

Programma

09.00 – 09.30	Ontvangst en inschrijving
09.30 – 09.40	Opening <i>Dr. F.A.J.T.M. van den Bergh</i>
	OCHTENDPROGRAMMA
09.40 – 10.25	Metabole Ziekten bij jongeren <i>Prof.dr. F.A. Wijburg</i>
10.25 – 10.55	Hielprikscreening laboratorium <i>Dr. E.A. Kemper-Proper</i>
10.55 – 11.25	Koffie en bezoek expositie
11.25 – 12.05	Hielprikscreening klinisch <i>Dr. M. Williams</i>
12.05 – 12.50	Metabole ziekten bij ouderen: Lysosomale stapelingsziekten <i>Dr. C.E.M. Hollak</i>
12.50 – 13.50	Lunch en bezoek expositie
	MIDDAGPROGRAMMA
13.50 – 14.50	Casuïstiek werkgroepen <i>Dr. M. Duran, Dr. M. den Heijer, Dr. C.E.M. Hollak, Dr. R.H.J. Maatman, Dr. G.J.G. Ruijter, Dr. M. Williams</i>
14.50 – 15.35	Diagnostiek metabole ziekten <i>Dr. M. Duran</i>
15.35 – 16.05	Koffie en bezoek expositie
16.05 – 16.50	Metabole ziekten bij ouderen: galactosemie en acute presentatie bij ouderen <i>Dr. M. den Heijer</i>
16.50	Borrel

Sprekers

Dr. M. Duran

Klinisch Chemicus, Lab. Genetische Metabole Ziekten
Academisch Medisch Centrum, Amsterdam

Dr. M. den Heijer

Internist-endocrinoloog, Afdeling Interne Geneeskunde/Endocrinologie
UMC St. Radboud, Nijmegen

Dr. C.E.M. Hollak

Internist erfelijke stofwisselingsziekten, Afdeling Inwendige Geneeskunde
Academisch Medisch Centrum, Amsterdam

Dr. E.A. Kemper-Propert

Klinisch Chemicus, Algemeen Klinisch Laboratorium
IJsselland Ziekenhuis, Capelle a/d IJssel

Dr. M. Williams

Kinderarts metabole ziekten, Afdeling Kindergeneeskunde
Erasmus Medisch Centrum, Rotterdam

Prof.dr. F.A. Wijburg

Kinderarts, Afdeling Metabole Ziekten
Academisch Medisch Centrum, Amsterdam

Organisatie

Georganiseerd namens de NVKC en VKGN

Dr. F.A.J.T.M. van den Bergh	Medisch Spectrum Twente Enschede
Dr. I. Joosten	UMC St Radboud Nijmegen
Dr. R.G.H.J. Maatman	Ziekenhuisgroep Twente Almelo/Hengelo
Dr. G.J.G. Ruijter	Erasmus Medisch Centrum Rotterdam
Dr.ing. M.A.M.A. Thijssen	Ziekenhuisgroep Twente Almelo/Hengelo

Inhoud

	Pag.
Metabole ziekten bij jongeren <i>Prof.dr. F.A. Wijburg</i>	7
Neonatale screening: het screeningslaboratorium <i>Dr. E.A. Kemper-Propert</i>	33
Uitbreiding neonatale screening in Nederland. Problemen vanuit de klinische setting toegelicht. Gegevens vanuit de regio Rotterdam <i>Dr. M. Williams</i>	39
Lysosomal storage disorders <i>Dr. C.E.M. Hollak</i>	41
Laboratoriumdiagnostiek van erfelijke metabole ziekten <i>Dr. M. Duran</i>	58
Metabole ziekten bij ouderen: galactosemie en acute presentatie bij ouderen <i>Dr. M. den Heijer</i>	66

Sponsors

Deze PAOKC-cursus Erfelijke metabole ziekten wordt mede mogelijk gemaakt door bijdragen van de onderstaande sponsors:

Applied Biosystems



Sigma-tau



Orphan Europe



Swedish Orphan



Nutricia

NUTRICIA

Genzyme

genzyme

Waters

Waters
THE SCIENCE OF WHAT'S POSSIBLE.™

NUTRICIA

METABOLE ZIEKTEN BIJ KINDEREN (ACUTE PRESENTATIES)

F.A. Wijburg, kinderarts metabole ziekten

Inleiding

Metabole ziekten kunnen zich op elke leeftijd presenteren. Naast de meer chronische vorm van presenteren met klachten als geestelijke- en/of lichamelijke ontwikkelingsachterstand, vermoeidheid, epileptische aanvallen, huidafwijkingen etc., kunnen metabole ziekten zich ook presenteren met acute, vaak levensbedreigende, symptomen. Bij de volgende klinische verschijnselen dient **ook** aan een metabole ziekte gedacht te worden i.p.v. een:

- verminderd bewustzijn, eventueel met convulsies
- (andere) symptomen van hypoglycaemie of acidose (zweeten, tachypnoe etc.)
- een atypisch klinisch beloop van een 'normale' aandoening zoals sepsis
- altijd in de differentiaal diagnose van:
 - o (sub-)acuut leverfalen
 - o cardiomyopathie
 - o "wiegedood" of ALTE (life-threatening event)

Algemeen Laboratoriumonderzoek

Indien een metabole ziekte in de differentiaal diagnose wordt opgenomen van een patiënt met een (sub-)acute ziektegeschiedenis, dient altijd tenminste het volgende laboratoriumonderzoek te worden verricht:

- glucose (bij voorkeur plasma glucose, eventueel 'bed-side'), bij voorkeur direct bij de acute presentatie
- bloedgas (capillair, eventueel veneus)
- ammoniak (heparinebloed, buisje op 'ijs', direct naar laboratorium) - veneus afnemen (arterieel is niet nodig!)

- laktaat (pyruvaat is niet direct nodig en alleen van belang indien de plasma laktaat concentratie duidelijk verhoogd is)
- volledig bloedbeeld
- chemie (Na, K, Cl, CK, ASAT, ALAT) - bereken een anion-gap indien er sprake is van een metabole acidose
- crisis heparine plasma (of eventueel een bloed-spot op een hielprik kaartje)
- crisis urine (geen 24-uurs urine, maar 1e portie(s) - probeer ongeveer 20 ml te verkrijgen), eventueel stikken op keton-lichamen (bij hypoglycaemie)
- Bij levensbedreigende situatie of na overlijden: fibroblasten kweek. Huidbiopt met huid-stans of met mesje. Steriel afnemen en bewerken (huid desinfecteren, geen jodium) en bewaren in kweekmedium of in fysiologisch zout bij kamertemperatuur. Een fibroblastenkweek kan tot 72 uur na overlijden succesvol afgenomen worden.

Eerste behandeling

Na bloedafname (zie algemeen lab onderzoek):

- Bij hypoglycemie: 0.25 gram glucose per kg (glucose 10%, 2,5 ml/kg) in 3 minuten i.v., gevolgd door onderhoudsinfuus. Zie ook glucosebehoefte en het protocol hypoglycemie.
- Bij hyperammoniaemie of bij verdenking organische zuren syndroom (metabole acidose, verhoogde anion-gap, geen sterk verhoogd laktaat): onderhoudsinfuus glucose. Zie ook de protocollen het zure kind en het suffe kind.
- Onderhoudsinfuus glucose: 6 - 8 milligram glucose per kg per minuut continu i.v. (glucose 10% 3.6 - 4.8 ml/kg/uur). Zie ook glucosebehoefte, zeker bij oudere kinderen.
- Stop de inname van mogelijk schadelijke stoffen (bijv. eiwit, galactose, fructose, vetten).
- Indien een hyperglycaemie ontstaat, overwegen kortwerkend insuline continu i.v. te geven (bijvoorbeeld actrapid 0.05 tot 0.1 E per kg per uur continu i.v.) in plaats van verlagen van het glucose infuus.

Consultatie afdeling metabole ziekten

Annet Bosch, kinderarts metabole ziekten

Overweeg een metabole ziekte perinataal- neonataal bij:

I Gedurende zwangerschap

Acute fatty liver of pregnancy (zeer ernstige HELLP)	vetzuur oxidatie stoornissen als LCHAD altijd uitsluiten bij kind dmv acylcarnitine profiel/DNA diagnostiek
Hydrops/ascites	zie hydrops neonataal

II Direct postpartum

Hydrops/ascites	lysosomale stoornis, mitochondriële stoornis, CDG, glycogeen stapelingsziekte e.a.
Ernstige hypotonie	peroxisomale stoornis, mitochondriële stoornis, CDG, non ketotische hyperglycinemie e.a.
Convulsies	peroxisomale stoornis, sulfiet oxidase deficiëntie, non ketotische hyperglycinemie, pyridoxine afhankelijkheid, mitochondriële stoornis e.a.
Dysmorphie	peroxisomale stoornis, stoornis cholesterol metabolisme, CDG, lysosomale stapeling, mitochondriële stoornis e.a.

IV Ontregeling na symptoomvrij interval, “sepsis of sepsis like” beeld met:

- a. Hypoglycemie
- b. zuur-base stoornissen
- c. cardiomyopathie
- d. neurologische pathologie / verminderd bewustzijn
- e. leverafwijkingen

a. Hypoglycemie

altijd aanvullende diagnostiek ivm therapeutische consequenties bij:

- “onverwachte” of “onverwacht diepe” hypoglycemie
- combinatie met acidose of leverafwijkingen
- “sepsis of sepsis-like” beeld
- opvallend snel herstel na glucose toediening bij verdenking sepsis

in andere gevallen aanvullende diagnostiek overwegen

DD: vetzuuroxidatiestoornissen, org zuren stoornissen, glycogeen stapelingsstoornis, fructose 1,6 bifosfatase deficiëntie, mitochondrieel ea.

bepalen:

- bloedgas, transaminasen, ammoniak (ongestuwd, op ijs),
- lactaat (ongestuwd, op ijs)
- plasma acylcarnitineprofiel (1 ml heparine bloed lab GMZ)
- urine organische zuren (portie urine)

NB: let op leverafwijkingen, cardiomyopathie
Bewaak de glucose intake na hypoglycemie! minimaal 6 mg/kg/min

NB 2: Bij ernstige infecties verwacht je juist eerder een hyperglycemie, dus wees extra alert op metabole aandoening bij sepsis-beeld met hypoglycemie

b. Zuur-Base stoornissen

Alkalose:	hyperammoniaemie
Acidose:	org zuren stoornis, lactaat acidose, ketolyse defect, fruct 1,6 bifosfatase deficientie
	altijd diagnostiek ivm consequenties en behandelbaarheid altijd overleg over uitbreiding of beperking glucose intake
bepalen:	<ul style="list-style-type: none">• Na Cl bloedgas (aniongap berekenen)• Lactaat (ongestuwd op ijs)• Plasma acylcarnitineprofiel (1 ml heparinebloed lab GMZ)• Urine organische zuren (portie urine lab GMZ)

c. Cardiomyopathie

dd:	vetzuuroxidatiestoornis, mitochondriële pathologie, CDG syndroom, hyperinsulinisme, lysosomale stoornissen
	diagnostiek in overleg

d. Neurologische pathologie, verminderd bewustzijn

dd:	Organische zuren stoornis, ureum cyclus defect, MSUD vetzuuroxidatiestoornis, mitochondriële pathologie, peroxisomale pathologie, non ketotische hyperglycinemie, molybdeen cofact deficientie e.a.
altijd bepalen:	bloedgas, glucose, ammoniak, overige diagnostiek in overleg
Cave:	bij MSUD meestal normale gas en ammoniak!

e. Lever afwijkingen

dd: vetzuuroxidatiestoornissen, galactosemie, α 1 antitrypsine deficiëntie, Niemann Pick C, Tyrosinemie 1, defect in polyolen metabolisme

NB: Bij verdenking galactosemie altijd direct diagnostiek in overleg en direct start galactosevrije voeding (in principe soja voeding)

reductie alleen als screening gebruiken, urine afname 1 uur na galactosebevattende voeding

Metabole acidose

Jaap Groothoff, kindernefroloog

A. Normaalwaarden en principes

Per dag produceert de mens ongeveer 1-2 mmol/kg H^+ . Tijdens ischemie, bij bepaalde metabole stoornissen, bij insuline gebrek en als gevolg van sommige intoxicaties neemt deze zuurproductie toe. Onder normale omstandigheden worden vrijwel alle H^+ ionen door HCO_3^- gebufferd. Onder “zure” omstandigheden wordt er tevens een significant deel gebufferd door intracellulaire eiwitten, vooral door organische en anorganische fosfaten en door botweefsel. Een consequentie van de buffering door botweefsel is, dat er gelijktijdig Ca uit het bot vrijkomt en via de urine wordt uitgescheiden met een hypercalciurie als gevolg. H^+ wordt in de nier als NH_4^+ uitgescheiden, terwijl tegelijkertijd HCO_3^- wordt teruggeresorbeerd. Het NH_4^+ wordt door de proximale tubulus gegenereerd uit glutamine. Een goede respons op extra zuur belasting wordt gereflecteerd door een passend lage pCO_2 . Bij een chronische zuurbelasting dient de NH_4^+ uitscheiding > 200 mmol/24 uur te zijn.

Bij extra zuurbelasting zijn er dus een aantal compensatie mechanismen:

1. extracellulaire buffering door HCO_3^- : direct
2. respiratoire compensatie door hyperventilatie (afblazen CO_2): minuten - uren
3. intracellulaire botbuffering: 2-4 uur
4. toename renale H^+ excretie: uren tot 5-6 dagen

HCO_3^- wordt voor 80-90% door de proximale tubulus van de nier teruggeresorbeerd en voor het overige deel door de distale tubulus en de verzamelbuis. HCO_3^- reabsorptie gaat gepaard met H^+ transport vanuit de cel naar het lumen. De hoeveelheid HCO_3^- die kan worden teruggeresorbeerd is direct afhankelijk van de fractionele terugresorptie van Na; als er veel zout wordt teruggeresorbeerd (ondervulling, verminderd circulerend volume), wordt er ook veel bicarbonaat teruggeresorbeerd. H^+ wordt vervolgens samen met NH_3 als NH_4^+ door de nier uitgescheiden.

Acidose ontstaat:

1. als gevolg van een overmaat aan endogene anionproductie, of
2. als gevolg van extreme exogene zuurbelasting (alkoholen m.n.), of
3. door een tekort aan buffercapaciteit (bicarbonaatverlies renaal of gastro-intestinaal)
of
4. door een onvermogen van de nier zuur uit te scheiden.

Het bicarbonaat buffer systeem is de initiële buffer voor ieder H⁺ belasting:



De bicarbonaathomeostase geschiedt door de nier en verloopt traag, de CO₂ uitwas door de longen verloopt snel. De respons van zowel nier als longen op zuur of base belasting is onder normale omstandigheden goed kwantitatief voorspelbaar (tabel 1). De enorme impact van de longfunctie op de lichaams-pH bij zuurbelasting blijkt goed uit het voorbeeld uit tabel 3.

Tabel 1. Respons van nier en longen op zuur-base stoornissen

Aandoening	Respons
Metabole acidose	<ul style="list-style-type: none"> Voor iedere mmol/l [HCO₃⁻] verlaging onder 25 moet de pCO₂ 1 mmHg onder 40 of 0,13 kPa onder 5,3 dalen pCO₂ in mmHg = getal achter de komma van de pH (pH 7,30: pCO₂ = 30 mmHg)
Metabole alkalose	<ul style="list-style-type: none"> voor ieder mmol/l [HCO₃⁻] stijging boven de 25 moet de pCO₂ 0,7 mmHg of 0,1 kPa boven de 5,3 stijgen pCO₂ in mmHg = getal achter de komma van de pH (pH 7,30: pCO₂ = 30 mmHg)
Acute respiratoire acidose	<ul style="list-style-type: none"> voor iedere mmHg CO₂ stijging boven de 40 of iedere 0,13 kPa boven de 5,3 moet de [H⁺] 0,8 nmol/l stijgen boven de 40
Chronische respiratoire acidose	<ul style="list-style-type: none"> voor iedere mmHg CO₂ stijging boven de 40 of iedere 0,13 kPa boven de 5,3 moet de [H⁺] 0,3 nmol/l stijgen boven de 40 of de [HCO₃⁻] 0,3 mmol/l stijgen boven 25
Acute respiratoire alkalose	<ul style="list-style-type: none"> voor iedere mmHg CO₂ daling onder de 40 of iedere 0,13 kPa boven de 5,3 moet de [H⁺] 0,8 nmol/l dalen onder de 40
Chronische respiratoire acidose	<ul style="list-style-type: none"> voor iedere mmHg CO₂ daling onder de 40 of iedere 0,13 kPa boven de 5,3 moet de [H⁺] 0,2 nmol/l dalen onder de 40 of de [HCO₃⁻] 0,5 mmol/l dalen onder 25.

Tabel 2. Conversie pH naar H⁺-concentratie

pH	Conversiefactor	[H ⁺] in nmol/l
7,00	100	100
7,10	100x0,8	80
7,20	100x0,8x0,8	63
7,30	100x0,8x0,8x0,8	50
7,36	40 + 4	44
7,38	40 + 2	42
7,40	100x0,8x0,8x0,8x0,8	40
7,42	40-2	38
7,44	40-4	36
7,50	100x0,8x0,8x0,8x0,8x0,8	31

Henderson-Hasselbach vergelijking:

$$[H] = (24 \times [pCO_2]) / [HCO_3^-]. \quad pCO_2 \text{ in mmHg of}$$

$$[H] = (180 \times [pCO_2]) / [HCO_3^-]. \quad pCO_2 \text{ in kPa}$$

- Conversie pH naar [H⁺]: schatting pH=7,0: [H⁺]=100 nmol/l, voor iedere 0,1 factor hoger vermenigvuldigen met 0,8
- Laat '7' en decimale komma vallen en tel het verschil met 40 op indien pH<7,40 en trek het af indien pH>7,40 (7,38: [H⁺] = 42)

Tabel 3. Verandering pH bij bepaalde [HCO₃⁻] met en zonder respiratoire compensatie.

Met respiratoire compensatie:			zonder respiratoire compensatie:		
HCO ₃ ⁻	pCO ₂	pH	HCO ₃ ⁻	pCO ₂ *	pH
20	4,6 (35)	7,38	20	5,3 (40)	7,32
15	4 (30)	7,30	15	5,3	7,19
10	3,3 (25)	7,22	10	5,3	7,02

pCO₂ in kPa (mmHg); HCO₃⁻ in mmol/l..

B. Diagnostische testen bij metabole acidose:

Tabel 4. Betekenis diagnostische testen

Verwachte verschuivingen HCO_3^- en CO_2	Analyse juiste waarden bloedgas; analyse vorm van acidose of alkalose
Aniongap plasma	Detecteert “verborgen “ anionen
Aniongap urine	Detecteert hoeveelheid NH_4^+ in de urine: zuur-uitscheiding <ul style="list-style-type: none">• Verlaagd (negatief) bij metabole acidose om andere redenen dan onvermogen nier om zuur uit te scheiden (normale respons)• Normaal bij chronische resp. acidose• Normaal/verhoogd bij distale RTA Test onbetrouwbaar bij: <ul style="list-style-type: none">• hoge plasma aniongap acidose door wegvangen van NH_4^+ in de urine door anionen• volume depletie (urine $\text{Na}^+ < 25 \text{ mmol/l}$) doordat de lage aanbod van Na aan de distale tubulus acidificatie verstoort
Osmolgap urine	Alternatief om hoeveelheid NH_4^+ in de urine detecteren
Osmolgap plasma	Detecteert toxische precursors zuren (alkohol)
aniongap/ $[\text{HCO}_3^-]$ bij metabole acidose met verhoogde aniongap	Detecteert verborgen alkalose of combinatie van acidose met verhoogde en normale aniongap
pH urine	Nuttig om oorzaak te achterhalen van lage NH_4^+ in de urine bij acidose

1. Aniongap plasma: $[\text{Na}^+] - [\text{Cl}^-] - [\text{HCO}_3^-] = 12 \pm 2 \text{ meq/l}$: detecteert “verborgen” anionen.

- Hoog bij:
 - a. Ketonen (DM, katabole omstandigheden, metabole stoornissen)
 - b. Nierinsufficiëntie (sulfaat, fosfaat, hippuraat, ect)
 - c. Lactaat: D-lactaat (normaal wordt deze stereo isomeer van lactaat niet gemeten in het plasma!) en L-lactaat (de vorm van lactaat die normaal wel gemeten wordt)
 - d. Organische zuren.
 - e. Intoxicaties (salicylaten, methanol, ethyleenglycol)
 - f. rhabdomyolyse

- normaal bij:
 - a. bicarbonaatverlies (GE/renaal)
 - b. renale tubulaire acidose (type 1-4),
 - c. ketoacidose tijdens behandeling met insuline

Principe: $\text{H}^+ + \text{HCO}_3^- \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$; Aniongap: $[\text{Na}^+] - [\text{Cl}^-] - [\text{HCO}_3^-]$. Bij deze vergelijking wordt aangenomen dat relatief constante anionen als fosfaat, sulfaat en anorganische anionen worden “verrekend” met relatief constante kationen zoals K^+ , Mg^{2+} en Ca^{2+} . De niet gemeten anionen betreffen vooral plasma eiwitten.

- a. H^+ verhoogd: nieuwe zuren: verhoogde aniongap
- b. HCO_3^- verlaagd: normale aniongap
 - bij verlaging serum-albumine verlaging aniongap volgens formule:
$$\frac{[\text{alb}]_{\text{pl}}}{[\text{alb}]_{\text{normaal}}} \times 16 = \text{gecorrigeerde normale aniongap (vb } [\text{alb}] 20 \text{ bij } [\text{alb}]_{\text{normaal}} = 40: \text{ gecorr. aniongap} = 8)$$

2. Hypokaliemie aanwezig?

Vrijwel alle vormen van metabole acidose gaan gepaard met een hyperkaliemie. Uitzonderingen zijn:

- diarree met bicarbonaatverlies
- renale tubulaire acidose type 1 en 2.

Detectie van hypokaliemie bij metabole acidose is behalve als diagnosticum extreem belangrijk voor de therapie i.v.m. de snelle verdere en daarom levensbedriegende kalium daling bij correctie van de acidose: eerst KCl geven, dan pas bicarbonaat. Alternatief bij chronische acidose: kaliumcitraat

**3. aniongap urine: meet de mate van NH_4^+ (=zuur) in de urine: $[\text{Na}^+] + [\text{K}^+] - [\text{Cl}^-]$:
meet zuur uitscheidend vermogen nier**

De belangrijkste kationen en anionen in de urine zijn $[\text{Na}^+]$, $[\text{K}^+]$, $[\text{NH}_4^+]$, en $[\text{Cl}^-]$. $[\text{NH}_4^+]$ wordt niet gemeten maar houdt gelijke tred met $[\text{Cl}^-]$ uitscheiding. Onder normale omstandigheden wordt er ongeveer 20-40 meq $[\text{NH}_4^+]$ uitgescheiden. De $[\text{Na}^+]$, $[\text{K}^+]$, en $[\text{Cl}^-]$ zijn hierbij ongeveer in evenwicht, of $[\text{Na}^+] + [\text{K}^+] - [\text{Cl}^-] = 0$ (of iets positief). Bij een metabole acidose dient de $[\text{NH}_4^+]$ en daarmee ook de $[\text{Cl}^-]$ uitscheiding fors toe te nemen en wordt de aniongap negatief.

- Positieve urine aniongap bij metabole acidose: onvermogen H^+ uit te scheiden:
 - i. renale tubulaire acidose type 1 & 4
 - ii. nierinsufficiëntie
- *niet toepasbaar* bij acidose met (duidelijk) positieve plasma aniongap en bij matige tot ernstige dehydratie

osmol gap urine: alternatieve manier om detectie NH_4^+ te detecteren in de urine:

Achtergrond:

- berekende osmolaliteit urine: $[\text{ureum}] + [\text{glucose}] + 2x[\text{Na}^+ + \text{K}^+]$
- osmolgap urine = gemeten- berekende osmolaliteit = $\frac{1}{2} [\text{NH}_4^+]$ en $\frac{1}{2} [\text{Cl}^-]$
- osmolgap in de urine wordt gebruikt om NH_4^+ te detecteren. In een patiënt met chronische metabole acidose en een normale nierfunctie moet er meer dan 200 mmol NH_4^+ worden uitgescheiden in de urine. Indien er meer NH_4^+ dan Cl^- wordt uitgescheiden moeten er niet gedetecteerde anionen zijn uitgescheiden (ketonen, intoxicaties)

4. *plasma osmolaliteit* = osmotische druk plasma in mosm/kg = meq/l: **nuttig om intoxicaties met alcoholen te detecteren.**

Achtergrond berekening osmolaliteit natriumzouten. De effectieve bijdrage aan de osmotische druk van Na^+ wordt geschat op $2x[\text{Na}^+]$. Dit is op het volgende gebaseerd:

- NaCl ionen interacties gedragen zich alsof NaCl is slechts voor 75% gedissocieerd. Dat betekent dat 1 mmol NaCl zich gedraagt als 1,75 deeltjes (0,75 Na, 0,75 Cl en 0,25 NaCl). Om die reden moet het osmotische effect worden vermenigvuldigd met 1,75.
 - Slechts 93% van het plasma bestaat uit water (rest is vet en eiwitten). Daarom wordt de osmolaliteit voor Na zouten $(1,75/0,93)x[\text{Na}^+]$.
 - De overige $0,12x[\text{Na}^+]$ komt overeen met de osmotische druk van zouten, met name die relatief constante waarden in het plasma hebben (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+)
- osmolgap = gemeten osmolaliteit - berekende osmolaliteit = $2[\text{Na}^+] + [\text{glucose}] + [\text{ureum}]$ in mmol/l effectieve plasma osmolaliteit: bepaald door osmolen die water in extracellulaire ruimte houden. Ureum diffundeert gemakkelijk de cel in en is dus geen effectieve osmole.

5. *aniongap/ $[\text{HCO}_3^-]$ bij metabole acidose met verhoogde aniongap: nuttig om mengvormen van zowel acidose en alkalose als acidose met en zonder positief plasma aniongap te detecteren.*

Als gevolg van buffering door andere (intracellulaire) anionen is de anionen gap verhoging : $[\text{HCO}_3^-]$ verlaging niet 1:1 maar ergens tussen de 1 en 2 :1 (bij lactaat acidose bv. 1,6: 1). Indien de relatie 1:1 of zelfs lager is, is er sprake van een gecombineerde acidose met normale en met toegenomen aniongap. Aan de andere kant, als de relatie $> 2:1$ betekent dit dat er minder $[\text{HCO}_3^-]$ verlies in het plasma is dan verwacht op basis van de aniongap en moet er dus tevens een metabole alkalose bestaan.

C. Symptomen acidose

Acidose kan leiden tot cardiale ritmestoornissen, verminderde hart contractiliteit, perifere vasodilatatie en ernstige neurologische stoornissen. Een $\text{pH} < 7,10$ is geassocieerd met potentieel letale ventriculaire ritmestoornissen en cardiotonica-

resistente cardiomyopathie en coma. Neurologische verschijnselen zijn *veel minder prominent bij metabole acidose dan bij respiratoire stoornissen* door het feit dat CO₂ veel sneller de bloed-hersen barrière doorbreekt. Chronische acidose kan leiden tot een grote variëteit aan skeletstoornissen, zoals osteoporose, osteomalacie/rachitis en groeistoornissen. Bij jonge kinderen kan chronische acidose gepaard gaan met aspecifieke symptomen als anorexie, misselijkheid, gewichtsverlies en spierzwakte. Chronische respiratoire acidose is geassocieerd met cor pulmonale en perifeer oedeem. De verklaring hiervoor ligt in de toegenomen zout-reabsorptie, secundair aan de toegenomen bicarbonaat reabsorptie in de proximale tubulus, die het gevolg is van de chronische hypercapnie.

D. Analyse metabole acidose: stappenplan

Analyse

1. Bereken of de bloedgas "klopt" m.b.v. de Henderson vergelijking: foutieve bepaling?

Betekenis

Vaak foutieve bepalingen bij bloedgassen die niet goed zijn afgenomen

2. Verdenking metabole acidose: bereken of de $p\text{CO}_2$ overeenkomt met de verwachte $p\text{CO}_2$ bij een zuivere metabole acidose. Hogere $p\text{CO}_2$: gecombineerde metabole en respiratoire acidose

Metabole acidose:

- Voor iedere mmol/l verlaging $[\text{HCO}_3^-]$ onder 25 daalt de $p\text{CO}_2$ 1 mmHg onder 40 of 0,13 kPa onder 5,3 kPa
- $p\text{CO}_2$ in mmHg = het gedeelte van de pH achter de komma (pH 7,30: $\text{CO}_2 = 30$)
- 1 kPa = 7,5 mmHg, 1 mmHg = 0,133 kPa.

3. Bepaal serum kalium gehalte

Laag K:

- diarree, laxantia gebruik
- renale tubulaire acidose type 1 of 2

4. Bepaal de plasma aniongap

$[\text{Na}^+] - [\text{Cl}^-] - [\text{HCO}_3^-] = 12 \pm 2 \text{ meq/l}$; detecteert "verborgen " anionen

5 Integreer kliniek en lab resultaten

Voorspel wat de meest voor de hand liggende zuur-base stoornis is op grond van de kliniek

6 Indien nodig analyseer de urine aniongap of, in geval van ondervulling of een sterk verhoogde serum aniongap de osmolgap in de urine urine

Aniongap urine:

$[\text{Cl}^-] > [\text{Na}^+] + [\text{K}^+]$: veel NH_4^+ (= zuur) in urine

$[\text{Cl}^-] < [\text{Na}^+] + [\text{K}^+]$: weinig NH_4^+ in urine (of excretie met ander anion)

osmolgap urine: gemeten- berekende osm. = $\frac{1}{2}[\text{NH}_4^+]$ en $\frac{1}{2}[\text{Cl}^-]$

berekende osmolgap = $2x([\text{Na}^+] + [\text{K}^+]) + [\text{ureum}] + [\text{glucose}]$

7. Bij verhoogde serum aniongap, bepaal de verhouding Δ aniongap/ Δ HCO_3^- . om mengvormen acidose/alkalose uit te sluiten

Normaal tussen 1-2:1 bij verhoogde aniongap (1,6:1 bij lactaat acidose)

- < 1:1: gecombineerde acidose met normale en verhoogde aniongap
- >2:1: tevens metabole alkalose

8. Indien nodig, bepaal de pH van de urine

Hoge pH bij ernstige acidose: verdenking RTA; persistierend hoge pH bij aanzuren: distale RTA

E. Behandeling acidose

Doel bij een ernstige acidose is om de $\text{pH} > 7,20$ te krijgen. In principe is er geen correctie nodig (tenzij de $\text{pH} < 7,10$) mits een van de volgende onderliggende aandoeningen aanwezig is en adequaat kan worden gecorrigeerd:

- DM ketoacidose
- Lactatacidose a.g.v. verminderd circulerend volume

Bij andere, veelal minder snel corrigeerbare, oorzaken van metabole acidose kan correctie d.m.v. $[\text{HCO}_3^-]$ toediening noodzakelijk zijn.

Bepalen voor correctie acidose: serum Kalium en Calcium!!

Werkelijk bicarbonaatdeficit = bicarbonaat-verdeling x deficit/l

De verdeling van $[\text{HCO}_3^-]$ over het lichaam als reflectie van de totale buffercapaciteit is afhankelijk van de $[\text{HCO}_3^-]$. Immers, onder zure omstandigheden neemt het aandeel van de intracellulaire buffering toe. Bij een normale $[\text{HCO}_3^-]$ is de verdeling ongeveer 50% van het lichaamsgewicht; bij een bicarbonaat van 8-10 mmol/l kan de verdeling toenemen tot 70% G.

In formule: bicarbonaat-verdeling = $[0,4 + (2,6/[\text{HCO}_3^-])]$ x gewicht

Voorbeeld: patiënt met diarree, 70 kg, bic = 6. Wens is om bic te laten stijgen tot 10:

$$\begin{aligned} \text{Deficit} &= (\text{geschat}) && 0,7 \times 70 \times (10-6) = 196 \text{ meq of} \\ &&& (0,4 + (2,6/6) \times 70 \times (10-6) = 233 \text{ meq} \end{aligned}$$

• Consequenties behandeling acidose:

- K-concentratie bij correctie acidose: veranderingen in $[\text{K}^+]$ treden op bij zuur-base verschuivingen, indien *niet* veroorzaakt door organische zuren. Gemiddeld zal de extracellulaire $[\text{K}^+]$ 0,2-1,7 meq/ 0,1 pH daling stijgen. Om onduidelijke redenen is die reactie bij acidose op basis van organische zuren veel minder duidelijk aanwezig. Infusie b.v. van lactaat echter veroorzaakt geen hyperkaliemie. De Kaliumdaling bij behandeling van ketoacidose berust dan

ook voornamelijk op het directe effect van insuline op de K-influxin de cel en niet op de zuur correctie. Ook bij metabole alkalose is de K-verschuiving minder aanwezig. Bij *een reeds aanwezige hypokaliëmie* is het K-deficit echter zo groot, dat bij iedere vorm van acidose correctie met bicarbonaat zonder K-suppletie tot ernstige ritmestoornissen kan leiden.

- Acidose correctie kan een *hypocalciëmie klinisch manifest maken*, doordat Calcium onder alkalotische omstandigheden meer gebonden is aan albumine en het vrije [Ca] dus zal dalen onder acidose correctie.
- Natriumbicarbonaat suppletie kan bij een slechte hartfunctie tot acuut longoedeem leiden door volume expansie als gevolg van de zoutbelasting. Chronische toediening van Natriumbicarbonaat veroorzaakt regelmatig een hypernatriëmie.

Tabel 6. Begrippen en normaalwaarden

Metabole acidose/alkalose	Acidose/alkalose als gevolg van een verlaagde/verhoogde $[\text{HCO}_3^-]$
Respiratoire acidose/alkalose	Acidose/alkalose als gevolg van een gestegen/gedaalde $[\text{CO}_2]$
osmolaliteit	druk van een niet dissociabele substantie opgelost in water. Uitgedrukt in mosm/kg water: $\text{mosmol/kg} = n \times \text{mmol/l}^*$
Normale osmol uitscheiding	750 mosm (NaCl, KCl, ureum)
Minimale osmolaliteit urine	50 mosm/kg H_2O
Maximale osmolaliteit urine (>2 jaar):	1400 mosm/kg H_2O
Maximale diurese	$750/50 = 15$ liter/dag
Minimale diurese: 750/1400	$750/1400 = 0,53$ l/dag
Normale kreatinine uitscheiding	200 mmol/kg/dag
Aniongap plasma	$[\text{Na}^+] - [\text{Cl}^-] - [\text{HCO}_3^-] = 12 \pm 2$ meq/l
Osmolaliteit plasma	$2[\text{Na}^+] + [\text{glucose}] + [\text{ureum}]$
Effectieve osmotische druk plasma	$2[\text{Na}^+] + [\text{glucose}]$
Osmolaliteit urine	$[\text{ureum}] + [\text{glucose}] + 2x[\text{Na} + \text{K}]$
osmolgap urine	gemeten- berekende osmolaliteit = $\frac{1}{2} [\text{NH}_4^+]$ en $\frac{1}{2} [\text{Cl}^-]$ berekende osmol. = $2x([\text{Na}] + [\text{K}]) + [\text{ureum}] + [\text{glucose}]$
Aniongap urine	$[\text{Na}] + [\text{K}] - [\text{Cl}]$
Δ aniongap/ Δ $[\text{HCO}_3^-]$ bij metabole acidose met verhoogde aniongap	tussen 1 en 2 bij + aniongap metabole acidose <ul style="list-style-type: none"> • < 1:1: gecombineerde acidose met normale en > aniongap • >2:1: tevens metabole alkalose

* n= aantal dissociabele partikels per molecuul; vb Na^+ 1 mmol = 1 meq. 1 mmol/l = 1 mosm/kg water; NaCl: 1 mmol = 2 meq; doordat 75% is gedissocieerd is 1 mmol = 1,75 mosm.

Literatuur

1. Rose BD: Clinical Physiology of Acid-base and electrolyte disorders, 5ht edition, McGraw-Hill Comp, 2001
2. Halperin ML & Goldstein MB: Fluid, electrolyte and acid-base physiology, a problem-based approach, 3rd edition, WB Saunders Comp, Philadelphia, 1999.

Het zure kind: is het metabool?

J. Groothoff, kindernefroloog

Bij metabole acidose moet onderscheid gemaakt te worden tussen:

- Metabole acidose als gevolg van bicarbonaat tekort (verlies)
- Metabole acidose als gevolg van de aanwezigheid van extra zuur

Onderscheid wordt gemaakt door berekenen van de anion-gap:

$[Na^+] - [Cl^-] - [HCO_3^-] =$ (normaal;) 12 ± 2 meq/l (tussen 7 – 16 is meestal geen pathologie)

De Anion-gap is verhoogd bij een metabole acidose t.g.v.:

1. Sterke ketose (keto-acidose bij DM, katabole situatie, ketolyse defect, organische zuren syndromen (hierbij kan ketose een belangrijke rol spelen bij ontstaan van de acidose))
2. Aanwezigheid van andere organische zuren zoals lactaat, methyl-malonzuur, propionzuur, isovaleriaanzuur)
3. Nierinsufficiëntie
4. Intoxicaties (salicylzuur)
5. Rhabdomyolyse

De Anion-gap is normaal bij een metabole acidose t.g.v.:

1. Bicarbonaat verlies in de urine (renale tubulaire acidose, Fanconi syndroom) of via de ontlasting (ernstige diarree).

Dus bij (verdenking op) metabole acidose **ALTIJD** bepalen (zie hieronder voor overige bepalingen en afnames!):

Na en Cl voor berekening anion-gap

- Lactaat voor verdere differentiatie
- Keto-stick in urine (als sterk verhoogd bij verhoogde anion-gap kan dat de verklaring zijn van de metabole acidose maar sluit metabole ziekte niet uit!)

Bij een patiënt met metabole acidose:

- Én een verhoogde anion-gap plus een verhoogd lactaat: overweeg een metabole ziekte (bijv. primaire lactaat-acidose bij ademhalingsketen deficiëntie of PDHc deficiëntie) in de d.d. CAVE: het lactaat kan verhoogd zijn (tot ongeveer 4 mmol/l) zonder dat er sprake is van een acidose. We spreken dan van hyperlactaat-emie. Dit komt door efficiënt werkende buffer-systemen. CAVE: lactaat acidose bij slechte (perifere) circulatie.
- Én een verhoogde anion-gap zonder een verhoogd lactaat: overweeg een metabole ziekte (bijv. organische zuren syndroom zoals methyl-malon-acidurie) in de d.d. CAVE: de aanwezigheid van ketonen in de urine sluit een organische zuren syndroom niet uit. Uiteraard dient bij sterk verhoogde ketonen in urine (ketostick +++) ook de mogelijkheid van ketose als enige oorzaak van de metabole acidose te worden overwogen (DM, katabole situatie bij langdurige ziekte maar ook een metabole ziekte zoals ketolyse defect).

Noodzakelijke bepalingen en afnames:

Bloedgas, lactaat, Na, Chloor, keto-stick urine, glucose, ureum, kreatinine plus 1 cc heparinebloed voor lab. GMZ (acylcarnitine profiel) en crisis-urine (organische zuren).

Eerste behandeling:

Voldoende vocht, eventueel rehydratie. Voldoende glucose intake (6-8 mg/kg/minuut) glucose continu i.v. (CAVE: stijging lactaat bij ademhalingsketen deficiëntie!). Eventueel bufferen.

Het suffe kind

A. Bosch, kinderarts metabole ziekten

Metabole oorzaken

Oorzaken sufheid	: hypoglycemie : acidose : hyperammoniaemie : overig
------------------	---

Laboratorium diagnostiek

- glucose
- bloedgas
- ammoniak
- lactaat
- 2 ml heparine bloed
- 1 portie urine (invriezen)

**Ammoniak alleen veneus (mag ook arterieel)
ongestuwd op ijs
niet in de buizenpost
direct naar lab!**

Uitslagen

Hypoglycemie	- zie protocol hypoglycemie
Acidose	- zie protocol metabole acidose
Ammoniak >80 mmol/l	- zie protocol hyperammoniaemie
Alle uitslagen normaal	- overweeg MSUD, andere metabolieten overleg met kinderarts metabole ziekten

Hyperammoniaemie

Ammoniak > 80 mmol/l

*Ammoniak alleen veneus mag ook arterieel)
ongestuwd op ijs
niet in de buizenpost
direct naar lab!*

Kliniek hyperammoniaemie: verwardheid
prikkelbaarheid
onrust
ontremming
braken
verminderd bewustzijn
hyperventilatie (alkalose in bloedgas)

NB: Ook bij nauwelijks verhoogd ammoniak kan zich een ernstige encephalopathie voordoen door andere metabolieten in de hersenen (glutamine)
Overweeg op indicatie onderzoek aminozuren in liquor

Differentiaal diagnose hyperammoniaemie

- Ureumcyclusdefect
- Organische zuren stoornis (dan ook acidose)
- Vetzuuroxidatiedefect (dan ook hypoglycemie)
- Mitochondriële stoornis (dan ook hoog lactaat)
- Passagere neonataal

Eerste opvang hyperammoniaemie

- Stop de eiwit inname
- Start glucose 10% iv, 8-10 mg/kg/min (controleer lactaat en glucose oploop)
- Suppleer Na en K iv
- Overleg direct met kinderarts metabole ziekten ivm ammoniak wegvangers
- Ammoniak > 400 of snelle oploop: overweeg met spoed opstarten dialyse

HYPOGLYCEMIE

Korte achtergrond pathofysiologie

Tijdens vasten wordt de glucosespiegel op peil gehouden door achtereenvolgens de glycogenolyse, gluconeogenese en vetzuuroxidatie. Lactaat (substraat gluconeogenese) zal daarbij dalen en vrije vetzuren (worden gemobiliseerd voor vetzuuroxidatie) en ketonen (product vetzuuroxidatie) zullen in concentratie toenemen.

Hypoglycemieën kunnen veroorzaakt worden door een defect in de glycogenolyse, gluconeogenese of vetzuuroxidatie zelf of door een defect in de aansturing ervan (met name hyperinsulinisme, bijnierschorshormoon- of groeihormoon deficiëntie). Daarnaast kunnen stoornissen in de afbraak van bepaalde aminozuren (remmende werking gluconeogenese door toxische metabolieten) leiden tot een hypoglycemie.

Kliniek hypoglycemie

- Door activatie van het autonome zenuwstelsel en adrenaline: bleekheid, zweten, trillen, tachycardie, nervositeit, zwakheid, hongergevoel, misselijkheid
- Door verminderde cerebrale glucose toevoer: hoofdpijn, visusstoornissen, lethargie, irritatie, verwardheid, agressief gedrag, verminderd bewustzijn, coma, convulsies

Oorzaken hypoglycemie

<p>1. Naar aard van optreden:</p> <ul style="list-style-type: none">• Onvoorspelbaar of permanent: endocrinologische stoornissen of leverfalen• Postprandiaal: endocrinologische stoornissen, hereditaire fructose Intolerantie, fructose-1,6-bifosfatase deficiëntie• Na kort vasten: endocrinologische stoornissen, glycogenolyse defecten, gluconeogenese defecten, aminozuur afbraak stoornissen• Na lang vasten: endocrinologische en vetzuuroxidatie stoornissen	<p>2. Op basis van aanwezigheid van ketonen in urine en hepatomegalie:</p> <pre>graph TD A[Hypoglycemie] --> B[Ketonen in urine > +] A --> C[Ketonen in urine -/+] B --> D[Hepatomegalie +] B --> E[Hepatomegalie -] C --> F[Hepatomegalie +] C --> G[Hepatomegalie -] D --> H["-Glycogeen stapelings ziekten -HFI"] E --> I["-Peuterhypoglycemie -Gluconeogenese defecten -Organische zuuren syndromen -Enkele vetzuuroxidatiest. -Ademhalingsketen defecten -Ketolyse defecten -Bijnierinsuff./GH insuff."] F --> J["-Glycogeen Stapelings Ziekte I"] G --> K["-Hyperinsulinisme -Meeste vetzuur Oxidatiestoornissen -gluconeogenese defecten"]</pre>
---	---

Laboratorium onderzoek bij hypoglycemie

- Glucose, bloedgas, lactaat (ongestuwd op ijs, direct naar lab), FFA
- Crisis heparine bloed (kamertemp.) of bloedspot
- Crisis urine portie (sticken op ketonen) (bewaren in koelkast/diepvries)
- Op indicatie Na, K, Cl (aniongap), P, CK, ALAT/ASAT, urinezuur, ammoniak (suf ondanks herstel glucose, ongestuwd op ijs, direct naar lab)
- Endolab: insuline, C-peptide, cortisol, groeihormoon

Eerste therapie bij hypoglycemie

- Gluc. 0,25 g/kg (gluc10% 2,5 ml/kg) in 3 minuten i.v., **direct** gevolgd door onderhoudsinfuus gluc 8-10 mg/kg/min i.v = gluc 10% 4,8-6 ml/kg/u i.v (+ Na, K onderhoud) N.B.: Zo nodig glucose over botnaald!
- Stop mogelijk schadelijke intake (eiwit, galactose, fructose, vet)

NEONATALE SCREENING: HET SCREENINGSLABORATORIUM

E.A. Kemper-Propert, klinisch chemicus

Introductie

In 1974 is in Nederland de neonatale screening gestart met het screenen op phenylketonurie (PKU). Nadien zijn congenitale hypothyreoïdie (CH, 1981) en adrenogenitaal syndroom (AGS, 2000) aan het screeningspakket toegevoegd.

Inmiddels waren er de laatste jaren verschillende ontwikkelingen gaande die het relevant maakten om uitbreiding van deze screening te overwegen. Hier spelen demografische ontwikkelingen (toename van sikkelcelanemie door migratie) een belangrijke rol, maar ook de toename van behandelingsmogelijkheden van een aantal metabole aandoeningen. Diagnostisch is vooral de tandem massaspectrometer van belang, omdat deze techniek het mogelijk maakt om met zeer kleine hoeveelheden bloed een groot aantal metabole aandoeningen op te sporen. Met name in Duitsland, Australië en de Verenigde Staten was hier al eerder ervaring mee opgedaan.

Dit heeft ertoe geleid dat de staatssecretaris van VWS in november 2005 het advies van de gezondheidsraadcommissie heeft overgenomen om de neonatale screening per 1 januari 2007 uit te breiden naar 17 aandoeningen. Voor cystische fibrose (CF) heeft de commissie geadviseerd deze in het screeningspakket op te nemen mits er een methode met hogere specificiteit beschikbaar is.

De hielprik anno 2007

De nieuwe hielprik heeft tevens geleid tot een nieuwe hielprikkaart. Aangezien er meer analyses uitgevoerd worden, is er meer bloed nodig (6 bloedvlekjes ipv de oude 4 vlekken). Voor het screenen op hemoglobinopathieën (en mogelijk ook voor de screening op cystic fibrose in de toekomst) moet ingevuld worden of de ouders geïnformeerd willen worden over eventueel dragerschap. Ook is het belangrijk om te weten of er sprake is geweest van een (erythrocyten)transfusie voorafgaand aan de hielprik.

In het totale screeningspakket is te zien dat het een uitbreiding betreft met voornamelijk erfelijke metabole ziekten en sikkelcelanemie. In januari 2008 is een pilotstudie gestart met als doel een specifieke testmethode voor CF te ontwikkelen. Naar verwachting zal deze aandoening in 2009 kunnen worden toegevoegd aan het screeningspakket.

Resultaten 2007

De resultaten en ervaringen vanuit 2007 zullen tijdens de presentatie aan de hand van een aantal voorbeelden worden besproken.

Galactosemie

Klassieke galactosemie is een autosomaal recessief overervend defect in de galactosestofwisseling, veroorzaakt door een deficiëntie van het enzym galactose-1-fosfaaturidyltransferase (GALT) met in Nederland een geboorteprevalentie van 1:33.000 [Bosch 2004, Bosch 2006]. De meeste patiënten presenteren zich na inname van lactose in de neonatale periode met ernstige problemen, waaronder voedingsproblemen, hepatomegalie, leverfalen en hypoglycemie. Een galactosevrij dieet (sojamelk) leidt tot snel herstel, waarbij de meeste klinische verschijnselen binnen twee weken verdwenen zijn.

Aanvankelijk is gekozen om te screenen op deze aandoening met totaal galactose (TGAL = galactose 1-fosfaat + galactose) als primaire merker. Met deze methodiek kunnen ook andere enzymdefecten in het galactosemetabolisme worden opgespoord, waaronder galactokinase en epimerase deficiëntie. Bij deze typen galactosemieën betreft het klinisch minder ernstige, behandelbare aandoeningen.

Al snel na de start van deze screening werd zichtbaar dat deze manier van screenen een zeer groot aantal fout positieve uitslagen veroorzaakt. De verklaring hiervoor is waarschijnlijk te vinden in het tijdstip van de hielprik (net na de voeding) waardoor de overmaat aan lactose nog niet geheel is verwerkt door de enzymen met een (tijdelijke) verhoging van TGAL tot gevolg. Naar aanleiding van deze gegevens zijn de screeningslaboratoria vanaf 16 april een pilotstudie gestart, waarin zowel het GALT als het TGAL geanalyseerd werd. Er wordt nu alleen tot doorverwijzing overgegaan bij een verlaagde GALT in combinatie met een verhoogde TGAL. Dit heeft geresulteerd in een enorme afname van het aantal fout positieven zonder verlies van de echte klassieke

galactosemie patiënten, voor zover bekend uit 2007. In juli 2007 is daarom besloten deze methode als standaard methode te gebruiken voor het screenen op klassieke galactosemie.

Tyrosinemie type I

Er zijn vijf verschillende aandoeningen bekend van het tyrosine metabolisme [zie voor review bijv. Russo]. Tyrosinemie type I is een zeer zeldzame, ernstige aandoening, veroorzaakt door een deficiëntie van het enzym fumarylacetoacetase, het 5^e enzym betrokken bij de afbraak van het aminozuur tyrosine. Deficiëntie van dit enzym, dat voornamelijk aanwezig is in lever en nier, heeft tot gevolg dat er stapeling optreedt van de substraten fumarylacetoacetaat en maleylacetoacetaat die vervolgens worden gemetaboliseerd tot het zeer toxische succinylaceton (SA).

Voor het screenen op tyrosinemie type I is aanvankelijk gekozen voor meten van tyrosine als primaire merker. Met behulp van deze screeningsmethode is het ook mogelijk om andere aandoeningen in het tyrosinemetabolisme op te sporen.

Al na enkele maanden werd duidelijk dat het gebruik van deze merker voor tyrosinemie I niet voldoet aan de criteria om goed te kunnen screenen. De test blijkt een lage sensitiviteit en een relatief lage specificiteit te hebben. Dit heeft ertoe geleid dat in maart 2007 is besloten om het screenen op tyrosinemie tijdelijk op te schorten, totdat een betere screeningstest (SA) beschikbaar is. De sensitiviteit van SA als primaire merker is ook zeer hoog: uit diverse studies blijkt dat bij alle patiënten met tyrosinemie I verhoogde SA concentraties werden gemeten [Sander 2006]. Inmiddels worden voorbereidingen getroffen om de analyse van SA te kunnen uitvoeren op hielprikbloed. Na een evaluatieperiode zal de screening op tyrosinemie type 1 eind 2008 weer hervat worden met SA als primaire merker.

Klassieke Homocystinurie

Cystathionine β -synthase (CBS) deficiëntie (klassieke homocysteinurie) betreft een zeer ernstige aandoening, waarbij de omzetting van homocysteïne via cystathionine naar cysteïne verstoord is.

Neonatale screening op klassieke homocystinurie is gebaseerd op het meten van verhoogde methionine concentraties in het bloed. Hierbij is bekend dat bij het kiezen

van methionine als primaire merker verhoogde concentraties gevonden kunnen worden bij ernstig leverlijden (onrijpe leverfunctie bij prematuren). Tevens kunnen op deze manier andere enzymdeficiënties in het methionine-homocysteïne metabolisme opgespoord worden.

Na enkele maanden werd duidelijk dat er meer kinderen werden doorverwezen in verband met verhoogde methionine concentraties dan op grond van berekeningen vooraf was bepaald. Na verder onderzoek bleek bij geen van deze kinderen sprake te zijn van klassieke homocysteinurie. Van de in totaal 66 doorverwezen kinderen waren er 61 kinderen die opgenomen waren op de neonatale intensive care unit (NICU) van het Academisch Medisch Centrum Amsterdam. Na evaluatie van deze patiëntengroep bleek dat al deze kinderen transparenterale voeding toegediend hebben gekregen ten tijde van de hielprik afname. Verder is bekend dat op deze NICU een aminozurenmengsel wordt gebruikt dat een twee maal hogere concentratie methionine bevat dan in andere NICU's het geval is. Hiermee lijkt de oorzaak van de hypermethioninemieën verklaard. Er wordt momenteel overwogen om deze transparenterale voeding aan te passen. [ten Hoedt et al, 2007].

Van de overige patiënten die zijn doorverwezen in verband met een verdenking op klassieke homocystinurie is de verklaring waarschijnlijk te vinden in (transiënte) leverdysfunctie als gevolg van prematuriteit.

Biotinidase deficiëntie

Biotine (vitamine H) functioneert als een cofactor voor verschillende enzymen (carboxylases) die een rol spelen in het aminozuurmetabolisme. Biotine wordt endogeen vrijgemaakt met behulp van het enzym biotinidase en wordt verkregen uit de voeding. Patiënten met biotinidase deficiëntie kunnen endogeen biotine niet hergebruiken en biotine niet vrijmaken uit de voeding. Het tekort aan vrij biotine leidt tot inactieve carboxylases.

Door het meten van de biotinidase activiteit wordt gescreend op deze aandoening. Kinderen met een biotinidase activiteit $\leq 30\%$ ten opzichte van het daggemiddelde worden doorverwezen, waarbij zowel complete als partiële deficiënties kunnen worden opgespoord.

Opvallend is dat uit deze resultaten een hoog aantal doorverwijzingen plaatsvindt op basis van een verdenking op biotinidase deficiëntie. De prevalentie van biotinidase deficiëntie is echter veel lager dan het aantal doorverwezen kinderen. Omdat uit deze resultaten blijkt dat het in veel gevallen gaat om fout positieven wordt hier momenteel onderzoek naar verricht.

Toekomst en prognose

Met behulp van de resultaten van 2007 is het mogelijk om een voorzichtige voorspelling te maken van het te verwachten aantal doorverwijzingen voor de komende jaren bij handhaving van het huidige screeningspakket. Op basis van deze aannames wordt het aantal doorverwijzingen voor 2008 geschat op ruim 600. Gezien het feit dat 2007 als pilotjaar voor het nieuwe screeningsprogramma gezien moet worden, waarbij ook rekening gehouden moet worden met een aantal praktische en analytische onvolkomenheden die er de eerste maanden hebben plaatsgevonden zal het aantal doorverwijzingen mogelijk zelfs iets lager uitvallen dan op grond van deze prognose wordt berekend.

Tot slot

Na een eerste evaluatie van het eerste jaar uitgebreide neonatale screening kan een ieder concluderen dat dankzij grote inspanningen van alle bij de screening betrokken beroepsgroepen de invoering van de uitgebreide screening uiteindelijk toch is gelukt. Er zijn een aantal zaken (met name in het analytische traject) snel veranderd. Naast het verwijderen van tyrosine als screeningsmerker voor tyrosinemie I is de screeningsstrategie voor galactosemie aangepast met als gevolg dat het aanvankelijke hoge aantal fout-positieven tot een aanvaardbaar niveau is teruggebracht. Het hoge aantal fout-positieven bij de screening op homocystinurie en biotinidase deficiëntie blijven nog een aandachtspunten. Al met al hebben alle betrokkenen bij de neonatale screening laten zien dat de samenwerking zodanig is dat (pre)analytische problemen snel worden opgespoord en er coöperatie is voor optimalisatie van de hielprikscreening.

Wij zijn echter ook van mening dat na de grote verandering in neonatale screening per 1 januari 2007 een trend is gezet voor de ontwikkeling van de screening voor de komende jaren. Gezien de grote snelheid in de ontdekking van nieuwe (voornamelijk metabole)

ziektebeelden en ontwikkelingen in behandelmethodes zal het huidige aantal aan-
doeningen waarop wordt gescreend hiermee zeker niet definitief zijn.

Enkele referenties

1. Bosch AM. Classical galactosaemia revisited. *J Inher Metab Dis* 2006; 29: 516-25
2. Bosch AM, Waterham HR, Bakker HD. Van gen naar ziekte; galactosemie en galactose-1-fosfaaturidyltransferasedeficiëntie. *Ned Tijdschr Geneesk* 2004; 148: 80-81.
3. Ten Hoedt AE, van Kempen AA, Boelen A, Duran M, Kemper-Propert EA, Oey-Spauwen MJW, Wijburg FA, Bosch AM. High incidence of hypermethioninaemia in a single neonatal intensive care unit detected by a newly introduced neonatal screening programme. *J Inher Metab Dis* 2007; 30: 978.
4. Russo PA, Mitchell GA, Tanguay RM. Tyrosinemia A review. *Pediatr and Developm Pathol* 2001; 212(4):212-221.
5. Sander J, Janzen N, Peter M, Sander S, Steuerwald U, Holtkamp U, Schwahn B, Mayatepek E, Trefz FK, Das AM. Newborn screening for hepatorenal tyrosinemia: Tandem mass spectrometric quantification of succinylacetone. *Clin Chem* 2006; 42(3):482-487.
6. Neonatale screening. Publicatienr 2005/11. Den Haag: Gezondheidsraad; 2005. (www.gr.nl)

UITBREIDING NEONATALE SCREENING IN NEDERLAND. PROBLEMEN VANUIT DE KLINISCHE SETTING TOEGELICHT. GEGEVENS VANUIT DE REGIO ROTTERDAM

M. Williams, kinderarts metabole ziekten

Sinds januari 2007 is de neonatale screening uitgebreid met 13 ziekten. Initieel traden veel verwijzingen wegens verdenking galactosemie, er werd gescreend middels de marker galactose. De marker bleek niet specifiek genoeg, er werden ruim 40 zuigelingen gezien met een vals positieve hielprik. Landelijk leidde dit tot verschillend beleid, kinderen werden opgenomen, kregen een galactose vrije voeding tot de uitslag (galactose –1-fosfaat UDP glucuronyl transferase) bekend werd, anderen gingen na klinisch en screenend onderzoek (urine reductie) weer naar huis.

De screening werd hervat nadat het enzym meebepaald werd in de screening.

Screening naar tyrosinemie werd eveneens gestaakt in afwachting van een meer specifieke test. Waarschijnlijk volgt in het najaar de hervatting van de screening.

Naast de gescreende ziekten werden aan de hand van aanvullend onderzoek ook andere ziekten gevonden dan waarnaar gescreend wordt. Probleem daarbij is dat het meestal om milde vormen van ziekten gaat waarvan niet bekend is hoe en of deze wel behandeld moeten worden. Deze zullen besproken worden.

Een ander probleem vormen de partiële biotinidase deficiënte patiënten (activiteit > 10 % en < 30 %). Patiënten werden verwezen bij een activiteit < 30 %. Er werden veel meer patiënten verwezen dan verwacht, ongeveer de helft van de partiële deficiënte verwijzingen bleek vals positief. Rijping van het enzym en interferentie van de meting zijn hier mogelijk een verklaring voor. Echter hoe patiënten behandeld moeten worden blijft onduidelijk. (Zie ander abstract M. Williams).

One year of expanded neonatal screening in the Netherlands: Partial Biotinidase Deficiency in 2007 in the Rotterdam region

M Williams, , FW Verheijen, JGM Huijmans, JJ Saris en JBC de Klerk

Since January 2007 neonatal screening in the Netherlands was extended with initially 15 diseases. Screening for biotinidase deficiency resulted in the referral of 18 newborns. An enzyme activity of 30 % was the threshold value. With an expected incidence of 1:129000 patients, many more patients were referred than expected. Two patients had a biotinidase activity lower than 10 % and thus were profound biotinidase deficient. Upon further investigation 6 of the 18 newborns had an activity of more than 30 % and were discharged from follow up. One of these patients had a mother with an activity of 23 %. The other patients had an activity between 16 - 30 %. Two mothers had an activity between 40-50 %. The paternal biotinidase activity was found to be in the range of 49-118 %. Most parents were non-consanguineous Caucasian. One pair originated from the Ukraine, one mother was Brazilian, there was one consanguineous Turkish couple. Investigations into DNA mutations were started. The first results of the DNA analysis will be presented. Known DNA mutations leading to the pathogenic biotinidase variants (like V199M en Q456H) were found. The mutation leading to the biotinidase D444H variant with partial activity was found six times, including once in combination with A171T, in the 10 patients with partial activity. All patients with an activity lower than 30 % were treated with weekly biotine (5 mg).

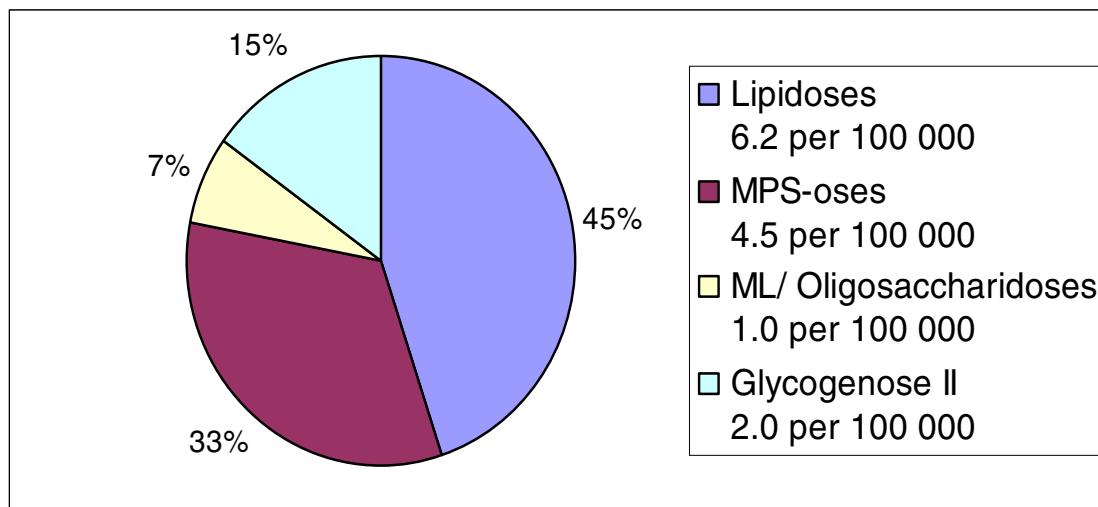
Hopefully the DNA investigations will lead to criteria for rational treatment of patients with partial biotinidase deficiency and/or supplementation during pregnancy or major events. When the information can not be conclusive controlled trials will be necessary.

LYSOSOMAL STORAGE DISORDERS

C.E.M. Hollak, internist erfelijke stofwisselingsziekten

Introduction

Lysosomal storage disorders are inherited disorders that are caused by deficient activity of a lysosomal enzyme or a defect in a transport protein. The pathophysiology of this group of diseases is mainly explained by the accumulation of undegraded substrate, although the production of toxic compounds may also contribute to organ damage in some instances. An example is Gaucher disease, where deficiency of glucocerebrosidase leads to storage of glucocerebroside (or glucosylceramide) in macrophages. The lack of degradation into ceramide does not seem to have an impact on the disease, because ceramide can be synthesized from other sources. On the other hand, it is very likely that toxic metabolites of glucosylceramide play a role in the pathophysiology of the more severe type 2 and 3 phenotypes: the neuronopathic forms. The prevalence of lysosomal storage disorders is relatively high within the spectrum of adult inherited metabolic diseases. It is estimated that the entire group of diseases takes up the second place after phenylketonuria (PKU). The distribution of lysosomal storage disorders has been investigated in the Netherlands in 1999, showing that most patients belong to the glycosphingolipidoses (Gaucher disease, Fabry disease), mucopolysaccharidoses and glycogenosis type II (Pompe disease) (figure 1, adapted from Poorthuis et al, 1999).



The majority of these disorders harbour an attenuated phenotype that will come to the attention of the adult physician. Although many have been diagnosed during childhood, it is not unusual that a correct diagnosis is delayed until adulthood. Also very mild disease phenotypes may only be diagnosed during family screening, e.g. Fabry females can be easily missed. For the physician, who is caring for adults with inherited metabolic diseases, it is crucial to recognize these disorders and to know how reach a correct diagnosis. This is important for family counselling, providing adequate information about prognosis and last but not least to start treatment at the right time. The purpose of this overview is to discuss briefly the principles of treatment of lysosomal storage disorders and the clinical presentation, diagnosis and treatment of the most prevalent lysosomal storage disorders in adulthood.

Basic principles in the treatment of lysosomal storage disorders

Lysosomes are cellular compartments with an acidic pH, surrounded by a membrane, containing many hydrolases. These hydrolases can degrade biological macromolecules that have entered the lysosome through various pathways, such as endocytosis, autophagy or direct transport. Deficiency of one of these hydrolases results in accumulation of its substrate and precursors or other compounds that are derived from this substrate. The cause for the deficient activity is a mutation in the encoding DNA-fragment in most instances, but a mutation in a transport protein can also underlie the defective enzyme activity. Treatment of lysosomal storage disorders relies on the restoration of the defective degradation of accumulated substrates. Enzyme replacement therapy (ERT) is based upon the cellular uptake by receptor-mediated endocytosis of recombinant proteins that are administered to the bloodstream, with subsequent delivery to the lysosome. Within the acidic milieu of the lysosome, the enzyme is capable of degrading the accumulated substrate. Alternative approaches are the use of small molecules that can either stabilize abnormally folded enzymes (chaperone-therapy) or diminish the production of new glycosphingolipids. For this last approach, substrate reduction therapy (SRT), residual enzyme activity or sufficient alternative degradation pathways need to be present to result in a net decrease in storage material. Over the last ten years, ERT has been developed for Gaucher disease, Fabry disease, MPSI, MPS VI, Pompe disease (glycogenosis II) and MPS II. For some other lysosomal storage disorders ERT is in preclinical phase. Several more severely affected patients suffer

from involvement of the central nervous system. This is the case, for example, in the rare type 2 and 3 Gaucher phenotypes and the severe Hurler phenotype (MPS I). ERT is not efficacious in the treatment of central nervous system involvement, as a result of the blood-brain barrier. The small molecules may be more suitable for that purpose, but only limited data are currently available to support this. Substrate reduction therapy with miglustat (N-butyl-deoxynojirimycin, an iminosugar) is approved for the treatment of mild to moderate type Gaucher disease. The inhibition of the formation of glucosylceramide, the first step in the production of complex glycosphingolipids, implies that miglustat or similar compounds may also be potentially efficacious in the treatment of other glycosphingolipidoses. Chaperone-therapy is currently investigated as an oral treatment for Fabry disease. Clearly, chaperones can only function when the tertiary structure of the enzyme is distorted, but at the same time the catalytic domain is preserved. This means that only for patients with certain missense mutations this approach may work.

Gaucher disease

Gaucher disease (OMIM 230800) has always been regarded as the most prevalent lysosomal storage disorder, although in the Netherlands currently the number of patients with Fabry disease exceeds the number of Gaucher patients. Gaucher disease is characterized by a deficiency of the lysosomal enzyme glucocerebrosidase (glucosylceramidase), which leads to the accumulation of glucocerebroside in macrophages only. As outlined before, based upon the presence or absence of neurological symptoms, Gaucher disease can be divided into three phenotypes; type 1 (non-neuronopathic), type 2 (acute neuronopathic) and type 3 (subacute neuronopathic). Type 1 Gaucher disease is by far the most common form, accounting for 99% of the Gaucher cases. In the past two decades, Gaucher disease has received much attention for being the first of the lysosomal storage disorders for which safe and effective enzyme replacement therapy has been developed, thereby making Gaucher disease a prototype for other intracellular protein deficiency diseases.

Clinical presentation

Type 1 Gaucher disease is a highly variable non-neuronopathic disease with a clinical picture that is dominated by a slowly to rapidly progressive hepato- and splenomegaly, bone involvement and cytopenia. The mean age at diagnosis is in early adolescence, but the age of onset can range from early childhood to the eighth decade.

Thrombocytopenia is the most common peripheral blood abnormality in patients with Gaucher disease, often leading to spontaneous bruising and bleeding. Initially, this is the result of enhanced clearance of blood cells by the enlarged spleen. In a later stage of the disease, or in patients who have undergone a splenectomy, replacement of the bone marrow by Gaucher cells adds to the development of cytopenia. Low levels of several clotting factors have also been found in patients with Gaucher disease, but the clinical expression of this derangement seems to be modest. Anaemia and neutropenia are usually mild, but may result in pallor and palpitations or recurrent bacterial infection

Splenomegaly is present in all but the very mildest cases of Gaucher disease and is often a presenting symptom. In severely affected patients the spleen may be huge, sometimes weighing more than 10 kilogram, and interfering with normal food intake. Fibrotic areas and regions of extramedullary haematopoiesis can present as nodules. Splenic infarctions sporadically occur, presenting with local pain and tenderness. The liver is increased in size in most patients but gross enlargement, in which the liver may fill the entire abdomen, is typically found in splenectomized patients. The bulk of the liver may cause distress and episodes of pain occur. On physical examination the liver is usually hard and smooth. Between 30 and 50% of patients have elevated liver enzymes. However, hepatocytes appear not involved in the storage process and liver function is usually preserved. Frank hepatic failure and fibrosis with portal hypertension and ascites are uncommon but do occur sporadically. The skeletal involvement probably leads to the most debilitating symptoms. Bone disease in Gaucher is characterized by bone marrow infiltration of Gaucher cells as well as defective bone remodeling, leading to osteopenia, osteonecrosis, and avascular infarction. Nearly all patients have signs of bone involvement, but the clinical presentation varies widely. Some patients experience chronic, ill-defined bone pain that can be debilitating and poorly correlates with radiographical findings. Pathologic fractures, avascular necrosis of the femoral head, as well

as instability of the spine with consequent vertebral collapse and spinal cord compression can result in severe mobility impairment. Deformities of the distal femora can lead to the classical Erlenmeyer configuration. A number of patients experience bone crises, which can occur spontaneously or follow a febrile syndrome and begin with a deep, dull, aching pain in the involved bone. These crises are usually very painful, requiring high doses of analgesics, and can last for weeks to months. Bacterial osteomyelitis should be excluded by appropriate cultures. Although relatively uncommon, pulmonary failure is one of the most serious consequences of Gaucher disease. It may result from infiltration of the lung by Gaucher cells or from left-to-right shunting, probably secondary to liver disease. Also, pulmonary hypertension can occur, almost exclusively in splenectomized, severely affected patients. Massive visceromegaly or kyphoscoliosis following vertebral collapse can cause compression of the lung, which is probably a more frequent cause of respiratory disease.

Prevalence, diagnosis, laboratory abnormalities and differential diagnosis

Type 1 Gaucher disease can be found in all ethnic groups but is especially prevalent in the Ashkenazi Jewish population, with a frequency of about 1:400-800. The prevalence in the general population has been estimated at about 1:50.000, with a carrier frequency of 1:200. These figures could represent an underestimation, since a number of patients may remain undiagnosed because of lack of symptoms or because the diagnosis is missed. Gaucher disease is transmitted in an autosomal recessive way. The 7.5 kb gene encoding glucocerebrosidase is located at chromosome 1q21. More than 100 mutations have been described, of which the majority are point mutations. The most frequent mutations in the Ashkenazi Jewish are the N370S and the 84GG mutation. Homozygotes for the N370S mutation often have a very mild form of the disease, but the severity can be highly variable. The heteroallelic presence of the N370S mutation is associated with non-neuronopathic disease only. Alleles bearing the 84GG mutation are unable to direct synthesis of any protein at all ('null' mutation), and as such, this mutation has never been found in the homozygous state. The combination of the N370S and the 84GG mutation results in relatively severe disease. The most prevalent mutations in Caucasian patients are the N370S and the L444P. Homozygosity for the latter is associated with the neuronopathic forms of the disease. There is a wide

variability in clinical presentations in type 1 Gaucher disease and no strong correlations have been found between genotype and clinical expression.

The “gold-standard” for the diagnosis is the determination of deficient activity of glucocerebrosidase in peripheral blood leucocytes or cultured skin fibroblasts. The typical adult Gaucher patient will have enzyme activity that is 10-30% of normal values. The usefulness of this assay in the detection of heterozygotes is restricted, since there is a considerable overlap of glucocerebrosidase activity between normal and heterozygous individuals. Mutation analysis is the only way for reliable carrier detection. Although the classical method for diagnosis of Gaucher disease was the detection of lipid-laden Gaucher cells in bone marrow (see figure 1), in a biopsy of the liver, or in a surgically removed spleen, the finding of Gaucher cells is not pathognomonic for Gaucher disease and should therefore not be used as a diagnostic tool. So called ‘pseudo-Gaucher’ cells can be found in several haematological diseases, including chronic granulocytic leukaemia, lymphomas and multiple myeloma.

The plasma of Gaucher patients harbours several abnormalities. Mild elevation of glucosylceramide can usually be found. In addition, elevated levels of tartrate resistant acid phosphatase 5B (TRAP), ferritin, angiotensin-converting enzyme (ACE), hexosaminidase and the lysosomal hydrolase chitotriosidase can be detected. The latter is by far the most elevated in symptomatic patients, with levels at least 100-fold increased and ranging to more than 4000 times the median normal value, while asymptomatic Gaucher patients show no or only slight increases. Extensive studies have shown that chitotriosidase originates from the Gaucher cell and that plasma levels are closely associated with the total body burden of Gaucher cells. It is therefore a good marker to monitor disease progression and response to therapy. However, a mutation in the chitotriosidase gene (24-bp duplication) can cause absence activity in 6% of cases and a decrease in heterozygotes. Hypergammaglobulinemia and an increased incidence of B-cell malignancies are also associated with Gaucher disease. It has been hypothesized that macrophage derived cytokines play a role in the development of these abnormalities.

Gaucher disease should be part of the differential diagnosis in patients with unexplained (hepato-) splenomegaly, especially in the presence of elevated levels of ACE or ferritin or hypergammaglobulinemia. Alternatively, Niemann Pick disease type B

(sphingomyelinase deficiency) can resemble Gaucher disease, as well as some rare disorders in cholesterol metabolism.

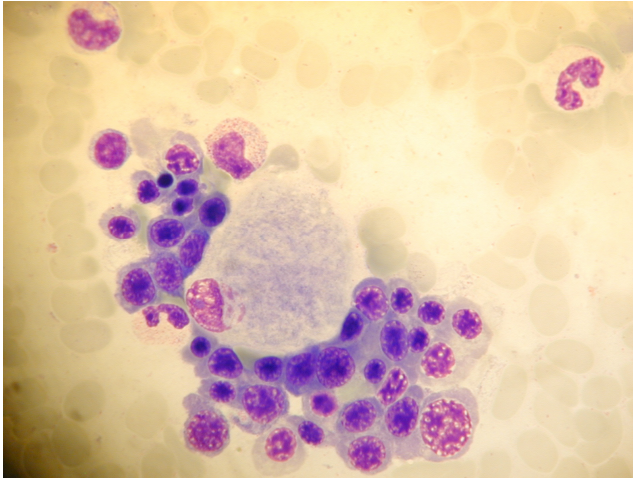


Figure 1. A microscopic view of a typical Gaucher cell, with a 'crumpled silk' cytoplasm and an eccentrically located nucleus, in the bone marrow aspirate of a patient with Gaucher disease

Therapy

Not all Gaucher patients need therapy. As is clear from the description of the clinical symptomatology, some very mild and stable cases do not require any intervention and life expectancy is normal in most cases. Before the era of ERT, splenectomy was performed in cases with severe splenomegaly and cytopenia. However, after the introduction of ERT, splenectomy is now only indicated in the very severe cases in which life-threatening complications, such as bleeding, make rapid intervention necessary. Also splenectomy may be inevitable when response to ERT is lacking and for example the presence of splenic lymphoma needs to be excluded. For treatment of bone crises, analgesics and bed rest are usually needed. Bacterial osteomyelitis may occur and requires extensive treatment with intravenous antibiotics. Orthopaedic procedures, such as hip and knee joint replacement or stabilization of the spine, are often performed.

Gaucher disease was the first of the lysosomal storage disorders that could be treated using enzyme replacement therapy, and has become available since 1991. Clinical trials using modified enzyme from placental tissue (Ceredase, alglucerase,) and later enzyme produced by recombinant techniques (Cerezyme, imiglucerase, both manufactured by Genzyme Corp., Mass., USA) showed a dramatic clinical response to regular

intravenous administration. In general, patients report striking improvements in well-being, energy level and quality of life. Improvement in cytopenia and decreases in splenic and hepatic size are apparent after 3 to 12 months of treatment. Splenic size decreases by approximately 20% and liver size by approximately 10% after 6 to 12 months of treatment. Liver volume usually normalizes while the spleen continues to show some enlargement, even after a long period of treatment. Bone marrow and mineral skeleton usually respond slower and a maximal response may take years to achieve. The most sensitive method for measuring bone marrow infiltration is MRI. If started early, bone disease can be completely prevented. However, this does not mean that all patients need treatment: in the absence of bone complications, the MRI-images can guide in the right timing of initiation of therapy (see table 1). There are no serious side-effects associated with enzyme supplementation therapy. About 13% of patients develop IgG antibodies to enzyme replacement therapy, but anaphylactic reactions are very rare. Recent studies indicate that there is a dose-response relationship. In patients with severe bone disease, it is therefore recommended to start at a higher dose, but in general doses between 30-60 U/kg per month yield satisfactory results in the majority of adult patients.

The orally administered iminosugar deoxynojirimycin (miglustat, Actelion Pharmaceuticals) is an inhibitor of glucosylceramide synthase, the enzyme which catalyzes the first step in the synthesis of most glycosphingolipids. Studies in untreated patients showed improvements in all key clinical features and biochemical markers, but there are more side effects, such as gastrointestinal complaints. In practice, enzyme replacement therapy remains the first choice for patients with moderate to severe disease. For patients with mild or minimal residual disease, the disadvantages of the side effects should be balanced against the advantages of oral administration. Further studies will be needed to identify those patients that will benefit most from miglustat.

Table 1. Criteria for the initiation of treatment (guidelines AMC, Amsterdam): presence of one of the following

Anemia	Hb < 6.5 mmol/l (10.4 g/dl) in males and Hb < 6.0 mmol/l (9.6 g/dl) in females
Trombocytopenia	Platelet count < 60 x 10 ⁹ /l or 60-100 x 10 ⁹ /l with clotting abnormalities/bleeding
Organomegaly	When leading to mechanical complaints, pain or infarctions.
Clinical bone disease	All bone complications defined as avascular necrosis, bone crises or pathological fractures. Osteoporosis.
Radiological evidence for severe bone marrow infiltration	Bone marrow fat fraction < 23% or severe decrease in signal intensities on MRI of the spine and femurs (T1 and T2)
Biochemical evidence for a high Gaucher cell burden	Chitotriosidase activity in plasma > 15.000 nmol/ml.hr or > 7.500 when heterozygous for the 24-bp duplication

Fabry disease

Fabry disease (OMIM 301500) is an X-chromosomal-linked lysosomal storage disorder. The disease is panethnic and its birth prevalence varies from 1:40,000 to 1:117,000. Deficient activity of the lysosomal enzyme α -galactosidase A (α -galA, EC 3.2.1.22) leads to the accumulation of glycosphingolipids, mainly globotriaosylceramide or ceramide trihexoside (Gb-3, GL-3 or CTH), in lysosomes in various cell types.

Extensive storage of Gb3 occurs in arterial walls, in particular in endothelial and vascular smooth muscle cells. Also in lysosomes of cardiomyocytes in the heart and of podocytes, mesangial and endothelial cells in the kidney Gb-3 storage is present. The traditional pathophysiological concept proposes progressive accumulation of Gb3 in vascular endothelial and smooth muscle cells that gradually results in ischaemic lesions in many organs. Other mechanisms of disease have recently been suggested as the traditional concept is not always in line with reported observations: significant Gb3 accumulation is already present in the fetal state, while severe symptomatology only evolves after a few decades; there is no correlation between Gb3 levels in urine or

plasma and severity of disease with equally high Gb3 levels in pre-symptomatic children and symptomatic adults; in female patients hardly any storage is found in plasma and skin vascular endothelial cells, although they did exhibit a wide spectrum of clinical abnormalities. Thus, probably secondary processes, triggered by Gb-3 accumulation, are responsible for the clinical picture related to Fabry disease. Also comorbidities or the co-existence of another genetic abnormality may ultimately define the clinical phenotype.

Clinical presentation

Again, a striking variability in clinical expression can occur, specifically in female patients. Since the disorder is X-linked, it has been generally believed that heterozygous females were asymptomatic carriers. More recent data show that they may exhibit clinical symptoms ranging from signs such as cornea verticillata to the full blown clinical picture as seen in male patients. Compared with hemizygotes, heterozygous females usually show a more protracted course. Apparently the presence of one normal α -galA-gene (resulting in significant residual α -galA activity) does not prevent the development of clinical symptomatology in females. In males, the disease presents with a less variable clinical picture, although exceptions can occur. In general, during childhood or adolescence the first symptoms develop. These include acroparesthesias, an- or hypohidrosis and proteinuria. The disease slowly progresses and may lead to severe renal, cardiac and/or cerebral complications in the third or fourth decade of life. Other features seen in association with the disease are corneal or lenticular opacities and angiokeratoma. Also vertigo, deafness, gastro-intestinal symptoms and fatigue are frequently reported. As part of the clinical spectrum two variants of the disease have been described: the cardiac and renal variant. Classical symptoms such as acroparesthesias, angiokeratoma and hypohidrosis are suggested to be absent in both variants and residual α -galA activity is thought to be present to some extent. Whether these are true variants or display the wide variation of symptomatology is unclear.

Prevalence, diagnosis, laboratory abnormalities and differential diagnosis

The disease is panethnic and its birth prevalence varies from 1:40,000 to 1:117,000. The diagnosis in males can be made by establishing deficient activity of alfa-galactosidase A

in leucocytes or plasma. In females, since the residual activity shows overlap with normal controls, only mutation analysis can lead to a definite diagnosis. Over 200 different mutations have been identified to cause the disease. Missense and nonsense mutations, splicing defects and small deletions have all been associated with the classic phenotype. No clear genotype-phenotype correlation has been demonstrated so far, as illustrated by a striking variability in the severity of symptoms and complications between patients, even within the same family. Certain genotypes have been related to milder disease presentation and some believe that the presence of residual α -galA activity influences neuropathic pain and renal outcome. No specific laboratory abnormalities can be found during routine analysis, apart from proteinuria or microalbuminuria. Elevated levels of Gb-3 are usually found in plasma and urine in symptomatic males, but may be normal in a considerable proportion of females. So far, apart from Gb-3, no biomarkers indicative of Fabry disease have been established.

Fabry disease should be considered in the differential diagnosis of any patients with unexplained cardiac hypertrophy, renal insufficiency or early stroke, specifically when the clinical history suggests an X-linked pattern of inheritance. In addition, ophthalmologists should recognize cornea verticillata and dermatologists should recognize angiokeratoma as a symptom pointing towards Fabry disease.

Therapy

Symptomatic treatment still has an important place in the clinical care for Fabry disease patients. Adequate pain management to approach the chronic or acute pain-episodes may significantly improve quality of life. This may involve the use of chronic anti-epileptic drugs to counterbalance the sometimes excruciating neuropathic pains. In case of proteinuria, usually the first manifestation of Fabry related renal involvement, ACE-inhibitors or angiotensin receptor blocking agents need to be started. When renal problems further progress and a patient develops end stage renal failure, renal replacement therapy (hemo- or peritoneal dialysis) will be initiated. Also kidney transplantation should not be withheld from Fabry disease patients. Although storage of Gb3 may reoccur in the transplanted kidney, a very good outcome is usually reported. Cardiac symptoms frequently require additional care: pacemaker or ICD implantation to encounter bradycardia and/or arrhythmias and anticoagulants in case of atrial fibrillation.

When heart failure develops, ACE inhibitors may be the first choice drugs due to their nephro-protective potential. At this point, however, no data are available on the efficacy of standard therapy in patients with heart failure due to Fabry disease.

Platelet inhibiting agents (such as aspirin and clopidogrel) are recommended as prophylaxis to minimize the risk of a cerebral ischemic stroke or TIA.

Two enzyme preparations have been developed for the treatment of Fabry patients. Agalsidase alfa (Replagal, Shire), produced in cultured human skin fibroblasts, and agalsidase beta (Fabrazyme, Genzyme) which is produced in Chinese hamster ovary (CHO) cells. In 2001 the European Medical Evaluation Agency (EMA) approved registration of both products: Agalsidase alfa for use at a dose of 0.2 mg/kg biweekly and agalsidase beta for use at a dose of 1.0 mg/kg biweekly. Both products are targeted for uptake by the mannose-6-phosphate (M-6-P) receptor, which are widely distributed on many tissues. Each preparation was studied in a series of clinical trials, showing that they effectively reduce Gb3 in plasma or urine, improve quality of life, reduce cardiac hypertrophy and preserve renal function. More recently it has become clear that especially in patients with more advanced kidney disease, progression of all organ manifestations despite treatment can occur.

Infusion-associated reactions such as chills, fever, acroparesthesias and/or dyspnoea occur frequently following treatment with either product and are very likely associated with the presence of anti-agalsidase antibodies. Male patients are thought to be prone to develop these side effects as they often do not express any residual enzyme activity. Antibodies evolve in 56%- 88% of male patients within the first 6 months of ERT. Their presence causes substantially neutralizing effects on agalsidase activity in vitro, with significant interference in excretion of Gb3: in patients with antibodies urinary Gb3 levels failed to decline. Long term outcome studies need to determine the effect of ERT on survival and morbidities such as cardiac events, renal failure and vascular dementia.

Table 2. Criteria for the initiation of enzyme replacement therapy for adult Fabry patients in the Netherlands. Patients have to fulfill at least one major or two minor objective criteria (adapted from Vedder et al., 2007)

Major criteria	<ol style="list-style-type: none"> 1. Severe acroparesthesias that cannot be controlled satisfactorily with carbamazepine 2. Decreased glomerular filtration rate < 80 ml/min 3. Proteinuria > 300 mg/24h 4. Documented cerebrovascular accident 5. Cardiac infarction 6. Hypertrophic nonobstructive cardiomyopathy resulting in decreased exercise tolerance 7. Rhythm disturbances necessitating a pacemaker 8. Multiple lacunar infarctions on magnetic resonance imaging
Minor criteria	<ol style="list-style-type: none"> 1. Documented transient ischemic attack 2. Cardiac hypertrophy on echocardiography or magnetic resonance imaging 3. Atrial fibrillation 4. Intraventricular conduction abnormality 5. Sensory hearing loss as shown on a hearing test 6. Severe vertigo 7. Microalbuminuria >50 mg/24h 8. Mild to moderate acroparesthesias 9. Gastrointestinal complaints that cannot be explained by medical conditions other than Fabry disease

Substrate reduction therapy (SRT), chemical chaperones and gene therapy are alternative approaches to encounter the defective degradation of Gb3. SRT prevents or decreases accumulation of Gb3 by inhibition of the synthesis of glycosphingolipids. Chemical chaperones are administered to enhance the function of misfolded but potentially functional enzyme. And gene therapy is aimed to restore α -galA activity by replacement of the defective gene. These therapeutic options are not yet clinically available.

Mucopolysaccharidosis type I

The mucopolysaccharidoses are a group of seven disorders of which types I, II, IV and VI can also come to the attention of the physician for adult inherited metabolic diseases. Accumulation of glycosaminoglycans (GAG's) in bone and connective tissues resulting in skeletal abnormalities is a common feature in all mucopolysaccharidoses. The most

prevalent disorder is mucopolysaccharidosis type I (MPS I), which will be described here as an example. MPS I is an autosomal recessive lysosomal storage disease that results from deficient activity of the enzyme α -L-iduronidase (OMIM 252800), with subsequent lysosomal accumulation of GAG's, mainly dermatan sulphate and heparin sulphate, in osteoblasts, osteoclasts, osteocytes, synoviocytes and chondrocytes. GAG's are complex polysaccharides consisting of specific repetitive disaccharides. The pathophysiology of MPS I is incompletely understood, but it is hypothesized that lysosomal GAG accumulation in bones, ligaments, tendons as well as surrounding soft tissues contributes to the skeletal deformities, abnormal growth, cardiac and pulmonary abnormalities and soft tissue swelling that results in sleep apnea syndrome. In more severely affected individuals, the central nervous system is also involved.

Clinical presentation

The clinical spectrum of MPS I is traditionally divided into three clinical phenotypes. Hurler is the most severe phenotype presenting in early childhood with progressive neurological deterioration and life expectancy < 10 y. This subtype will not be described here. The more attenuated forms are Hurler-Scheie, representing an intermediate phenotype with life expectancy usually < 25 y and Scheie, the milder, non-neuropathic phenotype, with a near normal or normal lifespan. In Hurler-Scheie syndrome, mild retardation is not uncommon, but the central nervous system symptoms are less pronounced than in Hurler syndrome. Most patients have coarse facial appearance, corneal clouding and retarded growth. Starting around the age of ten years, abnormalities such as joint stiffness, deafness, heart valve abnormalities, mild hepatomegaly, recurrent ENT infections and sleep apnea syndrome can become apparent. An important feature is dysostosis multiplex. In MPS I, the term dysostosis multiplex is used to describe the skeletal deformities caused by structural abnormalities of bones due to progressive accumulation of GAG's. Abnormalities of the dysostosis multiplex in MPS I are found in the skull, ribs, spine, pelvis, hands and tubular bones. A particularly threatening complication is spinal cord compression due to accumulation of GAG's in the spinal canal (cervical pachymeningitis). The disease usually progresses with increasing pulmonary and cardiac (or combined) complications, leading to death before the third decade. Scheie disease represents the milder variant, without central

nervous system involvement. These patients suffer specifically from the skeletal disease as well as from cardiac valve abnormalities and pulmonary dysfunction. In this subtype, the disease manifestations may be very mild, with near normal growth and only slight joint stiffness and joint abnormalities. Also, the facial features may be minimal, which may not alert the physician to look into the direction of an MPS- disorder. In these instances the diagnosis is easily missed and patients can be treated as having a rheumatic disorder for many years. The progression of disease is usually very slow and can remain stable for a long time.

Prevalence, diagnosis, laboratory abnormalities and differential diagnosis

The birth prevalence of MPS I is estimated to be 1 per 100,000. The gene for α -L-iduronidase (IDUA) is localised at chromosome 4p16.3 and encompasses 14 exons. In MPS I, more than 108 different mutations in the IDUA gene leading to α -L-iduronidase deficiency have been described. When the possibility of an MPS disorder is considered, screening of the urine for abnormal excretion of gGAG's can be performed. When an abnormal excretion pattern is found, additional enzyme activities specific for the MPS-es should be performed. The "gold-standard" for the diagnosis MPS I is the determination of deficient activity of α -L-iduronidase, which can be followed by mutation analysis. Mucopolysaccharidosis type I should be considered as part of the differential diagnosis in patients with joint stiffness and claw hands, especially when they have a retarded growth. Also, ophthalmologists should be aware of the disorder when corneal clouding is found. Disorders that resemble the attenuated MPS I phenotype are MPS VI (Maroteaux-Lamy, arylsulfatase B deficiency) and to a lesser extent MPS IV (Morquio syndrome, beta galactosidase deficiency).

Therapy

Patients with mucopolysaccharidosis should be screened and followed by a multidisciplinary team, including internist (or pediatrician), ENT specialist, pulmonologist, cardiologist and orthopedic surgeon. Because of the airway obstruction, anesthesia can be difficult, and anesthesiologist should be specifically informed about the risks in this group of patients. For Hurler syndrome, allogeneic stem cell transplantation is indicated at an early age. For the Hurler-Scheie and Scheie subtypes,

this is not an option. In recent years ERT has been introduced as treatment for MPS I with a weekly infusion of recombinant α -L-iduronidase (Aldurazyme[®], Genzyme). ERT has been proven effective in stabilizing and reversing some aspects of MPS I disease, including improved range of motion and 6 minute walk test, as well as some improvement in pulmonary function. However, the effects on the skeletal abnormalities in MPS I patients is minimal. Despite these limited effects on the skeleton, the improved range of motion may have a profound impact on the quality of life of patients.

Pompe disease

Pompe or glycogen storage disease type II (GSD II, OMIM 232300) is an autosomal recessive lysosomal storage disease caused by the deficiency of acid- α -glucosidase (GAA). Deficient activity of GAA results in impaired degradation of lysosomal glycogen, resulting in massive glycogen accumulation, which in turn leads to lysosomal swelling, cellular damage and organ dysfunction. The disease is characterized by generalized muscle weakness combined with cardiomyopathy.

Clinical presentation

Pompe disease has been classified into the infantile form and the late-onset form. The severity of the disease is related to the amount of residual enzyme activity. The most severe form is the infantile form diagnosed between birth and 7 months of age with generalized muscle weakness, cardiomegaly, severe hypotonia, mild hepatomegaly, macroglossia, and death in the first year of life. The late-onset form can be divided into a juvenile form and an adult form. The juvenile form is characterized by onset in the first decade with skeletal muscle weakness, respiratory muscle involvement and mild hepatomegaly. The adult form has similar features, but presents later in life, mostly after the third decade, with progressive muscle weakness and sometimes breathing problems. General fatigue has been recognized as a prominent symptom in these patients. Along the course of progression, assisted ventilation can become necessary in some cases.

Prevalence, diagnosis, laboratory abnormalities and differential diagnosis

The overall incidence for Pompe disease is estimated at 1 in 40,000 live births. The GAA gene is localized at chromosome 17 and contains 20 exons. As stated above, the

severity of clinical manifestation in patients is well correlated with the genetic abnormality which determines the amount of residual enzyme activity. Some plasma abnormalities may give a direction towards a diagnosis of Pompe disease such as elevations in creatine kinase (up to 10-fold) and increased liver transaminase levels. Glycogen storage in muscle biopsies can usually be found, although the pattern of distribution can be inhomogeneous. Pompe disease should be part of the differential diagnosis of patients with unexplained muscle weakness, especially in the presence of elevated creatine kinase levels.

Therapy

Currently, the only available treatment is ERT. Impressive improvements have been described with the use of rhGAA derived from transgenic rabbits and later with CHO-produced recombinant enzyme (Myozyme[®], Genzyme). In infantile patients, improved muscle strength and survival has been documented and early studies indicate a beneficial effect in late onset patients, with respect to improved muscle and respiratory function. Relative to other LSD's that are treated with recombinant enzymes, extremely high dosages up to 40 mg/kg are required, probably since the uptake in muscle is poor. Also, the formation of antibodies may influence the outcome. Further studies to tackle these problems and to evaluate the long term effects are underway.

LABORATORIUMDIAGNOSTIEK VAN ERFELIJKE METABOLE ZIEKTEN

M. Duran, N.G.G.M. Abeling, H.R. Waterham en R.J.A. Wanders

Inleiding

Het vakgebied klinische chemie van erfelijke metabole ziekten (EMZ) is voortgekomen uit de algemene klinische chemie. Al in de vijftiger jaren van de vorige eeuw werd door enkele Nederlandse klinisch chemici pionierswerk op dit terrein verricht, toen er nog maar een handvol ziekten bekend was. Eén en ander werd mogelijk gemaakt door de ontwikkeling van chromatografische scheidingsmethoden. De beschikbaarheid van aminozuuranalyse vanaf ongeveer 1960 en suikeranalyse maakte het opsporen van fenyلكetonurie (PKU) en galactosemie, beide goed behandelbare aandoeningen, mogelijk. Deze dieetbehandeling was het terrein van enthousiaste kinderartsen, die in de verschillende Universitaire Kinderklinieken subafdelingen Metabole Ziekten oprichtten. Iedere chemicus kent de wandkaart “Metabolic Pathways”, waarop een nagenoeg onontwarbare kluwen van enzymreacties is weergegeven, die samen het humane metabolisme van laagmoleculaire stoffen verzorgen. Alle enzymen hebben een functie in de bio-transformatie van organische substraten, die zowel van biosynthetische aard als van katabole aard kan zijn. In theorie kan ieder enzym onwerkzaam zijn als gevolg van mutaties in het coderende gen. Hiermee is de zogenaamde inborn error gedefinieerd. Als gevolg van de inborn error zal een substraat voor een enzymreactie onvoldoende worden omgezet en zich ophopen in lichaamsvloeistoffen zoals plasma, liquor en urine. Secundair kan een ernstig tekort aan het product van de enzymreactie optreden. Hierdoor is het bij een aantal ziektebeelden geboden om ook verlaagde concentraties van metabolieten scherp te beoordelen

De voornaamste groepen van substraten in het humane metabolisme zijn:

- aminozuren (en hun afbraakproducten organische zuren)
- suikers (en hun polymere vormen oligosacchariden en mucopolysacchariden)
- vetzuren
- nucleotiden (en de samenstellende purine- en pyrimidinebasen)
- sterolen en aanverwante stoffen zoals galzuren en steroïden

Hieruit kunnen de meeste belangrijke macromoleculen gemaakt worden zoals eiwitten, glycoproteïnen, (glyco-)lipiden, DNA en RNA. Synthese en afbraak van bio-actieve componenten vereist de actieve participatie van alle celorganellen zoals, mitochondriën, lysosomen, peroxisomen, het endoplasmatisch reticulum en het Golgi-apparaat. Daarnaast vinden veel reacties plaats in het cytoplasma. Tenslotte mag niet uit het oog verloren worden dat er een voortdurend transport van substraten plaatsvindt van het ene celcompartiment naar het andere, maar ook tussen orgaansystemen.

Als voorbeeld van het laatstgenoemde transport moge genoemd worden het transport van glucose over de bloedhersen barrière, gemedieerd door de Glut 1-transporter. Het niet functioneren van deze transporter leidt tot een ernstig tekort aan glucose in de hersenen met ernstige convulsies als gevolg. De klinisch-chemische diagnostiek omvat alleen de meting van glucose in liquor en bloed: de normale ratio liquor / bloed glucose is groter dan 0.6, bij patiënten is deze veel lager.

Diagnostiek

In Nederland wordt bevolkingsscreening op Erfelijke Metabole Ziekten verricht door middel van hielprik onderzoek bij pasgeborenen op een groot aantal defecten, waarvan vaststaat dat een succesvolle behandeling mogelijk is. Alle andere defecten worden na klinische voorselectie via zogenaamde selectieve screening opgespoord. Het geheel van selectieve screening kent een aantal niveaus

(Tabel 1). Een adequaat diagnostisch pakket vereist specifieke deskundigheid en overleg tussen specialisten.

Tabel 1. Diagnostische niveaus bij de selectieve screening op Erfelijke Metabole Ziekten

-
1. Klinische selectie
 2. Algemeen klinisch-chemische laboratoriumverrichtingen
 3. Chromatografische / Massaspectrometrische analyses
 4. Enzym activiteitsmetingen
 5. DNA mutatie screening
-

Niveau 1: Klinische selectie

Dit is het terrein van de kinderarts, neuroloog of internist. Het kan zeer voordelig zijn als ook de klinisch chemicus kennis heeft van de klinische presentatie(s) van de erfelijke metabole ziekten.

Niveau 2: Algemeen klinisch-chemische laboratoriumverrichtingen

De klinische presentatie van patiënten met erfelijke metabole ziekten kent vele verschijningsvormen waarvan de belangrijkste zijn de aanwezigheid van mentale en/of neurologische symptomen. Bij het ontbreken van voorafgaande mentale verschijnselen en ernstige, onverklaarde ‘metabole’ ziekte zal een snelle, algemeen klinisch-chemische inventarisatie richtinggevend kunnen zijn. Een aantal bepalingen komt hiervoor in aanmerking (Tabel 2).

Tabel 2. Klinisch-chemische bepalingen t.b.v. snelle diagnostiek van het acuut zieke kind

Bloedgassen	Elektrolyten
Glucose	Ureum
Lactaat	Kreatinine
Ammoniak	Leverenzymen
Hb / Ht, bloedbeeld	Spierenzymen

Met name de comateuze patiënt vereist een snelle initiële diagnostiek. Ruwweg wordt een drietal typen “metabool coma” onderscheiden, te weten die met hypoglycemie, met hyperammoniëmie en met (keto)acidose.

Hypoglycemie ontstaat door of een te hoog verbruik van glucose als gevolg van hormonale imbalance (hyperinsulinisme) of door onvoldoende aanmaak van glucose bij vasten (glycogenolyse en gluconeogenese) of door onvoldoende productie van ketonen, die naast glucose het alternatieve energie-substraat voor de hersenen zijn).

Al naar gelang het tijdstip van de hypoglycemie en de aan- of afwezigheid van ketonen en verhoogd lactaat valt de verdenking op een van de gemelde groepen. Immers:

- hyperinsulinisme treedt onvoorspelbaar op, meestal kort na voeding. Ketonen zijn afwezig, vrije vetzuren zijn laag.
- glycogenolyse- en gluconeogenese defecten ziet men iets later, meestal met verhoogd lactaat en ketonen
- vetzuuroxidatie defecten komen het langst na de voeding tot uiting, zij hebben per definitie hypoketonemie en hypoketonurie; eenvoudig in urine vast te stellen. De vrije vetzuren zijn bij vasten zeer hoog. De niet afbreekbare vetzuren worden deels omgezet in carnitine-esters, die in bloed gemeten kunnen worden met tandem-massaspectrometrie.

Het hyperammonemisch coma (bloedammoniak > 500 $\mu\text{mol/l}$) is meestal een gevolg van een stoornis in de ureumcyclus met bijbehorend laag ureum en alkalose (ammoniak is een base).

De analyse van aminozuren in plasma maakt een differentiatie van de meeste defecten mogelijk, terwijl men niet mag vergeten dat ophoping van organisch zuren de ureumcyclus negatief kan beïnvloeden en dus ernstige hyperammonieemie tot gevolg kan hebben.

Het keto-acidotisch coma ziet men niet alleen bij diabetes, maar ook bij organo-acidemieën, zoals propionacidemie of isovaleriaanacidemie, aan te tonen door analyse van organische zuren in urine.

De keto-acidose is een gevolg van katabolisme bij langdurig vasten en wordt verergerd door ophoping van organisch zuur, dat niet kan worden gemetaboliseerd.

Niveau 3: De chromatografische / massaspectrometrische analyse

Ook wel bekend als de biochemische basisdiagnostiek. Multicomponent-analyses zijn krachtige methoden om veranderingen in het metabolisme van laagmoleculaire stofwisselingsintermediären aan te tonen. Naast de klassieke HPLC en gas-chromatografie / massaspectrometrie is de electropray tandem massaspectrometrie

sterk in opkomst. Deze techniek maakt het mogelijk om polaire, niet-vluchtige verbindingen zeer snel, specifiek en kwantitatief te analyseren.

Een van de grote voordelen van tandem MS analyse is de snelheid, waardoor het mogelijk wordt om zeer grote aantallen monsters te analyseren. Daarom is de neonatale screening ('hielprik') op PKU uitgebreid met een massaspectrometrische analyse van acylcarnitines en andere aminozuren.

Op die manier kunnen gelijktijdig enkele tientallen organo-acidemieën en vetzuuroxidatie stoornissen worden opgespoord. Voor de biochemische basisdiagnostiek van klinisch geselecteerde patiënten beschikt het biochemisch genetisch laboratorium over een panel van analyses, dat al naar gelang de klinische presentatie van de patiënt selectief wordt ingezet voor urine, plasma of liquor (Tabel 3). In een klein aantal gevallen is het resultaat van de biochemische basisdiagnostiek van absolute diagnostische waarde, zoals bijvoorbeeld bij alkaptonurie (homogentisinezuur in urine) of cystinurie (cystine, lysine, arginine en ornithine in urine). In de meeste gevallen zal aanvullende enzymdiagnostiek of DNA-diagnostiek nodig blijken.

Tabel 3. Laboratoriumbepalingen in gebruik bij de biochemische basisdiagnostiek van Erfelijke Metabole Ziekten

	Test	Urine	Plasma	CSF
1	Aminozuren	X	X	X
2	Organische zuren	X	X	X
3	Acylcarnitines	X	X	
4	Purinen / Pyrimidinen	X		
5	Oligosacchariden	X		
6	Mucopolysacchariden	X		
7	Siaalzuur	X		
8	Homocysteïne	X	X	
9	Zeer lange vetzuren		X	
10	Phytaanzuur / Pristaanzuur		X	
11	Galzuren / Galalcoholen	X		
12	Polyolen	X		
13	Sialotransferrines/Apo C III-isovormen		X	
14	Sterolen		X	
15	Anionen	X		
16	Kreatine / Guanidinoazijnzuur	X	X	X
17	Neurotransmitter-metaboliëten	X	X	X
18	Pterinen	X	X	X
19	Methyltetrahydrofolaat			X
20	Essentiële vetzuren*		X	
21	Sulfatiden	X		
22	Plasmalogenen*			
23	Pipecolinezuur	X	X	X
24	Mevalonzuur	X		
25	Methylmalonzuur		X	
26	Catecholaminen	X		
27	Alfa-aminoadipinezuursemaaldehyde	X		
28	S-adenosylmethionine/-homocysteïne		X	X

* Erythrocyten

Niveau 4: Enzymdiagnostiek

Bevestiging van het vermoede metabole defect bij een patiënt wordt verkregen door het aantonen van verminderde activiteit van het betreffende enzym in cellen of weefsels van de patiënt. Mede gezien de zeldzaamheid van de ziekten zullen enzymbepalingen vrijwel altijd in gespecialiseerde laboratoria gedaan worden. Ook draagt de complexiteit van deze metingen ertoe bij dat geen enkel laboratorium erin slaagt om enzymmetingen over het gehele metabole veld operationeel te hebben. De noodzaak van enzymbepalingen wordt geïllustreerd aan galactosemie. Zowel primaire patiënten als patiënten met secundaire leverziekte tonen een ophoping van galactose en galactitol. Alleen de meting van de galactose-1-fosfaat uridyltransferase activiteit in erythrocyten spoort de primaire patiënt op.

De beschikbaarheid van enzymbepalingen is vaak gekoppeld aan onderzoekslijnen van het desbetreffende laboratorium. Dit illustreert de wederzijdse bevruchting van diagnostiek en research op het terrein van de erfelijke metabole ziekten. De enzymdiagnostiek biedt naast de bevestiging van het defect ook de mogelijkheid om bij volgende zwangerschappen prenatale diagnostiek te verrichten. Het geheel van enzymdiagnostiek is voorbehouden aan de metabole laboratoria van de Universitaire Medische Centra.

Niveau 5: Moleculaire diagnostiek

Het vijfde diagnostische niveau omvat de mutatie-screening van het aangedane gen. In Nederland gebeurt dit bij voorkeur in de moleculair genetische laboratoria van de vroegere klinisch genetische centra. De coördinatie van de DNA-diagnostiek binnen Nederland ('wie doet wat') wordt verzorgd door het Landelijk Overleg DNA-diagnostiek (LOD, www.fdg.unimaas.nl/lod). Bij veel erfelijke metabole ziekten is mede vanwege de zeldzaamheid sprake van met name zogenaamde private mutaties, hetgeen inhoudt dat in veel gevallen het gen over de volle lengte moet worden gesequenced. Momenteel heeft de moleculaire diagnostiek al een sterke voorkeur boven enzymdiagnostiek wanneer het defect alleen in lever en niet in perifere cellen tot expressie komt zoals bijvoorbeeld bij glucose-6-fosfatase deficiëntie (glycogenose type 1), ornithine transcarbonylase deficiëntie en PKU. Ook de prenatale diagnostiek van erfelijke metabole ziekten wordt bij voorkeur met moleculaire technieken verricht.

Behandeling van patiënten

Wanneer het diagnostische traject is afgerond en een éénduidige diagnose is gesteld, komt het aspect van behandeling aan bod. Dit gebeurt in nauwe samenspraak met de metabole kinderartsen en internisten. Therapie monitoring is een zuiver klinisch chemische aangelegenheid, waarbij dezelfde technieken als bij de basisdiagnostiek worden toegepast.

Referenties

1. Fernandes J, Saudubray J-M, van den Berghe G, Watter J. (eds), Inborn metabolic diseases, *Springer Verlag* Berlin , Heidelberg, New York (2006).
2. Scriver CR, Beaudet Al, Sly WS, Valle D (eds), The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease, *McGraw-Hill*, 8th ed. New York (2001).
3. Blau N, Duran M, Blaskovics ME, Gibson KM (eds), Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Diseases, *Springer Verlag* , Berlin, Heidelberg , Duitsland (2002).
4. Blau N, Duran M, Gibson KM (eds). Laboratory Guide to the Methods in Biochemical Genetics. *Springer Verlag*, Berlin, Heidelberg, Duitsland (2008).
5. Zschocke J, Hoffmann GF (eds). Vademecum Metabolicum: Manual of Metabolic Paediatrics. *Milupa/Schattauer*, 2004.

**METABOLE ZIEKTEN BIJ OUDEREN: GALACTOSEMIE EN ACUTE
PRESENTATIE BIJ OUDEREN**

M. den Heijer, internist-endocrinoloog

Hand-outs worden uitgereikt tijdens de voordracht.