, B., et al., *Evaluation of the Unified Wilson's Disease Rating Scale (UWDRS) in German patients with treated Wilson's disease*. Mov Disord, 2008. **23**(1): p. 54-62.
76. Jacobs, D.A., et al., *The "double panda sign" in Wilson's disease*. Neurology, 2003. **61**(7): p. 969.
77. van Wassenaeer-van Hall, H.N., et al., *Wilson disease: findings at MR imaging and CT of the brain with clinical correlation*. Radiology, 1996. **198**(2): p. 531-6.
78. Vella, S. and R. Grech, *Highlighting an atypical cause of the Face of the Giant Panda sign*. BJR Case Rep, 2018. **4**(1): p. 20170046.
79. Roy, U., et al., *The entire spectrum of typical and atypical magnetic resonance imaging changes in a single case of Wilson's disease*. J Neurosci Rural Pract, 2016. **7**(2): p. 321-2.
80. Ryan, A., et al., *Biomarkers for diagnosis of Wilson's disease*. Cochrane Database Syst Rev, 2019. **2019**(11).
81. Merle, U., et al., *Serum ceruloplasmin oxidase activity is a sensitive and highly specific diagnostic marker for Wilson's disease*. Journal of Hepatology, 2009. **51**(5): p. 925-930.
82. Hefter, H., et al., *Pseudocholinesterase as a Biomarker for Untreated Wilson's Disease*. Biomolecules, 2022. **12**(12): p. 1791.
83. Arslan, M., et al., *Cholinesterase Deficiency Syndrome-A Pitfall in the Use of Butyrylcholinesterase as a Biomarker for Wilson's Disease*. Biomolecules, 2022. **12**(10).
84. Yüce, A., et al., *Wilson's disease patients with normal ceruloplasmin levels*. The Turkish journal of pediatrics, 1999. **41**(1): p. 99-102.
85. Lutsenko, S., R. Tsivkovskii, and J.M. Walker, *Functional properties of the human copper-transporting ATPase ATP7B (the Wilson's disease protein) and regulation by metallochaperone Atox1*. Ann N Y Acad Sci, 2003. **986**: p. 204-11.
86. Lotti, M., *Cholinesterase inhibition: complexities in interpretation*. Clinical Chemistry, 1995. **41**(12): p. 1814-1818.
87. Pundir, C.S. and N. Chauhan, *Acetylcholinesterase inhibition-based biosensors for pesticide determination: a review*. Anal Biochem, 2012. **429**(1): p. 19-31.
88. Andreescu, S. and J.L. Marty, *Twenty years research in cholinesterase biosensors: from basic research to practical applications*. Biomol Eng, 2006. **23**(1): p. 1-15.
89. Santarpia, L., et al., *Butyrylcholinesterase as a prognostic marker: a review of the literature*. J Cachexia Sarcopenia Muscle, 2013. **4**(1): p. 31-9.
90. Shiba, M., et al., *Serum cholinesterase as a prognostic biomarker for acute heart failure*. Eur Heart J Acute Cardiovasc Care, 2021. **10**(3): p. 335-342.
91. Seo, M., et al., *Prognostic Significance of Serum Cholinesterase Level in Patients With Acute Decompensated Heart Failure With Preserved Ejection Fraction: Insights From the PURSUIT-HFpEF Registry*. J Am Heart Assoc, 2020. **9**(1): p. e014100.
92. Avcioglu, S.N., et al., *Wilson's disease presenting with HELLP syndrome; A case report*. Turk J Obstet Gynecol, 2015. **12**(1): p. 56-59.
93. Makarova, E.L. and N.A. Terekhina, *Influence of pregnancy on iron and copper exchange rates in women with normal body weight and women with obesity*. Klin Lab Diagn, 2021. **66**(4): p. 205-209.
94. Andersson, M.L., A.M. Møller, and K. Wildgaard, *Butyrylcholinesterase deficiency and its clinical importance in anaesthesia: a systematic review*. Anaesthesia, 2019. **74**(4): p. 518-528.
95. Xuan, A., et al., *Three atypical cases of Wilson disease: assessment of the Leipzig scoring system in making a diagnosis*. J Hepatol, 2007. **47**(3): p. 428-33.
96. Herold, G., *Innere Medizin*. 2019: p. 545-546.

97. Tarnacka, B., et al., *Heterozygous carriers for Wilson's disease—magnetic spectroscopy changes in the brain*. *Metabolic Brain Disease*, 2009. **24**(3): p. 463-468.
98. Kozić, D., et al., *MR imaging of the brain in patients with hepatic form of Wilson's disease*. *Eur J Neurol*, 2003. **10**(5): p. 587-92.
99. Scharmanski, S. and A. Heßling, *[Sexual and contraceptive behavior of adolescents and young adults in Germany. Current results of the representative survey "Youth Sexuality"]*. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 2021. **64**(11): p. 1372-1381.
100. Vetter, M., et al., *The amount of liver tissue is essential for accurate histological staging in patients with autoimmune hepatitis*. *J Physiol Pharmacol*, 2021. **72**(1).
101. Vetter, M., et al., *How Much Liver Tissue Is Required for Sufficient Histological Staging in Patients with Primary Biliary Cholangitis?* *Digestion*, 2021. **102**(3): p. 428-436.
102. Serai, S.D., et al., *Putting it all together: established and emerging MRI techniques for detecting and measuring liver fibrosis*. *Pediatr Radiol*, 2018. **48**(9): p. 1256-1272.
103. Mounajjed, T., et al., *Revisiting the Topic of Histochemically Detectable Copper in Various Liver Diseases With Special Focus on Venous Outflow Impairment*. *American Journal of Clinical Pathology*, 2013. **139**(1): p. 79-86.
104. Ilyechova, E.Y., et al., *Case of Early-Onset Parkinson's Disease in a Heterozygous Mutation Carrier of the ATP7B Gene*. *J Pers Med*, 2019. **9**(3).

6. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich einigen Personen Dank aussprechen, die mich bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt sowie gefördert haben.

Mein besonderer Dank gilt Prof. Dr. Dr. Harald Hefter, der mich sowohl innerhalb meines Studiums wie auch innerhalb meiner klinischen Arbeit begleitet hat und mir auch außerhalb der Promotionsarbeit jederzeit mit Rat und Tat zur Seite gestanden hat.

Mein weiterer Dank gilt Prof. Dr. Philipp Albrecht, welcher nach dem Ausscheiden von Prof. Dr. Dr. Hefter die Betreuung dieser Promotionsarbeit übernommen hat.

Des Weiteren möchte ich mich bei dem gesamten Team der Neurologischen Ambulanz der Neurologischen Klinik der Universitätsklinik Düsseldorf und insbesondere Fr. Bettina Höver bedanken, die mir eine große Hilfe sowohl bei Organisation als auch beim persönlichen Kontakt innerhalb der Sprechstunde der Morbus Wilson-Ambulanz waren.

Auch möchte ich meinen Eltern, Brigitte und Altan Arslan, sowie meiner Schwester, Jasmin Arslan-Breuer, danken, welche mich innerhalb meines Studiums allzeit über das erwartbare Maß hinaus unterstützt haben.

Zuletzt gilt mein Dank allen meinen Freunden, Arbeitskollegen und ehemaligen Kommilitonen sowie meiner Lebensgefährtin Melissa Neubacher, die mich immer wieder unermüdlich dazu motiviert haben, meine Promotionsarbeit fertigzustellen.