

Drei-Tesla-Magnetresonanztomographie des Knies zur Detektion einer Oxalat-Osteopathie bei Patienten mit primärer Hyperoxalurie Typ I

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades

der Hohen Medizinischen Fakultät

der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

Bonn

Lisa-Marie Waldvogel, geb. Merz

aus Aachen

2024

Angefertigt mit der Genehmigung
der Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: PD Dr. med. Markus Born
2. Gutachter: Prof. Dr. Guido Fechner

Tag der Mündlichen Prüfung: 23.10.2024

Aus der Klinik für Diagnostische und Interventionelle Radiologie

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	4
1. Deutsche Zusammenfassung	5
1.1 Einleitung	5
1.2 Material und Methoden	8
1.3 Ergebnisse	14
1.4 Diskussion	23
1.5 Zusammenfassung	26
1.6 Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung	27
2. Veröffentlichung	31
Abstract	31
Introduction	31
Materials and Methods	32
Results	34
Discussion	37
References	38
3. Danksagung	41

Abkürzungsverzeichnis

AGT	Alanin-Glyoxylat-Aminotransferase
BMD	Bone mineral density
CKD	Chronic kidney disease
CKD-EPI	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
DXA / DEXA	Dual Energy X-ray Absorptiometry
ESKF	End-Stage kidney failure
FDA	Food and Drug Administration
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GO	Glycolatoxidase
K-DOQI	Kidney Disease Outcomes Quality Initiative
KI	Konfidenzintervall
LDH	Laktatdehydrogenase
MRT	Magnet-Resonanz Tomografie
Pglyc	Plasmaglykolat
PH	Primäre Hyperoxalurie
POX	Plasmaoxalat
pQCT	periphere quantitative Computertomografie
PTH	Parathormon
OR	Odds ratio
ROI	Region of interest
VB6	Vitamin B6
TR	Repetitionszeit
TE	Echozeit
18-FDG-PET	18F-Fluordesoxyglukose-Positronenemissionstomographie

1. Deutsche Zusammenfassung

1.1 Einleitung

1.1.1 Krankheitsbild Primäre Hyperoxalurie

Die Primäre Hyperoxalurie ist eine Gruppe seltener autosomal-rezessiv vererbter Krankheitsbilder, die zu einer erhöhten endogenen Oxalatproduktion führen. Es gibt drei Typen der primären Hyperoxalurie (PH) (Bobrowski und Langman, 2006) PH 1, PH 2 und die erstmals 2010 beschriebene PH 3 (Belostotsky et al., 2010). Die PH 1 ist mit einer geschätzten Inzidenz von 1-3 pro 10⁶ Population das klinisch führende Krankheitsbild mit 80 % aller PH -Patienten (Hoppe, 2012; Hoppe et al., 2009; Pey et al., 2013; Woerden et al., 2003). Die Diagnose wird oft erst spät im Stadium der chronischen Niereninsuffizienz oder nach einer misslungenen Transplantation gestellt (Hoppe et al., 2015; Hoppe, 2012). Ursache der Erkrankung ist eine unzureichende bis fehlende Aktivität, oder mitochondriale Mislokation des leberspezifischen normalerweise peroxisomalen Enzyms Alanin-Glyoxylat-Aminotransferase (AGT). Zusammen mit Pyridoxal-5 Phosphat als Coenzym wandelt AGT bei Gesunden den Oxalatpräkursor Glyoxylat zu Glycin um (Danpure, 1986; Hoppe, 2012). Bei PH 1 bewirkt der AGT-Enzymdefekt eine erhöhte endogene Produktion von Oxalat und Glykolat. Oxalat wird durch die Niere frei filtriert und nahezu vollständig durch den Harn ausgeschieden (Danpure, 1986; Hoppe, 2012). Die ausgeprägte Hyperoxalurie im Rahmen einer PH führt zur Ausfällung von Kalziumoxalat-Kristallen, was dann konsekutiv zu Nephrolithiasis oder Nephrokalzinose führt (Cochat et al., 2006; Hoppe et al., 2009). Ursache der im Verlauf fortschreitenden Nierenerkrankung (end-stage kidney failure (ESKF)) ist eine durch die Oxalatkristalle hervorgerufene Entzündungsreaktion, die in eine interstitielle Fibrose mit Untergang des Nierenparenchyms mündet (Knauf et al., 2013). Bei progredientem Krankheitsverlauf ist die Niere dann jedoch nicht mehr in der Lage das massiv anfallende Oxalat zu eliminieren. Im Nierenversagen steigt die Plasmaoxalatkonzentration deutlich an, das Blut ist für Calciumoxalat übersättigt und es lagert sich dadurch Oxalat nicht nur in der Niere und den ableitenden Harnwegen, sondern auch systemisch ab. Diese systemische Oxalatablagerung (Oxalose) kann sich unter anderem am Herzen, der Retina, den

Gefäßen und vor allem im Knochen zeigen. Klinisch fallen die Patienten mit Kardiomyopathien, Reizleitungsstörungen, Anämie, Knochen- und Gelenkdeformitäten sowie Visusverlust (infantile Oxalose) auf (Bacchetta et al., 2016; Behnke et al., 2001; Cochat und Basmajian, 2000; Hoppe et al., 2009). Die systemische Oxalose, vor allem die Oxalatosteopathie, kann bereits vor einer Verschlechterung der Nierenfunktion auftreten (Hoppe et al., 2009). Es wird beschrieben, dass bereits ab einer glomerulären Filtrationsrate unter 40ml/min das Plasmaoxalat den Schwellenwert von 30 $\mu\text{mol/l}$ überschreitet und damit das Blut für Calciumoxalat übersättigt ist (Hoppe et al., 1998). Bei fortgeschrittener Niereninsuffizienz ist eine herkömmliche Hämodialyse nicht in der Lage das kontinuierlich anfallende Oxalat vollständig zu eliminieren (Illies et al., 2006). Daher sollte eine intensiverte Hämodialyse stattfinden, welche aber auch nicht vermeiden kann, dass weitere Oxalatablagerungen stattfinden (Hoppe et al., 1996).

In den meisten Fällen ist die Therapie der primären Hyperoxalurie nur supportiv. Bei einigen Patienten kann durch eine Vitamin B6 Medikation die endogene Oxalatproduktion verringert werden (sensitive Genotypen, z.B: missense oder mistargeting Mutationen). Auch können Hyperhydratation und Gabe von Alkalizitrat die Löslichkeit von Oxalat im Urin steigern, die langfristigen Schäden der systemischen Oxalose aber nicht verhindern. Eine Heilung der Erkrankung kann nur durch eine Lebertransplantation, bei bereits fortgeschrittener Niereninsuffizienz durch eine kombinierte Leber- und Nierentransplantation erwirkt werden (Compagnon et al., 2014; Metry et al., 2022; Monico, 2001). Diese erfordern eine lebenslange immunsuppressive Therapie und sind daher mit einem erhöhten (Infektions- und Tumor) Risiko verbunden.

Seit kurzem ist eine Behandlung mit der RNA Inferferenztherapie (RNAi) möglich, welches zu einer signifikanten Senkung der Oxalatproduktion und damit Oxalatausscheidung führt. Diese Therapie weist zudem ein geringes Nebenwirkungsprofil auf. Hier sind derzeit zwei Medikamente für Patienten mit PH 1 von der FDA (Food and Drug Administration) zugelassen, Lumasiran und Nedosiran (Baum et al., 2023; Garrelfs et al., 2021; Hoppe et al., 2022; Sas et al., 2022; Syed, 2023). Lumasiran (Oxlumo®, Alnylam Pharmaceuticals) blockiert up-stream im Oxalatstoffwechsel die Glykolatoxidase (GO), damit steigt die Glykolatkonzentration, da weniger Glykolat zu Glyoxylat verstoffwechselt wird. Da hierdurch weniger Glyoxylat vorliegt, wird weniger Oxalat produziert (Garrelfs et al., 2021).

Nedosiran (Rivfloza™, Dicerna/Novo Nordisk) blockiert die hepatische Laktatdehydrogenase A (LDHA). Damit wird down-stream der letzte Schritt der Metabolisierung von Glyoxylat zu Oxalat gehemmt (Baum et al., 2023; Hoppe et al., 2022; Syed, 2023)

1.1.2 Ziel der Arbeit

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es eine zuverlässige und nicht invasive Methode zum Nachweis und Klassifizierung von Oxalatablagerungen im Gewebe zu finden. Dies würde ein frühzeitiges therapeutisches Eingreifen z.B. mit RNA-Medikamenten und eine adäquate Therapiekontrolle ermöglichen. Der derzeitige Goldstandard eine Oxalat-Osteopathie zu diagnostizieren, ist die Biopsie des Beckenkamms (Lorenzo et al., 2006; Schnitzler et al., 1991). Diese Methode ist aufgrund ihrer Invasivität für Langzeituntersuchungen und insbesondere bei Kindern nicht geeignet (Hernandez et al., 2008). Es besteht daher die Notwendigkeit eine Methode zu entwickeln, die eine wiederholte non-invasive Überwachung der systemischen Oxalose/Oxalatosteopathie ermöglicht. Frühere Studien haben bereits versucht ein diagnostisches Verfahren zu finden, welches die Einschätzung einer Oxalatosteopathie ermöglicht (Wiggelinkhuizen und Fisher, 1982). Strauss et al. veröffentlichte eine Übersicht aller bildgebenden Studien der letzten Jahre. Die Untersuchungen der Autoren fokussieren sich dabei auf die Suche nach bildgebendem Verfahren, die das Ansprechen einer Therapie der primären Hyperoxalurie überwachen. Jedoch war keine der untersuchten Methoden hierfür geeignet (Strauss et al., 2017). Die native Röntgendiagnostik war nicht in der Lage frühe Skelettveränderungen zu detektieren, sondern identifizierte lediglich späte Stadien der systemischen Oxalose (Brancaccio et al., 1981; Hage et al., 2008; Lorenzo et al., 2006). Weitere bildgebende Optionen wären die periphere quantitative Computertomografie (pQCT), die hoch-auflösende periphere quantitative Computertomografie sowie die Dual Energy X-ray Absorptiometry (DXA / DEXA). Behnke et al veröffentlichte 2001 einen Bericht, über die Messung der Knochendichte (bone mineral density, BMD) mit einem pQCT (Behnke et al., 2001). Die Arbeit zeigte, dass PH 1 Patienten mit chronischem Nierenversagen eine erhöhte trabekuläre und kortikale Knochendichte aufweisen. Bacchetta et al. veröffentlichte 2016 eine Studie, die mittels HR-pQCT die volumetrische Knochendichte analysierte (Bacchetta et al., 2016). Im Gegensatz zu Behnke et al. fanden

sie eine verminderte volumetrische Knochendichte unabhängig von der Nierenfunktion oder der Nierenersatztherapie. Eine Korrelation zwischen HR-pQCT und Plasmaoxalatwerten wurde in dieser Studie nicht beobachtet. Die unterschiedlichen Resultate der beiden Studien zeigen, dass die bislang angewendeten radiologischen Methoden nicht in der Lage sind, frühzeitige Oxalatablagerungen verlässlich zu bestimmen. Diese Methoden sind darüber hinaus vor allem bei häufiger Anwendung aufgrund ihrer Strahlenbelastung insbesondere bei Kindern kritisch zu hinterfragen. 2021 wurde die Methode der 18-Fluordesoxyglucose-Positronen-Emissions-Computertomographie als Methode zur Detektion der systemischen Oxalose beschrieben (Devresse et al., 2022; Tonnelet et al., 2020). Diese Methode ist jedoch ebenfalls aufgrund der Strahlenbelastung vor allem bei pädiatrischen Patienten nicht wiederholt durchführbar (Kwon et al., 2016). Bei Patienten mit PH 1, die mit neuen RNA-Interferenz (RNAi)-Medikamenten behandelt werden, ist eine wiederholte Überwachung der systemischen Oxalose jedoch notwendig. Es ist daher vor allen Dingen für Patienten mit vorbestehender systemischer Oxalose/Oxalatosteopathie und/oder terminalem Nierenversagen von großem Interesse ein diagnostisches Verfahren zu finden, dass die Oxalatosteopathie frühzeitig und zuverlässig erfasst, um Therapieentscheidungen rechtzeitig treffen zu können. Dieses Vorhaben ist Gegenstand der vorliegenden Arbeit.

1.2 Material und Methoden

1.2.1 Studiendesign

Die Studie „Three Tesla magnetic resonance imaging detects oxalate osteopathy in patients with primary hyperoxaluria type I“ von Merz et al basiert auf einer Analyse von Magnet-Resonanz-Tomografie (MRT) Untersuchungen des linken Knies, die an der Universitätsklinik Bonn im Zeitraum von 2015-2020 durchgeführt wurde (Merz et al., 2023). Hierbei wurde zur Bestimmung von Oxalat-Ablagerungen im Knochen bei den Studienteilnehmern eine hochauflösende 3 Tesla MRT des linken Kniegelenks sowie der Metaphyse der Tibia durchgeführt. Die Studie umfasste 46 Patienten mit primärer Hyperoxalurie Typ 1 im Alter von 6 bis 64 Jahren (Median: 20 Jahre; 26 Männer, 20 Frauen). Die Kontrollgruppe bestand aus 12 gesunden Probanden im Alter von 10 bis 52

Jahren (Median: 23,5 Jahre; 8 Männer, 4 Frauen). Alle Untersuchungen wurden im Einklang mit den Richtlinien und Vorschriften der Deklaration von Helsinki durchgeführt. Die Zustimmung der Patienten und Eltern wurde mit Hilfe von altersabhängigen Einverständniserklärungen eingeholt. Die Genehmigung der Studie erfolgte durch die Ethikkommission der Universitätsklinik Bonn und der Ärztekammer Nordrhein (BN 113/14, Aekno 2021473). Die Diagnose der Primären Hyperoxalurie wurde in der Patientengruppe in allen Fällen genetisch gesichert (Danpure, 2004; Williams et al., 2009). Zum Zeitpunkt des ersten MRTs im Rahmen der Studie wurden von allen Patienten biometrische und laborchemische Parameter erhoben (siehe Tabelle 1, Supplementäre Tabelle 1 zu Merz et al., 2023)

Für die Bestimmung der Nierenfunktion der Patienten wurde die geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR) berechnet. Bei Kindern erfolgte die Berechnung nach der Schwarz bedside Formel, bei Erwachsenen nach der CKD-EPI Formel (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) (Levey et al., 2009; Schwartz et al., 2009). Anhand der eGFR wurden die Probanden in Gruppen eingeteilt. Die Grundlage der Einteilung basiert auf der Klassifikation der Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K-DOQI) (KDIGO, 2013). Aufbauend darauf hatten 11 Patienten eine CKD (chronic kidney-disease) -Stadium I oder II, zwei eine CKD Stadium III, vier ein Stadium IV und 18 ein Stadium V. Aufgrund der geringen Probandenzahl wurden die Patienten mit Stadium II, III und IV zu einer Patientengruppe zusammengefügt. Es ergaben sich für die vorliegende Studie folgende Gruppen: Gruppe 1 für CKD Stadium I, Gruppe 2 für CKD-Stadium II-IV und Gruppe 3 für CKD Stadium V. (Tabelle 1, Abbildung 1). Alle Patienten aus Gruppe 3 waren mit einer Ausnahme dialysepflichtig. Die Standard-Therapie der Patienten beinhaltete bei nicht dialysepflichtigen Patienten eine gesteigerte Flüssigkeitszufuhr (Hyperhydratation). Zusätzlich wurde Alkalizitat und teilweise auch Magnesium verabreicht. Vitamin B6 wurde bei allen Vitamin B6 sensiblen Patienten verabreicht.

Neben der Nierenfunktion wurden die Probanden aufgrund ihres Plasmaoxalatpiegels (POX-Level, $< 30 \text{ mmol/l}$ oder $> 30 \text{ mmol/l}$) klassifiziert. Dies ist der Schwellenwert, bei dem der Beginn der überhöhten Blutsättigung für Calciumoxalat und damit die systemische Oxalatablagerung sicher beginnt (Hoppe et al., 1999, 1998). Das Plasmaoxalat wurde durch Massenspektrometrie/Ionenchromatografie bestimmt, wie in

den zitierten Arbeiten beschrieben. In einigen Fällen erfolgten weitere Kontrolluntersuchungen. Ein zusätzliches Nachfolge-MRT 12-36 Monate nach dem ersten MRT wurde bei 10 Patienten mit CKD-Stadium 5 durchgeführt (Abb.1). Bei 11 weiteren PH-1 Patienten wurde aus diagnostischen Gründen (RNAi-Medikation) ein weiteres MRT zur Detektion der Oxalat-Osteopathie veranlasst.

Tab. 1: Verteilung der klinischen und laborchemischen Parameter der verschiedenen Gruppen. Gruppe 1 für PH-1 Patienten des CKD-Stadiums I. Gruppe 2 für PH-1 Patienten der CKD-Stadien II-IV und Gruppe 3 für PH 1 Patienten mit CKD-Stadium V/Hämodialyse. Die Werte werden als Median/Quartil angegeben. Die glomeruläre Filtrationsrate der Kinder wurde mittels der bedside Schwartz-Formel, die der Erwachsenen mit der CKD-EPI Formel berechnet. CKD-Stadium I = 90-120 ml/min, CKD II-IV = 15-90 ml/min, CKD-Stadium V $\leq$ 15 ml/min und Hämodialyse. Die Normwerte für Serumkreatinin und alkalische Phosphatase sind altersabhängig. Die Normwerte für Serumkalzium liegen bei 2,1-2,6 mmol/l, Serumphosphat 0,84-1,45 mmol/l, Harnstoff 17-43 mg/dl, Albumin 35-52 g/dl, PTH 18,5-88,0 pg/ml und Plasma-Oxalat < 7,4 μ mol/l. Aus dem Englischen nach (Merz et al., 2023)

	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Alle
N	11	17	18	46
Geschlecht (m/w)	7/4	8/9	11/7	26/20
Alter (Jahre)	15 (9-20)	20 (16-24)	28 (20-47)	20 (16-30)
Größe (cm)	164 (144-180)	169 (168-182)	165 (161-175)	168 (160-180)
Gewicht (kg)	65 (51-86)	71 (53-88)	62 (54-86)	65 (54-86)
Frakturen	Keine	Keine	Keine	Keine
eGFR (ml/min *1,73m ²)	111,6 (97,2-120,2)	61,95 (30,07-68,3)	7,35 (5,92-9,63)	40,17 (7,93-81,95)
Serumkreatinin (mg/dl)	0,71 (0,44-0,92)	1,22 (1,08-2,25)	8,75 (5,64-9,58)	1,77 (1,05-7,82)
Serumcalcium (mmol/l)	2,33 (2,29-2,37)	2,37 (2,29-2,44)	2,17 (1,99-2,25)	2,32 (2,21-2,39)
Serumalbumin (g/l)	45,5 (42,8-47,5)	45,2 (44,8-48,5)	39,0 (33,8-42,0)	44,7 (39,1-45,9)
Harnstoff (mg/dl)	28,0 (26,0-31,0)	44,0 (31,8-64,3)	104,5 (58,8-131,8)	50,0 (28,0-75,0)
Serumphosphat (mmol/l)	1,56 (1,32-1,76)	1,26 (1,15-1,29)	1,54 (1,34-1,87)	1,37 (1,26-1,73)
Alkalische Phosphatase (U/l)	94 (73-205)	81 (68-147)	145 (79-744)	98 (73-261)
Parathormon (pg/ml)	21 (15-50)	34 (21-54)	258 (64-434)	44 (19-71)
Plasmaoxalat (μ mol/l)	10,1 (5,4-12,5)	13,5 (9,5-23,4)	70,5 (41,1-101,5)	23,40 (10,2-54,4)

1.2.2 Magnet-Resonanz-Tomografie

Eine MRT-Untersuchung des linken Kniegelenkes und der tibialen Metaphyse erfolgten bei den Patienten mit primärer Hyperoxalurie Typ 1 und der Kontrollgruppe. Für die Diagnostik wurde ein 3-Tesla-Magnetresonanzenzsystem (Philips Healthcare, Niederlande) verwendet. Das MRT-Protokoll sah eine T1-gewichtete Gradientenechosequenz in koronaler und transversaler Ausrichtung (TR (Repetitionszeit): 30-35ms; TE (Echozeit): 11ms; Flip-Winkel 20°; Auflösung in der Ebene 0,18mm/Pixel; Schichtdicke: 0,8mm; Abstand zwischen den Schichten 0,4mm) vor. Aufgrund der guten Zugänglichkeit und der niederschweligen Untersuchungsform wurde das Kniegelenk als Untersuchungsobjekt gewählt

Für die Auswertung der transversalen Bilder wurden eine ROI (region of interest) im Bereich der Tibiametaphyse platziert und eine zweite ROI als Referenz in einem Abschnitt der Unterschenkelmuskulatur derselben Schicht positioniert. Die standardisierten Signalintensitäten der einzelnen Pixel ($SI = \text{Pixelwert ROI} / \text{Mittelwert Pixelwert Muskel}$) und ihre statistischen Verteilungsparameter wurden ausgewertet.

1.2.3 Analyse

Die im Rahmen der Studie erhobenen MRT-Daten wurden qualitativ und quantitativ ausgewertet.

1.2.4 Qualitative Analyse

Für die qualitative Auswertung wurden die MRT-Bilder anonymisiert und verblindet nach der Studienkategorie (gesund/krank) sowie nach klinischen Daten (Name, POX und CKD-Stadien) voneinander durch Experten beurteilt. Ein Experte für Primäre Hyperoxalurie (Bernd Hoppe) sowie zwei Radiologen (Mark Born und Guido Kukuk) sichteten die MRT-Ergebnisse und bewerteten die MRT-Bilder basierend auf ihrer klinischen Erfahrung.

Neben der qualitativen Bewertung lag der Fokus der vorliegenden Arbeit auf der quantitativen Analyse der MRT-Daten. Zur Quantifizierung der MRT-Daten wurde ein

Model von Vallières angewendet, dass auf der Kombination von 18F-Fluordesoxyglukose-Positronenemissionstomographie (18-FDG-PET) und MRT-Texturanalyse basiert (The MathWorks, Inc., Natick, Massachusetts, USA) (Vallières et al., 2015). Die aus dem Model gewonnenen normalisierten Signalintensitäten, deren Parameterverteilung und verschiedene Texturparameter wurden mit MATLAB® berechnet. Diese so gewonnenen 52 Parameter bildeten die Basis für die anschließenden statistischen Auswertungen der vorliegenden Arbeit.

Bei den weiteren Folge-MRT-Untersuchungen wurde lediglich eine visuelle Bildinterpretation durchgeführt. Das MRT-Bild wurde jedoch stets mit quantitativen klinischen Laborparametern, wie beispielsweise POX und Markern des sekundären Hyperparathyreoidismus verglichen (siehe supplementäre Tabelle 2 zu Merz et al., 2023)). Dieses Vorgehen erlaubte in der Bewertung eine Abgrenzung zu PH-1-unabhängigen knöchernen Veränderungen.

1.2.5 Quantitative, statistische Analyse

Für die statistische Auswertung wurden die nicht-parametrischen Mann-Whitney U- und Kruskal Wallis-Testverfahren zum Vergleich der 52 radiologischen Parameter zwischen den klinischen Gruppen verwendet. Die statistische Auswertung erfolgte mit SPSS Statistics 26 und R Software. Für alle statistischen Tests wurde das Signifikanzniveau $\alpha < 0,05$ herangezogen. Für die abhängigen binären Parameter PH-1 (Erkrankung oder Kontrollgruppe) und Plasmaoxalat (POX) (>30 mmol/l oder <30 mmol/l) wurde eine logistische Regressionsanalyse durchgeführt. Für die abhängige Variable CKD-Stadium (Gruppeneinteilung basierend auf der geschätzten glomerulären Filtrationsrate) wurde eine ordinale Regressionsmodell angewandt. Für die Regressionsmodelle wurden als unabhängige Variablen jene radiologischen Parameter ausgewählt, die im vorangegangenen nicht-parametrischen Vergleich eine Signifikanz zum Niveau $\alpha < 0.1$ aufwiesen. Dabei wurde als Methode für den Variableneinschluss eine Rückwärts-Elimination angewendet mit $p = 0.05$.

MRT-Daten, die im Rahmen von Verlaufsuntersuchungen im Anschluss der Datenerhebung der Studie erhoben wurden, wurden nur einer visuellen Bewertung unterzogen.

1.3 Ergebnisse

1.3.1 Qualitative Beurteilung der MRT-Bildgebung

Die qualitative Beurteilung der MRT-Bildgebung zeigte eine deutlich unterschiedliche Bewertung der Bilder von PH-Patienten und Gesunden. Abbildung 1 zeigt unterschiedliche Schweregrade der Oxalatosteopathie von drei PH-Patienten mit unterschiedlichen CKD-Stadien, unterschiedlich langer Hämodialyse-Dauer (HD) und unterschiedlichem Alter. Bei einem gesunden Probanden sieht man eine gleichmäßige Verteilung von Knochentrabekeln, welche von hyperintensem Fettgewebe umgeben werden (Abb. 1a). Im Rahmen der systemischen Oxalose kommt es zu Oxalatablagerungen, die im Markraum zu einer Verdrängung des signalreichen Fettgewebes führen. So zeigen die MRT-Bilder der PH-Patienten mit systemischer Oxalose diffuse oder fokale hypointense Veränderungen im Markraum (siehe Abbildung 1b-d). Abbildung 1b zeigt einen 16-Jahre alten PH-1 Patienten mit CKD-Stadium II. Das MRT weist fleckige Bereiche mit geringerer Signalintensität auf, die auf frühe Oxalatablagerungen hinweisen. Diese Bereiche nehmen mit dem Fortschreiten der Krankheit zu (Patient c, 19 Jahre alt, HD seit 2 Jahren und Patient d, Alter 26 Jahre, HD seit 6 Jahren), bis das helle Signal des Knochenmarkes zwischen den dunklen Trabekeln fast (1c) oder vollständig verschwunden ist (1d). Zum Zeitpunkt des ersten MRTs waren die routinemäßig erhobenen Laborwerte in Übereinstimmung mit den CKD-Stadien. (Tabelle 1) Hinweise auf eine Hyperphosphatämie oder einen sekundären Hyperparathyreoidismus ergaben sich laborchemisch nicht.

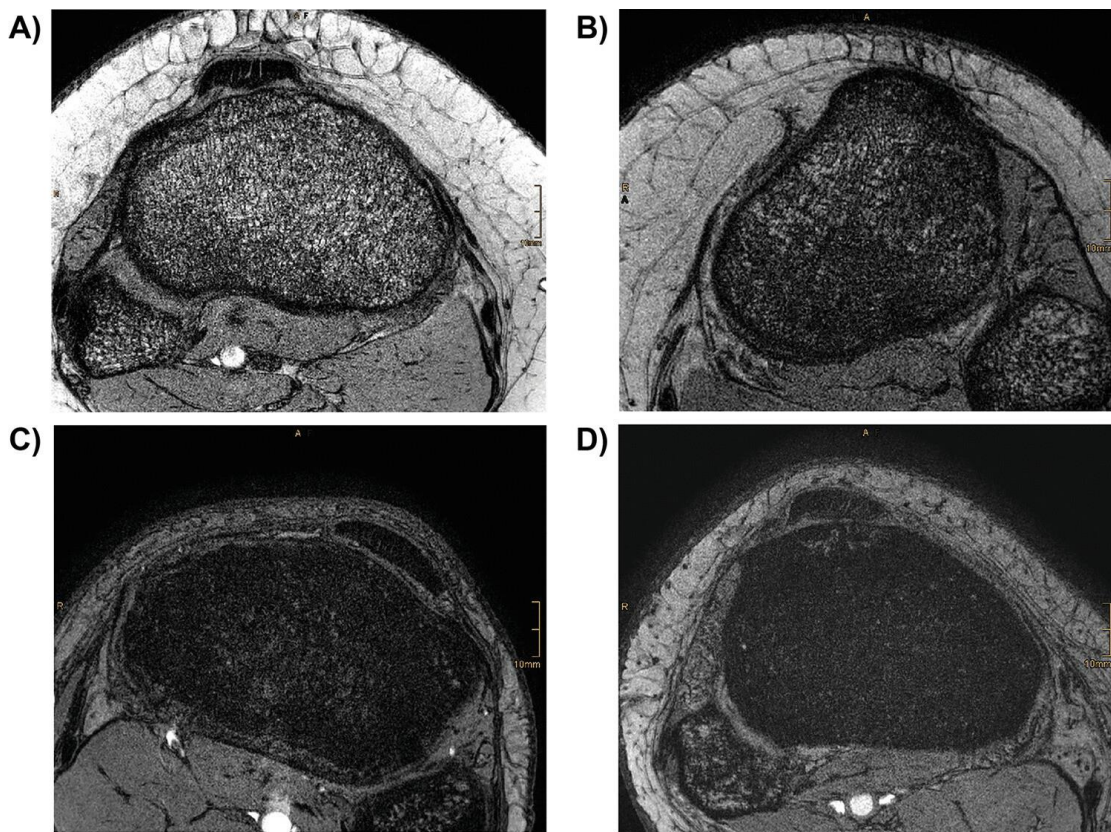


Abb. 1: Gesunder Proband A) im Vergleich zu PH-1-Patienten mit unterschiedlichem Schweregrad der Oxalose B)-D) (Merz et al., 2023).

Die qualitative MRT-Auswertung spiegelt die klinische Heterogenität der Erkrankung wider. Für die 21 Patienten mit VerlaufsmRT zeigten sich bei vergleichbarem Fortschritt der Erkrankung große Differenzen beim Nachweis von Oxalat-Osteopathien im MRT. Abbildung 2 zeigt eine weibliche Patientin, die bei Diagnosestellung 37 Jahre alt war (AGXT-Mutation c.508G>A homozygot) und bereits eine chronische Niereninsuffizienz CKD Stadium IV hatte. Zum Zeitpunkt der Diagnose zeigt das MRT nur leichte Knochenveränderungen (2a) und keine Verschlechterung des Knochen-MRT im Laufe der Zeit (12 Monate später, (2b)). Es zeigt sich ein osteoporotisches Knochenbild, welches bei Vorliegen eines sekundären Hyperparathyreoidismus im Verlauf aggravierte (2d). Bei den Verlaufskontrollen nach knapp drei Jahren (2c) und nach 5 Jahren jedoch weiterhin kein Hinweis auf Oxalat-Ablagerungen (2d). Im Vergleich hierzu sind bei anderen Patienten der Studie unter Dialyse zum Teil leichtere Läsionen (Abbildung 3), aber auch deutlichere des Knochens wahrnehmbar, die auf Oxalatschäden hinweisen (Abbildung 4).

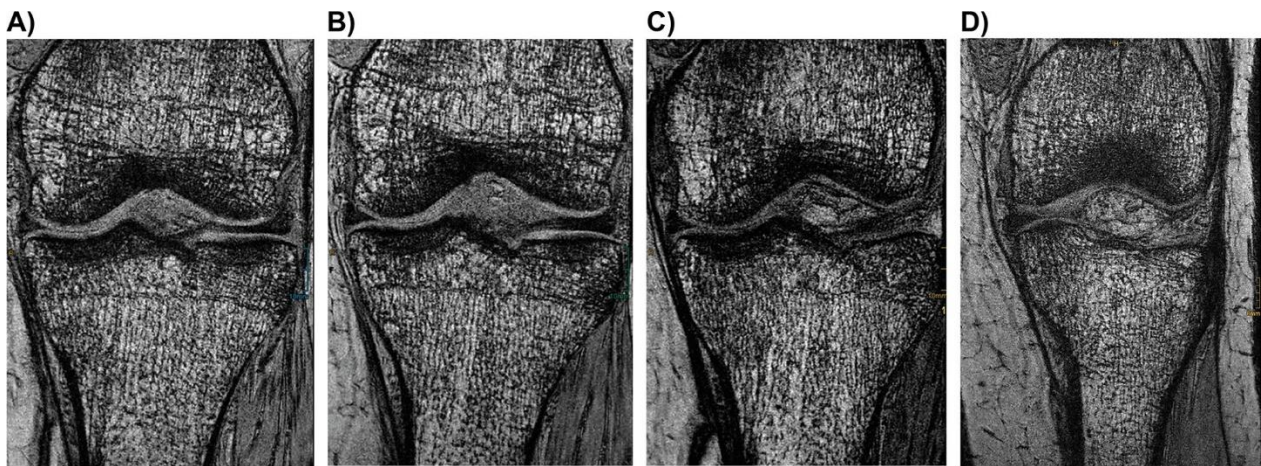


Abb. 2: Verlaufs-MRT einer Patientin mit schwerer Osteoporose und sekundärem Hyperparathyreoidismus ohne Hinweis auf Oxalatablagerungen (Merz et al., 2023)

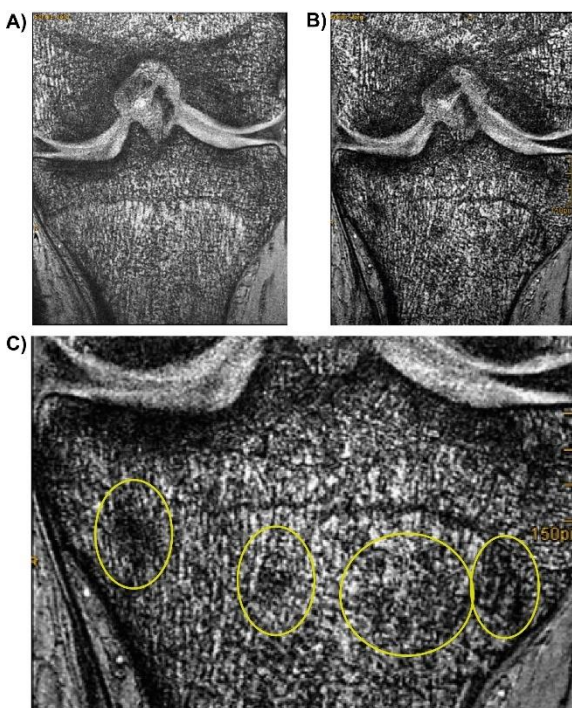


Abb. 3: Patient mit leichten Oxalatablagerungen im Supplement von Merz et al. (2023)

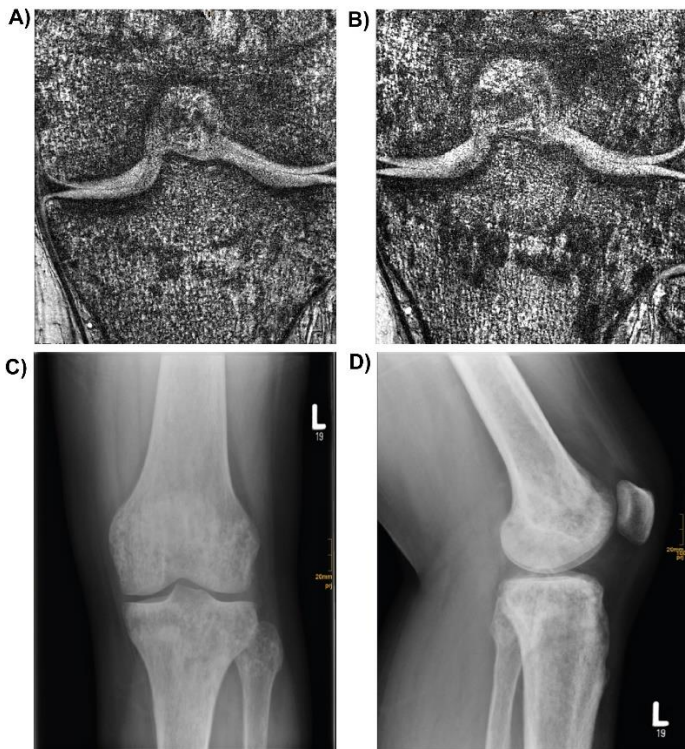


Abb. 4: Patient mit schweren Oxalatschäden im Supplement von Merz et al. (2023)

Für einen schwer betroffenen 31-jährigen Patienten (AGXT-Variante c.466G>A, homozygot) bei Zustand nach 3-jähriger Hämodialyse und konsekutiver kombinierter Leber-Nieren-Transplantation mit promptem Nierenversagen direkt nach Transplantation lagen neben MRT-Daten zusätzlich auch Ergebnisse einer Knochenbiopsie vor. Hier konnte ein Zusammenhang zwischen den Biopsie Ergebnissen und dem MRT gezeigt werden. Die Knochenbiopsie 3 Jahre nach der Transplantation ergab, dass immer noch 30 % des Knochenmarks durch Kalzium-Oxalat-Kristallablagerungen ersetzt waren (Übersicht 5g) und unter polarisiertem Licht h). Abbildung 5 a) und b) zeigen deutliche Veränderungen auf der ersten MRT nach der Transplantation. Ein ähnlicher Befund der Oxalat-Osteopathie zeigte sich ein Jahr später (5c und 5d) und nahezu identische Veränderungen in der Folgeuntersuchung nach 2 Jahren (5e und 5f). Der Patient klagte über Schmerzen im linken Knie und auch in den Knöcheln. Eine Fraktur lag während der Studiendauer nicht vor.

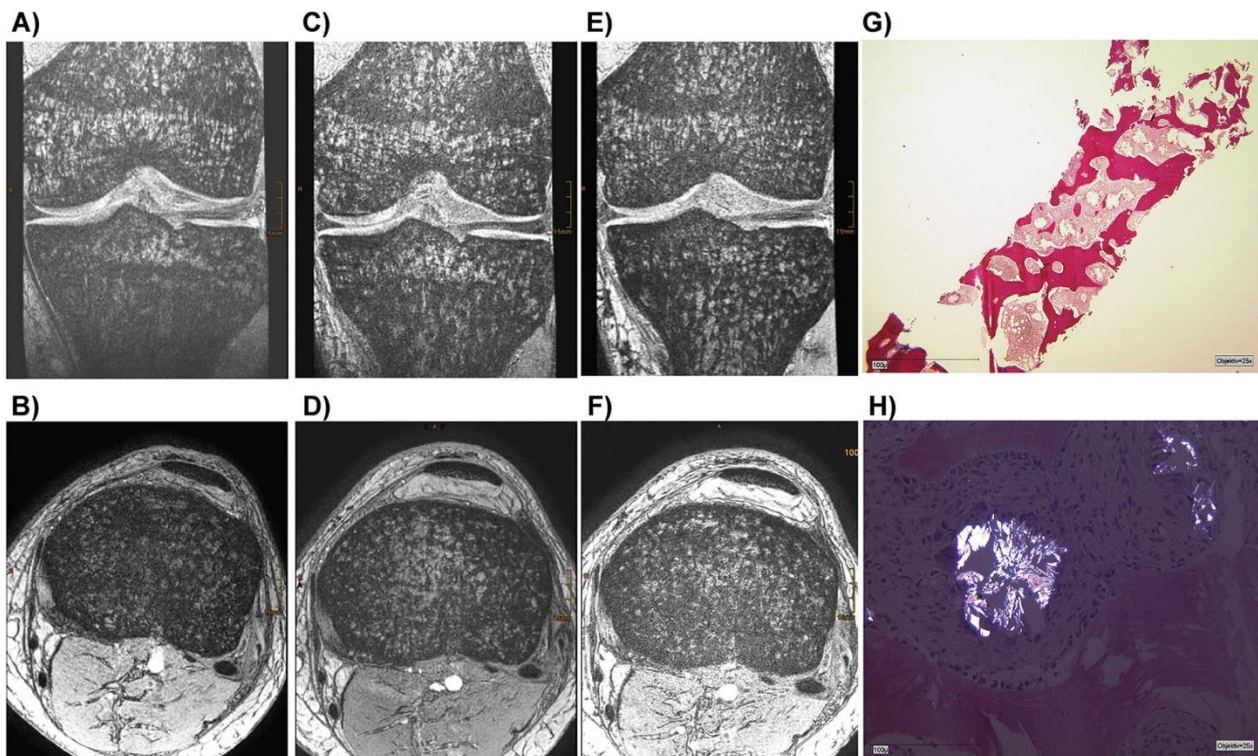


Abb. 5: MRT eines schwer betroffenen Patienten im zeitlichen Verlauf und Biopsie des Knochens (Merz et al., 2023).

Es war mittels MRT-Bildgebung auch möglich eine Verbesserung der Oxalat-Osteopathie festzustellen. Abbildung 6 zeigt den Verlauf eines Patienten, welcher unter Gabe von Nedosiran (RNA-Interferenz-Medikament) und kontinuierlicher Hämodialyse eine signifikante Besserung seiner Knochenstruktur aufwies. Zum Zeitpunkt der ersten MRT-Bildgebung war der 5,5 Jahre alte Junge (PH-Typ 1, AGXT-Varianten c.508G > A, homozygot) seit etwa 2 Jahren an der Hämodialyse. Klinisch präsentierte er sich mit rezidivierenden Nierensteinen, mehrfachen Lithotripsien (eigentlich bei PH-Patienten obsolet) sowie einem akutem Nierenversagen im Alter von 3 Jahren und 4 Monaten. Das erste MRT zeigt eine massive Oxalat-Osteopathie (A). Im Krankheitsverlauf erhielt der Patient eine Nedosiran-Therapie in einer Dosierung von 3,5 mg/kg ab dem Alter von 7 Jahren und 10 Monaten. Eine Besserung der knöchernen Veränderungen in der Metaphyse des Schienbeins zeigte sich bereits in der ersten Nachuntersuchung (Alter 8 Jahre und 1 Monat, B). Zu diesem Zeitpunkt war noch keine klinische Verbesserung festzustellen. Der Patient gab weiterhin Knochenschmerzen an und war in seiner Bewegung stark eingeschränkt. Die dritte MRT -Untersuchung (C) im Alter von 8 Jahren

und 9 Monaten zeigte eine Wiedererkennbarkeit der trabekulären Struktur des Knochens mit regredienten signalfreien Veränderungen als Hinweis auf eine Verringerung des Oxalatgehalts in der distalen Metaphyse des Oberschenkelknochens (Pfeil). Parallel dazu war ein konsekutiver Rückgang der Oxalat-Plasmawerte von max. 146 $\mu\text{mol/l}$ vor Beginn der Behandlung mit Nedosiran, auf 48,9 $\mu\text{mol/l}$ zum Zeitpunkt dieses MRT zu verzeichnen (C, E). Im Verlauf zeigt sich eine weitere Verbesserung der Knochenstruktur im MRT im Alter von 9,2 Jahren. Bei den Laboruntersuchungen fanden sich fluktuierende Oxalatspiegel zwischen 75 und 141 $\mu\text{mol/l}$. (D-F). Zu diesem Zeitpunkt wurde über eine Besserung der klinischen Symptome mit Rückgang der Knochenschmerzen sowie verbesserter Bewegungsmöglichkeiten berichtet.

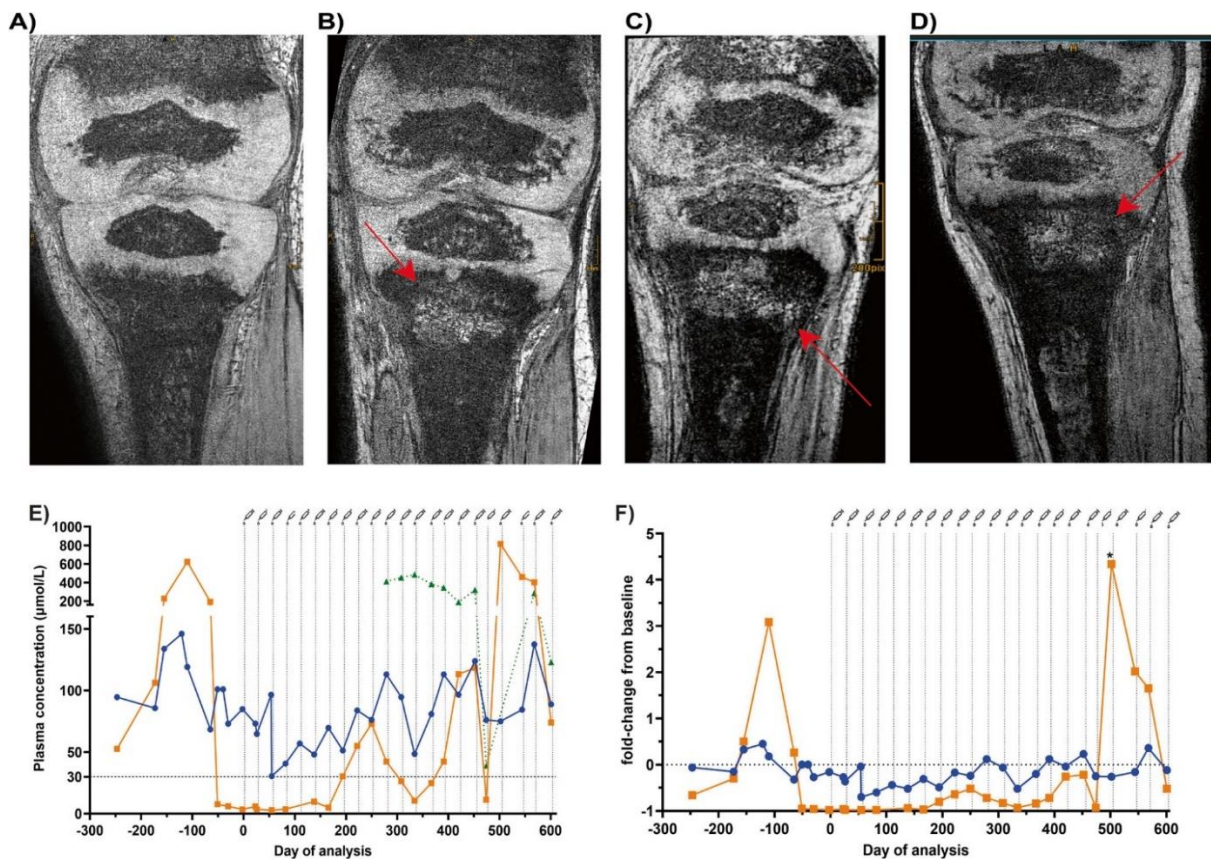


Abb. 6: Verlauf bei einem Patienten, welcher unter Therapie mit Nedosiran eine signifikante Besserung seiner Knochenstruktur aufwies. Blau: Plasma Oxalat (POX); orange: Plasma Glykolat (Pglyc); Grün: Vitamin B6 (VB6), *: Mal Compliance bei der Einnahme der Vitamin B6 Medikation (Merz et al., 2023)

1.3.2 Objektive-statistische Auswertung

Im nicht-parametrischen Vergleich (Mann-Whitney U) zwischen Patienten und Kontrollgruppe zeigten sechs der 52 untersuchten MRT-Parameter einen statistisch signifikanten Unterschied (s, peak_position, LZE, LZLGE, ZSV, und Variance6). Für vier weitere Parameter (Sigma, Entropy, GLV4, Variance) war ein statistisch signifikanter Unterschied zum Signifikanzniveau ein $\alpha = 0,1$ nachweisbar (Tabelle 2). Im logistischen Regressionsmodell zeigten die unabhängigen Variablen s, LZE, Variance 6, Sigma und GLV4 einen statistisch signifikanten Einfluss auf die abhängige Variable PH-1 (Erkrankung / Kontrollgruppe). Für das Modell betrug die Sensitivität 98 %, die Spezifität 67 % und die Modellgüte Nagelkerke R^2 0,58 (Tabelle 3).

Tab 2: Ergebnisse des Mann-Whitney-U Tests. $p < 0,1$ zwischen PH-1-Patienten und Kontrollen. Merz et al., 2023)

Parameter	median PH-1-Patienten (Quartile)	median Kontrollen (Quartile)	p-Werte
s	7,1 (2,0-15,2)	16,7 (11,7-22,2)	0,033
peak position	13,2 (10,7-19,6)	27,4 (15,0-29,7)	0,016
LZE	10,9 (9,8-12,2)	9,9 (9,4-10,4)	0,030
LZLGE	0,69 (0,59-0,80)	0,62 (0,57- 0,65)	0,017
ZSV	0,000104 (0,000085.- 0,000135)	0,000135 (0,000115- 0,000147)	0,040
Variance 6	67,9 (44,6-100,4)	233,2 (70,3-322,7)	0,029
Sigma	11,1 (9,5-13,5)	20,3 (10,4-24,3)	0,088
Entropy	0,015 (0,008-0,031)	0,006 (0,003-0,020)	0,068
GLV4	0,0020 (0,0016- 0,0028)	0,0027 (0,0021- 0,0028)	0,050
Variance	0,0334 (0,0326- 0,0349)	0,0329 (0,0320- 0,0334)	0,074

Tab 3: Ergebnisse der logistischen Regression zwischen PH 1-Patienten/Kontrollen.

*OR: odds ratio, KI: Konfidenzintervall (Merz et al., 2023)

Parameter	Regressionskoeffizient	p	OR (95 % KI) *
s	-0,455	0,005	0,64 (0,46-0,87)
LZE	2,496	0,010	12,14 (1,80-81,84)
Variance 6	0,056	0,010	1,06 (1,01-1,10)
Sigma	-0,971	0,010	0,38 (0,18-0,79)
GLV4*1000	2,159	0,049	8,66 (1,01-74,20)

Im nicht-parametrischen Vergleich (Mann-Whitney U) der 52 radiologischen Parameter zwischen den Patientengruppen POX >30 mmol/l versus <30mmol/l ließen sich für die Parameter perc_of_vox_gt_peak_in_hist und Energy statistisch signifikante Unterschiede nachweisen. Für perc_of_vox_gt_mean, Entropy2, RLV und LZE lag eine statistische Signifikanz zum Niveau $\alpha = 0,1$ vor (Tabelle 4). Unterzog man die Parameter einem logistischen Regressionsmodell leistete lediglich die unabhängige Variable Energy einen statistisch signifikanten Erklärungsbeitrag auf die abhängige Variable POX ($p = 0,028$). Die Güte des Gesamtmodells war jedoch gering (Sensitivität 73 %, Spezifität 35 %, Nagelkerke R^2 0.17).

Tab 4: Ergebnisse des Mann-Whitney-U-Tests beim Vergleich von PH-1-Patienten mit POX-Werten <30 µmol/l und >30 µmol/l ($p < 0,1$) (Merz et al., 2023).

Parameter	PH-1-Patienten POX < 30 µmol/l	PH-1- Patienten POX > 30 µmol/l	p-Wert
perc_of_vox_gt_peak_in_hist	0,598 (0,565-0,615)	0,578 (0,548-0,599)	0,046
Energy	0,0180 (0,0175-0,0190)	0,0187 (0,0180-0,0197)	0,022
perc_of_vox_gt_mean	0,456 (0,447-0,478)	0,468 (0,467-0,481)	0,076
Entropy2	6,16 (6,14-6,22)	6,11 (6,07-6,20)	0,054
RLV	0,000782 (0,000754-0,000848)	0,000745 (0,000697-0,000826)	0,060
LZE	10,42 (9,61-11,79)	11,79 (10,09-13,97)	0,076

Die Analyse der CKD-Gruppen im nicht parametrischen Vergleich (Kruskal-Wallis) der 52 radiologischen Parameter zwischen den Gruppen CKD Stadium zuzüglich der Kontrollgruppe ergab für Energy, peak_position und LZE eine statistische Signifikanz. Die Parameter Perc_of_vox_gt_peak_in_hist, GLN, LZLGE, ZSV, Variance6 wiesen einen statistisch signifikanten Unterschied zum Signifikanzniveau $\alpha = 0.01$ auf. Im ordinalen Regressionsmodell zeigte LZE als einziger Parameter einen statistisch signifikanten Einfluss auf die abhängige Variable CKD-Stadium ($p = 0,013$). Die Güte des ordinalen Regressionsmodells war gering (Nagelkerke Pseudo- $R^2 = 0,15$).

Bei Berücksichtigung der CKD-Stadien innerhalb der Patientengruppe (ohne Kontrollgruppe) zeigten Energy and GLN einen statistisch signifikanten Unterschied im nicht-parametrischen Kruskal-Wallis Test. Zusätzlich wiesen die Parameter peak_of_vox_gt_peak_in_hist und perc_of_vox_gt_mean einen statistisch signifikanten Unterschied in den Gruppen CKD Stadium zum Signifikanzniveau $\alpha = 0.01$ auf. Ein ordinales Regressionsmodell mit den unabhängigen Variablen, die im nicht-parametrischen Vergleich eine Signifikanz aufwiesen, leisteten keinen statistisch signifikanten Beitrag zur Erklärung der abhängigen Variable CKD-Stadium.

1.4 Diskussion

Das Ziel unserer Untersuchungen war es herauszufinden, ob mittels MRT-Untersuchungen frühzeitig eine Oxalatosteopathie bei Patienten mit genetisch gesicherter PH-1 erkannt werden könnte, um darauf aufbauend rechtzeitige Therapieentscheidungen zu treffen und eine gute Therapiekontrolle zu gewährleisten. Es gab bislang keine nicht-invasive Untersuchungs- oder Bildgebungsmethode, die die Oxalatosteopathie quantifizieren konnte. So wird diese auch heute oft erst im späten Krankheitsverlauf festgestellt. In Anbetracht der negativen Auswirkungen der systemischen Oxalose und hier im speziellen der Oxalatosteopathie ist es von besonderem Interesse eine Methode zu finden, die eben diese frühzeitig erfassen kann.

Die Analyse der vorliegenden Studie basiert auf zwei unterschiedlichen Auswertungsmethoden. Zum einen wurde eine visuelle, subjektive Evaluation der MRT-Bilder vorgenommen, zum anderen wurden geprüft, ob durch eine mathematisch-statistische Bewertung derselben, objektive Ergebnisse erzielt werden können.

Die qualitative, visuelle Auswertung der MRT-Bilder zeigte deutlich, dass 3-Tesla-MRT-Untersuchungen oxalatinduzierte Knochenveränderungen frühzeitig nachweisen lassen und im Verlauf die Schwere der Oxalatosteopathie beurteilen lassen können.

Ein MRT-Signal entsteht durch die Anregung von Wasserstoffatomkernen, deren Gehalt sich in den verschiedenen Geweben des Körpers stark unterscheidet. In Geweben mit hohem Wasseranteil entsteht ein starkes MRT-Signal. Da Calciumoxalat ein Kristall ist, in dem kein Wasserstoff vorkommt, stellen sich diese im MRT-Bild hypointens dar. Bei progredienter systemischer Oxalose wird das fetthaltige Knochenmark zunehmend durch Calciumoxalatkristalle verdrängt, wodurch sich das MRT-Signal verändert. Die Ablagerung des Oxalats erfolgt oft nicht gleichmäßig homogen, sodass eine Zunahme der Inhomogenität des Signals detektiert werden kann mit fokalen Inhomogenitäten. Die Ergebnisse der subjektiven gutachtergestützten Untersuchung zeigten, dass diese Gesunde von PH-1 Patienten mit systemischer Oxalose unterscheiden können. Es konnte demonstriert werden, dass Patienten mit PH-1, bei denen die systemische Oxalose eine zunehmende Oxalatablagerung im Knochen bewirkt, schwere sequenzielle MRT-Veränderungen aufweisen.

In weiteren Analysen, die nicht Teil der vorliegenden Arbeit sind, wurden MRT-Bilder der PH-1 Patienten mit Patienten mit renaler Osteodystrophie verglichen. Hier konnte gezeigt werden, dass sich PH-1 Patienten von Patienten mit renaler Osteodystrophie sowie von Nicht-PH Patienten, die eine Hämodialyse erhalten unterscheiden. Patienten mit renaler Osteodystrophie wiesen im Vergleich zu PH-Patienten ein deutlich signalreicheres MRT-Bild auf mit geringerer Anzahl an Knochentrabekeln und mehr vorhandenem Fettgewebe. Die renale Osteodystrophie präsentiert sich somit im MRT-Bild gänzlich verschieden zur primären Hyperoxalurie.

Von besonderer Relevanz für zukünftige Therapieentscheidungen und das Monitoring von Patienten ist, dass bei PH-1 Patienten, die unter Hämodialyse eine RNAi-Medikation erhielten, die MRT-Beurteilung dem Verlauf des Plasmaoxalatwertes zur Bestimmung der Wirksamkeit der Behandlung überlegen war. Das MRT-Bild war ein besserer Indikator für die Verbesserung der Oxalat-Osteopathie, bzw. der systemischen Oxalose als das Plasmaoxalat, dessen Werte aufgrund der sich aus dem Gewebe lösenden Calciumoxalatkristalle fluktuierend erhöht blieben. Insbesondere im Hinblick auf eine Transplantationsentscheidung, kombinierte Leber/Nierentransplantation versus Möglichkeit einer isolierten Nierentransplantation, verspricht dies einen Fortschritt für das Therapiemonitoring. Damit kommt dem MRT in der Behandlung der primären Hyperoxalurie eine wichtige Bedeutung im klinischen Alltag zu.

Die mathematisch-statistische Analyse auf der Grundlage von 52 MRT-Intensitäts- und Texturmerkmalen konnte beim Vergleich der MRT-Parameter zwischen Patienten und gesunden Probanden statistisch signifikante Unterschiede feststellen, welche auch in der logistischen Regressionsanalyse deutlich wurden.

Eine statistisch signifikante Beziehung zwischen den MRT-Parametern, den Plasmaoxalatspiegeln und den CKD-Stadien der Patienten konnte hingegen nicht gefunden werden. Lediglich die Texturparameter „Energy“ und „GLN“ waren als vorhersagende Parameter für weitere radiologische und klinische Folgeuntersuchungen geeignet. Die Vorhersagequalität für eine systemische Oxalose war allerdings gering. Es konnte kein einziger Parameter den Ausgangspunkt oder den Schweregrad der systemischen Oxalose definieren. Es ist aber anzunehmen, dass mit weiteren MRT-Auswertungen mehr Daten vorliegen und diese in der Zukunft als Grundlage für weitere

statistische Modelle dienen können. Da die statistisch objektive Untersuchung Unterschiede zwischen gesunden und kranken Patienten zeigen konnte, ist die MRT-Untersuchung ein vielversprechender Ansatz für die nicht-invasive Diagnostik der systemischen Oxalose bei PH-1.

Neben der Speckle Echokardiografie, welche subklinische Myokarderkrankungen bereits in frühen Stadien der PH-1 erkennt, ist das Knochen-MRT ein technisches Mittel, welches in vielen spezialisierten Krankenhäusern verfügbar ist, um frühzeitig Aussagen zu Therapieentscheidungen treffen zu können (Lagies et al., 2019). Ein Vorteil der MRT ist, dass die Untersuchung ohne ionisierende Strahlung insbesondere bei Kindern auch für Langzeituntersuchungen niederschwellig anwendbar ist.

Wie in der Einleitung dargelegt, gibt es bislang kein Verfahren, das eine radiologische Erkennung der systemischen Oxalose erlaubt. So gelang es in den letzten Jahren mit anderen radiologischen Methoden nicht, frühzeitige Änderungen der Oxalatosteopathie zu erkennen (Bacchetta et al., 2016; Behnke et al., 2001; Brancaccio et al., 1981; Hage et al., 2008; Schnitzler et al., 1991). Die vorliegende Arbeit zeigt vielversprechend, dass das MRT diesen diagnostischen Mangel beheben kann. Es sind allerdings weitere Untersuchungen notwendig, um zusätzliche Daten generieren zu können. Automatisierte, KI-gestützte Auswertungen von MRT-Bildern könnten bei der Suche nach einem objektiven mathematischen Parameter zur Auswertung der Oxalatosteopathie Anwendung finden.

Es muss allerdings auf einige Limitierungen der Untersuchung hingewiesen werden. Aufgrund der geringen Prävalenz der Erkrankung ist die Zahl der teilnehmenden Probanden naturgemäß begrenzt. Zudem kann somit nur spekuliert werden, ob die verschiedenen Altersklassen sowie unterschiedlichen Krankheitsstadien einen Einfluss auf die MRT-Befunde besaßen. Einschränkend ist die fehlende systematische Durchführbarkeit einer korrelierenden Knochenbiopsie des Beckenkammes aufgrund ihrer Invasivität und der nur bedingten Vergleichbarkeit einer Beckenkammbiopsie mit dem MRT der Tibiametaphyse im Falle fokaler, nicht diffuser Oxalatablagerungen.

1.5 Zusammenfassung

Die Studie zeigt, dass ein MRT des Knochens in der Lage ist frühe Anzeichen einer systemischen Oxalose, hier der Oxalat-Osteopathie, zu erkennen und im Verlauf zu monitoren (Merz et al., 2023). Das MRT ist somit ein wichtiges Mittel in der Diagnose der Oxalat-Osteopathie. Obgleich die primäre Hyperoxalurie eine seltene Erkrankung darstellt, sollte es mit der Erhebung weiterer Daten in Zukunft möglich sein Knochenveränderungen in MRT- Bildern frühzeitig zu erkennen. Der Einsatz maschineller Algorithmen und der künstlichen Intelligenz mag hierzu beitragen. Das MRT ist bereits routinemäßig in der Detektion der systemischen Oxalose einsetzbar und trägt zur besseren Versorgung der Patienten mit PH-1 bei.

1.6 Literaturverzeichnis der deutschen Zusammenfassung

Bacchetta J, Boivin G, Cochat P. Bone impairment in primary hyperoxaluria: a review. *Pediatr Nephrol Berl Ger* 2016; 31: 1–6

Baum MA, Langman C, Cochat P, Lieske JC, Mochhala SH, Hamamoto S, et al. PHYOX2: a pivotal randomized study of nedosiran in primary hyperoxaluria type 1 or 2. *Kidney Int* 2023; 103: 207–217

Behnke B, Kemper MJ, Kruse HP, Müller-Wiefel DE. Bone mineral density in children with primary hyperoxaluria type I. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc* 2001; 16: 2236–2239

Belostotsky R, Seboun E, Idelson GH, Milliner DS, Becker-Cohen R, Rinat C, et al. Mutations in DHAPSL Are Responsible For Primary Hyperoxaluria Type III. *Am J Hum Genet* 2010; 87: 392–399

Bobrowski AE, Langman CB. Hyperoxaluria and systemic oxalosis: current therapy and future directions. *Expert Opin Pharmacother* 2006; 7: 1887–1196

Brancaccio D, Poggi A, Ciccarelli C, Bellini F, Galmozzi C, Poletti I, et al. Bone changes in end-stage oxalosis. *AJR Am J Roentgenol* 1981; 136: 935–9

Cochat P, Basmajian O. Current approaches to the management of primary hyperoxaluria. *Arch Dis Child* 2000; 82: 470–473

Cochat P, Liutkus A, Fargue S, Basmajian O, Ranchin B, Rolland MO. Primary hyperoxaluria type 1: Still challenging! *Pediatr Nephrol* 2006; 21: 1075–1081

Compagnon P, Metzler P, Samuel D, Camus C, Niaudet P, Durrbach A, et al. Long-term results of combined liver-kidney transplantation for Primary Hyperoxaluria Type 1: The French experience. *Liver Transpl* 2014: 1475-1485

Danpure CJ. Molecular aetiology of primary hyperoxaluria type 1. *Nephron Exp Nephrol* 2004; 98: 39-44

Danpure CJ. Peroxisomal alanine:glyoxylate aminotransferase and prenatal diagnosis of primary hyperoxaluria type 1. *Lancet Lond Engl* 1986; 2: 1168

Devresse A, Lhommel R, Godefroid N, Goffin E, Kanaan N. 18-Fluorodeoxyglucose positron emission computed tomography for systemic oxalosis in primary hyperoxaluria type 1. *Am J Transplant* 2022; 22: 1001–1002

Garrelfs SF, Frishberg Y, Hulton SA, Koren MJ, O’Riordan WD, Cochat P, et al. Lumasiran, an RNAi Therapeutic for Primary Hyperoxaluria Type 1. *N Engl J Med* 2021; 384: 1216–1226

Hage SE, Ghanem I, Baradhi A, Mourani C, Mallat S, Dagher F, et al. Skeletal features of primary hyperoxaluria type 1, revisited. *J Child Orthop* 2008; 2: 205–210

Hernandez JD, Wesseling K, Pereira R, Gales B, Harrison R, Salusky IB. Technical approach to iliac crest biopsy. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN* 2008; 3 Suppl 3: 164-169

Hopp K, Cogal AG, Bergstralh EJ, Seide BM, Olson JB, Meek AM, et al. Phenotype-Genotype correlations and estimated carrier frequencies of primary hyperoxaluria. *J Am Soc Nephrol* 2015; 26: 2559–2570

Hoppe B. An update on primary hyperoxaluria. *Nat Rev Nephrol* 2012; 8: 467–75.

Hoppe B, Beck BB, Milliner DS. The primary hyperoxalurias. *Kidney Int* 2009; 75: 1264–1271

Hoppe B, Graf D, Offner G, Latta K, Byrd DJ, Michalk D, et al. Oxalate elimination via hemodialysis or peritoneal dialysis in children with chronic renal failure. *Pediatr Nephrol* 1996; 10: 488–492

Hoppe B, Kemper MJ, Bokenkamp A, Langman CB. Plasma calcium-oxalate saturation in children with renal insufficiency and in children with primary hyperoxaluria. *Kidney Int* 1998; 54: 921–925

Hoppe B, Kemper MJ, Bökenkamp A, Portale AA, Cohn RA, Langman CB. Plasma calcium oxalate supersaturation in children with primary hyperoxaluria and end-stage renal failure. *Kidney Int* 1999; 56: 268–274

Hoppe B, Koch A, Cochat P, Garrelfs SF, Baum MA, Groothoff JW, et al. Safety, pharmacodynamics, and exposure-response modeling results from a first-in-human phase 1 study of nedosiran (PHYOX1) in primary hyperoxaluria. *Kidney Int* 2022; 101: 626–634

Illies F, Bonzel K-E, Wingen A-M, Latta K, Hoyer PF. Clearance and removal of oxalate in children on intensified dialysis for primary hyperoxaluria type 1. *Kidney Int* 2006; 70: 1642–1648

KDIGO. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int Suppl* 2013; 3: 5–14

Knauf F, Asplin JR, Granja I, Schmidt IM, Moeckel GW, David RJ, et al. NALP3-mediated inflammation is a principal cause of progressive renal failure in oxalate nephropathy. *Kidney Int* 2013; 84: 895–901

Kwon HW, Kim JP, Lee HJ, Paeng JC, Lee JS, Cheon GJ, et al. Radiation Dose from Whole-Body F-18 Fluorodeoxyglucose Positron Emission Tomography/Computed Tomography: Nationwide Survey in Korea. *J Korean Med Sci* 2016; 31: 69–74

Lagies R, Cate FEAUT, Feldkötter M, Beck BB, Sreeram N, Hoppe B, et al. Subclinical myocardial disease in patients with primary hyperoxaluria and preserved left ventricular ejection fraction: a two-dimensional speckle-tracking imaging study. *Pediatr Nephrol Berl Ger* 2019; 34: 2591–2600

Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009; 150: 604–612

Lorenzo V, Alvarez A, Torres A, Torregrosa V, Hernández D, Salido E. Presentation and role of transplantation in adult patients with type 1 primary hyperoxaluria and the I244T AGXT mutation: Single-center experience. *Kidney Int* 2006; 70: 1115–1119

Merz L-M, Born M, Kukuk G, Sprinkart AM, Becker I, Martin-Higueras C, et al. Three Tesla magnetic resonance imaging detects oxalate osteopathy in patients with primary hyperoxaluria type I. *Pediatr Nephrol* 2023; 38: 2083–2092

Metry EL, Garrelfs SF, Peters-Sengers H, Hulton S-A, Acquaviva C, Bacchetta J, et al. Long-Term Transplantation Outcomes in Patients With Primary Hyperoxaluria Type 1 Included in the European Hyperoxaluria Consortium (OxalEurope) Registry. *Kidney Int Rep* 2022; 7: 210–220

Monico C. Combined liver-kidney and kidney-alone transplantation in primary hyperoxaluria. *Liver Transpl* 2001; 7: 954–963

Pey AL, Albert A, Salido E. Protein homeostasis defects of alanine-glyoxylate aminotransferase: new therapeutic strategies in primary hyperoxaluria type I. *BioMed Res Int* 2013; 2013: 687658

Sas DJ, Magen D, Hayes W, Shasha-Lavsky H, Michael M, Schulte I, et al. Phase 3 trial of lumasiran for primary hyperoxaluria type 1: A new RNAi therapeutic in infants and young children. *Genet Med* 2022; 24: 654–662

Schnitzler CM, Kok JA, Jacobs DW, Thomson PD, Milne FJ, Mesquita JM, et al. Skeletal manifestations of primary oxalosis. *Pediatr Nephrol Berl Ger* 1991; 5: 193–199

Schwartz GJ, Muñoz A, Schneider MF, Mak RH, Kaskel F, Warady BA, et al. New equations to estimate GFR in children with CKD. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 629–637

Strauss SB, Waltuch T, Bivin W, Kaskel F, Levin TL. Primary hyperoxaluria: spectrum of clinical and imaging findings. *Pediatr Radiol* 2017; 47: 96–103

Syed YY. Nedosiran: First Approval. *Drugs* 2023; 83: 1729–1733

Tonnelet D, Benali K, Rasmussen C, Goulenok T, Piekarski E. Diffuse Hypermetabolic Bone Marrow Infiltration in Severe Primary Hyperoxaluria on FDG PET. *Clin Nucl Med* 2020; 45: e296–298

Vallières M, Freeman CR, Skamene SR, Naqa IE. A radiomics model from joint FDG-PET and MRI texture features for the prediction of lung metastases in soft-tissue sarcomas of the extremities. *Phys Med Biol* 2015; 60: 5471–5496

Wiggelinkhuizen J, Fisher RM. Oxalosis of bone. *Pediatr Radiol* 1982; 12: 307–9.
Williams EL, Acquaviva C, Amoroso A, Chevalier F, Coulter-Mackie M, Monico CG, et al. Primary hyperoxaluria type 1: update and additional mutation analysis of the AGXT gene. *Hum Mutat* 2009; 30: 910–917

Woerden CS van, Groothoff JW, Wanders RJA, Davin JC, Wijburg FA. Primary hyperoxaluria type 1 in The Netherlands: Prevalence and outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 273–279

2. Veröffentlichung

Pediatric Nephrology (2023) 38:2083–2092
<https://doi.org/10.1007/s00467-022-05836-3>

ORIGINAL ARTICLE



Three Tesla magnetic resonance imaging detects oxalate osteopathy in patients with primary hyperoxaluria type I

Lisa-Marie Merz¹ · Mark Born^{2,3} · Guido Kukuk² · Alois M. Sprinkart² · Ingrid Becker⁴ · Cristina Martin-Higueras^{5,6} · Bernd Hoppe⁶

Received: 12 September 2022 / Revised: 16 November 2022 / Accepted: 17 November 2022 / Published online: 6 December 2022
 © The Author(s), under exclusive licence to International Pediatric Nephrology Association 2022, corrected publication 2022

Abstract

Background With declining kidney function and therefore increasing plasma oxalate, patients with primary hyperoxaluria type I (PHI) are at risk to systemically deposit calcium-oxalate crystals. This systemic oxalosis may occur even at early stages of chronic kidney failure (CKD) but is difficult to detect with non-invasive imaging procedures.

Methods We tested if magnetic resonance imaging (MRI) is sensitive to detect oxalate deposition in bone. A 3 Tesla MRI of the left knee/tibial metaphysis was performed in 46 patients with PHI and in 12 healthy controls. In addition to the investigator's interpretation, signal intensities (SI) within a region of interest (ROI, transverse images below the level of the physis in the proximal tibial metaphysis) were measured pixelwise, and statistical parameters of their distribution were calculated. In addition, 52 parameters of texture analysis were evaluated. Plasma oxalate and CKD status were correlated to MRI findings. MRI was then implemented in routine practice.

Results Independent interpretation by investigators was consistent in most cases and clearly differentiated patients from controls. Statistically significant differences were seen between patients and controls ($p < 0.05$). No correlation/relation between the MRI parameters and CKD stages or Pox levels was found. However, MR imaging of oxalate osteopathy revealed changes attributed to clinical status which differed clearly to that in secondary hyperparathyroidism.

Conclusions MRI is able to visually detect (early) oxalate osteopathy in PHI. It can be used for its monitoring and is distinguished from renal osteodystrophy. In the future, machine learning algorithms may aid in the objective assessment of oxalate deposition in bone.

Keywords Primary hyperoxaluria · Systemic oxalosis · Bone · Oxalate osteopathy · MRI

Introduction

The three types of primary hyperoxaluria (PH) are rare autosomal recessive disorders caused by enzymatic deficiencies within the glyoxylate metabolism [1]. They are characterized by massive overproduction of endogenous oxalate which is necessarily followed by an increased excretion in urine, as oxalate is an end product of metabolism in humans.

Type I (PHI) is the most common and most severe form of the disease, with a prevalence of less than 1–3 per million [2–5]. However, according to genomic data, it is clearly underdiagnosed [6], and patients often only get their diagnosis in kidney failure or after a failed transplantation (Tx) [3, 6]. PHI is caused by a defective or mistargeted liver-specific peroxisomal enzyme called alanine glyoxylate-aminotransferase (AGT). AGT catalyzes the conversion from glyoxylate to glycine using pyridoxal-5-phosphate as a coenzyme

✉ Bernd Hoppe
 Bhoppe@hyperoxaluria-center.com

¹ Department of Pediatrics, Division of Pediatric Nephrology, University Hospital Bonn, Bonn, Germany

² Department of Diagnostic and Interventional Radiology, Bonn, Germany

³ Division of Pediatric Radiology, Bonn, Germany

⁴ Institute of Medical Statistics and Computational Biology, University of Cologne, Faculty of Medicine and University Hospital Cologne, Cologne, Germany

⁵ Institute of Biomedical Technology, CIBERER, University of La Laguna, San Cristóbal de La Laguna, Spain

⁶ German Hyperoxaluria Center, Im Mühlenbach 2 b, Bonn 53127, Germany

[3, 7]. In PHI, glyoxylate is instead converted into oxalate, which induces hyperoxaluria. Consequences of hyperoxaluria are nephrolithiasis and/or nephrocalcinosis [2, 8]. Tubular internalization of oxalate crystals induces an inflammatory response and interstitial fibrosis, thus declining kidney function and often leading to early kidney failure [3, 9]. At estimated glomerular filtration rates (eGFR) below 40 ml/min, plasma oxalate (Pox) increases $> 30 \mu\text{mol/l}$ [10]. This leads to elevated plasma CaOx saturation and to deposition of CaOx crystals in extra-renal tissues (systemic oxalosis), mainly affecting bone, arteries, eyes (in infantile oxalosis), and heart [2, 11–13].

Systemic oxalate deposits, especially oxalate osteopathy, may, however, appear already before kidney function declines. For that reason, a reliable, sensitive, and accurate method for the detection of oxalate deposits in tissue is paramount for early therapeutic intervention. This early detection remains a diagnostic challenge though. For example, X-ray only detects oxalate depositions at late stages of the disease [13]. So, currently, a biopsy of the iliac crest is gold-standard in the diagnosis of oxalate osteopathy [14, 15]. It, however, remains invasive and cannot be performed repeatedly for clinical follow-up, especially in children [16]. For that reason, a new technique would be of special interest in PHI patients treated with the new RNA interference (RNAi) medication, where repeated follow-up of systemic oxalosis in those affected with chronic kidney disease (CKD) would be necessary [17, 18].

Materials and methods

Study design

To assess oxalate deposition in patients with PHI, we performed a high-resolution 3 Tesla magnetic resonance imaging (MRI) study of the left knee/tibial metaphysis. A total of 46 patients with PHI between 6 and 64 years of age (median age: 20 years; 26 males and 20 females) and a control group of 12 healthy subjects between 10 and 52 years of age (median 23.5 years; 8 males and 4 females) were examined. PHI was proved by genetic testing (*AGXT* gene variants) [19, 20]. Standard treatment of care included high fluid intake (in non-hemodialyzed patients), magnesium and citrate preparations, and vitamin B6 in sensitive patients. Biological and clinical data are reported from patients according to their status of kidney function at time of first, study-related MRI (Table 1 and Supplemental Table 1). For all PH patients being re-evaluated for clinical reasons, all PH and bone-related parameters are provided in Supplemental Table 2.

Pox was determined with ion-chromatography/mass spectrometry as previously described [10]. GFR was calculated with the Schwartz (pediatric) or the CKD-EPI formula (adult

patients) to classify patients based on CKD stages [21, 22]. According to the classification Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K-DOQI), 11 patients each were at stage I or II, 2 at stage III, 4 at stage IV, and 18 at stage V [23]. Due to limited numbers, we merged stages II, III, and IV into one group. Thus, the groups were as follows: group 1 for CKD I, group 2 for CKD II–IV, and group 3 for CKD V (Table 1, Fig. 1). All patients in group 3, with the exception of one patient (eGFR of 12.3 ml/min), were on hemodialysis (HD). Furthermore, we classified patients based on their Pox < 30 or $> 30 \mu\text{mol/l}$ [24], the set point for plasma CaOx supersaturation and thus systemic oxalate deposition [10]. However, we also hypothesized that systemic oxalosis may start even earlier.

Additional follow-up MRI was done in 10 study patients in CKD V/HD, 12 to 36 months after the initial MRI (Fig. 1). Diagnostic MRI for oxalate osteopathy was performed in 11 further PHI patients based on clinical reasons, e.g., RNAi medication.

All methods were carried out in accordance with relevant guidelines and regulations (Declaration of Helsinki). Informed consent was obtained from patients and parents using age-related consent forms. The study was approved by ethical committees (BN 113/14, Aekno 2021473).

Magnetic resonance imaging (MRI)

Patients with PHI and healthy controls underwent MRI of the left knee/tibial metaphysis. The knee was chosen as the location since MRI is easily practicable here with routine coils and therefore is a stressless procedure. Examinations were performed using a 3 Tesla magnetic resonance system (Philips Healthcare, Netherlands) and a commercially available standard multichannel receive- and transmit-knee coil. The MRI protocol included a T1-weighted gradient echo sequence in coronal and transverse orientation (TR: 30–35 ms; TE: 11 ms; flip angle 20° ; in-plane resolution 0.18 mm/pixel; slice thickness: 0.8 mm; spacing between slices 0.4 mm). For region of interest (ROI)-based evaluation, an ROI was positioned on the transverse images in the tibial metaphysis, several slices caudal to the physis. As a reference, to standardize the signal intensity, a second ROI was placed in a homogeneous section of the lower leg muscles in the same layer. The standardized signal intensities of the individual pixels ($\text{SI} = \text{pixel value ROI} / \text{mean pixel value muscle}$) and their statistical distribution parameters were evaluated.

Analytical approach

MRI data processing and analysis

The MRI scans were evaluated independently and blinded for study category (healthy/patient) and clinical data (name,

Table 1 Distribution of clinical and biochemical data of the different study groups

	Group 1	Group 2	Group 3	All
<i>N</i>	11	17	18	46
Sex ratio (M/F)	7/4	8/9	11/7	26/20
Age (years)	15 (9–20)	20 (16–24)	28 (20–47)	20 (16–30)
Height (cm)	164 (144–180)	169 (168–182)	165 (161–175)	168 (160–180)
Weight (kg)	65 (51–86)	71 (53–88)	62 (54–86)	65 (54–86)
History of fractures	None	None	None	None
eGFR (ml/min*1.73 m ²)	111.6 (97.2–120.2)	61.95 (30.07–68.3)	7.35 (5.92–9.63)	40.17 (7.93–81.95)
Children/adults	(6/5)	(7/10)	(2/16)	(15/31)
Serum creatinine (mg/dl)	0.71 (0.44–0.92)	1.22 (1.08–2.25)	8.75 (5.64–9.58)	1.77 (1.05–7.82)
Serum calcium (mmol/l)	2.33 (2.29–2.37)	2.37 (2.29–2.44)	2.17 (1.99–2.25)	2.32 (2.21–2.39)
Serum albumin (g/l)	45.5 (42.8–47.5)	45.2 (44.8–48.5)	39.0 (33.8–42.0)	44.7 (39.1–45.9)
Urea (mg/dl)	28.0 (26.0–31.0)	44.0 (31.8–64.3)	104.5 (58.8–131.8)	50.0 (28.0–75.0)
Serum phosphate (mmol/l)	1.56 (1.32–1.76)	1.26 (1.15–1.29)	1.54 (1.34–1.87)	1.37 (1.26–1.73)
Alkaline phosphatase (U/l)	94 (73–205)	81 (68–147)	145 (79–744)	98 (73–261)
PTH (pg/ml)	21 (15–50)	34 (21–54)	258 (64–434)	44 (19–71)
Plasma oxalate (μmol/l)	10.1 (5.4–12.5)	13.5 (9.5–23.4)	70.5 (41.1–101.5)	23.40 (10.2–54.4)

Group 1 for chronic kidney disease (CKD) stage I, group 2 for CKD stage II–IV, and group 3 for CKD stage V/hemodialysis (values provided as median/quartiles). Estimated glomerular filtrate rate (eGFR, in ml/min per 1.73 m²), PTH=parathyroid hormone. Pediatric glomerular filtration rate (GFR) calculated by the Schwartz formula and adult GFR calculated by CKD-EPI formula. CKD stage 1=90–120 ml/min, CKD II–IV=15–90 ml/min, CKD stage 5≤15 ml/min and hemodialysis. Normal values for serum creatinine and alkaline phosphatase are age-dependent. Normal values for serum calcium are 2.1–2.6 mmol/l, serum phosphate 0.84–1.45 mmol/l, urea 17–43 mg/dl, albumin 35–52 g/dl, PTH 18.5–88.0 pg/ml, and plasma oxalate <7.4 μmol/l

Pox, and CKD stage) by two radiologists (MB and GK) and by a PH expert (BH). Beside this subjective analysis, we investigated whether computer-supported methods may allow a more objective assessment. For this purpose, the normalized signal intensities, their distribution parameters, and various texture parameters were computed in MATLAB®, which is a radiomic model from joint 18-FDG-PET (18-fluorodeoxyglucose positron emission computed tomography) and MRI texture characteristics (The MathWorks, Inc., Natick, Massachusetts, USA) [25]. These parameters built the basis for the statistical analysis. Details of determined features can be found in the supplements.

Statistical analysis

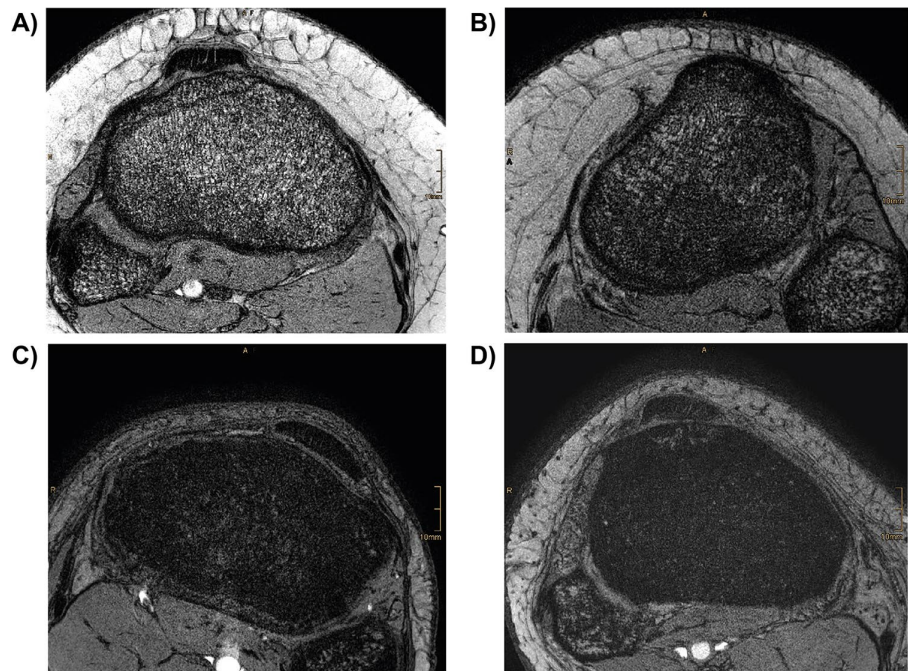
Statistical analysis was performed using R software and IBM SPSS Statistics 26. All statistical tests were

performed at a two-sided significance level of 0.05. The non-parametric Mann–Whitney U or Kruskal–Wallis tests were used to compare the 52 radiological parameters between groups.

Logistic regression analysis on PHI (yes/no) or Pox levels and ordinal regression on CKD stages were performed with backward elimination at level $p=0.05$. All MRI parameters which had a $p<0.1$ in univariate non-parametric comparisons were included in those regression analyses.

For further follow-up MRIs, only visual interpretation of the images was performed. However, the MR image was always correlated to the patients' clinical situation and the lab values taken, here Pox and markers of secondary hyperparathyroidism (Supplemental Table 2). This was done to avoid misinterpretation of bony changes to only be based on oxalate deposition.

Fig. 1 Healthy volunteer, 19 years of age (a). The netlike architecture of the trabecular system of the proximal tibia is well depicted (dark structures). In between the trabecular structures, the bright signal of bone marrow and intra-medullary fat is visualized. PHI patient, 16 years of age, with CKD stage 2 (b) shows patchy areas of low signal intensity, presumably due to early oxalate deposition. These areas increase as the disease progresses shown exemplary in two other PHI patients (patient c, 19 years of age and on HD since 2 years and patient d age 26 years and on HD since 6 years) until the bright signal of the bone marrow between the dark trabeculae has almost (c) or completely disappeared (d)



Results

Qualitative assessment of MRI in oxalate osteopathy

MRI interpretation (exemplary ROI work sheet as Supplemental Fig. 1) from three independent reviewers revealed a definitive difference between healthy controls and patients with PHI and within the latter, a distribution to stages of CKD. It is also related to the heterogeneity of the clinical course of the patients. Fig. 1 depicts the differences in severity in 3 patients with different ages and different CKD stages or time on maintenance HD, respectively, in comparison to a healthy control. Routine laboratory values were in accordance with CKD, but no overt hyperphosphatemia or secondary hyperparathyroidism were found (Table 1) at the date of the first MRI.

In the 21 PHI patients with follow-up MRI, the scans also demonstrated the known clinical heterogeneity of oxalate osteopathy. For instance, MRI depicted no oxalate-related changes in a patient with CKD 4–5 at first MRI (Fig. 2a). When HD was necessary later (Fig. 2b), bone MRI remained unaffected. However, with the development of severe secondary hyperparathyroidism, the MR pattern changed (Fig. 2c). About 15 months later, significant osteoporotic lesions, hence much more fatty marrow and less bone trabeculae, but no oxalate depositions were visible (Fig. 2d).

In another patient with declining kidney function and then on HD, only slight lesions were found (Supplemental Fig. 2), but severe deteriorations were observed in a patient with long-term HD (Supplemental Fig. 3). No amelioration

was found in a patient years after successful liver, but failed kidney transplantation (Fig. 3). In this patient, a bone biopsy was performed due to clinical reasons (at the primary care-taking site), so that we could correlate the MR images to a significant bony oxalate content (Fig. 3g, h).

Amelioration of the bony structure, however, was visible in long-term follow-up in a young PHI patient on HD (5–6 times $\times$ 5 h/week) under compassionate use treatment with RNAi medication (Nedosiran) for 18 months now (Fig. 4).

Quantitative evaluation of study MRI scans of PHI patients and controls

Beside the investigator-dependent assessment of the MRI scans, a more objective evaluation was attempted by performing a ROI-based pixelwise analysis of signal intensities. Six of 52 MRI parameters used showed statistically significant differences that distinguished patients from controls (s, peak_position, LZE, LZLGE, ZSV, and Variance6), and four more parameters had $p < 0.1$ (Sigma, Entropy, GLV4, Variance) in univariate comparisons (Table 2). Using backward elimination, the final logistic regression model for these parameters included s, LZE, Variance6, Sigma, and GLV4 (sensitivity 98%, specificity 67%, Nagelkerke R square 0.58) (Table 3).

In univariate comparison of the 52 MRI parameters with Pox levels in PHI patients, only perc_of_vox_gt_peak_in_hist and Energy showed significant differences. For perc_of_vox_gt_mean, Entropy2, RLV, and LZE, the p value was less than 0.1 (Table 4). The logistic regression analysis showed

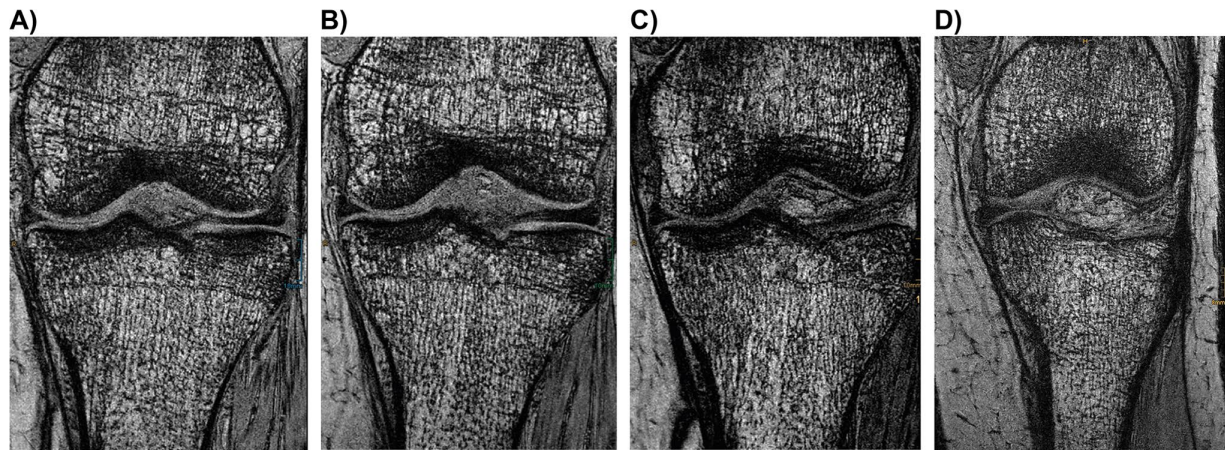


Fig. 2 Female patient, age 37 at diagnosis, (*AGXT* Mutation c.508G>A homozygous) already in CKD stage 4, start of HD in 11/2019 with 6×3 h regimen, Vitamin B6 medication. Minor bone changes at time of diagnosis in January 2017 (**a**), without deterioration of bone MRI over time (January 2018, (**b**)), but already with osteoporotic appearance at age 40.8 years (**c**). Aggravated osteopo-

rosis, i.e., much fatty marrow and only a few bone trabeculae at last follow up at age 42 (**d**), with secondary hyperparathyroidism (serum phosphate 2.29 $\mu\text{mol/l}$ (1.05–1.85), calcium 2.1 mmol/l (2.1–2.6), ionized calcium 0.93 mmol/l , and PTH 1266.3 pg/ml (18.5–88). No bone pain, no fractures

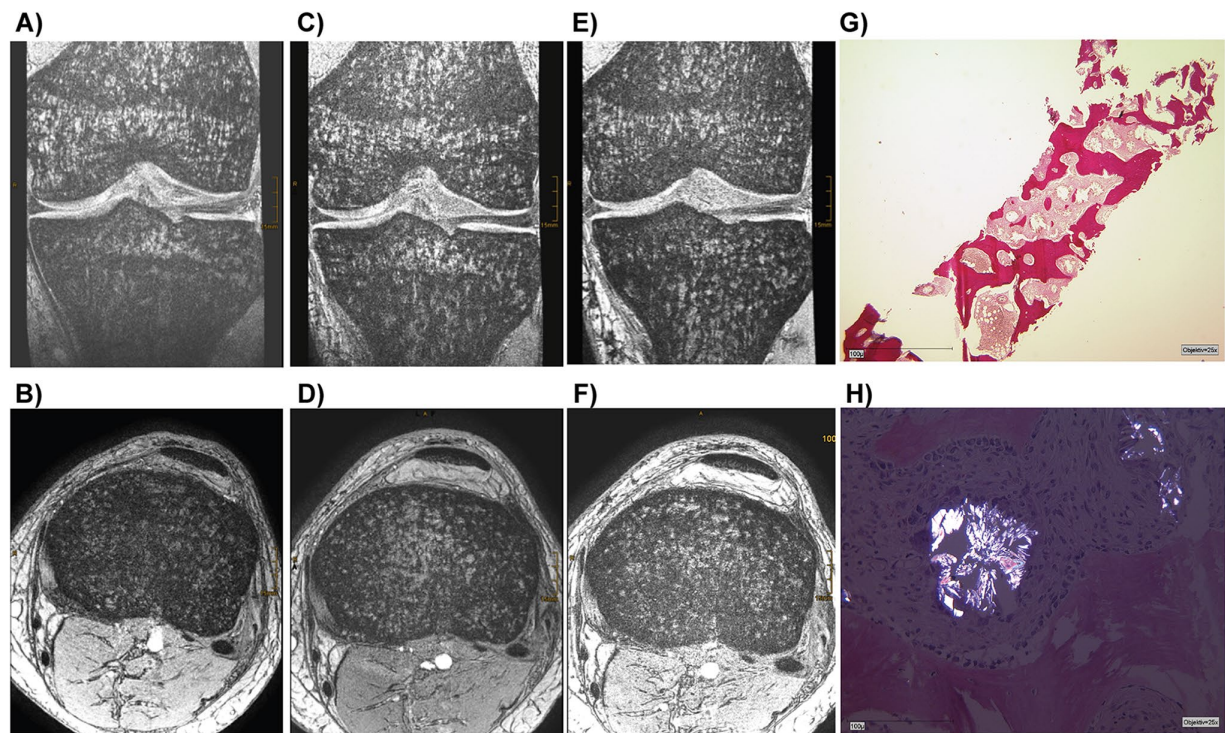


Fig. 3 Severely affected now 31-year-old patient (*AGXT* variants c.466G>A, homozygous) post hemodialysis for 3 years and consecutive combined liver kidney transplantation with prompt kidney graft loss a week after transplantation. First MRI 1 year after transplantation (**a** and **b**), very faint deterioration 1 year later (**c** and **d**). Nearly identical MRI in the follow-up 2 years later (**e** and **f**). He frequently

complained about pain in his left knee and also his ankles, but he never experienced a fracture. Bone biopsy at 3 years post transplantation revealed still 30% of bone marrow being replaced with birefringent calcium-oxalate crystal depositions (overview (**g**) and under polarized light (**h**))

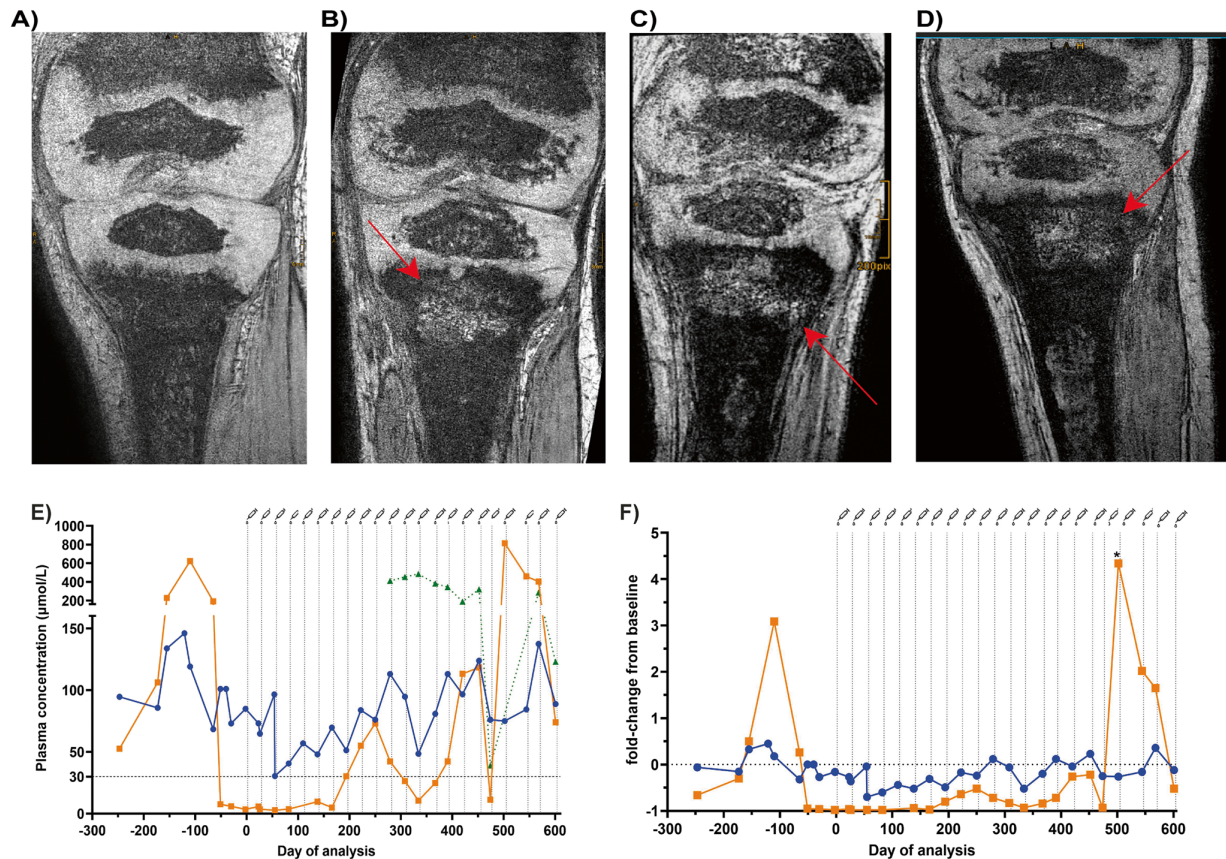


Fig. 4 At the date of the first MRI 5.5-year-old boy with PH type I (AGXT variants c.508G > A, homozygous), post $2 \times$ lithotripsies, acute kidney failure at age 3 years and 4 months, and since on maintenance hemodialysis (HD) treatment, 3×3 h per week at home country, and 6×3 h per week since age 4.5 years, when treatment was started at the German hyperoxaluria center. Since then, he has also received vitamin B6 medication. The first MRI shows massive oxalate osteopathy with the complete destruction of the trabecular system (A). He received compassionate use Nedosiran therapy (RNA interference medication from Dicerna Pharmaceuticals, a Novo Nordisk subsidiary, USA, Denmark) in a dosage of 3.5 mg/kg body weight per month subcutaneously, since age 7 years and 10 months. Beginning amelioration of the bony changes in the metaphysis of the tibia at first follow-up (age 8 years and 1 month, B). However, this was not

accompanied by amelioration of clinical symptoms (bone pain, unable to move). The third MRI (C) at age 8 years and 9 months now showed improvement in the trabecular structure of the bone and a reduction of the oxalate content in the distal metaphysis of the femur (arrow). Primarily consecutive decline of plasma oxalate values from 85 to 146 $\mu\text{mol/l}$ before the start of Nedosiran treatment to 48.9 $\mu\text{mol/l}$ at the time of this MRI (C, E). Thereafter, further amelioration of the bony structure is shown in the MRI performed at age 9.2 years set the argument that fluctuating plasma oxalate levels between 75 and 141 $\mu\text{mol/l}$ can be interpreted as being induced by dissolving oxalate depositions (D–F). Also, his bone pain diminished at this point in time, and he started moving again. * mal-compliance to vitamin B6 medication, as serum level was undetectable. Blue, plasma oxalate (Pox); orange, plasma glycolate (Pglyc); green, vitamin B6 (VB6)

Energy as the only significant influencing factor ($p=0.028$) while the prediction quality was moderate (sensitivity 73%, specificity 35%, Nagelkerke R square 0.17).

Energy, peak_position, and LZE were significantly different between CKD levels of all study patients including controls in univariate non-parametric comparisons of MRI parameters. An ordinal regression on CKD with MRI parameters with $p < 0.1$ in univariate comparisons (Energy, peak_position, LZE, perc_of_vox_gt_peak_in_hist, GLN, LZLGE, ZSV, Variance6) resulted in LZE as

the only predictive factor ($p=0.013$) but with a low congruence (Nagelkerke Pseudo-R square 0.15). Energy and GLN were significantly different between CKD levels of PHI patients in univariate non-parametric comparisons of MRI parameters. An ordinal regression on CKD with MRI parameters with $p < 0.1$ in univariate comparisons (Energy, GLN, peak_of_vox_gt_peak_in_hist, perc_of_vox_gt_mean) was inconclusive.

Table 2 The Mann–Whitney U test results of parameters of the texture analysis with $p < 0.1$ comparing PHI patients to controls

Parameter	PHI patients median (quartiles)	Controls median (quartiles)	<i>p</i> -value
s	7.1 (2.0–15.2)	16.7 (11.7–22.2)	0.033
peak_position	13.2 (10.7–19.6)	27.4 (15.0–29.7)	0.016
LZE	10.9 (9.8–12.2)	9.9 (9.4–10.4)	0.030
LZLGE	0.69 (0.59–0.80)	0.62 (0.57–0.65)	0.017
ZSV	0.000104 (0.000085–0.000135)	0.000135 (0.000115–0.000147)	0.040
Variance6	67.9 (44.6–100.4)	233.2 (70.3–322.7)	0.029
Sigma	11.1 (9.5–13.5)	20.3 (10.4–24.3)	0.088
Entropy	0.015 (0.008–0.031)	0.006 (0.003–0.020)	0.068
GLV4	0.0020 (0.0016–0.0028)	0.0027 (0.0021–0.0028)	0.050
Variance	0.0334 (0.0326–0.0349)	0.0329 (0.0320–0.0334)	0.074

Table 3 Logistic regression on PHI/controls

Parameter	Regression coefficient	<i>p</i>	OR (95% CI)*
S	−0.455	0.005	0.64 (0.46–0.87)
LZE	2.496	0.010	12.14 (1.80–81.84)
Variance6	0.056	0.010	1.06 (1.01–1.10)
Sigma	−0.971	0.010	0.38 (0.18–0.79)
GLV4 * 1000	2.159	0.049	8.66 (1.01–74.20)

*OR, odds ratio; CI, confidence interval

Discussion

The study demonstrates that even early oxalate osteopathy can be visualized with 3 Tesla MRI. In patients on maintenance HD and deteriorating clinical course, more severe alterations in sequential MRI scans were confirmed and distinguished from renal osteodystrophy, but also from non-PH patients on HD with significantly elevated Pox levels over time (Supplemental Fig. 4). Efficacy of treatment and amelioration of oxalate osteopathy was validated in repeated MRI. Therefore, this non-radiation method is an appropriate tool for early detection and long-term follow-up of oxalate deposition in bone. In PHI patients on HD receiving RNAi treatment, MRI was the better efficacy parameter as Pox.

In MRI, the signal is generated by hydrogen nuclei of the examined tissue. Since calcium-oxalate is a crystal (CaC_2O_4) in which no hydrogen is present, deposits do not contribute to the signal and hence appear hypointense. The average value of the signal intensity of the individual pixels decreases with increasing oxalate content, because the spaces between the trabeculae, normally filled with fat marrow, are increasingly occupied by CaOx. The oxalate deposition does not always occur homogeneously, but focally, so that an increasing inhomogeneity of the signal distribution was found. In the course of life, the hematopoietic marrow

is increasingly replaced by fat marrow, which has a very bright signal on both T1 and T2 weighted MR tomography. But also, the bone mass decreases, which is primarily reflected in a reduction of trabeculae that do not give a signal in the MRI and are therefore dark. With the sequence used here, an increasingly bright internal signal of the marrow cavity would be expected with a reduction in the trabecular network with increasing age. Therefore, the MRI appearance in renal osteodystrophy is the complete opposite to oxalate osteopathy. It provides a bright picture illustrating significant osteoporotic lesions, thus much more fatty marrow and less bone trabeculae.

There is a constant flow of oxalate into bone, and the bone depicts the development of deposits over a longer period of time; hence, the MRI does not necessarily correlate to the current Pox value. On the other hand, as shown in Fig. 3, bone MRI correlates to the bone biopsy done in this patient.

As a visual evaluation is subjective, we additionally investigated whether a mathematical assessment of the signals of the individual pixels by quantitative measurements may provide more objective results. For this purpose, a texture analysis based on different MRI intensity and texture features was used. Comparing the MRI parameters of the healthy subjects versus patients, a statistically significant difference was demonstrated, which was also obvious in the logistic regression analysis.

However, a regression analysis did not allow an adequate evaluation based on the MRI parameters related to Pox or CKD stages in patients. For clinical and radiological follow-up, only two texture analytes, namely Energy and GLN, were possible discriminating factors; however, prediction quality was low. Consequently, no single parameter defining the starting point or the severity of systemic oxalosis was identified. Even though PHI is rare, it should be possible to impute enough data into a machine learning algorithm, so that the interpretation of bone changes by computed MRI methods is feasible. Placing MRI now into routine use, more experience and more information are acquired to exploit such a mathematical model. The

Table 4 The Mann–Whitney U test results of parameters of the texture analysis with $p < 0.1$ comparing PHI patients with Pox levels $< 30 \mu\text{mol/l}$ and $> 30 \mu\text{mol/l}$

Parameter	PHI patients Pox $< 30 \mu\text{mol/l}$	PHI patients Pox $> 30 \mu\text{mol/l}$	<i>p</i> -value
perc_of_vox_gt_peak_in_hist	0.598 (0.565–0.615)	0.578 (0.548–0.599)	0.046
Energy	0.0180 (0.0175–0.0190)	0.0187 (0.0180–0.0197)	0.022
perc_of_vox_gt_mean	0.456 (0.447–0.478)	0.468 (0.467–0.481)	0.076
Entropy2	6.16 (6.14–6.22)	6.11 (6.07–6.20)	0.054
RLV	0.000782 (0.000754–0.000848)	0.000745 (0.000697–0.000826)	0.060
LZE	10.42 (9.61–11.79)	11.79 (10.09–13.97)	0.076

statistically significant differences between healthy controls and PHI patients already indicate that an objective evaluation based on quantitative methods is possible.

Several imaging procedures were recommended as diagnostic tools for oxalate osteopathy [27], but none were finally implemented into routine clinical practice. In X-ray osteosclerosis, osteopenia, lytic and sclerotic lesions, and other variable changes are visible, which occur rather late in the course of the disease [15, 28–30]. Therefore, other diagnostic tools such as peripheral quantitative computed tomography (pQCT), high resolution (HR) pQCT, and dual-energy X-ray absorptiometry (DXA or DEXA) were used to detect bone abnormalities early. An increased trabecular and cortical bone density was found in PHI patients with kidney failure measuring bone mineral density (BMD) with pQCT [12]. In later studies with HR-pQCT, the volumetric bone mineral density (vBMD) was analyzed [14], and a trend toward lower vBMDs in PHI patients independent of kidney function or kidney replacement therapy was observed [12]. No association between HR-pQCT results and Pox levels was seen. These conflicting results show a lack of sensitivity to detect early stages of oxalate osteopathy. In addition, X-ray, pQCT, HR-pQCT, and DEXA use ionizing radiation, and frequent use should be avoided. Also, 18-FDG-PET/CT was described as a potential tool to detect systemic oxalosis [31, 32], but its applicability for easy long-term follow-up is hampered by radiation dosage, at least in the pediatric patient [33].

Using bone MRI now in our clinical routine, the discrimination of the severity of oxalate osteopathy and distinction from renal osteodystrophy is possible. Next to speckle tracking echocardiography, bone MRI, a technique available in all specialized hospitals, can be an important imaging procedure regarding treatment decisions [34]. This may especially be true for those patients in kidney failure treated with RNAi medications, in whom liver transplantation should be avoided. With ameliorating bone MRI and speckle findings, but not with fluctuating Pox, control of treatment efficacy is adequately possible (Fig. 4).

Limitations

Only a small number of patients per CKD group were analyzed. Furthermore, inclusion of patients of different ages and in different stages of the disease may have had an impact. Diagnosis of early systemic oxalosis remains a challenge as PHI is often only diagnosed very late [33].

Conclusion

This study shows that MRI is able to visually detect early signs, but also to monitor oxalate osteopathy in PHI. The establishment of MRI in routine clinical follow-up represents an important step in early diagnosis of oxalate osteopathy. In the future, machine learning algorithms may aid in the objective assessment of bone oxalate level.

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s00467-022-05836-3>.

Acknowledgements We thank Mrs. Brigitte Baer and Dr. Lodovica Borghese for their assistance in screening laboratory data.

Funding This project has received funding in part from the German Research Foundation (DFG; Grant within the SFB/TRR 57 to BH). CMH is funded by a *Juan de la Cierva* postdoctoral grant both from the Spanish Ministry of Science (Reference FJC2018-036199-I) and the German primary hyperoxaluria self support group (PH-Selbsthilfe).

Data availability All anonymized clinical data are available in the supplemental files. All anonymized patient data are included in the German Hyperoxaluria PH Registry (www.ph-registry.net).

Declarations

Conflict of interest BH has been an employee, and CMH is a consultant of Dicerna Pharmaceuticals, a Novo Nordisk subsidiary, Lexington, USA.

References

1. Bobrowski AE, Langman CB (2006) Hyperoxaluria and systemic oxalosis: current therapy and future directions. Expert Opin

- Pharmacother 7:1887–1896. <https://doi.org/10.1517/14656566.7.14.1887>
2. Hoppe B, Beck BB, Milliner DS (2009) The primary hyperoxalurias. *Kidney Int* 75:1264–1271. <https://doi.org/10.1038/ki.2009.32>
3. Hoppe B (2012) An update on primary hyperoxaluria. *Nat Rev Nephrol* 8:467–475. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2012.113>
4. Pey AL, Albert A, Salido E (2013) Protein homeostasis defects of alanine-glyoxylate aminotransferase: new therapeutic strategies in primary hyperoxaluria type I. *Biomed Res Int* 2013:687658. <https://doi.org/10.1155/2013/687658>
5. van Woerden CS, Groothoff JW, Wanders RJA, Davin JC, Wijburg FA (2003) Primary hyperoxaluria type 1 in The Netherlands: prevalence and outcome. *Nephrol Dial Transplant* 18:273–279. <https://doi.org/10.1093/ndt/18.2.273>
6. Hopp K, Cogal AG, Bergstralh EJ, Seide BM, Olson JB, Meek AM, Lieske JC, Milliner DM, Harris PC (2015) Phenotype-Genotype correlations and estimated carrier frequencies of primary hyperoxaluria. *J Am Soc Nephrol* 26:2559–2570. <https://doi.org/10.1681/ASN.2014070698>
7. Danpure CJ (1968) Peroxisomal alanine:glyoxylate aminotransferase and prenatal diagnosis of primary hyperoxaluria type 1. *Lancet* 2:1168. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(86\)90584-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(86)90584-2)
8. Cochat P, Liutkus A, Fargue S, Basmaison O, Ranchin B, Rolland MO (2006) Primary hyperoxaluria type 1: still challenging! *Pediatr Nephrol* 21:1075–1081. <https://doi.org/10.1007/s00467-006-0124-4>
9. Knauf F, Asplin JR, Granja I, Schmidt IM, Moeckel GW, David RJ, Flavell RA, Aronson PS (2013) NALP3-mediated inflammation is a principal cause of progressive renal failure in oxalate nephropathy. *Kidney Int* 84:895–901. <https://doi.org/10.1038/ki.2013.207>
10. Hoppe B, Kemper MJ, Bökenkamp A, Langman CB (1998) Plasma calcium-oxalate saturation in children with renal insufficiency and in children with primary hyperoxaluria. *Kidney Int* 54:921–925. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.1998.00066.x>
11. Behnke B, Kemper MJ, Kruse HP, Müller-Wiefel DE (2001) Bone mineral density in children with primary hyperoxaluria type I. *Nephrol Dial Transplant* 16:2236–2239. <https://doi.org/10.1093/ndt/16.11.2236>
12. Cochat P, Basmaison O (2000) Current approaches to the management of primary hyperoxaluria. *Arch Dis Child* 82:470–473. <https://doi.org/10.1136/adc.82.6.470>
13. Bacchetta J, Boivin G, Cochat P (2016) Bone impairment in primary hyperoxaluria: a review. *Pediatr Nephrol* 31:1–6. <https://doi.org/10.1007/s00467-015-3048-z>
14. Schnitzler CM, Kok JA, Jacobs DW, Thomson PD, Milne FJ, Mesquita JM, King PC, Fabian VA (1991) Skeletal manifestations of primary oxalosis. *Pediatr Nephrol* 5:193–199. <https://doi.org/10.1007/BF01095951>
15. Lorenzo V, Alvarez A, Torres A, Torregrosa V, Hernández D, Salido E (2006) Presentation and role of transplantation in adult patients with type 1 primary hyperoxaluria and the I244T AGXT mutation: Single-center experience. *Kidney Int* 70:1115–1119. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5001758>
16. Hernandez JD, Wesseling K, Pereira R, Gales B, Harrison R, Salusky IB (2008) Technical approach to iliac crest biopsy. *Clin J Am Soc Nephrol* 3(Suppl 3):S164–169. <https://doi.org/10.2215/CJN.00460107>
17. Garrelfs SF, Frishberg Y, Hulton SA, Koren MJ, O'Riordan WD, Cochat P, Deschênes G, Shasha-Lavsky H, Saland JM, Van't Hoff WG, Fuster DG, Magen D, Mochhala SH, Schalk G, Simkova E, Groothoff JW, Sas DJ, Meliambro KA, Lu J, Sweetser MT, Garg PP, Vaishnav AK, Gansner JM, McGregor TL, Lieske JC; ILLUMINATE-A Collaborators (2021) Lumasiran, an RNAi therapeutic for primary hyperoxaluria type 1. *N Engl J Med* 384:1216–1226. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa2021712>
18. Hoppe B, Koch A, Cochat P, Garrelfs SF, Baum MA, Groothoff JW, Lipkin G, Coenen M, Schalk G, Amrite A, McDougall D, Barrios K, Langman CB (2022) Safety, pharmacodynamics, and exposure-response modeling results from a first-in-human phase 1 study of nedosiran (PHYOX1) in primary hyperoxaluria. *Kidney Int* 101:626–634. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2021.08.015>
19. Danpure CJ (2004) Molecular aetiology of primary hyperoxaluria type 1. *Nephron Exp Nephrol* 98:e39–44. <https://doi.org/10.1159/000080254>
20. Williams EL, Acquaviva C, Amoroso A, Chevalier F, Coulter-Mackie M, Monico CG, Giachino D, Owen T, Robbiano A, Salido E, Waterham H, Rumsby G (2009) Primary hyperoxaluria type 1: update and additional mutation analysis of the AGXT gene. *Hum Mutat* 30:910–917. <https://doi.org/10.1002/humu.21021>
21. Schwartz GJ, Muñoz A, Schneider MF, Mak RH, Kaskel F, Warady BA, Furth SL (2009) New equations to estimate GFR in children with CKD. *J Am Soc Nephrol* 20:629–637. <https://doi.org/10.1681/ASN.2008030287>
22. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, Feldman HI, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Greene T, Coresh J; CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) (2009) A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 150:604–612. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-150-9-200905050-00006>
23. KDIGO (2013) KDIGO 2012 Clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl* 3:5–14
24. Hoppe B, Kemper MJ, Bökenkamp A, Portale AA, Cohn RA, Langman CB (1999) Plasma calcium oxalate supersaturation in children with primary hyperoxaluria and end-stage renal failure. *Kidney Int* 56:268–274. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.1999.00546.x>
25. Vallières M, Freeman CR, Skamene SR, El Naqa I (2015) A radiomics model from joint FDG-PET and MRI texture features for the prediction of lung metastases in soft-tissue sarcomas of the extremities. *Phys Med Biol* 60:5471–5496. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/60/14/5471>
26. Strauss SB, Waltuch T, Bivin W, Kaskel F, Levin TL (2017) Primary hyperoxaluria: spectrum of clinical imaging findings. *Pediatr Radiol* 47:96–103. <https://doi.org/10.1007/s00247-016-3723-7>
27. Wiggelinkhuizen J, Fisher RM (1982) Oxalosis of bone. *Pediatr Radiol* 12:307–309. <https://doi.org/10.1007/BF00973200>
28. Brancaccio D, Poggi A, Ciccarelli C, Bellini F, Galmozzi C, Poletti I, Maggiore (1981) Bone changes in end-stage oxalosis. *AJR Am J Roentgenol* 136:935–939. <https://doi.org/10.2214/ajr.136.5.935>
29. El Hage S, Ghanem I, Baradhi A, Mourani C, Mallat S, Dagher F, Kharrat K (2008) Skeletal features of primary hyperoxaluria type 1, revisited. *J Child Orthop* 2:205–210. <https://doi.org/10.1007/s11832-008-0082-4>
30. Devresse A, Lhommel R, Godefroid N, Goffin E, Kanaan N (2022) 18-Fluorodeoxyglucose positron emission computed tomography for systemic oxalosis in primary hyperoxaluria type 1. *Am J Transplant* 22:1001–1002. <https://doi.org/10.1111/ajt.16887>
31. Tonnelet D, Benali K, Rasmussen C, Goulenok T, Piekarski E (2020) Diffuse hypermetabolic bone marrow infiltration in severe primary hyperoxaluria on FDG PET. *Clin Nucl Med* 45:e296–e298. <https://doi.org/10.1097/RLU.0000000000003047>
32. Kwon HW, Kim JP, Lee HJ, Paeng JC, Lee JS, Cheon GJ, Lee DS, Chung JK, Kang KW (2016) Radiation dose from whole-body F-18 fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography: nationwide survey in Korea. *J Korean Med Sci* 31(Suppl 1):S69–74. <https://doi.org/10.3346/jkms.2016.31.S1.S69>
33. Lagies R, Udink Ten Cate FEA, Feldkötter M, Beck BB, Sreeram N, Hoppe B, Herberg U (2019) Subclinical myocardial disease in patients with primary hyperoxaluria and preserved left ventricular

- ejection fraction: a two-dimensional speckle-tracking imaging study. *Pediatr Nephrol* 34:2591–2600. <https://doi.org/10.1007/s00467-019-04330-7>
34. Van Der Hoeven SM, Van Woerden CS, Groothoff JW (2012) Primary hyperoxaluria Type 1, a too often missed diagnosis and potentially treatable cause of end-stage renal disease in adults: results of the Dutch cohort. *Nephrol Dial Transplant* 27:3855–3862. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfs320>

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Springer Nature or its licensor (e.g. a society or other partner) holds exclusive rights to this article under a publishing agreement with the author(s) or other rightsholder(s); author self-archiving of the accepted manuscript version of this article is solely governed by the terms of such publishing agreement and applicable law.

3. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich allen beteiligten Personen danken, die mich bei der Anfertigung meiner Dissertation unterstützt haben.

Mein besonderer Dank gilt meinen Doktorvätern Herrn Prof. Dr. med. Bernd Hoppe und Herrn PD Dr. med. Mark Born für die hervorragende Betreuung und Unterstützung in den letzten Jahren. Die gesamte Zeit standen Sie mir stets mit fachlichem Rat zur Seite. Außerdem möchte ich mich bei allen weiteren Mitwirkenden des Papers für die inhaltliche Beiträge und die gute Zusammenarbeit bedanken.

Zuletzt möchte ich mich bei meiner Familie und insbesondere meinem Ehemann Jonas für ihre unermüdliche Geduld und ihren Zuspruch bedanken. Danke, dass ihr immer ein offenes Ohr für mich hattet.