

FA-Prüfungsvorbereitungsseminar

26. Sept. 2019 - 09:00

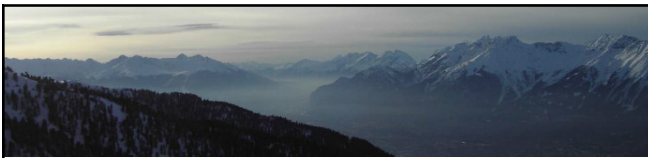
Ort: Ärztekammer für Wien, Weihburggasse 10-12

Angeborene Stoffwechselstörungen: Labordiagnostik / Selektives Screening



Daniela Karall, MD, IBCLC
Medizinische Universität Innsbruck, Klinik für Pädiatrie I,
Angeborene Stoffwechselstörungen
daniela.karall@i-med.ac.at





Labordiagnostik „der 1. Schritt“

Sabine Scholl-Bürgi



Medizinische Universität Innsbruck
Department für Kinder- und Jugendheilkunde
Universitätsklinik für Pädiatrie I



1. Anamnese + klinische Untersuchung



2. Routineparameter

3. Spezial-Routineparameter

4. weitere Untersuchungen



Ebenen der metabolischen Diagnostik

biochemisch Substratebene

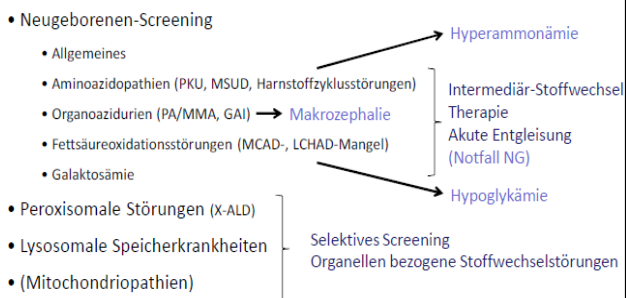
enzymatisch Enzym-Ebene

molekulargenetisch Gen-Ebene

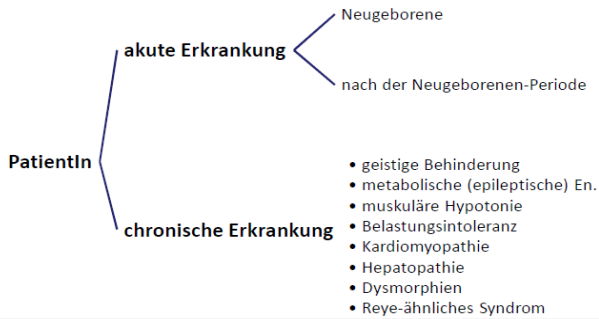
BEHADELBAR	NICHT BEHADELBAR
Amino- und Organozidopathien	
Phenylketonurie	Nicht ketotische Hyperglyzämie
Serinbiosynthese	D2-Hydroxy-Glutarazidurie
Kofaktorstörungen	
Biotinidase	Molybdänkofaktor (erste Th versuche)
Tetrahydrobiopterinsynthese (atyp. PKU)	Isolierte Sulffoxidase
Pyridoxin-Pyridoxalphosphat abhängige Epilepsie	
Folnat responsive Epilepsie	
Cobalamin Synthesestörungen	
Energiestoffwechselstörungen	
Glukose Transporter Typ 1	"Mitochondriopathien"
Kreatininsynthese	Kreatintransporter
Peroxisomale Störungen	
	Zellweger Syndrom
	Neonatale Adrenoleukodystrophie
Lysosomale Erkrankungen	
Morbus Pompe	Neuronale Zeroidlipofuzinose
	Gangliosidose
	Sialidose
Neurotransmitterstörungen	
Neurotransmitterstörungen (DRD, SSDH)	
	GABA Transaminase
Kongenitale Glykosylierstörungen (CG-Syndrome)	
CDG Ib	Alle anderen CDG (dzt. etwa 50)
Purinsynthesestörungen	
	Adenylosuccinylase

Metabolische epileptische Encephalopathien / Entwicklungsstörungen

Angeborene Stoffwechselstörungen



Diagnostische Schwierigkeiten



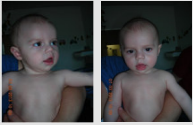
Routineparameter - Blut

- Blutbild, Differentialblutbild, Infektionsparameter
- Blutzucker, Elektrolyte (ev. mit Magnesium und Phosphat)
- Säure-Basenstatus (Anionenlücke)
- Leberenzyme (GOT, GPT, GIDH, γ -GT, AP)
- Nierenfunktionsparameter (Kreatinin, Harnstoff), Harnsäure
- Creatin-Kinase, LDH
- Cholesterin, Triglyceride, LDL, HDL
- Laktat, (Pyruvat), (Ketonkörper), Ammoniak
- Gerinnungsanalysen
- T3, T4, TSH, Kupfer, Coeruloplasmin

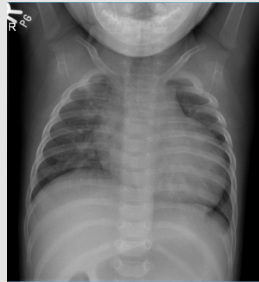
Notfall/Neugeborene Sonstige Parameter

- **Asservierung von Proben**
 - **Plasma:** Aminosäureanalytik
 - **Trockenblut:** Acylcarnitinprofil
 - **Harn:** organische Säuren
 - **Liquor:** Neurotransmitter/Aminosäuren

M.E., 27.08.2012

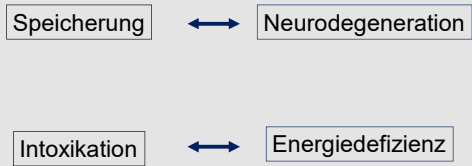


z.B. Morbus Pompe

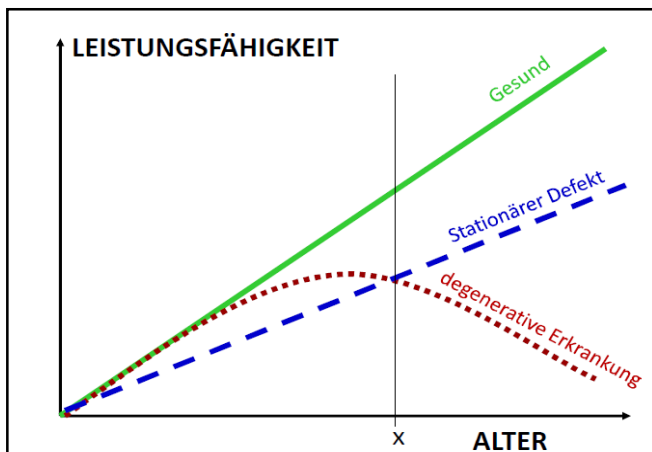


→ Untersuchung aus dem Routinelabor: Creatinkinase

Klinische Bilder



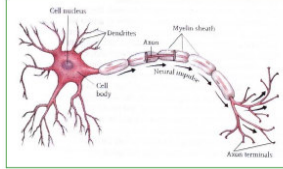
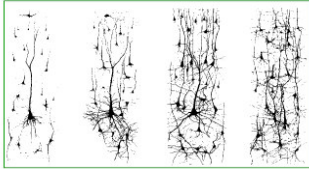
Sperl W, Wien Klin Wochenschr 1992; 16:497-502



Neurodegenerative Krankheiten

Graue Substanz: Neuronenkrankheiten

Weißer Substanz: Leukodystrophien



Früh: Demenz, Krämpfe, Amaurose
Spät: Bewegungsstörung

Früh: Bewegungsstörung
Spät: Demenz, Krämpfe

Neurodegenerative Krankheiten

Leitsymptom	System	z.B.
Demenz, Krämpfe	Graue Substanz	NCL, MPS
Spastische Lähmung	Weißer Substanz	Leukodystrophien
Dystonie, Athetose	Basalganglien	Dystonien
Ataxie	Kleinhirn, Rückenmark	Friedreich Ataxie
Schlaffe Lähmung Muskelatrophie	Vorderhornzellen	SMA
Schlaffe Lähmung	Periphere Nerven	Neurale Muskelatrophie
Schlaffe Lähmung	Muskel	DMD

	Speicherung / Neurodegeneration	Intoxikation / Energiedefizienz
betrifft	große Moleküle	kleine Moleküle (= Intermediärstoffwechsel)
	biochemisch inert	biochemisch aktiv

Speicherung / Neurodegeneration

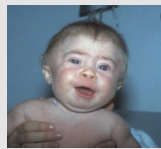
Lysosomale Speichererkrankung - Mucopolidose II

3 Wo

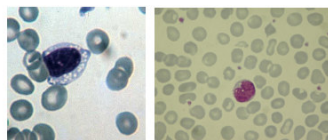


L.S., geb. 14.10.1997

3,5 Jahre



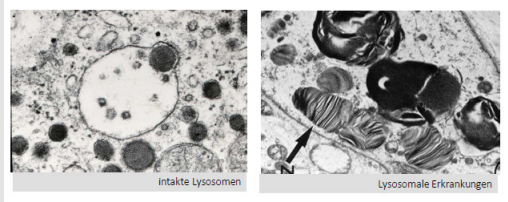
Blutausstrich: Speichervakuolen in Leukozyten



Lymphozytenvakuolen

Cave: meistens wird eine maschinelle Zählung der Zellzahlen durchgeführt, daher im Labor nachfragen

Elektronenmikroskopie: Speicherung in Lysosomen (Biopsie in Glutaraldehyd)



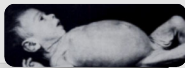
Suchtests: Neurodegeneration / Speicherung

- z.B.
- überlangkettige Fettsäuren im Plasma
 - Mukopoly-, Oligosaccharide im Harn
 - isoelektrische Fokussierung von Transferrin im Plasma
 - isoelektrische Fokussierung von ApoCIII im Plasma
 - Sterolsynthese im Plasma
- Enzymatische Aktivität der Lysosomalen Sauren Lipase (LAL-D)

Lysosomale saure Lipase-Defizienz (LAL-D)

→ lysosomale Akkumulation von Cholesterinestern und Triglyceriden

Betrifft Personen vom Säuglings- bis zum Erwachsenenalter



Säuglinge¹⁻³

- Schnell fortschreitende Erkrankung, die frühzeitig zum Tod führt (<6 Monate)
- Malabsorption und Wachstumsstörungen
- Hepatosplenomegalie



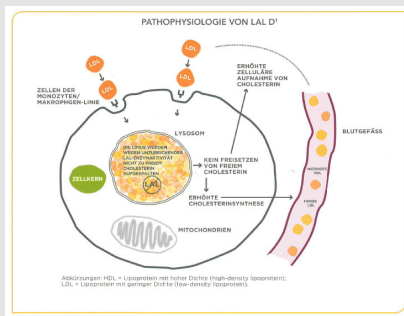
Kinder und Erwachsene¹⁻³

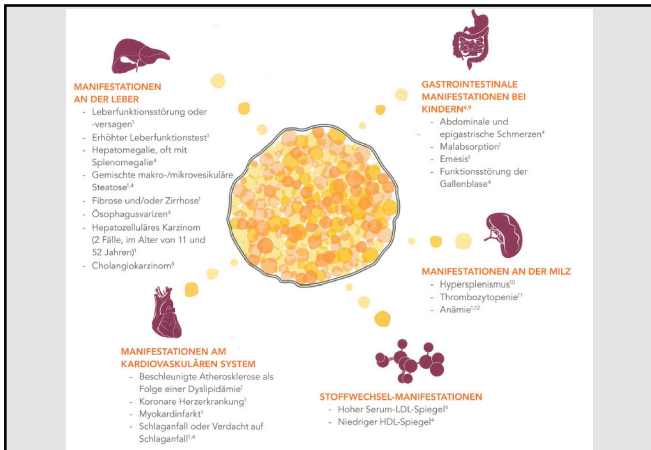
- Hepatomegalie, erhöhter Fettgehalt der Leber, chronischer Leberschaden
- Dyslipidämie mit erhöhtem Risiko von kardiovaskulären Erkrankungen und Atherosklerose

Links Bild: Grabowski DA, et al. In: Valle D, et al (eds). OMIM®: The Online Mendelian and Molecular Basis of Inherited Disease. New York: McGraw-Hill; 2012. Aktualisiert im März 2012. Rechts Bild: Nachdruck aus Pathol (Oxf Pract) 2003; 36(1): 21-26. © 2004, mit Genehmigung von Elsevier

1. Reimer Z, et al. Atherosclerosis. 2014;235(1):21-28. 2. Bernstein DL, et al. J Hepatol. 2013;59(6):1228-1243. 3. Kamura (Sehlpasse e/f) Fachinformation, Oktober 2015.

Lysosomale saure Lipase-Defizienz (LAL-D)





Lysosomale saure Lipase-Defizienz (LAL-D)

→ Untersuchung aus dem Routinelabor:

Hepatopathie	LFP (GPT) ↑
Dyslipidämie	LDL > 160 mg/dl
	HDL < 40 mg/dl

→ Bestimmung der enzymatischen Aktivität der Lysosomalen Sauren Lipase (LAL-D) im Trockenblut

Suchtests: Neurodegeneration / Speicherung

z.B.

- überlangkettige Fettsäuren im Plasma
 - Mukopoly-, Oligosaccharide im Harn
 - isoelektrische Fokussierung von Transferrin im Plasma
 - isoelektrische Fokussierung von ApoCIII im Plasma
 - Sterolsynthese im Plasma
- Enzymatische Aktivität der Lysosomalen Sauren Lipase (LAL-D)

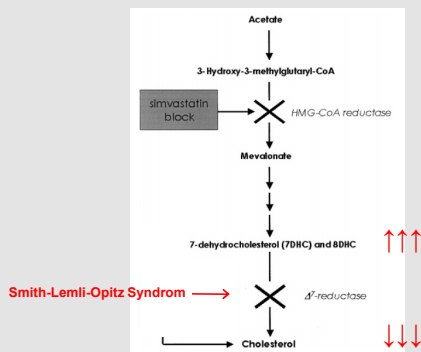
z.B. Dysmorphie

Smith-Lemli-Opitz Syndrom
= Cholesterinbiosynthesestörung



→ Untersuchung aus dem Routinelabor: niedriges Cholesterin

Suchtest: Sterole im Plasma – bes. 7-DHC



z.B. Dysmorphie



Congenital disorder of glykosylation type Ia (CDG Ia)

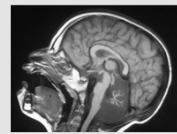


Sichtbare Zeichen:

Inverse Mamillen (Typ Ia)
Strabismus convergens
Skelettdysplasien

Muskuläre Hypotonie
Mentale Retardierung
Epilepsie
Neuropathie / Areflexie

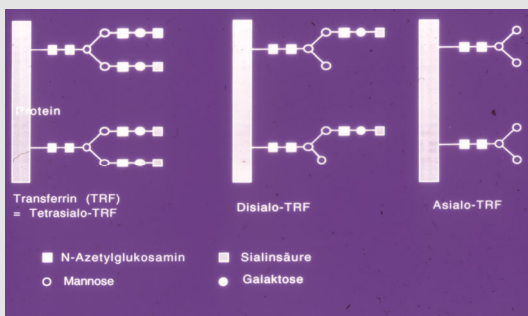
Hepatopathie
Hypothyreose
Cerebelläre Ataxie



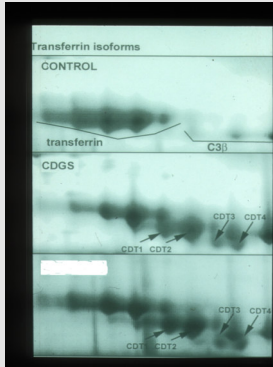
Cerebelläre Atrophie

Congenital disorder of glycosylation type Ia (CDG Ia)

Suchtest: isoelektrische Fokussierung von Transferrin



Suchtest: isoelektrische Fokussierung von Transferrin



Suchtest: überlangkettige Fettsäuren im Plasma

Zellweger Syndrom (= Hepatozerebrorenales Syndrom)



C26 2,7 µg/ml	(0,18-0,4 µg/ml),
C24 9,2 µg/ml	(7,1-28,9 µg/ml),
C22 4,8 µg/ml	(11,2-48,7 µg/ml)

Energiedefizienz /
Intoxikation

Parallele Messung von Blutglukose und Ketonkörpern



Precision Xceed®
Fa. Abbott



Stat Strip®
Fa. Nova Biomedical

Notfallparameter: Blutgasanalyse

- metabolische Azidose (Akkumulation von organischen Säuren)
pH-Wert, HCO_3^- und p_aCO_2 erniedrigt
Anionenlücke ($\text{Na}^+ - (\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-)$) > 16 mmol/l
- Um die ursächlichen Säuren zu identifizieren:
 - Laktat im Blut,
 - Ketone im Blut (β -Hydroxybutyrat) und Harn (Acetoacetat, Cave Ketonurie beim Neugeborenen),
 - organische Säuren im Harn,
 - Aminosäuren im Plasma und
 - Acylcarnitinprofil im Trockenblut bestimmen.



Ammonia Checker II

- Therapieziele**
- Aufwachen vor 24 µl Nitrit auf ein Proteinid im Urin
 - Fortsetzung von Ammoniak im alkalischen Harn
 - Übertritt des Ammoniaks mittels Mikrotubulen im Tubulussystem
 - Fehlerstrahlung proportional zur Ammoniakkonzentration
 - Aufwachen vorwiegend bei Azidose mit Vorbeugung in Ammoniakkonzentration im Ammonia Checker II
- Merkmale**
- Testdauer von 3 Minuten bei Raumtemperatur
 - Einsatz von 100- oder 200 µl Urin
 - Geringe Probekonzentration von 20 µl
 - Automatischer Multitasking und Kompatibilität der Testergebnisse
 - Empfindlichkeit von 100 µmol/l Nitrit für 20 µl Urin
 - Mehrere Tests durch Benutzerschnittstelle

Notfallparameter: Ammoniak

- verschiedene Einheiten ($\mu\text{mol/l}$ und $\mu\text{g/dl}$)

Umrechnungsfaktor $\mu\text{mol/l} = \mu\text{g/dl} \times 0,59$

- altersabhängige Referenzbereiche
 - Neugeborene $< 110 \mu\text{mol/l}$
 $> 200 \mu\text{mol/l} \rightarrow \text{V.a. Stoffwechselstörung}$
 - nach NG-Periode $50-80 \mu\text{mol/l}$
 $> 100 \mu\text{mol/l} \rightarrow \text{V.a. Stoffwechselstörung}$
- Cave Präanalytik extrem wichtig (falsch hohe Konzentrationen bei Hämolyse)

Notfallkiste





Info durch die Mutter, September 2014 – 4 Jahre alt:

Meilensteine:

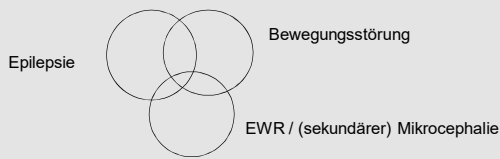
Zur Seite gerollt mit 6 Monaten – Sitzen ohne Hilfe mit 10 Monaten – gekrabbelt mit 14 Monaten – aufgestanden mit 16 Monaten – selbstständig gelaufen mit 21 Monaten.

„An einem Tag kurz vor dem Mittagessen konnte sie kaum mehr alleine auf dem Stuhl sitzen. In solchen Fällen haben wir immer versucht Sonia zu halten, ihr etwas zu trinken und Traubenzucker oder Obst zu geben. Meistens ging es nach kurzer Zeit wieder besser. Uns ist aufgefallen, dass es einen Zusammenhang mit dem Essen gibt. Wenn Sonia regelmäßig und ausreichend isst, ist immer alles ok. Deshalb haben wir gedacht, sie wäre unterzuckert. Doch es haben sich normale Zuckerwerte ergeben.“



→ Ataktische cerebrale Bewegungsstörung mit motorischer Entwicklungsverzögerung

Glukosetransporterstörung (GLUT 1 DS)



Liquorglukosequotient: 35 mg/dl / 96 mg/dl = 0,3 (< 0,5 = Hinweis für Glukosetransporterstörung)

Therapie! →

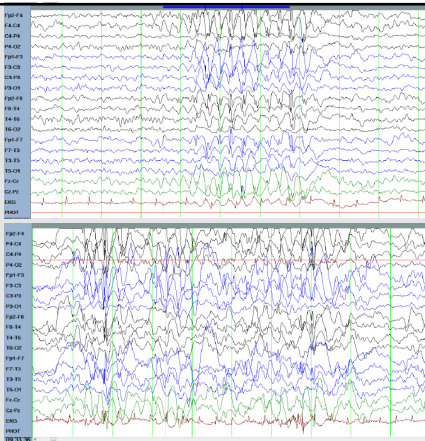
Glucose Transporter Type 1 Deficiency Syndrome Effectively Treated with Modified Atkins Diet

Edda Haberland¹ Daniela Karál¹ Veronika Jod¹ Sara Sij Baumgartner¹ Sibylle Zotter¹ Kevin Rostanz¹ Matthias Baumann¹ Sabine Schull-Baumg¹

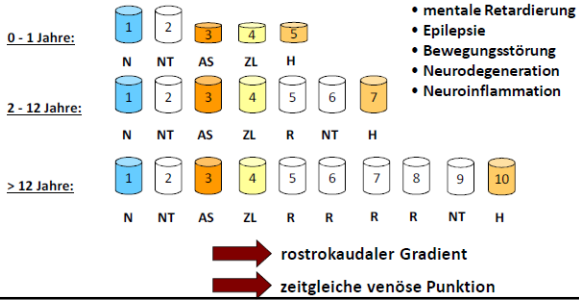
¹Department of Pediatrics I, Innsbruck Medical University, Innsbruck, Austria

Address for correspondence: Edda Haberland, MD, Department of Pediatrics I, Innsbruck Medical University, Anichstrasse 35, 6020 Innsbruck, Austria (e-mail: edda.haberland@iuhk.it)

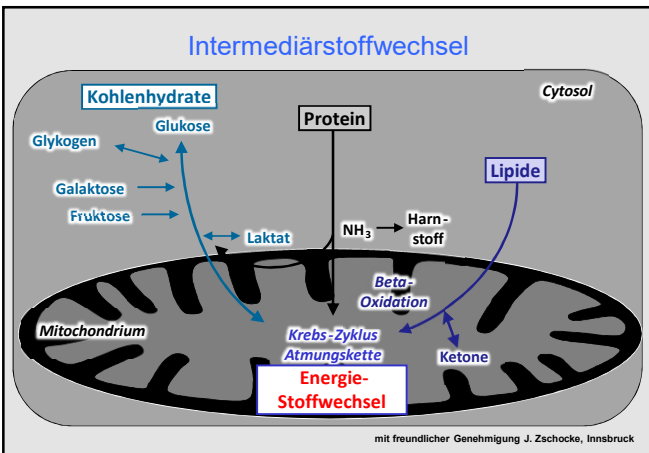
Neuropediatrics 2014;45:117–119.



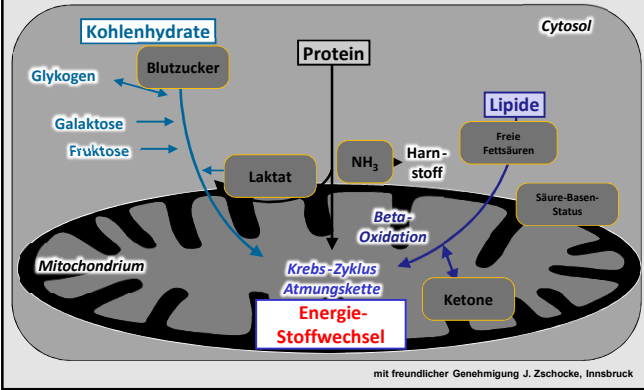
Arbeitsanleitung (Fraktionen 1ml)





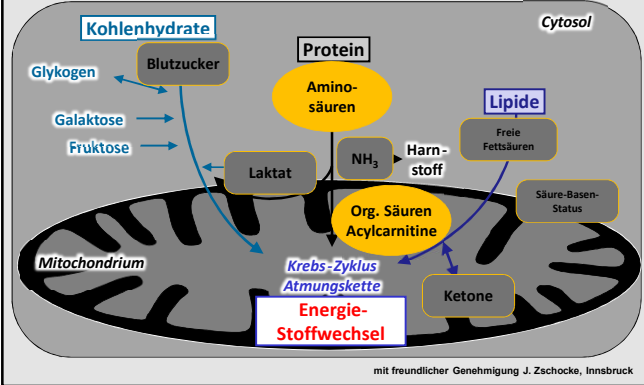


→ Untersuchung aus dem Routinelabor = Basisdiagnostik

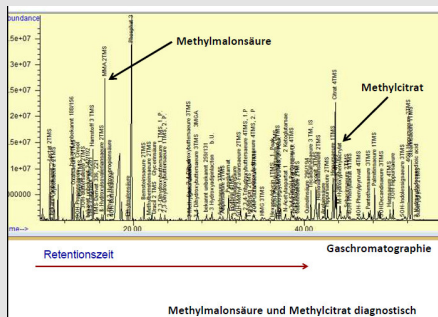


mit freundlicher Genehmigung J. Zschocke, Innsbruck

Erweiterte Diagnostik



mit freundlicher Genehmigung J. Zschocke, Innsbruck



Methylmalonsäure und Methylcitrat diagnostisch

Next generation sequencing und co.

Paediatric genomics: diagnosing rare disease in children

Caroline F. Wright¹, David R. FitzPatrick² and Helen V. Firth^{3,4}

Abstract | The majority of rare diseases affect children, most of whom have an underlying genetic cause for their condition. However, making a molecular diagnosis with current technologies and knowledge is often still a challenge. Paediatric genomics is an immature but rapidly evolving field that tackles this issue by incorporating next-generation sequencing technologies, especially whole-exome sequencing and whole-genome sequencing, into research and clinical workflows. This complex multidisciplinary approach, coupled with the increasing availability of population genetic variation data, has already resulted in an increased discovery rate of causative genes and in improved diagnosis of rare paediatric disease. Importantly, for affected families, a better understanding of the genetic basis of rare disease translates to more accurate prognosis, management, surveillance and genetic advice; stimulates research into new therapies; and enables provision of better support.

NATURE REVIEWS | GENETICS

VOLUME 10 | MAY 2010 | 253

→ Wichtigste Grundlage ist noch immer die klinische Charakterisierung!

Post mortem Proben

Serum und Plasma (fraktioniert einfrieren)

Trockenblutkarte

Harn

DNA (3-10 ml EDTA-Blut)

Hautstanze für Fibroblastenkultur

ggf. CSF / Glaskörper- / Gallenflüssigkeit

Biopsien: Leber, Herz-, Skelettmuskel

Blut: Spezialroutineparameter

Parameter	Material
Aminosäuren	Plasma
Homocystein	Plasma
Acylcarnitinprofil, Carnitin	Trockenblut, Plasma, Serum
vlcfa (überlangkettige Fettsäuren), Pipecolin-, Phytansäure	Plasma
Isoelektrische Fokussierung von Transferrin	Plasma, Serum
Sterolsynthese-Metabolite	Plasma, Serum
Creatin-Metabolite	Plasma, Harn

u.a.

Harn: Spezialroutineparameter

Parameter

Aminosäuren (tubuläre Rückresorption)

Sulfit

Polyole

Organische Säuren

Purine / Pyrimidine, Harnsäure

Mukopolysaccharide, Oligosaccharide

Gallensäuremetabolite

Creatin-Metabolite

u.a.

Zusammenfassung

Take home message

„ZNS plus“

Multiorganmanifestationen,
tageszeitliche Schwankungen,
periodischer Verlauf ...

... an metabolische Ursache denken!
