

Aus der Klinik für Allgemeine Pädiatrie, Neonatologie und
Kinderkardiologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Ertan Mayatepek

*Erhöhtes kardiometabolisches Risiko bei Propionazidämie in der
Phänotypisierung von Patienten mit klassischen Organoazidopathien:
Eine Fall-Kontrollstudie*

Dissertation

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

vorgelegt von

Daria Caspari

2022

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. Thomas Meißner

Zweitgutachter: Prof. Dr. Stephan vom Dahl

Gewidmet Mama und Andy

Auflistung der Publikationen

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht [1]:

Gancheva S, Caspari D, Bierwagen A, Jelenik T, Caprio S, Santoro N, Rothe M, Markgraf D, Herebian D, Hwang JH, Öner-Sieben S, Mennenga J, Pacini G, Thimm E, Schlune A, Meissner T, vom Dahl S, Klee D, Mayatepek E, Roden M, Ensenauer R, Cardiometabolic risk factor clustering in patients with deficient branched-chain amino acid catabolism: A case-control study, *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 2020, 43(5):981-993. doi: 10.1002/jimd.12231.

Zusammenfassung

Klassische Organoazidopathien (OAs) entstehen durch einen defekten intramitochondrialen Abbau der verzweigtkettigen Aminosäuren Leucin, Isoleucin und Valin. Es ist bekannt, dass eine beeinträchtigte Mitochondrienfunktion zu der Entstehung von oxidativem Stress, einer Akkumulierung ektopischer Fette in Leber und Skelettmuskel und zu einer Insulinresistenz (IR) führen kann. In der vorliegenden *in vivo* Studie (MitoMRS) wurde untersucht, ob Patienten mit OAs, aufgrund einer krankheitsassoziierten sekundären Störung der Mitochondrienfunktion und des Energiestoffwechsels, diesbezüglich Auffälligkeiten aufweisen. Konkret wurde untersucht, ob eine vermehrte ektopische Lipidakkumulation, eine IR, kardiometabolische Risikofaktoren oder ein dem metabolischen Syndrom (MetS) ähnlicher Phänotyp auftreten. 34 Kinder und junge Erwachsene mit Propionazidämie (PA), Methylmalonazidämie (MMA) und Isovalerialazidämie (IVA) sowie 33 gesunde Kontrollprobanden wurden detailliert mittels *in vivo* $^{31}\text{P}/^1\text{H}$ -Magnetresonanztomographie von Leber und Skelettmuskel, Leukozytenrespirometrie und oralem Glukosetoleranztest metabolisch phänotypisiert.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass Patienten mit PA trotz einer Energiezufuhr gemäß der alters- und geschlechtsbezogenen Ernährungsempfehlungen, einen MetS-ähnlichen Phänotyp mit abdomineller Adipositas (71%), erhöhter Nüchtern glukose (50%), IR, sonografische Leberfetterhöhung (38%) und Hypertriglyzeridämie (67%) aufweisen. Patienten mit PA hatten außerdem eine erhöhte Lipidperoxidation und einen niedrigeren Gehalt an anorganischem Phosphat im Skelettmuskel. Patienten mit MMA zeigten hingegen einen anderen Phänotyp mit Hepatomegalie und erniedrigtem ATP-Gehalt des Skelettmuskels, jedoch keine Steatose oder IR. Zwischen den OA-Gruppen konnte kein Unterschied bei hepatischem ATP und anorganischem Phosphat gefunden werden. Patienten mit IVA zeigten keinen auffälligen Phänotyp und keine Veränderungen des Energiestoffwechsels.

Es lässt sich schlussfolgern, dass die PA mit einem vorher nicht beschriebenen MetS-ähnlichen Phänotyp, mit abdomineller Adipositas und ektopischer Lipidakkumulation, assoziiert ist. Die Ursachen bleiben spekulativ, jedoch könnte bei der PA krankheitsspezifisch vermehrt anfallender oxidativer Stress und ein geringerer Energiebedarf sowie –verbrauch ursächlich sein. Unsere Ergebnisse unterstreichen die Relevanz der Erkennung von Veränderungen im Energiestoffwechsel für die langfristige Behandlung der Patienten mit OAs. Ein frühes Screening auf kardiometabolische Risikofaktoren und entsprechende Therapiemaßnahmen könnten das langfristige *Outcome* bei Patienten mit PA günstig beeinflussen.

Summary

Classic organic acidemias (OAs) are caused by a defective mitochondrial catabolism of the branched-chain amino acids leucine, isoleucine and valine. It is well known, that an abnormal mitochondrial function can lead to an increase in oxidative stress, ectopic lipid deposition in skeletal muscle and liver and insulin resistance (IR). Thus, the current *in vivo* study (MitoMRS) investigated whether patients with OAs, with disease-associated secondary alterations of mitochondrial function and energy metabolism, are prone to develop ectopic lipids, IR, cardiometabolic risk factors and a phenotype reflecting metabolic syndrome (MetS). In the MitoMRS case control study we examined 34 children and young adults with propionic acidemia (PA), methylmalonic acidemia (MMA) and isovaleric acidemia (IVA) and 33 healthy controls with *in vivo* $^{31}\text{P}/^1\text{H}$ magnetic resonance spectroscopy of liver and skeletal muscle, high-resolution respirometry of leukocytes and oral glucose tolerance test for metabolic phenotyping.

Our results demonstrate that patients with PA, although following a dietary energy intake within recommendations for age and sex, presented with a MetS-like phenotype, exhibiting abdominal adiposity (71%), fasting hyperglycemia (50%), IR, sonographic liver fat accumulation (38%) and hypertriglyceridemia (67%). Patients with PA furthermore showed increased lipid peroxidation and a lower inorganic phosphate level in skeletal muscle. Patients with MMA however exhibited a different phenotype including hepatomegaly and lower skeletal muscle ATP content, but no steatosis nor IR. There was no difference found in hepatic ATP and inorganic phosphate concentrations between all groups of OAs. Patients with IVA did not exhibit abnormalities in energy metabolism.

In conclusion PA is associated with a previously unknown MetS-like phenotype presenting with abdominal adiposity and ectopic lipid depositions. Causes remain unclear, however disease specific increased accumulation of oxidative stress and reduced energy demand and expenditure could be causative. Our results emphasize the relevance of detecting alterations in energy metabolism for long-term management of OAs. Early screening for cardiometabolic risk factors could be beneficial for the long-term outcome in patients with PA.

Abkürzungsverzeichnis

°C Grad Celsius

% Prozent

μU Mikrounits

Abb. Abbildung

AdoCBL Adenosylcobalamin

ADP Adenosindiphosphat

AP Alkalische Phosphatase

AS Aminosäure(n)

ATP Adenosintriphosphat

AUC *Area under the curve*

BCAA Verzweigt-kettige Aminosäure(n)

BCM Biozelluläre Masse

BIA Bioelektrische Impedanzanalyse

BMI *Body Mass Index*

CK Kreatinkinase

Cm Zentimeter

Cm³ Kubikzentimeter

COX Cytochrom-c-Oxidase

DDZ Deutsches Diabetes Zentrum

DI Deziliter

DM Diabetes mellitus

ECM Extrazelluläre Masse

FADH₂ Flavin-Adenin-Dinukleotid

FFA Freie Fettsäuren

G Gramm

GFR Glomeruläre Filtrationsrate

GGT Gamma-Glutamyltransferase

GOT Aspartat-Aminotransaminase

GPT Alanin-Aminotransaminase

¹H-MRS Protonen-Magnetresonanzspektroskopie

Hb(A1c) (glykosyliertes) Hämoglobin

HCO₃ Bikarbonat

HDL *High-density lipoprotein*

HOMA-IR *Homeostasis model assessment of insulin resistance*

IR Insulinresistenz

ISIS *Image selected in vivo spectroscopy*

IVA Isovalerianazidämie

IVD Isovaleryl-CoA-Dehydrogenase

jMRUI Java-based Magnetic Resonance User Interface

Kcal Kilokalorien

Kg Kilogramm

KG Körpergewicht

M² Quadratmeter

MCH Mittleres korpuskuläres Hämoglobin

MCHC Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration	³¹P-MRS Phosphor-Magnetresonanzspektroskopie
MCM Methylmalonyl-CoA-Mutase	PA Propionazidämie
MCV Mittleres korpuskuläres Volumen	PCC Propionyl-CoA-Carboxylase
MeCBL Methylcobalamin	pCO₂ Kohlenstoffdioxidpartialdruck
MetS Metabolisches Syndrom	PCr Phosphokreatin
Mg Milligramm	Pi anorganisches Phosphat
MI Milliliter	pO₂ Sauerstoffpartialdruck
Mm Millimeter	PRESS <i>Point resolved spectroscopy sequence</i>
MMA Methylmalonazidämie	QUICKI <i>quantitative insulin-sensitivity check index</i>
MMA CBL Cobalaminsynthese-Defekt	ROS reaktive Sauerstoffspezies
MmHg Millimeter-Quecksilbersäule	SDS <i>Standard Deviation Scores</i>
Mmol Millimol	STEAM <i>Stimulated echo acquisition mode</i>
MRS Magnetresonanzspektroskopie	Tab. Tabelle
Ms Millisekunden	TAG Triacylglycerol
mtDNA mitochondriale Desoxyribonukleinsäure	TBARS Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen
MTORC1 <i>Mammalian target of rapamycin complex 1</i>	TP absoluter Phosphatgehalt
NADH Nikotinamidadenindinukleotid	TSH Thyroidea stimulierendes Hormon
NAFLD Nicht-alkoholische Fettleber	T2DM Diabetes mellitus Typ 2
OA Organoazidopathie	UE Untereinheit(en)
OGIS <i>Oral Glucose Insulin Sensitivity</i>	UKD Universitätsklinikum Düsseldorf
OGTT Oraler Glukosetoleranztest	VOI <i>Volume of interest</i>
OXPHOS Oxidative Phosphorylierung	

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung	I
Summary	II
Abkürzungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	VIII
Abbildungsverzeichnis	IX
1. Einleitung	1
1.1 Mitochondrialer Katabolismus der verzweigt-kettigen Aminosäuren	1
1.2 Organoazidopathien: Spezifische Störungen im mitochondrialen Katabolismus der verzweigt-kettigen Aminosäuren	2
1.3 Klassische Organoazidopathien: Klinischer Verlauf und Therapien	5
1.3.1 Manifestation der Erkrankung	5
1.3.2 Komplikationen der klassischen Organoazidopathien	5
1.3.3 Therapie der klassischen Organoazidopathien	6
1.4 Mitochondriale Dysfunktion und oxidativer Stress bei Organoazidopathien	7
1.4.1 Entstehung von oxidativem Stress	7
1.4.2 Veränderte zelluläre Morphologie in Organoazidopathien	8
1.4.3 Gestörte Energiegewinnung in Organoazidopathien durch Veränderungen im Citratzyklus und der Atmungskette	8
1.4.4 Vermehrte ROS-Produktion und Wirksamkeit von Antioxidantien in der Therapie der Organoazidopathien	9
1.5 Einfluss des Metabolismus verzweigt-kettiger Aminosäuren auf den Glukosestoffwechsel	10
1.6 Glukosestoffwechsel und kardiometabolische Risikofaktoren in Organoazidopathien	11
1.7 Mitochondriale Dysfunktion und oxidativer Stress in der Entstehung einer Insulinresistenz	13
1.7.1 Einfluss von oxidativem Stress auf den Glukosestoffwechsel	13
1.7.2 Einfluss von ektopen Lipiden auf den Glukosestoffwechsel	13
1.8 Forschungslücke, Hypothesen und Ziele der Studie	15
2 Material und Methoden	16
2.1 Studiendesign und Teilnehmer	16
2.2 Rekrutierung	16
2.3 Kontrollgruppen	17

2.4	Ablauf des Visits für Patienten	18
2.5	Anthropometrische Messungen	18
2.6	Phänotypisierung der Patienten	19
2.7	Diätplan und Nacht Mahlzeit	20
2.8	Biochemische Marker	21
2.9	Oraler Glukosetoleranztest	22
2.10	Probenaufbereitung und Probenanalyse	22
2.11	Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies	24
2.12	Leukozytenrespirometrie	24
2.13	Magnetresonanztomographie	24
2.13.1	Ektopisches Fett in Leber und Skelettmuskel	25
2.13.2	Phosphat-Metabolite in Leber und Skelettmuskel	25
2.14	Lebersonografie	26
2.15	Statistik	27
3	Ergebnisse	28
3.1	Die Studienpopulation	28
3.2	Krankheitsspezifische Marker der Organoazidopathien	28
3.3	Anthropometrische Messungen	32
3.4	Kontrollierte Energie- und Nährstoffzufuhr	33
3.5	Metabolisches Syndrom und kardiometabolische Risikofaktoren	36
3.6	Veränderungen der Leberstruktur und Leberzellschädigung	39
3.7	Intramyozelluläre Lipide und Energiestoffwechsel des Skelettmuskels	40
3.8	Glukose- und Insulinstoffwechsel	42
3.9	Produktion reaktiver Sauerstoffspezies und Leukozytenrespirometrie	45
3.10	Parameter der Nierenfunktion	47
4	Diskussion	48
4.1	Krankheitsspezifische Phänotypen der Organoazidopathien	48
4.1.1	Veränderungen im Glukosestoffwechsel	48
4.1.2	Propionazidämie: Erhöhte Prävalenz eines Metabolischen Syndroms	49
4.1.3	Propionazidämie: Vermehrte Leberverfettung	50
4.1.4	Phänotypen der Methylmalonazidämie und Isovalerianazidämie	51
4.1.5	Energiestoffwechsel der Leber	53
4.1.6	Hepatomegalie und strukturelle Leberveränderungen	54
4.1.7	Energiestoffwechsel des Skelettmuskels	55
4.2	Genese des Metabolischen Syndroms bei Patienten mit Propionazidämie	56
4.2.1	Energiezufuhr	56

4.2.2 Anabolisierungstherapien und Sondierungen.....	57
4.2.3 Energieverbrauch	58
4.2.4 Oxidativer Stress in der Entstehung des kardiometabolischen Risikoprofils	60
4.3 Stärken und Schwächen der Studie	61
4.4 Zusammenfassung und Ausblick	63
5 Literaturverzeichnis	64
6 Anhang	71
Danksagung	

Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Klinische und biochemische Charakteristika der Studienpopulation.....	30
Tab. 2: Bioelektrische Impedanzanalyse.....	32
Tab. 3: Tägliche Energie- und Makronährstoffzufuhr der Patienten mit PA und MMA.....	34
Tab. 4: Komponenten des Metabolischen Syndroms in den Erkrankungsgruppen	37
Tab. 5: Energiestoffwechsel von Leber und Skelettmuskel.....	41
Tab. 6: Parameter der Insulinsensitivität und -sekretion	44
Tab. 7: Parameter der Nierenfunktion	47

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Strukturformeln der verzweigt-kettigen Aminosäuren.....	1
Abb. 2: Katabolismus der verzweigt-kettigen Aminosäuren.....	2
Abb. 3: Isovaleryl-CoA.....	3
Abb. 4: Propionyl-CoA.....	3
Abb. 5: Methylmalonyl-CoA.....	4
Abb. 6: Triacylglycerol.....	25
Abb. 7: Metabolisches Syndrom und kardiometabolische Risikofaktoren.....	38
Abb. 8: Fettgehalt der Leber.....	39
Abb. 9: Parameter des Skelettmuskels.....	40
Abb. 10: Glukosekonzentration im Blut während des oralen Glukosetoleranztests.....	43
Abb. 11: Parameter des oxidativen Stresses.....	46

1. Einleitung

1.1 Mitochondrialer Katabolismus der verzweigt-kettigen Aminosäuren

Organoazidopathien (OA) sind eine Gruppe hereditärer Erkrankungen des Stoffwechsels, die aufgrund unzureichender Aktivität spezifischer Enzyme oder Kofaktoren im Katabolismus von Aminosäuren (AS), Kohlenhydraten oder Lipiden entstehen [1, 2]. Diese Enzymdefekte führen zu einer Akkumulation von verschiedenen Metaboliten im Körper und zu einer charakteristischen Ausscheidung spezifischer organischer Säuren im Urin.

Propionazidämie (PA), Methylmalonazidämie (MMA) und Isovalerialazidämie (IVA) werden als *klassische OAs* bezeichnet. Sie entstehen durch genetisch bedingte Enzymdefekte im Katabolismus der verzweigt-kettigen AS (*branched-chain amino acids*, BCAA) Leucin, Isoleucin und Valin (Abb. 1) [2].

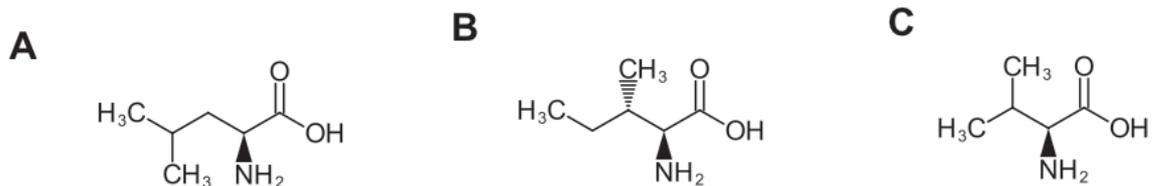


Abb. 1: Strukturformeln der verzweigt-kettigen Aminosäuren. (A) Leucin, (B) Isoleucin und (C) Valin.

Die BCAA durchlaufen zunächst einen gemeinsamen Abbauweg, der hauptsächlich im Skelettmuskel stattfindet (Abb. 2) [3]. Leucin wird zu Acetoacetat und Acetyl-CoA katabolisiert. Letzteres fließt in den Citratzyklus ein. Isoleucin wird zu Acetyl-CoA und Propionyl-CoA abgebaut, welches dann zu Methylmalonyl-CoA carboxyliert wird. Dieses wird zu Succinyl-CoA isomerisiert und fließt auch in den Citratzyklus ein. Valin wird ebenfalls zu Propionyl-CoA katabolisiert. Acetyl-CoA und Succinyl-CoA können zudem für die Lipogenese verwendet werden [3].

Die zirkulierenden Konzentrationen an BCAA können die Synthese von Neurotransmittern und Fettsäuren sowie die Proteinsynthese in verschiedenen Geweben beeinflussen [4]. Vor allem der Katabolismus von Leucin ist strikt reguliert [5]. Die AS aktiviert den *mammalian target of rapamycin complex 1* (mTORC1), welcher die Translation von Proteinen aktiviert, initiiert dadurch Zellwachstum und fördert den Proteinanabolismus [6].

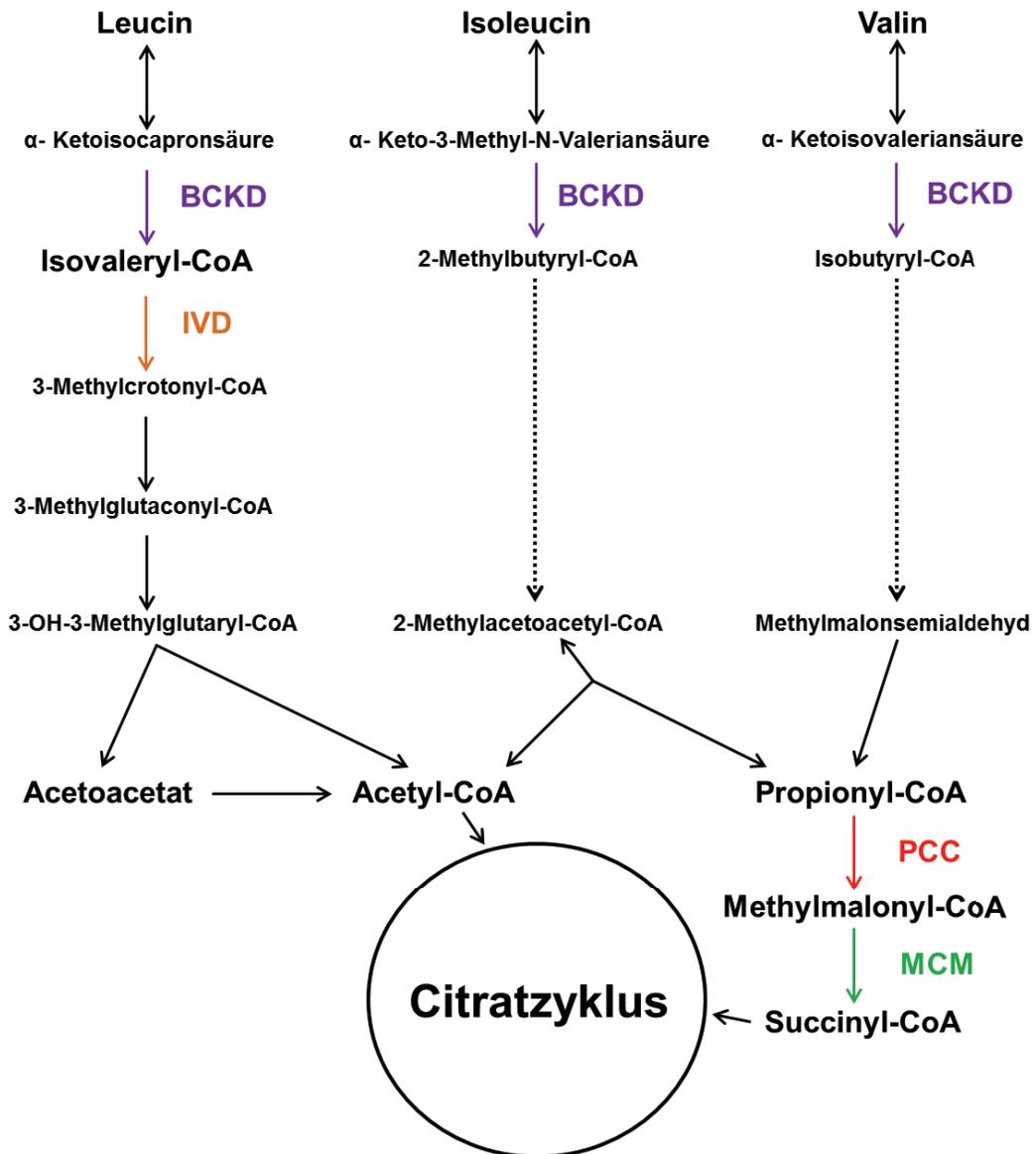


Abb. 2: Katabolismus der verzweigt-kettigen Aminosäuren. Die relevanten Enzyme der beschriebenen Erkrankungen sind bunt dargestellt. Ketosäure-Dehydrogenase-Komplex (BCKD); Isovaleryl-CoA-Dehydrogenase (IVD); Propionyl-CoA-Carboxylase (PCC); Methylmalonyl-CoA-Mutase (MCM). Modifiziert nach Saudubray, Berghe und Walter, 2012, S. 246 [3]. Genehmigung vermittelt durch Copyright Clearance Center, Inc.

1.2 Organoazidopathien: Spezifische Störungen im mitochondrialen Katabolismus der verzweigt-kettigen Aminosäuren

Die IVA entsteht durch einen Defekt des Flavoenzyms Isovaleryl-CoA-Dehydrogenase (IVD) im Abbau von Leucin. Die IVD katalysiert die Dehydrogenierung von Isovaleryl-CoA (Abb. 3) zu 3-Methylcrotonyl-CoA und überträgt Elektronen auf das elektronentransferierende Flavoprotein [7]. Aus dem Defekt resultiert eine Akkumulation

von Derivaten des Isovaleryl-CoAs [8], wie die Isovaleriansäure, 3-Hydroxyisovaleriansäure und N-Isovalerylglycin.

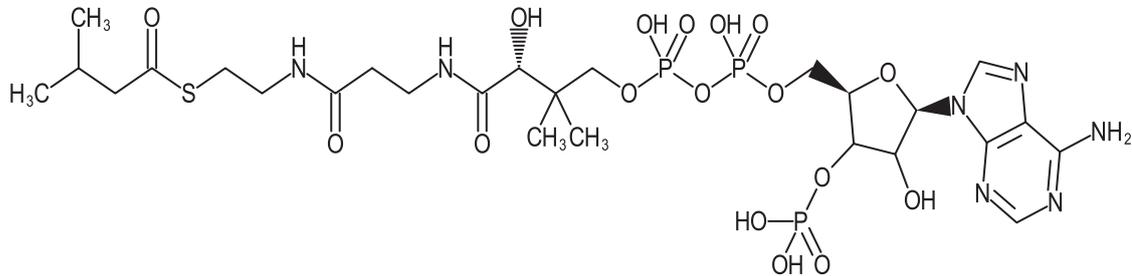


Abb. 3: Isovaleryl-CoA

PA und MMA entstehen durch Enzymdefekte im Katabolismus von Isoleucin und Valin. Bei der PA liegt ein Defekt der Propionyl-CoA-Carboxylase (PCC) vor [9], welche intramitochondrial Propionyl-CoA (Abb. 4) Adenosintriphosphat (ATP)-abhängig zu D-Methylmalonyl-CoA reversibel carboxyliert und dabei Biotin als Kofaktor nutzt. Die PCC besteht aus einer PCCA- und einer PCCB-Untereinheit (UE). Ein Defekt in einer der beiden UE, kann zu einer PA führen [10] und es akkumulieren Propionsäure sowie Propionylcarnitin, 3-Hydroxypropionat und Methylcitrat [3, 10]. D-Methylmalonyl-CoA wird anschließend zu L-Methylmalonyl-CoA racemisiert.

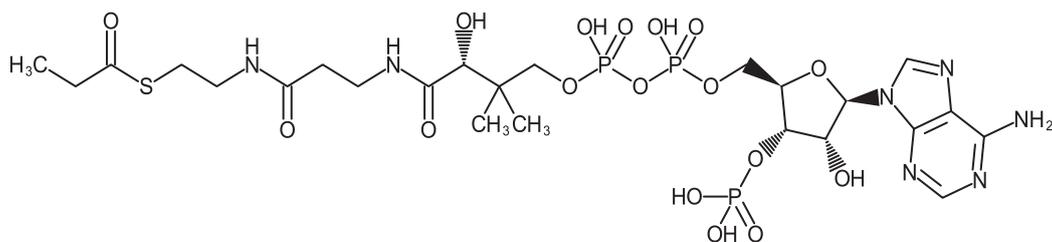


Abb. 4: Propionyl-CoA

Die MMA wird durch einen Defekt des homodimeren Apoenzyms Methylmalonyl-CoA-Mutase (MCM) oder der Methylmalonyl-Epimerase verursacht. Die MCM katalysiert die Umwandlung von L-Methylmalonyl-CoA (Abb. 5) zu Succinyl-CoA [11]. Dieser Schritt erfordert Adenosylcobalamin (AdoCBL) als Kofaktor [12].

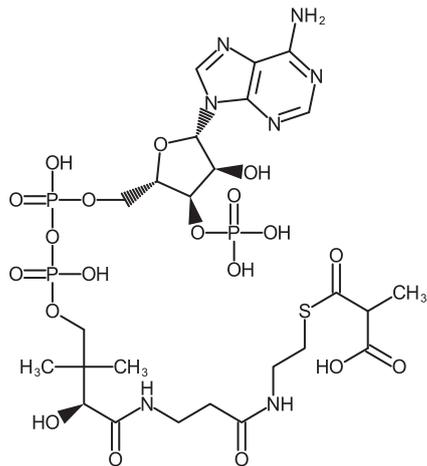


Abb. 5: Methylmalonyl-CoA

Bei Defizienz der MCM oder des AdoCBL akkumuliert Methylmalonsäure in hohen Mengen [13]. Durch eine sekundäre Inhibierung der PCC akkumulieren zudem Propionsäure und deren Metabolite [3]. Es wurden zwei Subgruppen der MCM-Defizienzen beschrieben: Bei einem mut^- -Defekt besteht eine residuale Restaktivität des Enzyms, während bei einem mut^0 -Defekt ein vollständiger Verlust der Enzymaktivität vorliegt [12].

Eine MMA kann außerdem durch eine gestörte Synthese des AdoCBL, so wie sie bei den Defekten CblA und CblB vorliegt, entstehen und wird dann als MMA durch Cobalaminsynthese-Defekt (MMA CBL) bezeichnet. Ein weiteres Enzym im menschlichen Körper, welches Cobalamin als Kofaktor benötigt, ist die Methionin-Synthase. Sie verwendet Methylcobalamin (MeCBL), um Homocystein zu Methionin umzuwandeln. Besteht ein Defekt des MeCBL, kommt es zu einer Homocystinurie [13]. Bei den kombinierten Defekten CblC, CblD und CblF liegen eine MMA und eine Homocystinurie zugleich vor [14].

Durch die beschriebenen Enzymdefekte im Abbau der BCAA wird vermindert Acetyl-CoA bzw. Succinyl-CoA produziert, weshalb weniger Substrate über anaplerotische Reaktionen in den Citratzyklus einfließen. Dies führt zu einer verminderten Energiegewinnung über die oxidative Phosphorylierung (OXPHOS) [15]. Succinyl-CoA ist zudem ein wichtiges Substrat der Glukoneogenese [16]. Sowohl bei PA als auch bei MMA inhibiert die Akkumulation von Propionyl-CoA den Citratzyklus und Harnstoffzyklus [17].

1.3 Klassische Organoazidopathien: Klinischer Verlauf und Therapien

1.3.1 Manifestation der Erkrankung

Die klinischen Erscheinungsformen einer OA sind sehr variabel und können unspezifisch sein [18]. Neugeborene können sich bereits mit schwerer metabolischer Azidose präsentieren (*Early Onset*) [19]. Später im Leben manifestieren sich OAs oftmals im Rahmen einer katabolen Stoffwechsellage oder Proteinbelastung, wie zum Beispiel Fieber, Infekte mit reduzierter Nahrungsaufnahme oder eine sehr proteinreiche Nahrung [19].

Symptome können Nahrungsverweigerung, Erbrechen und Gewichtsverlust sein. Neurologisch weisen die Patienten Hypotonien, Lethargien, Enzephalopathien sowie Krampfanfälle bis hin zum Koma auf. Unbehandelt können innerhalb weniger Tage schwere Hirnschäden entstehen oder die Erkrankung kann letal verlaufen [19]. Laborchemisch hinweisend sind Hyperammonämie, Ketoazidose, Laktatazidose, eine erhöhte Anionenlücke und gegebenenfalls eine Hypoglykämie [20].

In der späteren Kindheit und im Erwachsenenalter (*Late Onset*) fallen manche Patienten durch Bewegungsstörungen, geistige Retardierung, Epilepsien oder psychiatrische Beschwerden auf. Es wird vermutet, dass das Alter der Manifestation positiv mit der enzymatischen Restaktivität korreliert [21].

Die klinische Präsentation bei der IVA kann sehr variabel sein und von schwer morbiden Patienten mit akuter Stoffwechselentgleisung bis hin zu einer Entwicklungsverzögerung oder asymptomatischen Individuen reichen [22, 23]. Ein Körpergeruch, der aufgrund des vermehrten Anfalls von Isovaleriansäure in Körperflüssigkeiten, "käsige" riecht und an "Schweißfüße" erinnert, kann wegweisend sein [8].

Bei Verdacht auf eine OA beruht die Diagnostik auf einem spezifischen Acylcarnitinprofil und dem Nachweis charakteristischer organischer Säuren im Urin. Eine genetische oder enzymatische Bestätigung sollte zusätzlich erfolgen [24]. PA, MMA und IVA werden autosomal-rezessiv vererbt. Pränataldiagnostik kann bei allen drei OAs durchgeführt werden [14, 25]. Die jeweiligen Prävalenzen liegen zwischen 1: 50.000- 1: 100.000 [24].

1.3.2 Komplikationen der klassischen Organoazidopathien

Chronische Komplikationen sind variabel und teilweise krankheitsspezifisch [24]. Unspezifische Komplikationen können Entwicklungsrückstände, muskuläre Hypotonie, Pankreatitiden [26, 27], Optikusneuropathie [28] und rezidivierende metabolische

Entgleisungen [24] sein. Hyperammonämien können zu Hirnödemen und Enzephalopathie führen [24]. Epilepsien, Läsionen der Basalganglien und Bewegungsstörungen sind zudem als neurologische Schäden beschrieben [29]. Ebenfalls wurden Panzytopenien berichtet [10, 30, 31]. Einige Symptome bei OAs sind ungeklärter Genese [21, 22, 32, 33], generell scheinen Patienten mit PA und MMA im Vergleich zu IVA ein schlechteres Langzeit-*Outcome* zu haben [20, 34, 35].

Spezifisch für die PA sind kardiologische Komplikationen, wie das *Long-QT-Syndrom* und Kardiomyopathien [10, 36]. Die Prognose bei PA gilt insbesondere neurologisch als ungünstig [35]. Während eine frühe Diagnose möglicherweise die Mortalität reduziert, schien diese bislang keinen Vorteil für den klinischen Verlauf, die Entwicklung und Langzeitkomplikationen zu bringen [37].

Von den klassischen OAs hat die IVA die beste neuropathologische Prognose [34]. Eine frühe Diagnose zeigte einen positiven Einfluss auf die neurologische und kognitive Entwicklung und senkte die Mortalität bei Neugeborenen [34]. Seitdem die IVA Bestandteil des Neugeborenen Screenings ist, werden auch vermehrt klinisch milde oder asymptomatische Formen der IVA detektiert [38-40].

Bei Patienten mit klassischer MMA zeigen sich durch die erhöhte Ausscheidung von Methylmalonsäure vor allem renale Komplikationen, die mit einer Hyperurikämie, tubulointerstitiellen Nephritiden und progressivem Nierenversagen in der zweiten Lebensdekade einhergehen. Im Verlauf werden Hämodialyse und Nierentransplantation oftmals erforderlich [3]. Die klinische Präsentation bei MMA CBL und einer klassischen MMA ist meist ähnlich. Bei einem mut^0 - und CBL B-Defekt sind die renalen Komplikationen am schwerwiegendsten [10] und die Mortalität höher als bei Patienten mit mut^- und CblA-Defekt [12]. Patienten mit CblC-Defekt sind vermehrt von ophthalmologischen Komplikationen, wie der pigmentären Retinopathie oder einer Makulopathie betroffen [14].

1.3.3 Therapie der klassischen Organoazidopathien

Eine umgehende Therapie ist noch vor abgeschlossener Diagnostik erforderlich, da die Schwere der Entgleisung (Dauer des Komas; Höhe des Ammoniakspiegels) bei der initialen metabolischen Entgleisung die langfristige neurologische Entwicklung beeinflusst [10]. Ziel der Akuttherapie ist die umgehende Anabolisierung des Patienten durch eine sofortige Proteinrestriktion und ausreichende Glukose- und Flüssigkeitszufuhr [10]. Eine Hämodialyse zur Entfernung der Toxine kann erforderlich sein [41].

Ziel der Langzeittherapie ist die Akkumulation toxischer Metabolite zu reduzieren. Ein ausreichender Ernährungszustand muss gewährleistet sein, um eine katabole Stoffwechsellage zu verhindern und eine normale körperliche Entwicklung zu ermöglichen [3]. Die individuelle Proteintoleranz wird getestet und ein Diätplan mit reduzierter Proteinzufuhr und ausreichender Kalorienzufuhr erstellt. Die dauerhafte Ernährung über ein Gastrostoma kann erforderlich sein. L-Carnitin wird aufgrund der vermehrten Ausscheidung von Acylcarnitinen empfohlen, um einen Carnitinmangel zu vermeiden. Metronidazol kann bei Patienten mit PA und MMA verabreicht werden, um die mikrobielle Propionat-Produktion zu reduzieren. Natriumbenzoat kann zudem die Hyperammonämie verbessern [3, 41]. Die Supplementierung von Citrat als anaplerotische Therapie konnte in einer Studie bei drei Patienten mit PA die Ausscheidung von α -Ketoglutarat, Succinat und Fumarat, als Intermediate des Citratzyklus, erhöhen und langfristig die Hospitalisierungsrate senken und könnte somit nach weiterer Testung ein zukünftiges Therapiekonzept darstellen [17].

Bei allen von einer MMA betroffenen Patienten muss die Cobalamin-Responsivität *in vivo* getestet werden. Bei vorhandener Responsivität wird Hydroxycobalamin supplementiert [14]. Neben der Nierentransplantation bei Patienten mit MMA, wurden bei einigen Patienten mit PA und MMA Lebertransplantationen durchgeführt. Es zeigte sich dadurch eine metabolische Stabilisierung, welche an einer signifikanten Reduktion der Laktat- und Methylmalonsäure-Werte im Serum gemessen wurde sowie eine Verminderung von Folgeerkrankungen [42].

1.4 Mitochondriale Dysfunktion und oxidativer Stress bei Organoazidopathien

1.4.1 Entstehung von oxidativem Stress

Mitochondrien sind Zellorganellen, die über den Citratzyklus und über die in der Atmungskette stattfindende OXPHOS Energie in Form von ATP gewinnen. Gewebe mit hohem Energiebedarf sind somit bei gestörter Mitochondrienfunktion besonders vulnerabel. Die OXPHOS ist außerdem die Hauptquelle reaktiver Sauerstoffspezies (ROS) [43, 44], und es konnte ein Zusammenhang zwischen abnormer Mitochondrienfunktion und ROS gezeigt werden [1, 45].

ROS entstehen durch fortlaufende Reduktion von molekularem Sauerstoff (O_2). Zu ihnen gehören Hyperoxidanionen, Wasserstoffperoxid und Hydroxyl-Radikale. Sie sind chemisch instabil und haben eine starke Tendenz mit biologischen Molekülen zu reagieren und diese zu schädigen [43]. Antioxidative Systeme, wie die

Superoxiddismutase, Katalase und Glutathionperoxidase können ROS abfangen. Als oxidativer Stress wird eine Imbalance zwischen Produktion und Degradierung von ROS bezeichnet [43]. ROS sowie reaktive Stickstoffspezies können Schäden an intramitochondrialen Lipiden, Proteinen und mitochondrialer DNA (mtDNA) verursachen und so über die Zerstörung des Membranpotentials zum Zelltod führen [43, 44, 46].

In den letzten Jahren gab es zunehmend Hinweise, dass bei OAs durch die Akkumulation spezifischer toxischer Metabolite, eine mitochondriale Dysfunktion und vermehrt ROS entstehen und dadurch die Pathophysiologie der Erkrankungen beeinflussen [44].

1.4.2 Veränderte zelluläre Morphologie in Organoazidopathien

Die Morphologie der Mitochondrien bei Patienten mit OAs weist auf eine mitochondriale Dysfunktion hin. Es konnte eine veränderte mitochondriale Ultrastruktur im Skelettmuskel von zwei Patienten mit PA gefunden werden [47]. Wilnai und Kollegen beschrieben zudem Mitochondrien variabler Größe mit abnormaler Ultrastruktur in den Hepatozyten von fünf MMA-Patienten mit mut^0 -Defekt. In der Elektronenmikroskopie beobachteten sie außerdem eine stark ausgedehnte innere Matrix und sehr kleine, nicht zusammenhängende Cristae [30].

Auch in den renalen Tubuluszellen von mut^- -Mäusen sowie in Nierenbiopsaten von drei Patienten mit MMA wurden Megamitochondrien und eine veränderte mitochondriale Ultrastruktur beobachtet [48]. Dies stimmt mit den Ergebnissen von Chandler und Kollegen überein, die an einem *Mut-knock-out*-Mausmodell Megamitochondrien in Hepatozyten, exokrinem Pankreas und proximalen Tubuli der Niere fanden. Die Hepatozyten eines Patienten mit MMA wiesen ebenfalls eine ähnliche Morphologie auf [49].

1.4.3 Gestörte Energiegewinnung in Organoazidopathien durch Veränderungen im Citratzyklus und der Atmungskette

Schwab und Kollegen untersuchten den Einfluss von Propionyl-CoA auf den mitochondrialen Energiestoffwechsel in Rinderherzen [47]. Es zeigte sich ein hemmender Einfluss von Propionyl-CoA auf den Pyruvat-Dehydrogenase-Komplex, welcher in der Energiegewinnung aus Kohlenhydraten die Glykolyse mit dem Citratzyklus verbindet, sowie auf den α -Ketoglutarat-Dehydrogenase-Komplex und den Komplex III der Atmungskette. Es wurde zudem beschrieben, dass die Aktivität der Cytochrom-c-Oxidase (COX) in den hepatischen Mitochondrien von zwei Patienten mit PA und einem Patienten

mit MMA um bis zu 30% im Vergleich zu der Kontrollgruppe reduziert war [50]. An den Herz- und Skelettmuskelzellen einer plötzlich an Herzversagen verstorbenen achtjährigen PA-Patientin wurde die Abwesenheit der Cytochrom-c-Reduktase des ersten und dritten Komplexes der Atmungskette festgestellt. Die anderen Komplexe waren in diesem Fall unauffällig [51].

De Keyzer und Kollegen untersuchten die Atmungskette, Enzymaktivitäten des Citratzyklus in verschiedenen Geweben und oxidativen Stress in Fibroblasten von zwei Patienten mit PA und vier Patienten mit MMA *in vitro*. Es konnte eine OXPHOS-Defizienz in Leber, Skelettmuskel, Herz und Niere bei einem Teil der Patienten gefunden werden. Die Enzymaktivität des Citratzyklus war normal, ROS waren hingegen bei zwei Patienten erniedrigt [15].

Caterino und Kollegen analysierten und verglichen das hepatische Proteom von sechs Patienten mit schwerwiegender MMA mit dem einer Kontrollgruppe [52]. Es wurde eine Deregulierung der Expression verschiedener Enzyme im Energiestoffwechsel, welche im Citratzyklus, der Atmungskette und der Glukoneogenese beteiligt sind, festgestellt. Vor allem die anaplerotischen Reaktionen des Citratzyklus waren vermindert. Dies wurde als eine mögliche metabolische Adaptation an eine mitochondriale Dysfunktion diskutiert [52].

In einem *Mut-knock-out*-Mausmodell wurde eine verminderte Aktivität der COX, eine verstärkte Citrat-Synthese in den Hepatozyten und eine reduzierte intrazelluläre Glutathionkonzentration beobachtet [49]. Eine reduzierte Aktivität der Natrium-Kalium-ATPase sowie der Citrat-Synthase wurde in synaptischen Membranen des zerebralen Kortex von Ratten gemessen, nachdem dieser mit Isovaleriansäure inkubiert wurde. Als Ursache wurde die Bildung freier Radikale vermutet. Das Hinzugeben verschiedener Antioxidantien, wie z.B. Kreatin und Trolox, konnte diese Inhibierung verhindern, was die Hypothese untermauerte [53, 54].

1.4.4 Vermehrte ROS-Produktion und Wirksamkeit von Antioxidantien in der Therapie der Organoazidopathien

Bei der Untersuchung der *in vitro* Effekte von Methylmalonsäure auf das zerebrale Synaptosom junger Ratten zeigte sich, dass Methylmalonsäure Lipidperoxidation sowie oxidative Schäden an Proteinen induzieren kann und die Glutathionperoxidase hemmt. Diese Effekte konnten durch die Gabe von Antioxidantien vermindert werden [55].

An einem weiteren PA-Mausmodell wurde festgestellt, dass die Antioxidantien MitoQ und Resveratrol eine Reduktion des oxidativen Stresses sowie eine Zunahme antioxidativer

Proteine in der Leber, und Resveratrol ebenfalls im Herzen, bewirken können. Zudem konnte das bei PA erhöhte B-natriuretische Peptid, ein Marker für kardiale Hypertrophie, sowohl durch MitoQ als auch durch Resveratrol signifikant gesenkt werden [56].

In den Fibroblasten von zehn Patienten mit PA wurden im Vergleich zu Fibroblasten einer Kontrollgruppe erhöhte ROS-Konzentrationen, welche mit der Stärke des genetischen Defekts korrelierten, gemessen [57]. In einem Folgeversuch wurden die Fibroblasten mit den Antioxidantien Tiron, Trolox, Resveratrol und MitoQ behandelt. Durch diese, nicht aber durch Tocopherol, konnte die ROS-Produktion zwischen 15 – 80% reduziert werden [58]. An einem hypomorphen PA-Mausmodell fand man außerdem vermehrte Lipidperoxidation, Superoxidanionen-Produktion und erhöhte Wasserstoffperoxid-Konzentrationen in verschiedenen Geweben [59].

Es konnte zudem bei Patienten mit MMA eine positive Korrelation zwischen den Urinkonzentrationen der F2-Isoprostanen, ein etablierter Marker zur Messung von ROS induzierter Lipidperoxidation, und Lipocalin-2 als Prädiktor für den Verlust an Glomerulärer Filtrationsrate (GFR) beobachtet werden. Dies weist auf einen Zusammenhang zwischen Menge der ROS-Produktion und Schweregrad der Nierenfunktionsstörung hin. Des Weiteren konnte eine Verbesserung der Nierenfunktion bei Gabe von Antioxidantien, wie Tocopherol und Coenzym Q₁₀ gezeigt werden [48].

Erhöhte Konzentrationen an ROS und mitochondrialer Superoxiddismutase wurden zudem in Fibroblasten von Patienten mit MMA im Vergleich zu einer Kontrollgruppe gemessen. Die erhöhten ROS-Konzentrationen zeigten sich vor allem bei Patienten mit MMA CbIB [60].

Die therapeutische Gabe von Antioxidantien bei Patienten mit OA scheint daher sinnvoll zu sein. Es fehlen aktuell jedoch noch systematische klinische Studien, die deren Wirksamkeit belegen [10].

1.5 Einfluss des Metabolismus verzweigtkettiger Aminosäuren auf den Glukosestoffwechsel

Auch der Zusammenhang zwischen BCAA und dem Glukosestoffwechsel wurde in den letzten Jahren zunehmend untersucht. Zirkulierende und intrazelluläre Konzentrationen verschiedener BCAA-Metabolite können zahlreiche Effekte auf den Energiemetabolismus und Insulinsignalwege ausüben [61]. Paradoxerweise konnten sowohl positive als auch negative Effekte für den Stoffwechsel festgestellt werden [62].

Man fand einen positiven Einfluss von BCAA auf die Körperkomposition, das Sättigungsgefühl und niedrigere Plasma-Glukosespiegel sowie Cholesterolverte. Es wurde zudem berichtet, dass hohe BCAA-Plasmaspiegel mit einer verbesserten Glukosetoleranz und Insulinsensitivität assoziiert sind und eine gesteigerte Glukoseaufnahme in den Muskel stimulieren [63].

Im Widerspruch dazu zeigten andere Studien höhere BCAA-Plasmaspiegel in übergewichtigen Individuen im Vergleich zu Normalgewichtigen und ein damit einhergehendes erhöhtes Risiko für die zukünftige Entwicklung einer Insulinresistenz (IR) und eines Diabetes Mellitus Typ 2 (T2DM) [64]. Dabei ist unklar, ob BCAA dafür verursachend oder lediglich Biomarker für eine IR sind [65]. Sie wurden außerdem mit dem metabolischen Syndrom (MetS) und kardiovaskulären Erkrankungen in Verbindung gebracht [64].

Für die Assoziation zwischen erhöhten BCAA-Plasmaspiegeln und IR diskutierten Lynch und Kollegen [64] verschiedene Hypothesen. Einerseits benannten sie die permanente Aktivierung von mTORC1 und der ribosomalen S6-Kinase durch erhöhte BCAA-Spiegel. Diese führt über die Serin-Phosphorylierung der Insulinrezeptorsubstrate 1 und 2 zu einer IR [66]. Es bleibt aber umstritten, ob die zirkulierenden Mengen an BCAA für diesen Mechanismus ausreichen. Eine weitere diskutierte Theorie bezieht sich auf die potenziell mitotoxischen BCAA-Metabolite, die in einem gestörten BCAA-Katabolismus akkumulieren. Diese können zu einer gestörten Mitochondrienfunktion in den pankreatischen Betazellen und zu einer Apoptose dieser führen. Folglich würde daraus eine verminderte Insulinsekretion resultieren [64].

1.6 Glukosestoffwechsel und kardiometabolische Risikofaktoren in Organoazidopathien

Es besteht die Hypothese, dass eine gestörte Mitochondrienfunktion, wie sie bei Patienten mit klassischen OAs beobachtet wird, zu einer IR oder deren klinischem Korrelat – dem MetS oder einem kardiometabolischem Risikoprofil – führen kann [1, 67-70].

Ein kardiometabolisches Risikoprofil definiert sich als Akkumulation von Risikofaktoren, die eng mit T2DM und/oder kardiovaskulären Erkrankungen assoziiert ist. Wie von der *American Academy of Pediatrics* empfohlen wurde, sollte es im Fokus bei Vorsorgeuntersuchungen von Kindern und Jugendlichen stehen [1, 69]. Diese Risikofaktoren umfassen eine viszerale Adipositas, Nüchtern-Hyperglykämie,

Dyslipidämie, erhöhte Triglyzeride und niedriges *High density lipoprotein* (HDL)-cholesterol sowie erhöhten Blutdruck.

So berichteten Dweikat und Kollegen [71] von einem 9 Monate alten Säugling und Joshi und Kollegen [72] von einem 11 Monate alten Säugling jeweils mit PA, bei denen sich die Erkrankung mit Zeichen einer diabetischen Ketoazidose präsentierte. Unter adäquater Therapie der Grunderkrankung normalisierten sich die Glukosewerte. Ebenso berichteten Guven und Kollegen [73] und Dejkhamron und Kollegen [74] über Patienten mit MMA und diabetischer Ketoazidose. Auch von Patienten mit IVA wurden Fälle mit diabetischer Ketoazidose beschrieben [75, 76].

Der Mechanismus, wie Stoffwechselerkrankungen zu Diabetes mellitus (DM) führen können ist bislang unklar. Alfadhel und Kollegen [77] sahen vor allem die Akkumulation toxischer Metabolite im Pankreas mit daraus resultierender Zerstörung der Struktur und Funktionalität des Pankreas als Ursache eines DM bei OA. Pankreatitiden können zudem im Rahmen von metabolischen Entgleisungen bei Patienten mit OAs auftreten [10]. Wie bei Defekten der Atmungskette, könnte zudem die gestörte mitochondriale Energiegewinnung bei OAs zu einer mangelnden Insulinsynthese führen. Dabei schlossen die Autoren auf eine nicht-autoimmunbedingte Insulinopenie als Ursache des DM bei OAs. Allerdings wurden auch Patienten mit PA und MMA beschrieben, die in der neonatalen Krise an einer schweren insulinresistenten Hyperglykämie litten und größtenteils kurz darauf verstarben. Dies wiederum ließ vermuten, dass eine insulinresistente Hyperglykämie ein Marker für einen besonderen Schweregrad der Erkrankung ist [78]. Als Ursache der insulinresistenten Hyperglykämien wurde zum einen eine verminderte Glukoseaufnahme der peripheren Gewebe oder eine inadäquate Glukoneogenese der Leber, zum anderen eine iatrogen bedingte Insulinresistenz des Skelettmuskels durch hochdosierte Lipidinfusionen diskutiert [78]. Andererseits sind auch Hypoglykämien eine bekannte Komplikation bei metabolischer Entgleisung von Patienten mit OAs [20]. Worthen und Kollegen vermuteten, dass es durch wiederholtes Erbrechen und verminderte Nahrungsaufnahme bei Entgleisungen zu einer Verminderung der Glykogenspeicher in der Leber kommt [79].

1.7 Mitochondriale Dysfunktion und oxidativer Stress in der Entstehung einer Insulinresistenz

1.7.1 Einfluss von oxidativem Stress auf den Glukosestoffwechsel

Eine IR ist eine verminderte Antwort des Zielgewebes auf eine physiologische Konzentration an Insulin. Zu den Zielgeweben gehören vor allem Leber, Skelettmuskel und Fettgewebe [80]. Langfristig kann eine IR durch zunächst kompensatorisch vermehrte Insulinsekretion zu einer Erschöpfung der Betazellen und schließlich zu einem T2DM führen. Es gibt zunehmend Evidenz, dass in der multifaktoriellen Genese von IR, Betazell-Dysfunktion und T2DM eine abnormale Mitochondrienfunktion, ROS, Lipotoxizität sowie Inflammation eine bedeutende Rolle spielen [1, 81-85]. Die genauen Mechanismen sind nach wie vor unbekannt [80].

Vermutet wird, dass die primäre Ursache der Entwicklung einer IR in einem chronischen Missverhältnis zwischen Kalorienzufuhr und Energieverbrauch besteht [86]. Ein Kalorien-Überschuss kann zu einem gesteigerten mitochondrialen Substratfluss führen und so die Aktivität von Elektronendonatoren wie NADH und FADH₂ sowie den Elektronentransport steigern. Durch ein hohes Membranpotenzial ist der Elektronenfluss ebenfalls erhöht [43]. Dadurch akkumulieren Elektronen innerhalb der Atmungskette, die dann mit Sauerstoff reagieren und ROS bilden. Zu den Hauptorten der ROS-Produktion zählen dabei Komplex I und III der Atmungskette in der inneren Mitochondrienmembran, die mitochondriale Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase und das Flavoprotein Monoaminoxidase in der äußeren Mitochondrienmembran [43].

Die ROS wiederum induzieren Lipidperoxidationen, deren Produkte die mtDNA schädigen und mitochondriale Enzyme, wie die ATP-Synthase und die COX beeinträchtigen [87]. Als Konsequenz ist die Atmungskette und somit die Energiegewinnung gestört. Zudem können ROS zur Apoptose von Betazellen führen, welche nur geringfügig antioxidative Enzyme exprimieren [46, 87].

1.7.2 Einfluss von ektopen Lipiden auf den Glukosestoffwechsel

Durch einen ständigen Überschuss freier Fettsäuren (FFA) werden diese vermehrt in Leber und Skelettmuskel aufgenommen und dort zu Triacylglycerolen (TAGs) verestert [46, 88]. Hepatozelluläre und intramyozelluläre Lipide sind bei Erwachsenen stark mit einer IR assoziiert [61] und können schon im Kindesalter hinweisend auf eine IR sein [89].

Die Plasma-Konzentration an FFA, hepatozellulären und intramyozellulären Lipiden korrelieren eng mit einer Verminderung der Insulinsensitivität [46].

Erhöhte Spiegel der FFA im Plasma reduzieren den Insulinrezeptorsubstrat-1-assoziierten Anstieg der PI3-Kinase fast vollkommen und beeinträchtigen so den Insulinsignalweg zusätzlich [90]. FFA und BCAA können außerdem in Leber und Skelettmuskel über Substrat-Signalwege eine IR induzieren [61]. Zudem wurde diskutiert, ob FFA zu einem verminderten Einbau des Glukosetransporters-4 in die Zellmembran und infolgedessen zu höheren Plasma-Glukosespiegeln führen [86].

1.8 Forschungslücke, Hypothesen und Ziele der Studie

Trotz der Hinweise, dass eine abnormale Mitochondrienfunktion und erhöhte ROS-Produktion zu der Pathophysiologie in OAs beitragen, sind die genauen Mechanismen und Konsequenzen nicht geklärt [44, 53, 59].

Bislang ist nicht verstanden, welche Folgeerkrankungen durch diese Effekte in verschiedenen Geweben bei OAs entstehen können. Es ist aber anzunehmen, dass diese für die Lebenserwartung und -qualität der meisten Betroffenen, die nach wie vor eingeschränkt sind, von Relevanz sind [10, 35]. Es ist zu vermuten, dass eine abnormale Mitochondrienfunktion, wie sie bei Patienten mit OAs beobachtet wurde, zu einer IR oder dem klinischen Korrelat eines MetS bzw. eines kardiometabolischen Risikoprofils führen kann [1, 67-70]. Während die Entstehung einer IR durch mitochondriale Schäden und ROS bei Übergewicht vielfach erforscht wurden [84, 86], mangelt es an Studien, die diesen Zusammenhang bei OAs untersuchen.

In dieser Arbeit sollte daher untersucht werden, inwiefern der genetisch-definierte Defekt im BCAA-Katabolismus bei OAs durch eine abnormale Mitochondrienfunktion und gesteigerte ROS-Produktion mit einem abnormalen gewebespezifischen Energiestoffwechsel, IR und MetS einhergeht. Konkretes Ziel der MitoMRS-Studie war eine detaillierte Phänotypisierung des Leber-, Muskel- und Energiestoffwechsels von Patienten mit klassischen OAs sowie Cobalaminsynthese-Defekten im Vergleich zu einer alters-, geschlechts- und *Body Mass Index* (BMI)-gepaarten Kontrollgruppe [1]. Daher wurden Patienten mit PA, MMA, MMA CBL und IVA sowie Stoffwechselgesunde mittels oralem Glukosetoleranztest (OGTT), Magnetresonanztomographie (MRS), Leberultraschall und Bestimmung von Parametern für IR und MetS phänotypisiert. Die Studie soll zu einem besseren Verständnis der Pathophysiologie bei OAs beitragen, um langfristig die Therapie zu optimieren und Folgeerkrankungen vorzubeugen.

2 Material und Methoden

Die MitoMRS-Studie fand zwischen August 2015 und November 2017 in der Klinik für Allgemeine Pädiatrie, Neonatologie und Kinderkardiologie des Universitätsklinikums Düsseldorf (UKD) und dem kooperierenden Deutschen Diabetes Zentrum (DDZ) in Düsseldorf, Deutschland statt [1].

Die Fall-Kontroll-Studie (ClinicalTrials.gov Registrierungsnummer NCT03917212) untersuchte Glukose-, Fett und Energiestoffwechsel von Patienten mit OAs mittels nicht-invasiver MRS und Leberonografie sowie Blutanalysen und verglich diese mit einer alters-, geschlechts- und BMI-gepaarten Kontrollgruppe und entsprechenden Referenzwerten. Die Studie erhielt ein positives Ethikvotum der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf (Protokoll-Nr. 3778) [1].

Im Folgenden werden Studiendesign, Studienkollektiv und Studienablauf beschrieben. Des Weiteren wird auf die Probenaufbereitung und -analyse eingegangen sowie die statistischen Methoden beschrieben.

2.1 Studiendesign und Teilnehmer

34 Patienten mit OA, davon 26 Minderjährige und 8 Erwachsene zwischen 6 und 34 Jahren, wurden untersucht. Die Patientengruppe bestand aus 9 Patienten mit PA, 6 mit IVA, 10 mit klassischer MMA und 9 mit MMA CBL (CBL A/B n=4, CBL B n=2, CBL C n=3). Eine der Patienten mit MMA CBL C hatte zusätzlich einen Biotinidase-Mangel.

Eine schriftliche Einverständniserklärung für die Teilnahme an der Studie und für die pseudonymisierte Datenverarbeitung wurde von den Teilnehmern und bei minderjährigen Teilnehmern auch von ihren Eltern, nach Aufklärung durch einen Arzt, eingeholt. Zudem wurde ein MRT-Fragebogen ausgefüllt, um mögliche Ausschlusskriterien zu erkennen.

2.2 Rekrutierung

Patienten mit OA, die sich in regelmäßiger Betreuung der Klinik für Allgemeine Pädiatrie, Neonatologie und Kinderkardiologie bzw. in der Klinik für Gastroenterologie des UKD befanden, wurden über einen Telefonanruf oder bei einem Ambulanzbesuch über die Studie und ihre Ziele informiert. Um teilzunehmen, mussten die Patienten mindestens 5 Jahre alt sein und eine durch humangenetische, enzymatische oder biochemische Diagnostik bestätigte Diagnose einer PA, IVA, MMA oder MMA CBL haben. Andere

Ursachen für das Krankheitsbild mussten ausgeschlossen sein. Des Weiteren waren akute Erkrankungen, wie zum Beispiel Fieber, Erbrechen und oder andere Anzeichen einer katabolen Stoffwechsellage, Ausschlusskriterien. Das C-reaktive Protein wurde bei Aufnahme bestimmt, um eine mögliche versteckte Infektion auszuschließen. Ebenfalls durften Patienten mit einem bekannten DM, chronischen Darmerkrankungen und somit potenziell gestörter Glukoseabsorption oder einer Allergie gegen Johannisbeere, welche in der Trinklösung enthalten ist, nicht am OGTT teilnehmen. Ausschlusskriterien für die MRS waren außerdem Klaustrophobie und das Tragen nicht MRS-tauglicher metallischer Implantate [1].

2.3 Kontrollgruppen

Die Kontrollgruppe für die MRS-Messungen bestand aus 33 stoffwechselgesunden Kindern (≥ 5 Jahre) und jungen Erwachsenen. 24 stoffwechselgesunde Kinder wurden im Rahmen der MitoMRS-Studie untersucht. Sie wurden durch *Convenience Sampling* rekrutiert oder waren gesunde Geschwisterkinder ($n=6$) von Patienten. Zudem wurden 9 Erwachsene aus einer vorherigen DDZ-Studie als Kontrollen verwendet. Die oben genannten Ausschlusskriterien galten gleichermaßen für die Kontrollgruppe. Jedem Patienten wurde eine alters-, geschlechts- und BMI-gepaarte Kontrolle zugeordnet. Eine verausgabende, körperliche Aktivität war Teilnehmern ab 48 Stunden vor den Messungen nicht mehr erlaubt. Bis 4 Stunden vor den MRS-Messungen nahmen die Teilnehmer eine standardisierte, altersentsprechende Mahlzeit zu sich. Je nach Alter beinhaltete diese zwischen 280 und 460 Kilokalorien (kcal) [1].

Als Kontrollgruppe für die OGTT-Messungen wurde der Datensatz 14 gesunder, multiethnischer Kinder von der *Yale Pathophysiology of Type 2 Diabetes in Youth*-Studie [91] verwendet, einem Langzeitprojekt, welches die frühen Veränderungen im Glukosestoffwechsel übergewichtiger Jugendlicher erforschte. Die Studie fand in Kooperation mit der *Yale University School, Connecticut, USA* statt. 5 gesunde Erwachsene wurden als Kontrollgruppe für die OGTT-Messungen aus der *German Diabetes Study* des DDZ rekrutiert [92]. Jedem Patienten wurde eine alters-, geschlechts- und BMI-gepaarte Kontrolle zugeordnet.

2.4 Ablauf des Visits für Patienten

Die Studie umfasste für die Patienten einen zweitägigen stationären Aufenthalt mit einer Übernachtung. Aufgrund der für den OGTT einzuhaltenden Nüchternperiode, wurden die Patienten stationär überwacht, um eine mögliche Stoffwechsellage zu verhindern und eine Standardisierung zu gewährleisten. Der Studienaufenthalt umfasste am Aufnahmetag für die Patienten einen Gesundheitscheck, eine erweiterte Blutentnahme, anthropometrische Messungen sowie eine Leberultraschalluntersuchung und am Folgetag einen OGTT in der Klinik für Allgemeine Pädiatrie, Neonatologie und Kinderkardiologie bzw. in der Klinik für Gastroenterologie des UKD. Im Anschluss wurden die Patienten mit einem Taxi in das DDZ gefahren. Dort erfolgten MRS-Messungen sowie eine bioelektrische Impedanzanalyse (BIA). Die minderjährigen Patienten wurden von einem/er Pädiater/in und einem Elternteil für die Messungen im DDZ begleitet [1].

2.5 Anthropometrische Messungen

Von allen Patienten und Kontrollprobanden wurden Körperlänge und -gewicht, nur in Unterwäsche und Socken bekleidet, gemessen. Der BMI, welcher mit kg/m^2 berechnet wurde, wurde bestimmt und mit den Perzentilen nach Rosario und Kollegen [93] aus der KIGGS-Studie des Robert-Koch-Instituts verglichen. Ein „hoch-normaler“ BMI wurde bei Kindern ab der 75. Perzentile [94] und bei Erwachsenen Übergewicht ab 25 kg/m^2 definiert. Der BMI-Standard Deviation Scores (SDS) wurde online (www.labor-dortmund.de) nach den Perzentilen von Kromeyer-Hauschild und Hemmelmann [95, 96] ermittelt und gibt an, wie viele Standardabweichungen der Patient jeweils oberhalb beziehungsweise unterhalb des alters- und geschlechtsspezifischen Medians liegt.

Der Taillenumfang wurde mit einem KAWE Bandmaß (KaWe, OncoMedical AG, Zofingen, Schweiz) dreimal in der Mitte zwischen dem unteren Ende des Rippenbogens und der Spina iliaca anterior superior in Expirationshaltung immer von der gleichen Untersucherin gemessen. Der Mittelwert der drei Messungen wurde berechnet und die Perzentilen für Kinder nach McCarthy und Kollegen [97] verwendet. Der Blutdruck wurde in liegender oder sitzender Position gemessen und für die Minderjährigen auf Perzentilen aufgetragen [98].

Das MetS wurde gemäß der Kriterien der *American Heart Association* für Kinder [67] und der *International Diabetes Federation* für Erwachsene [70] festgelegt und diagnostiziert, wenn 3 oder mehr der 5 MetS-Komponenten vorlagen (Tab. 1). Für Kinder waren MetS-Kriterien: Nüchternblutglukose $\geq 100 \text{ mg/dl}$, systolischer und/oder diastolischer Blutdruck \geq

90. Perzentile [98], Taillenumfang \geq 90. Perzentile [97], HDL-Cholesterol \leq 10. Perzentile und Triglyzeride \geq 110 mg/dl [99]. Für Erwachsene waren die MetS-Kriterien: Nüchtern glukose \geq 100 mg/dl, systolischer Blutdruck \geq 130 mmHg und/oder diastolischer Blutdruck \geq 85 mmHg, Taillenumfang \geq 94 cm für Männer und \geq 80 cm für Frauen, HDL-Cholesterin $<$ 40mg/dl bei Männern und $<$ 50 mg/dl bei Frauen sowie Triglyzeride \geq 150 mg/dl [1]. Da Hypertension und Hypertriglyzeridämie jedoch auch durch eine chronische Niereninsuffizienz verursacht werden können [100], haben wir diese zwei Faktoren bei der Definition des MetS, bei Vorliegen einer chronischen Niereninsuffizienz \geq G3b, ausgeschlossen.

Nach einer 4-stündigen Nüchternperiode wurde eine BIA mit dem Gerät *Nutriguard-S* (Data Input, Darmstadt, Deutschland) durchgeführt. Die Patienten lagen auf dem Rücken mit von ihrem Körper ausgestreckten Armen und Beinen. BIANOSTIC-AT-Elektroden (Data Input, Pöcking, Deutschland) wurden auf dem Hand- und Fußrücken der dominanten Körperseite fixiert [101, 102]. Die BIA-Waage ermittelte Gesamtkörperfett und Körperfettanteil, Gesamtkörperwasser, Magermasse, Phasenwinkel als Maß für die Qualität der Magermasse, Reaktanz, Widerstand sowie Hand- und Fußwiderstand. Widerstand und Reaktanz wurden in eine Gleichung eingefügt, um die Fettmasse und fettfreie Masse zu ermitteln [103]. Ab 15 Jahren wurde zudem die extrazelluläre Masse (ECM), die sich aus Interstitium, Knochen und Bindegewebe zusammensetzt, die Biozelluläre Masse (BCM), die Muskel- und Organzellmasse misst sowie der Quotient ECM/BCM bestimmt. Die Magermasse ist die Summe aus BCM und ECM. Die Parameter der Kinder und Jugendlichen wurden mit den Perzentilen und die der Erwachsenen mit den internen Referenzwerten von Nutriguard-S verglichen. Werte \geq 90. Perzentile und oberhalb des Referenzbereichs wurden als erhöht und Werte \leq der 10. Perzentile wurden als erniedrigt definiert [1].

2.6 Phänotypisierung der Patienten

Bei Patienten mit PA basierten wir den metabolischen Phänotyp auf die Ausscheidung von Propionylglycin, 3-Hydroxypropionat und Methylcitrat, gemessen zum Zeitpunkt der Diagnose oder vor Therapiebeginn und wenn nicht verfügbar, wurden die Metabolitkonzentrationen aus verschiedenen Messungen (Median der verfügbaren Messungen $n=6$) gemittelt. PA-Metabolitkonzentrationen wurden mit den Daten von Thompson und Chalmers [104] verglichen, welche den klinischen Schweregrad von Patienten mit PA mit deren Metabolitenausscheidung im Urin korrelierten. Wir definierten den metabolischen Phänotyp als „schwer“, wenn 3 von 3 Metabolitkonzentrationen von

Propionylglycin, 3-Hydroxypropionat und Methylcitrat erhöht waren [104], als „moderat“, wenn 2 von 3 erhöht waren und als „mild“, wenn maximal ein Wert erhöht war [1].

Bei Patienten mit MMA wurde der metabolische Phänotyp auf die Ausscheidung von Methylmalonsäure, 3-Hydroxypropionat und Methylcitrat im Urin zum Zeitpunkt der Diagnose oder vor Therapiebeginn basiert. Falls nicht verfügbar, wurden die Metabolitkonzentrationen aus mehreren Messungen gemittelt (Median der verfügbaren Messungen n=5). Die Werte wurden ebenfalls mit Thompson und Chalmers [104] sowie mit den Ergebnissen von Fowler und Kollegen [13] verglichen und wie oben beschrieben kategorisiert. Zusätzlich wurde bei Patienten mit MMA die enzymatische Restaktivität mit einbezogen, wenn sie verfügbar war (6/10, 60%) [1].

Bei Patienten mit MMA CBL wurde der metabolische Phänotyp auf die Ausscheidung von Methylmalonsäure im Urin zum Zeitpunkt der Diagnose basiert. Falls nicht verfügbar, wurden die Metabolitkonzentrationen aus mehreren Messungen gemittelt (Median n=5). Die Werte wurden mit den Ergebnissen von Fowler und Kollegen [13] verglichen. Ein schwerer metabolischer Phänotyp wurde definiert mit einer Ausscheidung von Methylmalonsäure >10.000 mmol/mol Kreatinin, moderat bei einer Methylmalonsäure-Ausscheidung von 1000-10.000 mmol/mol Kreatinin und mild bei einer Methylmalonsäure-Ausscheidung <1000 mmol/mol Kreatinin [1].

Bei Patienten mit IVA wurde der metabolische Phänotyp auf die Ausscheidung von Isovalerylglycin im Urin zum Zeitpunkt der Diagnose basiert, und falls nicht vorhanden, wurden die Metabolitkonzentrationen aus mehreren Messungen verglichen (Median der verfügbaren Messungen n=3). Ein schwerer metabolischer Phänotyp zeigte eine Ausscheidung von Isovalerylglycin > 1000 mmol/mol Kreatinin, ein moderater 300-1000 mmol/mol Kreatinin und ein milder metabolischer Phänotyp <100 mmol/mol Kreatinin [1].

Der klinische Schweregrad wurde bei PA, MMA, MMA CBL und IVA nach Alter bei Manifestation und klinischem Status zum Zeitpunkt der Studie ermittelt und wurde zusammen mit dem metabolischen Schweregrad berücksichtigt [1].

2.7 Diätplan und Nacht Mahlzeit

17 der 34 Patienten hatten festgelegte Diätpläne, welche von Diätassistentinnen erstellt und regelmäßig bezüglich des Gewichts und der Entwicklung der Patienten angepasst wurden (Tabelle 3). Circa 2 Wochen vor Studienbeginn wurden die Patienten bzw. ihre Eltern telefonisch kontaktiert und über eine Adaptation des aktuellen Diätplans für den

Studientag informiert. Für den OGTT war eine Nüchternperiode von 8 Stunden einzuhalten und der Diätplan wurde so angepasst, dass die Patienten die gleiche Menge wie üblich an Eiweiß, Fett, Kohlenhydraten und Kcal innerhalb von 24 Stunden zu sich nahmen. Die individuell berechnete Nahrungszufuhr wurde bis um 22:00 Uhr abgeschlossen und eine standardisierte Nacht Mahlzeit, welche rechnerisch zum Aufnahmetag zählte, um 0:15 Uhr oral oder per Sonde zugeführt. Die Nacht Mahlzeit bestand aus 75 ml Kuhmilch mit 1,5% Fettanteil, 22 g eiweißfreie Spezialnahrung Basic-p Milupa (Nutricia Milupa GmbH, Frankfurt, Deutschland), 13 g Maltodextrin 6 und wurde mit Wasser auf 220 ml Volumen aufgefüllt. Insgesamt enthielt sie 2,5 g Eiweiß, 8,2 g Fett, 29,9 g Kohlenhydrate und 204 kcal. Dadurch sollte eine katabole Stoffwechsellage aufgrund einer zu langen Nüchternperiode verhindert werden. Ab 0:30 Uhr begann dann die Nüchternperiode, in der die Patienten lediglich Wasser trinken durften. Nach Beendigung des OGTTs erhielten die Patienten umgehend die erste Portion der Nahrung für diesen Tag, welche bis 11:00 Uhr zugeführt werden musste. Danach begann die zweite Nüchternperiode, welche 4 Stunden betrug und für die standardisierte Messung in der MRS erforderlich war [1].

2.8 Biochemische Marker

Am Aufnahmetag wurde den Patienten ein intravenöser Zugang gelegt und daraus Blut abgenommen. Es wurden folgende Parameter bestimmt: Natrium, Kalium, Chlorid, Calcium, Phosphat, Laktat, pH-Wert des Blutes, Sauerstoffpartialdruck (pO_2), Kohlenstoffdioxidpartialdruck (pCO_2), Standard-Bikarbonat (HCO_3), Standard-Basenüberschuss, aktuelles HCO_3 , glykosyliertes Hämoglobin (HbA1c), Parathormon, Thyroidea stimulierendes Hormon (TSH), Thyroxin, Trijodthyronin, Vitamin D3, C-reaktives Protein, Aspartat- und Alaninaminotransaminasen (GOT, GPT), γ -Glutamyltransferase (GGT), Alkalische Phosphatase (AP), Kreatinin, Lipase, Harnstoff, Harnsäure, GFR, Cystatin C, Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten, Erythrozyten-Verteilungsvolumen, mittleres Thrombozytenvolumen, Hämoglobin (Hb), Hämatokrit, mittleres korpuskuläres Volumen (MCV), mittleres korpuskuläres Hb (MCH) und mittlere korpuskuläre Hb-Konzentration (MCHC). Zudem wurden im Rahmen des Aufenthaltes die organischen Säuren im Urin bestimmt [1].

2.9 Oraler Glukosetoleranztest

Am darauffolgenden Tag wurde nach 8-stündiger Nüchternperiode ein OGTT durchgeführt. Währenddessen hielten sich die Patienten auf ihrem Zimmer auf und sollten sich so wenig, wie möglich bewegen. Es fanden Blutentnahmen zu vier Zeitpunkten über den am Vortrag gelegten intravenösen Zugang statt [1].

Zunächst erfolgte eine Entnahme nüchtern (0 Minuten). Daraufhin wurde den Patienten 1,75 g Glukose pro kg Körpergewicht (KG), maximal aber 75g Glukose (Accu-Check O.G.T Dextrose, Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) oral oder über die Sonde zwischen 8:30 Uhr und 9:00 Uhr morgens gegeben. Weitere Blutentnahmen erfolgten 30, 60 und 120 Minuten nach Glukosegabe. Bei dem OGTT wurden Glukose, Insulin und C-Peptid venös zu jedem Zeitpunkt bestimmt. Zum Zeitpunkt 0 wurden außerdem ROS, FFA, TAG, HDL, Leukozytenrespirometrie und Plasmaamino­säuren abgenommen und zwei Trockenblutkarten für ein Acylcarnitinprofil mit venösem Blut betropft. Der gesamte Blutverlust betrug ca. 40 ml [1].

2.10 Probenaufbereitung und Probenanalyse

Die folgenden Blutproben wurden unmittelbar nach Entnahme an das Zentrallabor des UKD gesendet und dort bei Raumtemperatur gelagert und zentrifugiert. Glukose, GOT, GPT, γ -GT, Harnsäure, Harnstoff, Kreatinin, Lipase, AP, Cystatin C, GFR, C-reaktives Protein und Laktat wurden photometrisch auf einem Cobas 8000 c 702 *Hitachi Analyzer*, HbA1c auf einem Cobas 6000 c 501 *Hitachi Analyzer* mittels turbodimetrischen Inhibitions-Immunsassay gemessen. TSH, Thyroxin, Parathormon, Vitamin D3 wurden auf einem Cobas 8000 e 602 *Hitachi Analyzer* mittels ElektroChemiLumineszenz Immunassay bestimmt, die Elektrolyte Natrium, Kalium, Calcium, Chlorid und Phosphat auf einem Cobas 8000 ISE 1800 *Hitachi Analyzer* gemessen (alle: Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland). Erythrozyten, Leukozyten, Thrombozyten, Erythrozyten-Verteilungsvolumen, Thrombozytenvolumen, Hb, Hämatokrit, MCV, MCH und MCHC wurden auf einem XE 5000 (Sysmex, Norderstedt, Deutschland) gemessen. PH-Wert, pO₂, pCO₂, Standard-HCO₃, Basenüberschuss, und aktuelles HCO₃ wurden auf einem ABL800 Flex Blutgasanalysator (Radiometer, Krefeld, Deutschland) gemessen. Es wurden die intern vom Zentrallabor des UKD entwickelten Referenzwerte verwendet [1].

Die Blutproben für die Plasmaamino­säuren, die Trockenblutkarte für das Acylcarnitinprofil und die Urinprobe zur Bestimmung der organischen Säuren im Urin wurden in das Stoffwechsellabor der Klinik für Allgemeine Pädiatrie, Neonatologie und Kinderkardiologie

des UKD transportiert. Die Plasmaamino­säuren wurden mit dem AS-Analysator Biochrom 30+ (Biochrom Ltd, Cambridge, UK) und die Acylcarnitine mit einer Flüssigkeits-Chromatographie gekoppelt mit einer Tandemmassenspektroskopie auf einem Waters TQ-Detektor (Waters, Milford, USA) analysiert. Die organischen Säuren im Urin wurden mittels Gas-Chromatographie und Massenspektroskopie auf einem MSD 5977A (Agilent, Santa Clara, USA) gemessen [1].

Die Blutproben für FFA und Triglyzeriden wurden 30 Minuten auf Eis gekühlt, die Proben für Insulin und C-Peptid 30 Minuten bei Raumtemperatur gelagert und dann jeweils 10 Minuten bei 4°C und 2000 U zentrifugiert. Die auf Cryos verteilten Überstände wurden auf Aliquots verteilt und bei -80°C in der Kinderklinik eingefroren. Später wurden die Aliquots auf Trockeneis gelagert, in das DDZ transportiert, wo sie analysiert wurden. Triglyzeride wurden mit einem Cobas c 311 *Hitachi Analyzer* (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) enzymatisch gemessen und Orlistat wurde verwendet, um eine *in vitro* Lipolyse zu vermeiden, wie von Gancheva und Kollegen beschrieben [92]. FFA wurden mikrofluorimetrisch (Wako, Neuss, Deutschland) analysiert. Für FFA wurden die Perzentilen nach Salgin und Kollegen [105] festgelegt. Insulin und C-Peptid aus dem Serum wurden über ein *Radioimmunoassay* (Millipore, St. Charles, CO, USA) bestimmt und mit einer alters-, geschlechts- und BMI-gepaarten Kontrollgruppe verglichen. Details zu den biochemischen Analysen der Yale Kohorte wurden bereits beschrieben [91].

Um die Insulinsensitivität zu ermitteln wurden der *Homeostasis model assessment of insulin resistance* (HOMA-IR) mit $(\text{Insulin}_0 \text{ (}\mu\text{U/ml)} \times \text{Glukose}_0 \text{ (mmol/l)}) / 22,5$ berechnet. Der *quantitative insulin-sensitivity check index* (QUICKI) wurde mit $1 / [\log(\text{Insulin}_0) + \log(\text{Glukose}_0)]$ als Prädiktor für eine IR ermittelt. Der Matsuda-Index wurde mit $10000 \sqrt{(\text{Glukose}_0 \times \text{Insulin}_0 \times \text{Glukose}_{\text{Mittelwert}} \times \text{Insulin}_{\text{Mittelwert}})}$ [106] und *Oral Glucose Insulin Sensitivity* (OGIS) mit der Funktion, OGIS= f (G0; G90; G120; I0; I90; Dosis der oral aufgenommenen Glukosemenge), wie sie von Pacini und Kollegen beschrieben wurde [107] zur Ermittlung der dynamischen Insulinsensitivität bestimmt [1].

Die Insulinsekretion wurde anhand der Nüchtern-Betazellfunktion, welche mit $(\text{Insulin}_{30} - \text{Insulin}_0) / (\text{Glukose}_{30} - \text{Glukose}_0)$ berechnet wurde und anhand des Adaptationsindex, der mit $\text{OGIS} \times ((\text{C-Peptid}_{30} - \text{C-Peptid}_0) / (\text{Glukose}_{30} - \text{Glukose}_0))$ ermittelt wurde und die Beziehung zwischen Insulinsensitivität und direkte Betazellfunktion beschreibt [106], sowie anhand des Dispositionsindex, der mit $\text{OGIS} \times (\text{Insulin}_{30} - \text{Insulin}_0) / (\text{Glukose}_{30} - \text{Glukose}_0)$ berechnet wurde, evaluiert [1].

Außerdem wurden die hepatische Insulinextraktion als Maß der Insulinkinetik, die *Area under the curve* (AUC) von Glukose, Insulin und C-Peptid bei jeweils 0-30 Minuten und 0-

120 Minuten sowie Quotienten $\Delta\text{Insulin } 30/\Delta\text{Glukose } 30$, $\Delta\text{Insulin (AUC)}/\Delta\text{Glukose (AUC)}$, $\Delta\text{C-Peptid } 30/\Delta\text{Glukose } 30$ und $\Delta\text{C-Peptid (AUC)}/\Delta\text{Glukose (AUC)}$ [106, 108] ermittelt [1].

2.11 Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies

Konzentrationen Thiobarbitursäure-reaktiver Substanzen (TBARS) im Serum, Oxidation-Reduktion-Potential und antioxidative Kapazität wurden fluorometrisch gemessen (Bio Tek, Bad Friedrichshall, Deutschland), wie von Jelenik und Kollegen beschrieben [88, 109].

2.12 Leukozytenrespirometrie

Die mitochondriale respiratorische Kapazität in peripheren Immunzellen des Plasmas wurde mittels hochauflösender Respirometrie nach zuvor beschriebener Methode [110] durchgeführt. Zur Analyse wurden Malat (2 mmol/l), Adenosindiphosphat (ADP) (1 mmol/l), Glutamat (10 mmol/l) und Succinat (10 mmol/l) mit oder ohne Pyruvat (5 mmol/l), hinzugegeben [109]. Um die mitochondriale Membranintegrität zu ermitteln, wurden 10 mmol/l Cytochrom C hinzugefügt, gefolgt von 1,0 ml stufenweiser Titrierung von Carbonyl Cyanid-p-trifluoromethoxyphenylhydrazon (0,1 mmol/l) [109].

2.13 Magnetresonanztomographie

Alle Messungen der MRS erfolgten nach 4-stündiger Nüchternperiode, in Ruhe und auf dem Rücken liegend in einem 3-T Spektrometer mit 3.2.1.1 Software-Release (3T Philips Achieva, Best, Niederlande) [1].

2.13.1 Ektopisches Fett in Leber und Skelettmuskel

TAGs (Abb. 6) entstehen durch eine Veresterung aus Glycerin, einem Alkohol, und drei Fettsäuren. Sie dienen als Energiespeicher im Körper. Die Fettsäuren liegen bei TAGs als Acylgruppen vor. Bei Bedarf können die TAGs wieder zu Glycerin und den drei Fettsäuren hydrolysiert werden.

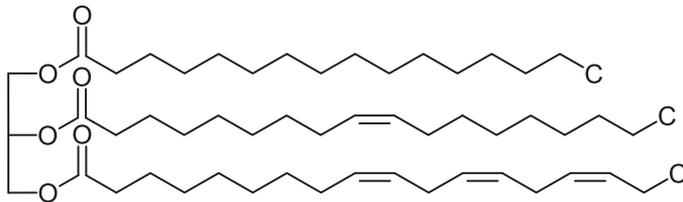


Abb. 6: Triacylglycerol.

Der Gehalt an hepatozellulären Lipiden wurde mit der *stimulated echo acquisition mode* (STEAM) Protonen- MRS (^1H -MRS)-Echosequenz gemessen, welche die Magnetisierung nutzt, um ein stimuliertes Echo zu erzeugen [111]. Es wurden die Korrekturfaktoren nach Hamilton und Kollegen [112] verwendet. Nicht-Wasser-supprimierte Spektren wurden in einem $3 \times 3 \times 2 \text{ cm}^3$ *volume of interest* (VOI) mit integrierten Wasser- und Fettpeaks generiert. Mit der Java-based Magnetic Resonance User Interface (jMRUI) v4.0 Software wurde die Fläche unter dem Peak quantifiziert [1].

Intramyozelluläre Lipide wurden mit ^1H -MRS des *Musculus vastus lateralis* mit der *point resolved spectroscopy sequence* (PRESS)-Echosequenz bestimmt, welche im Gegensatz zu STEAM das Spinecho misst [111]. Die Signalintensität von PRESS ist doppelt so hoch wie die von STEAM [111]. Ein lokalisiertes VOI ($1 \times 1 \times 2 \text{ cm}^3$) wurde verwendet. Die Repetitionszeit lag bei 2000 ms und die Echozeit bei 32 ms. mit durchschnittlich 16 Signalen bei MRS ohne Wasserunterdrückung und 96 Signalen bei MRS mit Wasserunterdrückung. Die Spektren wurden mit dem *LCmodel* mit integrierter „*eddy-current-correction*“ analysiert, um intramyozelluläre Lipide in Relation zu dem Wassergehalt des Gewebes zu messen [1].

2.13.2 Phosphat-Metabolite in Leber und Skelettmuskel

In der Phosphor-MRS (^{31}P -MRS) können verschiedene phosphorhaltige Substanzen gemessen werden [113], wovon wir in dieser Studie ATP, anorganisches Phosphat (Pi) und Phosphokreatin (PCr) bestimmt haben. ATP ist die universelle Speicherform von Energie. Wenn ein Phosphat-Rest abgespalten wird, entstehen ADP und Pi. Szendroedi

und Kollegen konnten zeigen, dass ATP in Leber und Skelettmuskel bei Individuen mit T2DM vermindert ist [114].

PCr, welches im Ruhezustand aus überschüssigem ATP generiert wird, kann im anaeroben Stoffwechsel einen Phosphatrest abgeben, um aus ADP wieder ATP herzustellen. Pi stellt das nicht gebundene Phosphat im Körper dar. Es wird im Körper für die Biosynthese von ATP genutzt, aber auch für die Synthese von Nukleinsäuren, Proteinen und für verschiedene Stoffwechselwege.

Leberspektren wurden mit einer 14 cm messenden zirkulären ^{31}P -Oberflächenspule (Philips Healthcare) bestimmt. Die ^1H -Körperspule wurde für die Protonenentkopplung und den Kern-Overhauser-Effekt verwendet. Lokalisierte Leberspektren wurden mit einem VOI von $4 \times 4 \times 4 \text{ cm}^3$ für Kinder und $6 \times 6 \times 6 \text{ cm}^3$ für Jugendliche und Erwachsene generiert. Die resultierenden Spektren wurden mittels der jMRUI v4.0 Software auf den absoluten ATP und Pi-Gehalt analysiert [1].

Für den Skelettmuskel wurde eine 6 cm Oberflächenspule (PulseTeq Ltd, Chobham, UK) 2 cm in den medialen Kopf des rechten *Musculus gastrocnemius* positioniert. ATP, Pi und PCr des Muskels wurden in Relation zu dem absoluten Phosphorgehalt (TP) des *Musculus vastus lateralis* gemessen. TP wurde als Summe aus ATP, Pi und PCr berechnet [1].

2.14 Lebersonografie

Bei allen Patienten wurde im Zeitraum von Juli 2014 bis Februar 2017 eine Lebersonografie durchgeführt, um Größe und strukturelle Veränderungen der Leber zu bewerten. Durchgeführt wurde die Sonografie mit den Geräten Aplio 400, Aplio XG und Xario (Canon Medical Systems, Neuss, Deutschland) und S2000 (Siemens AG, Erlangen, Deutschland). Bei Kindern wurde die Lebergröße in der vorderen Axillarlinie gemessen und mit den Perzentilen von Dittrich und Kollegen [115] verglichen. Eine Hepatomegalie wurde diagnostiziert, wenn der Wert oberhalb der zweiten Standardabweichung lag. Die Lebergröße der Erwachsenen wurde in der Medioklavikularlinie gemessen und der kraniokaudale sowie dorsoventrale Durchmesser bestimmt. Eine Hepatomegalie wurde bei einer Summe dieser beiden Durchmesser über 270 mm diagnostiziert. Als hepatische Steatose wurde eine Hyperechogenität des Leberparenchyms und eine verstärkte posteriore Schallverstärkung, beurteilt durch einen erfahrenen Radiologen, definiert [1].

2.15 Statistik

Kategorische Variablen werden als Proportionen oberhalb der definierten Cut-Off-Werte angegeben [67, 70]. Für normalverteilte Variablen werden die deskriptiven Ergebnisse als Mittelwert \pm Standardabweichung für normalverteilte kontinuierliche Variablen dargestellt. Für nicht-normalverteilte Daten wird der Median mit Interquartilsabstand verwendet [1].

Die Differenzen zwischen Patientengruppe und der zugehörigen Kontrollgruppe wurden mit einem ungepaarten T-Test für normalverteilte kontinuierliche Variablen und mit einem Mann-Whitney-U-Test für nicht normalverteilte Daten ermittelt. Kategorische Daten wurden mit dem exakten Test nach Fischer (mit post-hoc Test nach Sidak) verglichen. Die OGTT-Daten wurden mittels zweifaktorieller Varianzanalyse (ANOVA) berechnet und die einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA) wurde für den Vergleich zwischen den OA-Patientengruppen bei den TBARS, Oxidation-Reduktion-Potential und antioxidative Kapazität im Serum verwendet. Alle statistischen Analysen wurden mit GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA) durchgeführt [1].

3 Ergebnisse

Teile dieser Daten wurden veröffentlicht [1].

3.1 Die Studienpopulation

Insgesamt nahmen 34 Kinder und junge Erwachsene im Alter von 6 bis 34 Jahren (Tab.1) mit enzymatisch, genetisch oder biochemisch bestätigter OA an der MitoMRS-Studie teil. 16 Patienten waren weiblich und 18 männlich. Die Patienten wurden nach ihren Grunderkrankungen in die 4 Erkrankungsgruppen PA, IVA, MMA oder MMA CBL eingeteilt und mit ihrer jeweiligen alters-, geschlechts- und BMI-gepaarten Kontrollgruppe verglichen. 9 Patienten hatten eine PA, 6 eine IVA, 10 eine MMA und 9 eine MMA CBL. Das durchschnittliche Alter der Patienten mit IVA war mit $19,0 \pm 11,9$ Jahren am höchsten und das der Patienten mit MMA CBL mit durchschnittlich $13,1 \pm 6,5$ Jahren am niedrigsten [1].

Es wurden bei den Probanden 31 OGTTs und 31 MRS-Untersuchungen durchgeführt. Davon waren 27 OGTT- und 28 MRS-Datensätze verwertbar. 4 OGTT-Datensätze und 3 MRS-Untersuchungen konnten aufgrund mangelnder Compliance nicht verwertet werden (OGTT: PA n=3, MMA n=1; MRS: PA n=1, MMA n=1, MMA CBL n=1). Außerdem waren von jeweils 3 Patienten keine OGTT- und MRS-Daten aufgrund präanalytischer und analytischer Probleme verfügbar (OGTT: n=1 Patient jeweils mit PA, MMA und IVA; MRS: n=1 Patient jeweils mit PA, MMA CBL und IVA) [1]. Die mittlere Differenz zwischen Patient und MRS-Kontrollproband betrug beim Alter $1,4 \pm 1,3$ Jahre und beim BMI $3,0 \pm 2,3$ kg/m². Die mittlere Differenz zwischen Patient und OGTT-Kontrollproband lag beim Alter bei $2,6 \pm 2,5$ Jahren und der mittlere Unterschied des BMI bei $2,0 \pm 2,0$ kg/m² [1].

Als Kontrollgruppe für den BMI ist für alle Patienten mit verwertbarem MRS-Datensatz, die entsprechende MRS-Kontrolle verwendet worden, für die Patienten ohne verwertbaren MRS-Datensatz die zugehörige OGTT-Kontrolle [1]. Die klinischen und biochemischen Charakteristika der Studienpopulation sind in Tab. 1 dargestellt.

3.2 Krankheitsspezifische Marker der Organoazidopathien

Zum Zeitpunkt der Studienvisiten war das freie Carnitin im Acylcarnitinprofil bei allen Patienten mit PA normwertig, aber bei 56% (5/9) der Patienten mit MMA und 11% (1/9) der Patienten mit MMA CBL erhöht sowie bei 17% (1/6) der Patienten mit IVA und 22% (2/9) der Patienten mit MMA CBL erniedrigt (Anhang Tab. 1). Propionylcarnitin war bei

100% der Patienten mit PA (6/6) und MMA (9/9) sowie 56% der Patienten mit MMA CBL (5/9) im Acylcarnitinprofil erhöht und bei keinem Patienten mit IVA nachweisbar. Isovalerylcarnitin war bei 33% (2/6) der Patienten mit IVA erhöht. In der Analyse der Plasmaamino­säuren war Glycin bei 100% (6/6) der Patienten mit PA, 89% (8/9) der mit MMA, 67% (6/9) der mit MMA CBL und 33% (2/6) der Patienten mit IVA erhöht. Glutamin war bei 33% (2/6) der Patienten mit PA erniedrigt, bei je 11% (1/9) der Patienten mit MMA erhöht bzw. erniedrigt und bei 22% (2/9) der Patienten mit MMA CBL erhöht und bei allen Patienten mit IVA normwertig. Alanin war bei 33% (2/6) der Patienten mit PA, 44% (4/9) der Patienten mit MMA und 33% (3/9) mit MMA CBL sowie bei je 17% (1/6) der Patienten mit IVA erhöht bzw. erniedrigt.

Tab. 1: Klinische und biochemische Charakteristika der Studienpopulation

Erkrankung	Schwere-grad*	m/w	Alter (Jahre)	TU (cm)†	Nüchtern-glukose (mg/dl) ‡	TG (mg/dl) §	HDL-Cholesterol (mg/dl) #	Systolischer RR (mmHg) ¶	Diastolischer RR (mmHg) **	Antihyper-tensive Therapie**	GFR (ml/min) ††	NI [116]	Summe MetS RF
PA††	Schwer	M	13	77.0 (>P95)	99	351.00	26 (<P3)	101	58	Nein	70.00	G2	3
PA	Schwer	M	12	85.0 (>P95)	103	124.00	29.1 (<P3)	89	56	Ja	67.00	G2	5
PA	Schwer	M	17	96.5	123	704.00	11.8	126	85	Ja	66.00	G2	5
PA	Schwer	W	12	103.4 (>P95)	n/a	n/a	n/a	146 (>P99)	99 (>P99)	Nein	n/a	n/a	2§§
PA	Mild	M	18	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	Nein	n/a	n/a	n/a
PA	Moderat	M	23	79.1	79	109.00	61.7	100	60	Ja	n/a	n/a	1
PA	Schwer	M	16	77.1	112	172.60	35.7	138	63	Ja	106.00	G1	4
PA	Schwer	W	17	103.8	73	117	35.3	90	58	Nein	126.00	G1	2
MMA	Moderat	W	12	76.9 (>P95)	89	151.5	42.6	98	61	Nein	28.00	G4	1
MMA	Moderat	W	14	77.8 (>P95)	79	313.00	35.2 (<P3)	122 (>P90)	78	Nein	15.00	G4	2
MMA	Schwer	W	11	56.5	100	485.00	26.1 (<P3)	119 (>P90)	84 (>P99)	Nein	23.00	G4	2
MMA	Schwer	M	9	80.5 (>P95)	95	117.00	34.2 (<P3)	115 (>P90)	80 (>P99)	Ja	26.00	G4	2
MMA	Schwer	W	14	70.0	87	194.00	38.7 (<P5)	110	77 (>P90)	Nein	35.00	G3b	1
MMA	Schwer	M	10	70.0 (>P95)	107	269.00	17.6 (<P3)	102	67	Nein	17.00	G4	3
MMA	Moderat	M	11	58.5	120	152.00	28.1 (<P3)	99	55	Nein	44.00	G3b	2
MMA	Schwer	W	6	55.1	95	315.00	26.1 (<P3)	96	52	Nein	69.00	G2	2
MMA	Schwer	M	12	n/a	86	376.00	27.3 (<P3)	114	70	Ja	12.00	G5	1
MMA	Schwer	W	19	n/a	n/a	n/a	n/a	130	70	Nein	n/a	n/a	1
MMA CBL B	Moderat	W	8	67.6 (>P95)	93	86.00	46	112 (>P90)	56	Nein	85.00	G2	2
MMA CBL A/B	Mild	M	6	50.0	90	72.00	63.7	100	72 (>P95)	Nein	96.00	G1	1
MMA CBL B	Schwer	M	12	70.1	92	76.00	57.1	177 (>P99)	129 (>P99)	Nein	18.00	G4	1
MMA CBL A/B	Mild	M	17	71.9	89	135.00	36.5	144	96	Nein	90.00	G1	2
MMA CBL A/B	Mild	M	23	74.1	93	96.3	40	108	47	Nein	122.00	G1	0
MMA CBL A/B	Mild	M	23	94.7	58	118.2	48.2	130	70	Nein	120.00	G1	2
MMA CBL C	Moderat	W	10	57.4	99	59.00	67.6	104	66	Nein	129.00	G1	0
MMA CBL C	Moderat	W	7	55.9	91	71.00	37.2 (<P5)	104	64	Nein	106.00	G1	1
MMA CBL C	Moderat	M	12	69.2	90	50.00	61.7	123 (>P95)	58	Nein	113.00	G1	1
IVA	Mild	W	6	55.0	81	51.00	51.7	101	65	Nein	106.00	G1	0
IVA	Schwer	M	13	70.1	81	106.00	34.2 (<P3)	124	68	Nein	88.00	G2	1
IVA	Mild	W	7	51.7	78	55.00	74.9	111 (>P90)	53	Nein	119.00	G1	1
IVA	Mild	M	29	77.60	92	70.00	52.1	120	68	Nein	86.00	G2	0

IVA	Moderat	W	34	87.00	87	93.00	41.9	135	70	Nein	94.00	G1	3
IVA	Moderat	W	25	83.90	98	n/a	n/a	110	55	Nein	123.00	G1	1

Fettgedrucktes zeigt positive MetS Risikofaktoren bei Kindern (<16 Jahre) [67] und Erwachsenen (≥16 Jahre) [70]; cm, Zentimeter; dl, Deziliter; GFR, Glomeruläre Filtrationsrate; HDL, *high density lipoprotein*; IVA, Isovallerianazidämie; m, männlich; MetS, Metabolisches Syndrom; mg, Milligramm; min, Minute; ml, Milliiter; MMA, Methylmalonazidämie; MMA CBL, Cobalaminsynthesedefekt; mmHg, Millimeter-Quecksilbersäule; NI, Niereninsuffizienz; n/a, nicht verfügbar; P, Perzentile; PA, Propionazidämie; RF, Risikofaktoren; RR; Blutdruck; TG, Triglyzeride; TU, Taillenumfang; w, weiblich; * Der Schweregrad der Erkrankung wurde definiert gemäß des metabolischen Phänotyps (krankheitsspezifische Urinmetabolite [13, 104]) und dem klinischen Phänotyp (Alter bei Manifestation, kognitivem Outcome, Grad der sekundären kardialen/renalen Beteiligung); † erhöht ≥94 cm für Männer (≥16 Jahre), ≥80 cm für Frauen (≥16 Jahre) [70] oder ≥P90 (<16 Jahre, gemäß Alter, Geschlecht und Ethnie) [67]; ‡ erhöht ≥100 mg/dl [67],[70]; § erhöht ≥150 mg/dl (≥16 Jahre) [70] oder ≥110 mg/dl (<16 Jahre) [67]; # erniedrigt <40 mg/dl für Männer (≥16 Jahre), <50 mg/dl für Frauen (≥16 Jahre) [70] oder ≤P10 (<16 Jahre, gemäß Geschlecht und Ethnie) [67]; ¶ erhöht ≥130 mmHg (≥16 Jahre) [70] oder ≥P90 (<16 Jahre, gemäß Alter, Geschlecht und Körperlänge) [67]; * erhöht ≥85 mmHg (≥16 Jahre) [70] oder ≥P90 (<16 Jahre, gemäß Alter, Geschlecht und Körperlänge) [67]; ** "Hypertension" wurde definiert als systolische und/oder diastolische Hypertension und/oder antihypertensive Therapie; †† Bei Niereninsuffizienz ≥ Stadium G3b, wurden Triglyzeride und Hypertension nicht als MetS-Komponenten gewertet. ‡‡Daten waren von 8 von 9 Patienten mit PA verfügbar. §§ 2 von 2 verfügbaren MetS-Komponenten waren positiv. N=1 Patientin mit PA ist aufgrund ausschließlich vorliegender MRS-Daten nicht dargestellt. Modifiziert nach Gancheva et al., 2020 [1].
Genehmigung vermittelt durch Copyright Clearance Center, Inc.

3.3 Anthropometrische Messungen

Der mittlere BMI war bei Patienten mit PA mit $23,7 \pm 3,7 \text{ kg/m}^2$ am höchsten und bei Patienten mit MMA CBL mit $19,2 \pm 3,6 \text{ kg/m}^2$ am niedrigsten. Der BMI-SDS lag bei 25% (2/8) der Patienten mit PA, bei 11% (1/9) mit MMA und keinem Patienten mit IVA oder MMA CBL oberhalb der 2. Standardabweichung. Übergewicht oder hohes Normalgewicht ($\geq 75.$ Perzentile) hatten 56% (5/9) der Patienten mit PA, jeweils 33% der Patienten mit IVA (2/6) und MMA CBL (3/9) und 30% (3/10) der Patienten mit MMA. Ein erhöhter Taillenumfang lag mit 71% (5/7) in der PA-Gruppe am häufigsten vor [1].

Der absolute Körperfettanteil war bei 80% (4/5) der Patienten mit PA, 22% (2/9) der Patienten mit MMA, 25% (2/8) der Patienten mit MMA CBL und 50% (3/6) der Patienten mit IVA erhöht (Tab. 2). Der prozentuale Körperfettanteil war bei 83% (5/6) der Patienten mit PA, 33% (3/9) der Patienten mit MMA, 25% (2/8) der Patienten mit MMA CBL und 50% (3/6) der Patienten mit IVA erhöht sowie bei 13% (1/8) der Patienten mit MMA CBL erniedrigt.

Tab. 2: Bioelektrische Impedanzanalyse

Parameter	PA	MMA	MMA CBL	IVA
Körperfett (kg)	19.8 ± 7.4	11.7 ± 4.6	10.4 ± 8.8	17.2 ± 13.8
N	5	9	8	6
Körperfett (%)	35.4 ± 6.1	29.5 ± 4.9	22.0 ± 9.7	29.0 ± 12.3
N	6	9	8	6
Körperwasser (l)	28.3 ± 5.7	20.9 ± 4.9	26.4 ± 13.5	25.9 ± 9.9
N	6	9	8	6
Magermasse (kg)	35.2 ± 7.9	27.1 ± 6.8	35.8 ± 19.3	35.2 ± 13.7
N	6	9	8	6
ECM (kg)	20.1 ± 3.0	16.8	24.7 ± 1.1	21.7 ± 3.4
N	3	1	3	3
BCM (kg)	17.9 ± 7.2	15 ^a	33.5 ± 3.6	23.3 ± 2.5
N	3	1	3	3
ECM/BCM	1.3 ± 0.5	1,1	0.7 ± 0.1	0.9 ± 0.1
N	3	1	3	3

Daten sind dargestellt als Mittelwert \pm Standardabweichung; %, Prozent; BCM, Biozelluläre Masse; ECM, Extrazelluläre Masse; IVA, Isovalerianazidämie; kg, Kilogramm; l, Liter; MMA, Methylmalonazidämie; MMA CBL, Cobalaminsynthese-Defekt; PA, Propionazidämie; ^a da n=1 kein Mittelwert und keine Standardabweichung berechenbar.

3.4 Kontrollierte Energie- und Nährstoffzufuhr

Die Energiezufuhr der berechneten Diätpläne der Patienten mit PA und MMA sowie die alters- und geschlechtsspezifischen Diättempfehlungen für die Kalorienzufuhr sind in Tab. 3 dargestellt. Obwohl die absolute tägliche Energiezufuhr von Patienten mit PA (Mittelwert \pm Standardabweichung: 1927 ± 237 kcal, $n=6$) und Patienten mit MMA (1934 ± 293 kcal, $n=10$) vergleichbar war, war die tägliche Energiezufuhr pro kg KG der Patienten mit PA im Durchschnitt niedriger (Mittelwert \pm Standardabweichung: $37,2 \pm 6,5$ kcal) als die der Patienten mit MMA ($52,9 \pm 13,1$ kcal) ($p=0,02$). Verglichen mit alters- und geschlechtsspezifischen Ernährungsempfehlungen für gesunde Kinder mit dem niedrigsten physischen Aktivitätsniveau [117], lagen nur 33% der Patienten mit PA, jedoch 80% der Patienten mit MMA oberhalb der empfohlenen täglichen Energiezufuhr. Der Anteil von Energie aus Fett und Kohlenhydraten war bei der breiten Mehrheit innerhalb der entsprechenden Empfehlungen (jeweils 30-35% und $> 50\%$) innerhalb der jeweiligen Gruppen. Die täglich aufgenommene Menge Fett war bei Patienten mit PA ($1,5 \pm 0,2$ g/kg KG) niedriger als bei Patienten mit MMA ($2,1 \pm 0,5$ g/kg KG) ($p=0,02$). Patienten mit PA nahmen $5,2 \pm 1,1$ g Kohlenhydrate/kg KG und Patienten mit MMA $8,1 \pm 2,1$ g Kohlenhydrate/kg KG zu sich ($p=0,08$). Die Zufuhr von natürlichem und synthetischem Eiweiß war bei beiden Gruppen vergleichbar. Pro Tag nahmen Patienten mit PA durchschnittlich $0,6 \pm 0,1$ g natürliches Eiweiß/kg KG und $0,3 \pm 0,2$ g synthetisches Eiweiß/kg KG zu sich. Patienten mit MMA nahmen pro Tag durchschnittlich $0,6 \pm 0,1$ g/kg KG natürliches und $0,2 \pm 0,1$ g/kg KG synthetisches Eiweiß zu sich. Das aufgenommene Gesamtprotein betrug bei Patienten mit PA $0,9 \pm 0,2$ g/kg KG und bei Patienten mit MMA $0,9 \pm 0,1$ g/kg KG [1].

Eine Voll- oder Teilsondierung über ein Gastrostoma erfolgte bei 75% der Patienten mit PA (6/8), 70% der Patienten mit MMA (7/10) und jeweils 0% der Patienten mit MMA CBL (0/9) und IVA (0/6).

Tab. 3: Tägliche Energie- und Makronährstoffzufuhr der Patienten mit PA und MMA

PA/MMA	Alter	Gewicht	M/W	Proteine	Kohlenhydrate	Fett	Energie	Alters- und geschlechtsspezifische
	Jahre	Kg		g/kg d	g/kg d	g/kg d	kcal/kg d	Empfehlungen zur Energiezufuhr ^b
				% Energie ^a	% Energie ^a	% Energie ^a	kcal/kg d	kcal/kg d
PA†								
	12	61.6	W	0.7	4.7	1.8	37.5	40.4
	12	56.5	M	0.9	3.9	1.2	29.2	46.3
	13	38.5	M	0.9	6.6	1.6	44.9	41.4
	16	44.4	M	1.2	6.4	1.6	44.6	37.6
	17	58.1	W	1.1	4.2	1.3	32.1	33.6
	17	57.8	M	0.7	5.1	1.3	35.1	37.6
	18	69.1	M	n/a†	n/a†	n/a†	n/a†	37.6
	23	71.3	M	n/a†	n/a†	n/a†	n/a†	33.9
MMA								
	6	20.0	W	1.0	10.1	2.6	68.1	64.7
	9	43.5	M	1.0	6.7	1.7	46.1	58.0
	10	35.0	M	0.9	8.0	2.1	54.6	46.3
	11	30.8	W	0.8	10.3	1.8	59.4	40.4
	11	29.2	M	1.2	11.6	3.2	80.1	46.3
	12	38.9	W	0.8	6.0	1.6	40.8	40.4
	12	43.0	M	0.9	7.6	2.0	51.	46.3
	14	42.2	W	0.8	6.6	1.7	45.2	35.2
	14	50.6	W	0.7	n/a†	n/a†	39.5	35.2
	19	50.0	W	0.9	5.8	1.8	43.1	31.4

D, Tag; G, Gramm; kcal, Kilokalorien; kg, Kilogramm; m, männlich; MMA, Methylmalonazidämie; n/a, nicht verfügbar, PA, Propionazidämie; w, weiblich; ^a [118]; ^bRichtwerte [117] orientiert an dem niedrigsten physischen Aktivitätslevel (PAL) 1.4: Absolute Werte wurden durch das Referenz-Körpergewicht der

jeweiligen 50. Perzentile gemäß der deutschen KIGGS Studie dividiert [93, 119]. † Daten waren bei 8 von 9 Patienten mit PA verfügbar. ‡ Patienten verfolgten keine kalkulierte diätetische Therapie. Modifiziert nach Gancheva et al., 2020 [1]. Genehmigung vermittelt durch Copyright Clearance Center, Inc.

3.5 Metabolisches Syndrom und kardiometabolische Risikofaktoren

Tab. 1 zeigt die klinischen und biochemischen Daten der Patienten mit PA, MMA, MMA CBL und IVA. Die Prävalenz des MetS gemäß *American Heart Association* für Kinder und gemäß *International Diabetes Federation* für Erwachsene sowie dessen Komponenten innerhalb der Patientengruppen sind in Abb. 7 und Tab. 4 dargestellt. Die Diagnose eines MetS mit 3 oder mehr von 5 Risikofaktoren [67, 70] lag bei fast 70% (Abb. 7) der Patienten mit PA vor. Die Mehrheit dieser Patientengruppe hatte Übergewicht oder hohes Normalgewicht (BMI \geq 75. Perzentile), einen erhöhten Taillenumfang und Dyslipidämie (Tab. 4). Außerdem hatte die Hälfte der Patienten mit PA erhöhte Nüchternblutglukosewerte und ein Drittel eine arterielle Hypertension (Tab. 4). Vier von fünf PA-Patienten mit schwerem Phänotyp (Tab. 1), präsentierten sich mit einem MetS und der gleiche Anteil von Patienten mit schwerem Phänotyp hatte einen Prädiabetes oder T2DM.

Auch bei der Mehrheit der Patienten mit MMA wurden Dyslipidämie und bei mehr als einem Drittel Hypertension diagnostiziert (Tab.1). Allerdings lag bei 89% (8/9) der Patienten mit MMA und einem von 9 Patienten mit MMA CBL eine chronische Niereninsuffizienz Grad \geq G3b [116] vor, sodass wir Hypertension und Hypertriglyceridämie als Definitionskriterien ausschlossen. Nach diesem Vorgehen hatten, obwohl 75% (6/8) der Patienten mit MMA \geq 3 von 5 MetS Risikofaktoren erfüllt hätten, 60% (6/10) der Patienten mit MMA immer noch 2 oder 3 MetS-Risikofaktoren. In der Gruppe der Patienten mit MMA CBL hingegen erfüllte kein Patient die Kriterien des MetS. Obwohl bei 89% (8/9) der Patienten mit MMA CBL keine chronische Niereninsuffizienz \geq G3b vorlag, wurde bei 67% (6/9) der Patienten mit MMA CBL bei einer Ruhemessung eine systolische und/oder diastolische Hypertension festgestellt. In der IVA-Gruppe, hatte einer von fünf Patienten ein MetS. Dabei handelte es sich um die älteste Patientin unter den Studienteilnehmern, welche adipös war. Die übrigen 83% (5/6) der Patienten mit IVA hatten keinen oder nur einen Risikofaktor (Tab. 4) [1].

FFA lagen bei 17% (1/6) der Patienten mit PA, 60% (3/5) der Patienten mit IVA, 50% (4/8) der Patienten mit MMA und 57% (4/7) der Patienten mit MMA CBL in der oberen Terzile nach Salgin und Kollegen [105].

Tab. 4: Komponenten des Metabolischen Syndroms in den Erkrankungsgruppen

Parameter	PA	MMA	MMA CBL A/B*	MMA CBL C*	IVA
Erhöhter Taillenumfang†	5 (71)	4 (50)	2 (33)	0 (0)	2 (33)
Erhöhte Nüchtern glukose‡	3 (50)	3 (33)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Hypertriglyceridämie§	4 (67)	9 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Erniedrigtes HDL- Cholesterol#	5 (83)	8 (89)	1 (17)	1 (33)	2 (40)
Systolische Hypertension¶	2 (29)	4 (40)	4 (67)	1 (33)	2 (33)
Diastolische Hypertension*	2 (29)	3 (30)	3 (50)	0 (0)	0 (0)

Daten sind dargestellt als n (Prozent). HDL, *high density lipoprotein*; IVA, *Isovalerianazidämie*; MMA, *Methylmalonazidämie*; MMA CBL A/B, *Adenosylcobalamin-Synthesedefekt*; MMA CBL C, *Adenosyl- und Methylcobalamin-Synthesedefekt*; P, *Perzentile*; PA, *Propionazidämie*; **Cobalamin A/B-Defekt* (n=4), *Cobalamin B-Defekt* (n=2), *Cobalamin C-Defekt* (n=3); † ≥ 94 cm für Männer (≥ 16 Jahre), ≥ 80 cm für Frauen (≥ 16 Jahre) [70] oder $\geq P90$ (< 16 Jahre, gemäß Alter, Geschlecht und Ethnie) [67]; ‡Erhöht ≥ 100 mg/dl [67]; § Erhöht ≥ 150 mg/dl (≥ 16 Jahre) [70] oder ≥ 110 mg/dl (< 16 Jahre) [67]; #Erniedrigt < 40 mg/dl für Männer (≥ 16 Jahre), < 50 mg/dl für Frauen (≥ 16 Jahre) [70] oder $\leq P10$ (< 16 Jahre, gemäß Alter, Geschlecht und Ethnie) [67]; ¶Systolische Hypertension ≥ 130 mmHg (≥ 16 Jahre) [70] oder $\geq P90$ (< 16 Jahre, gemäß Alter, Geschlecht und Körperlänge) [67]; *Diastolische Hypertension ≥ 85 mmHg (≥ 16 Jahre) [70] oder $\geq P90$ (< 16 Jahre, gemäß Alter, Geschlecht und Körperlänge) [67]. Referenzwerte wurden aus Populationen deutscher und europäischer Kinder für HDL-Cholesterol ($\leq P10$) und Triglyzeride [99] verwendet. Taillenumfang: PA n=7, MMA n=8, MMA CBL A/B n=6, MMA CBL C n=3, IVA n=6. Triglyzeride: PA n=6, MMA n=9, MMA CBL A/B n=6, MMA CBL C n=3, IVA n=5. Nüchtern glukose: PA n=6, MMA n=9, MMA CBL A/B n=6, MMA CBL C n=3, IVA n=6. Systolischer und diastolischer Blutdruck: PA n=7, MMA n=10, MMA CBL A/B n=6, MMA CBL C n=3, IVA n=6. Modifiziert nach Gancheva et al., 2020 [1]. Genehmigung vermittelt durch Copyright Clearance Center, Inc.

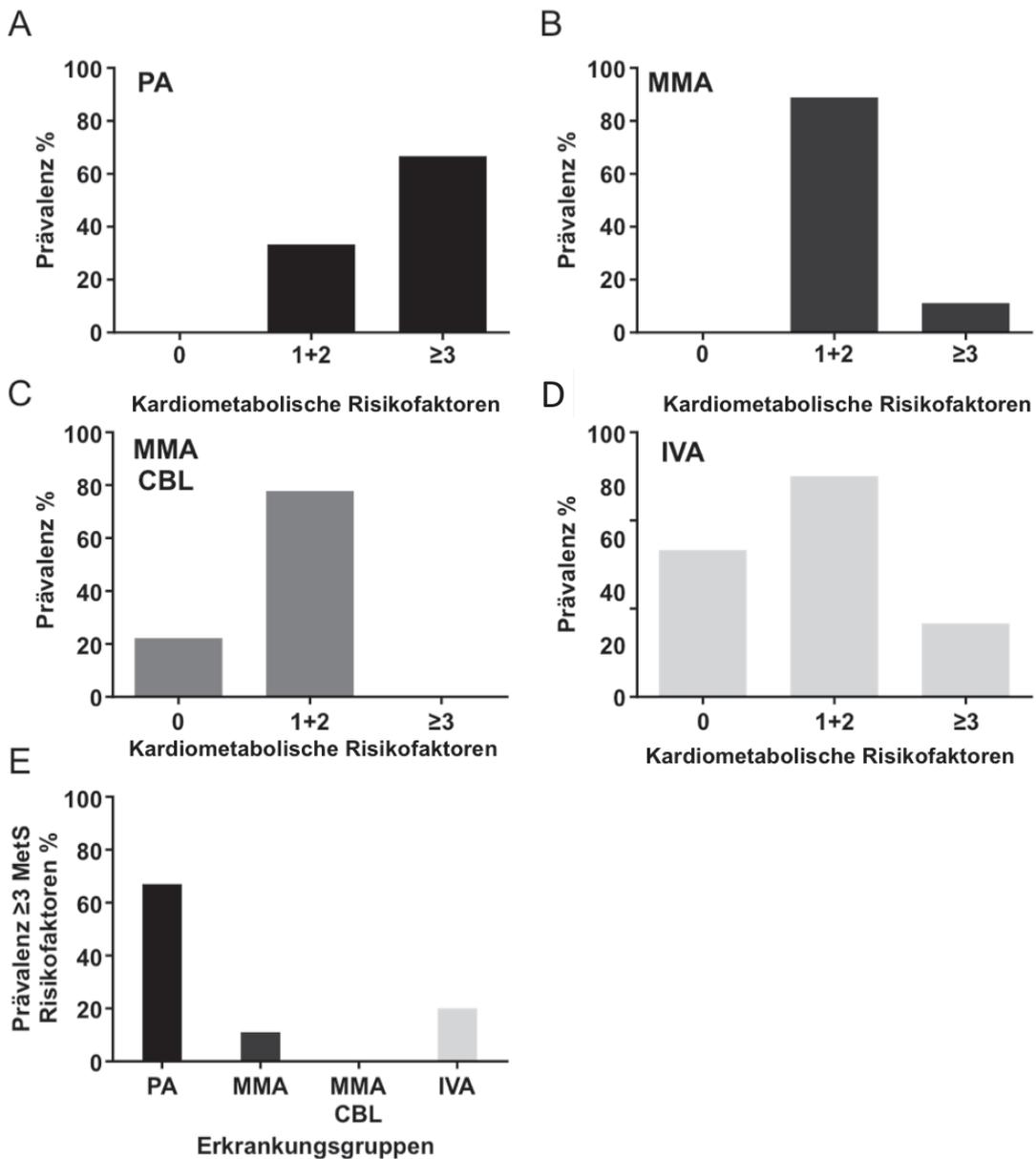


Abb. 7: Metabolisches Syndrom und kardiometabolische Risikofaktoren. Dargestellt sind die Erkrankungsgruppen im Vergleich. Das MetS wurde gemäß der *American Heart Association* – Definition für Kinder [67] und der *International Diabetes Federation*-Definition für Erwachsene [70] definiert. (A-D) Prävalenz der MetS-Risikofaktoren in der jeweiligen Erkrankungsgruppe (Anzahl der Patienten in der jeweiligen Gruppe, PA: n=7, MMA: n=10, MMA CBL: n=9, IVA: n=6). (E) Prävalenz des MetS (≥ 3 MetS Kriterien) in PA, MMA, MMA CBL, und IVA. %, Prozent; IVA, Isovalerianazidämie; MetS, Metabolisches Syndrom; MMA, Methylmalonazidämie; MMA CBL, Cobalaminsynthese-Defekt; PA, Propionazidämie. Modifiziert nach Gancheva et al., 2020 [1]. Genehmigung vermittelt durch Copyright Clearance Center, Inc.

3.6 Veränderungen der Leberstruktur und Leberzellschädigung

Eine Hepatomegalie zeigte sich sonografisch bei 75% (6/8) der Patienten mit PA, bei 80% (8/10) der Patienten mit MMA und 78% (7/9) der Patienten mit MMA CBL, jedoch nur bei 17% (1/6) der Patienten mit IVA. Eine hepatische Steatose wurde sonografisch bei 38% (3/8) der Patienten mit PA, aber nur jeweils einem Patienten der anderen Erkrankungsgruppen gefunden. In der ¹H-MRS, zeigte sich allerdings nur bei einem Patienten mit PA eine hepatische Steatose (Abb. 8), welcher auch eine Hepatomegalie hatte. Die hepatischen Konzentrationen von ATP und Pi waren zwischen den Patienten mit OA und ihren alters-, geschlechts- und BMI-gepaarte Kontrollen nicht signifikant verschieden (Tab 5). Die GOT war bei 83% (5/6) der Patienten mit PA, 17% (1/6) der Patienten mit IVA, 67% (6/9) der Patienten mit MMA und 11% (1/9) der Patienten mit MMA CBL erhöht. Die GPT war bei 83% (5/6) der Patienten mit PA, 0% (0/6) der Patienten mit IVA, 44% (4/9) der Patienten mit MMA und 0% (0/9) der Patienten mit MMA CBL erhöht [1].

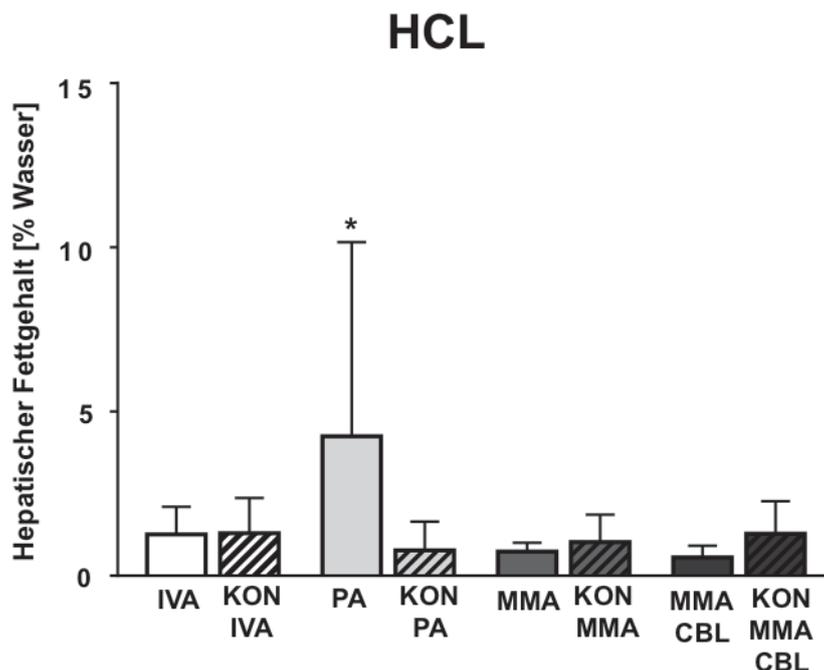


Abb. 8: Fettgehalt der Leber. Daten sind dargestellt als Mittelwert \pm Standardabweichung. %, Prozent; HCL, hepatozelluläre Lipide; IVA, Isovalerianazidämie; Kon, Kontrolle; MMA, Methylmalonazidämie; MMA CBL, Cobalaminsynthese-Defekt; PA, Propionazidämie. Modifiziert nach Gancheva et al., 2020 [1]. Genehmigung vermittelt durch Copyright Clearance Center, Inc.

3.7 Intramyozelluläre Lipide und Energiestoffwechsel des Skelettmuskels

Intramyozelluläre Lipide im Skelettmuskel waren bei Patienten mit MMA CBL, bei Einschluss der CBL C-Defekte, höher als bei der zugehörigen Kontrollgruppe. In den anderen OA-Gruppen konnten keine signifikanten Unterschiede in der Konzentration von intramyozellulären Lipiden festgestellt werden (Abb. 9 A). Patienten mit MMA hatten signifikant erniedrigtes Muskel-ATP, während Patienten mit PA signifikant niedrigeres Pi im Vergleich zu der jeweiligen Kontrollgruppe hatten (Tab. 5). Weder ATP noch Pi im Muskel waren bei Patienten mit IVA und MMA CBL verändert (Tab. 5). Sowohl bei Patienten mit PA als auch bei Patienten mit MMA war der Muskelkreatin Gehalt im Vergleich zu der Kontrollgruppe signifikant erhöht (Abb. 9 B) [1].

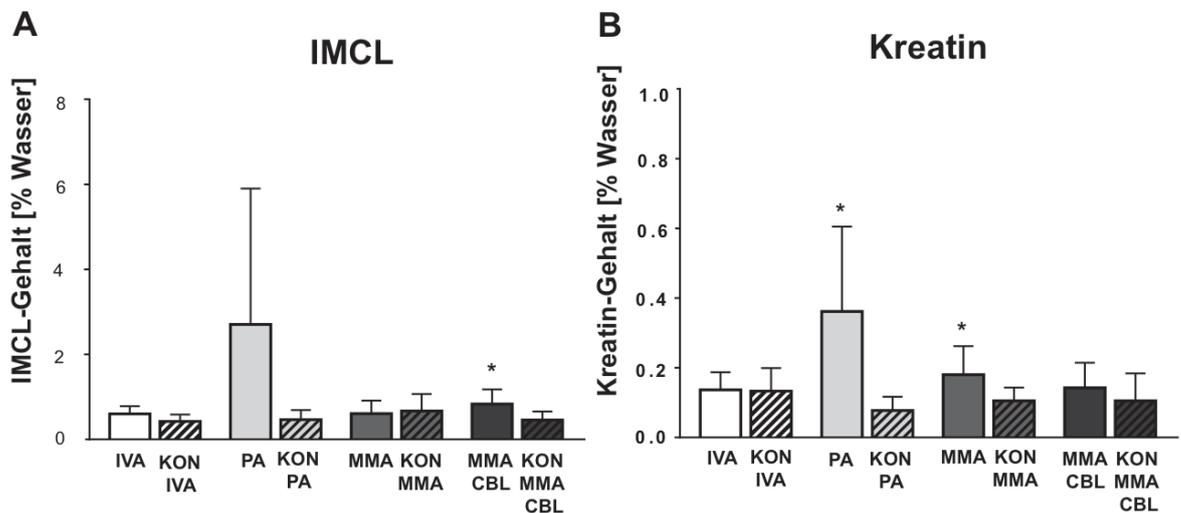


Abb. 9: Parameter des Skelettmuskels. Intramyozelluläre Lipide (A) und Kreatin Gehalt (B) im Skelettmuskel im Vergleich zu der alters-, geschlechts- und BMI-gepaarten Kontrollgruppe. Daten sind dargestellt als Mittelwert \pm Standardabweichung. * $p < 0,05$ versus Kontrolle. %, Prozent; IMCL, intramyozelluläre Lipide; IVA, Isovalerialanazidämie; Kon, Kontrolle; MMA, Methylmalonazidämie; MMA CBL, Cobalaminsynthese-Defekt; PA, Propionazidämie. Modifiziert nach Gancheva et al., 2020 [1]. Genehmigung vermittelt durch Copyright Clearance Center, Inc.

Tab. 5: Energiestoffwechsel von Leber und Skelettmuskel

Parameter	PA	KON PA	IVA	KON IVA	MMA	KON MMA	MMA CBL	KON
γ-ATP in der Leber (mmol/l)	2.63 ± 0.58 (N=4)	2.61 ± 0.41 (N=4)	2.47 ± 0.48 (N=5)	2.88 ± 0.75 (N=5)	2.74 ± 0.42 (N=5)	2.96 ± 0.32 (N=5)	3.00 ± 0.43 (N=4)	3.22 ± 0.91 (N=4)
Pi in der Leber (mmol/l)	2.19 ± 0.60 (N=4)	1.53 ± 0.23 (N=4)	1.88 ± 0.50 (N=5)	2.09 ± 0.63 (N=5)	2.47 ± 0.55 (N=5)	2.14 ± 0.62 (N=5)	2.13 ± 0.30 (N=4)	2.10 ± 0.91 (N=4)
γ-ATP/TP im Muskel	0.17 ± 0.01 (N=6)	0.16 ± 0.01 (N=6)	0.16 ± 0.01 (N=5)	0.16 ± 0.01 (N=5)	0.16 ± 0.01 (N=7)	0.17 ± 0.01 (N=7)	0.17 ± 0.02 (N=5)	0.17 ± 0.01 (N=5)
PCr/TP im Muskel	0.78 ± 0.01 (N=6)	0.77 ± 0.03 (N=6)	0.76 ± 0.02 (N=5)	0.77 ± 0.02 (N=5)	0.76 ± 0.01 (N=7)	0.76 ± 0.01 (N=7)	0.75 ± 0.04 (N=5)	0.5 ± 0.02 (N=5)
Pi/TP im Muskel	0.06 ± 0.01 (N=6)	0.07 ± 0.01 (N=6)	0.08 ± 0.01 (N=5)	0.07 ± 0.02 (N=5)	0.08 ± 0.01 (N=7)	0.07 ± 0.01 (N=7)	0.08 ± 0.02 (N=5)	0.08 ± 0.02 (N=5)

Daten sind dargestellt als Mittelwert ± Standardabweichung; fettgedruckte Werte zeigen statistische Signifikanz im Vergleich zu Kontrollen an ($p < 0,05$); IVA, Isovalerianazidämie; Kon, Kontrolle; l, Liter; MMA, Methylmalonazidämie; MMA CBL, Cobalaminsynthese-Defekt; mmol, Millimol; PA, Propionazidämie; PCr, Phosphokreatin; Pi, anorganisches Phosphat; TP, gesamtes Phosphat. Modifiziert nach Gancheva et al., 2020 [1]. Genehmigung vermittelt durch Copyright Clearance Center, Inc.

3.8 Glukose- und Insulinstoffwechsel

Die Glukosekonzentrationen im Blut während des OGTT waren bei Patienten mit PA bei 60 und 120 Minuten im Vergleich zu der entsprechenden Kontrollgruppe erhöht (Abb. 10). Bei Patienten mit MMA hingegen war die Glukosekonzentration bei 60 Minuten im Vergleich zu der Kontrollgruppe erniedrigt (Abb. 10). Bei Patienten mit IVA und MMA CBL wurden keine Alterationen gefunden. Während die Parameter der nüchternen Insulinsensitivität zwischen den Gruppen nicht verändert waren, war der OGIS, ein Prädiktor für die orale Glukosesensitivität [120], bei Patienten mit PA im Vergleich zur Kontrollgruppe erniedrigt (Tab. 6). $\Delta\text{C-Peptid}_{30}/\Delta\text{Glukose}_{30}$, ein früher Insulinsekretionsindex, welcher sich aus der Ratio C-Peptid/Glukose in den ersten 30 Minuten nach Glukoseingestion zusammensetzt, war bei Patienten mit IVA niedriger im Vergleich zu der entsprechenden Kontrollgruppe [1, 107]. Die hepatische Insulinextraktion war bei Patienten mit MMA höher als in der zugehörigen Kontrollgruppe (Tab. 6) [1].

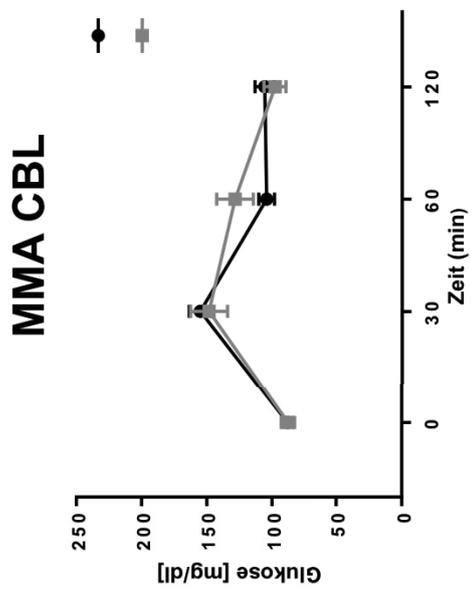
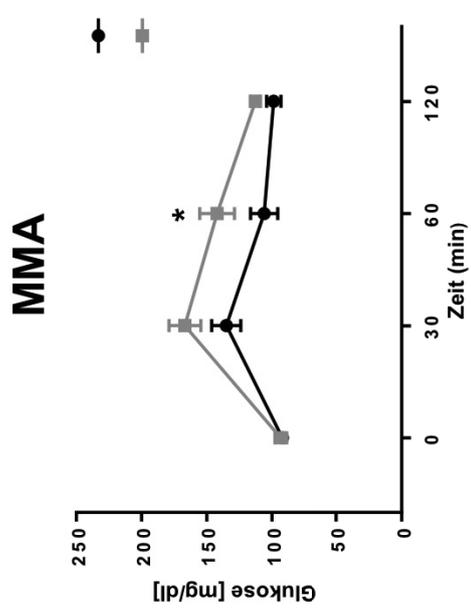
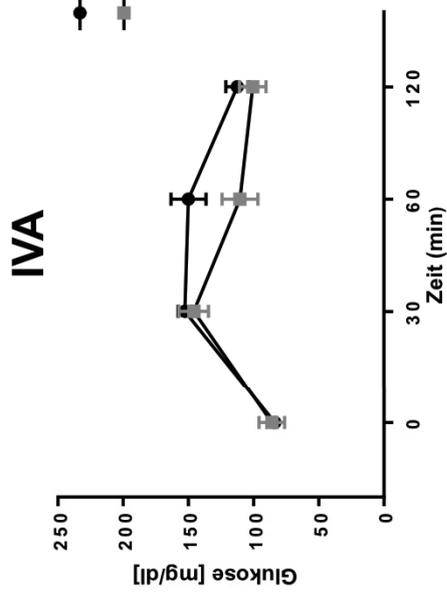
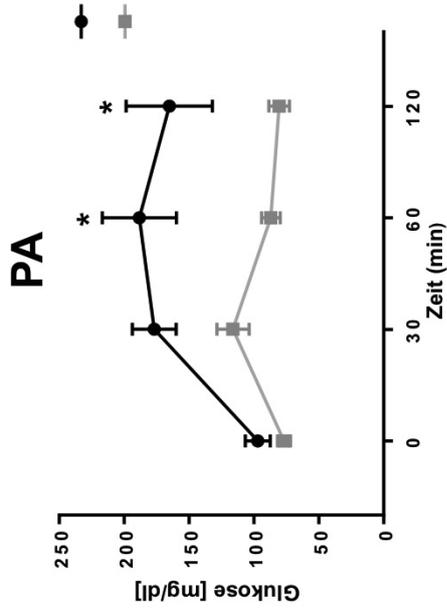


Abb. 10: Glukosekonzentration im Blut während des oralen Glukosetoleranztests. Dargestellt sind die Erkrankungsgruppen verglichen mit den Kontrollgruppen. Die schwarzen Linien stellen die jeweilige Patientengruppe, die graue Linie die Kontrollgruppe dar. PA N=5, IVA N=5, MMA N=8, MMA CBL N=9. Daten sind dargestellt als Mittelwert \pm Standard error of the mean, * $p < 0,05$ versus Kontrolle. DI, Deziliter; IVA, Isovalerianazidämie; Kon, Kontrolle; mg, Milligramm; min, Minuten; MMA, Methylmalonazidämie; MMA CBL, Cobalaminsynthese-Defekt; PA, Propionazidämie. Modifiziert nach Gancheva et al., 2020 [1]. Genehmigung vermittelt durch Copyright Clearance Center, Inc.

Tab. 6: Parameter der Insulinsensitivität und -sekretion

Parameter	PA (n)	KON PA (n)	IVA (n)	KON IVA (n)	MMA (n)	KON MMA (n)	MMA CBL (n)	KON MMA CBL (n)
HOMA-IR (mg/dl)	3.4 ± 1.8 (5)	2.1 ± 1.8 (5)	1.0 ± 0.1 (5)	2.5 ± 2.0 (5)	3.2 ± 0.2 (7)	3.6 ± 1.0 (7)	2.3 ± 1.6 (9)	3.1 ± 1.5 (9)
QUICKI	0.4 ± 0.1 (5)	0.5 ± 0.1 (5)	0.5 ± 0.1 (5)	0.4 ± 0.1 (5)	0.4 ± 0.1 (7)	0.4 ± 0.0 (7)	0.4 ± 0.1 (9)	0.4 ± 0.1 (9)
Matsuda Index	3.1 ± 2.0 (5)	8.0 ± 7.1 (5)	9.1 ± 6.0 (5)	7.1 ± 7.7 (5)	4.3 ± 3.4 (7)	2.3 ± 0.4 (7)	5.7 ± 4.2 (9)	4.4 ± 4.7 (9)
OGIS (m ² min ⁻¹ *m ⁻²)	364.0 ± 83.4 (5)	487.7 ± 83.2 (5)	421.3 ± 62.3 (5)	438.5 ± 106.5 (5)	403.4 ± 34.5 (7)	389.6 ± 36.9 (7)	409.3 ± 68.2 (9)	444.3 ± 73.6 (9)
Nüchtern- Betazellfunktion	170.8 ± 40.1 (5)	121.8 ± 64.5 (5)	80.9 ± 49.1 (5)	105.4 ± 23.6 (5)	234.4 ± 131.2 (7)	113.6 ± 39.2 (7)	144.0 ± 83.7 (9)	114.3 ± 49.4 (9)
ΔCp30/ΔG30	0.6 ± 0.4 (5)	1.0 ± 0.5 (5)	0.38 ± 0.20 (5)	0.75 ± 0.19 (5)	1.78 ± 1.05 (6)	0.70 ± 0.53 (6)	0.67 ± 0.26 (9)	0.76 ± 0.43 (9)
Adaptations- index	0.4 ± 0.1 (5)	0.4 ± 0.2 (5)	0.3 ± 0.1 (5)	0.4 ± 0.1 (5)	0.6 ± 0.2 (7)	0.4 ± 0.1 (7)	0.3 ± 0.2 (9)	0.4 ± 0.1 (9)
Dispositions- index	2.9 ± 1.0 (5)	2.9 ± 1.5 (5)	2.4 ± 1.4 (5)	3.4 ± 1.8 (5)	3.4 ± 1.6 (7)	4.1 ± 0.8 (7)	2.5 ± 1.4 (9)	3.6 ± 1.1 (9)
Hepatische Extraktion (%)	58.5 ± 8.7 (4)	66.0 ± 7.8 (4)	69.2 ± 12.1 (3)	62.0 ± 14.2 (3)	61.8 ± 6.7 (4)	42.3 ± 5.3 (4)	58.7 ± 3.2 (5)	55.6 ± 15.7 (5)

Daten sind Mittelwert ± Standardabweichung; fettgedruckte Werte zeigen statistische Signifikanz an (p<0,05) versus Kontrolle; %, Prozent; CP, C-Peptid; G, Glukose; HOMA-IR, *homeostatic model assessment insulin resistance*; IVA, Isovalerianazidämie; KON, Kontrolle; m, Meter; min, Minute; ml, Milliliter; MMA, Methylmalonazidämie; MMA CBL, Cobalaminsynthese-Defekt; QUICKI, *quantitative insulin-sensitivity check index*; PA, Propionazidämie. Modifiziert nach Gancheva et al., 2020 [1]. Genehmigung vermittelt durch Copyright Clearance Center, Inc.

3.9 Produktion reaktiver Sauerstoffspezies und Leukozytenrespirometrie

TBARS im Serum, das Oxidation-Reduktion-Potential sowie die antioxidative Kapazität im Serum von Patienten mit PA, MMA und MMA CBL wurde jeweils mit den Werten der Patienten mit IVA verglichen.

Die TBARS im Serum waren bei Patienten mit PA höher als bei Patienten mit IVA ($p < 0,01$) (Abb. 11 A), zwischen MMA und IVA sowie MMA CBL und IVA ergab sich kein signifikanter Unterschied. Es konnten keine signifikanten Unterschiede beim Oxidation-Reduktion-Potential zwischen den OA-Patientengruppen gefunden werden (Abb. 11 B). Die antioxidative Kapazität war niedriger bei Patienten mit MMA CBL als bei Patienten mit IVA ($p < 0,05$) (Abb. 11 C) [1].

Die Glykolyse- und Citratzyklus-gekoppelte Respiration war tendenziell höher in Patienten mit PA ($p = 0,09$), wohingegen es keine Unterschiede in der Beta-Oxidation und Citratzyklus-gekoppelten Respiration gab [1].

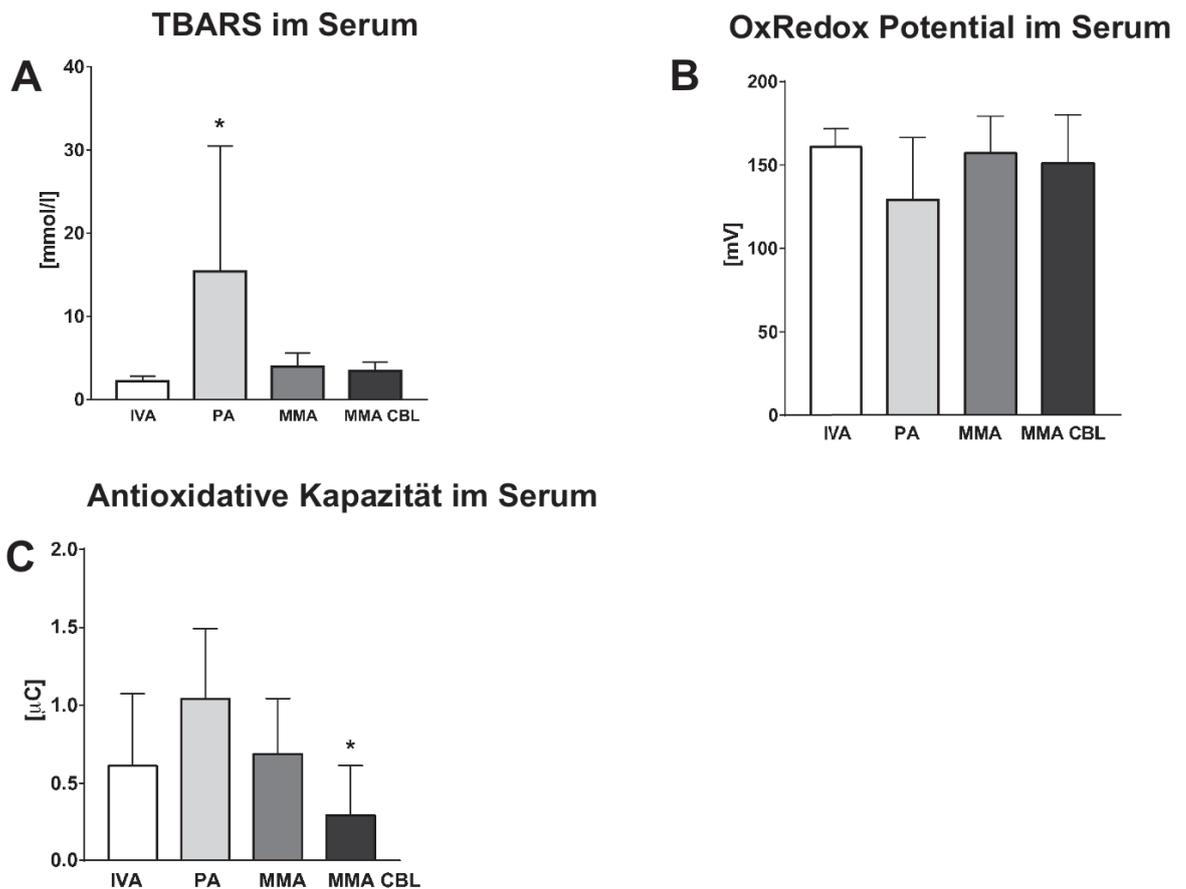


Abb. 11: Parameter des oxidativen Stresses. TBARS im Serum (A), Oxidation-Reduktion-Potential im Serum (B) und Antioxidative Kapazität im Serum (C) in Organoazidopathien. Daten sind dargestellt als Mittelwert \pm Standardabweichung, * $p < 0,05$. IVA, Isovalerialazidämie; l, Liter; MMA, Methylmalonazidämie; MMA CBL, Cobalaminsynthese-Defekt; mmol, Millimol; mV, Millivolt; OxRedox, Oxidation-Reduktion; PA, Propionazidämie; TBARS, Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen; μ C, Mikrocoulomb. Modifiziert nach Gancheva et al., 2020 [1]. Genehmigung vermittelt durch Copyright Clearance Center, Inc.

3.10 Parameter der Nierenfunktion

Die Nierenfunktion war vor allem bei Patienten mit MMA eingeschränkt. Verglichen mit den Referenzwerten hatten alle Patienten mit MMA erhöhte Kreatin-, Cystatin C- und Harnstoffwerte und eine reduzierte GFR. Bei 78% (7/9) lagen zudem erhöhte Harnsäurewerte (Tab. 7) vor. In der PA-Gruppe waren bei 60% (3/5) Cystatin C erhöht und die GFR erniedrigt, bei 17% (1/6) Kreatinin und Harnstoff erhöht und bei 20% (1/5) Harnsäure erhöht. Bei 75% der Patienten mit MMA CBL war Cystatin C erhöht, bei je 22% (2/9) Kreatinin und Harnsäure erhöht sowie die GFR reduziert und bei 11% (1/9) Harnstoff erhöht. Von den Patienten mit IVA hatte keiner erhöhte Kreatinin-, Harnstoff- oder Harnsäurewerte, 67% (4/6) ein erhöhtes Cystatin C und 33% (2/6) eine erniedrigte GFR.

Tab. 7: Parameter der Nierenfunktion

Parameter	PA (n)	MMA (n)	MMA CBL (n)	IVA (n)
Kreatinin (mg/dl)	0.65 ± 0.19 (6)	1.55 ± 0.73 (8)	0.78 ± 0.47 (9)	0.59 ± 0.12 (6)
Cystatin C (mg/l)	1.07 ± 0.27 (5)	2.89 ± 1.04 (9)	1.25 ± 0.92 (8)	0.97 ± 0.14 (6)
GFR Cystatin (mg/l)	87.0 ± 27.44 (5)	29.89 ± 17.78 (9)	94.63 ± 34.39 (9)	102.7 ± 15.87 (6)
Harnstoff (mg/dl)	25.17 ± 11.09 (6)	64.33 ± 28.95 (9)	29.22 ± 15.16 (9)	18.33 ± 2.42 (6)
Harnsäure (mg/dl)	5.20 ± 1.53 (5)	7.67 ± 2.29 (9)	5.38 ± 2.60 (9)	4.53 ± 0.73 (6)

Daten sind dargestellt als Mittelwert ± Standardabweichung. DI, Deziliter; GFR, Glomeruläre Filtrationsrate; IVA, Isovalerianazidämie; l, Liter; mg, Milligramm; MMA, Methylmalonazidämie; MMA CBL, Cobalaminsynthese-Defekt; PA, Propionazidämie.

4 Diskussion

4.1 Krankheitsspezifische Phänotypen der Organoazidopathien

4.1.1 Veränderungen im Glukosestoffwechsel

In dieser Studie bestand bei Patienten mit PA eine höhere Prävalenz einer IR im Vergleich zu der stoffwechselgesunden Kontrollgruppe aus der *Yale Pathophysiology of Type 2 Diabetes in Youth*-Studie [91]. Im OGTT hatten Patienten mit PA eine Hyperglykämie zu den Zeitpunkten 60 min und 120 min im Vergleich zu der Kontrollgruppe ($p < 0,05$) und eine verminderte Insulinsensitivität. Bei einem Patienten mit PA wurde im Rahmen dieser Studie ein T2DM diagnostiziert [1]. Bis dahin wurde von keinen Patienten mit PA und DM berichtet [77, 121].

Eine transiente Hyperglykämie, die sich als diabetische Ketoazidose präsentiert, wurde im Rahmen der initialen metabolischen Entgleisung bei Patienten mit PA [71, 72], aber auch bei Patienten mit MMA und IVA, bereits mehrfach beschrieben [73, 74, 77]. Teilweise wurde ebenfalls eine transiente IR bei Manifestation der Erkrankung oder im Rahmen einer metabolischen Entgleisung beschrieben. Die Genese ist weitestgehend unklar [78, 122].

Als Auslöser für eine diabetische Ketoazidose in den ersten Lebensjahren bei Patienten mit OA diskutieren Alfadhel und Kollegen [77] einen Insulinmangel aufgrund einer Schädigung des Pankreas durch die akkumulierenden Toxine. Bei unseren Patienten mit PA waren Nüchtern-Betazellfunktion, Adaptations- und Dispositionsindex, als Marker für die kompensatorische Insulinsekretion, im Vergleich zu der Kontrollgruppe aber nicht signifikant verändert. Die Lipase im Serum, als Marker für eine Pankreasschädigung, war ebenfalls bei allen unserer Patienten mit PA normwertig (Anhang, Tab. 2). Dies spricht für keine relevanten Veränderungen in der Insulinsekretion in unserem Kollektiv im Gegensatz zu den Beschreibungen von Alfadhel und Kollegen [77].

Unsere Patienten mit MMA hatten in unserer Studie hingegen 60 Minuten nach Glukosebelastung sogar signifikante niedrigere Glukosewerte im Vergleich zu der Kontrollgruppe. Dies war begleitet von einer veränderten hepatischen Insulinkinetik und ohne Veränderungen der Nüchternglukose. Ebenfalls zeigten sich bei unseren Patienten mit MMA keine signifikanten Veränderungen in der Insulinsensitivität und -sekretion.

Unsere Ergebnisse weisen daher auf eine erniedrigte Insulinsensitivität bei Patienten mit PA im Alter von 12-23 Jahren hin, deren Ursache bislang nicht bekannt ist.

Krankheitsspezifische Veränderungen im Energiestoffwechsel scheinen eine mögliche Erklärung zu sein [1].

Die Unterschiede im Glukosestoffwechsel zwischen den Patientengruppen PA und MMA könnten teilweise auch in der Heterogenität unserer Patientenkohorte begründet liegen. Während unsere Kohorte der PA-Patienten eine Altersspanne von 12-23 Jahren hatte, hatte unsere Kohorte der MMA-Patienten eine Altersspanne von 6-19 Jahren [1]. Progressive Prozesse mitochondrialer Störungen sowie Schädigungen der Organe durch toxische Metabolite könnten somit in einer älteren Kohorte weiter fortgeschritten sein. Es ist zudem bekannt, dass eine viszerale Fettansammlung, die mit der Entwicklung einer IR assoziiert ist, ab der Pubertät zunimmt [123]. Zudem ist bekannt, dass die Insulinsensitivität in der Pubertät durch hormonelle Veränderungen sinkt [124]. Letztlich bedarf es an dieser Stelle ebenfalls weiterer möglichst multizentrischer Studien, um eine größere Anzahl an Patienten mit PA und MMA in verschiedenen Altersgruppen auf das Vorliegen einer IR zu untersuchen [1].

4.1.2 Propionazidämie: Erhöhte Prävalenz eines Metabolischen Syndroms

Eine erniedrigte Insulinsensitivität, die das kardiometabolische Risiko erhöht und letztlich auch bei Kindern und jungen Erwachsenen zu T2DM führen kann [125], ist ein Kriterium für das MetS [67, 70]. Neben der IR konnten wir bei der Erkrankungsgruppe der PA eine Dyslipidämie, abdominale Adipositas und hepatische Fettakkumulation, übereinstimmend mit den Definitionen des pädiatrischen MetS und dem *Clustering* kardiometabolischer Risikofaktoren [69], zeigen. Eine höhere Frequenz an kardiovaskulären Ereignissen wurde bei Patienten mit PA jedoch bislang nicht beschrieben [1].

Insgesamt hatten fast 70% unserer Patienten mit PA ein MetS nach Definition von Goodman und Kollegen [67] und die übrigen Patienten erfüllten je ein oder zwei MetS-Kriterien. Im Gegensatz dazu lag die Prävalenz eines MetS bei europäischen Kindern zwischen zwei und elf Jahren bei 1-11% [126] und bei 30% bei übergewichtigen Kindern und jungen Erwachsenen [127]. Bei den Familienanamnesen der erstgradigen Verwandten unserer Patienten konnten jedoch keine erhöhten Inzidenzen und/oder andere Ursachen für eine Dyslipidämie oder ein MetS eruiert werden. Daher scheint ein erblicher Faktor unsere Ergebnisse wahrscheinlich nicht zu beeinflussen [1].

Bemerkenswerterweise hatten alle Patienten mit PA, die, nach unserer Klassifizierung, einen schweren metabolischen und klinischen Phänotypen hatten, entweder ein MetS, einen veränderten Glukosestoffwechsel oder sogar beides. Der PA-Patient mit

moderatem Phänotyp hatte wiederum weder ein MetS noch einen veränderten Glukosestoffwechsel. Von dem einzigen PA-Patienten mit mildem Phänotyp liegen leider keine OGTT- oder MetS-Daten vor. Insgesamt suggerieren diese Befunde jedoch eine Verbindung zwischen dem Schweregrad der Erkrankung PA und einer Beeinträchtigung des Glukose- und Fettstoffwechsels [1].

4.1.3 Propionazidämie: Vermehrte Leberverfettung

Die von uns gezeigte vermehrte Leberverfettung bei Patienten mit PA unterstützt die These von Larson-Meyer und Kollegen [89], dass vermehrte hepatozelluläre Lipide im Kindesalter auf eine IR hinweisend sein können. Eine Akkumulierung von intramyozellulären Lipiden, welche ebenfalls mit einer IR assoziiert ist [128], konnten wir hingegen bei unseren Patienten mit PA nicht feststellen [1].

Ein Überschuss an FFA im Plasma durch eine sehr fettreiche Ernährung, erhöhtem Efflux aus viszeralen oder peripheren Gewebe sowie durch eine *de novo*-Lipogenese ist mit einer erniedrigten Insulinsensitivität des ganzen Körpers verbunden [128]. Obwohl wir im Rahmen unserer Studie bei unseren Patienten mit PA eine niedrigere Insulinsensitivität gegenüber der Kontrollgruppe sowie eine vermehrte Leberverfettung festgestellt haben, konnten wir nur bei 17% (1/6) der Patienten mit PA erhöhte FFA im Blut messen.

Die IR wird zudem zunehmend als Schlüsselrolle in der Assoziation einer nicht-alkoholischen Fettleber (NAFLD) und eines MetS beschrieben. Es wurde zudem vermutet, dass die hepatische IR der erste Schritt in der Entwicklung einer IR ist [129]. Diese geht mit einer Hyperglykämie sowie einer Reduzierung des hepatischen Energiestoffwechsels einher [109].

Interessanterweise zeigten verschiedene Studien, dass männliche, adipöse Individuen häufiger von einer NAFLD betroffen sind als weibliche [130] und wenn eine NAFLD vorhanden ist, dann ist sie bei männlichen Patienten stärker ausgeprägt [131]. Während unsere Gruppe der Patienten mit MMA zu 60% (6/10) weiblich war und sich die hepatozellulären Lipide gegenüber der Kontrollgruppe nicht signifikant unterschieden, waren 75% (6/8) der an PA erkrankten Patienten männlich und die Patientengruppe hatte im Vergleich zu der Kontrollgruppe signifikant höhere hepatozelluläre Lipide. An dieser Stelle ist allerdings zu erwähnen, dass eine NAFLD bei Kindern per Definition nicht vorliegt, wenn die Leberverfettung sekundär durch einen Gen- oder Stoffwechseldefekt bedingt ist [132] und diese Bezeichnung daher auf unsere Patienten nicht anwendbar ist.

Da bei gleicher Ernährung Patienten mit PA von vermehrter Leberverfettung betroffen waren, aber Patienten mit MMA nicht, lässt sich spekulieren, dass diese spezifisch für den Stoffwechseldefekt der PA sein könnte oder vermehrt bei diesen Patienten vorlag, da die Erkrankungsgruppe im Durchschnitt älter war und die Leberverfettung mit dem Alter fortschreitend sein könnte. Eine erhöhte Verfettung aufgrund eines anderen Ernährungsbedarfes im Vergleich zu den Patienten mit MMA, wird im Verlauf dieser Arbeit diskutiert.

Ogleich die MRS, welche wir bei unseren Patienten als Untersuchungsmethode für die Leberverfettung verwendet haben, ein sehr sensitives und nicht-invasives *in vivo* Messverfahren und eine ethisch unbedenkliche Alternative zum Screening von Kindern [132] darstellt, ist der Goldstandard für die Diagnostik einer NAFLD die Leberbiopsie [131]. Die Definition einer NAFLD ist bei Erwachsenen auf eine gemessene Prozentzahl von über 5,56% Fettgehalt des gesamten Lebervolumens festgelegt [61]. Auch bei Kindern wird ein erhöhter Leberfettgehalt bei über 5% definiert [133]. Wir hingegen haben die prozentuale Leberverfettung mit der gepaarten gesunden Kontrolle verglichen. Und während in der MRS nur einer unserer PA-Patienten eine vermehrte Leberverfettung aufwies, konnten wir diese bei 38% (3/8) Patienten mit PA sonografisch darstellen. Diese Befunde untermauern, dass die Ergebnisse mit Definitionen und Methoden variieren und weiterführende, möglicherweise multizentrische Studien, erforderlich sind, um unsere Ergebnisse möglicherweise an einer größeren Patientengruppe zu bestätigen.

4.1.4 Phänotypen der Methylmalonazidämie und Isovalerianazidämie

Bei den von uns untersuchten Patienten mit MMA zeigte sich gegenüber der PA ein anderer Phänotyp mit niedrigerem BMI und weniger viszeralem Fett, einem reduzierten ATP-Gehalt des Skelettmuskels und einer hohen Prävalenz der Hepatomegalie, jedoch ohne Leberfettvermehrung. Patienten mit IVA schienen insgesamt vergleichsweise milder betroffen zu sein.

Trotzdem hatten insgesamt 60% der Patienten mit MMA in dieser Studie zwei oder drei kardiometabolische Risikofaktoren, selbst nachdem erhöhter Blutdruck und Hypertriglyzeridämie bei Patienten mit einer chronischen Niereninsuffizienz \geq Stadium G3b [116] aus den MetS-Kriterien herausgenommen wurden. Am häufigsten war dabei das HDL-Cholesteroll erniedrigt (89%), 50% der Patienten mit MMA hatten einen erhöhten Taillenumfang und 33% der Patienten mit MMA eine erhöhte Nüchternblutglukose.

Von den Patienten mit MMA CBL hingegen erfüllte keiner die Kriterien eines MetS und die Mehrheit hatte nur einen oder zwei Risikofaktoren. In dieser Erkrankungsgruppe fanden wir hingegen eine vermehrte Akkumulierung von intramyozellulärem Fett im Vergleich zu der Kontrollgruppe, aber weder eine vermehrte Anreicherung von hepatozellulären Lipiden noch eine IR. Diese gegensätzlichen Befunde unterstreichen die Unterschiede in der klinischen Präsentation bei Patienten mit MMA und MMA CBL, obwohl biochemisch bei beiden Erkrankungsgruppen eine Akkumulation von Methylmalonsäure vorliegt [10, 13].

Unsere Daten stimmen mit den Ergebnissen von Hörster und Kollegen [134] überein, die eine Kohorte von 95 Patienten mit klassischer MMA (mut) und 28 Patienten mit MMA CBL A bezüglich ihres klinischen *Outcomes* verglichen. Dabei zeigte sich, dass die Patienten mit MMA CBL A ein signifikant besseres Längen- und Gewichtwachstum, eine signifikant höhere GFR, weniger renale Komplikationen, ein besseres neurologisches *Outcome* sowie signifikant weniger Methylmalonsäure im Urin hatten im Vergleich zu den Patienten mit klassischer MMA (mut), trotz initial sehr ähnlicher klinischer Präsentation bei Manifestation. Die Unterschiede zwischen den beiden Erkrankungsgruppen wurden von den Autoren im Wesentlichen auf die Cobalamin-Responsivität der Patienten mit MMA CBL A zurückgeführt. In deren Studie sprachen bis auf einen Patient alle Patienten mit MMA CBL auf eine Substitution mit Hydroxycobalamin an [134]. Ein milderer metabolischer Phänotyp und eine somit geringere Ansammlung toxischer metabolischer Metabolite, könnten daher ebenfalls einen Einfluss auf das Risiko für die Entstehung eines MetS haben.

67% der Patienten mit MMA CBL litten in den punktuellen Messungen unter einer systolischen und/oder diastolischen Hypertension, obwohl die Nierenfunktion bei dieser Patientengruppe nur wenig beeinträchtigt war. Dies weist darauf hin, dass die Hypertension in dieser Erkrankungsgruppe, und eventuell auch bei den anderen von Hypertension betroffenen Patienten mit OAs, durch eine von der Niere unabhängige Ursache entsteht. Zur genaueren Beurteilung der Blutdruckveränderungen sollten in Zukunft 24 Stunden-Blutdruckanalysen erfolgen.

Im Gegensatz zu den Patienten mit PA und MMA, zeigten Patienten mit IVA keine relevanten Veränderungen im Energiestoffwechsel, Insulinsensitivität oder –sekretion. Außer einer Person, die mit einem BMI von 32,1 kg/m² adipös war, erfüllte kein Patient mit IVA die MetS-Kriterien. Dies spiegelt den klinisch milderen und intermittierenden Phänotyp der IVA wider [1]. Da nur bei einem Patienten mit IVA ein genetischer Befund vorlag, ist unklar, ob einige der Patienten eine Genvariante tragen, die mit klinisch

milderer, zum Teil asymptomatischer Form einhergehen können [39]. Allerdings wurden 50% der Patienten mit IVA vor Einführung der IVA in das Neugeborenencreening aufgrund ihrer klinischen Symptomatik enzymatisch und/oder biochemisch diagnostiziert, sodass es sich bei diesen Patienten, um keine asymptomatische Form der IVA handelt [1].

Der Enzymdefekt bei Patienten mit IVA ist proximaler im Katabolismus der BCAA lokalisiert und betrifft den Abbau der AS Leucin zu Acetyl-CoA im Gegensatz zu den Enzymdefekten von PA und MMA, die distaler im Katabolismus von Isoleucin und Valin lokalisiert sind und beide zu einem Mangel an Succinyl-CoA für die Funktion des Citratzyklus führen [22, 34]. Dies führt möglicherweise zu einem größeren Defizit in der Energiegewinnung über den Citratzyklus bei Patienten mit PA und MMA als bei Patienten mit IVA [22, 34]. Es ist wahrscheinlich, dass die unterschiedlichen Stoffwechselwege der OAs und/oder die krankheitsspezifischen Metabolite bestimmte Merkmale der mitochondrialen Funktion beeinflussen und einen unterschiedlichen Grad an mitochondrialer Toxizität ausüben und so den metabolischen Phänotyp beeinflussen [1]. Ob eine schwerwiegende Beeinträchtigung des Citratzyklus bei Patienten mit PA möglicherweise zu reduzierten Raten an Glykolyse, einem verminderten Substratfluss an Acetyl-CoA in den Citratzyklus und somit zu einer postprandialen Hyperglykämie beitragen kann, bleibt spekulativ [1].

Unsere Befunde weisen auf einen krankheitsspezifischen Unterschied zwischen Patienten mit PA und MMA bei der Entwicklung kardiometabolischer Risikofaktoren hin, obwohl die Enzymdefekte im Katabolismus von Isoleucin und Valin nur einen Enzymschritt voneinander entfernt liegen. Der deutlich unterschiedliche Phänotyp mit ausgeprägter viszeraler Fettmasse bei den Patienten mit PA könnte durch die verschiedenen akkumulierenden Metabolite bedingt sein, welche die Funktionalität des Energiestoffwechsels unterschiedlich beeinflussen [1].

4.1.5 Energiestoffwechsel der Leber

Im Hinblick auf die mitochondriale Funktion war die ATP-Konzentrationen in der Leber in keiner der vier Erkrankungsgruppen verändert und unsere Ergebnisse weichen somit von vorherigen Studien ab, die morphologische Veränderungen an den hepatischen Mitochondrien bei Patienten mit OA beschrieben haben [30, 49]. Es sind bereits eine erniedrigte Aktivität des hepatischen Komplex IV der Atmungskette in *ex vivo* Messungen [49] sowie eine verminderte Aktivität der COX [50] in den hepatischen Mitochondrien bei Patienten mit PA und MMA und eine reduzierte intrazelluläre Glutathionkonzentration in

einem *Mut-knock-out*-Mausmodell [49] beschrieben worden. Unsere MitoMRS-Studie hat die hepatische ATP-Konzentration allerdings nicht-invasiv *in vivo* gemessen, was einen Ruhefluss durch die ATP-Synthase widerspiegelt [84]. Daher könnten die Diskrepanzen zwischen den Studien möglicherweise durch die unterschiedliche Methodik und die Art der gemessenen Mitochondrienfunktion verursacht sein (*ex vivo* versus *in vivo*) [1]. Da wir die Leber der Patienten aus ethischen Gründen ausschließlich nicht-invasiv untersucht haben, konnten wir zudem nur die hepatische Mitochondrienfunktion, aber nicht die Morphologie beurteilen [1].

Unabhängig von der Art der OA weisen unsere Ergebnisse auf eine frühe Adaptation der Substratflüsse hin, da sich weder das hepatische ATP noch die mitochondriale oxidative Kapazität bei den verschiedenen Erkrankungsgruppen gegenüber der jeweiligen Kontrollgruppe unterschieden. Eine beeinträchtigte Funktion der OXPHOS [15] könnte aber schon in einem jungen Alter in Geweben mit besonders hohem Energiebedarf wie Gehirn und Herz, welche wir im Rahmen dieser Studie nicht untersucht haben, relevant sein [1].

4.1.6 Hepatomegalie und strukturelle Leberveränderungen

In unserer Studienkohorte wiesen 75% der Patienten mit PA, 80% der Patienten mit MMA und 78% der Patienten mit MMA CBL eine Hepatomegalie auf, was mit früheren Befunden übereinstimmt [32]. Jedoch zeigte sich bei Patienten mit PA eine Hepatomegalie mit Steatose während Patienten mit MMA und MMA CBL sich mit Hepatomegalie, aber ohne Steatose präsentierten [1].

Unsere Daten sind vereinbar mit den Ergebnissen von Imbard und Kollegen [32], welche die Leberfunktion und –schädigung von 16 Patienten mit PA und 12 Patienten mit MMA untersuchten. In deren Kohorte zeigte sich bei der Mehrheit der Patienten in der Leberultraschalluntersuchung eine Hepatomegalie oder Hyperechogenität, bei 60% der untersuchten Patienten mit PA lag sogar beides vor [32]. Ebenfalls wurde eine Hepatomegalie und Hyperechogenität in der Leberultraschalluntersuchung bei ihren Patienten mit MMA zu jeweils 33% beschrieben und bei 11% lag beides vor. Sie beobachteten außerdem bei 50% ihrer Patienten mit PA und 31% ihrer Patienten mit MMA bei mindestens 30% der Messungen des Alpha-Fetoproteins im Blut einen Wert, der mehr als 1,5-fach über dem oberen Normwert lag. Dabei konnten sie einen positiven Zusammenhang zwischen einem neonatalen *Onset* der Erkrankung und der Wahrscheinlichkeit für eine Erhöhung des Alpha-Fetoproteins finden. Obwohl die Ursache für die Leberzellschädigung bei diesen Patienten unklar blieb, wurde eine progressive Regeneration der Leber durch die

toxischen Metabolite (Methylmalonsäure, Propionsäure, Propionylcarnitin) von den Autoren diskutiert. Die von uns gezeigte Hepatomegalie bei je 75%, 80% und 78% der darauf untersuchten Patienten mit PA, MMA und MMA CBL sowie die sonografisch gezeigte Hyperechogenität der Leber bei 38% der PA-Patienten, könnte ebenfalls mit einer abnormalen Regeneration der Leberzellen assoziiert sein [1, 32].

In diesem Zusammenhang berichteten Forny und Kollegen, dass die Entwicklung von Neoplasien der Leber eine zunehmend beobachtete Komplikation bei Patienten mit MMA darstellt [135]. Als mögliche Ursache wurde zum einen das Vorliegen einer Leberfibrose/-zirrhose als zugrundeliegender Risikofaktor bei schwer betroffenen Patienten mit MMA spekuliert. Zudem wurde diskutiert, dass oxidativer Stress Auswirkungen auf die Leber-Onkogenese haben kann und DNA-Schäden sowie zur Aktivierung von protoonkogenen Signalwegen führen kann [135]. Imbard und Kollegen [32] vermuteten ebenfalls, dass eine mitochondriale Dysfunktion zu der Entstehung von Neoplasien in OAs beitragen kann [1].

Die zugrundeliegenden Mechanismen der unterschiedlich veränderten Leberphänotypen bei PA und MMA sind bislang nicht vollständig geklärt. Die Akkumulierung von Propionat und Propionyl-CoA-assoziierten Metaboliten und die konsekutive Verminderung des Coenzym A-Pools bei Patienten mit PA und MMA könnte die Leberbeteiligung bei diesen Erkrankungen erklären [1]. Toxische Effekte von Propionyl-CoA auf die mitochondriale Funktion der Leber sind bereits beschrieben worden [136-138].

4.1.7 Energiestoffwechsel des Skelettmuskels

Bei unseren Patienten mit PA war das Pi im Skelettmuskel signifikant erniedrigt gegenüber der Kontrollgruppe ($p < 0,05$) [1]. Interessanterweise haben wir zudem eine erniedrigte ATP-Konzentration im Skelettmuskel bei Patienten mit MMA und erhöhtes intramyozelluläres Fett in Patienten mit MMA CBL gefunden. Dies spricht für einen unterschiedlich veränderten muskulären Energiestoffwechsel bei diesen Stoffwechselerkrankungen [1]. Muskuläre Hypotonien und eine verminderte Muskelmasse sind zudem bekannte klinische Charakteristika bei OAs [10, 21].

Die verminderte ATP- und Pi-Konzentration bei MMA/PA im Muskel könnte den von Feillet und Kollegen [139] beschriebenen verminderten Ruheenergieverbrauch bei Patienten mit PA und MMA erklären sowie die häufig beobachtete Lethargie bei Patienten mit PA und MMA [10] aufgrund einer geringeren Energieverfügbarkeit. Valkovic und Kollegen [140] fanden eine Assoziation zwischen erniedrigten Pi-Werten im Skelettmuskel in der ^{31}P -MRS und Übergewicht sowie T2DM. Da unsere Patienten mit PA die Erkrankungsgruppe

mit der höchsten Prävalenz viszeraler Adipositas sowie eine IR hatte, unterstützen unsere Befunde der erniedrigten Pi-Werte diese These [1].

Dass bei Mitochondriopathien Veränderungen im Energiestoffwechsel des Skelettmuskels auftreten können, zeigten Vorgerd und Kollegen [141]. In deren Kohorte zeigten Patienten mit Friedreich-Ataxie eine verzögerte PCr-Regenerierung des Skelettmuskels nach aerober Belastung sowie eine noch ausgeprägtere Verzögerung nach ischämischer Belastung im Vergleich zu einer Kontrollgruppe. Die Autoren sahen dies als starken Hinweis auf eine mitochondriale Schädigung, da die PCr-Regenerierung nach Belastung von einem intakten mitochondrialen oxidativen Metabolismus abhängt [141]. Bei unserer Kohorte zeigten sich jedoch in der ³¹P-MRS keine Unterschiede im PCr im Vergleich zu der Kontrollgruppe [1]. Allerdings untersuchten wir die Patienten auch in Ruhe und nicht nach körperlicher Belastung. Es bedarf weiterführender Studien, die auch die Mechanismen der PCr-Regenerierung nach körperlicher Belastung bei Patienten mit OAs evaluieren, um tiefere Einsicht in die Veränderungen des mitochondrialen Energiestoffwechsels des Skelettmuskels dieser Patienten zu erhalten.

4.2 Genese des Metabolischen Syndroms bei Patienten mit Propionazidämie

4.2.1 Energiezufuhr

Wir konnten zeigen, dass bei unseren Patienten mit PA 56% Übergewicht oder hohes Normalgewicht hatten und 71% einen erhöhten Taillenumfang hatten. Bis auf einen Patienten, hatten alle Patienten mit PA einen erhöhten absoluten sowie prozentualen Körperfettanteil. Dies trat auf, obwohl sich außer zwei Patienten mit PA (BMI= 21,6 kg/m² und 25,9 kg/m²), alle Patienten mit PA und MMA nach alters- und geschlechtsspezifischen Diätempfehlungen [117] ernährten, was einen grundsätzlichen Bestandteil des Therapiekonzepts darstellt [1, 20] (Tab. 3). Oft wird ein großer Teil der Nahrung über eine Perkutane Enterogastrostomie sondiert und die Patienten nehmen nur bedingt orale Nahrung auf. Sowohl der Gehalt an Kohlenhydraten als auch an Lipiden entsprach den empfohlenen Mengen [117] für das jeweilige Alter und Geschlecht. 6 Patienten mit PA und 9 Patienten mit MMA erhielten außerdem zusätzlich zu dem natürlichen Eiweiß definierte Mengen an synthetischem Eiweiß.

Und obwohl die Patienten mit PA weniger Energie pro kg KG zu sich nahmen, wenn sie entsprechend der Diätpläne ernährt wurden, als die Patienten mit MMA (p=0,02), hatten prozentual mehr Patienten mit PA einen erhöhten Taillenumfang und Übergewicht als Patienten mit MMA.

Die Frage, ob die Ernährung von Patienten mit OAs langfristig adäquat ist, untersuchten Daly und Kollegen [142] retrospektiv an 14 Patienten mit PA, MMA und IVA, die langfristig ausschließlich mittels Sondierung ernährt wurden. Bei der Untersuchung zeigte sich, dass Patienten mit OA mit zunehmendem Alter eine verringerte Energiezufuhr, unterhalb der empfohlenen Referenzwerte der Weltgesundheitsorganisation [143] erhalten hatten. Darunter stieg jedoch das Körpergewicht der Patienten an, bei nicht suffizientem Längenwachstum [142]. Zudem untersuchten Daly und Kollegen [144] in einer multi-zentrischen europäischen Studie die Diät von 186 Patienten mit PA. Dabei fiel auf, dass die meisten Zentren weniger natürliches Eiweiß als empfohlen verschrieben sowie vergleichsweise hohe Mengen an synthetischem Eiweiß.

Daly und Kollegen schlussfolgerten, dass ein inadäquates Verhältnis von natürlicher Proteinzufuhr zu Energiezufuhr zu einem verringerten Längenwachstum und einer inadäquaten Gewichtszunahme führen könnte [144]. Damit übereinstimmend zeigten sich die Daten von Saleemani und Kollegen [145], welche retrospektiv den Körperlängen- und gewichtsverlauf von vier Patienten mit PA untersuchten. Hierbei zeigte sich trotz altersentsprechender Energie- und Eiweißzufuhr ein inadäquates Längenwachstum bei erhöhtem Gewicht und BMI. Als mögliche Erklärung diskutierten sie das Missverhältnis von einer hohen Menge synthetischem Eiweiß und einer niedrigeren Menge natürlichem Eiweiß in Bezug auf die Gesamtenergiezufuhr [145].

Auch bei unseren Patienten mit PA und MMA wurde die von der Weltgesundheitsorganisation [143] empfohlene Eiweißzufuhr überwiegend nur erreicht, wenn die Zufuhr des synthetischen Eiweißes einberechnet wurde. Der Anteil des synthetischen Eiweißes betrug bei unseren Patienten mit PA im Mittel 50% und bei unseren Patienten mit MMA im Mittel 25% der Eiweißzufuhr.

Ursächlich für die Restriktion an natürlichem Eiweiß und die zusätzliche Gabe an synthetischem Eiweiß ist die Empfehlung Patienten mit OA eiweißarm zu ernähren, da eine übermäßige Zufuhr zu mitunter schweren metabolischen Entgleisungen führen kann [10]. Zudem wird angenommen, dass Patienten mit OA von einer hohen Kalorienzufuhr profitieren, um ausreichend Energie für die Biosynthese und Anabolisierung zu haben, da eine Katabolie ebenfalls zu schweren metabolischen Entgleisungen führen kann [10, 146].

4.2.2 Anabolisierungstherapien und Sondierungen

Im Rahmen der meist rezidivierenden Stoffwechsellentgleisungen werden die Patienten forciert mit Glukose und Flüssigkeit anabolisiert, um ihren Stoffwechsel zu stabilisieren

[10]. Daraus ergibt sich die Frage, ob wiederholte Anabolisierungstherapien mit hoher Glukosezufuhr einen Einfluss auf das kardiometabolische Risikoprofil bei den Patienten haben. Francini-Pesenti und Kollegen diskutierten, dass die vermehrte Kalorienzufuhr und reduzierte Proteinzufuhr im Rahmen von Infektionen oder Entgleisungen bei Patienten mit angeborenen Stoffwechselerkrankungen zu vermehrter viszeraler Fettmasse führen könnten [147].

In unserer Studienkohorte untersuchten wir die Hospitalisierungsraten unserer Patienten mit PA und MMA aus den letzten 2 Jahren vor der Studiervisite und fanden eine durchschnittlich fast neunfach höhere Hospitalisierungsrate aufgrund von metabolischen Entgleisungen bei Patienten mit MMA gegenüber den Patienten mit PA [1]. Im Rahmen dieser Entgleisungen erhielten die Patienten eine vermehrte Kalorienzufuhr bei reduzierter oder vorübergehend unterbrochener Proteinzufuhr. Die Patienten mit MMA hatten jedoch trotz häufigerer Hospitalisierung keine IR und weniger viszerales Fett [1]. Daher lässt sich annehmen, dass die wiederholten Anabolisierungstherapien bei unseren Patienten mit PA nicht alleinig zu dem krankheitsspezifischen Phänotypen beitragen.

Derzeit mangelt es an Studien, die den Einfluss von nächtlichen Dauersondierungen ab der Kindheit auf das kardiometabolische Risikoprofil von Patienten mit OA untersuchen. In unserer Studienkohorte war der Anteil an Patienten, die aufgrund einer Ernährung über ein Gastrostoma verkürzte oder fehlende Nüchternphasen hatten, mit 75% (6/8) der Patienten mit PA und 70% (7/10) der Patienten mit MMA jedoch vergleichbar.

4.2.3 Energieverbrauch

Bei unseren Patienten mit PA zeigte sich eine erhöhte viszerale Fettmasse, trotz strikt eingehaltener Ernährungsempfehlungen [1]. Dabei ist anzumerken, dass sich die von uns verwendeten Ernährungsempfehlungen [117] an dem Energiebedarf und –verbrauch gesunder Kinder orientieren. Obwohl wir bei unseren Patienten das niedrigste physische Aktivitätsniveau für die entsprechende Nährstoffzufuhr auswählten [1], stellt sich die Frage, ob vor allem die schwerbetroffenen Patienten mit PA einen niedrigeren Energiebedarf und –verbrauch haben. Derzeit fehlt es an Studien, die die physische Aktivität dieser Patientengruppen untersuchen. Doch es wird angenommen, dass die verringerte physische Aktivität ein Grund für den erhöhten BMI dieser Patienten sein könnte [147].

Der Phänotyp der PA könnte daher durch einen geringeren Kalorienbedarf bei Patienten mit PA bedingt sein, zum Beispiel aufgrund eines erniedrigten Ruheenergieverbrauchs.

Feillet und Kollegen [139] beschrieben einen erniedrigten Ruheenergieverbrauch sowohl bei Patienten mit PA als auch bei Patienten mit MMA im Vergleich zu Gesunden. Als dafür ursächlich vermuteten sie die geringe Proteinzufuhr, reduzierte Muskelmasse und neurologische Beeinträchtigung bei Patienten mit OAs [139].

Ein Indiz für eine reduzierte Muskelmasse, welche zu einem niedrigeren Ruheenergieverbrauch führen kann, ist die BCM. Diese dient als Maß für die Muskel- und Organmasse der Patienten und war tatsächlich bei 67% (2/3) unserer Patienten mit PA und 100% (1/1) der Patienten mit MMA erniedrigt, obgleich bei der Mehrheit dieser Patienten eine Hepatomegalie vorlag. Da BCM und ECM in unserer Studie nur bei Patienten ab 15 Jahren bestimmt werden konnten, sind unsere Fallzahlen zu diesem Parameter allerdings sehr gering und daher nur eingeschränkt vergleichbar.

Den neurologischen Status der Patienten haben wir in dieser Studie nicht standardisiert untersucht und neurologische Vorbefunde lagen nur vereinzelt von Patienten vor. Insbesondere bei Patienten mit PA ist die Psychomotorik allerdings oft stark beeinträchtigt [35] und könnte einen Einfluss auf den Ruheenergieverbrauch haben [139].

Unsere Befunde unterstützen die These, dass Patienten mit PA und MMA möglicherweise weniger Energie bedürfen als die alters- und geschlechtsspezifischen Diätempfehlungen vorgeben [117], möglicherweise aufgrund eines erniedrigten Ruheenergieverbrauchs, weniger körperlicher Aktivität, und durch eine damit verbundene erniedrigte Muskelmasse. Zudem muss der Energiebedarf bei der Entwicklung von hohem Normalgewicht frühzeitig an das Sollgewicht angepasst werden, wenn die Stoffwechselsituation dies erlaubt.

Dies unterstützten ebenfalls Thomas und Kollegen [146], die herausfanden, dass Patienten mit OAs einen niedrigeren Energiebedarf für ein adäquates Wachstum haben. In dieser Studie wurden die Daten von 6 Patienten mit OA (n=2 mit Glutarazidämie Typ 1, n=2 mit MMA, n=1 mit MMA CBL C und n=1 mit PA) über einen Zeitraum von 3 Jahren retrospektiv untersucht und ihre anthropometrischen Daten, Diätprotokolle und Aminosäurespiegel im Serum ausgewertet. Alle untersuchten Patienten zeigten ein adäquates Wachstum trotz einer Ernährung mit weniger Energiezufuhr als in den diätetischen Richtlinien empfohlen wurde. Ein Patient zeigte sogar ein adäquates Wachstum mit nur 53% der empfohlenen Energiezufuhr. Als mögliche Ursache für diese Beobachtung diskutierten sie ebenfalls Bewegungsmangel und -störungen [146].

Van Hagen und Kollegen [148] fanden im Gegensatz dazu einen erhöhten Ruheenergieverbrauch in ihren Untersuchungen von Patienten mit PA (n=6) und MMA (n=2). Sie untersuchten diesen über indirekte Kalometrie und stellten einen um 8%

erhöhten Ruheenergieverbrauch fest, was eine signifikante Erhöhung gegenüber dem erwarteten Ruheenergieverbrauch war. Dabei konnten sie einen positiven Zusammenhang zwischen der Kalorienzufuhr, und somit erhöhtem BMI in ihrer Kohorte, und dem Ruheenergieverbrauch sowie zwischen der Einnahme von synthetischem Eiweiß und dem Ruheenergieverbrauch herstellen [148]. In unserer Kohorte hatten die Patienten mit PA ebenfalls hohe/erhöhte BMI-Werte, wurden größtenteils mit synthetischem Eiweiß ernährt und zeigten dennoch unter Diättherapie nach standardisierten Empfehlungen eine Anhäufung an viszeralem Fett [1].

Da wir den Ruheenergieverbrauch nicht erfasst haben, bleibt es spekulativ und bedarf weiterer Untersuchungen, ob die Beobachtungen in dieser Studie mit Veränderungen im Ruheenergieverbrauch zusammenhängen.

4.2.4 Oxidativer Stress in der Entstehung des kardiometabolischen Risikoprofils

Die erhöhte Prävalenz des pädiatrischen MetS und/oder das *Clustering* kardiometabolischer Risikofaktoren [69] bei Patienten mit PA unterstützt die Hypothese, dass mitochondriale Veränderungen bei dieser Erkrankung zu dem von uns identifizierten Phänotyp beitragen könnten [1]. Dazu passend konnten wir in unseren Patienten mit PA mehr oxidativen Stress im Vergleich zu Patienten mit IVA messen. Da uns an dieser Stelle jedoch eine gesunde Kontrollgruppe fehlte, konnten wir diese Messungen nur in Relation zu der vergleichsweise milder betroffenen Erkrankungsgruppe IVA und nicht im Vergleich zu Gesunden einordnen.

Der Zusammenhang zwischen gesteigertem oxidativen Stress mit der Entstehung eines kardiometabolischen Risikoprofils wurde bereits bei Patienten, die nicht von einer OA betroffen sind, untersucht [149]. Oxidativer Stress in der Zelle wurde auch von Gallego-Villar und Kollegen als wesentlich beteiligter Faktor bei Zellschäden in einem hypomorphen PA-Mausmodell diskutiert [59]. Ob der vermehrte oxidative Stress durch die akkumulierenden Metabolite entsteht und an dieser Stelle, vor allem die PA-spezifischen Metabolite, toxische Effekte in den Mitochondrien ausüben, bleibt unklar. Letztlich unterstützen unsere Daten das Konzept der Antioxidantien-Gabe als adjuvante Therapie bei erkrankten Individuen mit PA [56], um präventiv mitochondrialen Schäden vorzubeugen. Da außerdem bei Patienten mit MMA CBL eine erniedrigte antioxidative Kapazität gemessen wurde, könnte auch diese Patientengruppe von Antioxidantien profitieren [1].

4.3 Stärken und Schwächen der Studie

Die MitoMRS-Studie ist eine klinische Studie, die erstmals den *in vivo* Energiestoffwechsel von 34 Patienten mit klassischen OAs und Cobalamin-Defekten phänotypisiert hat. Damit ist die Patientenzahl höher als bei jeder zuvor publizierten Studie über OAs. Glukose-, Leber- und Muskelstoffwechsel sowie Parameter des oxidativen Stresses wurden analysiert. Dabei wurden moderne Messverfahren, wie die hochauflösende Leukozytenrespirometrie und $^{31}\text{P}/^1\text{H}$ -MRS angewendet [1].

Eine Schwäche dieser Studie ist, dass die Gruppengrößen immer noch klein sind, wenn man die Patienten auf die vier Erkrankungsgruppen unterteilt. Durch die kleinen Gruppengrößen, die große Altersspanne, Geschlechtsunterschiede sowie ein breites Spektrum klinischer Präsentationen, entsteht eine größere Varianz innerhalb der Gruppen und eine erniedrigte statistische Aussagekraft [1]. Außerdem beinhaltet die Erkrankungsgruppe „MMA CBL“ sowohl Patienten mit CBL A/B- sowie CBL C/D-Defekt, welche biochemisch und klinisch wiederum krankheitstypische Unterschiede zeigen. Nichtsdestotrotz ist die Probandenzahl von Patienten mit OA, die an einer *ultrarare condition* leiden [150] und häufig aufgrund der Erkrankung Compliance-Probleme zeigen, größer als in vorangegangenen Studien. Obwohl für jeden Patienten eine alters-, geschlechts- und BMI-gepaarte stoffwechselgesunde Kontrolle rekrutiert wurde, gab es für einige Variablen, wie den oxidativen Stress im Serum und die mitochondriale Funktion der Leukozyten, keine Kontrollgruppe aufgrund ethischer Bedenken bezüglich einer Blutentnahme bei gesunden Minderjährigen. Deshalb wurde lediglich die klinisch milder betroffene, obgleich ebenfalls erkrankte, Gruppe der Patienten mit IVA als Referenzgruppe verwendet. Dadurch wird die Aussagekraft der Daten gemindert [1]. Ebenso befolgte die klinisch milder betroffene IVA ein weniger striktes Diätprotokoll im Vergleich zu den Patienten mit PA und MMA, was wiederum die Vergleichbarkeit der Erkrankungsgruppen untereinander bezüglich ihrer Veränderungen im Glukose- und Lipidstoffwechsel einschränkt. Zudem wurden einige der Kontrollprobanden des OGTT von einer anderen Studie eines anderen Studienorts und –Zeitpunktes verwendet [91].

Während akute Effekte körperlicher Aktivität weitestgehend ausschlossen werden konnten, da empfohlen wurde 48 Stunden vor Aufnahme und 24 Stunden vor den metabolischen Untersuchungen auf körperliche Aktivität zu verzichten, ist die habituelle körperliche Aktivität nicht erfasst worden. Die habituelle körperliche Aktivität könnte ebenfalls einen Einfluss auf einen unterschiedlichen Kalorienbedarf bei Patienten mit PA und MMA haben. Somit kann ein *Confounding*-Effekt langfristiger Aktivität nicht ausgeschlossen werden.

Des Weiteren waren 6 der 9 Patienten mit PA junge Erwachsene von 16 Jahren oder älter, sodass die Pubertät einen Effekt auf die Prävalenz der IR in dieser Patientengruppe gehabt haben könnte [1].

Die genannten Faktoren können die Generalisierbarkeit dieser Daten beeinträchtigen. Nichtsdestotrotz bietet diese Studie neue Daten zum *in vivo* Energiestoffwechsel von Kindern und jungen Erwachsenen mit OAs. Diese Erkenntnisse können für zukünftige Studien mit ähnlichen Messmethoden oder für Testungen von antioxidativen Therapien bei Patienten mit OA genutzt werden [56].

4.4 Zusammenfassung und Ausblick

Zusammenfassend zeigte sich, dass eine PA das Risiko für ein MetS oder kardiometabolisches Risikofaktor-*Clustering* erhöht. Dies spiegelt sich in der frühen Entwicklung der viszeralen Adipositas und Leberverfettung wider und suggeriert, dass sekundäre mitochondriale Veränderungen zu der Entwicklung weiterer metabolischer Abnormalitäten führen könnten. Ein geringerer Kalorienbedarf bei guter Stoffwechseleinstellung bei Patienten mit PA als in den alters- und geschlechtsspezifischen Empfehlungen [117] für gesunde Kinder und Jugendliche genannt wird, könnte ebenfalls eine Rolle bei der Entwicklung eines kardiometabolischen Risikoprofils und des MetS spielen. Der Kalorienbedarf ist aufgrund eines niedrigeren Energieverbrauchs bei schwerbetroffenen Individuen wahrscheinlich angepasst zu berechnen. Auch die MMA-Erkrankung verändert Glukose- und Energiestoffwechsel, jedoch mit einem anderen Phänotyp und einer niedrigeren MetS-Prävalenz als bei Patienten mit PA. Dies unterstützt das Konzept, dass die verschiedenen akkumulierenden Metabolite bei diesen beiden Erkrankungen den Energiestoffwechsel auf unterschiedliche Weise verändern [1]. Weiterführende Studien mit homogeneren Patientengruppen werden zum besseren Verständnis benötigt.

Die Ergebnisse dieser Studie befürworten das Konzept eines regelmäßigen Screenings von Patienten mit OA auf kardiometabolische Risikofaktoren, vor allem bei Patienten mit PA, um zusätzlichen Folgeerkrankungen, wie dem MetS, entgegenwirken zu können. Therapieansätze, wie zum Beispiel die Gabe von Antioxidantien ab einem jungen Alter zur Verminderung des oxidativen Stresses, sollten weiter verfolgt werden [1].

5 Literaturverzeichnis

1. Gancheva, S., et al., *Cardiometabolic risk factor clustering in patients with deficient branched-chain amino acid catabolism: A case-control study*. J Inherit Metab Dis, 2020.
2. Villani, G.R., et al., "*Classical organic acidurias*": diagnosis and pathogenesis. Clin Exp Med, 2017. **17**(3): p. 305-323.
3. Saudubray, J.-M., G. van den Berghe, and J.H. Walter, *Inborn Metabolic Diseases*. Springer, 2012: p. 246-256.
4. Harris, R.A., M. Joshi, and N.H. Jeoung, *Mechanisms responsible for regulation of branched-chain amino acid catabolism*. Biochem Biophys Res Commun, 2004. **313**(2): p. 391-6.
5. Schriever, S.C., et al., *Cellular signaling of amino acids towards mTORC1 activation in impaired human leucine catabolism*. J Nutr Biochem, 2013. **24**(5): p. 824-31.
6. Sengupta, S., T.R. Peterson, and D.M. Sabatini, *Regulation of the mTOR complex 1 pathway by nutrients, growth factors, and stress*. Mol Cell, 2010. **40**(2): p. 310-22.
7. Mohsen, A.W. and J. Vockley, *Kinetic and spectral properties of isovaleryl-CoA dehydrogenase and interaction with ligands*. Biochimie, 2015. **108**: p. 108-19.
8. Tanaka, K., et al., *Isovaleric Acidemia: A New Genetic Defect Of Leucine Metabolism*. Biochemistry, 1966.
9. Ando, T., et al., *Propionic acidemia in patients with ketotic hyperglycinemia*. J Pediatr, 1971. **78**(5): p. 827-32.
10. Baumgartner, M.R., et al., *Proposed guidelines for the diagnosis and management of methylmalonic and propionic acidemia*. Orphanet J Rare Dis, 2014. **9**: p. 130.
11. Oberholzer, V.G., et al., *Methylmalonic aciduria. An inborn error of metabolism leading to chronic metabolic acidosis*. Arch Dis Child, 1967. **42**(225): p. 492-504.
12. Horster, F., et al., *Long-term outcome in methylmalonic acidurias is influenced by the underlying defect (mut0, mut-, cblA, cblB)*. Pediatr Res, 2007. **62**(2): p. 225-30.
13. Fowler, B., J.V. Leonard, and M.R. Baumgartner, *Causes of and diagnostic approach to methylmalonic acidurias*. J Inherit Metab Dis, 2008. **31**(3): p. 350-60.
14. Manoli, I., J.L. Sloan, and C.P. Venditti, *Isolated Methylmalonic Acidemia*, in *GeneReviews(R)*, R.A. Pagon, et al., Editors. 1993, University of Washington, Seattle University of Washington, Seattle. GeneReviews is a registered trademark of the University of Washington, Seattle. All rights reserved.: Seattle (WA).
15. de Keyzer, Y., et al., *Multiple OXPHOS deficiency in the liver, kidney, heart, and skeletal muscle of patients with methylmalonic aciduria and propionic aciduria*. Pediatr Res, 2009. **66**(1): p. 91-5.
16. Zschocke, J. and G.F. Hoffmann, *Vademecum metabolicum: Diagnose und Therapie erblicher Stoffwechselkrankheiten*. 2012: Schattauer Verlag.
17. Longo, N., et al., *Anaplerotic therapy in propionic acidemia*. Mol Genet Metab, 2017. **122**(1-2): p. 51-59.
18. Najafi, R., et al., *Demographic and Clinical Findings in Pediatric Patients Affected by Organic Acidemia*. Iran J Child Neurol, 2016. **10**(2): p. 74-81.
19. Dionisi-Vici, C., et al., '*Classical*' organic acidurias, propionic aciduria, methylmalonic aciduria and isovaleric aciduria: long-term outcome and effects of expanded newborn screening using tandem mass spectrometry. J Inherit Metab Dis, 2006. **29**(2-3): p. 383-9.
20. Fraser, J.L. and C.P. Venditti, *Methylmalonic and propionic acidemias: clinical management update*. Curr Opin Pediatr, 2016. **28**(6): p. 682-693.
21. Kolker, S., et al., *The phenotypic spectrum of organic acidurias and urea cycle disorders. Part 1: the initial presentation*. J Inherit Metab Dis, 2015. **38**(6): p. 1041-57.

22. Ensenauer, R., et al., *A common mutation is associated with a mild, potentially asymptomatic phenotype in patients with isovaleric acidemia diagnosed by newborn screening*. Am J Hum Genet, 2004. **75**(6): p. 1136-42.
23. Dercksen, M., et al., *Clinical variability of isovaleric acidemia in a genetically homogeneous population*. J Inherit Metab Dis, 2012. **35**(6): p. 1021-9.
24. Mayatepek, E., *Angeborene Stoffwechselerkrankungen - Früherkennung, Leitsymptome und Therapieoptionen*. 2016. **2. Auflage**.
25. Shigematsu, Y., et al., *Prenatal diagnosis of organic acidemias based on amniotic fluid levels of acylcarnitines*. Pediatr Res, 1996. **39**(4 Pt 1): p. 680-4.
26. Marquard, J., et al., *Chronic pancreatitis in branched-chain organic acidurias--a case of methylmalonic aciduria and an overview of the literature*. Eur J Pediatr, 2011. **170**(2): p. 241-5.
27. Sag, E., et al., *A Rare Cause of Recurrent Acute Pancreatitis in a Child: Isovaleric Acidemia with Novel Mutation*. Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr, 2017. **20**(1): p. 61-64.
28. Martinez Alvarez, L., et al., *Optic neuropathy in methylmalonic acidemia and propionic acidemia*. Br J Ophthalmol, 2016. **100**(1): p. 98-104.
29. Deodato, F., et al., *Methylmalonic and propionic aciduria*. Am J Med Genet C Semin Med Genet, 2006. **142c**(2): p. 104-12.
30. Wilnai, Y., et al., *Abnormal hepatocellular mitochondria in methylmalonic acidemia*. Ultrastruct Pathol, 2014. **38**(5): p. 309-14.
31. Tan, J.Q., et al., *[Pancytopenia and metabolic decompensation in a neonate]*. Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi, 2016. **18**(11): p. 1150-1153.
32. Imbard, A., et al., *Long-term liver disease in methylmalonic and propionic acidemias*. Mol Genet Metab, 2018. **123**(4): p. 433-440.
33. Cappuccio, G., et al., *Expansion of the Phenotypic Spectrum of Propionic Acidemia with Isolated Elevated Propionylcarnitine*. JIMD Rep, 2017. **35**: p. 33-37.
34. Grunert, S.C., et al., *Clinical and neurocognitive outcome in symptomatic isovaleric acidemia*. Orphanet J Rare Dis, 2012. **7**: p. 9.
35. Grunert, S.C., et al., *Propionic acidemia: clinical course and outcome in 55 pediatric and adolescent patients*. Orphanet J Rare Dis, 2013. **8**: p. 6.
36. Baumgartner, D., et al., *Prolonged QTc intervals and decreased left ventricular contractility in patients with propionic acidemia*. J Pediatr, 2007. **150**(2): p. 192-7, 197.e1.
37. Grunert, S.C., et al., *Propionic acidemia: neonatal versus selective metabolic screening*. J Inherit Metab Dis, 2012. **35**(1): p. 41-9.
38. Ensenauer, R., et al., *Newborn screening for isovaleric acidemia using tandem mass spectrometry: data from 1.6 million newborns*. Clin Chem, 2011. **57**(4): p. 623-6.
39. Schlune, A., et al., *Aspects of Newborn Screening in Isovaleric Acidemia*. Int J Neonatal Screen, 2018. **4**(1): p. 7.
40. Vockley, J. and R. Ensenauer, *Isovaleric acidemia: new aspects of genetic and phenotypic heterogeneity*. Am J Med Genet C Semin Med Genet, 2006. **142c**(2): p. 95-103.
41. de Baulny, H.O., et al., *Methylmalonic and propionic acidemias: management and outcome*. J Inherit Metab Dis, 2005. **28**(3): p. 415-23.
42. Critelli, K., et al., *Liver Transplantation for Propionic Acidemia and Methylmalonic Acidemia: Perioperative Management and Clinical Outcomes*. Liver Transpl, 2018. **24**(9): p. 1260-1270.
43. Pesta, D. and M. Roden, *The Janus Head of Oxidative Stress in Metabolic Diseases and During Physical Exercise*. Curr Diab Rep, 2017. **17**(6): p. 41.
44. Wajner, M. and S.I. Goodman, *Disruption of mitochondrial homeostasis in organic acidurias: insights from human and animal studies*. J Bioenerg Biomembr, 2011. **43**(1): p. 31-8.
45. Vamecq, J., et al., *Mitochondrial dysfunction and lipid homeostasis*. Curr Drug Metab, 2012. **13**(10): p. 1388-400.

46. Stark, R. and M. Roden, *ESCI Award 2006. Mitochondrial function and endocrine diseases*. Eur J Clin Invest, 2007. **37**(4): p. 236-48.
47. Schwab, M.A., et al., *Secondary mitochondrial dysfunction in propionic aciduria: a pathogenic role for endogenous mitochondrial toxins*. Biochem J, 2006. **398**(1): p. 107-12.
48. Manoli, I., et al., *Targeting proximal tubule mitochondrial dysfunction attenuates the renal disease of methylmalonic acidemia*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013. **110**(33): p. 13552-7.
49. Chandler, R.J., et al., *Mitochondrial dysfunction in mutant methylmalonic acidemia*. Faseb j, 2009. **23**(4): p. 1252-61.
50. Hayasaka, K., et al., *Comparison of cytosolic and mitochondrial enzyme alterations in the livers of propionic or methylmalonic acidemia: a reduction of cytochrome oxidase activity*. Tohoku J Exp Med, 1982. **137**(3): p. 329-34.
51. Mardach, R., M.A. Verity, and S.D. Cederbaum, *Clinical, pathological, and biochemical studies in a patient with propionic acidemia and fatal cardiomyopathy*. Mol Genet Metab, 2005. **85**(4): p. 286-90.
52. Caterino, M., et al., *The proteome of methylmalonic acidemia (MMA): the elucidation of altered pathways in patient livers*. Mol Biosyst, 2016. **12**(2): p. 566-74.
53. Ribeiro, C.A., et al., *Isovaleric acid reduces Na⁺, K⁺-ATPase activity in synaptic membranes from cerebral cortex of young rats*. Cell Mol Neurobiol, 2007. **27**(4): p. 529-40.
54. Ribeiro, C.A., et al., *Creatine administration prevents Na⁺,K⁺-ATPase inhibition induced by intracerebroventricular administration of isovaleric acid in cerebral cortex of young rats*. Brain Res, 2009. **1262**: p. 81-8.
55. Fernandes, C.G., et al., *Experimental evidence that methylmalonic acid provokes oxidative damage and compromises antioxidant defenses in nerve terminal and striatum of young rats*. Cell Mol Neurobiol, 2011. **31**(5): p. 775-85.
56. Rivera-Barahona, A., et al., *Treatment with antioxidants ameliorates oxidative damage in a mouse model of propionic acidemia*. Mol Genet Metab, 2017.
57. Gallego-Villar, L., et al., *Functional characterization of novel genotypes and cellular oxidative stress studies in propionic acidemia*. J Inher Metab Dis, 2013. **36**(5): p. 731-40.
58. Gallego-Villar, L., et al., *Antioxidants successfully reduce ROS production in propionic acidemia fibroblasts*. Biochem Biophys Res Commun, 2014. **452**(3): p. 457-61.
59. Gallego-Villar, L., et al., *In vivo evidence of mitochondrial dysfunction and altered redox homeostasis in a genetic mouse model of propionic acidemia: Implications for the pathophysiology of this disorder*. Free Radic Biol Med, 2016. **96**: p. 1-12.
60. Richard, E., et al., *Methylmalonic acidemia leads to increased production of reactive oxygen species and induction of apoptosis through the mitochondrial/caspase pathway*. J Pathol, 2007. **213**(4): p. 453-61.
61. Gancheva, S., et al., *Interorgan Metabolic Crosstalk in Human Insulin Resistance*. Physiol Rev, 2018. **98**(3): p. 1371-1415.
62. Yoon, M.S., *The Emerging Role of Branched-Chain Amino Acids in Insulin Resistance and Metabolism*. Nutrients, 2016. **8**(7).
63. Shimomura, Y., et al., *Novel Physiological Functions of Branched-Chain Amino Acids*. J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo), 2015. **61 Suppl**: p. S112-4.
64. Lynch, C.J. and S.H. Adams, *Branched-chain amino acids in metabolic signalling and insulin resistance*. Nat Rev Endocrinol, 2014. **10**(12): p. 723-36.
65. Nawaz, S.S. and K. Siddiqui, *The Emerging role of Branch Chain Amino Acids in the Prediction of Diabetes: A Brief Review*. Curr Diabetes Rev, 2020. **16**(6): p. 532-537.
66. Tremblay, F., et al., *Overactivation of S6 kinase 1 as a cause of human insulin resistance during increased amino acid availability*. Diabetes, 2005. **54**(9): p. 2674-84.
67. Goodman, E., et al., *Instability in the Diagnosis of Metabolic Syndrome in Adolescents*. Circulation, 2007. **115**(17): p. 2316-2322.
68. Zimmet, P., et al., *The metabolic syndrome in children and adolescents - an IDF consensus report*. Pediatr Diabetes, 2007. **8**(5): p. 299-306.

69. Magge, S.N., E. Goodman, and S.C. Armstrong, *The Metabolic Syndrome in Children and Adolescents: Shifting the Focus to Cardiometabolic Risk Factor Clustering*. Pediatrics, 2017.
70. Alberti, K.G., et al., *Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity*. Circulation, 2009. **120**(16): p. 1640-5.
71. Dweikat, I.M., et al., *Propionic acidemia mimicking diabetic ketoacidosis*. Brain Dev, 2011. **33**(5): p. 428-31.
72. Joshi, R. and A. Phatarpekar, *Propionic acidemia presenting as diabetic ketoacidosis*. Indian Pediatr, 2011. **48**(2): p. 164-5.
73. Guven, A., et al., *Methylmalonic acidemia mimicking diabetic ketoacidosis in an infant*. Pediatr Diabetes, 2012. **13**(6): p. e22-5.
74. Dejkhamron, P., et al., *Isolated methylmalonic acidemia with unusual presentation mimicking diabetic ketoacidosis*. J Pediatr Endocrinol Metab, 2016. **29**(3): p. 373-8.
75. Kilic, M., N. Kaymaz, and R.K. Özgül, *Isovaleric Acidemia Presenting as Diabetic Ketoacidosis: A Case Report*. Journal of Clinical Research in Pediatric Endocrinology, 2013.
76. Attia, N., et al., *Isovaleric acidemia appearing as diabetic ketoacidosis*. J Inherit Metab Dis, 1996. **19**(1): p. 85-6.
77. Alfadhel, M. and A. Babiker, *Inborn errors of metabolism associated with hyperglycaemic ketoacidosis and diabetes mellitus: narrative review*. Sudan J Paediatr, 2018. **18**(1): p. 10-23.
78. Filippi, L., et al., *Insulin-resistant hyperglycaemia complicating neonatal onset of methylmalonic and propionic acidaemias*. J Inherit Metab Dis, 2009. **32 Suppl 1**: p. S179-86.
79. Worthen, H.G., et al., *Comparative frequency and severity of hypoglycemia in selected organic acidemias, branched chain amino acidemia, and disorders of fructose metabolism*. Brain Dev, 1994. **16 Suppl**: p. 81-5.
80. Di Meo, S., S. Iossa, and P. Venditti, *Skeletal muscle insulin resistance: role of mitochondria and other ROS sources*. J Endocrinol, 2017. **233**(1): p. R15-r42.
81. Keane, K.N., et al., *Molecular Events Linking Oxidative Stress and Inflammation to Insulin Resistance and beta-Cell Dysfunction*. Oxid Med Cell Longev, 2015. **2015**: p. 181643.
82. Koliaki, C., et al., *Adaptation of hepatic mitochondrial function in humans with non-alcoholic fatty liver is lost in steatohepatitis*. Cell Metab, 2015. **21**(5): p. 739-46.
83. Koliaki, C. and M. Roden, *Alterations of Mitochondrial Function and Insulin Sensitivity in Human Obesity and Diabetes Mellitus*. Annu Rev Nutr, 2016. **36**: p. 337-67.
84. Szendroedi, J., E. Phielix, and M. Roden, *The role of mitochondria in insulin resistance and type 2 diabetes mellitus*. Nat Rev Endocrinol, 2011. **8**(2): p. 92-103.
85. Ebner, S., et al., *Mitochondrial Haplogroup T Is Associated with Obesity in Austrian Juveniles and Adults*. PLoS One, 2015. **10**(8): p. e0135622.
86. Affourtit, C., *Mitochondrial involvement in skeletal muscle insulin resistance: A case of imbalanced bioenergetics*. Biochim Biophys Acta, 2016. **1857**(10): p. 1678-93.
87. Koliaki, C. and M. Roden, *Hepatic energy metabolism in human diabetes mellitus, obesity and non-alcoholic fatty liver disease*. Mol Cell Endocrinol, 2013. **379**(1-2): p. 35-42.
88. Jelenik, T., et al., *Mechanisms of Insulin Resistance in Primary and Secondary Nonalcoholic Fatty Liver*. Diabetes, 2017. **66**(8): p. 2241-2253.
89. Larson-Meyer, D.E., et al., *Intrahepatic and intramyocellular lipids are determinants of insulin resistance in prepubertal children*. Diabetologia, 2011. **54**(4): p. 869-75.
90. Roden, M., *How free fatty acids inhibit glucose utilization in human skeletal muscle*. News Physiol Sci, 2004. **19**: p. 92-6.

91. Giannini, C., et al., *Evidence for early defects in insulin sensitivity and secretion before the onset of glucose dysregulation in obese youths: a longitudinal study*. *Diabetes*, 2012. **61**(3): p. 606-14.
92. Gancheva, S., et al., *Effects of intranasal insulin on hepatic fat accumulation and energy metabolism in humans*. *Diabetes*, 2015. **64**(6): p. 1966-75.
93. Rosario, A.S., et al., *Body mass index percentiles for children and adolescents in Germany based on a nationally representative sample (KiGGS 2003-2006)*. *Eur J Clin Nutr*, 2010. **64**(4): p. 341-9.
94. Riedel, C., et al., *Overweight in adolescence can be predicted at age 6 years: a CART analysis in German cohorts*. *PLoS One*, 2014. **9**(3): p. e93581.
95. Kromeyer-Hauschild, K., et al., *Perzentile für den Body-mass-Index für das Kindes- und Jugendalter unter Heranziehung verschiedener deutscher Stichproben*. *Monatsschrift Kinderheilkunde*, 2001. **149**(8): p. 807-818.
96. Hemmelmann, C., et al., *Perzentilen des body-mass-index auch für 18-bis 80-Jährige*. *Daten der nationalen verzehrsstudie II*. *DMW-Dtsch Med Wochenschr*, 2010. **135**: p. 848-852.
97. McCarthy, H.D., K.V. Jarrett, and H.F. Crawley, *The development of waist circumference percentiles in British children aged 5.0-16.9 y*. *Eur J Clin Nutr*, 2001. **55**(10): p. 902-7.
98. Neuhauser, H.K., et al., *Blood pressure percentiles by age and height from nonoverweight children and adolescents in Germany*. *Pediatrics* 2011: p. 127(4): p. e978-88.
99. Dortschy, R., et al., *Bevölkerungsbezogene Verteilungswerte ausgewählter Laborparameter aus der Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland (KiGGS)*. 2009, Robert Koch-Institut.
100. Furth, S.L., et al., *Metabolic abnormalities, cardiovascular disease risk factors, and GFR decline in children with chronic kidney disease*. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2011. **6**(9): p. 2132-40.
101. Rohling, M., et al., *Differential Patterns of Impaired Cardiorespiratory Fitness and Cardiac Autonomic Dysfunction in Recently Diagnosed Type 1 and Type 2 Diabetes*. *Diabetes Care*, 2017. **40**(2): p. 246-252.
102. Norman, K., et al., *Is bioelectrical impedance vector analysis of value in the elderly with malnutrition and impaired functionality?* *Nutrition*, 2007. **23**(7-8): p. 564-9.
103. Segal, K.R., et al., *Lean body mass estimation by bioelectrical impedance analysis: a four-site cross-validation study*. *Am J Clin Nutr*, 1988. **47**(1): p. 7-14.
104. Thompson, G.N. and R.A. Chalmers, *Increased urinary metabolite excretion during fasting in disorders of propionate metabolism*. *Pediatr Res*, 1990. **27**(4 Pt 1): p. 413-6.
105. Salgin, B., et al., *Higher fasting plasma free fatty acid levels are associated with lower insulin secretion in children and adults and a higher incidence of type 2 diabetes*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012. **97**(9): p. 3302-9.
106. Carstensen-Kirberg, M., et al., *Sfrp5 associates with beta-cell function in humans*. *Eur J Clin Invest*, 2016. **46**(6): p. 535-43.
107. Pacini, G. and A. Mari, *Methods for clinical assessment of insulin sensitivity and beta-cell function*. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2003. **17**(3): p. 305-22.
108. Goran, M.I., et al., *Insulin resistance and associated compensatory responses in african-american and Hispanic children*. *Diabetes Care*, 2002. **25**(12): p. 2184-90.
109. Jelenik, T., et al., *Tissue-specific differences in the development of insulin resistance in a mouse model for type 1 diabetes*. *Diabetes*, 2014. **63**(11): p. 3856-67.
110. Sjovall, F., et al., *Patients with sepsis exhibit increased mitochondrial respiratory capacity in peripheral blood immune cells*. *Crit Care*, 2013. **17**(4): p. R152.
111. Tognarelli, J.M., et al., *Magnetic Resonance Spectroscopy: Principles and Techniques: Lessons for Clinicians*. *J Clin Exp Hepatol*, 2015. **5**(4): p. 320-8.
112. Hamilton, G., et al., *In vivo characterization of the liver fat (1)H MR spectrum*. *NMR Biomed*, 2011. **24**(7): p. 784-90.

113. Laufs, A., et al., *Quantitative liver 31P magnetic resonance spectroscopy at 3T on a clinical scanner*. Magn Reson Med, 2014. **71**(5): p. 1670-5.
114. Szendroedi, J., et al., *Abnormal hepatic energy homeostasis in type 2 diabetes*. Hepatology, 2009. **50**(4): p. 1079-86.
115. Dittrich, M., et al., *Sonographic biometry of liver and spleen size in childhood*. Pediatr Radiol, 1983. **13**(4): p. 206-11.
116. Ketteler, M., et al., *Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder: Synopsis of the Kidney Disease: Improving Global Outcomes 2017 Clinical Practice Guideline Update*. Ann Intern Med, 2018. **168**(6): p. 422-430.
117. (DGE), G.N.S., *New Reference Values for Energy Intake*. Ann Nutr Metab, 2015. **66**(4): p. 219-23.
118. Prentice, A., et al., *Energy and nutrient dietary reference values for children in Europe: methodological approaches and current nutritional recommendations*. Br J Nutr, 2004. **92** **Suppl 2**: p. S83-146.
119. Kurth, B.M., et al., *The challenge of comprehensively mapping children's health in a nation-wide health survey: design of the German KiGGS-Study*. BMC Public Health, 2008. **8**: p. 196.
120. Mari, A., et al., *A model-based method for assessing insulin sensitivity from the oral glucose tolerance test*. Diabetes Care, 2001. **24**(3): p. 539-48.
121. Vantyghem, M.C., et al., *Endocrine manifestations related to inherited metabolic diseases in adults*. Orphanet J Rare Dis, 2012. **7**: p. 11.
122. El-Naggari, M.A., M. Rady, and K. Althihli, *Transient Insulin Resistance in Propionic Acidaemia: Knowing is half the battle*. Sultan Qaboos Univ Med J, 2021. **21**(4): p. 648-651.
123. Maffei, C. and A. Morandi, *Body composition and insulin resistance in children*. Eur J Clin Nutr, 2018. **72**(9): p. 1239-1245.
124. Kelsey, M.M. and P.S. Zeitler, *Insulin Resistance of Puberty*. Curr Diab Rep, 2016. **16**(7): p. 64.
125. Roden, M., *Assessment of Insulin Sensitivity from Steady-State and Dynamic Tests, in Clinical Diabetes Research*. 2007.
126. Ahrens, W., et al., *Prevalence of overweight and obesity in European children below the age of 10*. Int J Obes (Lond), 2014. **38** **Suppl 2**: p. S99-107.
127. Friend, A., L. Craig, and S. Turner, *The prevalence of metabolic syndrome in children: a systematic review of the literature*. Metab Syndr Relat Disord, 2013. **11**(2): p. 71-80.
128. Lettner, A. and M. Roden, *Ectopic fat and insulin resistance*. Curr Diab Rep, 2008. **8**(3): p. 185-91.
129. Asrih, M. and F.R. Jornayvaz, *Metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease: Is insulin resistance the link?* Mol Cell Endocrinol, 2015. **418** **Pt 1**: p. 55-65.
130. Schwimmer, J.B., et al., *Prevalence of fatty liver in children and adolescents*. Pediatrics, 2006. **118**(4): p. 1388-93.
131. Imhof, A., et al., *Prevalence of non-alcoholic fatty liver and characteristics in overweight adolescents in the general population*. Eur J Epidemiol, 2007. **22**(12): p. 889-97.
132. Vos, M.B., et al., *NASPGHAN Clinical Practice Guideline for the Diagnosis and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Children: Recommendations from the Expert Committee on NAFLD (ECON) and the North American Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (NASPGHAN)*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2017. **64**(2): p. 319-334.
133. Bussler, S., et al., *Novel Insights in the Metabolic Syndrome in Childhood and Adolescence*. Horm Res Paediatr, 2017. **88**(3-4): p. 181-193.
134. Hörster, F., et al., *Delineating the clinical spectrum of isolated methylmalonic acidurias: cblA and mut*. J Inherit Metab Dis, 2021. **44**(1): p. 193-214.

135. Forny, P., et al., *Liver neoplasms in methylmalonic aciduria: An emerging complication*. J Inherit Metab Dis, 2019. **42**(5): p. 793-802.
136. Brass, E.P. and R.A. Beyerinck, *Effects of propionate and carnitine on the hepatic oxidation of short- and medium-chain-length fatty acids*. Biochem J, 1988. **250**(3): p. 819-25.
137. Matsuishi, T., et al., *Propionate mitochondrial toxicity in liver and skeletal muscle: acyl CoA levels*. Biochem Med Metab Biol, 1991. **45**(2): p. 244-53.
138. Kölker, S., et al., *Methylmalonic acid, a biochemical hallmark of methylmalonic acidurias but no inhibitor of mitochondrial respiratory chain*. J Biol Chem, 2003. **278**(48): p. 47388-93.
139. Feillet, F., et al., *Resting energy expenditure in disorders of propionate metabolism*. J Pediatr, 2000. **136**(5): p. 659-63.
140. Valkovic, L., et al., *Skeletal muscle alkaline Pi pool is decreased in overweight-to-obese sedentary subjects and relates to mitochondrial capacity and phosphodiester content*. Sci Rep, 2016. **6**: p. 20087.
141. Vorgerd, M., et al., *Mitochondrial impairment of human muscle in Friedreich ataxia in vivo*. Neuromuscul Disord, 2000. **10**(6): p. 430-5.
142. Daly, A., et al., *The Nutritional Intake of Patients with Organic Acidaemias on Enteral Tube Feeding: Can We Do Better?* JIMD Rep, 2016. **28**: p. 29-39.
143. Organization, W.H. and U.N. University, *Protein and amino acid requirements in human nutrition*. Vol. 935. 2007: World Health Organization.
144. Daly, A., et al., *Dietary practices in propionic acidemia: A European survey*. Molecular Genetics and Metabolism Reports, 2017. **13**: p. 83-89.
145. Saleemani, H., et al., *Dietary management and growth outcomes in children with propionic acidemia: A natural history study*. JIMD Rep, 2021. **61**(1): p. 67-75.
146. Thomas, J.A., et al., *Apparent decreased energy requirements in children with organic acidemias: preliminary observations*. J Am Diet Assoc, 2000. **100**(9): p. 1074-6.
147. Francini-Pesenti, F., et al., *Nutrient Intake and Nutritional Status in Adult Patients with Inherited Metabolic Diseases Treated with Low-Protein Diets: A Review on Urea Cycle Disorders and Branched Chain Organic Acidemias*. Nutrients, 2020. **12**(11).
148. van Hagen, C.C., et al., *Energy expenditure in patients with propionic and methylmalonic acidaemias*. J Inherit Metab Dis, 2004. **27**(1): p. 111-2.
149. Francisqueti, F.V., et al., *The role of oxidative stress on the pathophysiology of metabolic syndrome*. Rev Assoc Med Bras (1992), 2017. **63**(1): p. 85-91.
150. Almási, T., et al., *Systematic literature review and meta-analysis on the epidemiology of methylmalonic acidemia (MMA) with a focus on MMA caused by methylmalonyl-CoA mutase (mut) deficiency*. Orphanet J Rare Dis, 2019. **14**(1): p. 84.

6 Anhang

Tab. 1: Krankheitsspezifische Parameter in der Studienpopulation bei dem Visit

Erkrankung	m/w	Alter (Jahre)	Freies Carnitin (µmol/l)	C3 (µmol/l)	C5 (µmol/l)	Glycin i. PI. (µmol/l)	Glutamin i.PI. (µmol/l)	Alanin i.PI. (µmol/l)
PA	m	13	43.0	55.9	n/a	1347.0	515.0	567.0
PA	m	12	25.0	47.0	n/a	2214.0	406.0	386.0
PA	m	17	49.0	48.0	n/a	597.0	591.0	562.0
PA	w	12	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
PA	m	18	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
PA	m	23	52.0	48.3	n/a	629.0	410.0	371.0
PA	m	16	38.0	45.7	0.6	1261.0	270.0	485.0
PA	w	17	42.0	36.1	0.5	1351.0	285.0	482.0
MMA	w	12	59.0	59.0	0.2	1038.0	626.0	583.0
MMA	w	14	94.0	94.0	0.3	248.0	445.0	280.0
MMA	w	11	118.0	118.0	0.2	389.0	622.0	383.0
MMA	m	9	96.0	96.0	0.4	817.0	510.0	392.0
MMA	w	14	50.0	50.0	n/a	1042.0	790.0	703.0
MMA	m	10	107.0	107.0	0.2	353.0	560.0	292.0
MMA	m	11	91.0	91.0	0.2	1037.0	498.0	514.0
MMA	w	6	60.0	40.1	0.2	680.0	447.0	432.0
MMA	m	12	314.0	266.0	0.9	844.0	730.0	1302.0
MMA	w	19	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a	n/a
MMA CBL B	w	8	37.0	20.4	0.5	634.0	481.0	339.0
MMA CBL A/B	m	6	28.0	n/a	n/a	474.0	627.0	397.0
MMA CBL B	m	12	71.0	37.2	0.3	613.0	560.0	295.0
MMA CBL A/B	m	17	34.0	13.2	n/a	658.0	761.0	273.0
MMA CBL A/B	m	23	24.0	9.4	n/a	490.0	710.0	561.0
MMA CBL A/B	M	23	35.0	12.3	n/a	552.0	671.0	608.0
MMA CBL C	W	10	7.0	n/a	n/a	184.0	859.0	534.0
MMA CBL C	W	7	5.0	n/a	n/a	202.0	689.0	473.0
MMA CBL C	M	12	13.0	n/a	n/a	217.0	656.0	410.0
IVA	W	6	14.0	n/a	n/a	147.0	427.0	188.0
IVA	M	13	34.0	n/a	2.9	1019.0	779.0	450.0
IVA	W	7	24.0	n/a	4.8	295.0	646.0	492.0

IVA	M	29	22.0	n/a	13.8	380,0	720.0	493.0
IVA	W	34	9.0	n/a	7.9	201.0	516.0	242.0
IVA	W	25	6.0	n/a	5.8	325.0	597.0	454.0

C3, Propionylcarnitin; C5, Isovalerylcarnitin; IVA, Isovalerianazidämie; I, Liter; m, männlich; MMA, Methylmalonazidämie; MMA CBL, Cobalaminsynthese-Defekt; i.PI., im Plasma; n/a, nicht verfügbar; PA, Propionazidämie; w, weiblich; µmol, Mikromol.

Tab. 2: Hormon- und Vitaminstoffwechsel

Parameter	PA (n)	MMA (n)	MMA CBL (n)	IVA (n)
Lipase (U/l)	33.7 ± 7.0 (6)	43.3 ± 44.6 (9)	22.0 ± 8.6 (8)	19.2 ± 6.1 (6)
TSH (µIU/ml)	4.8 ± 2.4 (6)	3.3 ± 0.3 (7)	2.2 ± 0.6 (7)	2.6 ± 0.7 (4)
T4 (ng/l)	14.0 ± 2.9 (5)	11.8 ± 1.9 (7)	12.2 ± 1.5 (7)	12.1 ± 2.0 (4)
T4-Substitution	12.5% (1/8)	10% (1/10)	0% (0/9)	0% (0/5)
Vitamin D3 (ng/ml)	28.8 ± 5.4 (6)	46.6 ± 17.1 (7)	21.0 ± 20.7 (7)	17.8 ± 12.9 (6)

Daten sind dargestellt als Mittelwert ± Standardabweichung; %, Prozent; IVA, Isovalerianazidämie; l, Liter; ml, Milliliter; MMA, Methylmalonazidämie; MMA CBL, Cobalaminsynthese-Defekt; ng, Nanogramm; PA, Propionazidämie; TSH, Thyroidea stimulierendes Hormon; T4, Thyroxin; U, *Unit*; µl, Mikroliter .

Danksagung

Recht herzlich bedanken möchte ich mich bei Prof. Dr. Regina Ensenaer. Sie hat mir das spannende Thema überlassen, mich während meiner Promotionszeit intensiv betreut und mich stets dazu angehalten mein Bestes zu geben und das Projekt voranzutreiben. Vielen lieben Dank Prof. Dr. Thomas Meißner für die gute Zusammenarbeit, konstruktive Kritik und die Erstellung des Gutachtens.

Vielen Dank Prof. Dr. Ertan Mayatepek und Dr. Andrea Schlune für die Entwicklung des Studiendesigns und für die Unterstützung bei der Durchführung der Studie. Aus meiner Arbeitsgruppe möchte ich Dr. Soner Öner-Sieben, Dr. Verena Geurden, Dr. Kateryna Fuks, Julia Markman, Dr. Kristin-Eileen Lange und Liesa Schumacher für die stetige Unterstützung bei jeglichen Fragen und Problemen danken. Von jedem von euch habe ich viel lernen können.

Bedanken möchte ich mich auch bei Prof. Dr. Stephan vom Dahl für die gute Zusammenarbeit mit der Stoffwechselabteilung der Klinik für Gastroenterologie.

Ebenfalls bedanken möchte ich mich bei Prof. Dr. Michael Roden für die gute Kooperation mit dem Deutschen Diabetes Zentrum (DDZ) und für viele hilfreiche Anregungen. Danke an die MitarbeiterInnen des DDZ Dr. Sofiya Gancheva, Dr. Alessandra Bierwagen und Maik Rothe für die gemeinsame Datenerhebung und Anfertigung des Manuskripts.

Mein Dank gilt außerdem den ÄrztInnen des Stoffwechselteams Dr. Eva Thimm, Jasmin Mennenga, Dr. Nora Schmitz, Friederike Schrader und Tjark Engelhardt für die Hilfe bei der Datenerhebung. Danke, Martina Müller für die Probenaufbereitung und Dr. Diran Herebian für die Hilfestellungen bei Fragen zur Stoffwechselanalytik.

Bedanken möchte ich mich auch bei der Vereinigung Rheinisch-Westfälischer Kinder- und Jugendärzte und Kinderchirurgen, die diese Studie durch ein Stipendium unterstützt hat.

Mein größter Dank gilt meinen Eltern, meiner Schwester Carolin und der gesamten Familie, die mir stets den Glauben vermittelt haben alles werden zu können und mir jegliche dafür nötige Unterstützung gegeben haben. Danke Julia, Charleen, Denise, Leonie und Saskia, dass ihr immer da wart. Recht herzlich bedanken möchte ich mich außerdem bei den FörderInnen der Studienstiftung des deutschen Volkes, die mich das gesamte Studium, und auch während meines Freisemesters für die Promotion, großzügig durch ein Stipendium unterstützt haben.