

## Leitlinien der Gesellschaft für Kinderheilkunde und Jugendmedizin (DGKJ)

Arbeitsgemeinschaft für Pädiatrische Stoffwechselstörungen (APS)  
Deutsche Gesellschaft für Neugeborenencreening (DGNS)

### Leitlinie 027-021

# Konfirmationsdiagnostik bei Verdacht auf angeborene Stoffwechselkrankheiten aus dem Neugeborenencreening

Autoren (alphabetisch):

Gwendolyn Gramer, Martin Lindner, René Santer, Ute Spiekerkötter, Sara Tucci

## 1. Ziel der Leitlinie

Eine frühzeitige Diagnosestellung und Behandlung vor der Manifestation klinischer Symptome verbessert die Prognose für viele Patienten mit angeborenen Stoffwechselkrankheiten. Deshalb existiert in der Bundesrepublik Deutschland ein Neugeborenencreening-Programm. Durch die Kinder-Richtlinie des Gemeinsamen Bundesausschusses der Ärzte und Krankenkassen (G-BA) wird das Neugeborenencreening für Deutschland geregelt (Kinder-Richtlinie 2019). Neben organisatorischen Verantwortlichkeiten legt die Richtlinie auch das Spektrum der zu untersuchenden Krankheiten fest (Stand für angeborene Stoffwechselkrankheiten Februar 2019, Tabelle 1). Für die Angaben zu Prävalenzen der einzelnen Zielkrankheiten für Deutschland wurden in dieser Leitlinie, sofern nicht anders angegeben, die kumulativen Angaben der Screeningreports der Deutschen Gesellschaft für Neugeborenencreening der Jahrgänge 2006-2014 zugrunde gelegt (DGNS-Screeningreports).

Im Neugeborenencreening werden Verdachtsdiagnosen gestellt, die durch geeignete Untersuchungen bestätigt oder ausgeschlossen werden müssen. Diese Leitlinie schlägt Algorithmen für diese Konfirmationsdiagnostik vor und gibt an, welche Anschlussuntersuchungen notwendig und sinnvoll sind. Mit der vorliegenden Leitlinie zur Konfirmationsdiagnostik bei Verdacht auf angeborene Stoffwechselkrankheiten aus dem Neugeborenencreening erfolgt eine Aktualisierung einer ersten Version aus dem Jahre 2010.

Die schnelle und sichere Bestätigung bzw. der sichere Ausschluss der Diagnose einer angeborenen Stoffwechselkrankheit sind essenziell, da eine Verzögerung einer notwendigen Therapie, aber auch unnötige Therapien soweit wie möglich vermieden werden müssen. Darüber hinaus ist auch die Erhebung zuverlässiger Daten zu den Inzidenzen dieser seltenen Stoffwechselkrankheiten nur auf der Basis valider Daten einer einheitlichen sicheren Konfirmationsdiagnostik möglich. In der vorliegenden Leitlinie *Konfirmationsdiagnostik bei Verdacht auf angeborene Stoffwechselkrankheiten aus dem Neugeborenencreening* wird die Konfirmationsdiagnostik für die 13 eingeschlossenen angeborenen Störungen des Intermediärstoffwechsels definiert. Die im Neugeborenencreening erfassten endokrinologischen Krankheiten (Kongenitale Hypothyreose, Adrenogenitales Syndrom) sowie die Mukoviszidose (Cystische Fibrose, CF) und schwere kombinierte Immundefekte (SCID) sind nicht Gegenstand dieser Leitlinie. Die Deutsche Gesellschaft für Kinderendokrinologie und -diabetologie (DGKED) erstellt für die endokrinologischen Erkrankungen eigene Leitlinien (AWMF-Leitlinienvorhaben 174-018 und 174-003). Auch die Konfirmationsdiagnostik der Cystischen Fibrose wird an anderer Stelle behandelt (AWMF-Leitlinie 026-023 und (Nährlich, Stuhmann-Spangenberg et al. 2014)).

**Tabelle 1:** Im Neugeborenencreening in Deutschland erfasste Stoffwechselkrankheiten (Stand Februar 2019)<sup>1</sup>

Verdachtsdiagnose	Kurzbezeichnung	Zuweisung zum Stoffwechselzentrum <sup>2</sup>
Biotinidasemangel	BIO	Kontakt nächster Werktag, Vorstellung ambulant
Klassische Galaktosämie	GALT	Vorstellung <u>sofort stationär</u>
<b>Hyperphenylalaninämien</b>		
Phenylketonurie (Kofaktordefekte)	PKU	Vorstellung nächster Werktag, ambulant oder stationär
Milde Hyperphenylalaninämie	MHP	Kontakt nächster Werktag, Vorstellung ambulant

Ahornsirupkrankheit	MSUD	Vorstellung <u>sofort stationär</u>
Medium-Chain Acyl-CoA Dehydrogenase- Mangel	MCAD	<u>Kontakt sofort*</u> , Vorstellung nächster Werktag ambulant
Long-Chain 3-OH Acyl-CoA Dehydrogenase- Mangel / Mitochondrialer trifunktioneller Protein - Mangel	LCHAD/MTP	Vorstellung <u>sofort stationär</u>
Very-Long-Chain Acyl-CoA Dehydrogenase- Mangel	VLCAD	<u>Kontakt sofort*</u> , Vorstellung nächster Werktag stationär oder ambulant
Carnitin-Palmitoyltransferase 1a- Mangel	CPT-1	<u>Kontakt sofort*</u> , Vorstellung nächster Werktag ambulant
Carnitin-Palmitoyltransferase 2- Mangel / Carnitin-Acylcarnitin Translocase- Mangel <sup>3</sup>	CPT-2/CACT	Vorstellung <u>sofort stationär oder ambulant</u>
Glutarazidurie Typ I	GA I	<u>Kontakt sofort*</u> , Vorstellung nächster Werktag stationär oder ambulant
Isovalerialanazidurie	IVA	<u>Kontakt sofort*</u> , Vorstellung nächster Werktag stationär oder ambulant
Tyrosinämie Typ I	TYR I	<u>Vorstellung sofort stationär oder ambulant</u>

\* Das weitere Vorgehen ist vom Vorliegen von Symptomen abhängig. Daher muss sofort Kontakt mit der Familie aufgenommen werden. Bei klinischen Symptomen ist umgehend eine Klinikvorstellung erforderlich.

1 Das Bundesland Hessen hat in einem eigenen Screeninggesetz das Krankheitsspektrum erweitert.

2 Die weiterführende Diagnostik muss unter der Leitung eines Arztes mit Erfahrung in der Diagnostik und Behandlung angeborener Störungen des Intermediärstoffwechsels erfolgen. Jedes Kind mit klinischen Auffälligkeiten ist sofort in einem Stoffwechsellabor vorzustellen. Die Empfehlungen beziehen sich auf Fälle mit hochgradigem Krankheitsverdacht. Bei milden Auffälligkeiten wird das Screeninglabor ggf. zunächst die Einsendung einer Kontrollprobe empfehlen.

3 Im Profil der Acylcarnitine nicht zu unterscheiden

## 2. Basisinformation - Organisation Neugeborenencreening

Bei allen 13 Krankheiten des Intermediärstoffwechsels handelt es sich um monogene, autosomal-rezessiv vererbte Defekte, deren natürlicher Verlauf stark variiert. Einige Patienten können bereits Symptome vor Eintreffen des Ergebnisses aus dem Neugeborenencreening zeigen (z.B. bei LCHAD/MTP-Mangel, klassischer Galaktosämie, MSUD), während bei den meisten Zielkrankheiten die Patienten im Neugeborenenalter asymptomatisch sind, aber ohne Behandlung jenseits der Neugeborenenperiode oder in späterem Lebensalter symptomatisch werden (z.B. bei PKU, BIO, MCAD, GA 1).

§10 Absatz (4) der Anlage 3 der Kinderrichtlinie regelt die Zuständigkeiten bei auffälligem Screeningbefund: "Der verantwortliche Einsender informiert unverzüglich die Eltern (Personensorgeberechtigten). Dabei ist auf die Notwendigkeit einer schnellen, **fachkompetenten** Abklärung und Weiterbetreuung ausdrücklich hinzuweisen. ...".

Die Einbindung eines Pädiatrischen Stoffwechsellabors ist hierbei unbedingt erforderlich. Die Screeningzentren unterstützen den Einsender durch Benennung wohnortnaher spezialisierter Zentren für die weitere Konfirmationsdiagnostik.

Nach auffälligem Befund im ersten Neugeborenencreening ergeben sich zwei Szenarien:

Anhand der Ausprägung des Befundes fordert das Screeninglabor entweder

- bei geringem Krankheitsverdacht und/oder niedrigem Risiko für das Auftreten von Krankheitssymptomen eine Kontrolluntersuchung aus einer 2. Trockenblutprobe an (Recall, z.B. bei leicht erhöhter Phenylalaninkonzentration)

oder es empfiehlt

- bei deutlichem Krankheitsverdacht und/oder beträchtlichem Gesundheitsrisiko die direkte Kontaktaufnahme mit der Familie oder die sofortige Vorstellung in einem spezialisierten Stoffwechsellabor zur klinischen Beurteilung, zur Einleitung der Folgediagnostik und evtl. zur sofortigen Therapie (siehe Tabelle 1). In diesem Fall teilt das Labor dem Einsender den Befund und die Empfehlung auch telefonisch mit.

**Jegliche Diagnostik, die über die Wiederholung der Untersuchung aus einer 2. Trockenblutkarte hinausgeht, sollte von dem Stoffwechsellabor veranlasst und bewertet werden, das die weitere Betreuung des Patienten übernehmen kann!**

# Generelle Überlegungen zur Diagnostik angeborener Stoffwechseldefekte

Im Neugeborenen Screening wird mit speziellen Testmethoden, die auf eine Massenanwendung, niedrige Kosten und hohe Sensitivität ausgerichtet sind, durch Bestimmung der Konzentration krankheitstypischer Metaboliten oder einer spezifischen Enzymaktivität nach angeborenen Stoffwechseldefekten gesucht. Grundsätzlich muss eine aus dem Trockenblut gestellte Verdachtsdiagnose durch zusätzliche Untersuchungen bestätigt werden.

**Das Ergebnis einer Wiederholungsuntersuchung aus Trockenblut kann nicht als abschließende Bestätigung der Verdachtsdiagnose gewertet werden.**

Die Verdachtsdiagnose kann auf folgenden Ebenen verifiziert werden:

## Metaboliten:

Nachweis pathologisch erhöhter oder verminderter Konzentrationen charakteristischer Stoffwechsel(zwischen)produkte in Körperflüssigkeiten.

Einige Krankheiten sind alleine durch den Metaboliten nachweis sicher zu diagnostizieren.

*Beispiel:* Charakteristisches Profil der Aminosäuren im Plasma mit oder ohne Befund der organischen Säuren im Urin bei der Ahornsirupkrankheit.

## Enzymaktivität:

Nachweis einer erheblichen Einschränkung einer Enzymaktivität.

Bei Krankheiten, die nicht eindeutig durch die Metabolitenkonstellation diagnostizierbar sind, kommt die Enzymaktivität dem biochemischen Phänotyp "*in-vivo*" am nächsten. Bei einigen Krankheiten steht jedoch die Enzymaktivitätsbestimmung aus methodischen Gründen nicht zeitnah zur Verfügung.

## Molekulargenetik:

Nachweis von krankheitsverursachenden genetischen Varianten in homozygoter oder *compound* heterozygoter Form (in trans) des krankheitsspezifischen Gens (bei den derzeit im Neugeborenen Screening erfassten Stoffwechselstörungen handelt es sich durchgehend um autosomal-rezessiv vererbte Krankheiten). Die genetische Diagnostik kann bei einigen Krankheiten mit hochprävalenten pathogenen Varianten die Diagnose schnell und kostengünstig sichern (Beispiel: MCAD-Mangel, klassische Galaktosämie, LCHAD-Mangel), aber nur bei positivem Befund. Ein negativer molekulargenetischer Befund schließt bei den derzeit in der Routine angewandten Methoden eine Verdachtsdiagnose nicht aus. Die Mutationsanalytik kann außerdem bei einem grenzwertigen Befund der funktionellen Diagnostik (Enzymaktivitätsanalyse) als unterstützende Diagnostik von Bedeutung sein.

Bei einigen Stoffwechselkrankheiten kann die Molekulargenetik zur weiteren Einordnung und Differenzierung der Unterformen sowie zur späteren Vorbereitung einer Pränataldiagnostik sinnvoll sein.

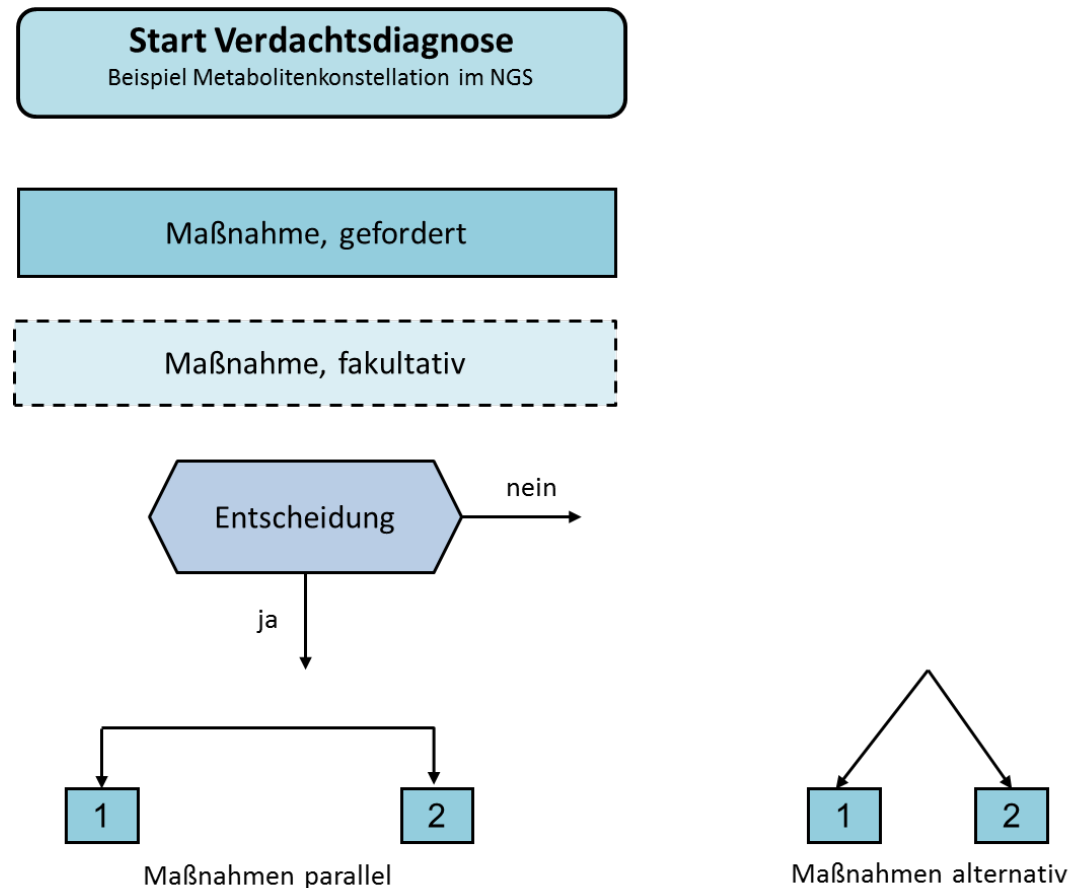
Die Algorithmen der Konfirmationsdiagnostik unterscheiden sich von Krankheit zu Krankheit in der Abfolge empfohlener Untersuchungen. Im Rahmen dieser Leitlinie wurde versucht, primär die am breitesten verfügbare Methode mit sicherer Diskrimination zwischen krank und gesund zu wählen. Aufgrund lokaler Gegebenheiten in den Behandlungs- und Diagnostikzentren ist es möglich, dass eine andere als die hier vorgeschlagene Untersuchungsmethode schneller und/oder kostengünstiger ist.

Untersuchungen, die ausschließlich zu einer genaueren prognostischen Einordnung einer Screeningkrankheit dienen, wurden nur, wenn sie nach Kenntnis der Autoren in den meisten Zentren durchgeführt werden, in den Algorithmus aufgenommen.

### 3. Gestaltung der Flussdiagramme

In den folgenden Flussdiagrammen wird für jede der 13 Stoffwechselkrankheiten ein diagnostischer Algorithmus dargestellt und, wenn es nötig erschien, durch einen kurzen erklärenden Text ergänzt.

Die Gestaltung der Flussdiagramme folgt internationalen Konventionen.



Abkürzungen

NGS    Neugeborenenenscreening

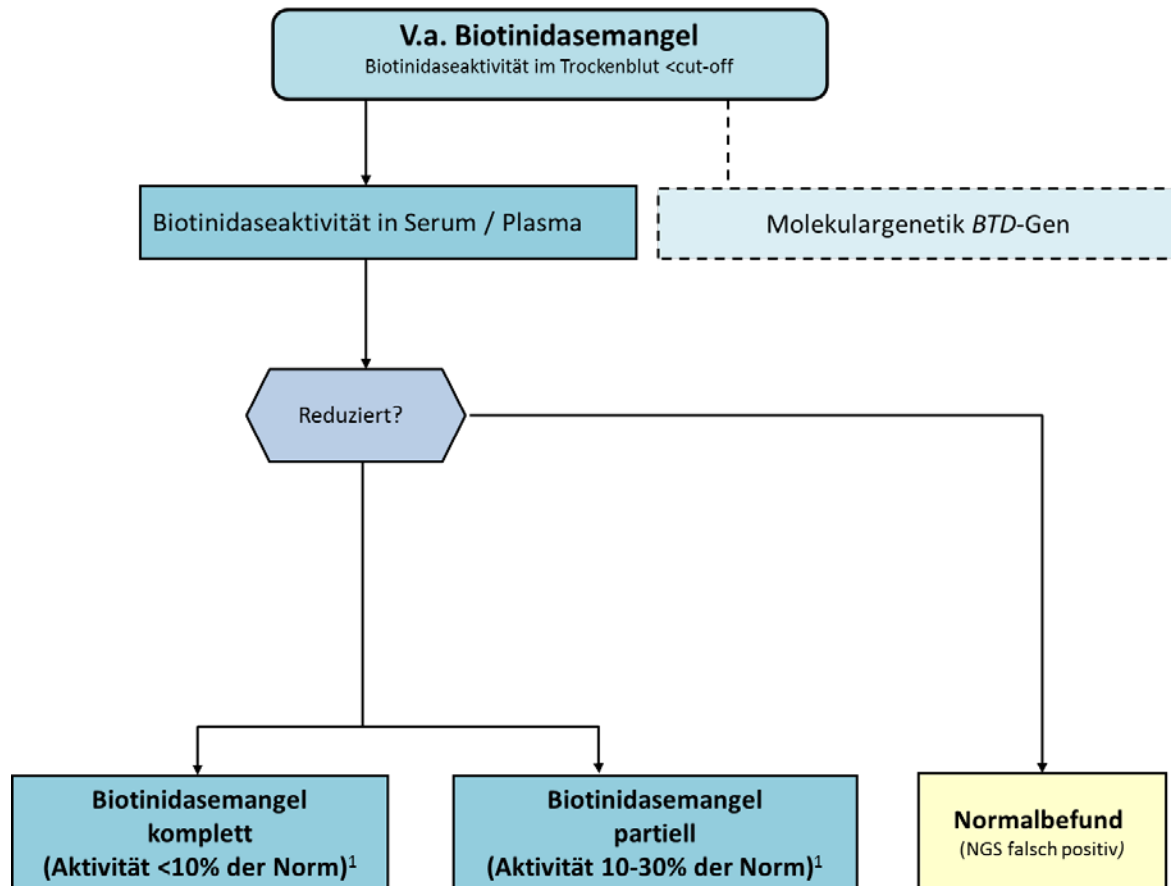
## 4. Flussdiagramme - Diagnostische Algorithmen

### Biotinidasemangel

Der Biotinidasemangel (OMIM #253260) führt dazu, dass Biotin aus seiner Bindung an freies Lysin (Biocytin) oder Eiweiß-Lysin nicht freigesetzt wird und damit als Coenzym verschiedener Carboxylasen (Propionyl-CoA-Carboxylase, 3-Methylcrotonyl-CoA-Carboxylase, Pyruvat-Carboxylase, Acetyl-CoA-Carboxylase) nicht in ausreichender Menge zur Verfügung steht.

Die Inzidenz incl. partieller Formen beträgt ca. 1:25.000 (DGNS-Screeningreports). Der Erbgang ist autosomal-rezessiv (Gen-Locus 3p25; Gen-Symbol *BTD*).

Neugeborene sind in aller Regel klinisch unauffällig. Krampfanfälle, Hypotonie, Stridor, Hörverlust, Optikusatrophie, Ekzem, Alopezie und schwere, im Einzelfall tödliche ketoazidotische Krisen entwickeln sich im Alter von Wochen bis Monaten.



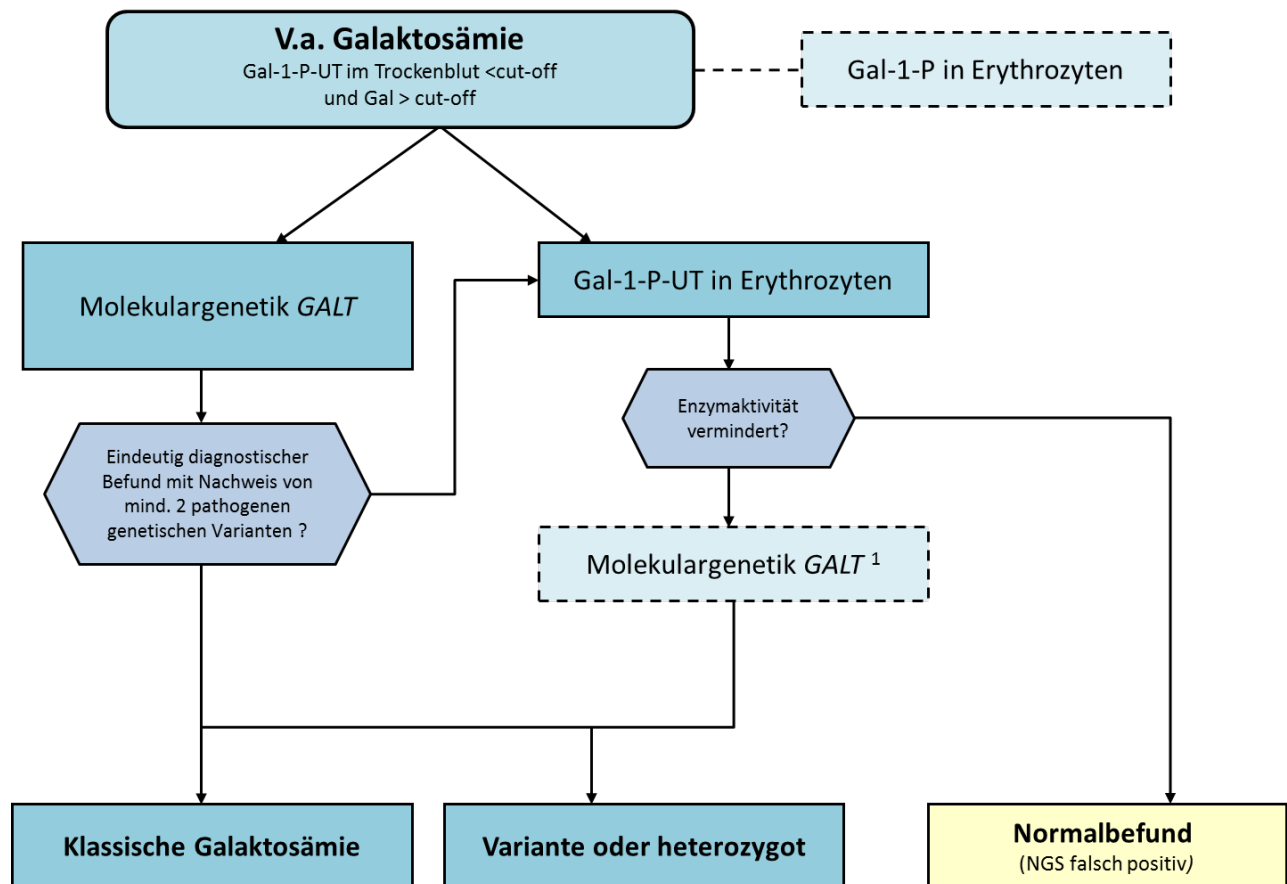
<sup>1</sup> Eine erneute Bestimmung der Biotinidaseaktivität soll nach 2-12 Monaten bei allen Patienten erfolgen, da die Enzymaktivität "nachreifen" kann. Die endgültige Einordnung in einen kompletten oder partiellen Biotinidase Mangel kann mehrfache Bestimmungen der Enzymaktivität erfordern.

### Galaktosämie

Bei der klassischen Galaktosämie (OMIM #230400) handelt es sich um eine Störung des Kohlenhydratstoffwechsels. Ursache ist ein genetischer Defekt der Galaktose-1-Phosphat-Uridyltransferase. Die Inzidenz beträgt ca. 1:70.000 (DGNS-Screeningreports). Der Erbgang ist autosomal-rezessiv (Gen-Locus 9p13; Gen-Symbol *GALT*).

Bei klassischer Galaktosämie kommt es ab Beginn der Ernährung mit (gal)laktose-haltiger Nahrung (Muttermilch oder Säuglingsnahrung) zu schweren Leber- und Nierenfunktionsstörungen, zentralnervösen Symptomen und später zur Katarakt. Viele Neugeborene sind bei Eintreffen des Screeningbefundes bereits klinisch symptomatisch, wobei oft wegen eines Ikterus behandelt wird, ohne dass die bereits vorhandene deutliche Einschränkung der Blutgerinnung erkannt wurde. Bei auffälligem Neugeborenencreening mit hochgradigem Verdacht auf klassische Galaktosämie muss die Galaktosezufuhr sofort abgebrochen werden und die galaktosefreie Ernährung bis zum Vorliegen des Befundes der Konfirmationsdiagnostik bzw. bei Bestätigung einer klassischen Galaktosämie eine galaktosearme Ernährung zeitlebens fortgeführt werden.

Individuen mit milden Formen der Galaktosämie mit ausreichender Restaktivität (z.B. Compound-Heterozygotie für eine klassische pathogene genetische Variante und eine Duarte-2-Variante) können im Screening auffällig werden, entwickeln aber auch ohne Therapie keine klinischen Symptome (Ficicioglu, Thomas et al. 2008; Carlock, Fischer et al. 2019). Der Verdacht auf eine milde Variante lässt sich oft bereits durch die Konstellation „mäßig verminderte Aktivität der Galaktose-1-Phosphat-Uridyltransferase“ und „mäßig erhöhte Konzentration der Galaktose (< 30mg/dl)“ im Trockenblut stellen. Damit kann ein Abstillen vermieden werden.



<sup>1</sup> Bei nicht eindeutigen Befund der Enzymaktivitätsbestimmung vollständige Sequenzierung GALT-Gen sofern noch nicht erfolgt

Gal = Gesamtgalaktose; Gal-1-P = Galaktose-1-Phosphat; Gal-1-P-UT = Galaktose-1-P-Uridyltransferase; GALT = Gensymbol für Galaktose-1-P-Uridyltransferase

Da für die klassische Galaktosämie in Deutschland einige wenige hochprävalente Mutationen verantwortlich sind, kann die Diagnose oft molekulargenetisch schnell gesichert werden. Auf die Bestimmung der Enzymaktivität in Erythrozyten kann dann verzichtet werden. Die Quantifizierung von Gesamtgalaktose (Galaktose und Galaktose-1-Phosphat) kann auch im Trockenblut (semiquantitativ) erfolgen und eine Einschätzung der Ausprägung der Enzymdefizienz erlauben, wenn die Enzymaktivitätsbestimmung in Erythrozyten nicht zeitnah zur Verfügung steht. Daneben ist das klinische Bild in aller Regel hoch suggestiv.

## Hyperphenylalaninämien (HPA)

In den meisten Fällen (98%) ist die erhöhte Phenylalaninkonzentration im Blut Merkmal unterschiedlich ausgeprägter Defizienzen der Phenylalaninhydroxylase (PAH) (OMIM #261600). Die Inzidenz beträgt ca. 1: 5.300 (einschließlich nicht behandlungsbedürftiger milder Hyperphenylalaninämie (DGNS-Screeningreports). Der Erbgang ist autosomal-rezessiv (Gen-Locus 12q24; Gen-Symbol PAH).

Die Inzidenz der behandlungsbedürftigen Phenylketonurie (PKU) beträgt 1 in 10.000 Neugeborenen. Sie ist klinisch im Neugeborenenalter nicht zu diagnostizieren, führt aber durch die toxische Wirkung des Phenylalanins auf das zentrale Nervensystem (ZNS) zu einer zunehmenden irreversiblen Entwicklungsstörung, die sich etwa ab dem 3. Lebensmonat deutlich zeigt.

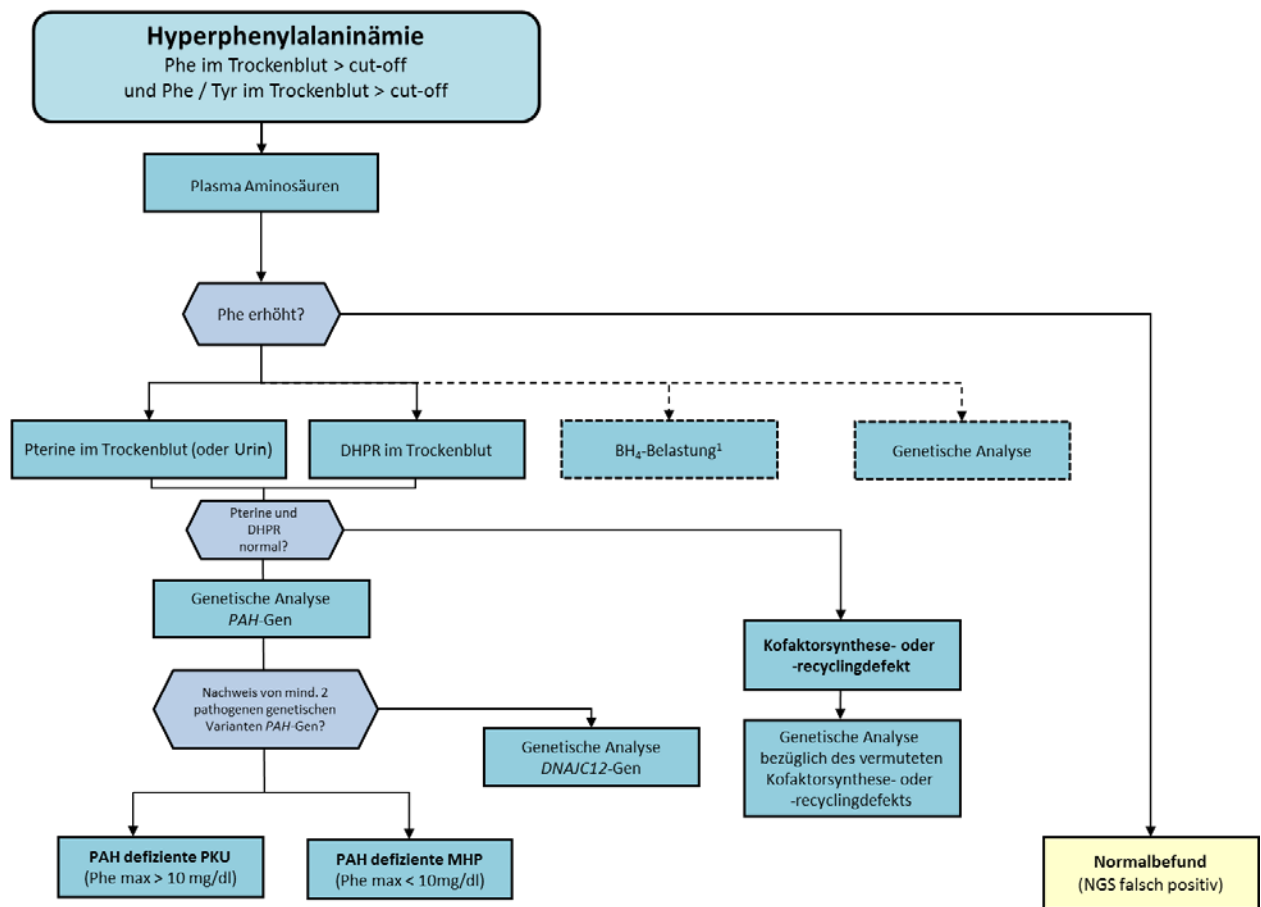
Bei 20-30% der Betroffenen liegt ein Enzymdefekt mit Restaktivität vor, die sich durch die Gabe des Kofaktors Tetrahydrobiopterin (BH<sub>4</sub>) weiter stimulieren lässt.

Selten (in 1-2% aller Hyperphenylalaninämien) liegen Defekte der Synthese oder des Recyclings des PAH-Kofaktors Tetrahydrobiopterin (BH<sub>4</sub>) vor. Die davon betroffenen Kinder zeigen oft in der Neonatalperiode bereits Symptome wie Frühgeburtlichkeit, gestörte Temperaturregulation, Trinkschwäche und neurologische Auffälligkeiten. BH<sub>4</sub> ist gleichzeitig Kofaktor der Tyrosin- und der Tryptophanhydroxylase. Ein BH<sub>4</sub>-Mangel führt daher zu einer Beeinträchtigung der Neurotransmittersynthese.

Da die Prognose der Patienten mit Kofaktordefekten bei sehr frühem Behandlungsbeginn deutlich besser ist, muss in der Konfirmationsdiagnostik der zugrunde liegende Defekt schnell und sicher differenziert werden. Dies gelingt durch die Analytik der Pterinmetabolite im Trockenblut (oder Urin) und die Bestimmung der Dihydropteridin-Reduktase (DHPR)-Aktivität im

Trockenblut.

Nach Ausschluss eines BH<sub>4</sub>-Kofaktormangels wird zur Sicherung der Diagnose einer PAH-Defizienz abschließend immer eine molekulargenetische Bestätigungsdiagnostik empfohlen. Sollte die molekulargenetische Analyse keine oder nur eine pathogene Variante im *PAH*-Gen ergeben, wird die Untersuchung des *DNAJC12*-Gens empfohlen, da sich bei auffälligem Befund andere Behandlungskonsequenzen ergeben würden. Die neue seltene Differentialdiagnose *DNAJC12*-Defizienz (OMIM #606060) (Blau, Martinez et al. 2017) führt klinisch zu einem ähnlichen Phänotyp wie die BH<sub>4</sub>-Kofaktordefekte, da *DNAJC12* als Chaperon für Phenylalain-, Tyrosin- und Tryptophanhydroxylase fungiert.



DHPR = Dihydropteridin-Reduktase; MHP = Milde Hyperphenylalaninämie (nicht behandlungsbedürftig); Phe = Phenylalanin; PKU = Phenylketonurie

<sup>1</sup> Der "BH<sub>4</sub>"-Test wird empfohlen, wenn das Ergebnis der Pterinanalytik und der DHPR-Bestimmung im Trockenblut nicht innerhalb von wenigen Tagen zur Verfügung steht oder wenn neurologische Auffälligkeiten bestehen und wenn die initial gemessene Phenylalaninkonzentration nahe liegt, dass es sich um eine moderate PKU handelt, die von der Behandlung mit Sapropterin (Handelspräparat Kuvan®) profitieren könnte. Patienten mit BH<sub>4</sub>-responsiver PKU oder mit Kofaktorsynthese-Defekten können bereits ab Diagnosestellung im Neugeborenenalter mit Sapropterin behandelt werden.

Da die Proben für das Neugeborenencreening heute bereits in der 36. - 48. Lebensstunde entnommen werden und die Phenylalaninkonzentration postnatal langsam und kontinuierlich ansteigt, muss bei initial erhöhter Phenylalaninkonzentration im Blut, die "nicht behandlungsbedürftig" erscheint, durch wiederholte Kontrollen im ersten bis zweiten Lebensjahr sichergestellt werden, dass ein weiterer Anstieg und damit eine behandlungsbedürftige Phenylketonurie nicht übersehen werden.

## Ahornsirupkrankheit (MSUD)

Der Ahornsirupkrankheit (OMIM #248600) liegt ein Defekt im Abbau der verzweigtkettigen 2-Oxosäuren (früher: α-Ketosäuren) aus dem Abbau der Aminosäuren Leuzin, Isoleuzin und Valin zugrunde. Die Inzidenz variiert je nach ethnischer Abstammung sehr. So findet man für die USA Zahlen zwischen ca. 1:290.000 (in den Neu-England-Staaten) und ca. 1:350 (Mennoniten-Population in Pennsylvania). In Deutschland werden durchschnittlich ca. 4-6 Kinder mit MSUD pro Jahr geboren, die Inzidenz beträgt ca. 1:150.000 (DGNS-Screeningreports). Der Erbgang ist autosomal-rezessiv (Gen-Loci 19q13.2, 6q14.1, 1p21.1, 7q31.1; Gensymbole *BCKDHA*, *BCKDHB*, *DBT*, *DLD*).

Die MSUD führt in ihrer klassischen Ausprägung zu lebensbedrohlichen Symptomen in der Neonatalperiode. Daneben gibt es attenuierte oder chronisch rezidivierende Varianten ('intermediäre' bzw. 'intermittierende' Form), die bei Nichtbehandlung ebenfalls zu einer Beeinträchtigung der geistigen Entwicklung führen können, die aber im Neugeborenencreening nicht

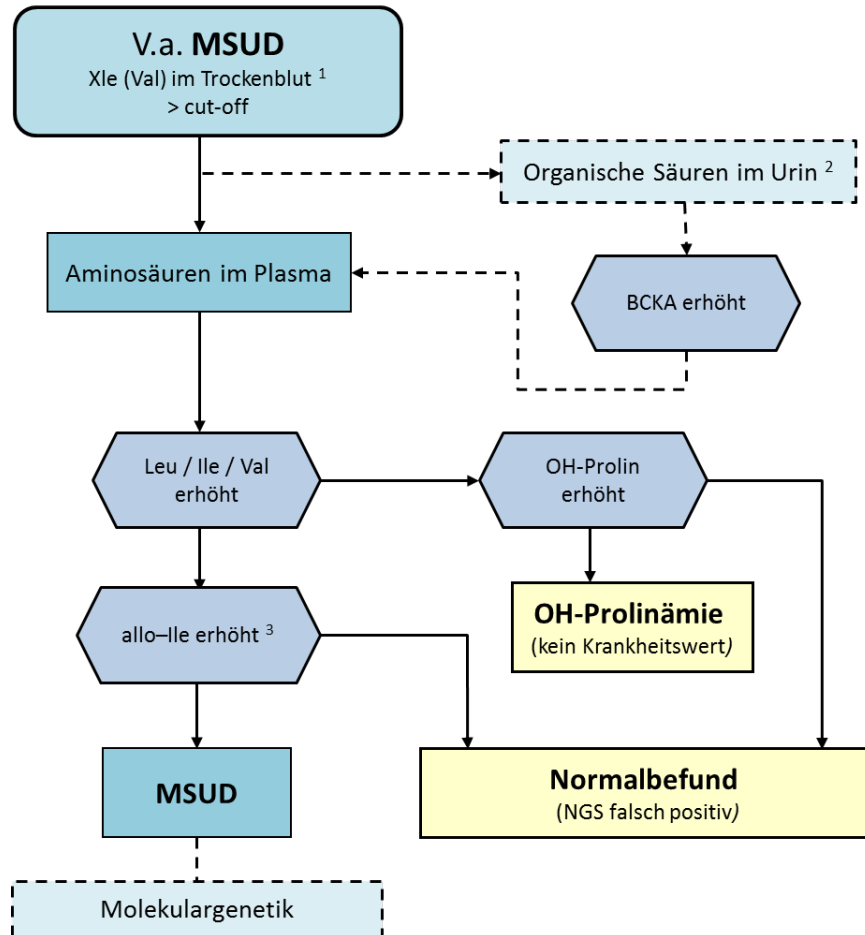


sicher erfasst werden.

Die Untereinheiten E1 $\alpha$ , E1 $\beta$ , E2 und E3 der *branched-chain ketoacid dehydrogenase* sind auf unterschiedlichen Chromosomen kodiert.

Defekte der E3-Untereinheit (Dihydrolipoamid-Dehydrogenase, *DLD*-Gendefekte), die gleichzeitig als Untereinheit der 2-Oxoglutarat-Dehydrogenase und der Pyruvat-Dehydrogenase fungiert, werden auch als Ahornsirupkrankheit Typ III bezeichnet. Sie führen durch die gleichzeitige Beeinträchtigung aller 3 Enzymfunktionen aber zu einem noch schwereren, biochemisch differenzierbaren Krankheitsbild (Laktatbestimmung).

Unter den varianten (milden) Formen der Ahornsirupkrankheit werden auch Patienten mit Defekten der Protein-Phosphatase 2Cm (Gensymbol *PPM1K*) vermutet.



<sup>1</sup> Xle steht für die Summe der Konzentrationen von Leuzin (Leu), Isoleuzin (Ile), allo-Isoleuzin (allo-Ile) und Hydroxyprolin (OH-Pro), die im Neugeborenen Screening mit Tandem-MS nicht differenziert werden. Bei früher Abnahme der Blutprobe liegt die Valin-Konzentration u.U. noch im Normbereich. BCKA, branched-chain ketoacids.

<sup>2</sup> Die Analyse der organischen Säuren im Urin kann in der Differenzierung zur E3-Defizienz hilfreich sein.

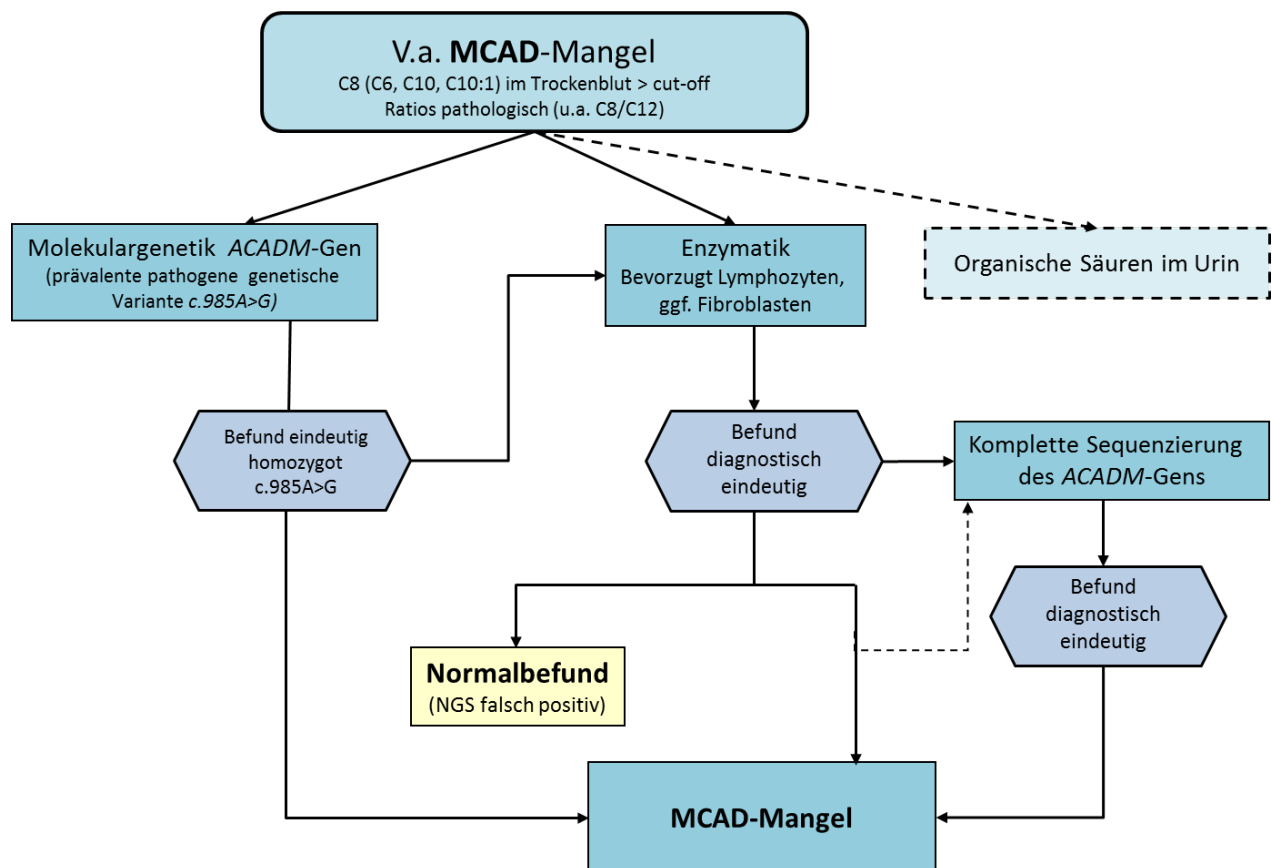
<sup>3</sup> Manche Systeme zur Aminosäurenanalytik können allo-Isoleuzin nicht sicher nachweisen/quantifizieren, da es mit Methionin/Cystathionin koeluiert.

## Medium-Chain Acyl-CoA Dehydrogenase (MCAD)-Mangel

Der MCAD-Mangel (OMIM #201450) führt zu einer Oxidationsstörung mittelkettiger Fettsäuren. Er ist in der deutschen Bevölkerung kaukasischer Abstammung der häufigste Defekt der mitochondrialen Fettsäureoxidation und wird autosomal-rezessiv vererbt (Gen-Locus 1p31; Gen-Symbol *ACADM*). Mit Einführung des Neugeborenen Screenings wurden neben der prävalenten *ACADM* Mutation (c.985A>G) weitere Genvarianten identifiziert, die mit unterschiedlich schwerem Phänotyp assoziiert sind. Die Inzidenz des MCAD-Mangels beträgt ca. 1:10.000 (DGNS-Screeningreports).

In nicht gescreenten Populationen präsentieren sich ca. 10-15% der Betroffenen bereits als Neugeborene mit symptomatischen Hypoglykämien. In der Mehrzahl der Patienten manifestiert sich der MCAD-Mangel aber später perakut mit schweren Hypoglykämien, metabolischer Azidose und Hepatopathie im Rahmen von Infekten mit reduzierter Nahrungszufuhr und/oder Fieber. In Familien symptomatischer Patienten wurden asymptomatische Verwandte mit dem gleichen Genotyp identifiziert. Prinzipiell gilt für die Krankheitsgruppe der Fettsäureoxidationsdefekte, dass das Acylcarnitinprofil im Trockenblut zum Zeitpunkt einer kompensierten Stoffwechsellaage unauffällig sein kann. Dieses gilt insbesondere für milde Defekte. Um auch milde Defekte sicher zu identifizieren, sollte neben der Zweituntersuchung der Acylcarnitine weitere Konfirmationsdiagnostik erfolgen. Auch die organischen Säuren im Urin können unauffällig sein (Zschocke, Schulze et al. 2001) und erlauben daher keinen sicheren Ausschluss eines MCAD-Mangels (Arnold, Saavedra-Matiz et al. 2010). Erhöhtes Hexanoylglycin im Urin ist hinweisend auf einen MCAD-Mangel.





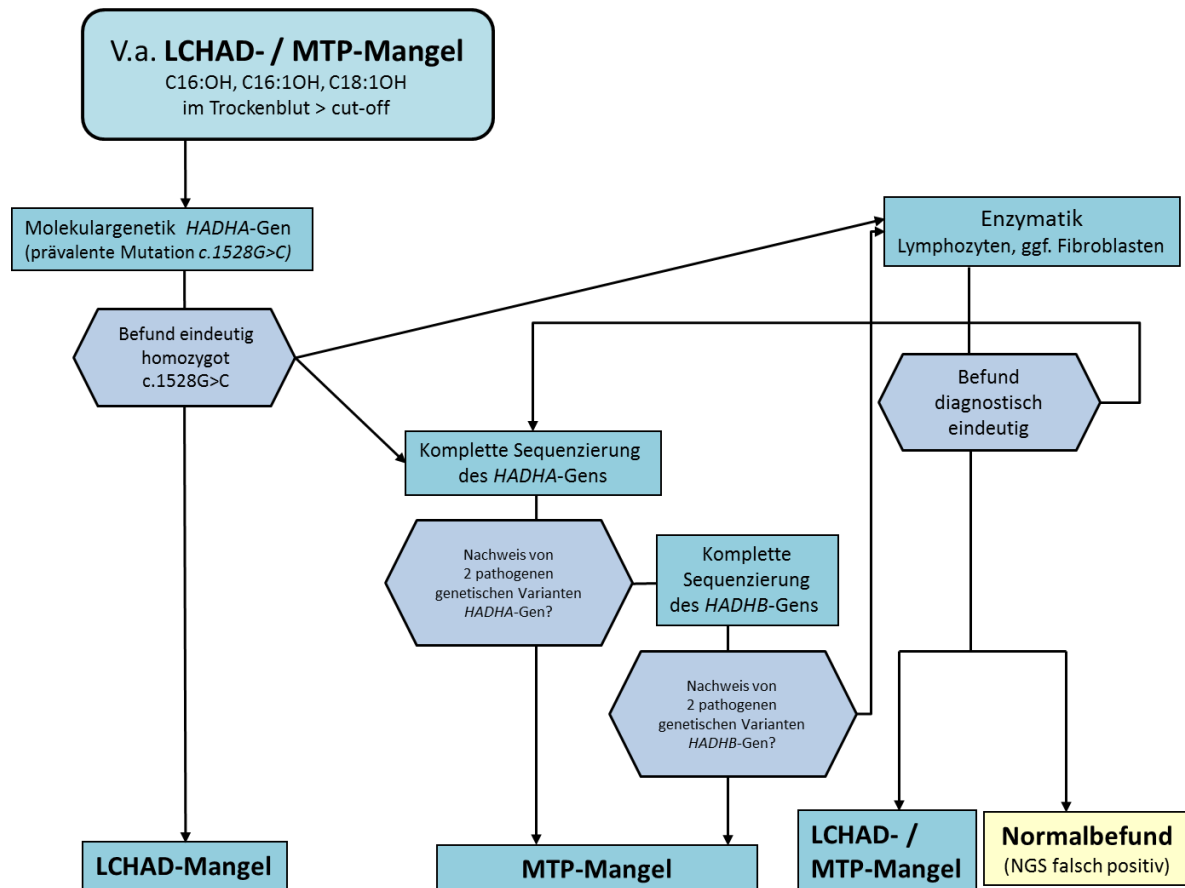
### Long-chain 3-OH Acyl-CoA Dehydrogenase (LCHAD)-Mangel / Mangel des mitochondrialen trifunktionellen Proteins (MTP)

Der LCHAD-/MTP-Mangel (OMIM #609016, #609015) ist eine Oxidationsstörung langkettiger Fettsäuren. Die Inzidenz beträgt ca. 1:170.000 (DGNS-Screeningreports). Der Erbgang ist autosomal-rezessiv (Genloci 2p23, 2p23; Gensymbole *HADHA*, *HADHB*).

Das trifunktionelle Protein (MTP) ist ein Heterooctamer aus jeweils 4 alpha- und 4 beta-Untereinheiten. Der isolierte LCHAD-Mangel, bei dem nur eine der 3 Einzelfunktionen des MTP betroffen ist, ist bei Kaukasiern in der Regel durch die homozygot vorliegende pathogene Variante c.1528G>C im Gen der alpha-Untereinheit (*HADHA*) verursacht. Andere pathogene Varianten im Gen der alpha-Untereinheit oder Mutationen im Gen der beta-Untereinheit (*HADHB*) resultieren in einem kompletten MTP-Mangel.

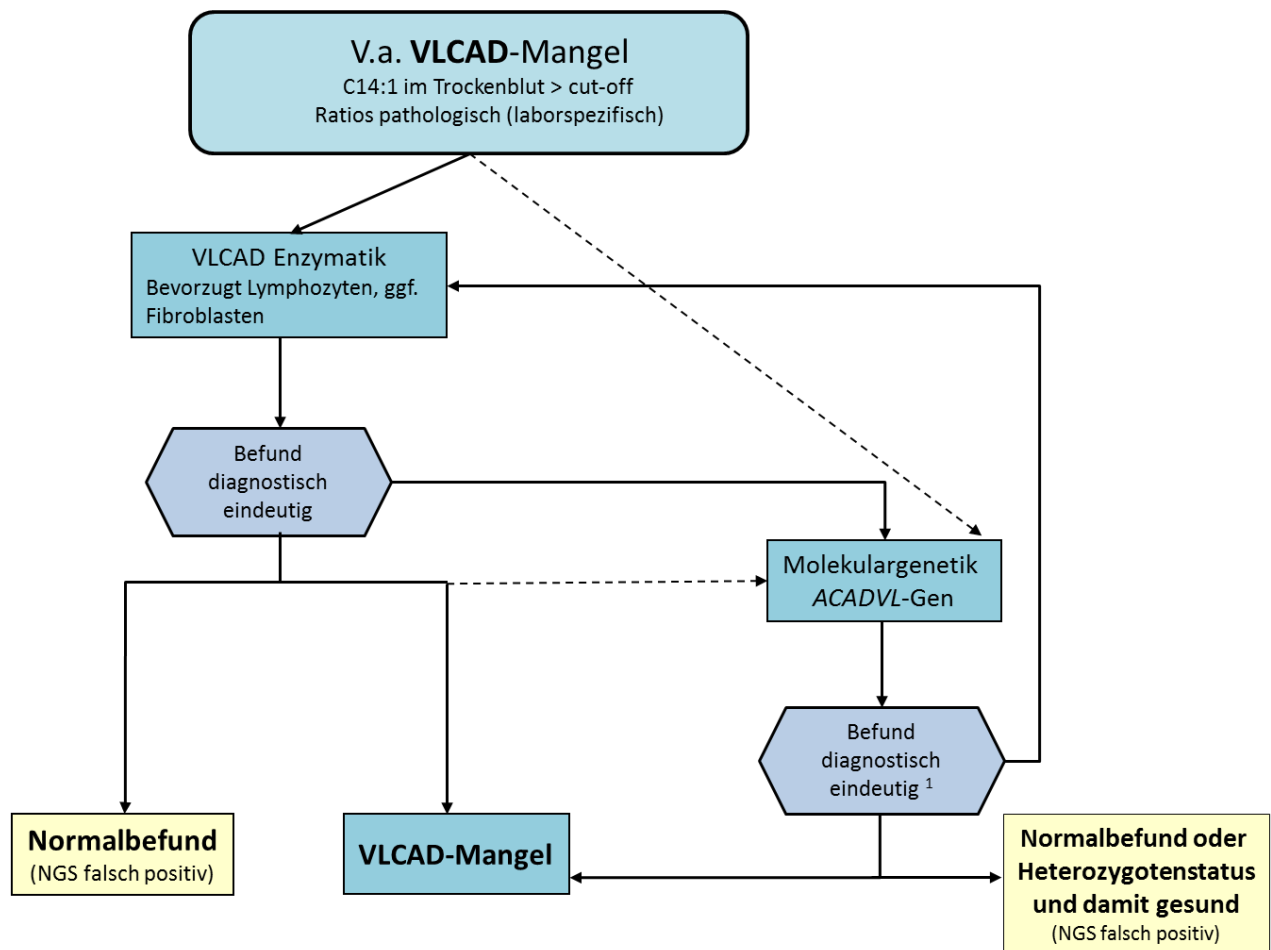
Klinisches Bild und Manifestationsalter sind heterogen. LCHAD- und MTP-Mangel lassen sich anhand des Acylcarnitinprofils nicht unterscheiden. Die klinische Präsentation als auch die Therapie sind nahezu identisch, sodass eine Stufendiagnostik erfolgen kann. Dem LCHAD-Mangel liegt die prävalente pathogene Variante *HADHA* c.1528G>C in homozygoter Form zugrunde. Die neonatale Verlaufsform des MTP-Mangels ist oft in den ersten Lebensmonaten letal.

Klinische Symptome sind Kardiomyopathie, Herzrhythmusstörungen, Hepatopathie, Hypoglykämie und Myopathie/Rhabdomyolyse. Im weiteren Verlauf der Erkrankung erleiden viele der Betroffenen eine fortschreitende Retinopathie und eine periphere Neuropathie. Wie bei allen langkettigen Fettsäureoxidationsstörungen ist die klinische Präsentation sehr heterogen mit schweren und milden Verläufen.



### Very long-chain Acyl-CoA Dehydrogenase (VLCAD)-Mangel

Der VLCAD-Mangel (OMIM #609575) ist die häufigste Oxidationsstörung langkettiger Fettsäuren. Der Erbgang ist autosomal-rezessiv (Genlocus 17p13, Gensymbol *ACADVL*). Die Inzidenz beträgt ca. 1:75.000 (DGNS-Screeningreports). Klinisches Bild und Manifestationsalter sind heterogen. Schwer betroffene Patienten zeigen sich früh mit Kardiomyopathie, Hepatopathie, Hypoglykämie und Myopathie/Rhabdomyolyse. Daneben gibt es Träger identischer genetischer Varianten, die bis ins Erwachsenenalter asymptomatisch bleiben. Beim VLCAD-Mangel wurde mehrfach über falsch negative Befunde im Zweitscreening oder bei Abnahme des Erstscreensings jenseits der 72. Lebensstunde berichtet. Grund ist die nicht mehr katabole Stoffwechsellaage zum Zeitpunkt einer zweiten Acylcarnitin-Bestimmung (5. – 7. Lebenstag), die einen VLCAD-Mangel verschleiern kann. Die Konfirmationsdiagnostik beim VLCAD-Mangel erfordert daher eine Enzymdiagnostik bzw. genetische Analysen. Das Ergebnis der enzymatischen Analytik in Lymphozyten liegt innerhalb von etwa 2-3 Tagen vor (Hesse, Braun et al. 2018), während die Analyse in Fibroblasten erst nach 3 bis 6 Wochen abgeschlossen ist.

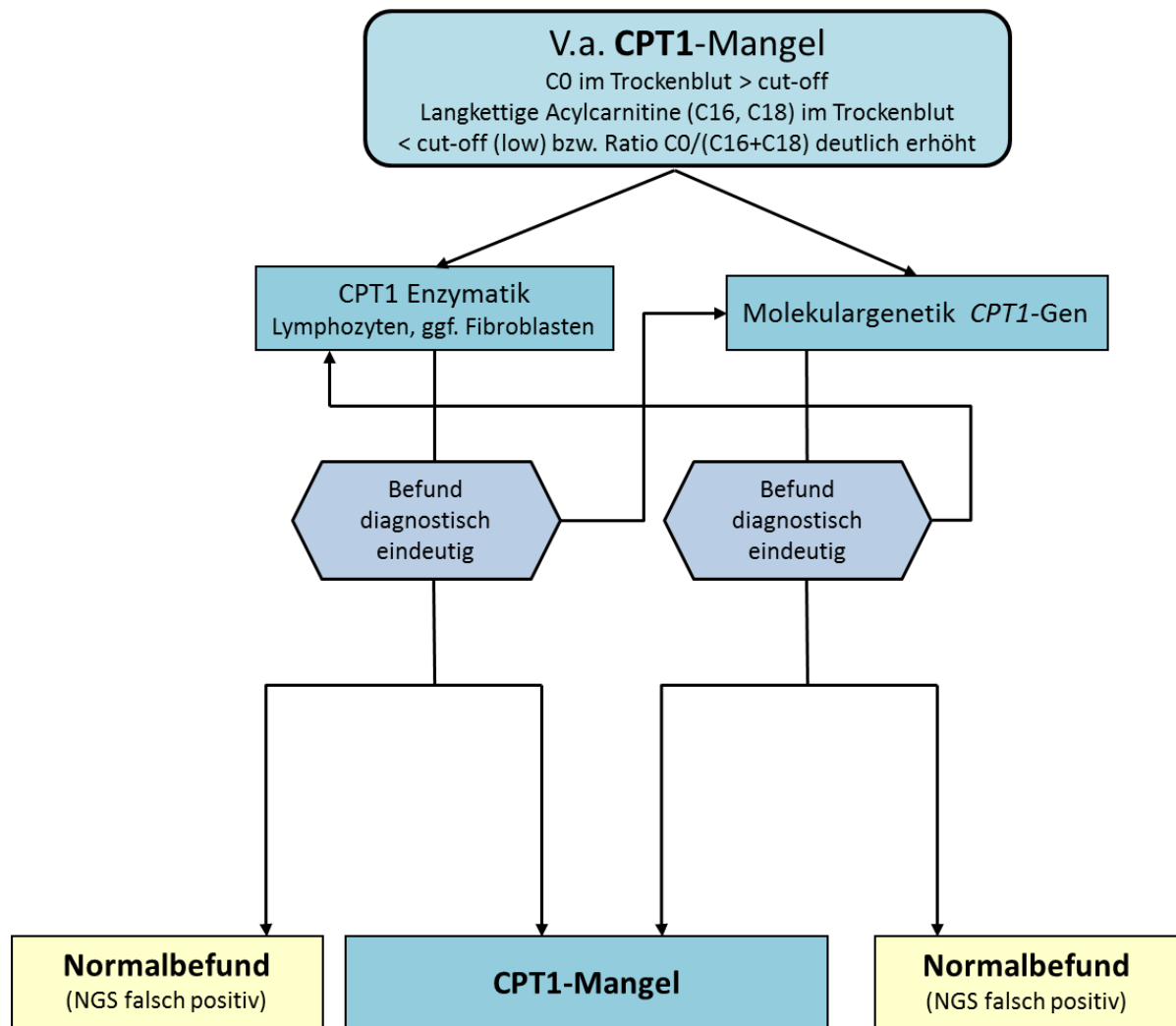


<sup>1</sup> Bei nicht eindeutigem Befund der molekulargenetischen Analyse Enzymaktivitätsbestimmung sofern noch nicht erfolgt

## Carnitin Palmitoyltransferase 1 (CPT-1a)-Mangel

Der CPT-1a-Mangel (OMIM #600528) führt zu einer Störung des Transportes der langkettigen Fettsäuren in die Mitochondrien. Der Erbgang ist autosomal-rezessiv (Genlocus 11q13, Gensymbol CPT1A). Die Inzidenz ist in Deutschland sehr gering und betrug für das Neugeborenen Screening in Deutschland in den Jahren 2006 bis 2014 nur ca. 1:1.000.000 (DGNS-Screeningreports).

Bei Säugetieren existieren 3 Isoenzyme (CPT-1a, CPT-1b, CPT-1c). Beim Menschen ist nur ein Mangel des Isoenzyms CPT-1a beschrieben. Der CPT-1a-Mangel zeigt nahezu die gleiche klinische Symptomatik wie der MCAD-Mangel (hypoketotische Hypoglykämie), selten eine renal tubuläre Azidose. Der CPT-1a-Mangel ist der einzige Defekt der Fettsäureoxidation, der mit einem erhöhten freien Carnitin im Blut einhergeht. Das freie Carnitin im Trockenblut ist in der Regel deutlich erhöht, während die Carnitinkonzentration im Plasma unauffällig sein kann (Primassin und Spiekerkoetter 2010).



## Carnitin Palmitoyltransferase 2 (CPT2)-Mangel und Carnitin-Acylcarnitin-Translocase (CACT)-Mangel

Die beiden Störungen lassen sich weder anhand des Acylcarnitinprofils noch auf Grund der klinischen Symptomatik unterscheiden. Der Algorithmus zur Konfirmationsdiagnostik ist in einer Abbildung dargestellt (Tucci, Behringer et al. 2019). Beide Krankheiten sind sehr selten, wobei der CPT2-Mangel häufiger beschrieben wird als der CACT-Mangel. Da das Acylcarnitinprofil beim CPT2-Mangel auch in Krankheitskrisen völlig unauffällig sein kann, ist die Krankheit möglicherweise unterdiagnostiziert. Die Inzidenz betrug für das Neugeborenencreening in Deutschland in den Jahren 2006 bis 2014 für den CPT-2-Mangel ca. 1:3.000.000. In diesem Zeitraum wurde nur ein einziger Patient mit einem CACT-Mangel identifiziert (DGNS-Screeningreports).

### a. Carnitin Palmitoyltransferase 2 (CPT2)-Mangel

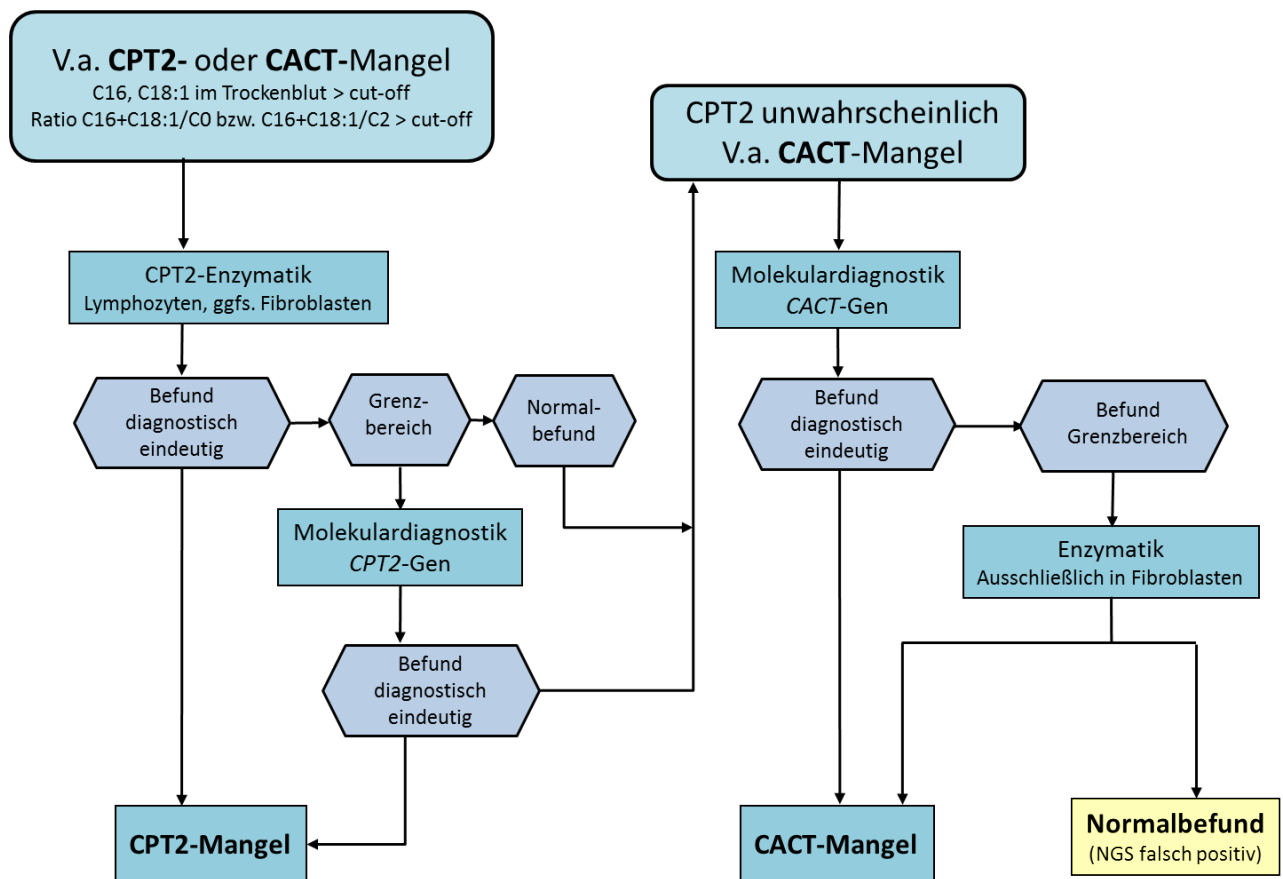
Der CPT-2-Mangel (OMIM #600650) führt zu einer Störung der Aktivierung der langkettigen Fettsäuren zu Acyl-CoA als Substrat für die  $\beta$ -Oxidation in den Mitochondrien. Der Erbgang ist autosomal-rezessiv (Genlocus 1p32, Gensymbol *CPT2*).

Schwer betroffene Patienten zeigen sich früh mit Kardiomyopathie, Hepatopathie, Hypoglykämie und Myopathie / Rhabdomyolyse. Sie können angeborene Fehlbildungen aufweisen (Nierenzysten, ZNS-Fehlbildungen, faziale Dysmorphien). Häufiger ist die sich später manifestierende "rein muskuläre" Form, die in der Regel erst im 2. Lebensjahrzehnt zu Symptomen führt.

### b. Carnitin-Acylcarnitin-Translokase (CACT)-Mangel

Der CACT-Mangel (OMIM #212138) führt zu einer Störung des Transportes der an Carnitin gebundenen langkettigen Fettsäuren in die Mitochondrien. Der Defekt resultiert in heterogenen klinischen Phänotypen mit frühen lebensbedrohlichen und milderer, später manifesten Formen. Der Erbgang ist autosomal-rezessiv (Genlocus 3p21, Gensymbol *SLC25A20*). Der CACT-Mangel ist in der frühmanifesten Form oft im ersten Lebensjahr letal. Ursache sind u.a. plötzlich auftretende, therapeutisch schwer beherrschbare Arrhythmien.

Das therapeutische Vorgehen beim CPT2-Mangel und CACT-Mangel ist gleich, daher ist als Konfirmationsdiagnostik eine Stufendiagnostik gerechtfertigt. Da die Inzidenz des CPT2-Mangels höher ist, erfolgt zunächst die CPT2 Diagnostik.



### Glutarazidurie Typ I (GA I)

Die GA I (OMIM #231670) ist eine Störung im Abbau der Aminosäuren Lysin und Tryptophan. Die Inzidenz in Deutschland beträgt ca. 1:110.000 (Boy, Mengler et al. 2018).

Neugeborene sind in aller Regel asymptomatisch. Die Mehrzahl der Betroffenen erleidet unbehandelt innerhalb der ersten drei Lebensjahre eine schwere zentralnervöse Krise mit bleibenden neurologischen Defiziten. Milde Formen sind bekannt. Der Erbgang ist autosomal-rezessiv (Genlocus 19p13, Gensymbol *GCDH*).

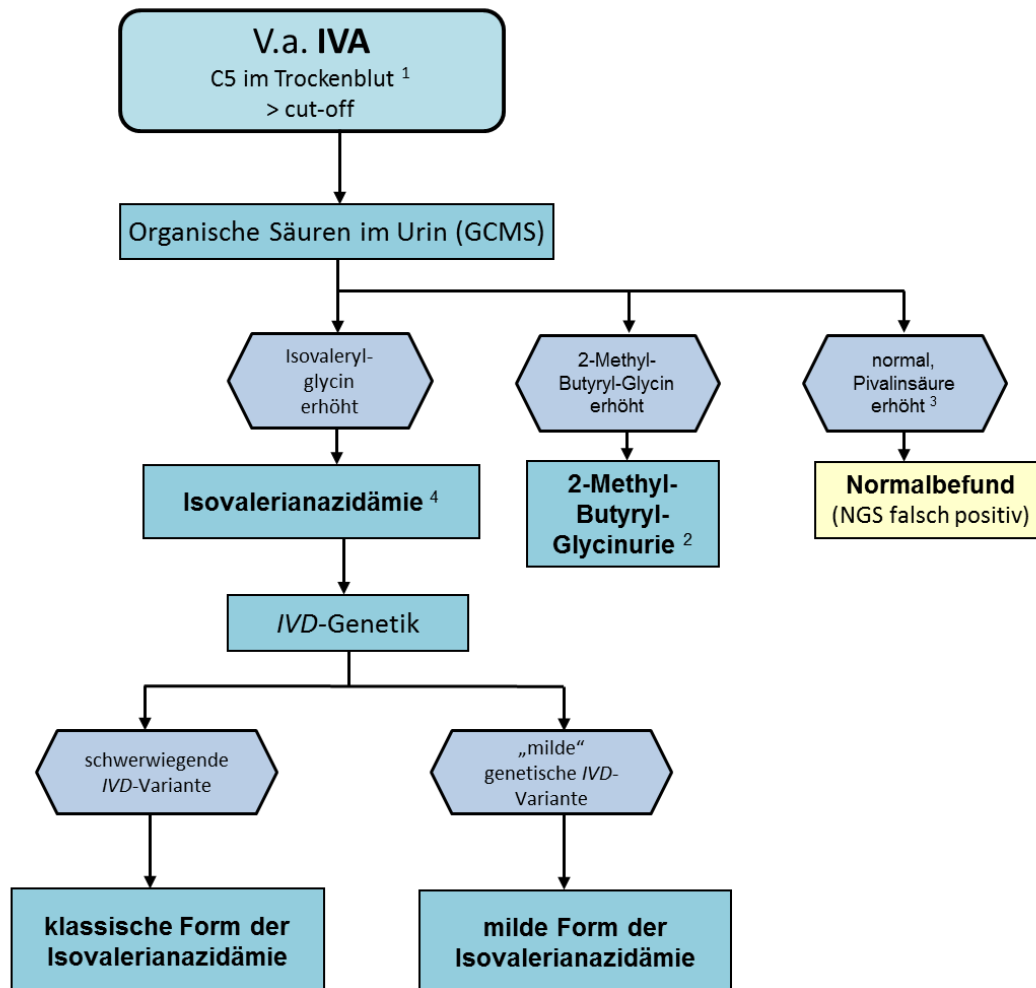
Die Konfirmationsdiagnostik nach auffälligem Neugeborenencreening ist in der S3-Leitlinie AWMF 027-018 "Diagnostik, Therapie und Management der Glutarazidurie Typ I" niedergelegt. Die Diagnose wird durch Molekulargenetik und / oder Enzymaktivitätsbestimmung gesichert.

### Isovalerialanazidurie (IVA)

Bei der IVA (OMIM #243500) handelt es sich um einen Defekt der Isovaleryl-CoA Dehydrogenase, die den 3. Schritt im Abbau der verzweigtkettigen Aminosäure Leuzin katalysiert. Die Inzidenz beträgt ca. 1:170.000 - 300.000 für die "klassischen" Formen. Der Erbgang ist autosomal-rezessiv (Genlocus 15q15.1, Gensymbol *IVD*).

Patienten können sich mit einer akuten neonatalen Form oder später mit einer chronisch intermittierenden Form mit rekurrender schwerer Ketoazidose präsentieren. Seit der Einführung des Neugeborenencreenings mit Tandem-MS sind auch milde Varianten bekannt, die im Acylcarnitinprofil eine geringere Erhöhung von Isovalerylcarnitin (C5) aufweisen und sich durch Nachweis bestimmter genetischer Varianten bestätigen lassen.

Falsch-positive Befunde im Neugeborenencreening auf IVA können durch Gabe pivalinsäurehaltiger Antibiotika bedingt sein. Diese wurden bislang in Deutschland kaum eingesetzt. Seit 2015 ist in Deutschland allerdings das Präparat X-Systo zur Behandlung der Cystitis bei Erwachsenen zugelassen und in der aktuellen Leitlinie zur Behandlung von Harnwegsinfektionen (AWMF-Leitlinie 043/044) explizit auch für Schwangere empfohlen (Wirkstoff Mecillinam; aus dem Prodrug Pivmecillinam wird auch Pivalinsäure freigesetzt). Dies kann bei Gabe an die Mutter vor Entbindung zu erhöhtem C5-Carnitin beim Neugeborenen führen (Einzelberichte in den Jahren 2018 und 2019 aus mehreren Screeninglaboratorien).



<sup>1</sup> C5 im Trockenblut kann auch 2-Methyl-Butyryl-Carnitin sein. Der 2-Methyl-Butyryl-CoA Dehydrogenase Mangel (OMIM #610006, \*600301) ist eine sehr seltene Störung des Isoleuzin-Stoffwechsels, die vermutlich nicht zu klinischen Symptomen führt. Diese Stoffwechselstörung ist nicht Gegenstand des Neugeborenen Screenings.

<sup>2</sup> Bei diesem Enzymdefekt kann die Analyse der organischen Säuren im Urin auch ein normales Ergebnis zeigen.

<sup>3</sup> Pivalinsäure ist in einigen Antibiotika enthalten, die in Deutschland aber kaum eingesetzt werden, allerdings in fast allen anderen europäischen Ländern (z.B. Frankreich, Österreich, Schweiz). Seit 2015 ist in Deutschland das Präparat X-Systo zur Behandlung der Cystitis bei Erwachsenen zugelassen (Wirkstoff Mecillinam; aus dem Prodrug Pivmecillinam wird auch Pivalinsäure freigesetzt). Dies kann bei Gabe an die Mutter vor Entbindung zu erhöhtem C5-Carnitin im NGS des Kindes führen (Einzelberichte aus Screeninglaboratorien).

<sup>4</sup> In Grenzfällen kann bei milder Erhöhung von C5-Carnitin und Isovalerylglycin die Mutationsanalytik durchgeführt werden, um über die Notwendigkeit einer diätetischen Behandlung zu entscheiden.

## Tyrosinämie Typ I

Der im Neugeborenen Screening gemessene Parameter Succinylaceton ist hochspezifisch für die hepatorenale Tyrosinämie Typ I (OMIM # 276700).

Die Inzidenz dieser Stoffwechselstörung wird mit ca. 1:100.000 angegeben. Der Erbgang ist autosomal-rezessiv (Gen-Locus 15q25; Gen-Symbol *FAH*).

Neugeborene sind in aller Regel klinisch unauffällig. Das aus Fumarylacetoacetat entstehende Succinylaceton ist hepatotoxisch und führt zum Leberversagen im 2.-4. Lebensmonat oder zu einem chronischen Verlauf mit Hepatopathie, Nephropathie, Rachitis und zu rezidivierenden porphyrischen Krisen, ausgelöst durch die Hemmung der Delta-Aminolaevulinsäure-Dehydratase.

Selten kann ein Defekt der Maleylacetoacetatisomerase (OMIM #617596; Gen-Locus 14q24, Gen-Symbol *GSTZ1*) zu einer persistierend erhöhten Konzentration von Succinylaceton führen. Die Konzentration von Succinylaceton in der Trockenblutprobe ist dabei deutlich geringer erhöht als bei Patienten mit Tyrosinämie Typ I. Die bisher beschriebenen 6 Patienten zeigten über einen Beobachtungszeitraum von bis zu 13 Jahren ohne Therapie bislang keine klinischen Symptome und auch laborchemisch keine Hinweise auf eine Schädigung von Leber oder Nieren (Yang, Al-Hertani et al. 2017).

