

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

Klinische Präsentation und Langzeitoutcome von Patienten mit Harnstoffzyklusdefekten

Dissertation

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

vorgelegt von

Simone Hohlfeld

2023

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachterin: Prof. Dr. med. Ute Spiekerkötter

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Stephan vom Dahl

Zusammenfassung

Harnstoffzyklusdefekte (*urea cycle defects*, UCDs) sind seltene vererbare Stoffwechselerkrankungen, die sich häufig schon im Neugeborenenalter manifestieren und denen eine eingeschränkte Stickstoffeliminierung durch den Harnstoffzyklus in der Leber zugrunde liegt. Durch den hierdurch anfallenden zytotoxischen Ammoniak kann es zu schwerwiegenden Schädigungen des zentralen Nervensystems und hieraus resultierenden Entwicklungsstörungen sowie zu lebensbedrohlichen Stoffwechselkrisen kommen. Abhängig vom Ausmaß der Enzymfunktionsstörung sind auch mildere klinische Verläufe möglich. Aufgrund der Seltenheit der Erkrankungen und der klinischen Heterogenität ist die verfügbare Datenlage zu den Krankheitsbildern aus größeren Kollektiven begrenzt. Ziel dieser Arbeit ist die Darstellung der klinischen Präsentation und neurologischen Entwicklung sowie des Managements von 38 Patienten mit genetisch oder enzymatisch gesichertem UCD. Auf der Basis dieser retrospektiven Daten sollen Parameter definiert werden, die mit einer besseren Prognose der Krankheit einhergehen und ggfs. bereits bei der Diagnose eine Vorhersage über den zu erwartenden Verlauf ermöglichen. Hierzu wurden Daten aller Patienten zusammengetragen, die im Zeitraum von 1994 bis 2012 im Stoffwechselzentrum der Universitätskinderklinik Düsseldorf aufgrund eines UCDs behandelt wurden.

Harnstoffzyklusdefekte gehören in Deutschland bisher nicht zu den Zielkrankheiten des erweiterten Neugeborenen Screenings, wurden in einigen Screeninglaboren aber im Rahmen von Studien in den Katalog aufgenommen. Trotz früherer Diagnosestellung traten bei neonatalen Formen weiterhin ausgeprägte Hyperammonämien auf, welche auch in den späteren Jahren des Beobachtungszeitraumes nicht vermieden werden konnten. Obwohl eine starke interindividuelle Variabilität in der Krankheitsmanifestation vorlag, war das neurologische Outcome mit der Schwere der initialen Hyperammonämie sowie mit der Häufigkeit im Verlauf auftretender Stoffwechselentgleisungen korreliert. Eine Korrelation zwischen neonataler Hyperammonämie und der Häufigkeit von Entgleisungen im Verlauf zeigte sich hingegen nicht. Patienten mit nicht-neonatalen UCDs und solche, die durch das Neugeborenen Screening identifiziert wurden, wiesen ein besseres Outcome auf als neonatal manifeste Kinder ohne Screeningbefund. Therapeutische Maßnahmen beinhalteten im Wesentlichen als Dauertherapie die medikamentöse Ammoniakbindung und eine eiweißreduzierte und -modifizierte Diät, sowie in der akuten Entgleisung bei ausgeprägter Hyperammonämie zusätzlich eine extrakorporale Detoxifizierung (Hämodialyse). Bei 21% der Patienten wurde eine Lebertransplantation durchgeführt, insbesondere in den letzten Jahren des Beobachtungszeitraumes. Diese Patienten zeigten jedoch trotz des kurativen Therapieansatzes überwiegend ein schlechtes neurologisches Outcome, was auf den zu späten Transplantationszeitpunkt zurückgeführt werden kann.

Zwar liegt die Gesamtmortalität in dem Patientenkollektiv dieser Studie unter der in anderen Arbeiten publizierten Mortalität, es treten jedoch trotz früherer Diagnose und verbesserter Therapie weiterhin schwere Stoffwechselentgleisungen mit schlechtem neurologischen Outcome auf. Der endgültige Nutzen des Neugeborenen Screenings zur frühen Diagnose von UCDs ist daher noch nicht belegt. Als Prognose verbessernd werden frühe Behandlung bei Entgleisung mit niedrigschwelliger Entscheidung zur Hämodialyse, insbesondere bei Erstmanifestation, sowie eine frühe Entscheidung zur Lebertransplantation gesehen. Um die Beurteilung des Langzeitoutcomes zu standardisieren, sollten zudem Protokolle mit definierten entwicklungsneurologischen Tests entwickelt und flächendeckend angewandt werden.

Summary

Urea cycle defects (UCDs) are rare inherited metabolic diseases that often manifest during the neonatal period and are caused by insufficient nitrogen elimination by the urea cycle in the liver. The cytotoxic ammonia that accumulates in this process can cause severe damage to the brain, resulting in developmental delay and life-threatening metabolic crises. Depending on the extent of enzyme dysfunction, milder clinical courses are also possible. Due to the rarity of the diseases and the clinical heterogeneity of manifestation and presentation, the available data on the clinical pictures from larger collectives are limited. The aim of this study is to investigate the clinical presentation and neurological development as well as the management of 38 patients with genetically or enzymatically confirmed UCD. Based on this retrospective data, parameters should be defined that are associated with a better prognosis of the disease and may allow prediction of the expected phenotype at time of diagnosis. For this purpose, data were collected from all patients treated for UCD at the Metabolic Center of the Children's University Hospital in Düsseldorf, Germany, between 1994 and 2012.

UCDs have not been part of expanded newborn screening programs in Germany so far, but have been included in studies in some screening laboratories. Although there was an increasingly earlier diagnosis of UCDs during the observation period, metabolic crises with distinct hyperammonemia continued to occur in neonatal forms and could not be avoided even in the later years of the observation period. In spite of a strong interindividual variability in disease manifestation, the neurological outcome could be correlated to the severity of the initial hyperammonaemia as well as to the frequency of metabolic crises during the course of the disease. However, there was no correlation between neonatal hyperammonaemia and the frequency of metabolic abnormalities during the course of the disease. Patients with non-neonatal UCDs and those identified by newborn screening had a better outcome than neonatally diagnosed children before newborn screening. Therapeutic measures mainly included pharmacological ammonia scavengers and a long-term protein-reduced or -modified diet, as well as extracorporeal detoxification (hemodialysis) in acute crises with severe hyperammonemia. Liver transplantation was performed in 21% of patients, especially in the last years of the observation period. However, these patients predominantly showed a poor neurological outcome despite curative therapy, which may be explained by late transplantation when metabolic decompensations have already occurred.

Although overall mortality in the patient population of this study is lower than reported in other studies, severe metabolic crises with poor neurological outcome continue to occur despite earlier diagnosis and improved therapeutic options. The ultimate benefit of newborn screening for the diagnosis and outcome of UCDs is not yet proven. Early treatment for crises with low-threshold decision for hemodialysis, especially at first manifestation, and early decision for liver transplantation are considered to improve prognosis. In order to standardise the assessment of long-term outcome, protocols with defined developmental and neurological tests have to be developed and applied comprehensively.

Abkürzungen

ASL(D)	Argininosuccinatlyase(-deficiency/-Mangel)
ASS(D)	Argininosuccinatsynthetase(-deficiency/-Mangel)
CPS(D)	Carbamoylphosphatsynthetase(-deficiency/-Mangel)
E-IMD	<i>European registry and network for Intoxication type Metabolic Diseases</i>
EMA	<i>European Medicines Agency</i> (Europäische Arzneimittel-Agentur)
EO	<i>early onset</i>
HCO ₃ ⁻	Bikarbonat
HE	hyperammonämische Events
LJ	Lebensjahr
LM	Lebensmonat
LO	<i>late onset</i>
LT	Lebenstag
NAGS	N-Acetyl-Glutamat-Synthetase
NGS	Neugeborenenstoffwechselscreening
NH ₃	Ammoniak
OTC(D)	Ornithin-Transcarbamylase(-deficiency/-Mangel)
OTCDw	OTCD bei weiblichen Patientinnen
OTCDm	OTCD bei männlichen Patienten
UCD	<i>urea cycle defect</i> , Harnstoffzyklusdefekt
ZNS	Zentrales Nervensystem

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Biochemische Grundlagen des Harnstoffzyklus.....	1
1.2	Epidemiologische Grundlagen zu Harnstoffzyklusdefekten.....	3
1.3	Manifestation und Klinik.....	4
1.4	Diagnosestellung.....	7
1.5	Grundzüge der Therapie	9
1.6	Ziel dieser Arbeit	13
2	Material und Methoden	15
2.1	Studienpopulation.....	15
2.2	Datenerhebung.....	16
2.3	Ethik	17
2.4	Datenanalyse	17
2.4.1	Hyperammonämien	18
2.4.2	Klinische Untersuchungsbefunde und Diagnostik	19
2.4.3	Medikamentöse Therapie und Diät	20
2.5	Berechnung deskriptiver statistischer Parameter	20
2.6	Literaturrecherche	20
3	Ergebnisse	21
3.1	Studienpopulation.....	21
3.2	Diagnosestellung.....	21
3.3	Laborchemische Diagnostik: Hyperammonämie.....	23
3.3.1	Neonatale Stoffwechsellentgleisung (bei <i>early onset</i> -UCD).....	23
3.3.2	Hyperammonämie Krisen im Verlauf	26
3.3.3	Diagnostik und Verlauf bei <i>late onset</i> -UCDs und Patienten ohne neonatale Stoffwechsellentgleisung	30
3.4	Untersuchungsbefunde und Outcome	32
3.4.1	Neugeborenenenscreening	32
3.4.2	MRT	32
3.4.3	EEG.....	33
3.4.4	Psychomotorische Entwicklung	33
3.4.5	Anthropometrische Daten	35
3.4.6	Mortalität.....	36
3.5	Therapie und Diät.....	36
3.5.1	Initiale Hämodialyse / extrakorporale Detoxifizierung.....	36
3.5.2	Lebertransplantation	37

3.5.3	Hepatozytentransfusion	37
3.5.4	Medikamentöse Therapie	38
3.5.5	Diät.....	40
3.6	Reevaluation des Entwicklungsstandes von ASSD-Patienten mit längerer Nachbeobachtung.....	42
4	Diskussion	44
4.1	Studienpopulation und Epidemiologie.....	44
4.2	Diagnosestellung.....	45
4.2.1	Zeitpunkt der Diagnosestellung	45
4.2.2	Neugeborenenenscreening	45
4.3	Neonatale Hyperammonämie	47
4.4	Hyperammonäme Krisen im Verlauf	50
4.5	<i>Late onset</i> -UCDs.....	52
4.6	Untersuchungsbefunde, klinisches Outcome, anthropometrische Daten	53
4.6.1	Apparative Diagnostik.....	53
4.6.2	Psychomotorische Entwicklung	53
4.6.3	Anthropometrische Daten	55
4.6.4	Mortalität.....	55
4.7	Therapie	56
4.7.1	Initiale Hämodialyse / extrakorporale Detoxifizierung.....	56
4.7.2	Lebertransplantation.....	57
4.7.3	Medikamentöse Therapie	58
4.7.4	Diät.....	59
4.7.4	Weitere Therapieoptionen.....	60
4.8	Reevaluation der neurokognitiven Entwicklung von Patienten mit ASSD.....	61
5	Schlussfolgerung	62
	Literaturverzeichnis	64
	Anhang	71

1 Einleitung

Der Harnstoffzyklus ist Teil des Proteinstoffwechsels im Abbau von Aminosäuren und dient der Entgiftung von dabei anfallendem Ammoniak in der Leber. Harnstoffzyklusdefekte sind angeborene Defizienzen der am Harnstoffzyklus beteiligten Enzyme, die sich häufig schon in den ersten Lebenstagen manifestieren und unbehandelt zum Tod führen können. Auch nach rascher adäquater Therapie der neonatalen Stoffwechselentgleisung kommt es dennoch in den meisten Fällen zu residuellen neurologischen Defiziten, meist in Form einer psychomotorischen Entwicklungsverzögerung. Nach der neonatalen Dekompensation drohen im Verlauf weitere Stoffwechselentgleisungen, insbesondere im Rahmen von Infekten. Aufgrund der Seltenheit der Krankheiten sind Studien an größeren Patientenkohorten bisher rar, was nicht zuletzt die gegenwärtig noch begrenzten und nicht zufriedenstellenden Therapiemöglichkeiten erklärt.

Ziel dieser Arbeit ist eine retrospektive Untersuchung der klinischen Präsentation und des Outcomes von Patienten mit Harnstoffzyklusdefekten sowie die Korrelation der klinischen und biochemischen Parameter. Es sollen im Anschluss solche Parameter definiert werden, die das Outcome und den Schweregrad am besten anzeigen.

Aufgrund der besseren Lesbarkeit wird in dieser Arbeit die männliche Form verwendet, die jedoch stets beide Geschlechter umfasst, wenn nicht anders gekennzeichnet.

1.1 Biochemische Grundlagen des Harnstoffzyklus

Über den Harnstoffzyklus wird primär in der Leber überschüssiger, potentiell toxischer Stickstoff aus dem Proteinstoffwechsel eliminiert, welcher dann in Form von Harnstoff renal ausgeschieden werden kann. Der Stickstoff wird über die Aminogruppen der Aminosäuren Glutamin, Glutamat und Aspartat in den Harnstoffzyklus eingebracht. Sechs Enzyme, welche teils im Zytoplasma der Hepatozyten, teils in der Mitochondrienmatrix liegen, sind an der Synthese von Harnstoff beteiligt [1].

Zunächst entsteht aus Ammoniak (NH_3) und Bikarbonat (HCO_3^-) katalysiert durch die mitochondriale Carbamoylphosphatsynthetase 1 (CPS1) Carbamoylphosphat. Als allosterischer Faktor wird hier N-Acetyl-Glutamat (NAG) benötigt, welches durch die N-Acetyl-Glutamat-Synthetase (NAGS) im Mitochondrium aus Acetyl-CoA und Glutamat synthetisiert wird. Durch die Ornithintranscarbamoylase (OTC) wird aus Carbamoylphosphat und Ornithin Citrullin synthetisiert, welches über die Mitochondrienmembran ins Zytoplasma diffundiert. Carbamoylphosphat wird außerdem teilweise zu Orotsäure (Orotat) verstoffwechselt und mit

dem Urin ausgeschieden. Aus Citrullin und Aspartat entsteht durch die Argininosuccinatsynthetase (ASS) Argininosuccinat, welches durch die Argininosuccinatlyase (ASL) unter Abspaltung von Fumarat zu Arginin umgewandelt wird. Aus Arginin entsteht durch die Arginase unter Abspaltung von Ornithin, Harnstoff, welcher über die Nieren ausgeschieden wird (vgl. Abb. 1). Ornithin wird wieder ins Mitochondrium transportiert und geht erneut in den Zyklus ein [1, 2].

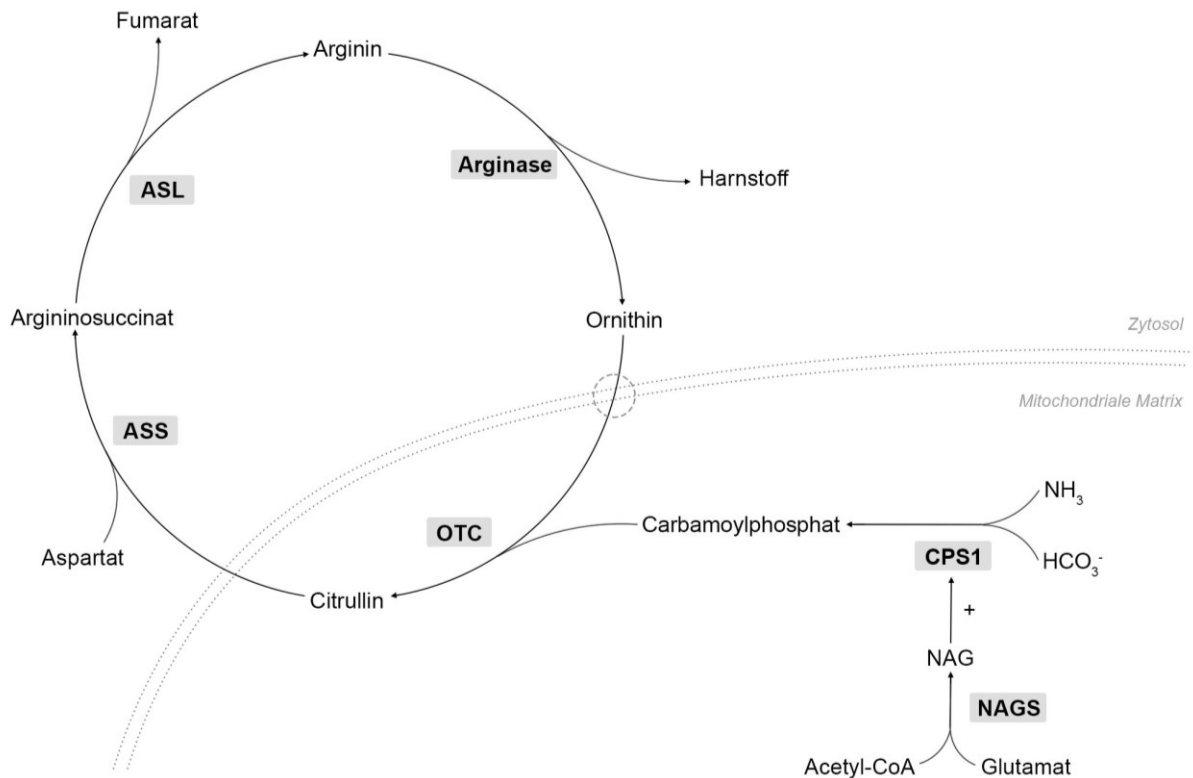


Abb. 1: **Harnstoffzyklus** (modifiziert nach Wijburg et al. [1])

ASL: Argininosuccinatlyase, ASS: Argininosuccinatsynthetase, OTC: Ornithintranscarbamylase, CPS1: Carbamoylphosphatsynthetase 1, NAG: N-Acetyl-Glutamat, NAGS: N-Acetyl-Glutamat-Synthetase, NH_3 : Ammoniak, HCO_3^- : Bikarbonat

Angeborene Defizienzen dieser Enzyme bzw. der beteiligten Transporter resultieren in einer Unterbrechung des Harnstoffzyklus, sodass es zu einer insuffizienten Stickstoffelimination kommt und zytotoxisches NH_3 akkumuliert [2]. Die NH_3 -induzierte Schädigung betrifft insbesondere das vulnerable zentrale Nervensystem (ZNS) von Kindern, welches sich noch in der Entwicklung befindet [3]. Hyperammonämie und Hyperglutaminämie führen zu einer akuten Enzephalopathie mit Entwicklung eines zytotoxischen Hirnödems sowie neuronalem Zelluntergang und verursachen so lebensbedrohliche akute ZNS-Schädigungen, ebenso wie residuelle neurologische Schäden [4].

Es sind Enzymdefekte aller beteiligten sechs Enzyme des Harnstoffzyklus beschrieben, ebenso wie der zwei Transporter. Der Defekt des Aspartat-Glutamat-Carriers (Citrin) führt zur

Citrullinämie Typ II (Citrinmangel), ein Defekt des mitochondrialen Ornithintransporters liegt beim sog. HHH-Syndrom vor [1]. Neben den genetischen Enzymdefekten können einer Hyperammonämie auch sekundäre Störungen des Harnstoffzyklus zugrunde liegen, wie beispielsweise ein Defizit an Enzymsubstraten (z.B. Bikarbonat oder Ornithin), ein akuter oder chronischer Leberschaden, medikamententoxische Wirkungen auf die Leber (z.B. Valproat, Cyclophosphamid) oder ein genereller Stickstoffüberschuss (z.B. durch massive Hämolyse oder durch totale parenterale Ernährung) [2].

1.2 Epidemiologische Grundlagen zu Harnstoffzyklusdefekten

Harnstoffzyklusdefekte (engl. *urea cycle defects*, UCD) sind seltene, erbliche Stoffwechselerkrankungen mit autosomal-rezessivem Erbgang. Eine Ausnahme stellt der OTC-Mangel (*OTC-deficiency*, OTCD) mit X-chromosomal-rezessivem Erbgang dar [1]. Aufgrund der X-chromosomalen Vererbung gibt es beim OTC-Mangel die Patientengruppe der betroffenen Jungen (OTCDm) und die Patientengruppe der heterozygot betroffenen Frauen (OTCDw). Letztere weisen in der Regel eine deutlich mildere Präsentation auf, können sich durch die X-Inaktivierung aber sehr variabel präsentieren. In der Regel handelt es sich bei den OTCDw um sogenannte *late onset*-UCD mit Krankheitsmanifestation jenseits der Neonatalperiode. Aus diesem Grund sollten Patientinnen mit OTC-Mangel in Kohorten stets unabhängig von den männlichen OTCD-Patienten betrachtet werden [5, 6]. Zudem werden die verschiedenen Enzymdefekte in proximale (OTC-, CPS-, NAGS-Mangel) und distale (ASS-, ASL-, Arginase-mangel) UCDs eingeteilt [7, 8].

Während Brusilow et al. eine geschätzte kumulative Inzidenz von 1:8000 für alle UCDs angeben [6], legen weitere Arbeiten jedoch weitaus geringere Zahlen nahe. Nettessheim et al. geben 2017 eine geschätzte Inzidenz von 1:52.000 Lebendgeburten pro Jahr in Deutschland, Österreich und der Schweiz an [9], während Batshaw et al. im Jahr 2014 eine Inzidenz von 1:35.000 in den USA ermittelt haben [10]. Dies deckt sich auch mit den Zahlen aus Japan mit 1:46.000 [11] und Finnland mit 1:39.000 [12]. Dementsprechend sind pro Jahr 100-150 neue UCD-Patienten jeweils in den USA und der EU zu erwarten [13].

Die einzelnen Enzymdefekte unterscheiden sich stark in ihrer Häufigkeit. Der mit Abstand häufigste Enzymdefekt ist der OTCD mit einer Inzidenz von 1:56.000 in den USA (inklusive der weiblichen OTCDw mit heterozygotem Nachweis einer Genvariante), gefolgt vom ASL-Mangel (*ASL-deficiency*, ASLD) und ASS-Mangel (*ASS-deficiency*, ASSD) mit einer Inzidenz von 1:200.000-250.000. Extrem selten ist der CPS-Mangel (*CPS-deficiency*, CPSD) mit einer Inzidenz von 1:1.300.000 in den USA [13]. Auch diese Zahlen werden je nach Quelle durchaus variabel angegeben, so liegt die Inzidenz nach Wijburg et al. bei 1:15.000 (OTCD) und

1:70.000 (ASLD) [1]. Die übrigen Enzymdefekte (Arginasemangel, NAGS-Mangel) sowie die Transporterdefekte (Citrinmangel, HHH-Syndrom) sind noch deutlich seltener mit Inzidenzen von ca. 1:2.000.000 [1, 13].

1.3 Manifestation und Klinik

Die klinische Symptomatik bei Harnstoffzyklusdefekten ist sehr variabel [14]. Für alle Harnstoffzyklusstörungen sind eine Vielzahl verschiedener Mutationen beschrieben, die zu unterschiedlich starken Einschränkungen der Enzymaktivität führen, gemeinsam ist jedoch in allen Fällen die Entwicklung der Hyperammonämie als Ursache der klinischen Symptomatik [6]. Es besteht keine strenge Genotyp-Phänotyp-Korrelation. Klinisch wird differenziert zwischen *early onset*- (EO; Auftreten der Symptome innerhalb der ersten 28 Lebensstage) und *late onset-disease* (LO; Auftreten der Symptome nach der Neugeborenenperiode bis ins Erwachsenenalter). Bei OTCDm-, ASSD-, ASLD- und CPSD-Patienten kam es nach Burgard et al. in 52-75% der Fälle zu einer *early onset*-Manifestation, während bei OTCDw-Patientinnen nur in 7% der Fälle eine neonatale Diagnose gestellt wurde [5]. Kölker et al. beschreiben in ihrer Auswertung des Verlaufs bei einem großen internationalen Patientenkollektiv einen Anteil von 45% EO-Patienten [14], Batshaw et al. hingegen beobachteten eine Verteilung von lediglich 26% EO- und 69% LO-Manifestation, während 5% der Patienten vollständig asymptomatisch blieben [10].

Bei allen Patienten verlaufen Schwangerschaft, Geburt und auch die ersten 24 Lebensstunden typischerweise unauffällig, da der Stickstoff intrauterin über den Kreislauf der Mutter eliminiert wird und erst postnatal NH_3 akkumuliert [6, 14]. Die Kinder sind meist reifgeboren und eutroph [14]. Bei den Patienten mit EO-Manifestation kommt es, nach postnatalem symptomfreiem Intervall, zwischen der 24. und 72. Lebensstunde, teils auch erst nach einigen Tagen [6], zu den ersten Anzeichen einer Stoffwechsellage. In einer Studie von Ah Mew et al. entwickelten 37% der Kinder mit neonatalem Krankheitsbeginn innerhalb der ersten zwei Tage, sowie 88% innerhalb der ersten sieben Tage die entsprechende Symptomatik [7]. Hierzu gehören insbesondere Lethargie und Trinkschwäche sowie die Entwicklung einer respiratorischen Alkalose als Folge der schweren Hyperammonämie, im weiteren Verlauf auch Erbrechen, muskuläre Hypotonie und Hypothermie [1, 6, 15]. Diese unspezifischen Symptome verleiten oft zur Fehldiagnose einer Neugeborenenensepsis, wodurch die notwendige Stoffwechseldiagnostik teilweise verzögert durchgeführt wird [14] und es zur fortschreitenden Enzephalopathie mit Entwicklung eines Hirnödems kommen kann. Hierunter nimmt die Bewusstseinsbeeinträchtigung zu und es können Krampfanfälle auftreten [6]. Ohne eine adäquate Therapie versterben die betroffenen Neugeborenen im Allgemeinen in der ersten Lebenswoche [1].

Das mediane Alter bei Auftreten der ersten Symptome von *late onset*-Patienten lag in der Untersuchung von Kölker et al. im Rahmen einer europaweiten retrospektiven Analyse aus dem E-IMD Register aus den Jahren 2011 – 2013 an insgesamt 795 Patienten mit UCDs (n=343) und organischen Azidurien bei 390 Tagen [14], in einer prospektiven Erhebung von 456 UCD-Patienten aus den Jahren 2011 – 2015 durch Posset et al. lag es bei 730 Tagen mit einer Range von 365 bis 2160 Tagen [16]. Triggerfaktoren für initiale sowie im Verlauf rezidivierende Stoffwechsellagen sind katabole Stoffwechsellagen (z.B. Infekte, Fieber, Fastenperioden) oder eine übermäßige Proteinzufuhr (z.B. bei Ernährungsumstellung im Rahmen der Muttermilchentwöhnung, parenterale Ernährung, mangelnde Compliance) und weitere Zustände, die zu einem erhöhten Stickstoffangebot führen [6, 15]. Symptome wie Erbrechen, Lethargie und Müdigkeit, aber auch Agitiertheit und Desorientiertheit entwickeln sich typischerweise über mehrere Tage [6]. Über einen längeren Zeitraum fallen eine Gedeihstörung oder eine Abneigung gegenüber proteinhaltiger Nahrung auf [9]. Es gibt Patienten mit LO-Manifestation, bei denen nie eine akute Stoffwechsellage auftritt, auch hier kann es dennoch zu neurologischen Symptomen wie mentaler Retardierung, motorischen Defiziten, Epilepsie oder psychiatrischen Auffälligkeiten kommen [14]. Durch ein breites Spektrum an möglichen Differentialdiagnosen gelingt die endgültige Diagnosestellung nicht selten erst nach Wochen bis Monaten [17]. Rügger et al. konnten 2014 in einer Analyse von 208 „nicht-klassischen“ UCD-Patienten (*late onset*, milder oder asymptomatischer Krankheitsverlauf, atypische Symptomatik) aus fünf europäischen Ländern zeigen, dass eine deutlich verzögerte Diagnosestellung bei LO-Patienten das neurologische Outcome verschlechtert [18].

Es wird angenommen, dass das Alter bei Diagnosestellung mit der Rest-Enzymaktivität korreliert. Bei LO-Fällen liegen demnach in der Regel höhere Residualaktivitäten vor und die Prognose kann dadurch besser sein. Eine große Gruppe der LO-Fälle stellen beispielsweise weibliche Patienten mit OTCD dar, hier kann es zwar auch zu schweren Verläufen kommen, es sind jedoch auch gänzlich asymptomatische Verläufe beschrieben [14].

Auch nach überstandener initialer Stoffwechsellage kann es durch o.g. Triggerfaktoren jederzeit zu erneuten Krisen kommen. Jede akute hyperammonämische Krise birgt insbesondere bei verzögerter oder inadäquater Therapie das Risiko einer irreversiblen ZNS-Schädigung [4]. Der Schweregrad der Schädigung korreliert mit Zeitpunkt, Schwere und Dauer der neonatalen Hyperammonämie [8, 9, 19] sowie mit Schwere und Häufigkeit der späteren Entgleisungen [20]. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass niedrigere NH₃-Werte im Rahmen der neonatalen Krise zu einem besseren neurologischen Outcome führen [9, 16, 19, 21]. Typische Folgeschäden bei Patienten mit UCDs sind eine psychomotorische Entwicklungsverzögerung, Intelligenzminderung (Jamiolkowski et al. beschrieben einen IQ ≤

70 in 43% der Fälle [22]), motorische Störungen wie Dystonie oder Spastik, Verhaltensauffälligkeiten sowie Epilepsien [5, 15, 20, 23]. Besonders schlecht scheint das neurologische Outcome für *early onset*-CPSD- und männliche OTCD-Patienten zu sein [9, 21, 23], andere Studien zeigten wiederum das schlechteste neurologische Outcome für ASLD-Patienten [10, 21].

Bei allen UCDs kann es neben einem akuten Leberversagen im Rahmen der Stoffwechsellntgleisung auch zu einer chronischen Leberschädigung kommen. Batshaw et al. beschrieben vor allem bei Patienten mit OTCD eine Häufung von Hepatopathien mit Leberfunktionsstörungen bis hin zum Leberversagen [10]. Bei ASLD-Patienten besteht hingegen ein erhöhtes Risiko für die Entstehung einer Leberzirrhose und eines hepatozellulären Carcinoms [24]. Auch eine weitere Organbeteiligung ist möglich, so wurde etwa bei ASLD-Patienten ein chronisches Nierenversagen beobachtet, welches, ebenso wie das Leberversagen, unabhängig von der neurologischen Symptomatik auftreten kann [25]. Neben Organkomplikationen sind Wachstumsstörungen eine regelmäßig genannte Komplikation der UCD-Patienten. Batshaw et al. sahen eine normale Gewichtsentwicklung, jedoch eine verminderte Wachstumsgeschwindigkeit [10]. Kölker et al. beschrieben eine globale Wachstumsstörung (Perzentilenknick für Gewicht, Länge und Kopfumfang) lediglich bei ASSD-Patienten und wiesen darauf hin, dass eine Wachstumsverzögerung auch durch die proteinarme Diät bedingt sein kann [14].

Nassogne et al. beschrieben im Jahr 2005 in einer Untersuchung an 217 Patienten aus den Jahren 1972 – 2000 eine Gesamtmortalität aller neonatalen UCDs von 84% sowie eine Mortalitätsrate von 28% bei *late onset*-UCDs [17]. In einer Metaanalyse von Burgard et al., welche die Jahre 1978 – 2014 und 1542 Patienten umfasst, konnten diese hohen Mortalitätsraten nicht bestätigt werden, allerdings konnte über den Studienzeitraum von 35 Jahren auch keine wesentliche Verbesserung hinsichtlich Morbidität und Mortalität beschrieben werden. Hier wurde bei *early onset*-UCDs eine Mortalität von 19% (ASLD) – 60% (OTCDm) angegeben [5]. Auch Batshaw et al. gaben eine geringere Gesamtmortalitätsrate der *early onset*-Patienten mit 24% im Vergleich zu früheren Schätzungen von 50% an (CPSD 42%, OTCD 11%, ASSD 7%, ASLD 6%), während die Mortalität der *late-onset* Patienten im Wesentlichen unverändert blieb (11%) [10]. Summar et al. beschrieben eine Korrelation von Mortalität und frühem Zeitpunkt der Erstmanifestation [26]. In der Studie von Burgard et al. überlebten 60% der EO-Patienten die Neonatalperiode, davon verstarben jedoch weitere 19% bis zum Ende des 1. Lebensjahres [5]. Hediger et al. beschrieben zudem einen Unterschied in der Mortalität bezüglich der verschiedenen UCDs, so war hier die Mortalität in der Gruppe proximaler UCDs mit 33% deutlich höher als in der Gruppe distaler UCDs mit 14% [8].

1.4 Diagnosestellung

Die meisten Patienten mit Harnstoffzyklusstörungen werden im Rahmen einer Stoffwechselentgleisung diagnostiziert. Nur bei wenigen Patienten wird die Diagnose im Neugeborenen Screening oder prädiktiv aufgrund von einer positiven Familienanamnese gestellt [14]. Die direkte Messung von Ammoniak ist im Neugeborenen Screening nicht möglich, stattdessen kann ein erhöhter oder verminderter Spiegel verschiedener Metabolite (Aminosäuren) des Harnstoffzyklus (z.B. Citrullin) festgestellt werden [27]. In Deutschland wurde in der Vergangenheit in Studien auf zwei Harnstoffzyklusdefekte (ASSD, ASLD) gescreent [28]. Aktuell gehören diese Krankheitsbilder nicht zum routinemäßigen Screeningprogramm, werden aber weiterhin in Pilotprojekten in den Screeninglaboren untersucht. Die Einschätzungen zum Einsatz des Neugeborenen Screenings zur Diagnose eines Harnstoffzyklusdefekts gehen auseinander. 2003 wurde von Bachmann ein routinemäßiges Screening aufgrund unzureichender Expertise, unzureichender therapeutischer Optionen und den begrenzten Möglichkeiten im Management einer metabolischen Krise nicht empfohlen [29]. Außerdem wurde argumentiert, dass eine hohe Anzahl milder (asymptomatischer) Varianten mit vordringlich biochemischem Phänotyp identifiziert wurde, ohne dass die Patienten auch im weiteren Verlauf wesentliche klinische Auffälligkeiten boten [30]. Die aktuelle AWMF-Leitlinie zum Neugeborenen Screening in Deutschland beinhaltet bereits die Empfehlung für ein Screening auf ASSD und ASLD, während die Datenlage zum Screening der übrigen UCDs für eine Empfehlung als noch nicht ausreichend gewertet wird [15]. Weltweit unterscheiden sich die Neugeborenen Screeningprogramme deutlich. So wird nicht nur in einigen europäischen Ländern [31], sondern auch in den USA [13] und Australien [32] auf (teils nur einzelne) distale UCDs gescreent (ASSD, ALSA und Arginase-mangel). In Kanada kann am 21. Lebenstag zusätzlich ein Urinscreening auf verschiedene Metabolite erfolgen, welches die Diagnose verschiedener UCDs erlaubt [33]. Zu den größten Kritikpunkten am Screening auf UCDs gehört der zeitliche Faktor, da der Befund des Neugeborenen Screenings aufgrund von Abnahmezeitpunkt, Transportwegen und Analysedauer bei schweren Fällen oftmals erst nach Symptombeginn vorliegt [14] und diese Patienten in der Regel nicht mehr von einem auffälligen Screeningbefund profitieren [29]. Verschiedene Studien beschrieben dennoch einen Benefit auch bei Erhalt des Befundes erst kurz nach Einsetzen der Symptomatik [27]. Merritt et al. führten 2018 die Weiterentwicklungen in der Therapie an sowie deren schnellere Zugänglichkeit für die Patienten, und gaben so eine klare Empfehlung für eine Erweiterung des Neugeborenen Screenings um die genannten UCDs in den USA [34]. Entsprechend empfahlen Martín-Hernández et al. dies für Spanien [21]. Verschiedene Studien beschrieben einen positiven Einfluss der Diagnose im Neugeborenen Screening auf das Outcome der Patienten [9, 10], insbesondere für Patienten mit *late onset*-Manifestation [16]. Rügger et al.

zeigten, dass der Anteil an symptomatischen Hyperammonämien mit mentaler Retardierung und Entwicklungsverzögerung im Verlauf bei *late onset*-Patienten, die mittels Neugeborenenenscreening identifiziert wurden, geringer ist, als in der Vergleichsgruppe, die auf andere Weise (klinische Symptomatik jenseits des Neugeborenenalters oder eine auffällige Familienanamnese) diagnostiziert wurden [18]. Die Identifikation proximaler UCDs (OTCD, CPSD, NAGSD) im Neugeborenenenscreening ist aufgrund technischer bzw. analytischer Probleme komplizierter als die Diagnose distaler UCDs. Mögliche Probleme sind beispielsweise eine präanalytische Glutamininstabilität, Interferenz mit anderen Stoffwechselmetaboliten, aber auch der unklare Zeitpunkt für die Probenentnahme [29] oder nicht-standardisierte *cut-off*- bzw. Referenzwerte [28]. Es existieren jedoch bereits Ansätze für die Entwicklung von Analyseverfahren, die auch das Screening von proximalen UCDs ermöglichen sollen [34, 35].

Der wichtigste Parameter bei der Diagnostik von UCDs ist der Plasma-Ammoniakspiegel, welcher bei jedem Verdacht auf das Vorliegen einer Stoffwechsellentgleisung möglichst schnell ermittelt werden sollte [15]. Martín-Hernández et al. beschrieben in ihrer multizentrischen Studie in Spanien bei der initialen Entgleisung von 104 Patienten mit UCDs einen medianen Ammoniakspiegel von 298 $\mu\text{mol/l}$ (507 $\mu\text{g/dl}$), mit Werten von 169 – 615 $\mu\text{mol/l}$ (287 – 1047 $\mu\text{g/dl}$) [21], Kido et al. sahen mediane Spitzenwerte von 177 $\mu\text{mol/l}$ (301 $\mu\text{g/dl}$) beim Arginase-mangel und bis zu 995 $\mu\text{mol/l}$ (1694 $\mu\text{g/dl}$) bei CPSD-Patienten [19]. Bei Patienten mit *early onset-disease* zeigt sich regelmäßig eine massive Hyperammonämie bei Diagnosestellung [14], während bei Patienten mit *late onset*-Manifestation eine normwertige Ammoniakkonzentration einen Harnstoffzykluszyklus nicht ausschließt [1]. Kölker et al. beschrieben im E-IMD Kollektiv bei EO-OTCD-Patienten im Rahmen der Diagnosestellung signifikant höhere Ammoniakwerte als bei LO-OTCD-Patienten. Bei den übrigen UCD-Subtypen schien es einen Trend höherer NH_3 -Werte bei *early*- als bei *late-onset* Patienten zu geben, jedoch war hier kein signifikanter Unterschied festzustellen [14]. Verschiedene Studien zeigten bereits, dass die Höhe der gemessenen Ammoniakwerte, insbesondere bei Erstmanifestation, die Mortalität und das neurologische Outcome [9, 19, 20], aber auch die Dauer des durch die Hyperammonämie induzierten Komas beeinflusst [36]. Zur genaueren Differenzierung zwischen den einzelnen Enzymdefekten und zum Ausschluss anderer Stoffwechselerkrankungen mit Hyperammonämie wie Organazidopathien oder Fettsäureoxidationsstörungen sollte eine erweiterte Stoffwechsellendiagnostik erfolgen, die die Bestimmung von Plasmaamino-säuren (insbesondere fällt meist eine Glutaminerhöhung auf [14, 21]), Acylcarnitinen, Orotsäure und organischen Säuren im Urin beinhaltet [1, 15]. Die Blutgasanalyse zeigt bei schwerster Hyperammonämie oft eine respiratorische Alkalose. Allgemeine Laborparameter (wie z.B. Blutbild, Elektrolyte, Nierenfunktionsparameter) sind bis auf einen verminderten Serum-Harnstoff üblicherweise unauffällig [6]. Es können leicht

erhöhte Transaminasen vorliegen, die Gerinnungsparameter sind häufig nicht verändert [1]. Speziell bei OTCD-Patienten kann es jedoch auch zu einer Lebersynthesestörung bis zum akuten Leberversagen kommen [37].

Zur definitiven Bestätigung einer Verdachtsdiagnose ist eine molekulargenetische Untersuchung die Methode der Wahl. Alternativ ist eine enzymatische Diagnosesicherung (Quantifizierung der verbleibenden Enzymaktivität aus Lebergewebe bzw. abhängig vom betroffenen Enzym auch aus anderen Gewebearten) möglich [15]. Eine molekulargenetische oder enzymatische Pränataldiagnostik mittels Amniocentese, Chorionzottenbiopsie und in utero-Leberbiopsie ist ebenfalls möglich [6].

Anamnestische Hinweise auf UCDs sind eine Konsanguinität der Eltern, neonatal aufgrund unklarer Ursachen verstorbene Geschwisterkinder sowie das Auftreten unklarer Entwicklungsstörungen bei Familienmitgliedern. Fallen in der Stammbaumanalyse ausschließlich männliche verstorbene Neugeborene auf, so liegt aufgrund des X-chromosomal-rezessiven Erbganges der Verdacht eines OTCD nahe [6].

1.5 Grundzüge der Therapie

Die Therapie von Harnstoffzyklusdefekten setzt sich zusammen aus einer diätetischen Behandlung in Form einer Proteinrestriktion und der Substitution von essentiellen Aminosäuren über die Gabe einer sogenannten Aminosäuremischung, und einer medikamentösen Therapie mit „*ammonia scavenging drugs*“, also Medikamenten, die Ammoniak binden und somit einen Alternativweg zur Stickstoffeliminierung über den Harnstoffzyklus darstellen.

Als ammoniakbindende Medikamente stehen Natrium-Phenylbutyrat, Natrium-Phenylacetat und Natrium-Benzoat zur Verfügung. An Benzoat kann unter Bildung von Hippurat ein Stickstoffatom gebunden werden, an Phenylbutyrat (nach beta-Oxidation zu Phenylacetat) können unter Bildung von Phenylacetylglutamin zwei Stickstoffatome gebunden werden. Beide Metabolite werden wie Harnstoff renal eliminiert. Aufgrund der effektiveren Wirkung von Phenylbutyrat wird dieses Medikament aktuell in der oralen Langzeittherapie bevorzugt verwendet, wohingegen Phenylacetat selbst aufgrund seines starken Geruchs und unangenehmen Geschmacks in der oralen Therapie schlecht toleriert wird [6]. Häufig wird auch eine Kombination zweier Medikamente verwendet [6, 38]. Ein neueres Medikament zur Behandlung von UCDs ist Glycerolphenylbutyrat, ein Prodrug von Phenylacetat [39]. Im Gegensatz zu Natrium-Phenylbutyrat weist Glycerolphenylbutyrat eine verbesserte Pharmakokinetik und effektivere Senkung von Ammoniak und Glutamin auf und hat –

insbesondere auch da kein Natrium enthalten ist – ein geringeres Nebenwirkungsspektrum [40, 41]. Gerade bei pädiatrischen Patienten sind zudem die Vorteile eines weniger unangenehmen Geschmacks und einer flüssigen Darreichungsform anstelle von Tabletten oder Granulat nicht zu vernachlässigen [39].

Zur Unterstützung der Restfunktion des Harnstoffzyklus können Metabolite wie L-Arginin bzw. L-Citrullin verabreicht werden [42]. Bei Patienten mit distalen UCDs (ASSD und ASLD) kann durch Argininsubstitution Stickstoff in Form von Citrullin (ein Stickstoffatom) bzw. Argininosuccinat (zwei Stickstoffatome) – ebenfalls renal – ausgeschieden werden, während beim CPS- und OTC-Mangel eine Substitution mit Citrullin die Eliminierung von Stickstoff über die Bindung mit Aspartat durch die Argininosuccinatsynthetase ermöglicht. Zudem entsteht bei den meisten UCDs ein Argininmangel, der ausgeglichen werden sollte. Lediglich bei Patienten, bei denen der Verdacht oder ein bestätigter Arginase-Mangel besteht, sollte keine Arginingabe erfolgen [1].

Milde Hyperammonämien können in manchen Fällen auch ohne intravenöse medikamentöse Therapie lediglich durch eine vorübergehende Unterbrechung der Proteinzufuhr und intravenöse Glukosezufuhr zum Erhalt einer anabolen Stoffwechsellage behandelt werden [6]. Bei erhöhten NH_3 -Werten ab $100 \mu\text{mol/l}$ ($170 \mu\text{g/dl}$) sollte jedoch bei allen Patienten mit Erstmanifestation eine intravenöse medikamentöse Therapie erfolgen, bei Patienten mit bereits bekannter Diagnose sollte ab NH_3 -Werten $>250 \mu\text{mol/l}$ ($425 \mu\text{g/dl}$) die ggf. oral begonnene Therapie sowie die Dauermedikation auf eine intravenöse Therapie umgestellt werden [15].

Gelingt bei schweren Entgleisungen mit medikamentöser Therapie (meist eine Kombination aus Natriumphenylacetat, Natriumbenzoat und Arginin-HCl i.v. [6]) keine Normalisierung des Plasmaammoniakspiegels, so muss zeitnah eine Hämodialyse erfolgen [15]. In der aktuellen europäischen Leitlinie zur Behandlung von Harnstoffzyklusstörungen wird als Grenzwert ein NH_3 -Spiegel von $>500 \mu\text{mol/l}$ ($>850 \mu\text{g/dl}$) genannt, respektive niedrigere Werte bei Nichtansprechen der medikamentösen Therapie nach 3-6 Stunden [15]. Nettessheim et al. beschrieben bei den *early onset*-Patienten eine Dialyserate von 75%, bei den *late onset*-Patienten lediglich von 14% [9]. Bei proximalen und distalen UCDs wird die Dialyse etwa gleich häufig eingesetzt [8]. Die Hämodialyse stellt insbesondere bei neonataler Hyperammonämie mit Enzephalopathie die effektivste Therapieoption dar [6]. Eine Peritonealdialyse ist weniger effektiv und wird nur zur Überbrückung empfohlen, bis eine Hämodialyse oder Hämodiafiltration möglich ist [15]. Hediger et al. wiesen auf ein besseres Outcome bei niedrigem Trigger- NH_3 -Wert (dem Wert, der zur Entscheidung geführt hat, eine Hämodialyse durchzuführen) hin, der Trigger- NH_3 lag bei verstorbenen Patienten signifikant höher als bei überlebenden Patienten [8].

Neben einer medikamentösen Dauertherapie ist eine an den altersentsprechenden Bedarf und die individuelle Eiweißtoleranz angepasste eiweißreduzierte Diät von höchster Bedeutung für die Aufrechterhaltung einer ausgeglichenen Stoffwechsellage der UCD-Patienten [15]. Hier ist von Bedeutung, dass ausreichend Substrat für ein regelrechtes Wachstum der Patienten zugeführt wird [6]. Ein zu hohes Proteinangebot führt bei Beeinträchtigung des Harnstoffzyklus durch einen vermehrten Anfall von Stickstoff zu einer hyperammonen Krise, während durch ein zu niedriges Proteinangebot eine katabole Stoffwechselsituation, die zum Abbau von körpereigenem Eiweiß führt, wiederum Stoffwechselentgleisungen begünstigen kann. Der Eiweißbedarf ist altersabhängig [6, 21], die Eiweißzufuhr muss regelmäßig an den aktuellen Bedarf (Mindestbedarf: WHO *safe levels* der Proteinzufuhr [43]) und das Körpergewicht angepasst werden [15]. Bei der Notwendigkeit einer sehr strengen Proteinrestriktion erfolgt in vielen Fällen eine Supplementierung mit essenziellen Aminosäuren (*essential amino acids*, EAA) über sogenannte Aminosäuremischungen. Diese Präparate enthalten weniger Stickstoff als natürliches Protein [21], sodass der Eiweißbedarf mit einer geringeren Stickstoffzufuhr gedeckt werden kann. Der Anteil an Gesamtproteinzufuhr wird mit etwa 20-30% empfohlen [15]. Zur Kalorienanreicherung können zudem proteinfreie Nahrungszusätze verwendet werden [6].

Der Großteil der symptomatischen UCD-Patienten erhält eine eiweißreduzierte Diät, während viele asymptomatische Patienten bzw. Patienten mit milden UCDs ohne Diät auskommen [18, 21]. Eine alleinige diätetische Therapie reicht jedoch für Patienten mit schweren Verläufen nicht aus [6].

In der Akuttherapie einer Stoffwechselentgleisung muss die Proteinzufuhr vollständig unterbrochen werden, der Zeitraum ohne Proteinzufuhr sollte jedoch nicht länger als 24-48 Stunden andauern, um Proteinkatabolismus zu vermeiden. Damit auch während dieser Zeit ein anaboler Stoffwechselzustand erhalten werden kann, erfolgt eine parenterale Ernährung mit hochdosierter intravenöser Gabe von Glukose und Fett [15].

Zusammengefasst beinhaltet die akute Therapie einer symptomatischen Hyperammonämie bei Erstmanifestation oder im Rahmen einer späteren Stoffwechselentgleisung also folgende Elemente [6, 15]:

- Proteinkarenz, Vermeidung eines katabolen Stoffwechselzustandes mithilfe von hochdosierter intravenöser Glukosezufuhr, ggf. mit gleichzeitiger Insulingabe sowie Fettzufuhr,
- Intravenöse Gabe von *ammonia scavenging drugs* und Arginin-HCl,
- Frühzeitiger Beginn einer Hämodialyse bei schwerster Stoffwechselentgleisung oder Ineffektivität der konservativen Therapie,

- Ggf. Osmotherapie eines Hirnödems und Vermeidung einer Hyperventilation.

Es wird empfohlen, die Patienten möglichst zeitnah in ein spezialisiertes Stoffwechselzentrum zu verlegen [15].

Im Verlauf der Langzeittherapie sollte eine regelmäßige Reevaluation der Therapie mittels Beurteilung von Ammoniak- und Glutaminspiegeln sowie des Ernährungsstatus bzw. anthropometrischer Parameter zur Beurteilung von Wachstum und Gedeihen erfolgen. Ziel ist es, eine ausreichende Proteinzufuhr für Wachstum und Entwicklung zu gewährleisten, jedoch gleichzeitig Stoffwechselkrisen zu vermeiden [6].

Als einzige kausale Therapie von UCDs ist die Lebertransplantation in Erwägung zu ziehen. Sie wird derzeit als Alternative für Patienten mit schweren UCDs empfohlen, die nur schwer medikamentös einzustellen und in ihrer Lebensqualität stark eingeschränkt sind, jedoch noch keine ausgeprägte neurologische Schädigung aufweisen [15]. Eine Spaltlebertransplantation durch Lebendspende von Verwandten ist möglich, ebenso wie eine Transplantation von heterozygoten Spendern, während die auxiliäre Lebertransplantation vermehrt zu Komplikationen geführt hat [15, 44, 45]. Insbesondere bei häufig rezidivierenden Stoffwechselentgleisungen kann durch die Lebertransplantation eine endgültige Heilung des zugrunde liegenden Enzymdefekts erzielt werden, sofern das Risiko, das mit der Operation und den Folgen einer Transplantation einhergeht, akzeptiert werden kann. Um das Risiko für irreversible neurologische Vorschädigungen zu minimieren, sollte die Operation möglichst früh erfolgen [44, 46]. In den ersten Lebensmonaten besteht jedoch ein besonders großes Risiko für peri- und postoperative Komplikationen, sodass ein Zeitpunkt zwischen dem 3. und 12. Lebensmonat und ein Gewicht von über 5 kg für die Transplantation empfohlen wird [15]. Batshaw et al. beschrieben, dass 42 von 66 Patienten vor dem Ende des zweiten Lebensjahres transplantiert wurden, und zeigten seit 2010 einen Trend zu einer Verschiebung des Transplantationszeitpunktes in ein früheres Lebensalter [10]. Kido et al. nannten einen Anteil von 50%, die vor dem ersten Geburtstag transplantiert wurden [19]. Abgesehen vom NAGSD kommen alle UCD-Subtypen für eine Lebertransplantation in Frage [15], insbesondere OTCDm und CPSD aufgrund des meist schweren Verlaufs [17]. Ah Mew et al. beschrieben 2013 einen Anteil von 66% der Patienten mit proximalen UCDs gegenüber 27% bzw. 36% der ASSD- bzw. ASLD-Patienten, die transplantiert wurden [7]. Unsinn et al. nannten 2016 niedrigere Zahlen transplantierter Patienten, insgesamt wurden hier nur 17,5% (11/63) des gesamten Patientenkollektivs transplantiert, davon 5 OTCD-, 4 ASSD- und 2 CPSD-Patienten [47]. Es wird nur ein sehr kleiner Anteil von Patienten mit *late onset*-Manifestation transplantiert, Rügger et al. beschrieben in ihrer Studie von 2014 unter allen untersuchten Patienten mit nicht-klassischem UCD nur einen Transplantationsanteil von 3% [18].

Zur Überbrückung des Zeitraums bis zur Transplantation wurde bei einer Reihe von Patienten eine Hepatozytentransplantation durchgeführt [44]. Dieses zum aktuellen Zeitpunkt noch nicht allgemein etablierte Verfahren konnte Erfolge bei einigen Patienten mit UCDs aufweisen. Patienten wiesen bis zu einem Jahr nach intraportaler Infusion von Spenderleberzellen eine metabolische Stabilisierung auf, sodass neurologische Schädigungen durch rezidivierende Stoffwechselentgleisungen während der Wartezeit bis zu einer möglichen Lebertransplantation zu vermieden werden konnten. Die Hepatozytentransplantation wurde demnach in vielen Fällen als Bridging betrachtet. Auch hier ist jedoch eine Immunsuppression erforderlich und es wurden verschiedene infektiologische sowie interventionsbedingte Komplikationen beschrieben [48]. Ein Zulassungsantrag für ein Präparat humaner heterologer Leberzellen (Heparesc®) wurde von der EMA im Jahr 2015 abgelehnt [49].

Die 1-Jahr- bzw. 5-Jahres-Überlebensraten nach Lebertransplantation werden in unterschiedlichen Untersuchungen auf etwa 90-95% geschätzt [44, 45]. Das postoperative neurologische Outcome ist stark vom präoperativen neurologischen Status abhängig. Patienten mit bereits manifester Entwicklungsverzögerung weisen nach Transplantation keine weitere Verschlechterung ihres Zustands auf, Patienten ohne neurokognitive Beeinträchtigung oder mit nur milder Retardierung vor Transplantation haben auch im Anschluss eine gute Prognose hinsichtlich ihrer Entwicklung [44, 50]. Nach erfolgter Transplantation muss im Allgemeinen keine medikamentöse Therapie (des Harnstoffzyklusdefekts) mehr erfolgen, bei wenigen Patienten wird sie jedoch noch fortgeführt, wie zum Beispiel bei einigen OTCD- und CPSD-Patienten, bei denen auch nach der Transplantation noch niedrigere Citrullinspiegel vorliegen können, sodass eine Fortführung der Citrullinsubstitution – in der Regel in deutlich reduzierter Dosis – erforderlich sein kann [19, 44]. Es treten keine hyperammonämischen Krisen mehr auf und die Patienten können ohne Einschränkungen ernährt werden [19, 44]. Zu den perioperativen Komplikationen gehören thromboembolische Ereignisse, Abstoßungsreaktionen sowie infektiöse Komplikationen [44].

1.6 Ziel dieser Arbeit

Aufgrund der Seltenheit der Erkrankungen ist die verfügbare Datenlage zum Krankheitsverlauf aus größeren Kollektiven von Patienten mit Harnstoffzyklusstörungen begrenzt. In der vorliegenden Untersuchung erfolgte die retrospektive Analyse aller zwischen 1994 und 2012 im pädiatrischen Stoffwechsellabor Düsseldorf behandelten Patienten mit genetisch oder enzymatisch gesicherten Harnstoffzyklusdefekten.

Im Einzelnen wurden folgende Kategorien von Daten erhoben:

- Initiale klinische Präsentation und klinischer Verlauf bis zum Alter von 5 Jahren bzw. bis 5 Jahre nach Diagnosestellung (bei *late onset*-Patienten)
- Labor- und apparative Diagnostik
- Medikamentöse und diätetische Therapie

Ziel dieser Arbeit soll es sein, die aktuelle Situation der Versorgung und das Outcome von Patienten mit Harnstoffzyklusdefekten darzustellen. Aus den Daten sollen Prognosefaktoren erarbeitet werden, um Behandlungsstrategien zu identifizieren, die das Outcome der Patienten verbessern.

2 Material und Methoden

2.1 Studienpopulation

Zur besseren Charakterisierung des klinischen Verlaufs bei Patienten mit Harnstoffzyklusstörungen wurde eine monozentrische, nicht-interventionelle retrospektive Studie durchgeführt. Eingeschlossen wurden zunächst alle langfristig im pädiatrischen Stoffwechsellabor des Universitätsklinikums Düsseldorf zwischen 1994 und 2012 betreuten Patienten mit Harnstoffzyklusdefekten. Die Erstellung dieser Promotionsarbeit erfolgte im Zusammenhang mit der Datenerhebung im Rahmen einer multizentrischen retrospektiven Studie zum klinischen Verlauf pädiatrischer UCD-Patienten (CCD10, *Clinical Course of Pediatric Patients with Urea Cycle Disorders: A Retrospective Database Study*, Coordinating Investigator: Prof. Dr. med. J. Häberle, Universitätskinderklinik Zürich, Schweiz, Sponsor: Cytonet, Weinheim, Deutschland). Die Veröffentlichung der Ergebnisse der multizentrischen CCD10-Studie mit 63 UCD-Patienten erfolgte im Jahr 2016 durch Unsinn et al. [47].

Einschlusskriterium war die Diagnose eines molekulargenetisch oder enzymatisch gesicherten Harnstoffzyklusdefektes (ASSD, OTCD, CPSD, ASLD). Es wurden sowohl *early onset*- als auch *late onset*-Patienten eingeschlossen, bei denen ausreichende Daten zu neonatalem Verlauf (bei *early-onset* UCD) und klinisch-biochemische Befunde mindestens der ersten 6 Monate nach Diagnosestellung (bei *early onset* und *late onset*) vorlagen. Das maximale Follow-up betrug 5 Jahre. Bei frühzeitiger Beendigung des Follow-ups beispielsweise aufgrund von Tod oder Lebertransplantation wurden alle vorhandenen Daten verwendet.

Ausschlusskriterien waren:

- Alter >18 Jahre zum Zeitpunkt des Beginns dieser Studie im Jahr 2012 (Geburt vor 1994),
- unzureichende Daten (unzureichende Dokumentation der Erstmanifestation, verfügbare Daten über einen Zeitraum von < 6 Monaten, 2 oder weniger Vorstellungstermine im Stoffwechsellabor der Universitätskinderklinik Düsseldorf), sodass keine konsistente Verlaufsbeobachtung möglich war,
- oder eine überwiegende Betreuung durch ein anderes Stoffwechsellabor, sodass die verfügbare Datenbasis ebenfalls unvollständig war.

Um das Langzeitoutcome der größten Patientengruppe (Patienten mit ASS-Mangel) näher zu evaluieren, erfolgte im Februar 2022 eine erneute Erfassung des Entwicklungsstandes dieser Patienten aus der Patientenakte. Hierfür wurde der Erfassungszeitraum um die Jahre 2013 – 2021 erweitert. Zudem wurden die bis zu diesem Zeitpunkt im pädiatrischen Stoffwechsellabor Düsseldorf neu diagnostizierten ASSD-Patienten (n=6) hinsichtlich ihrer

initialen klinischen Präsentation und Therapie ausgewertet und in die Studie mit eingeschlossen.

2.2 Datenerhebung

Durch eine systematische Suche im klinikeigenen Krankenhausinformationssystem (Medico) wurden alle Patienten identifiziert, die in den Jahren 1994-2012 in der Universitätskinderklinik Düsseldorf aufgrund eines UCD behandelt wurden. Die schriftlichen und / oder elektronischen Akten dieser Patienten wurden systematisch ausgewertet.

Trafen die in 2.1 aufgeführten Ausschlusskriterien nicht zu, wurden aus den vorliegenden Unterlagen folgende Daten erhoben:

- Diagnosestellung:
UCD-Typ,
Zeitpunkt und Art der Diagnosestellung (hier definiert als erster erhöht gemessener Ammoniakspiegel, der eine Therapie oder, im Falle von nicht-therapiepflichtigen, milden Verläufen, ein weiteres Monitoring erforderlich machte),
- Klinischer Verlauf:
Schwere und Dauer von Hyperammonämien (definiert als $\text{NH}_3 > 100 \mu\text{g/dl}$),
Intellektuelle Entwicklung (psychologische Gutachten, Entwicklungstests, Information bezüglich Schulform bzw. Förderbedarf),
psychomotorische Entwicklung (erreichte „Meilensteine der Entwicklung“)
anthropometrische Daten (Gewicht, Länge, Kopfumfang, BMI),
ggf. Todeszeitpunkt in der Zeit des Follow-ups,
- Laborchemische und apparative Diagnostik:
Ammoniakwerte zum Zeitpunkt von Stoffwechselentgleisungen sowie als Routine-Verlaufparameter im symptomfreien Intervall,
Befund des Neugeborenenstoffwechselscreenings,
molekulargenetische Untersuchungsbefunde,
weiterführende apparative Diagnostik (MRT, EEG),
- Therapie:
Medikation bei akuter Stoffwechselentgleisung,
Medikamentöse Dauertherapie im Intervall,
therapeutische Interventionen (Lebertransplantation oder Hepatozytentransfusion) in der Zeit des Follow-ups,
Diät (Zufuhr von natürlichem und synthetischem Eiweiß).

Sowohl die aus der digitalen Krankenakte als auch aus den Krankenakten in Papierform erhobenen Daten wurden in Excel-Datenblätter überführt. Hierbei wurde zunächst jeweils ein Datenblatt pro Patient über den gesamten Beobachtungszeitraum mit allen erhobenen Parametern angelegt. Weitere Tabellen wurden zusammengestellt, die ausgewählte Parameter für alle erfassten Patienten enthielten.

2.3 Ethik

Die Datenerhebung erfolgte nach positivem Votum der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf für die Durchführung der CCD10-Studie mit der damit verbundenen Promotionsarbeit (Studiennummer bei der Ethikkommission: 3860). Für die nachträgliche Ausweitung des Erfassungszeitraumes bis zum Jahr 2021 zur besseren Beurteilung des Langzeitoutcomes wurde im Februar 2022 ein Amendmentantrag an die Ethikkommission gestellt und positiv bewertet. Auch das Studienprotokoll der CCD10-Studie sah bei zu geringer Rekrutierung eine Ausweitung des Erfassungszeitraumes um bis zu 10 Jahre vor.

Auf eine Einwilligungserklärung der Sorgeberechtigten oder einsichtsfähiger Kinder konnte bei dieser nicht-interventionellen Studie mit retrospektiver Datenerhebung unter Berücksichtigung von § 6 Abs. 2 GDSG-NW verzichtet werden. Die Vorschriften des Datenschutzes wurden beachtet. Die Datenerhebung und –speicherung erfolgte pseudonymisiert, indem den erfassten Patienten eine fortlaufende Patientenummer zugewiesen wurde. Die für Forschung erhobenen Daten und der Pseudonymisierungsschlüssel werden zehn Jahre nach Abschluss der Datenanalyse gespeichert und anschließend gelöscht.

Das Design der Studie war ausschließlich beobachtend, es erfolgten keine studienbedingten Interventionen und es wurden keine zusätzlichen Befunde erhoben.

2.4 Datenanalyse

Die Analyse der Daten erfolgte zunächst deskriptiv. Eine vergleichende statistische Analyse wurde nicht durchgeführt, da aufgrund der Seltenheit dieser Stoffwechseldefekte (Gesamtzahl aller Patienten n=38), einer ungleichen Verteilung der Häufigkeiten der Enzymdefekte und der unterschiedlich langen follow up-Zeiträume keine statistische Aussagekraft erzielt werden konnte.

2.4.1 Hyperammonämien

Zunächst wurde die Patientenpopulation charakterisiert und in Gruppen anhand des entsprechenden Enzymdefekts im Harnstoffzyklus (ASSD, OTCD, CPSD, ASLD) eingeteilt. Anschließend wurde der Diagnosezeitpunkt (definiert als erster erhöht gemessener Ammoniakwert) identifiziert zur Einteilung in die Gruppen *early onset* (Krankheitsmanifestation während der Neonatalperiode, d.h. innerhalb der ersten 28 Lebenstage) vs. *late onset* (Manifestation jenseits der Neonatalperiode). Die asymptomatischen Patienten, die im routinemäßig durchgeführten neonatalen Stoffwechselscreening aufgefallen waren, wurden in diese Einteilung nicht mit aufgenommen, ebenso wenig die Patienten, bei denen aufgrund eines bereits erkrankten älteren Geschwisterkindes pränatal oder unmittelbar postnatal eine prädiktive Diagnostik erfolgte.

Besonders ausführlich wurde die neonatale Stoffwechselentgleisung untersucht, welche zur Diagnose führte. Hier wurden minimal und maximal gemessene Ammoniakwerte verglichen, ein Mittelwert bestimmt und die Dauer der Krise bis zur Normalisierung der Ammoniakwerte in Tagen ermittelt. Die Erstdiagnose bei *late onset*-UCD wurde hier aufgrund der begrenzten Patientenzahl nicht näher untersucht. Zum Vergleich des Zeitpunktes der Erstdiagnose bei *early onset*-UCDs sowie der gemessenen NH_3 -Werte im Verlauf des Beobachtungszeitraumes von 1994 – 2012 wurden die Patienten in 3 Zeitintervallen von jeweils 6 Jahren zugeteilt (Geburtsjahr 1994 – 2000, 2001 – 2006, 2007 – 2012). Insbesondere ging es hier um die Fragestellung, ob sich im Laufe der Zeit eine Verbesserung beim Zeitpunkt der Diagnosestellung im Sinne einer früheren Diagnose mit möglicherweise weniger ausgeprägten Entgleisungen abzeichnete.

Im Weiteren wurden die Häufigkeit und Schwere der hyperammonämischen Stoffwechselentgleisungen (Hyperammonämie definiert als $\text{NH}_3 > 100 \mu\text{g/dl}$, schwere Hyperammonämie definiert als $\text{NH}_3 > 250 \mu\text{g/dl}$) im gesamten follow up-Zeitraum erhoben. Hier wurde insbesondere das Verhältnis von Entgleisungen im ersten Lebensjahr gegenüber der Häufigkeit von Entgleisungen in den weiteren vier Jahren betrachtet.

Ebenso wurden die gemessenen Ammoniak-Spitzenwerte im gesamten Follow-up für die einzelnen Krankheitsbilder miteinander verglichen, um der Frage nachzugehen, ob ein Einfluss extrem hoher Ammoniakkonzentrationen auf das klinische Outcome nachzuweisen ist. Auch hier wurden die gemessenen Werte in die o.g. Untergruppen nach Geburtsjahren eingeordnet, um ggf. eine Veränderung in der Schwere der Entgleisungen durch verbesserte Therapieoptionen zu erkennen.

Die initiale Diagnostik und der weitere Verlauf wurden auch für Patienten ausgewertet, die erst jenseits des Neugeborenenalters aufgefallen sind sowie für jene, die neonatal ohne Stoffwechsellentgleisung diagnostiziert wurden.

Da die Ammoniakbestimmung im Labor der Universitätsklinik Düsseldorf in der konventionellen Messeinheit $\mu\text{g/dl}$ erfolgte, werden in dieser Arbeit in allen Befunden und darauf bezogenen Analysen bzw. Grafiken Ammoniakspiegel in dieser Einheit genannt. Da in der internationalen Literatur jedoch überwiegend die SI-Einheit $\mu\text{mol/l}$ verwendet wird, erfolgte zur besseren Vergleichbarkeit mithilfe eines Einheitenrechners (<https://www.wisplinghoff.de/fuer-aerzte/formelsammlung/umrechner-einheiten-rechner>, letzter Zugriff 27.09.2022) die Umrechnung und entsprechende Angabe im Fließtext.

2.4.2 Klinische Untersuchungsbefunde und Diagnostik

Neben den laborchemischen Befunden wurden die klinischen und apparativen Untersuchungsbefunde zusammengestellt.

Aus den vorliegenden MRT- und EEG-Befunden wurden morphologische und elektroenzephalographische Auffälligkeiten (z.B. Hirnödeme, Hydrozephalus, epilepsietypische Potenziale) dokumentiert und den jeweiligen Enzymdefekten zugeordnet, um auch hier den möglichen Zusammenhang mit dem Langzeit-Outcome zu untersuchen.

Weiterhin wurden Befunde von klinischen Untersuchungen wie psychologischen Gutachten, Intelligenztestungen und allgemeinen klinischen bzw. neurologischen Untersuchungen im Rahmen der routinemäßigen Vorstellungen in der Stoffwechselambulanz ausgewertet. Mangels der einheitlichen Verwendung eines standardisierten Score-Systems wurden die Patienten anhand der klinischen Einschätzung der behandelten Ärzte in „schwere“ und „milde“ Verläufe mit unterschiedlichem Grad der psychomotorischen Retardierung (schwerst retardiert: vollständige Pflegebedürftigkeit; schwer retardiert: ausgeprägte Entwicklungsverzögerung; mäßig retardiert: Entwicklungsverzögerung mit Förderbedarf, jedoch Kommunikation gut möglich; nicht retardiert: altersentsprechende Entwicklung) eingeteilt. Auch die Notwendigkeit von in Anspruch genommenen Fördermaßnahmen sowie das Erreichen von Entwicklungs-„Meilensteinen“ (in einem bestimmten Alter zu erwartende Fähigkeiten bezüglich motorischer, sozialer und sprachlicher Entwicklung, die anhand der sog. Denver-Scales beurteilt wurden) einschließlich der Möglichkeit des Besuchs einer Schule bzw. verschiedener Schul-/Kindergartentypen wurden hier mit berücksichtigt.

Zudem wurden die Körperperzentilen (Länge, Gewicht, Kopfumfang) aus dem gesamten Beobachtungszeitraum zusammengestellt, die entsprechenden BMI-Werte inklusive Perzentilen ermittelt und mit den Perzentilen gesunder Kinder verglichen.

2.4.3 Medikamentöse Therapie und Diät

Alle durchgeführten Therapien für die akute und chronische Behandlung der UCD Patienten wurden erhoben.

Die medikamentöse Therapie wurde unterteilt in die initiale Therapie der Stoffwechselentgleisung, die Therapie bei Entlassung aus der stationären Behandlung nach der ersten Entgleisung, sowie die Dauertherapie während des Follow-ups zum Zeitpunkt von einem bzw. fünf Jahren nach Diagnosestellung. Unterteilt wurden die medikamentösen Behandlungsansätze neben der Substitution von L-Arginin in den Gebrauch einer sog. *Ammonia Scavenging Drug* (Na-Benzoesäure oder Na-Phenylbutyrat) bzw. einer Kombinationstherapie aus beiden oder den vollständigen Verzicht auf diese. Es wurde analysiert, ob sich die medikamentöse Therapie für die unterschiedlichen Harnstoffzyklusstörungen unterschiedet.

Analog zur Erhebung der medikamentösen Therapie wurde auch die Eiweißzufuhr (Zufuhr von natürlichem und synthetischem Eiweiß) ausgewertet und in den zeitlichen Zusammenhang im Beobachtungszeitraum gebracht.

2.5 Berechnung deskriptiver statistischer Parameter

Aufgrund der Seltenheit der Krankheiten liegen dieser Studie extrem niedrige Patientenzahlen zugrunde. Diese wurden im Rahmen der Auswertung zur besseren Vergleichbarkeit weiter verschiedenen Gruppen zugeordnet (Zeiträume bezogen auf Geburtsjahre, Enzymdefekte), welche letztlich nur sehr wenige, teils einzelne Patienten enthielten. Aus diesem Grund wurde auf eine übliche statistische Auswertung verzichtet, diese wäre statistisch nicht aussagekräftig und würde lediglich einen verfälschten Eindruck vermitteln. Stattdessen erfolgte eine deskriptive Auswertung. Statistische Parameter (z.B. Mittelwert, Median, Quartile) und graphische Darstellungen wurden mithilfe von Microsoft Excel ermittelt und erstellt.

2.6 Literaturrecherche

Die in dieser Dissertation erhobenen Daten wurden nach Literaturrecherche in Pubmed (Stand Februar 2022) in der publizierten wissenschaftlichen Literatur vorliegenden Datenanalysen gegenüber gestellt.

3 Ergebnisse

3.1 Studienpopulation

Im Studienzeitraum wurden in der Stoffwechselabteilung der Universitätskinderklinik Düsseldorf 50 Patienten mit Harnstoffzyklusstörungen behandelt. 12 dieser Patienten mussten aufgrund unzureichend vorliegender Daten aus der Datenerhebung ausgeschlossen werden. Mindestens drei dieser Patienten wurden zwischenzeitlich von einem anderen Stoffwechselzentrum betreut, ein weiterer Patient wurde in der Universitätskinderklinik Düsseldorf erst drei Jahre nach Diagnosestellung erstmals vorgestellt, und ein Patient verstarb neonatal, ohne dass die Diagnose sicher bestätigt werden konnte. Die vorliegenden Daten dieser Patienten legen nahe, dass es sich bei diesen nicht in die Analyse eingeschlossenen Patienten sowohl um *early onset*-Patienten mit schwerem Verlauf, als auch um *late onset*-Patienten mit weniger schwerem Verlauf zu handeln scheint. Ein Bias durch Nichtberücksichtigen dieser Patienten kann nicht sicher ausgeschlossen werden, es wird jedoch keine relevante Verzerrung der Ergebnisse angenommen. Unter den eingeschlossenen 38 Patienten lag bei 25 (66%) ein ASS-Mangel (ASSD) vor, bei 5 ein OTC-Mangel (OTCD, 13%), bei 4 ein CPS-Mangel (CPSD, 10,5%) sowie bei weiteren 4 ein ASL-Mangel (ASLD, 10,5%). 20 Patienten waren männlich (53%), 18 Patienten weiblich (47%). Die retrospektive Datenerhebung erfolgte über einen Behandlungszeitraum von mindestens 6 Monaten bis maximal 5 Jahren nach Diagnosestellung bzw. bis zum Tod eines Patienten oder bis zur Durchführung einer Lebertransplantation.

3.2 Diagnosestellung

Die Diagnosestellung (Nachweis des ersten erhöht gemessenen Ammoniakwertes, Referenzbereich bei einem Neugeborenen: 51 – 245 µg/dl, vgl. Anhang, Tabelle 17) erfolgte bei knapp einem Drittel der Patienten (31%) zwischen dem ersten und dritten Lebenstag (vgl. Tabelle 1). Bei 55% der Kinder trat die initiale Entgleisung zwischen dem 4. und 10. Lebenstag auf, damit fand die Erstmanifestation beim Großteil aller Patienten (86%) neonatal innerhalb der ersten zehn Lebenstage statt. Nur 14% der Fälle manifestierten sich im weiteren Verlauf. Bei 6 Patienten wurde die Diagnose einer milden Citrullinämie (ASSD) bei unauffälligem klinischem Befund im Neugeborenenstoffwechselscreening gestellt, bei 2 Patienten erfolgte die Diagnose prädiktiv aufgrund erkrankter Geschwisterkinder. Bei diesen beiden Kindern wurde schon am ersten Lebenstag eine Ammoniakbestimmung durchgeführt, hier zeigten sich keine erhöhten Werte (157 bzw. 173 µg/dl).

1.-3. LT	4.-10. LT	11.-28. LT	2.-6. LM	7.-12. LM	>1. LJ
9	16	0	2	1	1
31%	55%	0%	7%	3%	3%

Tabelle 1: **Zeitpunkt der Diagnosestellung**

n=29, ausgeschlossen sind asymptomatische Screeningpatienten und prädiktiv untersuchte Patienten mit betroffenen Geschwisterkindern

LT: Lebenstag, LM: Lebensmonat, LJ: Lebensjahr

Tabelle 1 zeigt, dass alle neonatal betroffenen Patienten innerhalb der ersten zehn Lebenstage diagnostiziert wurden. Bei genauerer Betrachtung dieser zehn Tage in Tabelle 2 fällt auf, dass alle Erstdiagnosen dieser Patienten (n=25) sogar innerhalb der ersten neun Lebenstage gestellt werden konnten. Im Vergleich der definierten Zeitintervalle im gesamten Beobachtungszeitraum von 1994 – 2012 zeigte sich, dass sich der Diagnosezeitpunkt im Verlauf nach vorne verlagert hat. Während in den Jahren 1994 – 2000 noch über die Hälfte aller Patienten zwischen dem 6.-10. Lebenstag diagnostiziert wurden, gelang die Diagnose in den Folgejahren zu 75% (2001 – 2006) bzw. 88,9% (2007 – 2012) innerhalb der ersten 5 Lebenstage (vgl. Abb. 2).

	1. LT	2. LT	3. LT	4. LT	5. LT	6. LT	7. LT	8. LT	9. LT	10. LT
Gesamter Zeitraum 1994 – 2012	0	3	6	4	4	2	2	2	2	0
	0%	12%	24%	16%	16%	8%	8%	8%	8%	0%
1994 – 2000	0	0	1	2	0	1	2	0	2	0
	0%	0%	12,5%	25%	0%	12,5%	25%	0%	25%	0%
2001 – 2006	0	1	2	1	2	1	0	1	0	0
	0%	12,5%	25%	12,5%	25%	12,5%	0%	12,5%	0%	0%
2007 – 2012	0	2	3	1	2	0	0	1	0	0
	0%	22,2%	33,3%	11,1%	22,2%	0%	0%	11,1%	0%	0%

Tabelle 2: **Zeitpunkt der Erstdiagnose bei *early onset*-UCDs (n=25)**, jeweils in absoluten Zahlen und anteilig. LT: Lebenstag

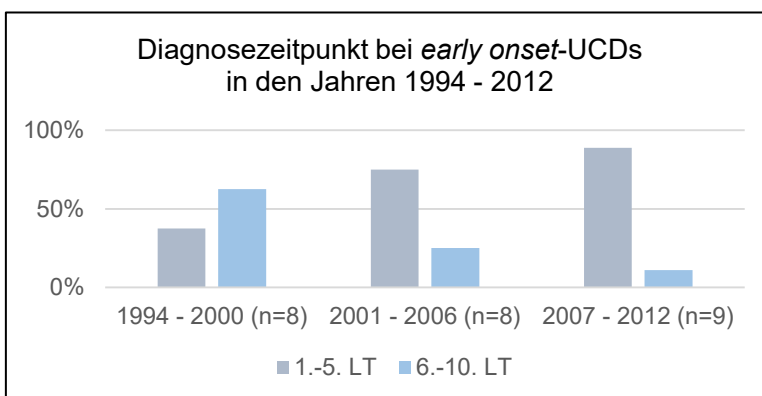


Abb. 2: **Diagnosezeitpunkt bei *early onset*-UCDs in den Jahren 1994 – 2012** (ohne asymptomatische Screeningpatienten, betroffene Geschwisterkinder, sowie Patienten mit Diagnose nach dem 28. Lebenstag (LT))

3.3 Laborchemische Diagnostik: Hyperammonämie

3.3.1 Neonatale Stoffwechsellentgleisung (bei *early onset*-UCD)

Die folgenden Auswertungen bezüglich der hyperammonämischen Stoffwechsellentgleisungen beziehen sich auf alle neonatal diagnostizierten, klinisch symptomatischen Patienten (n=28). Mit einbezogen wird außerdem ein Patient mit Diagnosestellung am 36. Lebenstag, der im weiteren Follow-up eine ausgeprägte klinische Symptomatik und Entwicklungsretardierung ähnlich dem Verlauf eines Neonaten mit schwerer Stoffwechsellentgleisung zeigte. Nicht berücksichtigt werden hier zwei Patienten, bei denen die neonatale Diagnosestellung prädiktiv bei betroffenen Geschwisterkindern erfolgte, sowie 6 Patienten, bei denen die Diagnose bei fehlender klinischer Symptomatik aufgrund eines auffälligen Neugeborenen Screenings gelang.

Tabelle 3 zeigt die im Rahmen der initialen Stoffwechsellentgleisung gemessenen Ammoniakwerte bei allen UCD-Patienten und unterteilt nach UCD Typ, sowie die Dauer bis zur Normalisierung der Werte. Mit im Durchschnitt 2850 µg/dl wurden die höchsten initialen NH₃-Werte bei männlichen Patienten mit OTCD festgestellt, bei diesen Patienten lagen die Werte zwischen 2449 und 3103 µg/dl. Bei Patienten mit ASSD lagen die initial gemessenen NH₃-Werte zwischen 490 und 3240 µg/dl mit einem Mittelwert von 1359,6 µg/dl, beim CPSD zwischen 532 und 3608 µg/dl mit einem Mittelwert von 1824,3 µg/dl und beim ASLD zwischen 1000 und 2612 µg/dl mit einem Mittelwert von 1588,3 µg/dl.

	ASSD	OTCDm	CPSD	ASLD	Alle UCD
Patientenzahl (neonatale Entgleisung)	15	3	4	4	26
NH ₃ min (µg/dl)	490	2449	532	1000	490
NH ₃ max (µg/dl)	3240	3103	3608	2612	3608
NH ₃ mean (µg/dl)	1359,6	2850,7	1824,3	1588,3	1638,3
NH ₃ median (µg/dl)	1090	3000	1578,5	1370,5	1313,5
Dauer der Krise in Tagen, mean (Range)	8 (3-22)*	12,3 (7-22)	10,8 (5-21)	6,3 (2-15)	8,7 (3-22)

Tabelle 3: **Minimale und maximale NH₃-Werte bei initialer Entgleisung, Mittelwert und Median sowie Dauer bis zur Normalisierung, eingeteilt nach UCD-Typ**

OTCDm: männliche OTCD-Patienten, *hier n=13

Abb. 3 veranschaulicht die Range der initialen NH₃-Werte anhand des Medians und der entsprechenden Quartile. Hier fällt insbesondere die geringe Range der insgesamt sehr hohen initialen NH₃-Werte bei männlichen OTCD-Patienten auf, während die Range bei ASSD- und CPSD-Patienten sehr groß ist. Insbesondere bei den ASSD-Patienten liegt der Median mit 1090 µg/dl im deutlich unteren Teil des gesamten Boxplots, somit liegen bei 50% dieser Patienten bereits deutlich niedrigere NH₃-Werte vor als bei allen anderen Enzymdefekten.

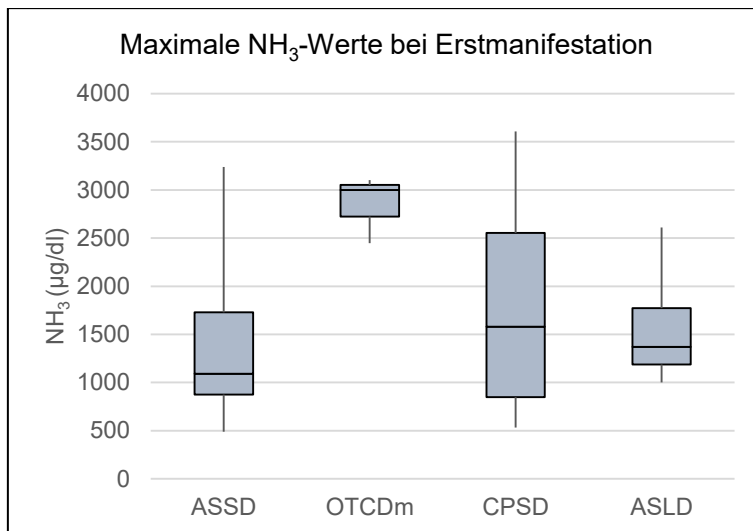


Abb. 3: **Maximale NH₃-Werte bei neonataler Erstmanifestation**

Darstellung der Range der maximal gemessenen initialen NH₃-Werte anhand von Boxplots für die einzelnen Enzymdefekte. Unterer und oberer Whisker: erstes bzw. viertes Quartil, untere und obere Box: zweites und drittes Quartil, getrennt durch den Median.

Betrachtet man bei den einzelnen UCDs die Dauer bis zur Normalisierung der NH₃-Werte (definiert als Abfall auf <100 µg/dl), so zeigt sich eine nicht unerhebliche Verteilungsbreite in der Anzahl der Tage. Bei OTCDm- und CPSD-Patienten lagen mit 7-22 (Mittelwert: 12,3, Median: 8) bzw. 5-21 (Mittelwert: 10,8, Median: 8,5) Tagen länger erhöhte NH₃-Werte vor als bei ASSD- und ASLD-Patienten mit 2-22 (Mittelwert: 8, Median: 5) bzw. 2-15 (Mittelwert: 6,3, Median: 4) Tagen (vgl. Abb. 4).

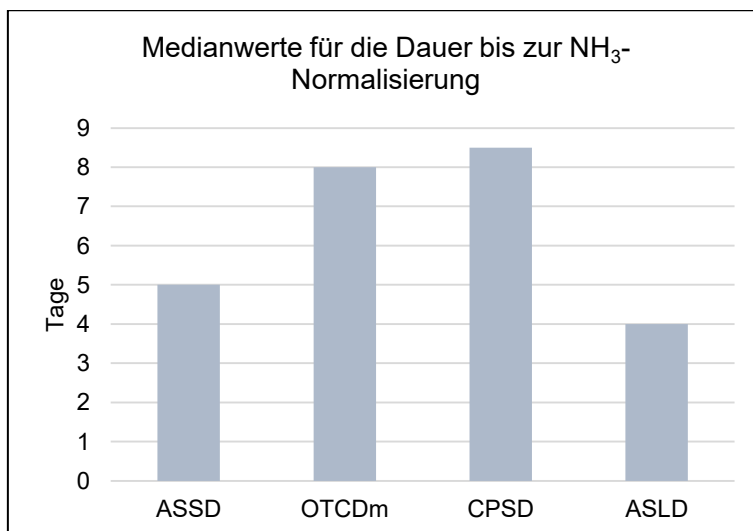


Abb. 4: **Medianwerte für die Dauer (in Tagen) bis zur Normalisierung der initialen NH₃-Werte für die einzelnen Enzymdefekte bei neonatalen UCDs** (Normalisierung: NH₃ <100 µg/dl)

Zum Vergleich der Ammoniakwerte bei Erstmanifestation im Verlauf des Beobachtungszeitraumes wurde erneut eine Betrachtung in den drei Zeitintervallen vorgenommen. Die initialen Ammoniakwerte aller UCDs lagen bei den 2001 – 2006 geborenen Patienten mit im Mittel 1140,2 µg/dl im Vergleich zu den 1994 – 2000 geborenen Patienten mit

im Mittel 1838,6 µg/dl um etwa 700 µg/dl niedriger. In den Jahren 2007 – 2012 lag der Mittelwert aller initial gemessener NH₃-Werte mit 1958,3 µg/dl wieder etwas höher. Tabelle 4 zeigt die initialen NH₃-Werte für die einzelnen Enzymdefekte in den jeweiligen Zeitabschnitten. Dieses Ergebnis ist massgeblich dadurch beeinflusst, dass im Zeitraum von 2001 – 2006 keine Patienten mit OTCDm diagnostiziert wurden. Insgesamt scheint die Höhe der Ammoniakwerte im Verlauf der Jahre bei allen Krankheiten bei der Erstdiagnose niedriger zu sein. Dieses kann durch die frühere Diagnose begründet sein. Der ASSD stellt hier eine Ausnahme dar.

Abb. 5 veranschaulicht die beschriebene Entwicklung.

	1994 – 2000	2001 – 2006	2007 – 2012
ASS mean (Range)	881,6 (490-1662)	1157,8 (608-1814)	2121,8 (866-3240)
OTCDm mean (Range)	3103	-	2724,5 (2449-3000)
CPSD mean (Range)	3608	-	1229,7 (532-2203)
ASLD mean (Range)	1784,3 (1248-2612)	1000	-
alle UCD mean (Range)	1838,6 (490-3608)	1140,2 (608-1814)	1958,3 (532-3240)

Tabelle 4: **Initialer NH₃ im zeitlichen Verlauf von 1994 – 2012**

Initial gemessene NH₃-Mittelwerte und entsprechende Range bei neonatalen, symptomatischen UCDs während unterschiedlicher Abschnitte des Beobachtungszeitraums. Ist keine Range eingetragen, betrug für diesen Enzymdefekt n=1. Aufgrund der niedrigen Patientengesamtzahl (n=26) kam es in den Jahren 2001 – 2006 zu keiner Neudiagnose eines OTCDm oder CPSD und in den Jahren 2007 – 2012 zu keiner Neudiagnose eines ASLD.

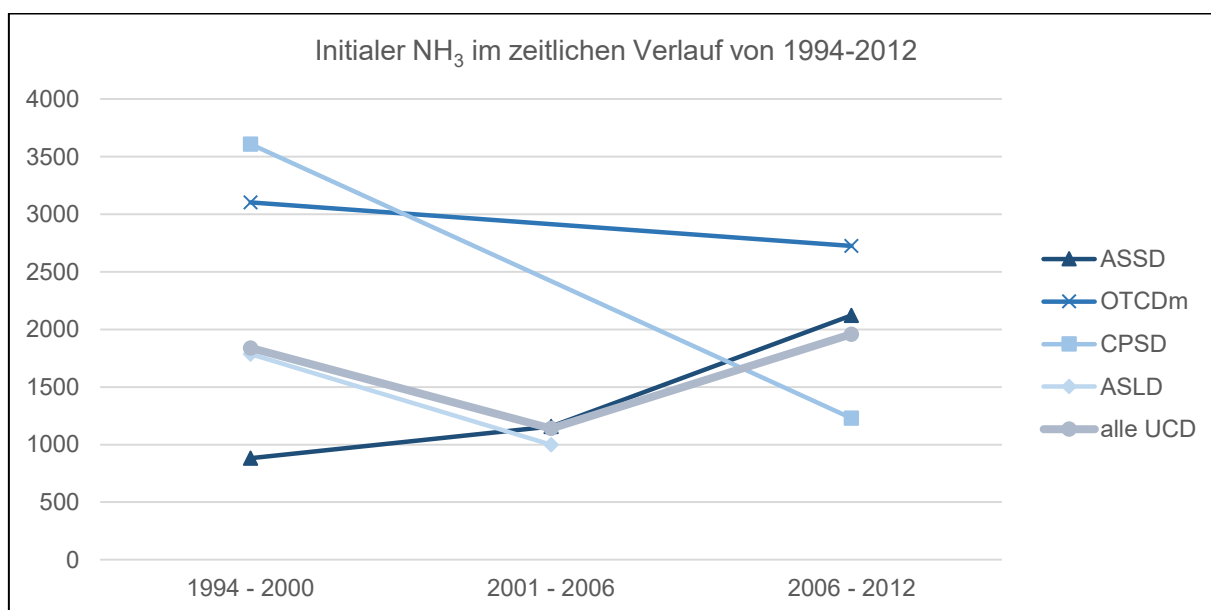


Abb. 5: **Initialer NH₃ im zeitlichen Verlauf von 1994-2012**

Eingezeichnet sind die initial gemessenen NH₃-Werte bei Diagnosestellung eines der jeweiligen Enzymdefekte bzw. aller UCDs während verschiedener Zeitabschnitte im Beobachtungszeitraum.

3.3.2 Hyperammonämie Krisen im Verlauf

Zur Beurteilung der Stoffwechselentgleisungen im Verlauf des follow-up-Zeitraums wurden hier nur die Patienten miteinander verglichen, bei denen vollständige Datensätze aus dem gesamten Zeitraum von 5 Jahren nach neonataler Diagnosestellung vorlagen (n=14). Alle Patienten, bei denen die Daten nicht ausreichten, weil das Follow-up zum Zeitpunkt der Datenerhebung weniger als 5 Jahre betrug, die verstorben sind oder lebertransplantiert wurden, wurden aus dieser Analyse ausgenommen.

Der Vergleich der initialen NH₃-Konzentration mit der Anzahl weiterer Entgleisungen ist in Tabelle 5 dargestellt. Ein Zusammenhang zwischen schwerer neonataler Hyperammonämie und häufigen Entgleisungen im Verlauf zeigte sich nicht.

Initialer NH₃ [µg/dl]	NH₃ >100 µg/dl [Anzahl Episoden/5 Jahre]	NH₃ >250 µg/dl [Anzahl Episoden/5 Jahre]	UCD-Typ
866	30	20	ASSD
1814	45	13	ASSD
881	32	13	ASSD
532	27	14	CPSD
884	1	0	ASSD
608	24	17	ASSD
1197	34	15	ASSD
1001	14	2	ASLD
1662	13	6	ASSD
2612	20	10	ASLD
1493	20	3	ASLD
3103	13	4	OTCDm
1248	12	4	ASLD
173*	29	16	ASSD

Tabelle 5: Häufigkeit der Episoden erhöhter NH₃-Werte/hyperammonämischer Entgleisungen während des fünfjährigen Follow-ups im Vergleich zum initialen NH₃-Wert und UCD Typ

*Prädiktive Diagnose bei bereits erkranktem Geschwisterkind

Tabelle 6 zeigt die Anzahl der Episoden erhöhter Ammoniakwerte (hier definiert als >100 µg/dl) innerhalb des vollständigen follow up-Zeitraumes von fünf Jahren als Mittelwert für die einzelnen Enzymdefekte sowie für alle UCDs. Weiterhin ist die Anzahl der Episoden im ersten Lebensjahr aufgelistet, sowie der Anteil dieser Episoden an der Gesamtanzahl. Nach der initialen hyperammonämischen Stoffwechselentgleisung kam es während des Follow-ups bei allen UCD-Patienten im Durchschnitt zu 22,4 Episoden mit Nachweis erhöhter Ammoniakwerte, davon etwa 20% im ersten Lebensjahr. Insbesondere innerhalb der Gruppe der ASSD-Patienten unterschied sich die Anzahl der Episoden interindividuell deutlich (Range 1-45). Bei

Patienten mit ASLD kam es mit einer Frequenz von nur 6% zu auffällig wenigen erhöhten Werten im ersten Lebensjahr. Da in dieser Auswertung alle Patienten, bei denen das Follow-up unvollständig war oder aufgrund einer Lebertransplantation frühzeitig abgebrochen wurde, ausgenommen sind, ist nur jeweils ein OTCDm- und ein CPSD-Patient repräsentiert. Bei diesen traten jeweils 54% (OTCD) bzw. 26% (CPSD) der Episoden im ersten Lebensjahr auf.

	Episoden erhöhter NH ₃ -Werte >100 µg/dl während des gesamten follow up (5 Jahre), Mittelwert	Episoden erhöhter NH ₃ -Werte >100 µg/dl im ersten Lebensjahr, Mittelwert	1.LJ/Ges.
ASSD (n=8)	26 (range 1 – 45)	5,5 (range 0 – 9)	0,21
OTCDm (n=1)	13	7	0,54
CPSD (n=1)	27	7	0,26
ASLD (n=4)	16,5 (range 12 – 20)	1 (range 0 – 2)	0,06
Alle UCD (n=14)	22,43	4,43	0,20

Tabelle 6: **Anzahl von Episoden erhöhter NH₃-Werte >100 µg/dl in den ersten fünf Jahren nach Diagnosestellung sowie im ersten Lebensjahr (LJ) und Verhältnis der Episoden im ersten Lebensjahr zum gesamten Zeitraum für die einzelnen Enzymdefekte und alle UCDs**

Bei n>1 wurde der Mittelwert bestimmt und die Range angegeben.

In Abbildung 6 ist die Anzahl der Episoden erhöhter NH₃-Werte graphisch für den Verlauf über die 5 Jahre nach Diagnosestellung aufgetragen. Während des Follow-ups nimmt die Anzahl der Episoden erhöhter NH₃-Werte bei ASSD- und ASLD-Patienten im zweiten Lebensjahr zunächst zu, fällt im weiteren Verlauf bei den meisten Patienten bis ins vierte Lebensjahr ab und stagniert bis zum fünften Lebensjahr. Bei einzelnen Patienten (CPSD, ASLD) wurden im dritten Lebensjahr noch häufiger als im zweiten Lebensjahr erhöhte NH₃-Werte gemessen.

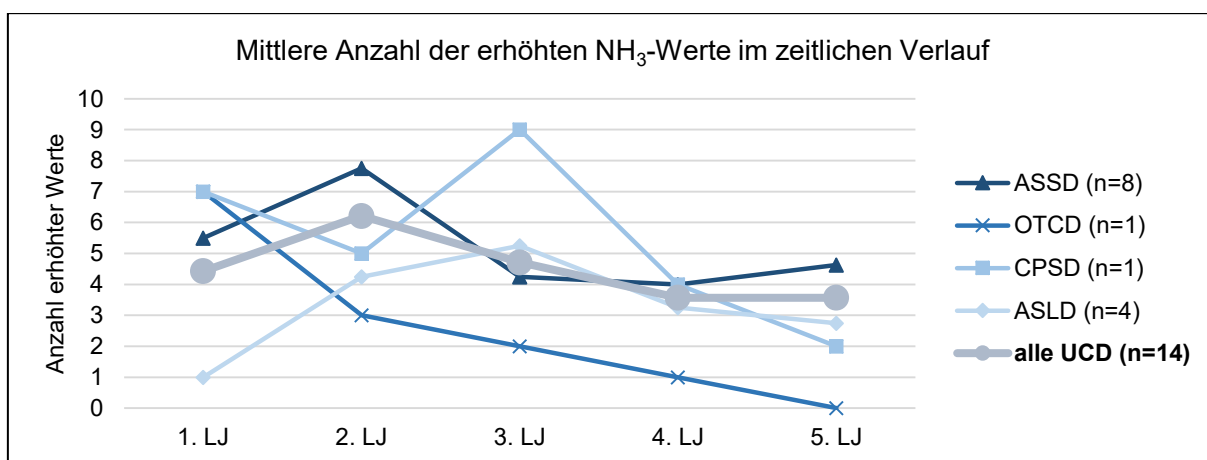


Abb. 6: **Mittlere Anzahl der Episoden erhöhter NH₃-Werte (>100 µg/dl) im ersten bis fünften Lebensjahr (LJ) für die einzelnen Enzymdefekte und alle UCDs**

Stoffwechsellentgleisungen (definiert als Hyperammonämie mit NH₃ >250 µg/dl) traten insgesamt seltener auf. Analog zu Tabelle 6 sind in Tabelle 7 die Anzahl der Entgleisungen

sowie das Verhältnis zwischen dem ersten Lebensjahr und dem gesamten Zeitraum von fünf Jahren nach Diagnosestellung aufgeführt. Bei ASSD-Patienten kam es im Mittel zu 12,5 Entgleisungen während des gesamten follow-ups, 82% der Fälle traten erst nach dem ersten Geburtstag auf. Bei ASLD-Patienten kam es im Schnitt zu weniger Entgleisungen (4,75 in 5 Jahren), davon nur 5% im ersten Lebensjahr. Bei dem einen eingeschlossenen OTCDm-Patienten trat die Hälfte der Entgleisungen (2 von 4) im ersten Lebensjahr auf, und bei dem CPSD-Patienten wurden insgesamt 14 Entgleisungen dokumentiert, davon 5 (36%) im ersten Lebensjahr.

	Entgleisungen (NH ₃ >250 µg/dl) während des gesamten follow up (5 Jahre), Mittelwert	Entgleisungen (NH ₃ >250 µg/dl) im ersten Lebensjahr, Mittelwert	1.LJ/Ges.
ASSD (n=8)	12,5 (range 0 – 20)	2,25 (range 0 – 5)	0,18
OTCD (n=1)	4	2	0,50
CPSD (n=1)	14	5	0,36
ASLD (n=4)	4,75 (range 2 – 10)	0,25 (range 0 – 1)	0,05
Alle UCD (n=14)	9,79	1,86	0,19

Tabelle 7: Anzahl von Stoffwechselentgleisungen in den ersten fünf Jahren nach Diagnosestellung sowie im ersten Lebensjahr (LJ) und Verhältnis der Entgleisungen im ersten Lebensjahr zum gesamten Zeitraum für die einzelnen Enzymdefekte und alle UCDs

Bei n>1 wurde der Mittelwert bestimmt und die Range angegeben.

Auch bei der Anzahl der „Entgleisungen“ (NH₃ >250 µg/dl) zeigt sich ein ähnlicher Langzeitverlauf wie bei den „Episoden erhöhter Werte“ (NH₃ >100 µg/dl). Die Häufigkeit der Entgleisungen nimmt vom ersten zum zweiten Lebensjahr zu, ist anschließend rückläufig und stagniert etwa ab einem Alter von 4 Jahren (vgl. Abb. 7). Auch hier gibt es deutliche Schwankungen zwischen den einzelnen Enzymdefekten bzw. interindividuell bei dem kleinen Patientenkollektiv.

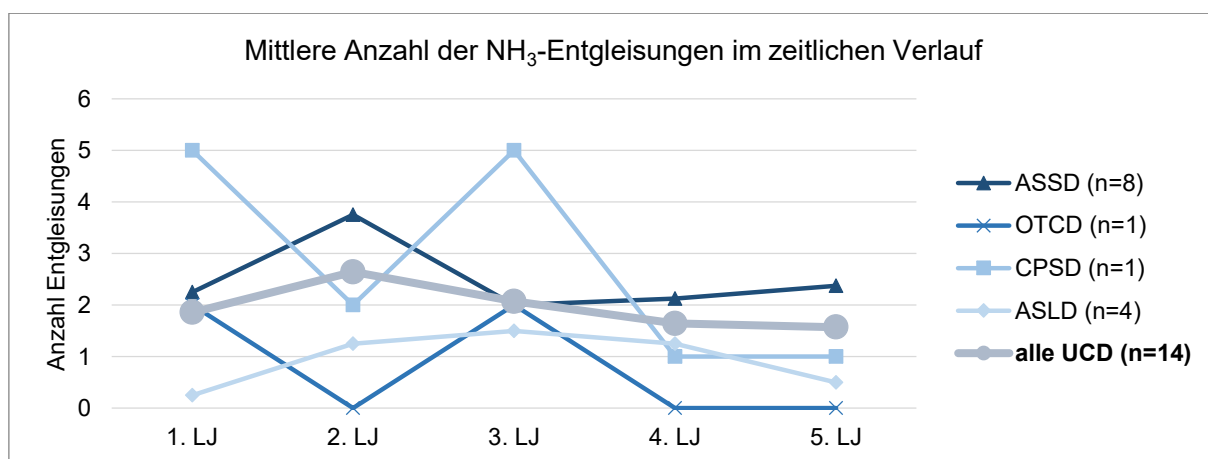


Abb. 7: Mittlere Anzahl der Entgleisungen (NH₃ >250 µg/dl) im ersten bis fünften Lebensjahr (LJ) für die einzelnen Enzymdefekte und alle UCDs

Die NH_3 -Spitzenwerte bei allen Patienten mit neonatal diagnostizierten UCDs, gemessen während des gesamten Follow-ups betragen im Mittel 580 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Abb. 8a zeigt die durchschnittlichen Spitzenwerte für die einzelnen Enzymdefekte, welche sich nicht wesentlich voneinander unterscheiden. Im Durchschnitt am niedrigsten waren die Ammoniakspiegel der CPSD-Patienten mit 500 $\mu\text{g}/\text{dl}$, am höchsten die der ASLD-Patienten mit 646,5 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Abb. 8b zeigt die Verteilung bzw. Streuung der einzelnen Werte in den Subkategorien, wobei die Box die mittleren 50% der Daten enthält (zweites und drittes Quartil), in diese eingezeichnet ist der Median. Die außerhalb der Box liegenden Whisker stellen die Daten des ersten bzw. vierten Quartils dar, also die untersten bzw. obersten 25% der Daten. Es zeigt sich insbesondere bei den ASSD- und CPSD-Patienten eine breite Streuung der NH_3 -Spitzenwerte mit einer Range von 122 – 1000 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (ASSD, Median 659 $\mu\text{g}/\text{dl}$) bzw. einer Range von 172 – 984 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (CPSD, Median 422,5 $\mu\text{g}/\text{dl}$). OTCD- und ASLD-Patienten weisen eine geringere Streuung auf, mit insgesamt höheren Spitzenwerten beim ASLD (Range 455 – 957 $\mu\text{g}/\text{dl}$, Median 587 $\mu\text{g}/\text{dl}$ vs. Range 423 – 723 $\mu\text{g}/\text{dl}$, Median 601 $\mu\text{g}/\text{dl}$ beim OTCD).

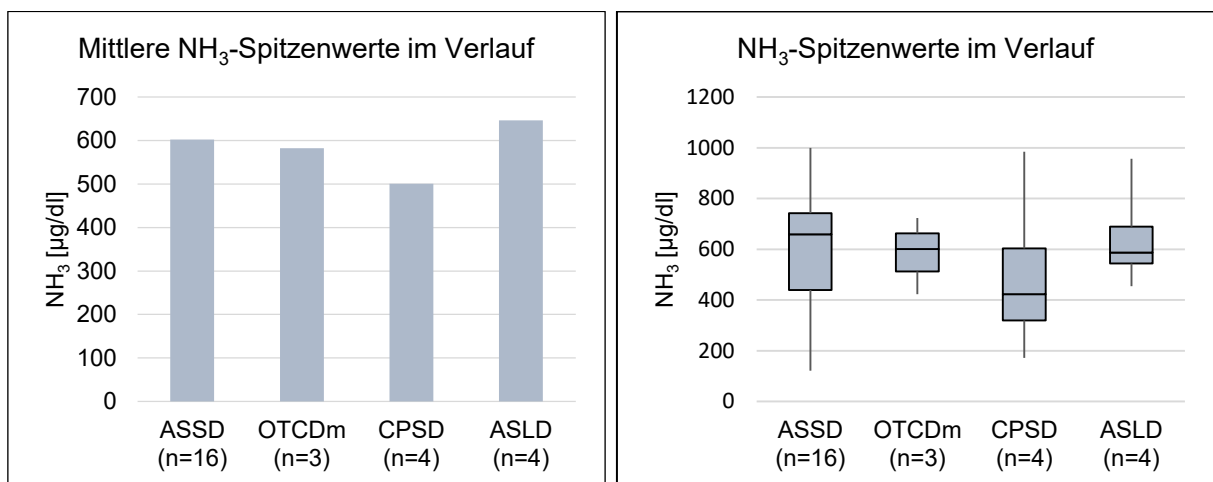


Abb. 8: **Mittlere NH_3 -Spitzenwerte (a) und Verteilung der einzelnen Werte (b) im Verlauf nach Diagnosestellung**

Abb. 8a zeigt die Mittelwerte aller NH_3 -Spitzenwerte, die bei Patienten der einzelnen Enzymdefekte im Verlauf nach Diagnosestellung gemessen wurden. Abb. 8b zeigt anhand des Boxplot-Diagramms die Verteilung der einzelnen Werte (unterer und oberer Whisker: 1. und 4. Quartil, untere und obere Box: 2. und 3. Quartil, getrennt durch den Median).

Betrachtet man die im Verlauf nach der initialen Entgleisung gemessenen NH_3 -Spitzenwerte der einzelnen UCD-Typen im Zeitraum von 1994 – 2012 (vgl. Tab. 8), so zeigen sich zwischen den einzelnen Subtypen und zeitlichen Abschnitten teils deutliche Schwankungen, a.e. bedingt durch die sehr kleine Patientenzahl. Werden hier jedoch alle UCDs zusammengefasst, wie in Abb. 9 auch graphisch dargestellt, ergeben sich keine wesentlichen Unterschiede in der Höhe der Spitzenwerte im Verlauf des 18-jährigen Beobachtungszeitraumes. Im Schnitt liegen die maximal gemessenen Werte stets zwischen 548,5 und 635 $\mu\text{g}/\text{dl}$.

	1994 – 2000	2001 – 2006	2007 – 2012
ASSD (n=16)	331,7	639,4	704,8
OTCD (n=3)	423	-	662
CPSD (n=4)	984	-	339
ASLD (n=4)	662	600	-
Alle UCD	548,5	635	586

Tabelle 8: Im gesamten follow up-Zeitraum (max. 5 Jahre nach Diagnosestellung) gemessene NH₃-Spitzenwerte [µg/dl], verglichen nach UCD-Subtyp im zeitlichen Verlauf des Studienzeitraumes

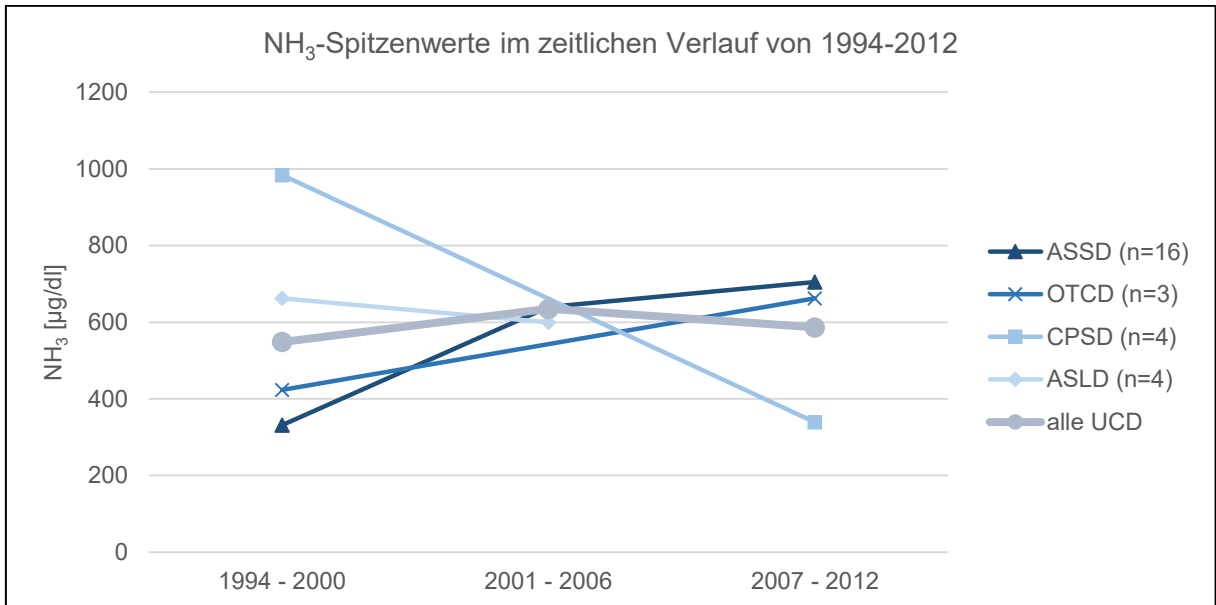


Abb. 9: Im gesamten follow up-Zeitraum (max. 5 Jahre nach Diagnosestellung) gemessene NH₃-Spitzenwerte für die einzelnen UCD-Subtypen im zeitlichen Verlauf des Studienzeitraumes

3.3.3 Diagnostik und Verlauf bei *late onset*-UCDs und Patienten ohne neonatale Stoffwechselentgleisung

In der Studienpopulation sind lediglich drei Patienten mit *late onset*-UCD enthalten. Diese sind in Tabelle 9 aufgeführt. Es handelt sich um zwei weibliche OTCD-Patientinnen und eine ASSD-Patientin. Die Diagnosestellung erfolgte am 58. Lebensstag (ASSD) bei klinischer Manifestation eines Coma hepaticum, mit 6 Monaten (OTCDw) bei Erbrechen und Trinkunlust und im Alter von 6;6 Jahren (OTCDw) mit Erbrechen und Bewusstseinstörung.

UCD-Typ	Alter bei Erstdiagnose	Initialer NH ₃ [µg/dl]	Dauer bis Normalisierung [Tage]
OTCDw	6;6 Jahre	578	9
OTCDw	6 Monate	798	7
ASSD	58. Lebensstag	493	19

Tabelle 9: Übersicht der Patienten mit *late onset*-UCD mit Alter bei Erstdiagnose, NH₃-Spiegel und Dauer bis zur Normalisierung zum Zeitpunkt der initialen Manifestation

Bei einem weiteren Patienten erfolgte die Diagnosestellung definitionsgemäß ebenfalls jenseits des Neugeborenenalters (ASSD, 36. Lebensjahr), dieser Patient wurde jedoch aufgrund der dem typischen neonatalen Verlauf sehr ähnlichen Symptomatik in der Auswertung dieser Arbeit der Gruppe der neonatalen Entgleisungen zugeteilt.

Weiterhin erfolgte bei 7 Patienten die Diagnose eines ASSD mittels des Neugeborenenstoffwechselscreenings (Citrullin erhöht), ohne dass diese Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung klinische Auffälligkeiten boten.

Bei zwei Patienten wurde die Diagnose eines ASSD mittels prädiagnostischer Diagnostik (in einem Fall bereits pränatal, im anderen Fall durch engmaschige postpartale NH_3 -Kontrollen) aufgrund eines erkrankten Geschwisterkindes gestellt.

Bei den Patienten mit *late onset*-UCD lagen bei Diagnosestellung erhöhte Ammoniakwerte vor (vgl. Tabelle 9). Bei der ASSD-Patientin mit Diagnose am 58. Lebensjahr betrug der NH_3 -Wert 493 $\mu\text{g}/\text{dl}$, bei den beiden OTCDw-Patientinnen waren die initialen NH_3 -Werte ebenfalls deutlich erhöht mit 798 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (Diagnose mit 6 Monaten) und 578 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (Diagnose mit 6;6 Jahren). Bis zur Normalisierung der Werte dauerte es 19 (ASSD) bzw. 7 und 9 (OTCDw) Tage.

Bei den klinisch unauffälligen Patienten mit auffälligem Neugeborenen Screening lagen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bei fünf Patienten nur leicht erhöhte NH_3 -Werte zwischen 120 und 237 $\mu\text{g}/\text{dl}$ vor, bei zwei Patienten fehlen die Angabe der initialen Ammoniakspiegel.

Bei den zwei Patienten, die aufgrund ihrer erkrankten Geschwisterkinder bereits vor Entwicklung einer neonatalen Entgleisung identifiziert werden konnten, erfolgte unmittelbar am ersten Lebensjahr eine NH_3 -Bestimmung, die Werte im altersentsprechenden Normbereich ergab (157 bzw. 173 $\mu\text{g}/\text{dl}$, altersentsprechende Referenzbereiche vgl. Anhang, Tabelle 17).

Die drei *late onset*-Patientinnen zeigten einen unterschiedlichen Verlauf nach Diagnosestellung, welcher in Tabelle 10 zur Übersicht dargestellt ist. Bei der ASSD-Patientin mit initialem Coma hepaticum traten im Verlauf des fünfjährigen Follow-ups lediglich zu drei Zeitpunkten erhöhte NH_3 -Werte $>100 \mu\text{g}/\text{dl}$ auf (maximal 117 $\mu\text{g}/\text{dl}$), zu schweren Entgleisungen kam es nicht. Die OTCD-Patientin mit Diagnosestellung im Alter von 6;6 Jahren bot im Follow-up über nahezu 5 Jahre insgesamt 11 Episoden mit erhöhten NH_3 -Werten, davon zwei Episoden mit Werten $>250 \mu\text{g}/\text{dl}$ (maximal 310 $\mu\text{g}/\text{dl}$). Zu der zweiten OTCD-Patientin (Diagnosestellung mit 6 Monaten) liegen lediglich Daten aus einem Follow-up-Zeitraum über knapp 2 Jahre vor, in welchem es jedoch bereits zu 25 Episoden mit erhöhten NH_3 -Werten $>100 \mu\text{g}/\text{dl}$, davon 18 Episoden mit Entgleisungen $>250 \mu\text{g}/\text{dl}$, kam (NH_3 maximal 907 $\mu\text{g}/\text{dl}$).

UCD-Typ	NH ₃ > 100 µg/dl [Anzahl Episoden]	NH ₃ > 250 µg/dl [Anzahl Episoden]	Maximaler NH ₃ [µg/dl]
OTCDw	11	2	310
OTCDw	25	18	907
ASSD	3	0	117

Tabelle 10: Häufigkeit von Episoden erhöhter NH₃-Werte bzw. Stoffwechsellentgleisungen mit maximalem NH₃-Spiegel nach Diagnosestellung bei Patienten mit *late onset*-UCD

Der klinische Verlauf bei allen neonatal unauffälligen, im Neugeborenenenscreening diagnostizierten Patienten mit ASSD ist als milde zu beschreiben. Bei zwei Patienten traten im weiteren Follow-up nie wieder erhöhte NH₃-Werte auf, bei den fünf anderen Patienten lagen maximal gemessene NH₃-Werte zwischen 106 und 214 µg/dl während insgesamt 1-4 Episoden vor.

Die beiden ASSD-Patienten, bei denen die Diagnose aufgrund eines betroffenen Geschwisterkindes präsymptomatisch gestellt wurde, entwickelten beide einen klinisch schweren Verlauf. Ein Patient bot in den ersten fünf Monaten nach Diagnosestellung 8 Episoden erhöhter NH₃-Werte, davon zwei >250 µg/dl (maximal 732 µg/dl), bis er eine Lebertransplantation erhielt. Bei der anderen Patientin kam es während des fünfjährigen Follow-ups zu insgesamt 29 Episoden erhöhter NH₃-Werte, davon 16 Entgleisungen >250 µg/dl (maximal 772 µg/dl).

3.4 Untersuchungsbefunde und Outcome

3.4.1 Neugeborenenenscreening

Bei 12 Patienten fand sich ein erhöhter Citrullinwert im Neugeborenenenscreening. Von diesen zeigten 7 einen klinisch milden Verlauf eines ASSD ohne initiale Entgleisungssymptomatik. 4 wiesen einen klinisch schweren Verlauf eines ASSD auf sowie 1 Patient einen klinisch schweren Verlauf eines ASLD. Bei diesen 5 Patienten zeigten sich zwischen dem 2. und 9. Lebensjahr klinische Symptome, also bei einem Teil der Patienten vor Vorliegen des Screeningbefundes.

3.4.2 MRT

Insgesamt liegen bei 23 von 38 Patienten MRT-Befunde vor. Diese wurden bei einigen wenigen Patienten bereits im Neugeborenenalter erhoben, überwiegend jedoch erst im späteren Verlauf. Von den vorliegenden Befunden sind 19 (83% aller Befunde, 50% aller Patienten) pathologisch, 4 der durchgeführten Untersuchungen waren unauffällig. Bei Betrachtung der einzelnen UCD-Typen fiel insbesondere auf, dass bei allen ASLD-Patienten

(n=4) ein MRT durchgeführt wurde und jedes pathologische Veränderungen aufwies. 40% aller ASSD-Patienten (inkl. asymptomatischer Screeningpatienten) 60% der OTCD-Patienten und 50% der CPSD-Patienten zeigten Auffälligkeiten im MRT.

MR-tomographisch zeigten sich insbesondere Zeichen der Hirnatrophie (37% d. F.), in 22% mit Hydrocephalus e vacuo. Weitere häufige Befunde waren posthämorrhagische Defekte (22%) und Myelinisierungsstörungen (17%). In einem Fall wurden ausgeprägte ödematöse Veränderungen beschrieben, hier ist am ehesten davon auszugehen, dass es sich um die Bildgebung im Rahmen einer akuten (nicht neonatalen) Stoffwechselentgleisung handelte, es liegen jedoch keine laborchemischen Daten zum Zeitpunkt der Untersuchung vor. Die Verlaufskontrolle nach einer Woche zeigte einen deutlichen Rückgang des Hirnödems und eine zunehmende Hirnatrophie.

3.4.3 EEG

Insgesamt wurden bei 22 Patienten EEGs durchgeführt. Auch diese Untersuchungen wurden zu unterschiedlichen Zeitpunkten während des Follow-ups durchgeführt, jedoch häufiger als die Bildgebung mittels MRT bereits auch im Neugeborenenalter im Rahmen der Erstdiagnose. Von den durchgeführten Untersuchungen waren 14 pathologisch (64% aller Befunde, 37% aller Patienten) und 8 unauffällig. Die Verteilung unter den einzelnen UCD-Gruppen ähnelt den MRT-Befunden, bei Patienten mit ASSD lagen jedoch weniger pathologische EEGs (5 von 12 Befunden) als MRTs (10 von 13 Befunden) vor, bei OTCD-Patienten waren alle durchgeführten Untersuchungen (4 EEGs, 3 MRTs) pathologisch. Auch bei allen ASLD-Patienten wurden EEGs durchgeführt, diese zeigten ebenso wie das MRT in allen Fällen einen pathologischen Befund.

3.4.4 Psychomotorische Entwicklung

Es liegen Untersuchungsbefunde in Form psychologischer Gutachten und/oder standardisierter Intelligenztestung von 21 Patienten vor. Die psychologischen Gutachten sind sehr variabel bezüglich Ausführlichkeit, durchgeführtem Test und Zeitpunkt der Untersuchung. Auch die standardisierten Intelligenztests erfolgen zu unterschiedlichen Zeitpunkten. Mehrfach angewandte Verfahren sind der Snijders-Oomen Non-verbale Intelligenztest (SON-R 2 ½ - 7), Kaufman-Assessment-Battery for Children (K-ABC) und die Griffith Entwicklungsskalen (GES), es kommen jedoch auch weitere Testmethoden zur Anwendung.

Es erfolgte ebenso keine standardisierte Erhebung der erreichten Meilensteine der Entwicklung, z.B. mit Hilfe der Denver Scales. Diese Daten wurden aus den im Rahmen der routinemäßigen Verlaufskontrollen unsystematisch dokumentierten anamnestischen oder in der klinischen Untersuchung dokumentierten Befunden erhoben. Zur Beurteilung der

Entwicklung aller Patienten wurde daher zudem auf die klinische Einschätzung der betreuenden Ärzte zurückgegriffen.

Von den in die Studie eingeschlossenen Patienten sind anhand dieser zugrundeliegenden Befunde und Einschätzungen der behandelnden Ärzte bzw. anhand der verfügbaren Daten 5 Patienten als mäßig retardiert zu beurteilen (als Kriterium z.B. Besuch einer Förderschule oder anderer Förderbedarf, Kommunikation jedoch gut möglich), 13 als schwer retardiert (mit ausgeprägter Entwicklungsverzögerung) und 3 als schwerst retardiert (im Sinne einer ausgeprägten Pflegebedürftigkeit) zu beurteilen. In der Regel zeigte sich die überwiegend globale Entwicklungsverzögerung bereits in den ersten Lebensmonaten mit dem Nicht-Erreichen von Entwicklungsmeilensteinen wie Fixieren, Lächeln, Drehen, Armstütz sowie im weiteren Verlauf mit verspätetem freiem Sitzen, Lautieren, sich Hochziehen, freiem Stehen/Laufen sowie dem Sprechen von einzelnen Worten oder Mehrwortsätzen.

14 Kinder sind, soweit beurteilbar, insgesamt unauffällig entwickelt. Hierzu gehören die 7 Patienten, die initial nicht klinisch auffällig wurden, sondern durch das auffällige Neugeborenen-screening identifiziert wurden, eine Patientin mit *late onset*-ASDD, die initial mit Coma hepaticum aufgefallen war und im weiteren Verlauf nur vereinzelt erhöhte Ammoniakwerte zeigte, eine Patientin mit *late onset*-OTCD, die erst im Alter von 6,6 Jahren diagnostiziert wurde, sowie eine Patientin, die aufgrund eines bereits erkrankten Geschwisterkindes prädiktiv diagnostiziert wurde. Das Geschwisterkind war mit einer schweren initialen Entgleisung (NH_3 1197 $\mu\text{g}/\text{dl}$) aufgefallen und beide Kinder boten auch im weiteren Verlauf viele Entgleisungen mit Spitzenwerten von >700 $\mu\text{g}/\text{dl}$. Das ältere Kind zeigte im Kleinkindalter noch eine Entwicklungsverzögerung, konnte diese jedoch im weiteren Verlauf aufholen, das jüngere Kind entwickelte sich allzeit altersentsprechend. Die 3 übrigen Patienten (2 ASD, 1 CPSD), die sich letztlich unauffällig entwickelten, boten jeweils eine mäßige bis schwere neonatale Stoffwechselentgleisung (max. NH_3 954 $\mu\text{g}/\text{dl}$), auch im Verlauf kam es zu unterschiedlich vielen und schweren Entgleisungen (max. NH_3 >1000 $\mu\text{g}/\text{dl}$). Dennoch konnten keine wesentlichen Entwicklungsdefizite festgestellt werden.

Nur bei neun der 38 Patienten (24%) wurde eine standardisierte IQ Testung durchgeführt. Darunter waren 6 ASD-Patienten und jeweils ein OTCD-, CPSD- und ASLD-Patient. Alle Patienten boten einen klinisch klassischen Verlauf mit schwerer initialer Entgleisung und unterschiedlicher Häufigkeit und Schwere weiterer Stoffwechselentgleisungen. Bei 3 Patienten lag der IQ im Normalbereich oberhalb von 85, bei zwei im unterdurchschnittlichen Bereich (IQ 70-84) und bei vier im weit unterdurchschnittlichen Bereich mit Werten zwischen 50 und 55.

8 der 38 Patienten (21%) besuchten einen Regelkindergarten. Dabei handelte es sich hauptsächlich um die Patienten mit mild ausgeprägtem bzw. im Stoffwechselscreening

diagnostiziertem ASSD. 12 Patienten (32%) besuchten einen integrativen Kindergarten. Bei 7 Patienten (18%) ist der Besuch einer Regelschule dokumentiert, bei 8 Patienten (21% der Besuch einer Förderschule. Die Daten waren hier sehr unvollständig.

Bei 22 der 38 Patienten (58%) wurde zu mindestens einem Zeitpunkt im Follow-up eine Physiotherapie durchgeführt. 13 Patienten (34%) wurden logopädisch gefördert und 12 Patienten (32%) nahmen an einer Frühförderung teil. Auch bezüglich der erfolgten Förderung erfolgte keine systematische Dokumentation, was die Datenerhebung beeinträchtigte.

3.4.5 Anthropometrische Daten

Im Folgenden (Tabelle 11-13) sind die zu verschiedenen Zeitpunkten (Geburt, 1 Jahr, 5 Jahre) erhobenen Perzentilen für Gewicht und Länge der Patienten und die aus den einzelnen Daten berechneten BMI-Perzentilen aufgeführt.

	<3.P	3-9.P	10-24.P	25-49.P	50-74.P	75-89.P	90-97.P	>97.P
Geb.	0	4	5	9	11	4	1	2
1 J.	2	1	6	7	7	3	3	3
5 J.	0	1	2	9	5	0	2	0

Tabelle 11: **Gewichtszperzentilen (P) zum Zeitpunkt der Geburt, mit einem Jahr und mit fünf Jahren.** Aufgeführt ist jeweils die Anzahl der Patienten, deren Gewicht zum angegebenen Zeitpunkt dem entsprechenden Perzentilenintervall entspricht.

	<3.P	3-9.P	10-24.P	25-49.P	50-74.P	75-89.P	90-97.P	>97.P
Geb.	0	4	4	11	8	3	2	3
1 J.	2	7	9	6	3	3	2	1
5 J.	4	5	3	4	3	0	0	0

Tabelle 12: **Längenperzentilen (P) zum Zeitpunkt der Geburt, mit einem Jahr und mit fünf Jahren.** Aufgeführt ist jeweils die Anzahl der Patienten, deren Länge zum angegebenen Zeitpunkt dem entsprechenden Perzentilenintervall entspricht.

	<3.P	3-9.P	10-24.P	25-49.P	50-74.P	75-89.P	90-97.P	>97.P
1 J.*	1 (4,4%)	0	3 (13,0%)	4 (17,4%)	7 (30,4%)	4 (17,4%)	0	4 (17,4%)
5 J.*	0	0	0	1 (7,7%)	2 (15,4%)	8 (61,5%)	1 (7,7%)	1 (7,7%)

Tabelle 13: **BMI-Perzentilen (P) im Alter von einem Jahr und fünf Jahren.** Aufgeführt ist jeweils die Anzahl der Patienten, deren BMI zum angegebenen Zeitpunkt dem entsprechenden Perzentilenintervall entspricht. *Da bei einigen Patienten keine Daten bis zum Alter von fünf Jahren vorliegen, unterscheidet sich die Zahl der Patienten zu beiden Zeitpunkten (1 Jahr: n=23, 5 Jahre: n=13). *Late onset-* oder *asymptomatische* Patienten sind hier ausgeschlossen.

Vergleicht man Längenwachstum und Gewichtszunahme der Kinder bzw. die Entwicklung des BMIs zu verschiedenen Zeitpunkten, so zeigt sich im Alter von einem Jahr ein breiter gestreutes Bild. Abbildung 10 veranschaulicht dies graphisch. Während der Großteil der

Kinder einen BMI zwischen der 10. und 90. Perzentile aufweist, gibt es eine Tendenz zur Adipositas (17,4% der Kinder liegen mit dem BMI über der 97. Perzentile). Im Alter von fünf Jahren ist die Verteilung weniger breit, kein Patient liegt mit dem BMI unter der 25. Perzentile. Insgesamt 61,5% der Kinder liegen zwischen der 75. und 90. Perzentile, jedoch nur 7,7% (1 Patient) liegt über der 97. Perzentile.

Eine aussagekräftige Beurteilung der Entwicklung des Kopfumfanges lässt die mangelhafte Dokumentation nach Geburt in diesem Patientenkollektiv nicht mehr zu.

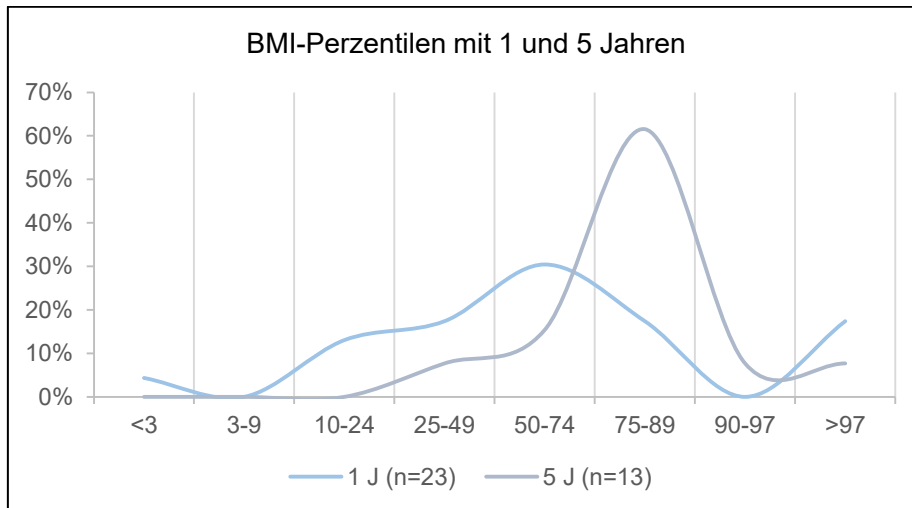


Abb. 10: **Verteilung der BMI-Perzentilen im Alter von einem Jahr (1J) und fünf Jahren (5J).** Aufgeführt ist der Anteil der Patienten in %, der in der jeweiligen Altersklasse den einzelnen Perzentilenintervallen zuzuordnen ist.

3.4.6 Mortalität

Zwei der 38 Patienten verstarben, eines der Kinder bereits am dritten Lebenstag im Rahmen der Erstmanifestation, das andere im Laufe des ersten Lebensjahres nach erfolgter Lebertransplantation. Bei beiden Kindern lag ein ASSD vor. Bei 7 Patienten konnte nicht mehr ermittelt werden, ob sie im Laufe des Follow-ups verstarben (lost to follow up), sie überlebten jedoch die neonatale Stoffwechsellentgleisung.

3.5 Therapie und Diät

3.5.1 Initiale Hämodialyse / extrakorporale Detoxifizierung

Bei über der Hälfte der Patienten mit schwerer neonataler Hyperammonämie wurde zur Therapie der initialen Entgleisung eine Hämodialyse / Hämofiltration durchgeführt. Tabelle 14 gibt eine Übersicht über die Patienten, anteilig für die einzelnen Enzymdefekte, die eine solche Therapie erhielten. Bei einem der 28 Patienten fanden sich keine differenzierten Angaben zur initialen Therapie, ein Patient mit ASSD verstarb vor Durchführung der geplanten Dialyse. Bei

allen (männlichen, neonatal diagnostizierten) OTCD-Patienten erfolgte eine Dialyse im Rahmen der initialen Entgleisung.

	Extrakorporale Detoxifizierung	Keine Dialyse	unbekannt	Gesamt
ASSD	10 (55%)	7	1	18
OTCDm	3 (100%)	0	0	3
CPSD	2 (50%)	2	0	4
ASLD	2 (50%)	2	0	4
Alle UCD	17 (59%)	11	1	29

Tabelle 14: **Anteil der Patienten mit neonataler Entgleisung, der eine extrakorporale Detoxifizierung zur NH₃-Eliminierung benötigte.** Ausgeschlossen sind *late onset*-UCDs bzw. im Screening diagnostizierte, asymptomatische ASSD-Patienten.

Die initialen NH₃-Werte betragen bei den Dialysepatienten im Mittel 1900 µg/dl, bei Patienten ohne Dialyse durchschnittlich 840 µg/dl.

Bei durchgeführter Dialyse dauerte es im Mittel 7,6 Tage, bis die NH₃-Werte sich normalisierten, bei initialer Therapie ohne Dialyse durchschnittlich 8,9 Tage.

3.5.2 Lebertransplantation

Bei 8 von 38 Patienten (21%) wurde eine Lebertransplantation durchgeführt. Die erste Transplantation erfolgte im Jahr 2001, eine weitere im Jahr 2005. Die restlichen sechs Transplantationen erfolgten in den Jahren 2009-2011. Ein Kind wurde im Alter von 5 Monaten transplantiert, 4 Kinder im Alter von 13-15 Monaten, ein Kind im Alter von 19 Monaten und ein Kind im Alter von 29 Monaten. Bei einer Patientin ist der genaue Zeitpunkt der Transplantation nicht dokumentiert, die Patientin ist jedoch im Alter von <1 Jahr verstorben, sodass der Zeitpunkt entsprechend eingegrenzt werden kann.

Bei den transplantierten Patienten handelt es sich um 4 ASSD- sowie jeweils zwei OTCDm- und CPSD-Patienten. Der mittlere initiale NH₃-Wert dieser acht Kinder beträgt 2003 µg/dl (Range 157 – 3608 µg/dl, Median 2203 µg/dl). Eine Ausnahme stellt der Patient dar, der im Alter von bereits 5 Monaten lebertransplantiert wurde. Hier betrug der initial gemessene NH₃-Wert 157 µg/dl nach prädiktiver (Pränatal-)Diagnostik bei betroffenem Geschwisterkind. Bei fünf der acht Patienten liegen MRT-Befunde vor, welche allesamt pathologisch sind. Das Alter zum Zeitpunkt der Transplantation lag zwischen 5 und 29 Monaten, im Schnitt bei 15,6 Monaten (Median: 14 Monate).

3.5.3 Hepatozytentransfusion

Bei einer Patientin wurde eine Hepatozytentransfusion vor Lebertransplantation durchgeführt. Diese Patientin ist im Alter von <1 Jahr verstorben, sodass im Rahmen dieser Arbeit keine weitere Auswertung bezüglich der Hepatozytentherapie gemacht werden kann.

3.5.4 Medikamentöse Therapie

Abb. 11a-d zeigen die gewählten Therapieoptionen zu unterschiedlichen Zeitpunkten bei den unterschiedlichen UCD Typen. Die initiale medikamentöse Therapie bestand in den meisten Fällen aus einer Kombinationstherapie verschiedener Ammoniak-bindender Medikamente, sog. „*ammonia scavenging drugs*“ (ASD), wie Natrium-Phenylbutyrat, Natrium-Phenylacetat oder Natrium-Benzoat. Nur selten wurde eine Monotherapie mit einem dieser Medikamente durchgeführt. Eine Monotherapie mit Na-Benzoat erfolgte lediglich bei einem CPSD- und einem ASLD-Patienten, bei jeweils drei ASSD-Patienten erfolgte eine Na-Phenylbutyrat- bzw. Na-Benzoat-Monotherapie. Bei OTCD-Patienten (EO und LO) wurde stets eine Kombinationstherapie gewählt, bei einem EO-Patienten fehlen Daten zur initialen Therapie. Bei einem Patienten (ASLD) wurde den vorliegenden Daten zufolge bei Diagnosestellung auf eine Therapie mit *ammonia scavenging drugs* vollständig verzichtet, neben einer L-Arginin-Substitutionstherapie wurde in diesem Fall jedoch auch eine Dialyse durchgeführt. Es muss erwogen werden, ob die Therapie mit ASD möglicherweise nicht ausreichend dokumentiert wurde, der Verzicht trotz schweren neonatalen Verlaufs erscheint nicht plausibel.

Nach meist umfangreicher initialer medikamentöser Therapie konnten viele Patienten bei Entlassung in die ambulante Weiterbetreuung nach Diagnosestellung auf eine medikamentöse Monotherapie mit ASD – neben Substitutionstherapie mit L-Arginin – eingestellt werden. Zwei der vier ASLD-Patienten kamen vorübergehend ohne ASD aus, hier wurde jedoch im ersten Lebensjahr die Therapie wieder erweitert.

Der Vergleich zwischen medikamentöser Therapie bei Entlassung und der Therapie ein Jahr nach Diagnosestellung zeigt, dass im Laufe der Zeit wieder mehr Patienten mit einer Kombinationstherapie behandelt wurden.

5 Jahre nach Diagnosestellung zeigte sich ein eher uneinheitliches Bild in der medikamentösen Therapie, hier reichte jedoch bei vielen Patienten die Datenlage bzw. der follow up-Zeitraum nicht mehr aus, um eine genaue Aussage über die durchgeführte Therapie zu treffen.

Zur besseren Vergleichbarkeit enthalten Abb. 11a-d nur die verschiedenen medikamentösen Therapieoptionen bei symptomatischen UCD-Patienten (*early onset* und *late onset*), nicht jedoch die der asymptomatischen, im Neugeborenen screening diagnostizierten Patienten. Keiner dieser Patienten mit mildem ASSD erhielt eine medikamentöse Therapie mit einem ASD. 3 der 7 Patienten erhielten eine Supplementation mit L-Arginin.

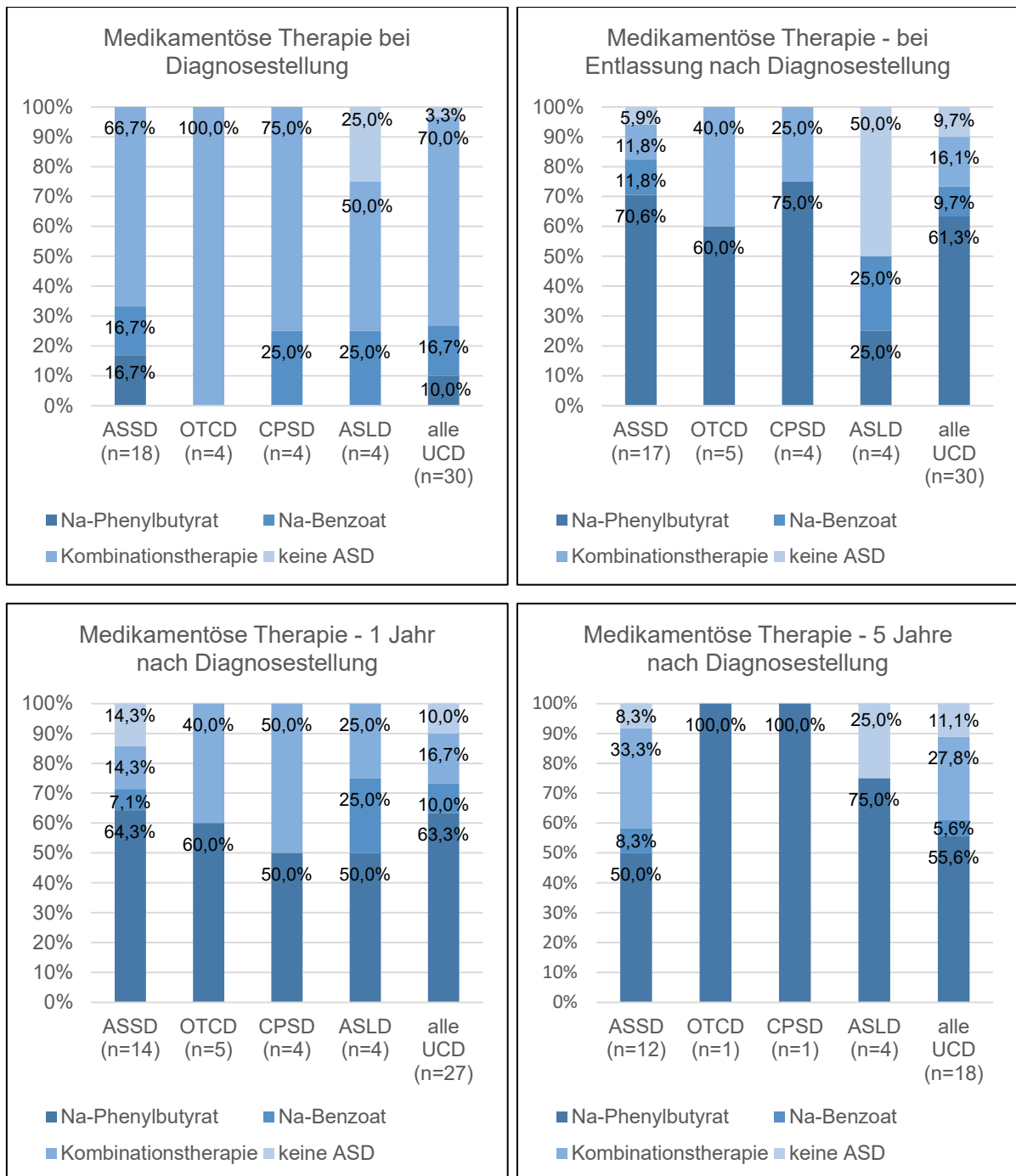


Abb. 11: **Medikamentöse Therapie der symptomatischen UCD-Patienten bei Diagnosestellung (a) sowie zum Zeitpunkt der ersten Entlassung nach Hause (b), 1 Jahr (c) und 5 Jahre (d) nach Diagnosestellung.** Es wird unterschieden zwischen einer Einzeltherapie mit entweder Natriumphenylbutyrat oder Natriumbenzoat, einer Kombinationstherapie aus Na-Phenylbutyrat (oder Na-Phenylacetat) und Na-Benzoat oder dem vollständigen Verzicht auf eine medikamentöse Therapie mit einem *ammonia scavenging drug* (ASD). Die asymptomatischen, im Neugeborenen screening diagnostizierten Patienten sind hier nicht berücksichtigt.

(a): n=30, da bei einem OTCD-Patienten die primäre Therapie aus den vorliegenden Daten nicht mehr rekonstruiert werden konnte

(b): n=30, nachdem ein ASSD-Patient am dritten Lebenstag verstarb

(c): n=27, lost to follow up: 4 Patienten

(d): n=18, lost to follow up: 13 Patienten

3.5.5 Diät

Aufgeteilt nach UCD-Subtypen zeigten sich unterschiedliche Formen der diätetischen Therapie. Abb. 12a/b veranschaulicht, welche Art von Diät zu unterschiedlichen Zeitpunkten bei Patienten der einzelnen Enzymdefekte, inklusive der asymptomatischen, durch das Neugeborenenenscreening identifizierten Kinder, durchgeführt wurde. Zwei Drittel der symptomatischen ASSD-Patienten erhielt bei Beginn der ambulanten Behandlung im Rahmen der Entlassung nach Diagnosestellung eine Kombinationstherapie aus Restriktion der natürlichen Eiweißaufnahme und Supplementierung mit synthetischem Eiweiß. Nur bei wenigen Patienten wurde auf die Gabe von synthetischem Eiweiß verzichtet. Männliche, neonatal diagnostizierte OTCDm-Patienten wurden ebenfalls in Kombination behandelt, während bei den weiblichen, später diagnostizierten Patientinnen initial lediglich eine Restriktion des natürlichen Eiweiß ausreichte, bei einer Patientin wurde jedoch im Laufe des ersten Lebensjahres synthetisches Eiweiß zusätzlich eingeführt. Alle CPSD-Patienten wurden nach Diagnosestellung zunächst ohne Gabe von synthetischem Eiweiß entlassen, bei allen wurde dies jedoch im Laufe des ersten Jahres eingeführt, während bei einem ASLD-Patienten das synthetische Eiweiß im Verlauf reduziert werden konnte. Für den Zeitpunkt 5 Jahre nach Diagnosestellung liegen nicht ausreichend Daten vor, um einen sinnvollen Vergleich zu ziehen, jedoch scheint auch im weiteren Verlauf die Gabe von synthetischem Eiweiß nicht verzichtbar zu sein.

Ein Großteil der im Neugeborenenenscreening diagnostizierten ASSD-Patienten mit mildem klinischem Verlauf benötigte keine diätetische Therapie, nur in Einzelfällen wurde eine Restriktion der Aufnahme von natürlichem Eiweiß eingeführt.

Der sinkende Eiweißbedarf pro Kilogramm Körpergewicht mit steigendem Lebensalter beeinflusst die Eiweißrestriktion und –supplementierung bei UCD-Patienten. Die von der Deutschen Gesellschaft für Ernährung empfohlene Eiweißzufuhr für Säuglinge im Alter von einem Monat beträgt 1,8 g/kg/d, für Kinder im Alter von 1 - <4 Jahren 1,0 g/kg/d und für Kinder im Alter von 4 - <7 Jahren 0,9 g/kg/d (<https://www.dge.de/wissenschaft/referenzwerte/protein>, letzter Zugriff 27.09.2022). Von der WHO wurden altersabhängige Mindestmengen der Eiweißzufuhr definiert (sog. *safe levels of protein intake* [43], vgl. Anhang, Tab. 18). In Tabelle 15 ist die Eiweißzufuhr aller neonatal diagnostizierten Patienten im Vergleich zu der empfohlenen Mindestzufuhr (d.h. den *safe levels*) zu verschiedenen Zeitpunkten dargestellt, sowie jeweils der Anteil von natürlichem und synthetischem Eiweiß. Der Großteil der Patienten erhielt synthetisches Eiweiß, wobei der Anteil zum Zeitpunkt der ersten Entlassung nach initialer Entgleisung und Diagnosestellung (in der Regel im Alter von etwa einem Monat) noch 68% betrug und im Verlauf auf >80% zunahm. Zu allen Zeitpunkten entsprach die gesamte Eiweißzufuhr im Wesentlichen den von der WHO empfohlenen Mindestmengen, bei einigen

Patienten konnte – bei guter Eiweißtoleranz – auch eine etwas höhere Menge verabreicht werden. Zu jedem der drei Zeitpunkte betrug der Anteil des natürlichen Eiweiß an der Gesamtzufuhr im Durchschnitt etwa 80%.

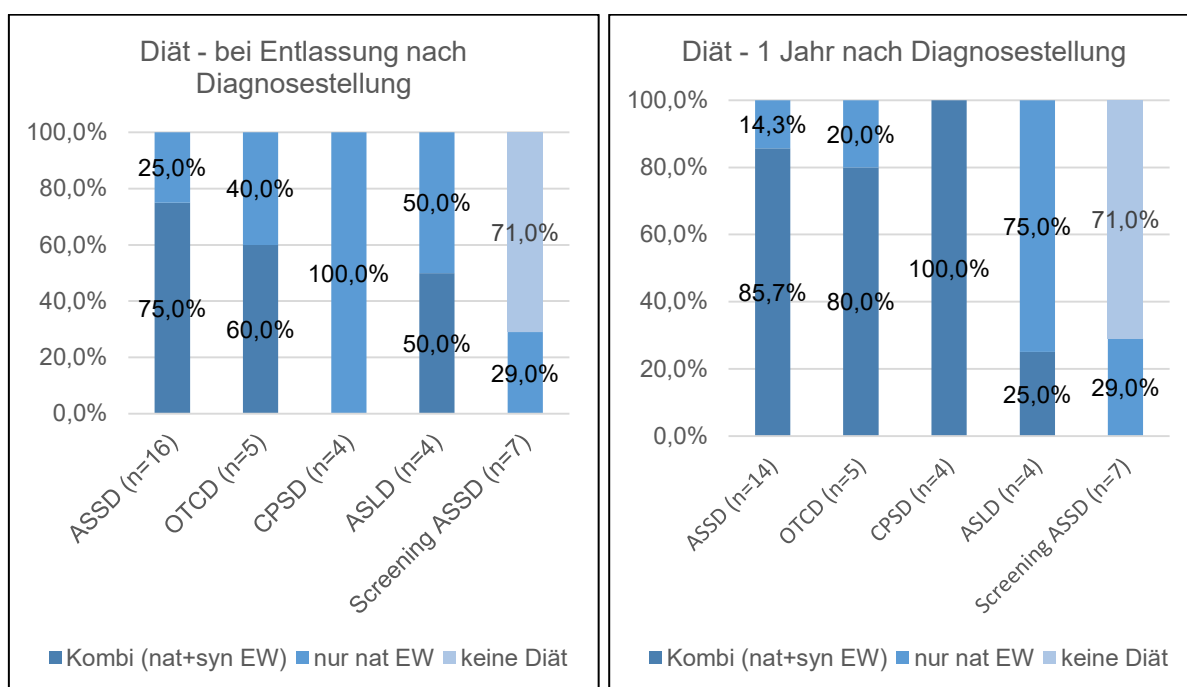


Abb. 12: **Diät der UCD-Patienten bei erster Entlassung nach Hause im Alter von ca. einem Monat (a) und 1 Jahr nach Diagnosestellung (b).** Es wird unterschieden zwischen einer Kombination der Zufuhr von natürlichem und synthetischem Eiweiß, einer ausschließlichen Ernährung mit natürlichem Eiweiß sowie einem vollständigen Verzicht auf eine Eiweißrestriktion. ASD: symptomatische Patienten mit ASD, die neonatal oder später (*early/late onset*) klinisch auffällig wurden. Screening ASD: asymptotische ASD-Patienten, die nur durch ein pathologisches Neugeborenencreening auffielen. (a): n=36, (b): n=34

	1 Monat	1 Jahr	5 Jahre
Empfohlene mind. Tagesdosis [g/kg/d]	1,77	0,92 – 1,31	0,92 – 1,14
Mittlere Eiweißzufuhr gesamt [g/kg/d]	1,66 (1,0 – 2,0)	1,28 (1,0 – 1,5)	1,11 (0,3 – 1,9)
- Natürliches Eiweiß [g/kg/d]	1,39 (0,8 – 1,8) 83,7% d. Tageszufuhr	1,01 (0,4 – 1,5) 78,9% d. Tageszufuhr	0,91 (0,3 – 1,6) 81,9% d. Tageszufuhr
- Synthetisches Eiweiß [g/kg/d]	0,38 (0,2 – 0,6)	0,32 (0,2 – 0,6)	0,30 (0,2 – 0,5)
Anteil d. Patienten mit synthet. Eiweiß	17/25 (68%)	20/24 (83%)	14/17 (82%)

Tabelle 15: **Mittlere Eiweißzufuhr bei Patienten mit neonatal diagnostiziertem UCD und schwerer initialer Entgleisung zu verschiedenen Zeitpunkten (bei Entlassung nach Hause nach neonataler Erstmanifestation im Alter von ca. einem Monat sowie ein Jahr und fünf Jahre nach Erstmanifestation).** Ausgeschlossen sind *late onset*- und asymptotische Patienten sowie ein am dritten Lebenstag verstorbener ASD-Patient.

Tabelle 16 zeigt, wie die eiweißreduzierte Diät der UCD-Patienten im Laufe der Zeit von 1994 – 2012 zum Zeitpunkt der Entlassung nach Hause nach Erstmanifestation zusammengesetzt ist. Während dieses Zeitraums scheint die Kombination aus Restriktion von natürlichem Eiweiß und Supplementierung synthetischen Eiweißes in Form von Aminosäuremischungen an Bedeutung gewonnen zu haben, da ein steigender Anteil der Patienten bei Entlassung nach Diagnosestellung in dieser Form therapiert wurde. In den Jahren 1994 – 2000 wurden weniger als die Hälfte der Patienten mit kombinierter Diät, die übrigen Patienten mit Ernährung mit rein natürlichem Eiweiß nach Hause entlassen. Von 2001 – 2006 betrug der Patientenanteil mit einer kombinierten Gabe von natürlichem und synthetischem Eiweiß 89%, während er in den Jahren 2007 – 2012 bei 60% lag. Zu berücksichtigen ist hier auch die unterschiedliche Zusammensetzung der UCD-Subtypen in den einzelnen Zeitabschnitten, da Patienten mit unterschiedlichen Diagnosen auch mit unterschiedlichen Diätkonzepten behandelt werden.

	1994 – 2000	2001 – 2006	2007 – 2012
Kombination natürliches + synthetisches EW	3 (43%)	8 (89%)	6 (60%)
Nur natürliches EW	4 (57%)	1 (11%)	4 (40%)
Keine Diät	0	0	0

Tabelle 16: Art der diätetischen Therapie zum Zeitpunkt der Entlassung nach Hause nach UCD-Erstmanifestation

N=26 (nicht-neonatale und asymptotische Patienten nicht berücksichtigt, ein Patient ist neonatal verstorben, bei einem Patienten fehlende Daten)

3.6 Reevaluation des Entwicklungsstandes von ASSD-Patienten mit längerer Nachbeobachtung

Da die mit Abstand größte Patientengruppe in dieser Studie die Patienten mit ASSD ausmacht, erfolgte vor Beendigung dieser Arbeit im Februar 2022 eine erneute Evaluation des Entwicklungsstandes der von 1994-2012 betreuten ASSD-Patienten.

Von den 25 ASSD-Patienten ist ein Patient bereits neonatal verstorben, bei 3 Patienten lag die letzte Vorstellung bereits >10 Jahre zurück (lost to follow up).

Die 7 im Neugeborenenenscreening diagnostizierten Patienten entwickelten sich altersentsprechend und besuchten größtenteils Regelschulen, eine Patientin besuchte eine Berufsförderschule. Die Patientin mit *late onset*-ASSD bot ebenfalls eine unauffällige Entwicklung und schloss eine Berufsausbildung ab.

Von den übrigen 13 Patienten, allesamt mit klassischem Verlauf eines *early onset*-ASSD, lag das Spektrum des psychomotorischen Entwicklungsstandes zwischen unauffälliger

Entwicklung mit Besuch einer Regelschule und schwerster Entwicklungsretardierung mit Pflegebedürftigkeit. 3 Patienten entwickelten sich unauffällig und besuchten eine Realschule (in einem Fall eine Realschule für Hörbehinderte). 3 Patienten sind als schwer retardiert mit deutlicher Intelligenzminderung und eingeschränkten kognitiven Fähigkeiten zu bezeichnen und besuchten eine Förderschule. 2 Patienten wiesen im Verlauf eine schwerste Entwicklungsverzögerung mit Pflegebedürftigkeit auf, einer entwickelte eine Tetraspastik. Bei den übrigen 5 Patienten wurde ebenfalls eine Intelligenzminderung bzw. Entwicklungsverzögerung dokumentiert, deren Ausmaß ist jedoch anhand der vorhandenen Daten nicht vollständig zu beurteilen. Zwei dieser Patienten besuchten eine Förderschule, einer eine Gesamtschule mit einem Integrationshelfer. Bei einem Patienten ist der Abschluss einer Berufsausbildung dokumentiert.

Im Zeitraum von 2013 bis 2020 wurden weitere 5 Patienten mit ASSD diagnostiziert. 4 dieser Patienten wurden durch das Neugeborenencreening identifiziert, ein Patient fiel durch eine neonatale metabolische Entgleisung am dritten Lebenstag auf, es wurde ein Ammoniakspitzenwert von 1364 µg/dl gemessen. Der Ammoniakspiegel wurde durch medikamentöse Therapie und Hämodialyse innerhalb von 3 Tagen normalisiert und der Patient wurde mit einer Kombinationstherapie aus Na-Benzoesäure und Na-Phenylbutyrat sowie einer Argininsubstitution und Diät aus synthetischem und natürlichem Eiweiß behandelt. Der Patient entwickelte sich in den ersten Lebensjahren gut und besuchte einen Regelkindergarten.

Die im Neugeborenencreening identifizierten Patienten mit mildem ASSD entwickelten sich altersentsprechend, einer dieser vier Patienten verstarb jedoch im Alter von 1,5 Jahren im Rahmen einer kardiologischen Intervention bei supra-aortenstenose.

4 Diskussion

4.1 Studienpopulation und Epidemiologie

Während in der Literatur der OTCD als insgesamt häufigster Harnstoffzyklusdefekt beschrieben wurde [1, 13], sind 66% der Patient der vorliegenden Studie an einem ASSD erkrankt. Es ist denkbar, dass zumindest ein Teil der *early onset*-OTCD-Patienten, bei denen es häufig zu einem sehr schweren klinischen Verlauf kommt, vor Verlegung in ein Stoffwechselzentrum verstirbt, bevor eine Diagnose gestellt werden kann. Die relative Häufigkeit des OTCD in der Literatur ist auch auf heterozygote weibliche Betroffene zurückzuführen. In der E-IMD-Analyse von Kölker et al. aus dem Jahr 2015 [14] beispielsweise betrug der Anteil von OTCDw-Patienten unter allen UCD-Patienten (n=343) 57%, von diesen 196 Patienten waren 114 weiblich, davon waren wiederum 30 Patientinnen klinisch vollständig asymptomatisch und wurden zum Teil nur identifiziert, nachdem ihre Neugeborenen mit einem OTCD klinisch manifest wurden. Der höhere Anteil heterozygoter Patientinnen mit mildem Verlauf allein erklärt die relative Häufigkeit des OTCD jedoch nicht, so bestand in der Analyse von Nettessheim et al. die Gruppe aller UCD-Patienten (n=50) zu 36% (18 Patienten) aus OTCDm-Patienten [9]. Gründe für die Häufung von ASSD-Patienten in dieser Kohorte liegen darin, dass der ASSD als Studienkrankheit in das Neugeborenencreening aufgenommen wurde und eine Reihe von milde betroffenen oder nur biochemisch auffälligen Patienten identifiziert wurden, die ohne Screening unentdeckt geblieben wären.

Limitierend für die Aussagekraft dieser Studie ist die insgesamt geringe Patientenzahl des Studienkollektivs. Angesichts der Tatsache, dass es sich bei Harnstoffzyklusdefekten aber um extrem seltene Erkrankungen handelt, liegt mit einer Patientengruppe von 38 Patienten bereits ein repräsentatives Kollektiv vor, für das jedoch eine ausschließlich deskriptive Datenauswertung erfolgen konnte. Auf eine statistische Analyse wurde aufgrund der letztlich doch geringen Fallzahlen und ungleichen Aufteilung bei Einordnung in Untergruppen (z.B. Enzymdefekte) verzichtet, wie bereits auch in anderen Studien dieser Art erfolgt [30, 51, 52]. Untersuchungen derartig seltener Erkrankungen mit ausreichend hohen Patientenzahlen für statistisch relevante Analysen sind zudem bei einer monozentrischen Datenerhebung nahezu unmöglich. Durch eine monozentrische Studie sind jedoch auch die Therapievariablen geringer, was die Vergleichbarkeit der Verläufe erleichtert, da es zum Zeitpunkt der Studie noch keine Leitlinien für die Behandlung von Harnstoffzyklusdefekten gab.

4.2 Diagnosestellung

4.2.1 Zeitpunkt der Diagnosestellung

Die Diagnose eines UCD kann je nach klinischem Verlauf bereits in der Neonatalperiode, häufig schon innerhalb der ersten Lebensstage, sowie jenseits des Neugeborenenalters erfolgen. Man unterscheidet dementsprechend *early onset*- von *late onset*-Verläufen, wie in Kap. 1.3 näher beschrieben. Für die jeweiligen Häufigkeiten von EO-/LO-Verläufen bzw. die häufigsten Diagnosezeitpunkte finden sich in der Literatur unterschiedliche Angaben. So wurde für eine EO-Manifestation von Burgard et al. eine Häufigkeit von 52-75% aller Verläufe genannt [5], während Kölker et al. 45% [14] und Batshaw et al. lediglich 26% [10] angaben. In dem dieser Studie vorliegenden Patientenkollektiv wurde die Diagnose bei 86% aller symptomatischen Patienten neonatal innerhalb der ersten zehn Lebensstage gestellt, lediglich bei 14% im weiteren Verlauf. In dieser Hinsicht bildet die dieser Studie zugrunde liegende Patientenpopulation nicht die überwiegend in der Literatur beschriebenen Charakteristika der UCDs ab, sondern stellt ein Patientenkollektiv mit vielen sehr schwer betroffenen Patienten dar. Wie in Kap. 4.1 bereits erwähnt, besteht das hier vorliegende Patientenkollektiv im Vergleich zu anderen Arbeiten aus einem sehr kleinen Anteil an OTCD-Patienten, die beispielsweise bei Kölker et al. [14] bereits einen relevanten Anteil der LO-Diagnosen ausmachen und in der Studie von Batshaw et al. zu 87% erst nach der Neonatalperiode festgestellt wurden, während die ASSD-Patienten in der Studie von Batshaw auch überwiegend (zu 65%) neonatal registriert wurden [10].

Angesichts der Tatsache, dass es sich bei Harnstoffzyklusdefekten um extrem seltene Erkrankungen handelt – Nettlesheim et al. schätzten 2017, dass jährlich in der gesamten EU ca. 100 Neudiagnosen gestellt werden [9], Summar et al. gehen 2013 von etwa 150 jährlichen Neudiagnosen in der EU aus [13] – ist es durchaus möglich, dass Patientengruppen an einzelnen Zentren, wie sie dieser Studie zugrunde liegen, nicht der zu erwartenden Zusammensetzung der Diagnosen entsprechen, die sich bei der Analyse sehr großer Populationen wie den Patienten aus dem E-IMD-Register finden [14].

4.2.2 Neugeborenenenscreening

Bei einem Teil der Patienten mit ASSD lag der Neugeborenenenscreeningbefund nach Beginn der klinischen Symptomatik vor. Andererseits wurden auch Neugeborene mit ASSD identifiziert, die sowohl bei der Diagnose asymptomatisch waren als auch im Verlauf asymptomatisch verblieben. Die Bedeutung des Neugeborenenenscreenings auf ASSD muss daher in Bezug auf Sensitivität und Spezifität diskutiert werden. Während der ASSD aktuell in Deutschland (noch) nicht zu den Zielkrankheiten des Neugeborenenenscreenings gehört [53], wird in einigen anderen Ländern bereits seit vielen Jahren darauf gescreent [13, 31, 32] (vgl.

Kap. 1.4). Bereits 2003 diskutierte Bachmann die Notwendigkeit bzw. Sinnhaftigkeit des Neugeborenen Screenings in Hinblick auf Harnstoffzyklusdefekte und kam zu dem Schluss, dass, solange es keine ausreichend effektive Therapiemöglichkeiten gibt, und es trotz früher Diagnosestellung und Interventionen dennoch in den meisten Fällen zu einem schlechten neurologischen Outcome kommt, ein allgemeines Screening auf UCDs keinen ausreichenden Benefit mit sich bringt [29]. Stattdessen wurde empfohlen, bei Neugeborenen mit sepsisähnlicher Symptomatik Stoffwechselstörungen direkt als wichtige Differentialdiagnosen in Betracht zu ziehen und frühzeitig eine Bestimmung des Plasma-NH₃ zu veranlassen. Batshaw et al. beschrieben hingegen 2014 einen positiven Effekt auf Morbidität und Mortalität der UCDs durch eine frühzeitige Diagnose im Rahmen des Neugeborenen Screenings [10], sodass aktuell weniger die Limitationen der Therapie als eher die Schwierigkeiten, im Screening asymptotische, biochemische Formen von klinisch manifesten Formen zu unterscheiden, den Screeningkriterien von Wilson und Jungner widersprechen [54].

Zu einer Vereinfachung der Ammoniakbestimmung, die noch nicht in jedem Kliniklabor uneingeschränkt zu jeder Tages- und Nachtzeit möglich und in Bezug auf Probengewinnung und -transport relativ störanfällig ist, und einer beschleunigten Diagnosestellung könnte eine *point of care*-Analyse beitragen [55]. Vor allem ist jedoch von größter Bedeutung, dass frühzeitig an Stoffwechselstörungen gedacht und die NH₃-Bestimmung eingeleitet wird.

Vergleicht man den Zeitpunkt der Erstmanifestation von UCDs (in den Jahren 2007 – 2012 zu ca. 90% innerhalb der ersten fünf Lebenstage) mit dem Zeitpunkt, an dem man erste Befunde des Screenings erwarten kann, so ist die Wahrscheinlichkeit, dass es bei Erhalt des Screeningbefundes bereits zu einer relevanten Stoffwechsellage bei den neonatalen Formen gekommen ist, sehr hoch. Auch wenn das Screening im Zeitraum von 36 – 72 Lebensstunden abgenommen wird und das Ergebnis optimalerweise nach 48 Stunden (Probenversand und Analyse) vorliegt, wird der Befund für die meisten Patienten kaum noch vor Symptombeginn eintreffen. Auch bei den in dieser Arbeit untersuchten Patienten gibt es mehrere Neugeborene, die trotz des Erhaltes eines positiven Screeningbefundes schwer entgleist sind. Der Zeitpunkt, zu dem der auffällige Screeningbefund konkret eingetroffen ist, ist jedoch retrospektiv nicht mehr nachzuvollziehen.

Andererseits sind durch Pilotprojekte der Screeninglabore, die weitere Krankheiten in den Zielkatalog aufgenommen haben, mehrere Patienten mit einem ASSD identifiziert worden, bei denen es im weiteren Beobachtungszeitraum – auch ohne medikamentöse oder diätetische Therapie – zu keinem Zeitpunkt zu einer Stoffwechselkrise kam, sodass sich hier die Frage stellt, ob die Diagnose letztlich erforderlich gewesen wäre und ob es sich bei dem Parameter Citrullin um einen geeigneten Screeningparameter handelt. Da dieser auch bei milden Erhöhungen im Screening eine Auffälligkeit anzeigt und unklar ist, ob und wie die Höhe

des Citrullinspiegels mit der klinischen Manifestation korreliert, sind auch diese im Nachhinein isolierten biochemischen Phänotypen identifiziert worden. Es gibt gute Argumente, die Citrullinämie in den Screeningkatalog mitaufzuehmen, um symptomatische Formen frühzeitig zu identifizieren, es ist jedoch die Belastung der Familien durch die – möglicherweise unnötige – Diagnosestellung auch nicht zu vernachlässigen. Die E-IMD-Analyse von Kölker et al. aus dem Jahr 2015 schließt insgesamt 238 Patienten mit Diagnosestellung durch klinische Symptome ein, aber nur 31 Patienten, die durch das NGS diagnostiziert wurden [14], auf die neurologische Entwicklung dieser Patienten wird hier jedoch nicht im Detail eingegangen. Martín-Hernández et al. nennen in ihrer Analyse zu UCDs in Spanien einen Anteil von 66% an allen ASSD-Patienten mit neurologischer Beeinträchtigung, nur 13,6% aller ASSD-Patienten dieser Studie wurde über das NGS identifiziert [21]. Dem wird die Arbeit von Rüegger et al. gegenübergestellt, die ausschließlich nicht-klassische UCDs behandelt und in der in 67% der Fälle eine ASSD-Diagnose durch das NGS erfolgte. Hier kam es nur bei 16% der Patienten zu einer psychomotorischen Retardierung [18]. Bei den in die vorliegende Studie eingeschlossenen ASSD-Patienten, die ohne klinische Symptomatik durch das auffällige Neugeborenen-Screening identifiziert wurden, kam es auch im weiteren Verlauf zu keiner Stoffwechsellentgleisung, die Patienten benötigten keine ammoniakbindenden Medikamente und es erfolgte nur bei einem geringen Anteil eine Argininsubstitution oder eine Beschränkung der Eiweißzufuhr (vgl. Kap. 4.7.3 und 4.7.4). Es ist nicht abschließend zu beantworten, ob es ohne den Screeningbefund zu einem wesentlich anderen Verlauf gekommen wäre. Im Moment deutet jedoch vieles darauf hin, dass es auch sogenannte isolierte „biochemische Phänotypen“ gibt, die keiner Therapie bedürfen und auch nicht durch das Screening identifiziert werden sollten.

4.3 Neonatale Hyperammonämie

Bei der initialen neonatalen Stoffwechsellentgleisung kommt es häufig zu einer ausgeprägten Hyperammonämie. Die Neurotoxizität des Ammoniaks ist bedingt durch Veränderungen unter anderem im zerebralen Energiestoffwechsel, im neuronalen Wachstum, in der Neurotransmission bzw. Signaltransduktion sowie in der Synthese von Stickstoffmonoxid (NO). Diese Veränderungen können zur Entwicklung eines zytotoxischen Hirnödems, Zelltod, beeinträchtigtem neuronalen Wachstum, Hypomyelinisierung und Hypoperfusion führen, infolgedessen schließlich zu einer Hirnatrophie. Besonders anfällig für diese Mechanismen ist das sich noch entwickelnde Gehirn pädiatrischer Patienten. Endgültig sind diese Mechanismen noch nicht geklärt und Gegenstand aktueller Forschung [4, 21, 25].

Die im Durchschnitt höchsten Ammoniakwerte lagen bei männlichen OTCD-Patienten vor, gefolgt von Patienten mit CPSD, ASLD und ASSD. Auch die Zeit bis zur Normalisierung (Erreichen von NH_3 -Werten $< 100 \mu\text{g/dl}$) war bei OTCDm-Patienten am längsten, gefolgt von CPSD-, ASLD- und ASSD-Patienten. Bei OTCDm-Patienten war die gemessene Range der initialen NH_3 -Werte am kleinsten, d.h. bei allen Patienten lag eine sehr schwere Stoffwechselentgleisung vor. Bei den übrigen Enzymdefekten war die Range der NH_3 -Werte bei Erstmanifestation deutlich größer, es zeigten sich also deutliche Unterschiede in der Schwere der neonatalen Stoffwechselentgleisung. Kölker et al. zeigten 2015 in ihrer E-IMD-Analyse ebenfalls, dass für die *early onset* OTCDm-Patienten die weitaus höchsten initialen NH_3 -Werte vorlagen (Median $2032 \mu\text{mol/l}$ vs. $600 - 687 \mu\text{mol/l}$ für die übrigen UCDs) jedoch auch mit einer sehr großen Range ($385 - 5800 \mu\text{g/dl}$) [14].

Beim Vergleich der initialen NH_3 -Werte im gesamten Erhebungszeitraum von 1994 – 2012 fiel auf, dass die Spiegel bei Diagnosestellung im Vergleich zwischen den Jahren 1994 – 2000 und 2001 – 2006 zunächst rückläufig schienen, in den darauffolgenden Jahren 2007 – 2012 lagen sie jedoch sogar leicht über dem Wert der ersten Gruppe. Hier muss jedoch die Zusammensetzung der UCD-Subtypen in den einzelnen Zeitabschnitten berücksichtigt werden, so wurden in den Jahren 2001 – 2006 keine OTCD- und CPSD-Patienten neu diagnostiziert, welche in den übrigen Zeitabschnitten verglichen mit den anderen Subtypen im Schnitt höhere initiale Spiegel boten. Dennoch liegt nahe, dass für den initialen NH_3 -Wert nicht nur der Zeitpunkt der Erstdiagnose verantwortlich ist, welcher sich im Laufe der Zeit nach vorne verlagert hat. Während in den Jahren 1994 – 2000 noch $>50\%$ aller Patienten zwischen dem 6.-10. Lebensstag diagnostiziert wurden, waren es in den Jahren 2001 – 2006 bereits 75% , die innerhalb der ersten fünf Lebenstage diagnostiziert wurden, und in den Jahren 2007 – 2012 sogar $88,9\%$. Insbesondere bei den OTCDm-Patienten scheint dies keinen wesentlichen Einfluss auf die Schwere der neonatalen Entgleisung zu haben. Diese Patienten wurden jeweils am dritten, fünften und neunten Lebensstag diagnostiziert und es waren, wie oben erwähnt, bei allen bereits sehr hohe NH_3 -Spiegel nachzuweisen. Es muss also postuliert werden, dass es im Erhebungszeitraum nicht zu einer relevant früheren Diagnosestellung (gemessen an der Schwere der Entgleisung) gekommen ist, wenngleich auch hier die Zusammensetzung der Diagnosen berücksichtigt werden muss und im besten Fall in einer weiteren Studie mit vergleichbarer Gruppengröße der Subtypen im zeitlichen Verlauf verglichen würde. Die Schwere der klinischen Symptomatik bei einem Neugeborenen mit ausgeprägter Hyperammonämie variiert interindividuell stark, die Daten legen jedoch nahe, dass bei akuter klinischer Verschlechterung eines Neonaten zwischen 1994 und 2012 im Verlauf zwar früher, aber immer noch nicht ausreichend früh an eine Stoffwechselentgleisung als Ursache der Symptomatik gedacht wurde, was zur Folge hat, dass zum Zeitpunkt der Diagnosestellung regelhaft bereits extrem hohe Ammoniakspiegel vorlagen.

Es wird davon ausgegangen, dass für das neurologische Outcome der Manifestationszeitpunkt und die Hyperammonämie der ersten Stoffwechsellage von ausschlaggebender Bedeutung sind [19, 20]. Auch die Daten aus der vorliegenden Studie lassen auf einen solchen Zusammenhang schließen. Bei allen schwer (deutliche Entwicklungsdefizite) bis schwerst (vollständige Pflegebedürftigkeit) retardierten Patienten lagen auch hier initial hohe NH_3 -Werte vor (Mittelwert 1782 $\mu\text{g}/\text{dl}$ [1046 $\mu\text{mol}/\text{l}$], Median 1577 $\mu\text{g}/\text{dl}$ [925 $\mu\text{mol}/\text{l}$]). Im Gegensatz dazu lagen die initialen NH_3 -Werte bei den mäßig retardierten Kindern (z.B. Besuch einer Förderschule, aber Kommunikation gut möglich) zwischen 490 und 3608 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (Mittelwert 1448,4 $\mu\text{g}/\text{dl}$ [850 $\mu\text{mol}/\text{l}$], Median 798 $\mu\text{g}/\text{dl}$ [468 $\mu\text{mol}/\text{l}$]) und bei den nicht retardierten Kindern zwischen 83 $\mu\text{g}/\text{dl}$ und 1197 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (Mittelwert 411 $\mu\text{g}/\text{dl}$ [241 $\mu\text{mol}/\text{l}$], Median 237 $\mu\text{g}/\text{dl}$ [139,1 $\mu\text{mol}/\text{l}$]). Auffällig ist jedoch, dass die ASLD-Patienten ein schlechteres neurologisches Outcome aufwiesen (drei Patienten schwer, ein Patient schwerst retardiert), die CPSD-Patienten dagegen ein insgesamt milderer Outcome (ein Patient nicht, zwei Patienten mäßig, ein Patient schwer retardiert), obwohl bei letzteren im Schnitt etwas höhere NH_3 -Werte bei der ersten Stoffwechsellage vorlagen. Kido et al. beschrieben ebenfalls besonders schwere Hyperammonämien bei neonatalen OTCD- und CPSD-Patienten mit entsprechend schwerem Outcome, sowie ein ebenfalls schlechtes Outcome (relevante kognitive Beeinträchtigung oder Tod) bei ASLD-Patienten unabhängig von ihren (im Mittel deutlich niedrigeren) initialen NH_3 -Werten [19]. In einem Vergleich zwischen den einzelnen distalen UCDs sahen Waisbren et al. 2018 ein schlechteres intellektuelles und neurokognitives Outcome bei ASLD-Patienten (mittlerer IQ <71 vs. <86 bei ASSD-Patienten) [56].

Ammoniak ist nicht der einzige Parameter, der einen Einfluss auf das neurokognitive Outcome hat. Auch für den Plasmaglutaminspiegel als weiterer Biomarker für einen gestörten Harnstoffzyklus wird eine ähnliche prognostische Aussagekraft beschrieben [10], was jedoch nicht Gegenstand dieser Datenerhebung war. Waisbren et al. untersuchten in ihrer Studie mit 145 Patienten mit distalen UCDs die Korrelation zwischen verschiedenen Metaboliten und dem neurokognitiven Langzeit-Outcome und beschrieben hier insbesondere eine Korrelation der kumulativen Exposition der Metabolite, also eine dauerhafte, moderate Erhöhung nicht nur von Ammoniak, sondern auch von Citrullin und Glutamin, in höherem Ausmaß als isolierte kurze hyperammonämie Episoden mit einem schlechteren Outcome [56]. Zur weiteren Differenzierung kann bei den in der vorliegenden Studie beschriebenen vermeintlichen Gegensätzen zwischen Höhe des NH_3 -Spiegels und neurologischem Outcome bei den CPSD- und ASLD-Patienten somit zusätzlich die Analyse des Glutamin- und Citrullinspiegels dienen. Zu berücksichtigen ist tatsächlich auch, dass nicht nur die initialen NH_3 -Spiegel bei der Diagnose, sondern auch die Langzeiteinstellung und weitere metabolische Krisen in Bezug für das neurologische Langzeitoutcome prognostisch wichtig sind (siehe auch 4.4). Weiterhin ist bekannt, dass das bei ASLD-Patienten erhöht nachzuweisende Argininosuccinat [14] eine

toxische Wirkung auf Astrozyten und Neuronen hat und zu einer ammoniakunabhängigen ZNS-Schädigung führen kann [21, 57], sodass auch diesbezüglich ein laborchemisches Monitoring sinnvoll wäre.

4.4 Hyperammonämie Krisen im Verlauf

Beim Vergleich von Ausgangs-NH₃-Wert mit der Anzahl der weiteren Entgleisungen im Zeitraum von 5 Jahren nach Erstdiagnose fällt kein Zusammenhang zwischen beiden Parametern auf. Es gibt Patienten, die einen verhältnismäßig geringen initialen Ammoniakspiegel hatten und bei denen es dennoch im Verlauf zu zahlreichen Episoden mit erhöhten NH₃-Werten bzw. Stoffwechselentgleisungen gekommen ist. Auch bei einer Patientin, die aufgrund eines betroffenen Geschwisterkindes präklinisch mit einer nur milden Hyperammonämie diagnostiziert wurde, kam es in den folgenden Jahren zu zahlreichen weiteren Hyperammonämien. Diese Patientin entwickelte sich jedoch ohne wesentliche neurologische Defizite. Andererseits gibt es auch Patienten, bei denen neonatal sehr hohe NH₃-Spiegel vorlagen und bei denen es im Verlauf ohne Lebertransplantation nur noch selten zu erhöhten Werten kam, wie beispielsweise bei einem OTCDm-Patienten mit einem initialen NH₃ von 3103 µg/dl (1821,5 µmol/l), der in den darauffolgenden fünf Jahren lediglich vier Episoden mit einem NH₃ > 250 µg/dl hatte. Dennoch kam es bei diesem Patienten zu schweren Entwicklungsdefiziten. Die hier vorliegenden Daten reichen nicht aus, um eine eindeutige Aussage über den Zusammenhang von Hyperammonämien im Verlauf und der Entwicklung zu machen. Buerger et al. beschrieben jedoch 2019 bereits eine Korrelation der Zahl hyperammonämischer Episoden und dem kognitiven Outcome bei EO- und LO-OTCD-Patienten [20]. Es liegt also nahe, dass nicht nur gilt, die neonatale Hyperammonämie, die häufig die schwerste Episode und besonders ausschlaggebend für die weitere Entwicklung ist, effektiv zu behandeln, sondern auch weitere Krisen zu verhindern [47].

Betrachtet man bei den neonatal diagnostizierten Patienten die Episoden mit erhöhten NH₃-Werten (>100 µg/dl) bzw. Entgleisungen mit deutlichen Hyperammonämien (>250 µg/dl) im weiteren Verlauf der ersten fünf Lebensjahre, so fällt auf, dass die Anzahl dieser Episoden im zweiten Lebensjahr die der im ersten Lebensjahr noch leicht übersteigt. Es ist bekannt, dass es bei neonatalen UCDs im Anschluss an die initiale Entgleisung nicht selten zu einer sogenannten „*honeymoon period*“ mit einer ausgeglichenen Stoffwechsellage für mehrere Wochen bis Monate kommt, und erst im weiteren Verlauf bzw. im Kleinkindalter zu einer erneuten Verschlechterung der Ammoniakhomöostase [10]. Dieses liegt u.a. daran, dass der Eiweißbedarf in den ersten Lebensmonaten durch das ausgeprägte Wachstum der Kinder in dieser Zeit besonders hoch ist und viel Eiweiß für den Körperaufbau benötigt wird. Außerdem

könnte die höhere Anzahl an Entgleisungen im zweiten Lebensjahr möglicherweise mit der erschwerten Berechnung der Eiweißzufuhr nach Beikosteneinführung und Teilnahme an der Familienkost oder einer höheren Anzahl an Infekten bei Beginn einer Kinderbetreuung bzw. zunehmendem Kontakten mit älteren Kindern zusammenhängen. Möglicherweise ist auch die Compliance der Familien im ersten Lebensjahr noch besonders hoch und lässt im Verlauf, mit zunehmendem zeitlichem Abstand von der schweren initialen Entgleisung, nach. Bis zum vierten Lebensjahr ist die Anzahl der Entgleisungen anschließend rückläufig, dann kommt es zu einer Stagnation, möglicherweise bedingt durch einen Rückgang der im Kleinkindalter häufigen Infekte. Dieses Bild zeigt sich für den Schnitt aller UCD-Patienten, wenngleich betont werden muss, dass die Gruppen der unterschiedlichen UCD-Typen hier sehr ungleich groß sind und überwiegend aus ASSD- (8) und ASLD- (4) Patienten bestehen, sowie nur aus jeweils einem OTCD- und einem CPSD-Patienten.

Batshaw et al. sahen eine durchschnittliche Häufigkeit von etwa einem hyperammonämen Event pro Jahr und Patient [10], wohingegen in dieser Studie im Schnitt für alle UCDs etwa 2 Entgleisungen ($\text{NH}_3 > 250 \mu\text{g/dl}$) pro Jahr und Patient vorlagen.

Wie in Kap. 4.3 beschrieben, fiel bei den ASLD-Patienten tendenziell ein schlechteres neurologisches Outcome auf als bei den CPSD-Patienten, obwohl, entgegen der Annahme, dass die Höhe der initialen Hyperammonämie das Outcome ausschlaggebend beeinflusst, bei ihnen die niedrigeren Ausgangs- NH_3 -Werte vorlagen. Ein vollständiger Vergleich bezüglich der Häufigkeit der Entgleisungen im Verlauf ist zwischen den beiden Gruppen an dieser Stelle nicht möglich, da die ursprünglich gleich großen Gruppen (jeweils 4 ASLD- und 4 CPSD-Patienten in der gesamten Studienpopulation) hier aufgrund des unvollständigen Follow-ups reduziert wurde auf weiterhin 4 ASLD-, jedoch nur einen CPSD-Patienten. Dieser weist eine deutlich höhere Anzahl von hyperammonen Entgleisungen auf als die ASLD-Patienten im Durchschnitt (insgesamt 14 vs. 4,75 in 5 Jahren, davon 36% vs. 5% im ersten Lebensjahr), sodass die wahrscheinliche Erklärung für das schlechtere Outcome der ASLD-Patienten eine zusätzliche toxische Wirkung von Argininosuccinat ist (vgl. Kap. 4.3).

Beim Vergleich der im Laufe des Follow-ups gemessenen NH_3 -Spitzenwerte (unabhängig vom initialen Wert bei Diagnosestellung) fällt jedoch auf, dass diese bei den ASLD-Patienten mit im Schnitt $646,5 \mu\text{g/dl}$ ($379,5 \mu\text{mol/l}$) am höchsten sind, obwohl allgemein angenommen wird, dass Patienten mit proximalen UCDs besonders schwere Verläufe entwickeln [7]. Dies legt nahe, dass bei diesem Enzymdefekt eine ausgeglichene Stoffwechseleinstellung besonders schwierig zu erreichen ist, was das schlechte neurologische Outcome begünstigen könnte, auch wenn diese, wie oben erwähnt, nur zu einem geringen Anteil noch im Säuglingsalter auftreten und demzufolge auch spätere Entgleisungen für die Entwicklung der Kinder relevant zu sein scheinen. Bei den ASSD- und CPSD-Patienten liegt eine hohe Streuung der

maximalen Spitzenwerte mit teils auch sehr hohen Werten vor, was die Heterogenität der Verläufe bei Patienten, die den gleichen Enzymdefekt besitzen, unterstreicht. Bei OTCD-Patienten kommt es, entsprechend der Schwere der Symptomatik bei allen vorliegenden Patienten, ebenfalls zu hohen Spitzenwerten mit nur geringer Streubreite im Verlauf. Zusammenfassend ist zu betonen, dass die Art des Enzymdefektes alleine noch keine ausreichende Aussage über den Schweregrad der klinischen Ausprägung und die Prognose der Entwicklung zulässt, lediglich bei sehr schweren UCDs, wie dem OTCDm, deutet die geringe Streuung der hohen NH₃-Spitzenwerte im Verlauf darauf hin, dass im Allgemeinen ein schwerer Verlauf zu erwarten ist.

Zur Beurteilung einer möglichen Verbesserung der Stoffwechseleinstellung unter Langzeittherapie im Laufe des 18-jährigen Beobachtungszeitraumes erfolgte erneut die Darstellung der durchschnittlichen NH₃-Spitzenwerte in drei Zeiträumen zu jeweils 6 Jahren (1994 – 2000, 2001 – 2006, 2007 – 2012). Hier zeigten sich jedoch nahezu unverändert hohe mittlere Spitzenwerte. Dies verdeutlicht die Schwierigkeit der frühzeitigen Identifizierung einer Entgleisung und die Limitationen der Langzeitbehandlung von UCDs. Da es zu keiner relevanten Veränderung der Therapiemöglichkeiten gekommen ist, die diätetische Therapie letztlich von der Compliance der Eltern abhängt und Stoffwechselentgleisungen, beispielsweise im Rahmen von Infekten, ständig drohen können, verbleibt als endgültige Therapie- bzw. Heilungsoption die Lebertransplantation, die aus diesem Grund in den letzten Jahren an Bedeutung gewonnen hat (vgl. Kap. 4.7).

4.5 Late onset-UCDs

Bei den hier untersuchten LO-UCD-Patientinnen wurde die Diagnose jeweils nach symptomatischer Stoffwechselentgleisung zwischen dem 2. Lebensmonat und dem 7. Lebensjahr gestellt. Die initial gemessenen NH₃-Werte waren deutlich niedriger als bei den Patienten mit neonataler Stoffwechselentgleisung, lagen mit NH₃-Spiegeln von knapp 500 – 800 µg/dl (ca. 300 – 470 µmol/l) jedoch ebenfalls in einem deutlich neurotoxischen Bereich.

Während bei EO-UCDs die initiale Entgleisung bzw. die initiale Hyperammonämie besonders ausschlaggebend für das neurologische Outcome ist (vgl. Kap. 4.3), wird v.a. beim LO-OTCD der kognitive Phänotyp stärker mit der Häufigkeit von Entgleisungen im weiteren Verlauf assoziiert [20]. Bei den beiden in diese Analyse eingeschlossenen LO-UCD-Patientinnen kam es zu unterschiedlichen Verläufen nach Diagnosestellung. Die Patientin mit rezidivierenden Stoffwechselentgleisungen ist entwicklungsverzögert, während die spät diagnostizierten Patientinnen mit selteneren Entgleisungen eine altersentsprechende Entwicklung zeigten. Obwohl die Patientenzahl sehr klein ist, unterstützen die vorliegenden Daten demnach die o.g.

Beobachtungen. Die *late onset*-OTCD-Patientin mit den im Verlauf häufig rezidivierenden Stoffwechselentgleisungen zeigte (trotz medikamentöser und diätetischer Therapie) das schlechtere neurologische Outcome.

4.6 Untersuchungsbefunde, klinisches Outcome, anthropometrische Daten

4.6.1 Apparative Diagnostik

82% der vorliegenden MRT-Befunde, die während der gesamten Zeit des Follow-ups erhoben wurden und nur in Einzelfällen bereits im Neugeborenenalter, beschreiben einen pathologischen Befund. Dabei handelt es sich überwiegend um Zeichen der Hirnatrophie, posthämorrhagische Defekte und Myelinisierungsstörungen. Es ist jedoch davon auszugehen, dass die Untersuchungen nur bei Verdacht auf Pathologien durchgeführt wurden und nicht routinemäßig als Screeninguntersuchung oder gar bei Patienten mit milden Verläufen ohne schwere klinische Symptomatik. Daher kann aus der Tatsache, dass ein sehr großer Anteil der Schädel-MRTs einen auffälligen Befund zeigte, nicht geschlossen werden, dass ein ähnlich großer Anteil aller Patienten die beschriebenen MRT Veränderungen aufweist. Insbesondere wurde eine Bildgebung bei allen ASLD-Patienten durchgeführt und als pathologisch befundet, was wiederum für den schweren Verlauf und das schlechte neurologische Outcome bei dieser Patientengruppe spricht.

Von den 22 durchgeführten EEGs zeigten 14 pathologische Befunde, insbesondere auch hier bei allen ASLD-Patienten. Krampfanfälle sind ein typisches Problem bei Patienten mit Harnstoffzyklusdefekten, Kölker et al. sahen den weitaus größten Anteil an pathologischen EEG-Befunden bei den ASLD-Patienten [25].

4.6.2 Psychomotorische Entwicklung

Eine psychologische Mitbeurteilung der untersuchten Patienten im Erfassungszeitraum erfolgte sehr uneinheitlich, was einen Vergleich des Outcomes der Patienten erschwert. In Kap. 3.4.4 werden die Untersuchungsbefunde bereits ausführlich beschrieben und in Kap. 4.3 und 4.4 der Schwere der initialen und im Verlauf rezidivierenden Stoffwechselentgleisungen gegenübergestellt.

Kido et al. sahen ein besonders schlechtes neurologisches Outcome beim CPSD und neonatalen OTCD [19], während die Analyse verschiedener internationaler Studien durch Martín-Hernández et al. die schlechteste neurologische Prognose bei ASLD-Patienten ergab [21]. In der hier vorliegenden Studie zeigte sich insbesondere für die ASLD- und OTCDm-Patienten ein schlechtes Outcome mit schweren neurologischen Defiziten bis hin zur

vollständigen Pflegebedürftigkeit. Jedoch konnte auch bei den anderen Enzymdefekten ein jeweils sehr unterschiedlicher Verlauf dargestellt werden. Batshaw et al. betonen in einer longitudinalen Studie zu Harnstoffzyklusdefekten die genotypische und phänotypische Diversität dieser Erkrankungen, sowie eine schlechte Genotyp-Phänotyp-Korrelation, d.h. die Tatsache, dass verschiedene Mutationen, die zum gleichen Enzymdefekt führen, sehr unterschiedliche Krankheitsausprägungen zur Folge haben und auf unterschiedliche Therapien ansprechen können [10]. Es ist insgesamt sehr schwer möglich, bei der Diagnose eine allgemeine Prognose über den Verlauf und das neurologische Outcome zu treffen. Jeder Enzymdefekt birgt das Risiko eines kritischen, lebensbedrohlichen Verlaufes mit bleibenden neurologischen Schäden. Bei 58% aller Patienten bestand zu mindestens einem Zeitpunkt während des follow-ups zusätzlicher Förderbedarf im Sinne beispielsweise einer Physiotherapie, Logopädie oder Frühförderung, häufig war ein Besuch eines Regelkindergartens oder einer Regelschule nicht möglich. Auch bei den Patienten, die in den späteren Jahren des 18-jährigen Beobachtungszeitraumes geboren wurden, zeigen sich schwere Manifestationen und neurologische Folgeschäden, sodass die Harnstoffzyklusdefekte aktuell trotz früherer Diagnose noch nicht zufriedenstellend behandelt werden können.

Insgesamt musste nach der Datenerhebung festgestellt werden, dass die Überwachung und Dokumentation der psychomotorischen und psychosozialen Entwicklung der Patienten unvollständig erfolgt war. Eine standardisierte Intelligenztestung wurde nur bei 9 von 38 Patienten durchgeführt. Zur besseren Vergleichbarkeit, sowohl des jeweils klinischen Outcomes der Patienten interindividuell, als auch zur Beurteilung einer möglichen Verbesserung des Therapieerfolges durch den Einsatz von neuen Therapieregimes im Laufe der Zeit, sollte zu regelmäßigen, festgelegten Zeitpunkten eine standardisierte Diagnostik erfolgen. Gerade bei solch seltenen Erkrankungen mit sehr kleinen Patientenzahlen würde dies zu einer wesentlich besseren Erfassbarkeit sowie Beurteilbarkeit beitragen.

Auch Buerger et al. fiel in einer Studie zur neurologischen Beeinträchtigung von OTCD-Patienten die unzureichende Diagnostik, insbesondere in Form psychologischer Testungen, auf [20]. Hier war nur bei zwei Dritteln der Patienten eine entsprechende Diagnostik erfolgt und lediglich bei etwas mehr als der Hälfte dieser Patienten lagen vollständige Daten vor.

Das Defizit in der durchgeführten Diagnostik könnte zum Einen auf der zentralisierten Struktur der Stoffwechselzentren beruhen: aufgrund der Seltenheit der Erkrankungen erfolgt die metabolische Betreuung in Deutschland oft in Kliniken, die extrem weit vom Wohnort der Patienten entfernt sind, eine Anbindung an ein sozialpädiatrisches Zentrum, durch welches z.B. der Förderbedarf definiert wird, ist aber heimatortnah sinnvoll. Dies kann jedoch in der Folge zu Informationsverlust führen. Des Weiteren bedeutet die Durchführung von

Routineuntersuchungen zur Statuserhebung für die Eltern, die mit der Betreuung eines chronisch kranken Kindes ohnehin schon übermäßig belastet sind, einen weiteren Aufwand, dessen unmittelbarer Nutzen für die Familien nicht erkennbar ist. Für eine Optimierung der Therapie erscheinen daher patientenfreundliche Strukturen (z.B. regelmäßiger Austausch zwischen beteiligten Fachdisziplinen, Untersuchungsangebote zu familienfreundlichen Zeiten, Bündelung von Diagnostik an einem Termin etc.) notwendig, um die Versorgung zu verbessern, ohne die Patienten und ihre Familien noch mehr zu belasten.

4.6.3 Anthropometrische Daten

Die Geburtsmaße von Kindern mit UCDs sind in der Regel unauffällig [14], so auch in diesem Patientenkollektiv. Vergleicht man im weiteren Verlauf das Längenwachstum und die Gewichtszunahme bzw. die Entwicklung des BMIs der Kinder mit neonataler Stoffwechselentgleisung, so zeigte sich im Alter von einem Jahr eine breite Verteilung der Perzentilen mit einem Peak über der 50-75. Perzentile und einer Tendenz zur Adipositas. Im Alter von fünf Jahren liegt der Großteil der Kinder mit dem BMI zwischen der 75-90. Perzentile. Eine wesentliche Tendenz zur Adipositas zeigt sich nicht mehr, jedoch fällt auf, dass kein Kind mit dem BMI unter der 25. Perzentile liegt. Im Gegensatz hierzu beschrieben Kölker et al. rückläufige Längen- und Gewichtsporzentilen für ASSD-Patienten, bei den übrigen Enzymdefekten fielen jedoch keine signifikanten Veränderungen auf [25].

Diese Ergebnisse sprechen dafür, dass es unter der Eiweißrestriktion, die diese Patienten einhalten müssen, zu keiner Mangelernährung kommt. Im Gegenteil ist es von hoher Bedeutung, dass die Patienten katabole Stoffwechselzustände vermeiden. Dieses Bestreben führt eher bei einem Teil der einjährigen Kinder zu einem adipösen Ernährungszustand. Von sehr hoher Bedeutung ist eine ausführliche und kontinuierliche Ernährungsberatung der Eltern, um trotz der notwendigen Einschränkungen eine möglichst ausgewogene Ernährung zu gewährleisten und Überalimentation zu verhindern, während trotzdem Katabolie vermieden wird.

4.6.4 Mortalität

Die in dieser Studie registrierte Mortalität (2 dokumentierte Todesfälle) liegt deutlich niedriger als die Angaben in der Literatur, welche jedoch auch stark variieren. Bezogen auf die gesamte Studienpopulation liegt sie bei 5%, bezogen auf lediglich die *early onset*-UCDs beträgt sie 7%. Nassogne et al. beschrieben 2005 sehr hohe Mortalitätsraten bei EO-UCDs von 68 bis >80% [17], Burgard et al. nannten 2016 eine Mortalitätsrate von 9-34% für die jeweils unterschiedlichen Enzymdefekte ohne wesentliche Verbesserung des Outcomes in den letzten Dekaden [5]. Auch Nettesheim et al. kamen 2017 zu dem Schluss, dass auch heute trotz eines erhöhten Bewusstseins für seltene Erkrankungen wie die Harnstoffzyklusdefekte,

Fortschritten in der intensivmedizinischen Versorgung solcher schwerkranker Patienten sowie der Erstellung evidenzbasierter Guidelines insbesondere für CPSD- und OTCDm-Patienten weiterhin eine hohe Mortalität besteht [9], wohingegen Kido et al. zumindest eine Verbesserung des Outcomes für LO-OTCD-Patienten von 1998 bis 2020 beschrieb [19]. Dass in dieser Studie zwei ASSD-Patienten und keiner der OTCD-, CPSD- und ASLD-Patienten verstorben sind, ist wahrscheinlich am ehesten auf die deutlich kleineren Patientenzahlen der anderen Gruppen zurückzuführen.

4.7 Therapie

4.7.1 Initiale Hämodialyse / extrakorporale Detoxifizierung

In der aktuellen AWMF-Leitlinie zu Harnstoffzyklusdefekten wird empfohlen, bei einer akuten hyperammonämen Stoffwechsellage eine extrakorporale NH_3 -Entgiftung zeitgleich mit Einleitung der medikamentösen Therapie vorzubereiten und möglichst frühzeitig einzuleiten, wenn die begonnene Therapie zu keiner wesentlichen Senkung des NH_3 -Spiegels und Besserung der klinischen Symptomatik führt [15]. Nannte die vorangegangene Version der Leitlinie aus dem Jahr 2012 noch einen Schwellenwert von 500 $\mu\text{mol/l}$, ab dem eine extrakorporale Detoxifizierung empfohlen wurde, so enthält die überarbeitete Version aus dem Jahr 2019 keinen solchen Wert mehr, sondern diskutiert eine frühere Indikationsstellung.

In einer Studie zum Langzeitoutcome von Kido et al. aus dem Jahr 2021 erhielten 39% aller Patienten eine Hämodialyse. Als Kriterium für ein schlechteres Langzeitoutcome hinsichtlich der neurologischen Entwicklung wird hier ein NH_3 -Wert von $>360 \mu\text{mol/l}$ genannt. 82% der Patienten, die eine Hämodialyse erhielten, lagen mit ihrem medianen NH_3 -Spitzenwert über diesem Grenzwert. Die übrigen 61% der Patienten, die keine Hämodialyse erhielten, hatten mediane NH_3 -Spitzenwerte von 212 $\mu\text{mol/l}$ [19]. Hediger et al. wiesen 2018 auf die Diskrepanz zwischen dem zum damaligen Zeitpunkt empfohlenen Schwellenwert für den Beginn einer Hämodialyse (500 $\mu\text{mol/l}$) und dem in ihrer Studie identifizierten mittleren Trigger- NH_3 -Wert, der zur Dialyse geführt hat (1199 $\mu\text{mol/l}$) hin. Hier wird angenommen, dass hohe NH_3 -Ausgangswerte bereits mit einem schlechten neurologischen Outcome assoziiert sind, welches durch die Dialyse nicht mehr positiv beeinflusst werden kann [8]. Zum Vergleich sei auf die drei OTCDm-Patienten der vorliegenden Studie verwiesen, die allesamt bei sehr hohen NH_3 -Ausgangswerten (2449 bis $>3000 \mu\text{g/dl}$ bzw. 1437,6 bis $>1760 \mu\text{mol/l}$) eine Hämodialyse erhielten, woraufhin es dennoch im Schnitt 12,3 Tage (Range 7-22) dauerte, bis Normalwerte vorlagen und bei denen sich im Verlauf schwere neurologische Defizite zeigten.

Vergleicht man die o.g. empfohlenen NH_3 -Grenzwerte zur Indikation einer Hämodialyse, so fällt auf, dass diese im vorliegenden Patientenkollektiv teilweise weit überschritten sind und auch in der Patientengruppe ohne Dialyse mit einem Durchschnitts- NH_3 von 840 $\mu\text{g}/\text{dl}$ (bzw. 493 $\mu\text{mol}/\text{l}$) viele Patienten den heutigen Empfehlungen zufolge einer Dialyse bedurft hätten.

Die hier vorliegenden Daten lassen retrospektiv nicht mehr differenzieren, zu welchem exakten Zeitpunkt im Rahmen der Erstmanifestation die Indikation zur extrakorporalen NH_3 -Entgiftung gestellt wurde. Zu berücksichtigen sind auch die Zeiten, die zwischen Indikationsstellung zur Hämodialyse und tatsächlichem Beginn liegen. Oftmals dauert es mehrere Stunden, bis die Dialyse startet, u.U. muss der Patient noch in ein Zentrum zur Kinderdialyse verlegt werden. Eine weiterführende Analyse ließe ggf. eine Beurteilung zu der Fragestellung zu, in welchem Zeitfenster noch ein positiver langfristiger Effekt (neben einer höheren Überlebenschancen durch zügige Senkung des NH_3 -Spiegels und dadurch Vermeidung der Entwicklung oder Verschlechterung eines Hirnödems) durch die Hämodialyse erreicht werden kann.

4.7.2 Lebertransplantation

Im Laufe des Erhebungszeitraums zeigte sich eine deutliche Zunahme der Transplantationshäufigkeit, sechs der acht Eingriffe erfolgten in den Jahren 2009 – 2011. Dies deckt sich mit der mittlerweile bestehenden Empfehlung zur großzügigeren Indikationsstellung einer Lebertransplantation. In den aktuellen AWMF-Leitlinien zu UCDs wird empfohlen, eine Transplantation bei schweren UCDs zu erwägen, wenn es unter pharmakologischer Therapie zu keiner zufriedenstellenden Stoffwechseleinstellung mit häufigen Entgleisungen und einer reduzierten Lebensqualität kommt [15]. Es wird jedoch auch empfohlen, die Transplantation bei solchen Patienten durchzuführen, bei denen es noch zu keiner schweren neurologischen Schädigung gekommen ist, was Patienten mit besonders fulminanter Erstmanifestation, wie sie auch in dieser Studienpopulation vorhanden sind, demzufolge primär nicht einschließt. Um aber für die Patienten, die diese Kriterien erfüllen, eine gute neurologische Prognose zu sichern, wird empfohlen, die Transplantation möglichst früh (in Abwägung der Operationskomplikationen) im ersten Lebensjahr durchzuführen. Die transplantierten Patienten in dieser Studie wurden jedoch bis auf zwei Ausnahmen erst nach Vollendung des ersten Lebensjahres transplantiert und zeigten insgesamt ein schlechtes neurologisches Outcome. Lediglich ein Patient ist als mäßig retardiert zu beurteilen, wohingegen vier Patienten als schwer und ein Patient als schwerst retardiert einzustufen sind. Bei den zwei im ersten Lebensjahr transplantierten Patienten reichte das Follow-up für eine Beurteilung der Entwicklung nicht aus. Interessant wäre eine weitere Analyse der aktuellen, in dieser Studie noch nicht erfassten Fälle aus den letzten Jahren, um ggf. eine ähnliche Entwicklung wie zur Transplantationshäufigkeit nun auch zum Zeitpunkt der Transplantation zu sehen. Dies wurde

beispielsweise von Batshaw et al. [10] bereits beschrieben, auch Kido et al. nannten 2021 einen Anteil von 50% Transplantationen im ersten Lebensjahr [19].

Lediglich eine Patientin aus dem gesamten Kollektiv erhielt vor Lebertransplantation eine Hepatozytentransfusion. Aufgrund der somit nur geringen Erfahrungswerte kann im Rahmen dieser Arbeit zu dieser Therapieoption keine weiterführende Beurteilung bzw. Diskussion erfolgen.

4.7.3 Medikamentöse Therapie

Bei Vergleich der Therapie der initialen Stoffwechsellentgleisung sowie der Dauertherapie zur Aufrechterhaltung der regelrechten NH_3 -Entgiftung zeigt sich bei den meisten Patienten ein überwiegend einheitliches, den Empfehlungen entsprechendes Vorgehen. Initial wurde beim Großteil der Patienten mit den verschiedenen Enzymdefekten (50-80% der jeweiligen Patienten mit EO- und LO-UCD, ausgenommen der Patienten, die via Neugeborenenenscreening identifiziert wurden) eine pharmakologische Kombinationstherapie mit NH_3 -bindenden Medikamenten (Natrium-Phenylbutyrat/Natrium-Phenylacetat und Natrium-Benzoesäure) durchgeführt. Nur wenige Patienten erhielten eine Monotherapie mit entweder Na-Phenylbutyrat oder Na-Benzoesäure. Nach Diagnosestellung wurden die meisten Patienten mit mindestens einem „*ammonia scavenging drug*“ (ASD) nach Hause entlassen, in der Regel handelte es sich hierbei um Na-Phenylbutyrat.

Im internationalen Vergleich unterscheidet sich die medikamentöse Therapie in unterschiedlicher Hinsicht. In ihrer Übersichtsarbeit aus Spanien nannten Martín Hernández et al. einen Gesamtanteil von 68% aller symptomatischer UCD-Patienten, die zum Zeitpunkt der Studie mit einem ASD behandelt wurden [21]. Dies ist ein deutlich geringerer Anteil im Vergleich zu dieser Studie, in der zu den unterschiedlichen Zeitpunkten lediglich etwa 10% der Patienten ohne eine entsprechende Therapie auskamen. Anzumerken ist jedoch, dass das mediane Alter der Patienten in der spanischen Studie 9,9 Jahre beträgt und in der vorliegenden Studie lediglich maximal die ersten fünf Jahre nach (überwiegend neonataler) Diagnosestellung beleuchtet wurden. Es ist denkbar, dass im weiteren Verlauf bei einigen Patienten die medikamentöse Therapie reduziert werden kann oder Patienten mit schwerer Manifestation, die unbedingt eine medikamentöse Therapie benötigen, im Rahmen von Stoffwechselkrisen versterben und dementsprechend in Analysen älterer Patienten in der Arbeit von Hernández nicht mehr berücksichtigt werden können. Auch die Zusammensetzung der UCD-Typen in den jeweiligen Studien scheint von großer Relevanz, da OTCDw-Patientinnen ebenfalls mit einem anderen Therapieregime behandelt werden.

Nettesheim et al. zeigten in einer Studie zur UCD-Krankheitsmanifestation in Deutschland, Österreich und der Schweiz aus den Jahren 2012 – 2015, dass alle EO-Patienten mit ASD

behandelt wurden, alle dieser Patienten erhielten Na-Benzoesäure und 50% zusätzlich eine Kombination mit Na-Phenylbutyrat bzw. Na-Phenylacetat [9]. Auch in einer europäischen Studie zu nicht-klassischen UCDs (mittleres Alter der Patienten 18,5 Jahre) wurde häufiger Na-Benzoesäure verabreicht (23% vs. 13% Na-Phenylbutyrat und 16% Kombinationstherapie), während hier 48% der Patienten keine medikamentöse Therapie benötigten [18]. In Spanien [21] und den USA [58] wurde hingegen, ebenso wie im hier vorliegenden Düsseldorfer Patientenkollektiv, deutlich häufiger Na-Phenylbutyrat verabreicht. Eine Monotherapie mit Na-Benzoesäure erfolgte nur in Einzelfällen.

Molema et al. beschrieben, dass im Rahmen einer medikamentösen Therapie mit Na-Phenylbutyrat ein erhöhtes Risiko für einen niedrigen Spiegel von verzweigtkettigen Aminosäuren vorliegt, sodass insbesondere bei diesen Patienten eine diätetische Substitutionstherapie mit einer Aminosäuremischung empfohlen wird (s.u.) [59].

4.7.4 Diät

Die Einhaltung einer Eiweißrestriktion zur Vermeidung einer Stickstoffakkumulation, bei ausreichender Zufuhr von Eiweiß und essenzieller Aminosäuren zur Gewährleistung eines guten Gedeihens der Patienten ist von großer Bedeutung. Insgesamt wird zusätzlich zur eiweißreduzierten Diät mittlerweile zunehmend synthetisches Protein in Form von essenziellen Aminosäuren (EAA) verwendet, wenngleich die Anwendung im internationalen Vergleich sehr uneinheitlich erfolgt [21, 59]. Die notwendige Restriktion bzw. Substitution wird von der Schwere des Enzymdefekts beeinflusst, und Patienten mit asymptomatischem ASSD (Diagnose über das Neugeborenenenscreening) benötigten überwiegend keine diätetische Therapie bzw. nur eine leichte Restriktion der Zufuhr von natürlichem Eiweiß. Im Verlauf der ersten fünf Jahre nach Diagnosestellung zeigt sich, dass bereits etwa zwei Drittel der ASSD- und OTCD-Patienten sowie die Hälfte der ASLD-Patienten mit der Kombination aus Restriktion der natürlichen Eiweißzufuhr und der Substitution von synthetischem Eiweiß bzw. EAA nach Hause entlassen werden, und im Verlauf noch einige Patienten, die zuvor lediglich natürliches Eiweiß zugeführt bekamen, zusätzlich synthetisches Eiweiß erhielten. Diese Therapieoption scheint im Verlauf des Beobachtungszeitraumes an Bedeutung gewonnen zu haben, da in den späteren Jahren bereits ein größerer Anteil der Patienten bereits nach der ersten Entgleisung auf diese Art ernährt wurde.

Stellt man die Eiweißzufuhr der EO-UCD-Patienten zu verschiedenen Zeitpunkten der durch die WHO/FAO/UN definierten täglichen Mindestproteinzufuhr gegenüber, so zeigt sich, dass die Kinder in der Regel diesen Empfehlungen entsprechend ernährt wurden, in manchen Fällen konnte bei guter Eiweißtoleranz auch eine etwas höhere Menge verabreicht werden.

Das Verhältnis von natürlichem und synthetischem Eiweiß bleibt über die Jahre des Follow-ups konstant (ca. 80% der Tagesgesamtzufuhr ist natürliches Eiweiß).

Molema et al. führten 2019 eine E-IMD-Analyse zur Evaluation der diätetischen Therapie bei 361 UCD-Patienten in den Jahren 2011 bis 2016 durch [59]. Hier zeigte sich, dass die Therapie mit natürlichem Eiweiß im Gesamtdurchschnitt aller Patienten in etwa den WHO-Empfehlungen der Eiweißzufuhr entsprach und die Gesamteiweißzufuhr häufig sogar über der empfohlenen Zufuhr lag. Einzelne Patienten erhielten eine sehr hohe Eiweißzufuhr (bis zu >200% der WHO-Empfehlungen), was nicht nur ein Risiko für Hyperammonämien, sondern auch für eine renale Schädigung birgt. Die Patienten in der vorliegenden Studie erhielten im Alter von einem Monat und einem Jahr in der Regel keine deutlich höhere Eiweißzufuhr als empfohlen, im Alter von 5 Jahren gibt es jedoch auch hier einzelne Ausreißer mit einer höheren Zufuhr (max. 166% der WHO-Empfehlung). Insgesamt entsprach die Gesamtzufuhr jedoch annähernd der empfohlenen Tagesmenge und der Anteil an natürlichem Eiweiß war dementsprechend geringer. In der E-IMD-Analyse wurde nur bei 32% der Patienten synthetisches Eiweiß in Form von Aminosäuremischungen (EAA) verwendet, während in dieser Studie zu den unterschiedlichen Zeitpunkten 68-83% aller Patienten synthetisches Eiweiß erhielten. Molema et al. beschrieben, dass durch die Substitution von EAA die Zufuhr an natürlichem Eiweiß gesenkt werden und dennoch ausreichende Plasmaspiegel von verzweigtkettigen Aminosäuren gemessen werden konnten und somit ein Benefit für die Patienten durch die Substitution vorliegt. Der mittlere Anteil der EAA am täglichen Gesamteiweiß lag bei den Patienten dieser Studie bei 21-27%, während bei den Patienten im E-IMD-Register mit 28-32% einen etwas höheren Anteil vorlag.

4.7.4 Weitere Therapieoptionen

Mittlerweile gibt es neben der pharmakologischen Therapie zur NH₃-Bindung bzw. der Substitution von Metaboliten des Harnstoffzyklus und der eiweißreduzierten Diät weitere therapeutische Optionen, die letztlich zur Neuroprotektion beitragen sollen. Hierzu gehören neben der Hepatozytentransfusion als Überbrückungstherapie bis zur Lebertransplantation (vgl. Kap. 4.7.2) Ansätze wie die Stammzelltherapie mittels Leberprogenitorzellen [60], Gentherapie oder die Enzyersatztherapie [15]. Auch eine systemische Hypothermiebehandlung wurde – analog zur Neuroprotektion beispielsweise bei Patienten mit peripartaler Asphyxie – bereits bei einigen Patienten durchgeführt [61, 62]. Auch auf biochemischer Ebene gibt es theoretische Therapieansätze (beispielsweise NMDA-Antagonisten, NOS-Inhibitoren und andere Eingriffe in die NH₃-vermittelten Signalwege), um die Auswirkungen der NH₃-Neurotoxizität zu reduzieren [4]. Alle diese Maßnahmen wurden für in dieser Studie untersuchten Patienten jedoch noch nicht eingesetzt. Größtenteils handelt es sich noch um experimentelle Ansätze bzw. Interventionen im Rahmen klinischer Studien. Es

ist abzuwarten, ob sich diese therapeutischen Optionen in Zukunft in der klinischen Praxis bewähren, zu einer Verbesserung der Prognose der UCD-Patienten führen und Einzug in Therapiestandards finden.

4.8 Reevaluation der neurokognitiven Entwicklung von Patienten mit ASSD

Um die Effekte des Neugeborenencreenings auf die Gruppe der ASSD Patienten besser beurteilen zu können, erfolgte eine Auswertung des Langzeit-Outcomes der ASSD-Patienten über die fünf Jahre des bereits erhobenen Follow-ups hinausging sowie eine Evaluation der seit Abschluss der Datenerhebung im Jahr 2012 neu diagnostizierten ASSD-Patienten. Die Analyse wurde auf die ASSD-Patienten beschränkt, da diese in der Studienpopulation die weitaus größte Gruppe ausgemacht haben. Kap. 3.6 stellt die wesentlichen Ergebnisse dieser Reevaluation dar. Es zeigte sich für die klassischen ASSD-Patienten klinisch ein Entwicklungsspektrum zwischen unauffälliger psychomotorischer Entwicklung und schwerster Pflegebedürftigkeit. Fast alle Patienten waren dauerhaft auf eine medikamentöse und diätetische Therapie angewiesen. Hinsichtlich der Patienten, welche durch das Neugeborenencreening diagnostiziert wurden sowie der LO-ASSD-Patientin, ergab sich auch weiterhin durchweg ein komplikationsloser Verlauf.

Nach Ende der Datenerhebung wurden nur wenige ASSD-Patienten neu diagnostiziert. Auffällig ist, dass es sich hierbei zu 80% (4 Patienten) um Patienten handelte, bei denen die Diagnose im Neugeborenencreening gestellt wurde und lediglich in einem Fall um eine klinische Diagnose nach metabolischer Entgleisung. Dies entspricht nicht dem Verhältnis zwischen klinischen und screeningbedingten Neudiagnosen aus dem ursprünglichen Erfassungszeitraum. Da das Neugeborenencreening auf Citrullinämie immer nur im Rahmen von Pilotprojekten einzelner Labore erfolgte, können keine klaren Aussagen über das Verhältnis zwischen milden (möglicherweise vollkommen asymptomatischen und sogenannten biochemischen Phänotypen) im Neugeborenencreening diagnostizierten und klinisch auffälligen, schwer betroffenen Patienten gemacht werden. Die Therapie der Entgleisung sowie die anschließende Dauertherapie entsprachen im Wesentlichen den oben beschriebenen Standards (ASD, Hämodialyse, Diät) und führten zu einem guten neurologischen Outcome in den ersten Lebensjahren. Zu vermuten ist, dass die biochemischen Phänotypen keiner Therapie bedürfen und durch das Neugeborenencreening nicht identifiziert werden sollten.

5 Schlussfolgerung

Harnstoffzyklusdefekte sind seltene Erkrankungen mit sehr unterschiedlichem klinischen Schweregrad. Fulminante, lebensbedrohliche Stoffwechsellentgleisungen sind möglich, besonders eine schwere neonatale Stoffwechselkrise ist mit einer schweren Entwicklungsstörung assoziiert. Ausschlaggebend für den Krankheitsverlauf ist primär die Schwere der initialen Hyperammonämie, jedoch auch die rezidivierenden Stoffwechsellentgleisungen im Verlauf scheinen einen Einfluss auf das neurologische Outcome zu haben. Zur Verbesserung der Prognose ist es unbedingt erforderlich, die Hyperammonämie möglichst frühzeitig zu diagnostizieren und effektiv mit früher Hämodialyse zu behandeln. Doch auch trotz einer zunehmend früheren Diagnosestellung, der Festlegung von Therapiestandards und Leitlinien, der niedrighschwelligeren Empfehlungen zur Durchführung einer extrakorporalen Detoxifizierung sowie der zunehmenden Inanspruchnahme der einzigen kurativen Therapieoption, der Lebertransplantation, und der allgemeinen Weiterentwicklung intensivmedizinischer Therapieoptionen, konnte im Beobachtungszeitraum von 1994 – 2012 keine wesentliche Verbesserung des Langzeit-Outcomes dieser Patienten erreicht werden.

Der Nutzen des Neugeborenen Screenings in Hinblick auf Harnstoffzyklusdefekte muss gründlich evaluiert werden. Während UCDs in einigen Ländern zum Katalog der Zielkrankheiten gehören, ist dies in Deutschland bis heute nicht der Fall. Ein Benefit des Screenings für Patienten mit ausgeprägter Enzymfunktionsstörung und entsprechend hohem Risiko für eine schwerwiegende Stoffwechsellentgleisung zeigte sich in dieser Studie nicht. Dies ist auch der Fall, da der Screeningbefund bei den fulminanten neonatalen Formen in der Regel erst nach Symptombeginn vorliegt. Vielmehr muss diskutiert werden, ob die durch das Screening diagnostizierten Patienten mit mildem/*late onset* oder sogar asymptomatischem Verlauf letztlich von der Diagnose im Screening profitiert haben und ob tatsächlich ein komplikationsreicherer Verlauf von ihnen abgewendet werden konnte. Für eine Reihe von „Patienten“ mit ASSD aus dem Neugeborenen Screening konnte auch in dieser Arbeit gezeigt werden, dass es sich vielmehr um isolierte biochemische Phänotypen vermutlich ohne klinische Relevanz handelt. Die Diagnose einer angeborenen Stoffwechselstörung mit unklarer klinischer Relevanz ist eine nicht notwendige Belastung für die betroffenen Patienten und ihre Eltern und rechtfertigt nicht die Aufnahme in den Katalog des Neugeborenen Screenings.

Eine Herausforderung für die Klinik stellt die unspezifische Symptomatik einer neonatalen Hyperammonämie dar, die häufig zu einer Verzögerung der Diagnosestellung führt. Dennoch ist an erster Stelle die rechtzeitige Ammoniakbestimmung und unmittelbare Einleitung einer adäquaten Therapie unter Einbezug aller intensivmedizinischen Optionen ausschlaggebend, um eine Hirnschädigung zu vermeiden. Eine Sensibilisierung von Neonatologen und

Geburtshelfern für die Differentialdiagnose „Stoffwechselentgleisung“ bei Trinkschwäche und Lethargie des Neugeborenen ist unumgänglich. Für den weiteren Verlauf sind zur Vermeidung rezidivierender hyperammoner Krisen die pharmakologische Langzeittherapie sowie die eiweißreduzierte Diät bedeutungsvoll. Auch hierdurch lässt sich jedoch bei vielen Patienten mit den aktuell zur Verfügung stehenden Therapieoptionen kein komplikationsloser Verlauf erreichen.

Zur Verbesserung der Prognose und des Langzeit-Outcomes von Patienten mit Harnstoffzyklusdefekten ist die Entwicklung zusätzlicher neuroprotektiver Therapieoptionen erforderlich. Wünschenswert sind standardisiertes Management und standardisierte Entwicklungsdiagnostik zur besseren Vergleichbarkeit des Outcomes. Prospektive Langzeitbeobachtungen von größeren Patientenkohorten sind notwendig, um sichere Prognosefaktoren festzulegen und um eindeutiger die Effektivität eines Neugeborenen Screenings für diese Patientengruppe zu beurteilen.

Literaturverzeichnis

1. Wijburg FA, Nassogne MC (2012) Disorders of the Urea Cycle and Related Enzymes. In: Saudubray, J. M., Berghe, G. van den, Walter, J. H. (Hrsg) Inborn Metabolic Diseases. Diagnosis and Treatment, 5. Aufl. Springer, S 297–310
2. Summar ML, Mew NA (2018) Inborn Errors of Metabolism with Hyperammonemia: Urea Cycle Defects and Related Disorders. *Pediatr Clin North Am* 65(2):231–246. doi:10.1016/j.pcl.2017.11.004
3. Cagnon L, Braissant O (2007) Hyperammonemia-induced toxicity for the developing central nervous system. *Brain Research Reviews* 56(1):183–197. doi:10.1016/j.brainresrev.2007.06.026
4. Braissant O, McLin VA, Cudalbu C (2013) Ammonia toxicity to the brain. *J Inherit Metab Dis* 36(4):595–612. doi:10.1007/s10545-012-9546-2
5. Burgard P, Kölker S, Haege G, Lindner M, Hoffmann GF (2016) Neonatal mortality and outcome at the end of the first year of life in early onset urea cycle disorders--review and meta-analysis of observational studies published over more than 35 years. *J Inherit Metab Dis* 39(2):219–229. doi:10.1007/s10545-015-9901-1
6. Saul W, Brusilow, Arthur L, Horwich (2011) Chapter 85: Urea Cycle Enzymes. In: David L. Valle, Stylianos Antonarakis, Andrea Ballabio, Arthur L. Beaudet, Grant A. Mitchell (Hrsg) *The Online Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease (OMMBID)*. Part 8: Amino Acids
7. Nicholas Ah Mew, Lauren Krivitzky, Robert McCarter, Mark Batshaw, Mendel Tuchman (2013) Clinical Outcomes of Neonatal Onset Proximal versus Distal Urea Cycle Disorders Do Not Differ. *The Journal of Pediatrics* 162(2):324-329.e1. doi:10.1016/j.jpeds.2012.06.065
8. Hediger N, Landolt MA, Diez-Fernandez C, Huemer M, Häberle J (2018) The impact of ammonia levels and dialysis on outcome in 202 patients with neonatal onset urea cycle disorders. *J Inherit Metab Dis* 41(4):689–698. doi:10.1007/s10545-018-0157-4
9. Nettesheim S, Kölker S, Karall D, Häberle J, Posset R, Hoffmann GF, Heinrich B, Gleich F, Garbade SF (2017) Incidence, disease onset and short-term outcome in urea cycle disorders -cross-border surveillance in Germany, Austria and Switzerland. *Orphanet J Rare Dis* 12(1). doi:10.1186/s13023-017-0661-x
10. Batshaw ML, Tuchman M, Summar M, Seminara J (2014) A longitudinal study of urea cycle disorders. *Mol Genet Metab* 113(1-2):127–130. doi:10.1016/j.ymgme.2014.08.001

11. Nagata N, Matsuda I, Oyanagi K (1991) Estimated frequency of urea cycle enzymopathies in Japan. *Am J Med Genet* 39(2):228–229. doi:10.1002/ajmg.1320390226
12. Keskinen P, Siitonen A, Salo M (2008) Hereditary urea cycle diseases in Finland. *Acta Paediatr* 97(10):1412–1419. doi:10.1111/j.1651-2227.2008.00923.x
13. Summar ML, Koelker S, Freedenberg D, Le Mons C, Haberle J, Lee H-S, Kirmse B (2013) The incidence of urea cycle disorders. *Mol Genet Metab* 110(1-2):179–180. doi:10.1016/j.ymgme.2013.07.008
14. Kölker S, Garcia-Cazorla A, Cazorla AG et al (2015) The phenotypic spectrum of organic acidurias and urea cycle disorders. Part 1: the initial presentation. *J Inherit Metab Dis* 38(6):1041–1057. doi:10.1007/s10545-015-9839-3
15. Häberle J, Burlina A, Chakrapani A, Dixon M, Karall D, Lindner M, Mandel H, Martinelli D, Pintos-Morell G, Santer R, Skouma A, Servais A, Tal G, Rubio V, Huemer M, Dionisi-Vici C (2019) Suggested guidelines for the diagnosis and management of urea cycle disorders: First revision. *J Inherit Metab Dis* 42(6):1192–1230. doi:10.1002/jimd.12100
16. Posset R, Garcia-Cazorla A, Valayannopoulos V, Teles EL, Dionisi-Vici C, Brassier A, Burlina AB, Burgard P, Cortès-Saladelafont E, Dobbelaere D, Couce ML, Sykut-Cegielska J, Häberle J, Lund AM, Chakrapani A, Schiff M, Walter JH, Zeman J, Vara R, Kölker S (2016) Age at disease onset and peak ammonium level rather than interventional variables predict the neurological outcome in urea cycle disorders. *J Inherit Metab Dis* 39(5):661–672. doi:10.1007/s10545-016-9938-9
17. Nassogne MC, Héron B, Touati G, Rabier D, Saudubray JM (2005) Urea cycle defects: Management and outcome. *J Inherit Metab Dis* 28(3):407–414. doi:10.1007/s10545-005-0303-7
18. Rügger CM, Lindner M, Ballhausen D, Baumgartner MR, Beblo S, Das A, Gautschi M, Glahn EM, Grünert SC, Hennermann J, Hochuli M, Huemer M, Karall D, Kölker S, Lachmann RH, Lotz-Havla A, Möslinger D, Nuoffer J-M, Plecko B, Rutsch F, Santer R, Spiekerkoetter U, Staufner C, Stricker T, Wijburg FA, Williams M, Burgard P, Häberle J (2014) Cross-sectional observational study of 208 patients with non-classical urea cycle disorders. *J Inherit Metab Dis* 37(1):21–30. doi:10.1007/s10545-013-9624-0
19. Kido J, Matsumoto S, Häberle J, Nakajima Y, Wada Y, Mochizuki N, Murayama K, Lee T, Mochizuki H, Watanabe Y, Horikawa R, Kasahara M, Nakamura K (2021) Long-term outcome of urea cycle disorders: report from a nationwide study in Japan. *J Inherit Metab Dis*. doi:10.1002/jimd.12384

20. Buerger C, Garbade SF, Dietrich Alber F, Waisbren SE, McCarter R, Kölker S, Burgard P (2019) Impairment of cognitive function in ornithine transcarbamylase deficiency is global rather than domain-specific and is associated with disease onset, sex, maximum ammonium, and number of hyperammonemic events. *J Inherit Metab Dis* 42(2):243–253. doi:10.1002/jimd.12013
21. Martín-Hernández E, Aldámiz-Echevarría L, Castejón-Ponce E, Pedrón-Giner C, Couce ML, Serrano-Nieto J, Pintos-Morell G, Bélanger-Quintana A, Martínez-Pardo M, García-Silva MT, Quijada-Fraile P, Vitoria-Miñana I, Dalmau J, Lama-More RA, Bueno-Delgado MA, Del Toro-Riera M, García-Jiménez I, Sierra-Córcoles C, Ruiz-Pons M, Peña-Quintana LJ, Vives-Piñera I, Moráis A, Balmaseda-Serrano E, Meavilla S, Sanjurjo-Crespo P, Pérez-Cerdá C (2014) Urea cycle disorders in Spain: an observational, cross-sectional and multicentric study of 104 cases. *Orphanet J Rare Dis* 9. doi:10.1186/s13023-014-0187-4
22. Jamiolkowski D, Kölker S, Glahn EM, Barić I, Zeman J, Baumgartner MR, Mühlhausen C, Garcia-Cazorla A, Gleich F, Haege G, Burgard P (2016) Behavioural and emotional problems, intellectual impairment and health-related quality of life in patients with organic acidurias and urea cycle disorders. *J Inherit Metab Dis* 39(2):231–241. doi:10.1007/s10545-015-9887-8
23. Uchino T, Endo F, Matsuda I (1998) Neurodevelopmental outcome of long-term therapy of urea cycle disorders in Japan. *J Inherit Metab Dis* 21(S1):151–159. doi:10.1023/A:1005374027693
24. Bigot A, Tchan MC, Thoreau B, Blasco H, Maillot F (2017) Liver involvement in urea cycle disorders: a review of the literature. *J Inherit Metab Dis* 40(6):757–769. doi:10.1007/s10545-017-0088-5
25. Kölker S, Valayannopoulos V, Burlina AB et al (2015) The phenotypic spectrum of organic acidurias and urea cycle disorders. Part 2: the evolving clinical phenotype. *J Inherit Metab Dis* 38(6):1059–1074. doi:10.1007/s10545-015-9840-x
26. Summar ML, Dobbelaere D, Brusilow S, Lee B (2008) Diagnosis, symptoms, frequency and mortality of 260 patients with urea cycle disorders from a 21-year, multicentre study of acute hyperammonaemic episodes. *Acta Paediatrica* 97(10):1420–1425. doi:10.1111/j.1651-2227.2008.00952.x
27. Rufenacht V, Häberle J (2015) Mini-Review: Challenges in Newborn Screening for Urea Cycle Disorders. *Int J Neonatal Screen* 1(1):27–35. doi:10.3390/ijns1010027
28. Lindner M, Gramer G, Haege G, Fang-Hoffmann J, Schwab KO, Tacke U, Trefz FK, Mengel E, Wendel U, Leichsenring M, Burgard P, Hoffmann GF (2011) Efficacy and

- outcome of expanded newborn screening for metabolic diseases--report of 10 years from South-West Germany. *Orphanet J Rare Dis* 6. doi:10.1186/1750-1172-6-44
29. Bachmann C (2003) Long-term outcome of patients with urea cycle disorders and the question of neonatal screening. *European Journal of Pediatrics* 162(1):S29-S33. doi:10.1007/s00431-003-1347-z
 30. Mercimek-Mahmutoglu S, Moeslinger D, Häberle J, Engel K, Herle M, Strobl MW, Scheibenreiter S, Muehl A, Stöckler-Ipsiroglu S (2010) Long-term outcome of patients with argininosuccinate lyase deficiency diagnosed by newborn screening in Austria. *Mol Genet Metab* 100(1):24–28. doi:10.1016/j.ymgme.2010.01.013
 31. Loeber JG, Burgard P, Cornel MC, Rigter T, Weinreich SS, Rupp K, Hoffmann GF, Vittozzi L (2012) Newborn screening programmes in Europe; arguments and efforts regarding harmonization. Part 1. From blood spot to screening result. *J Inherit Metab Dis* 35(4):603–611. doi:10.1007/s10545-012-9483-0
 32. Wilcken B, Haas M, Joy P, Wiley V, Bowling F, Carpenter K, Christodoulou J, Cowley D, Ellaway C, Fletcher J, Kirk EP, Lewis B, McGill J, Peters H, Pitt J, Ranieri E, Yapfite-Lee J, Boneh A (2009) Expanded newborn screening: outcome in screened and unscreened patients at age 6 years. *Pediatrics* 124(2):e241-8. doi:10.1542/peds.2008-0586
 33. Auray-Blais C, Boutin M, Lavoie P, Maranda B (2021) Neonatal Urine Screening Program in the Province of Quebec: Technological Upgrade from Thin Layer Chromatography to Tandem Mass Spectrometry. *Int J Neonatal Screen* 7(1). doi:10.3390/ijns7010018
 34. Merritt JL, Brody LL, Pino G, Rinaldo P (2018) Newborn screening for proximal urea cycle disorders: Current evidence supporting recommendations for newborn screening. *Mol Genet Metab* 124(2):109–113. doi:10.1016/j.ymgme.2018.04.006
 35. Staretz-Chacham O, Daas S, Ulanovsky I et al (2021) The role of orotic acid measurement in routine newborn screening for urea cycle disorders. *J Inherit Metab Dis* 44(3):606–617. doi:10.1002/jimd.12331
 36. Msall M, Batshaw ML, Suss R, Brusilow SW, Mellits ED (1984) Neurologic outcome in children with inborn errors of urea synthesis. Outcome of urea-cycle enzymopathies. *N Engl J Med* 310(23):1500–1505. doi:10.1056/NEJM198406073102304
 37. Rajabi F, Rodan LH, Jonas MM, Soul JS, Ullrich NJ, Wessel A, Waisbren SE, Tan W-H, Berry GT (2018) Liver Failure as the Presentation of Ornithine Transcarbamylase Deficiency in a 13-Month-Old Female. *JIMD Rep* 40:17–22. doi:10.1007/8904_2017_55

38. Enns GM, Berry SA, Berry GT, Rhead WJ, Brusilow SW, Hamosh A (2007) Survival after treatment with phenylacetate and benzoate for urea-cycle disorders. *N Engl J Med* 356(22):2282–2292. doi:10.1056/NEJMoa066596
39. Berry SA, Longo N, Diaz GA, McCandless SE, Smith WE, Harding CO, Zori R, Ficicioglu C, Lichter-Konecki U, Robinson B, Vockley J (2017) Safety and efficacy of glycerol phenylbutyrate for management of urea cycle disorders in patients aged 2 months to 2 years. *Mol Genet Metab* 122(3):46–53. doi:10.1016/j.ymgme.2017.09.002
40. Berry SA, Vockley J, Vinks AA, Dong M, Diaz GA, McCandless SE, Smith WE, Harding CO, Zori R, Ficicioglu C, Lichter-Konecki U, Perdok R, Robinson B, Holt RJ, Longo N (2018) Pharmacokinetics of glycerol phenylbutyrate in pediatric patients 2 months to 2 years of age with urea cycle disorders. *Mol Genet Metab* 125(3):251–257. doi:10.1016/j.ymgme.2018.09.001
41. Diaz GA, Krivitzky LS, Mokhtarani M, Rhead W, Bartley J, Feigenbaum A, Longo N, Berquist W, Berry SA, Gallagher R, Lichter-Konecki U, Bartholomew D, Harding CO, Cederbaum S, McCandless SE, Smith W, Vockley G, Bart SA, Korson MS, Kronn D, Zori R, Merritt II JL, C.S. Nagamani S, Mauney J, Lemons C, Dickinson K, Moors TL, Coakley DF, Scharschmidt BF, Lee B (2013) Ammonia control and neurocognitive outcome among urea cycle disorder patients treated with glycerol phenylbutyrate. *Hepatology* 57(6):2171–2179. doi:10.1002/hep.26058
42. Häberle J, Rubio V (2014) Hyperammonemias and Related Disorders. In: Blau N, Duran M, Gibson KM, Dionisi Vici C (Hrsg) *Physician's Guide to the Diagnosis, Treatment, and Follow-Up of Inherited Metabolic Diseases*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, S 47–62
43. WHO Technical Report Series (2007) *Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition*. Report of a Joint WHO/FAO/UNU Expert Consultation
44. Kim IK, Niemi A-K, Krueger C, Bonham CA, Concepcion W, Cowan TM, Enns GM, Esquivel CO (2013) Liver transplantation for urea cycle disorders in pediatric patients: a single-center experience. *Pediatr Transplant* 17(2):158–167. doi:10.1111/petr.12041
45. Morioka D, Kasahara M, Takada Y, Shirouzu Y, Taira K, Sakamoto S, Uryuhara K, Egawa H, Shimada H, Tanaka K (2005) Current role of liver transplantation for the treatment of urea cycle disorders: A review of the worldwide English literature and 13 cases at Kyoto University. *Liver Transplantation* 11(11):1332–1342. doi:10.1002/lt.20587
46. Posset R, Gropman AL, Nagamani SCS, Burrage LC, Bedoyan JK, Wong D, Berry GT, Baumgartner MR, Yudkoff M, Zielonka M, Hoffmann GF, Burgard P, Schulze A, McCandless SE, Garcia-Cazorla A, Seminara J, Garbade SF, Kölker S (2019) Impact of

Diagnosis and Therapy on Cognitive Function in Urea Cycle Disorders. *Ann Neurol* 86(1):116–128. doi:10.1002/ana.25492

47. Unsinn C, Das A, Valayannopoulos V, Thimm E, Beblo S, Burlina A, Konstantopoulou V, Mayorandan S, Lonlay P de, Rennecke J, Derbinski J, Hoffmann GF, Häberle J (2016) Clinical course of 63 patients with neonatal onset urea cycle disorders in the years 2001-2013. *Orphanet J Rare Dis* 11(1). doi:10.1186/s13023-016-0493-0
48. Meyburg J, Opladen T, Spiekerkötter U, Schlune A, Schenk J-P, Schmidt J, Weitz J, Okun J, Bürger F, Omran TB, Abdoh G, Al Rifai H, Monavari A, Konstantopoulou V, Kölker S, Yudkoff M, Hoffmann GF (2018) Human heterologous liver cells transiently improve hyperammonemia and ureagenesis in individuals with severe urea cycle disorders. *J Inher Metab Dis* 41(1):81–90. doi:10.1007/s10545-017-0097-4
49. European Medicines Agency (2015) Assessment Report: Heparesc. Procedure No. EMEA/H/C/003750/0000.
<https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/heparesc>. Zugegriffen: 05. März 2022
50. McBride KL, Miller G, Carter S, Karpen S, Goss J, Lee B (2004) Developmental outcomes with early orthotopic liver transplantation for infants with neonatal-onset urea cycle defects and a female patient with late-onset ornithine transcarbamylase deficiency. *Pediatrics* 114(4):e523-6. doi:10.1542/peds.2004-0198
51. Silvera-Ruiz SM, Arranz JA, Häberle J, Angaroni CJ, Bezard M, Guelbert N, Becerra A, Peralta F, Kremer RD de, Laróvere LE (2019) Urea cycle disorders in Argentine patients: clinical presentation, biochemical and genetic findings. *Orphanet J Rare Dis* 14(1):203. doi:10.1186/s13023-019-1177-3
52. Bijarnia-Mahay S, Häberle J, Jalan AB, Puri RD, Kohli S, Kudalkar K, Rüfenacht V, Gupta D, Maurya D, Verma J, Shigematsu Y, Yamaguchi S, Saxena R, Verma IC (2018) Urea cycle disorders in India: clinical course, biochemical and genetic investigations, and prenatal testing. *Orphanet J Rare Dis* 13(1):174. doi:10.1186/s13023-018-0908-1
53. (2019) Neugeborenen-Screening auf angeborene Stoffwechselstörungen, Endokrinopathien, schwere kombinierte Immundefekte (SCID), Sichelzellkrankheit, 5q-assoziierte spinale Muskelatrophie (SMA) und Mukoviszidose. S2k-Leitlinie der Fachgesellschaften GNPI, DGNS, DGPM, DGKJ, DGGG, DGKED, DGHW, DHV, GPP, GNP, GPOH, API, BVKJ. <https://www.awmf.org/leitlinien/detail/II/024-012.html>. Zugegriffen: 27.02.22
54. Wilson JMG, Jungner G, World Health Organization (1968) Principles and practice of screening for disease

55. Veltman TR, Tsai CJ, Gomez-Ospina N, Kanan MW, Chu G (2020) Point-of-Care Analysis of Blood Ammonia with a Gas-Phase Sensor. *ACS Sens* 5(8):2415–2421. doi:10.1021/acssensors.0c00480
56. Waisbren SE, Cuthbertson D, Burgard P, Holbert A, McCarter R, Cederbaum S (2018) Biochemical markers and neuropsychological functioning in distal urea cycle disorders. *J Inherit Metab Dis* 41(4):657–667. doi:10.1007/s10545-017-0132-5
57. Diez-Fernandez C, Hertig D, Loup M, Diserens G, Henry H, Vermathen P, Nuoffer J-M, Häberle J, Braissant O (2019) Argininosuccinate neurotoxicity and prevention by creatine in argininosuccinate lyase deficiency: An in vitro study in rat three-dimensional organotypic brain cell cultures. *J Inherit Metab Dis* 42(6):1077–1087. doi:10.1002/jimd.12090
58. Mendel Tuchman, Brendan Lee, Uta Lichter-Konecki, Marshall L. Summar, Marc Yudkoff, Stephen D. Cederbaum, Douglas S. Kerr, George A. Diaz, Margaretta R. Seashore, Hye-Seung Lee, Robert J. McCarter, Jeffrey P. Krischer, Mark L. Batshaw (2008) Cross-sectional multicenter study of patients with urea cycle disorders in the United States. *Mol Genet Metab* 94(4):397–402. doi:10.1016/j.ymgme.2008.05.004
59. Molema F, Gleich F, Burgard P, van der Ploeg AT, Summar ML, Chapman KA, Barić I, Lund AM, Kölker S, Williams M (2019) Evaluation of dietary treatment and amino acid supplementation in organic acidurias and urea-cycle disorders: On the basis of information from a European multicenter registry. *J Inherit Metab Dis* 42(6):1162–1175. doi:10.1002/jimd.12066
60. Sokal EM (2014) Treating inborn errors of liver metabolism with stem cells: current clinical development. *J Inherit Metab Dis* 37(4):535–539. doi:10.1007/s10545-014-9691-x
61. Lichter-Konecki U, Nadkarni V, Moudgil A, Cook N, Poeschl J, Meyer MT, Dimmock D, Baumgart S (2013) Feasibility of adjunct therapeutic hypothermia treatment for hyperammonemia and encephalopathy due to urea cycle disorders and organic acidemias. *Mol Genet Metab* 109(4):354–359. doi:10.1016/j.ymgme.2013.05.014
62. Whitelaw A, Bridges S, Leaf A, Evans D (2001) Emergency treatment of neonatal hyperammonaemic coma with mild systemic hypothermia. *The Lancet* 358(9275):36–38. doi:10.1016/S0140-6736(00)05269-7

Anhang

Alter	Ammoniakkonzentration*
Neugeborenes / 1 – 6 Tage	30-144 µmol/l (51-245 µg/dl)
Kinder	24-48 µmol/l (40-80 µg/dl)
Erwachsene (w)	11-48 µmol/l (19-82 µg/dl)
Erwachsene (m)	15-55 µmol/l (25-94 µg/dl)

Tabelle 17: **Altersspezifische Normwerte für Ammoniak**

Modifiziert nach https://www.springermedizin.de/emedpedia/paediatric/paediatrisch-relevante-referenzwerte-klinische-chemie?epediaDoi=10.1007%2F978-3-642-54671-6_352 (letzter Zugriff: 08.02.22)

*Umrechnung: µg/dl x 0,59 = µmol/l

Alter	1 Mo	2 Mo	3 Mo	6-12 Mo	1-10 J	11-16 J	>16 J
Eiweißzufuhr [g/kg/d]	1,77	1,5	1,36	1,31	0,92-1,14	0,84-0,90	0,84-0,87

Tabelle 18: **WHO/FAO/UN 2007 safe levels of protein intake**

Altersspezifische Mittelwerte + 2 SD, modifiziert nach [43]

Danksagung

Hiermit möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. Ute Spiekerkötter für die Vergabe des interessanten Themas bedanken, sowie für ihre Bereitwilligkeit, mich bei der Beendigung dieser Arbeit trotz der mittlerweile weiten Entfernung und vergangenen Zeit zu unterstützen.

Frau Dr. Eva Thimm danke ich ganz besonders für ihre interessierte und kompetente Unterstützung. Die vielen Ratschläge und ihre konstruktive Kritik haben mir sehr geholfen, ebenso wie die Motivation, die ich insbesondere nach Beginn meiner ärztlichen Tätigkeit in der Klinik von Zeit zu Zeit brauchte, um neben dem Arbeitsalltag mit seinen unzähligen Nachtdiensten an dieser Dissertation weiterzuarbeiten und sie abzuschließen.

Den Ärzten und Mitarbeitern der Stoffwechselambulanz der Universitätskinderklinik Düsseldorf möchte ich für die angenehme und hilfsbereite Arbeitsatmosphäre während meiner Datenerhebung danken, sowie für den Einbezug in ihre klinische Tätigkeit im Rahmen der Famulatur zu Beginn meiner Promotion, um über die Akten hinaus einen Eindruck von einigen Patienten und der Bedeutung ihrer Erkrankungen zu gewinnen.

Meinen Eltern danke ich selbstverständlich für ihre vielseitige Unterstützung während meines gesamten Studiums (und auch anschließend) – aber auch dafür, dass sie immer ein offenes Ohr für mich hatten und die ein oder andere Laune geduldig aushielten. Insbesondere meinem Vater bin ich für seine hilfreichen Ratschläge sehr dankbar, und nicht zuletzt von so einigen unserer früheren gemeinsamen Autofahrten habe ich sicherlich noch länger profitiert.

Meinem Freund Yair danke ich nicht nur für die hilfreichen Erklärungen bei verschiedenen Laienfragen zum Thema Excel und Statistik, sondern vor allem auch für die moralische Unterstützung zum Durchhalten in den letzten Zügen dieser Arbeit (*gracias!*).