

Aus der Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen  
Kinderspital der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h.c. D. Reinhardt

**Kupferspiegel im Serum von Kindern unter  
parenteraler Ernährung**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Siv Maike Nilewski  
aus  
Eckernförde  
Jahr  
2009

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. med. R. Eife
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. L. von Meyer PD Dr. M. Angstwurm
Dekan:	Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR
Tag der mündlichen Prüfung:	17.12.2009

*Meinen Eltern  
in tiefer Dankbarkeit*



---

<b>2.7.Kupfer und parenterale Ernährung .....</b>	<b>37</b>
2.7.1.Indikationen .....	37
2.7.2.Parenterale Ernährung bei Frühgeborenen .....	37
2.7.3.Parenterale Ernährung in der pädiatrischen Onkologie .....	38
2.7.4.Empfehlungen für die parenterale Kupferzufuhr .....	38
2.7.5.Präparate .....	40
2.7.6.Stoffwechsel parenteral zugeführten Kupfers .....	41
2.7.7.VPE-induzierte Hepatopathie .....	41
2.7.7.1. Definition .....	41
2.7.7.2. Häufigkeit .....	42
2.7.7.3. Pathogenese .....	42
2.7.7.4. Risikofaktoren allgemein .....	42
2.7.7.5. Kupfer als Risikofaktor für die VPE-assoziierte Hepatopathie ? .....	43
2.7.7.6. Überwachung der Therapie .....	44
2.7.7.7. Prävention und Therapie .....	44
<b>3. PATIENTEN UND METHODIK .....</b>	<b>46</b>
<b>3.1.Patienten der prospektiven Studie .....</b>	<b>46</b>
<b>3.2.Patienten der retrospektiven Studie .....</b>	<b>47</b>
<b>3.3.Zuordnung der Patienten zu den Behandlungsgruppen .....</b>	<b>48</b>
3.3.1.Studienprotokoll .....	52
<b>3.4.Mess- und Berechnungsmethoden .....</b>	<b>58</b>
3.4.1.Betrachtete Kupfermessgrößen .....	58
3.4.2.Klinische Relevanz des $\Delta\text{Cu}$ -Wertes .....	64
3.4.3.Bestimmungsmethoden im Labor .....	65
3.4.3.1. Die quantitative Bestimmung des Kupfers .....	65
3.4.3.2. Die quantitative Bestimmung des Coeruloplasmins .....	65
3.4.4.Dokumentation der Daten .....	66
<b>3.5.Datenauswertung .....</b>	<b>67</b>
3.5.1.Bestimmung der Mittelwerte der Extremwerte .....	67
3.5.2.Bestimmung der durchschnittlichen Mittelwerte .....	67

---

3.5.3. Auswertung der grafischen Darstellung von Extrem- und Mittelwerten .....	68
3.5.4. Prüfung auf Signifikanz.....	68
<b>4. ERGEBNISSE .....</b>	<b>69</b>
<b>4.1. Mittelwerte und Extremwerte des <math>\Delta\text{Cu}</math> in der Gesamtstudie .....</b>	<b>70</b>
4.1.1. Die $\Delta\text{Cu}$ -Extremwerte .....	70
4.1.2. Die Mittelwerte der $\Delta\text{Cu}$ -Maxima .....	70
4.1.3. Die Mittelwerte der $\Delta\text{Cu}$ -Minima .....	73
4.1.4. Die mittlere durchschnittliche $\Delta\text{Cu}$ -Konzentration.....	75
4.1.5. Die Mittelwerte der durchschnittlichen $\Delta\text{Cu}$ -Werte in den verschiedenen Substitutionsphasen .....	75
4.1.6. Die Mittelwerte der durchschnittlichen $\Delta\text{Cu}$ -Werte in den verschiedenen Substitutionsgruppen .....	78
4.1.7. Auswertung der grafischen Darstellung von Extrem- und Mittelwerten .....	80
4.1.8. Abweichungen des $\Delta\text{Cu}$ der Substitutionsgruppen von dem der Kontrollgruppe .....	82
4.1.9. Exemplarische Einzelbetrachtungen .....	84
4.1.10. Prüfung auf Signifikanz.....	87
<b>4.2. Analysen anhand der Gesamtzahl aller Messungen .....</b>	<b>88</b>
4.2.1. Methodische Abweichungen.....	88
4.2.2. Beschreibung, Wertung und Deutung der Untersuchungsergebnisse der Gesamtgruppe .....	92
<b>4.3. Selektive Auswertung der randomisierten onkologischen Studie (Studie A).....</b>	<b>95</b>
4.3.1. Mittelwerte und Mediane der Kupfermessgrößen der Studie A ...	95
4.3.2. Beschreibung und Bewertung der Ergebnisse der Studie A.....	98
4.3.2.1. Teil 1 der Tabelle 4.3.....	98
4.3.2.2. Teil 2 der Tabelle 4.3.....	99
4.3.3. Statistische Signifikanz des $\Delta\text{Cu}$ -Anstiegs unter Cu-Subst .....	102

---

<b>4.4. Beschreibung und Bewertung der Studie B.....</b>	<b>103</b>
<b>4.5. Beschreibung und Bewertung der Studie C.....</b>	<b>106</b>
<b>5. DISKUSSION .....</b>	<b>109</b>
<b>5.1. Überkupferung des Organismus durch erhöhte Zufuhr oder Ablagerung von Kupfer.....</b>	<b>109</b>
5.1.1. Überkupferung durch erhöhte Zufuhr mit der Nahrung.....	109
5.1.2. Überkupferung durch verminderte Ausscheidung .....	110
5.1.3. Überkupferung durch therapeutische Kupfergaben.....	110
5.1.4. Überkupferung durch Kupfersubstitution .....	113
<b>5.2. Die verlässliche Erkennung einer Überkupferung.....</b>	<b>114</b>
5.2.1. Das Prinzip der Nachweismethode .....	114
5.2.2. Die Verlässlichkeit der $\Delta$ Cu-Berechnungsmethode .....	116
<b>5.3. Kritische Betrachtungen zur Patientenauswahl .....</b>	<b>116</b>
<b>5.4. Kritische Beurteilung der Gewinnung der Blutproben.....</b>	<b>119</b>
5.4.1. Die Methodik der Probennahme.....	119
5.4.2. Zeitpunkt der Probennahme .....	120
<b>5.5. Störfaktoren, welche die Messungen und Berechnungen beeinflussen können .....</b>	<b>121</b>
5.5.1. Hämolyse .....	122
5.5.2. Wechsel der Analysemethoden des Labors .....	123
5.5.3. Fehler bei der Ermittlung des aktuellen Cu/Cpl-Koeffizienten ...	124
<b>5.6. Die Abgrenzung der Pseudohypercuprämie von der „echten“ Hypercuprämie .....</b>	<b>127</b>
<b>5.7. Die Interpretation der Messergebnisse.....</b>	<b>129</b>
<b>5.8. Statistische Signifikanz und Plausibilität der Ergebnisse .....</b>	<b>131</b>
5.8.1. Testung auf Signifikanz .....	131
5.8.2. Die Plausibilität der Ergebnisse.....	133
5.8.2.1. Ergebnisse anderer Studien .....	134
<b>5.9. Aktuelle Studienlage .....</b>	<b>136</b>

---

5.9.1. Empfehlungen zur Substitutionsdosis des Kupfers bei VPE.....	136
5.9.1.1. Tatsächlich gegebene Dosen im Vergleich zur offiziell empfohlenen Dosierung.....	136
5.9.2. VPE-induzierte Hepatopathie .....	138
<b>5.10. Schlussfolgerungen aus den Ergebnissen dieser Arbeit .....</b>	<b>139</b>
<b>6. ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>140</b>
<b>7. ANHANG.....</b>	<b>142</b>
<b>7.1. Literaturverzeichnis.....</b>	<b>142</b>
<b>7.2. Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>148</b>
<b>7.3. Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>149</b>
<b>7.4. Abkürzungen und Synonyme .....</b>	<b>150</b>
<b>7.5. Danksagung .....</b>	<b>153</b>
<b>7.6. Lebenslauf.....</b>	<b>154</b>

## **1. EINLEITUNG**

Bei der parenteralen Ernährung werden zur Substitution von Spurenelementen Präparate verwendet, die auch den Kupferbedarf der Patienten decken sollen. Nun ist Kupfer einerseits ein lebensnotwendiges Element, andererseits aber auch ein hochtoxischer Stoff, der außer den bekannten akuten Vergiftungen auch – wie sich in den vergangenen Jahren herausgestellt hat – bisher unbekannte, ja nicht einmal für möglich gehaltene chronische Vergiftungen auslösen kann. Die Vergiftungen waren für eine Reihe von Forschergruppen der Anlass, sich in letzter Zeit intensiv mit dem Kupferstoffwechsel des Menschen zu beschäftigen. Dabei wurden Beobachtungen gemacht, die einerseits zum besseren Verständnis des Kupferstoffwechsels geführt haben, die aber andererseits auch zu einigen der bisherigen Vorstellungen im Widerspruch stehen. So wurde zum Beispiel festgestellt, dass der Kupferbedarf des Menschen erheblich geringer ist, als früher angenommen wurde, und dass die Messung der Kupferkonzentration im Serum allein keine verlässliche Aussage darüber zulässt, ob der betreffende Patient kupferüberladen, also vergiftet ist oder nicht. Auch wurden bei Anwendung neu entwickelter Messverfahren bei einzelnen Patienten u.a. der Onkologischen Abteilung der Kinderklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital unter parenteraler Therapie unerwartet hohe Serumkupferkonzentrationen gefunden.

Die Einzelbeobachtungen bei Patienten und die Erkenntnis, dass der Kupferbedarf des Menschen geringer ist, als früher angenommen wurde, waren der Anlass für diese Arbeit. Sie hat zum Ziel, die Serumkupferspiegel unter einer Kupfersubstitution zu überprüfen und einen eventuell unter der Substitution entstehenden Kupferüberschuss zu messen. Die Arbeit schien praktisch durchführbar, weil inzwischen eine neue Messmethode zur quantitativen Bestimmung eines Kupferüberschusses im Serum entwickelt worden war. In der Arbeit sollte die Anwendbarkeit dieser Messmethode in der klinischen Routine überprüft und die Kupfersubstitution in Verbindung mit der parenteralen Ernährung kritisch bewertet werden.

In dieser Arbeit wird also systematisch untersucht, ob

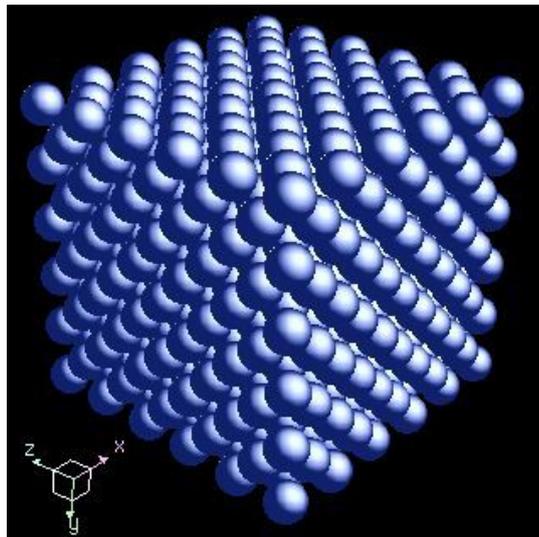
1. eine parenterale Ernährung mit Kupfersubstitution sich auf die Kupfermessgrößen im Serum von Patienten im Kindesalter auswirkt und
2. der Kupfergehalt der zur parenteralen Ernährung von Kindern verwendeten Spurenelementpräparate adäquat ist.

Der Beschreibung und Auswertung der Untersuchungen dieser Arbeit (Kapitel 3 bis 5) wird eine Übersicht über das Element Kupfer und seiner Salze aus medizinischer Sicht vorangestellt (Kapitel 2).

## **2. KUPFER AUS MEDIZINISCHER SICHT**

### **2.1. IDENTITÄT UND STRUKTUR DES KUPFERS**

Kupfer, das 29. Element im Periodensystem, verfügt über vier Oxidationsstufen:  $\text{Cu}^0$  (metallisches Kupfer),  $\text{Cu}^+$  (einwertiges Kupferion),  $\text{Cu}^{2+}$  (zweiwertiges Kupferion),  $\text{Cu}^{3+}$  (dreiwertiges Kupferion) und besitzt eine relative Molekularmasse von 63,55 [33]. Es kommt ubiquitär vor und lässt sich in einer großen Anzahl von Mineralsalzen und organischen Verbindungen nachweisen und sowohl in elementarer als auch in metallener Form finden [15]. Als physikalische Eigenschaften des Kupfers sind ein Siedepunkt von 2567 °C, ein Schmelzpunkt von 1083,4 °C und ein Übergang in die gasförmige Phase bei 1.33 kPa und 1870°C zu nennen. Kupfer ist in seiner ungebundenen Form nicht in Wasser löslich und bildet in festem Zustand eine kubische Kristallstruktur [33] (siehe Abbildung 2.1)



**Abbildung 2.1: Struktur des Kupfers [73]**

## 2.2. FUNKTION DES KUPFERS IM MENSCHLICHEN ORGANISMUS

Kupfer ist wesentlicher Bestandteil vieler enzymatischer und struktureller Proteine. Anhand von Studien konnte belegt werden, dass eine bedeutende Anzahl kupferhaltiger Proteine über eine Redox-Aktivität verfügt und Kupfer hierbei die Funktion der Elektronenübertragung zukommt [68].

Weiterhin wurde bestätigt, dass Kupfer essentieller Co-Faktor für folgende *Oxidoreduktasen* ist:

- *Superoxid-Dismutase 1 (SOD1)*
- *Cytochrom-c-Oxidase (COX)*
- *Coeruloplasmin (Cpl)*

Das Enzym *Superoxid-Dismutase 1* befindet sich im Cytoplasma, wo es die Eliminierung hochgiftiger Superoxidanionen katalysiert. Superoxidanionen entstehen z.B. in Erythrozyten im Rahmen der dort ständig stattfindenden Autoxidationen (Anlagerung des Sauerstoffs an Hämoglobin → Methämoglobinbildung). Durch die *SOD 1* werden diese Superoxidanionen nach der Gleichung:  $2\text{O}_2^- + 2\text{H}^+ \leftrightarrow \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2$  zu Wasserstoffperoxid reduziert und können dann von Peroxidasen zu  $\text{H}_2\text{O}$  und  $\text{O}_2$  entgiftet werden.

Die *Cytochrom-c-Oxidase* ist ein Proteinkomplex, der an der Innenseite der Mitochondrienmembran lokalisiert ist. Sie katalysiert die Reduktion molekularen Sauerstoffs zu Wasser nach der Gleichung:  $2 \text{Cytochrom } c_{\text{red}} + \frac{1}{2} \text{O}_2 + 2\text{H}^+ \rightarrow 2 \text{Cytochrom } c_{\text{ox}} + \text{H}_2\text{O}$  und benutzt dabei freiwerdende Energie, um einen transmembranen Protonengradienten zu erzeugen. Die Untereinheit 1 der *COX* enthält zwei am Elektronentransport beteiligte Kupferatome, die Untereinheit 2 ein weiteres Kupferatom.

Die Oxidase *Coeruloplasmin (Cpl)* besitzt sechs Kupferatome; auf sie lässt sich nahezu der gesamte Cu-Gehalt des Serums zurückführen. Cpl katalysiert den Oxidationsprozess von zweiwertigem zu dreiwertigem Eisen und

stellt somit die molekulare Verbindung zwischen Eisen- und Kupferstoffwechsel dar.

Weiterhin ist Cpl an der Oxidation aromatischer Diamine wie Adrenalin, Noradrenalin, Serotonin und Melatonin beteiligt und transportiert Kupfer von der Leber in periphere Gewebe [68].

Kupfer zeigt außerdem aktivierende, sowie unterdrückende Wirkung im Transkriptionsprozess und ist so an dessen Regulation beteiligt [68]. Es spielt außerdem eine Rolle in der Angiogenese, der Myelinisierung von Nerven und der Wirkung von Endorphinen [65].

Tabelle 2.1 gibt einen Überblick über die verschiedenen kupferhaltigen Enzyme und Proteine, sowie deren Funktion im menschlichen Organismus.

<b>Kupferhaltiges Enzym/ Protein</b>	<b>Funktion</b>
<i>Aminosäure-Oxidase</i>	<u>Aminosäure-Stoffwechsel</u> : irreversible Desaminierung von Aminosäuren durch Dehydrierung
<i>Cytochrom-c-Oxidase</i>	<u>Atmungskette in Mitochondrien</u> : Katalyse der Reduktion von O <sub>2</sub> zu Wasser
<i>Diaminoxidasen</i>	<u>Amin-Stoffwechsel</u> : Dehydration von Aminen mit zwei Aminogruppen zu Iminen
<i>Dopamin-β-Hydroxylase</i>	<u>Katecholamin-Stoffwechsel</u> : Bildung von Noradrenalin aus Dopamin im Nebennierenmark
<i>Coeruloplasmin/ Ferrioxidase I</i>	<u>Eisen-Stoffwechsel</u> : Oxidation von Fe <sup>2+</sup> zu Fe <sup>3+</sup> <u>Katecholamin-Stoffwechsel</u> : Oxidation aromatischer Diamine wie Adrenalin, Noradrenalin, Serotonin und Melatonin
<i>Ferrioxidase II</i>	<u>Eisen-Stoffwechsel</u> : Oxidation von Fe <sup>2+</sup> zu Fe <sup>3+</sup>
<i>Katalase</i>	<u>Abwehr freier Radikale</u> : Eliminierung von H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> nach folgender Gleichung: $\text{H}_2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O}_2 \leftrightarrow \text{O}_2 + 2\text{H}_2\text{O}$
<i>Lysyl-Oxidase</i>	<u>Bindegewebe-Stoffwechsel</u> : Kollagen- und Elastinbiosynthese durch deren Kreuzvernetzung (Crosslinking)
<i>Monoaminoxidase</i>	<u>Amin-Stoffwechsel</u> : Dehydration von Aminen mit einer Aminogruppe zu Iminen <u>Katecholamin-Stoffwechsel</u> : Intramitochondriale Inaktivierung von Adrenalin, Noradrenalin, Dopamin und Serotonin
<i>Superoxid-Dismutase</i>	<u>Abwehr freier Radikale</u> : Reduktion von hochgiftigen Superoxidanionen zu H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>
<i>Tyrosinase</i>	<u>Melanin-Biosynthese</u> : Umwandlung von L-Tyrosin in 3,4-Dihydroxyphenylalanin und weiter in Dopachinon im Melanocyten

**Tabelle 2.1: Funktion kupferhaltiger Metalloenzyme und Proteine [35]**

### **2.3. KUPFERSTOFFWECHSEL DES MENSCHEN**

Der Kupfer-Gesamtgehalt eines gesunden, 70 kg schweren Erwachsenen beträgt etwa 110 mg, von denen 10 mg in der Leber enthalten sind, 8,8 mg im Gehirn, 6 mg im Blut, 46 mg im Skelett (das Knochenmark mit einbezogen) und 26 mg in der Skelettmuskulatur [36].

Die von einem Erwachsenen täglich mit der Nahrung aufgenommene Menge an Kupfer liegt zwischen 0,6 und 1,6 mg, wovon etwa die Hälfte resorbiert wird [36].

Die Resorption erfolgt vorwiegend aus dem Duodenum, wobei die Resorptionsrate variieren kann. Sie ist abhängig zum einen von der Kupfermenge in der Nahrung [61]. Turnlund et al. führten eine Studie an 11 jungen Männern durch, die zuerst während einer Periode von 24 Tagen pro Tag 1,68 mg, dann während 42 Tagen 0,79 mg und schließlich während weiterer 24 Tage 7,53 mg Kupfer erhielten. Bei der Ermittlung der jeweiligen prozentualen Kupferresorption stellte sich heraus, dass bei der geringsten Kupferzufuhr 56%, bei der mittleren 36% und bei der höchsten nur 12% des Kupfers resorbiert wurde [66].

Zum anderen ist die Resorptionsrate von Faktoren abhängig, die die Bioverfügbarkeit von Kupfer beeinflussen (siehe Tabelle 2.2) [61]. So kann man bei proteinreicher Kost einen Anstieg der Resorptionsrate von Kupfer beobachten. Bei einem hohen Gehalt der Nahrung an Hemicellulose, Fruktose oder Mineralstoffen wie Zink, Eisen, Zinn und Molybdän ist die Kupferresorption hingegen vermindert [68].

	Mensch	Labortier
<b>Nahrungsfasern</b>		
Phytat	--	±
Hemicellulose	↓	kD
<b>Kohlenhydrate</b>		
Fruktose	↓	↓
Glukosepolymere	kD	↑
<b>Fett</b>		
Triglyceride	--	--
langkettige Fettsäuren	kD	↓
mittelkettige Fettsäuren	kD	--
<b>Protein</b>		
Proteinreiche Ernährung	↑	↑
Überschuss Aminosäuren	±	↓
<b>Organische Säuren</b>		
Ascorbinsäure	±	↓
natürliche polybasische Aminosäuren	↑	kD
<b>Divalente Kationen</b>		
Zink, Eisen, Zinn, Molybdän	↓	↓
Zeichenerklärung: -- keine Wirkung; ± ungewiss; ↑ erhöht; ↓ erniedrigt; kD keine Daten		

**Tabelle 2.2: Beeinflussung der Bioverfügbarkeit von Kupfer [61]**

Aus dem Duodenum gelangt Kupfer wahrscheinlich durch energieunabhängige Diffusion über den Bürstensaum in die Mucosazellen und von dort aus durch divalente Transportsysteme (energieabhängiger Mechanismus) über die basolaterale Membran ins Blut [34].

Mit Hilfe von radioaktivem Kupfer lässt sich der Stoffwechsel weiter analysieren. Man erkennt so zwei Phasen der Kupferverteilung [36]:

- In der ersten Phase verlässt nahezu das gesamte resorbierte Kupfer, welches als an Albumin und Transcuprein gebundenes Kupfer identifiziert wurde, rasch das Blut; es wird aufgenommen in die Leber und die

Nieren; dies sind die Organe mit den höchsten Kupferkonzentrationen (Leber: 4 - 6 µg/g; Nieren: 7 - 12 µg/g)

- In einer zweiten Phase erscheint das Kupfer dann wieder im Serum – jetzt inkorporiert in das Coeruloplasmin. Mit diesem wird es von anderen Geweben und Organen, wie Herz und Gehirn aufgenommen.

Der Transport des Kupfers durch die Plasmamembran der Leber- oder der Nierenzellen erfolgt mit Hilfe von ATP-abhängigen Kupfertransportsystemen, die auch als Cu-ATPasen oder Kupferpumpen bezeichnet werden. Anschließend wird das Kupfer entweder gespeichert, in kupferhaltige Enzyme und Proteine eingebaut, oder, im Fall der Leber, auch in die Gallenflüssigkeit abgegeben. Die Menge des Kupfers, das in die Galle gelangt, ist von der Quantität der Kupferaufnahme der Leber abhängig: wird viel Kupfer in die Leber transportiert, so wird auch viel Kupfer an die Galle abgegeben, und vice versa. Die Kupferausscheidung durch die Leber ist ein wichtiger Faktor für die Aufrechterhaltung der Kupferhomöostase [36].

Die Kupferkonzentrationen im Serum liegen bei [37, 39]:

- 17 – 44 µg/dl bzw. 2,7 - 7,7 µmol/l in der 1. Lebenswoche
- 9 – 46 µg/dl bzw. 1,4 – 7,2 µmol/l bei Säuglingen <4 Monate
- 25 – 110 µg/dl bzw. 3,9 – 17,3 µmol/l bei Säuglingen 4–6 Monate
- 50 – 130 µg/dl bzw. 7,9 – 20,5 µmol/l bei Säuglingen 7–12 Monate
- 80 – 150 µg/dl bzw. 12,6 – 23,6 µmol/l bei Kindern 1 – 5 Jahre
- 84 – 136 µg/dl bzw. 13,2 – 21,4 µmol/l bei Kindern 6 – 9 Jahre
- 80 – 121 µg/dl bzw. 12,6 – 19,0 µmol/l bei Kindern 10 – 13 Jahre
- 70 – 159 µg/dl bzw. 11 – 25 µmol/l bei Mädchen 14 – 19 Jahre
- 64 – 114 µg/dl bzw. 10 – 18 µmol/l bei Jungen 14 – 19 Jahre
- 76 – 152 µg/dl bzw. 12 – 24 µmol/l bei Frauen
- 70 – 140 µg/dl bzw. 11 – 22 µmol/l bei Männern.

Das Gesamtkupfer im menschlichen Serum lässt sich – nach der bisherigen Ansicht - zwei Fraktionen zuordnen [56]:

- Den Hauptanteil (ca. 95%) bildet das Kupfer, das fest an Coeruloplasmin gebunden ist (CplCu) und den so genannten indirekt reagierenden Anteil des Serumkupfers bildet, da es nach Säurebehandlung des Serums aus den denaturierten Proteinen freigesetzt wird.
- Der wesentlich kleinere Anteil entspricht dem nicht-Coeruloplasmin gebundenen Kupfer (Nicht-CplCu), welches locker an die Transportproteine Albumin und Transcuprein gebunden ist und als direkt reagierende Kupferfraktion bezeichnet wird. Diese Bezeichnung stammt von der direkten Reaktion mit den zum Kupfernachweis verwendeten Reagenzien.

Neuere Untersuchungen haben ergeben, dass das Serum des Menschen unter normalen Bedingungen praktisch frei ist von Nicht-CplCu [19, 21, 40, 46]. Diese Beobachtungen werden durch die Untersuchungen dieser Arbeit bestätigt.

Die Kupferausscheidung erfolgt zu etwa 2/3 über Gallensekretion, so dass ca. 80-90% des Nahrungskupfers im Stuhl zu finden sind. Geringere Mengen von weniger als 0,1 mg Kupfer/Tag werden durch direktes Übertreten in den Urin über die Nieren ausgeschieden. Die biologische Halbwertszeit des Kupfers beträgt im Körper von erwachsenen Personen im Mittel rund 20 Tage [61].

Die Gesamtheit des menschlichen Kupferstoffwechsels ist in Abbildung 2.2 schematisch dargestellt.

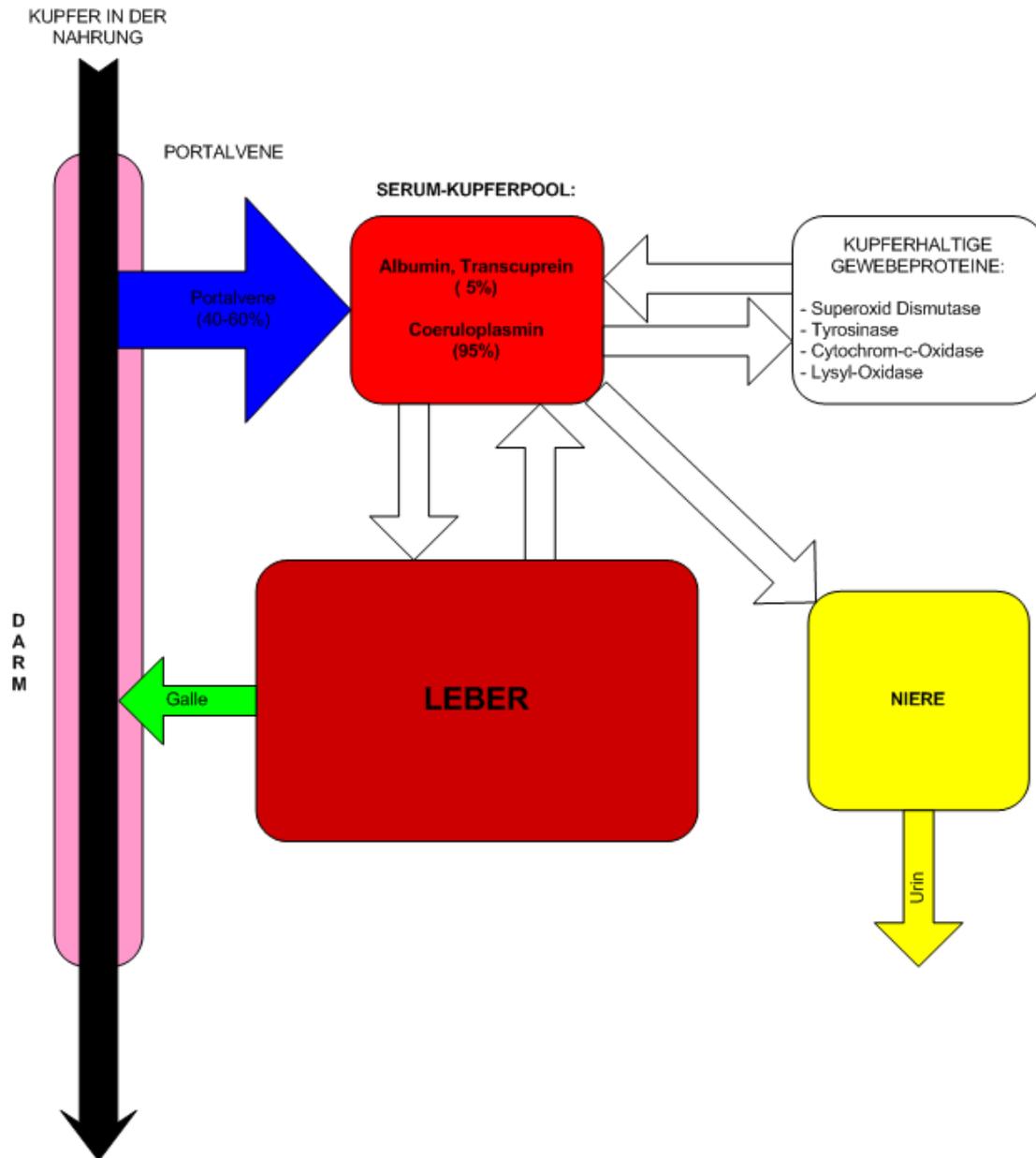


Abbildung 2.2: Schematische Darstellung des menschlichen Kupferstoffwechsels [50]

## 2.4. KUPFERBEDARF

Kupfer ist für ein adäquates Wachstum, für die Integrität des kardiovaskulären Systems, für die Elastizität der Lungen, für neuroendokrine Funktionen und für den Eisenstoffwechsel notwendig. Als essentielles Spurenelement kann es vom Körper selbst nicht synthetisiert werden [68].

Kupferzufuhr mit der Nahrung Publikationsjahr	USA <sup>1</sup> 1989	England <sup>2</sup> 1991	DGE <sup>3</sup> 1991	DACH <sup>4</sup> 2000	USA EAR <sup>5</sup> /RDA <sup>6</sup> 2002
Lebensalter					
1 bis unter 4 Jahre	0,7-1,0	0,4	0,7-1,0	0,5-1,0	0,26/0,34 <sup>7</sup>
4 bis unter 7 Jahre	1,0-1,5	0,6	1,0-1,5	0,5-1,0	0,34/0,44 <sup>8</sup>
7 bis unter 10 Jahre	1,0-2,0	0,7	1,0-2,0	1,0-1,5	0,54/0,7 <sup>9</sup>
10 bis unter 15 Jahre	1,5-2,5	0,8 <sup>10</sup> /1,0 <sup>11</sup>	1,5-2,5	1,0-1,5	0,685/0,89 <sup>12</sup>
Jugendl. + Erwachsene	1,5-3,0	1,2	2,0-5,0	1,0-1,5	0,7/0,9

**Tabelle 2.3: Empfohlene Kupferzufuhr (in mg pro Tag) aus [61]**

<sup>1</sup> estimated safe and adequate daily dietary intake

<sup>2</sup> dietary reference value

<sup>3</sup> Deutsche Gesellschaft für Ernährung

<sup>4</sup> Empfehlungen zur Nährstoffzufuhr die in D, A und der CH Gültigkeit haben

<sup>5</sup> estimated average requirement is the nutrient intake value that is estimated to meet the requirement defined by a specific indicator or adequacy in 50 percent of the individuals in a life stage and gender group

<sup>6</sup> recommended dietary allowances is the average daily intake level that is sufficient to meet the nutrient requirements of nearly all (97 to 98 percent) individuals in a life stage and gender group

<sup>7</sup> 1 bis 3 Jahre

<sup>8</sup> 4 bis 8 Jahre

<sup>9</sup> 9 bis 13 Jahre

<sup>10</sup> 11-14 Jahre

<sup>11</sup> 15-16 Jahre

<sup>12</sup> 14 bis 18 Jahre

Um die Aufrechterhaltung des Kupfer-Gesamtbestandes, sowie den Ausgleich der Kupferbilanz zu gewährleisten, ist eine altersabhängige tägliche Zufuhr des Spurenelements folglich lebensnotwendig.

Hinsichtlich der Quantität dieser Zufuhr existieren in den verschiedenen Ländern unterschiedliche Empfehlungen (siehe Tabelle 2.3).

Verfolgt man die Angaben über die empfohlene tägliche Kupferzufuhr in den beiden letzten Jahrzehnten, fällt auf, dass die Mengen deutlich regredient sind.

## **2.5. KUPFERMANGEL**

### **2.5.1. *Begünstigende Faktoren***

Als allgemein bekannteste Ursache für das Auftreten eines Kupfermangels wird eine ungenügende CuSubst während der Gesundung unter- bzw. mangelernährter Kinder angegeben [22].

Auch eine langfristige parenterale Ernährung erfordert eine Substitution, um den Kupferbedarf zu decken.

Des Weiteren tritt ein Defizit dieses essentiellen Spurenelements häufig bei Frühgeborenen und in dieser Patientengruppe besonders bei jenen mit einem sehr niedrigen Geburtsgewicht (very low birth weight; VLBW) von unter 1500 g auf. Diese Beobachtung wird auf das Vorhandensein erniedrigter Kupfervorräte bei Geburt, bedingt durch eine relativ kleine Lebergröße, zurückgeführt. Aufgrund ihrer im Verhältnis zu reifen Neugeborenen gesteigerten Wachstumsrate, haben VLBW-Kinder außerdem einen höheren Kupferbedarf. Säuglinge, die mit auf Kuhmilch basierender Nahrung gefüttert werden, neigen im Gegensatz zu gestillten Säuglingen ebenfalls dazu, einen Kupfermangel zu entwickeln [68]. Der Grund hierfür liegt am Kupfergehalt der Kuhmilch, der mit 0,05-0,15 mg/l im Gegensatz zur Muttermilch mit 0,2-0,6 mg/l deutlich niedriger ist. Außerdem ist die Resorption von Kupfer aus Kuhmilch im Vergleich zur Muttermilch limitiert. Dies wird einem höheren Casein-Gehalt in der Kuhmilch, sowie dem Fehlen anderer in der Muttermilch enthaltener Faktoren, die die Resorption von Kupfer steigern, zugeschrieben.

Auf Kuhmilch basierende Kleinkindnahrung ist häufig mit hohen Fructosekonzentrationen und anderen raffinierten Zuckern, die die Kupferabsorption senken, angereichert und somit ebenfalls als Risikofaktor für die Entwicklung eines Kupfermangels zu werten [68].

Im Zusammenhang mit Malabsorptionssyndromen wie Zöliakie, Cystischer Fibrose und Kurzdarm-Syndrom wurde von Kupfermangel berichtet, der durch gesteigerte gastrointestinale Kupferverluste, sowie durch die im Rahmen der Therapie der Erkrankungen häufig durchgeführten Teilresektionen des Darmes erklärt werden kann [52, 69].

Bei Kindern mit lang anhaltenden oder immer wiederkehrenden Episoden von Diarrhöe, pathologischem Gallenflüssigkeitsverlust oder Darmfistelbildung mit daraus resultierendem Verlust von Darminhalt besteht ebenfalls die Gefahr der Entwicklung eines Kupfermangels [13, 69].

Eine Sonderstellung im Bereich der mit Kupfermangel assoziierten Erkrankungen nimmt das *Menkes-Syndrom* ein. Bei diesem, durch einen genetischen Defekt bedingten Krankheitsbild entsteht einerseits eine Kupferakkumulation in der Darmmucosa, andererseits ein Kupfermangel des restlichen Organismus [2].

Auch die Einnahme anderer Spurenelemente oder von Medikamenten kann zu einer negativen Kupferbilanz führen. Hohe orale Gaben von Zink und Eisen bewirken dies durch eine Reduktion der Resorption von Kupfer, Penicillamine, andere Chelatbildner und größere Dosen Antacida durch eine Erhöhung der Ausscheidung [69].

### **2.5.2. Klinische Symptomatik**

Klinisch relevanter Kupfermangel tritt beim Menschen verhältnismäßig selten auf. Er manifestiert sich am häufigsten in Form von Anämien, Neutropenien und Knochenabnormalitäten [17, 22, 25, 39, 69].

Im Bereich der Blutbildveränderungen kommt es zu hypochromer, normozytärer oder macrozytärer Anämie, begleitet von einer verminderten Reticulozytenanzahl, Eisenmangel, Neutropenie und Thrombozytämie [3, 17, 22, 39, 69].

Man nimmt an, dass die Entstehung einer Anämie bei Kupfermangel auf einer gestörten Eisenmobilisation, bedingt durch verminderte Coeruloplasminaktivität, beruht [17, 22, 70].

Knochenabnormalitäten treten besonders bei Neugeborenen mit einem niedrigen Geburtsgewicht und bei Kleinkindern auf und machen sich als Osteoporose, Frakturen der langen Röhrenknochen und der Rippen, Epiphysenlösungen, strukturelle Störungen im Bereich der Metaphysen und subperiostale Knochenneubildung bemerkbar [17, 22].

Seltenere Manifestationen eines Kupfermangels sind Hypopigmentierung der Haare, Hypotonie [17, 22], Wachstumsstörungen [13], Zunahme der Anfälligkeit gegenüber Infektionserkrankungen [12] und Veränderungen der Phagozytosekapazität von neutrophilen Granulozyten [26].

---

## 2.6. KUPFERASSOZIIERTE ERKRANKUNGEN

### 2.6.1. *Störungen des Kupferstoffwechsels*

#### 2.6.1.1. **Morbus Wilson (Hepatolenticuläre Degeneration)**

Die Entstehung dieser autosomal-rezessiv vererbten Erkrankung beruht auf einer Mutation des Wilson-Gens. Dieses weist eine Länge von ca. 7,5 Kilobasen auf, besteht aus 21 Exons und kodiert für eine kupfertransportierende P-Typ-ATP-ase (Bezeichnung ATP7B) mit 1411 Aminosäuren. Sie wird vor allem in Leber und Niere, aber auch in geringerem Ausmaß in Gehirn, Lunge, Plazenta, Skelettmuskel und Pankreas exprimiert [16, 64].

Bis heute sind über 200 verschiedene Mutationen des Wilson-Gens identifiziert, wobei es sich meist um Punktmutationen handelt.

Mit einer Frequenz von 30-60% ist die 1069Q-Punktmutation der häufigste Defekt in Europa [11, 23].

Hierbei kommt es zu einer Cytosin- versus Adennucleinsäurebasentransversion im Exon 14 (13q143), welche zu einem Austausch von Histidin gegen Glutamin an der Aminosäureposition 1069 führt.

Aufgrund der Mutation des ATP7B-Proteins verliert dieses seine 2 Funktionen als intrazellulärer Kupfertransporter [53]:

1. Kupfereinbau in Apoceruloplasmin bei niedrigem Kupferspiegel
2. biliäre Exkretion bei erhöhtem Spiegel zur Aufrechterhaltung der Kupferhomöostase

Es resultieren eine Coeruloplasminsynthesestörung und eine verminderte biliäre Kupferexkretion. Nach primärer Kompensation durch Bindung an hepatisches Metallothionin führt der erhöhte intrazelluläre Kupfergehalt über oxidativen Stress wahrscheinlich zur Apoptose der Hepatozyten mit progressiver Leberfunktionsstörung. In der Folge kommt es zur vermehrten Abgabe von ‚freiem‘, nur locker an Proteine gebundenem Kupfer in die Blutbahn. Dieses Kupfer, das Nicht-CpICu, besitzt eine toxische Wirkung und lagert sich in

anderen Organen ab. Vor allem sind hierbei die Basalganglien betroffen, wodurch es zu Koordinationsstörungen kommt. Kupferablagerung in der Descemet-Membran des Auges tritt ebenfalls häufig auf und wird in der Regel als gold braune Umrandung der Cornea sichtbar [38] und als Kayser-Fleischer Ring bezeichnet.

Labortechnisch sind ein erniedrigtes Gesamtserumkupfer von unter 11,5  $\mu\text{mol/l}$  und ein reduzierter Coeruloplasminspiegel von unter 10 mg/dl festzustellen. Die Werte des an Albumin gebundenen Kupfers (die Nicht-CpICu-Fraktion) hingegen sind mit über 3  $\mu\text{mol/l}$  erhöht. Weiterhin steigen die Leberkupfer-Werte von unter 1,6  $\mu\text{mol/g}$  Trockengewicht auf über 8  $\mu\text{mol/g}$  an und auch das Urinkupfer ist mit über 6,4  $\mu\text{mol/24h}$  im Vergleich zum Normalwert von unter 1,6  $\mu\text{mol/24h}$  deutlich erhöht [38]. Therapeutisch wird mit Hilfe von kupferarmer Kost sowie der Gabe des Chelatbildner D-Penicillamin gegen die Zunahme der Kupferablagerung und die Kupferüberladung des Organismus vorgegangen. Außerdem wird versucht, die vorhandenen Kupferablagerungen durch Steigerung der Kupferausscheidung zu reduzieren [38].

#### **2.6.1.2. Menkes-Syndrom (progressive Hirnerkrankung)**

Als Ursache dieser X-chromosomal vererbten und damit hauptsächlich Knaben betreffende Erkrankung, wird eine Deletion eines Gens auf dem Chromosom Xq<sub>13.3</sub> verantwortlich gemacht. Dieses kodiert für ein 1500 Aminosäuren enthaltendes Membranprotein mit 6 Domänen, welches zur Familie der Kationen-transportierenden P-Typ-ATPasen gehört [38].

Als Folge dieses Defekts ist der Export des Kupfers aus den Epithelzellen des Darmes, in die es nach der Nahrungsaufnahme durch Resorption gelangt, beeinträchtigt. Dies führt einerseits zu einem niedrigen Serum-Kupfer-Spiegel und zu einer Kupferakkumulation in Duodenalzellen sowie in Niere, Pankreas, Skelettmuskel und Plazenta durch gleichzeitigen abnormalen Kupfertransport. Andererseits kommt es zu einem Kupfermangel innerhalb des restlichen Organismus. Es resultiert ein Defizit an kupferhaltigen Enzymen,

wie z.B. der Dopamin- $\beta$ -Hydroxylase, der Tyrosinase und der Lysyl-Oxidase, wodurch fortschreitende Nervendegeneration mit Verlust von Gehirnfunktionen, Hypopigmentierung und Bindegewebsdefekte in Form von Cutis laxa auftreten [2, 38]. Die Therapie dieser Erkrankung erfolgt durch orale oder intravenöse Gabe von Kupfersupplementen, wie z.B. Kupferhistidin.

Doch auch bei frühzeitigem Therapiebeginn ist die Prognose für die betroffenen Patienten schlecht und die meisten versterben in der ersten Dekade ihres Lebens [74].

### **2.6.2. Kupfervergiftungen**

Die möglicherweise bei einer VPE mit Kupfersubstitution auftretenden Nebenwirkungen, nach denen in dieser Arbeit gesucht wird, könnten sich durch die Zeichen einer Überkupferung des Körpers zu erkennen geben. Da die VPE als Kurz- und Langzeitbehandlung durchgeführt wird, muss man bei der Suche nach Nebenwirkungen die Symptome und Zeichen der akuten, aber auch der chronischen Kupfervergiftung berücksichtigen. In diesem Kapitel sollen deshalb solche Beobachtungen über die Kupfervergiftungen zusammengestellt werden, aus denen sich ableiten lässt, unter welchen Bedingungen Kupfer toxisch wird und welche Symptome und Zeichen auf eine Kupfervergiftung hinweisen können. Ein großer Teil der im folgenden angeführten Beobachtungen und Befunde gehen auf die Untersuchungen des Dokumentationszentrum [19] zurück.

#### **2.6.2.1. Bedingungen unter denen Kupfervergiftungen auftreten können**

Mit der Kupfervergiftung waren früher die meisten Menschen vertraut. In den Zeiten, als Kupfer- und Messinggeschirr im Haushalt verwendet wurde, war es allgemein bekannt und eine unbedingt zu beachtende Regel, dass solches Geschirr nur verzinnt für die Zubereitung und Aufbewahrung von Speisen benutzt werden darf. Beim Verzinnen wird die Innenwand der Gefäße mit erhitztem und dabei flüssig gewordenem Zinn überstrichen. Beim Erkalten

bildet sich dann ein dünner, fester Film aus Zinn, der einen direkten Kontakt zwischen den Speisen und Getränken mit der kupfernen Gefäßwand verhindert. Werden Kupfergefäße verwendet, die wider die Regel nicht verzinkt sind oder deren Zinnüberzug durch häufigen Gebrauch abgerieben oder abgeschlagen ist, kann Kupfer in die Speisen und Getränke gelangen. Dies geschieht besonders dann, wenn die Speisen Säuren oder Milch enthalten. Das mit der Nahrung vom Körper aufgenommene Kupfer kann dann Vergiftungen auslösen.

In neuerer Zeit gelangt Kupfer auf einem anderen Weg in die Speisen. Werden für die Trinkwasserinstallation der Häuser Kupferrohre verwendet, kann durch „aggressives“ Trinkwasser Kupfer aus der Wand der Rohre gelöst werden. Über das auf diese Weise kupferkontaminierte Trinkwasser gelangt Kupfer in die Speisen und Getränke.

#### **2.6.2.2. Die akute Kupfervergiftung beim Menschen**

Wird Kupfer akut und in größerer Menge aufgenommen (z.B. mit einem Salat aus einer unverzinten Kupferschüssel oder beim Trinken von Stagnationswasser aus einer Kupferleitung), kann eine akute Kupfervergiftung auftreten. Diese äußert sich durch unmittelbar nach der Aufnahme einsetzende Übelkeit, Leibschmerzen, Brechreiz und Erbrechen und - mit einer Verzögerung von einigen Stunden - auch Durchfall [30]. Aus dem engen zeitlichen Zusammenhang zwischen der Nahrungs- oder Wasseraufnahme und der sofort folgenden akuten Erkrankung ist es leicht, auf einen kausalen Zusammenhang zwischen dem toxischen Faktor aus dem Gefäß und der Reaktion des Körpers zu schließen. Früheren Generationen war die Form der Kupfervergiftung über das Kupfergeschirr daher geläufig. Die „neue Form“ der Vergiftung über das Trinkwasser aus dem Kupferrohr ist dagegen noch weithin unbekannt.

Schwere akute Kupfervergiftungen sind fast ausschließlich nach Aufnahme größerer Mengen von Kupfersalzen (meistens Kupfersulfat) in suizidaler Absicht aufgetreten. Neben den – dann in schwerer Form auftretenden – oben genannten gastrointestinalen Zeichen der Vergiftung kommt es dabei auch

zur systemischen Vergiftung mit Leber- und Nierenversagen, sowie Krampfanfällen und Schock mit tödlichem Ausgang innerhalb weniger Tage bis zu einer Woche oder auch zu langsamer Rekonvaleszenz [30].

### **2.6.2.3. Die chronische Kupfervergiftung (CKV)**

Das Vorkommen der CKV beim Menschen wurde lange Zeit bestritten. Bis vor kurzem galt es als unumstößliche Lehrmeinung in der Medizin, eine chronische Kupfervergiftung gäbe es – im Gegensatz zu den meisten Tierpezies - beim Menschen nicht [41]. Diese Meinung ist heute obsolet. Sie wird widerlegt durch weltweit aufgetretene Vergiftungen, die sich zweifelsfrei auf die chronische Einnahme überhöhter Kupfermengen mit der Nahrung zurückführen lassen [19].

In den 1970er und 1980er Jahren wurden bestimmte, bis dahin als geheimnisvoll oder rätselhaft angesehene Erkrankungen als chronische Kupfervergiftung erkannt. Die Krankheiten waren schon lange vorher (dokumentiert z.B. in Indien bereits 1887) durch ihr endemieartiges Auftreten vor allem bei Säuglingen und Kleinkindern aufgefallen. Bei den erkrankten Kindern konnte schließlich zunächst eine exzessive Kupferakkumulation in der Leber (und auch in anderen Organen) nachgewiesen und dann als Kupferquelle kupferkontaminierte Säuglingsmilchnahrung entdeckt werden [4], [47], [62], [63]. Aus heutiger Sicht ergibt sich zur Ätiologie der meisten chronischen Kupfervergiftungen das folgende Bild.

Nicht gestillte Säuglinge werden mit „Säuglingsmilchnahrungen“ ernährt, die man entweder aus (natürlicher) Tiermilch (z. B. Kuhmilch) herstellt, indem man diese mit Wasser verdünnt und mit Kohlehydraten oder Fett anreichert, oder die man aus Milchpulver zubereitet, das industriell zumeist aus Tiermilch gewonnen wird und das in Wasser aufgelöst die fertige Säuglingsmilchnahrung ergibt. Beide Nahrungsarten können – wie sich in den 1970er und 1980er Jahren herausgestellt hat - unter bestimmten Bedingungen bei der Zubereitung bzw. beim Erwärmen kupferkontaminiert werden (s.u.). Säuglinge, die über längere Zeit (Wochen bis Monate) mit einer solchen kup-

ferkontaminierten Milchnahrung ernährt werden, können eine tödliche Vergiftung erleiden.

Zwei verschiedene „Kupferquellen“ wurden entdeckt. In Indien, aber auch in anderen Staaten des indischen Subkontinents wurde in der vorindustriellen Ära vor allem die Säuglingsmilchnahrung bei ihrer Zubereitung aus Kuh- oder Büffelmilch nicht selten in mangelhaft verzinnten Kupfer- und Messinggefäßen kupferkontaminiert. Durch häufigen Gebrauch war der schützende Zinnbelag auf der Innenwand der Gefäße defekt geworden, so dass Kupfer in die Milchnahrung gelangte. Auf ähnliche Weise kam es zu zahlreichen tödlichen Vergiftungen in Tirol. Hier wurden als Kupferquelle Pfannen und Töpfe aus Kupfer oder Messing entdeckt, die überhaupt nie verzinkt worden waren und in denen die Säuglingsmilchnahrungen erwärmt wurden.

In neuerer Zeit ereignet sich in den Industriestaaten die Kupferkontamination der Säuglingsmilchnahrung auf andere Weise. Hier stammt das Kupfer aus Kupferrohren oder kupfernen Boilern der Trinkwasserinstallation in den Wohnhäusern, seltener auch in der Zuleitung zu den Häusern. Wenn das Trinkwasser aggressiv ist (z.B. bei niedrigem pH-Wert), löst es Kupfer aus der Rohrwand. Dieses gelangt mit dem Trinkwasser in die Häuser und bei Zubereitung der Säuglingsmilchnahrung (Auflösen des Milchpulvers in Wasser, s. o.) in die Milchnahrung.

Kupfermessungen in den Säuglingsmilchnahrungen und im Trinkwasser bestätigten deren Kupferkontamination. Die bis dahin rätselhaften Erkrankungen entpuppten sich somit als „Chronische Kupfervergiftung“ (englisch: „Chronic copper poisoning“, „Copper Toxicosis“ oder „Chronic copper intoxication“).

#### **2.6.2.4. Das klinische Bild und die Behandlung der CKV**

Typisch für die CKV ist ein wochen- bis monatelanges, vereinzelt sogar jahrelanges zumeist völlig symptomloses Vorstadium. Erstes Zeichen der Vergiftung ist dann bei den meisten Kindern ein „dicker Bauch“, der sich auf eine Hepatomegalie zurückführen lässt. Bis zu diesem Zeitpunkt gedeihen die Kinder im Allgemeinen sehr gut, viele trinken sogar mehr als der normalen

altersbezogenen Trinkmenge entspricht. Gewichts- und Längenwachstum, sowie die geistige Entwicklung sind in der Regel völlig normal. Im weiteren Verlauf der Erkrankung kommt es dann zu Ikterus, zu Bauchschmerzen, die die Ursache für häufiges, vor allem nächtliches Schreien der Kinder sind, und zu Aszites.

Todesursachen können sein: Blutungen und Leberversagen oder auch interkurrente Infektionen.

Die Erkrankung gilt im fortgeschrittenen Stadium als nicht mehr heilbar. Entscheidend für die Verhinderung ihres Fortschreitens ist der sofortige „Kupferentzug“, d.h. die Unterbindung der überhöhten Kupfereinnahme. Allein die stationäre Klinikeinweisung kann lebensrettend sein, weil mit der Aufnahme in die Klinik die häusliche Kupferexposition endet. Therapeutisch wird die Kupferausscheidung aus dem Körper durch die Gabe D-Penicillamin verstärkt. Versagen diese Maßnahmen, kann eine Lebertransplantation lebensrettend sein. Mit der Transplantation wird die durch Kupfer zerstörte Leber durch eine gesunde ersetzt, gleichzeitig aber auch ein Großteil des im Körper im Überschuss befindlichen Kupfers entfernt.

#### **2.6.2.5. Das histologische Bild der CKV: die „Indian Childhood Cirrhosis, ICC“**

Die in Indien endemieartig aufgetretene CKV der Säuglinge und Kleinkinder zeichnete sich in ihrem Endstadium histologisch durch eine besondere Form der Leberzirrhose aus, die bei keiner anderen Lebererkrankung beobachtet wurde. Sie wird seit den 1950er Jahren als Indian Childhood Cirrhosis (ICC) bezeichnet. Einen klinischen Namen erhielt die Erkrankung nicht. Ihr histologisches Bild ist gekennzeichnet durch

- Zerstörung der normalen Leberarchitektur
- deutliche panlobuläre und perizelluläre Fibrose
- mäßige Infiltration von Entzündungszellen
- Degeneration ballonierter Hepatozyten
- Vorhandensein einer großen Anzahl sog. „Mallory bodies“

---

Pathologen, denen das histologische Bild der ICC vertraut war, entdeckten die ICC in den 1980er Jahren auch bei Patienten, die außerhalb Indiens lebten und nicht indischer Abstammung waren: so Portmann in England, Nordirland und Australien, Lefkowitz in den USA und Müller-Höcker in Deutschland, [32, 43, 48],

#### **2.6.2.6. Die überhöhte Kupferzufuhr als Ursache der CKV**

Die Münchner Arbeitsgruppe des Dokumentationszentrums vertritt die Hypothese, dass Kupfer als der entscheidende und alleinige die CKV auslösende Faktor angesehen werden muss [19]. Vor allem das Auftreten und der Verlauf der Vergiftungen in der Familie, in der 1986 erstmals in Deutschland die Diagnose CKV gestellt werden konnte, kann als sicherer Beweis für die Hypothese gelten. In der Familie mit drei Kindern blieb das erste Kind gesund, das zweite starb an einer „kryptogenen“ Hepatopathie (Leberzirrhose) und das dritte Kind (der Indexpatient) erkrankte ebenfalls an einer Hepatopathie. Die beiden erkrankten Kinder waren seit Geburt über das Trinkwasser (aus Kupferrohren in der Trinkwasserinstallation) kupferexponiert; das gesunde erste Kind dagegen war in den ersten Lebensjahren in einem Haus ohne Kupferleitungen aufgewachsen. Ein Kupferentzug beim erkrankten, überlebenden dritten Kind (im Zusammenhang mit der stationären Krankenhausaufnahme) führte zu einem Sinken und zwei unbeabsichtigte, erneute Kupferexpositionen führten zum Wiederanstiegen der Transaminasen. Als diese Reexpositionen erkannt und dann endgültig jede weitere Kupferexposition zu Hause unterbunden wurde, kam es zu einer anhaltenden Besserung: die Zeichen der Überkupferung sind schließlich nach 1½ Jahren der Kupferkarenz und einer D-Penicillamin-Behandlung verschwunden. Das Kind hat sich, nachdem es das kupferkontaminierte Trinkwasser nicht mehr getrunken hat und ein Jahr lang mit D-Penicillamin behandelt wurde, völlig erholt.

Die Überkupferung der beiden erkrankten Kinder der Familie konnte durch den quantitativen Nachweis pathologisch erhöhter Leberkupferkonzentrationen nachgewiesen werden [59]. Sowohl bei diesem Kind wie auch beim

zweiten, verstorbenen Kind der Familie ergab die histologische Untersuchung der Leber das typische Bild der ICC [42].

Aus den Beobachtung und Befunden dieser Familie schloss die Münchener Arbeitsgruppe in Analogie zum Dreisatz der Mathematiker auf die Identität von CKV und ICC. Wenn nämlich – so die Überlegung – bei ein und demselben Patienten die histopathologischen Befunde eine ICC erkennen lassen und die klinischen Befunde und Beobachtungen, sowie der Nachweis der Kupferakkumulation in der Leber (und in anderen Organen) eine CKV aufdecken, muss die ICC das histologische Pendant der CKV sein. Bestätigt wurde diese Schlussfolgerung durch weitere Erkrankungen in Deutschland bei Kindern in Haushalten mit Kupferleitungen in der Trinkwasserinstallation und auch durch Nachforschungen bei früher in Deutschland verstorbenen Kindern, bei denen retrospektiv eine ICC erkannt worden war.

Berechnungen des Dokumentationszentrum ergaben außerdem, dass in der Leber tödlich kupfervergifteter Säuglinge die gespeicherten Kupfermengen größer waren als die Mengen an Kupfer, welche die Kinder von Geburt bis zum Tag der Untersuchung mit einer normalen Nahrung hätten aufnehmen können. Dies wird als untrüglicher Beweis dafür angesehen, dass den Kindern mit der Nahrung überhöhte Kupfermengen zugeführt worden sind und dass der Erkrankung keine Kupferstoffwechselstörung zugrunde liegen muss.

In diesem Zusammenhang sei auch erwähnt, dass in Deutschland bei keinem Kind eine CKV aufgetreten ist, das nicht kupferexponiert war. Auch diese Beobachtung spricht gegen eine endogene Kupferstoffwechselstörung bei dieser Erkrankung.

#### **2.6.2.7. Die Hypothese der genetischen Ursache der CKV**

Vor der Entdeckung des Kupfers als Ursache der ICC wurden als Erkrankungsursache Infektionen, Toxine, vor allem aber genetisch bedingte Störungen diskutiert. Ausgangspunkt für die Hypothese einer genetisch bedingten Ursache war die Beobachtung, dass die Erkrankung häufig familiär auftrat, und zwar vorwiegend unter Geschwistern. In bestimmten Gebieten wur-

den in etwa 30% der Familien Mehrfacherkrankungen unter den Kindern beobachtet. Auch gab es in der Aszendenz der Betroffenen nicht selten Verwandtenehen.

Nach der Entdeckung des Kupfers als Krankheitsursache konnte die genetische Hypothese in ihrer ursprünglichen Form nicht mehr aufrechterhalten werden. Sie wird heute aber von einigen Autoren in abgewandelter Form als „ökogenetische“ Hypothese vertreten. Dieser Hypothese folgend soll eine überhöhte chronische Kupferzufuhr eine Vergiftung nicht bei allen, sondern nur bei bestimmten Menschen (solchen mit einer genetisch bedingten Prädisposition - Anfälligkeit gegenüber Kupfer) eine Vergiftung hervorrufen. In Tirol wurde anhand einer Studie, alle in der Umgebung von Kitzbühel zwischen 1900 und 1974 verstorbenen Kleinkinder erfasst und unter diesen die Sterberate der Kinder, die eine CKV erlitten haben könnten, ermittelt. Es errechnete sich ein Wert von 21%. Dieser liegt tatsächlich in der Nähe des 25%-Wertes, der auf eine autosomal-rezessive Störung hinweist [44].

Voraussetzung für diese Interpretation des Ergebnisses ist die Annahme, dass zwischen 1900 und 1974 alle Kinder in den betroffenen Familien in etwa gleich stark (mit einer potentiell letalen Dosis) kupferexponiert waren, also nicht oder nur kurze Zeit gestillt wurden und eine in Kupfergeschirr zubereitete Nahrung erhalten haben.

Zahlreiche formalgenetische Untersuchungen in Indien und Tirol ergaben widersprüchliche Ergebnisse. Aus heutiger Sicht ist dies nicht verwunderlich. Denn sämtliche Analysen wurden durchgeführt, bevor das Kupfer als krankmachender exogener Faktor erkannt wurde. Auch galt als Segregationskriterium für fast alle Studien eine „Tödlich verlaufende Lebererkrankung unbekannter Genese in den ersten Lebensjahren“. Mit der Entdeckung der exogenen Noxe wurde dieses Kriterium ungenau, weil eine Vergiftung nicht immer letal verlaufen muss. Überlebende Kinder in den Familien konnten somit nicht mehr eindeutig als genetisch Unbelastete gelten.

In Deutschland wurden bisher 21 Familien bekannt, in denen Kinder an der CKV mit Sicherheit oder mit großer Wahrscheinlichkeit gestorben sind. Die Gesamtzahl der Kinder in den Familien beträgt 73, eine schwere CKV erlitten

24 der Kinder. Eine Regressionsanalyse entsprechend der „Proband“-Methode Weinbergs (Multiple incomplete ascertainment [20]) errechnet unter den Geschwistern der schwer erkrankten Kinder einen Quotienten von 16% [19]. Dieser Wert liegt nahe den 21% der Tiroler Studie. Außer bei 3 der 73 Kinder der deutschen Studie ließ sich durch anamnestische Angaben festlegen, ob sie kupferexponiert waren oder nicht. Regressionsanalysen unter Berücksichtigung der Kupferexposition ergeben dann unter den gesichert und möglicherweise kupferexponierten Kindern einen Quotienten von 77% und unter den gesichert exponierten Kindern einen Quotienten von 100%. Beide Quotienten sind nicht mit einer genetisch bedingten Störung bei den Betroffenen vereinbar, sie stützen vielmehr die Hypothese, dass jeder Mensch bei entsprechender Exposition eine CKV erleiden kann.

#### **2.6.2.8. Diagnostische Kriterien für die CKV**

Es gibt kein einzelnes Zeichen oder Symptom, das mit Sicherheit rasch zur Diagnose CKV führen könnte. Das Zusammentreffen mehrerer Ereignisse in der häuslichen Umgebung des Patienten, anamnestische Angaben zur Eigen- und Familienanamnese, sowie bestimmte Kombinationen von Laborbefunden können die Diagnose ermöglichen.

Der (häufigen) Empfehlung, zuerst die Ursachen aller anderen Erkrankungen (vor allem der Lebererkrankungen) auszuschließen und erst dann an die CKV zu denken und zu suchen, sollte man auf keinen Fall folgen. Wenn der Patient tatsächlich an einer CKV leidet und während der Untersuchungen die Kupferexposition weiter besteht (z.B. bei einer ambulanten Betreuung eines zu Hause weiterhin kupferexponierten Patienten), kann die Erkrankung weiter fortschreiten. Auch sollte sofort mit der Behandlung mit dem Chelatbildner D-Pencillamin begonnen werden.

#### **2.6.2.9. Die Suche nach Kupfer in der häuslichen Umgebung**

Die Suche nach Kupfer steht ganz im Vordergrund der Untersuchungen. Die Verwendung von Kupfergeschirr ist in Deutschland eher selten, weitaus häufiger sind Kupferleitungen in den Häusern installiert. Diese – in Kombination

mit aggressivem Wasser – führen oft zu Grünfärbungen an Fliesen (in Duschen) und grünen Tropfspuren in Badewannen.

Auch eine grüne Verfärbung der Haare, insbesondere bei blondem Haar, kann durch Kupfer bedingt sein und einen Hinweis auf Kupfer im Trinkwasser geben.

Einige Menschen reagieren empfindlich auf Kupfer im Wasser: Eine Unverträglichkeit von mit solchem Wasser zubereiteten Getränken (z.B. Kaffee), oder Übelkeit und Erbrechen nach Trinken von Stagnationswasser, sowie bei Kindern Unruhe nach dem Trinken der Säuglingsmilchnahrung oder von Säften, die mit kupferkontaminiertem Wasser zubereitet wurde, können Hinweise auf Kupfer geben.

Todesfälle und Lebererkrankungen unklarer Genese bei anderen Familienmitgliedern, aber auch in der Nachbarschaft sollten immer auch an die CKV denken lassen.

Hinweisend auf Kupfer können auch Erkrankungen von Haushunden sein: ein unerwartet früher Tod nach vorausgehender Gelbsucht oder die Entwicklung eines ungewöhnlich großen Abdomen.

#### **2.6.2.10. Die Suche nach dem Kupferüberschuss im Körper**

Eine Überkupferung zeigt sich durch eine erhöhte renale Kupferausscheidung [29] und durch die „echte“ Hypercuprämie [19], wie sie auch in dieser Arbeit gefunden wird. Diese beiden Untersuchungsverfahren werden wahrscheinlich in Zukunft die bisher notwendige invasive Bestimmung der Kupferkonzentration mittels Leberbiopsie ersetzen. Beachtet werden sollte, dass die Überkupferung des Körpers (nach Beendigung der Kupferexposition) völlig reversibel ist und deshalb – wenn die Untersuchungen zu spät durchgeführt werden – nachträglich nicht mehr nachgewiesen werden kann. Ein Kayser-Fleischer Ring wurde bei der CKV noch nicht gefunden.

#### **2.6.2.11. Organopathien durch Kupfer**

- Leber: Hepatomegalie (diese ist nicht selten Ursache des Leitsymptomes „dicker Bauch“ der Kinder), Ikterus, Transaminasenerhöhung

- Niere: nicht selten Polyurie und Polydipsie, Aminoacidurie
- Gastrointestinaltrakt: „Nahrungsunverträglichkeit“ mit Erbrechen, Durchfall
- Blutbild: Zeichen der Hämolyse und ausgeprägte Leukozytose
- Immunsystem: Hypergammaglobulinämie, mangelnde in vitro Sekretion von Lymphokinen durch stimulierte Lymphozyten; Funktionsschwäche der „Natural Killer (NK) Zellen“ in vitro.
- Serumproteinanomalien: Hohe Spiegel des Alpha-Fetoproteins

#### **2.6.2.12. Schlussfolgerungen**

Eine überhöhte Kupferzufuhr kann akute und chronische Kupfervergiftungen auslösen. Eine genetische Prädisposition (besondere Kupferempfindlichkeit einiger weniger Menschen) scheint es nicht zu geben, so dass Kupfer in zu hoher Dosis wohl für alle Menschen gefährlich ist. Die hier beschriebenen Kupfervergiftungen nach überhöhter oral-enteraler Einnahme sind bezüglich etwaiger Überdosierungen des Kupfers bei der VPE nicht relevant, weil bei dieser das Kupfer parenteral verabreicht wird. Die Vergiftungen weisen aber daraufhin, dass der Mensch durch Kupfer gesundheitliche Schäden erleiden kann.

## **2.7. KUPFER UND PARENTERALE ERNÄHRUNG**

### **2.7.1. Indikationen**

Der tägliche Kupferbedarf wird bei gesunden Menschen über die Ernährung mittels der üblichen Mischkost suffizient gedeckt. Einige Krankheiten, bzw. Auswirkungen ihrer Therapie, schränken die orale Nahrungsaufnahme jedoch stark ein oder machen sie sogar unmöglich. In diesen Fällen ist zur ausreichenden Versorgung des Organismus mit sämtlichen notwendigen Nährstoffen eine parenterale Ernährung indiziert, die heute obligat in Form einer völlig parenteralen Ernährung (VPE) gegeben wird.

Der richtige Zeitpunkt für den Beginn einer VPE hängt sowohl von individuellen Umständen als auch vom Alter und dem Gewicht des Kindes ab [31].

### **2.7.2. Parenterale Ernährung bei Frühgeborenen**

Eine der größten Herausforderungen in der Betreuung frühgeborener Neonaten stellt deren adäquate Versorgung mit Nährstoffen dar.

Die seit den 1960er Jahren bestehende Möglichkeit der Ernährung auf parenteralem Wege hat signifikant dazu beigetragen, die Überlebenschancen Neugeborener, die auf anderem Wege nicht ausreichend ernährt werden können, zu steigern.

Indikationen für den Einsatz einer VPE bei Frühgeborenen sind:

- Kongenitale Malformation des Gastrointestinaltraktes
- Gastroschisis
- Mekonium- und paralytischer Ileus
- Kurzdarmsyndrom
- Nekrotisierende Enterokolitis
- Atemnotsyndrom
- Extreme Frühgeburtlichkeit
- Sepsis
- Malabsorption

Ziel der VPE bei Frühgeborenen ist es, die Patienten optimal mit Nährstoffen zu versorgen, um der intrauterinen Wachstumsgeschwindigkeit möglichst nahe zu kommen.

Lösungen zur Anwendung bei VPE müssen daher neben Flüssigkeit, Kohlenhydraten, Proteinen und Fetten auch Elektrolyte, Mineralstoffe, Spurenelemente und Vitamine enthalten [8].

### **2.7.3. Parenterale Ernährung in der pädiatrischen Onkologie**

Während der Behandlung onkologisch erkrankter Kinder werden häufig Begleiterscheinungen wie schwere Infektionen, Schmerzen, Fieber oder gastrointestinale Probleme in Form von Stomatitis oder Hypophagie beobachtet. Dies führt zur Verweigerung der oralen Nahrungseinnahme und ungenügender Kalorien- und Flüssigkeitszufuhr. Verlieren die Kinder mehr als 5% ihres Körpergewichts und ist eine enterale Ernährung nicht möglich oder verschlechtert sich die Grunderkrankung oder Behandlung damit, ist die Indikation zur parenteralen Ernährung gegeben. Kommt es zu deren kurzfristigen Einsatz von bis zu einer Woche, so genügt die Zufuhr von Wasser, Nährstoffen und Elektrolyten. Für eine VPE über eine Woche hinaus werden zusätzlich Vitamine und Spurenelemente, darunter auch Kupfer, supplementiert [57].

### **2.7.4. Empfehlungen für die parenterale Kupferzufuhr**

*Guidelines on Paediatric Parenteral Nutrition of the ESPGHAN (European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition) and the ESPEN (European Society for Clinical Nutrition and Metabolism) [31]:*

- Parenteral ernährte Säuglinge und Kinder sollten eine intravenöse Kupfersubstitution von **20 µg/kg/d** erhalten.
- Bei Patienten mit Langzeit-VPE und bei parenteral ernährten Patienten mit Verbrennungen oder Cholestase sollten regelmäßige Kontrollen der Serum-Kupfer und Serum-Coeruloplatin-Werte durchgeführt werden und entsprechende Angleichungen der Kupfer-Substitution erfolgen.

---

*Leitlinie Parenterale Ernährung der DGEM (Deutsche Gesellschaft für Ernährungsmedizin e.V., 2007) [5]:*

Schätzwerte für den Tagesbedarf an parenteral zugeführten Spurenelementen unter VPE bei Säuglingen und Kindern [1, 24]:

- Frühgeborene **20 µg/kgKG/d**
- Reifgeborene **20 µg/kgKG/d**
- Kinder **20 µg/kgKG/d**
  - Maximum **300 µg/d** (also gültig ab 15 kgKG)

*ASCN (American Society for Clinical Nutrition) [18]:*

Empfohlene Dosierung des Kupfers

für Frühgeborene in VPE-Lösungen (Consensus recommendations, 1993):

- **0 – 20 µg/kgKG/d** in den ersten beiden Lebenswochen
- **20 µg/kgKG/d** ab der dritten Lebenswoche

für reife Neugeborene (1988):

- **20 µg/kgKG/d**

Für reife Neugeborene und Frühgeborene:

Hierbei muss eine möglicherweise beeinträchtigte Gallesekretion (Cholestase) berücksichtigt werden, da eine verminderte Cu-Ausscheidung bei weitergeführter Cu-Zufuhr zu einer Kupferüberladung führen kann. Abweichend von der o.g. Empfehlung werden für Frühgeborene mit sehr niedrigem Geburtsgewicht (very low birth weight) (VLBW-Frühgeborene) höhere Zufuhrmengen von 40 µgCu/kgKG/d empfohlen, sofern sie nicht an einer Cholestase leiden [55, 67].

### 2.7.5. Präparate

Folgende Spurenelementpräparate, in Form von Lösungen, stehen u.a. in Deutschland zur Verfügung und sind für die Anwendung bei Kindern zugelassen:

- Peditrace® <sup>13</sup>
- Inzolen® Infantibus <sup>14</sup>

	<b>Peditrace®</b> (µg/ml)	<b>Inzolen® Infantibus</b> (µg/ml)
$Cu^{2+}$	20	32
$Zn^{2+}$	250	97
$F$	57	
$Cr^{3+}$		8
$Fe^{2+}$		91
$I$	1	
$Se^{4+}$	2	
$Mn^{2+}$	1	27
$Mg^{2+}$		6078
$Ca^{2+}$		10020
$Na^+$		11494,5
$K^+$		19551
<b>Zufuhrempfehlung</b>	Bei Säuglingen und Kleinkindern bis zu 15 kg Körpergewicht: 1 ml/kgKG/d Bei Kindern über 15 kg Körpergewicht: 15 ml/d	0,5-1,0 ml/kgKG/d bei erhöhtem Bedarf: bis zu 3 ml/kgKG/d

**Tabelle 2.4: Zusammensetzung der Spurenelementpräparate [74]**

<sup>13</sup> Baxter Deutschland GmbH; Unterschleißheim

<sup>14</sup> Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Alsbach-Hähnlein

### **2.7.6. Stoffwechsel parenteral zugeführten Kupfers**

Bei der parenteralen Ernährung wird durch die i.v. Gabe dem Körper das Kupfer unter Umgehung des Magen-Darm-Traktes und auch der Leber zugeführt und dem Körper jede Regulierung der Kupferaufnahme genommen. Durch die primäre Umgehung auch der Leber, kann das Kupfer nur sekundär und nur zu einem Teil in die Leber gelangen, weil es zuvor mit dem Blut alle anderen Organe des Körpers passiert und sich dort binden kann. Auf diese Weise werden die Speicher-, Verteiler- und Ausscheidungsfunktionen der Leber für Kupfer erheblich beeinträchtigt.

Zu den Auswirkungen von intravenös verabreichtem Kupfer auf den Organismus ist die aktuelle Datenlage unbefriedigend, so dass es diesbezüglich zusätzlicher Studien bedarf.

### **2.7.7. VPE-induzierte Hepatopathie**

#### **2.7.7.1. Definition**

Eine häufige Komplikation bei der VPE stellt eine vorübergehende Erhöhung der Leberenzyme dar, die sich nach Absetzen der VPE wieder normalisiert [49, 51].

Bei längerer Anwendung der VPE können Störungen im Bereich des hepatobiliären Systems, wie Cholelithiasis, Cholestase und Steatose auftreten.

Während die Steatose eher Erwachsene betrifft, ist die Cholestase die häufigste VPE-assoziierte hepatobiliäre Funktionsstörung bei Kindern [28, 45, 50].

Bei einigen Patienten kann sie bis zu einer Leberzirrhose fortschreiten und zu Leberversagen und Tod führen [54].

Im Allgemeinen ist die Störung jedoch nach Beendigung der parenteralen Ernährung reversibel. Voraussetzung dafür ist der frühzeitige Beginn mit einer enteralen Ernährung vor der Entstehung irreversibler Leberschäden [9].

### **2.7.7.2. Häufigkeit**

Die Häufigkeit VPE-assoziierter Leberkomplikationen wird in der Literatur unterschiedlich angegeben und variiert je nach Studie zwischen 7,4 und 84%. Hierbei scheinen die Faktoren Langzeit-VPE, Frühgeburtlichkeit und Kurzdarmsyndrom positiv mit einem gehäuften Auftreten der Komplikationen zu korrelieren. Von dem speziellen Fall der VPE-assozierten Cholestase sind laut einer Studie ebenfalls Frühgeborene häufiger als reifgeborene Säuglinge betroffen [9].

### **2.7.7.3. Pathogenese**

Die Pathogenese der VPE-assozierten Lebererkrankung (PEALD) ist weitgehend unklar. Wahrscheinlich geht sie aus dem Zusammenspiel vieler Faktoren hervor, die mit der zugrunde liegenden Erkrankung, Infektions-Episoden und Bestandteilen der VPE-Lösung zusammenhängen.

### **2.7.7.4. Risikofaktoren allgemein**

Patienten- und/oder Krankheits-bedingte Risikofaktoren [31]:

- Langzeitanwendung der VPE
- Mangel an enteraler Nährstoffzufuhr
- Kurzdarmsyndrom
- Bakterielle Überwucherung bei Darmobstruktion
- Schwere Darmmotilitätsstörungen
- Ileocecal-Klappen-Resektion
- Rezidivierende Sepsis-Episoden
- Frühgeburtlichkeit

VPE-assozierte Risikofaktoren [31]:

- Kalorien-Exzess
- Exzessive oder inadäquate Aminosäure-Zufuhr
- Exzessive Verabreichung von Glukose
- Exzessive Lipid-Supplementation
- Kontinuierliche, nicht-zyklische VPE-Gaben

---

Zambrano et al. [71] suchten anhand von Autopsien bei Neugeborenen, die eine VPE erhalten hatten, nach einem Zusammenhang zwischen dem Schweregrad histopathologischer Befunde bei der VPE-induzierten Hepatopathie und vermuteten Risikofaktoren.

Einen Einfluss von Geburtsgewicht, Gestationsalter, NEC, Sepsis, zusätzlicher enteraler Ernährung auf die Ausprägung der Hepatopathie wurde in dieser Studie nicht beobachtet. Die Leberveränderungen waren allerdings umso schwerwiegender, je länger die Patienten eine VPE erhalten hatten. Auch ließen sich bei Patienten mit bronchopulmonaler Dysplasie (BPD) und bei small-for-gestational-age- (SGA-) Patienten häufiger moderate bis schwere Leberveränderungen.

#### **2.7.7.5. Kupfer als Risikofaktor für die VPE-assoziierte Hepatopathie ?**

Weiterhin suchten Zambrano et al. im selben Patientenkollektiv nach Zusammenhängen zwischen einem positiven Kupfernachweis in der Leber und dem Schweregrad der histologischen Leberveränderungen und der VPE-Dauer. Eine intrazelluläre Kupferspeicherung bzw. -ablagerung zeigte sich dabei häufiger in den Lebern mit weniger ausgeprägten histologischen Veränderungen und nach einer kürzeren VPE. Aus diesen Beobachtungen schlossen die Autoren auf eine möglicherweise protektive Wirkung des Kupfers gegen die Entwicklung der VPE-induzierten Hepatopathie [71].

Blaszyk et al., 2005 [6] bestimmten die CuKonz in Leberbiopsaten bei 28 erwachsenen Patienten unter Langzeit-VPE, um zu prüfen, ob diese zu einer (iatrogenen) Cu-Überladung führen kann. Kontrollmessungen erfolgten in Leberbiopsaten von 10 Patienten mit Medikamenten-induzierten cholestatischen Hepatopathien.

Die mittlere CuKonz lag in der Gruppe der VPE-Patienten bei 162 (Streuung 10 – 2248) µg/g und in der Kontrollgruppe bei 88 (37 – 350) µg/g. Bei 29% der VPE-Patienten lagen die CuKonz in einem Bereich, der dem von Patienten mit Morbus Wilson entspricht. Die Leber-CuKonz korrelierten nicht mit

der VPE-Dauer und auch nicht mit der Serum-CuKonz, jedoch mit dem Schweregrad der Cholestase. Die Autoren schlossen deshalb Cu als signifikanten Faktor bei der Entstehung der VPE-assoziierten Hepatopathie aus [6].

Buchman et al. [10] halten die in den VPE-Spurenelementpräparaten enthaltenen Cu-Mengen für nicht hepatotoxisch. Trotzdem empfehlen sie, bei Patienten mit Cholestase kein Cu zu substituieren.

#### **2.7.7.6. Überwachung der Therapie**

Während des Behandlungszeitraumes mit einer VPE ist es unbedingt erforderlich die Leberenzyme regelmäßig zu kontrollieren, um frühzeitig abnorme Leberveränderungen zu erfassen [9].

Hierbei sind die frühesten und sensitivsten, jedoch unspezifischen Marker die Aktivität der plasmatischen alkalischen Phosphatase (AP) und der gamma-Glutamyl-Transferase ( $\gamma$ GT). Wohingegen eine Hyperbilirubinämie als spätestes Zeichen einer Cholestase auftritt. Eine Lebervergrößerung kann sich klinisch sowie sonografisch schon innerhalb weniger Tage nach Beginn der VPE manifestieren. Eine Leberbiopsie ist im frühen Stadium einer Leberfunktionsstörung nicht indiziert.

Säuglinge und Kinder mit einer schlechten Prognose, oder mit einer VPE-Dauer von >3 Monaten und einem Serum-Bilirubin von >50  $\mu\text{mol/l}$ , einer Thrombozytenzahl <100  $\times 10^9/\text{l}$ , einer PT >15 sec, einer PTT >40 sec oder einer Leberfibrose sollten zur weiteren Beurteilung frühzeitig einem erfahrenen pädiatrischen Leber- und Darm-Transplantations-Zentrum vorgestellt werden [31].

#### **2.7.7.7. Prävention und Therapie**

Eine spezifische Therapie der VPE-assoziierten Lebererkrankung existiert – bis auf die Beendigung der VPE – nicht. Es gibt aber Möglichkeiten, die Inzidenz und das Ausmaß der Störung zu vermindern und einige der Komplikationen zu behandeln [45].

Empfehlungen zur Prävention und Therapie der Cholestase [31]:

- Reduktion der Patienten- und VPE-assoziierten Risikofaktoren

- Verordnung maximal tolerierter enteraler Ernährung auch bei minimaler Restfunktion des Darms
- Frühestmöglicher Beginn mit zyklischer VPE
- Therapie intraluminaler bakterieller Überwucherung
- Temporäre Reduktion oder Auslassen der intravenösen Lipid-Gabe bei beständigem Anstieg des konjugierten Bilirubins ohne anderen erkennbaren Grund
- Bei fortwährendem Anstieg der Transaminasen, der alkalischen Phosphatase oder dem konjugierten Bilirubin den Einsatz von Ursodesoxycholsäure in Erwägung ziehen.

Typischerweise wird das Fortschreiten der PEALD und ihre Langzeit-Auswirkungen unterschätzt und daher oft erst spät erkannt, wenn schon irreversible Leberschädigungen vorliegen. In diesem terminalen Stadium sind die meisten therapeutischen Optionen wenig aussichtsreich [10].

Betroffene Patienten könnten von einer isolierten orthotopen Lebertransplantation profitieren, vorausgesetzt sie tolerieren enterale Ernährung und verfügen über ausreichend Dünndarm [9]. Bei Patienten mit intestinaler Insuffizienz und Vorliegen des terminalen Stadiums der Leberschädigung stellt die kombinierte Darm-Leber-Transplantation trotz der schlechten Prognose die einzige lebensrettende Möglichkeit dar. Daher sollte an diesen Patienten bei Versagen der oben genannten Maßnahmen noch vor Erreichen des Endstadiums der Lebererkrankung zügig eine isolierte Darm-Transplantation durchgeführt werden. Hiermit kann unter Umständen eine zusätzliche Lebertransplantation verhindert werden, die eine Verschlechterung des Ergebnisses beinhaltet [10].

## **3. PATIENTEN UND METHODIK**

### **3.1. PATIENTEN DER PROSPEKTIVEN STUDIE**

Die in dieser Arbeit untersuchten Kinder waren in der Mehrzahl Patienten der Onkologischen Abteilung der Kinderklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital der Universität München. Ihre Messdaten wurden im Zusammenhang mit einer prospektiven Studie [58] erfasst, in der untersucht wurde, ob bei einer schweren, während einer Chemotherapie entstandenen und dem Patienten eine normale Nahrungsaufnahme unmöglich machenden Entzündung der Mundschleimhaut (orale Mucositis) eine völlig parenterale Ernährung (VPE) der konventionellen Flüssigkeitsersatztherapie mit Glukose und Elektrolyten überlegen ist. Die Patienten der Studie, die hier kurz „Mucositisstudie“ genannt werden soll, litten unter malignen Erkrankungen, die meisten unter einer akuten lymphoblastischen Leukämie.

In die Mucositisstudie aufgenommen wurden ursprünglich insgesamt 35 Patienten, die randomisiert entweder die VPE (Hauptgruppe) oder die herkömmlichen Infusionen erhielten (Kontrollgruppe). Als Ergebnis der Studie stellte sich bei den Patienten mit VPE eine statistisch gesicherte, stärkere Gewichtszunahme gegenüber den herkömmlich behandelten (Kontroll-) Patienten heraus. Es handelte sich dabei jedoch vorwiegend um eine Fettgewebszunahme. Weitere Unterschiede zwischen den Patientengruppen konnten in der Studie durch vergleichende körperliche und klinisch-chemische Untersuchungen nicht entdeckt bzw. statistisch nicht gesichert werden [58]. Insbesondere wurden auch keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den Serumkupferkonzentrationen der beiden Patientengruppen festgestellt, obwohl die Patienten mit VPE im Gegensatz zu den konventionell behandelten kupfersubstituiert worden waren.

Nach Abschluss der Mucositisstudie wurden einige der Kupfermessungen durch das Dokumentationszentrum mit einer neu entwickelten Analysemethode noch einmal bewertet und dabei ein erheblicher Kupferüberschuss im Serum einiger der Studienpatienten entdeckt. Diese Beobachtungen waren

der Anlaß, in dieser Arbeit systematisch die Kupfermesswerte der Patienten der Mucositisstudie (die Kupfersubstituierten und die Kontrollpatienten) mit der neuen Untersuchungsmethode noch einmal zu analysieren. Es handelt sich bei diesem Teil der Arbeit also um eine Bewertung von Messdaten von Patienten einer prospektiven Studie.

In dieser Arbeit konnten nicht alle Patienten der Mucositisstudie berücksichtigt werden, weil von einigen keine oder nur inkomplette Kupferuntersuchungen vorlagen. Auch wurden in der Mucositisstudie einige Patienten, die zweimal eine schwere Mucositis erlitten, nach erneuter Randomisierung ein zweitesmal in die Studie aufgenommen, so dass ein Einfluss der ersten Behandlung auf die Kupfermessgrößen während der zweiten Behandlung nicht ausgeschlossen werden konnte. Messwerte dieser Patienten wurden in dieser Arbeit nicht erfasst.

Aus der Mucositisstudie konnten deshalb in diese Arbeit nur 21 (der 35) Patienten übernommen werden: 12 Patienten erhielten eine CuSubst, 9 Patienten erhielten keine.

### **3.2. PATIENTEN DER RETROSPEKTIVEN STUDIE**

Im Datenarchiv des Dokumentationszentrums fanden sich weitere Kupfermesswerte, die bei der Sammlung von Messungen anderer Patienten zusammengetragen worden waren. Auch unter diesen befanden sich einige Patienten mit CuSubst bei VPE. Ihr Behandlungsprotokoll war dem der Mucositisstudie identisch. Diese Patienten ( $n = 7$ ) wurden auch in diese Arbeit aufgenommen. Die Gesamtzahl der kupfersubstituierten Patienten dieser Arbeit beträgt also 19.

Im Datenarchiv fanden sich auch Kupfermessgrößen von Patienten, die keine CuSubst erhalten hatten und über längere Zeit beobachtet worden waren. Diese Patienten ( $n = 18$ ) werden hier einer eigenen Kontrollgruppe zugeordnet. Die Gesamtzahl der nicht kupfersubstituierten Patienten beträgt in dieser Arbeit also 27.

### **3.3. ZUORDNUNG DER PATIENTEN ZU DEN BEHANDLUNGSGRUPPEN**

Bei der Auswertung der Ergebnisse dieser Arbeit stellte sich heraus, dass sich die Messwerte der Kupfersubstituierten nicht nur von denen der Nichtsubstituierten unterschieden, sondern je nach CuSubst auch untereinander. So ergaben sich Unterschiede zwischen den höher und den niedriger, aber auch zwischen den länger und den kürzer kupfersubstituierten Patienten. Deshalb wurden die Patienten nachträglich verschiedenen (Behandlungs-)Gruppen zugeordnet und die Messergebnisse getrennt analysiert. Dieser Teil dieser Arbeit ist also als retrospektiv anzusehen.

Die Patienten dieser Arbeit lassen sich demnach zuordnen

**der Hauptgruppe** (n=19):

Patienten mit CuSubst bei VPE und

**der Kontrollgruppe** (n=27):

Patienten ohne CuSubst und ohne VPE

Bei den Patienten der Hauptgruppe kamen zwei kupferhaltige Konzentrate in Form von Infusionslösungen zur Anwendung:

- Peditrace®<sup>15</sup>
- Inzolen®-Infantibus<sup>16</sup>

Die jeweilige Zusammensetzung mit Kupfergehalt sowie die Zufuhrempfehlung werden in Kapitel 2.7.5 weiter ausgeführt.

Bei der Auswahl der Patienten der Kontrollgruppe wurde zudem darauf geachtet, ein Kollektiv zu schaffen, das in Bezug auf Erkrankung, Alter und Geschlecht möglichst große Schnittmengen mit der Hauptgruppe aufweist (Tabelle 3.1).

---

<sup>15</sup> Baxter Deutschland GmbH; Unterschleißheim

<sup>16</sup> Dr. Franz Köhler Chemie GmbH, Alsbach-Hähnlein

	Hauptgruppe	Kontrollgruppe
Diagnose	onkologische Erkrankung: 15 andere Erkrankung: 4	onkologische Erkrankung: 26 andere Erkrankung: 1
Alter zum Zeitpunkt der ersten Untersuchung	1 Monat – 16 Jahre Ø = 8 Jahre	9 Monate – 17 Jahre Ø = 6 Jahre
Geschlecht	m:w = 12:7	m:w = 14:13

**Tabelle 3.1: Durchschnittsalter und Diagnosen der in dieser Arbeit untersuchten Patienten**

Einzelheiten zu den Patienten beider Gruppen sind in den beiden folgenden Tabellen wiedergegeben (Tabelle 3.2 und Tabelle 3.3). Die Patienten der Mucosistisstudie sind durch Unterstreichung hervorgehoben. Als Bezugszeitpunkt für das Lebensalter der Patienten wurde der Tag der ersten Untersuchung gewählt.

Patient Nr.	Alter	Geschlecht	Diagnose	Präparat	durchschnittliche Kupfer – Dosis (µg/kg/d)	Dauer der Gabe (d)
#1	2 Monate	weiblich	Frühgeborenes	Peditrace®	20,8	194
#2	16 Jahre	weiblich	Pneumonie	Peditrace®	3,9	33
#3	10 Monate	männlich	AML	Peditrace®	18,2	31
#4	14 Jahre	weiblich	neuroektodermaler Tumor	Inzolen® - Infantibus	10,7	4
#5	2 Jahre	männlich	Rhabdomyosarkom	Peditrace®	9,4	17
#6	6 Jahre	weiblich	T-Zell-Lymphom	Inzolen® - Infantibus	14,5	11
#7	4 Jahre	männlich	ALL	Peditrace®	9,6	23
#9	16 Jahre	weiblich	Nasopharynx-CA	Inzolen® - Infantibus	15,9	10
#10	1 Monat	männlich	Sinusvenenthrombose	Peditrace®	18,8	2
#11	7 Tage	männlich	Frühgeborenes	Peditrace®	25,0	17
#34	4 Jahre	männlich	NHL	Inzolen® - Infantibus	16,3	5
#37	2 Jahre	männlich	AML	Inzolen® - Infantibus	15,1	7
#42	7 Jahre	männlich	NHL	Inzolen® - Infantibus	12,1	12
#44	14 Jahre	weiblich	ALL	Inzolen® - Infantibus	12,7	7
#45	2 Jahre	männlich	ALL	Inzolen® - Infantibus	17,5	7
#46	2 Jahre	männlich	ALL	Inzolen® - Infantibus	24,3	6
#47	10 Jahre	männlich	ALL	Inzolen® - Infantibus	12,8	6
#50	5 Jahre	männlich	ALL	Inzolen® - Infantibus	11,6	8
#51	3 Jahre	weiblich	ALL	Inzolen® - Infantibus	20,6	6
<i>Median Kupfer-Dosis: 15,1 µg/kg/d; Median Dauer der Gabe: 8 d</i>						

Tabelle 3.2: Detaildaten der Patienten der Hauptgruppe

<b>Patient</b>	<b>Alter*</b>	<b>Geschlecht</b>	<b>Diagnose</b>
#12	<u>15 Jahre</u>	<u>weiblich</u>	<u>M. Hodgkin</u>
#13	13 Jahre	männlich	ALL
#14	4 Jahre	männlich	ALL
#15	13 Jahre	weiblich	M. Hodgkin
#16	17 Jahre	weiblich	Granulosazelltumor
#17	3 Jahre	männlich	ALL
#18	9 Jahre	weiblich	ALL
#20	12 Jahre	männlich	ALL
#21	9 Jahre	weiblich	Rhabdomyosarkom
#22	7 Jahre	weiblich	CML
#23	5 Jahre	männlich	Nephroblastom
#24	<u>3 Jahre</u>	<u>männlich</u>	<u>ALL</u>
#25	11 Jahre	weiblich	ALL
#26	10 Jahre	männlich	Nephroblastom
#27	3 Jahre	weiblich	Nephroblastom
#28	11 Jahre	männlich	ALL
#29	9 Monate	weiblich	ALL
#30	1 Jahr	männlich	Rhabdomyosarkom
#31	<u>5 Jahre</u>	<u>weiblich</u>	<u>ALL</u>
#32	12 Jahre	weiblich	Nephrose
#33	11 Jahre	weiblich	ALL
#35	<u>16 Jahre</u>	<u>männlich</u>	<u>HCC</u>
#36	<u>3 Jahre</u>	<u>männlich</u>	<u>ALL</u>
#38	<u>11 Jahre</u>	<u>männlich</u>	<u>Sarkom</u>
#39	<u>10 Jahre</u>	<u>männlich</u>	<u>NHL</u>
#40	<u>2 Jahre</u>	<u>weiblich</u>	<u>ALL</u>
#41	<u>4 Jahre</u>	<u>männlich</u>	<u>ALL</u>

**Tabelle 3.3: Patientencharakteristika der Kontrollgruppe**

### **3.3.1. Studienprotokoll**

Die Patienten der Hauptgruppe durchliefen verschiedene Phasen der CuSubst, in denen die hier ausgewerteten Kupfermessungen erfolgten. Die Messungen werden entsprechend der Höhe der Kupferdosis und der Dauer der Kupfergabe vier Gruppen zugeordnet. Innerhalb dieser vier Gruppen erfolgte eine weitere Aufteilung in eine Vor-, eine Während- und eine Nachsubstitutionsgruppe. Letztere wurde wiederum in eine Früh- und eine Spät-Nachsubstitutionsgruppe unterteilt. Im Folgenden wird die Zuordnung der Messungen der Kupfersubstituierten genau beschrieben (siehe auch die Zusammenfassung in Abbildung 3.1).

#### Ebene 1 der Abbildung:

Zunächst erfolgte dem Kriterium „Parenterale Kupfersubstitution“ entsprechend die Zuordnung der Patienten in die Hauptgruppe (mit CuSubst) oder die Kontrollgruppe (ohne CuSubst) dieser Arbeit. Die Patienten, identifizierbar anhand der an sie vergebenen Nummer (die Nummerierung der Probanden erfolgte in Abhängigkeit des Zeitpunktes ihrer Aufnahme in die Studie). Aufgrund unzureichender Dokumentation oder dem Fehlen von parallel bestimmten Kupfer- und Coeruloplasmin-Werten mussten im Verlauf der Datenerhebung die Probanden #8, #19, #43, #48 und #49 aus der Arbeit ausgeschlossen werden. Die Anzahl der bei jedem Patienten durchgeführten kompletten Kupfermessungen sind in Tabelle 3.4 oben wiedergegeben.

Beispiel: Der als erster in der Kontrollgruppe angeführte Patient Nr. 12 wurde insgesamt 31mal untersucht.

Die Messwerte der Patienten der Hauptgruppe wurden dann den folgenden Gruppen zugeordnet:

#### Ebene 2 der Abbildung:

Für jeden der Patienten wurden – für diese Arbeit retrospektiv - die Höhe seiner durchschnittlichen täglichen Kupferdosis (in  $\mu\text{g}/\text{kgKG}/\text{d}$ ) und die durchschnittliche Dauer der Substitution (in Tagen) berechnet. Der Median

der Kupfersubstitutionsdosis lag bei 15,1 µg/kgKG/d, der der Kupfersubstitutionsdauer lag bei 8 Tagen. Diesen Werten entsprechend wurden die Messwerte der betreffenden Patienten vier Gruppen zugeordnet: zum einen den (Substitutionsdosis-)Gruppen 1 und 2 und zum anderen den (Substitutionsdauer-)Gruppen 3 und 4. So sind einerseits in Gruppe 1 alle Messwerte von Patienten erfasst, die weniger als 15,1 µgCu/kgKG/d erhielten, und in Gruppe 2 alle Messwerte von Patienten, die 15,1 µgCu/kgKG/d oder mehr erhielten, und andererseits in Gruppe 3 alle Messwerte von Patienten, die kürzer als 8 Tage behandelt wurden, und in Gruppe 4 alle Messwerte von Patienten, die 8 Tage oder länger behandelt wurden. Die Messwerte eines jeden kupfersubstituierten Patienten (der Hauptgruppe) sind also sowohl in den Gruppen 1 oder 2 als auch in den Gruppen 3 oder 4 erfasst (siehe in Tab. 3.4 die Zeilen für Gruppe 1.0 (<15,1µgCu/kgKG/d), Gruppe 2.0 (≥15,1 µgCu/kgKG/d), Gruppe 3.0 (<8 Tage) und Gruppe 4.0 (≥8 Tage).

Beispiel: In der Hauptgruppe ist der als Vierter angeführte Patient (Nr. 4) mit jeweils 21 Untersuchungen in Gruppe 1.0 und in Gruppe 3.0 aufgeführt.

#### Ebene 3 der Abbildung:

Desweiteren wurden die Messungen der kupfersubstituierten Patienten der Gruppen 1.0 bis 4.0 zusätzlich entsprechend den Substitutionsphasen (vor, während und nach CuSubst) drei weiteren Untergruppen zugeordnet (die Untergruppennummer steht jeweils rechts neben der Gruppennummer): Untergruppe „1.1“, „2.1“, „3.1“, „4.1“ = vor, „1.2“, „2.2“, „3.2“, „4.2“ = während und „1.3“, „2.3“, „3.3“, „4.3“ = nach der Cu-Substitution.

Weil nicht von allen Patienten Messungen aus der Vor- und Nachsubstitutionsphase vorlagen, sind nicht alle Patienten in allen drei Untergruppen aufgeführt.

Beispiel: In Gruppe 2.0 ist Patient Nr. 9 mit 27 Messungen aufgeführt; 11 der Messungen entfallen auf die Untergruppe 2.1 (vor der CuSubst), 6 auf die Untergruppe 2.2 (während der CuSubst) und 10 auf die Untergruppe 2.3 (nach der CuSubst).

Ebene 4 der Abbildung:

Während der Auswertung fiel auf, dass ein Teil der Messwerte von kurz nach Ende der CuSubst durchgeführten Messungen erheblich von denen späterer Messungen abwichen. Dies ließ auf eine die CuSubst überdauernde Wirkung schließen. Es wurden deshalb die Nachsubstitutionsmessungen einer Früh-Nachsubstitutionsgruppe („1.3.1“, „2.3.1“, „3.3.1“, „4.3.1“) und einer Spät-Nachsubstitutionsgruppe („1.3.2“, „2.3.2“, „3.3.2“, „4.3.2“) zugeordnet und zwar abhängig davon, ob die Messungen innerhalb der ersten 9 Tage (<10 Tage; Gruppe n.3.1) oder später ( $\geq 10$  Tage; Gruppe n.3.2) erfolgten.

Beispiel: Von den 21 Messungen bei Patient Nr. 4, die den Gruppen 1 bzw. 3 zugeordnet waren, fielen 3 in die Früh-Nachsubstitutionsphase (Gruppe 1.3.1) und 12 in die Spät-Nachsubstitutionsphase (Gruppe 1.3.2).

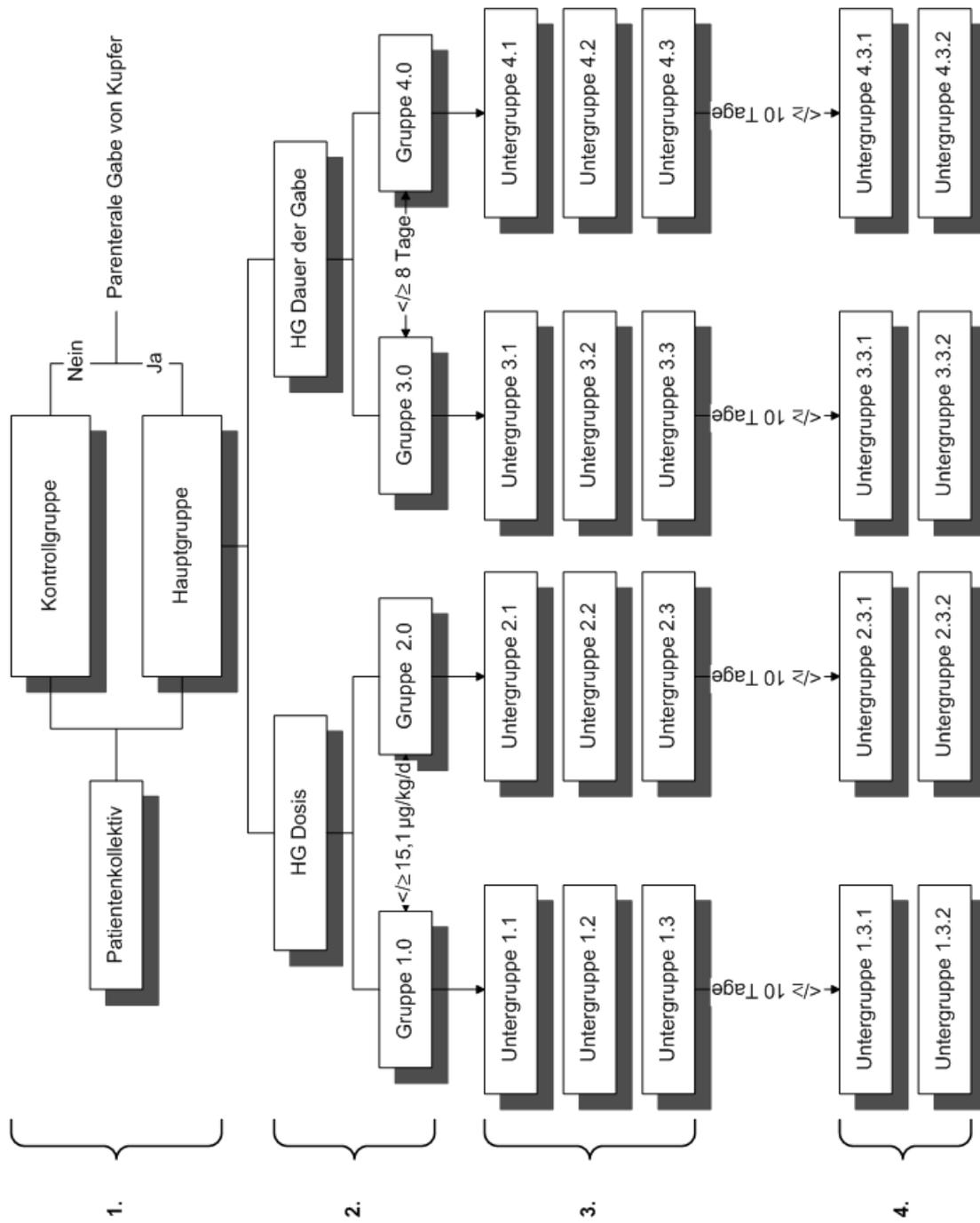


Abbildung 3.1: Überblick über das Studienprotokoll

<b>STUDIENGRUPPE</b>	<b>PATIENTENKOLLEKTIV UNTER ANGABE DER PROBANDENUMMER UND DER ANZAHL DER UNTERSUCHUNGEN (LETZTERE IN KLAMMERN)</b>	<b>BETRACHTETE PARAMETER</b>
Kontrollgruppe n = 27	12 (31), 13 (12), 14 (14), 15 (12), 16 (12), 17 (11), 18 (12), 20 (22), 21 (14), 22 (18), 23 (9), 24 (27), 25 (18), 26 (13), 27 (11), 28 (16), 29 (17), 30 (9), 31 (17), 32 (69), 33 (26), 35 (25), 36 (8), 38 (5), 39 (18), 40 (16), 41 (20)	
Hauptgruppe n = 19	1 (5), 2 (8), 3 (19), 4 (21), 5 (15), 6 (20), 7 (18), 9 (27), 10 (6), 11 (4), 34 (17), 37 (8), 42 (32), 44 (17), 45 (16), 46 (8), 47 (14), 50 (17), 51 (6)	
Gruppe 1.0 n = 9	2 (8), 4 (21), 5 (15), 6 (20), 7 (18), 42 (32), 44 (17), 47 (14), 50 (17)	< 15,1 µg/kg/d
Untergruppe 1.1 n = 8	4 (4), 5 (5), 6 (11), 7 (2), 42 (3), 44 (4), 47 (4), 50 (3)	vor der Gabe
Untergruppe 1.2 n = 9	2 (7), 4 (2), 5 (4), 6 (6), 7 (3), 42 (3), 44 (3), 47 (2), 50 (2)	während der Gabe
Untergruppe 1.3 n = 9	2 (1), 4 (15), 5 (6), 6 (3), 7 (13), 42 (26), 44 (10), 47 (8), 50 (12)	nach der Gabe insgesamt
Untergruppe 1.3.1 n = 6	4 (3), 5 (3), 7 (2), 42 (1), 47 (1), 50 (1)	< 10 Tage nach der Gabe
Untergruppe 1.3.2 n = 9	2 (1), 4 (12), 5 (3), 6 (3), 7 (11), 42 (25), 44 (10), 47 (7), 50 (11)	≥ 10 Tage nach der Gabe
Gruppe 2.0 n = 10	1 (5), 3 (19), 9 (27), 10 (6), 11 (4), 34 (17), 37 (8), 45 (16), 46 (8), 51 (6)	≥ 15,1 µg/kg/d
Untergruppe 2.1 n = 6	3 (2), 9 (11), 34 (2), 45 (7), 46 (6), 51 (2)	vor der Gabe
Untergruppe 2.2 n = 9	1 (4), 3 (6), 9 (6), 11 (1), 34 (2), 37 (4), 45 (3), 46 (2), 51 (3)	während der Gabe
Untergruppe 2.3 n = 9	1 (1), 3 (11), 9 (10), 10 (6), 11 (3), 34 (13), 37 (4), 45 (6), 51 (1)	nach der Gabe

Untergruppe 2.3.1 n = 6	1 (1), 3 (2), 9 (1), 10 (3), 11 (1), 45 (3)	< 10 Tage nach der Gabe
Untergruppe 2.3.2 n = 8	3 (9), 9 (9), 10 (3), 11 (2), 34 (13), 37 (4), 45 (3), 51 (1)	≥ 10 Tage nach der Gabe
Gruppe 3.0 n = 9	4 (21), 10 (6), 34 (17), 37 (8), 44 (17), 45 (16), 46 (8), 47 (14), 51 (6)	< 8 Tage Gesamtdauer Gabe
Untergruppe 3.1 n = 7	4 (4), 34 (2), 44 (4), 45 (7), 46 (6), 47 (4), 51 (2)	vor der Gabe
Untergruppe 3.2 n = 8	4 (2), 34 (2), 37 (4), 44 (3), 45 (3), 46 (2), 47 (2), 51 (3)	während der Gabe
Untergruppe 3.3 n = 8	4 (15), 10 (6), 34 (13), 37 (4), 44 (10), 45 (6), 47 (8), 51 (1)	nach der Gabe
Untergruppe 3.3.1 n = 4	4 (3), 10 (3), 45 (3), 47 (1)	< 10 Tage nach der Gabe
Untergruppe 3.3.2 n = 8	4 (12), 10 (3), 34 (13), 37 (4), 44 (10), 45 (3), 47 (7), 51 (1)	≥ 10 Tage nach der Gabe
Gruppe 4.0 n = 10	1 (5), 2 (8), 3 (19), 5 (15), 6 (20), 7 (18), 9 (27), 11 (4), 42 (32), 50 (17)	≥ 8 Tage Gesamtdauer Gabe
Untergruppe 4.1 n = 7	3 (2), 5 (5), 6 (11), 7 (2), 9 (11), 42 (3), 50 (3)	vor der Gabe
Untergruppe 4.2 n = 10	1 (4), 2 (7), 3 (6), 5 (4), 6 (6), 7 (3), 9 (6), 11 (1), 42 (3), 50 (2)	während der Gabe
Untergruppe 4.3 n = 10	1 (1), 2 (1), 3 (11), 5 (6), 6 (3), 7 (13), 9 (10), 11 (3), 42 (26), 50 (12)	nach der Gabe
Untergruppe 4.3.1 n = 8	1 (1), 3 (2), 5 (3), 7 (2), 9 (1), 11 (1), 42 (1), 50 (1)	< 10 Tage nach der Gabe
Untergruppe 4.3.2 n = 9	2 (1), 3 (9), 5 (3), 6 (3), 7 (11), 9 (9), 11 (2), 42 (25), 50 (11)	≥ 10 Tage nach der Gabe

**Tabelle 3.4: Überblick über das Studienkollektiv**

### 3.4. MESS- UND BERECHNUNGSMETHODEN

In dieser Arbeit werden Messwerte der Kupfer- und Coeruloplaminkonzentrationen von Kindern analysiert, die Patienten des Dr. von Haunerschen Kinderspitals waren. Die Kupfermessungen erfolgten bis zum 1.10.1999 im Labor des Kinderspitals (Leitung: Prof. Dr. med. A. Roscher) und anschließend im Zentrallaboratorium des Innenstadt-Klinikums (Leitung: Prof. Dr. med. K. Horn). Die Coeruloplasminmessungen erfolgten bis zum 21.1.1999 im Labor des Kinderspitals und anschließend im Zentrallaboratorium.

Es wurden nur Messwerte berücksichtigt, die auf „Parallelmessungen“ von Kupfer (Cu) und Coeruloplasmin (Cpl) in ein und derselben Serumprobe (sog. „Cu<sub>und</sub>Cpl-Messung“) beruhen.

#### 3.4.1. *Betrachtete Kupfermessgrößen*

Das Hauptaugenmerk gilt in dieser Arbeit dem Kupferüberschuss im Serum, dem Delta-Cu oder  $\Delta\text{Cu}$ .  $\Delta\text{Cu}$  und das Nicht-Coeruloplasminkupfer (Nicht-CplCu) werden hier als identische Rechengrößen<sup>17</sup> angesehen, welche die Differenz darstellen zwischen der tatsächlich in einem Serum vorhandenen (gemessenen) Kupferkonzentration ( $\text{Cu}_{\text{IST}}$ ) und der erwarteten Kupferkonzentration ( $\text{Cu}_{\text{SOLL}}$ ):

$$\Delta\text{Cu} = \text{Nicht-CplCu} = \text{Cu}_{\text{IST}} - \text{Cu}_{\text{SOLL}}$$

Das  $\text{Cu}_{\text{SOLL}}$  lässt sich – folgt man den neueren Untersuchungsergebnissen verschiedener Arbeitsgruppen – aus der CplKonz im Serum eines Menschen berechnen, weil 1. unter normalen Bedingungen neben dem Coeruloplasminkupfer (CplCu) praktisch kein weiteres Kupfer im

---

<sup>17</sup> Eine Identität zwischen  $\Delta\text{Cu}$  und Nicht-CplCu wurde im Rahmen der Untersuchungen im Dokumentationszentrums bisher nur bei zwei Erkrankungen beobachtet: beim Morbus Wilson [41] und beim Toxischen Schock Syndrom [20]

Serum vorkommt (Nicht-CplCu = nahezu 0) und 2. im Coeruloplasminmolekül stets sechs Atome Kupfer strukturell gebunden sind. Das Mengenverhältnis von Cpl und Cu, der Cu/Cpl-Mengenkoeffizient, in einem Serum beträgt demnach 6:1 = 6.

Mit Hilfe dieses Koeffizienten kann das CplCu eines Serums berechnet werden nach der Formel

$$\mathbf{CplCu = 6 \times Cpl}$$

Da es unter normalen Bedingungen außer dem CplCu praktisch kein weiteres Cu im Serum gibt und deshalb das CplCu dem Cu<sub>SOLL</sub> entspricht, gilt auch die Formel

$$\mathbf{Cu_{SOLL} = 6 \times Cpl}$$

Eine eventuelle Abweichung der gemessenen CuKonz (des Cu<sub>IST</sub>) vom Cu<sub>SOLL</sub> lässt sich anhand der Berechnung des ΔCu erkennen:

$$\mathbf{\Delta Cu = Cu_{IST} - Cu_{SOLL}}$$

oder

$$\mathbf{\Delta Cu = Cu_{IST} - 6 \times Cpl}$$

### **Das Problem der abweichenden Cpl-Messung**

Cu<sub>und</sub>Cpl-Messungen, die in klinisch-chemischen Laboratorien durchgeführt werden, können sehr unterschiedliche Cpl-Messwerte erbringen. Im Vergleich zu früheren Jahren liegen die Messwerte heute deutlich niedriger. Die Gründe hierfür sind noch nicht bekannt. Die Variabilität der Cpl-Messergebnisse hat zur Folge, dass die rechnerisch ermittelten Cu/Cpl-Quotienten deutlich angestiegen sind und nicht mehr dem „wahren“ Cu/Cpl-Quotienten von 6 entsprechen. Derzeit liegen die rechnerisch ermittelten Cu/Cpl-Quotienten bei ca. 10.

Wegen der Inkonstanz der Cpl-Messwerte kann der „wahre“ Cu/Cpl-Koeffizient (6) nicht ohne weiteres als Äquivalent des Cu/Cpl-Koeffizienten verwendet werden. Es muss vielmehr jeweils der aktuelle Cu/Cpl-Koeffizient ermittelt werden. Dies geschieht hier durch Berech-

nung aller Cu/Cpl-Quotienten des U-Tages und der Ermittlung des Medians der Quotienten. Dieser kann dann, wie die umfangreichen Untersuchungen im Dokumentationszentrum ergeben haben, als Äquivalent des „gültigen“ Cu/Cpl-Koeffizienten zur Berechnung des  $\Delta\text{Cu}$  verwendet werden:

$$\Delta\text{Cu} = \text{Cu}_{\text{IST}} - \text{Median der Cu/Cpl-Quotienten} \times \text{Cpl}$$

Im Anschluß an die folgende zweiteilige Tabelle wird am Beispiel aller Cu- und Cpl-Messungen ( $n = 8$ ) eines Laboratoriums an einem Tag diese Methode zur Berechnung des  $\Delta\text{Cu}$  in den untersuchten Seren detailliert beschrieben.

**Teil A**

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
U-Datum	Patient	Cu µg/dl	Cu µmol/l	Cpl mg/dl	Cpl µmol/l	Cu/Cpl-Quotient	ΔCu (Tag)	ΔCu (Woche)	ΔCu (Monat)	ΔCu (Quartal)
11.05.2000	A	127,0	19,99	25,60	1,94	10,31	0,48	-1,91	-1,07	-0,78
11.05.2000	B	152,0	23,92	kw	leer	leer	leer	leer	leer	leer
11.05.2000	C	93,0	14,64	19,20	1,45	10,06	0,01	-1,78	-1,16	-0,94
11.05.2000	D	152,0	23,92	31,70	2,40	9,96	-0,23	-3,19	-2,16	-1,80
11.05.2000	E	139,0	21,88	28,90	2,19	9,99	-0,15	-2,84	-1,90	-1,57
11.05.2000	F	127,0	19,99	24,90	1,89	10,60	1,01	-1,31	-0,50	-0,21
11.05.2000	G	101,0	15,90	21,50	1,63	9,76	-0,49	-2,49	-1,79	-1,55
11.05.2000	H	141,0	22,19	8,20	0,62	35,73	15,94	15,18	15,45	15,54
11.05.2000	I	kw	leer	30,10	2,28	leer	leer	leer	leer	leer

**Tabelle 3.5: Tagesauszug aus dem Datenarchiv des Dokumentationszentrums**

Kupfermessgrößen Cu und Cpl (Spalten 3 bis 6), Cu/Cpl-Quotienten der jeweiligen Cu<sub>und</sub>Cpl-Messung (Spalte 7). Der Median aller Cu/Cpl-Quotienten des Untersuchungstages (siehe Teil B der Tabelle auf der folgenden Seite: Median U-Tages = 10,06) diente zur Berechnung des ΔCu (Spalten 8 „ΔCu (Tag). Die weiteren ΔCu (Woche, Monat, Quartal) errechnet mit den Medianen aller Cu<sub>und</sub>Cpl-Messungen der Woche, des Monats und des Quartals (siehe Teil B der Tabelle) sind in den Spalten 9 bis 11 angegeben.

## Teil B

Die Mediane der Cu/Cpl-Quotienten		
Berechnet aus den 7 Messungen des 11.05.2000	<b>Median U-Tag</b>	<b>10,06</b>
Berechnet aus den 43 Messungen in der 20. Woche 2000	Median U-Woche	11,29
Berechnet aus den 334 Messungen im Mai 2000	Median U-Monat	10,86
Berechnet aus den 558 Messungen im 2. Quartal 2000	Median U-Quartal	10,71

**Tabelle 3.6: Tagesauszug (Datum 11.5.2000) aus dem Datenarchiv des Dokumentationszentrums**

Median aller Cu/Cpl-Quotienten des U-Tages (siehe Teil A der Tabelle auf der vorhergehenden Seite) und die Mediane aller Cu/Cpl-Quotient aus Messungen der/des zum U-Tag gehörenden Woche, Monats und Quartals (die Messwerte selbst und die Cu/Cpl-Quotienten der einzelnen Messungen sind hier nicht angegeben).

Der Median der Cu/Cpl-Quotienten wird als Äquivalent des für diese Untersuchungsreihe „aktuellen“ Cu/Cpl-Koeffizienten betrachtet. Seine Berechnung wird auf den beiden folgenden Textseiten ausführlich begründet und beschrieben.

---

Tabelle 3.5 (Teil A) und Tabelle 3.6 (Teil B) geben als Tagesauszug vom 11.05.2000 aus dem Datenarchiv des Dokumentationszentrums die gemessenen und berechneten Kupfermessgrößen wieder.

Im Vordergrund steht die Ermittlung des „aktuellen Tageswertes“ des Medians der Cu/Cpl-Quotienten des Untersuchungstages (U-Tag). Dieser Median wird in den weiteren Berechnungen als Äquivalent des Cu/Cpl-Koeffizienten verwendet und zuvor - zu seiner Kontrolle - verglichen mit den Medianen der Cu/Cpl-Quotienten der/des zum U-Tag gehörenden Woche, Monats und Quartals.

**Im Teil A** der Tabelle stehen neben dem Untersuchungsdatum (U-Datum; Spalte 1) die Patientennummern (Spalte 2), die Messwerte von Cu (in  $\mu\text{g/dl}$  Spalte 3 und in  $\mu\text{mol/l}$  Spalte 4), sowie die Messwerte von Cpl (in  $\text{mg/dl}$  Spalte 5 und in  $\mu\text{mol/l}$  Spalte 6).

Nicht komplette Cu<sub>und</sub>Cpl-Messungen (Fehlen des Cu- oder Cpl-Messwertes), wie die der Patienten B und I (kw = kein Wert) mit hier fehlenden Messwerten für Cpl, werden bei den weiteren Berechnungen nicht berücksichtigt.

Der für jeden Patienten aus der Cu<sub>und</sub>Cpl-Messung durch Division der  $\mu\text{molCu/l}$  durch die  $\mu\text{molCpl/l}$  errechnete Cu/Cpl-Quotient ist in Spalte 7 eingetragen. Die Quotienten schwanken am U-Tag – bis auf eine Ausnahme: Patient H – um 10 ( $\mu\text{molCu/l}/\mu\text{molCpl/l}$ ). Der Cu/Cpl-Quotient des Patienten H dagegen liegt mit 35,73 deutlich höher.

Aus allen Cu/Cpl-Quotienten des U-Tages wird der Median errechnet. Er ist im Teil B der Tabelle als „Median U-Tag“ angegeben, gilt als der „aktuelle“ Cu/Cpl-Quotient des Laboratoriums für diesen U-Tag und wird im Folgenden als Äquivalent des Cu/Cpl-Koeffizienten betrachtet.

Verwendet wird der Median der Cu/Cpl-Quotienten anstelle ihres Mittelwertes, weil auf diese Weise der Einfluss stark abweichender Werte gemindert wird. In diesem Beispiel liegt der Median bei 10,06, der Mittelwert dagegen – bedingt durch den Cu/Cpl-Quotient des Patienten H - bei 13,77.

Das deutliche Abweichen des Cu/Cpl-Quotienten des Patienten lässt sich dadurch erklären, dass dieser Patient an einem Morbus Wilson leidet und

dass diese Erkrankung durch niedrige Cpl-Konz und eine echte Hypercuprämie gekennzeichnet ist. Bei der Berechnung des Medians (und nicht des Mittelwertes) aller Cu/Cpl-Quotienten des U-Tages als Äquivalent des Cu/Cpl-Koeffizienten verlieren solche vereinzelt auftretende pathologische Werte an Gewicht.

Zur Kontrolle und Absicherung des Medians der Cu/Cpl-Quotienten des U-Tages werden zusätzlich aus allen Messwerten (hier nicht aufgeführt) der/des zum U-Tag gehörenden Woche, Monats und Quartals zusätzlich die Medianwerte aller Cu/Cpl-Quotienten auch dieser Zeitabschnitte berechnet. Sie liegen für den hier besprochenen U-Tag (siehe **Teil B** der Tabelle) für die U-Woche bei 11,29), für den Monat bei 10,86) und für das Quartal bei 10,71.

Mit Hilfe der Formel:

$$\Delta\text{Cu } (\mu\text{mol/l}) = \text{Cu}_{\text{IST}} - \text{Median der Cu/Cpl-Quotienten} \times \text{Cpl } (\mu\text{mol/l})$$

wird dann für jedes Serum  $\Delta\text{Cu}$  berechnet.

In Teil A der Tabelle sind die so berechneten  $\Delta\text{Cu}$ -Werte wiedergegeben:

In diesem Beispiel liegen (Zeile 8) die  $\Delta\text{Cu}$ -Werte – bis auf eine Ausnahme: Patient H – nahe Null (-0,49 bis 1,01  $\mu\text{molCu/l}$ ), nur für das Serum des Patienten H (mit dem Morbus Wilson) lässt sich ein eindeutig positiver Wert (15,94  $\mu\text{molCu/l}$ ) für  $\Delta\text{Cu}$  nachweisen.

Die zur Kontrolle angeführten  $\Delta\text{Cu}$ -Werte (Spalten 9 bis 11) liegen sämtlich im Bereich der  $\Delta\text{Cu}$ -Werte des U-Tages.

### **3.4.2. Klinische Relevanz des $\Delta\text{Cu}$ -wertes**

Die klinische Relevanz des  $\Delta\text{Cu}$  zeigt sich darin, dass er erlaubt, eine echte Hypercuprämie von einer Pseudohypercuprämie zu unterscheiden. Die beiden Formen der Hypercuprämie lassen sich voneinander abgrenzen, wenn – durch eine  $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messung – geprüft wird, ob ein (echter) Kupferüberschuss (Hypercuprämie) mit einem Missverhältnis zwischen Cu und Cpl oder ob lediglich eine hohe CplKonz (mit entsprechend erhöhter CuKonz), aber ohne Kupferüberschuss (also eine Pseudohypercuprämie) vorliegt.

Eine Hypercuprämie wird z.B. bei Patienten mit nicht behandeltem Morbus Wilson oder bei der chronischen Kupfervergiftung beobachtet (siehe Kapitel 3.4.1, Patient M.P. in Tabelle 3.5).

Eine Pseudohypercuprämie wird dagegen bei Patienten beobachtet, deren Cpl bedingt durch entzündliche oder maligne Prozesse oder unter hormonellem Einfluß (Schwangerschaft, Kontrazeption) erhöht ist.

In dieser Arbeit wird nur nach der (echten) Hypercuprämie, also einem Zustand mit Kupferüberschuss, gesucht, da nur bei diesem eine Störung im Kupferhaushalt vorliegt.

### **3.4.3. Bestimmungsmethoden im Labor**

Das vom Patienten abgenommene Blut wurde im Labor in Serum und korpuskuläre Bestandteile aufgetrennt. Aus dem Serum wurden das Coeruloplasmin und das Kupfer innerhalb von 48 Stunden bestimmt. Die überwiegende Zahl der Proben wurde am Tag der Blutabnahme analysiert.

#### **3.4.3.1. Die quantitative Bestimmung des Kupfers**

Kupfer wurde bis zum 30.9.1999 photometrisch (nach Landers und Zak) mit dem Farbreagenz Bathocuproindisulfonsäure-Dinatriumsalz (Merckotest®<sup>18</sup>), und ab dem 1.10.1999 photometrisch (nach Landers und Zak) mit dem Farbreagenz 4-(3,5-Dibrom-2-pyridylazo)-N-sulfopropylanilin (PAESA) bestimmt.

#### **3.4.3.2. Die quantitative Bestimmung des Coeruloplasmins**

Coeruloplasmin wurde bis zum 21.1.1999 mittels kinetischer Immun-Nephelometrie nach Beckman<sup>19</sup> und ab dem 22.1.1999 mittels Immuno-Turbidimetrie nach Cobas Integra700<sup>20</sup> bestimmt.

---

<sup>18</sup> Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland

<sup>19</sup> Beckman Coulter, Krefeld, Deutschland

<sup>20</sup> Roche Deutschland Holding GmbH, Grenzach-Wyhlen, Deutschland

#### **3.4.4. Dokumentation der Daten**

Zur Datenerhebung und Auswertung wurden die Messgrößen in eine Microsoft Excel Datei übertragen. Die statistische Aufarbeitung erfolgte unter Verwendung von SPSS 13.0 für Windows.

Für jeden Patienten erfolgte die Erstellung einer individuellen Tabelle, in die zu jedem Untersuchungsdatum die entsprechenden gemessenen Kupfer- und Coeruloplasmin-Werte eingetragen wurden.

Diese wurden für Kupfer in  $\mu\text{g/dl}$  und  $\mu\text{mol/l}$  und für Coeruloplasmin in  $\text{mg/dl}$  und  $\mu\text{mol/l}$  angegeben. Die jeweiligen Umrechnungen erfolgten nach den Formeln:

$$(1) \frac{\text{Cu in } \mu\text{g/dl}}{6,355} = \text{Cu in } \mu\text{mol/l}$$

$$(2) \frac{\text{Cpl in mg/dl}}{13,2} = \text{Cpl in } \mu\text{mol/l}$$

Die in den Formeln (1) und (2) verwendeten Nenner ergeben sich aus dem Atomgewicht des Kupfers (63,55 Dalton) und dem Molekulargewicht des Coeruloplasmins (132 kDalton).

Weiterhin wurden in dieselbe Zeile sowohl der (berechnete) Cu/Cpl-Quotient als auch die ermittelten  $\Delta\text{Cu}$ -Werte, bezogen auf den Untersuchungstag, die –woche, den –monat, das -quartal, eingefügt.

Bei den Patienten der Hauptgruppe wurden zudem Angaben über den Substitutionsbeginn in Abhängigkeit zum Untersuchungsdatum gemacht. An den Tagen, an denen die Patienten eine Substitution erhielten, wurden das Körpergewicht und die Kupferdosis eingetragen. Die Dosierungsangabe erfolgte sowohl in  $\text{ml/d}$  als auch körpergewichtsbezogen in  $\mu\text{g/kgKG/d}$ .

### **3.5. DATENAUSWERTUNG**

Für die Auswertung der Daten (die berechneten  $\Delta\text{Cu}$ -Werte = der Kupferüberschuss) wurden in dieser Arbeit die Werte jedes einzelnen Patienten zusammengestellt und dann den einzelnen Gruppen zugeordnet.

Gesucht wurde - innerhalb der Gruppen - für jeden einzelnen Patienten der höchste (das Maximum), der niedrigste (das Minimum) und der Durchschnittswert des  $\Delta\text{Cu}$ . Anschließend wurde für alle Patienten einer Gruppe ermittelt: der Mittelwert ihrer Maxima, der Mittelwert ihrer Minima und der Mittelwert ihrer Durchschnittswerte.

Zur Nomenklatur sei hier vermerkt, dass sich in dieser Arbeit der Begriff Durchschnittswert auf das  $\Delta\text{Cu}$  der individuellen Patienten, der Begriff Mittelwert sich auf die Werte aller Patienten einer Gruppe bezieht.

#### **3.5.1. *Bestimmung der Mittelwerte der Extremwerte***

Unter Verwendung der vordefinierten Funktionen in Microsoft Excel 2003 wurden die Maxima bzw. Minima der  $\Delta\text{Cu}$ -Werte analysiert.

Dazu wurden zunächst aus allen  $\Delta\text{Cu}$ -Werten jedes Patienten innerhalb der verschiedenen Gruppen (definiert nach der jeweiligen Kupfersubstitutionsphase) die (individuellen) Extremwerte (Maximum und Minimum) ermittelt und von diesen dann für jede Patientengruppe der Mittelwert berechnet und unter Zuhilfenahme von Microsoft Excel 2003 grafisch aufgearbeitet.

#### **3.5.2. *Bestimmung der durchschnittlichen Mittelwerte***

Analog zu den Extremwerten wurden die Mittelwerte des  $\Delta\text{Cu}$  errechnet. Diese wurden ebenfalls für die einzelnen Gruppen getrennt ermittelt und nach demselben, in Kapitel 3.5.1 beschriebenen Verfahren analysiert.

### **3.5.3. Auswertung der grafischen Darstellung von Extrem- und Mittelwerten**

In Kapitel 4 wird durch die grafische Aufarbeitung der errechneten Daten ein visueller Eindruck der Studienergebnisse vermittelt. Um diese Darstellung zu verdeutlichen und quantifizierbar zu machen, wurden die Abweichungen der Subkollektive der Hauptgruppe von dem Referenzwert der Kontrollgruppe in Prozentpunkten ausgedrückt (siehe Tabelle 4.1).

### **3.5.4. Prüfung auf Signifikanz**

Die im Rahmen dieser Studie erhobenen Messwerte wurden unter Verwendung des Student-t-Tests für unabhängige Stichproben auf Signifikanz getestet. Dabei wurden die Messwerte dahingehend verglichen, ob die festgestellten Unterschiede aufgrund der CuSubst bei VPE zustande kamen oder durch zufällige Unterschiede in den Patientenkollektiven. Um den Student-t-Test durchzuführen, wurden die Maxima und die Mittelwerte der Kontrollgruppen-Patienten denjenigen der Patienten der einzelnen Subkollektive der Hauptgruppe in einer Excel Datei gegenübergestellt. Anschließend wurde unter Anwendung von SPSS für Windows der Student-t-Test durchgeführt. Die Software vergleicht die Mittelwerte der beiden Fallgruppen (Untergruppe des Hauptkollektivs und Kontrollkollektiv) und ermittelt daraus die Wahrscheinlichkeit für das Zutreffen der Hypothese. Für die Durchführung dieser Tests wurde ein Signifikanzniveau von  $p = 0,05$  verwendet, das entspricht einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %.

## **4. ERGEBNISSE**

In diesem Kapitel wird geprüft, wie der  $\Delta\text{Cu}$ -Wert, also das in dieser Arbeit gewählte Maß für einen Kupferüberschuss im Serum, sich während einer CuSubst verhält. Dazu werden die  $\Delta\text{CuKonz}$  in den Seren der kupfersubstituierten Patienten während der Substitutionsphase mit denen der Vor- und Nachsubstitutionsphase, und zusätzlich mit denen der Seren der nicht-kupfersubstituierten Patienten (Kontrollpatienten) verglichen.

Da nicht von allen Patienten aus den einzelnen Substitutionsphasen gleich viele Messwerte vorlagen, wurden diese in drei verschiedenen Verfahren analysiert.

In einem ersten Ansatz wurden die Messwerte jedes einzelnen Patienten in der jeweiligen Phase gemittelt und die so gewonnenen Mittelwerte analysiert (Kapitel 4.1).

In einem zweiten Ansatz wurden alle Messwerte, unabhängig von ihrer Herkunft (also ohne Zuordnung zum betreffenden Patienten), den jeweiligen Substitutionsgruppen und –phasen zugeordnet und analysiert (Kapitel 4.2).

In einem dritten Ansatz wurden – nach dem Verfahren des Kapitels 4.2 – die Messwerte der drei Studien separat analysiert. Die Ergebnisse : die der Studie A, der randomisierten onkologischen Studie, in Kapitel 4.3, die der Studie B, der nicht-randomisierten onkologischen Studie, in Kapitel 4.4 und die der Studie C, der nicht-randomisierten nicht-onkologischen Studie, in Kapitel 4.5.

Zu Beginn jedes Kapitels wird die jeweils angewandte Methode kurz beschrieben. Ausführlich sind die einzelnen methodischen Schritte in Kapitel 3 dargestellt.

## **4.1. MITTELWERTE UND EXTREMWERTE DES $\Delta$ Cu IN DER GESAMTSTUDIE**

Hier werden zunächst die Maxima (Kapitel 4.1.1.1) und Minima (Kapitel 4.1.1.2) und die Mittelwerte (Kapitel 4.1.2) des  $\Delta$ Cu in den entsprechend den Substitutionsphasen für alle Gruppen der Patientenseren beschrieben und grafisch vergleichend dargestellt.

### ***4.1.1. Die $\Delta$ Cu-Extremwerte***

Für jeden einzelnen Patienten wurde innerhalb der einzelnen Serumgruppen (definiert durch die Substitutionsphasen) das  $\Delta$ Cu-Maximum und das  $\Delta$ Cu-Minimum ermittelt und dann die Maxima und Minima aller Patienten der einzelnen Gruppen gemittelt.

### ***4.1.2. Die Mittelwerte der $\Delta$ Cu-Maxima***

In Abbildung 4.1 sind die Mittelwerte der individuellen  $\Delta$ Cu-Maxima in den Untergruppen (definiert durch die Substitutionsphasen) als Säulen dem entsprechenden Mittelwert in der Kontrollgruppe (1. Säule, links) gegenübergestellt.

In der Kontrollgruppe liegen die  $\Delta$ Cu-Maxima der einzelnen Patienten im Mittel bei 6,1  $\mu$ mol/l.

In den Vorsubstitutionsphasen (Untergruppen 1.1 bis 4.1, repräsentiert durch die vier rechts anschließenden Säulen) überschreitet keiner der Mittelwerte der  $\Delta$ Cu-Maxima den Wert der Kontrollgruppe. Die mittleren  $\Delta$ Cu-Maxima liegen bei 3,1; 2,2; 2,1 und 3,3  $\mu$ mol/l.

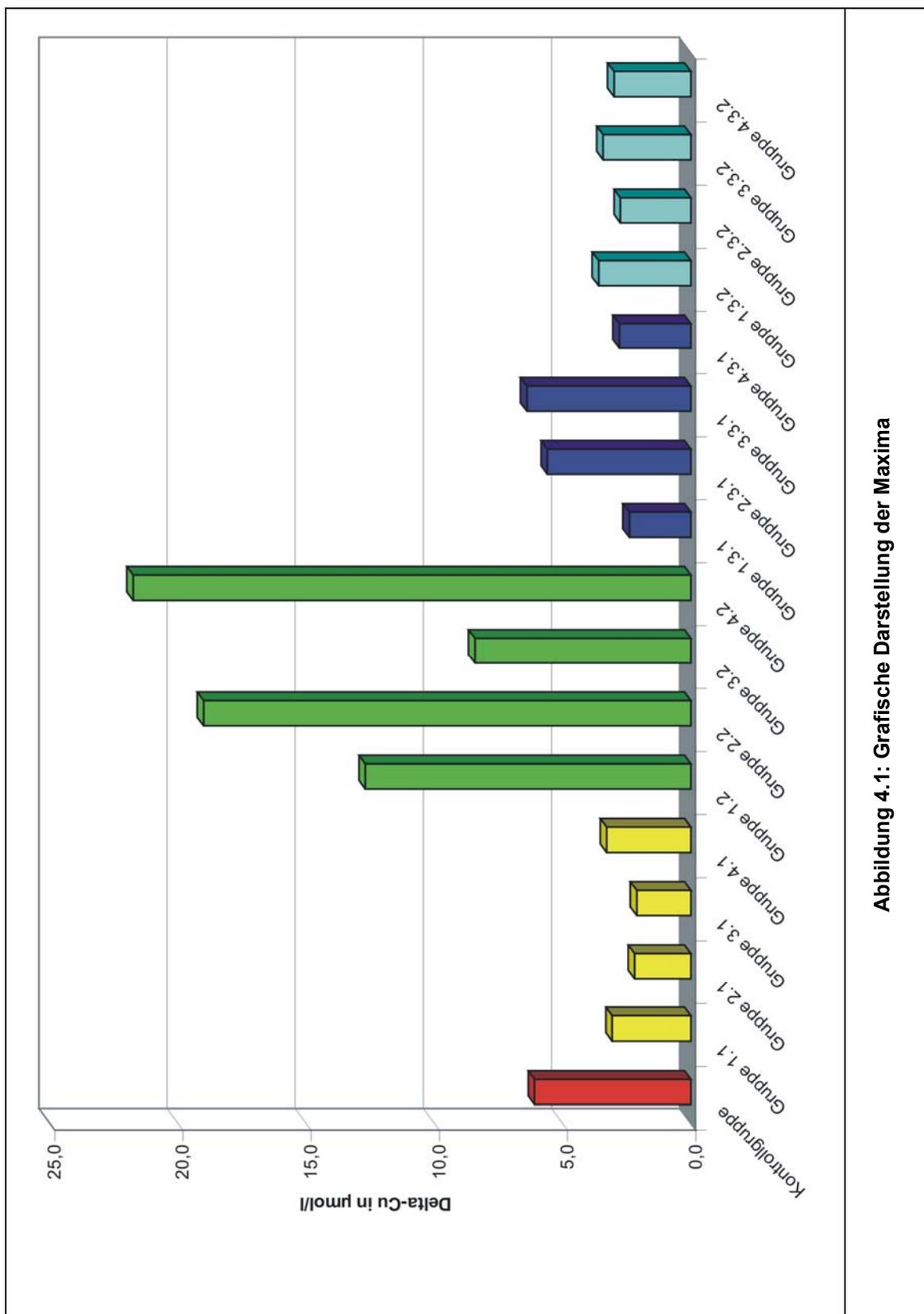
In sämtlichen Gruppen der Substitutionsphase (Untergruppen 1.2; 2.2; 3.2 und 4.2) dagegen liegen die Mittelwerte der  $\Delta$ Cu-Maxima über denen ihrer eigenen Vorsubstitutionsphase und auch über denen der Kontrollgruppe. Die mittleren  $\Delta$ Cu-Maxima liegen hier bei 12,7; 19,0; 8,4 und 21,8  $\mu$ mol/l. Unter ihnen fallen die der Hochsubstitutionsgruppe (Gruppe 2.2) und der Langsubstitutionsgruppe (Gruppe 4.2) durch die höchsten Werte auf.

In den Gruppen der frühen Nachsubstitutionsphase (Untergruppen 1.3.1; 2.3.1; 3.3.1 und 4.3.1, mit den Messungen <10 Tage nach Ende der Substitution) liegen die Mittelwerte der  $\Delta\text{Cu}$ -Maxima mit 2,4; 5,6; 6,4 und 2,8  $\mu\text{molCu/l}$  deutlich niedriger als die der vorausgegangenen Substitutionsphase; die Maxima in den Untergruppen 2.3.1 und 3.3.1 liegen jedoch weiterhin über denen ihrer eigenen Vorsubstitutionsphase; das Maximum der Untergruppe 3.3.1 auch über dem Maximum der Kontrollgruppe.

In den Gruppen der späten Nachsubstitutionsphase (Untergruppen 1.3.2; 2.3.2; 3.3.2 und 4.3.2, mit Messungen  $\geq 10$  Tage nach Ende der CuSubst) liegen die Mittelwerte der  $\Delta\text{Cu}$ -Maxima bei 3,6; 2,8 3,4 und 3,0  $\mu\text{molCu/l}$  und damit im Bereich der Maxima der Vorsubstitutionsphase und wie diese unter dem mittleren Maximum der Kontrollgruppe.

Bewertung:

Unter der CuSubst und – weniger stark – auch in der frühen Nachsubstitutionsphase kommt es also zu einem Anstieg der mittleren  $\Delta\text{CuKonz}$ , d.h. zu einem Kupferüberschuss im Serum.



### **4.1.3. Die Mittelwerte der $\Delta\text{Cu}$ -Minima**

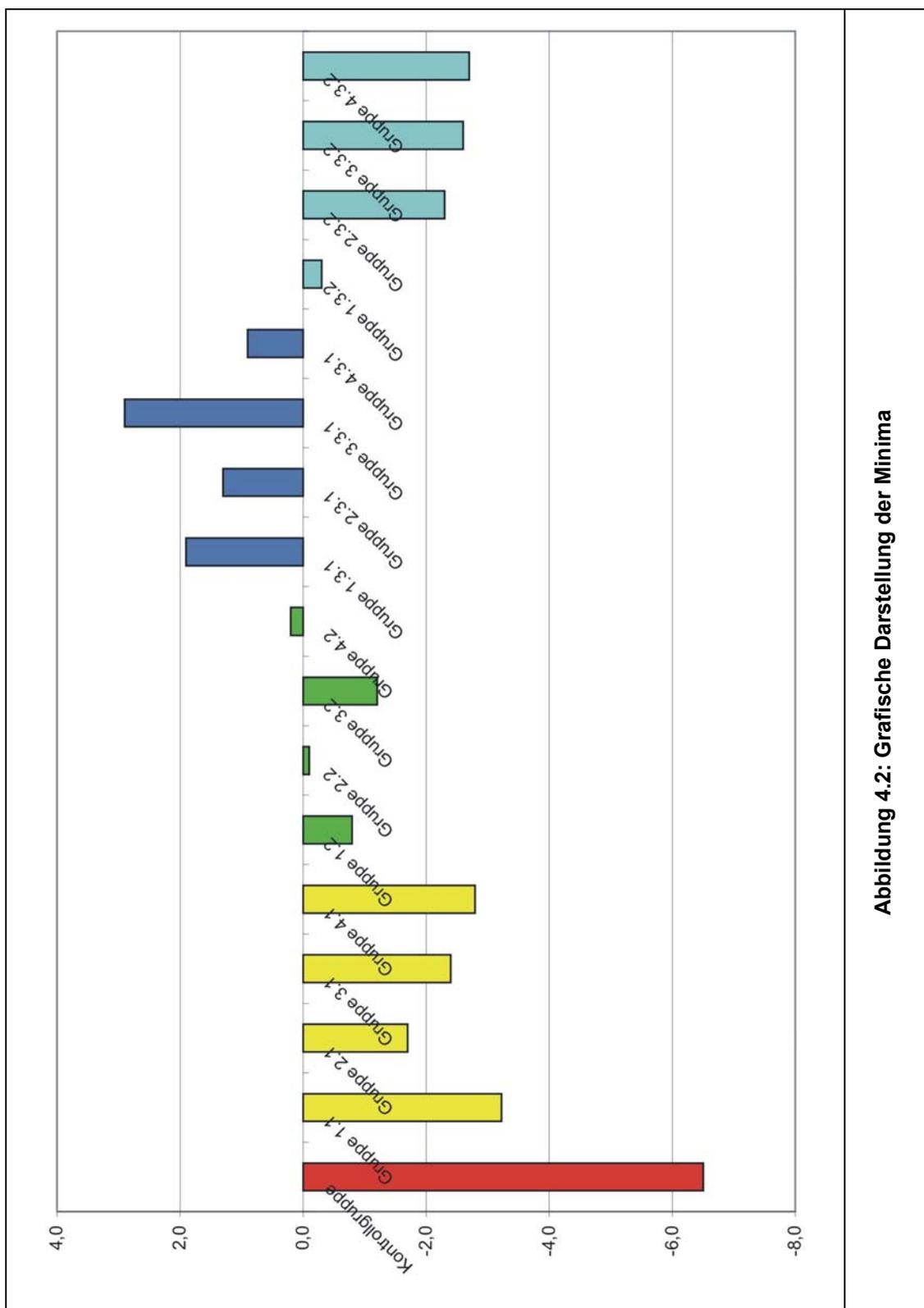
Nach demselben Rechenansatz - wie in Kapitel 4.1.1.1 für die Maxima beschrieben - wurden auch die Mittelwerte der durchschnittlichen  $\Delta\text{Cu}$ -Minima berechnet: Innerhalb jeder der Gruppen wurde für jeden einzelnen Patienten der niedrigste  $\Delta\text{Cu}$ -Wert ermittelt und deren Mittelwert bestimmt.

Wenn die Messungen (Cu und Cpl) verlässlich und die Berechnungen des  $\Delta\text{Cu}$  korrekt sind, sollten die Minima spiegelbildlich zu den Maxima liegen. Dies ist (vergleicht man die Abbildung 4.1 mit der Abbildung 4.2 unter Beachtung des anderen Maßstabs der Ordinate) in etwa der Fall bei der Kontrollgruppe ( $\Delta\text{Cu}$ -Minimum -6,5,  $\Delta\text{Cu}$ -Maximum 6,1  $\mu\text{mol/l}$ ) (Abbildung 4.1, erste Säule) und bei den Vorsubstitutionsgruppen ( $\Delta\text{Cu}$ -Minima: -3,2; -1,7, -2,4 und -2,8;  $\Delta\text{Cu}$ -Maxima: 3,1; 2,2; 2,1 und 3,3  $\mu\text{mol/l}$ ) (Abbildung 4.1, zweite bis fünfte Säule).

Anders verhalten sich die  $\Delta\text{Cu}$ -Minima der Substitutionsgruppen (1.2; 2.2; 3.2 und 4.2), die mit -0,8; -0,1; -1,2 und 0,2  $\mu\text{mol/l}$  nahe der Nulllinie liegen (in den Gruppen 1.2; 2.2 und 3.2 knapp unter, in der Gruppe 4.3 sogar knapp über 0,0). Die Anhebung der mittleren  $\Delta\text{Cu}$ -Minima wird noch deutlicher in der frühen Nachsubstitutionsphase (Gruppen 1.3.1; 2.3.1; 3.3.1 und 4.3.1: 1,9; 1,3; 2,9 und 0,9  $\mu\text{mol/l}$ ).

In der späten Nachsubstitutionsphase (Gruppen 1.3.2; 2.3.2; 3.3.2 und 4.3.2:) dagegen fallen die  $\Delta\text{Cu}$ -Minima wieder zurück auf die Werte -0,3; -2,3; -2,6 und -2,7  $\mu\text{mol/l}$  und damit in den Bereich der Vorsubstitutionsphase. Bewertung: Unter der CuSubst und anschließend – noch deutlicher ausgeprägt – in der frühen (bis zu 9 Tagen) Nachsubstitutionsphase sind also die mittleren  $\Delta\text{Cu}$ -Minima erhöht.

Die hier beobachteten Änderungen der  $\Delta\text{Cu}$ -Maxima und -Minima lassen auf eine erhebliche, durch die CuSubst ausgelöste Hypercuprämie schließen. Diese Vermutung wird durch den Vergleich der durchschnittlichen  $\Delta\text{Cu}$ -Mittelwerte bestätigt (siehe folgendes Kapitel).



#### **4.1.4. Die mittlere durchschnittliche $\Delta\text{Cu}$ -Konzentration**

Bei dieser Auswertung der Messdaten wird – wie zuvor in den Kapiteln 4.1.2 für die Maxima und 4.1.3 für die Minima des  $\Delta\text{Cu}$  beschrieben – die durchschnittliche  $\Delta\text{Cu}$ -Konzentration jedes einzelnen Patienten in den einzelnen Substitutionsphasen errechnet und dann die Durchschnittswerte aller Patienten gemittelt. Auf diese Weise wurde innerhalb der Substitutionsphasen jeder Patient nur mit einem Wert (nämlich mit dem Durchschnittswert seiner  $\Delta\text{Cu}$ -Werte) berücksichtigt. Patienten, von denen innerhalb einer Substitutionsphase nur ein einzelner  $\Delta\text{Cu}$ -Wert vorlag, wurden mit diesem (Einzel-)Wert berücksichtigt.

Mit diesem Verfahren sollte eine einheitliche, von der Zahl der Untersuchungen unabhängige Gewichtung aller Patienten erreicht werden.

#### **4.1.5. Die Mittelwerte der durchschnittlichen $\Delta\text{Cu}$ -Werte in den verschiedenen Substitutionsphasen**

Für die Kontrollgruppe errechnet sich ein  $\Delta\text{Cu}$ -Mittelwert von  $-0,2 \mu\text{mol/l}$ ; der Wert liegt (siehe Abbildung 4.3, Säule 1) im erwarteten Niveau der Nulllinie.

Für die Patienten in der Vorsubstitutionsphase (Gruppen 1.1; 2.1; 3.1 und 4.1) errechnen sich ebenfalls  $\Delta\text{Cu}$ -Mittelwerte nahe Null ( $-0,2$ ;  $-0,1$ ;  $-0,3$  und  $-0,1 \mu\text{mol/l}$ ; siehe die „Säulen“ 2 bis 5 in der Abbildung). Eine Abweichung dieser Werte von denen der Kontrollgruppe („Säule“ 1) ist nicht zu erkennen.

Die Vorphasen- und Kontrollwerte hier bestätigen, dass auch in diesen Patientenkollektiven, wie grundsätzlich bei allen Menschen in Kupferhomöostase,  $\Delta\text{Cu}$  in messbaren Konzentrationen nicht vorkommt.

Während der Substitutionsphase (Serengruppen 1.2; 2.2; 3.2 und 4.2) dagegen lässt sich  $\Delta\text{Cu}$  nachweisen: Die mittleren Durchschnittswerte liegen bei  $5,0$ ;  $7,0$ ,  $3,7$  bzw.  $7,8 \mu\text{mol/l}$ . Auch hier errechnen sich für die Hochsubstitutionsgruppe (Gruppe 2.2) und in der Langsubstitutionsgruppe (Gruppe 4.2) die höchsten Werte.

In der frühen Nachsubstitutionsperiode (Untergruppen 1.3.1; 2.3.1; 3.3.1 und 4.3.1) liegen die  $\Delta\text{CuKonz}$  mit  $0,8$ ;  $3,7$ ;  $3,0$  und  $1,9 \mu\text{mol/l}$  wieder niedriger,

aber immer noch deutlich über denen der Kontrollgruppe und der Vorsubstitutionsgruppen.

In der späten Nachsubstitutionsperiode (Untergruppen 1.3.2; 2.3.2; 3.3.2 und 4.3.2) schließlich ist keine Abweichung der  $\Delta\text{Cu}$ -Mittelwerte mehr erkennbar: sie liegen mit 0,2; -0,1; -0,2 und 0,3  $\mu\text{mol/l}$  wieder nahe Null.

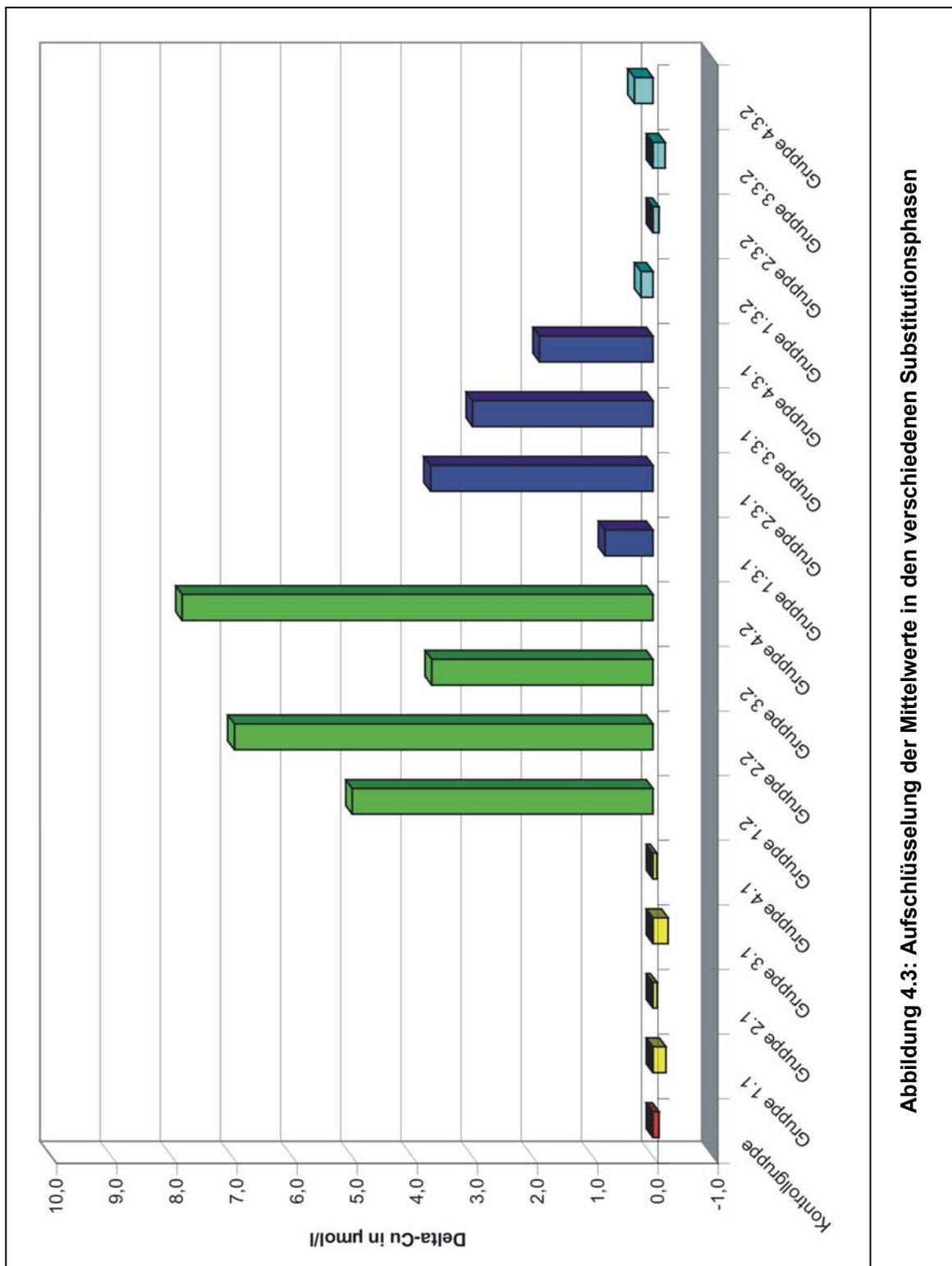


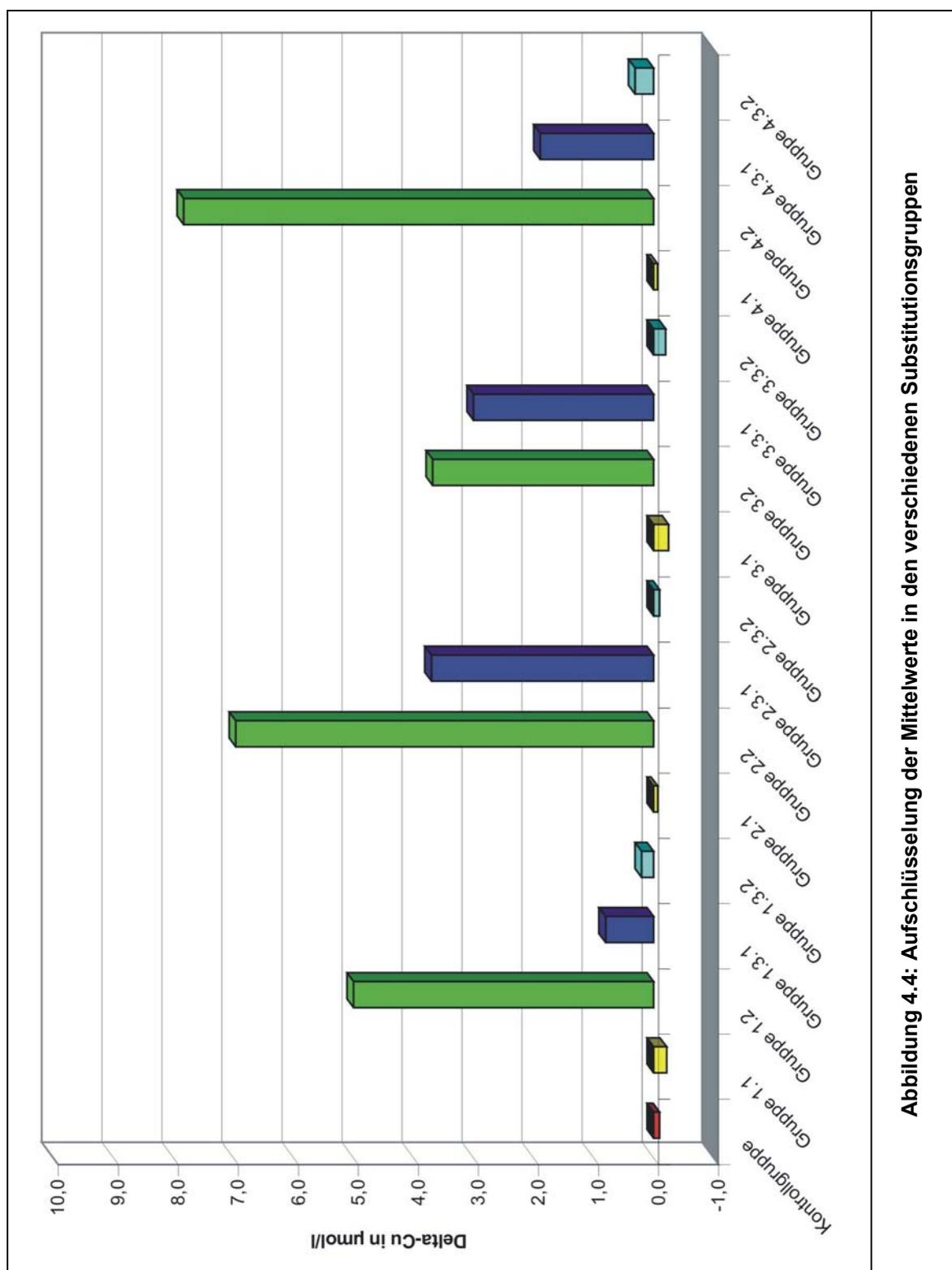
Abbildung 4.3: Aufschlüsselung der Mittelwerte in den verschiedenen Substitutionsphasen

---

#### **4.1.6. Die Mittelwerte der durchschnittlichen $\Delta\text{Cu}$ -Werte in den verschiedenen Substitutionsgruppen**

Hier werden die  $\Delta\text{Cu}$ -Mittelwerte entsprechend der Zuordnung der Messungen zu den vier Substitutionsgruppen dargestellt (Abbildung 4.4).

Das  $\Delta\text{Cu}$  der Kontrollgruppe (1.Säule, links in der Abbildung) liegt nahe der Nulllinie. Die nach rechts folgenden je viermal vier Säulenblöcke repräsentieren von links nach rechts 1.) die Niedrigdosisgruppe ( $<15,1 \mu\text{gCu/kgKG/d}$ ), 2.) die Hochdosisgruppe ( $\geq 15,1 \mu\text{gCu/kgKG/d}$ ), 3.) die Kurzzeitsubstitutionsgruppe ( $<10$  Tage) und 4.) die Langzeitsubstitutionsgruppe ( $\geq 10$  Tage). In keiner der vier Gruppen liegt das  $\Delta\text{Cu}$  vor der Substitution („Säulen“ 2, 6, 10, 14) über Null. Dagegen lässt es sich in allen vier Gruppen während der Substitution (Säulen 3, 7, 11 und 15)  $\Delta\text{Cu}$  in Konzentrationen zwischen 3,7 und 7,8  $\mu\text{mol/l}$  nachweisen. Die höchsten Werte werden in der Hochdosisgruppe (7,0  $\mu\text{molCu/l}$ ) und in der Langzeitsubstitutionsgruppe (7,8  $\mu\text{molCu/l}$ ) erreicht.  $\Delta\text{Cu}$  bleibt deutlich im positiven Bereich in allen frühen Nachsubstitutionsgruppen und sehr schwach positiv auch in den beiden späten Nachsubstitutionsgruppen 1.3.2 und 4.3.2.



#### ***4.1.7. Auswertung der grafischen Darstellung von Extrem- und Mittelwerten***

In Tabelle 4.1 sind die mittleren Extremwerte (Maxima und Minima) und Mittelwerte des  $\Delta\text{Cu}$  der Kontrollgruppe und Substitutionsgruppen aufgeführt als Absolutwerte ( $\mu\text{molCu/l}$ ) und in ihrer prozentualen Abweichung von den Mittelwerten der Kontrollgruppe.

	<u>Maxima</u>	Abweichung in %		<u>Minima</u>	Abweichung in %		<u>Mittelwerte</u>	Abweichung in %
<b>Kontrollgruppe</b>	+6,1			-6,5			-0,1	
<b>Gruppe 1.1</b>	+3,1	49,2 ↓		-3,2	50,8 ↑		-0,2	100,0 ↓
<b>Gruppe 2.1</b>	+2,2	63,9 ↓		-1,7	73,8 ↑		-0,1	0,0 ↔
<b>Gruppe 3.1</b>	+2,1	65,6 ↓		-2,4	63,1 ↑		-0,3	200,0 ↓
<b>Gruppe 4.1</b>	+3,3	45,9 ↓		-2,8	56,9 ↑		-0,1	0,0 ↔
<b>Gruppe 1.2</b>	+12,7	108,2 ↑		-0,8	87,7 ↑		+5,0	5100,0 ↑
<b>Gruppe 2.2</b>	+19,0	211,5 ↑		-0,1	98,5 ↑		+7,0	7100,0 ↑
<b>Gruppe 3.2</b>	+8,4	37,7 ↑		-1,2	81,5 ↑		+3,7	3800,0 ↑
<b>Gruppe 4.2</b>	+21,8	257,4 ↑		+0,2	103,1 ↑		+7,8	7900,0 ↑
<b>Gruppe 1.3.1</b>	+2,4	60,7 ↓		+1,9	129,2 ↑		+0,8	900,0 ↑
<b>Gruppe 2.3.1</b>	+5,6	8,2 ↓		+1,3	120,0 ↑		+3,7	3800,0 ↑
<b>Gruppe 3.3.1</b>	+6,4	4,9 ↑		+2,9	146,0 ↑		+3,0	3100,0 ↑
<b>Gruppe 4.3.1</b>	+2,8	54,1 ↓		+0,9	114,3 ↑		+1,9	2000,0 ↑
<b>Gruppe 1.3.2</b>	+3,6	41,0 ↓		-0,3	95,4 ↑		+0,2	300,0 ↑
<b>Gruppe 2.3.2</b>	+2,8	54,1 ↓		-2,3	64,6 ↑		-0,1	0,0 ↔
<b>Gruppe 3.3.2</b>	+3,4	44,3 ↓		-2,6	60,0 ↑		-0,2	100,0 ↓
<b>Gruppe 4.3.2</b>	+3,0	50,8 ↓		-2,7	58,5 ↑		+0,3	400,0 ↑

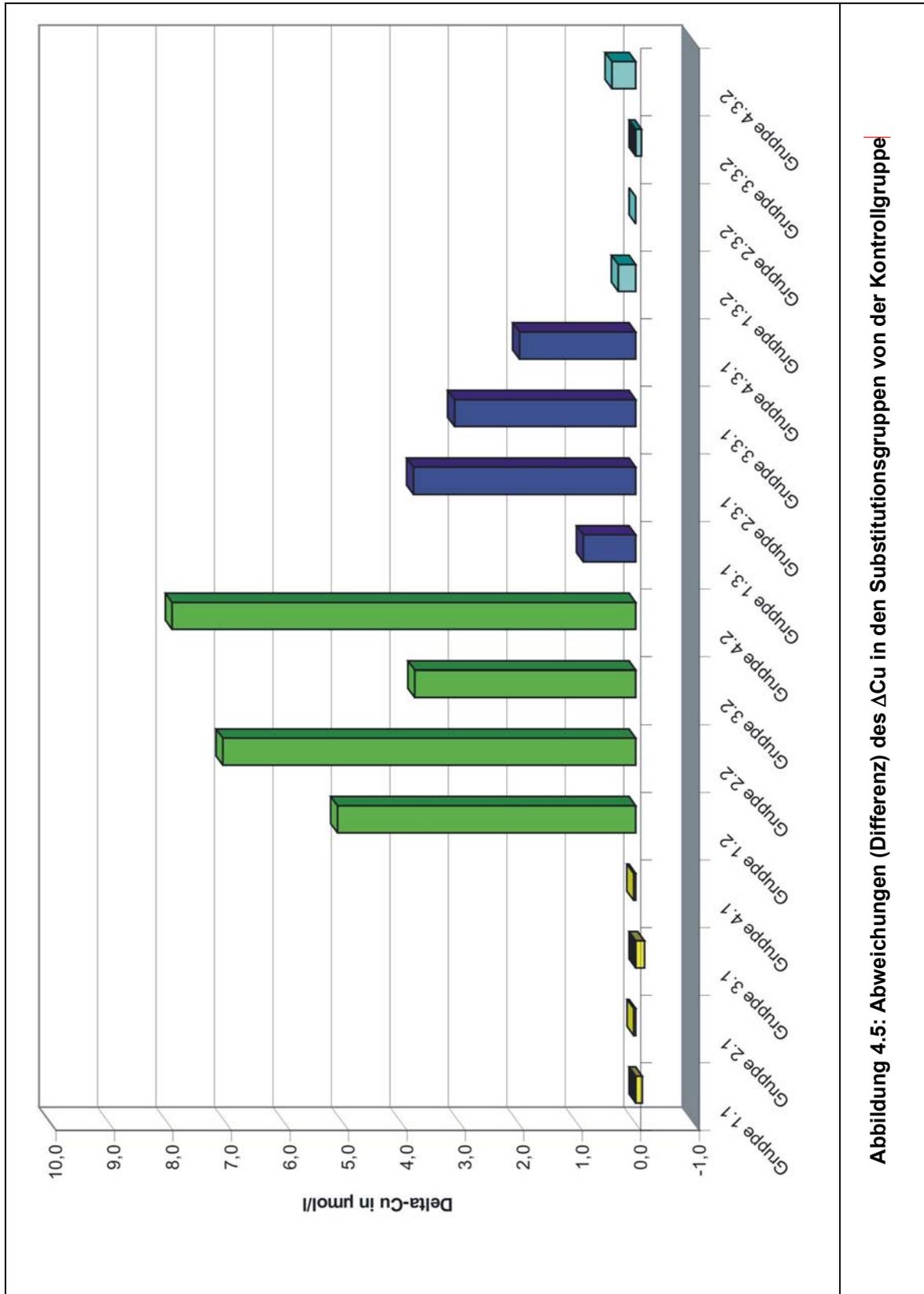
Tabelle 4.1: Vergleich der Maxima, Minima und Mittelwerte

---

#### ***4.1.8. Abweichungen des $\Delta\text{Cu}$ der Substitutionsgruppen von dem der Kontrollgruppe***

In Kapitel 4.1.2 wurden die absoluten  $\Delta\text{Cu}$ -Mittelwerte in allen Patientengruppen vergleichend beschrieben und dargestellt. Hier werden die Differenzen zwischen den  $\Delta\text{Cu}$ -Mittelwerten der einzelnen Gruppen und dem Mittelwert der Kontrollgruppe betrachtet.

Auch bei dieser Darstellung zeigen sich die nahe Null liegenden  $\Delta\text{Cu}$ -Mittelwerte vor der CuSubst (Gruppen 1.1 bis 4.1), die hohen Werte während der CuSubst (Gruppen 1.2 bis 4.2) und die weniger hohen Werte in den ersten 9 Tagen nach der CuSubst (Gruppen 1.3.1 bis 4.3.1). Von den vier  $\Delta\text{Cu}$ -Mittelwerten in der späten Nachsubstitutionsphase liegen zwei (die der Gruppen 1.3.2 und 4.3.2) noch leicht über der Nulllinie.



#### **4.1.9. Exemplarische Einzelbetrachtungen**

Der in den vorangegangenen Kapiteln anhand der Mittelwertanalysen dargestellte Einfluss der CuSubst auf das  $\Delta\text{Cu}$  soll hier durch die Darstellung der  $\Delta\text{Cu}$ -Werte zweier der kupfersubstituierten Patienten (Patienten Nr. 3 und 5) verdeutlicht werden. Bei beiden Patienten waren Messwerte vor, während und nach der Substitution erfolgt, so dass die  $\Delta\text{Cu}$ -Spiegel in allen drei Substitutionsphasen berechnet werden konnten.

##### **Patient 3**

Von diesem Patienten liegen insgesamt 19 Messungen vor (siehe Abb. 4.6). Er erhielt im Mittel 18,2 (9,9 – 19,0)  $\mu\text{gCu/kgKG/d}$  für 31 Tage. Die ersten beiden Messungen erfolgten an den Tagen -25 und -8 vor Beginn der CuSubst (Untersuchungen 1 und 2: kein  $\Delta\text{Cu}$  nachweisbar).

Die folgenden sechs Messungen (Untersuchungen Nr. 3 bis 8) erfolgten während der CuSubst an den Tagen +1, +8, +15, +22, +28 und +31. Ab der 6. Untersuchung wird – ansteigend –  $\Delta\text{Cu}$  messbar.

Die weiteren Messungen (Untersuchungen Nr. 9 bis 19) erfolgten nach Ende der CuSubst an den Tagen 3-, 4-, 17-, 25-, 32-, 41-, 48-, 56-, 61-, 70- und 209-. Mit Ende der CuSubst sinkt das  $\Delta\text{Cu}$  deutlich ab. Werte von 0,0 werden bei den Untersuchungen Nr. 17 und 18 erreicht.

##### **Patient 5**

Von diesem Patienten liegen insgesamt 15 Messungen vor (siehe Abb. 4.7). Er erhielt im Mittel 9,4 (9,2 bis 9,5)  $\mu\text{gCu/kgKG/d}$  für 17 Tage.

Die ersten 5 Untersuchungen erfolgten vor der CuSubst an den Tagen -288, -147-, -138, -127 und -42. Das  $\Delta\text{Cu}$  schwankt um Null mit maximalen Abweichungen um  $\pm 2 \mu\text{mol/l}$ .

Die folgenden 4 Untersuchungen erfolgten unter CuSubst an den Tagen +6, +15, +16 und +17. An den letzten drei Substitutionstagen werden deutlich positive  $\Delta\text{CuKonz}$  gemessen (Maximum: 6,4  $\mu\text{mol/l}$ ).

Die weiteren Messungen (Untersuchungen 10 bis 15) erfolgten nach Ende der CuSubst an den Tagen 1-, 2-, 3-, 10- und zweimal am Tag 17-. In dieser Phase fallen die  $\Delta\text{Cu}$ -Werte wieder in den Ausgangsbereich zurück.

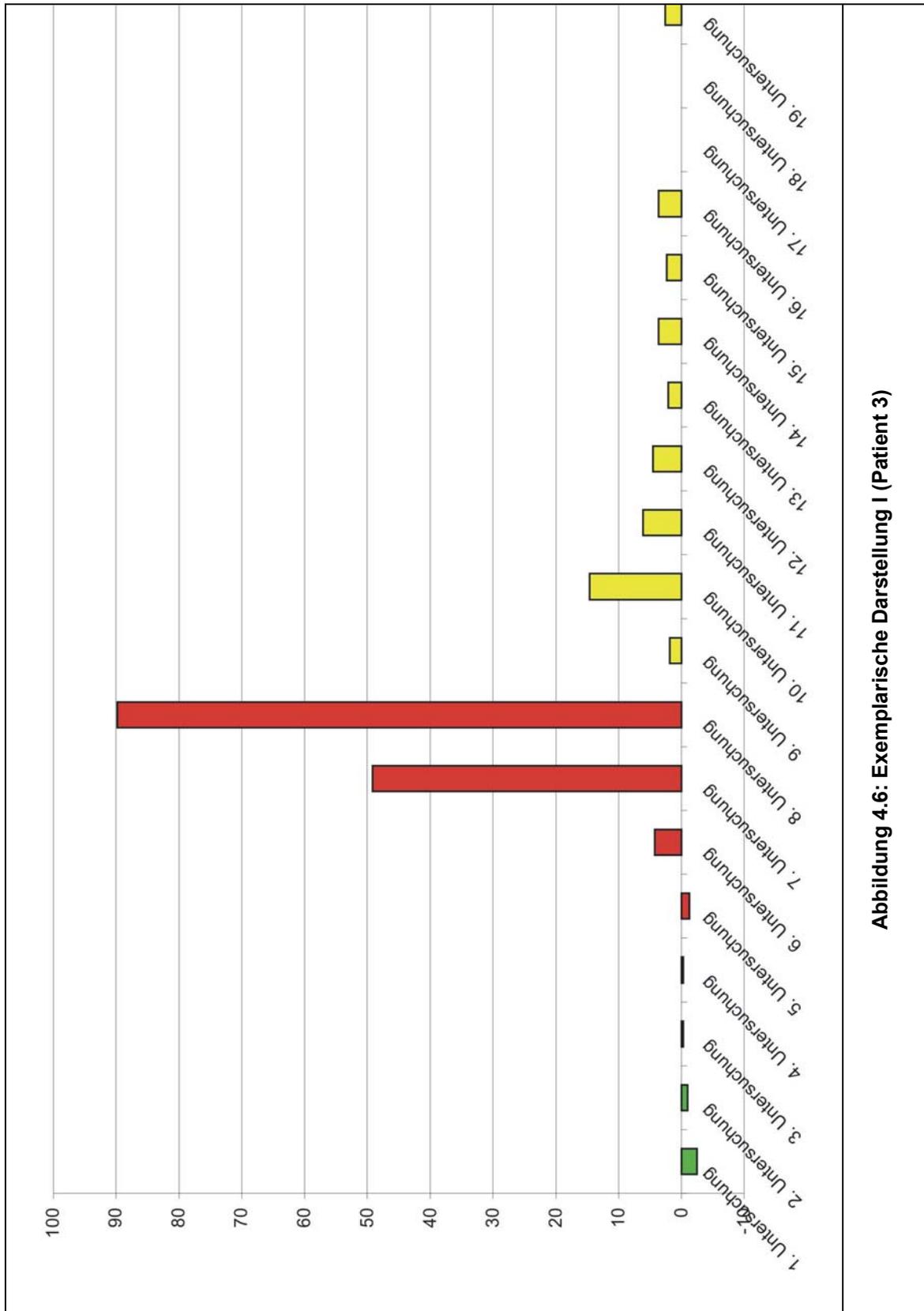


Abbildung 4.6: Exemplarische Darstellung I (Patient 3)

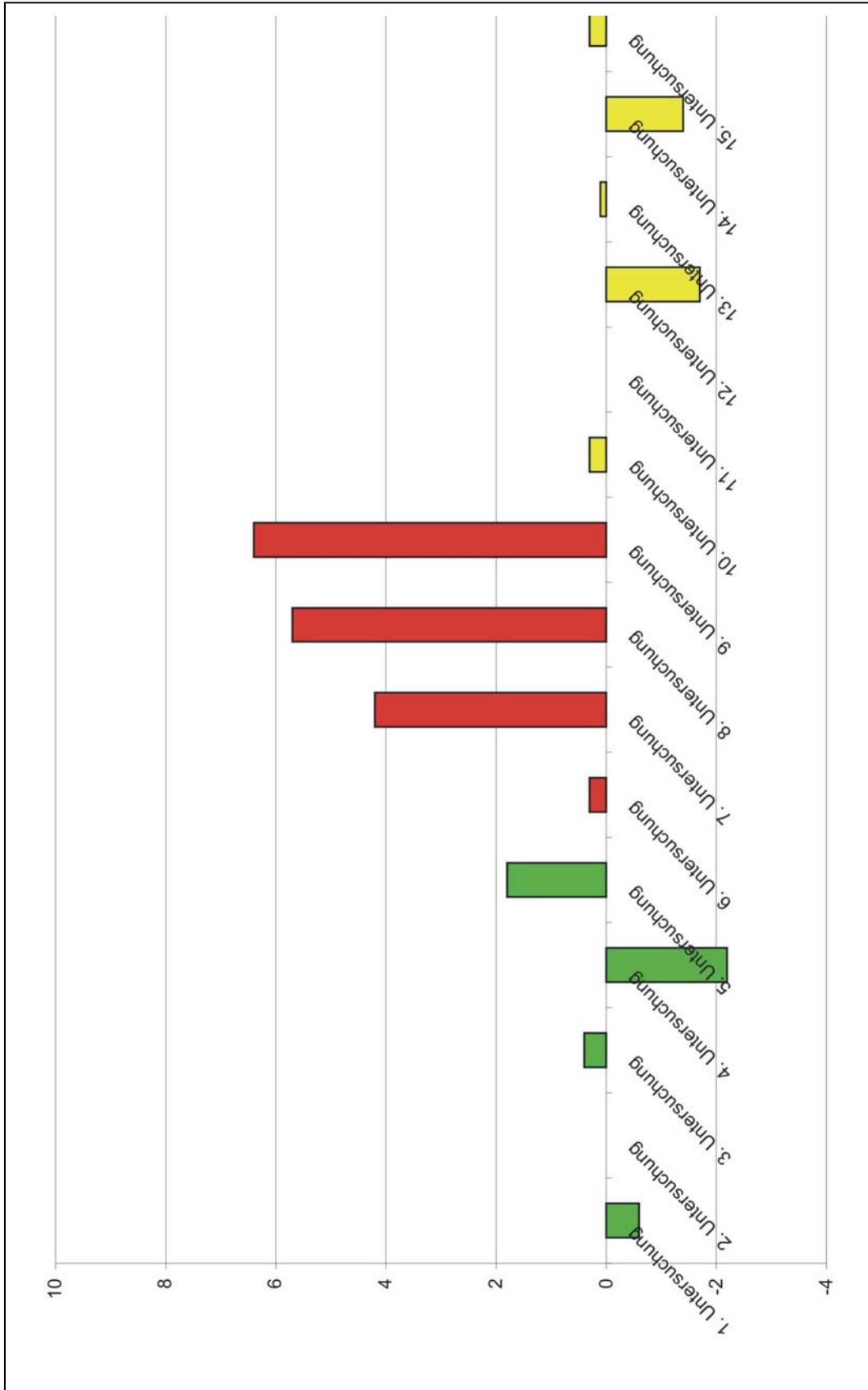


Abbildung 4.7: Exemplarische Darstellung II (Patient 5)

---

#### **4.1.10. Prüfung auf Signifikanz**

Für die Signifikanzprüfung wurden zum einen die der  $\Delta\text{Cu}$ -Maxima und zum anderen die  $\Delta\text{Cu}$ -Durchschnittswerte der einzelnen Patienten der Substitutionsgruppen denen der Patienten der Kontrollgruppe gegenübergestellt.

Bei den Untergruppen 1.2, 2.2, 2.3.1, 3.2, 4.2 (Maxima) und 1.2, 2.2, 2.3.1, 3.2, 3.3.1, 4.2, 4.3.1 (Mittelwerte) konnte im Vergleich zu den korrespondierenden Werten der Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied zwischen den gemittelten Delta-Kupfer-Werten festgestellt werden.

Die Untergruppen 1.1, 1.3.1, 1.3.2, 2.1, 2.3.2, 3.1, 3.3.1, 3.3.2, 4.1, 4.3.1 und 4.3.2 zeigten bezüglich ihrer  $\Delta\text{Cu}$ -Maxima einen signifikanten Unterschied zu denen der Kontrollgruppe. Analog für die Mittelwerte ergeben sich die Untergruppen 1.1, 1.3.1, 1.3.2, 2.1, 2.3.2, 3.1, 3.3.2, 4.1 und 4.3.2.

---

## 4.2. ANALYSEN ANHAND DER GESAMTZAHL ALLER MESSUNGEN

Eine zweite Analyse der Kupfermessgrößen in den Seren aller in dieser Arbeit erfassten Patienten wurde durchgeführt um zu prüfen, ob sich die in Kapitel 4.1 ermittelten Ergebnisse bestätigen lassen, wenn nach der Zuordnung der Messungen zu den jeweiligen Gruppen alle Messungen der einzelnen Patienten und nicht nur, wie in Kapitel 4.1, deren Mittelwerte berücksichtigt werden.

### 4.2.1. *Methodische Abweichungen*

- 1) Hier werden in den jeweiligen Substitutionsphasen sämtliche Messwerte jedes Patienten für die weiteren Berechnungen verwendet. Patienten mit mehreren Messungen werden somit stärker gewichtet als Patienten mit nur wenigen Messungen.
- 2) Zusätzlich zur Berechnung der MW erfolgt hier auch eine Berechnung der Mediane (Md).
- 3) Da sich für den ersten Tag (Tag +1) der CuSubst im Nachhinein nicht mehr für alle Messungen mit Sicherheit feststellen ließ, ob die Blutabnahme bei dem betreffenden Patienten erst nach Beginn der Substitution erfolgt war, bleiben hier die Messungen des ersten Tages der Substitution unberücksichtigt. In der Tabelle werden sie der Vollständigkeit halber jedoch separat aufgeführt.
- 4) Als Grenze zwischen kurzer und langer Substitution und Früh- und Spätphase der Nachsubstitutionsperiode wird hier nicht der Median beider Phasen bei allen Patienten, sondern das Ende des 7. Tages (der ersten vollen Woche) mit ganztägiger VPE und CuSubst gewählt.
- 5)  $\Delta\text{Cu}$  wurde (siehe Methodik) mit Hilfe des als Äquivalent des „aktuellen“ Cu/Cpl-Koeffizienten betrachteten Medians der Cu/Cpl-Quotienten ermittelt. Für orientierende Untersuchungen genügt in der Regel die Ermittlung des Medians der Cu/Cpl-Quotienten der Messungen des Untersuchungstages. Hier wurden außer diesem Median als Äquivalent des „aktuellen“ Cu/Cpl-Koeffizienten sicherheitshalber auch die für die  $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messungen der zum Untersuchungstag Woche, des Monats und des Quartals, in der die Untersuchung erfolgte, errechnet. Von den so ermittelten

---

jeweils vier MW und Md des  $\Delta\text{Cu}$  wurden wiederum die MW berechnet; diese sind als  $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$  in der Tabelle 4.2 Teil 2 in den Spalten 21 und 22 aufgeführt. Ein Vergleich der  $\Delta\text{Cu}$ -Werte lässt nur sehr geringe Abweichungen erkennen. Für die folgende Beschreibung der Ergebnisse wird vorwiegend, für die statistischen Analysen werden ausschließlich die  $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$ -Werte verwendet.

Spalte:	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Gesamtstudie</b>		<b>Serum-Cu</b>				<b>Cpl</b>				<b>Cu/Cpl-Q</b>	
<b>Teil 1</b>	n	$\mu\text{g/dl}$		$\mu\text{mol/l}$		$\text{mg/dl}$		$\mu\text{mol/l}$		$\mu\text{mol}/\mu\text{mol}$	
		MW	Md	MW	Md	MW	Md	MW	Md	MW	Md
<b>Messungen</b>											
<b>Insgesamt</b>	753	125,3	117,0	19,7	18,4	26,9	25,0	2,0	1,9	10,3	10,2
Kontrollgruppe	471	118,8	112,5	18,7	17,6	27,5	25,2	2,1	1,9	9,7	9,9
Substitutionsgruppe	282	136,6	128,0	21,5	20,2	26,0	24,9	2,0	1,9	11,5	10,6
<b>Substitutionsgruppe</b>											
Phase 1 (vor Subst)	66	136,7	130,5	21,7	20,5	30,1	28,3	2,3	2,1	9,8	9,9
Phase 2 (unter Subst)	64	170,9	148,7	26,9	23,4	25,4	24,1	1,9	1,8	15,1	11,1
Phase 3 (nach Subst)	152	122,2	122,9	19,2	19,3	24,5	24,1	1,9	1,8	10,8	10,8
<b>Phase 2 (unter Subst)</b>											
Tag 0	9	100,4	104,0	15,8	16,4	19,0	20,0	1,4	1,5	10,9	10,8
Tag 1-7 (Frühphase)	25	156,5	140,0	24,6	22,0	23,6	22,8	1,8	1,7	14,5	12,1
ab Tag 8 (Spätphase)	30	204,2	168,8	32,2	26,6	28,8	28,3	2,2	2,1	16,9	11,0
<b>Phase 3 (nach Subst)</b>											
Tag 1-7 (Frühphase)	18	139,5	121,5	22,0	19,1	25,8	25,3	2,0	1,9	12,3	10,2
ab Tag 8 (Spätphase)	134	119,9	124,0	18,9	19,5	24,3	24,0	1,8	1,8	10,6	10,8

**Tabelle 4.2 Teil 1: Die Cu-Messgrößen der Gesamtstudie: Cu, Cpl und Cu/Cpl-Quotienten (Mittelwerte und Mediane)**  
 Legende siehe Teil 2 der Tabelle

Spalte:	2	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
<b>Gesamtstudie</b>		$\Delta\text{Cu}_{\text{Tag}}$		$\Delta\text{Cu}_{\text{Woche}}$		$\Delta\text{Cu}_{\text{Monat}}$		$\Delta\text{Cu}_{\text{Quartal}}$		$\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$	
<b>Teil 2</b>	N	$\mu\text{mol/l}$		$\mu\text{mol/l}$		$\mu\text{mol/l}$		$\mu\text{mol/l}$		$\mu\text{mol/l}$	
		MW	Md	MW	Md	MW	Md	MW	Md	MW	Md
<b>Messungen</b>											
<b>Insgesamt</b>	753	0,8	0,0	0,9	0,0	1,0	0,0	0,9	0,0	<b>0,9</b>	<b>-0,1</b>
Kontrollgruppe	471	0,0	0,0	0,2	0,0	0,1	-0,2	0,0	-0,2	<b>0,1</b>	<b>-0,2</b>
Substitutionsgruppe	282	2,1	0,1	2,3	0,5	2,6	0,5	2,4	0,3	<b>2,3</b>	<b>0,3</b>
<b>Substitutionsgruppe</b>											
Phase 1 (vor Subst)	66	-0,2	-0,3	-0,5	-0,3	-0,4	-0,2	-0,5	-0,4	<b>-0,4</b>	<b>-0,4</b>
Phase 2 (unter Subst)	64	7,6	2,2	8,1	2,5	9,0	4,0	9,1	4,7	<b>8,4</b>	<b>3,7</b>
Phase 3 (nach Subst)	152	0,8	0,1	1,1	0,4	1,1	0,4	1,0	0,2	<b>1,0</b>	<b>0,1</b>
<b>Phase 2 (unter Subst)</b>											
Tag 0	9	1,3	0,1	1,4	0,5	1,3	0,4	0,9	-0,4	<b>1,23</b>	<b>0,2</b>
Tag 1-7 (Frühphase)	25	4,9	1,5	4,9	1,8	6,1	2,6	6,4	3,2	<b>5,6</b>	<b>2,8</b>
ab Tag 8 (Spätphase)	30	11,7	5,7	12,7	5,3	13,7	6,2	13,8	6,7	<b>13,0</b>	<b>6,1</b>
<b>Phase 3 (nach Subst)</b>											
Tag 1-7 (Frühphase)	18	3,1	0,5	4,8	1,4	5,7	1,2	5,1	0,9	<b>4,7</b>	<b>1,1</b>
ab Tag 8 (Spätphase)	134	0,5	0,0	0,6	0,3	0,5	0,3	0,4	0,15	<b>0,5</b>	<b>0,1</b>

**Tabelle 4.2 Teil 2: Mittelwerte und Mediane der  $\Delta\text{Cu}$ -Werte**

Legende: n = Anzahl der  $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messungen; Cu = Kupfer, Cpl = Coeruloplasmin; Cu/Cpl-Q = Cu/Cpl-Quotient;  $\Delta\text{Cu}$  = Kupferüberschuss, errechnet mittels Median Cu/Cpl-Quotient aller Messungen des Labors am Untersuchungstag ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Tag}}$ ), in der Untersuchungswoche ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Woche}}$ ), im Untersuchungsmonat ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Monat}}$ ) und im Untersuchungsquartal ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Quartal}}$ ).

#### **4.2.2. Beschreibung, Wertung und Deutung der Untersuchungsergebnisse der Gesamtgruppe**

In Tab. 4.2 sind außer den MW und Md der  $\Delta\text{CuKonz}$  (im Teil 2) auch die MW und Md der S-Cu, des Cpl und der Cu/Cpl-Quotienten (im Teil 1) aufgeführt. In der hier folgenden Ergebnisbeschreibung werden die Werte gegenüber denen der Tabelle gerundet angegeben.

Vergleichen wir zunächst die Messungen in der gesamten Substitutions- mit der Kontrollgruppe (im Block 1 der beiden Teile der Tabelle). In der Substitutionsgruppe werden hier die Messungen aller Phasen berücksichtigt, also auch die der Vor- und der Nachsubstitutionsphase, in der die Patienten nicht kupfersubstituiert wurden.

**Die CuKonz**, das Gesamt-Serumkupfer, aller 753 Seren liegt im Mittel bei 125 (Median: 117)  $\mu\text{g/dl}$ ; in der Kontrollgruppe ( $n = 471$ ) liegt sie niedriger (MW 119; Md 112) und in der Substitutionsgruppe ( $n = 282$ ) höher (MW 137; Md 128).

**Die CplKonz** aller Seren liegt im Mittel bei 27  $\text{mg/dl}$  (Median 25  $\text{mg/dl}$ ). Ein wesentlicher Unterschied zwischen diesen Werten und denen der Kontrollgruppe (MW: 28; Md 25  $\text{mg/dl}$ ) und der Substitutionsgruppe (MW: 26; Md 25  $\text{mg/dl}$ ) lässt sich nicht erkennen.

Eine zur Erhöhung der S-CuKonz (MW: von 119 auf 137  $\mu\text{g/dl}$ ) synchrone Erhöhung der CplKonz (MW: 28 bzw. 26,0  $\text{mg/dl}$ ) lässt sich somit nicht feststellen.

**Die Cu/Cpl-Quotienten** aller Seren liegen im Mittel bei 10,3 (Md: 10,2). Sie liegen in der Kontrollgruppe niedriger (MW: 9,7; Md: 9,9) und in der Substitutionsgruppe höher (MW: 11,5; Md: 10,6).

Die Seren der aller kupfersubstituierten Patienten, ohne Berücksichtigung der Substitutionsphasen, zeigen also im Vergleich zu denen der nicht-kupfersubstituierten Patienten keine Abweichung der CplKonz, jedoch eine Erhöhung der S-CuKonz und der Cu/Cpl-Quotienten.

**Die  $\Delta\text{CuKonz}$**  in allen 753 Seren liegt mit einem MW ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$ ) von 0,9  $\mu\text{mol/l}$  über der erwarteten Konzentration von 0,0  $\mu\text{mol/l}$ , mit einem Median ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$ ) von -0,1  $\mu\text{mol/l}$  dagegen im erwarteten Bereich. Die Diskrepanz zwischen dem  $\Delta\text{Cu}$ -MW und dem  $\Delta\text{Cu}$ -Median weist darauf hin, dass in einem Teil der Seren  $\Delta\text{Cu}$  vorhanden ist.

In den 471 Kontrollseren lässt sich – erwartungsgemäß – kein  $\Delta\text{Cu}$  nachweisen: die MW und Md liegen zwischen -0,2 und 0,2  $\mu\text{mol/l}$ .

In den 282 Seren der Kupfersubstituierten dagegen findet sich ein Kupferüberschuss mit Mittelwerten zwischen 2,1 und 2,6 ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$ : 2,3) und Medianen zwischen 0,1 und 0,5 ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$ : 0,3)  $\mu\text{mol/l}$ . Auch hier weist die Dissoziation von MW und Md darauf hin, dass einige der Seren  $\Delta\text{Cu}$  enthalten.

Ordnet man die Messungen den Kupfersubstitutionshasen (P1, P2 und P3) zu, ergeben sich die folgenden Befunde (2. Block der Tabelle, Teil 2):

Die 66 Seren der Vorsubstitutionsphase (P1) sind als frei von  $\Delta\text{Cu}$  zu betrachten: alle MW und Md liegen etwas unter 0,0  $\mu\text{mol/l}$ .

Die 64 Seren der Substitutionsphase (P2) dagegen enthalten  $\Delta\text{Cu}$ : die MW schwanken zwischen 7,6 und 9,1 ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$ : 8,4) und die Mediane zwischen 2,2 und 4,7 ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$ : 3,7)  $\mu\text{mol/l}$ .

Wenn man die Seren der Substitutionsphase der Substitutionsfrühphase (P2 bis Tag 7) und der -spätphase (P2 ab Tag 8) zuordnet (siehe Block 3 der Tabelle), findet man erhebliche Unterschiede zwischen den  $\Delta\text{Cu}$ -Konzentrationen. Sie liegen in der Frühphase bei 5,6 (MW  $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$ ) und 2,8 (Md  $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$ )  $\mu\text{mol/l}$  und in der Spätphase bei 13,0 (MW  $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$ ) und 6,1 (Md  $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$ )  $\mu\text{mol/l}$ . Mit längerer Dauer der Substitution wird also der Kupferüberschuss größer.

Nach Substitutionsende werden wieder niedrigere  $\Delta\text{CuKonz}$  gemessen: die mittlere  $\Delta\text{CuKonz}$  in den 152 Seren schwankt zwischen 0,8 und 1,1 ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$ : 1,0)  $\mu\text{mol/l}$ . Die Mediane liegen zwischen 0,1 und 0,4 ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$ : 0,1)  $\mu\text{mol/l}$ , sie lassen den Kupferüberschuss kaum noch erkennen (Zeile 3 in Block 2 der Tabelle). Bei Zuordnung der Seren zur frühen (P3, <Tag 8) bzw. zur späten Nachsubstitutionsphase (P3,  $\geq$ Tag 8) werden jedoch deutliche Unterschiede in den  $\Delta\text{CuKonz}$  erkennbar (Block 4 der Tabelle), denn für  $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$  werden in der frühen Nachsubstitutionsphase noch 4,7 (MW) und 1,1 (Md)  $\mu\text{mol/l}$  gemessen. Erst in der späten Nachsubstitutionsphase fällt das  $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$  dann weiter ab auf 0,5 (MW) und 0,1 (Md)  $\mu\text{mol/l}$ .

Das  $\Delta\text{Cu}$  verschwindet also offensichtlich nicht abrupt mit dem Ende der CuSubst aus den Seren und selbst in der Spätphase ist es noch in einigen nachzuweisen.

Wenn wir nach Kenntnis dieser Ergebnisse und unter Berücksichtigung der Tatsache, dass das S-Cu unter normalen Bedingungen ausschließlich von der CplKonz eines Serums bestimmt wird, eine Bewertung auch der S-Cu-Abweichungen in dieser Studie vornehmen, so ergibt sich folgendes Bild.

Das **S-Cu** steigt während der CuSubst an von 137 µg/dl (MW, Phase 1 (vor Substitution) deutlich an und erreicht ein Maximum von 204 µg/dl (MW, Phase 2, ab Tag 8) in der Spätphase der Substitution). In der Nachsubstitutionsphase fällt das S-Cu dann wieder zurück in den Bereich Ausgangskonzentration.

**Cpl-Spiegel** lassen keine Änderungen erkennen.

Die **Cu/Cpl-Quotienten** dagegen steigen an, ausgehend von etwa 11,5 in der Vorsubstitutionsgruppe, auf (jeweils MW) 15 in der frühen und 17 in der späten Substitutionsphase. Nach Ende der Substitution fallen die Quotienten wieder.

Die Kupfersubstitution hat also einen erheblichen Einfluss auf die Kupfermessgrößen, der auch nach Ende der Substitution noch wirksam ist.

### **4.3. SELEKTIVE AUSWERTUNG DER RANDOMISIERTEN ONKOLOGISCHEN STUDIE (STUDIE A)**

Anhand der randomisierten Studie A sollen in diesem Kapitel die Auswirkungen der CuSubst bei VPE auf die Serumkupferspiegel und die Verteilung des Kupfers auf die Kupferkompartimente des Serums durch Vergleich der Kupfermessgrößen in den verschiedenen Phasen der Substitution genauer untersucht werden. Dies geschieht hauptsächlich deshalb, weil in dieser Studie die Patientenauswahl (und damit die Messdatengewinnung) ohne jeden möglichen subjektiven Einfluss erfolgte. Auch erfolgten die Messungen in der Substitutionsgruppe im selben Zeitabschnitt und unter sehr ähnlichen Bedingungen wie in der Gruppe der Kontrollpatienten: sämtliche Patienten litten unter onkologischen Erkrankungen und waren akut an einer schweren Mucositis erkrankt. Nur die aktuelle Therapie war unterschiedlich: Die Kontrollpatienten erhielten eine konventionelle Infusionsbehandlung ohne CuSubst, die Substitutionspatienten eine VPE mit CuSubst.

Die Auswertungsmethoden entsprechen denen des vorausgehenden Kapitels 4.2.

#### ***4.3.1. Mittelwerte und Mediane der Kupfermessgrößen der Studie A***

In Tabelle 4.3 sind von allen in den jeweiligen Substitutionsphasen erfolgten Messungen (berücksichtigt wurden nur die Cu<sub>und</sub>Cpl-Messungen) die Mittelwerte (MW) und Mediane (Md) angegeben, und zwar im Teil 1 die

CuKonz = Cu (in µg/dl und µmol/l) im Serum (in Spalten 3 bis 6)

CplKonz (in mg/dl und µmol/l) im Serum (in Spalten 7 bis 10)

Cu/Cpl-Quotienten (µmolCu/l / µmolCpl/l) (in Spalten 11 und 12)

und im Teil 2 die

ΔCuKonz (in µmol/l) in den Spalten 13 bis 22.

Die Anzahl der berücksichtigten Messungen (n) ist angegeben in Spalte 2.

Wenn für eine Substitutionsphase nur eine Messung vorlag, sind die gemessenen bzw. berechneten Einzelwerte in den jeweiligen MW-Spalten angegeben.

Spalte:	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Studie A Teil 1</b>		<b>Serumkupfer (Cu)</b>				<b>Coeruloplasmin (Cpl)</b>				<b>Cu/Cpl-Q</b>	
		$\mu\text{g/dl}$		$\mu\text{mol/l}$		$\text{mg/dl}$		$\mu\text{mol/l}$		$\mu\text{mol}/\mu\text{mol}$	
<b>Messungen</b>	n	MW	Md	MW	Md	MW	Md	MW	Md	MW	Md
<b>Insgesamt</b>	405	124,9	120,0	19,7	18,9	26,3	24,3	2,0	1,8	10,6	10,3
Kontrollgruppe	202	118,1	113,5	18,6	17,9	27,9	25,1	2,1	1,9	9,6	10,0
Substitutionsgruppe	203	131,1	128,0	20,6	20,2	25,0	24,0	1,9	1,8	11,6	10,8
<b>Substitutionsgruppe</b>											
Phase 1 (vor Subst)	57	135,3	126,0	21,3	19,8	29,1	27,0	2,2	2,1	10,0	10,2
Phase 2 (unter Subst)	38	154,4	140,0	24,3	22,0	21,8	22,3	1,7	1,7	16,0	12,0
Phase 3 (nach Subst)	108	120,7	126,5	19,0	20,0	24,0	24,1	1,8	1,8	10,8	10,6
<b>Phase 2 (unter Subst)</b>											
Tag 0	7	112,1	112,0	17,7	17,6	20,2	20,0	1,5	1,5	12,0	11,0
Tag 1-7 (Frühphase)	28	174,4	164,0	27,6	25,8	23,4	23,8	1,8	1,8	15,8	15,3
ab Tag 8 (Spätphase)	3	150,8	147,5	23,8	23,2	13,7	11,7	1,0	0,9	30,1	22,3
<b>Phase 3 (nach Subst)</b>											
Tag 1-7 (Frühphase)	10	114,4	120,5	18,0	19,9	21,9	22,7	1,7	1,7	11,1	10,2
ab Tag 8 (Spätphase)	98	121,4	128,0	19,1	20,2	24,1	24,2	1,8	1,8	10,8	10,8

Tabelle 4.3: Teil 1: Die Kupfermessgrößen der Studie A; Cu, Cpl und Cu/Cpl-Quotienten (Mittelwerte und Mediane)

Legende: siehe Teil 2 der Tabelle

Spalte:	2	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
<b>Studie A Teil 2</b>		$\Delta\text{Cu}_{\text{Tag}}$		$\Delta\text{Cu}_{\text{Woche}}$		$\Delta\text{Cu}_{\text{Monat}}$		$\Delta\text{Cu}_{\text{Quartal}}$		$\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$	
		$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$
	n	MW	Md	MW	Md	MW	Md	MW	Md	MW	Md
<b>Messungen</b>											
<b>Insgesamt</b>	405	0,6	0,0	0,6	0,1	0,7	0,2	0,6	0,0	0,6	0,0
Kontrollgruppe	202	0,0	0,0	0,1	0,1	0,0	0,0	- 0,2	0,0	0,0	- 0,1
Substitutionsgruppe	203	1,0	0,0	1,0	0,2	1,2	0,3	1,1	0,2	1,1	0,1
<b>Substitutionsgruppe</b>											
Phase 1 (vor Subst)	57	- 0,2	- 0,1	- 0,5	- 0,2	- 0,4	0,0	- 0,5	- 0,2	- 0,4	- 0,3
Phase 2 (unter Subst)	38	5,1	1,6	5,0	1,8	6,4	2,6	6,6	3,3	5,8	2,5
Phase 3 (nach Subst)	108	0,2	0,0	0,3	- 0,2	0,3	0,1	0,1	- 0,2	0,2	- 0,2
<b>Phase 2 (unter Subst)</b>											
Tag 0	7	1,8	0,1	1,9	1,4	1,9	0,9	1,5	0,2	1,8	0,6
Tag 1-7 (Frühphase)	28	6,3	2,5	5,9	2,8	7,8	4,9	8,2	6,4	7,1	4,0
ab Tag 8 (Spätphase)	3	8,8	5,4	9,8	6,3	11,4	8,4	11,9	9,2	19,5	7,3
<b>Phase 3 (nach Subst.)</b>											
Tag 1-7 (Frühphase)	10	1,5	0,4	1,6	1,1	1,9	1,2	0,7	0,3	1,4	0,8
ab Tag 8 (Spätphase)	98	0,1	- 0,1	0,2	- 0,2	0,1	0,0	0,0	- 0,2	0,1	- 0,3

**Tabelle 4.3 Teil 2: Mittelwerte und Mediane aller  $\Delta\text{Cu}$ -Werte der Studie A**

**Legende:** n = Anzahl der  $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messungen; Cu = Serum-Kupfer, Cpl = Coeruloplasmin; Cu/Cpl-Q = Cu/Cpl-Quotient;  $\Delta\text{Cu}$  = Kupferüberschuss, errechnet mittels der Mediane aller Cu/Cpl-Quotienten der Messungen des Labors am Untersuchungstag ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Tag}}$ ), in der Untersuchungswoche ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Woche}}$ ), im Untersuchungsmonat ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Monat}}$ ) und im Untersuchungsquartal ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Quartal}}$ );  $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$  = Mittelwert der  $\Delta\text{Cu}$ -Werte der 4 Perioden

### **4.3.2. Beschreibung und Bewertung der Ergebnisse der Studie A**

In Tabelle 4.3 sind die Mess- bzw. Berechnungsergebnisse der insgesamt 405 Cu<sub>und</sub>Cpl-Messungen aller Patienten der Studie A als MW und Md wiedergegeben:

im Teil 1 die Cu- und CplKonz, sowie die Cu/Cpl-Quotienten und  
im Teil 2 die errechneten  $\Delta$ Cu-Konzentrationen.

#### **4.3.2.1. Teil 1 der Tabelle 4.3**

**Die CuKonz** aller 405 Seren liegt im Mittel bei 125 (Median: 120)  $\mu$ g/dl; in der Kontrollgruppe liegt sie niedriger (MW 118; Md 114) und in der Substitutionsgruppe höher (MW 131; Md 128).

**Die CplKonz** liegt im Mittel bei 26 mg/dl (Median 24) mg/dl. Ein wesentlicher Unterschied zwischen diesen Werten und denen der Kontrollgruppe (MW: 28; Md 25) und der Substitutionsgruppe (MW: 25,0; Md 24) lässt sich nicht erkennen. Eine zur Erhöhung der CuKonz (MW Cu ohne CuSubst: 118, während CuSubst 131  $\mu$ g/dl) synchrone Erhöhung der CplKonz (MW Cpl ohne CuSubst: 29, während CuSubst: 25 mg/dl) lässt sich somit nicht feststellen, im Gegenteil: die CplKonz fällt ab, möglicherweise bedingt durch eine Milderung der Infektion während der Behandlung.

**Die Cu/Cpl-Quotienten** liegen im Mittel bei 10,6 (Md: 10,3). Der Quotient der Kontrollgruppe liegt niedriger (MW: 9,6; Md: 10,0), der der Substitutionsgruppe höher (MW: 11,6; Md: 10,8).

Die Seren der kupfersubstituierten Patienten zeigen also im Vergleich zu denen der Nichtsubstituierten keinen Anstieg der CplKonz, jedoch eine Erhöhung der CuKonz und – entsprechend dieser Konstellation – auch eine Erhöhung ihrer Cu/Cpl-Quotienten.

#### 4.3.2.2. Teil 2 der Tabelle 4.3

Die  $\Delta\text{CuKonz}$  aller **405 Seren** der Studie liegt im Mittel (siehe z.B.  $\Delta\text{Cu}_{\text{Tag}}$ : oder  $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$ ) mit  $0,6 \mu\text{mol/l}$ ) über der erwarteten Konzentration von  $0,0 \mu\text{mol/l}$ . Ihre Mediane (siehe z.B.  $\Delta\text{Cu}_{\text{Tag}}$  und  $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$ ;) liegen dagegen im erwarteten Bereich. Diese Diskrepanz könnte darauf hinweisen, dass in einem Teil der Seren  $\Delta\text{Cu}$  vorhanden ist.

Die **202 Kontrollmessungen** (bei Patienten ohne CuSubst) ergeben – erwartungsgemäß – kein  $\Delta\text{Cu}$ : die MW liegen zwischen  $-0,2$  und  $0,1$  und die Md zwischen  $-0,1$  und  $0,0 \mu\text{mol/l}$ .

Die **203 Messungen während der CuSubst** dagegen deuten auf einen Kupferüberschuss hin:  $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$  MW:  $1,1$  und Md  $0,1 \mu\text{mol/l}$ . Auch hier zeigt die Dissoziation von MW und Md an, dass  $\Delta\text{Cu}$  nicht in allen dieser Seren vorhanden sein kann.

Ordnet man die **203 Messungen der Substitutionsgruppe** den jeweiligen Phasen der Kupfersubstitution (P1, P2 und P3) zu, so ergeben sich folgende Befunde:

Die **57 Seren der Vorsubstitutionsphasen (P1)** sind als frei von  $\Delta\text{Cu}$  zu betrachten: alle MW und Md liegen etwas unter  $0,0 \mu\text{mol/l}$ .

Die **38 Seren der Substitutionsphasen (P2)** dagegen enthalten ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$ : MW  $5,8$ , Md  $2,5 \mu\text{mol/l}$ ) Cu im Überschuss.

Wenn man die Seren der kupfersubstituierten Patienten der Frühperiode (P2, Tag 1-7 der Substitution) und der Spätperiode (P2 ab Tag 8) zuordnet, findet man unterschiedlich hohe  $\Delta\text{Cu}$ -Konzentrationen: diese liegen in der **Substitutionsfrühperiode** bei  $7,1$  (MW) und  $4,0$  (Md)  $\mu\text{mol/l}$  und in der **Substitutions-spätperiode** bei  $19,5$  (Md) und  $7,3$  (Md)  $\mu\text{mol/l}$ .

In den **108 Seren der Nachsubstitutionsphase (P3)** lässt sich  $\Delta\text{Cu}$  nicht mehr sicher nachweisen ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$ : MW  $0,2$ . Md  $-0,2$ ).

Nach Ende der Substitution (P3) fällt  $\Delta\text{Cu}$  also wieder ab. Dies geschieht jedoch offensichtlich nicht abrupt.  $\Delta\text{Cu}$  liegt vielmehr in der **frühen Nachsubstitutionsperiode** (P3, Tag 1-7) noch bei  $1,4$  (MW) und  $0,8$  (Md)  $\mu\text{mol/l}$ . In

der **späten Nachsubstitutionsperiode** (P3, ab Tag 8) fällt es dann ab auf 0,1 (MW) und -0,3 (Md)  $\mu\text{mol/l}$ .

Diese zunächst widersprüchlich erscheinenden Ergebnisse (kein Kupferüberschuss in der Gesamtheit aller P3-Messungen und ein messbare Kupferüberschuss in den frühen P3-Periode Tag 1-7 nach Ende der Substitution) ist möglicherweise zu erklären durch die unterschiedliche Zahl der Messungen: 108 Messungen in P3 insgesamt und nur 13 Messungen in der Frühphase (P3, Tag 1-7).

Prüfen wir – nach diesen Beobachtungen – erneut die **absolute CuKonz** (Cu, Teil A der Tabelle) mit der Frage, ob auch diese unter der CuSubst ansteigt, stellen wir folgendes fest:

Während der Kupfersubstitution steigen die **CuKonz** (jeweils MW bzw. Md in  $\mu\text{g/dl}$ ) an von

135 bzw. 126 in der Vorphase auf

174 bzw. 164 in Substitutionsfrühperiode und

151 bzw. 148 in der Substitutionsspätperiode und fallen dann auf

114 bzw. 121 in der Nachsubstitutionsfrühperiode und

121 bzw. 128 in der Nachsubstitutionsspätperiode.

Die **CpIKonz** werden durch die CuSubst nicht entsprechend beeinflusst; sie fallen von

29 bzw. 27 in der Vorphase auf

23 bzw. 24 in der Substitutionsfrühperiode und

14 bzw. 12 in der Substitutionsspätperiode und steigen dann wieder an auf

22 bzw. 23 in der Nachsubstitutionsfrühperiode und

24 bzw. 24 in der Nachsubstitutionsspätperiode.

Die **Cu/Cpl-Quotienten** spiegeln die Dissoziation zwischen Cu und Cpl während der Substitution wieder. Ausgehend von 10,0 bzw. 10,2 in der Vorphase steigen sie an auf 16 bzw. 15 in der Substitutionsfrühperiode und 30 bzw. 22 in der Substitutionsspätperiode und fallen dann wieder auf 11 bzw. 10 in der Nachsubstitutionsfrüh- und -spätperiode.

Die **Kontrollgruppe der Studie A** (mit 202 Untersuchungen) unterscheidet sich bezüglich des **Cu** (118 bzw. 114 µg/dl) von der Substitutionsgruppe (mit 57 Untersuchungen) vor Beginn der Substitution (135 bzw. 126 µg/dl) durch niedrigeres Cu.

Das **Cpl** der Kontrollgruppe (28 bzw. 25 mg/dl) liegt ebenfalls etwas niedriger als das der Vorsubstitutionsgruppe (mit 29 bzw. 27 mg/dl).

Die **Cu/Cpl-Quotienten** der Kontrollgruppe und der Vorsubstitutionsgruppe sind – dem entsprechend - in etwa gleich groß: in der Kontrollgruppe liegen sie bei 9,6 bzw. 10,0, in der Vorsubstitutionsgruppe bei 10,0 bzw. 10,2. Das bedeutet, dass zwischen beiden Gruppen keine Dissoziation von Serum-Cu und Cpl besteht, sondern dass eine minimale, aber synchrone Abweichung der Konzentrationen besteht.

Erklärt werden könnte diese Abweichung damit, dass in der Kontrollgruppe die Patienten in allen Phasen der akuten Mucositis (also auch in der Rekonvaleszenz), in der Vorsubstitutionsgruppe dagegen die Patienten nur vor bzw. bis zum Höhepunkt der Mucositis und damit möglicherweise vorwiegend in einer Phase mit infektionsbedingt hohen CplKonz und somit auch sekundär erhöhten CuKonz erfasst wurden.

### **4.3.3. Statistische Signifikanz des $\Delta$ Cu-Anstiegs unter Cu-Subst**

Zur Prüfung auf statistische Signifikanz des  $\Delta$ Cu-Anstiegs während der CuSubst wurden mittels T-Test und ANOVA-Test die Messungen der Studie A vor Substitution (Phase P1) mit denen während der Substitution (Phase 2) mit und ohne Zuordnung zur frühen und zur späten Substitutionsperiode und mit denen der Kontrollgruppe verglichen.

Die Abweichungen zwischen den folgenden Gruppen erwiesen sich als statistisch signifikant ( $p < 0,05$ ):

Vorphase P1 gegen Substitutionsphase P2

Vorphase P1 gegen Substitutionsperiode P2-früh,

Vorphase P1 gegen Substitutionsperiode P2-spät.

Als ebenfalls statistisch signifikant erwiesen sich die Abweichungen der drei Substitutionsphasen gegenüber der Kontrollgruppe (Patienten ohne CuSubst).

#### **4.4. BESCHREIBUNG UND BEWERTUNG DER STUDIE B**

Die in die Studie B aufgenommenen Patienten waren ebenfalls onkologische Patienten. Auch sie erhielten (in der „experimentellen“ Gruppe) eine VPE mit CuSubst, jedoch geschah dies außerhalb der randomisierten Studie. In die Kontrollgruppe der Studie B wurden andere onkologische Patienten aufgenommen, die keine parenterale Ernährung und keine CuSubst erhielten.

Die Analyse der Messungen dieser Studie (siehe Tabelle 4.4 auf den beiden folgenden Seiten) bestätigt die Ergebnisse der Gesamtstudie und der Studie A. Auch hier lässt sich ein Anstieg des Cu und  $\Delta\text{Cu}$  im Serum während und in der frühen Nachsubstitutionsperiode nachweisen. Auch hier wird das Maximum des Kupferüberschusses in der späten Substitutionsperiode erreicht. Besonders deutlich erkennbar wird hier die Überkupferung der Patienten in der Nachsubstitutionsphase: selbst in deren später Periode ist  $\Delta\text{Cu}$  noch deutlich nachweisbar.

Spalte: 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Studie B</b>		<b>Serum-Cu</b>				<b>Cpl</b>				<b>Cu/Cpl-Q</b>	
<b>Teil 1</b>		$\mu\text{g/dl}$		$\mu\text{mol/l}$		$\text{mg/dl}$		$\mu\text{mol/l}$		$\mu\text{mol}/\mu\text{mol}$	
	n	MW	Md	MW	Md	MW	Md	MW	Md	MW	Md
<b>Messungen</b>											
<b>Insgesamt</b>	259	130,2	117,0	20,5	18,4	26,6	24,9	2,0	1,9	10,7	10,1
ohne Cu-Substitution	200	122,4	115,5	19,3	18,2	26,0	24,6	2,0	1,9	10,3	10,1
mit Cu-Substitution	58	156,8	128,0	24,7	20,2	28,4	26,3	2,2	2,0	12,0	10,7
<b>mit Cu-Substitution</b>											
Phase 1 (vor Cu)	9	141,7	135,5	22,3	21,3	34,0	37,4	2,6	2,8	8,6	8,5
Phase 2 (während Cu)	13	227,4	132,4	35,8	20,9	30,1	29,4	2,3	2,2	16,1	9,1
Phase 3 (nach Cu)	36	132,8	122,0	20,9	19,2	26,2	23,6	2,0	1,8	11,4	11,3
<b>Phase 2 (während Cu)</b>	14	221,6	132,6	34,9	20,9	30,1	29,4	2,3	2,2	15,4	8,8
Tag 0	1	100,0		15,7		22,6		1,7	1,7	9,2	
Tag 1-7 (Frühperiode)	4	119,7	126,6	18,8	19,4	26,5	26,5	2,0	2,0	7,9	7,8
ab Tag 8 (Spätperiode)	9	292,3	168,7	46,0	26,6	33,1	33,2	2,5	2,5	19,4	8,5
<b>Phase 3 (nach Cu)</b>	36	132,8	122,0	20,9	19,2	26,2	23,6	2,0	1,8	11,5	11,3
Tag 1-7 (Frühperiode)	9	162,1	125,3	25,5	19,7	27,6	26,0	2,1	2,0	14,4	17,4
ab Tag 8 (Spätperiode)	27	122,8	122,0	19,3	19,2	25,3	22,5	1,9	1,7	10,6	11,3

**Tabelle 4.4 Teil 1: Die Kupfermessgrößen der Studie B; Cu, Cpl und Cu/Cpl-Quotienten (Mittelwerte und Mediane)**

Legende: siehe Teil 2 der Tabelle

Spalte: 1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Studie B</b>		$\Delta\text{Cu}_{\text{Tag}}$		$\Delta\text{Cu}_{\text{Woche}}$		$\Delta\text{Cu}_{\text{Monat}}$		$\Delta\text{Cu}_{\text{Quartal}}$		$\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$	
<b>Teil 2</b>	n	$\mu\text{mol/l}$		$\mu\text{mol/l}$		$\mu\text{mol/l}$		$\mu\text{mol/l}$		$\mu\text{mol/l}$	
		MW	Md	MW	Md	MW	Md	MW	Md	MW	Md
<b>Messungen</b>											
<b>Insgesamt</b>	259	1,0	0,0	1,4	-0,1	1,4	-0,2	1,3	-0,2	1,3	-0,2
Kontrollgruppe	200	0,0	-0,2	0,2	-0,2	0,1	0,0	0,0	-0,5	0,1	-0,4
Substitutionsgruppe	58	4,4	0,3	5,7	0,7	5,9	0,5	5,7	0,6	5,4	0,3
<b>Substitutionsgruppe</b>											
Phase 1 (vor Subst)	9	-0,6	-0,6	-0,3	-0,5	-0,5	-0,4	-0,7	-0,9	-0,5	-0,7
Phase 2 (unter Subst)	13	14,3	4,2	16,8	4,1	17,0	4,3	16,4	3,7	16,1	4,1
Phase 3 (nach Subst)	36	1,9	0,4	3,0	0,7	3,3	0,8	3,3	0,9	2,9	0,7
<b>Phase 2 (unter Subst)</b>	14	13,5	2,4	15,9	2,4	16,1	2,2	15,5	1,2	15,2	2,0
Tag 0	1	-0,3		-0,8		-1,4		-1,9		-1,1	
Tag 1-7 (Frühphase)	4	0,2	0,1	0,0	0,0	-0,5	-0,4	-0,9	-0,5	-0,3	-0,1
ab Tag 8 (Spätphase)	9	20,9	5,3	24,8	4,8	25,5	5,4	24,7	5,5	24,0	5,3
<b>Phase 3 (nach Subst)</b>	36	2,2	0,5	3,2	0,8	3,5	0,8	3,5	1,1	3,1	0,7
Tag 1-7 (Frühphase)	9	5,5	1,8	8,7	10,6	10,2	10,5	10,1	10,6	8,6	10,7
ab Tag 8 (Spätphase)	27	1,1	0,3	1,3	0,5	1,3	0,8	1,3	0,6	1,3	0,6

**Tabelle 4.4 Teil 2: Mittelwerte und Mediane aller  $\Delta\text{Cu}$ -Werte der Studie B**

**Legende:** n = Anzahl der  $\text{Cu}_{\text{und}}\text{Cpl}$ -Messungen; Cu = Serum-Kupfer, Cpl = Coeruloplasmin; Cu/Cpl-Q = Cu/Cpl-Quotient;  $\Delta\text{Cu}$  = Kupferüberschuss, errechnet mittels der Mediane aller Cu/Cpl-Quotienten der Messungen des Labors am Untersuchungstag ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Tag}}$ ), in der Untersuchungswoche ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Woche}}$ ), im Untersuchungsmonat ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Monat}}$ ) und im Untersuchungsquartal ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Quartal}}$ );  $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$  = Mittelwert der  $\Delta\text{Cu}$ -Werte der 4 Perioden

#### **4.5. BESCHREIBUNG UND BEWERTUNG DER STUDIE C**

In der Studie C dieser Arbeit soll geprüft werden, ob eine VPE mit CuSubst auch bei nicht-onkologischen Patienten zu einer Hypercuprämie führen kann. 21 Messungen bei Kindern (vorwiegend Säuglinge) mit VPE und CuSubst („experimentelle“ Gruppe) sind hier 69 Messungen bei Kindern ohne VPE und ohne CuSubst gegenübergestellt. Die Beobachtungszeit der einzelnen Patienten ist hier länger als in den Studien A und B. Fast alle Messungen erfolgten in der späten Phase der Substitution und in der Nachsubstitutionsphase (siehe Tabelle 4.5 auf den beiden folgenden Seiten).

Auch in dieser Studie kommt es während der CuSubst zu einer Erhöhung des Cu und zu messbaren  $\Delta$ CuKonzentrationen. Die Substitution wirkt sich demnach bei nicht-onkologischen in ähnlicher Weise aus wie bei onkologischen Patienten.

Auffallend ist in dieser Studie jedoch, dass  $\Delta$ Cu auch in der späten Nachsubstitutionsperiode noch deutlich nachweisbar ist. Eine länger dauernde CuSubst, wie sie in dieser Studie erfolgte, führt also offensichtlich auch zu einer länger anhaltenden Überkupferung.

Spalte:	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Studie C Teil 1</b>	<b>Serum-Cu</b>				<b>Cpl</b>				<b>Cu/Cpl-Q</b>		
	$\mu\text{g/dl}$		$\mu\text{mol/l}$		$\text{mg/dl}$		$\mu\text{mol/l}$		$\mu\text{mol}/\mu\text{mol}$		
<b>Messungen</b>	n	MW	Md	MW	Md	MW	Md	MW	Md	MW	Md
<b>Insgesamt</b>	90	114,4	109,6	18,0	17,3	30,2	30,0	2,3	2,3	8,4	7,6
(Kontrollgruppe)	69	108,9	106,9	17,1	16,8	30,7	29,6	2,3	2,2	8,0	7,1
Substitutionsgruppe (nur Phasen 2 und 3)	21	132,6	150,7	20,9	23,7	28,6	30,9	2,2	2,3	9,8	9,3
<b>Phase 2 (unter Subst)</b>	12	170,2	169,2	26,8	26,6	33,5	37,3	2,5	2,8	11,5	9,7
Tag 0	1	18,3		2,9		7,4		0,6		5,1	
Tag 1-7 (Frühphase)	1	69,0		10,9		24,8		1,9		5,8	
ab 8. Tag (Spätphase)	10	180,3	171,9	28,4	27,1	34,4	37,5	2,6	2,8	12,1	10,2
<b>Phase 3 (nachCu)</b>	9	98,5	116,1	15,5	18,3	24,8	27,6	1,9	2,1	8,1	8,3
Tag 1-7 (Frühphasee)	1	152,1		23,9		32,2		2,4		9,8	
ab Tag 8 (Spätphase)	8	91,9	113,3	14,5	17,8	23,9	27,2	1,8	2,1	7,9	7,9

**Tabelle 4.5: Teil 1: Die Kupfermessgrößen der Studie C: Cu, Cpl und Cu/Cpl-Quotienten**

Legende: siehe Teil 2 der Tabelle

Spalte:	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>Studie C Teil 2</b>		$\Delta\text{Cu}_{\text{Tag}}$		$\Delta\text{Cu}_{\text{Woche}}$		$\Delta\text{Cu}_{\text{Monat}}$		$\Delta\text{Cu}_{\text{Quartal}}$		$\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$	
		$\mu\text{mol/l}$		$\mu\text{mol/l}$		$\mu\text{mol/l}$		$\mu\text{mol/l}$		$\mu\text{mol/l}$	
<b>Messungen</b>	n	MW	Md	MW	Md	MW	Md	MW	Md	MW	Md
<b>Insgesamt</b>	90	0,9	-0,1	1,1	0,0	1,2	0,1	1,2	0,0	1,1	-0,1
(Kontrollgruppe)	69	-0,5	-0,3	-0,2	-0,3	-0,2	-0,1	-0,2	-0,5	-0,3	-0,3
Substitutionsgruppe (nur Phasen 2 und 3)	21	5,5	5,0	5,5	5,1	5,8	4,6	5,8	4,9	5,7	5,0
<b>Phase 2 (während Cu)</b>	12	8,0	6,6	8,3	6,5	8,9	6,8	9,2	7,3	8,6	6,6
Tag 0	1	-0,2		-0,2		-0,4		-0,4		-0,3	
Tag 1-7 (Frühphase)	1	0,0		-1,4		-1,7		-2,1		-1,3	
ab 8. Tag (Spätphase)	10	8,8	6,7	9,3	7,9	9,9	8,0	10,4	8,5	9,6	7,6
<b>Phase 3 (nachCu)</b>	9	3,0	3,2	2,7	3,0	2,8	1,9	2,3	2,2	2,7	3,1
Tag 1-7 (Frühphase)	1	3,2		5,5		7,1		6,0		5,4	
ab Tag 8 (Spätphasee)	8	3,0	3,2	2,4	2,2	2,2	1,6	1,8	1,5	2,4	2,3

**Tabelle 4.5 Teil 2: Mittelwerte und Mediane aller  $\Delta\text{Cu}$ -Werte der Studie C**

**Legende:** n = Anzahl der  $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messungen; Cu = Serumkupfer, Cpl = Coeruloplasmin; Cu/Cpl-Q = Cu/Cpl-Quotient;  $\Delta\text{Cu}$  = Kupferüberschuss, errechnet mittels der Mediane aller Cu/Cpl-Quotienten der Messungen des Labors am Untersuchungstag ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Tag}}$ ), in der Untersuchungswoche ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Woche}}$ ), im Untersuchungsmonat ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Monat}}$ ) und im Untersuchungsquartal ( $\Delta\text{Cu}_{\text{Quartal}}$ );  $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$  = Mittelwert der  $\Delta\text{Cu}$ -Werte der 4 Perioden

## **5. DISKUSSION**

Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen erkennen, dass bei Patienten mit einer VPE die als Substitution vorgesehene intravenöse Gabe von Kupfer einen erheblichen Einfluss auf die Serum-Kupferkonzentrationen hat. Während und nach der Substitution lässt sich durch positive  $\Delta\text{Cu}$ -Werte „freies“ d.h. nicht an Coeruloplasmin gebundenes Kupfer (Nicht-CpICu), im Serum nachweisen, und zwar in hohen Konzentrationen.

Diese Befunde machen eine Änderung des derzeit durchgeführten Substitutionsmodus erforderlich. Sie sollen hier deshalb kritisch diskutiert werden.

### **5.1. ÜBERKUPFERUNG DES ORGANISMUS DURCH ERHÖHTE ZUFUHR ODER ABLAGERUNG VON KUPFER**

Es besteht heute kein Zweifel mehr daran, dass eine chronische, überhöhte Kupferzufuhr ebenso wie eine pathologische Kupferspeicherung zu einer Überkupferung (Vergiftung, Kuprismus) des Körpers führen kann. Die Überkupferung zeigt sich in der histochemisch nachzuweisenden Ablagerung von Kupfer in fast allen Organen. Sie geht aber auch mit einer „echten“ Hypercuprämie einher. Eine „echte“ Hypercuprämie lässt sich jedoch nicht direkt messen, sie kann nur mit Hilfe einer kombinierten Mess- und Berechnungsmethode, wie sie in dieser Arbeit angewandt wird, entdeckt werden. Diese Methode wird in Kapitel 5.2 kritisch diskutiert. Die verschiedenen Ursachen der Überkupferung werden im Folgenden kurz besprochen.

#### ***5.1.1. Überkupferung durch erhöhte Zufuhr mit der Nahrung***

Beispiel für eine chronisch überhöhte Zufuhr ist die weltweit aufgetretene Vergiftungserkrankung, die erst vor kurzem als solche erkannt und, bevor das Kupfer als der krankheitsauslösende Faktor noch nicht erkannt oder noch nicht akzeptiert war, unter verschiedenen Namen geführt wurde:

---

Idiopathic copper toxicosis, Indian Childhood Cirrhosis, Tyrolean Childhood Cirrhosis, German Childhood Cirrhosis. Bei der Erkrankung wird durch eine überhöhte Zufuhr (exogene Kupfervergiftung) die Kupferausscheidungskapazität des Körpers überschritten und Kupfer in den Organen abgelagert. Diese, insbesondere die Leber, werden dadurch zerstört. Regelmäßig lässt sich bei der Vergiftung im Blut  $\Delta\text{Cu}$ , also eine „echte“ Hypercuprämie nachweisen (siehe dazu auch Kapitel 2.6.2).

### **5.1.2. Überkupferung durch verminderte Ausscheidung**

Der exogenen Kupfervergiftung in vieler Hinsicht ähnlich ist eine endogene Vergiftung (bekannt unter dem Namen „Morbus Wilson“ oder „Wilsonsche Erkrankung“), bei der das in normalen Mengen mit der Nahrung in den Körper gelangende Kupfer nicht wieder ausgeschieden werden kann. Auch bei dieser Erkrankung kommt es zur Kupferablagerung in den Organen und zu deren Zerstörung. Wegen des für die Erkrankung charakteristischen Mangels an Coeruloplasmin sind die Gesamt-Serumkupferspiegel in der Regel nicht, die des  $\Delta\text{Cu}$  jedoch deutlich erhöht. Auch diese Erkrankung ist also durch eine „echte“ Hypercuprämie charakterisiert. (siehe dazu auch Kapitel 2.6.1.1)

### **5.1.3. Überkupferung durch therapeutische Kupfergaben**

Bei schwerem Kupfermangel wird eine Behandlung mit i.v. applizierten, hohen Kupferdosen durchgeführt. Die Dosen sind so hoch bemessen, dass dabei im Blut erhöhte CuKonz gemessen werden [14]. Da der Kupfermangel obligat zum Coeruloplasminmangel führt (dem Körper fehlt ja das Kupfer, das ein wesentlicher Baustein des Coeruloplasmins ist), sind die Coeruloplasminkonzentrationen der betroffenen Patienten ebenfalls niedrig (siehe Tabelle 5.1). Die beabsichtigte rasche und hohe therapeutische Kupferzufuhr führt im Serum zum starken Anstieg der Cu-, zunächst aber noch nicht zum Anstieg der CplKonz. Denn die Cpl-Synthese setzt erst mit zeitlicher Verzögerung ein. Initial ist bei einer solchen Behandlung also ebenfalls eine deutliche Erhöhung des  $\Delta\text{Cu}$  messbar. Ein Beispiel für eine solche therapeutische Überkupferung wird in der folgenden Tabelle wiedergegeben.

<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>
<b>Tag des stat. Aufenthaltes</b>	Kupferzufuhr μg/kg/d	SerumCu μg/dl   μmol/l	Coeruloplasmin mg/dl   μmol/l	Cu/Cpl-Quot. μmol/l / μmol/l	ΔCu μg/dl   μmol/l	Anteil ΔCu am ges. SerumCu
<b>1</b>	18	0   0	0   0	nzb	0   0	
<b>2</b>	528	0   0	0   0	nzb	0   0	
<b>3</b>	528	29   4,6	0   0	nzb	29   4,6	100 %
<b>4</b>	528	68   10,7	8   0,6	17,7	45   7,1	66 %
<b>5</b>	535	101   15,9	13   1,0	16,1	63   9,9	62 %
<b>6</b>	535	96   15,1	24   1,8	8,3	27   4,3	28 %
<b>10</b>	535	177   27,9	21   1,6	17,5	116   18,3	66 %
<b>15</b>	42	142   22,4	28   2,1	10,5	61   9,8	43 %
<b>24</b>	535	136   21,4	30   2,3	9,4	48   7,6	35 %

**Tabelle 5.1: Die Kupfermessgrößen im Serum eines wegen Kupfermangels i.v. mit Kupfer behandelten Patienten [14]**

Die Cu/Cpl-Quotienten und das ΔCu wurden nach der Methode dieser Arbeit anhand der vom Autor angegebenen Messwerte errechnet siehe die Beschreibung und Bewertung der Studie auf der folgenden Seite

Die in der Tabelle eingetragenen Serumkonzentrationen von Cu (Spalte 3) und Cpl (Spalte 4), sowie die therapeutische Kupferdosis (Spalte 2) sind der Arbeit von Cordano aus dem Jahr 1998 entnommen [14]. Nach der Methode dieser Arbeit wurde für jede Messung der Cu/Cpl-Quotient berechnet. Legt man den „wahren“ Cu/Cpl-Koeffizienten von 6 zugrunde, wird der therapiebedingte Kupferüberschuss (mit Cu/Cpl-Quotienten bis knapp unter 18, also fast dem Dreifachen der Norm) erkennbar (Spalte 5). Die errechneten  $\Delta\text{CuKonz}$  lassen die therapiebedingte „echte“ Hypercuprämie erkennen (Spalte 6)<sup>21</sup>. Der prozentuale Anteil des  $\Delta\text{Cu}$  am Gesamt-Serumkupfer des Patienten ist in Spalte 7 angegeben.

**Bewertung:** Bei stationärer Aufnahme des Patienten und kurz danach (Tag 1 und 2 des stationären Aufenthaltes) ließen sich in seinem Serum weder Cu noch Cpl nachweisen. Nach Beginn einer Behandlung mit Kupfer in hohen Dosen (528  $\mu\text{g}/\text{kgKG}/\text{d}$ ) wurde Cu sofort, Cpl aber erst verzögert, nach dreitägiger Behandlung messbar. Während der gesamten Behandlungs- und Beobachtungszeit konnte bei allen Untersuchungen unter der hohen Kupferzufuhr eine „echte“ Hypercuprämie nachgewiesen werden.

Diese gemessenen und berechneten Kupfermessgrößen eines Patienten, der wegen eines schweren Kupfermangels hoch dosiert mit Kupfer behandelt werden musste, sollen hier zeigen, dass die zur Behebung des Mangels in Kauf zunehmende Hypercuprämie durch Bestimmung des  $\Delta\text{Cu}$  erkannt und quantitativ erfasst werden kann.

---

<sup>21</sup> Die Berechnung des  $\Delta\text{Cu}$  erfolgte für diese Arbeit unter Verwendung des damals (1998) für die meisten Laboratorien gültigen Cu/Cpl-Koeffizienten von 6 nach der Formel: „ $\Delta\text{Cu} = \text{Cu} - 6 * \text{Cpl}$ “; die Umrechnung der CuKonz von  $\mu\text{g}/\text{dl}$  in  $\mu\text{mol}/\text{l}$  erfolgte mit dem Faktor 6,355 und die der CplKonz von  $\text{mg}/\text{dl}$  in  $\mu\text{mol}/\text{l}$  mit dem Faktor 13,2 verwendet.

#### **5.1.4. Überkuperung durch Kupfersubstitution (die Beobachtungen dieser Arbeit)**

Eine Substitution soll der Entstehung eines Mangels entgegenwirken, aber keinen Überschuss (wie bei der Therapie eines Mangels im Beispiel des Kapitels 5.1.3) hervorrufen. Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen jedoch erkennen, dass die hier zur Substitution gewählten Kupferdosen eine signifikante Hypercuprämie verursachen, die der einer Kupfervergiftung ähnelt. Da diese Beobachtungen eine Änderung der derzeitigen Dosierung des Kupfers bei der VPE fordern, werden die Untersuchungen dieser Arbeit bezüglich ihrer Planung und Durchführung, ihrer Verlässlichkeit und ihrer Interpretation im Folgenden ausführlich und kritisch diskutiert.

Die Diskussion ist in folgende Kapitel gegliedert:

- Die verlässliche Erkennung einer Überkuperung (Kapitel 5.2)
- Die Auswahl der Patienten dieser Arbeit (Kapitel 5.3)
- Die Probengewinnung (Kapitel 5.4)
- Störfaktoren, welche die Kupfermessungen beeinflussen können (Kapitel 5.5)
- Die Unzuverlässigkeit von Kupfermesswerten für die Erkennung einer echten Hypercuprämie (Kapitel 5.6)
- Die Interpretation der Messergebnisse (Kapitel 5.7)
- Die Signifikanz, Plausibilität und Kontrolle der Messergebnisse (Kapitel 5.8)
- Die aktuelle Studienlage (Kapitel 5.9)
- Die Schlussfolgerungen aus den Ergebnissen dieser Arbeit (Kapitel 5.10)

## 5.2. DIE VERLÄSSLICHE ERKENNUNG EINER ÜBERKUPFERUNG

### 5.2.1. *Das Prinzip der Nachweismethode*

Auch nach der Erkennung der exogenen Kupfervergiftung blieb für längere Zeit umstritten, ob Serumkupferspiegel Auskunft geben können über das Ausmaß einer Überkupferung. Systematische Untersuchungen u. a. des Dokumentationszentrums wiesen darauf hin, dass nicht ein erhöhter Gesamtkupferspiegel, sondern nur der Nachweis von „freiem“ Kupfer (Nicht-Coeruloplasminkupfer (Nicht-CplCu oder  $\Delta\text{Cu}$ ) im Serum als sicheres diagnostisches Kriterium einer Kupfervergiftung (des Kuprismus) angesehen werden darf.

Für eine **direkte Messung** des „freien“ Kupfers müsste zuvor aus dem Serum das gesamte Cpl (mit dem in ihm „gebundenen“ Kupfer) entfernt werden. Eine solche Untersuchung ist für das Routineprogramm klinisch-chemischer Laboratorien zu aufwändig und darüber hinaus überflüssig, weil - abgesehen von Vergiftungen - Nicht-CplCu im Serum in messbaren Konzentrationen nicht vorkommt ( $\Delta\text{Cu} = \text{Null}$ ). Die Messung kann jedoch durch die im Folgenden beschriebene Berechnungsmethode ersetzt werden.

Zur **Berechnung** des Nicht-CplCu nutzt man die Kenntnis über den Kupfergehalt des Coeruloplasmins: Jedes Molekül Coeruloplasmin enthält – strukturell gebunden – sechs Atome Kupfer. Das Mengenverhältnis von Kupfer und Coeruloplasmin (auf molarer Ebene) kann somit durch den Cu/Cpl-Koeffizienten (konstanter Wert: 6) angegeben werden. Wenn man also in ein und derselben Serumprobe Kupfer und Coeruloplasmin misst (die sog.  $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messung) und die Konzentrationen in  $\mu\text{mol/l}$  umrechnet, kann man den **Sollkupfergehalt** des Serums ( $\text{Cu}_{\text{SOLL}}$ ) berechnen, ihn mit dem **Istkupfergehalt** ( $\text{Cu}_{\text{IST}}$ ) vergleichen und so eine eventuell vorhandene Differenz (das  $\Delta\text{Cu}$  oder Nicht-CplCu = Cu-Überschuss) berechnen.

Die für die Berechnung zu verwendenden Formeln lauten:

$$\Delta\text{Cu} = \text{Cu}_{\text{IST}} - \text{Cu}_{\text{SOLL}}$$

$$\text{Cu}_{\text{SOLL}} = \text{Cu/Cpl-Koeffizient} \times \text{Coeruloplasmin}$$

Ist die Differenz ( $\Delta\text{Cu}$ ) positiv liegt ein Kupferüberschuss im Serum vor. Dieser lässt immer auf einen pathologischen Zustand schließen.

Die derzeit in klinisch-chemischen Laboratorien angewandten Messmethoden für Coeruloplasmin messen von einander zum Teil erheblich abweichende und in der Regel zu niedrige Konzentrationen. Dies hat zur Folge, dass der Cu/Cpl-Quotient in Seren, die in verschiedenen Laboratorien, aber auch in ein und demselben Laboratorium zu verschiedenen Zeiten analysiert wurden, nicht konstant ist und dass der erwartete (biologisch „korrekte“) Wert 6 fast nie erreicht wird. In der folgenden Tabelle sind fünf Beispiele für die Abweichung des Median aller Cu/Cpl-Quotienten von vier verschiedenen Laboratorien (Labor A bis D) und von einem dieser (Labor A) zusätzlich zu verschiedenen Zeitperioden wiedergegeben. Nur eines der Laboratorien (Labor B) traf 1998 den erwarteten Koeffizienten von 6. Aus den Messungen der anderen Laboratorien errechneten sich höhere und von einander abweichend Quotienten.

Labor	Zahl der Cu <sub>und</sub> Cpl-Messungen	Beobachtungsperiode	Median aller Cu/Cpl-Quotienten
A1-S	67	vor Sept. 1997	8,7
A2-S	67	nach Sept. 1997	8,0
B-M	230	1998	6,1
C-A	400	2000/2001	8,8
D-H	242	1998	7,1

**Tabelle 5.2: Die Mediane aller Cu/Cpl-Quotienten (als Äquivalente des Cu/Cpl-Koeffizienten) berechnet aus Cu<sub>und</sub>Cpl-Messungen verschiedener Laboratorien in Deutschland (aus [46])**

Zur Zeit der Untersuchungen, die dieser Arbeit zugrunde liegen, ließen sich – relativ konstant - noch höhere Cu/Cpl-Quotient errechnen, sie lagen im Bereich von 10.

### **5.2.2. Die Verlässlichkeit der $\Delta\text{Cu}$ -Berechnungsmethode**

Ist der Cu/Cpl-Koeffizient oder dessen Äquivalent, der Median der aktuellen Cu/Cpl-Quotienten, bekannt, kann für alle Cu<sub>und</sub>Cpl-Messungen  $\Delta\text{Cu}$  berechnet werden. Überprüft werden kann die Cu-Berechnungsmethode durch die Ermittlung des  $\Delta\text{Cu}$  bei einer größeren Zahl von Messungen:  $\Delta\text{Cu}$  muss im Mittel bei oder nahe 0,0  $\mu\text{mol/l}$  liegen. Ist dies der Fall, kann man die Berechnungen (und die Messungen von Kupfer und Coeruloplasmin) als korrekt ansehen.

In dieser Arbeit liegt das mittlere  $\Delta\text{Cu}$  der Messungen der verschiedenen Untersuchungsserien tatsächlich bei 0,0  $\mu\text{mol/l}$ ; eine Ausnahme machen nur die Messungen bei den kupfersubstituierten Patienten unter und unmittelbar nach der CuSubst.

Vergleiche zwischen  $\Delta\text{Cu}$ -Werten aus verschiedenen Untersuchungsserien aus einem, aber auch aus verschiedenen Laboratorien sind unter der Voraussetzung möglich, dass zu ihrer Berechnung die Formel

$$\Delta\text{Cu} = \text{Cu}_{\text{IST}} - \text{Median der Cu/Cpl-Quotienten} \times \text{Cpl}$$

verwendet wird, weil sich dadurch, dass Cpl sowohl im Zähler als auch im Nenner des Bruches steht, systematische methodische Besonderheiten bei der Cpl-Messung „herauskürzen“.

### **5.3. KRITISCHE BETRACHTUNGEN ZUR PATIENTENAUSWAHL**

Im Dokumentationszentrum ist zwischen 1999 und 2001 eine Methode zur Ermittlung eines Kupferüberschusses (Cu-Überschuss) im Serum (positives  $\Delta\text{Cu}$ ) entwickelt worden [46]. Mit dieser Methode wurden daraufhin die aktuellen Kupfermessungen des Kliniklabors und nachträglich auch alle bereits

gesammelten Messwerte des eigenen und anderer Laboratorien in Deutschland überprüft. Dabei fielen mehrere Seren mit erheblichem Cu-Überschuss auf und es stellte sich heraus, dass einige von Patienten der Abteilung Hämatologie und Onkologie der Kinderklinik stammten. Um diese Befunde systematisch zu überprüfen, wurden im Rahmen dieser Arbeit nach Ursachen für den Cu-Überschuss in den Proben gesucht.

Es zeigte sich, dass einige der auffälligen Messungen von Patienten stammten, die wegen einer schweren Mucositis eine VPE mit einer CuSubst in empfohlenen Mengen erhalten hatten und dass die VPE im Rahmen einer randomisierten, prospektiven Studie („Mucositisstudie“ der Abteilung Hämatologie und Onkologie) durchgeführt worden war [58]. Daraufhin wurden in Zusammenarbeit mit der Abteilung alle Messungen bei den Patienten der Studie in die Untersuchungen dieser Arbeit eingeschlossen und entsprechend ihrer Randomisierung einer („experimentellen“) Hauptgruppe (Messungen bei Patienten mit VPE und CuSubst) und einer Kontrollgruppe (Messungen bei Patienten mit konventioneller Infusionsbehandlung ohne CuSubst) zugeordnet. Die Untersuchungsergebnisse dieses Teils der Arbeit beruhen also auf Messergebnissen aus einer prospektiven randomisierten Studie; sie bilden die Studie A dieser Arbeit.

Ähnlich auffällig waren aber auch die Untersuchungsergebnisse bei anderen nicht in der Mucositisstudie erfassten Patienten. Von diesen waren einige ebenfalls in der Abteilung Hämatologie und Onkologie, andere auf einer der beiden Intensivpflegestationen der Kinderklinik, der Neugeborenenintensivpflegestation (NIPS) und der Pädiatrischen Intensivpflegestation (PIPS), behandelt worden. Auch diese Patienten hatten eine VPE erhalten, allerdings nicht im Rahmen einer Studie. Die CuSubst war jedoch bei diesen Patienten identisch mit derjenigen der Mucositisstudie, so dass diese Messungen ebenfalls in diese Arbeit aufgenommen werden konnten, und zwar die der onkologischen Patienten in einer Studie B („onkologi-

sche, nicht-randomisierte Studie) und die der nicht-onkologischen Patienten in einer Studie C (nicht-onkologische, nicht-randomisierte Studie).

Um auch für diese beiden Studien jeweils eine Kontrollgruppe aufzustellen, wurde im Register des Dokumentationszentrums nach Patienten gesucht, bei denen (a) ebenfalls über längere Zeit Kupfermessungen vorgenommen worden waren, (b) keine CuSubst erfolgt und (c) eine Kupfervergiftung oder –stoffwechselstörung nicht bekannt war. Die für diese Patienten berechneten Ergebnisse beruhen also auf retrospektiven Untersuchungen.

Um einen Einfluss der Patientenauswahl auf die Untersuchungsergebnisse auszuschließen, wurden die prospektiv und die retrospektiv gewonnenen Messdaten sowohl gemeinsam als auch separat analysiert.

Es gibt in dieser Arbeit keine Kontrollgruppe fortlaufender Kupfer- und Coeruloplasminmessungen im Serum gesunder, altersentsprechender Kinder. Eine solche Kontrollgruppe hat sich im Verlauf der Arbeit aber auch für nicht erforderlich herausgestellt. Denn die für diese Arbeit entscheidende Kupfermessgröße, der Kupferüberschuss ( $\Delta\text{Cu}$ ) im Serum, in messbaren Konzentrationen weder bei gesunden, noch bei kranken Menschen vorkommt, es sei denn sie litten unter einer Kupferstoffwechselstörung oder einer exogenen Kupferüberladung. Bezugswert für alle positiven  $\Delta\text{Cu}$ -Werte ist deshalb immer dessen Normwert Null.

Als wichtig erwiesen sich dagegen die individuellen Kontrollmessungen, die bei den kupfersubstituierten Patienten vor Beginn und nach Ende der Substitution erfolgt waren. Durch diese individuellen Kontrollen konnte die Hypercuprämie (mit signifikant hohem  $\Delta\text{Cu}$ ), eindeutig auf die Kupferzufuhr während der VPE zurückgeführt werden.

## **5.4. KRITISCHE BEURTEILUNG DER GEWINNUNG DER BLUTPROBEN**

Es ist für die Deutung der Befunde dieser Arbeit wichtig, auszuschließen, dass der Kupferüberschuss (Nachweis von  $\Delta\text{Cu}$ ) im Serum der kupfersubstituierten Patienten auf eine falsche Probennahme, also auf eine unbeabsichtigte Beimengung von Kupfer zum abgenommenen Blut zurückzuführen ist. Außerdem muss überprüft werden, ob sich  $\Delta\text{Cu}$  möglicherweise nur bei laufender Infusion, also lediglich temporär, nicht jedoch nach Beendigung der Infusion nachweisen lässt. Lassen sich diese beiden Möglichkeiten ausschließen, muss man im Nachweis von  $\Delta\text{Cu}$  bei kupfersubstituierten Patienten einen Hinweis auf eine Überkuperung des Blutes sehen und an eine iatrogene Kupferüberladung des Körpers insgesamt (Kuprismus) denken.

### **5.4.1. Die Methodik der Probennahme**

Die Blutproben wurden über den auch für die VPE verwendeten Hickman-Katheter (einem zentralen Venenkatheter) entnommen, nachdem die Infusion der Nährlösung für mindestens 10 Minuten unterbrochen und der Katheter mit einer Kochsalzlösung durchspült worden war. Eine Kontamination des Blutes mit der Nährlösung konnte deshalb praktisch nicht stattfinden. Hätte eine Kontamination stattgefunden, würde sich diese zudem durch pathologische Elektrolyt- und Glukosewerte zu erkennen gegeben haben.

Durch eine Kontamination der Blutproben mit dem in der Infusionslösung enthaltenen Kupfer während der Blutabnahme kann der hier gefundene Kupferüberschuss im Serum also nicht erklärt werden.

#### **5.4.2. Zeitpunkt der Probennahme**

Die VPE erfolgte kontinuierlich täglich über 24 Stunden. Am Vormittag wurde der Infusionsplan für die folgenden 24 Stunden festgelegt, mit dem Infusionszyklus wurde mittags begonnen. Die Infusionslösungen wurden auf den Intensivpflegestationen und in der Abteilung Hämatologie und Onkologie unterschiedlich zubereitet.

Auf den Intensivpflegestationen wurden die gesamten für jeweils 24 Stunden notwendigen Infusionslösungen zusammen mit allen Zusätzen in einem Infusionsbeutel gemischt zubereitet, dessen Inhalt den Patienten innerhalb von 24 Stunden infundiert wurde. Somit erfolgte die CuSubst während des gesamten Tages. Die Blutabnahmen wurden zumeist zwischen 7:00 und 9:00 h, also während der laufenden CuSubst, vorgenommen.

In der Abteilung Hämatologie und Onkologie erhielten die Patienten die zu infundierende Menge der Nährlösung aus – je nach Körpergewicht des betreffenden Patienten – einer oder mehrerer nacheinander applizierter 500-ml-Infusionen. Die zur Substitution errechnete Tages-Kupfermenge wurde jeweils einer der 500-ml-Infusionen, meistens der ersten des Zyklus, zugegeben; die Substitution geschah hier also diskontinuierlich, beginnend meistens am Mittag. Die Blutentnahmen erfolgten in der Regel vormittags zwischen 8:00 und 9:00 Uhr, selten, meistens zu Nachkontrollen, zwischen 11:00 und 12:00 Uhr. Aus diesen Zeitangaben lässt sich schließen, dass die meisten Blutproben zu einer Tageszeit abgenommen worden sind, während der kein Kupfer infundiert wurde. Eine nachträgliche Überprüfung des genauen Zeitpunktes der Blutabnahmen und der Zeitspanne Kupfersubstitution wurde im Rahmen dieser Arbeit anhand der Infusionsprotokolle versucht, erwies sich aber als nicht für alle Messungen möglich.

Selbst wenn sich als Ergebnis dieser Arbeit lediglich herausgestellt hätte, dass die CuSubst nur zu einer temporären Hypercuprämie geführt hätte, die nur während der Infusion des Kupfers nachweisbar gewesen wäre, hätte dies ein Anlass sein müssen, die Kupferdosis und die Form der Applikation kritisch zu überprüfen. Denn eine infusionsbedingte Hypercuprämie sollte während der Substitution nicht auftreten.

Es gibt jedoch in dieser Arbeit Beobachtungen, die eindeutig gegen eine solche temporäre und ausschließlich infusionssynchrone Erhöhung der Kupferkonzentrationen im Blut der Patienten sprechen:

Bei den meisten Patienten ließ sich die Hypercuprämie erst einige Tage nach Beginn der Kupferinfusionen beobachten. Wäre die Infusion unmittelbar für die Erhöhung verantwortlich gewesen, hätte die Erhöhung mit Beginn der Infusionsbehandlung auftreten müssen.

Außerdem überdauerte bei den meisten Patienten die Hypercuprämie das Ende der CuSubst um mehrere Tage. Entsprechend dem hier diskutierten Einwand hätte die Hypercuprämie mit dem Ende der Infusionsbehandlung verschwinden müssen.

Diese Befunde schließen auch die in Kapitel 5.4.2 diskutierten Blutabnahmebedingten Artefakte aus.

Beide Beobachtungen sprechen vielmehr dafür, dass die hier erfolgte CuSubst (intravenöse Zufuhr) zunächst vom Körper „kompensiert“ werden konnte (vor allem wohl durch Kupferspeicherung oder -ablagerung) und dass der unter längerer CuSubst sich entwickelnde Cu-Überschuss im Blut nach Ende der Substitution nicht sofort, sondern erst nach Tagen bis Wochen wieder beseitigt werden konnte (durch Umverteilung oder Ausscheidung des Kupfers).

## **5.5. STÖRFAKTOREN, WELCHE DIE MESSUNGEN UND BERECHNUNGEN BEEINFLUSSEN KÖNNEN**

Bei der Messung der CuKonz wird das gesamte Kupfer im Serum, nicht aber das der Blutzellen gemessen, die ebenfalls Cu enthalten. Bei einem Zerfall der Blutzellen vor deren Trennung vom Serum gelangt deshalb obligat das Kupfer der Zellen ins Serum und wird bei der Cu-Messung mit erfasst. Bei der Berechnung des Cu/Cpl-Quotienten ergeben sich dann zu hohe Werte (siehe unten unter „Hämolyse“).

Einige Messmethoden des Cpl erfassen neben dem Holocoeruloplasmin, dem sechs Kupferatome enthaltenden Cpl, auch das Apocoeruloplasmin, die nicht (komplett) mit Cu beladene Vorstufe des Cpl. Apocoeruloplasmin kommt in den Leberzellen vor. Ins Blut gelangt es natürlicherweise - wenn überhaupt - nur in sehr geringen Mengen. Es kann aber z.B. bei einem Leberzellzerfall in größeren Mengen ins Blut gelangen. Dann würde sich bei einer  $Cu_{und}Cpl$ -Messung mit Berechnung des Cu/Cpl-Quotienten wegen des zu hohen Cpl-Messwertes ein zu niedriger Cu/Cpl-Quotient und folglich ein negativer  $\Delta Cu$ -Wert ergeben, also das Gegenteil der Befunde dieser Arbeit.

Immer wieder vorkommen können dagegen fehlerhafte Kupfermessungen (mit Erhöhung des  $\Delta Cu$ ) bei Hämolysen. Ihre Entstehung wird im folgenden Kapitel besprochen.

### **5.5.1. Hämolyse**

Eine zur Erhöhung der Cu-Werte führende Hämolyse kann in vivo (im Patienten) oder in vitro (in der Blutprobe) stattfinden. Bei der Hämolyse gelangt aus zerstörten Erythrozyten das Cuproprotein Superoxiddismutase ins Serum. Bei einer Cu-Messung im Serum werden dann beide Fraktionen, das „eigentliche“ Serum-Cu und das Cu der Superoxiddismutase, erfasst und ein erhöhtes Gesamt-Cu gemessen. Da sich die CplKonz bei einer Hämolyse nicht ändert, wird bei der Berechnung des Cu/Cpl-Quotienten ein zu hoher Wert und bei der Berechnung des  $\Delta Cu$  ein positiver Wert errechnet. Auf diese Weise kann eine „echte“ Hypercuprämie vorgetäuscht werden.

Für eine in-vivo-Hämolyse ließ sich bei den in dieser Arbeit untersuchten Patienten durch die übrigen Laboruntersuchungen kein Hinweis finden. Nach diesen wurde insbesondere auch deshalb gesucht, weil bekannt ist, dass die schwere akute Kupfervergiftung mit einer Hämolyse einhergeht.

Eine in vitro-Hämolyse tritt nicht selten dann auf, wenn die Blutabnahme z.B. durch zu enge Kanülen oder mit zu großem Sog erfolgt. Auch dabei gelangt

die Superoxiddismutase der Erythrozyten ins Serum und ihr Kupfer wird bei der Analyse als „Serum-Cu“ mitgemessen. Dieser Prozess geht im Allgemeinen auch mit einer Erhöhung der Kaliumkonzentration und einer Rotfärbung des Serums einher. Wird dies im Labor bemerkt, wird dies in der Regel auf dem Befundblatt der Messergebnisse mitgeteilt. Bei den für diese Arbeit verwendeten Messungen konnten keine entsprechenden Hinweise gefunden werden.

Trotzdem könnten in einzelnen Blutproben dieser Arbeit unerkannt hämolysebedingt erhöhte Kupferkonzentrationen vorgekommen sein. Für die überwiegende Mehrheit der Proben ist dies aber wohl auszuschließen. Wenn die Ergebnisse (positives  $\Delta\text{Cu}$ ) jedoch durch Hämolysen beeinflusst worden wären, hätte dies – unabhängig von der CuSubst – sowohl in den experimentellen als auch in den Kontrollgruppen stattfinden müssen.  $\Delta\text{Cu}$  wurde jedoch nur in den Seren der Patienten während der CuSubst gefunden. Für die Erhöhung der Cu-Messwerte bei den kupfersubstituierten Patienten können Hämolysen also nicht verantwortlich sein.

### **5.5.2. Wechsel der Analysemethoden des Labors**

Die Berechnung des Kupferüberschusses nach der in dieser Arbeit angewandten Methode setzt die Kenntnis des Cu/Cpl-Koeffizienten bzw. dessen Äquivalent, des empirisch gefundenen „aktuellen Medians der Cu/Cpl-Quotienten“, voraus. Dieser muss - nach Möglichkeit täglich – immer wieder neu berechnet werden, damit die  $\Delta\text{Cu}$ -Berechnung mit dem jeweils „aktuellen“ Cu/Cpl-Quotienten erfolgen kann.

Im Laufe der Mucositisstudie (Studie A) dieser Arbeit fand (am 22.1.1999) mit dem Wechsel des Laboratoriums auch ein Wechsel der Cpl-Messmethode statt (siehe Kapitel 3.4), in dessen Folge die Messwerte des Cpl um ca. 20% gefallen sind. Entsprechend wurden systematisch höhere Cu/Cpl-Quotienten und zu hohe  $\text{Cu}_{\text{SOLL}}$ -Werte und deshalb (bei unveränderter Cu-Messung) falsch positive  $\Delta\text{Cu}$ -Werte errechnet. Dies wurde jedoch wenige Tage nach dem Wechsel bemerkt und korrigiert. Die Untersuchungsergebnisse dieser Arbeit wurden dadurch nicht beeinflusst.

### **5.5.3. Fehler bei der Ermittlung des aktuellen Cu/Cpl-Koeffizienten**

Als Äquivalent des „aktuellen“ Cu/Cpl-Koeffizienten wird bei den Berechnungen des  $\Delta\text{Cu}$  nach der Methode dieser Arbeit der Median aller Cu/Cpl-Quotienten des U-Tages verwendet. Dieses methodische Vorgehen kann ausnahmsweise fehlerhaft sein. Wenn nämlich an einem U-Tag bei der Mehrzahl der untersuchten Patienten Kupferstoffwechselstörungen mit echter Hypercuprämie vorliegen (eine sehr seltene Konstellation), errechnen sich für alle Cu/Cpl-Quotienten des Tages ein erhöhter Median und folglich für die Messungen bei den Patienten ohne Hypercuprämie möglicherweise negative  $\Delta\text{Cu}$ -Werte. In einer solchen Situation kann man die Mediane aller Cu/Cpl-Quotienten der Untersuchungswoche oder größerer Zeitspannen ermitteln. Dabei werden die  $\text{Cu}_{\text{undCpl}}$ -Messungen der hypercuprämischen Seren zur Minderheit, so dass der Median aller Cu/Cpl-Quotienten wieder den für das Labor aktuellen Cu/Cpl-Koeffizient repräsentiert. Als nachteilig bei dieser „Korrektur“ kann es sich erweisen, dass sich innerhalb größerer Zeitspannen die Messbedingungen für das Cpl ändern und dadurch systematische Abweichungen der CplKonz unbemerkt bleiben.

Hinweisend auf solche Unstimmigkeiten sind negative  $\Delta\text{Cu}$ -Werte, wenn sie in einem Datensatz in größerer Zahl errechnen lassen. Denn ein negatives  $\Delta\text{Cu}$  kann es in natura nicht geben – die Konzentration eines Stoffes im Serum kann nie unter Null liegen.

Es sei hier vermerkt, dass in dieser Arbeit für die graphischen Darstellungen und für die statistischen Analysen nur die  $\Delta\text{Cu}_{\text{Tages}}$ -Werte berücksichtigt wurden, so dass das Risiko einer fehlerhaften Berechnung für alle  $\Delta\text{Cu}$ -Werte dieser Arbeit gleich groß war.

In der folgenden Tabelle ist ein Beispiel für eine solche fehlerhafte Berechnung der  $\Delta\text{Cu}_{\text{Tages}}$ -Werte, die durch die Berechnung der  $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$ -Werte erkennbar wurde, wiedergegeben.

U-Datum	S-Cu	S-Cu	Cpl	Cpl	CCQ	$\Delta\text{Cu}_{\text{Tag}}$	$\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$
Subst-Tag	$\mu\text{g/dl}$	$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{g/dl}$	$\mu\text{mol/l}$		$\mu\text{mol/l}$	$\mu\text{mol/l}$
Untersuchungen während der Kupfersubstitution							
17.11 (3+)	164	25,8	26,1	2,0	13,1	-2,0	-2,3
18.11. (4+)	182	28,7	20,4	1,6	18,5	-2,0	4,5
20.11 (6+)	196	30,9	19,9	1,5	20,5	0,0	7,0
21.11.(7+)	198	31,2	21,0	1,6	19,6	-1,4	6,0
Untersuchungen nach der Kupfersubstitution							
13.12. (21-)	120	18,9	26,2	2,0	9,5	-2,4	-3,1
16.12. (24-)	182	28,7	32,5	2,5	11,6	0,0	0,8
17.12. (25-)	153	24,1	28,4	2,2	11,2	0,5	0,1
20.12. (28-)	153	24,1	27,8	2,1	11,4	0,0	0,4

**Tabelle 5.3: Beispiel fehlerhafte Berechnung**

Der Patient (#37), dessen Daten hier wiedergegeben sind, wurde achtmal untersucht, viermal während der CuSubst (an den Tagen 3+, 4+, 6+ und 7+ der Behandlung) und viermal nach Ende der Substitution (an den Tagen 21-, 24-, 25- und 28-). Die CuSubst erfolgte mit mittleren Cu-Dosen (zunächst mit 16,0 bzw. 16,2, dann mit 14,4 bzw. 14,5  $\mu\text{g/kgKG/d}$ ). Während der CuSubst stieg die CuKonz an, von 164 über 182 und 196 auf 198  $\mu\text{g/dl}$  (25,8; 28,7; 30,9 und 31,2  $\mu\text{mol/l}$ ); die CplKonz zeigten dagegen keine Änderung, sie lagen bei 26,1; 20,4; 19,9 und 21,0  $\text{mg/dl}$  (2,0; 1,6; 1,5 und 1,6  $\mu\text{mol/l}$ ). Die Cu/Cpl-Quotienten erhöhten sich dementsprechend von 13,1 über 18,5 auf 20,5 und 19,6. Anhand dieser Wertekonstellation, würde man einen deutlichen Anstieg auch des  $\Delta\text{Cu}$  erwarten. Für die  $\Delta\text{Cu}_{\text{Tag}}$ -Konz errechnen sich jedoch dreimal negative Werte und einmal der Wert Null. Für die  $\Delta\text{Cu}_{\text{Mitte}}$ -Konz errechnen sich dagegen unter der CuSubst ansteigende Werte von -2,3

bis 7,0  $\mu\text{mol/l}$  und in der anschließenden Periode ohne CuSubst Werte, die wiederum um Null schwanken: -3,1 bis 0,8  $\mu\text{mol/l}$ . Ebenso verhielten die (in der Tabelle nicht angegebenen)  $\Delta\text{Cu}$ -Wochen-, -Monats- und -Quartals-Werte.

---

## **5.6. DIE ABGRENZUNG DER PSEUDOHYPERCUPRÄMIE VON DER „ECHTEN“ HYPERCUPRÄMIE**

Weil normalerweise nahezu das gesamte Serum-Cu CplCu ist, kann die Messung der S-CuKonz allein keine verlässliche Auskunft geben über den Kupferstatus eines Patienten. Außer bei Patienten mit einer Störung im Kupferstoffwechsel bestimmt allein die CplKonz den Cu-Gehalt eines Serums. So werden bei Patienten mit malignen Erkrankungen in der akuten Phase ihrer Grundkrankheit oder bei interkurrenten Infektionen häufig hohe CplKonz gemessen, die obligat auch zu hohen S-CuKonz führen. Die Bestimmung des als „Tumormarker“ angesehenen S-Cu ist demnach fast immer nichts anderes als eine indirekte Cpl-Messung.

Auch ist es nicht korrekt oder zumindest irreführend, bei den Erkrankungen von einer Hypercuprämie zu sprechen, denn dieser Form der Hypercuprämie liegt immer eine Hypercoeruloplasminämie zugrunde und die hohen CuKonz repräsentieren lediglich einen Zustand, den man korrekt mit „Pseudohypercuprämie durch eine Hypercoeruloplasminämie“ bezeichnen müsste. Ein wirklicher Kupferüberschuss lässt sich mit den Nachweismethoden der klinisch-chemischen Laboratorien direkt gar nicht nachweisen. Diese Zusammenhänge sollen im Folgenden anhand der Messwerte eines Patienten dieser Arbeit deutlich gemacht werden.

Aus einer größeren Zahl von Messungen bei diesem Patienten sind hier (siehe Tabelle 5.3 auf der folgenden Seite) vier Messungen wiedergegeben, die in verschiedenen Phasen der Erkrankung des Patienten durchgeführt wurden.

U-Datum	Cu-Subst	S-Kupfer		Cpl-Konz		Cu/Cpl-Quotient	$\Delta$ Cu Konz	$\Delta$ Cu in % des S-Cu
		$\mu$ g/dl	$\mu$ mol/l	$\mu$ g/dl	$\mu$ mol/l			
27.08.99	nein	225	35,4	37,7	2,9	12,4	1,4	4
16.11.99	nein	125	19,7	17,2	1,3	14,6	0,0	0
28.02.00	ja	222	34,9	22,7	1,7	20,3	13,9	40
14.08.00	nein	144	22,7	29,1	2,2	10,3	-0,5	0

**Tabelle 5.4: Die Kupfermessgrößen bei einem Patienten mit einer malignen Erkrankung vor Beginn (27.8.99) und (16.11.99) während der Chemotherapie, sowie (28.2.00) unter und (14.8.00) 164 Tage nach Ende einer VPE mit CuSubstLegende: siehe Text unten**

In der Tabelle repräsentiert die erste Messung (in Zeile 1) den „Kupferstatus“ des Patienten kurz nachdem die Diagnose gestellt wurde, aber noch keine Behandlung eingeleitet worden war: hohes S-Cu („Tumormaker“) und Cpl, Cu/Cpl-Quotient 12,4. Dabei ließ sich aus dieser Konstellation  $\Delta$ Cu nur in geringer Konz berechnen: 1,4  $\mu$ mol/l entsprechen lediglich 4% des gesamten S-Cu.

Nach dreimonatiger Chemotherapie (Zeile 2) sind die Konzentrationen von Cu und Cpl auf fast die Hälfte des Ausgangswertes gefallen, der Cu/Cpl-Quotient ist nahezu unverändert geblieben;  $\Delta$ Cu ist nicht nachzuweisen (0,0  $\mu$ mol/l).

Unter einer VPE mit CuSubst (16  $\mu$ g/kgKG/d) wegen einer schweren Mucositis (Zeile 3) kommt es dann zu einem deutlichen Anstieg des CuKonz bei nur schwachem Anstieg des Cpl, so dass sich jetzt ein stark erhöhter Cu/Cpl-Quotient errechnet.  $\Delta$ Cu ist jetzt eindeutig (13,9  $\mu$ mol/l oder 40% des gesamten S-Cu) nachweisen.

Bei einer Untersuchung nach Ende der CuSubst (Zeile 4) werden normale Cu- und CplKonz gefunden;  $\Delta$ Cu liegt wieder nahe 0,0.

Im Verlauf der Erkrankung dieses Patienten ist demnach zweimal eine Hypercuprämie aufgetreten, die erste im akuten Initialstadium der Erkrankung, die zweite während der später aufgetretenen schweren Mukositis, die eine VPE (mit CuSubst) erforderlich machte. Im Gegensatz zur Hypercuprämie im Frühstadium der Erkrankung (Zeile 1), bei der es sich um eine Pseudohypercuprämie handelte (kein  $\Delta\text{Cu}$  nachweisbar), handelte es sich bei der Hypercuprämie unter der VPE mit CuSubst (Zeile 3) um eine „echte“ Hypercuprämie (mit nachweisbarem  $\Delta\text{Cu}$ ).

### **5.7. DIE INTERPRETATION DER MESSERGEBNISSE**

In dieser Arbeit ergeben die Berechnungen des  $\Delta\text{Cu}$  in Seren, die während der CuSubst-Phase gewonnen wurden, im Mittel eine  $\Delta\text{CuKonz}$  von 7,6  $\mu\text{mol/l}$ . Ordnet man die Messungen jeweils der frühen und der späten Substitutionsphase zu ergeben sich mittlere  $\Delta\text{CuKonz}$  von 4,9  $\mu\text{mol/l}$  für frühe und 11,7  $\mu\text{mol/l}$  für die späte CuSubst-Phase. Diesen positiven Werten stehen die mittleren  $\Delta\text{CuKonz}$  von 0,0  $\mu\text{mol/l}$  in den Seren der Patienten der Kontrollgruppe, die keine CuSubst erhielten, aber auch die der CuSubst-Gruppe vor Beginn der CuSubst.

Die Ergebnisse zeigen an, dass 1. das Serum des Menschen (normalerweise) kein Nicht-CpICu enthält ( $\Delta\text{Cu} = \text{Null}$ ), das 2. während einer CuSubst Nicht-CpICu messbar wird ( $\Delta\text{Cu} > \text{Null}$ , hier 7,6  $\mu\text{mol/l}$ ) und dass 3. bei längerer CuSubst die Nicht-CpICuKonz ansteigt (hier: von 4,9  $\mu\text{mol/l}$  am 1. bis 7. Tag auf 11,7 ab dem 8. Tag der CuSubst). Auch erwies sich der Anstieg dosisabhängig.

Nach Ende der Subst fielen die Nicht-CpICuKonz wieder ab und erreichten in der Spätphase (nach dem 8 Tage) nach Substitutionsende Werte nahe Null (im Mittel 0,5  $\mu\text{mol/l}$ ). In der Frühphase (Tag 1 bis 7) dagegen ließ sich Nicht-CpICu nachweisen ( $\Delta\text{Cu}$  im Mittel: 3,1  $\mu\text{mol/l}$ ).

Die CuSubst bei VPE führt demnach zu einer Hypercuprämie, die nicht nur während der CuSubst auftritt, sondern diese auch noch überdauert. Diese „echte“ Hypercuprämie (mit durch  $\Delta\text{Cu}$  nachweisbarem Nicht-CplCu) ist als ein pathologischer Zustand anzusehen. Die hier in zahlreichen Seren gemessenen  $\Delta\text{CuKonz}$  liegen in dem Bereich, den Scheinberg und Sternlieb [7, 56] zu einer Zeit, als man noch angenommen hat, dass Nicht-CplCu natürlicherweise im Serum vorkäme, als pathologisch bezeichnet haben. Nachdem jetzt, aufgrund neuerer Untersuchungen messbare Nicht-CplCuKonz generell als pathologisch angesehen werden müssen, muss aus den Ergebnissen dieser Arbeit schließen, dass die CuSubst in der hier angewandten Form, den Organismus in einen pathologischen Zustand versetzt, die einer Vergiftung entspricht.

## **5.8. STATISTISCHE SIGNIFIKANZ UND PLAUSIBILITÄT DER ERGEBNISSE**

### ***5.8.1. Testung auf Signifikanz***

In den einzelnen Untergruppen des Hauptkollektivs (mit CuSubst) und dem Kontrollkollektiv (ohne CuSubst) wurden jeweils die Maxima und die Mittelwerte der  $\Delta\text{Cu}$ -Abweichungen auf Signifikanz geprüft. Im Fall der Subkollektive mit Messungen vor der CuSubst (Untergruppen: 1.1, 2.1, 3.1 und 4.1) und der Subkollektive mit Messungen  $\geq 10$  Tage nach CuSubst (Untergruppen: 1.3.2, 2.3.2, 3.3.2 und 4.3.2) war eine statistische Gleichheit zu erwarten. Bei Analyse der Messungen unter CuSubst (Untergruppen: 1.2, 2.2, 3.2 und 4.2), sowie bei denjenigen der Messungen  $< 10$  Tage nach Ende der CuSubst (Untergruppen: 1.3.1, 2.3.1, 3.3.1 und 4.3.1) wurde statistisch signifikante Unterschiede erwartet. Im Fall der Untergruppe 1.3.1 wurden die Erwartungen sowohl im Bereich der Maxima als auch in Bezug auf die Mittelwerte bestätigt. Weiterhin trafen die Erwartungen für die Untergruppen 3.3.1 und 4.3.1 hinsichtlich der Maxima zu. Für die anderen Gruppen war dies jedoch nicht der Fall. Dies lässt sich wahrscheinlich auf folgende Gegebenheiten zurückführen:

- **Spannweite der  $\Delta\text{Cu}$  -Werte**

Betrachtet man die Spannweite der gemittelten Maxima und Mittelwerte der  $\Delta\text{Cu}$ -Werte innerhalb der Untergruppen der Hauptgruppe bzw. innerhalb der Kontrollgruppe, so fällt die große Streuung der Stichprobenverteilung auf. Ausgedrückt in Vielfachen der Standardabweichung bewegen sich diese Werte zwischen dem 1,8-fachen (Maxima der Untergruppe 3.3.1.) bis 4,5-fachen (Mittelwerte der Kontrollgruppe) der Standardabweichung, wobei von den betrachteten 42 o. g. Werten 12 um mindestens das 3-fache der Standardabweichung schwanken. Die Ursachen für die Größe der Spannweite lässt sich mit letzter Sicherheit nicht feststellen, allerdings dürfte dieses Phänomen auch im

Rahmen von weiteren Studien mit höheren Fallzahlen und homogenerer Datenerhebung zu klären sein.

Diese Spannbreite ist Ausdruck der Heterogenität des Datenpools, die nicht einer statistischen Normalverteilung entspricht, wodurch eine statistische Aufarbeitung nicht aussagekräftig erscheint.

- **Anzahl der  $\Delta\text{Cu}$ -Werte**

Die betrachteten  $\Delta\text{Cu}$  -Werte für den Vergleich zwischen den Untergruppen der Hauptgruppe mit der Kontrollgruppe wurden aus den jeweiligen Mittelwerten der  $\Delta\text{Cu}$  -Werte errechnet. Da keine standardisierte Anzahl von Kupfer- und Coeruloplasmin-Bestimmungen für jeden einzelnen Patienten durchgeführt werden konnte, schwanken die verglichenen Werte stark in ihrer statistischen Qualität: Bei der Ermittlung der Maxima und der Mittelwerte jedes einzelnen Patienten variierte die Anzahl der einfließenden Bestimmungen zwischen 1 und 69 pro Patient. Daher sind keine optimalen Ergebnisse in der statistischen Auswertung zu erwarten.

### **5.8.2. Die Plausibilität der Ergebnisse**

Die Untersuchungsergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die CuSubst bei VPE in der empfohlenen Dosierung zu einer (echten) Hypercuprämie ( $\Delta\text{Cu} > \text{Null}$ ) führen kann. Diese Entdeckung kam unerwartet und bedarf einer Erklärung.

Die Messmethode zur Berechnung des  $\Delta\text{Cu}$  wurde im Dokumentationszentrum entwickelt und in mehreren Studien anhand eigener und publizierter Messdaten anderer Untersucher auf Anwendbarkeit und Verlässlichkeit überprüft [19, 46]. Die Messungen dieser Arbeit wurden in einer prospektiven, randomisierten Studie und in zwei retrospektiven, nicht randomisierten Studien gewonnen und die Ergebnisse ließen sich statistisch sichern. Ein methodischer Fehler als Erklärung für die Untersuchungsergebnisse kann deshalb ausgeschlossen werden.

Die Dosierung der hier angewandten CuSubst entspricht den internationalen Dosierungsempfehlungen. Diese Empfehlungen berücksichtigen jedoch nicht einen möglicherweise unterschiedlichen Kupferbedarf bei akut und chronisch erkrankten Kindern. Denkbar wäre es, dass krankheitsbedingt der CuBedarf der in dieser Arbeit untersuchten Kinder vermindert war. Die schwere Grunderkrankung, die intensive Chemotherapie und die interkurrenten Infektionen könnten zum einen das Körperwachstum und damit den wachstumsbedingten CuBedarf der Kinder vermindert und zum anderen auch durch eine Beeinträchtigung der Leberfunktionen deren CuAusscheidungskapazität herabgesetzt haben. Die empfohlenen Dosierungen, die primär sicherlich für Kinder festgelegt wurden, bei denen ein normales Wachstum und eine normale Leberfunktion vorausgesetzt wurden, wären dann für die Mehrzahl der in dieser Arbeit untersuchten Kinder als zu hoch anzusehen.

Andererseits besteht zumindest theoretisch auch die Möglichkeit, dass während der akuten Krankheitsphase der Kupferbedarf des Körpers ansteigt.

Dem o.g. geringeren Kupferbedarf stünde dann ein akuter Kupfermehrbedarf gegenüber.

Unter Berücksichtigung dieser – hypothetisch - den Kupferbedarf beeinflussender Faktoren würde die in dieser Arbeit gefundene Überkupferung für ein Überwiegen der den Bedarf mindernden Faktoren sprechen.

Das Ergebnis dieser Arbeit könnte aber auch auf ein ganz anderes Problem der CuSubst bei VPE hinweisen, nämlich auf die atypische Kupferzufuhr. Bei der VPE wird das Kupfer „jenseits“ der Leber in die Blutbahn infundiert, so dass es – anders als bei der regulären gastroenteralen Aufnahme – zunächst nicht in die Leber gelangt und deshalb nicht sofort in den Kupferstoffwechsel eingeschleust werden kann. Das infundierte Kupfer gelangt vielmehr – bedingt durch die „Umgehung“ der Leber – als „freies“ Kupfer (und nicht wie natürlicherweise als CplCu) an alle Körperzellen. Wie man an der Hypercuprämie erkennt, wird die gesamte infundierte CuMenge von den Körperzellen jedoch nicht (oder nicht sofort) aufgenommen. Ein Teil des Kupfers bleibt vielmehr im Blut. In die Leber gelangt dieses Kupfer nur indirekt mit dem Blut, das „zufällig“ in die Leberarterie oder die Pfortader gelangt. Auf diese Weise wird möglicherweise die Leber in der Regulation des Kupferstoffwechsels während der CuSubst bei VPE erheblich behindert, so dass zu einer Kupferakkumulation im Körper kommen kann.

#### **5.8.2.1. Ergebnisse anderer Studien**

Lockitch et al [37] beobachteten in einer Longitudinalstudie 105 Neugeborene mit einem Geburtsgewicht von maximal 2000 g vor und unter (peripherer) VPE mit Kupfer- und Zinksubstitution in Zeitabschnitten von drei bis sieben Wochen. Die Kinder erhielten entweder 20 oder 40  $\mu\text{gCu/kgKG/d}$ . An bestimmten Untersuchungstagen, die jeweils einer der 7 Untersuchungswochen zugeordnet wurden, erfolgte die Bestimmung von Cu und Cpl im Serum. Es handelte sich nicht bei allen Untersuchungen um Cu<sub>und</sub>Cpl-Messungen im

Sinne dieser Arbeit. Trotzdem werden hier die Daten der Studie zum Vergleich mit den Daten dieser Arbeit analysiert.

Die Autoren haben aus ihren Daten keinen Einfluss der VPE mit CuSubst auf die Cu- oder Cpl-Konz im Serum ableiten können. Wenn man jedoch entsprechend der Methodik dieser Arbeit den Cu/Cpl-Quotienten der Vorbehandlungswoche, der sich mit 7,2 berechnet, als für alle Messungen der Studie gültigen Cu/Cpl-Koeffizienten betrachtet, errechnen sich für alle Behandlungswochen (Wochen 2 bis 7) positive  $\Delta\text{Cu}$ -Werte, also eine unter der CuSubst nachweisbare Hypercuprämie.

Shike et al. [60] haben die Kupferbilanz bei Patienten mit gastrointestinalen Erkrankungen unter VPE untersucht. 24 Patienten erhielten in drei jeweils dreiwöchigen Untersuchungsperioden täglich 0,25, 1,05 oder 1,85 mgCu/d. Aus den Angaben der Autoren lässt sich für die Patienten ein mittleres Körpergewicht von 55,8 kg errechnen. Demnach haben die Patienten in den drei Gruppen durchschnittlich 4,5, 18,8 und 33,2  $\mu\text{gCu/kgKG/d}$  erhalten.

Die Cu-Bilanzen (errechnet als die Differenz zwischen der Cu-Zufuhr über die Infusion und der Cu-Ausscheidung mit den Fäzes) waren positiv in den Patientengruppen, die 18,8 oder 33,2  $\mu\text{gCu/kgKG/d}$  erhielten.

Howard et al. [27] haben die Spurenelementkonzentrationen in autopsisch gewonnenem Gewebe (Herz, Skelettmuskel, Leber und Niere) von acht Verstorbenen untersucht, die wegen eines Kurzdarmsyndroms über lange Zeit Heim-VPE erhalten hatten. Die Autoren verglichen die Konzentrationen mit denen von 45 Verstorbenen, die nicht unter chronischen gastrointestinalen Erkrankungen litten und keine PE erhalten hatten. Keine Abweichungen der Spurenelementkonzentrationen in den Organen fanden die Autoren bei Eisen und Selen, eine geringe Erhöhung beim Zink und eine starke Erhöhungen bei Kupfer, Mangan und Chrom. Die CuKonz in der Leber lag bei vier der acht Patienten zwischen 200 und 700  $\mu\text{g/kg}$ , bei den Kontrollpatienten dagegen um 20  $\mu\text{g/kg}$  Lebertrockengewicht.

Die hier angeführten Beobachtungen weisen daraufhin, dass auch frühere Untersuchungen bereits eine Überkuperung durch die CuSubst bei VPE erkennen lassen, und zwar nicht nur bei Kindern und nicht nur bei akut erkrankten Patienten.

## **5.9. AKTUELLE STUDIENLAGE**

### **5.9.1. *Empfehlungen zur Substitutionsdosis des Kupfers bei VPE***

#### **5.9.1.1. Tatsächlich gegebene Dosen im Vergleich zur offiziell empfohlenen Dosierung**

Die offiziellen Dosierungsempfehlungen der Gesellschaften für Ernährungsmedizin (ESPGHAN, ESPEN, ASCN, DGEM) liegen für die CuSubst bei einer VPE für Säuglinge und ältere Kinder übereinstimmend bei  $20 \mu\text{gCu/kgKG/d}$  [5, 18, 31].

Abweichende Empfehlungen gibt es

1. für VLBW-Frühgeborene und
2. für Kinder mit einem KG  $>15$  kg.

Für VLBW-Frühgeborene ohne Cholestase empfiehlt die ASCN eine Cu-Substitutionsdosis von  $40 \mu\text{g/kgKG/d}$ .

Für Kinder mit  $>15$  kgKG empfiehlt die DGEM eine Begrenzung der Cu-Dosis auf  $300 \mu\text{g/d}$  (absolut). Diese Dosis erreichen Kinder mit einem KG von 15 kg mit der Zufuhr von  $20 \mu\text{gCu/kgKG/d}$ , Kinder mit höherem KG erhalten durch die Begrenzung weniger.

Die in dieser Arbeit beobachteten Patienten erhielten das Kupfer entweder mit dem Spurenelementpräparat „Peditrace“ oder mit dem Präparat „Inzolen infantibus“ (siehe Kapitel 2.7.5.).

Der Hersteller des Präparates Peditrace (mit  $20 \mu\text{gCu/ml}$ ) empfiehlt für Kinder bis zu 15 kgKG die Gabe von  $1 \text{ ml/kgKG/d}$  und somit exakt die oben genannten  $20 \mu\text{g/kgKG/d}$ . Eine Limitierung der Dosis bei älteren (schwereren)

Kindern (siehe oben die Empfehlung der DGEM) wird vom Hersteller ebenfalls empfohlen. Eine Erhöhung der Dosis bei VLBW-Frühgeborenen ohne Cholestase (siehe oben die Empfehlung der ASCN) empfiehlt der Hersteller dagegen nicht.

Der Hersteller des Präparates Inzolen infantibus (mit 32  $\mu\text{gCu/ml}$ ) empfiehlt die Gabe von 0,5 bis 1,0 ml/kgKG/d (16 – 32  $\mu\text{gCu/kgKG/d}$ ) mit einer Steigerung bis zu 3 ml/kgKG/d (96  $\mu\text{gCu/kgKG/d}$ ) bei erhöhtem Bedarf.

Um die von den Gesellschaften für Ernährungsmedizin empfohlene CuDosis von 20  $\mu\text{g/kgKG/d}$  zu erreichen, müssen vom Inzolen 0,625 ml/kgKG/d gegeben werden.

Eine Limitierung der Dosis bei älteren (schwereren) Kindern wird vom Hersteller nicht explizit empfohlen. Mit der vom Hersteller genannten Minimaldosis (0,5 ml/kgKG/d) können Kinder mit 19 kgKG noch empfehlungsgerecht substituiert werden, bei schwereren Kindern muss die Minimaldosis unterschritten, also weniger als 0,5 ml/kgKG/d gegeben werden.

Um die für die CuSubst von VLBW-Frühgeborenen ohne Cholestase empfohlene Dosis von 40  $\mu\text{g/kgKG/d}$  zu erreichen, muss das Präparat in einer Dosis von 1,25 ml/kgKG/d gegeben werden.

Anhand der Verordnungen (Eintragungen in den Verordnungsbögen in den Krankenakten der Patienten) konnten in dieser Arbeit für alle Patienten die tatsächlich applizierten Cu-Dosen errechnet und mit den empfohlenen Dosen verglichen werden.

Von den 19 Cu-substituierten Patienten (Hauptkollektiv) erhielten (s. auch Tab. 3.2)

- 15 Patienten im Mittel weniger als die empfohlenen 20  $\mu\text{gCu/kgKG/d}$ : ihre CuSubst lag zwischen 19,5 und 94% der empfohlenen Dosis.
- Zwei der Patienten erhielten im Mittel 20,6 bzw. 22,5  $\mu\text{gCu/kgKG/d}$ ; ihre Cu-Dosen lagen somit um 3 bzw. 22% über der empfohlenen Dosis.

- Zwei Patienten, VLBW-Frühgeborene, erhielten im Mittel 25,0 bzw. 20,8  $\mu\text{gCu/kgKG/d}$ . Diese Dosen überschreiten die empfohlenen 20  $\mu\text{gCu/kgKG/d}$ , sie liegen aber unter der von der ASCN empfohlenen Dosis für VLBW-Frühgeborene von 40  $\mu\text{gCu/kgKG/d}$  (s.o.).

Insgesamt ließ sich also anhand der Nachberechnungen feststellen, dass die Cu-substituierten Patienten dieser Arbeit (mit einer Ausnahme: plus 22%, s.o.) keine Cu-Substitutionsdosen erhalten haben, die über den zur Zeit empfohlenen Cu-Dosen liegen. Trotzdem hat sich bei den Patienten die Hypercuprämie entwickelt.

### **5.9.2. VPE-induzierte Hepatopathie**

Diese Hepatopathie ist eine häufige Komplikation der VPE. Sie entwickelt sich vor allem bei Patienten mit Langzeit-VPE, Frühgeburtlichkeit und Kurzdarmsyndrom. Ihre Pathogenese ist bisher nicht geklärt; es sind lediglich verschiedene Risikofaktoren bekannt.

Da sich bei der VPE, wie die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, eine Hypercuprämie entwickelt, die auch typisch ist für die mit einer Hepatopathie einhergehende chronische Kupfervergiftung, könnte man vermuten, dass die VPE-induzierte Hepatopathie mit der Überkupferung in Verbindung steht. Die Beobachtung, dass die VPE-induzierte Hepatopathie bereits in den Jahren beobachtet wurde, als die CuSubst bei der VPE noch nicht obligat eingeführt worden war, spricht allerdings gegen Kupfer als den die Hepatopathie bei VPE auslösenden Faktor. Die häufig bei der VPE auftretende Cholestase könnte jedoch die Kupferausscheidungskapazität herabsetzen und zu einer Verstärkung der Überkupferung des Körpers führen. Für diese Hypothese spricht die Beobachtung, dass der Kupfergehalt der Leber bei der Hepatopathie mit dem Schweregrad der Cholestase korreliert [6, 71].

Da die Akkumulation des potentiell toxischen Kupfers bei der VPE zu einer zusätzlichen Schädigung der Leber könnte, wird heute bei Patienten, bei de-

nen sich Anzeichen einer Cholestase ergeben, von einer weiteren Kupfer-supplementation abgeraten [10]. Die Ergebnisse dieser Arbeit legen nahe, die Dosierung des Kupfers nicht nur bei bereits nachweisbarer Cholestase, sondern prinzipiell niedrig zu halten.

### **5.10. SCHLUSSFOLGERUNGEN AUS DEN ERGEBNISSEN DIESER ARBEIT**

Die Ergebnisse dieser Arbeit lassen bei Patienten mit CuSubst bei VPE eine erhebliche Hypercuprämie während und in der ersten Woche nach Ende der CuSubst erkennen. Die Cu-Dosen entsprachen den Empfehlungen der Hersteller der Spurenelementpräparate und lagen zumeist (zwei Ausnahmen) unter den offiziell von den Gesellschaften für Ernährungsmedizin empfohlenen Cu-Substitutionsmengen (Kapitel 2.7). Trotzdem erwiesen sich die Cu-Dosen als überhöht, denn sie führten zu einer erheblichen Hypercuprämie, die sich durch Berechnung des  $\Delta\text{Cu}$  nachweisen ließ.

Die Ergebnisse machen einerseits eine Reduktion der Cu-Substitutionsdosis und andererseits eine strenge Überwachung der Serum-Kupferspiegel während und nach einer VPE erforderlich.

Bei der Überwachung der Serumkupferspiegel ist zu beachten, dass der Cu-Spiegel allein keine Information über die Hypercuprämie geben kann, sondern dass vielmehr erst die Berechnung des  $\Delta\text{Cu}$  anhand einer Parallelmessung von Cu und Cpl eine Aussage bezüglich einer Überkupferung liefert.

Durch die Arbeit werden folgende Hypothesen bestätigt:

Kupfer kommt im Serum des Menschen praktisch nur als CplCu vor.

Die Zahl der Cu-Atome pro Cpl-Molekül ist konstant.

Cu-Dosen, die der normalen oralen Zufuhr entsprechen, können (wie hier) intravenös gegeben, eine „echte“ Hypercuprämie induzieren.

Chronische Schäden durch die Überkupferung, möglicherweise mit Folgekrankheiten, lassen sich derzeit nicht ausschließen.

## **6. ZUSAMMENFASSUNG**

Bei einer völlig parenteralen Ernährung (VPE) wird heute üblicherweise auch Kupfer (Cu) als Spurenelement substituiert (VPE mit CuSubst) in Dosen, die den Empfehlungen der Gesellschaften für Ernährungsmedizin entsprechen. In jüngster Zeit ist einerseits der Kupferbedarf des Menschen neu ermittelt und als geringer als früher angenommen gefunden und andererseits – durch die Entdeckung der chronischen Kupfervergiftung – die Gefährlichkeit einer überhöhten Cu-Zufuhr erkannt worden. Außerdem wurde eine Methode entwickelt, mit der verlässlich ein Cu-Überschuss im Blut (die „echte“ Hypercuprämie) diagnostiziert werden kann.

In dieser Arbeit wurde durch pro- und retrospektive Untersuchungen an 19 Patienten das Verhalten der Cu-Messgrößen im Serum vor, während und nach einer VPE mit CuSubst untersucht. Die vor der VPE ermittelten Messgrößen wurden als Kontrollwerte verwendet. Weitere Kontrollwerte wurden an 27 Patienten ohne VPE und ohne CuSubst ermittelt. Gesucht wurde nach der „echten“ Hypercuprämie, d.h. nach einer positiven Differenz ( $\Delta\text{Cu}$ ) zwischen der gemessenen (IST-CuKonz) und der anhand der Coeruloplasminkonzentration (CplKonz) zu berechnenden SOLL-CuKonz.  $\Delta\text{Cu}$  repräsentiert das sog. nichtCoeruloplasminkupfer (Nicht-CplCu), das unter normalen Bedingungen im Serum des Menschen praktisch nicht vorkommt.

Unter der VPE mit CuSubst kam es zu einem erheblichen, statistisch signifikanten, von der Dosis und der Substitutionsdauer abhängigen Anstieg der  $\Delta\text{CuKonz}$  in Bereiche, die denen chronisch vergifteter Patienten entsprechen. Darüber hinaus konnte  $\Delta\text{Cu}$  nicht nur während, sondern auch bis zu 1½ Wochen nach Ende der CuSubst nachgewiesen werden. Besonders hohe  $\Delta\text{CuKonz}$  wurden gemessen bei Patienten mit hoher ( $\geq 15,1 \mu\text{gCu/kgKG}$ ) und langer ( $\geq 8$  Tage) CuSubst.

Aus diesen Befunden ergibt sich die Notwendigkeit, bei einer VPE

1. die Cu-Messgrößen im Serum streng zu kontrollieren,
2. die derzeit zur Substitution verwendeten Cu-Dosen zu reduzieren
3. und sicherheitshalber bei voraussehbar nur kurzfristiger VPE auf die CuSubst ganz zu verzichten.

---

## 7. ANHANG

### 7.1. LITERATURVERZEICHNIS

1. *Guidelines for essential trace element preparations for parenteral use. A statement by an expert panel. AMA Department of Foods and Nutrition.* Jama, 1979. **241**(19): p. 2051-4.
2. Alexander, K., et al., *Thiemes Innere Medizin.* 1999: Stuttgart. p. 764-766.
3. Ashkenazi, A., et al., *The syndrome of neonatal copper deficiency.* Pediatrics, 1973. **52**(4): p. 525-33.
4. Bhave S A, Pandit A N, and Tanner M S, *Comparison of feeding history of children with Indian childhood cirrhosis and paired controls.* Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 1987. **6**(4): p. 562-567.
5. Biesalski, H.K., et al., *Wasser, Elektrolyte, Vitamine und Spurenelemente*, in *DGEM-Leitlinie Parenterale Ernährung 2007*: Stuttgart.
6. Blaszyk, H., et al., *Hepatic copper in patients receiving long-term total parenteral nutrition.* J Clin Gastroenterol, 2005. **39**(4): p. 318-20.
7. Brewer G J, et al., *The treatment of Wilson´s Disease with Zinc. IV. Efficacy Monitoring using Urine and Plasma Copper (42499).* PSEBM, 1987. **184**: p. 446-455.
8. Brine, E. and J. Ernst, *Total Parenteral Nutrition for Premature Infants.* Newborn & Infant Nursing Reviews, 2004. **4**(3): p. 133 -155.
9. Btaiche, I.F. and N. Khalidi, *Parenteral nutrition-associated liver complications in children.* Pharmacotherapy, 2002. **22**(2): p. 188-211.
10. Buchman, A.L., K. Iyer, and J. Fryer, *Parenteral nutrition-associated liver disease and the role for isolated intestine and intestine/liver transplantation.* Hepatology, 2006. **43**(1): p. 9-19.

- 
11. Caca, K., et al., *High prevalence of the H1069Q mutation in East German patients with Wilson disease: rapid detection of mutations by limited sequencing and phenotype-genotype analysis*. J Hepatol, 2001. **35**(5): p. 575-81.
  12. Castillo-Duran, C., et al., *Controlled trial of copper supplementation during the recovery from marasmus*. Am J Clin Nutr, 1983. **37**(6): p. 898-903.
  13. Castillo-Duran, C., P. Vial, and R. Uauy, *Trace mineral balance during acute diarrhea in infants*. J Pediatr, 1988. **113**(3): p. 452-7.
  14. Cordano, A., *Clinical manifestations of nutritional copper deficiency in infants and children*. Am J Clin Nutr, 1998. **67**(5 Suppl): p. 1012S-1016S.
  15. Cotton, F. and G. Wilkinson, *Advanced Inorganic Chemistry* 1988: John Wiley & Sons
  16. Cox, D.W., *Molecular advances in Wilson disease*. Prog Liver Dis, 1996. **14**: p. 245-64.
  17. Danks, D.M., *Copper deficiency in humans*. Annu Rev Nutr, 1988. **8**: p. 235-57.
  18. Denne, S., B. Poindexter, and C. Leitch, *Nutrition and metabolism in the high risk neonate*, in *Neonatal Perinatal-Medicine*, A. Fanaroff and R. Martin, Editors. 2002: St. Louis.
  19. Eife R, B.M., Schmidt H, *Serumkupferspiegel beim Toxischen Schock Syndrom*.
  20. Emery, A., *Methodology in Medical Genetics*. 1976, Churchill Livingstone: Edinburgh, London and New York. p. 48-49.
  21. Evans PJ, B.A. and Halliwell B, *Non-caeruloplasmin copper and ferroxidase activity in mammalian serum. Ferroxidase activity and phenanthroline-detectable copper in human serum in Wilson's disease*. Free Radic Res Commun, 1989. **7**(1): p. 55-62.
  22. FDA, *Rules and regulations. Nutrient requirements for infant formulas*, in *Fed. Regist.* 1985, Food and Drug Administration. p. 45106-45108.
  23. Ferenci, P., *Wilson's disease*. Ital J Gastroenterol Hepatol, 1999. **31**(5): p. 416-25.

- 
24. Greene, H.L., et al., *Guidelines for the use of vitamins, trace elements, calcium, magnesium, and phosphorus in infants and children receiving total parenteral nutrition: report of the Subcommittee on Pediatric Parenteral Nutrient Requirements from the Committee on Clinical Practice Issues of the American Society for Clinical Nutrition*. Am J Clin Nutr, 1988. **48**(5): p. 1324-42.
  25. Heller, R.M., et al., *Skeletal changes of copper deficiency in infants receiving prolonged total parenteral nutrition*. J Pediatr, 1978. **92**(6): p. 947-9.
  26. Heresi, G., et al., *Phagocytosis and immunoglobulines levels in hypopremic infants*. Nutrition Research, 1985. **5**: p. 1327-34.
  27. Howard, L., et al., *Autopsy tissue trace elements in 8 long-term parenteral nutrition patients who received the current U.S. Food and Drug Administration formulation*. JPEN J Parenter Enteral Nutr, 2007. **31**(5): p. 388-96.
  28. Kelly, D.A., *Liver complications of pediatric parenteral nutrition--epidemiology*. Nutrition, 1998. **14**(1): p. 153-7.
  29. Kirschner Eva-Maria, *Normalwerte für Kupfer im Urin - renale Kupferausscheidung*, in *Kinderklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital*, LUM München: München.
  30. Kobert, R., *Lehrbuch der Intoxikationen*. 1893, Stuttgart: Enke, F.
  31. Koletzko, B., et al., *1. Guidelines on Paediatric Parenteral Nutrition of the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition (ESPGHAN) and the European Society for Clinical Nutrition and Metabolism (ESPEN), Supported by the European Society of Paediatric Research (ESPR)*. J Pediatr Gastroenterol Nutr, 2005. **41 Suppl 2**(2): p. S1-87.
  32. Lefkowitz J H, et al., *Hepatic Copper Overload and Features of Indian Childhood Cirrhosis in an American Sibship*. The New England Journal of Medicine, 1982. **307**(5): p. 271-277.
  33. Lide, D. and H. Frederikse, *CRC Handbook of Chemistry and Physics 1996-1997: A Ready-Reference Book of Chemical and Physical Data* 77th ed. 1996: CRC Press Inc. 3000.
  34. Linder, M.C., *Biochemistry of copper*. 1991, New York: Plenum Press.

- 
35. Linder, M.C. and M. Hazegh-Azam, *Copper biochemistry and molecular biology*. Am J Clin Nutr, 1996. **63**(5): p. 797S-811S.
  36. Linder, M.C., et al., *Copper transport*. Am J Clin Nutr, 1998. **67**(5 Suppl): p. 965S-971S.
  37. Lockitch, G., *Trace elements in pediatrics*. J Int Fed Clin Chem, 1996. **9**(2): p. 46-8, 50-1.
  38. Löffler, G. and P. Petrides, in *Biochemie und Pathobiochemie*. 1998, Springer Verlag: Berlin. p. 636-37.
  39. Mason, K.E., *A conspectus of research on copper metabolism and requirements of man*. J Nutr, 1979. **109**(11): p. 1979-2066.
  40. Menhard Katharina, *Die Serumkupferkompartimente beim Morbus Wilson, Dissertation in Vorbereitung, in Kinderklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital, LMU München: München*.
  41. Moller, K., *Pharmakologie*. 1961, Basel, Stuttgart: Schwabe Benne & Co.
  42. Müller-Höcker J, et al., *Copper storage disease of the liver and chronic dietary copper intoxication in two further German infants mimicking Indian Childhood Cirrhosis*. Path Res Pract, 1988. **183**: p. 39-45.
  43. Müller-Höcker J, et al., *Fatal copper storage disease of the liver in a German infant resembling Indian childhood cirrhosis*. Virchows Archiv A, 1987. **411**: p. 379-385.
  44. Müller T, et al., *Endemic Tyrolean infantile cirrhosis: an ecogenetic disorder*. The Lancet, 1996. **347**: p. 877-880.
  45. Payne-James, J.J. and D.B. Silk, *Hepatobiliary dysfunction associated with total parenteral nutrition*. Dig Dis, 1991. **9**(2): p. 106-24.
  46. Pelz Reta, *Untersuchungen über die normale Konstellation der Kupfer- und Coeruloplasmin-Konzentrationen im Serum des Menschen, in Kinderklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital*. 2006, LMU München: München. p. 118.
  47. Popper H, et al., *Cytoplasmic copper and its toxic effects: Studies in Indian Childhood Cirrhosis*. The Lancet, 1979. **1**: p. 1205-1208.

- 
48. Portmann B, Walker-Smith J, and Tanner M S, *Wilson's Disease, Chronic Copper Poisoning, or Indian Childhood Cirrhosis?* Archives of Disease in Childhood, 1980. **55**: p. 163-164.
  49. Postuma, R. and C.L. Trevenen, *Liver disease in infants receiving total parenteral nutrition*. Pediatrics, 1979. **63**(1): p. 110-5.
  50. Quigley, E.M., et al., *Hepatobiliary complications of total parenteral nutrition*. Gastroenterology, 1993. **104**(1): p. 286-301.
  51. Rodgers, B.M., et al., *Intrahepatic cholestasis with parental alimentation*. Am J Surg, 1976. **131**(2): p. 149-55.
  52. Rodriguez, A., et al., *Zinc and copper in hair and plasma of children with chronic diarrhea*. Acta Paediatr Scand, 1985. **74**(5): p. 770-4.
  53. Roelofsen, H., et al., *Copper-induced apical trafficking of ATP7B in polarized hepatoma cells provides a mechanism for biliary copper excretion*. Gastroenterology, 2000. **119**(3): p. 782-93.
  54. Sandhu, I.S., C. Jarvis, and G.T. Everson, *Total parenteral nutrition and cholestasis*. Clin Liver Dis, 1999. **3**(3): p. 489-508, viii.
  55. Schanler, R., *The Low Birth Weight Infant*, in *Nutrition in Pediatrics: Basic Science and Clinical Applications*. 2003: Hamilton, Ontario. p. 491-514.
  56. Scheinberg I H and Sternlieb I, *Copper Toxicity and Wilson's Disease*, in *Trace Elements in Human Health and Disease*, P. AS, Editor. 1976, Academic Press New York: New York. p. 415-438.
  57. Schmid, I., *Ernährung für Kinder mit Krebserkrankungen*. Manual Supportive Maßnahmen und symptomorientierte Therapie. 2001, München: Tumorzentrum München.
  58. Schmid, I., et al., *Parenteral nutrition is not superior to replacement fluid therapy for the supportive treatment of chemotherapy induced oral mucositis in children*. Eur J Cancer, 2006. **42**(2): p. 205-11.
  59. Schramel P, et al., *Nutritional copper intoxication in three German infants with severe liver cell damage (Features of Indian Childhood Cirrhosis)*. Journal of Trace Elements and Electrolytes in Health and Disease, 1988. **2**: p. 85-89.

- 
60. Shike, M., et al., *Copper metabolism and requirements in total parenteral nutrition*. *Gastroenterology*, 1981. **81**(2): p. 290-7.
  61. Sieber, R., et al., *Technologische Aspekte von Kupfer in Milchprodukten und gesundheitliche Bedeutung des Kupfers* FAM-Info, 2002(451).
  62. Tanner M S, et al., *Early introduction of copper contaminated animal milk feeds as a possible cause of Indian childhood cirrhosis*. *The Lancet*, 1983. **2(8357)**: p. 992-995.
  63. Tanner M S, et al., *Increased hepatic copper concentration in Indian childhood cirrhosis*. *The Lancet*, 1979. **i (8128)**: p. 1203-1205.
  64. Tanzi, R.E., et al., *The Wilson disease gene is a copper transporting ATPase with homology to the Menkes disease gene*. *Nat Genet*, 1993. **5**(4): p. 344-50.
  65. Tapiero, H., D.M. Townsend, and K.D. Tew, *Trace elements in human physiology and pathology. Copper*. *Biomed Pharmacother*, 2003. **57**(9): p. 386-98.
  66. Turnlund, J.R., *Human whole-body copper metabolism*. *Am J Clin Nutr*, 1998. **67**(5 Suppl): p. 960S-964S.
  67. Tyrala, E., *Trace elements*, in *Intravenous Feeding of the Neonate*, V. Yu and R. MacMahon, Editors. 1992: London. p. 76-97.
  68. Uauy, R., M. Olivares, and M. Gonzalez, *Essentiality of copper in humans*. *Am J Clin Nutr*, 1998. **67**(5 Suppl): p. 952S-959S.
  69. Williams, D.M., *Copper deficiency in humans*. *Semin Hematol*, 1983. **20**(2): p. 118-28.
  70. Williams, D.M., et al., *Role of copper in mitochondrial iron metabolism*. *Blood*, 1976. **48**(1): p. 77-85.
  71. Zambrano, E., et al., *Total parenteral nutrition induced liver pathology: an autopsy series of 24 newborn cases*. *Pediatr Dev Pathol*, 2004. **7**(5): p. 425-32.

Elektronische Quellen:

72. [www.webelements.com/webelements/elements/text/Cu/xtal.html](http://www.webelements.com/webelements/elements/text/Cu/xtal.html)

73. [www.rote-liste.de](http://www.rote-liste.de)

---

## 7.2. BBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 2.1: Struktur des Kupfers [73].....	11
Abbildung 2.2: Schematische Darstellung (Kupferstoffwechsel [50]) .....	19
Abbildung 3.1: Überblick über das Studienprotokoll.....	55
Abbildung 4.1: Grafische Darstellung der Maxima .....	72
Abbildung 4.2: Grafische Darstellung der Minima .....	74
Abbildung 4.3: Aufschlüsselung der Mittelwerte.....	77
Abbildung 4.4: Aufschlüsselung der Mittelwerte.....	79
Abbildung 4.5: Abweichungen (Differenz) des $\Delta\text{Cu}$ .....	83
Abbildung 4.6: Exemplarische Darstellung I (Patient 3) .....	85
Abbildung 4.7: Exemplarische Darstellung II (Patient 5) .....	86

### 7.3. TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 2.1: Funktion kupferhaltiger Metalloenzyme und Proteine [35].....	14
Tabelle 2.2: Beeinflussung der Bioverfügbarkeit von Kupfer [61].....	16
Tabelle 2.3: Empfohlene Kupferzufuhr (in mg pro Tag) aus [61].....	20
Tabelle 2.4: Zusammensetzung der Spurenelementpräparate [74] .....	40
Tabelle 3.1: Durchschnittsalter und Diagnosen der untersuchten Patienten	49
Tabelle 3.2: Detaildaten der Patienten der Hauptgruppe .....	50
Tabelle 3.3: Patientencharakteristika der Kontrollgruppe .....	51
Tabelle 3.4: Überblick über das Studienkollektiv .....	57
Tabelle 3.5: Tagesauszug aus dem Dokumentationszentrum .....	61
Tabelle 3.6: Tagesauszug aus dem Dokumentationszentrum .....	62
Tabelle 4.1: Vergleich der Maxima, Minima und Mittelwerte .....	81
Tabelle 4.2 Teil 1: Die Cu-Messgrößen der Gesamtstudie .....	90
Tabelle 4.3: Teil 1: Die Kupfermessgrößen der Studie A .....	96
Tabelle 4.4 Teil 1: Die Kupfermessgrößen der Studie B .....	104
Tabelle 4.5: Teil 1: Die Kupfermessgrößen der Studie C .....	107
Tabelle 5.1: Die Kupfermessgrößen im Serum [14] .....	111
Tabelle 5.2: Die Mediane aller Cu/Cpl-Quotienten .....	115
Tabelle 5.3: Beispiel fehlerhafte Berechnung.....	125
Tabelle 5.4: Die Kupfermessgrößen bei einem Patienten .....	128

## 7.4. ABKÜRZUNGEN UND SYNONYME

In dieser Arbeit werden folgende Abkürzungen und Synonyme verwendet:

ALL	Akute lymphatische Leukämie
AML	Akute myeloische Leukämie
AP	Alkalische Phosphatase
ASCN	American Society for Clinical Nutrition
BPD	Bronchopulmonale Dysplasie
CKV	Chronische Kupfervergiftung
CML	Chronische myeloische Leukämie
Cpl	Coeruloplasmin
	Konzentrations-Einheiten in mg/dl oder $\mu\text{mol/l}$
CplCu	Coeruloplasminkupfer; Kupfer, das fester Bestandteil des Coeruloplasminmolekül ist
CplKonz	Coeruloplasminkonzentration
Cu	Kupfer
	Konzentrations-Einheiten in mg/dl oder $\mu\text{mol/l}$
Cu/Cpl-Quotient	Quotient von Cu ( $\mu\text{mol/l}$ ) und Cpl ( $\mu\text{mol/l}$ ) im Serum; = die rechnerisch ermittelte Zahl der auf jedes Cpl-Molekül entfallenden Cu-Atome in einem Serum
Cu <sub>IST</sub>	gemessene Konzentration des Kupfers
CuKonz	Kupferkonzentration
Cu <sub>und</sub> Cpl-Messung	„Parallelmessungen“ von Cu und Cpl aus ein und demselben Serum
Cu <sub>SOLL</sub>	erwartete Konzentration des Kupfers = eine berechnete Größe
CuSubst	Kupfersubstitution

---

$\Delta\text{Cu}$	Differenz zwischen der gemessenen Kupferkonzentration ( $\text{Cu}_{\text{IST}}$ ) und der berechneten Kupferkonzentration im Serum ( $\text{Cu}_{\text{SOLL}}$ ) = eine berechnete Größe mit der Einheit $\mu\text{mol/l}$ bzw. $\mu\text{g/dl}$
DGEM	Deutsche Gesellschaft für Ernährungsmedizin
Dokumentationszentrum	Das Informations- und Dokumentationszentrum für Kupfervergiftungen in Deutschland im Dr. von Haunerschen Kinderspital der LMU München
ESPEN	European Society for Clinical Nutrition and Metabolism
ESPGHAN	European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition
$\gamma\text{GT}$	gamma-Glutamyl-Transferase
gSCu	Gesamtkupfer im menschlichen Serum
HCC	Hepatozelluläres-Carcinom
HG	Hauptgruppe
Hypercupraemia vera	echte Hypercuprämie = echter Kupferüberschuss im Serum = Überschuss an Kupfer im Nicht-CpICu-Kompartiment (z.B. bei Kupfervergiftung, Morbus Wilson oder mit Cholestase einhergehenden Lebererkrankungen)
Hypercuprämie	über die Norm erhöhte Kupferkonzentration im Blut
Hypercuprosis	Überladung des Körpers mit Kupfer
ICC	Indian Childhood Cirrhosis
KG	Körpergewicht
Kuprismus	Kupfervergiftung
max	Maximum
Md	Median

---

min	Minimum
MW	Mittelwert
Nicht-CpICu	nicht an Coeruloplasmin gebundenes Kupfer im Serum
MW	Mittelwert
NEC	Nekrotisierende Enterokolitis
NHL	Non-Hodgkin-Lymphom
PE	Parenterale Ernährung
PEALD	PE-assoziierte Lebererkrankung
pfCu	plasma free copper
Pseudohypercuprämie	„vorgetäuschte“ Hypercuprämie = scheinbarer Kupferüberschuss im Serum = proportionale Erhöhung von Cu und Cpl im Serum (z.B. bei infektiösen und malignen Erkrankungen oder in der Schwangerschaft)
S-Cu	Serumkupfer; in dieser Arbeit ist mit Kupfer immer das Serumkupfer gemeint
S-CuKonz	Serumkupferkonzentration
SGA	small-for-gestational-age
VLBW	Very low birth weight
VPE	Völlig parenterale Ernährung

## 7.5. DANKSAGUNG

Herzlichen Dank an Herrn Prof. Dr. med. R. Eife für die Überlassung des Themas und die konstruktive Begleitung. Die Fertigstellung dieser Arbeit ist maßgeblich seiner engagierten Betreuung und seinem umfangreichen Interesse an diesem Thema zu verdanken.

Ebenfalls danken möchte ich Herrn Dr. rer. hum. biol. C. Wielage und Herrn Dr. med. W. Maier, deren profunde naturwissenschaftliche Kenntnisse erheblich zur Entstehung dieser Arbeit beitrugen.

Den Leitern der Klinisch-Chemischen Laboratorien, Herrn Prof. Dr. A. Roscher und Herrn Prof. Dr. med. K. Horn<sup>†</sup>, danke ich für die großzügige Überlassung der Messwerte.

Weiterhin möchte ich mich bei den Mitarbeitern des Dr. von Haunerschen Kinderspitals, insbesondere bei Frau PD Dr. med. I. Schmid und Frau Dr. med. M. Schmitt, für den Beistand und die Hilfestellungen bedanken.

## 7.6. LEBENS LAUF

**Name:** Siv Maïke Nilewski

**Adresse:** Hochbergstraße 23  
83313 Siegsdorf

**Geburtsdatum:** 25.11.1978

**Geburtsort:** Eckernförde

**Staatsangehörigkeit:** deutsch

**Schulbildung:**

08/1985 – 06/1987 Grundschule Wanderup, Deutschland  
09/1987 – 07/1989 Grundschule Deutsche Schule Paris, Frankreich  
09/1989 – 07/1991 Gymnasium Deutsche Schule Paris, Frankreich  
09/1991 – 07/1993 Städtisches Hardtberg Gymnasium Bonn  
09/1993 – 06/1998 Einstein Gymnasium Kehl/Rhein

**Studium:**

11/98 – 11/05 **Studium der Humanmedizin, LMU München**  
3/01 Ärztliche Vorprüfung  
3/02 1. Staatsexamen  
3/04 2. Staatsexamen  
6/04 - 10/04 PJ am Kantonsspital Luzern, Schweiz  
10/04 - 2/05 PJ am Klinikum Traunstein, Deutschland  
2/05 - 5/05 PJ am CHSR St - Pierre, Réunion, Frankreich  
11/05 3. Staatsexamen

**Beruf:**

Seit 4/06 **Ärztin in Weiterbildung** zum Facharzt für Kinder- und Jugendmedizin in der Abteilung für Kinder- und Jugendmedizin im Klinikum Traunstein