

Syllabus

PAOKC-cursus Klinische Chemie en Laboratoriumgeneeskunde

Vraagstukken in de klinische chemie bij kinderen

Nederlandse Vereniging
voor Klinische Chemie en
Laboratoriumgeneeskunde

Dinsdag 29 maart 2005

Congrescentrum De Eenhoorn, Amersfoort

Programma

9.15 - 10.00 **Ontvangst en koffie**

OCHTENDPROGRAMMA

Voorzitter: *B.J. Sibbles*

10.00 - 10.10 **Opening**

Y.B. de Rijke

10.10 - 10.50 **Stoornissen in de Groeihormoon-IGF as**

M. Jansen

10.50 - 11.30 **Infecties van het centraal zenuwstelsel**

A.M. van Furth

M.M. Verbeek

11.30 – 12.00 **Koffiepauze**

12.00 – 13.00 **Verdenking CF: is zweten weten?**

H.G.M. Arets

I. Bronsveld

13.00 – 14.00 **Lunchpauze**

MIDDAGPROGRAMMA

Voorzitter: *Y.B. de Rijke*

14.00 – 14.30 **Nierfunctie bij kinderen - het is niet steeds wat het lijkt**

K. Cransberg

14.30 – 15.15 **Korte darmsyndroom: met welke elementen gaan we aan de slag?**

H. Meijers-IJsselstijn

J.L. Willems

15.15 - 15.45 **Theepauze**

15.45 – 16.45 **Toveren met diagnostische data bij kinderen - mogelijkheden van de bioinformatica**

P. van der Spek

16.45 – 17.00 **Afsluiting**

J.L. Willems

17.00 – 17.30 **Afsluitende borrel**

Sprekers

Dr. H.G.M. Arets

Kinderarts-pulmonoloog
Universitair Medisch Centrum, Utrecht

Dr. I. Bronsveld

Longarts in opleiding
Universitair Medisch Centrum, Utrecht

Drs. K. Cransberg

Kinderarts-nefroloog
Erasmus MC-Sophia Kinderziekenhuis, Rotterdam

Dr. A.M. van Furth

Kinderarts-infectioloog
VU Medisch Centrum, Amsterdam

Dr. M. Jansen

Kinderarts-endocrinoloog
Universitair Medisch Centrum, Utrecht

Dr. H. Meijers-IJsselstijn

Kinderarts
Erasmus MC-Sophia Kinderziekenhuis, Rotterdam

Prof. dr. P. van der Spek

Moleculair geneticus
Erasmus MC, Rotterdam

Dr. ir. M.M. Verbeek

Biochemicus
Universitair Medisch Centrum St Radboud, Nijmegen

Organisatie

Organisatiecommissie

Dr. J. Draaisma Kinderarts	Universitair Medisch Centrum St Radboud Nijmegen
Dr. H. Kemperman Klinisch chemicus	Universitair Medisch Centrum, Utrecht namens de PAOKC commissie van de NVKC
Dr. Y.B. de Rijke Klinisch chemicus	Erasmus MC-Sophia Kinderziekenhuis Rotterdam
Drs. B.J. Sibbles Kinderarts	Erasmus MC-Sophia Kinderziekenhuis Rotterdam
Prof.dr. J.L. Willems Klinisch chemicus	Universitair Medisch Centrum St Radboud Nijmegen

Inhoud

	Pagina
Stoornissen in de Groeihormoon –IGF as <i>M. Jansen</i>	6
Infecties van het centraal zenuwstelsel <i>A.M. van Furth</i> <i>M.M. Verbeek</i>	10
Verdenking CF: is zweten weten? <i>H.G.M. Arets</i> <i>I. Bronsveld</i>	25
Nierfunctie bij kinderen – het is niet steeds wat het lijkt <i>K. Cransberg</i>	29
Korte darmsyndroom: met welke elementen gaan we aan de slag? <i>H. Meijers-IJsselstijn</i> <i>J.L. Willems</i>	32
Mogelijkheden van de bioinformatica Visual Analytics in clinical diagnostic decision making processes <i>P. van der Spek</i>	40

STOORNISSEN IN DE GROEIHORMOON – IGF AS

M. Jansen, kinderarts-endocrinoloog

De diagnostiek van stoornissen in de groeihormoon(GH)-IGF as spitst zich bij kinderen van oudsher toe op de diagnostiek van groeihormoondeficiëntie (GHD). Groeihormoon-overproductie, bij volwassenen leidend tot acromegalie, komt bij kinderen zelden voor. Ook groeihormoonresistentie heeft de naam zeldzaam te zijn, maar vooral de minder uitgesproken vormen blijken vaker voor te komen dan gedacht.

Groeihormoondeficiëntie

De diagnose groeihormoondeficiëntie is niet zo eenvoudig te stellen (1). Natuurlijk, er zijn patiënten met een ‘geheide’ GHD, vaak in combinatie met uitval van andere hypofysaire hormonen. Voorbeelden zijn kinderen die behandeld zijn voor een tumor in het hypothalamusgebied, of kinderen met aanlegstoornissen van het hypothalamo-hypofysaire systeem (2). Maar vaak presenteren kinderen zich met een kleine gestalte en afbuigende groeicurve zonder verdere klachten of kenmerkend fenotype. Bij dergelijke kinderen wordt in eerste instantie screenend onderzoek verricht om onderliggende ziekten uit te sluiten, zoals nier- en leverziekten, coeliakie en chromosomale afwijkingen; om een indruk te krijgen van de activiteit van de GH-IGF as wordt het plasma IGF-I gemeten. Is dit te laag voor de leeftijd dan moet de groeihormoonsecretie verder worden onderzocht. Hiervoor is een groot aantal testen beschikbaar die er allemaal op berusten dat de groeihormoonsecretie tijdelijk wordt aangezet; indien de GH-spiegel in deze testsituatie niet boven de min of meer arbitraire grenswaarde van 20 mE/l uitkomt bestaan er aanwijzingen voor GHD en moet een tweede test uitsluitsel geven. Laat ook die tweede test een te geringe oploop zien dan kan een groeihormoonbehandeling worden aangevraagd. De Nederlandse Groeistichting, met een registratiebureau gevestigd in Rotterdam, bewaakt de diagnostische procedures en verzamelt ook gegevens over de effectiviteit van de behandeling op grond waarvan de behandeling gecontinueerd, gewijzigd, of gestaakt wordt.

De groeihormoonbehandeling als zodanig verloopt meestal zonder veel problemen. Complicaties, zoals hersendrukverhoging door vochtretentie en epifysiolyse van de dijbeenkop, doen zich gelukkig zelden voor. Groeihormoon moet dagelijks subcutaan worden toegediend, maar de therapietrouw van de kinderen is doorgaans voortreffelijk, vooral als ze op de groeicurve zien dat ze door de behandeling ook werkelijk harder gaan groeien. Als, vaak na jaren behandeling, de eindlengte is bereikt, moet een beslissing genomen worden of de behandeling ook in de volwassenheid moet worden voortgezet – uiteraard niet meer vanwege de groei, maar vanwege de effecten van groeihormoon op de stofwisseling, bijvoorbeeld op het koolhydraat- en vetmetabolisme, de spierontwikkeling en de botvorming. In de laatste jaren is gebleken, dat kinderen met een geïsoleerde, idiopathische GHD – dat wil zeggen zonder afwijkingen op een MRI en zonder anatomische oorzaak voor de GHD zoals een tumor of bestraling – nogal eens normaal testen voor groeihormoon als ze zijn uitgegroeid. Blijkbaar is er bij deze kinderen ergens in het behandelingstraject een omslag opgetreden van groeihormoon-deficiëntie naar groeihormoonsufficiënte. Wanneer precies en waardoor deze omslag plaatsvindt is niet bekend; feit is wel dat door vaststelling ervan het kind een verdere behandeling bespaard kan blijven.

(Schijnbare) groeihormoonresistentie

Sommige kinderen presenteren zich met een afbuigende groeicurve en een laag IGF-I, met daarbij soms fenotypische kenmerken van een groeihormoondeficiëntie zoals een relatief grote hersenschedel en een ruime hoeveelheid subcutaan rompvet, terwijl dan toch in de groeihormoonstimulatietest geen aanwijzingen gevonden worden voor een groeihormoondeficiëntie (3). Integendeel, de groeihormoonoploop is vaak zeer goed, soms tot ver boven de 60 mE/l. Bij die kinderen bestaat verdenking op een (partiële) groeihormoonresistentie. De frequentie van voorkomen van dit beeld – kleine gestalte met afbuigende groeicurve, $IGF-I < -2$ SD voor de leeftijd, GH-oploop in de stimulatietest tot > 60 mE/l – is ongeveer 10% in onze WKZ-patientenpopulatie.

In grote lijnen kan het beeld van (schijnbare) groeihormoonresistentie berusten op een stoornis in de groeihormoonreceptor of de signaaltransductie, dan

wel op een afwijkend groeihormoonmolecuul zelf. In het eerste geval zal de reactie van het IGF-I op toediening van biosynthetisch groeihormoon onvoldoende zijn, in het tweede geval is deze echter normaal – vandaar de term ‘schijnbare’ resistentie. Om tussen beide mogelijkheden te differentiëren wordt een zogenaamde IGF-I generatietest uitgevoerd, waarbij oplopende hoeveelheden groeihormoon worden toegediend in perioden van een week, onder monitoring van de IGF-I respons (4). Hiervoor is door de Adviesgroep Groeihormoon van de Sectie Kinderendocrinologie een protocol opgesteld. Met deze test zijn inmiddels enkele kinderen opgespoord die inderdaad mutaties hebben in de groeihormoonreceptor of de signaal-ransductie. Wat het pathogenetisch defect is bij de kinderen met een schijnbare resistentie is nog grotendeels onbekend; mutaties in het groeihormoon-gen zelf zijn wel beschreven maar kunnen bij deze kinderen toch meestal niet worden aangetoond.

In geval van partiele groeihormoonresistentie op grond van mutaties in de GH-receptor of de signaaltransductie is het vaak mogelijk met een hoger dan gebruikelijke dosis GH toch een groeiversnelling teweeg te brengen. Bij ernstiger vormen heeft GH-toediening geen zin; in dat geval is de enige behandelingsmogelijkheid toediening van IGF-I (5). Het effect hiervan op de groei is zeer matig terwijl de bijwerkingen er niet om liegen: hypoglycemieën (door het insuline-achtig effect) en gewichtstoename, soms ook vergroving van de gelaatstrekken. Sinds kort loopt een Europese trial met IGF-I gecomplexeerd met zijn bindend eiwit, IGF-BP3 (Somatokine[®]). Hierdoor neemt het insulineachtige effect van IGF-I af en de serumhalf-aardetijd toe. Het effect van deze behandeling op de groei moet worden afgewacht.

Referenties

1. GH Research Society: Consensus Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Growth Hormone Deficiency in Childhood and Adolescence. *J Clin Endocrinol Metab* 2000, 85:3990-3993.
2. Bona G, Paracchini R, Giordano M, Momigliano-Richiardi P. Genetic Defects in GH Synthesis and Secretion. *Eur J Endocrinol* 2004, 151: S3-9.
3. Blair JC, Savage MO. The GH-IGF-I Axis in Children with Idiopathic Short Stature. *Trends in Endocrinol Metab* 2002, 13:325-330.
4. Buckway CK, Guevara-Aguirre J, Pratt KL, Burren CP, Rosenfeld RG. The IGF-I Generation Test Revisited: A Marker of GH Sensitivity. *J Clin Endocrinol Metab* 2001, 86:5176-5183.

5. Laron Z. Laron Syndrome (Primary Growth Hormone Resistance or Insensitivity): The Personal Experience 1985-2003. *J Clin Endocrinol Metab* 2004, 89:1031-1044.

INFECTIES VAN HET CENTRAAL ZENUWSTELSEL

A.M. van Furth, inderarts-infectioloog
M.M. Verbeek, biochemicus

HERSENABCES

Inleiding

De gemiddelde leeftijd van een patiënt met een hersenabces is tussen de 30 en 45 jaar, echter de leeftijd van voorkomen is enigszins afhankelijk van de etiologie. Indien een hersenabces als gevolg van een otitis media ontstaat, ligt de piekincidentie op de kinderleeftijd en na het 40 ste levensjaar. Terwijl een hersenabces vanuit een paranasale sinusitis vaker voorkomt bij mensen tussen de 10 en 30 jaar.

Ongeveer 25% van de gevallen van hersenabces komt voor bij kinderen jonger dan 15 jaar, vooral bij jongens; de piekincidentie ligt tussen 4 en 7 jaar. Onder de leeftijd van 2 jaar is het hersenabces zeldzaam; het gaat dan meestal gepaard met een door Gram-negatieve bacteriën (*P. mirabilis* en *C. diversus*) veroorzaakte meningitis. De meest voorkomende verwekkers van het hersenabces staan vermeld in Tabel I.

Pathologie

Uit dierexperimentele studies is bekend dat men bij het hersenabces histopathologisch vier stadia kan onderscheiden. In stadium I (dag 1 tot 3) ziet men vroege cerebritis, met een perivasculaire ontstekingsreactie en oedeem in de omliggende witte stof. Stadium II (dag 4 tot 9) toont late cerebritis, met necrosevorming in het centrum van het abces. In stadium III (dag 10 tot 13) ziet men vroege kapselvorming door fibroblasten, waarbij de necrose in het centrum van het abces afneemt. In stadium IV (dag 14 en verder), de fase van late kapselvorming, wordt het kapsel steeds dikker en kan rond de derde week collageenvorming worden aangetoond.

Kliniek

De symptomen kunnen bij het hersenabces van patiënt tot patiënt verschillen. Ze hangen onder andere af van de virulentie van het verwekkende micro-organisme, de immuunstatus van de gastheer, de plaats van het abces, het aantal laesies en de

aanwezigheid van meningitis of doorbraak in de ventrikels. Tabel II geeft een opsomming van de voornaamste klinische manifestaties.

Diagnose

Het hersenabces kan worden aangetoond door middel van CT met contrast of (diffusie gewogen) MRI van de hersenen. Ook ^{99m}Tc-technetiumscintigrafie is bruikbaar. Lumbale punctie mag pas worden verricht als een cerebraal ruimte-innemend proces is uitgesloten. Zodra de klinische toestand van de patiënt het toelaat, kan de neurochirurg zorgdragen voor aspiratie en drainage van het abces, waarbij materiaal voor kweek wordt ingezet. Bij elke patiënt met een hersenabces moet goed focusonderzoek worden verricht.

Differentiaaldiagnostisch moet men denken aan (1) infecties: meningitis, subduraal empyeem, epiduraal abces, virale encefalitis door HSV, mycotisch aneurysma bij bacteriële endocarditis, (2) neoplasmata, (3) vasculaire afwijkingen: intracraniele bloeding, infarct, (4) demyeliniserende ziekten.

Therapie

De antibiotische behandeling van het hersenabces indien de verwekker nog niet bekend is berust op empirie, want tot nu toe zijn geen prospectieve placebogecontroleerde studies verricht. Indien het hersenabces is ontstaan vanuit een KNO infectie (sinusitis, mastoïditis, otitis media), na een KNO-operatie, of na een penetrerend hersentrauma kan men de patiënt behandelen met flucloxacilline in combinatie met metronidazol. Benzylpenicilline in combinatie met metronidazol (eventueel in combinatie met ceftriaxon) is een geschikte therapie als het hersenabces vanuit een congenitale hartafwijking, endocarditis, longinfectie of dentogeen focus is ontstaan. De optimale behandelingsduur is onbekend. Als richtlijn kan men aanhouden 4 tot 6 weken intraveneuze therapie gevolgd door 2 tot 6 maanden orale therapie.

VIRALE ENCEFALITIS

Inleiding

Acute encefalitis is een ontsteking van het hersenparenchym die in enkele dagen is ontstaan, terwijl het beeld van *chronische* encefalitis meestal in de loop van weken tot maanden ontstaat. Men spreekt van *primaire* encefalitis als een virus direct (via hematogene of intraneuronale verspreiding) het centrale zenuwstelsel (CZS) binnendringt, waardoor de patiënt symptomen van cerebraal disfunctioneren gaat vertonen. *Postinfectieuze* en *para-infectieuze* encefalitis ontstaan na of bij een gegeneraliseerde infectie, waarbij er geen aanwijzing is dat het micro-organisme ook in het CZS aantoonbaar is. Hier wordt alleen de acute encefalitis besproken. De meest voorkomende virale verwekkers van encefalitis staan in Tabel III.

Kliniek

Acute encefalitis kan zich presenteren met aspecifieke symptomen zoals hoofdpijn, lethargie, braken en anorexie. Ook meer specifieke symptomen van cerebraal disfunctioneren kunnen aanwezig zijn, zoals verwardheid, geheugenverlies, convulsies, hallucinaties en coma. Bij neurologisch onderzoek kunnen zowel afwijkingen aan de hersenzenuwen worden gevonden als focale afwijkingen. Op grond van anamnese en lichamelijk onderzoek kan men een bepaalde virale verwekker meer of minder waarschijnlijk achten (Tabel IV).

Diagnose

Bij verdenking op acute encefalitis is liquoronderzoek nodig, tenzij lumbale punctie is gecontraïndiceerd (zie hiervoor verderop, onder bacteriële meningitis). Het celgetal van de liquor kan normaal zijn of matig verhoogd (waarbij met name lymfocytose bestaat; gemiddeld 100 cellen per μl), het eiwitgehalte is matig verhoogd (gemiddeld 1 g/l) en de glucoseconcentratie is meestal normaal. CT of MRI van de hersenen is nodig om de ziektebeelden in de differentiaaldiagnose van acute encefalitis te kunnen uitsluiten (Tabel V). Voor het aantonen van de verwekker wordt zowel bacteriële als virale diagnostiek ingezet van liquor, bloed en andere relevante lichaamsvloeistoffen. Met de huidige moleculair biologische technieken waarbij virale antigenen of nucleïnezuren kunnen worden aangetoond is het mogelijk om in korte tijd een specifieke diagnose te stellen (bv PCR voor HSV DNA in liquor). Het elektro-encefalogram is met name van

waarde bij patiënten die worden verdacht van herpes simplex encefalitis waarbij een specifiek patroon (hoog-voltage piekgolven temporaal in combinatie met langzame golf complexen) kan worden waargenomen.

Therapie

Bij verdenking op herpesencefalitis is aciclovir (30 mg/kg/dag gedurende 14 dagen, bij neonaten 60 mg/kg/dag gedurende 21 dagen) het middel van eerste keus. Op dit moment is er nog geen vaccin of antiviraal middel beschikbaar voor de behandeling van encefalitis veroorzaakt door enterovirussen (non-polio), hoewel het antivirale middel pleconaril® veelbelovende resultaten laat zien en op dit moment in klinische trials wordt geëvalueerd.

ACUTE BACTERIËLE MENINGITIS

Inleiding

Een pasgeborene met meningitis is meestal tijdens de partus besmet door bacteriën die afkomstig zijn uit de darm of vagina van de moeder, zoals *Escherichia coli* en *Streptococcus agalactiae*, in zeldzame gevallen *Listeria monocytogenes*. Risicofactoren voor het krijgen van bacteriële meningitis in de neonatale periode zijn onder andere langdurig gebroken vliezen en een infectie tijdens zwangerschap of partus. In Nederland komen per jaar ruim 50 gevallen van neonatale bacteriële meningitis voor.

Bij kinderen ouder dan één maand en bij volwassenen ontstaat bacteriële meningitis meestal spontaan zonder dat een risicofactor als complementdeficiëntie, liquorlekkage, gestoorde immuniteit en asplenie aanwezig is. Voordat in 1993 de vaccinatie tegen *Haemophilus influenzae* type b (Hib) in het Rijksvaccinatieprogramma werd opgenomen, was Hib tussen één maand en 5 jaar de belangrijkste verwekker van bacteriële meningitis. Sinds de introductie van het vaccin is het aantal invasieve Hib-infecties, waaronder meningitis, sterk gedaald. Het jaarverslag 2002 van het Nederlands Referentie Laboratorium voor Bacteriële Meningitis te Amsterdam vermeldt 28 Hib isolaten uit de liquor en 80 uit het bloed. Momenteel zijn *Neisseria meningitidis* en *Streptococcus pneumoniae* de belangrijkste verwekkers van bacteriële meningitis bij kinderen en volwassenen. Bij patiënten ouder dan 50 jaar moet ook aan *Listeria*

monocytogenes als mogelijke verwekker van acute bacteriële meningitis worden gedacht.

Pathofysiologie

Bacteriën die de neus-keelholte koloniseren, kunnen via de slijmvliezen in de bloedbaan terechtkomen en zich daar vermenigvuldigen. Vervolgens kunnen zij in het CZS terechtkomen en zich in de subarachnoïdale ruimte vermenigvuldigen. Daar wordt door de bacteriën en de bacteriële producten de productie van cytokinen - onder andere tumornecrosefactor α (TNF- α) en de interleukines IL-1 β , IL-6, IL-8 en IL-10 C en prostaglandinen door fagocyten, endotheelcellen en andere cellen gestimuleerd, leidend tot toegenomen permeabiliteit van de bloed-hersenbarrière. Granulocyten en monocyten migreren vervolgens via het endotheel naar de subarachnoïdale ruimte; ook lekkage van plasma-eiwitten treedt op.

De toename van het aantal leukocyten in het CZS bevordert de infectiebestrijding, maar kan ook schadelijk zijn door de afgifte van zuurstofmetabolieten, proteolytische enzymen en cytokinen, waardoor de conditie van de patiënt kan verslechteren.

Kliniek

De beginsymptomen van bacteriële meningitis kunnen zeer aspecifiek zijn. In de beginfase van de ziekte is de temperatuur bijna altijd boven 38,5°C, maar bij zuigelingen komt ook ondertemperatuur voor. Hoofdpijn (bij kinderen ouder dan 5 jaar) en braken, - beide tekenen van verhoogde intracraniale druk -, prikkelbaarheid en lichtschuwheid zijn andere symptomen. Bewustzijnsstoornissen tussen verwardheid en coma komen vooral voor als de ziektegeschiedenis minder dan 24 uur heeft geduurd. Bij deze groep meningitispatiënten is de kans op restverschijnselen en sterfte hoger.

Bacteriële meningitis moet worden overwogen als een of meer van bovengenoemde symptomen gepaard gaat met tekenen van meningeale prikkeling (nekstijfheid). Opisthotonus is een extreme vorm van meningeale prikkeling waarbij het hoofd achterover in de kussens wordt gedrukt. Nekstijfheid kan overigens ontbreken bij kinderen jonger dan één jaar, comateuze patiënten en patiënten met een immunodeficiëntie. Vooral bij pasgeborenen komen nog aspecifieke symptomen voor als voedingsproblemen, luierpijn, kleurverandering van de huid, icterus en ademhalings-

problemen. Een klassiek symptoom als de bomberende fontanel is daarentegen erg zeldzaam. Tot de minder frequent voorkomende symptomen behoren verder convulsies, focale neurologische symptomen (afasie, hemiparese en quadriparese), hersenzenuwuitval (oftalmoplegie en doofheid) en huidafwijkingen (erytheem, petechiën en purpura).

Diagnostiek

De diagnose kan alleen met zekerheid gesteld worden met behulp van chemisch en bacteriologisch onderzoek van de liquor. De benodigde lumbale punctie kent echter een aantal contra-indicaties: papiloedeem, focale neurologische verschijnselen, coma, ernstige cardiovasculaire stoornissen en shock, diffuse intravasale stolling, anticoagulantia-gebruik en ernstige lumbale huidinfectie. Als lumbale punctie (nog) niet mogelijk is, moeten voor de aanvang van antibiotische therapie bloedkweken worden afgenomen. De differentiaaldiagnose van bacteriële meningitis is gelijk aan die van hersenabces (Tabel I).

Liquoronderzoek. De lumbale punctie kan niet gemakkelijk worden herhaald, zodat tevoren moet worden bedacht waarvoor materiaal nodig is. Niet alleen het celgetal en de kweek zijn daarbij belangrijk.

Openingsdruk. De liquordruk, gemeten met een lucht-watermanometer, is in zijligging normaal 18 cm water (meting bij een zittende patiënt is niet mogelijk). Bij bacteriële meningitis kan de liquordruk 20 à 50 cm water bedragen.

Aspect. Normale liquor is helder. Als er per mm^3 meer dan 200 leukocyten, 400 erythrocyten of 10^5 bacteriën aanwezig zijn en bij verhoogde eiwitconcentratie is de liquor troebel. Als het supernatans van de afgedraaide liquor een geel-oranje kleur vertoont, spreekt men van xanthochromie, passend bij subarachnoïdale bloeding en bij bacteriële meningitis met verhoogde eiwitconcentratie. Bij een zogenaamde traumatische punctie is het supernatans helder.

Glucose. De normale glucoseconcentratie in de liquor is 2,8 tot 4,4 mmol/l. De liquor-serumratio is normaal 0,6; bij circa 70% van de patiënten met bacteriële meningitis is de ratio lager dan 0,31. Een verlaagde ratio komt echter ook voor bij tuberculeuze meningitis, candida-meningitis, HSV-encefalitis en subarachnoïdale bloeding.

Eiwit. De eiwitconcentratie in de liquor ligt normaal onder 0,35 g/l. Verhoogde waarden passen bij bacteriële meningitis. Bij een traumatische punctie moet per 1000 erythrocyten 0,01 g/l eiwit in mindering gebracht worden op de gemeten concentratie.

Cellen. Het celgetal wordt vaak nog opgegeven per 3 μ l (3 mm^3), de maat van de klassieke telkamer, geschreven .../3. Een leukocytengetal van meer dan 10/ mm^3 (30/3) duidt meestal op infectie. Bij 90% van de patiënten met bacteriële meningitis vindt men meer dan 100 polymorfonucleaire leukocyten per mm^3 , bij 70% meer dan 1000/ mm^3 . Voor een traumatische punctie of een intracerebrale bloeding past men een van de volgende correcties toe voor het aantal leukocyten. Uitgaande van normale celgetallen in het bloed, kan men per 700 erythrocyten 1 leukocyt in mindering brengen op het gemeten aantal. Is een van de celgetallen in het bloed afwijkend, dan past men de volgende formule toe:

$$1 = \frac{(2 - 3) \times 4}{5}$$

waarin 1 het gecorrigeerde leukocytengetal in de liquor is, 2 het gemeten leukocytengetal in de liquor, 3 het leukocytengetal in het plasma, 4 het erythrocytengetal in de liquor en 5 het erythrocytengetal in het plasma.

Lactaat. Een liquor-lactaatconcentratie van meer dan 3,2 mmol/l past bij bacteriële meningitis. De sensitiviteit van de bepaling is hoog, maar de specificiteit is laag.

Gram-preparaat en kweek. Van liquor met een troebel aspect maakt men direct een Gram-preparaat; heldere liquor moet eerst worden afgedraaid, waarna van het sediment een Gram-preparaat kan worden gemaakt. Bij een bacteriegetal boven 10^5 kolonievormende eenheden (CFU)/ml liquor is het Gram-preparaat meestal positief. In 80% van de gevallen van bacteriële meningitis is de liquorkweek positief.

Overig onderzoek. Naast het gebruikelijke algemene infectiologische onderzoek en de bloedglucosespiegel moet ook de vocht- en elektrolytenhuishouding aandacht krijgen. Van bloed en urine moeten bacteriële kweken worden ingezet en verder kan op indicatie een thoraxfoto worden gemaakt. CT van de hersenen is geïndiceerd bij patiënten met verdenking op bacteriële meningitis die papiloedeem, focale neurologische ver-

schijnselen of een gedaald bewustzijn tonen en als in het beloop van de behandeling een complicatie wordt vermoed, zoals subdurale effusie, herseninfarct of cerebritis. Persisterende koorts op zichzelf is geen indicatie voor CT van de hersenen.

Therapie

Antibiotica. De empirische therapie van acute bacteriële meningitis bij kinderen jonger dan 2 maanden en volwassenen ouder dan 60 jaar is amoxicilline met een cefalosporine van de derde generatie (cefotaxim of ceftazidim). Kinderen tussen 2 maanden en 10 jaar oud krijgen een cefalosporine van de derde generatie. Kinderen boven 10 jaar en volwassenen jonger dan 60 jaar krijgen benzylpenicilline; bestaan bij hen risicofactoren als liquorlekkage, recent schedeltrauma, voorgaande neurochirurgische ingreep, immunodeficiëntie of besmetting met HIV, dan krijgen zij amoxicilline plus een cefalosporine van de derde generatie.

Zodra de verwekker en het gevoeligheidsspectrum bekend zijn, kan de antibiotische therapie zo nodig worden aangepast. Ook de duur van de therapie hangt af van de verwekker. Bij patiënten met meningitis veroorzaakt door *S. pneumoniae* of *N. meningitidis*, die goed klinisch herstel vertonen, is 7 tot 10 dagen behandeling voldoende.

Na 24 uur adequate antibiotische therapie mogen er geen bacteriën meer zichtbaar zijn in het Gram-preparaat en moet de liquorkweek steriel blijven. Een lumbale controlepunctie aan het einde van de behandeling is niet zinvol als de patiënt goed op de behandeling heeft gereageerd. Normalisatie van de glucoseconcentratie in de liquor duurt meestal 3 dagen, maar kan 10 dagen duren; het eiwitgehalte blijft tenminste 10 dagen verhoogd. Het leukocytengetal van de liquor blijft in de helft van de gevallen tot 7 à 10 dagen verhoogd, maar is dan al wel dalende.

Aanvullende behandeling. Bij bacteriële meningitis hoeft geen speciaal vochtbeleid te worden gevolgd, tenzij er sprake is van inadequate secretie van antidiuretisch hormoon (SIADH). Differentiaaldiagnostisch dient men SIADH te onderscheiden van het “cerebral salt wasting”-syndroom dat kan optreden bij intracraniale pathologie en gekenmerkt door hypovolemie met negatieve zoutbalans en verlaagd aldosteron,.

Recent heeft de Gans et al aangetoond in een gerandomiseerd placebogecontroleerde studie dat dexamethason een gunstig effect heeft bij volwassenen met acute bacteriële meningitis. Dit positieve effect van dexamethason op de mortaliteit, doofheid, en neurologische complicaties in dezelfde patiëntenpopulatie wordt door dezelfde auteurs tevens bevestigd in een recent Cochrane Review. Een subgroep analyse toont bij kinderen met bacteriële meningitis een significante reductie van de doofheid door dexamethason.

NOSOCOMIALE BACTERIËLE MENINGITIS

Inleiding

Nosocomiale infecties van het CZS worden geclassificeerd naar aanwezigheid of afwezigheid van een voorafgaande operatie of trauma. Postchirurgische nosocomiale CZS infecties treden met name bij volwassenen op en bestaan uit meningitis, encefalitis, ventriculitis, en focale suppuratieve laesies. Bij jongere patiënten ontstaat nosocomiale meningitis meestal vanuit een infectie van een cerebrospinale shunt.

Gram-negatieve micro-organismen zoals *E.coli*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* en *Enterobacter*, maar ook Gram-positieve micro-organismen zoals *S. aureus*, coagulase-negatieve stafylokokken, en *S. pneumoniae* kunnen allen nosocomiale meningitis veroorzaken. Coagulase-negatieve stafylokokken vormen veruit de belangrijkste verwekkers van een shuntinfectie gevolgd door *S. aureus*.

Kliniek

Postchirurgische meningitis ontstaat meestal geleidelijk waarbij de patiënt een verminderd bewustzijn kan hebben, koorts houdt of niet goed hersteld in de postoperatieve periode. Vaak staan meningeale prikkelingsverschijnselen op de voorgrond. Een infectie van een shunt kan zich uiten als een systemische of focale infectie waarbij koorts altijd aanwezig is, of als disfunctioneren van de shunt.

Diagnostiek

Door middel van onderzoek van de liquor (zie ook acute bacteriële meningitis) kan de diagnose nosocomiale meningitis worden gesteld. Als het niet lukt om liquor te verkrijgen is het belangrijk om beeldvormend onderzoek van het CZS te verrichten. Bij de verdenking op een shuntinfectie is de goudenstandaard voor de diagnose, onderzoek van liquor afkomstig uit de shunt. Een leukocyten aantal $> 100 / \text{mm}^3$ in de liquor heeft een positief voorspellende waarde van 89% voor een shuntinfectie, echter de afwezigheid van leukocyten in de liquor sluit een shuntinfectie niet uit.

Therapie

De empirische therapie van nosocomiale meningitis moet zowel gericht zijn tegen *Pseudomonas* als tegen *S. aureus*. De combinatie therapie ceftazidim met vancomycine voldoet hieraan. Een andere optie is behandeling met meropenem. De ideale therapie voor een shuntinfectie is verwijdering van de shunt en toediening van systemische antibiotica. Aangezien coagulase-negatieve stafylokokken de belangrijkste verwekkers zijn is vancomycine middel van eerste keus.

Literatuur

1. Beek D van de, Gans J de, et al. Corticosteroids in acute bacterial meningitis (Cochrane Review). The Cochrane Library, issue 3, 2003, Oxford.
2. Cunha BA. Central nervous system infections in the compromised host: a diagnostic approach. *Infect Dis Clin North AM* 2001;15:567-90.
3. Friedlander RM, Gonzalez RG, et al. Case 16-2003: a 58-year-old woman with left sided weakness and a right frontal brain mass. *New Engl J Med* 2003;348: 2125-32.
4. Gans J de, Beek D van de. Dexamtehasone in adults with bacterial meningitis. *New Engl J Med* 2003;347:1549-56.
5. Koedel U, Scheld M, et al. Pathogenesis and pathophysiology of pneumococcal meningitis. *Lancet Infect Dis* 2002;2: 721-36.
6. Morris A, Low DE. Nosocomial bacterial meningitis, including central nervous system shunt infections. *Infect Dis Clin North AM* 1999; 13: 735-50.
7. Wispelwey B, Dacey RG, Scheld WM. Brain abscess. In: Scheld WM, Whitley RJ, Durack DT (red). *Infections of the central nervous system*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997;463-95.
8. Whitley RJ, Gnann JW. Viral encephalitis: familiar infections and emerging pathogens. *Lancet* 2002;349:507-14.
9. Saez-Llorens X. Brain abscess in children. *Semin Pediatr Infect Dis* 2003; 14:108-14.
10. Saez-Llorens X, Mc Cracken G. Bacterial meningitis in children. *Lancet* 20 03; 361:2139-48.

Tabel I. Hersenabces: predisponerende factoren, lokalisatie en verwekkers

PREDISPONERENDE FACTOREN	PLAATS ABCES	MICRO-ORGANISMEN
Per continuïtatem, primaire infectie in het hoofd		
Chronische otitis media, mastoïditis	Temporaal, cerebellair	Streptokokken, <i>Bacteriodes fragilis</i> , <i>Enterobacteriaceae</i>
Sinusitis	Frontaal, temporaal	Streptokokken, <i>Bacteroides</i> spp, <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Haemophilus</i> spp
Gebit	Frontaal	Mengflora met <i>Fusobacterium</i> spp, <i>Bacteroides</i> spp en streptokokken
Penetrend hersentrauma	Afhankelijk van plaats	<i>Staphylococcus aureus</i> , streptokokken, <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Clostridium</i> spp
Hematogeen, primaire infectie elders in lichaam		
Congenitaal hartgebrek met of zonder	Vaak multipele abcessen,	Streptokokken (onder andere <i>S. viridans</i>), <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Haemophilus</i> spp
Longabces, empyeem, brochiëctasiën	Idem	<i>Fusobacterium</i> spp, <i>Actinomyces</i> spp, <i>Bacteroides</i> spp, <i>Nocardia</i> spp, streptokokken
Gestoorde immuniteit (uitzonderd HIV)	Idem	<i>Toxoplasma gondii</i> , <i>Aspergillus</i> spp, <i>Candida</i> spp, <i>Nocardia asteroides</i> , <i>Enterobacteriaceae</i> , cryptokokken, <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Mycobacterium</i> spp

Tabel II. Klinische manifestaties van hersenabcessen

SYMPTOMEN	PERCENTAGE
Hoofdpijn	70
Koorts	45
Focale neurologische verschijnselen	50
Hoofdpijn, koorts en focale neurologische verschijnselen	<50
Convulsies	35
Misselijkheid en braken	35
Nekstijfheid	25
Papiloedeem	25

Tabel III. Karakteristieken van virale verwekkers van CZS-infecties

VIRUS	ZIEKTEBEELDEN	FREQUENTIE ¹
Herpesvirussen		
HSV type 1 en 2	Encefalitis, meningitis, meningo-encefalitis	++
CMV	Encefalitis (pasgeborene, gestoorde immuniteit)	+
EBV	Encefalitis, meningitis, myelitis,	±
VZV	Cerebellitis, encefalitis, meningitis, myelitis	+
HHV 6	Encefalitis	?
Adenovirussen		
Adenovirus	Meningitis, encefalitis	±
Picornavirussen (enterovirussen)		
Poliovirus	Meningitis, myelitis	±
Coxsackie-virus	Meningitis	++
Echovirus	Meningo-encefalitis, myelitis	++
Paramyxovirussen		
Mazelenvirus	Encefalitis, subacute scleroserende panencefalitis	±
Bofvirus	Meningitis, encefalitis, myelitis	±
Orthomyxovirussen		
Influenzavirus	Encefalitis	±

¹: ?: onbekend, ±: bijna nooit, +: zeldzaam, ++: frequent

Tabel IV. Anamnese en lichamelijk onderzoek bij acute encefalitis

VARIABELE	VIRUS
Seizoen (zomer, herfst)	Enterovirussen
Rash	Enterovirussen, HHV 6, mazelenvirus
Herpangina	Coxsackie-virus
Adenopathie	EBV, CMV
Pneumonitis	Adenovirus

Tabel V. Differentiaaldiagnose van acute encefalitis

Micro-organismen

Coxiella burnetti (Q-koorts)

Treponema pallidum (syfilis)

Borrelia burgdorferi (Lyme-ziekte)

Leptospira interrogans (ziekte van Weil)

Mycoplasma spp

Bartonella henselae (kattenkrabziekte)

Listeria monocytogenes

Mycobacterium tuberculosis

Salmonella typhi

Candida spp

Cryptococcus neoformans

Toxoplasma gondii

Infectieuze ziektebeelden

Parameningeaal (sinusitis, epiduraal abces, craniale osteomyelitis)

Partieel behandelde bacteriële meningitis

Bacteriële endocarditis

Hersenabces

Niet-infectieuze ziektebeelden

Hersentumor

Subduraal hematoom

Gegeneraliseerde lupus erythematosus

Adrenoleukodystrofie

VERDENKING CF: IS ZWETEN WETEN?

Dr. H.G.M. Arets, kinderarts-pulmonoloog

Dr. I. Bronsveld, longarts in opleiding

In 1938 werd het klinische beeld van cystic fibrosis voor het eerst beschreven door Anderson, et al.¹ De diagnose werd puur gesteld op kliniek, gekenmerkt door tekenen van pancreas-insufficiëntie gecombineerd met pulmonale symptomen vooral op basis van recidi-verende infecties, leidend tot toenemend hoesten, sputumproductie en dyspnoe. Er waren geen andere diagnostische mogelijkheden en geen therapeutische opties: patiënten overleden in de eerste jaren na de geboorte.

Sindsdien is er heel wat veranderd. Chronische longinfecties werden al snel herkend als een van de belangrijkste symptomen en vanaf 1940 werden antibiotica gebruikt in de behandeling van cystic fibrosis.

Daarnaast kwamen er meer diagnostische mogelijkheden. Toen bleek dat kinderen met cystic fibrosis via de zweetklier te veel zout verliezen, werd de zweettest ontwikkeld en geïntroduceerd door Gibson en Cooke (1959).² In 1981 werd met behulp van de neusotentiaal-meting beschreven dat het chloride- en natriumtransport in het neusslijmvlies gestoord is.³ In 1984 werden hoge concentraties immunoreactief trypsine in het bloed van neonaten met cystic fibrosis beschreven.⁴ Toen in 1989 het CF gen, de cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (*CFTR*), werd gekloneerd,⁵ kon de DNA mutatie analyse toegepast worden in de diagnostiek. Er worden nog steeds nieuwe mutaties van het CF gen gevonden.

Het grootste deel van de CF-patiënten wordt nog steeds gediagnostiseerd door het klassieke ziektebeeld. Anderzijds komen er steeds meer patiënten met een atypische presentatie, zoals patiënten zonder pancreasinsufficiëntie of vroege pulmonale klachten, met alleen CBAVD, CF gerelateerde pancreatitis of met een borderline zweettest. Zo kan er nauwelijks nog van 1 klinisch beeld “cystic fibrosis” worden gesproken, maar is er sprake van een in ernst en uitgebreidheid variërend “CF related disease”.

Er is dus een relatieve tegenstrijdigheid tussen toegenomen diagnostische mogelijkheden en een minder duidelijk omschreven ziektebeeld CF. Er zijn inmiddels enkele interessante, niet klassieke CF geassocieerde klinische entiteiten beschreven, zoals:

- patiënten, vroeg geïdentificeerd met 2 bekende DNA-afwijkingen zonder kliniek

- patiënten met 1 (of 2) bekende DNA-mutaties met atypische CF symptomen, zoals idiopathische chronische pancreatitis, chronische rhinosinusitis, ABPA of diffuse panbronchiolitis
- “milde” mutaties (A455E), gepaard gaande met restfunctie van CFTR
- patiënten met een duidelijk klinisch beeld inclusief afwijkende zweettest, maar met slechts 1 of zelfs geen bekende DNA mutatie.

De vraag blijft bij welke patiënten je dan wel of niet van de diagnose CF mag spreken.

Wellicht moet, analoog aan andere aandoeningen, bij 2-voudige dragers van het CF gen, meer van een “predispositie” tot het krijgen van CF worden gesproken, of zoals A. Bush het in 2000 noemde “genetic pre-CF”.

De algemeen geldende mening is dat CF een klinische diagnose is en dat bij patiënten met 2 *CFTR* mutaties, maar zonder kliniek de diagnose CF niet kan worden gesteld. De meest gebruikte consensus van Rosenstein⁶ voor het diagnostiseren van cystic fibrosis stelt dat behalve bij een klassiek klinisch beeld en een positieve zweettest er ook andere criteria zijn voor het stellen van de diagnose.

Criteria voor de diagnose Cystic Fibrosis, volgens Rosenstein, et al.⁶

1. typische kliniek EN/OF positieve familie-anamnese EN/OF positieve neonatale screening

EN

2. Positieve zweettest EN/OF identificatie van 2 *CFTR* mutaties EN/OF abnormale bio-electrische eigenschappen van neusepitheel.

Met name werd aan de diagnostische criteria toegevoegd dat bij een borderline zweettest ook andere tekenen van CFTR functiestoornis als diagnose-ondersteunend worden gezien. De criteria voor een ziekte-veroorzakende mutatie zijn vastgelegd in deze consensus statement. Duidelijker wordt ook dat sommige combinaties van *CFTR* mutaties niet tot het klinische beeld van CF leiden. Bijvoorbeeld de combinatie van R117H en 9T is niet, R117H en 5T is

wel een CF veroorzakende combinatie, overigens meestal zonder pancreasinsufficiëntie. Gecombineerd met een 7T allel leidt R117H meestal tot een atypische presentatie, zoals CBAVD. Met andere woorden, noch R117H alleen, noch 5T alleen is een CF veroorzakende mutatie.

Het meten van het neuspotentiaalverschil (NPD) is gebaseerd op het feit dat het chloor en natriumtransport over CF epitheel gestoord is, resulterend in hyperpolarisatie van de celmembraan en afwijkende respons op amiloride, chloride-vrije oplossingen en isoprenaline.

In deze consensus⁶ wordt overigens ook gesuggereerd dat de man met azoöspermie en geen andere CF manifestaties alleen bij een positieve zweettest, twee CF mutaties of abnormale NPD, de diagnose CF krijgt.

Het besef dat er minder ernstige CF beelden (o.a. zonder pancreasinsufficiëntie) bestaan heeft er ook toe geleid dat de gevoeligheid van de zweettest (voor deze milde vormen) afneemt. Dit is dan ook de reden geweest voor de verlaging van afkappunten van 70 naar 60 mmol/L voor een positieve en van 40 naar 30 mmol/L voor een borderline zweettest.

Het is belangrijk te beseffen dat bij een zweettest veel fout kan gaan en deze test dient dan ook in ervaren handen te blijven. Bij borderline zweettest uitslag wordt in de VS toenemend gebruik gemaakt van de NPD meting, ook bij neonaten. Het beste bewijs voor CF is een verhoogde basale PD (-45 ± 11.4 mV versus -18.2 ± 8.3 mV bij gezonden) in combinatie met een verminderde respons op chloride-vrije oplossing en isoprenaline. Echter, bij atypische CF patiënten (b.v. CF gerelateerde pancreatitis) is soms het natriumtransport vrijwel normaal en alleen het chloridetransport gestoord, wat ook bij de NPD borderline uitslagen veroorzaakt. Ook inflammatie van het neusslijmvlies bemoeilijkt uitvoering en interpretatie van de test. Een methode die in verscheidene landen van Europa nu wordt toegepast, is de intestinal current measurement (ICM) die gebruik maakt van het gestoorde chloridetransport in het rectumepitheel. Deze methode is tot nu toe vrij nauwkeurig gebleken.

Bij alle elektrofysiologische tests blijven echter grijze gebieden bestaan, waardoor ook de DNA diagnostiek vaak wordt uitgevoerd om met de combinatie van alle uitkomsten de diagnose te stellen of te verwerpen. Hopelijk zal de DNA mutatie analyse steeds meer bekende mutaties kunnen onderzoeken.

Inmiddels wordt voorgesteld om voor onderzoek de diagnostische criteria apart op te stellen voor de volgende CF entiteiten:

1. Typische CF

2. Atypisch CF (i.e. pancreassufficiënte)
3. Andere CFTR gerelateerde aandoeningen (CBAVD, idiopathische recurrenente pancreatitis)
4. Obligate CF heterozygoten
5. Controles zonder CF

De voordracht van vandaag is opgesplitst in 2 delen. Het eerste deel door Dr. I. Bronsveld zal uitleg geven over de methoden van de zweetest, de intestinal current measurement en de neuspotentiaalmeting en hoe deze kunnen bijdragen aan de diagnostiek van cystic fibrosis. Het tweede deel door Dr. H.G.M. Arets laat zien dat ondanks deze toegenomen diagnostische mogelijkheden de diagnose cystic fibrosis toch bemoeilijkt kan worden door de heterogeniteit van het ziektebeeld.

Referenties

1. Anderson DH. Cystic fibrosis of the pancreas and its relation to celiac disease: a clinical and pathological study. *Am J Dis Child* 1938;56:344-399.
2. Gibson LE, Cooke RE. A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis. *Pediatrics* 1959;23:545-549.
3. Knowles M, Gatzky J, Boucher R. Increased bioelectrical potential difference across respiratory epithelia in cystic fibrosis. *N Engl J Med* 1981;305:1489-1495.
4. Davidson AGF, Wong LTK, Kirby LT, Applegarth DA. Immunoreactive trypsin in cystic fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1984;3 (Suppl 1):79-88.
5. Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, Drumm ML, Melmer G, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: Chromosome walking and jumping. *Science* 1989;245:1059-1065.
6. Rosenstein BJ, Cutting GR. The diagnosis of cystic fibrosis: a consensus statement. Cystic Fibrosis Foundation Consensus Panel. *J Pediatr* 1998;132(4):589-95.

NIERFUNCTIE BIJ KINDEREN – HET IS NIET STEEDS WAT HET LIJKT

K. Cransberg, kinderarts-nefroloog

De ideale marker die gebruikt wordt om de glomerulaire filtratiesnelheid (GFR) te meten, moet aan een aantal voorwaarden voldoen: hij moet vrijelijk uitgescheiden worden door de glomeruli en niet elders in het lichaam, en hij moet niet gereabsorbeerd, gemetaboliseerd of gesynthetiseerd worden. Kreatinine, dat in de dagelijkse praktijk wordt gebruikt voor het schatten van de GFR, voldoet niet aan deze voorwaarden: kreatinine wordt, vooral bij een lagere glomerulaire filtratiesnelheid, ook actief uitgescheiden door de tubuli. Bovendien is het een afvalproduct van spieren, waardoor de concentratie in het bloed afhankelijk is van de spiermassa van de patiënt. Formules die de GFR bepalen aan de hand van serumconcentratie kreatinine en lengte en/of gewicht zijn hierdoor minder betrouwbaar.

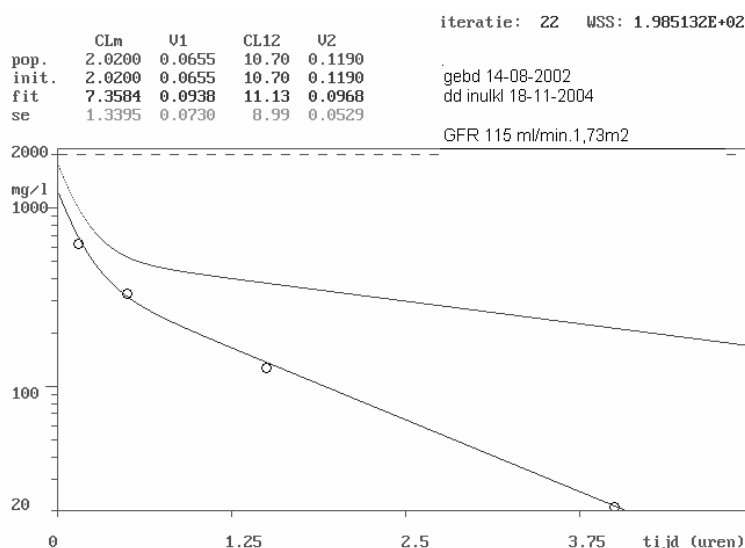
Inuline is een niet toxische stof die voldoet aan de hierboven genoemde voorwaarden voor de ideale marker voor GFR: het wordt alleen glomerulair, niet tubulair, uitgescheiden, en niet gesynthetiseerd of gemetaboliseerd. Behalve dat naar het verschijnen van inuline in de urine gekeken kan worden, kan ook het verdwijnen van inuline uit het plasma als maat voor de klaring gebruikt worden. De urineklaringsmethode heeft als bezwaar, dat, evenals bij de urinekreatinineklaring, urine volledig verzameld moet worden, waarvoor soms een catheter ingebracht moet worden. Voor de continue meting, waarbij gebruikt gemaakt wordt van een steady state concentratie, moet de patiënt een nacht opgenomen worden.

In het Erasmus MC Sophia is in de laatste jaren een methode ontwikkeld om de GFR te meten met behulp van de single injection techniek: inuline wordt eenmalig ingespoten en via hetzelfde infuus worden in een periode van 4 uur verschillende (aanvankelijk 12) monsters afgenomen, waarin inuline bepaald wordt in plasma. Inulineconcentraties kunnen gemeten worden op een chemieanalyser. Hiertoe worden plasmamonsters eerst onteiwit met perchloorzuur. Na centrifugatie wordt het supernatant geneutraliseerd met KOH, waarna inuline spectrofoto-metrisch bepaald wordt met een inulinase/sorbitol dehydrogenase methode (1,2).

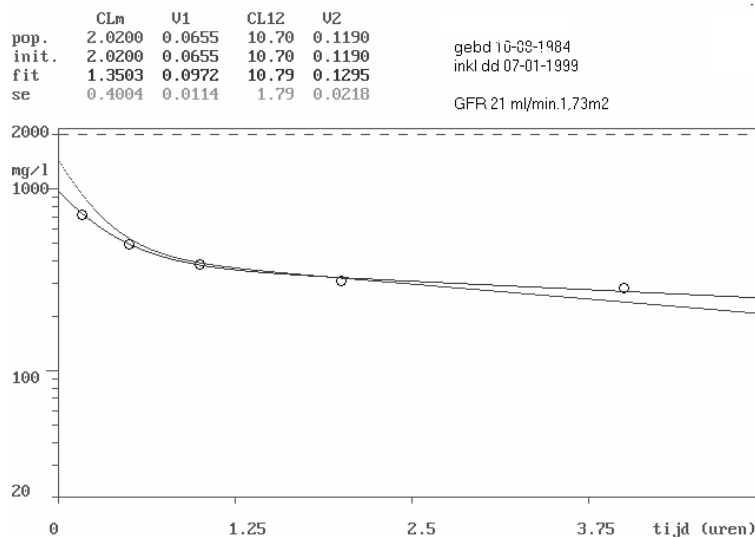
Voor het optimaliseren van deze methode is gebruik gemaakt van een populatiemodel dat opgesteld is aan de hand van 100 plasma-verdwijningscurves. Dit model is vervolgens gevalideerd aan de hand van de validatie dataset. Bemonsteringsschema's met 1 – 4 afnametijdstippen zijn opgesteld en de Bayesian schatting van de klaring (gebaseerd op de inuline concentratie op de geselecteerde afnametijdstippen en het populatiemodel) is vergeleken met de referentiekleding (gebaseerd op alle 12 afnametijdstippen). De bemonsteringsschema's met de afnametijdstippen 10 / 30 / 90 / 240, 10 / 30 / 240, 10 / 90 / 240, 30 / 90 / 240 en 90 / 240 min leveren een klaring op die overeenkomt met de referentiekleding (3)

Er is gekozen om verder te gaan met het bemonsteringsschema 10 / 30 / 90 / 240 min omdat dat robuuster is dan een schema met 2 of 3 afnametijdstippen. Het populatiemodel is vervolgens vertaald naar een model met behulp van het farmacokinetiekprogramma MW/Pharm en getest aan de hand van 2 datasets. Ook hierbij komt de geschatte klaring overeen met de referentiekleding.

In de praktijk worden de inulineconcentraties in plasma nu ingevoerd in het farmacokinetiekprogramma MW Pharm. Door het opstellen van de plasma concentratie tijdcurve, kan met goede betrouwbaarheid de GFR berekend worden (4)



Figuur 1: 2 voorbeelden van GFRmeting door single injection inulineklaring



Voor kinderen met een normale lengte en spiermassa voor de leeftijd blijkt de zogenaamde Schwartz-formule een goede, en in de dagelijkse praktijk zeer makkelijke benadering te geven van de GFR (5) De constante in de formule ($GFR = \text{lengte}(\text{cm}) * 40 / \text{serumkreat} (\mu\text{mol/l})$) is met behulp van de single-injection inulineklaring benaderd in het Erasmus MC Sophia, en bedraagt 41 (6).

Aan de hand van enkele casussen zal de betekenis van de single injection techniek, in vergelijking met de ‘Schwartz-formule’, verduidelijkt worden.

Literatuur

1. Summerfield AL, Hortin GL, Smith CH, Wilhite TR, Landt M. Automated enzymatic analysis of inulin. *Clin Chem* 1993;39(11 Pt 1):2333-7.
2. Wong EC, Wilhite TR, Miller R, Smith CH, Landt M. Less expensive enzymatic analysis for inulin with a kinetic assay. *Clin Chem* 1994;40(9):1788-9.
3. van Rossum LK, Mathot RA, Cransberg K, Vulto AG. Optimal sampling strategies to assess inulin clearance in children by the inulin single-injection method. *Clin Chem* 2003;49(7):1170-9.
4. van Rossum LK, Cransberg K, de Rijke YB, Zietse R, Lindemans J, Vulto AG. Determination of the plasma clearance of inulin by single injection or continuous infusion in children. *Pediatr Nephrol* 2005;in press.
5. Schwartz GJ, Brion LP, Spitzer A. The use of plasma creatinine concentration for estimating glomerular filtration rate in infants, children, and adolescents. *Pediatr Clin North Am* 1987;34(3):571-90.
6. Van Rossum LK, Mathot RA, Cransberg K, Zietse R, Vulto AG. Estimation of the glomerular filtration rate in children: which algorithm should be used? *Pediatr Nephrol*;submitted.

KORTE DARMSYNDROOM: MET WELKE ELEMENTEN GAAN WE AAN DE SLAG?

*H. Meijers-IJsselstijn, kinderarts
J. L. Willems, klinisch chemicus*

Het korte darmsyndroom wordt gekenmerkt door een snelle passage door de darm en een te weinig absorberend oppervlak. Dit leidt tot een malabsorptie van voedingsmiddelen en diarree met als gevolg groeivertraging en gewichtsverlies. Het korte darmsyndroom is meestal het resultaat van een resectie. Necrotiserende enterocolitis, gastroschizis, volvulus bij bijvoorbeeld malrotatie, invaginatie, streng-ileus met resectie, darm-atresieën, meconium-peritonitis en een congenitaal korte darm kunnen oorzaken zijn van een korte darmsyndroom. Uitgebreide resectie voor M. Crohn en trauma als oorzaak voor het korte darmsyndroom bij kinderen is zeldzaam.

De drie fasen van het korte darmsyndroom zijn per individu verschillend qua tijdsduur en beloop:

- 1) Acute fase (de eerste weken na de resectie): gekenmerkt door grote vochtverliezen, elektrolyet verliezen en neiging tot dehydratie.
- 2) Adaptatieperiode: deze fase kan enkele jaren duren; de opnamecapaciteit neemt geleidelijk toe en de diarree af.
- 3) Resttoestand: gekenmerkt door permanente malabsorptie, elektrolyetenimbalans, botdemineralisatie, neiging tot nier- en galstenen, en aanpassingsstoornissen zoals depressies.

Verlies van absorberend oppervlak is de belangrijkste reden voor malabsorptie bij het korte darmsyndroom. Beïnvloedende factoren zijn: functie van de resterende darm, transit time, zuurhypersecretie, bacteriële overgroei en galzuurinsufficiëntie door vermindering van de galpool door grote galzoutverliezen (door hypersecretie van maagzuur ontstaat hydroxylering, deconjugatie en neerslaan van galzuren) en verminderde heropname van galzuren bij ileumresectie. Bij een kortere darm is het contact van de voeding met het oppervlak bekort, soms tot 1 uur na de voeding. Naast malabsorptie van macronutriënten is sprake van verminderde opname van micronutriënten. Tijdens de voordracht komt de malabsorptie van micronutriënten uitvoerig aan de orde. Als leidraad zal gebruik worden gemaakt van een

recent uitgebracht landelijk protocol (op te vragen via e-mail: h.meijers-ijsselstijn@erasmusmc.nl).

Mineralen

Natrium

Natrium wordt geabsorbeerd in de gehele dunne darm en het colon, waarbij de netto natriumabsorptie in het jejunum het hoogst is. Problemen met dehydratie en natriumdeficiëntie ontstaan vooral in de eerste fase na darmresectie, bij verlies via een jejunostoma of een ileostoma (verlies 45-135 mmol/L feces) of bij ernstige diarree (verlies 10-90 mmol/L feces). Frequentie monitoring van serum natrium en urine natrium is wenselijk in deze situaties.

Calcium

De calciumhomeostase is een balans tussen opname middels botresorptie, intestinale absorptie, en renale tubulaire re-absorptie en verlies door botopbouw, en renale- en intestinale excretie. Van ingenomen calcium wordt 20-30% geabsorbeerd vooral in het duodenum, doch opname in gehele dunne darm en colon (uit vezelrijke plantaardige producten) is mogelijk. Bij volwassenen met een korte darm is een absorptie van maximaal 32% gerapporteerd. Naast een vitamine D-afhankelijk transportproces bestaat er een onafhankelijk proces. Calciumabsorptie is verminderd bij een oxalaatrijk dieet, bij steatorrhoe en bij grote inname van andere divalente kationen zoals magnesium. Ongeveer de helft van het circulerende calcium is gebonden aan albumine. Hypomagnesiëmie kan leiden tot hypocalciëmie door verminderde secretie van PTH en door een concurrentie van de gezamenlijke Mg/Ca receptor in de distale tubulus ontstaat een hypercalciurie. Naast monitoring van calcium in het serum kan controle in de urine zinvol zijn, bijvoorbeeld bij het aanpassen van suppletie. In tabel 1 staan de normaalwaarden voor calcium in de urine bij kinderen vermeld.

Magnesium

De magnesiumhomeostase wordt onderhouden door intestinale absorptie (met name in het ileum) en renale excretie. Absorptie van magnesium is omgekeerd evenredig aan de intake; normaliter wordt ca. 50% van het ingenomen magnesium geabsorbeerd, bij volwassenen met een korte darm is een absorptie van 34% beschreven. Een hoge intake van calcium of fosfaat kan de magnesiumabsorptie negatief beïnvloeden. PTH vermindert de renale terugresorptie van magnesium. Slechts een fractie van de totale hoeveelheid magnesium is aanwezig in serum; ongeveer de helft hiervan is gebonden aan eiwit. Er kan sprake zijn van

magnesiumdeficiëntie bij normale serum-concentraties. Derhalve is monitoring van magnesium in de urine belangrijker dan de analyse van de Mg spiegel in het bloed. (zie tabel 1 voor normaalwaarden). Klinische symptomen van magnesium-deficiëntie zijn: vermoeidheid, spierzwakte, spier-trekkingen, hartritmestoornissen en convulsies.

Sporenelementen

Zink

Zink wordt vooral geabsorbeerd in het duodenum bij een lage pH. Excessieve hoeveelheden vezelrijke voeding hebben een negatieve invloed op de zinkabsorptie. Normaliter wordt ongeveer 20% van het ingenomen zink geabsorbeerd. Gelijktijdige toediening van ijzer kan de zinkabsorptie verminderen. Bij volwassenen met het korte darmsyndroom is een absorptie van 15% beschreven. De zinkabsorptie bij het korte darmsyndroom is enerzijds bedreigd door een geringer oppervlak, anderszijds wordt veel zink opgenomen door pancreassappen die distaal worden gereabsorbeerd (enteropancreatische kringloop). Bij resectie van de distale dunne darm is deze kringloop gestoord. De zinkstatus wordt bepaald door metingen in serum of plasma, doch deze metingen zijn niet sensitief. Meting van zinkconcentratie in haren is beschreven doch moeilijk uitvoerbaar. Een verlaagd alkalisch fosfatase gehalte kan wijzen op zinkdeficiëntie. Klinische tekenen van zinkdeficiëntie zijn onder andere huidafwijkingen, afwijkingen van de intestinale mucosa, immuunstoornissen en groeistoornissen .

Selenium

Seleniumabsorptie is 50-100%, afhankelijk van de vorm waarin het wordt aangeboden (de absorptie is 100% bij toediening van selenomethionine). Omzetting vindt plaats tot selenocysteïne, wat gebruikt wordt voor de biosynthese van glutathion peroxidase . Bij volwassenen met het korte darmsyndroom is een seleniumabsorptie van 26% beschreven. De seleniumstatus wordt vervolgd in het serum (zou vooral korte-termijn status weergeven) of door meting van glutathion peroxidase in erythrocyten, hetgeen vooral een maat voor lange-termijn seleniumstatus zou zijn. In de praktijk wordt vooral serum selenium gebruikt en lijkt de bepaling van glutathion peroxidase activiteit niet heel zinvol. Klinische symptomen van deficiëntie zijn verlies van pigmentatie van haar en huid.

Koper

De koperhomeostase is vooral gebaseerd op intestinale absorptie (in het jejunum wordt ca. 50% van het aangeboden koper geabsorbeerd) en intestinale excretie (via gal). IJzer en zink

kunnen de opname van koper verminderen. Dit is vooral van belang bij suppletie van deze sporenelementen. Over de absorptie bij het korte darmsyndroom zijn geen gegevens bekend. De koperstatus kan worden bepaald door meting van serum koper en ceruloplasmine, deze bepalingen zijn echter weinig specifiek. Ceruloplasmine lijkt geen toegevoegde waarde te hebben. Klinische symptomen bij deficiëntie zijn depigmentatie van huid en haar, huidafwijkingen, immuunstoornis, neutropenie, microcytaire anemie die niet reageert op ijzersuppletie.

Mangaan

Mangaan lijkt niet direct te leiden tot deficiënties bij het korte darmsyndroom (casuïstisch worden botafwijkingen gemeld bij deficiëntie). De concentratie in bloed is zeer laag, waardoor het moeilijk is een adequate inschatting te maken van de mangaan-status in het lichaam. Suppletie van ijzer en calcium kan de absorptie van mangaan verminderen. Excretie van mangaan vindt voornamelijk plaats via de gal. Biliaire obstructie kan leiden tot toxische concentraties van mangaan evenals langdurige toediening van mangaan via parenterale voeding. Toxiciteit van mangaan kan leiden tot neurologische afwijkingen.

Vitaminen

Wateroplosbare vitaminen

Over het algemeen wordt aangenomen dat bij het korte darmsyndroom weinig deficiënties voorkomen van wateroplosbare vitaminen, met uitzondering van vitamine B12. Er zijn echter een aantal situaties denkbaar waarbij wel deficiëntie van wateroplosbare vitaminen kan optreden tijdens enterale voeding en waarbij monitoring wenselijk kan zijn. Deze zullen worden besproken.

Vitamine B12 (cobalamine):

Vitamine B12 is in voedsel eiwitgebonden en wordt in de maag onder invloed van pepsine en zoutzuur gesplitst. Het vrije molecuul wordt gebonden aan een glycoproteïne (R-factor) en het complex wordt door de dunne darm getransporteerd. In het jejunum wordt het vitamine B12-R factorcomplex gesplitst, waarna het vrije vitamine B12 kan binden aan "intrinsic factor" (IF). Dit vitamine B12-IF complex bindt in het terminale ileum aan een receptor, waarna het vitamine B12 langzaam wordt opgenomen. Bacteriële overgroei leidt tot destructie van IF en vervolgens tot malabsorptie van vitamine B12. Naast malabsorptie van vitamine B12 bij resectie van het terminale ileum zijn er derhalve nog een aantal processen van belang bij

vitamine B12 absorptie die hoger in de tractus digestivus gelegen zijn. Bij volwassenen is vitamine B12 deficiëntie beschreven bij langdurige remming van maagzuurproductie door protonpompremmers. Klinische symptomen van deficiëntie zijn macrocytaire anemie en neurologische problemen.

Foliumzuur

Van ingenomen foliumzuur is ongeveer 50% beschikbaar voor opname. Opname vindt plaats in het jejunum, maar ook het colon is in staat foliumzuur op te nemen. Bij bacteriële overgroei kan verhoogde absorptie van foliumzuur plaatsvinden door verhoogde productie door micro-organismen. Na opname in het bloed vinden een aantal omzettingstappen plaats en het transport is complex. Foliumzuur gemeten in plasma is vooral 5-methyltetrahydrofolaat, hetgeen nog door een vitamine B12-afhankelijk enzym moet worden omgezet in tetrahydrofolaat, alvorens verdere omzetting kan plaatsvinden.

De absorptie van foliumzuur is verminderd bij aandoeningen van de dunne darm. Een verhoogd verbruik van foliumzuur vindt plaats bij toediening van medicatie die synthese van cytochrome P450 stimuleert. Er is weinig voorraad van foliumzuur in het lichaam en een korte periode van malabsorptie kan leiden tot foliumzuur-deficiëntie. Klinische symptomen van deficiëntie zijn macrocytaire anemie en psychiatrische stoornissen.

Vitamine B1 (thiamine)

Thiamine wordt in het jejunum en het ileum. Een groot deel van vrij thiamine wordt opgenomen in de lever en daar gefosforyleerd. Thiamine heeft een rol als neurotransmitter. Bij ernstige deficiëntie (die overigens zeldzaam is bij kinderen) ontstaat beri-beri. Bij grote resecties van dunne darm en/of ernstige diarree of bij leverfalen valt het te overwegen jaarlijks vitamine B1 te controleren en zo nodig te suppleren (in laagfrequente hoge doses).

Vitamine B2 (riboflavine)

Riboflavine wordt in de proximale dunne darm opgenomen. Verminderde absorptie treedt op bij deficiëntie van galzouten en bij patiënten met hepatitis, cirrhose of galweg-obstructie. Bij dergelijke complicaties is jaarlijkse controle een overweging.

Vetoplosbare vitaminen

Vetoplosbare vitaminen zijn hydrofoob. Voor absorptie zijn zij sterk afhankelijk van de secretie van lipase door de pancreas en galzuren door de lever. Absorptie vindt vooral plaats

in het jejunum. Galzuren worden grotendeels gereabsorbeerd in de distale dunne darm en in geringe mate in het colon.

Bij het korte darmsyndroom is vaak sprake van vetmalabsorptie en van verlaagde reabsorptie van galzuren. Opname van de vetoplosbare vitaminen vormen dan ook een probleem bij deze groep patiënten. Dit probleem neemt toe bij leverpathologie.

Cave: alle vitaminen worden in parenterale voeding opgelost in de vetemulsie. Wanneer geen vetemulsie wordt gegeven dient minimaal aan de dagelijkse enterale behoefte van de water- en vetoplosbare vitaminen te worden voldaan.

Hyperoxalurie

Onder normale omstandigheden wordt oxalaat (afkomstig uit het dieet) gebonden aan vrij calcium en als calciumoxalaat intestinaal uitgescheiden. Echter, in een aantal gevallen is sprake van toegenomen oxalaat-absorptie vanuit de darm: 1) bij malabsorptie bindt vrij calcium aan niet-geresorbeerde vetzuren, 2) de permeabiliteit van het colon voor kleine moleculen neemt toe ten gevolge van de blootstelling aan niet-geresorbeerde galzouten. Daarnaast kan een gereduceerde urineproductie bij ernstige diarree en een lage urine pH bij metabole acidose met een verminderde citraat excretie leiden tot toegenomen steenvorming (zowel oxalaatstenen als urinezuurstenen). Controle van oxalaat in de urine is derhalve bij het korte darmsyndroom gewenst. Normaalwaarden voor kinderen staan vermeld in tabel 2.

Uitvoeren van analyses in feces bij patiënten met korte darmsyndroom

Over het algemeen moet men zeer terughoudend zijn met het uitvoeren van analyses in feces. Dit geldt in het algemeen maar ook bij patiënten met een korte darmsyndroom. Uit vaste feces is het niet mogelijk om routinematig goed kwantitatief mineralen te bepalen. Er kan geen goed beeld verkregen worden van de opbrengst bij procedures als uitschudden en aanzuren. Daarom kan alleen overwogen worden om analyses in feces te bepalen als 1. het nodig is voor een balansstudie en 2. bovendien moet de feces waterig zijn. De eis dat er sprake moet zijn van balansstudie geldt ook voor de bepaling van vetten. Op basis van een voorgeschreven dieet moet de intake aan vetten kunnen worden berekend. De minimale duur van de balansstudie moet 3x24 uur bedragen. Tevens is het voor het laboratorium van belang dat bekend is wat de samenstelling is van de vetten (MCT en/of LCT), die worden gegeven.

Het is bij korte darm patiënten van belang dat er bij het gebruik van koolhydraten geen bacteriële overgroei kan ontstaan. Daarom kan de feces worden gecontroleerd op reductie. Bij

opklimmende hoeveelheden koolhydraten in de voeding moet de feces voor reductie negatief blijven. Een kwalitatieve methode in de supernatant na afdraaien volstaat.

D-lactaat acidose

Een unieke vorm van lactaat acidose kan ontstaan bij patiënten met een korte darmsyndroom. Glucose en zetmeel worden gemetaboliseerd in de darm tot d-lactaat, dat wordt geabsorbeerd en daarna in de circulatie verschijnt. Afhankelijk van het micro-organisme kan ook L-lactaat geproduceerd worden, maar deze component wordt snel door de organen opgenomen en omgezet. De patiënten met een d-lactaat acidose presenteren zich met een episodes van metabole acidose en karakteristieke neurologische symptomen: verwardheid, cerebellaire ataxie, ongecontroleerd spreken en geheugen-verlies. Behandeling kan bestaan uit het bestrijden van de metabole acidose, toedienen van antibiotica en vermindering van de koolhydraat inname.

Conclusie

In de presentatie is getracht een overzicht te geven van een aantal bepalingen die zinvol zijn om de status van micronutriënten te vervolgen bij kinderen met het korte darmsyndroom. Naast de vaak bekende bepalingen in het serum zijn ook voor kinderen normaalwaarden van mineralen in de urine beschikbaar. Monitoring van hyperoxalurie bij het korte darmsyndroom is zeker zinvol en klinisch goed uitvoerbaar in een portie urine. Terughoudendheid moet worden betracht voor wat betreft de analyse van mineralen en vetten in de feces. Bij het ontstaan van een metabole acidose moet men alert zijn op een accumulatie van d-lactaat.

Literatuur

- Basu TK, Donaldson D. Intestinal absorption in health and disease: micronutrients. *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2003;17:957-979.
- Kleinman RE (ed). *Pediatric Nutrition Handbook*. 5th edition. American Academy of Pediatrics, 2004.
- Leumann EP, Dietl A, Matasovic A. Urinary oxalate and glycolate excretion in healthy infants and children. *Pediatr. Nephrol.* 1990;4:493-497.
- Matos V, van Melle G, Boulat O, Markert M, Bachmann C, Guignard JP. Urinary phosphate/creatinine, calcium/creatinine, and magnesium/creatinine ratios in a healthy pediatric population. *J. Pediatr.* 1997;131:252-257.

Tabel 1

Normaalwaarden voor calcium en magnesium in urine bij kinderen:

Leeftijd	Calcium/kreatinine ratio (mol/mol)	Magnesium/kreatinine ratio (mol/mol)
1 mnd - 1 jaar	0,09-2,2	0,4 - 2,2
1 - 2 jaar	0,07-1,5	0,4 - 1,7
2 - 3 jaar	0,06-1,4	0,3 - 1,6
3 - 5 jaar	0,05-1,1	0,3 - 1,3
5 - 10 jaar	0,04-0,8	0,3 - 1
10 - 17 jaar	0,04-0,8	0,2 - 0,7

Tabel 2

Oxalaat/kreatinine ratio bij niet-nuchtere kinderen:

Leeftijd	Oxalaat/kreatinine ratio (mmol/mol)
0-6 mnd	77 – 325
7-24 mnd	38 – 132
2-4,9 jaar	18 – 98
5 jaar	22 – 70
9 jaar	12 – 70
12 jaar	16 – 53
14 jaar	10 – 64
16 jaar	13 – 39

MOGELIJKHEDEN VAN DE BIOINFORMATICA

VISUAL ANALYTICS IN CLINICAL DIAGNOSTIC DECISION MAKING PROCESSES *

P. van der Spek, moleculair geneticus

Abstract

Across the pharmaceutical and medical sector, data that could be available to support critical decisions abounds. Information visualization has emerged as a key tool in the effective use of that data. New generations of high-level visualizations that can represent all of the available data in easy to understand formats now provide a framework for dealing with massive volumes of data of essentially every type and format. Such visualizations also provide a means for integrating analyses across domains. Examples of how these visualizations are being used in genomics and proteomics discovery, pre-clinical studies and clinical studies are presented.

Gaining knowledge in these fields is impossible without Information and Communication Technology (ICT) and even resulted in a new discipline called Bioinformatics.

Introduction

With recent advances in biology and chemistry, the medicine has the opportunity, and the challenge, to make use of unprecedented volumes of data across the entire spectrum of lifescience activities. The Human Genome Project and high-throughput sequencing has provided complete sequences for several organisms. DNA chip (or microarray) technologies have enabled hundreds of thousands of gene expression data points in a day. Advances in proteomics are now creating a similar flood of data on the biology of proteins. Metabolomics is providing large-scale perspectives on cellular metabolites. Combinatorial chemistry and ultra-high-throughput screening are creating a similar data landslide of potential lead compounds. In addition, these approaches are being combined with traditional methods in other areas, such as toxicology and clinical studies (especially now for personalized medicine), further contributing to the data glut.

* *Sigrid Swagemakers¹, Jeff Saffer², Anton Koning¹, Roel Verhaak^{1,3}, Michael Moorhouse¹, Peter van der Spek¹*

¹*OmniViz, Inc., 2 Clock Tower Place, Maynard, MA 01754 USA*

²*Erasmus MC, P.O. Box 1738, 3000 DR Rotterdam*

³*Erasmus MC, Department of Hematology (Ee1302)*

It seems that having so much data, in every aspect of the clinical decision making process, should provide a benefit; surprisingly, however, that is not necessarily the case. Much of the decision process in this realm, as in others, is reductionist in nature. Consider having information on 1,000 genes and wanting to find the one or two that would serve as a relevant diagnostic biomarker for e.g. a metabolic disorder. You eliminate the genes that aren't relevant and continue to refine your search according to various criteria. Now consider having 100,000 SNP's, natural occurring variations within genes. The efforts required to wade through those SNP's, deciding which ones are informative, become much greater. Similar problems exist in deciding which compounds should become leads, or which drug candidates should go through clinical trials. As a result, the number of new drugs (molecular entities that have novel chemical structures) has fallen in each of the last 8 years, despite more than a two-fold increase in pharmaceutical R&D spending over that period (FDA, 2003). But, intuitively, we know that more data should be able to lead to more discoveries.

The goal, then, is to find ways to use these large volumes of data effectively, saving time, minimizing risk, and saving opportunity costs. For a drug that makes \$365 million per year (certainly not a block-buster), each day sooner the drug makes it to market earns \$1 million more, not even counting the savings on not having done an experiment or trial that wasn't going to be fruitful.

Gene Expression analysis using microarray technology

The development of microarray techniques has made it possible to study the level of expression of essentially all genes within a cell at once. This powerful tool for identifies differentially expressed genes in various disease tissues or under a range of treatment conditions, and has become a staple in the pharmaceutical discovery toolkit. Data visualization approaches have gone hand-in-hand with microarrays since the method was first used for whole organism screening (DeRisi et al., 1997). The 'heat map' visualization (see Figure 1) provides an overview of all the data values and their distribution in the data set. Each gene is a row in the map and each condition tested in a column. This is essentially a spreadsheet of the values, but instead of using a text representation of individual values, a color scale is presented. To provide visible structure to the map, the genes (and, if desired,

the columns) are clustered to put similar pattern near each other. In some cases, as shown in the Figure, additional information can be provided simultaneously such as the hierarchical nature of the relationships.

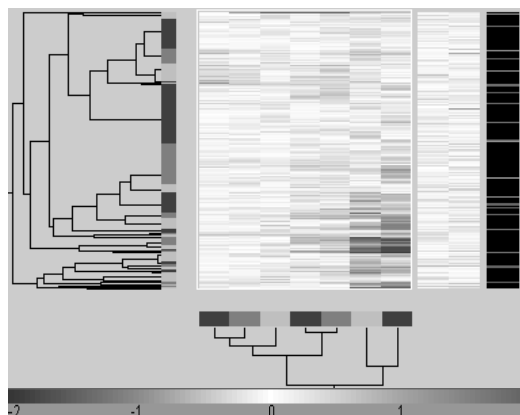


Figure 1: A heat map visualization of gene expression data. In this implementation, the TreeScape™ (OmniViz, Inc.), dendrograms showing the hierarchical relationships of both rows and columns are presented. In addition, additional columns of other data have been added to the right as a means for assessing possible relationships between the clusters and other attributes.

Many implementations of heat maps provide interactions that support efficient exploration. For example, brushing over a region to see gene names, conditions, and values, flipping dendrogram nodes to stress particular arrangements of interest, or being able to add additional columns of data within the same visualization, all support rapid understanding and exploration.

Intersection between biology and chemistry

Traditional workflows in the pharmaceutical industry have the biologists discovering targets and then passing these along to the chemists for use in screening assays, with little interaction at the interface between these domains. In part, this junction has been difficult to take advantage of because it requires an understanding that spans both domains. Information visualization is one emerging means to gain the natural synergies between these scientific areas.

Linkages among visualizations are one means of connecting the biological and chemical domains. For example, from one set of experimental proteomics (study of the proteins in the cell) data, a cluster of related proteins was found to be of interest (Figure 2, left). Some of these proteins have known ligands (small compounds that bind to the proteins). Those ligands

were part of a chemical compound library, which was visualized (Figure 2, right). The two visualizations were linked together, so that when a protein is selected in the proteomics data the corresponding ligands is highlighted in the compound structure visualization (or vice versa). When the proteins of interest were selected (yellow highlight next to the cluster bar), it is immediately obvious that the ligands known for those proteins (highlighted red in the Galaxy) fall into two distinct regions, indicating very different structural features. This suggests that additional compounds similar to those in both of these regions would be worthwhile to screen for binding to (and possible inactivation of) the proteins.

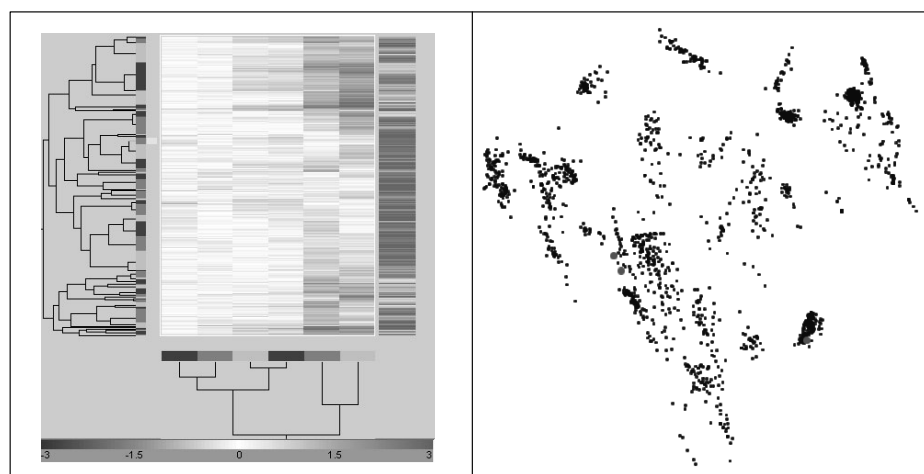


Figure 2

Clinical diagnostic decision-making using microarray technology

Novel means of visualizing clinical data can provide important insights into diagnoses and potential treatment regimens. Recent ErasmusMC examples of such large clinical microarray studies are on acute myeloid leukemia (AML) (Valk et al., 2004), pediatric oncology, acute lymphatic leukemia (ALL) (Holleman et al., 2004) and breast cancer (Wang et al., 2005).

AML is not a single disease but a class of neoplasms with diverse generic abnormalities and variable responses to treatments. To be able to elect effective treatments and predict appropriate prognosis for individual patients, it is clinically important to identify such genetic subgroups. Valk et al. (2004) developed a molecular classification method based on DNA expression profiles from blood and bone marrow samples of AML patients. For each of 285 patients diagnosed with primary AML, a DNA microarray analysis was performed on the blood or bone marrow sample using the Affymetrix U133A gene chip. Of the approximately 13000 genes whose expression was measured, the profiles of 2856 were differentially expressed genes and used for identifying the subgroups.

Although clustering is a widely used in gene expression analyses for identifying unknown groups, that method always finds the pre-determined number of clusters even if that number is not appropriate or even if no cluster structure exists in the data. Thus, Valk et al. employed a novel approach based on a visualization of correlations (in particular, the Correlation Visualization provided in OmniViz[®] software, see Figure 3). The visualization displays all the pair-wise correlations between the patients (based on their gene expression profile) with color indicating strength and directions of the correlations. An ordering is applied to rearrange the patients, so that the correlated individuals are close to each other. As a result, a structure emerges if it exists in data. By clearly displaying the strength of associations within and between the “blocks”, this visualization shows whether a viable cluster structure actually resides in the data and what the proper number of clusters is. Valk et al. used this approach to find groups of patients and found a relationship between those groups and the occurrence of other markers, such as cytogenetic abnormalities or expression of particular genes.

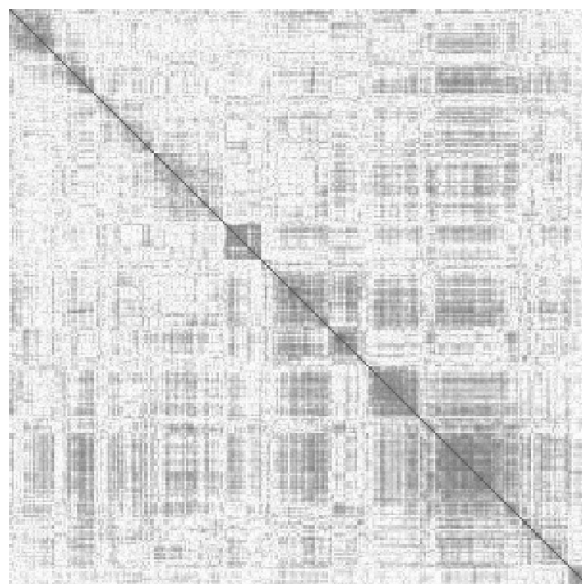


Figure 3: A correlation visualization displaying all pair-wise correlations among AML 227 patients. Using 2856 differentially expressed genes determined at the Erasmus Medical Center, the pair-wise correlation between each pair of patients was calculated and displayed with patients (both rows and columns) ordered to provide the maximal structure and place the most similar patients next to each other. A positive correlation is red and a negative correlation is blue. Since each patient has a correlation of 1 (highest score) to themselves, the diagonal is bright red.

Summary

With the flood of data across all aspects of the medical sector, information visualization is emerging as a critical component of clinical decision making in health care. But it is a new class of visualizations that are having the greatest impact. It is not sufficient to explore highly complex data using traditional graphs and charts, even when those are interactive. Rather, higher level summaries that can provide a framework for understanding the immense volumes of data and reveal unexpected relationships have come to the forefront. And, the ability to use these visualizations to cross disciplines and data types provides the ability to integrate analyses and support fast, effective decisions.

The DNA microarray technology applied in molecular biology makes it possible to rapidly diagnose disease at the molecular level. In addition, it enables to identify pathways and new indications of disease prognosis to pre-determine one's genetic risk and to design novel therapeutic agents. In the near future, therefore, treatments will be increasingly tailored to the individual's genetic background. Microarray diagnostics is expected to result in better survival and fewer adverse side effects.

References

1. DeRisi JL, Vishwanath RI, Brown PO (1997) Exploring the Metabolic and Genetic Control of Gene Expression on a Genomic Scale. *Science* 278:680-686
2. Holleman A, Cheek MH, den Boer ML, Yang W, Veerman AJ, Kazemier KM, Pei D, Cheng C, Pui CH, Relling MV, Janka-Schaub GE, Pieters R, Evans WE. Gene-expression patterns in drug-resistant acute lymphoblastic leukemia cells and response to treatment. *N Engl J Med.* 2004 Aug 5;351(6):533-42.
3. The Encyclopedia of the Human Genome. Chapter: Microarray Bioinformatics. A. Stubbs and P.J. van der Spek. *Nature* 2002 ISBN 0-333-80386-8
4. US Food and Drug Administration (2004) Challenge and Opportunity on the Critical Path to New Medical Products
5. Valk PJM, Verhaak RGW, Beijen MA, Erpelinck CAJ, van Waalwijk van Doorn-Khosrovani SB, Boer JM, Beverloo B, Moorhouse MJ, van der Spek PJ, Ph.D., Löwenberg B, Delwel R (2004) Prognostically Useful Gene-Expression Profiles in Acute Myeloid Leukemia. *New England J Med* 350:1617-1628
6. Wang Y, Klijn JG, Zhang Y, Sieuwerts AM, Look MP, Yang F, Talantov D, Timmermans M, Meijer-van Gelder ME, Yu J, Jatkoe T, Berns EM, Atkins D, Foekens JA. (2005) Gene-expression profiles to predict distant metastasis of lymph-node-negative primary breast cancer. *Lancet.* 2005 365(9460):671-9.