

# 17. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Neugeborenen-Screening am 18. und 19. Juni 2010 in Leipzig

**Veranstaltungsort****BIO CITY LEIPZIG**

Deutscher Platz 5, 04103 Leipzig

**Kongressleitung****Prof. Dr. Joachim Thiery**

Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik

**Prof. Dr. Wieland Kiess**

Universitätsklinik und Poliklinik für Kinder und Jugendliche

**Kongressorganisation**

Dr. Uta Ceglarek

Dr. Alexander Leichtle

Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik

Dr. Ulrike Mütze

Dr. Johannes Weigel

Universitätsklinik und Poliklinik für Kinder und Jugendliche

**Veranstaltendes Tagungsbüro**

event lab. GmbH

Katja Gültner

Dufourstr. 15, 04107 Leipzig

Tel. 0341/240596-74, Fax -51

E-Mail: kgueltnr@eventlab.org

## Inhalt

**Wissenschaftliches Programm – Vorträge**

Innovative Labormethoden für das NGS	01V–03V	A26
Screening ohne Grenzen	04V	A26
PKU-Update 2010	05V–08V	A27–A28
Freie Vorträge	09V–12V	A28–A29
Aktuelle Aspekte zum Neugeborenen-Screening in Deutschland	13V–14V	A29

**Wissenschaftliches Programm – Poster**

Verschiedene Themen	15P–20P	A29–A31
---------------------	---------	---------

## Vorträge

### 01V Möglichkeiten und Grenzen von „Next-Generation“ Sequenzier-technologien für die Erkennung von Krankheitsdispositionen

D. Teupser

Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik, Universitätsklinikum Leipzig

Die DNA-Sequenzierung erlaubt die Feststellung genetischer Veränderungen im Genom, die mit Krankheiten und Krankheitsdisposition assoziiert sind. Das seit 30 Jahren verfügbare und nach seinem Erfinder benannte „Sanger“ Sequenzierverfahren ermöglicht die Bearbeitung einzelner kurzer Sequenzabschnitte. Die Methode ist heute in vielen Labors verfügbar und wird in der genetischen Diagnostik breit eingesetzt. In den letzten Jahren sind eine Reihe völlig neuer Sequenzier-technologien entwickelt worden. Diese werden auch als „Next-Generation“ Sequenzierverfahren bezeichnet. Der zentrale Unterschied zum klassischen Sanger Sequenzierverfahren liegt in der hoch parallelen Bearbeitung mehrerer 100 000 bis Millionen Sequenzfragmente. Hierdurch wird eine erhebliche Reduktion der Kosten pro sequenziertem Nukleotid und eine massive Erhöhung des Durchsatzes in der Größenordnung von Gigabasen möglich. Trotzdem ist die Komplettssequenzierung eines Genoms noch mit erheblichen Kosten verbunden, die allein auf Reagenzienebene mehrere 10 000 Euro betragen. Ein Ansatz liegt daher in der Isolation relevanter Zielgene mithilfe verschiedener Anreicherungsstrategien und nachfolgender Sequenzierung mittels Next-Generation-Sequenzierverfahren. In Kombination mit Multiplexing-Verfahren, die eine gleichzeitige Bearbeitung unterschiedlicher Patientenproben ermöglichen rückt so ein relativ kostengünstiges Verfahren zur Direktsequenzierung einer großen Zahl von Genen in den Bereich des technisch Machbaren. Unbenommen davon ist die Korrelation der identifizierten Genvarianten mit dem (Krankheits)-Phänotyp, die nur durch gute klinische Charakterisierung großer Kohorten möglich ist.

### 02V The application of multiplexed, multi-dimensional UHPLC-MS/MS to the high throughput screening of lysosomal storage disorders in newborn dried bloodspots

D. C. Kasper<sup>1</sup>, J. Herman<sup>2\*</sup>, V. R. De Jesus<sup>3</sup>, T. P. Mechtler<sup>1</sup>, T. Metz<sup>1</sup>, B. Shushan<sup>4</sup>, K. R. Herkner<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Medical University of Vienna, Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, Vienna, Austria; <sup>2</sup>Thermo Fisher Scientific, 101 Constitution Boulevard, Franklin, USA; <sup>3</sup>Newborn Screening and Molecular Biology Branch, Centers for Disease Control and Prevention, 4770 Buford Highway, NE, Atlanta, USA; <sup>4</sup>Clinical Mass Spec Consultants, 164 Glen Road, Toronto, ON, Canada

Lysosomal Storage Disorders (LSDs) are just beginning to be routinely screened using enzyme activity assays involving dried blood spots (DBS) and tandem mass spectrometry (MS/MS). This work discusses some of the analytical challenges associated with published assays including complex sample preparation and potential interference from excess residual substrate. Solutions to these challenges are presented in the form of on-line two-dimensional chromatography to eliminate the need for time-consuming off-line sample preparation including liquid-liquid and solid-phase extraction, and the use of UHPLC to separate excess substrate from all other analytes eliminating the major potential source of analytical interference or ion suppression. The seminal outcome of this work is the development of a multi-parameter disease screening method for LSDs determined in newborn DBS. Multiplexed (4-plex) sample introduction permitted the effective transformation of a 4 minute 2-D LC-MS/MS into 75 seconds allowing for efficient use of the MS/MS system and the ability to screen up to 400 samples in a 8 hour shift per MS/MS instrument. The method showed excellent accuracy and precision on certified quality control samples, linear response over the full clinically relevant range and the ability to differentiate samples from diseased and unaffected patients albeit in a small cohort with 100% sensitivity and high specificity required for a population screening assay.

### 03V Molekulargenetische Konfirmationsdiagnostik aus Trockenblut bei Neugeborenen mit Verdacht auf 21-Hydroxylasemangel

J. Weigel, C. Spranger, H. Stobbe, J. Klammt, R. Pfäffle

Klinik und Poliklinik für Kinder und Jugendliche, Universitätsklinikum Leipzig AöR  
**Einleitung** Das Neugeborenencreening des Adrenogenitalen Syndroms (AGS) basiert in den meisten Screeninglabors auf der Messung von 17-OHP aus Trockenblut mittels Immunoassay (FIA). Diese Technik birgt jedoch das Risiko vieler falsch positiver Resultate, da es zu Kreuzreaktionen mit fetalen Steroiden kommen kann. Um einer Verunsicherung der Familien vorzubeugen, ist eine rasche und zuverlässige Konfirmationsdiagnostik wünschenswert. Die Ursache des AGS ist in ca. 90% der 21-Hydroxylasemangel. Wir beschreiben die Durchführung einer molekulargenetischen Analyse des 21-Hydroxylasegens aus Trockenblut. **Patienten und Methoden** Die Methode wurde anhand von Trockenblutproben von 15 Patienten mit klassischem AGS und bekanntem Phänotyp und Genotyp etabliert. Anschließend wurden 17 Patienten, welche mit einem erhöhten 17-OHP im Neugeborenencreening auffielen, anhand der Methode untersucht. Alle zehn kodierenden Exons und anliegenden Introns des 21-Hydroxylasegens wurden mittels PCR amplifiziert und mit einer denaturierenden HPLC (dHPLC, WAVE Transgenomic) auf Mutationen gescreent. Proben mit einem veränderten Elutionsmuster wurden sequenziert (Dideoxy-Sequenzierung, Applied Biosystems). **Ergebnisse** Wir konnten die Mutationen aller 15 Patienten mit bereits bekanntem Genotyp aus Trockenblut bestätigen. Bei neun von 17 Neugeborenen konnten ebenfalls ursächliche Mutationen des 21-Hydroxylasegens gefunden werden. Bei 8 Patienten konnten keine pathogenen Veränderungen im 21-Hydroxylasegen als Ursache der erhöhten 17-OHP-Werte identifiziert werden. Der Zeitaufwand der gesamten Konfirmationsdiagnostik betrug zwischen 20 und 23 Stunden. **Diskussion** Durch die molekulargenetische Analyse des 21-Hydroxylasegens aus Trockenblut lässt sich innerhalb von 24 Stunden ein klassisches AGS bestätigen. Dadurch ist insbesondere bei Zweifelsfällen eine frühzeitige Klärung der Verdachtsdiagnose ohne zusätzliche Blutentnahme möglich. Die Methode kann eventuell die Konfirmationsdiagnostik bei v.a. AGS im Neugeborenencreening erleichtern. Eine Kosten-Nutzen-Relation muss anhand größerer Stichproben erfolgen.

### 04V Accumulation of two atypical sphingolipids underlies the pathology in hereditary sensory neuropathy HSN1

A. Penno<sup>1</sup>, F. Eichler<sup>2</sup>, T. Hornemann<sup>1</sup>

<sup>1</sup>University Hospital Zurich, Switzerland; <sup>2</sup>MGH Neuroscience Center, Department of Neurology, Harvard Medical School

Hereditary sensory and autonomic neuropathy type 1 (HSAN1) is a dominant autosomal inherited neuropathy and clinically characterized by severe sensory loss, distal muscle wasting and ulcers. HSN1 is caused by several missense mutations in the SPTLC1 subunit of serine palmitoyltransferase (SPT). SPT catalyzes the initial step in the de novo sphingolipid synthesis; the condensation of serine and palmitoyl-CoA. Here we demonstrate that the HSN1 mutations induce a shift in the substrate specificity of SPT. The mutant enzyme is able to metabolize, besides serine, also alanine and glycine as alternative substrates. This leads to the formation of the two atypical deoxy-sphingoid bases (DSB) 1-deoxy-sphinganine (m18:0) and 1-deoxymethyl-sphinganine (m17:0). Both metabolites lack the C1 hydroxyl group of sphinganine, and can neither be converted to complex sphingolipids nor degraded. Consequently, they accumulate in the cell, as demonstrated in HEK293 cells overexpressing mutant SPTLC1 and lymphoblasts of HSN1 patients. Deoxy-sphingoid bases are also highly elevated in the plasma of HSN1 patients. The metabolites show pronounced neurotoxic effects on cultured sensory neurons impairing neurite number and length. These findings were confirmed in a HSN1 mouse model. Transgenic mice expressing the HSN1 mutant develop a peripheral neuropathy at the age of 14 month. The mice show highly elevated DSB levels in plasma and PNS tissue. In contrast, double transgenic mice which express the mutant and wildtype SPT in conjunction are protected and show concomitantly greatly reduced DSB levels. Interestingly,

the generation of the DSBs can be suppressed in-vivo by increasing the L-serine levels. HSAN1 mice which were fed an L-Serine enriched diet showed a marked decrease in plasma DSB levels and did not develop neuropathic symptoms anymore. Conversely HSAN1 mice which received an L-alanine enriched diet showed severe neuropathic symptoms already three month after the start of treatment. The efficacy of an L-Serine treatment was also confirmed in an intervention study with 14 HSAN1 patients. In this pilot study we observed an up to 50% reduction in plasma DSB levels within four weeks of L-Serine treatment (10g L-Serine/day, 10 weeks, oral administration). In conclusion we show that the neurotoxic accumulation of deoxy-sphinganine and deoxymethyl-sphinganine is the pathophysiological background of HSAN1 and that the supplementation with L-serine could be a therapeutic approach for treating this disease.

### 05V „PKU Screening positiv“. Behandlung so schnell wie möglich?

F. Trefz  
Reutlingen

Die im Neugeborenen Screening pathologisch erhöhten Phenylalanin-(Phe)-Konzentrationen müssen nach Bestätigung im Stoffwechsellabor weiter abgeklärt werden. Während zu Zeiten des „Guthrietestes“ aufgrund des späten Screeningzeitpunktes nach dem 5. Lebensstag die Höhe des Phe ein guter Parameter war, den Schweregrad der Störung abschätzen zu können, ist dies heute, bedingt durch den frühen Screeningzeitpunkt, nicht mehr der Fall. Damit ergibt sich auch bei gering erhöhtem Phe die gesamte Spannweite der Differenzialdiagnose für die Behandlungsbedürftigkeit der „PKU“ einschließlich der Abklärung von Defekten des Coenzym Tetrahydrobiopterin (BH4). Die Erfahrungen der letzten Jahre zeigen, dass Eltern (nach eigener Internetrecherche!) einen erhöhten Phe-Wert mit einer drohenden Hirnschädigung in Verbindung bringen und höchst verunsichert sind. Im Hinblick auf diese Belastungssituation ist eine Abklärung so schnell wie möglich gerechtfertigt. Es sollte jedoch eine Behandlung nur nach entsprechender Differenzialdiagnose begonnen werden. Diese umfasst zunächst einen Ausschluss eines BH4-Mangels durch einen „BH4-Belastungstest“ und/oder Messung der Biopterinmetabolite im Urin und der Dihydropyridinreduktase im Blut. Dieser Test erfordert jedoch fast immer eine stationäre Aufnahme über 24 Stunden. Der Vorteil ist es, mehr Zeit für die stark belasteten Eltern für eine intensive Aufklärung zu haben und im Anschluss eine evtl. notwendige diätetische Behandlung einleiten zu können. Grundlage für eine diätetische Behandlung ist die Höhe des Phe bei normaler Ernährung (Muttermilch oder Säuglingsmilch). In Deutschland gelten immer noch Leitlinien, die eine Behandlungsgrenze bei Werten  $> 10 \text{ mg\%}$  ( $600 \mu\text{mol/l}$ ) ansetzt. Im internationalen Vergleich ist diese Grenze – wenn auch wissenschaftlich begründbar – hoch. Im Rahmen einer paneuropäischen Umfrage zeigte sich, dass die meisten Zentren in Europa bereits bei wesentlich niedrigeren Phe-Spiegeln eine Behandlungsindikation sehen. Das Problem wird durch die neue Behandlungsmöglichkeit von Störungen der Phenylalaninhydroxylase mit pharmakologischen Dosen von BH4 zusätzlich kompliziert, da die Behandlung mit BH4 (Kuvan<sup>®</sup>) erst ab dem 4. Lebensjahr zugelassen ist. Die Beantwortung der eingangs gestellten Frage lautet damit: die Aufklärung der Eltern sollte so schnell wie möglich, eine Einleitung der Behandlung jedoch erst nach sorgfältiger Differenzialdiagnose unter einer normalen Ernährung erfolgen.

### 06V Uneingeschränkte Zufuhr von Obst und Gemüse verschlechtert nicht die Stoffwechseleinstellung bei Phenylketonurie

S. Beblo<sup>\*1</sup>, C. Rohde<sup>\*1</sup>, U. Mütze<sup>1</sup>, J. FW Weigel<sup>1</sup>, U. Ceglarek<sup>2</sup>, J. Thiery<sup>2</sup>, W. Kiess<sup>1</sup> (\*diese Autoren haben gleichermaßen zur Studie beigetragen)  
<sup>1</sup>Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Universität Leipzig; <sup>2</sup>Institut für Labormedizin, klinische Chemie und molekulare Diagnostik, Universität Leipzig

**Hintergrund** Die diätetische Therapie der Phenylketonurie (PKU) erfordert die konsequente Beschränkung der Proteinzufuhr mit der Nahrung. Deshalb wird

der Proteingehalt aller Nahrungsmittel berechnet und im Diätplan berücksichtigt, auch kleine Mengen, wie sie in Obst und Gemüse enthalten sind. **Fragestellung** Beeinflusst die unbeschränkte Zufuhr von Obst und Gemüse bei PKU die Stoffwechseleinstellung? **Studiendesign** 14 PKU Patienten (zwei bis zehn Jahre) wurden in die cross-over-Studie eingeschlossen. In einer zweiwöchigen Phase führten die Familien eine konventionelle diätetische Therapie durch. Alle Nahrungsmittel wurden bezüglich des Proteingehaltes berücksichtigt und bilanziert. In der zweiten zweiwöchigen Phase erfolgte die uneingeschränkte Zufuhr von fast allen Obst- und Gemüsesorten. Dabei wurden die Patienten nicht aufgefordert, mehr Obst und Gemüse zu verzehren, sondern entscheidend war, dass Obst und Gemüse nicht in die Phenylalanintoleranz mit eingerechnet wurde. Die Reihenfolge der Studienphasen wurde randomisiert. Während der gesamten Studiendauer wurde täglich ein detailliertes Nahrungsprotokoll erstellt. Die Zufuhr von Phenylalanin sowie anderen Nährstoffen wurde ermittelt (unter anderem: Protein, Fett, Kohlenhydrate, Vitamin C, Calcium). Es erfolgte die tägliche Kontrolle der Phenylalaninkonzentration im Trockenblut. **Ergebnisse** Obwohl unter uneingeschränkter Zufuhr von Obst und Gemüse der Gesamtphenylalanin-gehalt der Nahrung um im Mittel 58 mg pro Tag zunahm ( $p = 0,037$ ), blieben die Phenylalaninkonzentrationen im Trockenblut unverändert ( $246 \pm 140 \mu\text{mol/l}$  vs  $243 \pm 137 \mu\text{mol/l}$ ,  $p = 0,755$ ). Die Gesamtzufuhr an Obst und Gemüse stieg während der Studie nicht an. Vielmehr nutzten die Patienten die freibleibende Phenylalanintoleranz zum Konsum anderer Lebensmittel. Es kam zu keinerlei Imbalancen der übrigen Nährstoffzufuhr. **Diskussion** Trotz unbeschränkter Zufuhr von Obst und Gemüse in der diätetischen Therapie bei PKU und dadurch insgesamt höherer Phenylalaninzufuhr war die Stoffwechseleinstellung während der zweiwöchigen Untersuchungsperiode weiterhin ideal. Mechanistisch könnte z. B. eine verminderte Eiweißresorption aus ballaststoffreicher Kost zu Grunde liegen. Vor einer klinischen Umsetzung dieser modifizierten Phenylalaninbilanzierung sind Untersuchungen über einen längeren Zeitraum notwendig.

### 07V Veränderungen der Stoffwechseleinstellung und der Lebensqualität bei Patienten mit PKU unter Einsatz von Sapropterin (Kuvan<sup>®</sup>)

B. Ziesch<sup>1</sup>, A. Thiele<sup>2</sup>, C. Rohde<sup>1</sup>, U. Mütze<sup>1</sup>, S. Beblo<sup>1</sup>, W. Kiess<sup>1</sup>, J. Weigel<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Universitätsklinik und Poliklinik für Kinder und Jugendliche, Leipzig; <sup>2</sup>Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

**Hintergrund** Die BH4-sensible Phenylketonurie (PKU) stellt eine Sonderform des Phenylalaninhydroxylasemangels dar. Sapropterindihydrochlorid ist in Europa seit 2008 für die Behandlung der BH4-sensiblen PKU zugelassen. Die Veränderung der Stoffwechseleinstellung, des Ernährungsverhaltens und der Lebensqualität von Patienten mit PKU unter Therapie mit BH4 ist Gegenstand aktueller Studien. **Patienten und Methoden** Retrospektiv wurden neonatale BH4-Belastungstests und molekulargenetische Befunde von 66 Patienten mit PKU im Alter von zwei bis 18 Jahren analysiert. 17 Patienten (8 w, 9 m) im Alter von vier bis 16 Jahren wurden in die prospektive 42-tägige BH4-Therapiestudie eingeschlossen. Für jeden Patienten wurden an 18 Tagen Phenylalaninspiegel im Trockenblut und Ernährungsprotokolle analysiert. Die Lebensqualität (QOL) wurde mithilfe des KINDL<sup>®</sup>-Fragebogens für Kinder und Jugendliche an Tag 0 und Tag 42 erfasst. **Ergebnisse** Zehn von 17 Patienten zeigten eine BH4-Sensibilität mit erhöhter Phenylalanintoleranz bei unverändert guter Stoffwechseleinstellung (Phe-Werte im Trockenblut) und gleichzeitiger Beendigung bzw. Reduktion der AS-Substitution und der Zufuhr an eiweißarmen Spezialprodukten. Ein Patient brach die Studie ab, die übrigen sechs Patienten zeigten keine eindeutige BH4-Sensitivität mit einem Phenylalaninabfall von weniger als 30%, wobei weitere Daten abzuwarten sind. Eine positive Veränderung der QOL konnte bei vier von sechs BH4-responsiven Patienten gezeigt werden, Änderungen wurde vor allem im Selbstwert sowie dem psychischen und körperlichen Wohlempfinden festgestellt. Nebenwirkungen wurden bei keinem der behandelten Patienten beobachtet. **Diskussion** Eine Therapie mit BH4 ermöglicht bei manchen Patienten mit milder PKU eine erhöhte Phenylalanintoleranz und die Lockerung der

diätischen Therapie. Auch den Trend einer Steigerung der QOL konnten wir darstellen, wenngleich die durchschnittliche QOL bereits vor der Therapie gut war. Eine Beobachtung der Patienten über einen längeren Zeitraum und Untersuchungen an in einer größeren Studienkohorte sind erforderlich, um verlässlichere Daten zu erheben.

### 08V Einfluss der diätetischen Therapie bei Patienten mit Phenylketonurie auf die Thrombozytenfunktion

U. Mütze<sup>1</sup>, S. Beblo<sup>1</sup>, U. Ceglarek<sup>2</sup>, L. Kortz<sup>2</sup>, J. Weigel<sup>1</sup>, M. Brügel<sup>2</sup>, GM. Fiedler<sup>2</sup>, J. Thiery<sup>2</sup>, W. Kiess<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Universität Leipzig; <sup>2</sup>Institut für Labormedizin, klinische Chemie und molekulare Diagnostik, Universität Leipzig

**Hintergrund** Die Thrombozytenfunktion und Blutungsdauer können durch die diätetische Aufnahme von langkettigen mehrfach ungesättigten Fettsäuren (LC-PUFA) beeinflusst werden. Dieser Effekt basiert vornehmlich auf der Änderung des Metabolismus der Eicosanoide, die aus LC-PUFA, insbesondere Arachidonsäure, gebildet werden. Die strenge Diät bei Patienten mit Phenylketonurie (PKU) verursacht eine langfristige unausgewogene Ernährung besonders mit Fettsäuren, charakterisiert durch niedrigere Plasma- und Zellmembrankonzentrationen an LC-PUFA. Ziel der Studie ist es zu beantworten, ob die Diät bei PKU eine Veränderung der Thrombozytenfunktion, d. h. Aggregometrie und Eicosanoidfreisetzung, und infolge dessen eine subklinische Thrombophilie verursacht. **Methoden** Etablierung eines standardisierten Experimentes, das die aggregometrische Thrombozytenfunktionsmessung und die Analyse der bei Thrombozytenaktivierung mit Kollagen freigesetzten Eicosanoide im Überstand mittels Flüssigchromatografie-Tandemmassenspektrometrie (LC-MS/MS) kombiniert. Untersucht wurden zwölf (6 w, 6 m) Patienten mit PKU und acht (5 w, 3 m) gesunde Kontrollen. **Ergebnisse** Standardisierung des Experimentes. Bei Patienten mit PKU zeigten sich im Vergleich zur gesunden Vergleichsgruppe niedrigere mediane LC-PUFA-Plasmaspiegel (Eicosapentaensäure 63,7 versus 81,9 ng/ml, Docosahexaensäure 279 versus 406 ng/ml, Arachidonsäure 1190 versus 1475 ng/ml) und eine höhere mediane Thrombozytenzahl (329 versus 272 Gpt/l). Die Thrombozytenaktivierung mit Kollagen ergab hinsichtlich der Aggregometrie und der Konzentration an Thromboxan-B2 und -B3 keine Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. **Schlussfolgerung** Die Diät bei PKU verändert die Plasma-LC-PUFA-Konzentrationen. Diese alimentären Veränderungen beeinflussen jedoch nicht die Thromboxanfreisetzung und Thrombozytenfunktion. Bei PKU sehen wir einen Trend zur reaktiven Thrombozytose ohne Hinweis auf Mangel an Eisen, Folat und Vitamin B12. Für die Beurteilung der Auswirkung der langfristigen fettsäuremodifizierten Diät auf das gesamte Metabolom der Fettsäuren sind weitere Studien mit größeren Fallzahlen wünschenswert.

### 09V Neugeborenencreening auf Mukoviszidose mit der Kombination Immunreaktives Trypsins und Pankreatitisassoziiertes Protein

G. Siegert<sup>1</sup>, J. Hammermann<sup>2</sup>, M. Stopsack<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Universitätsklinikum Carl Gustav Carus an der Technischen Universität Dresden, Anstalt des öffentlichen Rechts des Freistaates Sachsen; <sup>2</sup>Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsklinikum Carl Gustav Carus an der Technischen Universität Dresden, Anstalt des öffentlichen Rechts des Freistaates Sachsen

**Hintergrund und Aufgabenstellung:** Mukoviszidose ist eine autosomal-rezessive Erkrankung, die nicht kausal behandelt werden kann. Es konnte jedoch nachgewiesen werden, dass es bei frühzeitiger Erkennung der Erkrankung und zielgerichteter Therapie möglich ist, Spätfolgen hinauszuzögern oder zu vermeiden und die Lebenserwartung zu erhöhen. In vielen europäischen Ländern findet bereits ein Mukoviszidose-Screening statt. Der Ablauf des Screening-Programms ist jedoch bisher nicht einheitlich. Die biochemische Bestimmung des Immunreaktiven Trypsins (IRT) wird als Basisuntersuchung angesehen. Um die Spezifität

des IRT zu erhöhen, muss eine zweite Analytik angeschlossen werden, bevor ein Ausschluss oder die Konfirmation mit dem Goldstandard, der Bestimmung der Chloridionen im Schweiß erfolgt. Mögliche Screeningkombinationen sind eine Zweitbestimmung des IRT im Alter von vier bis sechs Lebenswochen, eine molekulargenetische Diagnostik im Cystic-Fibrosis-Transmembranregulatorprotein-Gen (CFTR-Gen) oder die Bestimmung des Pankreatitis assoziierten Proteins (PAP). Wesentlicher Nachteil der IRT-Zweitbestimmung ist die erforderliche zweite Blutabnahme mit allen damit in Verbindung stehenden Schwierigkeiten. Das Problem der molekulargenetischen Diagnostik besteht darin, dass der Aufwand für Aufklärung und Beratung der Eltern deutlich höher ist als bei einem biochemischen Marker. Außerdem muss eine Auswahl der zu bestimmenden Mutationen getroffen werden, bei der ethnische Unterschiede zu beachten sind. Die Kombination IRT/PAP vermeidet diese Nachteile, jedoch ist ihre diagnostische Sensitivität noch nicht bekannt. **Methode** Zur Validierung der Kombination IRT/PAP wurden 35 000 Proben im Rahmen des standardisierten Neugeborenencreenings untersucht. Bei 2,5% der Proben mit einer erhöhten IRT-Konzentration > 50 ng/ml schloss sich die PAP-Bestimmung an. Eine Pilocarpin-Iontophorese wurde bei folgenden Ergebniskombinationen veranlasst: IRT = 50 ng/ml und PAP = 1,8 ng/ml; IRT = 100 ng/ml und PAP = 1,0 ng/ml oder IRT = 150 ng/ml. **Ergebnisse** In 64 Fällen (0,18%) wurden diese Entscheidungsgrenzen überschritten und der Schweißtest durchgeführt. Mit diesem Konfirmationstest wurde das Vorliegen der Erkrankung bei sechs Patienten bestätigt. **Schlussfolgerung** Die Kombination der Parameter IRT/PAP erlaubt ein Screening auf Mukoviszidose auf der Basis einer biochemischen Analyse aus den Trockenblutproben des Neugeborenencreenings ohne zusätzlichen Aufwand. Mit den gewählten Entscheidungsgrenzen wurde die Erkrankung bei 9,37% der im Screening auffälligen Befunde bestätigt, was einer akzeptablen Rate für Screeningteste entspricht.

### 10V Biochemisches Neugeborenencreening auf cystische Fibrose durch sequenzielle Analyse von IRT und PAP

O. Sommerburg<sup>1</sup>, M. Lindner<sup>2</sup>, M. Muckenthaler<sup>1</sup>, D. Kohlmüller<sup>2</sup>, S. Leible<sup>1</sup>, R. Feneberg<sup>2</sup>, A. E. Kulozik<sup>1</sup>, M. A. Mall<sup>1</sup>, G. F. Hoffmann<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Sektion Paediatrische Pulmonologie & Allergologie, CF Zentrum, Klinik III; <sup>2</sup>Sektion angeborene Stoffwechselerkrankungen Klinik I, Univ. Klinik für Kinder- und Jugendmedizin Heidelberg

Das Neugeborenencreening auf cystische Fibrose wird in vielen Ländern seit Jahren durchgeführt, ist in Deutschland durch den G-BA nicht empfohlen. Seine Einführung wird derzeit dort aber diskutiert. Gegen ein CF-Screening wird angeführt, dass in den „Standardscreeningverfahren“ nach auffälligem IRT eine molekulargenetische Analytik des CFTR-Gens angeschlossen wird und damit unweigerlich Überträger, die selbst nicht betroffen sind, identifiziert werden. In einer prospektiven Studie am Neugeborenencreeningzentrum Heidelberg wurde eine sequenzielle rein biochemische IRT/PAP-Strategie verglichen mit einem IRT/DNA-Protokoll, in dem bei auffälligem IRT die in der Region häufigsten Mutationen des CFTR-Gens (p.F508del, p.R553X, p.G551D, p.G542X) untersucht werden. Von 73,759 untersuchten Neugeborenen waren 98 positiv in der IRT/PAP- und 56 positiv in der IRT/DNA-Strategie. Von 146 Kindern, bei denen ein Schweißtest durchgeführt wurde, wurde bei 13 eine CF bestätigt. Die Detektionsraten waren für beide Strategien ähnlich. Die sequenzielle Analyse von IRT/PAP erlaubt ein zuverlässiges Screening der CF und vermeidet ein molekulargenetisches Screening und seine negativen Nebeneffekte.

### 11V Erste Erfahrungen mit der neuen automatischen Neugeborenencreening-Plattform (GSP) von Perkin Elmer

T. Torresani, R. Fingerhut

Schw. Neugeborenen Screening Labor, Universitätskinderklinik Zürich

**Fragestellung** Wir haben die neuen automatische Screening-Plattform (GSP) unter Routinebedingungen getestet. Der GSP sollte in der Lage sein alle Neugeborenencreening-Tests, mit Ausnahme der Massenspektrometrie, zu verarbeiten. Für unsere Studie haben wir die Tests (TSH, 17OHP, T4-Total und

GALT) verwendet. **Aufbau der Studie** Für jeden der vier Tests haben wir die Spezifität, die Nachweisgrenze, die Bestimmungsgrenzen, Inter- und Intraassay Variation, Wiederfindung, Einfluss von EDTA und die Stabilität der Reagenzien im Gerät bestimmt. Die Ergebnisse wurden mit denjenigen des AutoDelfia's bzw. des Astoria Pacific SpotCheck Systems (GALT) verglichen. **Ergebnisse** Die Nachweis- resp. Bestimmungsgrenzen waren: 0,38 and 0,44 mU/L für TSH, 3,6 and 6,5 nmol/L für T4, 0,35 and 0,55 nmol/L für 17-OHP, sowie 2,5 und 3,6 U/L für GALT. Die mittlere Wiederfindung lag zwischen 98,5 und 108,9 %, Intraassay VK zwischen 2,5 und 8,9, und Interassay VK zwischen 5,7 and 8,8%. **Schlussfolgerung** Der GSP ist geeignet für die Aufgaben des Neugeborenen Screenings. Im Vergleich zum AutoDelfia wurden einige zusätzliche Kontrollschritte in die Prozeduren eingefügt die die Zuverlässigkeit des Systems eindeutig verbessern.

### 12V Molybdän-Cofaktor-Mangel – eine neue Zielkrankheit für das Neugeborenen Screening?

J. Klein<sup>1</sup>, G. Schwarz<sup>2</sup>, J. A. Santamaria-Araujo<sup>2</sup>, A. Veldman<sup>3</sup>, J. B. Hennermann<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Neugeborenen Screening-Labor, Charité Universitätsmedizin Berlin; <sup>2</sup>Institut für Biochemie, Universität Köln; <sup>3</sup>Monash Institute of Medical Research, Monash University, Melbourne, Australia <sup>4</sup>Klinik für Allgemeine Pädiatrie, Charité Universitätsmedizin Berlin

Die Molybdän-Cofaktor-Defizienz (MoCD) führt zum Ausfall aller molybdänhaltigen Enzyme, wie der Sulfioxidase und der Xanthinoxidase. Der Funktionsverlust der Sulfioxidase führt zur Akkumulation des zelltoxischen Sulfits. Klinisch resultiert eine schwere, rasch progrediente Neurodegeneration mit frühem Tod der Patienten. Etwa zwei Drittel der beschriebenen Patienten haben eine Störung im ersten Schritt der Biosynthese des Molybdän-Cofaktors (MoCD Typ A), bei dem das Zwischenprodukt cPMP (zyklisches Pyranopterinmonophosphat) gebildet wird. Kürzlich wurde erstmals die erfolgreiche Behandlung der MoCD Typ A mit biotechnologisch gewonnenem cPMP beschrieben (Veldman A et al. Pediatrics 2010, 125: e1249). Da bei Patienten mit MoCD bereits in den ersten Lebenstagen irreversible Schädigungen auftreten, sollte frühzeitig die Diagnose gestellt werden. Eine Aufnahme der Erkrankung in das Neugeborenen Screening erscheint somit sinnvoll. Bisher publizierte Methoden des selektiven Screenings arbeiten mit Urin als Untersuchungsmaterial. Wir beschreiben, dass die Bestimmung von Xanthin und Harnsäure in die Routineanalyse der Aminosäuren und Acylcarnitine aus Trockenblut mittels Tandemmassenspektrometrie integriert werden kann. Verschiedene Aufarbeitungsoptionen (derivatisierter/nicht derivatisierter Ansatz) und Detektionsmethoden (ESI+/ESI-) sind möglich. Die Vor- und Nachteile der einzelnen Methoden werden diskutiert. Unsere Untersuchungen zeigen, dass die Etablierung des Screenings auf Molybdän-Cofaktor-Defizienz ohne zusätzlichen methodischen und apparativen Aufwand möglich ist.

### 13V Nationaler Screeningreport 2008

U. Nennstiel-Ratzel, A. Lüders

Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, Oberschleißheim

**Hintergrund** In der „Kinderrichtlinie“ sind bundeseinheitliche Qualitätskriterien für die Durchführung des Neugeborenen Screenings (NGS) definiert. Neben der Festlegung der Zielkrankheiten wurden Verantwortlichkeiten sowie Parameter des Screeningprozesses definiert, um eine möglichst frühzeitige therapeutische Intervention bei betroffenen Kindern zu ermöglichen. Dies ist erforderlich, da einige der Zielkrankheiten bereits frühzeitig zu Stoffwechsel- oder Elektrolytkrisen mit hoher Letalität führen können. Daneben fordert die Richtlinie die Evaluation des NGS. **Methoden** Um eine Beurteilung der Prozessqualität des NGS zu ermöglichen, melden alle deutschen Screeninglaboratorien der Deutschen Gesellschaft für Neugeborenen Screening (DGNS) jährlich ihre Daten. Diese werden auf Plausibilität überprüft, die als positiv gescreenten Fälle von Experten validiert. Es folgt eine deskriptive Auswertung. In dieser Zusammenstellung werden die Daten von 2008 präsentiert. **Ergebnisse** Im Jahr 2008 wurden in

Deutschland 689 262 Neugeborene gescreent. 471 Kinder mit einer der Zielkrankheiten wurden, darunter 169 mit einer Hypothyreose, 43 mit einem Adrenogenitalen Syndrom (AGS), 131 mit einer Hyperphenylalaninämie (PKU oder MHP), 61 mit einem MCAD-Mangel. Die anderen betroffenen Kinder litten an einer der selteneren Stoffwechselstörungen. Bei 85% der Neugeborenen wurde das Blut zeitgerecht, d. h. bis zur 72. Lebensstunde abgenommen. Der Anteil kontrollbedürftiger Befunde lag bei reifen Neugeborenen mit einer Blutentnahme nach 36 Lebensstunden bei 0,69% der Screeninguntersuchungen und damit unter dem bereits niedrigen Wert von 0,86% in 2007. Wird ein Kind vor der 36. Lebensstunde entlassen oder verlegt, so sieht die Richtlinie zuvor zwingend eine Blutentnahme vor (Frühabnahme). Eine Wiederholungsuntersuchung ist bei der Frühabnahme und bei Frühgeborenen bis zu 32 Schwangerschaftswochen erforderlich. Dies betraf 1,5 bzw. 1% der Neugeborenen. Ohne Frühabnahme wurden ca. 2% der Neugeborenen entgegen der Vorgaben der Richtlinie frühzeitig entlassen. **Fazit** Die Prozessqualität des Neugeborenen Screenings konnte durch eine gegenüber 2007 verbesserte Spezifität (beruhend auf niedrigerer Rate kontrollbedürftiger Befunde) und einen größeren Anteil von zeitgerecht abgenommenen Screeningproben erhöht werden. Problematisch ist der gestiegene Anteil von nicht durchgeführten Frühabnahmen vor Entlassung aus der Klinik, da die Blutentnahme in diesen Fällen häufig erst nach 72 Lebensstunden erfolgt. Für betroffene Kinder kann dies zu fatalen Folgen führen.

### 14V Konfirmationsdiagnostik bei Verdacht auf angeborene Stoffwechselkrankheiten aus dem Neugeborenen Screening

Erarbeitet durch die Arbeitsgemeinschaft für Pädiatrische Stoffwechselstörungen (APS) M. Lindner<sup>1</sup>, R. Santer<sup>2</sup>, U. Spiekercötter<sup>3</sup>, J. Zschocke<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Heidelberg, Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin, Sektion für Angeborene Stoffwechselkrankheiten; <sup>2</sup>Hamburg, Pädiatrische Stoffwechselmedizin; <sup>3</sup>Düsseldorf, Pädiatrische Stoffwechselmedizin; <sup>4</sup>Innsbruck, Österreich, Humangenetik  
Durch die Mitglieder der Arbeitsgruppe wurde auf der Basis vorhandener Algorithmen (ACMG Act Sheets) eine S1-Leitlinie zum diagnostischen Vorgehen nach positivem Neugeborenen Screening für eine der im Deutschen Neugeborenen Screening eingeschlossenen Stoffwechselkrankheiten entwickelt. Die Leitlinie ist bei der AWMF eingereicht, nachdem sie vom Vorstand und der Mitgliederversammlung der APS konsentiert wurde. Die Entwicklung und die Struktur der Leitlinie, die voraussichtlich ab Mai auf der AWMF-Website einsehbar sein wird, soll kurz vorgestellt werden.

## Poster

### 15P Standardisierung von Präanalytik-Protokollen für Clinical Metabolomic Studien unter Verwendung von Tandem-Massenspektrometrie

R. Brauer, A. Leichtle, G. M. Fiedler, J. Thiery, U. Ceglarek  
Institut für Labormedizin, Universitätsklinikum Leipzig

**Einleitung** Clinical metabolomics strebt danach Gesundheit und Krankheitsrisiko eines Individuums durch Untersuchung von metabolischen Signalen abzuschätzen und zu prognostizieren. Allerdings sind dafür standardisierte Präanalytik-Protokolle erforderlich, um die Variabilität von Daten in großen klinischen Studien zu minimieren. Für verbesserte Präzision und Reproduzierbarkeit wurden Probenlagerung und -vorbehandlung optimiert. Einflüsse von Ernährung und physischer Aktivität wurden erforscht. Das Ziel unserer Untersuchungen war, ein standardisiertes Präanalytik-Protokoll für reproduzierbare Metabolom-Studien zu entwickeln. **Methode** Es wurde ein API 3000 Tandem-Massenspektrometer (Applied Biosystems, Deutschland) mit Flow-Injection-Analysis (FIA, Direktinjektion ohne chromatografische Trennung) und Elektrospray-Ionisation (ESI) benutzt. Unsere etablierte Methode für Trockenblutproben wird seit 2001 routinemäßig im Neugeborenen Screening angewandt und wurde hierfür erweitert auf 27 Aminosäuren, freies Carnitin und 34 Acylcarnitine

ne, die in 1,5 min Analysenzeit gemessen werden. Störfaktoren (in vitro), wie z.B. Material, Lagerungsbedingungen und -zeit, und Einflussfaktoren (in vivo), wie z. B. Geschlecht, Alter und BMI, wurden an 300 Proben von 20 männlichen und 30 weiblichen Probanden untersucht. **Ergebnisse** Der Vergleich von Nativ- und EDTA-Trockenblut zeigte keine signifikanten Konzentrationsunterschiede bei Aminosäuren und Acylcarnitinen. Die langkettigen Acylcarnitine waren im Serum und Plasma (EDTA, Zitrat, Heparin) signifikant erniedrigt. Die Lagerung der Trockenblutkarten aus EDTA-Vollblut ist bis 24 Stunden bei Raumtemperatur ohne signifikante Konzentrationsveränderungen möglich. Das Optimieren des Probenaufarbeitungsprotokolls erzielte Variabilitäten zwischen den verschiedenen Messtagen von < 20%. Studienproben sollten in einer Serie aufgearbeitet und gemessen werden um die Variabilität zu minimieren. Es sollte erwogen werden die Blutentnahme mindestens fünf Stunden nach letzter Nahrungsaufnahme durchzuführen. Signifikante geschlechtsspezifische Unterschiede des Aminosäure- und Acylcarnitin-Stoffwechsels wurden herausgefunden. **Zusammenfassung** Dieses zuverlässige Aufarbeitungsprotokoll ermöglicht eine Standardisierung der Präanalytik und erleichtert reproduzierbares Metabolom-Profilieren in großen klinischen Studien.

### 16P Post-prandiale Veränderungen der Aminosäuren- und Acylcarnitinkonzentrationen in Trockenblutproben

R. Fingerhut<sup>1</sup>, G. De Jesus Silva Arevalo<sup>2</sup>, M. R. Baumgartner<sup>3</sup>, J. Häberle<sup>3</sup>, M. Rohrbach<sup>3</sup>, A. Weinfeld Ávalos Figueroa<sup>2</sup>, E. M. Dardón Fresse<sup>2</sup>, O. L. Polanco<sup>2</sup>, T. Torresani<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Schweizer Neugeborenen-Screening Labor, Universitäts-Kinderklinik, Zürich, Schweiz; <sup>2</sup>Metabolic and genetic clinic, UNICAR-Foundation Aldo Castaneda, Pediatric Area, Guatemala City, Guatemala Central America; <sup>3</sup>Stoffwechsel-Abteilung, Universitäts-Kinderklinik, Zürich, Schweiz

Die Blutabnahme für das Neugeborenen-Screening lässt sich zeitlich nicht so standardisieren, wie etwa Nüchternblutabnahmen bei Erwachsenen. Daher ist der Einfluss von post-prandialen Veränderungen und individueller Variabilität eine wichtige Information zur Abschätzung von Sensitivität und Spezifität des Neugeborenen-Screenings auf bestimmte Erkrankungen. Wir haben 83 Paare von Trockenblutproben untersucht, die jeweils prä- und post-prandial gewonnen wurden. Die mittlere Zunahme der Metabolitenkonzentrationen wurde bestimmt und deren Signifikanz berechnet. Die individuelle Variation im Nüchternblut von gesunden Erwachsenen (n = 3) liegt zwischen 12 und 32% (SD). Der post-prandiale Anstieg der Acylcarnitinkonzentration ist in der Regel nicht signifikant und übersteigt 10% nicht. Der post-prandiale Anstieg der Aminosäurenkonzentrationen ist für einige proteinogene Aminosäuren hochsignifikant (Phenylalanin, Methionin, Valin, Leuzin, Prolin), jedoch nicht für alle. Mit den erhobenen Daten konnten wir abschätzen, das lediglich erniedrigtes freies Carnitin sowie erniedrigtes Methionin durch einen post-prandialen Anstieg der jeweiligen Metabolite „maskiert“ werden könnte und damit zu falsch negativen Ergebnissen im Screening auf Carnitintransporter Defekt und Defekte im Cobalaminstoffwechsel führen kann.

### 17P Langzeitbeobachtung von Patienten mit MCAD-Mangel: biochemische, klinische und psychosoziale Aspekte

B. Harmuth, J. Weigel, U. Mütze, P. Nickel, W. Kiess, C. Baerwald, U. Ceglarek, J. Thiery, S. Beblo

Klinik und Poliklinik für Kinder- und Jugendmedizin, Universität Leipzig, Medizinische Klinik IV, Universitätsklinikum Leipzig; Institut für Labormedizin, klinische Chemie und molekulare Diagnostik, Universität Leipzig

**Einleitung** Die klinische Ausprägung des Medium-Chain-Acyl-CoA-Dehydrogenasemangels (MCADD) reicht von Symptomfreiheit bis hin zum Tod bei Stoffwechsellage. Die Therapie besteht in der Vermeidung von längeren Fastenperioden, eine Carnitinsubstitution wird nur bei sekundärem Carnitininmangel durchgeführt. **Methoden** Zur Analyse der Betreuungsqualität an unserer Klinik führten wir eine retrospektive Erhebung durch. Alle derzeit an der Universitätsklinik Leipzig behandelten Patienten mit MCADD wurden eingeschlos-

sen. Die Patienten und die Eltern wurden einem standardisierten Interview unterzogen (z. B. KINDL). Ebenso erfolgte eine Beurteilung des allgemeinen intellektuellen Entwicklungsstandes (HAWIVA III, HAWIK IV, Münchner Funktionelle Entwicklungsdiagnostik). Klinische und biochemische Verlaufsdaten wurden aus den Krankenakten ermittelt. **Ergebnisse** 14/18 (w 10, m 8) Patienten wurden durch das erweiterte NGS auffällig. Zwei Patienten wurden anlässlich einer Stoffwechsellage, zwei im Rahmen der Familiendiagnostik identifiziert. Die homozygot klassische Mutation (K329E) fand sich bei sechs Patienten. Bei Diagnosestellung wurde eine Konzentration von Octanoylcarnitin (C8) von  $8,8 \pm 10,5 \mu\text{mol/l}$  gemessen (mean  $\pm$  SD). Eine Erniedrigung des freien Carnitins (C0) zeigte sich in keinem Fall. Obwohl die Konzentration von C8 bei homozygot klassischer Mutation im Durchschnitt doppelt so hoch war wie bei compound Heterozygoten, war der Unterschied nicht signifikant ( $12,5 \pm 14,7$  vs.  $6,3 \pm 7,6 \mu\text{mol/l}$ , t-Test: p = 0,36). Die übrigen biochemischen Parameter (C8:1, C8/C10, C8/C16) zeigten keine Unterschiede. Die Urinanalyse erbrachte in 8/9 Fällen den typischen Befund einer Dicarboxidurie. Bei zwei compound heterozygoten Kindern kam es im Krankheitsverlauf zu Stoffwechselkrisen. Die psychologische Diagnostik erbrachte bei allen Kindern altersentsprechende Befunde. Die Lebensqualität wird insgesamt als gut angegeben (KINDL). 11/18 Eltern hatten initial große Angst vor einer Stoffwechsellage, im Verlauf wird der MCADD jedoch zunehmend als Besonderheit des Kindes angesehen, nicht mehr als Krankheit (12/18). Zwei Familien halten die regelmäßige Betreuung in der Stoffwechsellage für übertrieben. Allerdings war nur in drei Fällen dem niedergelassenen Kinderarzt die Diagnose geläufig, nur in einem Fall traute die Familie diesem die Betreuung zu. 5/18 Familien möchten aufgrund der Diagnose kein weiteres Kind. **Diskussion** Erfreulicherweise zeigen die Patienten klinisch einen guten Verlauf. Problematisch erscheint, dass der MCADD mit zunehmendem Alter von den Familien nur noch als harmlose Stoffwechselvariante angesehen wird. Eine Verbesserung der Aufklärung und Schulung der Familien nicht nur nach Diagnosestellung, sondern vor allem im weiteren Verlauf erscheint notwendig. Die psychosozialen Folgen bei Patienten mit MCADD verdienen größere Beachtung.

### 18P Entwicklung und Evaluierung einer Methode zur simultanen Bestimmung von Steroidhormonen in Serum mittels Flüssigchromatografie-Tandemmassenspektrometrie

L. Kortz, G. M. Fiedler, J. Thiery, J. Kratzsch, U. Ceglarek

Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik, Universität Leipzig

**Hintergrund** Die schnelle und valide Bestimmung von Steroidhormonen ist für die Diagnose und Behandlung von endokrinen Erkrankungen von hoher Bedeutung. In klinischen Laboratorien sind Immunoassays zur Quantifizierung von Steroidhormonen weit verbreitet. Sie zeigen jedoch vielfach Kreuzreaktivitäten und für jeden zu bestimmenden Analyten wird eigener Assay benötigt. Aus diesen Gründen ist eine simultane und hochspezifische Methode zur Bestimmung von Steroidhormonen für die klinische Analytik wünschenswert. **Methode** Wir haben eine Flüssigchromatografie-Tandemmassenspektrometrie-(LC-MS/MS)-Methode zur Bestimmung von neun Steroidhormonen entwickelt. Ausgehend von 100  $\mu\text{L}$  Serum können die folgenden sieben Steroidhormone im positiven Ionisierungsmodus bestimmt werden: Androstendion, Cortisol, 11-Deoxycortisol, Dehydroepiandrosteronsulfat (DHEAS), 17-Hydroxyprogesteron, Progesteron und Testosteron. Zusätzlich können  $\alpha$ -Estradiol und Aldosteron im negativen Ionisierungsmodus gemessen werden. Die Aufreinigung der Proben erfolgt durch Proteinfällung und anschließender On-line Festphasenextraktion (SPE). Die Messzeit der gesamten on-line-SPE LC-MS/MS Methode beträgt vier Minuten per Injektion. **Ergebnisse** Die Methode hat einen linearen Bereich von 50 bis 8000 ng/mL für DHEAS, 3 bis 500 ng/mL für Cortisol, 0,4 bis 125 ng/mL für 11-Deoxycortisol, 0,4 bis 25 ng/mL für Aldosteron und 0,1 bis 25 ng/mL für die weiteren Analyten. Die Interassay-Variabilität bei niedriger, normaler und erhöhter Konzentration ergab Variationskoeffizienten < 20%. Der Methodenvergleich mit Immunoassays zeigte gute Übereinstimmung: z. B. für Testosteron

betrug der Korrelationskoeffizient nach Pearson 0,95. **Schlussfolgerung** Die beschriebene Hochdurchsatz LC-MS/MS-Methode ist aufgrund ihrer kurzen Analysenzeit und des geringen Probenvolumens sowohl für Steroid-Profilung in klinischen Studien als auch für die Routineanalytik attraktiv.

### 19P Transition junger Erwachsener mit klassischer Phenylketonurie (PKU) aus der ambulanten pädiatrischen Betreuung in die Ambulanz für Erwachsene

A. Roth<sup>1\*</sup>, U. Mütze<sup>1\*</sup>, J. FW. Weigel<sup>1</sup>, S. Beblo<sup>1</sup>, C. Baerwald<sup>2</sup>, P. Bürdel<sup>1</sup>, W. Kiess<sup>1</sup> (\*diese Autoren haben zur Studie gleichwertig beigetragen)

<sup>1</sup>Universitätsklinik und Poliklinik für Kinder und Jugendliche, Sektion Rheumatologie/Stoffwechselerkrankungen; <sup>2</sup>Department für Innere Medizin, Universitätsklinikum Leipzig

**Einleitung** Der Übergang (Transition) von der ambulanten pädiatrischen Betreuung in die der Ambulanz für Erwachsene ist für Patienten mit angeborener Stoffwechselerkrankung ein besonders vulnerabler Lebensabschnitt. Seit 2005 erfolgte der Transitionsprozesses für Patienten mit angeborenen Stoffwechselerkrankungen in Leipzig zunächst durch persönliche Übergabe der Patienten später durch die Vermittlung des Pädiaters. Ziel der gegenwärtigen Studie war die Evaluation der aktuellen Transitionssituation von Patienten mit Phenylketonurie (PKU) in Leipzig. Ausgewertet wurden die medizinische Versorgung, die Stoffwechseleinstellung, die Patientenzufriedenheit, der sozioökonomische und psychosoziale Status und mögliche Verbesserungsmöglichkeiten der Transition. **Methoden** Identifizierung der zwischen 2005 und 2008 von der Kinderklinik in die Ambulanz der Inneren Medizin transferierten Patienten. Befragung anhand eines Fragebogens. Retrospektive Auswertung der ambulanten Patientenakten. Vergleich der psychosozialen Daten mit denen des statistischen Jahrbuches 2008 der Stadt Leipzig. **Ergebnisse** 72 transferierte Patienten wurden identifiziert, 48 Patienten nahmen aktiv an der Studie teil. Die Daten der 24 Nichtteilnehmer wurden retrospektiv analysiert. Rund 90% der Patienten mit PKU waren mit der aktuellen Übergangssituation zufrieden. Bei Transition hatte die Mehrzahl der Patienten gemäß den aktuellen Therapierichtlinien eine gute Stoffwechseleinstellung (medianer Phenylalaninspiegel von 853,1 µmol/l vor Transfer und 689,7 µmol/l nach Transfer). 92% der befragten Patienten halten weiterhin eine phenylalaninarme Diät mit Eiweißsubstitution über eine phenylalaninfreie Aminosäuremischung ein. 77% der Befragten erreichten einen Haupt- oder Realschulabschluss, nur 19% das Abitur (in der Kontrollbevölkerung 38,2%). Die Anzahl an verheirateten Patienten mit PKU war mit der der Leipziger Bevölkerung vergleichbar. Allerdings hatten die Patienten mit PKU seltener Kinder (15% vs. 37%). **Schlussfolgerung** Transition von Patienten mit PKU aus der ambulanten Betreuung der Pädiatrie in die der Erwachsenenmedizin ist erfolgreich in Leipzig. Die Patienten waren mit der Übergangssituation mehrheitlich zufrieden. Es

zeigte sich eine konstante medizinische Versorgung und Stoffwechseleinstellung während des Übergangszeitraumes. Hinsichtlich der psychosozialen und sozioökonomischen Situation konnten wir Unterschiede zur Kontrollbevölkerung aufzeigen.

### 20P Veränderung des Ernährungsverhaltens bei Patienten mit Phenylketonurie unter der Therapie mit Sapropterin (BH4)

A. Thiele<sup>1</sup>, C. Rohde<sup>2</sup>, B. Ziesch<sup>2</sup>, U. Mütze<sup>2</sup>, S. Beblo<sup>2</sup>, W. Kiess<sup>2</sup>, A. Müller<sup>1</sup>, J. Weigel<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg; <sup>2</sup>Universitätsklinik und Poliklinik für Kinder und Jugendliche Leipzig

**Einleitung** Mit dem in Europa seit 2008/09 zugelassenen Wirkstoff Sapropterin-dihydrochlorid (BH4) steht Patienten mit Phenylketonurie (PKU) eine weitere Behandlungsoption zur Verfügung. Ziel einer Behandlung mit BH4 ist die Erhöhung der Phenylalanintoleranz und damit die Lockerung der strengen eiweißarmen Diät sowie die Reduktion der notwendigen Zufuhr essenzieller Nährstoffe über phenylalaninfreie Aminosäuremischungen. In der vorliegenden Studie soll geklärt werden, inwieweit sich das Ernährungsverhalten bei Patienten mit PKU, die Phenylalanintoleranz und die Nährstoffversorgung unter der Therapie mit BH4 verändern. **Patienten und Methoden** Es wurden 17 Patienten mit PKU (8 w, 9 m) in die Studie eingeschlossen. Über einen Zeitraum von 42 Tagen wurden 18 Ernährungsprotokolle erhoben und parallel dazu die Phenylalaninkonzentration im Trockenblut bestimmt. Die Behandlung mit BH4 begann am Tag 14. Am Tag 0 und 42 stellten sich die Patienten in der Ambulanz vor. Die Ernährungsprotokolle wurden hinsichtlich der Nährstoffversorgung ausgewertet und mit den aktuellen D-A-CH-Referenzwerten für die Nährstoffzufuhr von Kindern und Jugendlichen verglichen. **Ergebnisse** Bei neun Patienten stieg die Phenylalanintoleranz unter der Behandlung mit BH4. Zudem stieg die durchschnittliche Aufnahme von Kalorien und Makronährstoffen sowie von Vitamin B<sub>12</sub> und Zink. Die Versorgung mit Vitamin D, Eisen, Jod und Kalzium verschlechterte sich bei den Patienten, die aufgrund der BH4-Sensitivität keine Aminosäuremischung mehr zu sich nehmen mussten. Bei den Patienten, die keine BH4-Sensitivität zeigten, wurden keine signifikanten Unterschiede in der Nährstoffversorgung festgestellt. **Diskussion** Patienten mit BH4-Sensitivität zeigen unter der Therapie mit BH4-Unterschiede in der Nährstoffzufuhr, welche zum Einen vermutlich durch die erhöhte Zufuhr an natürlichem Eiweiß und zum Anderen durch die reduzierte Einnahme von Aminosäuremischungen begründet sind. Es sind weitere Studien zur Überprüfung der Nährstoffzufuhr unter einer Therapie mit BH4 erforderlich, um den diätetischen Bedürfnissen dieser speziellen Gruppe von Patienten mit PKU in Zukunft gerecht zu werden.