

7. Jaeken J, VanderSchueren-Lodeweyckx M, Casaer P, Snoeck L, Corbeel L, Eggermont E et al. Familial psychomotor retardation with markedly fluctuating serum proteins, FSH and GH levels, partial TBG-deficiency, increased serum arylsulphatase A and increased CSF protein: a new syndrome? *Ped Res*; 14: 179.
8. Van Schaftingen E, Jaeken J. Phosphomannomutase deficiency is a cause of carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type 1. *FEBS Lett* 1995; 377: 318-320.
9. Grünewald S, Matthijs G en Jaeken J. Congenital disorders of glycosylation: A review. *Ped Res* 2002; 52: 618-624.
10. De Lonlay P, Seta N, Barrot S, Chabrol B, Drouin V, Gabriel BM, Journel H et al. A broad spectrum of clinical presentations in congenital disorders of glycosylation I: a series of 26 cases. *J Med Genet* 2001; 38: 14-19.
11. Kjaergaard S, Muller J en Skovby F. Prepubertal growth in congenital disorder of glycosylation type Ia (CDG-Ia). *Arch Dis Child* 2002; 87: 324-327.
12. Bubel S, Peters V, Klein C, Hackler R, Schaefer JR, Hagenah J, Hoffmann GF, Vieregge P. CDG (congenital disorders of glycosylation). Differential hereditary ataxia in adulthood diagnosis *Nervenarzt* 2002; 73:754-760.
13. Mayatepek E, Kohlmüller D. Mannose supplementation in carbohydrate deficient glycoprotein syndrome type I and phosphomannomutase deficiency. *Eur J Pediatr* 1998; 157: 605-606.
14. Niehues R, Hasilik M, Alton G Körner C, Schiebesukumar M, Koch HG, Zimmer KP et al. Carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome type Ib: phosphomannose isomerase deficiency and mannose therapy. *J. Clin. Invest* 1998; 101: 1414-1420.
15. Jaeken J, Matthijs G, Saudubray JM, Dionisi-Vici C, Bertini E, de Lonlay P, Henry H et al. Phosphomannose isomerase deficiency: a carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome with hepatic-intestinal presentation. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 1535-1539.
16. Clayton P, Winchester B, Di Tomaso E, Young E, Keir G, Rodeck C. Carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome: normal glycosylation in the fetus. *Lancet* 1993; 341: 956.

Summary

An infant with failure to thrive and developmental delay. Wamelink MMC, Starreveld JS, van der Knaap MS, Verhoeven NM, Jakobs C. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2003; 363-367.

Congenital disorders of glycosylation (CDG) are a group of inherited metabolic disorders with a defect in protein glycosylation. Since the discovery of the phosphomannomutase-deficiency causing CDG-Ia in 1995, 17 different defects in protein glycosylation have been described, 13 with a defect in the N-glycosylation and 4 with a defect in the O-glycosylation. The different types of CDG are clinically very distinct, which makes it extra difficult to diagnose these patients. We present a case of a typical CDG-Ia patient.

Key words: casuistic; inborn error of metabolism; inherited metabolic disease; CDG; glycosylation; transferrine; iso-electric focussing

Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2003; 28: 367-369

Neonatale convulsies in een patiënt met een mitochondrieel defect

E. MORAVA^{1,2}, M. KLEUVER¹, C.C.A. BOELEN^{1,2}, A. JANSSEN³ en J.A.M. SMEITINK^{1,2}

Defecten in de oxidatieve fosforylering leiden tot zeer uiteenlopende klinische ziektebeelden. Klinische symptomen kunnen op elke leeftijd en in elk orgaanstelsel ontstaan, zijn meestal progressief en niet zelden fataal. De spiegels van lactaat en alanine in serum zijn vaak verhoogd. Biochemische diagnostiek naar de activiteit van de bij de ademhalingsketen betrokken enzymen vindt plaats in spierweefsel en fibroblasten. In dit 'case report' beschrijven wij een patiënt met neonatale convulsies, progressieve microcefalie en encefalopathie. De serumlactaatconcentratie gemeten onder basale condities was normaal, maar er werden verhoogde lactaat- en alaninewaarden gevonden tijdens een orale glucosetolerantie-test.

Bij biochemisch onderzoek in spierweefsel waren alle gemeten substraatoxidaties duidelijk verlaagd, en was er een sterk verlaagde productiesnelheid van ATP uit pyruvaat. Verder werd er een verlaagde activiteit van het PDHc-E1 gevonden. Wij stellen voor bij patiënten met neonatale convulsies waarvoor geen duidelijke oorzaak wordt gevonden, een orale glucosetolerantie-test te verrichten.

Trefwoorden: casuïstiek; erfelijke metabole ziekte; stofwisselingsziekte; neonatale convulsies; OXFOS-systeem; OGTT; serumalanine

Mitochondriën, de energiecentrales van de cel, komen voor in bijna alle cellen van het lichaam. Deze dubbelwandige organellen bestaan uit een buitenmembraan en een binnenmembraan, waardoor twee compartimenten ontstaan, de intermembraanruimte en de door de binnenmembraan omgeven mitochondriële matrix. Het binnenmembraan bevat de multi-eiwit-enzymcomplexen die samen met de elektronen-transportcarriers co-enzym Q en cytochroom c het oxidatieve fosforyleringssysteem (OXFOS-systeem)

UMC St Radboud, Nijmegen Centre for Mitochondrial Disorders¹, Afdeling Kindergeneeskunde², Laboratorium Kindergeneeskunde en Neurologie³

Correspondentie: Dr. E. Morava, Afdeling Kindergeneeskunde, Nijmegen Centre for Mitochondrial Disorders, UMC St Radboud, Postbus 9101, 6500 HB Nijmegen.
E-mail: E.Morava@cukz.umcn.nl

vormen (1, 2). Defecten van het OXFOS-systeem leiden tot zeer uitlopende klinische ziektebeelden. De meest frequent aangedane weefsels en organen zijn die met een hoge energiebehoefte: de hersenen, de skeletspier en de hartspier. In principe kan echter ieder weefsel of orgaan aangetast worden. De eerste verschijnselen kunnen reeds kort na de geboorte aanwezig zijn, maar kunnen in principe op iedere leeftijd ontstaan (3, 4). Het beloop van de aandoening is over het algemeen progressief en vaak fataal (1, 3). Patiënten die de eerste symptomen al op vroege kinderleeftijd vertonen hebben vaak een genetisch defect in één van de kern-gecodeerde genen. Mutaties in het mitochondrieel DNA presenteren zich meestal op latere leeftijd (1). Patiënten met een neonatale encefalomyopathie hebben ook vaak een ernstige lactaatacidose (5). Een lactaatverhoging net boven de bovengrens van normaal moet, indien de monsternamen *lege artis* is verricht, d.w.z. zonder stress of hypoxie, als pathologisch beschouwd worden. In ongeveer 20% van de patiënten met een genetisch bewezen defect van het OXFOS-systeem is het lactaatgehalte in alle lichaamsvloeistoffen normaal (6, 7). De gouden standaard van het diagnostisch proces blijft het meten van o.a. de enzymen van het OXFOS-systeem in een spierbiopsie.

Het OXFOS-systeem, met uitzondering van complex II, staat onder de controle van twee genen: het kern-DNA en het mitochondriele DNA (2). Bij door het mitochondriele DNA gecodeerde ziekte kan de zeer uitlopende klinische expressie verklaard worden door het fenomeen heteroplasmie. Door de willekeurige verdeling van gemuteerd mitochondrieel DNA tijdens de meiose kunnen in één cel zowel normale als afwijkende mitochondriën voorkomen. Afhankelijk van het percentage gemuteerd DNA treden klinische verschijnselen al dan niet op (het zogenaamde 'threshold'-fenomeen).

Casusbeschrijving

Onze patiënte, een meisje, werd als eerste kind à terme geboren na een ongecompliceerde graviditeit. In verband met niet-vorderende uitdrijving en inmiddels meer dan 24 uur gebroken vliezen werd een vacuüm-extractie verricht. Er was geen hypotonie, zij was actief en levendig. Het geboortegewicht, de lengte en schedelomtrek waren adequaat voor de zwangerschapsduur (gewicht 3.200 gram, lengte 50 cm, schedelomtrek 33 cm; alle -1 SD). Twee uur na de geboorte had zij een convulsie, die leidde tot een adem- en hartstilstand. Reanimatie leidde tot een vlot herstel, echter er ontstonden persisterende convulsies met respiratoire insufficiëntie. Algemeen intern lichamenlijk onderzoek liet geen duidelijke afwijkingen zien. Neurologisch onderzoek toonde abnormale spontane motoriek, stereotype bewegingen met grove tremoren, hypotonie en een positieve 'headlag'. De voetzoolreflex verliep volgens Babinski. Een EEG liet een ernstig afwijkend patroon zien met 'burst suppression'-beeld. Op de MRI van de hersenen werd het beeld van een encefalopathie gezien, maar geen congenitale anatomische afwijkingen. Het ECG en een echoscopie van het hart waren normaal.

Differentiaal-diagnostisch werd gedacht aan een diepe asfyxie, een infectie van het centraal zenuwstelsel of een metabole stoornis. Tijdens de opname op de intensive care werd aanvullend bloed-, urine- en liquoronderzoek ingezet. Er waren geen aanwijzingen voor een infectie. Onderzoek van glucose, elektrolyten, calcium, creatinekinase, urinezuur, cholesterol en triglyceriden in serum liet normale uitslagen zien. Ook de lactaatspiegel in bloed was normaal. De concentratie van alanine in serum was daarentegen duidelijk verhoogd na de convulsie (557 $\mu\text{mol/l}$, normaal <400 $\mu\text{mol/l}$). Bij een herhaling, twee dagen later, werd ook voor het alanine een normale waarde aangetoond. Bij metabool onderzoek in liquor werd, behalve een verhoogde glycinewaarde (992 $\mu\text{mol/l}$), geen biochemische afwijking gevonden. In bloed was de glycinewaarde 20 $\mu\text{mol/l}$ (normaal), terwijl ook de liquor-/serumglycine-ratio normaal was (0,02). De lactaatconcentratie in liquor was normaal. De normale ratio van de liquor- en serumglycinewaarden sloot een non-ketotische hyperglycinemie uit. De verhoogde serumalaninewaarde wees mogelijk in de richting van een mitochondriële stoornis. De patiënte kreeg anticonvulsieve medicatie en bleef hierna aanvolsvrij.

Onder verdenking van een mitochondriële aandoening werd het meisje heropgenomen voor een orale glucosetolerantie test (OGTT). De uitslagen toonden een stijgende, pathologische lactaatwaarde in bloed na de orale glucosetoediening (na 60 minuten, bij een glucosewaarde van 8 mmol/l, was het lactaat 2,9 mmol/l (normaal: $<2,0$ mmol/l)), en een serumalanineconcentratie stijging (800 $\mu\text{mol/l}$, normaal <400 $\mu\text{mol/l}$), met een paradoxale ketose. Op de leeftijd van 6 maanden waren het gewicht en de lengte adequaat voor de leeftijd, maar er was een duidelijke microcefalie (SO: -2 SD). Ze kon nog niet omrollen, maar reageerde wel op geluiden bij interactie. Ondanks fysiotherapie bleef de hoofdbalans onvoldoende. De patiënte greep naar spulletjes, zat met ondersteuning en brabbelde. Ze kon niet zelf eten en kreeg sondevoeding. Een gehoor- en oogheelkundig onderzoek leverden geen afwijkingen op.

Op basis van de klinische presentatie en de afwijkingen bij het laboratoriumonderzoek, in het bijzonder de afwijkende OGTT, werd besloten tot een spierbiopsie voor nadere biochemische mitochondriële diagnostiek. Dit liet de volgende resultaten zien (tabel 1): alle gemeten substraatoxidaties op citraatsynthase (CS)-basis uitgedrukt waren duidelijk verlaagd. Het biochemische onderzoek van het ATP-metabolisme liet een sterk verlaagde productiesnelheid van ATP-productie uit pyruvaat (tabel 1; reactie 7) zien. De meting van de activiteit van het pyruvaatdehydrogenasecomplex en van de ademhalingsketenenzymen toonde alle activiteiten binnen de normale range. Bepaling van de pyruvaatdehydrogenase (PDHc)-E1-activiteit liet een duidelijk verlaagde waarde zien (1,00 mU/U CS, controlewaarde van 1,23-4,13). Genetisch mutatieonderzoek met verdenking op een PDHc-E1-alfa-mutatie is in bewerking.

Tabel 1. Biochemisch spieronderzoek in het verse spierbiopt van de patiënt; CS: citraat synthetase (mitochondrieel referentie-enzym)

Oxydatie van	Patiënt		Controles	
	(nmol CO ₂ /uur . mU CS)		(nmol CO ₂ /uur . mU CS)	
1.[1- ¹⁴ C]pyruvaat + malaat	1,53		3,61 – 7,48	
2.[1- ¹⁴ C]pyruvaat + carnitine	1,56		2,84 – 8,24	
3.[U- ¹⁴ C]malaat + pyruvaat + malonaat	1,69		4,68 – 9,62	
4.[U- ¹⁴ C]malaat + acetylcarnitine + malonaat	2,00		3,43 – 7,3	
5.[U- ¹⁴ C]malaat + acetylcarnitine + arseniet	1,13		2,05 – 3,85	
6.[1,4- ¹⁴ C]succinaat + acetylcarnitine	1,26		2,54 – 6,39	
ATP-metabolisme	(nmol ATP/uur)		(nmol ATP/uur)	
	.mg eiwit	.mU CS	.mg eiwit	.mU CS
7. ATP +CrP-produktie uit pyruvaatoxydatie	1132	12	3360 -7950	42-81
8. ATP/Pyr.-ratio (incubatie 7/incubatie 1)	7,8		7,6-14	
9. ADP-stimulatie van pyruvaatoxydatie	2,8		2,9-7,9	

Beschouwing

Neonatale convulsies worden heel vaak veroorzaakt door perinatale asfyxie of infecties. Elektrolytstoornissen of neonatale hypoglykemiën komen vaak voor bij premature of dysmature zuigelingen. Convulsies kunnen snel gestopt worden door behandeling van de primaire oorzaak. Bij sommige patiënten is er wel anti-convulsieve therapie nodig.

Therapie-resistente aanvallen kunnen worden veroorzaakt door een metabole stoornis (4). Pyridoxine-gevoelige aanvallen zijn goed behandelbaar met een hoge B6-intake. Organischezuursyndromen, aminoacidopathieën en ureumcyclusstoornissen presenteren zich meestal met sufheid en coma, en niet met convulsies als de primaire presentatie. Peroxisomale ziekten, sulfietoxidasedefect, non-ketotische hyperglycinemie en stoornissen van het purine/pyrimidine-metabolisme worden gediagnosticeerd door screenend metabool onderzoek in serum en urine of parallel onderzoek van serum-, en liquormonsters. Patiënten met neonataal Leigh-syndroom hebben meestal een duidelijke klinische presentatie met een afwijkend MRI -beeld van de hersenen en lactatacidemie.

Onze patiënt had normale lactaatwaarden in serum en liquor. Wel was de concentratie van glycine in liquor en serum verhoogd, maar er was een normale liquor/serumglycine-ratio. De alanineconcentratie in serum was eerst mild, later sterk verhoogd. Dit wees in de richting van een mogelijke mitochondriële stoornis. Een orale glucosetolerantietest werd verricht met afwijkende lactaat- en alaninstijgingen na glucosetoevoeding (8). Vervolgens gaf biochemisch onderzoek in een vers spierbiopt een duidelijke verklaring voor de neonatale presentatie van convulsies, namelijk een stoornis in de oxidatieve fosforylering. Neonatale convulsies bij mitochondriële ziekten komen zelden voor zonder myopathie, encefalomyopathie of Leigh-syndroom (4, 7). De klinische presentatie bij onze patiënt is wel uniek: neonatale convulsie zonder afwijkingen in andere orgaansystemen. De lactaatconcentratie in serum was normaal, maar wel afwijkend bij de orale glucosetolerantietest samen met een stijgende serumalaninewaarde. Wij stellen voor bij patiënten met perinatale convulsies, waarvoor geen duidelijke oorzaak wordt gevonden, een orale glucosetolerantietest te verrichten.

Literatuur

1. Smeitink JAM, Heuvel LP, Trijbels JMF, Mariman ECM, ter Laak HJ, Engelen BGM, Sengers RCA. Stoornissen in de oxidatieve fosforylering: kliniek, biochemie en moleculaire biologie. *Neurologie*, 2000; 2: 75-82.
2. Smeitink JAM, Heuvel LP, Di Mauro S. The genetics and pathology of oxidative phosphorylation. *Nature Review Genetics*, 2001; 2: 342-352.
3. Saudubray JM, Nassogne MC, de Lonlay P, Touati G. Clinical approach to inherited metabolic disorders in neonates: an overview. *Semin Neonatol*. 2000; 27: 3-15.
4. Sue CM, Hirano M, DiMauro S, De Vivo DC. Neonatal presentations of mitochondrial metabolic disorders. *Semin Perinatol*. 1999; 23: 113-124.
5. Jackson MJ, Schaefer JA, Johnson MA, Morris AA, Turnbull DM, Bindoff LA. Presentation and clinical investigation of mitochondrial respiratory chain disease. A study of 51 patients. *Brain*. 1995; 118: 339-357.
6. Brooks GA. Lactate shuttles in nature. *Biochem Soc Trans*. 2002, 30: 258-64.
7. Smeitink JA. Mitochondrial disorders: clinical presentation and diagnostic dilemmas. *J Inher Metab Dis*. 2003; 26: 199-207.
8. Chi CS, Mak SC, Shian WJ, Chen CH. Oral glucose lactate stimulation test in mitochondrial disease. *Pediatr Neurol*. 1992; 8: 445-449.

Summary

Neonatal convulsions in a patient with a mitochondrial defect. Morava E, Kleuver M, Boelen CCA, Janssen A, Smeitink JAM. Ned Tijdschr Klin Chem Labgeneesk 2003; 28: 367-369.

Defects in the OXPHOS-system result in an extremely variable clinical picture, mainly in devastating, multi-system diseases. An increased level of lactic acid and alanine in serum are characteristic. The biochemical analysis of the different enzymes involved in the respiratory chain is performed in a muscle biopsy and fibroblast culture of the patients. In a case report we describe a patient with neonatal convulsions, progressive microcephaly and encephalopathy. Lactic acid was normal in serum; however, increased lactic acid and alanine levels were detected during an oral glucose-loading test. Biochemical studies detected low substrate-oxidation rates and decreased ATP production from pyruvic acid in a muscle biopsy sample. The activity of the PDHc E1 was decreased as well. We suggest a glucose-loading test in all patients with neonatal convulsions without a definite etiology.

Key words: casuistic; inborn error of metabolism; inherited metabolic disease; neonatal convulsions; OXPHOS-system; OGLT; serum alanine