

# Medfødte stofskiftesygdomme (inborn errors of metabolism, IEM) - vejledning for muskelbiopsi, leverbiopsi og CSV-prøvetagning

## **Muskelbiopsi**

Muskelbiopsi er indiceret ved udredning af flere neuromuskulære sygdomme og er afgørende for diagnosen af mitokondriesygdomme. Udover den anæstesi-relaterede risiko er risikoen ved muskelbiopsi beskeden. Ved anæstesiforbereelse skal huskes på overhyppigheden af malign hypertermi ved visse myopatier, herunder mitokondrielle myopatier.

Indikationen for muskelbiopsi og ønskede analyser diskuteres om muligt ved neurometabolisk konference forud for indgrebet.

Ved indgrebet skal der opnås væv til histologisk undersøgelse, inkl. specialfarvninger, fx COX-farvning, og immunhistokemi, elektronmikroskopi, samt enzymstudier (respirationskæden) og molekylærgenetiske undersøgelser.

Muskelbiopsien tages af børnekirurgisk afdeling og indgrebet bookes på torsdagsprogrammet. Der arrangeres en 2-dages indlæggelse på afdeling 5062. Afdelingsbioanalytiker Anne Sylvest Olsen på Metabolisk Laboratorium, lokal 5-4859, og bioanalytiker Eva Rahtkens på neuropatologisk afdeling, lokal 5-2380, kontaktes for at aftale en dag, hvor laboratorierne har kapacitet til at medvirke ved biopsien.

Første dag: anæstesitilsyn og blodprøver: Hæmoglobin, trombocytter, INR og APTT. Afdelingsbioanalytiker Anne Sylvest Olsen på Metabolisk Laboratorium, 5-4859, kontaktes med henblik på at arrangere praktiske forhold omkring prøvetagning til enzymstudierne. De strukturelle undersøgelser udføres ved overlæge John Vissing. John Vissings bioanalytiker Eva Rahtkens, lokal 5-2380, orienteres. Begge bioanalytikere møder op ved biopsitagningen og medbringer relevante prøve-utensilier.

Anden dag: muskelbiopsi. Der vil oftest være tale om nålebiopsi gennem hudincision. En muskelbiopsi tages hyppigst i m.gastrocnemius, m. quadriceps femoris, m. deltoidea eller m. vastus lateralis, alt efter barnets størrelse og under hensyntagen til den kliniske involvering af muskelgrupperne. Der skal udtages ca. 400 mg, hvilket svarer til omkring 4 nålebiopsier, hvor hver biopsi bør være ca. 1 cm lang og 2-3 mm i diameter.

Muskelbiopsimaterialet deles i 2:

Prøve 1: enzymanalyser samt molekylærgenetiske undersøgelser. Minimum 200 mg (ca. halvdelen af samlede biopsi eller 2 nålebiopsier). Pak i parafilm, læg på tør-is og bring til Metabolisk Laboratorium 4061 og nedfrys ved  $-80^{\circ}\text{C}$ . Hvis biopsien skal analyseres for aktiviteter af respirationskæde-enzymet og PDH, formidler Metabolisk Laboratorium biopsien til Flemming Wiebrandt på Kennedy Institutet (kopi svar til Metabolisk Laboratorium, svar og regning til den afdeling, hvor barnet var indlagt under biopsitagningen).

Prøve 2: histologi: Eva Rahtkens nedfryser i isopentan på flydende kvælstof og bringer det til neuropatologisk afdeling. Der er brug for 2 nålebiopsier.

Når der er tale om akutte biopsier på døende eller døde børn henvises til instruks for udredning af børn for IEM på [www.kliniskgenetik-rh.dk](http://www.kliniskgenetik-rh.dk).

## Leverbiopsi

Visse enzymer er kun udtrykt i leveren, og leverbiopsi kan derfor være en nødvendig diagnostisk procedure ved nogle metaboliske sygdomme, fx glykogenoser, fruktose 1,6-bisphosphatase mangel, primær hyperoxaluri type I og non-ketotisk hyperglycinæmi. Ved et stigende antal sygdomme kan indgrebet dog undgås ved anvendelse af DNA-test (mutationsanalyse). Enhver leverbiopsi bør nøje overvejes sammen med familien på grund af risikoen ved indgrebet: ca. 1 % risiko for blødning og < 1 ‰ for død, når problemstillingen er metabolisk.

Ved indgrebet skal der opnås levervæv til minimum histologisk (lysmikroskopisk) undersøgelse og enzybestemmelse.

Nogle sygdomme kræver specielle undersøgelser, herunder elektronmikroskopisk undersøgelse, respirationskædeenzymbestemmelse og koncentrationsbestemmelse af bestemte bestanddele, fx kobber. Disse situationer kræver speciel forberedelse.

Leverbiopsien tages ultralydvejledt af læge på ultralydafdelingen. Ved akutte biopsier på svært syge børn kan biopsi udføres på stuen af børnekirurgisk afdeling, se instruks for udredning af børn for IEM, [www.kliniskgenetik-rh.dk](http://www.kliniskgenetik-rh.dk). Ved elektive indgreb bookes tid på ultralydafdelingen (afsnit 4123, telefon 5-2023), og der arrangeres en 3-dages indlæggelse på afdeling 5062. Afdelingsbioanalytiker Anne Sylvest Olsen på Metabolisk Laboratorium, lokal 5-4859, kontaktes for at aftale en dag, hvor laboratoriet har kapacitet til at medvirke ved biopsien.

Første dag: anæsthesitilsyn og blodprøver: Hæmoglobin, trombocytter, INR, APTT, leverenzymmer, LDH, bilirubin, samt ABO-type og BAS-test (minimum 1 portion blod i beredskab). Afdelingsbioanalytiker Anne Sylvest Olsen, 5-4859, kontaktes med henblik på at arrangere praktiske forhold omkring prøvetagning til enzymstudierne.

Anden dag: Barnet skal være udstyret med venflon og have fastet 6 timer. BT og puls måles inden biopsien. Indgrebet foregår oftest ved nålebiopsi (åben leverbiopsi er kun sjældent nødvendigt). Ved hver nålebiopsi opnås biopsi, ca. 2 cm lang og med en vægt på 40-50 mg. Det vil normalt være nødvendigt med ca. 5 biopsier, i alt ca. 250 mg, men det afhænger af den sygdom, der undersøges for.

Biopsimateriale til enzymaktivitetsbestemmelse: Forud for indgrebet anbringes spidsglas på tør-is. Aluminiumsfilm eller parafilm gøres klar ved at det formes som små båd og anbringes på tør-is. Efter udtagning anbringes biopsien i bådene og filmen foldes om biopsien og anbringes i de nedkølede glas, som hurtigst muligt bringes på tør-is til Metabolisk Laboratorium 4061 og nedfryses ved  $-80^{\circ}\text{C}$ . Der skal opnås minimum 3 nålebiopsier til enzymstudierne.

Biopsimateriale til histologisk undersøgelse fikseres i Lillie's formalin og bringes til patologiafdelingen. Der skal opnås minimum 2 nålebiopsier til disse studier.

Efter indgrebet observeres barnet med blodtryk, puls og respirationsfrekvens, 4 gange i timen de første 2 timer, 2 gange i timen de næste 4 timer og herefter efter ordination.

Tredje dag: er barnet frisk, afebrilt og blodtryk- og pulsstabilt kan det udskrives. Det kan behøve lidt Panodil.

## CSV-prøvetagning

Diagnose af flere metaboliske sygdomme kræver undersøgelse af cerebrospinalvæske (CSV); det drejer sig fx om metaboliske defekter i synteseveje for biogene aminer, defekter i pteriner og folinsyrestofskiftet, glukose transporter defekt og non-ketotisk hyperglycinæmi. Andre sygdomme kan sandsynliggøres ved undersøgelser på CSV, fx mitokondrie sygdomme. CSV-undersøgelse er vigtig da flere af de sygdomme, der herved kan diagnosticeres er behandlelige. Koncentrationer af de givne interessante metabolitter i CSV er kun et fjernt billede af forholdene i hjernen. Mens selv små ændringer således kan være interessante, vil risikoen for misfortolkninger også være stor. Derfor er det vigtigt, at CSV-væske tages, efterbehandles og fragtes under standardiserede forhold.

Indikationen for CSV-analyser diskuteres om muligt ved neurometabolisk konference forud for indgrebet.

Ved planlægningen af indgrebet kontaktes afdelingsbioanalytiker Anne Sylvest Olsen på Metabolisk Laboratorium, lokal 5-4859, for at aftale en dag, hvor laboratoriet har kapacitet til at medvirke ved punkturen.

Ved prøvetagningen opnås CSV-væske ved lumbalpunktur. Det vil ikke være indiceret at lave alle analyser ved alle børn mistænkt for IEM - aftales ved neurometabolisk konference.

Den første halve ml kan bruges til rutine undersøgelser, såsom protein og glukose (husk samtidig blod-glukose).

Den næste 1 ml bruges til analyse for pteriner, neurotransmittorer og folat-metabolitter, som udføres hos prof. N. Blau på Kinderspital Zürich. Prøverne nedfryses øjeblikkeligt på tøris på stuen. Afdelingsbioanalytiker Anne Sylvest Olsen, 5-4859, sørger for det praktiske omkring dette. Prøverne fragtes på tøris til Schweiz via Metabolisk Laboratorium. Der anvendes følgeseddel (se næste side), hvoraf fremgår navn på rekvirerende læge, som også er betalende instans (angiv AE-nummer på det afsnit som barnet er indlagt på under indgrebet). Derudover udfyldes rekvisitionsseddel til N. Blau (ligger som "neurotransmitter.pdf" på vor hjemmeside [www.kliniskgenetik-rh.dk](http://www.kliniskgenetik-rh.dk)).

Den næste 1 ml bruges til måling af aminosyrer, som udføres på Metabolisk Laboratorium. Bringes hertil på is så hurtigt som muligt.

Den sidste 1 ml bruges til bestemmelse af laktat og pyruvat. CSV deproteiniseres i iskold perklorisyre (PCA) 8% w/v i forholdet 1 ml CSV : 2 ml PCA. PCA bestilles fra Kennedy Instituttet og opbevares ved køleskabstemperatur. Holdbarhed 12 mdr. fra tappedatoen. Leveres i glas af 4 ml, hvorfor vi må afpipettere ved brug. Prøven opbevares på is. Skal sendes på is til Kennedy Instituttet. Udfyld følgeseddel, hvoraf fremgår navn på rekvirerende læge, som også er betalende instans (angiv AE-nummer på det afsnit hvor barnet er indlagt under indgrebet)– se appendix 2. Yderligere oplysninger kan fås på [www.kennedy.dk](http://www.kennedy.dk)

OBS! Ved måling af CSV-glukose måles samtidig blod-glukose; ved måling af glycin og andre aminosyrer i CSV måles samtidigt plasma-aminosyrer; ved måling af CSV-laktat og pyruvat måles samtidig blod laktat og pyruvat.

Prof. Nenad Blau  
Kinderspital Zürich  
Division of Clinical Chemistry and Biochemistry  
Steinwiesstrasse 75  
CH-8032 Zürich  
Schweizerland

**Re. Analysis of neurotransmitters, pterins etc in CSF**

Enclosed you will find one vial of cerebrospinal fluid. We kindly request an analysis of the compounds requested in the enclosed referral note.

Patient \_\_\_\_\_

Date of birth \_\_\_\_\_

Clinical information \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Date of sampling \_\_\_\_\_

Please send the results and the bill to  
Referring physician:

Dr. \_\_\_\_\_  
Dept of \_\_\_\_\_  
Rigshospitalet \_\_\_\_\_  
Blegdamsvej 9  
2100 Copenhagen  
Denmark  
Ref.nb: AE \_\_\_\_\_

Please send a copy of the results to

Dept. of Clinical Genetics  
Rigshospitalet 4062  
Blegdamsvej 9  
2100 Copenhagen  
Denmark