

Aus der
Kinderklinik und Kinderpoliklinik im Dr. von Haunerschen Kinderspital
Klinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. Dr. Christoph Klein

**Erfassung des Carnitin-Transporter-Defekts im
bayerischen Neugeborenenscreening
- Erfahrung aus 19 Jahren -**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Joachim Gelfert-Schmitt

aus
München

Jahr
2025

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. Esther M. Maier
Mitberichterstatter: Prof. Dr. Julia Seiderer-Nack
PD Dr. Helene Heidegger

Mitbetreuung durch die Dr. Katharina A. Schiergens
promovierte Mitarbeiterin:
Dekan: Prof. Dr. med. Thomas Gudermann

Tag der mündlichen Prüfung: 02.10.2025

Teile dieser Dissertation wurden publiziert in:

Schiergens, K. A., Weiss, K. J., Röschinger, W., Lotz-Havla, A. S., Schmitt, J., Dalla Pozza, R., Ulrich, S., Odenwald, B., Kreuder, J., Maier, E. M:

Newborn screening for carnitine transporter defect in Bavaria and the long-term follow-up of the identified newborns and mothers: Assessing the benefit and possible harm based on 19 ½ years of experience.

Molecular Genetics and Metabolism Reports 2021; 28:100776

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung:	1
1.1 Die Entwicklung des Neugeborenenscreenings in Deutschland und Bayern	1
1.2 Der Carnitin-Transporter-Defekt	4
1.2.1 Erstbeschreibung	4
1.2.2 Symptomkomplexe des Carnitin-Transporter-Defekts	5
1.2.3 Das Carnitin-Shuttle und die physiologische Bedeutung von Carnitin	7
1.2.4 Die Pathophysiologie des Carnitin-Transporter-Defekts	9
1.2.5 Diagnostik bei Verdacht auf einen Carnitin-Transporter-Defekt	10
1.2.6 Differentialdiagnosen eines Carnitin-Mangels	11
1.2.7 Therapie und langfristiges Krankheits-Management	12
1.2.8 Der Carnitin-Transporter-Defekt als Zielerkrankung im Neugeborenenscreening	13
1.3 Zielsetzung der Arbeit	15
2 Material und Methoden	16
2.1 Patientenkollektiv	16
2.2 Neugeborenenscreening auf Carnitin-Transporter-Defekt in Bayern	16
2.3 Konfirmationsdiagnostischer Ablauf bei Verdacht auf Carnitin-Transporter-Defekt	18
2.4 Therapieinitierung und Langzeitbetreuung	20
2.5 Erfasste Parameter der Konfirmationsdiagnostik und der Langzeitbetreuung	21
2.6 Statistische Auswertung	23
2.7 Ethikvotum	24
3 Ergebnisse	25
3.1 Inzidenz des Carnitin-Transporter-Defekts und analytische Qualität im bayerischen Neugeborenenscreening	25
3.2 Beschreibung des Patientenkollektivs	27

3.2.1	Patienten aus dem Neugeborenenscreening in Bayern.....	27
3.2.2	Weitere ins Kollektiv eingeschlossene Patienten mit Carnitin-Transporter-Defekten aus Neugeborenenscreenings außerhalb von Bayern .	28
3.2.3	Nicht-genetische Einflussfaktoren auf ein vermindertes Carnitin	28
3.3	Ergebnisse der Konfirmationsdiagnostik nach positivem Neugeborenenscreening.....	29
3.3.1	Neonatale/pädiatrische Patienten mit Carnitin-Transporter-Defekt.....	29
3.3.2	Maternaler Carnitin-Mangel	33
3.3.2.1	Gesicherter, maternaler Carnitin-Transporter-Defekt.....	33
3.3.2.2	Milder, funktioneller Carnitin-Transporter-Defekt bei heterozygoter Variante.....	35
3.3.2.3	Maternale, sekundäre Carnitin-Defizienz bei Glutarazidurie Typ I	35
3.4	Konzentration des freien Carnitins in den auffälligen Neugeborenenscreenings und Korrelation mit dem Abnahmezeitpunkt	36
3.5	Konfirmationsdiagnostik mittels freiem Carnitin im Plasma und renaler Resorption	38
3.6	Identifizierte Varianten des <i>SLC22A5</i> -Gens.....	40
3.7	Therapie und klinische Befunde im Rahmen der langfristigen Nachsorge 42	
3.7.1	Carnitin-Supplementierungs-Dosis und C0 im Plasma im Verlauf	43
3.7.2	Nebenwirkungen der Carnitin-Supplementierung	44
3.7.3	Psychomotorische Entwicklung der Neugeborenen.....	45
3.7.4	Metabolische Entgleisungen / prophylaktische Hospitalisierungen.....	45
3.7.5	Muskuläre Symptomatik und Fatigue.....	46
3.7.6	Kardiologische Manifestation	47
4	Diskussion.....	48
5	Zusammenfassung.....	65
6	Abstract.....	67
7	Literaturverzeichnis	68
8	Abkürzungsverzeichnis	80
9	Abbildungsverzeichnis.....	82

10	Tabellenverzeichnis	82
11	Danksagung	83
12	Affidavit.....	84
13	Übereinstimmungserklärung.....	85

1 Einleitung:

1.1 Die Entwicklung des Neugeborenenscreenings in Deutschland und Bayern

Die Geschichte des Neugeborenenscreenings (NGS) begann 1963 mit dem von Robert Guthrie und Ada Susie entwickelten Test auf Phenylketonurie (PKU) (Guthrie and Susi 1963). Die PKU führt unbehandelt als autosomal-rezessiver Defekt der Phenylalaninhydroxylase zu einer schweren kognitiven Entwicklungsstörung mit oftmals Pflegebedürftigkeit. Durch eine Untersuchung der Neugeborenen in den ersten Lebenstagen kann bei frühzeitiger Diagnose und adäquater lebenslanger Therapie eine weitestgehend unauffällige Entwicklung ermöglicht werden (Bickel, Gerrard et al. 1953). Da es sich bei der PKU und auch den später erfasssten Erkrankungen des NGS um seltene Erkrankungen (Inzidenz < 1:2000) handelt, war ein „Siebtest“ (Sieb, engl.: „screen“) aller Neugeborenen eine gute Möglichkeit, die schwer betroffenen Erkrankten zu identifizieren, bevor sich eine Symptomatik entwickelte. Entscheidend für eine großflächige Anwendung war dabei die Idee von Guthrie die Blutproben auf Filterpapierkarten aufzutragen und in getrocknetem Zustand mittels normaler Briefpost zu den spezialisierten Screening-Laboren zu versenden (Janzen and Sander 2023).

In Deutschland wurde der „Guthrie-Test“ Ende der 1960er Jahre flächendeckend eingeführt (Zabransky 2012) und im folgenden Jahrzehnt um Untersuchungen auf Galaktosämie und konnatale Hypothyreose ergänzt (Bickel, Bachmann et al. 1981, Klett and Schönberg 1981). Die Einführung der Tandem-Massenspektrometrie (TMS) ermöglichte eine deutliche Erweiterung des Untersuchungsumfangs, da in einem Analyseschritt mehrere Erkrankungen detektiert werden konnten (Janzen and Sander 2023). Zur Einführung der TMS im NGS wurde in Bayern am 1. Januar 1999 ein Pilotprojekt zur Neuordnung des Neugeborenenscreenings begonnen, in dem auf insgesamt 29 Erkrankungen untersucht wurde (Nennstiel-Ratzel, Liebl et al. 2003). Nach Beendigung und Evaluation des Pilotprojekts Ende 2004 wurde ein zunächst 12 Erkrankungen umfassendes Screening am 1. Juli 2005 deutschlandweit als Regelleistung der Krankenkassen unter dem Namen „erweitertes NGS“ eingeführt und seither regelmäßig ergänzt. Der Umfang und die Durchführung des NGS werden in der „Kinder-Richtlinie“ geregelt (G-BA 2005, G-BA 2023). Im Jahr 2016 wurde erstmals ein kombiniert mo-

lekulargenetisches und laborchemisches Screening auf Cystische Fibrose eingeführt (G-BA 2023). Mittlerweile umfasst das erweiterte NGS inklusive Cystischer Fibrose 17 Erkrankungen aus den Bereichen der Stoffwechselstörungen, Hämatologie, Immunologie und Neurologie. Das aktuelle Screening-Panel des erweiterten NGS und die Prävalenzen der Erkrankungen sind in Tabelle 1 aufgeführt (Brockow, Blankenstein et al. 2024).

Zielerkrankung	Prävalenz im Jahr 2021 ^a
Konnatale Hypothyreose	1: 2.861
Adrenogenitales Syndrom	1: 16.573
Biotinidasemangel	1: 19.402
Galaktosämie (klassisch)	1: 72.317
Hyperphenylalaninämie (davon Phenylketonurie)	1: 6.629 (1: 16.235)
Ahornsirup-Krankheit	1: 397.746
Medium-Chain Acyl-CoA-Dehydrogenase-Mangel (MCADD)	1: 10.607
Long-Chain 3-OH-Acyl-CoA-Dehydrogenase-Mangel (LCHADD)	1: 265.164
Very-Long-Chain Acyl-CoA-Dehydrogenase-Mangel (VLCADD)	1: 61.192
Carnitin-Palmitoyl-CoA-Transferase-I (CPT-I)-Mangel	1: 795.492
Carnitin-Palmitoyl-CoA-Transferase-II (CPT-II)-Mangel	1: 265.164
Carnitin-Acylcarnitin-Translocase (CACT)-Mangel	-
Glutarazidurie Typ I (GA Typ I)	1: 99.437
Isovalerianazidämie	1: 88.388
Tyrosinämie Typ I	1: 397.746
Cystische Fibrose	1: 4.851
Schwere kombinierte Immundefekte	1: 23.397
Sichelzellkrankheit (erfasst seit 10/2021)	(29 Fälle)
Spinale Muskelatrophie (erfasst seit 10/2021)	(28 Fälle)

Tabelle 1: Zielerkrankungen des erweiterten NGS in Deutschland:

a: Prävalenzen aus „Nationaler Screeningreport Deutschland 2021“; für Sichelzellkrankheit und spinale Muskelatrophie Angabe der identifizierten Fälle bei ab 10/2021 begonnenem Screening Quelle: (Brockow, Blankenstein et al. 2024)

Das möglichst vollständige Screening der primär als gesund zu betrachtenden Neugeborenen bringt ethische Fragen und Implikationen mit sich. 1968 wurden von Wilson and Jungner (1968) in den „Principles and practice of screening for disease“ 10 Prinzipien formuliert, welche Eigenschaften auf eine Erkrankung zu treffen sollten, damit ein Screening ethisch verantwortbar ist:

1. Die gesuchte Krankheit stellt ein bedeutendes Gesundheitsproblem dar.

2. Für Patienten mit diagnostizierter Erkrankung gibt es anerkannte Behandlungsmethoden.
3. Infrastruktur für Diagnose und Behandlung sind vorhanden.
4. Die Erkrankung hat eine erkennbare latente oder frühsymptomatische Phase.
5. Ein geeigneter Test oder eine Untersuchung auf die Erkrankung sind vorhanden.
6. Der Test sollte für die Bevölkerung tolerierbar sein.
7. Der natürliche Verlauf der Erkrankung, einschließlich der Entwicklung von latenter zu diagnostizierter Krankheit, sollte ausreichend verstanden sein.
8. Es sollte eine vereinbarte Richtlinie geben, wer als Patient zu behandeln ist.
9. Die Kosten der Fallfindung (einschließlich Diagnose und Behandlung der identifizierten Patienten) sollten im Verhältnis zu den möglichen Ausgaben für die gesamte medizinische Versorgung wirtschaftlich ausgewogen sein.
10. Der Screening-Prozess muss fortlaufend reevaluiert werden.

Wie das 10. Prinzip besagt, sollte das Screening nicht als einmaliges, abgeschlossenes Programm betrachtet werden, sondern ist ein sich ständig weiterentwickelndes und zu verbesserndes Projekt, das regelmäßig reevaluiert werden soll. Somit kann, je nach Verbesserung diagnostischer und therapeutischer Möglichkeiten, der Umfang der gescreenten Erkrankungen angepasst werden.

Das Stoffwechselzentrum des Dr. von Haunersche Kinderspitals der Ludwig-Maximilians-Universität (LMU) München führt gemeinsam mit dem bayerischen Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit (LGL), den weiteren bayerischen Stoffwechselzentren und dem Münchner Screeninglabor LABOR Becker ein „wissenschaftliches Begleitprogramm“ des NGS in Bayern in Anlehnung an das initiale Pilotprojekt durch. In diesem Rahmen konnte die Spezifität des Screenings auf Tyrosinämie Typ I durch ein second-tier Verfahren so weit verbessert, dass diese Krankheit in das deutschlandweite Screening-Panel des erweiterten NGS aufgenommen wurde. Auch für die spinale Muskelatrophie wurde ein Screening begonnen, nachdem durch die Entwicklung gentechnischer Therapien eine kausale Behandlung der Erkrankung möglich war (Röschinger, Sonnenschein et al. 2015, Vill, Schwartz et al. 2021). Die neuesten Studien untersuchten die Erweiterung des Screening-Umfangs auf 28 Erkrankungen, darunter das Screening auf Carnitin-Transporter-Defekt (CTD) (Röschinger, Sonnenschein et al. 2015,

Maier, Mütze et al. 2023). Weitere wissenschaftliche Projekte werden an den Universitätskliniken Frankfurt/Gießen, Hannover und Heidelberg durchgeführt.

1.2 Der Carnitin-Transporter-Defekt

Der CTD (OMIM # 212140), auch bekannt als „Primary carnitine deficiency“ (PCD), „Carnitine deficiency, systemic primary“ (CDSP), „Carnitine uptake defect“ (CUD) oder Systemische Carnitin-Defizienz (SCD) ist eine autosomal-rezessiv vererbte Stoffwechselstörung bedingt durch eine Disruption des Carnitin-Zyklus. Pathogene Varianten im *SLC22A5*-Gen (OMIM * 603377) führen zu einem partiellen oder auch vollständigen Funktionsverlust des dort kodierten „Organic cation transporter 2“ (OCTN2) (Wu, Prasad et al. 1998, Nezu, Tamai et al. 1999). Physiologisch wird Carnitin für den Transport langkettiger Fettsäuren über die innere Mitochondrienmembran benötigt (Carnitin-Shuttle). Der durch den OCTN2-Defekt bedingte chronische renale Carnitin-Verlust führt zu einer Depletion der physiologischen intrazellulären Carnitin-Vorkommen, was in eine Störung der mitochondrialen β -Oxidation mündet (Longo, Amat di San Filippo et al. 2006).

Die Inzidenzen des CTD variieren global sehr stark. Die weltweit höchste Inzidenz von 1:300 findet sich auf den Faröer Inseln und ist damit mindestens 33-mal höher als die zweithöchste Inzidenz in China, die mit 1:10.000 bis 60.000 beschrieben wurde (Rasmussen, Køber et al. 2014). Für Europa wurde ein breites Spektrum an Inzidenzen von 1:76.000 in Schweden bis 1:250.000 bis 1:300.000 in Deutschland festgestellt (Lindner, Gramer et al. 2011, Sörensen, von Döbeln et al. 2020). Die Inzidenzen in Nordamerika sind mit etwa 1:121.000 ähnlich zum europäischen Mittelwert von 1:128.000 (Lefèvre, Labarthe et al. 2023). Die weltweit niedrigsten Inzidenzen wurden mit ca. 1:348.000 in Australien und Neuseeland bestimmt (Wilcken, Wiley et al. 2001, Wilson, Knoll et al. 2019).

1.2.1 Erstbeschreibung

Der erste gesicherte Fall eines CTD wurde von Karpati, Carpenter et al. (1975) als „Syndrom der systemischen Carnitin-Defizienz“ beschrieben. Im Alter von 11 Jahren entwickelte der Junge eine progrediente, generalisierte Myasthenie und Fatigue, bei vorangegangenen, rezidivierenden Episoden hepatischer Enzephalopathie in der Kindheit. Die Konzentrationen von freiem Carnitin (C0) im Plasma,

der Skelettmuskulatur und Leber waren stark vermindert. Nach fünf Monaten täglicher oraler Carnitin-Supplementierung normalisierte sich die Konzentration von C0 im Plasma, die Konzentrationen in Muskulatur und Leber blieben anhaltend vermindert. Bei regredienter Myasthenie konnte der Patient wieder an normalen Alltagsaktivitäten teilnehmen, er nahm vier Kilogramm Gewicht zu bei vorheriger Kachexie und die vormals erhöhten Leberwerte normalisierten sich (Karpati, Carpenter et al. 1975).

1.2.2 Symptomkomplexe des Carnitin-Transporter-Defekts

Die Verlaufsformen des CTD variieren deutlich bezüglich Alter, Symptomatik und Organbeteiligung von weitestgehend asymptomatischen Phänotypen bis hin zu letalen Ausgängen und plötzlichen Todesfällen. Symptome manifestieren sich oftmals in der Kindheit, wobei diese in Form kardialer Symptomatik (insbesondere Kardiomyopathie), metabolischen Dekompensationen und auch Leberzell-schädigung beschrieben wurden (Magoulas and El-Hattab 2012, Crefcoeur, Visser et al. 2022).

Metabolische Dekompensationen treten typischerweise im Alter bis zu zwei Jahren auf. Die Episoden beginnen meist mit einem Infekt der oberen Atemwege oder des Gastrointestinaltrakts, worauf das Kind eine Trinkschwäche bzw. Nahrungsverweigerung entwickelt. Im weiteren Verlauf werden die Kinder zunehmend unruhig oder lethargisch und reduziert kontaktfähig. Ohne rasche adäquate Therapie kann es zu komatösen Zuständen und schließlich zu einem letalen Ausgang kommen (Tang, Ganapathy et al. 1999, Lund, Joensen et al. 2007, El-Hattab and Scaglia 2015, Longo, Frigeni et al. 2016).

Hepatische Symptome äußern sich vornehmlich als Hepatomegalie und Steatosis hepatis, in der stärksten Ausprägung wurde ein Fall mit Hepatitis und Leber-versagen berichtet (Crefcoeur, Visser et al. 2022). Es gibt einzelne Fallberichte über Störungen der grobmotorischen und auch kognitiven Entwicklung von Kin-dern mit CTD. In allen Fällen wurde nach Therapiebeginn eine Regredienz der Entwicklungsverzögerung bis hin zur Normalisierung beschrieben (Tein, De Vivo et al. 1990, Wang, Korman et al. 2001, Lamhonwah, Olpin et al. 2002, Kilic, Ozgül et al. 2011).

Kardiomyopathische Verlaufsformen werden meist in einem Alter von einem bis vier Jahren klinisch apparent. Die Kardiomyopathie entwickelt sich in der Mehrzahl der Fälle in einer dilatativen Form, jedoch sind auch hypertrophe Formen beschrieben worden. Bezeichnend ist, dass die Kardiomyopathie schlecht auf die leitliniengerechte Therapie aber gut auf eine Carnitin-Supplementierung anspricht. Auf Basis der Kardiomyopathie kann sich eine progressive Herzinsuffizienz entwickeln, die bei akuter Dekompensation tödlich verlaufen kann. Begleitend kann sich auch eine Myopathie der Skelettmuskulatur in Form von generalisierter Myasthenie, Hypotonie und Belastungsintoleranz manifestieren. (Tang, Hwu et al. 2002, El-Hattab 2012, Kishimoto, Suda et al. 2012, Agnelli, Bitton et al. 2013, Crefcoeur, Visser et al. 2022).

Unabhängig von der Kardiomyopathie wurden verschiedene unspezifische Veränderungen im Elektrokardiogramm (EKG) beobachtet, wie verlängerte oder verkürzte QT-Intervalle, erhöhte spitze T-Wellen und anhaltende ventrikuläre Tachykardien (De Biase, Champaigne et al. 2012, Fu, Huang et al. 2013, Roussel, Labarthe et al. 2016). In schweren Verläufen entstand aus den Herzrhythmusstörungen ein Kammerflimmern, was in einzelnen Fällen in einer Asystolie bzw. einem plötzlichen Herztod mündete (Rijlaarsdam, Spronzen et al. 2004, Rasmussen, Nielsen et al. 2012).

Die außergewöhnlich hohe Prävalenz des CTD auf den Faröer-Inseln ist auf einen Gründereffekt zurückzuführen: Als geographisch isoliertes Insel-Archipel im Nordatlantik geht die Bevölkerung auf eine kleine Gruppe norwegischer Siedler zurück, was zu einer hohen genetischen Uniformität führte. Aufgrund der hohen Prävalenz stellt die Faröer Bevölkerung die am besten untersuchte Population adulter CTD-Patienten dar (Rasmussen, Køber et al. 2014). Da die plötzlichen Todesfälle von drei Frauen und zwei Kindern in Zusammenhang mit einer Piv-mecillinam-Einnahme bei zugrundeliegendem CTD gebracht wurden, wurde ein nationsweites Screening auf CTD initiiert (Lund, Joensen et al. 2007, Rasmussen, Nielsen et al. 2012, Rasmussen, Nielsen et al. 2014). Von den darin identifizierten 76 adulten CTD-Patienten hatten 37 Krankenhausaufenthalte gehabt, die retrospektiv sehr wahrscheinlich auf die Erkrankung zurückzuführen waren. Das vergleichsweise milde Symptomspektrum bestand aus unspezifischen Symptomen wie Fatigue oder Palpitationen bei ca. 43% der Patienten, ca. 25% berichteten von einer reduzierten Ausdauer bei körperlicher Belastung und bei

12% wurden EKG-Veränderungen nachgewiesen (Rasmussen, Køber et al. 2014).

1.2.3 Das Carnitin-Shuttle und die physiologische Bedeutung von Carnitin

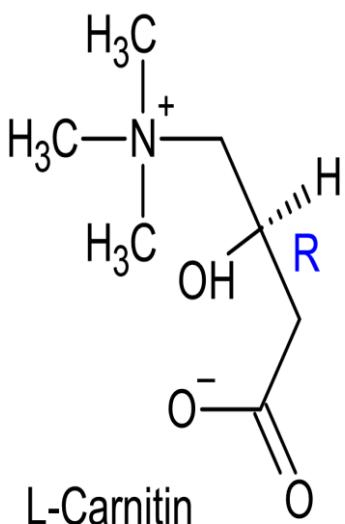


Abbildung 1: Strukturformel von L-Carnitin
Quelle: (PubChem 2021)
Abbildung erstellt mit ChemSketch (Advanced Chemistry Development Inc. 2020)

Carnitin (3-hydroxy-4-N-trimethylammonium-butyrate) wurde erstmals 1905 aus Muskelzellen isoliert, was die Namensherkunft von *lat. „carnis“*, Fleisch begründet. (Gulewitsch and Krimberg 1905, Pekala, Patkowska-Sokoła et al. 2011). Carnitin ist vor allem in tierischen Lebensmitteln enthalten, jedoch ist der Mensch wegen einer hocheffizienten renalen Resorption und einer endogenen Carnitin-Synthese nicht zwingend auf die exogene Zufuhr angewiesen (Vaz and Wanders 2002, Evans and Fornasini 2003, Knüttel-Gustavsen and Harmeyer 2007). Das Molekül liegt als Stereoisomer vor, wobei nur das Levocarnitin (s. Abbildung 1) biologisch wirksam ist. Zur besseren Verständlichkeit wurde deshalb in der weiteren Arbeit Carnitin synonym für Levocarnitin verwendet.

Die wichtigste physiologische Funktion von Carnitin liegt im Carnitin-Shuttle, dem Transport langkettiger Fettsäuren über die Mitochondrienmembran als Grundvoraussetzung für die β -Oxidation (s. Abbildung 2). In seiner weiteren Funktion als Acyl-Gruppen-Akzeptor stellt Carnitin sowohl ein homöostatisches Gegenstück zu Coenzym A (CoA) als auch ein Kopplungsmolekül bei der Ausscheidung von Acylresten und organischen Säuren dar (Scaglia and Longo 1999, Elmadfa and Leitzmann 2019).

In der Muskulatur ist die β -Oxidation von Fettsäuren ein essenzieller Prozess zur Energiegewinnung. Die Herzmuskelatur hat aufgrund der dauerhaften Aktivität einen anhaltend hohen Energiebedarf und bezieht zwischen 50 und 70 % ihrer Energie aus der β -Oxidation (Lopaschuk, Ussher et al. 2010). Auch die Skelettmuskulatur ist auf die β -Oxidation angewiesen, um bei langanhaltender Belastung den dauerhaft hohen Energiebedarf der Muskulatur zu decken (Helge, Stallknecht et al. 2007). Außerdem ist die β -Oxidation in Fastenzuständen von mehr als 12 Stunden essentiell, um die ausbleibende Energiezufuhr durch Ketogenese

und β -Oxidation auszugleichen (Houten and Wanders 2010, Elmadfa and Leitzmann 2019).

Die β -Oxidation findet im Innenraum der Mitochondrien, der mitochondrialen Mat-

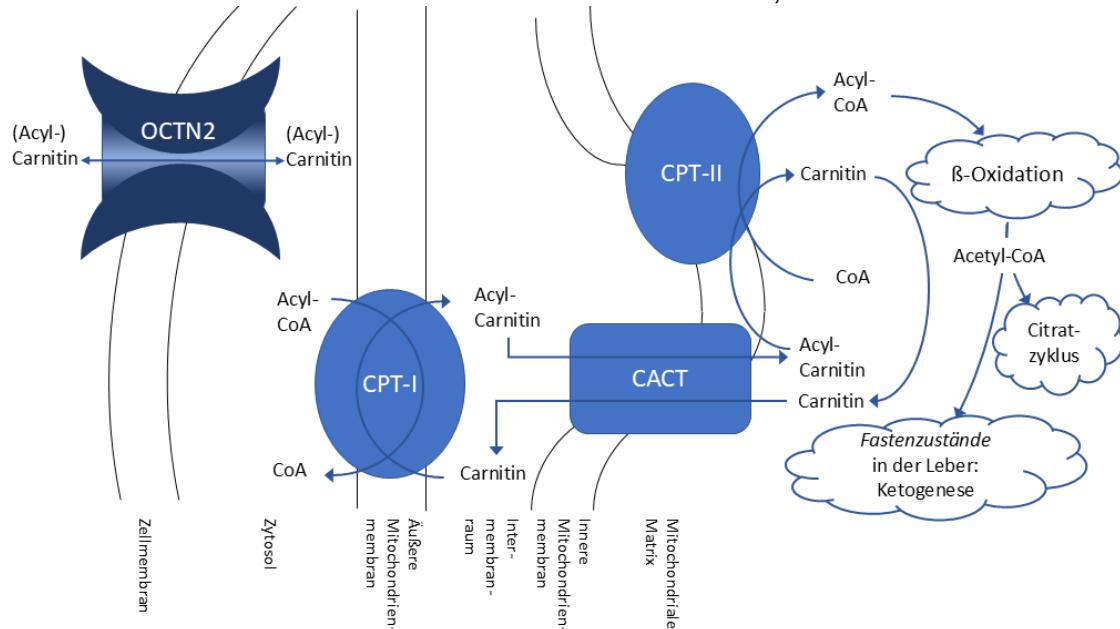


Abbildung 2: Das Carnitin-Shuttle: OCTN2: Organic cation transporter 2, CoA: Coenzym A, CPT-I: Carnitin-Palmitoyl-Transferase I, CACT: Carnitin-Acylcarnitin-Translocase, CPT-II: Carnitin-Palmitoyl-Transferase II (eigene Abbildung)

rix, statt. Langkettige Fettsäuren können aufgrund ihrer zunehmenden Hydrophobie bei zunehmender Länge hierfür nicht mehr frei über die innere Mitochondrienmembran diffundieren, sondern werden mithilfe des Carnitin-Shuttles aktiv transportiert: Die im Zytosol als Acyl-CoA-Verbindungen vorliegenden Fettsäuren, werden von der in der äußeren Mitochondrienmembran lokalisierten Carnitin-Palmitoyl-Transferase I (CPT-I) von Coenzym A (CoA) auf Carnitin übertragen. Die Acyl-Carnitin-Verbindungen im Intermembranraum werden von der Carnitin-Acylcarnitin-Translocase (CACT) im Austausch für freies Carnitin in den Innenraum des Mitochondriums transportiert. Die in der inneren Mitochondrienmembran gelegene Carnitin-Palmitoyl-Transferase II (CPT-II) überträgt schließlich die Acylgruppen von dem Acyl-Carnitin auf CoA (s. Abbildung 2). Diese nun im Inneren der Mitochondrien vorliegenden Acyl-CoA-Verbindungen können der β -Oxidation und im Anschluss dem Citrat-Zyklus bzw. der Ketogenese zur Energiegewinnung zugeführt werden (van der Leij, Huijckman et al. 2000, Houten and Wanders 2010, Violante, Ijlst et al. 2013).

Die Bedeutung des OCTN2 als hochaffiner Natrium-Carnitin-Syporter liegt sowohl in der organspezifischen Konzentrierung des Carnitins als auch in der sehr hohen renalen Resorption von Carnitin (Evans and Fornasini 2003). Der Carnitin-

Gesamtpool beim Erwachsenen beträgt ca. 128 mmol, bei einer täglichen Carnitin-Aufnahme von 0.1-0.3 mmol und einer renalen Filtration von 8-9 mmol ist eine effiziente renale Resorption essentiell. Mit der hohen renalen Expression von OCTN2 wird physiologisch eine renale Resorption von mehr als 95 % des gefilterten Carnitins erreicht, so dass der renale Verlust minimal ist (Tamai, Ohashi et al. 1998, Vaz and Wanders 2002). Gleichzeitig führt die organspezifische Expression des OCTN2 in Herz- und Skelett-Muskulatur dazu, dass ca. 90 % des Carnitin-Pools in diesen Organen konzentriert werden und für die β -Oxidation zu Verfügung stehen. Die physiologische Konzentration von C0 im Blutplasma von ca. 50 $\mu\text{mol/L}$ macht hingegen nur ca. 1 % des Carnitin-Vorkommens im Körper aus (Angelini, Vergani et al. 1992, Evans and Fornasini 2003).

1.2.4 Die Pathophysiologie des Carnitin-Transporter-Defekts

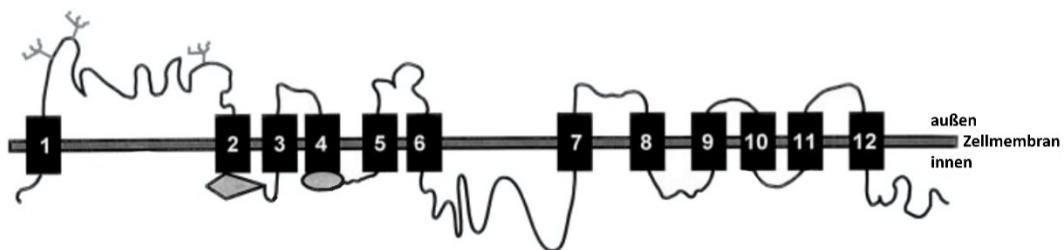


Abbildung 3 Schematische Darstellung des OCTN2:
Transmembrandomänen als zwölf nummerierte schwarze Boxen dargestellt
Abbildung modifiziert nach (Amat di San Filippo and Longo 2004)

Das den OCTN2 kodierende *SLC22A5*-Gen ist ca. 26 Kilobasen lang, enthält 10 Exon-Abschnitte und ist auf Chromosom 5q31.1 lokalisiert. Die resultierende mRNA besteht aus 1674 Nucleotiden. Der OCTN2 selbst besteht aus 577 Aminosäuren, wobei 12 Transmembrandomänen berechnet wurden (s. Abbildung 3) (Tamai, Ohashi et al. 1998, Wu, Prasad et al. 1998). Aktuell wurden in der ClinVar-Datenbank 1284 Varianten des *SLC22A5*-Gens berichtet, wovon 328 als pathogen bzw. wahrscheinlich pathogen, 478 als Variante unbekannter Signifikanz bzw. widersprüchlicher Klassifizierung und 478 als benigne oder wahrscheinlich benigne eingeordnet wurden (ClinVar GRCh37, (Landrum, Lee et al. 2014), Stand 11.11.2024). Die auf den Faröer Inseln vorherrschende Gründer-Variante ist die als pathogen klassifizierte *Missense*-Variante c.95A>G (p.N32S) und liegt innerhalb der ersten Transmembrandomäne (Rasmussen, Køber et al. 2014).

Durch die Vielzahl *SLC22A5*-Genvarianten kommt es zu unterschiedlich schweren Ausprägungen des OCTN2-Defektes, von nur leicht eingeschränkter Funk-

tion bis zu vollständigem Funktionsverlust. Der durch den defizienten OCTN2 resultierende anhaltende renale Carnitin-Verlust verursacht eine Depletion der organischen Carnitin-Speicher, was sich in einer deutlich verminderten Konzentration von C0 im Plasma widerspiegelt. Wanders, Visser et al. (2020) stellten die Hypothese zweier pathophysiologisch zusammenspielender Mechanismen beim CTD auf: 1) Energiemangel als Folge der Blockade der mitochondrialen Fettsäureoxidation; und 2) Toxizität durch die Akkumulierung von Zwischenprodukten der mitochondrialen Fettsäureoxidation. Die β -Oxidation von Fettsäuren und Ketogenese sind bei einem CTD im gesamten Organismus gestört, was sich insbesondere an der Herzmuskulatur in Form der Kardiomyopathie und in der Skelettmuskulatur als Myasthenie manifestiert. Die bei metabolischen Dekompensationen auftretende hypoketotische Hypoglykämie wird durch die Störung der Ketogenese bei gleichzeitig durch unvollständig prozessierte Stoffwechselprodukte gehemmter Gluconeogenese verursacht (Longo, Amat di San Filippo et al. 2006). Die weiterhin in energieintensiven Situationen mobilisierten Fettsäuren reichern sich bei fehlendem Verbrauch als histologisch darstellbare Fetttröpfchen an. Diese akkumulierten Fetttröpfchen werden als wahrscheinliche Ursache der kardialen Arrhythmien und auch der Steatosis hepatis betrachtet (Matsuishi, Hirata et al. 1985, Pierpont, Breningstall et al. 2000, Wang, Korman et al. 2001, Longo, Amat di San Filippo et al. 2006).

1.2.5 Diagnostik bei Verdacht auf einen Carnitin-Transporter-Defekt

Bei einem Verdacht auf CTD sollte primär die C0-Konzentration im Plasma bestimmt werden, was ab einer Konzentration von < 8 $\mu\text{mol/L}$ als krankheitsverdächtig gilt (Normwert von 25–50 $\mu\text{mol/L}$) (Longo, Frigeni et al. 2016). Ergänzend wird die renale Resorption von C0 gemessen. Dabei ist zu beachten, dass die Laborwerte nicht durch eine vorzeitige Carnitin-Einnahme verfälscht werden sollten. Falls die Patienten einen Hinweis auf eine akute metabolische Dekompenstation bieten, so sollte zusätzlich der Blutzucker gemessen werden.

Sind diese Laborwerte suggestiv für einen CTD, erfolgt die Konfirmation der Diagnose über eine Sequenzierung des *SLC22A5*-Gens. Die Erkrankung gilt bei Vorliegen von zwei bekannt pathogenen Varianten als gesichert (Magoulas and El-Hattab 2012). Wenn sich in der Sequenzierung Varianten unklarer Signifikanz ergeben oder keine Variante nachgewiesen wird, so ist die Messung des Carnitin-Transports in kultivierten Haut-Fibroblasten essentiell. Bei einem manifesten

CTD ist die Transportaktivität auf < 20 % der Kontrollen reduziert. Dies ist die aussagekräftigste Untersuchung, um einen CTD zu bestätigen oder auszuschließen, da hier auch die Auswirkungen unbekannter Varianten oder in der Sequenzierung nicht erfassbarer Veränderungen nachgewiesen werden (Longo, Frigeni et al. 2016, Frigeni, Balakrishnan et al. 2017, Wanders, Visser et al. 2020).

Mit der Diagnosebestätigung sollte eine mögliche Organbeteiligung ausgeschlossen werden. Dafür bestimmt man die Laborwerte Creatin-Kinase (CK) und Isoenzyme zur Beurteilung des Herzens und der Muskulatur, die Lebertransaminasen zur Beurteilung der Leberfunktion und grundlegende hämatologische Parameter zum Ausschluss einer Anämie. Zur Detektion einer möglichen kardialen Manifestation sollte ein EKG und eine Echokardiographie (UKG) durchgeführt werden (Magoulas and El-Hattab 2012). Eine zeitnahe Vorstellung in einem spezialisierten Zentrum für Stoffwechselerkrankungen ist bei einem Verdacht auf CTD dringend zu empfehlen. Die zielgerichtete Diagnostik und möglichst frühe adäquate Therapie sind essentiell, um schwere Verläufe und Komplikationen zu vermeiden (Magoulas and El-Hattab 2012).

1.2.6 Differentialdiagnosen eines Carnitin-Mangels

Es gibt eine Vielzahl an Differentialdiagnosen für eine verminderte C0-Konzentration im Plasma oder eine erhöhte C0-Ausscheidung im Urin. Angeborene Stoffwechselerkrankungen aus der Gruppe der Organoazidopathien und der β -Oxidationsstörungen führen durch die übermäßige Ausscheidung von akkumulierten Acyl-Gruppen in der Form von Acylcarnitinen zu sekundär verminderten C0-Konzentrationen im Plasma. Die Untersuchung von krankheitsspezifischen Veränderungen der organischen Säuren im Urin und der Acylcarnitine im Plasma erlauben jedoch eine Differenzierung vom CTD (Magoulas and El-Hattab 2012).

Bestimmte Medikamente, wie Cyclosporin, Pivampicillin, Pivmecillinam und Valproat, binden an Carnitin und fördern dadurch dessen Ausscheidung, was insbesondere bei langfristiger Einnahme die physiologischen Carnitin-Speicher reduzierte (Holme, Greter et al. 1989, Pons and De Vivo 1995, Stanley 2004). Andere Medikamente, beispielsweise Etoposid, Vinblastin, Omeprazol sowie Antibiotika der β -Lactam-Klasse (Cephaloridin, Cefepim, Cefluprenam) und auch der Chino-Ion-Klasse (Levofloxacin), hemmen als organische Kationen den OCTN2 und können durch die gestörte renale Resorption eine sekundäre Carnitin-Defizienz

verursachen (Hirano, Yasuda et al. 2006, Pochini, Scalise et al. 2009, Hu, Lancaster et al. 2012, El-Hattab and Scaglia 2015).

1.2.7 Therapie und langfristiges Krankheits-Management

Sobald ein Verdacht auf einen CTD besteht, sollte – nach der initialen Probenentnahme – mit einer oralen Supplementierung von L-Carnitin begonnen werden. Die initiale Dosierung beträgt zwischen 50 und 200 mg pro kg Körpergewicht (KG) pro Tag (mg/kg KG/Tag). Zur oralen Einnahme liegen Präparate in flüssiger Form als Sirup oder als Kapsel vor. Zur besseren Verträglichkeit und Resorption wird die Gesamtdosis auf drei Tagesdosen morgens, mittags und abends aufgeteilt. Die Dosis sollte abhängig von der Entwicklung der C0 Konzentration im Plasma, der Verträglichkeit und des Symptomansprechens angepasst werden, wobei das Ziel die Normalisierung der C0-Konzentration im Plasma ist (Magoulas and El-Hattab 2012, Longo, Frigeni et al. 2016).

Die orale Carnitin-Supplementierung hat wenige Nebenwirkungen, die insbesondere bei hohen Dosierungen auftreten: Bauchschmerzen, Diarrhoe und „fischartiger“ Körpergeruch, letzterer verursacht durch das Carnitin-Abbauprodukt Trimethylamin (TMA). Eine Dosisreduktion oder die Verteilung auf mehr als drei Tagesdosen können diese Nebenwirkungen reduzieren. Bei anhaltenden Beschwerden können initial probatorisch Probiotika gegeben werden, eine Metronidazol-Therapie mit 10 mg/kg KG/Tag für 7 bis 10 Tage führte jedoch meist zu einer längerfristigen Besserung (Longo, Frigeni et al. 2016).

Bei Dosisanpassungen der Carnitin-Supplementierungen sollten Kontrollen der C0-Konzentration nach 2– 4 Wochen erfolgen. Nach Etablierung einer stabilen C0-Konzentration im Plasma, sollte bei Kindern die C0-Konzentration zweimal jährlich und bei Erwachsenen einmal jährlich bestimmt werden. Zusätzliche Laborparameter können bei diesen regelmäßigen Vorstellungen untersucht werden, müssen aber insbesondere bei akuten Entgleisungen kontrolliert werden. Eine kardiale Kontrolle mittels EKG und UKG sollte bei Kindern einmal jährlich erfolgen, bei Erwachsenen kann der Abstand, abhängig von Ergebnissen vorheriger Untersuchungen, angepasst werden (Magoulas and El-Hattab 2012).

Situationen mit einem erhöhten Energiebedarf bzw. einer reduzierten Nahrungs zufuhr stellen insbesondere bei Kleinkindern Momente mit einem erhöhten Risiko

für eine metabolische Entgleisung dar. Diese Konstellation liegt insbesondere bei fiebераhaften Infekten oft in Kombination mit Nahrungsverweigerung vor. In solchen Situationen ist eine zeitnahe stationäre Aufnahme und Überwachung sowie eine Therapie mit intravenöser (i.v.) Dextrose-Lösung indiziert. Zur Dringlichkeits-Einschätzung sollten der Blutzucker, die C0-Konzentration im Plasma, Leberenzyme, Ammoniak und CK im Labor bestimmt werden. Sofern die Carnitin-Supplementierung in diesen Situationen oral nicht sichergestellt werden kann, sollte sie ebenfalls i.v. erfolgen. Auch bei notwendigen Nahrungskarenzen, beispielsweise im Rahmen von Narkosen bei Operationen, ist eine frühzeitige Aufnahme im Krankenhaus und eine überlappende Versorgung mit Dextrose und Carnitin i.v. indiziert (El-Hattab 2012).

1.2.8 Der Carnitin-Transporter-Defekt als Zielerkrankung im Neugeborenen-screening

Der CTD ist eine seltene, angeborene Stoffwechselerkrankung, die in schweren klinischen Verläufen zu Todesfällen führen kann (Longo, Amat di San Filippo et al. 2006, El-Hattab 2012). Eine klinische Diagnose der Erkrankung war in den meisten Fällen erst möglich, wenn ausgeprägte Symptome auftraten, wobei selten die Diagnose erst post-mortem möglich war (Wilcken, Wiley et al. 2001). Mit der Einführung der TMS im erweiterten NGS kann neben einer Vielzahl von Stoffwechselmetaboliten auch die Konzentration von C0 erfasst werden (Roscher, Fingerhut et al. 2001). Wenn eine frühzeitige Diagnosestellung ermöglicht wird, sind, bei nebenwirkungsarmer und einfach anwendbarer Therapie, symptomatische Ausprägungen und auch Todesfälle vermeidbar (Kishimoto, Suda et al. 2012, Agnelli, Bitton et al. 2013). Diese Eigenschaften machten den CTD zu einem sinnvollen Kandidaten für das erweiterte NGS.

Die Umsetzung des Screenings von Neugeborenen auf CTD in Bayern konnte durch die Integration in bereits vorhandene Strukturen erfolgen. Die Laboranalytik wurde bereits mit Integration des TMS im NGS im Rahmen des bayerischen Pilotprojekts etabliert. Das Tracking durch das LGL zur besseren statistischen Evaluation wurde ebenso im Rahmen des Pilotprojekts für das gesamte NGS in Bayern eingeführt. Gleichzeitig wurden auch die Kapazitäten der Stoffwechselzentren und Screeninglabore ausgebaut (Liebl, Nennstiel-Ratzel et al. 2001). Unter diesen Voraussetzungen wurde der CTD Bestandteil des Pilotprojekts des

NGS in Bayern, um die Aufnahme in das deutschlandweite erweiterte NGS zu evaluieren (Liebl, Nennstiel-Ratzel et al. 2001).

In internationalen Screeningprogrammen fiel auf, dass ein CTD der Mutter (maternaler CTD) eine wichtige Differentialdiagnose für eine auffällige C0-Konzentration im NGS des Kindes darstellt (Vijay, Patterson et al. 2006, Schimmenti, Crombez et al. 2007, Lee, Tang et al. 2010, De Biase, Champaigne et al. 2012, Gallant, Leydiker et al. 2017). Diese Mütter mit CTD hatten überwiegend keine klinische Manifestation entwickelt und waren erst anhand des NGS ihres Kindes diagnostiziert worden. Inwiefern maternale CTD-Fälle von einer lebenslangen Therapie profitieren, ist aktuell noch Gegenstand der Forschung (El-Hattab, Li et al. 2010, Magoulas and El-Hattab 2012, Rasmussen, Køber et al. 2014).

1.3 Zielsetzung der Arbeit

Seit Beginn des Modellprojekts zur Neuordnung des NGS in Bayern im Jahr 1999 wurde im Pilotprojekt und dem anschließenden wissenschaftlichen Begleitprogramm ein Screening der Neugeborenen auf CTD durchgeführt. Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Evaluation des NGS auf CTD in Bayern von Januar 1999 bis Juni 2018 über einen Zeitraum von 19,5 Jahren. Hierfür wurde die Konfirmationsdiagnostik der auffälligen Screening-Proben ausgewertet und das Langzeit-Outcome der identifizierten CTD-Patienten retrospektiv analysiert. Folgende Kriterien wurden untersucht:

- Inzidenz des CTD bei Neugeborenen in Bayern
- Analytische Qualität des NGS auf CTD: Anzahl falsch positiver und falsch negativer Fälle, positiv prädiktiver Wert (PPW) der C0-Konzentration in der Trockenblutkarte (TBK) des NGS
- Häufigkeit des maternalen CTD als Ursache eines auffälligen NGS und Be trachtung möglicher Einflussfaktoren
- Beschreibung des bayerischen Patientenkollektivs anhand von Konfirmations diagnostik, Klinik zum Diagnosezeitpunkt und individuellen Besonderheiten
- Einzelbetrachtung der zur Diagnose verwendeten Laborparameter: C0-Kon zentration der TBK im NGS, C0-Konzentration im Plasma von Neugeborenen und Müttern und molekulargenetische Analyse der identifizierten *SLC22A5*- Varianten
- Analyse der Langzeitbetreuung der Patienten über einen Zeitraum von 19,5 Jahren mit Untersuchung auf klinisch apparente Manifestationen des CTD

Aus diesen Ergebnissen sollte eine Entscheidungsgrundlage für die Empfehlung der Fortführung oder der Beendigung des NGS auf den CTD geschaffen werden.

2 Material und Methoden

2.1 Patientenkollektiv

In der vorliegenden Arbeit wurden die Daten aller Neugeborenen, die im Rahmen der wissenschaftlichen Begleitstudie des NGS und dem vorangegangenen Pilotprojekt des bayerischen NGS (Roscher, Fingerhut et al. 2001, Röschinger, Sonnenschein et al. 2015) mit einer verminderten C0-Konzentration aufgefallen waren und am Dr. von Haunerschen Kinderspital behandelt wurden, untersucht. Der betrachtete Zeitraum vom 1. Januar 1999 bis zum 30. Juni 2018 umfasst 19,5 Jahre. Neben den Neugeborenen wurden auch die Daten der Mütter, die aufgrund des auffälligen NGS ihres Kindes auf CTD abgeklärt wurden, in dieser Arbeit analysiert. Von Kindern und auch Müttern, bei denen sich ein CTD bestätigte oder eine anhaltende Carnitin-Defizienz bestand, flossen alle ambulanten Verlaufsuntersuchungen und stationäre Aufenthalte im Dr. von Haunerschen Kinder- spital in diese Arbeit ein. Darüber hinaus wurden Mütter mit einem CTD nach auffälligem NGS ihres Kindes eingeschlossen, die aus einem anderen Bundesland für die weitere Betreuung an das Dr. von Haunersche Kinderspital gewechselt waren. Erwachsene Patienten, die im Rahmen von Familienscreenings mit einem CTD diagnostiziert wurden, wurden ebenfalls in das Kollektiv dieser Arbeit aufgenommen.

2.2 Neugeborenenscreening auf Carnitin-Transporter-Defekt in Bayern

Vor der Abnahme des NGS wurde ein Elternteil bzw. Sorgeberechtigter über die Untersuchung des Neugeborenen auf angeborene Hormonstörungen und Stoffwechselerkrankungen sowie über die freiwillige Teilnahme am wissenschaftlichen Begleitprogramm mit vergrößertem Untersuchungsumfang aufgeklärt. Diese Aufklärung mittels Infobroschüre und Gespräch ist erforderlich, da das NGS als genetische Reihenuntersuchung nach §3 Abs.°9 dem Gendiagnostikgesetz unterliegt (Deutscher Bundestag 2009, G-BA 2023). Nach schriftlicher Einwilligung wurde zwischen der 36. und 72. Lebensstunde bei dem Neugeborenen eine Blutentnahme durchgeführt und das Blut auf die Testkreise einer TBK (s. Abbildung 4, linker Rand) aufgetragen. Nach Lufttrocknung wurde die Karte in das Labor verschickt und dort weiterverarbeitet.

Abbildung 4: Rückseite der Probenkarte des NGS:

Am linken Rand ist das Filterpapier mit den mit Blut auszufüllenden Ringen zu sehen; im Labor wurden daraus die Proben für die TMS ausgestanzt. Im rechten Abschnitt wurden die Patientendaten von Kind und Mutter notiert. Quelle: (LABOR Becker Olgemöller & Kollegen 2021)

Die Laboranalysen der im NGS mit erweiterten Screeningumfang untersuchten Metabolite wurden vom LABOR Becker in München durchgeführt (Labor Becker 2024). Die Messung der C0-Konzentration erfolgte in einem Analysengang mit der Bestimmung der Acylcarnitine. Dafür wurde aus der TBK ein 3,2 mm großer Stanzling herausgetrennt, das enthaltene Blut in laborinterner Standardlösung mit Methanol gelöst und mittels butanolischer HCl zu korrespondierenden Butylestern derivatisiert, wie zuvor von Fingerhut, Röschinger et al. (2001), Roscher, Fingerhut et al. (2001) beschrieben. Diese Proben wurden in einem Elektrosprayionisation-Tandem-Massenspektrometrie-System analysiert, wobei Massenspektrometer in QQQ-Konfiguration verwendet wurden (Q: Quadrupol; API365®, API3000® und API4000®; Fa. AB Sciex, Toronto, Kanada) (Röschinger, Sonnenschein et al. 2015).

Ein auffälliges Screening-Ergebnis mit einer C0-Konzentration von < 9,0 µmol/L wurde dem Einsender rückgemeldet. Dieser wiederum forderte die Eltern des Kindes zur zeitnahen Abnahme einer Zweitkarte auf, entweder in der Geburtsklinik selbst oder bei dem behandelnden Kinder- bzw. Allgemeinarzt. War die C0-Konzentration weiterhin auffällig, wurde eine Konfirmationsdiagnostik in der Ambulanz für angeborene Stoffwechselerkrankungen des Dr. von Haunerschen Kinderspitals veranlasst.

Parallel hierzu erfolgte im Screeningzentrum des LGL ein Abgleich der gescreneten Neugeborenen mit dem Geburtenregister, um sicherzustellen, dass jedem

in Bayern geborenen Kind ein NGS angeboten wurde. Krankheitsverdächtige und kontrollbedürftige Befunde wurden bis zum Abschluss der Konfirmationsdiagnostik nachverfolgt („Tracking“) (Nennstiel-Ratzel, Liebl et al. 2003). Das Tracking ermöglichte eine genauere Berechnung der Inzidenz und Beurteilung der Prozessqualität.

2.3 Konfirmationsdiagnostischer Ablauf bei Verdacht auf Carnitin-Transporter-Defekt

Mit der Initiierung der Konfirmationsdiagnostik beim Neugeborenen (s. Abbildung 5) wurde der Mutter empfohlen sich ebenfalls auf den CTD untersuchen zu lassen. Die Mutter wurde auf CTD-typische Manifestationen anamnestiziert und der Verlauf der Schwangerschaft, Vorerkrankungen, Medikation, Ernährungsgewohnheiten und plötzliche, unerwartete Todesfälle in der Familie wurden erfragt.

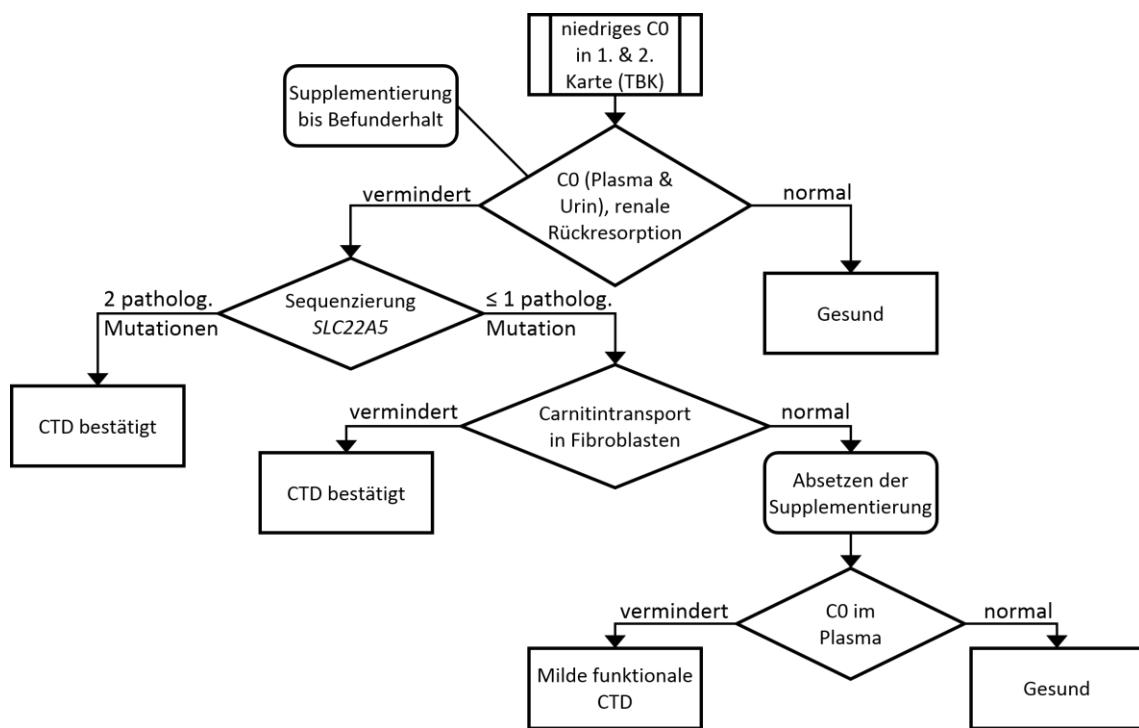


Abbildung 5: Flussdiagramm der Konfirmationsdiagnostik bei V.a. CTD nach auffälligem NGS:
die Konfirmationsdiagnostik wurde für das Neugeborene und die Mutter parallel durchgeführt
Rauten: durchgeführte Diagnostik, Rechteck mit runden Ecken: Beginn/Absetzen der Supplementierung,
Rechteck mit rechtwinkligen Ecken: Diagnose

Im ersten Schritt der Konfirmationsdiagnostik wurden bei dem Neugeborenen und seiner Mutter die Konzentration von C0 im Plasma sowie die renale Resorption von C0 bestimmt. Um der Entwicklung von Symptomen vorzubeugen, wurde nach der Probenabnahme eine vorläufige, gewichtsadaptierte Carnitin-Supplementierung bis zum Befunderhalt begonnen. Die Konzentration von C0 im

Plasma wurde mittels TMS durch das LABOR Becker bestimmt. Die Messungen der renalen Resorption wurden im Verlauf der Studie von zwei unterschiedlichen, externen Laboren durchgeführt. In dem Labor des Universitätsklinikums (UK) Gießen erfolgte die Bestimmung der Carnitin-Konzentrationen in Plasma und Urin enzymatisch, in dem Labor des UK Heidelberg tandemmassenspektrometrisch, was unterschiedliche Referenzbereiche der renalen Resorption von ≥95 % (UK Gießen) und ≥98 % (UK Heidelberg) zur Folge hatte.

Waren beide Parameter auffällig, so wurde die Sequenzierung des *SLC22A5*-Gens durchgeführt. Ein Teil der Sequenzierungen wurde im Labor der UK Gießen durchgeführt und die Ergebnisse in der Dissertation Kliemann (2012) beschrieben. Konnten zwei pathogene Varianten nachgewiesen werden, so war die Diagnose eines CTD gesichert. Lag nur eine, keine, oder eine Variante unklarer Signifikanz vor, wurde dem Patienten eine Hautbiopsie zur *in-vitro*-Messung des Carnitin-Transports in Fibroblasten empfohlen. Diese Messung wurde in dem Labor des Academic Medical Center der UK Amsterdam nach der in Vaz, Scholte et al. (1999) beschrieben Methode durchgeführt. Bei einem verminderten Carnitin-Transport in Fibroblasten von <20 % der normalen Kontrollen (Referenzbereich der Kontrollen 1,06+/-0,30 pmol/min.mg) war die Diagnose CTD ebenfalls bestätigt. Da es sich beim CTD um eine autosomal-rezessiv vererbbares Erkrankung handelt, wurde in der Familienanamnese auf CTD-Manifestationen in direkter Verwandtschaft eingegangen und auch dem engen Familienkreis des Patienten eine Diagnostik bezüglich CTD angeboten (Familienscreening).

Wenn die Patienten bzw. die Eltern die Durchführung einer Hautbiopsie ablehnten oder die Messung des Carnitin-Transports in Fibroblasten nicht eindeutig waren, so wurde die Carnitin-Supplementierung pausiert und mit zeitlichem Abstand erneut die C0-Konzentration im Plasma bestimmt (Auslassversuch). War das C0 im Plasma nach mehrwöchiger Pausierung anhaltend normwertig, so wurde davon ausgegangen, dass die Patienten nur unter einem passageren, sekundären Carnitin-Mangel litten und gesund waren. Fiel die C0-Konzentration erneut unter den Referenzbereich ab, so bestand der Verdacht, dass die Patienten langfristig keine suffizienten Carnitin-Spiegel aufbauen können, und die Wiederaufnahme Supplementierung wurde in Anbetracht der möglichen schwerwiegenden Symptomatik empfohlen. Diese Patienten wurden in der Arbeit mit „mildem, funktionellem CTD“ bezeichnet.

2.4 Therapieinitiierung und Langzeitbetreuung

Bei Diagnosestellung erhielten die Patienten einen Notfallausweis, in dem die Krankheit kurz erläutert und die Therapie in Risikosituationen beschrieben wurde. Um metabolischen Dekompensationen vorzubeugen, sollten die Patienten Fastensituationen vermeiden, wobei den Eltern für Säuglinge und Kleinkinder empfohlen wurde, die maximalen Nahrungspausen kürzer als 4-6 Stunden zu halten. Bei Infekten sollten die Nahrungsabstände verkürzt und zusätzliche Zwischenmahlzeiten mit Maltodextrinlösung angeboten werden. Zusätzlich konnte die Dosis der Carnitin-Supplementierung für die Dauer des Infektes kurzfristig erhöht werden.

Die Carnitin-Supplementierung wurde adaptiert an das KG des Neugeborenen bzw. der Mutter mit 50–100 mg/kg KG/Tag verordnet und auf drei Tagesdosen morgens, mittags und abends aufgeteilt. Zur oralen Einnahme wurden die flüssigen Präparate zur Verabreichung bei Neugeborenen und (Klein-)Kindern präferiert und für die Erwachsenen in Kapselform. Mittels regelmäßiger C0-Messungen im Plasma wurde die Supplementierung an den individuellen Carnitin-Bedarf und insbesondere bei den Kindern an das zunehmende KG angepasst. Bei Neubeginn einer Supplementierung oder bei Dosierungsänderungen erfolgten kurzfristige Bestimmungen der C0-Konzentration im Plasma nach 4 – 12 Wochen.

Bei Diagnosestellung wurde ein initialer Status mittels einer Laboruntersuchung inklusive eines kleinen Blutbilds, den Leberenzymen Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST), und Gamma-Glutamyltransferase (γ -GT), sowie CK und Creatin-Kinase-Myokardtyp (CK-MB), erhoben. Zur Beurteilung des Herzens wurden ein EKG und ein UKG durchgeführt.

Die Patienten mit CTD wurden zu regelmäßigen Verlaufsuntersuchungen in die Ambulanz einbestellt, bei Neugeborenen und Kindern erfolgten diese Vorstellungen alle sechs Monate, bei erwachsenen Patienten alle zwölf Monate. Bei jedem Besuch wurde abgefragt ob sich klinische Manifestationen der Erkrankung wie Hinweise auf eine Kardiomyopathie oder metabolische Dekompensationen in Fastensituationen oder bei fieberhaften Infekten ergeben hätten. Bezuglich der Myopathie wurde erfasst, ob Symptome, wie Muskelschmerzen, Muskelschwäche oder eine verminderte körperliche Belastbarkeit aufgetreten waren. Außerdem wurde die Adhärenz zur täglichen Carnitin-Supplementierung und mögliche

Nebenwirkungen abgefragt. Bei Kindern wurde zusätzlich die psychomotorische Entwicklung dokumentiert. Als labordiagnostische Verlaufspараметer wurden die C0-Konzentration im Plasma sowie die oben genannten Laborparameter bestimmt. Die EKG- und UKG-Untersuchungen wurden jährlich wiederholt. Alle Befunde von EKG und UKG, die im Rahmen dieser Arbeit vorlagen, wurden durch die Kollegen der Kardiologie erneut beurteilt. Erwachsenen Patienten wurde zum Ausschluss einer kardialen Beteiligung eine jährliche Vorstellung bei niedergelassenen Kardiologen empfohlen. Im Verlauf erfolgte die weitere Betreuung erwachsener Patienten meist durch die Stoffwechselambulanz für Erwachsene im Klinikum Großhadern.

2.5 Erfasste Parameter der Konfirmationsdiagnostik und der Langzeitbetreuung

Die Berechnung der Inzidenz und die Untersuchung der analytischen Qualität erfolgte anhand der bayernweiten NGS-Daten, die in dem Begriff Screeningkollektiv zusammengefasst wurden. Die Daten zur Konfirmationsdiagnostik, Klinik, Supplementierung und Verlaufsmessung des C0, etc. stammten aus der Subgruppe der im Dr. von Haunerschen Kindespoliklinik betreuten Patienten, im Folgenden unter dem Begriff Patientenkollektiv zusammengefasst.

Für die vorliegende Arbeit wurden alle verfügbaren Akten der Neugeborenen mit auffälligem NGS und ihrer Mütter retrospektiv systematisch erfasst und ausgewertet. Die Akten wurden über das Klinische Informationssystem der LMU, i.s.h.med® von Cerner® (2015) integriert in SAP®, bezogen. Archivierte digitalisierte Akten wurden über das Programm Soarian Health Archive (Cerner® 2015) eingesehen. Wenn Akten nur in Papierform vorlagen, wurden sie im Original aus dem Archiv angefordert.

Von der Konfirmationsdiagnostik wurden folgende Daten von Kind und Mutter erhoben, sofern sie vorlagen:

- Alter zum Zeitpunkt der Vorstellung
- C0-Konzentration in der TBK sowie Abnahmezeitpunkt von Erstkarte und Zweitkarte
- C0-Konzentration im Plasma (TMS)

- Renale Resorption: C0-, Acylcarnitin- und Kreatinin-Konzentration im Plasma und Urin sowie die berechnete fraktionelle renale Resorption von C0
- Acylcarnitin-Konzentration im Plasma und organische Säuren im Urin zur differentialdiagnostischen Abklärung
- Carnitin-Transport in kultivierten Fibroblasten
- Molekulargenetische Analyse des *SLC22A5*-Gens
- Detaillierte Anamnese, insbesondere typische Manifestationen eines CTD
- Auffälligkeiten in der körperlichen Untersuchung
- Anamnese der zurückliegenden Schwangerschaft und Geburt
- Geburtsgewicht, Körpergröße und Kopfumfang des Neugeborenen
- Anamnese vorheriger Schwangerschaften
- Anamnese der Vorerkrankungen, insbesondere mit kardialem und nephrologischem Fokus
- Medikamentenanamnese
- Ernährungsform (Mischkost, vegetarisch, vegan); bei Kindern Stillen oder Flaschennahrung
- Carnitin-Dosierung bis Befunderhalt in mg/kg KG/Tag
- EKG- und UKG-Befund
- Laborparameter: Hämoglobin, Hämatokrit, Erythrozyten-Indizes, Ferritin, Transferrin, ALT, AST, γ-GT, CK, CK-MB

Von den Patienten mit konfirmiertem CTD, die am Dr. von Haunerschen Kinder-
spital betreut wurden, wurden alle ambulanten Vorstellungen sowie stationären
Aufnahmen wie folgt erfasst:

- Alter zum Zeitpunkt der Vorstellung
- Anamnese: Allgemeine Symptome, muskuläre Symptome, Hinweise auf metabolische Entgleisungen, Infekte, Operationen und anderweitige Aufälligkeiten seit letzter Kontrolluntersuchung
- Für Neugeborene/Kinder: Anthropometrische Daten (Länge, Gewicht, Kopfumfang) und psychomotorische Entwicklung
- C0-Konzentration im Plasma (TMS)
- Sofern bestimmt wiederholte renale Resorption von C0
- Aktuelle tägliche Gesamtdosis der Carnitin-Supplementierung in mg/kg KG/Tag

- weitere Medikamente
- Ernährungsform
- EKG- und UKG-Befunde
- Befunde weiterer, auch extern durchgeföhrter Untersuchungen, wie Kar-dio-MRTs, cerebrale MRTs und Herzkatheter-Ergebnisse
- Laborparameter: Hämoglobin, Hämatokrit, Erythrozyten-Indizes, Ferritin, Transferrin, ALT, AST, γ-GT, CK, CK-MB

Mit der Extraktion aus den Akten wurden die Daten anonymisiert, es wurden alle eventuell enthaltenen Namen oder Geburtsdaten entfernt. Die Datenerhebung erfolgte in zufälliger, nicht chronologischer Reihenfolge, jedem wurde eine fortlaufende Nummer zugeordnet. Ein Rückschluss auf patientenbezogene, persönliche Informationen ist damit nicht mehr möglich.

2.6 Statistische Auswertung

Statistische Auswertungen und Abbildungen wurden mit dem Programm IBM SPSS Statistics Version 25 für Microsoft Windows erstellt (IBM Corp. 2017). Das Alpha-Fehlerniveau für statistische Tests wurde auf 5 % festgelegt. Mittelwerte wurden unter Angabe der Standardabweichung (\pm SD) oder der Spannweite (Min. – Max.) berichtet.

Für das NGS wurden die Qualitätsparameter nach Luders, Blankenstein et al. (2021) bestimmt:

$$\text{Positiv prädiktiver Wert} = \frac{\text{Kinder mit auffälligem NGS und bestätigtem CTD}}{\text{Kinder mit auffälligem NGS}}$$

$$\text{Sensitivität} = \frac{\text{Kinder mit bestätigtem CTD und auffälligem NGS}}{\text{Kinder mit bestätigtem CTD}}$$

$$\text{Spezifität} = \frac{\text{gesunde Kinder mit unauffälligem NGS}}{\text{gesunde Kinder}}$$

$$\text{Recall – Rate} = \frac{\text{auffälliges NGS der Erstkarte}}{\text{Gesamtzahl der Screening – Befunde}}$$

Für den PPW der C0-Konzentration im NGS wurde eine Sensitivitätsanalyse durchgeführt, da für einen Neugeborenen mit auffälliger C0-Konzentration bei

fehlender Konfirmationsdiagnostik keine Aussage über die abschließende Diagnose getroffen werden konnte. In der Sensitivitätsanalyse wurden die Werte zweimal berechnet, wobei der nicht abgeschlossene Fall einmal als bestätigter CTD und einmal als gesund gewertet wurde (Siebertz, van Bebber et al. 2010).

Die C0-Konzentration von Erst- bzw. Zweitkarte wurde auf eine Korrelation mit dem jeweiligen Abnahmezeitpunkt untersucht. Dafür wurde eine bivariate Korrelation nach Bravais-Pearson berechnet. Die Voraussetzungen waren wie folgt erfüllt: Die Variablen C0-Konzentration und Abnahmezeitpunkt waren metrisch skaliert. Die Erstkarte eines Patienten wurde außerhalb des vorgeschriebenen Screening-Zeitraums abgenommen, sodass dieser Wert als Ausreißer ausgeschlossen wurde. Aufgrund der kleinen Stichprobengröße konnte nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden, sodass ein Bootstrapping durchgeführt wurde. Das Bootstrapping beruht darauf, dass aus der Gesamtheit der vorhandenen Proben neue Stichproben mit Zurücklegen gezogen werden, in der vorliegenden Arbeit wurden 1000 Stichproben verwendet. Für jede dieser neu gezogenen Stichproben wurde die Korrelation berechnet, wobei mit der Gesamtheit der Ergebnisse ein 95 %-Konfidenzintervall (95 %-KI) der Korrelation bestimmt wurde. Sofern dies null nicht einschloss, konnte die Korrelation als signifikant gewertet werden. (Efron 1987, Kennet-Cohen, Kleper et al. 2018).

2.7 Ethikvotum

Das Konzept der vorliegenden Arbeit wurde der Ethikkommission der medizinischen Fakultät der LMU zur Begutachtung vorgelegt. Aufgrund der retrospektiven und anonymisierten Erhebung konnte auf eine Einverständniserklärung verzichtet werden (Ethikvotum Nr. 18-646).

3 Ergebnisse

3.1 Inzidenz des Carnitin-Transporter-Defekts und analytische Qualität im bayerischen Neugeborenenscreening

Im beobachteten Zeitraum vom 01.01.1999 bis 30.06.2018 wurden in Bayern 2.200.000 Kinder geboren. Davon wurden 1.816.000 NGS-Proben (82,5 %) im Labor Becker und somit auf CTD untersucht. Über das NGS wurde bei sechs Neugeborenen ein CTD diagnostiziert, was einer Inzidenz von 1:303.000 entsprach. Von diesen sechs Neugeborenen wurden vier im Dr. von Haunerschen Kinderspital behandelt (Zusammengefasst in Tabelle 2).

Zeitraum	01.01.1999 – 30.06.2018
Jahre	19,5
Geburten in Bayern	2.200.000
Screenings im Labor München (Prozentualer Anteil an allen Geburten in Bayern)	1.816.000 (82,5 %)
Neugeborene mit CTD (davon im Dr. von Haunerschen Kinderspital behandelt)	6 (4)
Kumulative-Inzidenz	1:303.000

Tabelle 2: Screening-Zeitraum und Inzidenz des bayerischen NGS auf CTD

Da erst ab dem 01.01.2008 die Anzahl an notwendigen Zweituntersuchungen erfasst wurde, konnten nur die Daten des Zeitraums vom 01.01.2008 bis zum 30.06.2018 für die Untersuchung der analytischen Qualität herangezogen werden (s. Abbildung 6). In diesem Zeitraum wurden 890.000 NGS auf CTD durchgeführt und bei initial auffälligem C0 in der Erstkarte 184 Zweitkarten angefordert, was einer Recall-Rate von 0,021 % entsprach. Bei 30 Neugeborenen ergab die Zweitkarte erneut verminderte C0-Konzentrationen, sodass eine Konfirmationsdiagnostik empfohlen wurde. In einem Fall wurde die Konfirmationsdiagnostik nicht initiiert und auch weitere Kontaktversuche verblieben erfolglos („lost to follow up“). Nach Abschluss der Konfirmationsdiagnostik wurde bei drei Neugeborenen ein CTD diagnostiziert, die verbliebenen 26 Neugeborenen zeigten keine Hinweise auf einen CTD. Von diesen 29 Abklärungen mittels Konfirmationsdiagnostik wurden im Dr. von Haunerschen Kinderspital 18 Neugeborene mit darunter einer CTD-Diagnose betreut, die verbliebenen elf Fälle mit davon zwei

bestätigten CTD-Fällen wurden in anderen Kliniken bzw. bei Kinderärzten behandelt. Es soll dabei darauf hingewiesen sein, dass von diesen elf Fällen keine Daten vorlagen, weshalb diese in der weiteren Arbeit nicht näher beschrieben wurden.

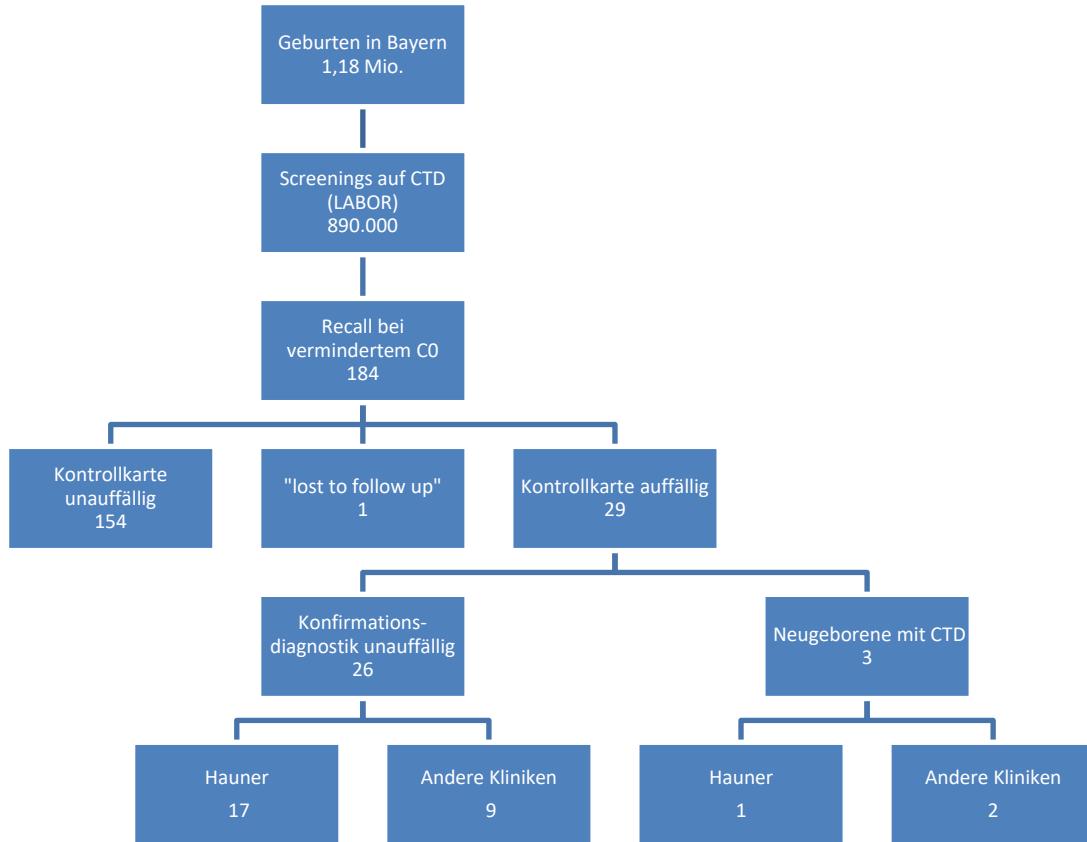


Abbildung 6: Analytische Qualität des bayerischen NGS auf CTD im Zeitraum 01.01.2008 bis 30.06.2018: Anzahl angeforderter Kontrollkarten und weiterführende Abklärung; C0: freies Carnitin; die letzte Zeile gibt an, ob die Konfirmationsdiagnostik bzw. CTD-Diagnose am Dr. von Haunerschen Kinder-
spital (Hauner) oder in externen Kliniken/Kinderarztpraxen (Andere Kliniken) erfolgt war

Zur Bestimmung des positiv prädiktiven Wertes (PPW) des NGS auf CTD wurde bei einem „lost to follow up“ eine Sensitivitätsanalyse durchgeführt. Unter der Annahme, dass das Neugeborene gesund war, lag der PPW bei 1,63 %, unter der Annahme eines echten CTD-Falles betrug der PPW 2,17 %. Reziprok lag die Spezifität für den Fall eines gesunden Neugeborenen bei 99,9797 %, für den Fall einer CTD-Diagnose bei 99,9798 %. Für den beschriebenen Zeitraum wurden keine symptomatischen CTD-Patienten bekannt, die vom Pilotprogramm bzw. dem wissenschaftlichen Begleitprogramm des bayerischen NGS nicht erfasst wurden. Somit ist primär von keinem falsch negativen Fall auszugehen, wobei keine systematische Erfassung möglich war.

3.2 Beschreibung des Patientenkollektivs

3.2.1 Patienten aus dem NeugeborenenScreening in Bayern

In dem betrachteten Zeitraum wurden am Dr. von Haunerschen Kinderspital 24 Neugeborene zur Abklärung auf CTD vorgestellt (s. Abbildung 7). Bei fünf Neugeborenen ergab die Konfirmationsdiagnostik einen CTD, wobei dieser bei vier Neugeborenen durch die Bestimmung des Carnitin-Transports in Fibroblasten und den Nachweis zweier Varianten im *SLC22A5*-Gen gesichert wurde. Bei dem fünften Neugeborenen CTD-09, verblieb, trotz für einen CTD passender Laborveränderungen, die Untersuchung des *SLC22A5*-Gens ohne Nachweis einer Variante. Dieselbe Konstellation lag auch bei der Mutter des Neugeborenen vor Mutter (CTD-10), weshalb beide als „milder, funktioneller CTD“ eingestuft wurden. Nur bei einem weiteren Neugeborenen mit CTD (CTD-07) wurde im Rahmen der Abklärung auch bei der Mutter CTD-08 ein CTD diagnostiziert. Bei den weiteren 19 zur Konfirmationsdiagnostik vorgestellten Neugeborenen konnte das Vorliegen eines CTD ausgeschlossen werden.

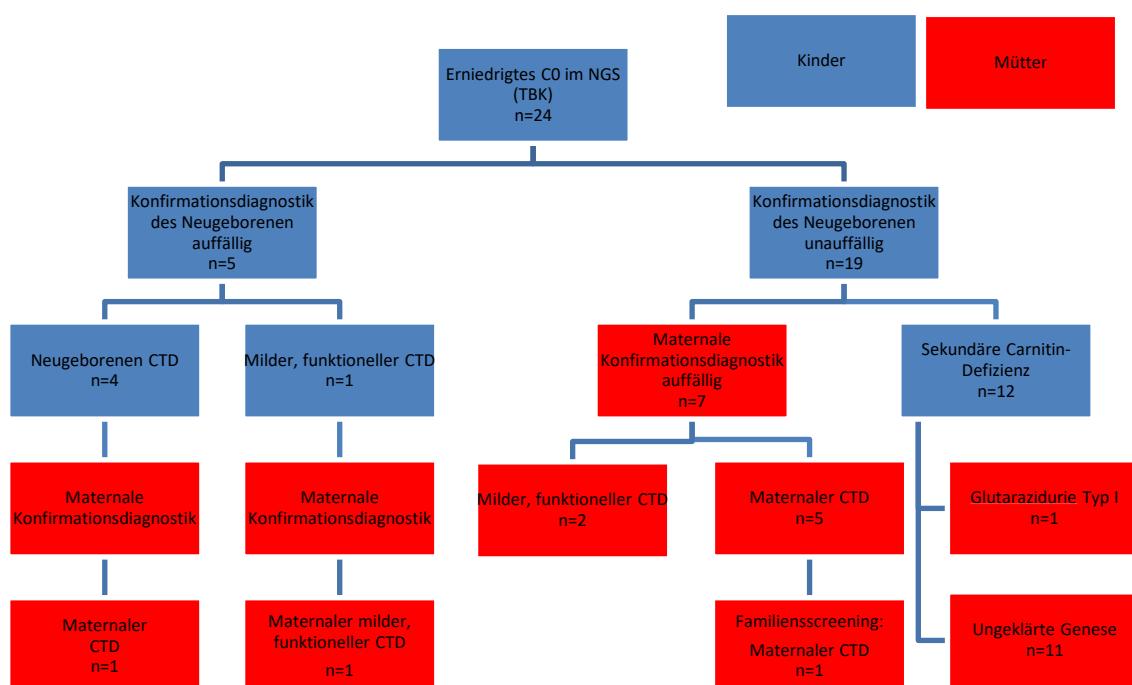


Abbildung 7: Untersuchtes Patientenkollektiv aus dem bayerischen NGS auf CTD von 01/1999 bis 06/2018

Bei auffälligem NGS auf CTD wurde den Müttern der Neugeborenen zur differentialdiagnostischen Einordnung eine Abklärung auf CTD empfohlen. Von den 19 Neugeborenen mit unauffälliger Konfirmationsdiagnostik wurde bei fünf Müttern ein CTD als Ursache des auffälligen NGS ihres Kindes festgestellt. Bei weiteren

zwei Müttern war die Labordiagnostik hinweisend auf einen CTD, molekulargenetisch konnte jedoch nur eine Variante nachgewiesen werden, was als „milder, funktioneller CTD“ eingeordnet wurde. Außerdem wurde bei einer Mutter eine bislang nicht bekannte Glutarazidurie Typ I (GA Typ I) festgestellt, die die sekundäre Carnitin-Defizienz ihres Kindes und das somit auffällige NGS verursacht hatte. Über ein Familienscreening wurde bei der Schwester einer Mutter mit CTD ebenso ein CTD festgestellt (s. Abbildung 7 „Familienscreening: Maternale CTD“). Bei den verbliebenen elf Fällen konnte in der Konfirmationsdiagnostik weder bei den Kindern noch deren Müttern eine Ursache für die verminderte Co-Konzentration im NGS nachgewiesen werden.

3.2.2 Weitere ins Kollektiv eingeschlossene Patienten mit Carnitin-Transporter-Defekten aus Neugeborenenscreenings außerhalb von Bayern

Neben den über das bayerische NGS detektierten CTD-Fällen, wurden in diese Arbeit die Fälle von zwei Neugeborenen aus NGS anderer deutscher Bundesländer aufgenommen, die sich zur Diagnostik und weiterführenden Therapie im Dr. von Haunerschen Kinderspital vorstellten. In beiden Fällen konnte der CTD bei den Neugeborenen ausgeschlossen werden, jedoch wurde bei einer Mutter ein maternaler CTD und bei einer Mutter ein milder, funktioneller CTD nachgewiesen. In der Familie der Mutter mit gesichertem CTD wurde über ein Familien-screening auch bei ihrer Schwester ein CTD festgestellt.

3.2.3 Nicht-genetische Einflussfaktoren auf ein vermindertes Carnitin

Um mögliche Einflussfaktoren auf die falsch positiven NGS zu eruieren, wurden insbesondere zwei Faktoren abgefragt.

Da ein alimentär bedingter Carnitin-Mangel als mögliche Ursache falsch positiver NGS auf CTD diskutiert wurde, wurden die Ernährungsgewohnheiten der Mütter während der Schwangerschaft erfasst. Aus der Gruppe der Gesunden ernährte sich während der Schwangerschaft eine Mutter vegetarisch, eine weitere berichtete von einem reduzierten Fleischkonsum (2/12). Auch in der Gruppe der CTD-Fälle berichteten zwei von zwölf Müttern von einem reduzierten Fleischkonsum, sodass für das untersuchte Kollektiv der Anteil der Person mit einem reduziertem Fleischkonsum in beiden Gruppen gleich war.

Während der Schwangerschaft kommt es mitunter zu starken Veränderungen im Carnitin-Stoffwechsel, sodass sowohl die Anzahl der Schwangerschaften zum Zeitpunkt des Screenings als auch die Abstände aufeinander folgender Schwangerschaften als Einflussfaktoren für einen sekundär verminderten Carnitin-Spiegel in Betracht kamen. Der geringste Abstand zweier aufeinander folgenden Schwangerschaften von vorangegangener Geburt zu NGS-positiver Geburt war zwei Jahre in der Gruppe der CTD-Erkrankten und 2,25 Jahre in der Gruppe der Gesunden. Ein Abstand von aufeinanderfolgenden Geburten von weniger als drei Jahren lag häufiger unter den CTD-Fällen (4/12) als unter den falsch positiven Gesunden vor (1/12). Die Anzahl vorangegangener Schwangerschaften zum Zeitpunkt des auffälligen Screenings war unter den Gesunden höher als unter den CTD-Fällen. So waren unter den CTD-Fällen acht von zwölf Erstgebüten, wohingegen unter den Gesunden nur in vier von zwölf Fällen eine Erstgeburt vorlag. Dabei war unter den CTD-Fällen in drei von vier Zweitgeburten bereits die erste Geburt im Rahmen des wissenschaftlichen Begleitprogrammes des NGS auch auf CTD gescreent worden, was jedoch negativ ausgefallen war. Zusammenfassend erscheint ein durch die vorangegangene Schwangerschaft reduzierter Carnitin-Spiegel in der darauffolgenden Schwangerschaft als Faktor für falsch positive Ergebnisse unwahrscheinlich. Dass bei den falsch positiven Screenings nur in einem Drittel der Fälle eine Erstgeburt vorlag, könnte ein Hinweis auf die multifaktorielle Genese der falsch positiven Ergebnisse sein. Jedoch zeigen auch die drei negativen Erstscreenings unter den CTD-Fällen, dass sich auch ein maternaler CTD nicht immer im Screening des Neugeborenen widerspiegeln muss.

3.3 Ergebnisse der Konfirmationsdiagnostik nach positivem Neugeborenen-screening

3.3.1 Neonatale/pädiatrische Patienten mit Carnitin-Transporter-Defekt

Bei vier Neugeborenen, CTD-01, CTD-03, CTD-05 und CTD-07 konnte ein CTD anhand der Molekulargenetik bestätigt werden, die Ergebnisse der Konfirmationsdiagnostik sind in Tabelle 5 dargestellt. Nach einer verminderten C0-Konzentration in Erst- und Zweitkarte zeigten CTD-01, CTD-03 und CTD-07 auch verminderte C0-Konzentrationen im Plasma und eine reduzierte renale Resorption von Carnitin, was in Kombination hinweisend war auf einen CTD.

Tabelle 3: NGS, Konfirmationsdiagnostik und Symptomatik der Kinder mit CTD

Patient	Geschlecht	Alter bei Diagnose [T = Tage, J = Jahre]	C0 NGS von Erstkarte/ Zweitkarte	C0 im Plasma [µmol/L]	Renale Resorption von C0 [%]	Carnitin-Transport in Fibroblasten [pmol/min.mg]	Variante des SLC22A5-Gens [Allel 1/Allel 2]	Carnitin-Dosis bei letzter Vorstellung [mg/kg KG/Tag]	Klinik Herz	Myopathie
Referenz										
CTD-01	w	32 T	6 / 2,5	4,9	61°	0 (0 %)	c.351G>A / Deletion von Exon 2 auf cDNA-Ebene	70	unauffällig	-
CTD-03 ^a	m	21 T	5 / 1	0,8	0°	0 (0 %)	c.458_459delTG / c.1403C>G	110	unauffällig	-
CTD-05	m	1 J	6 / 6	N/A	N/A	0,09 (8,5 %)	c.761G>A / -	35	auffällig (s. 3.7.6)	+
CTD-07 ^b	m	13 T	4 / 4	7,6	95*	N/A	c.641C>T / c.641C>T	70	unauffällig	-
Kind mit milder, funktioneller CTD ohne SLC22A5-Variante										
CTD-09 ^c	w	30 T	3,5 / 4,5	17,5	91°	0,26 (24,5 %)	- / -	27,5 ^d	-	-

Legende: Geschlecht: m=männlich, w=weiblich; Klinik: + Auffälligkeiten, - keine Auffälligkeiten; N/A = nicht vorhanden

^a 14-mal erfolgten prophylaktische, stationäre Klinik-Aufnahmen

^b Sohn von CTD-08, siehe Tabelle 6

^c Tochter von CTD-10, siehe Tabelle 7; erstes Geschwisterkind im Alter von 15 Mon. an plötzlichem Kindstod verstorben

^d C0 im Plasma bei zweimaligem Auslassversuch von 12,5 und 9,6 µmol/L; seit 15. Lj. Vegetarische Ernährung ohne Notwendigkeit einer Dosisadjustierung

Die Initialdiagnostik und Therapie von CTD-01 wurde von einem niedergelassenen Kinderarzt veranlasst. Zur Bestätigung und weiteren Behandlung des CTD wurde die Patientin im Alter von einem Jahr im Dr. von Haunerschen Kinderspital vorgestellt. Auch Patient CTD-05 wurde die ersten Lebensjahre von einem niedergelassenen Kinderarzt betreut, welcher die Carnitin-Supplementierung im ersten Lebensjahr initiierte. Die Konfirmationsdiagnostik von CTD-05 erfolgte erst im fünften Lebensjahr bei Vorstellung am Dr. von Haunerschen Kinderspital, weshalb keine initialen Laboruntersuchungen vorlagen.

Bei drei von vier Kindern wurde die Diagnose CTD durch zwei Varianten des *SLC22A5*-Gens nachgewiesen, CTD-05 hingegen zeigte nur eine Variante des Gens. Der auf 8,5% der Kontrollen reduzierte Carnitin-Transport in Fibroblasten bestätigte die Diagnose. Auch bei CTD-01 und CTD-03 wurde ergänzend zur genetischen Diagnostik der Carnitin-Transport in Fibroblasten gemessen, wobei bei beiden keine Restaktivität nachweisbar war. Die Eltern von CTD-07 waren konsanguin, auch bei der Mutter (CTD-08) ließ sich biochemisch und genetisch ein CTD nachweisen (s. Tabelle 4).

Alle Kinder mit Ausnahme von CTD-05 waren kardial unauffällig (s. Absatz 3.7.6). Keines der Kinder zeigt Anzeichen einer hepatischen Beteiligung, metabolischen Dekompensationen oder Myopathie, allerdings wurde CTD-03 14 mal prophylaktisch stationär betreut (s. Abschnitt 3.7.4). Auch die psychomotorische Entwicklung war über den gesamten Beobachtungszeitraum unauffällig (s. Absatz 3.7.3).

Die Patientin CTD-09 (s. Tabelle 3) war über das NGS aufgefallen und zeigte bei der Bestimmung von C0 im Plasma und der renalen Resorption Hinweise auf einen CTD. Auch die Mutter CTD-10 (s. Tabelle 5) hatte ähnliche Laborveränderungen, jedoch war die molekulargenetische Untersuchung des *SLC22A5*-Gens für beide unauffällig. Die Messung des Carnitin-Transports in Fibroblasten war hingegen mit 24,5 % (CTD-09) bzw. 32, 6% (CTD-10) auffallend reduziert, jedoch nicht in den sicher diagnostischen Bereich (< 20 %). Anamnestisch fand sich der plötzliche Kindstod des ersten Kindes der Familie im Alter von 15 Monaten. Sowohl bei der Tochter als auch bei der Mutter fiel nach Absetzen der Carnitin-Supplementierung die C0-Konzentration unter den Normbereich ab (s. Tabelle 3, Tabelle 5), sodass ein milder, funktioneller CTD diagnostiziert und in Zusam-

menschau mit der Familienanamnese eine dauerhafte Supplementierung empfohlen wurde. Die Tochter CTD-09 zeigte im Beobachtungszeitraum eine unauffällige Entwicklung und keine Manifestation des CTD. Die Mutter entwickelte behandlungsbedürftige Extrasystolen (s. Absatz 3.7.6).

Tabelle 4: Konfirmationsdiagnostik und Symptomatik der gesicherten, maternen CTD-Fälle

Referenz	Patientin Alter bei Diagnose [Jahre]	C0 im Plasma [$\mu\text{mol}/\text{L}$]	Renale Resorption von C0 [%] der gefilterten Ladung]	Carnitin-Transport in Fibroblasten [pmol/min.mg]	Variante des SLC22A5-Gens [Allel 1 / Allel 2]	Carnitin-Dosis bei letzter Vorstellung [mg/kg KG/Tag]	Klinik Herz Hyper-trophie
CTD-08 ^a	28	6,0	93*	N/A	c.641C>T / c.641C>T	30	unauffällig -
CTD-12 ^b	31	2,1	60°	0,02 (1,9 %)	c.136C>T / c.769-786del18	55	unauffällig -
CTD-14 ^b	32	0,5	N/A	N/A	c.136C>T / c.769-786del18	65	unauffällig -
CTD-16 ^b	36	3,1	82.1°	N/A	c.136C>T / c.1531G>C	90	unauffällig -
CTD-17 ^b	37	2,5	60.4°	N/A	c.136C>T / c.1531G>C	90	unauffällig -
CTD-20	34	2,3	87.8°	N/A	c.136C>T / c.98G>T	90	unauffällig -
CTD-22	32	5,2	87.5°	N/A	c.136C>T / c.1195C>T	70	N/A N/A
CTD-24	23	< 2,0	(99.5) ^c	N/A	c.136C>T / c.506G>A	100	N/A N/A
CTD-26	25	8,0	N/A	0 (0 %)	c.394-16T>A / -	30	N/A N/A

Legende: + Auffälligkeiten, - keine Auffälligkeiten; N/A = nicht vorhanden

^a Mutter von CTD-07, s. Tabelle 3;

^b CTD-12 und -14 sowie CTD-16 und -17 sind Schwestern; CTD-14 und -17 wurden jeweils im Rahmen eines Familienscreenings identifiziert

^c bei nicht messbarem C0 im Plasma nicht beurteilbar

^d inzidentell festgestelltes, verschlossenes Vorhofaneurysma s. Absatz 3.7.6

3.3.2 Maternaler Carnitin-Mangel

Im Rahmen der Konfirmationsdiagnostik bei auffälligem NGS fielen elf Mütter mit verminderter C0-Konzentration im Plasma auf. Die Frauen wurden entsprechend der nachgewiesenen Ursache in drei Subgruppen unterteilt: 1) Gesicherter CTD, 2) milder, funktioneller CTD und 3) sekundärer Carnitin-Mangel.

3.3.2.1 Gesicherter, maternaler Carnitin-Transporter-Defekt

Bei sieben Müttern wurde, nach Abklärung im Rahmen des auffälligen NGS ihres Kindes, aus der molekulargenetischen Analyse des *SLC22A5*-Gens oder in Kombination mit der Untersuchung des Carnitin-Transports in Fibroblasten die Diagnose eines maternalen CTD gestellt (s. Tabelle 4). Die Patientin CTD-08 wurde bereits im Abschnitt 3.3.1 gemeinsam mit ihrem Sohn CTD-07 erwähnt. Die Patientin CTD-26 wies nur eine Variante des *SLC22A5*-Gens auf, die Abklärung mittels des Carnitin-Transportes in Fibroblasten ergab keine messbare Restaktivität und bestätigte somit die CTD-Diagnose. Auch bei CTD-12 war die Restaktivität des Carnitin-Transports in Fibroblasten mit 1,8 % der Kontrollen diagnostisch vermindert.

Keine der Frauen hatte zum Zeitpunkt der Diagnosestellung Symptome oder eine klinisch nachweisbare Manifestation des CTD, die frühkindliche Entwicklung der Frauen war bis auf die Ausnahme von CTD-16 und ihrer Schwester CTD-17 (s. unten) unauffällig. Die Mehrzahl der Mütter lehnte eine Diagnosebestätigung mittels Carnitin-Transport-Messung in Fibroblasten ab. Auch die langfristige Therapieadhärenz und Compliance sowohl bezüglich regelmäßiger Kontrolluntersuchungen als auch konsequenter Carnitin-Supplementierung war meist niedrig. Exemplarisch nahm die Patientin CTD-24 nach Diagnosestellung keine weiteren Termine mehr wahr, die Patientin CTD-22 setzte ihre Supplementierung ab. Oftmals wurde trotz Empfehlung keine kardiologische Untersuchung durchgeführt.

Aufgrund des autosomal-rezessiven Erbgangs des CTD wurde den betroffenen Müttern ein Familienscreening angeboten. Dabei wurden zwei weitere Frauen mit CTD diagnostiziert, die in die Langzeitbeobachtung aufgenommen wurden: Die Schwester von CTD-12, CTD-14 hatte keine symptomatische Ausprägung und eine bis dato unauffällige Krankheitsgeschichte gehabt. CTD-17 wurde über das Familienscreening nach Diagnose ihrer Schwester CTD-16 gefunden. Beide

Tabelle 5: Konfirmationsdiagnostik und Symptomatik der Fälle mit mildem, funktionellem CTD und des Falles mit Glutarazidurie Typ I

Patientin	Alter bei C0 im Diagnose [Jahre]	C0 im Plasma [μmol/L]	Renale Resorption von C0 [% der gefüllten Ladung]	Carnitin-Transport in Fibroblasten [pmol/min.mg]	Variante des SLC22A5-Gens [Allel 1/Allel 2]	Carnitin-Dosis bei letzter Vorstellung [mg/kg KG/Tag]	Klinik Herz Hyper-trophie
Referenz	8,9-93,3	°>95 bzw. * > 98	1,06/-0,30				
Milder, funktioneller CTD bei heterozygoter Variante							
C0 unter Auslass-Versuch [μmol/L]							
CTD-28	39	6,7	80°	0,32 (30,2 %)	c.136C>T / -	58	unauffällig - - 10,5
CTD-30	38	4,6	87,3°	N/A	c.1385 G>T / -	13	Unauffällig - +
CTD-32	29	5,5	90,1°	N/A	c.136C>T / -	34	N/A - + 7,8
Milder, funktioneller CTD ohne SLC22A5-Variante							
CTD-10 a,b	30	10,5	74°	0,34 (32,1 %) - -	25	Extrasystolen - - (s. 3,7,6)	16,7
Glutarazidurie Typ I							
Varianten des GCDH-Gens							
CTD-34	31	2,1	55,6°	N/A	c.1156C>T / c.1262C>T	28	N/A N/A -

Legende: Klinik: + Auffälligkeiten, - keine Auffälligkeiten, N/A = nicht vorhanden

^a Mutter von CTD-09, s. Tabelle 3

^b erstes Kind mit 15 Mon. an plötzlichem Kindstod gestorben

waren jeweils im Alter von 1-2 Monaten stationär bei einer Gedeihstörung mit Phasen rezidivierenden Erbrechens und Blässe behandelt worden, wobei damals keine Ätiologie zu eruieren war. Die weitere kindliche Entwicklung und spätere Krankheitsgeschichte beider Schwestern waren unauffällig verlaufen.

3.3.2.2 Milder, funktioneller Carnitin-Transporter-Defekt bei heterozygoter Variante

Die drei Mütter CTD-28, CTD-30 und CTD-32 wiesen bei molekulargenetischer *SLC22A5*-Analyse nach auffälligem NGS ihres Kindes jeweils nur eine heterozygote Variante auf, bei zu einem CTD passenden Laborveränderungen (s. Tabelle 5). Zwei Mütter lehnten eine Messung des Carnitin-Transports in Fibroblasten zur Einordnung der Erkrankung ab. Die Mutter CTD-28 hatte in dieser Untersuchung einen Transport von 30,2 % der Kontrollen und lag somit oberhalb des Grenzwerts von 20%. Alle drei Frauen gaben leichte, fraglich CTD-assoziierte Symptome, wie Müdigkeit und reduzierte Belastbarkeit (CTD-28), Muskelschwäche und Muskelschmerzen (CTD-30) oder unter Belastung betonte, rezidivierende Beinkrämpfe (CTD-32) an. Unter probatorischer Carnitin-Supplementierung empfanden alle drei Frauen eine Regredienz ihrer Symptomatik. Bei einem kontrollierten Auslassversuch der Carnitin-Supplementierung fiel die C0-Konzentration im Plasma von CTD-28 und CTD-32 grenzwertig ab, bei CTD-30 rezidierte die Symptomatik. Alle drei Müttern entschieden sich für eine Fortführung der Carnitin-Supplementierung und die Fälle wurden als milder, funktioneller CTD eingeordnet.

3.3.2.3 Maternale, sekundäre Carnitin-Defizienz bei Glutarazidurie Typ I

Bei der Abklärung des NGS ihres Kindes fielen bei der Mutter CTD-34 neben einem sehr niedrigem C0 im Plasma eine isolierte Erhöhung von Glutaryl-Carnitin auf, hinweisend auf eine GA Typ I (s. Tabelle 5). In der genetischen Untersuchung zeigten sich bekannt pathologische Varianten im *GCDH*-Gen, so dass die Diagnose GA Typ I bestätigt war. Der Patientin wurde eine niedrig dosierte Carnitin-Supplementierung empfohlen. Der passagere Carnitin-Mangel ihres Kindes (CTD-33) war ursächlich auf den sekundären Carnitin-Mangel der Mutter zurückzuführen und das Kind zeigte im Verlauf normwertige C0-Konzentrationen.

3.4 Konzentration des freien Carnitins in den auffälligen Neugeborenen screenings und Korrelation mit dem Abnahmezeitpunkt

Da sich in der Konfirmationsdiagnostik nach auffälligem NGS mehrere mögliche Diagnosen gezeigt hatten, sollte geprüft werden, ob man bereits an der C0-Konzentration der TBK und deren Verlauf einen Unterschied zwischen den Gruppen feststellen könnte. In Abbildung 8 sind die C0-Konzentrationen von Erst- und Zweitkarte der Neugeborenen dargestellt.

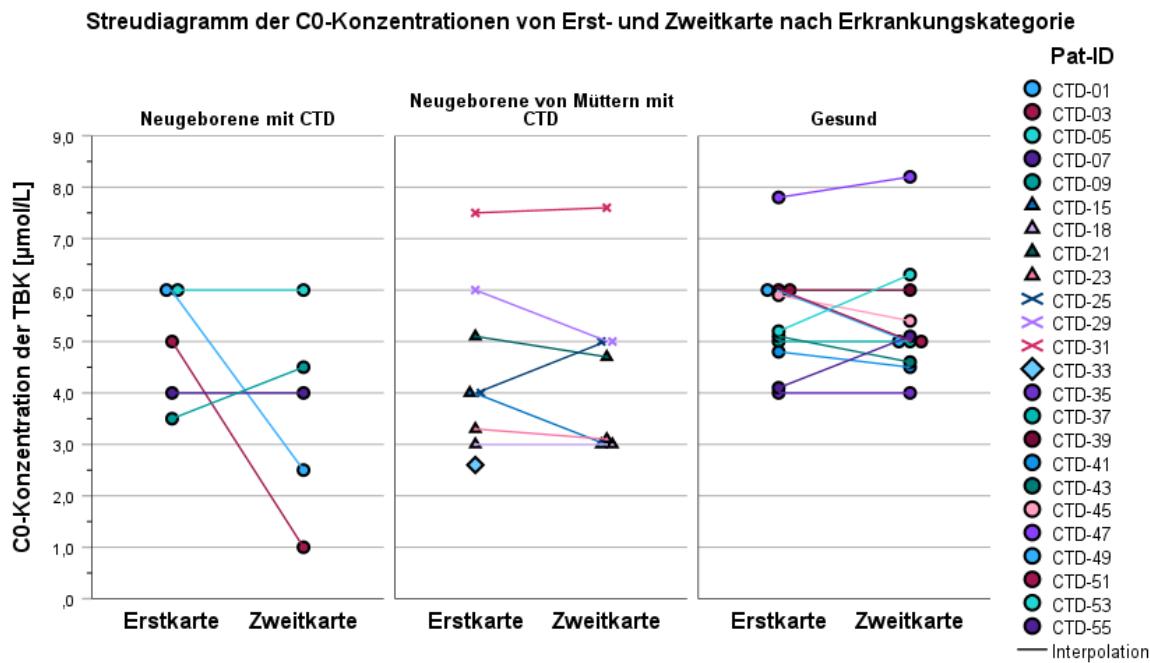


Abbildung 8: Streudiagramm des C0 im NGS in Erst- und Zweitkarte, nach Erkrankungskategorie unterteilt: Neugeborene von Müttern mit CTD: ▲ Neugeborene mit obligater Heterozygotie bei Mutter mit gesichertem CTD, ◊ CTD-33 bei zugrundeliegender GA Typ I der Mutter CTD-34, keine Zweitkarte abgenommen, X Neugeborene mit fraglichem Variantenstatus bei CTD-heterozygoter Mutter. Die Werte von CTD-11 und CTD-27 wurden bei Screening außerhalb von Bayern mit anderen Referenzwerten nicht abgebildet.

Zur Berechnung der Mittelwerte wurden die Werte von CTD-11 und CTD-27 bei Screening mit abweichenden Referenzwerten und von CTD-33 bei GA Typ I der Mutter CTD-34 ausgeschlossen. Der Mittelwert der C0-Konzentration der Erstkarte war von gesunden Neugeborenen ($5,4 \pm 1,1 \mu\text{mol/L}$) tendenziell etwas höher als der von Neugeborenen mit CTD ($4,9 \pm 1,1 \mu\text{mol/L}$) und Neugeborenen von Müttern mit CTD ($4,7 \pm 1,6 \mu\text{mol/L}$). Der Mittelwert der C0-Konzentration der Zweitkarte fiel bei den Neugeborenen mit CTD um etwa $1,3 \mu\text{mol/L}$ auf $3,6 \pm 2,1 \mu\text{mol/L}$ ab, bei annähernd konstanten Werten der Neugeborenen von Müttern mit CTD ($4,5 \pm 1,7 \mu\text{mol/L}$) und der gesunden Neugeborenen ($5,4 \pm 1,1 \mu\text{mol/L}$). Diese Veränderung war vornehmlich auf die stark abgefallene C0-Konzentration der zwei Patienten CTD-01 und CTD-03 zurückzuführen, da die C0-Konzentration von CTD-05 und CTD-07 von Erst- zu Zweitkarte konstant blieb und von

CTD-09 gering anstieg. C0-Konzentrationen von < 4 µmol/L wiesen nur erkrankte Neugeborene und Neugeborene von Müttern mit maternalem CTD auf, was ein Hinweis auf eine schwerere CTD-Ausprägung sein könnte. Aufgrund der gerin- gen Gruppengröße war jedoch keine statistisch valide Untersuchung auf einen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen möglich.

Abnahmezeitpunkt [Stunden]			C0 Erstkarte [µmol/L]	C0 Zweitkarte [µmol/L]
		Signifikanz (2-seitig)	0,015	0,557
	N		23	23
Bootstrapping (1000 Stichproben)	Verzerrung		0,004	0,019
	Standard-Fehler		0,147	0,278
	95 %-KI Grenzwert	Unterer Oberer	-0,757 -0,165	-0,635 0,455

*. Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.

Tabelle 6: Korrelation von C0 der TBK mit dem Abnahmzeitpunkt

Ausschluss der Erstkarte von CTD-49, da Screening außerhalb des empfohlenen Zeitraums erfolgt war. Zur Korrektur für die kleine Gruppengröße wurde ein Bootstrapping durchgeführt, was die Korrelation bestätigte. Die Werte zweier Neugeborenen (CTD-33 und CTD-49) mussten bei jeweils einzelnen fehlenden Werten ausgeschlossen werden. KI: Konfidenzintervall

Das empfohlene Zeitfenster für die Abnahme des NGS beträgt bei 36-72 Stunden nach der Geburt, die Karten wurden im Mittel nach $55,14 \pm 11,11$ Stunden abge- nommen (Werte nicht abgebildet; Ausreißer mit NGS-Abnahme nach 120 Stun- den wurde von der Berechnung des Mittelwerts ausgeschlossen). Die Zweitkarte sollte zeitnah nach der Rückmeldung eines auffälligen Screening-Befundes un- tersucht werden und wurde im Mittel nach 10 ± 6 Tagen abgenommen. Bei der Betrachtung der Subgruppen erfolgte in der Gruppe der Neugeborenen mit CTD die Abnahme der Zweitkarte mit 17 ± 8 Tagen im Vergleich später. Um einen Einfluss des Abnahmzeitpunkts auf die C0-Konzentration in Erst- oder Zweit- karte zu untersuchen wurde eine Korrelation nach Pearson berechnet. Dabei ergab sich eine signifikante ($p = 0,015$) negative Korrelation ($r = -0,502$) des Ab- nahmzeitpunkts der Erstkarte mit der C0-Konzentration (s. Tabelle 6). Die Kor- relation bestätigte sich mit einem 95 %-KI von -0,165 bis -0,757 im Bootstrapping. Zwischen der C0-Konzentration der Zweitkarte und ihrem Abnahmzeitpunkt ließ sich keine signifikante Korrelation nachweisen ($p = 0,557$). Dies deutet darauf hin, dass in den ersten Stunden nach der Geburt die C0-Konzentration des Neu- geborenen abfallen und kein stabiles Niveau haben, wohingegen sich mit einem ausreichendem Zeitabstand zur Geburt bei den Neugeborenen stabile C0-Kon- zentrationen etabliert haben sollten.

3.5 Konfirmationsdiagnostik mittels freiem Carnitin im Plasma und renaler Resorption

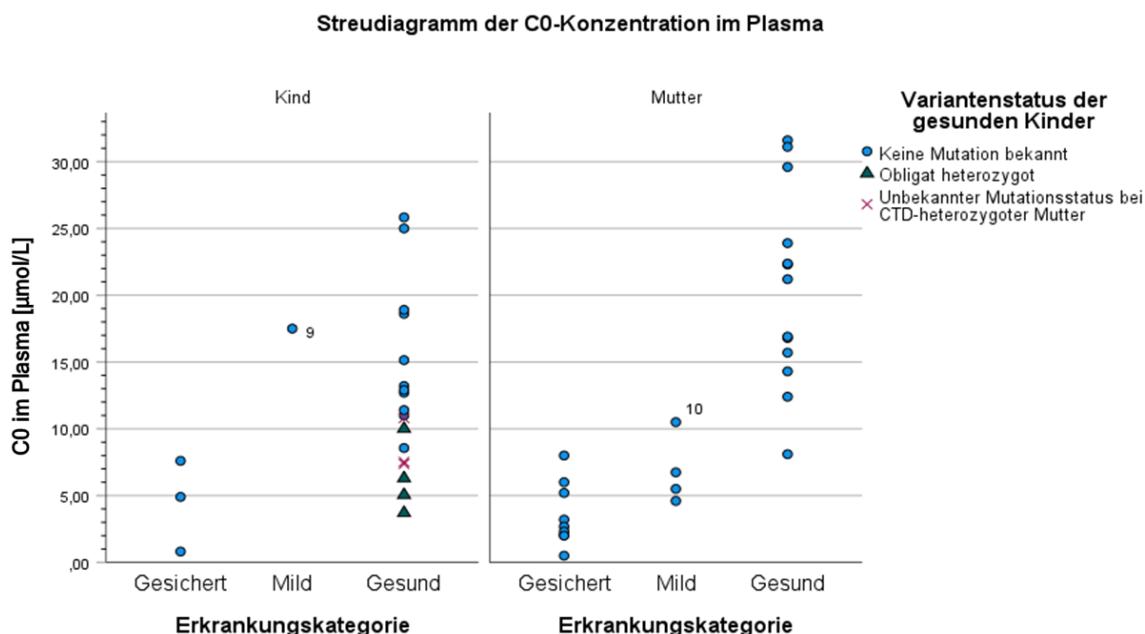


Abbildung 9: C0-Konzentration im Plasma der Kinder (links) und Mutter (rechts) nach Erkrankungskategorie unterteilt: Erkrankungskategorie: Mild: Milder, funktioneller CTD; ▲ Neugeborene mit obligater Heterozygotie bei Mutter mit gesichertem CTD, X Neugeborene mit fraglichem Variantenstatus bei CTD-heterozygoter Mutter. Kind CTD-09 und Mutter CTD-10 mit Fallnummern gekennzeichnet; Kinder mit gesichertem CTD n= 3 bei fehlenden Werten von CTD-05

Nach auffälligem NGS wurde zur weiteren Konfirmationsdiagnostik das C0 im Plasma sowie die renale Resorption von C0 gemessen. Das C0 im Plasma lag bei Neugeborenen und Müttern mit gesichertem CTD unterhalb von 10 μmol/L, jedoch wiesen auch die Neugeborenen von Müttern mit CTD so niedrige Konzentrationen auf (s. Abbildung 9, ▲ bei obligater Heterozygotie bei CTD der Mutter, X bei fraglicher SLC22A5-Variante bei heterozygoter Mutter). Somit war keine Unterscheidung zwischen betroffenen Neugeborenen und Neugeborenen von betroffenen Müttern anhand des C0 im Plasma möglich. Auch die Mütter mit milde, funktionellen CTD und heterozygoter Variante lagen unterhalb dieses Grenzwertes von 10 μmol/L. Nur das Tochter-Mutter-Paar CTD-09 und CTD-10wich mit 17,5 bzw. 10,5 μmol/L etwas von diesem Schema ab, die renale Resorption von C0 war jedoch bei beiden deutlich auffällig (s. nächster Absatz, Abbildung 10). Von den gesunden Kindern und Müttern hatten alle bis auf jeweils eine Person C0-Konzentrationen > 10 μmol/L.

Die Messung der renalen Resorption von C0 war ein wichtiger Bestandteil der Konfirmationsdiagnostik. Sie spiegelt die pathologisch erhöhte Ausscheidung von C0 bei einem CTD wider und ist damit spezifischer für die Erkrankung als die Messung des C0 im Plasma allein. In Abbildung 10 ist der Kehrwert der renalen

Resorption, die renale Exkretion von C0 gegen die C0-Konzentration im Plasma aufgetragen (zum Teil andere C0-Konzentrationen als in Abbildung 9, da in anderem Labor und enzymatisch statt mittels TMS gemessen).

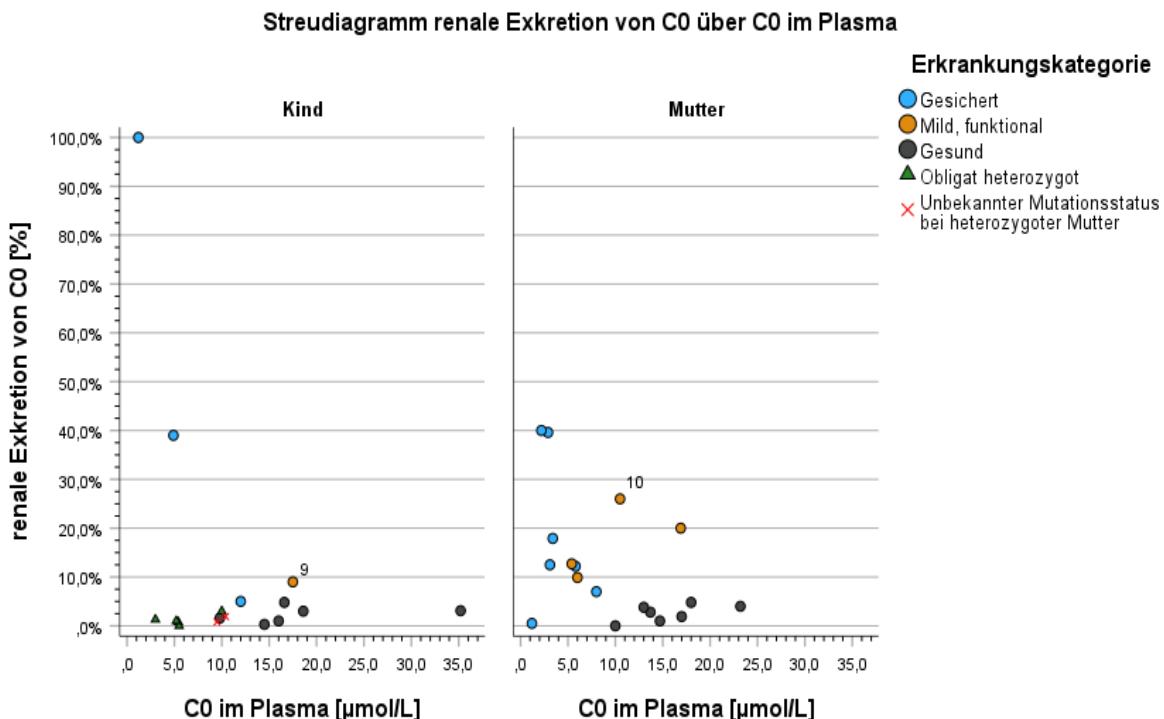


Abbildung 10: Streudiagramm renale Exkretion von C0 über C0 im Plasma der Kinder (links) und Mütter (rechts) nach Erkrankungskategorie unterteilt: Erkrankungskategorie und Variantenstatus der Neugeborenen farblich/symbolisch kodiert; renale Exkretion von C0 in % der renal gefilterten Ladung; die vom Labor gemessene renale Resorption von C0 wurde in den Kehrwert, die Exkretion, umgerechnet; Messwerte von CTD-09 und CTD-10 mit Nummern beschriftet

Anmerkung: es lagen nicht von allen Patienten Messungen der Exkretion/Resorption vor. Die Messungen wurden in einem anderen Labor durchgeführt, sodass die Messwerte des C0 im Plasma von denen aus den Tabellen in Kapitel 3.3 und in Abbildung 9 abweichen.

Ab einer Exkretion von > 5 % bzw. Resorption von < 95 % des C0 der gefilterten renalen Ladung liegt ein pathologischer Wert vor (Referenzbereich UK Gießen, UK Heidelberg Exkretion > 2 %). Dieser Grenzwert wurde von keinem der gesunden Kinder oder Mütter überschritten (max. Exkretion 4,8 % Labor UK Gießen). Auch die obligat heterozygoten Neugeborenen von Müttern mit gesichertem CTD erreichten diesen Grenzwert der Exkretion nicht, wiesen jedoch erneut deutlich verminderte C0-Konzentrationen auf (s. Abbildung 10, ▲ linkes Diagramm, untere linke Ecke). Alle CTD-Betroffenen, auch die Patientinnen mit einem milden, funktionellen CTD, ließen sich anhand der pathologisch erhöhten renalen Exkretion von C0 von den Gesunden unterscheiden. Auffällig war, dass die C0-Exkretion von Patient CTD-07 mit exakt 5 % im Vergleich zu den anderen Kindern mit CTD nur gering erhöht war. Wichtig war jedoch die gleichzeitige Berücksichtigung der C0-Konzentration im Plasma, da bei der Patientin CTD-24 bei einem nicht

messbaren C0 im Plasma von < 2,0 µmol/L die renale Exkretion von C0 mit 0,05 % nicht verwertbar war (s. Abbildung 10 linkes Diagramm, ● unten links).

Eine deutliche Limitation bei der Auswertung der renalen Resorption war das unvollständige Datenset, da nur vor Beginn der Supplementierung aussagekräftige Werte bestimmt werden können. Des Weiteren sind die Daten heterogen, da sie zu ungefähr je drei-Viertel bzw. einem-Viertel aus zwei unterschiedlichen Laboren stammten, die unterschiedliche Messverfahren verwendeten. Folglich waren die Werte nur bedingt vergleichbar und es konnte keine statistische Auswertung der Daten erfolgen.

3.6 Identifizierte Varianten des *SLC22A5*-Gens

Allgemein werden *Missense*-Varianten und *In-Frame-Deletionen/-Insertionen* im Vergleich zu anderen Varianten als weniger pathogen eingestuft, da abhängig von Lokalisation und resultierender Aminosäure-Alteration ein annähernd vollständiges Protein gebildet wird, dessen Funktion nahezu normal bis hin zu stark eingeschränkt sein kann. *Nonsense*, *Splice-Site* und *Frameshift*-Varianten resultieren hingegen in einem Abbruch der Protein-Translation, was in den meisten Fällen in einem vollständigem Funktionsverlust führt. Die identifizierten Varianten dieses Kollektivs wurden mit Angabe der Erstbeschreibung und sofern vorhandenen Pathogenitäts-Klassifikation laut ClinVar-Datenbank in Tabelle 7 zusammengefasst. Bei den Müttern machten *Missense*-Varianten 85 % der mutierten Allele aus, 10 % waren *In-Frame-Deletionen* und nur ein Allel bzw. 5 % war eine *Splice-Site*-Variante. Bei den Neugeborenen waren 57,1 % der mutierten Allele als *Missense*-Variante und 42,9 % *Nonsense* bzw. *Frameshift*-Variante einzuordnen.

Der deutlich höhere Anteil an pathogenen *Nonsense*, *Splice-Site* und *Frameshift*-Varianten unter den Neugeborenen von 42,9% im Vergleich zu den Müttern, erklärt sich durch die zwei Neugeborenen CTD-01 und CTD-03. Die *Frameshift*-Variante c.458_459delTG (p.V153AfsX41) als Deletion von 2 Basenpaaren verursacht ein verfrühtes Stoppsignal 41 Aminosäurepositionen nach der betroffenen Aminosäureposition 153. In Kombination mit der *Missense*-Variante c.1403C>G°(p.T468R) hatte der Neugeborene CTD-03 keinen messbaren Carnitin-Transport in Fibroblasten. Auch die Deletion von Exon 2 gemeinsam mit der *Nonsense*-Variante c.351G>A (p.W117X) des Neugeborenen CTD-01 resultie-

ren beide in einem verfrühten Stop-Codon (Beschreibung s. unten). Bei der Mutter CTD-26 wurde heterozygot die *Splice-Site*-Variante c.394-16T>A identifiziert. Zu dem Diagnosezeitpunkt konnte bei ihr keine zweite, pathologische Variante im *SLC22A5*-Gen nachgewiesen werden, die Diagnose CTD wurde bei nicht nachweisbarer Restaktivität des Carnitin-Transports in Fibroblasten gestellt.

Variante		Anzahl gefundener Allele		Erstbeschreibung in der Literatur	Klassifikation ClinVar
cDNA <i>SLC22A5</i>	Protein OCTN2	Kinder	Mütter		
c.98G>T	p.G33V		1	bislang nicht publiziert	NA
c.136C>T	p.P46S		9	(Schimmenti, Crombez et al. 2007)	P / LP
c.351G>A	p.W117X	1		bislang nicht publiziert	NA
c.394-16T>A	IVVS1-16T>A		1	(Rose, di San Filippo et al. 2012)	Widersprüchlich (1 P, 4 LP, 2 VUS)
c.458_459delTG	p.V153AfsX41	1		(Dobrowolski, McKinney et al. 2005)	P
c.506G>A	p.R169Q		1	(Burwinkel, Kreuder et al. 1999)	P
c.641C>T	p.A214V	2 ^a	2 ^a	(El-Hattab, Li et al. 2010)	Widersprüchlich (2 P, 5 LP, 4 VUS)
c.761G>A	p.R254Q	1		(Frigeni, Balakrishnan et al. 2017)	Widersprüchlich (1 P, 4 LP, 6 VUS)
c.769-786del18	p.Δ257-262		2	bislang nicht publiziert	NA
c.1195C>T	p.R399W		1	(El-Hattab, Li et al. 2010)	P / LP
c.1385G>T	p.G462V		1	(Longo, Frigeni et al. 2016)	LP
c.1403C>G	p.T468R	1		(Lamhonwah, Olpin et al. 2002)	P / LP
c.1531G>C	p.E511Q		2	bislang nicht publiziert	NA
Deletion von Exon 2 auf cDNA Ebene		1		(Roussel, Labarthe et al. 2016)	P

Tabelle 7: Nachgewiesene *SLC22A5*-Allele der Patienten und ihre Erstbeschreibung:

Nonsense- und *Splice-Site*-Varianten in **fett + kursiv**. P = Pathogen, LP = Wahrscheinlich Pathogen, VUS = Variante unbekannter Signifikanz Klassifikation nach ClinVar Datenbank (Landrum, Lee et al. 2014), NA = Nicht verfügbar Stand 11.11.2024; ^a Homozygot in jeweils einem Patienten nachgewiesen

Die identifizierten, vorbeschriebenen *Missense*-Varianten wurden bis auf zwei Varianten in der ClinVar-Datenbank als pathogen oder wahrscheinlich pathogen eingestuft (s. Tabelle 7). Die Variante c.641C>T (p.A214V), welche widersprüch-

liche Einordnungen erhalten hatte, lag bei dem Neugeborenen CTD-07 und seiner Mutter CTD-08 jeweils homozygot vor, wobei bei beiden Patienten keine Messung des Carnitin-Transports in Fibroblasten durchgeführt wurde. Auch für die *Missense*-Variante c.761G>A (p.R254Q) lagen widersprüchliche Klassifikationen vor. Der Neugeborene CTD-05 trug diese Variante heterozygot und wies einen diagnostisch verminderten Carnitin-Transport in Fibroblasten von 8,5% der Kontrollen auf. Unter den Müttern kam die *Missense*-Variante c.136C>T (p.P46S) mit neun Allelen (45 %) deutlich überproportional vor (s. Tabelle 7). Die heterozygote Trägerin CTD-28 dieser Variante, zeigte darunter eine leicht reduzierte, aber vorhandene Restaktivität des Carnitin-Transports in Fibroblasten von 30,2 %.

Im vorliegenden Patientenkollektiv wurden vier Varianten des *SLC22A5*-Gens erstmalig nachgewiesen (s. Tabelle 7, Stand 11.11.2024, Quelle ClinVar-Datenbank). Das Kind CTD-01 trug die bislang nicht beschriebene *Nonsense*-Variante c.351G>A (p.W117X), die in einem frühen Stop-Codon an der 117. Aminosäureposition resultiert. In Kombination mit der in einem *Frameshift* resultierenden Deletion des Exon 2 auf dem zweiten Allel hatte der Neugeborene keine Restaktivität in der Messung des Carnitin-Transports in Fibroblasten. Die *in-frame*-Deletion von 18 Basenpaaren bzw. 6 Aminosäuren c.769-786del18 (p.Δ257-262), wurde bei der Mutter CTD-12 und ihrer Schwester CTD-14 nachgewiesen. In beiden Fällen lag sie in Kombination mit der Variante c.136C>T (p.P46S) vor, wobei bei CTD-12 eine diagnostisch verminderte Restaktivität des Carnitin-Transports in Fibroblasten von 1,8% gemessen wurde. Die anderen zwei nicht beschriebenen *Missense*-Varianten c.1531G>C (p.E511Q) lagen bei CTD-16 und ihrer Schwester CTD-17 sowie c.98G>T (p.G33V) bei CTD-20. In allen 3 Fällen lagen sie in Kombination mit der *Missense*-Variante c.136C>T (p.P46S) vor. Keine der Frauen stimmte einer Carnitin-Transport-Messung in Fibroblasten zu.

3.7 Therapie und klinische Befunde im Rahmen der langfristigen Nachsorge

Nach der Diagnose erfolgten regelmäßige Vorstellungen der Patienten zur Erfassung möglicher CTD-assozierter Symptome. In diesem Rahmen wurde das C0 im Plasma, Leber-, Muskel- und Herzenzyme bestimmt und eine kardiologische Untersuchung durchgeführt. In Abhängigkeit der Ergebnisse wurde die Dosis der Carnitin-Supplementierung adjustiert. Die Ergebnisse dieser Verlaufsvorstellungen sind in den folgenden Kapiteln thematisch zusammengefasst.

Die vier am Dr. von Haunerschen Kinderspital betreuten Kinder mit nachgewiesenem CTD hatten zusammengenommen eine Behandlungsdauer von 45,9 Patientenjahren (s. Tabelle 8). Das Mädchen CTD-09 und ihre Mutter CTD-10 mit mildem, funktionellen CTD wurden beide für 18,3 Jahre betreut. Bei den Frauen mit gesichertem oder einem milden, funktionellem CTD bei heterozygoter Variante betrug die gesamte Behandlungsdauer 58,5 Patientenjahre (s. Tabelle 9).

3.7.1 Carnitin-Supplementierungs-Dosis und C0 im Plasma im Verlauf

Patient	Ge-schlecht	Behand-lungs-dauer [Jahre]	Carnitin-Dosis (Mittelwert (Min. – Max.)) [mg/kg KG/Tag]	C0-Konzentration un-ter Supplementierung (Mittelwert (Min. – Max.)) [$\mu\text{mol/L}$]	CTD-Diagnose
CTD-01	w	14,7	75 (45 – 100)	15,3 (5,4 – 25)	Gesichert
CTD-03	m	14,1	150 (40 – 235)	14,0 (4,8 – 32)	Gesichert
CTD-05	m	12,7	65 (35 – 105)	28,5 (12,8 – 53)	Gesichert
CTD-07	m	4,4	85 (35 – 115)	54,3 (46,5 – 70)	Gesichert
CTD-09	w	18,3	50 (25 – 100)	24 (11 – 58,4)	Mild, funktionell

Tabelle 8: Dosierung der Carnitin-Supplementierung und C0-Konzentrationen der Kinder mit CTD:

Geschlecht: w = weiblich, m = männlich; Max. = Maximale und Min. = minimale tägliche Carnitin-Dosis bzw. gemessene C0-Konzentration im Plasma

Bei den Kindern mit gesichertem CTD betrugen die benötigten Carnitin-Supplementierungen zwischen minimal 35 und maximal 235 mg/kg KG/Tag, meist aufgeteilt auf 3 Einnahmen, morgens, mittags und abends. Der Patient CTD-03 erhielt im Vergleich zu den anderen Kindern eine deutlich höhere Supplementierung mit durchschnittlich 150 mg/kg KG/Tag bei gleichzeitig den niedrigsten C0-Konzentrationen. Die anderen Kinder (CTD-01, -05, -07) konnten mit einer durchschnittlichen Dosierung von 60 – 80 mg/kg KG/Tag stabile C0-Konzentrationen aufbauen (s. Tabelle 8). Dabei erreichte Patient CTD-07 bei jedoch relativ kurzem Beobachtungszeitraum im Vergleich zu den anderen Kindern höhere C0-Konzentrationen im Plasma.

Patientin	Behandlungs-dauer [Jahre]	Carnitin-Dosis (Mittelwert (Min.-Max.)) [mg/kg KG/Tag]	C0-Konzentration unter Supplementierung (Mittelwert (Min.-Max.)) [µmol/L]	CTD-Diagnose
CTD-10	18,3	45 (25-100)	29,3 (9,74-88,8)	Mild, funktionell
CTD-12	14,4	80 (50-110)	11,0 (5,9-22,7)	Gesichert
CTD-14	12,9	60 (20-85)	12,1 (4,0-23,7)	Gesichert
CTD-16	3,9	70 (55-90)	12,8 (6,32-27,5)	Gesichert
CTD-17	5,7	80 (55-115)	11,0 (6,59-17)	Gesichert
CTD-20	9,7	80 (65-90)	17,9 (8,7-31,1)	Gesichert
CTD-26	1	30 (25-45)	13,7 (6-22,34)	Gesichert
CTD-28	3,3	55 (40-60)	24,0 (16,3-34,3)	Mild, funktionell
CTD-30	7,6	40 (15-75)	19,6 (13-33,7)	Mild, funktionell

Tabelle 9: Dosierung der Carnitin-Supplementierung und C0-Konzentrationen der Mütter mit CTD:

Max. = Maximale und Min. = minimale Carnitin-Dosis bzw. gemessene C0-Konzentration im Plasma

Die mittlere Dosierung der Carnitin-Dosis der Mütter mit CTD lag zwischen 60 – 80 mg/kg KG/Tag, womit die Patientinnen eine niedrig-normale C0-Konzentration im Plasma von > 10 µmol/L aufbauten. Die zwei langfristig begleiteten Mütter CTD-28 und CTD-30 mit einem milden, funktionellen CTD bei heterozygoter SLC22A5-Variante benötigten eine geringere mittlere Carnitin-Supplementierung von 40 – 50 mg/kg KG/Tag, unter der sie durchschnittlich höhere C0-Konzentrationen von ca. 20 µmol/L erreichten (s. Tabelle 9). Auch das Mädchen CTD-09 und seine Mutter CTD-10 mit mildem funktionellem CTD benötigten im Mittel vergleichbare Carnitin-Dosierungen wie die Mütter mit heterozygoter Variante und erreichten darunter durchschnittliche C0-Konzentrationen im Plasma von 24 (CTD-09) bzw. 29 (CTD-10) µmol/L.

3.7.2 Nebenwirkungen der Carnitin-Supplementierung

Als Nebenwirkung der Carnitin-Supplementierung berichteten mehrere Patienten von einem unangenehmen, fischartigen Geruch, wovon insbesondere die Kinder CTD-01, CTD-03 und die erwachsenen Patientinnen CTD-12, CTD-16 und CTD -17 betroffen waren. Dieser Geruch verstärkte sich im Sommer bzw. bei vermehrter Transpiration. Durch eine Aufteilung der Carnitin-Supplementierung auf mehrere, maximal vier über den Tag verteilte Einzeldosen kam es zu einer Besserung. Als weitere Nebenwirkungen wurden, oft auch in Folge von Dosissteigerungen, eine vermehrte Stuhlfrequenz und weichere Stuhlkonstanz beobachtet,

zum Teil berichteten die Patientinnen von Bauchschmerzen. Der veränderte Körpergeruch war aufgrund sehr hoher Carnitin-Dosen bei CTD-03 stärker ausgeprägt. Dies war für den Patienten so belastend, dass er im Alter von 11 Jahren eigenständig für einen Monat die Carnitin-Supplementierung unterließ, was kurzfristig in besonders niedrigen C0-Konzentrationen resultierte.

3.7.3 Psychomotorische Entwicklung der Neugeborenen

Alle vier Kinder mit bestätigtem CTD und auch CTD-09 mit mildem, funktionellem CTD zeigten eine altersentsprechende und unauffällige psychomotorische Entwicklung. CTD-03 erhielt während dem Kindergarten eine logopädische Sprachförderung. Die schulische Laufbahn und pubertäre Entwicklung aller Kinder waren unauffällig. Die Patienten waren zum Abschluss der letzten berücksichtigten Vorstellungen 15 (CTD-01), 14 (CTD-03), 18 (CTD-05), 4 (CTD-07) und 18 (CTD-09) Jahre alt.

3.7.4 Metabolische Entgleisungen / prophylaktische Hospitalisierungen

Für den gesamten Beobachtungszeitraum wurde untersucht, ob die Patienten eine metabolische Dekompensation entwickelten. Zunächst wurden die prophylaktischen Hospitalisierungen zur Vermeidung einer metabolischen Dekompen-sation zusammengefasst.

Patient CTD-03 erkrankte in seiner Kindheit häufig an schweren Gastroenteritiden mit starkem Erbrechen oder auch an Infekten des oberen Respirationstrakts, so dass bei Nahrungsverweigerung weder die Carnitin-Zufuhr noch eine ausreichende Maltodextrin-Gabe oral sichergestellt werden konnte. Aufgrund der Häufigkeit der Infekte und bei fehlendem laborchemischem Indikator für eine drohende metabolische Entgleisung, waren insgesamt 14 prophylaktische stationäre Aufenthalte erforderlich. In den meisten Fällen wurde er dabei mit i.v. Carnitin und Glucose behandelt. Klinische Hinweise auf eine akute metabolische Entgleisung oder Laborveränderungen bestanden hierbei nicht. Der CTD, die damit verbundenen häufigen Krankenhausaufenthalte und das Risiko einer drohenden metabolischen Entgleisung im Infekt stellten für Eltern und Kind eine große psychische Belastung dar.

Die Mutter CTD-16 wurde, als während einer nachfolgenden Schwangerschaft eine Gastroenteritis auftrat, einmalig stationär aufgenommen und prophylaktisch

mit einer i.v.-Flüssigkeitsgabe behandelt. Auch bei ihr bestand zu keinem Zeitpunkt ein Hinweis auf eine metabolische Dekompensation.

Bei den weiteren Kindern und auch Müttern des Studienkollektivs waren keine prophylaktischen Aufnahmen/Therapien notwendig und es gab keinen Hinweis auf stattgehabte metabolische Dekompensationen. Die Krankenhausaufenthalte im ersten Lebensjahr von CTD-16 und der Schwester CTD-17 bei Gedeihstörung (s. Abschnitt 3.3.2.1) waren retrospektiv nicht näher zu eruieren.

3.7.5 Muskuläre Symptomatik und Fatigue

Keines der Kinder entwickelte über den beobachteten Zeitraum eine muskuläre Symptomatik, in den Laboruntersuchungen wurden keine CK-Erhöhungen gemessen. Die muskuläre Entwicklung war immer unauffällig und die körperliche Belastbarkeit war bei allen Kindern zu jedem Zeitpunkt altersadäquat.

Bei erwachsenen Frauen sind als mögliche Symptome eines CTD Fatigue und eine reduzierte körperliche Belastbarkeit beschrieben worden. Die Patientinnen CTD-12, -28 und -30 gaben nach Beginn der Carnitin-Supplementierung eine Besserung des Wohlbefindens und der körperlichen Leistungsfähigkeit an und bemerkten eine vermehrte Müdigkeit bei ausgebliebener Carnitin-Einnahme. Die Patientin CTD-30 berichtete von einer seit ihrer Kindheit bestehenden rezidivierenden Muskelschwäche, betont nach dem Schlafen und bei körperlicher Betätigung, ebenso von einer inadäquat starken Entwicklung von Muskelkater nach Belastung. Diese Symptome besserten sich subjektiv mit Beginn der Carnitin-Supplementierung; bei Auslassen einzelner Carnitin-Dosen rezidierte die Muskelschwäche. Eine eindeutige Ätiologie durch den CTD verbleibt unklar, da als mögliche weitere Einflussfaktoren bei der Patientin eine Adipositas und eine Hashimoto-Thyreoiditis vorlagen. Die von CTD-32 berichteten rezidivierenden, zum Teil nächtlich und bei Belastung auftretenden Muskelkrämpfe in den Unterschenkeln waren differentialdiagnostisch auch mit einem Magnesiummangel vereinbar, zeigten jedoch eine subjektive Besserung unter Carnitin-Supplementierung. Längerfristige Verlaufsuntersuchung lagen von der Patientin nicht vor.

Alle anderen erwachsenen Patientinnen verneinten muskuläre Symptome oder Fatigue. In der Analyse der Laborwerte zeigten sich im Verlauf weder im Blutbild noch in den Leber- oder Muskelenzymen relevante Auffälligkeiten.

3.7.6 Kardiologische Manifestation

Bei wiederholter und ausgiebiger kardiologischer Abklärung zeigten aus dem untersuchten Patientenkollektiv insgesamt ein Kind und zwei Frauen berichtenswerte kardiologische Befunde, wobei ein Zusammenhang mit der CTD-Diagnose in allen Fällen nicht eindeutig war:

Der Patient CTD-05 wies zwischen seinem siebten und zwölften Lebensjahr EKG-Veränderungen mit dem Bild eines Rechtsschenkelblocks sowie erhöhten Sokolow-Lyon-Indizes des linken Herzens (S_2+R_5) im Bereich zwischen 5,5-6,4 mV auf. Nach dem zwölften Lebensjahr wurden diese Veränderungen nicht mehr abgebildet. Im UKG zeigten sich zu keiner Zeit Auffälligkeiten, insbesondere keine Hinweise auf eine kardiale Hypertrophie. Auch war kein Zusammenhang mit Veränderungen der Konzentration des C0 im Plasma ersichtlich und die Carnitin-Supplementierung wurde konsequent eingenommen. Bei den weiteren Kindern CTD-01, CTD-03, CTD-07 und CTD-09 fanden sich in der Analyse durchgängig unauffällige EKG- und UKG-Untersuchungen.

Im Rahmen der kardiologischen Untersuchungen war bei der Mutter CTD-14 im UKG als Zufallsbefund der Verdacht auf einen Vorhofseptumdefekt Typ II geäußert worden. In der daraufhin durchgeführten transösophagealen UKG stellte sich das Vorhofseptum als intakt dar, jedoch fand sich nach rechts vorgewölbt ein verschlossenes Vorhofaneurysma. Ein anschließend durchgeführtes Kardio-MRT ergab neben der Bestätigung dieses nicht behandlungsbedürftigen Befundes keinerlei Einschränkung der kardialen Funktion.

Die Patientin CTD-10 führte regelmäßig extern kardiologische Untersuchungen durch. Nach über 16 Jahren durchgängiger Carnitin-Therapie wurden bei ihr bis zu 20.000 supraventrikuläre Extrasystolen pro Tag im Langzeit-EKG registriert. In der Folge wurde eine Katheterablation vorgenommen, woraufhin sich die Extrasystolen reduzierten.

4 Diskussion

Das grundlegende Ziel des erweiterten NGS ist die frühzeitige Identifikation und damit Therapiemöglichkeit von angeborenen Erkrankungen, die die körperliche und geistige Entwicklung von Kindern in nicht geringfügigem Maße gefährden (G-BA 2023). Daher werden NGS-Programme entsprechend neuer therapeutischer und analytischer Methoden weiterentwickelt und erweitert. In der vorliegenden Arbeit wurde das in Bayern im Rahmen eines wissenschaftlichen Begleitprogramms des NGS über 19,5 Jahre durchgeführte Screening auf CTD retrospektiv analysiert. Die frühkindliche Manifestation eines CTD ist potenziell lebensbedrohlich und bei frühzeitiger Diagnose einfach behandelbar, was optimale Kriterien für eine Zielkrankheit des NGS waren. Mit Einführung der TMS im erweiterten NGS konnte auch die C0-Konzentration als der primäre Marker des CTD einfach erfasst werden, sodass auch die technischen Voraussetzungen für ein Screening gegeben waren. Da der CTD bislang nicht im deutschlandweiten erweiterten NGS enthalten war, sollte die Auswertung des bayerischen wissenschaftlichen Begleitprogramms des NGS eine Bewertung bezüglich einer deutschlandweiten Erweiterung oder Beendigung des CTD-Screenings ermöglichen.

Vergleicht man die Parameter der analytischen Qualität des NGS auf CTD mit anderen Erkrankungen des erweiterten NGS, so war die Recall-Rate beim Screening auf CTD mit 0,02 % in einem ähnlichen Bereich wie die anderer Fettstoffwechselstörungen des NGS (MCADD 0,03 %, VLCADD 0,01 %) (Brockow, Blankenstein et al. 2024). Das Ziel war, eine Recall-Rate zu erreichen, die einerseits möglichst wenig falsch positive Befunde generiert (hoher PPW) und gleichzeitig alle Erkrankten erkennt (hohe Sensitivität). Jedoch war der ermittelte PPW zwischen 1,67 und 2,17% deutlich niedriger als der PPW anderer Erkrankungen des deutschlandweiten NGS mit einem Mittelwert von ca. 24 % (Spannweite 4 – 78 %) (Brockow, Blankenstein et al. 2024). Der sehr niedrige PPW eines niedrigen C0 im NGS deckt sich weltweit mit den Ergebnissen anderer NGS-Programme auf CTD, beispielsweise Taiwan (< 3%–4,3 %), Neuseeland (< 3 %), Kalifornien (USA) (4,7 %) und China (1,93 %) (Lee, Tang et al. 2010, Niu, Chien et al. 2010, Gallant, Leydiker et al. 2017, Wilson, Knoll et al. 2019, Lin, Xu et al. 2020). Somit schien ein niedriges C0 im NGS in mehreren Screeningprogrammen weltweit ein schlechter Prädiktor für das Vorliegen eines CTD zu sein und viele falsch positive Ergebnisse zu generieren.

Sowohl intrinsische Einflussfaktoren durch die Schwangerschaft als auch extrinsische Faktoren beeinflussen die C0-Konzentration des Neugeborenen im NGS. Carnitin wird während der Schwangerschaft transplazentar mittels des OCTN2 zum Fetus transportiert, sodass der Fetus von den Carnitin-Spiegeln der Mutter abhängig ist (Tamai, Ohashi et al. 1998, Longo, Frigeni et al. 2016, Manta-Vogli, Schulpis et al. 2020). Die Schwangerschaft als dynamischer, anaboler Zustand (King 2000) führt bei der Mutter während dem zweiten und dritten Trimenon zu einem signifikanten Abfall der C0-Konzentration im Plasma (Novak, Monkus et al. 1981, Winter, Linn et al. 1995, Cho and Cha 2005, Shanmuganathan, Bogert et al. 2023). Am Ende der Schwangerschaft, wenige Tage vor Abnahme des NGS, beeinflusst der Geburtsmodus maßgeblich die maternale Carnitin-Konzentration. Vermutlich bedingt durch die starke körperliche Anstrengung war die C0-Konzentration von Müttern nach vaginaler Entbindung signifikant reduziert, nach einem Kaiserschnitt hingegen blieb die C0-Konzentration stabil zum Ausgangszustand vor der Entbindung. Diese Veränderung war nicht nur im Blut der Mütter, sondern auch im arteriellen Nabelschnurblut der Neugeborenen zu finden (Schulpis, Papakonstantinou et al. 2008). Zusätzlich wird die C0-Konzentration des Neugeborenen durch Gestationsalter und Geburtsgewicht beeinflusst. So hatten sowohl Frühgeborene (Gestationsalter < 37 Wochen), übertragene Neugeborene (Gestationsalter > 42 Wochen) und Neugeborene mit einem zu geringen Geburtsgewicht (\leq 10. Perzentile) verglichen mit reifen, normalgewichtigen Neugeborenen eine signifikant höhere C0-Konzentration im NGS (Crefcoeur, de Sain-van der Velden et al. 2020, Manta-Vogli, Schulpis et al. 2020).

Ein gut beschriebener extrinsischer Einflussfaktor auf die Carnitin-Konzentration sind Medikamente. So wurde bereits in den 1990er Jahren unter langfristiger Therapie mit dem Antibiotikum Pivmecillinam mehrfach ein sekundärer Carnitin-Mangel beobachtet. Ursächlich ist die Bindung von Carnitin durch das Antibiotikum, wodurch sich die Ausscheidung von Carnitin erhöht (Holme, Greter et al. 1989, Diep, Bohmer et al. 1993). Da Pivmecillinam ein häufig bei Blasenentzündungen während der Schwangerschaft verwendetes Antibiotikum ist, wurden in den Auswertungen der NGS-Programme in Schweden und Norwegen mehrere falsch positive Screenings auf CTD aufgrund dieses Antibiotikums berichtet (Sørensen, von Döbeln et al. 2020, Tangeraas, Sæves et al. 2020). Auch weitere

in der Schwangerschaft angewendete Medikamente wie Omeprazol und Antibiotika der β -Lactam-Klasse können die Carnitin-Spiegel beeinflussen (Hirano, Yasuda et al. 2006, Pochini, Scalise et al. 2009, Hu, Lancaster et al. 2012, El-Hattab and Scaglia 2015). In dem Patientenkollektiv der vorliegenden Arbeit konnte allerdings kein Zusammenhang zwischen einer Medikamenteneinnahme und einem falsch positiven NGS auf CTD festgestellt werden.

Wiederholt wurde die Ernährungsform als extrinsischer Einflussfaktor auf den Carnitin-Haushalt diskutiert. Bei einer streng vegetarischen oder veganen Ernährung ist die Zufuhr von Carnitin stark eingeschränkt, da das Molekül bis auf einzelne Ausnahmen nur in tierischen Produkten vorkommt (Evans and Fornasini 2003, Elmada and Leitzmann 2019). Allerdings waren nach sechs Monaten vegetarischer Ernährung keine Veränderungen der C0-Konzentrationen messbar (Blancquaert, Baguet et al. 2018). Bei einer langanhaltenden vegetarischen Ernährungsweise wurde eine geringe Reduktion der C0-Konzentration im Plasma von ca. 10 % (ca. 3-5 $\mu\text{mol/L}$) bei anhaltend normwertigen Konzentrationen in der Muskulatur beobachtet (Lombard, Olson et al. 1989, Novakova, Kummer et al. 2016). Dass sich auch bei langfristig ausbleibender externer Carnitin-Zufuhr keine manifeste Carnitin-Defizienz entwickelt, wird mit der ausreichenden endogenen Synthese bei gleichzeitig hocheffizienter renaler Resorption begründet (Lombard, Olson et al. 1989, Vaz and Wanders 2002, Evans and Fornasini 2003). In der vorliegenden Arbeit wurde unter den falsch positiven NGS-Ergebnissen ein geringer Anteil sich vegetarisch ($1/12 = 8,3\%$) oder flexitarisch ($1/12 = 8,3\%$) ernährender Mütter beobachtet. Dies war gut mit der Häufigkeit von Vegetarierinnen unter den 18 bis 29-Jährigen in einer deutschlandweiten Studie aus dem Zeitraum von 2008 bis 2011 in Einklang zu bringen. Der Anteil an Vegetarierinnen lag in dieser Studie bei 9 % (95 %-KI: 6,5-12,5 %) und der Anteil an Flexitarierinnen wurde deutlich höher eingeschätzt (Mensink, Barbosa et al. 2016). Zusätzlich war auch in der vorliegenden Arbeit bei der Gruppe von CTD-Betroffenen der Anteil von Müttern mit vegetarischer (0/12) bzw. flexitarischer (2/12) Ernährungsform ähnlich. Somit wurde weder in dieser Arbeit noch in Übersichtsarbeiten ein Zusammenhang zwischen einer vegetarischen oder veganen Ernährungsweise der Mutter und falsch positiven NGS auf CTD nachgewiesen (El-Hattab and Scaglia 2015, Longo, Frigeni et al. 2016).

Die Vielzahl an Einflussfaktoren auf den Carnitin-Haushalt des Neugeborenen bei gleichzeitiger Abhängigkeit vom Carnitin-Haushalt der Mutter liefert plausible Erklärungen für den hohen Anteil unspezifischer, falsch positiver NGS-Ergebnisse und dem daraus folgendem sehr niedrigen PPW. Doch selbst bei einem auffälligem NGS mit anhaltendem Verdacht auf CTD lag oftmals die Stoffwechselstörung nicht bei dem Neugeborenen, sondern bei der Mutter vor. Diese Konsellation wurde in NGS-Auswertungen auch für andere Stoffwechselstörungen und den Vitamin-B12-Mangel beschrieben (Crombez, Cederbaum et al. 2008, Eichhorst, Alcorn et al. 2010, McGaughy and Marble 2011, Kör, Mungan et al. 2015, Cho, Kim et al. 2016, Tangeraas, Saes et al. 2020). In der vorliegenden Arbeit wurde neben mehreren Müttern mit der Zielerkrankung CTD eine asymptotische Mutter (CTD-34) mit sekundärem Carnitin-Mangel, verursacht durch eine GA Typ I, diagnostiziert. In mehreren Publikationen wurde anhand des verminderten C0 im NGS des Kindes sowohl mehrere Fälle einer asymptomaticischen maternalen GA Typ I als auch vereinzelte Fälle von maternalem MCADD und Cobalamin-C-Defizienz diagnostiziert (Crombez, Cederbaum et al. 2008, Garcia, Martins et al. 2008, Lin, Neidich et al. 2009, Gallant, Leydiker et al. 2017). Insge- samt wurde in dem Patientenkollektiv der vorliegenden Arbeit bei der Abklärung auffälliger NGS-Befunde doppelt so häufig eine maternale Stoffwechselstörung als Ursache festgestellt wie ein primärer CTD des Kindes. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von multiplen NGS-Studien über den CTD, in denen vielfach ein maternaler CTD als Ursache des auffälligen NGS des Kindes festgestellt wurde (Vijay, Patterson et al. 2006, Schimmenti, Crombez et al. 2007, El-Hattab, Li et al. 2010, Lee, Tang et al. 2010, Lund, Hougaard et al. 2012, Gallant, Leydiker et al. 2017, Wilson, Knoll et al. 2019, Tangeraas, Saes et al. 2020).

Diese Ergebnisse lassen vermuten, dass die C0-Konzentration des Neugeborenen kurz nach der Geburt eher die C0-Konzentration der Mutter als seine eigene widerspiegelt (Scaglia and Longo 1999, Wilcken, Wiley et al. 2001, Gallant, Leydiker et al. 2017). Als weiterer Hinweis auf die starke Beeinflussung durch den mütterlichen Stoffwechsel wurde in der vorliegenden Arbeit eine signifikante ($p = 0,015$) negative Korrelation ($r = -0,502$) der C0-Konzentration in der Erstkarte des NGS mit dem Abnahmepunkt innerhalb der ersten 36-72 Lebensstunden festgestellt. Dies ist mit den Ergebnissen von Peng, Tang et al. (2020) vereinbar, die bei der Untersuchung des Screening-Zeitpunktes in einer Stichprobe von 29.000

NGS-Proben einen deutlichen Abfall der C0-Konzentration bis zur 48. Lebensstunde mit einem anschließenden geringen Anstieg nachwiesen. Ergänzend zu diesen Daten fanden Gallant, Leydiker et al. (2017) eine signifikante positive Korrelation der C0-Konzentration der falsch positiven Neugeborenen mit zunehmendem Abstand zur Geburt über einen Zeitraum von mehreren Wochen. Somit liegt auch bei gesunden Neugeborenen zum Zeitpunkt der Geburt oftmals eine niedrige C0-Konzentration vor, die während der ersten 48-72 Stunden noch geringgradig absinken kann, sich jedoch im Verlauf der ersten Lebenswochen normalisiert.

Bei Neugeborenen mit CTD hingegen sinkt die C0-Konzentration mit zunehmendem zeitlichem Abstand zur Geburt progradient ab. Die defizitäre renale Resorption führt dazu, dass die bei der Geburt bestehenden residualen Carnitin-Spiegel nicht erhalten werden können. Dies war bei zwei Neugeborenen der vorliegenden Arbeit zwischen der Erst- und der Zweitkarte deutlich zu beobachten (Abb. 8) und konnte auch in anderen Arbeiten gezeigt werden (Pasquali and Longo 2013, Rasmussen, Hougaard et al. 2017). Für gestillte Neugeborene von Müttern mit CTD vermutet man hingegen eine gleichbleibend verminderte C0-Konzentration. Diese Neugeborenen können bei mangelnder Zufuhr von ihrer Carnitin-defizienten Mutter ihre Carnitin-Spiegel nicht aufbauen, aber erhalten (Pasquali and Longo 2013, Rasmussen, Hougaard et al. 2017). Dies war bei der Mehrzahl der Neugeborenen von Müttern mit CTD des vorliegenden Kollektivs zu beobachten (Abb. 8). Die dargelegten Aspekte erklären, weshalb sich in den ersten Tagen postnatal anhand der C0-Konzentration Neugeborene mit CTD nicht von Neugeborenen von Müttern mit CTD unterscheiden ließen. Auch im NGS der Färöer-Inseln mit der weltweit höchsten CTD-Inzidenz von 1:300 war im NGS wenige Tage nach der Geburt keine Differenzierung zwischen den Neugeborenen mit CTD und den Neugeborenen von Müttern mit CTD möglich. Hieraus lässt sich schlussfolgern, dass der Abnahmezeitraum des deutschen NGS zwischen 36 und 72 Lebensstunden ungeeignet ist, um mithilfe der C0-Konzentration auf einen CTD des Neugeborenen zu untersuchen (Steuerwald, Lund et al. 2017).

Die Vermutung des für die C0-Konzentration unpassenden Screeningzeitpunktes wird untermauert durch die große Diskrepanz zwischen der im NGS festgestellten und der anhand von Variantenfrequenzen errechneten Inzidenz des CTD. Die in der vorliegenden Arbeit bestimmte Inzidenz des CTD in Bayern lag bei

1:303.000 Geburten und stimmte somit gut mit der im NGS in Baden-Württemberg ermittelten Inzidenz von 1:250.000 überein (Schulze, Lindner et al. 2003). Auch die CTD-Inzidenzen der NGS-Programme in Australien (1:120.000), USA (1:142.236), Neuseeland (1:290.000), Japan (1:199.000) und Norwegen (1:153.000) waren durchweg niedrig (Wilcken, Wiley et al. 2003, Therrell, Lloyd-Puryear et al. 2014, Shibata, Hasegawa et al. 2018, Wilson, Knoll et al. 2019, Tangeraas, Sæves et al. 2020). Im Gegensatz dazu wurden anhand von Variantenfrequenzen aus Datenbanken deutlich höhere Inzidenzen, zwischen 1:16.000 in Neuseeland und 1:59.465 in den USA, errechnet (Frigeni, Balakrishnan et al. 2017, Wilson, Knoll et al. 2019). In der Auswertung des norwegischen NGS wurde eine Allelfrequenz von 4% allein der pathogenen Gründer-Variante der Faröer-Inseln festgestellt, so dass die im NGS gefundene CTD-Inzidenz in Frage stellt werden muss (Tangeraas, Sæves et al. 2020). Die beschriebene Diskrepanz legt nahe, dass ein erheblicher Anteil von CTD-Patienten womöglich nicht im NGS erkannt wird (Schimmenti, Crombez et al. 2007, Longo 2016, Gallant, Leydiker et al. 2017, Steuerwald, Lund et al. 2017, Wilson, Knoll et al. 2019, Tangeraas, Sæves et al. 2020). Übertragen auf die vorliegende Arbeit hätte das bayrische NGS auf CTD trotz des hohen Anteils falsch positiver Screenings einen relevanten Anteil von Patienten mit CTD nicht diagnostiziert (falsch negative Fälle). Gegen diese Hypothese spricht, dass über den gesamten Studienzeitraum kein gescreenter CTD-Patient mit symptomatischer Präsentation dem Dr. von Haunerschen Kinderspital oder dem LGL bekannt wurde. Daraus ergibt sich die Frage, ob alle Individuen mit dem Genotyp eines CTD (zwei Varianten im SLC22A5-Gen) einen klinisch relevanten Phänotyp entwickeln (Crefcoeur, Ferdinandusse et al. 2023).

Die Frage nach der klinischen Relevanz der im NGS detektierten biochemischen und molekulargenetischen Auffälligkeiten war insbesondere aufgrund der großen Anzahl asymptomatischer Mütter mit CTD essentiell. Die Erfassung im NGS hatte die Identifizierung der potentiell schwer verlaufenden kindlichen Verlaufsform eines CTD zum Ziel. Die viel häufigere, milde, meist bis ins Erwachsenenalter asymptomatische Verlaufsform des CTD war ein unerwartetes Ergebnis des NGS (El-Hattab 2012). In dem Review von Crefcoeur, Visser et al. (2022) wurde ein Großteil der bislang bekannten CTD-Patienten analysiert und die Daten nach Erkrankungsgruppen systematisch ausgewertet. Mütter mit einer CTD-Diagnose

über das NGS ihres Kindes (n=102) waren zu 83,3 % asymptomatisch, 8,8 % hatten unspezifische, schwangerschaftsassoziierte Symptome, 3 % hatten eine kardiale Symptomatik, 4 % muskuläre Symptomatik, 2 % metabolische Symptome und 1 % hepatische Manifestationen. Keine der Mütter war verstorben und nur zwei Mütter weltweit hatten ein potenziell letales kardiales Ereignis (Kammerflimmern) erfahren (Crefcoeur, Visser et al. 2022). Die prozentuale Verteilung der Symptomatik stimmt gut mit den in dieser Arbeit gefundenen Symptomen bei maternalem CTD überein: drei Mütter mit gelegentlicher Fatigue und eine Mutter mit fraglich vom CTD ausgehender muskulärer Symptomatik. Der kardiologische Nebenbefund eines verschlossenen Vorhofaneurysmas der Mutter CTD-14 ist nicht mit dem CTD in Verbindung zu bringen. Und auch die bei CTD-10 nachgewiesenen supraventrikulären Extrasystolen mit Notwendigkeit einer Katheterablation waren wahrscheinlich nicht auf den CTD zurückzuführen, da sie keine der bislang berichteten, typischen kardialen Manifestationen darstellen und unter langjähriger Carnitin-Supplementierung aufgetreten waren.

Die Neugeborenen der vorliegenden Arbeit hatten allesamt keine symptomatische Manifestation eines CTD. Die bei CTD-05 beobachteten transienten EKG-Veränderungen in Form eines Rechtsschenkelblocks und linksventrikulärer Hypertrophiezeichen, wurden von den Kollegen der Kardiologie aufgrund des Auftretens unter Supplementierung und fehlendem Korrelat in UKG-Untersuchungen als nicht CTD-typisch bzw. nicht manifest beurteilt. Auch bei CTD-03 wurden im Rahmen der mehrfachen prophylaktischen, stationären Aufnahmen keine Anzeichen einer metabolischen Dekompensation nachgewiesen. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Crefcoeur, Visser et al. (2022), die bei über das NGS gefundenen Neugeborenen mit CTD in 90 % der Fälle einen asymptomatischen Verlauf und nur bei jeweils ca. 2 % eine kardiale oder metabolische Manifestation und bei 4% ein breites Spektrum unspezifischer Symptome beschrieben fanden. Allerdings wurden auch drei Todesfälle (1,2 %) von Neugeborenen mit CTD nach Beendigung der Carnitin-Supplementierung berichtet, welche in der bislang größten CTD-NGS-Studie in der Zhejiang-Provinz in China aufgetreten waren (Lin, Xu et al. 2020, Crefcoeur, Visser et al. 2022).

Eine naheliegende Erklärung für die sehr niedrige Anzahl an symptomatischen Fällen unter den Patienten mit im NGS detektiertem CTD wäre ein protektiver Effekt durch die frühe Therapieeinleitung (Crefcoeur, Visser et al. 2022). Eine

andere mögliche Erklärung wäre jedoch, dass im NGS in hoher Zahl auch andere, milder Phänotypen identifiziert wurden, die keiner klinischen Intervention bedürfen („*non-disease*“) (Hoffmann, von Kries et al. 2004, Crefcoeur, Visser et al. 2022).

Neben der fehlenden klinischen Symptomatik findet sich ein weiterer Hinweis auf ein milderes Spektrum an Phänotypen im Variantenspektrum der im NGS identifizierten Fälle. Sowohl bei den Neugeborenen als auch den Müttern ist der Anteil von pathogenen *Nonsense*-, *Frameshift*- und *Splice-Site*-Varianten deutlich geringer als bei CTD-Patienten nach symptomatischer Präsentation (Crefcoeur, Visser et al. 2022). Von den maternalen Fällen der vorliegenden Arbeit war der sehr hohe Anteil von *Missense*-Varianten (85 %) bei zwei *In-Frame-Deletionen* (10%), einer *Splice-Site*-Variante (5 %) und fehlenden *Nonsense*- oder *Frameshift*-Varianten kongruent zu Review-Arbeiten zu maternalem CTD (Rose, di San Filippo et al. 2012, Crefcoeur, Visser et al. 2022). Bei den Neugeborenen mit CTD lag hingegen im Vergleich zu den Müttern mit CTD ein höherer Anteil von pathogenen Varianten vor, ebenso vergleichbar mit anderen Studien (Crefcoeur, Visser et al. 2022).

Die häufigste Variante der Mütter war mit 45 % aller mutierten Allele die *Missense*-Variante c.136C>T (p.P46S). Sie wurde in der vorliegenden Arbeit bei neun von zwölf Müttern und keinem Neugeborenen mit CTD nachgewiesen. In der Literatur wurde diese Variante bislang hauptsächlich bei asymptomatischen Müttern oder seltener bei minimalsymptomatischen Müttern mit Symptomen wie leichter Ermüdbarkeit, Muskelschmerzen bei Belastung und Fastenintoleranz beschrieben (Schimmenti, Crombez et al. 2007, Li, El-Hattab et al. 2010, Longo, Frigeni et al. 2016). Darüber hinaus ist bei Vorliegen der Variante selbst in Kombination mit einer pathogenen Variante eine signifikante Restaktivität des Carnitin-Transporters nachweisbar (Frigeni, Balakrishnan et al. 2017). Bei homozygotem Vorliegen der Variante betrug die Restaktivität 16 – 20 % (Ferdinandusse, Te Brinke et al. 2019). Mehrere Publikationen schlussfolgerten aus dem überproportional häufigen Nachweis der Variante bei asymptomatischen Müttern bei gleichzeitig signifikanter Restaktivität des Carnitin-Transporters, dass die Variante vor einer frühen klinischen Manifestation des CTD schützt (Rose, di San Filippo et al. 2012, Longo, Frigeni et al. 2016, Frigeni, Balakrishnan et al. 2017). Als Argument für eine mögliche Pathogenität der c.136C>T-Variante wird jedoch

der Fall einer jungen Frau herangezogen, die nach mehreren kardialen Synkopen einen Defibrillator erhielt. Bei dieser Frau lag die Variante allerdings in Kombination mit der pathogenen Gründer-Variante der Faröer-Inseln vor (De Biase, Champaigne et al. 2012).

Neben den aus der Literatur bekannten Varianten wurden in der vorliegenden Arbeit vier bislang nicht publizierte Varianten nachgewiesen (Stand 10.10.2024, Quelle ClinVar-Datenbank). Die Träger der Varianten waren zum Zeitpunkt der Diagnosestellung klinisch asymptomatisch und blieben unter Therapie mit Carnitin asymptomatisch. Die Pathogenität dieser neuen Varianten soll im Folgenden beurteilt werden.

Bei der Variante c.351G>A (p.W117X) in Exon 1 handelt es sich um eine *Non-sense*-Variante, die zu einem vorzeitigen Stopcodon an der Aminosäureposition 117 und somit zu einem Translationsabbruch innerhalb der langen extrazellulären Schleife zwischen Transmembrandomäne 1 und 2 führt. Die Veränderung auf Proteinebene wurde bereits als pathogen beschrieben, allerdings verursacht durch den Nukleotid-Austausch c.350G>A (Li, El-Hattab et al. 2010). Bei der Patientin CTD-01 der vorliegenden Arbeit war zudem keine Restaktivität des Carnitin-Transports in Fibroblasten nachweisbar, womit die funktionelle Beeinträchtigung des Carnitin-Transporters durch die Variante bestätigt wurde. Von einer Pathogenität der Variante c.351G>A (p.W117X) ist daher auszugehen.

Die Variante c.769-786del18 (p.Δ257-262) verursacht den Verlust von 18 Basenpaaren und damit der sechs Aminosäuren von den Positionen 257 bis 262. Sie führt jedoch nicht zu einer Verschiebung des Leserasters (*in-Frame-Deletion*). Die deletierten Aminosäuren liegen in einer kurzen extrazellulären Schleife vor der Transmembrandomäne 6. Für die betroffenen Aminosäurepositionen waren mehrere *Missense*-Varianten in der ClinVar-Datenbank zu finden, die mit einer Ausnahme als Variante unbekannter Signifikanz (VUS) eingestuft wurden (Landrum, Lee et al. 2014). Die Ausnahme war die als wahrscheinlich pathogen eingestufte Variante c.769C>T (p.R257W). Sie wurde bei einer asymptomatischen Mutter nach auffälligem NGS des Kindes nachgewiesen und war mit einem deutlich verminderten Carnitin-Transport (7,65 %) assoziiert (Li, El-Hattab et al. 2010, Frigeni, Balakrishnan et al. 2017). Die Patientin CTD-12 trug die oben genannte

in-Frame-Deletion in Kombination mit der Variante c.136C>T und hatte eine diagnostisch verminderte Restaktivität des Carnitin-Transporters von 1,9 %. Somit ist von einer Pathogenität der Variante c.769-786del18 (p.Δ257-262) auszugehen.

Darüber hinaus wurden zwei neue *Missense*-Varianten in der vorliegenden Arbeit beschrieben. Da die Trägerinnen keine Messung des Carnitin-Transports durchführen ließen, war allein eine deskriptive Einordnung der Varianten möglich. Die *Missense*-Variante c.98G>T (p.G33V) tauscht das neutrale, unpolare Glycin gegen ein neutrales, unpolares Valin aus und ist innerhalb der ersten Transmembrandomäne lokalisiert. Die Mutter CTD-20 trug diese Variante kombiniert mit der Variante c.136C>T und zeigte keine klinischen Symptome; die biochemischen Parameter, wie die renale Resorption von 87,5 % und die durchschnittliche CO₂-Konzentration im Plasma von 17,9 μmol/L unter Carnitin-Substitution, waren verglichen mit den anderen maternalen CTD-Fällen höher. Der Aminosäureaustausch liegt direkt benachbart zu der pathogenen Gründer-Variante c.95A>G (p.N32S) der Faröer-Inseln (Rasmussen, Lund et al. 2014). Für eine Pathogenität der c.98G>T (p.G33V) Variante spricht die Nähe zu der nachgewiesenen pathogenen Variante der Faröer-Inseln, die Ähnlichkeit der ausgetauschten Aminosäuren und die geringe Affektion der Patientin sprechen für eine VUS. Eine abschließende Einordnung war mit dem gegenwärtigen Wissensstand nicht möglich.

Bei der zweiten *Missense*-Variante c.1531G>C (p.E511Q) wird ein saures, polares Glutamat an Position 511 am C-Terminus kurz hinter der zwölften Transmembrandomäne durch ein neutrales und polares Glutamin ersetzt. Die grundlegende Struktur der Aminosäuren ist sehr ähnlich, wobei in Glutamin die zweite Säuregruppe des Glutamats durch eine Aminogruppe ersetzt ist. Ein Austausch derselben Aminosäureposition durch Asparaginsäure c.1533G>C (p.E511D) ist in der ClinVar-Datenbank bei einem residualen Carnitin-Transport in Fibroblasten von 72,35 % als VUS bewertet worden. Weitere *Missense*-Varianten im C-Terminus hatten im Vergleich zu anderen Positionen seltener einen negativen Effekt auf die Transporter-Funktion (Koleske, McInnes et al. 2022). Die Mutter CTD-16 und ihre über das Familienscreening diagnostizierte Schwester CTD-17 trugen beide die Variante c.1531G>C (p.E511Q) in Kombination mit der Variante c.136C>T. Ihre Laborwerte sowohl in der Initialdiagnostik als auch im Rahmen

der Nachsorge unter Supplementierung bewegten sich im Bereich der anderen maternalen CTD-Fälle. In Zusammenschau all dieser Faktoren ist bei der Variante c.1531G>C (p.E511Q) von einer VUS auszugehen.

Neben diesen Patientinnen mit bislang nicht bekannten Varianten lagen in dem untersuchten Patientenkollektiv auch mehrere Fälle vor, bei denen nur eine oder keine Variante im *SLC22A5*-Gen nachgewiesen wurde. So wurde bei einem Neugeborenen und vier Müttern nur eine Variante sowie bei zwei Patientinnen keine Variante im *SLC22A5*-Gen gefunden. In einer Übersichtsarbeit wurde festgestellt, dass in der Sequenzanalyse des *SLC22A5*-Gens zur Diagnosesicherung eines CTD in 20% der Fälle nur eine heterozygote Variante und in 6 % der Fälle keine Variante im *SLC22A5*-Gen nachweisbar waren (Frigeni, Balakrishnan et al. 2017). Im Jahr 2019 wurde mit der Variante c.-149G>A eine neue Variante beschrieben, die sich in der 5'-untranslatierten Region (5'UTR) des Gens befindet (Ferdinandusse, Te Brinke et al. 2019). Durch ihre Lokalisation in der 5'UTR des Gens wurde diese Variante durch die bis dahin in der Routine durchgeführte Methode einer Sequenzierung der kodierenden Bereiche (Exone) und unmittelbar angrenzenden Intronssequenzen nicht erfasst. In einem Kollektiv von 236 Patienten mit Verdacht auf CTD wurde die Variante c.-149G>A bei 24,2 % der Patienten festgestellt. Damit war sie in der untersuchten Gruppe mit Abstand die häufigste Variante und wurde überdurchschnittlich häufig bei Neugeborenen oder Müttern nach Abklärung eines auffälligen NGS nachgewiesen (Ferdinandusse, Te Brinke et al. 2019). Da homozygote Träger der Variante eine hohe Restaktivität des Carnitin-Transports von durchschnittlich 31 % aufwiesen und bislang keine symptomatischen Patienten mit dieser Variante berichtet wurden, gingen die Autoren davon aus, dass schwerwiegende klinische Manifestationen mit der Variante unwahrscheinlich sind (Ferdinandusse, Te Brinke et al. 2019).

Die Variante c.-149G>A konnte durch die molekulargenetischen Untersuchungen der vorliegenden Arbeit nicht erfasst werden. Insbesondere für die Fälle von CTD-09 und CTD-10 stellt die Variante c.-149G>A bei bislang unauffälliger *SLC22A5*-Sequenzanalyse eine plausible Erklärung des auf 24,5 % bzw. 32,1 % reduzierten Carnitin-Transports in kultivierten Fibroblasten dar. Ebenso wäre das Vorliegen dieser Variante denkbar bei denen als milder, funktioneller CTD eingeordneten heterozygoten Varianten-Trägerinnen CTD-28, CTD-30 und CTD-32.

Bei den zwei anderen Fällen mit nur einer nachgewiesenen Variante, dem Neugeborenen CTD-05 sowie der Mutter CTD-26, ist die Variante c.-149G>A wegen der bei den Patienten sehr niedrigen bzw. nicht nachweisbaren Restaktivitäten des Carnitin-Transports in kultivierten Fibroblasten unwahrscheinlich.

Aufgrund der oftmals unklaren pathogenetischen Relevanz der identifizierten Varianten, fehlender funktioneller Diagnostik aus Fibroblasten und unspezifischer klinischer Symptomatik stellte sich die Frage nach der Therapiebedürftigkeit der über das NGS identifizierten Fälle. Crefcoeur, Ferdinandusse et al. (2023) kategorisierten in ihrer Übersichtsarbeit retrospektiv die im niederländischen NGS gefundenen CTD-Patienten bezüglich ihrer mutmaßlichen individuellen Krankheitsschwere. Dafür unterteilten sie die Varianten in klassische Varianten von Patienten nach symptomatischer Präsentation und Screening-Varianten von Patienten, die über das NGS diagnostiziert wurden. Unter Berücksichtigung der beobachteten klinischen Symptome gruppierten sie die CTD-Fälle in schwer, wahrscheinlich benigne und unbekannt. Alle maternalen CTD-Fälle wurden dabei, sofern keine schwerwiegende Symptomatik oder der bekannte Genotyp eines symptomatischen CTD-Falles vorlag, als wahrscheinlich benigne eingestuft (Crefcoeur, Ferdinandusse et al. 2023). Im Folgenden wird versucht, die Einordnung anhand der mutmaßlichen Krankheitsschwere dieser Arbeit auf das Patientenkollektiv der vorliegenden Arbeit zu übertragen, wobei im Anschluss die Grenzen dieser Einordnung aufgezeigt werden.

Aus dem Patientenkollektiv der vorliegenden Arbeit wären nur die beiden Neugeborenen CTD-01 und CTD-03 als schwerer CTD-Verlauf einzustufen, da sie Genotypen symptomatischer CTD-Patienten trugen (Dobrowolski, McKinney et al. 2005, Roussel, Labarthe et al. 2016). Die Neugeborenen CTD-05, CTD-07 und CTD-09 waren Träger von Screening-Varianten oder wiesen keine *SLC22A5*-Varianten auf und zeigten keine schwerwiegende Symptomatik. Somit wären sie als wahrscheinlich benigner Krankheitsverlauf einzuordnen. Alle maternalen CTD-Fälle wären ebenfalls als wahrscheinlich benigne einzustufen, da die Mütter weder schwerwiegende Symptome gezeigt hatten noch Trägerinnen klassischer *SLC22A5*-Varianten waren.

Allerdings ergaben sich einige Inkongruenzen zwischen den Beobachtungen aus den beiden Kollektiven. In der Übersichtsarbeit wurde ein signifikanter Unterschied der residualen Carnitin-Transporter-Aktivität in kultivierten Fibroblasten zwischen den als schwer und wahrscheinlich benigne eingestuften Fällen beschrieben. So wurde in der Gruppe des schweren CTD eine Restaktivität von 4 % (Spannweite 3,5 – 5,0 %) und bei wahrscheinlich benignem CTD eine Restaktivität von 26,0 % (Spannweite 9,5 – 42,5 %) im Median gemessen (Crefcoeur, Ferdinandusse et al. 2023). Im Patientenkollektiv der vorliegenden Arbeit stünden damit der diagnostisch reduzierte Carnitin-Transport der Mütter CTD 12 (1,9 %) und CTD-26 (nicht nachweisbare Aktivität) sowie des Kindes CTD-05 (8,5 %) in Widerspruch zu einer Einordnung als wahrscheinlich benigne. Auch die Fälle von CTD-09 und ihrer Mutter CTD-10 wären schwer in dem publizierten Schema zu erfassen, da das Ereignis eines plötzlichen Kindstodes des ältesten Geschwisterkindes ätiologisch unklar blieb. Wäre der plötzliche Kindstod auf den CTD zurückzuführen gewesen, so wären beide Fälle als schwerer CTD einzurordnen.

Wie aus diesem Versuch einer Kategorisierung der Krankheitsschwere ersichtlich wurde, ist die pathogenetischen Relevanz eines im NGS diagnostizierten CTDs bei Neugeborenen und Müttern schwer zu beurteilen. Die Häufigkeit und der natürliche Krankheitsverlauf der im NGS gefundenen Genotypen und der daraus resultierenden Phänotypen war bei Aufnahme des CTD in die NGS-Programme nicht bekannt, was einem der grundlegenden Prinzipien des NGS widerspricht (Wilson and Jungner 1968). Durch das NGS auf CTD werden Patienten identifiziert, die „für längere Zeit unter ärztlicher Aufsicht zwischen Krankheit und Gesundheit [...] schweben, zwischen Pathologie und einem undifferenzierten Zustand der ‚Normalität‘“. Dieser Zustand wird mit dem Begriff „patients-in-waiting“ (deutsch: Patienten im Wartestand) betitelt (Timmermans and Buchbinder 2010). Diese Unsicherheit stellte eine erhebliche psychische Belastung für die Betroffenen dar und reduzierte die Compliance bezüglich der Carnitin-Supplementierung, der Bestimmung des Carnitin-Transports in Fibroblasten und auch ambulanter Verlaufsuntersuchungen, vor allem bei den erwachsenen Patientinnen der vorliegenden Arbeit. Eine ähnlich geringe Compliance wurde auch in anderen CTD-

NGS-Programmen beobachtet und wurde für andere asymptomatische Pathologien, wie Bluthochdruck und Hypercholesterinämie, gut untersucht (Phan, Gomez et al. 2014, Abegaz, Shehab et al. 2017, Wilson, Knoll et al. 2019).

Die Diagnose eines CTD im NGS und dadurch frühzeitige Behandlung war für die Patienten und Behandlungsteams nicht wie erwartet die einfache Erfassung und weitgehend nebenwirkungsfreie Therapie einer schwerwiegenden, möglicherweise letalen Erkrankung. Sie stellte sich vielmehr als ein schwer aufzulösendes Dilemma zwischen der möglichen Übertherapie einer benignen Stoffwechselalteration bei sehr geringem Risiko eines schweren Verlaufes und dem plötzlichen Todesfall bei unterlassener Supplementierung heraus. Die bekannten Nebenwirkungen einer Carnitin-Supplementierung, veränderter Körpergeruch und gastrointestinale Beschwerden, traten bei mehreren Patienten der vorliegenden Arbeit auf. Vor allem die erwachsenen Patientinnen störten sich an dem „fischartigen“ Körpergeruch, der durch ein intestinales Abbauprodukt des Carnitins, das Trimethylamin (TMA), verursacht wird.

Zudem wurden in den letzten Jahren Abbauprodukte des TMA als potenzieller Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen beschrieben und stellen somit die lange vermutete Unbedenklichkeit einer lebenslangen Carnitin-Supplementierung zunehmend in Frage (Wilson, Knoll et al. 2019). Nicht resorbierter Carnitin wird im Darm bakteriell in γ -Butyrobetain und TMA zersetzt, letzteres enteral resorbiert und zu Trimethylamin-N-oxid (TMAO) metabolisiert (Evans and Fornasini 2003, Koeth, Lam-Galvez et al. 2019). In mehreren rezenten Studien wurde eine erhöhte TMAO-Konzentration als Risikofaktor für atherosklerotische Veränderungen beschrieben (Koeth, Wang et al. 2013, Tang, Wang et al. 2013, Fernandez-Prado, Esteras et al. 2017, Zhu, Wang et al. 2017, Koeth, Lam-Galvez et al. 2019). Zwei große Metaanalysen zeigten eine erhöhte Gesamtmortalität bei erhöhter TMAO-Konzentration (relatives Risiko von 1,63 (95 %-KI: 1,36 – 1,95) (Heianza, Ma et al. 2017) bzw. Hazard Ratio von 1,91 (95 %-KI: 1,40 – 2,61) (Schiattarella, Sannino et al. 2017)). In beiden Metaanalysen wurde auch eine dosisabhängige Erhöhung des relativen Risikos für schwerwiegende kardiovaskuläre Ereignisse von 1,02 (95 %-KI: 1,01 – 1,03) je 1 μ mol/L TMAO-Anstieg (Heianza, Ma et al. 2017) sowie für die Gesamtmortalität von 1,07 (95 %-KI 1,04 – 1,11) je 10 μ M TMAO-Anstieg nachgewiesen (Schiattarella, Sannino et al. 2017). Die Erhöhung der TMAO-Konzentration unter Carnitin-Supplementierung

wurde bislang bei Patienten mit Stoffwechselerkrankungen aus dem Bereich der Organoazidopathien und mitochondrialen Erkrankungen untersucht. Bei beiden Erkrankungsgruppen wurde unter langfristiger Carnitin-Supplementierung ein ausgeprägter Anstieg der TMAO-Konzentration auf durchschnittlich 43,26 bzw. 120 µmol/L – bei physiologischen Normwerten zwischen 3 – 4 µmol/L – nachgewiesen (Miller, Bostwick et al. 2016, Vallance, Koochin et al. 2018). Für CTD-Patienten wurde die Erhöhung der TMAO-Konzentration bislang nicht untersucht. Da aber CTD-Patienten aufgrund der OCTN2-Defizienz nur 5 – 18 % der oral supplementierten Carnitin-Dosis enteral resorbieren können (Evans and Fornasini 2003), könnte man postulieren, dass der TMAO-Anstieg bei Patienten mit CTD sogar noch höher ist. Bei umstrittener Therapiebedürftigkeit asymptomatischer Mütter und milder im NGS identifizierter Phänotypen bei Neugeborenen (Wilcken 2010, El-Hattab 2012) sollten auch die möglichen Nebenwirkungen von TMAO bei langfristiger Carnitin-Supplementierung in den Abwägungen berücksichtigt werden (Rasmussen, Lund et al. 2014, Wilson, Knoll et al. 2019).

Neben der überwiegenden Identifikation von asymptomatischen, mutmaßlich nicht therapiebedürftigen Phänotypen steht auch der hohe Anteil an falsch positiven Screenings nicht im Einklang mit den Grundsätzen des NGS (Wilson and Jungner 1968). Falsch positive Ergebnisse stellen eine psychische Belastung für die Familien der betroffenen, gesunden Neugeborenen und damit für die gesunde Bevölkerung dar (Gurian, Kinnaman et al. 2006, Hewlett and Waisbren 2006). Verglichen mit Eltern von Neugeborenen mit unauffälligem Screening waren bei Eltern von Neugeborenen mit falsch positivem Screening signifikant erhöhte elterliche Stress-Level und Auswirkungen in den Bereichen „Eltern-Kind-Dysfunktion“, „schwieriges Verhalten des Kindes“ sowie vermehrte Sorgen um die Zukunft des Kindes nachweisbar (Waisbren, Albers et al. 2003, Gurian, Kinnaman et al. 2006, Tu, He et al. 2012). Als Folge hatten Säuglinge nach einem falsch positiven Screening-Ergebnis im Vergleich zu Säuglingen mit unauffälligem NGS im ersten Jahr nach der Geburt doppelt bis dreimal so viele Krankenhausaufenthalte (Waisbren, Albers et al. 2003, Tu, He et al. 2012, Karaceper, Chakraborty et al. 2016). Somit können falsch positive Screening-Ergebnisse einen nachhaltigen Einfluss auf die Eltern-Kind-Beziehung und auf das Stress-Level der Eltern haben, insbesondere wenn die Eltern unzureichende Informationen erhalten (Gramer, Hoffmann et al. 2015). Deshalb ist die Vermeidung von falsch

positiven Ergebnissen durch einen hohen PPW ein essentielles Ziel von Screeninguntersuchungen.

Einen potentiellen Ansatz, das NGS auf CTD zu verbessern, stellt die Datenanalyse durch Einbindung postanalytischer Interpretationshilfen dar, wie bspw. Collaborative Laboratory Integrated Reports 2.0 (CLIR) oder Machine Learning (Peng, Shen et al. 2019, Peng, Tang et al. 2020, Sörensen, von Döbeln et al. 2020). Diese Programme könnten zumindest partiell für individuelle Einflussfaktoren der C0-Konzentration, wie Schwangerschaftsalter, Geburtsgewicht oder Geburtsart, korrigieren und darüber den Anteil falsch positiver Screenings reduzieren. So wurde mittels CLIR im schwedischen NGS ein PPW von 12 % für den CTD erreicht (Sörensen, von Döbeln et al. 2020). Allerdings wurde auch dort das NGS auf CTD als sehr herausfordernd und komplex beschrieben, da der PPW für den CTD weiterhin deutlich unter dem Durchschnitt anderer Erkrankungen des schwedischen NGS lag und maternale CTD-Fälle erfasst wurden (Sörensen, von Döbeln et al. 2020). Somit wäre mit dieser Methode nur eine geringfügige Verbesserung des Screenings zu erreichen und es würden weiterhin wahrscheinlich benigne Phänotypen erfasst werden.

Eine andere Verbesserungsoption wäre die ergänzende molekulargenetische Untersuchung des *SLC22A5*-Gens aus der initialen TBK (*2nd tier*-Test), wie sie in Norwegen und China nach unzureichenden Ergebnissen des NGS eingeführt wurde (Lin, Xu et al. 2020, Tangeraas, Sæves et al. 2020). In dem norwegischen NGS-Programm wurde laut den Autoren dadurch die Anzahl falsch positiver Screenings und maternaler CTD-Fälle deutlich reduziert (Tangeraas, Sæves et al. 2020). Auch im deutschen NGS werden seit einigen Jahren molekulargenetische Methoden im Rahmen des NGS auf spinale Muskelatrophie, schwere kombinierte Immundefekte und Mukoviszidose durchgeführt (G-BA 2023). Die Sequenzierung eines kompletten Gens (Einzelgen-Analyse) wäre jedoch mit hohen Kosten und hohen regulatorischen Hürden verbunden. Darüber hinaus würden weiterhin Genotypen mit unklarer klinischer Relevanz identifiziert.

Die vielversprechendste, jedoch aufwendigste Verbesserungsmöglichkeit wäre ein Screening der C0-Konzentration zu einem späteren Zeitpunkt (Longo, Frigeni et al. 2016, Gallant, Leydiker et al. 2017, Rasmussen, Hougaard et al. 2017,

Steuerwald, Lund et al. 2017). So war auf den Färöern in einem zweiten, freiwilligen Screening im Alter von mehr als 2 Monaten ein signifikanter Unterschied zwischen den Neugeborenen mit CTD und den Neugeborenen von Müttern mit CTD zu sehen (Rasmussen, Hougaard et al. 2017). In Deutschland werden die Vorsorgeuntersuchungen für Kinder zu über 95% wahrgenommen, so dass man mit einem zweiten Screening in diesem Rahmen einen Großteil der Kinder erfassen könnte (Schmidtke, Kuntz et al. 2018). Der Zeitraum der U3-Untersuchung in der vierten bis fünften Lebenswoche wäre passend für ein Screening auf CTD. Allerdings wäre der logistische, organisatorische und finanzielle Aufwand für die Etablierung eines zweiten Screenings für eine einzelne Erkrankung enorm und im Verhältnis zu der sehr geringen Inzidenz von CTD in Deutschland von 1:250.000 bis 1:300.000 unverhältnismäßig.

Mit keiner der genannten Modifikationen des CTD-NGS wäre die grundlegende Frage, welche der identifizierten Genotypen bzw. biochemischer Phänotypen einer lebenslangen Therapie bedürfen, sicher gelöst. Screening-Programme bewegen sich stets in einem Spannungsfeld zwischen dem Nutzen für die erkrankten Individuen und den negativen Auswirkungen auf die gesunde Bevölkerung; und sollten hierbei bezüglich der benötigten Ressourcen verhältnismäßig bleiben (Gray, Patnick et al. 2008). Über einen Zeitraum von 19,5 Jahren wurden im wissenschaftlichen Begleitprogramm des bayerischen NGS drei Neugeborene mit einer sehr wahrscheinlich behandlungsbedürftigen Krankheitsausprägung eines CTD gefunden. Die pathogenetische Relevanz der übrigen identifizierten Fälle, einschließlich der maternalen CTD-Fälle, ist bis heute nur unzureichend verstanden, so dass ein positiver Effekt eines NGS auf CTD nicht eindeutig zu belegen ist. Negative Begleiteffekte des NGS auf CTD bestanden auf Seiten der Neugeborenen in der großen Zahl falsch positiver Befunde, die eine körperliche Belastung durch die Konfirmationsdiagnostik und eine psychische Belastung für die Eltern-Kind-Beziehung darstellten sowie hohe Kosten für das Gesundheitssystem verursachten. Darüber hinaus wurden Mütter, die sich bis dahin als gesund empfanden, mit einer beunruhigenden Diagnose ungewisser Bedeutung konfrontiert. Eine Fortführung des NGS auf CTD auf der Basis einer Bestimmung der Co-Konzentration in den ersten Lebenstagen kann somit zum aktuellen Zeitpunkt nicht empfohlen werden.

5 Zusammenfassung

Die angeborene Stoffwechselerkrankung Carnitin-Transporter-Defekt (CTD) ist potenziell lebensbedrohlich, in einem symptomfreien Stadium diagnostizierbar und effektiv therapierbar. Sie wurde daher in vielen Neugeborenenscreening (NGS)-Programmen weltweit untersucht. Die Erkrankung manifestiert sich klinisch in Abhängigkeit des Alters als metabolische Dekompensation mit Koma, Myopathien der Herz- und Skelett-Muskulatur sowie kardialen Arrhythmien. Als Screening-Parameter im NGS dient die Konzentration des freien Carnitins (C0). Diese Arbeit analysierte die Ergebnisse des wissenschaftlichen Begleitprogramms des bayerischen NGS auf CTD sowie der langfristigen klinischen Betreuung der am Zentrum für angeborene Stoffwechselerkrankungen des Dr. von Haunerschen Kinderspitals behandelten Patienten aus dem Zeitraum Januar 1999 bis Juni 2018. Unter 1.816.000 bayerischen NGS-Proben wurden sechs Neugeborene mit CTD diagnostiziert (Inzidenz 1:303.000). In dem Zeitraum Januar 2008 bis Juni 2018 lag der positiv prädiktive Wert (PPW) eines auffälligen NGS zwischen 1,63 und 2,17 %. Im Stoffwechselzentrum des Dr. von Haunerschen Kinderspitals wurden 24 Neugeborene zur Konfirmationsdiagnostik vorgestellt und parallel eine Diagnostik bei den Müttern initiiert. Ein CTD lag bei vier Neugeborenen und sieben Müttern vor, bei einem Neugeborenen und vier Müttern konnte der Verdacht auf CTD molekulargenetisch nicht verifiziert werden. Bei einer Mutter wurde eine Glutarazidurie Typ I festgestellt. Bei den verbleibenden elf Neugeborenen und ihren Müttern ergab sich kein Anhalt für eine angeborene Stoffwechselerkrankung. Eine signifikante negative Korrelation zwischen der C0-Konzentration der Neugeborenen im NGS und dem Abstand zur Geburt ($r = -0,502$ ($p = 0,015$)) legte nahe, dass externe Faktoren, insbesondere der maternale Stoffwechsel, den Screening-Parameter beeinflussten. Insummiert 104,5 Patientenjahren hatten die Neugeborenen und Mütter mit CTD weder zum Zeitpunkt der Diagnosestellung noch während des Beobachtungszeitraums unter Carnitin-Supplementierung schwerwiegende klinische Manifestationen. Der niedrige PPW führte zu einer hohen Anzahl falsch positiver Befunde und damit zu einer hohen Belastung der gesunden Bevölkerung. Gleichzeitig schließt die Diskrepanz zwischen der niedrigen beobachteten Inzidenz und einer molekulargenetisch errechneten höheren Inzidenz falsch negative Ergebnisse nicht aus. Die pathologische Relevanz der Diagnose eines CTD ist für viele der über das NGS

gefundenen Individuen, insbesondere für die asymptomatischen Mütter, ungeklärt. Die Ergebnisse sind im Einklang mit anderen Studien, die gegen ein NGS auf CTD sprechen, das auf einer Bestimmung der C0-Konzentration in den ersten Lebenstagen beruht.

6 Abstract

The inborn metabolic disease carnitine transporter deficiency (CTD) is potentially life-threatening, can be diagnosed at a symptom free stage and can be treated effectively. It has therefore been investigated in many newborn screening (NGS) programs worldwide. Depending on age, the disease manifests clinically as metabolic decompensation with coma, myopathies of the heart and skeletal muscles and cardiac arrhythmias. The concentration of free carnitine (C0) serves as the screening parameter in the NGS, but is strongly influenced by maternal metabolism. This study analyzed the results of the scientific program of the Bavarian NGS for CTD as well as the long-term clinical outcome of patients treated at the center for inborn metabolic diseases of the Dr. von Hauner Children's Hospital from January 1999 to June 2018. Six newborns were diagnosed with CTD among 1.816.000 Bavarian NGS samples (incidence 1:303,000). In the period of January 2008 until June 2018, the positive predictive value (PPW) of an abnormal NGS for CTD ranged from 1.63 to 2.17 %. At the metabolic centre of the Dr. von Hauner Children's Hospital, 24 newborns were presented for confirmation diagnostics and parallel diagnostics were initiated on the mothers. A CTD was present in four newborns and seven mothers, in one newborn and four mothers the suspicion of CTD could not be verified genetically. One mother was diagnosed with glutaric aciduria type I. In the remaining eleven newborns and their mothers, there was no evidence of a congenital metabolic disorder. A significant negative correlation ($r = -0,502$ ($p = 0,015$)) between the newborn's C0-concentration and the distance to birth suggested that external factors, particularly maternal metabolism, influenced the values. In a total of 104.5 patient-years, the newborns and mothers with CTD had no severe clinical manifestations either at the time of diagnosis or during the observation period under carnitine supplementation. The low PPW led to a high number of false positive findings and, thus, to a high burden on the healthy population. At the same time, the discrepancy between the low observed incidence and a calculated, higher incidence using molecular genetics does not rule out false negative results. The pathological relevance of the diagnosis of CTD is uncertain for many of the individuals found by NGS, especially for the asymptomatic mothers. The results are consistent with other studies that argue against NGS on CTD, which is based on determining the C0 concentration in the first days of life.

7 Literaturverzeichnis

- Abegaz, T. M., A. Shehab, E. A. Gebreyohannes, A. S. Bhagavathula and A. A. Elnour (2017). "Nonadherence to antihypertensive drugs: A systematic review and meta-analysis." *Medicine* **96**(4): e5641.
- Advanced Chemistry Development Inc. (2020). ACD/ChemSketch. Toronto, ON, Canada.
- Agnetti, A., L. Bitton, B. Tchana, A. Raymond and N. Carano (2013). "Primary carnitine deficiency dilated cardiomyopathy: 28 years follow-up." *Int J Cardiol* **162**(2): e34-35.
- Amat di San Filippo, C. and N. Longo (2004). "Tyrosine residues affecting sodium stimulation of carnitine transport in the OCTN2 carnitine/organic cation transporter." *J Biol Chem* **279**(8): 7247-7253.
- Angelini, C., L. Vergani and A. Martinuzzi (1992). "Clinical and Biochemical Aspects of Carnitine Deficiency and Insufficiency: Transport Defects and Inborn Errors of β -Oxidation." *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* **29**(3-4): 217-242.
- Bickel, H., C. Bachmann, R. Beckers, N. J. Brandt, B. E. Clayton, G. Corrado, H. J. Feingold, O. Giardini, G. Hammersen and D. Schönberg (1981). "Neonatal mass screening for metabolic disorders." *European Journal of Pediatrics* **137**(2): 133-139.
- Bickel, H., J. Gerrard and E. M. Hickmans (1953). "Influence of phenylalanine intake on phenylketonuria." *Lancet* **265**(6790): 812-813.
- Blancquaert, L., A. Baguet, T. Bex, A. Volkaert, I. Everaert, J. Delanghe, M. Petrowic, C. Vervaet, S. De Henuauw, D. Constantin-Teodosiu, P. Greenhaff and W. Derave (2018). "Changing to a vegetarian diet reduces the body creatine pool in omnivorous women, but appears not to affect carnitine and carnosine homeostasis: a randomised trial." *Br J Nutr* **119**(7): 759-770.
- Brockow, I., O. Blankenstein, U. Ceglarek, R. Ensenauer, R. Fingerhut, G. Gramer, F. Hörster, N. Janzen, J. Klein, E. Lankes, M. Lindner, S. Murko, M. Nauck, M. Roedel, S. Rönicke, W. Rösninger, O. Sommerburg, C. Speckmann and U. Nennstiel. (2024). "Nationaler Screeningreport Deutschland 2021." Retrieved 14.04.2025, 2025, from https://www.screening-dgns.de/Pdf/Screeningreports/DGNS-Screeningreport-d_2021.pdf.
- Burwinkel, B., J. Kreuder, S. Schweitzer, M. Vorgerd, K. Gempel, K. D. Gerbitz and M. W. Kilimann (1999). "Carnitine transporter OCTN2 mutations in systemic primary carnitine deficiency: a novel Arg169Gln mutation and a recurrent Arg282ter mutation associated with an unconventional splicing abnormality." *Biochem Biophys Res Commun* **261**(2): 484-487.
- Cerner® (2015). i.s.h.med. Berlin, Cerner®.
- Cho, K. L., Y. J. Kim, S. H. Yang, G. H. Kim and J. H. Lee (2016). "Maternal 3-methylcrotonyl-coenzyme A carboxylase deficiency with elevated 3-hydroxyisovalerylcarnitine in breast milk." *Korean J Pediatr* **59**(Suppl 1): S41-S44.
- Cho, S. W. and Y. S. Cha (2005). "Pregnancy increases urinary loss of carnitine and reduces plasma carnitine in Korean women." *Br J Nutr* **93**(5): 685-691.
- Crefcoeur, L., S. Ferdinandusse, S. N. van der Crabben, E. Dekkers, S. A. Fuchs, H. Huidekoper, M. Janssen, J. Langendonk, R. Maase, M. de Sain, E. Rubio, F. J. van Spronsen, F. M. Vaz, R. Verschoof, M. de Vries, F. Wijburg, G. Visser and M. Langeveld (2023). "Newborn screening for primary carnitine deficiency: who will benefit? - a retrospective cohort study." *J Med Genet* **60**(12): 1177-1185.

- Crefcoeur, L. L., M. G. M. de Sain-van der Velden, S. Ferdinandusse, M. Langeveld, R. Maase, F. M. Vaz, G. Visser, R. J. A. Wanders, F. A. Wijburg, R. K. Verschoof-Puite and P. Schielen (2020). "Neonatal carnitine concentrations in relation to gestational age and weight." *JIMD Rep* **56**(1): 95-104.
- Crefcoeur, L. L., G. Visser, S. Ferdinandusse, F. A. Wijburg, M. Langeveld and B. Sjouke (2022). "Clinical characteristics of primary carnitine deficiency: A structured review using a case-by-case approach." *J Inherit Metab Dis* **45**(3): 386-405.
- Crombez, E. A., S. D. Cederbaum, E. Spector, E. Chan, D. Salazar, J. Neidich and S. Goodman (2008). "Maternal glutaric aciduria, type I identified by newborn screening." *Mol Genet Metab* **94**(1): 132-134.
- De Biase, I., N. L. Champaigne, R. Schroer, L. M. Pollard, N. Longo and T. Wood (2012). "Primary Carnitine Deficiency Presents Atypically with Long QT Syndrome: A Case Report." *JIMD Rep* **2**: 87-90.
- Deutscher Bundestag (2009). Gesetz über genetische Untersuchungen bei Menschen (Gendiagnostikgesetz - GenDG). *Teil I Nr. 50*. Bundesgesetzblatt.
- Diep, Q. N., T. Bohmer, J. I. Holme, A. Torvik, O. T. Storrosten, C. W. Loennecken, P. Monstad and E. Jellum (1993). "Slow replenishment of carnitine deficiency after cessation of long-term treatment with pivaloyl-containing antibiotics." *Pharm World Sci* **15**(5): 225-229.
- Dobrowolski, S. F., J. T. McKinney, C. Amat di San Filippo, K. Giak Sim, B. Wilcken and N. Longo (2005). "Validation of dye-binding/high-resolution thermal denaturation for the identification of mutations in the SLC22A5 gene." *Hum Mutat* **25**(3): 306-313.
- Efron, B. (1987). "Better Bootstrap Confidence Intervals." *Journal of the American Statistical Association* **82**(397): 171-185.
- Eichhorst, J., J. Alcorn, J. Lepage, M. Etter, N. A. Antonishyn, B. Fitterer, D. A. Birch, K. L. Agopsowicz, L. Ruthnum, C. R. Greenberg and D. C. Lehotay (2010). "Elevated neonatal 3-OH isovalerylcarnitine due to breast milk sources in maternal 3-MCC deficiency." *Mol Genet Metab* **101**(1): 84-86.
- El-Hattab, A. W. (2012). Systemic Primary Carnitine Deficiency. *GeneReviews(R)*. M. P. Adam, H. H. Arlinger, R. A. Pagon et al. Seattle (WA), University of Washington, Seattle.
- El-Hattab, A. W., F. Y. Li, J. Shen, B. R. Powell, E. V. Bawle, D. J. Adams, E. Wahl, J. A. Kobori, B. Graham, F. Scaglia and L. J. Wong (2010). "Maternal systemic primary carnitine deficiency uncovered by newborn screening: clinical, biochemical, and molecular aspects." *Genet Med* **12**(1): 19-24.
- El-Hattab, A. W. and F. Scaglia (2015). "Disorders of carnitine biosynthesis and transport." *Mol Genet Metab* **116**(3): 107-112.
- Elmadfa, I. and C. Leitzmann (2019). *Ernährung des Menschen*. Eugen Ulmer Verlag.
- Evans, A. M. and G. Fornasini (2003). "Pharmacokinetics of L-Carnitine." *J Clinical Pharmacokinetics* **42**(11): 941-967.
- Ferdinandusse, S., H. Te Brinke, J. P. N. Ruiter, J. Haasjes, W. Oostheim, H. van Lenthe, I. J. L, M. S. Ebberink, R. J. A. Wanders, F. M. Vaz and H. R. Waterham (2019). "A mutation creating an upstream translation initiation codon in SLC22A5 5'UTR is a frequent cause of primary carnitine deficiency." *Hum Mutat* **40**(10): 1899-1904.
- Fernandez-Prado, R., R. Esteras, M. V. Perez-Gomez, C. Gracia-Iguacel, E. Gonzalez-Parra, A. B. Sanz, A. Ortiz and M. D. Sanchez-Nino (2017). "Nutrients Turned into Toxins: Microbiota Modulation of Nutrient Properties in Chronic Kidney Disease." *Nutrients* **9**(5).

- Fingerhut, R., W. Röschinger, A. C. Muntau, T. Dame, J. Kreischer, R. Arnecke, A. Superti-Furga, H. Troxler, B. Liebl, B. Olgemoller and A. A. Roscher (2001). "Hepatic carnitine palmitoyltransferase I deficiency: acylcarnitine profiles in blood spots are highly specific." *Clin Chem* **47**(10): 1763-1768.
- Frigeni, M., B. Balakrishnan, X. Yin, F. R. O. Calderon, R. Mao, M. Pasquali and N. Longo (2017). "Functional and molecular studies in primary carnitine deficiency." *Hum Mutat* **38**(12): 1684-1699.
- Fu, L., M. Huang and S. Chen (2013). "Primary carnitine deficiency and cardiomyopathy." *Korean Circ J* **43**(12): 785-792.
- G-BA (2005). Bekanntmachung eines Beschlusses über eine Änderung der Richtlinien des Bundesausschusses der Ärzte und Krankenkassen über die Früherkennung von Krankheiten bei Kindern bis zur Vollendung des 6. Lebensjahres (Kinder-Richtlinien) zur Einführung des erweiterten Neugeborenen-Screenings vom 21. Dezember 2004. Bundesanzeiger AT, Bundesministerium für Gesundheit und Soziale Sicherung. **60**: 4833.
- G-BA (2023). Richtlinie des Gemeinsamen Bundesausschusses über die Früherkennung von Krankheiten bei Kindern (Kinder-Richtlinie). in Kraft getreten am 13. Juli 2023. Bundesanzeiger AT 12.07.2023, Gemeinsamer Bundesausschuss.
- Gallant, N. M., K. Leydiker, Y. Wilnai, C. Lee, F. Lorey, L. Feuchtbaum, H. Tang, J. Carter, G. M. Enns, S. Packman, H. J. Lin, W. R. Wilcox, S. D. Cederbaum and J. E. Abdenur (2017). "Biochemical characteristics of newborns with carnitine transporter defect identified by newborn screening in California." *Mol Genet Metab* **122**(3): 76-84.
- Garcia, P., E. Martins, L. Diogo, H. Rocha, A. Marcão, E. Gaspar, M. Almeida, C. Vaz, I. Soares, C. Barbot and L. Vilarinho (2008). "Outcome of three cases of untreated maternal glutaric aciduria type I." *Eur J Pediatr* **167**(5): 569-573.
- Gramer, G., G. F. Hoffmann and U. Nennstiel-Ratzel (2015). Auswirkungen des Neugeborenen screenings und der Erkrankungen auf Patienten und Familien. Das erweiterte Neugeborenen screening. Wiesbaden, Springer Fachmedien Wiesbaden: 37-40.
- Gray, J. A., J. Patnick and R. G. Blanks (2008). "Maximising benefit and minimising harm of screening." *BMJ* **336**(7642): 480-483.
- Gulewitsch, W. and R. Krimberg (1905). "Zur Kenntnis der Extraktivstoffe der Muskeln. II. Mitteilung. Über das Carnitin." *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie* **45**(3-4): 326-330.
- Gurian, E. A., D. D. Kinnamon, J. J. Henry and S. E. Waisbren (2006). "Expanded Newborn Screening for Biochemical Disorders: The Effect of a False-Positive Result." *Pediatrics* **117**(6): 1915-1921.
- Guthrie, R. and A. Susi (1963). "A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants." *Pediatrics* **32**: 338-343.
- Heianza, Y., W. Ma, J. E. Manson, K. M. Rexrode and L. Qi (2017). "Gut Microbiota Metabolites and Risk of Major Adverse Cardiovascular Disease Events and Death: A Systematic Review and Meta-Analysis of Prospective Studies." *J Am Heart Assoc* **6**(7).
- Helge, J. W., B. Stallknecht, E. A. Richter, H. Galbo and B. Kiens (2007). "Muscle metabolism during graded quadriceps exercise in man." *The Journal of physiology* **581**(Pt 3): 1247-1258.
- Hewlett, J. and S. E. Waisbren (2006). "A review of the psychosocial effects of false-positive results on parents and current communication practices in newborn screening." *J Inherit Metab Dis* **29**(5): 677-682.

- Hirano, T., S. Yasuda, Y. Osaka, M. Kobayashi, S. Itagaki and K. Iseki (2006). "Mechanism of the inhibitory effect of zwitterionic drugs (levofloxacin and grepafloxacin) on carnitine transporter (OCTN2) in Caco-2 cells." *Biochim Biophys Acta* **1758**(11): 1743-1750.
- Hoffmann, G. F., R. von Kries, D. Klose, M. Lindner, A. Schulze, A. C. Muntau, W. Röschinger, B. Liebl, E. Mayatepek and A. A. Roscher (2004). "Frequencies of inherited organic acidurias and disorders of mitochondrial fatty acid transport and oxidation in Germany." *European Journal of Pediatrics* **163**(2): 76-80.
- Holme, E., J. Greter, C. E. Jacobson, S. Lindstedt, I. Nordin, B. Kristiansson and U. Jodal (1989). "Carnitine deficiency induced by pivampicillin and pivmecillinam therapy." *Lancet* **2**(8661): 469-473.
- Houten, S. M. and R. J. Wanders (2010). "A general introduction to the biochemistry of mitochondrial fatty acid beta-oxidation." *J Inherit Metab Dis* **33**(5): 469-477.
- Hu, C., C. S. Lancaster, Z. Zuo, S. Hu, Z. Chen, J. E. Rubnitz, S. D. Baker and A. Sparreboom (2012). "Inhibition of OCTN2-mediated transport of carnitine by etoposide." *Mol Cancer Ther* **11**(4): 921-929.
- IBM Corp. (2017). IBM SPSS Statistics for Windows. Armon, NY, IBM Corp.
- Janzen, N. and J. Sander (2023). "Entwicklung der Analytik im Neugeborenen-Screening – Von der Guthrie-Karte zur Genetik." *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* **66**(11): 1214-1221.
- Karaceper, M. D., P. Chakraborty, D. Coyle, K. Wilson, J. B. Kronick, S. Hawken, C. Davies, M. Brownell, L. Dodds, A. Feigenbaum, D. B. Fell, S. D. Grosse, A. Guttmann, A. M. Laberge, A. Mhanni, F. A. Miller, J. J. Mitchell, M. Nakhla, C. Prasad, C. Rockman-Greenberg, R. Sparkes, B. J. Wilson, B. K. Potter and N. Canadian Inherited Metabolic Diseases Research (2016). "The health system impact of false positive newborn screening results for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: a cohort study." *Orphanet J Rare Dis* **11**: 12.
- Karpati, G., S. Carpenter, A. G. Engel, G. Watters, J. Allen, S. Rothman, G. Klassen and O. A. Mamer (1975). "The syndrome of systemic carnitine deficiency. Clinical, morphologic, biochemical, and pathophysiologic features." *Neurology* **25**(1): 16-24.
- Kennet-Cohen, T., D. Kleper and E. Turvall (2018). "Standard errors and confidence intervals for correlations corrected for indirect range restriction: A simulation study comparing analytic and bootstrap methods." *Br J Math Stat Psychol* **71**(1): 39-59.
- Kilic, M., R. K. Ozgül, T. Coşkun, D. Yücel, M. Karaca, H. S. Sivri, A. Tokatlı, M. Sahin, T. Karagöz and A. Dursun (2011). "Identification of mutations and evaluation of cardiomyopathy in Turkish patients with primary carnitine deficiency." *JIMD reports* **3**: 17-23.
- King, J. C. (2000). "Physiology of pregnancy and nutrient metabolism." *Am J Clin Nutr* **71**(5 Suppl): 1218s-1225s.
- Kishimoto, S., K. Suda, H. Yoshimoto, Y. Teramachi, H. Nishino, Y. Koteda, S. Itoh, Y. Kudo, M. Iemura and T. Matsuishi (2012). "Thirty-year follow-up of carnitine supplementation in two siblings with hypertrophic cardiomyopathy caused by primary systemic carnitine deficiency." *International Journal of Cardiology* **159**(1): e14-e15.
- Klett, M. and D. Schönberg (1981). "[Neonatal screening for hypothyroidism in the Federal Republic of Germany (author's transl)]." *Dtsch Med Wochenschr* **106**(1): 6-12.

- Kliemann, M. (2012). Der primäre Carnitin-Mangel im erweiterten Neugeborenen-Screening, Gießen.
- Knüttel-Gustavsen, S. and J. Harmeyer (2007). "The determination of l-carnitine in several food samples." Food Chemistry **105**(2): 793-804.
- Koeth, R. A., B. R. Lam-Galvez, J. Kirsop, Z. Wang, B. S. Levison, X. Gu, M. F. Copeland, D. Bartlett, D. B. Cody, H. J. Dai, M. K. Culley, X. S. Li, X. Fu, Y. Wu, L. Li, J. A. DiDonato, W. H. W. Tang, J. C. Garcia-Garcia and S. L. Hazen (2019). "l-Carnitine in omnivorous diets induces an atherogenic gut microbial pathway in humans." J Clin Invest **129**(1): 373-387.
- Koeth, R. A., Z. Wang, B. S. Levison, J. A. Buffa, E. Org, B. T. Sheehy, E. B. Britt, X. Fu, Y. Wu, L. Li, J. D. Smith, J. A. DiDonato, J. Chen, H. Li, G. D. Wu, J. D. Lewis, M. Warrier, J. M. Brown, R. M. Krauss, W. H. W. Tang, F. D. Bushman, A. J. Lusis and S. L. Hazen (2013). "Intestinal microbiota metabolism of l-carnitine, a nutrient in red meat, promotes atherosclerosis." Nature Medicine **19**: 576.
- Koleske, M. L., G. McInnes, J. E. H. Brown, N. Thomas, K. Hutchinson, M. Y. Chin, A. Koehl, M. R. Arkin, A. Schlessinger, R. C. Gallagher, Y. S. Song, R. B. Altman and K. M. Giacomini (2022). "Functional genomics of OCTN2 variants informs protein-specific variant effect predictor for Carnitine Transporter Deficiency." Proc Natl Acad Sci U S A **119**(46): e2210247119.
- Kör, D., N. Mungan, B. Yilmaz and M. Öktem (2015). "An asymptomatic mother diagnosed with 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency after newborn screening." J Pediatr Endocrinol Metab **28**(5-6): 669-671.
- Labor Becker. (2024). "Neugeborenen-Screening." Retrieved 30.09.2024, 2024, from <https://www.labor-becker.de/medizinisches-leistungsspektrum/neugeborenen-Screening>.
- LABOR Becker Olgemöller & Kollegen (2021). Fpk Screening 10.3. LABOR Becker, Olgemöller & Kollegen; Neugeborenen-Screening; Postfach 800749; 81607 München.
- Lamhonwah, A. M., S. E. Olpin, R. J. Pollitt, C. Vianey-Saban, P. Divry, N. Guffon, G. T. Besley, R. Onizuka, L. J. De Meirleir, L. Cvitanovic-Sojat, I. Baric, C. Dionisi-Vici, K. Fumic, M. Maradin and I. Tein (2002). "Novel OCTN2 mutations: no genotype-phenotype correlations: early carnitine therapy prevents cardiomyopathy." Am J Med Genet **111**(3): 271-284.
- Landrum, M. J., J. M. Lee, G. R. Riley, W. Jang, W. S. Rubinstein, D. M. Church and D. R. Maglott (2014). "ClinVar: public archive of relationships among sequence variation and human phenotype." Nucleic Acids Res **42**(Database issue): D980-985.
- Lee, N. C., N. L. Tang, Y. H. Chien, C. A. Chen, S. J. Lin, P. C. Chiu, A. C. Huang and W. L. Hwu (2010). "Diagnoses of newborns and mothers with carnitine uptake defects through newborn screening." Mol Genet Metab **100**(1): 46-50.
- Lefèvre, C. R., F. Labarthe, D. Dufour, C. Moreau, M. Faoucher, P. Rollier, J. B. Arnoux, M. Tardieu, L. Damaj, C. Bendavid, A. F. Dessein, C. Acquaviva-Bourdain and D. Cheillan (2023). "Newborn Screening of Primary Carnitine Deficiency: An Overview of Worldwide Practices and Pitfalls to Define an Algorithm before Expansion of Newborn Screening in France." Int J Neonatal Screen **9**(1).
- Li, F. Y., A. W. El-Hattab, E. V. Bawle, R. G. Boles, E. S. Schmitt, F. Scaglia and L. J. Wong (2010). "Molecular spectrum of SLC22A5 (OCTN2) gene mutations detected in 143 subjects evaluated for systemic carnitine deficiency." Hum Mutat **31**(8): E1632-1651.

- Liebl, B., U. Nennstiel-Ratzel, R. von Kries and A. A. Roscher (2001). "Abschlussbericht zum Modellprojekt zur Neuordnung des Neugeborenen-Screenings in Bayern." Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit.
- Lin, H. J., J. A. Neidich, D. Salazar, E. Thomas-Johnson, B. F. Ferreira, A. M. Kwong, A. M. Lin, A. J. Jonas, S. Levine, F. Lorey and D. S. Rosenblatt (2009). "Asymptomatic maternal combined homocystinuria and methylmalonic aciduria (cblC) detected through low carnitine levels on newborn screening." J Pediatr **155**(6): 924-927.
- Lin, Y., H. Xu, D. Zhou, Z. Hu, C. Zhang, L. Hu, Y. Zhang, L. Zhu, B. Lu, T. Zhang and X. Huang (2020). "Screening 3.4 million newborns for primary carnitine deficiency in Zhejiang Province, China." Clin Chim Acta **507**: 199-204.
- Lindner, M., G. Gramer, G. Haege, J. Fang-Hoffmann, K. O. Schwab, U. Tacke, F. K. Trefz, E. Mengel, U. Wendel, M. Leichsenring, P. Burgard and G. F. Hoffmann (2011). "Efficacy and outcome of expanded newborn screening for metabolic diseases - report of 10 years from South-West Germany." Orphanet journal of rare diseases **6**: 44-44.
- Lombard, K. A., A. L. Olson, S. E. Nelson and C. J. Rebouche (1989). "Carnitine status of lactoovo-vegetarians and strict vegetarian adults and children." Am J Clin Nutr **50**(2): 301-306.
- Longo, N. (2016). "Primary Carnitine Deficiency and Newborn Screening for Disorders of the Carnitine Cycle." Annals of Nutrition and Metabolism **68(suppl 3)**(Suppl. 3): 5-9.
- Longo, N., C. Amat di San Filippo and M. Pasquali (2006). "Disorders of carnitine transport and the carnitine cycle." Am J Med Genet C Semin Med Genet **142C**(2): 77-85.
- Longo, N., M. Frigeni and M. Pasquali (2016). "Carnitine transport and fatty acid oxidation." Biochim Biophys Acta **1863**(10): 2422-2435.
- Lopaschuk, G. D., J. R. Ussher, C. D. L. Folmes, J. S. Jaswal and W. C. Stanley (2010). "Myocardial Fatty Acid Metabolism in Health and Disease." Physiological Reviews **90**(1): 207-258.
- Luders, A., O. Blankenstein, I. Brockow, R. Ensenauer, M. Lindner, A. Schulze, U. Nennstiel and the screening laboratories in Germany (2021). "Neonatal Screening for Congenital Metabolic and Endocrine Disorders-Results From Germany for the Years 2006-2018." Dtsch Arztebl Int **118**(7): 101-108.
- Lund, A. M., D. M. Hougaard, H. Simonsen, B. S. Andresen, M. Christensen, M. Duno, K. Skogstrand, R. K. Olsen, U. G. Jensen, A. Cohen, N. Larsen, P. Saugmann-Jensen, N. Gregersen, N. J. Brandt, E. Christensen, F. Skovby and B. Norgaard-Pedersen (2012). "Biochemical screening of 504,049 newborns in Denmark, the Faroe Islands and Greenland - experience and development of a routine program for expanded newborn screening." Mol Genet Metab **107**(3): 281-293.
- Lund, A. M., F. Joensen, D. M. Hougaard, L. K. Jensen, E. Christensen, M. Christensen, B. Norgaard-Petersen, M. Schwartz and F. Skovby (2007). "Carnitine transporter and holocarboxylase synthetase deficiencies in The Faroe Islands." J Inherit Metab Dis **30**(3): 341-349.
- Magoulas, P. L. and A. W. El-Hattab (2012). "Systemic primary carnitine deficiency: an overview of clinical manifestations, diagnosis, and management." Orphanet Journal of Rare Diseases **7**(1): 68.
- Maier, E. M., U. Mütze, N. Janzen, U. Steuerwald, U. Nennstiel, B. Odenwald, E. Schuhmann, A. S. Lotz-Havla, K. J. Weiss, J. Hammersen, C. Weigel, E. Thimm, S. C. Grünert, J. B. Hennermann, P. Freisinger, J. Krämer, A. M. Das, S. Illsinger, G. Gramer, J. Fang-Hoffmann, S. F. Garbade, J. G. Okun, G. F.

- Hoffmann, S. Kölker and W. Röschinger (2023). "Collaborative evaluation study on 18 candidate diseases for newborn screening in 1.77 million samples." *Journal of Inherited Metabolic Disease* **46**(6): 1043-1062.
- Manta-Vogli, P. D., K. H. Schulpis, Y. Dotsikas and Y. L. Loukas (2020). "The significant role of carnitine and fatty acids during pregnancy, lactation and perinatal period. Nutritional support in specific groups of pregnant women." *Clin Nutr* **39**(8): 2337-2346.
- Manta-Vogli, P. D., K. H. Schulpis, Y. L. Loukas and Y. Dotsikas (2020). "Perinatal free carnitine and short chain acylcarnitine blood concentrations in 12,000 full-term breastfed newborns in relation to their birth weight." *Pediatr Neonatol* **61**(6): 620-628.
- Matsuishi, T., K. Hirata, K. Terasawa, H. Kato, M. Yoshino, E. Ohtaki, F. Hirose, I. Nonaka, N. Sugiyama and K. Ohta (1985). "Successful carnitine treatment in two siblings having lipid storage myopathy with hypertrophic cardiomyopathy." *Neuropediatrics* **16**(1): 6-12.
- McGoey, R. R. and M. Marble (2011). "Positive newborn screen in a normal infant of a mother with asymptomatic very long-chain Acyl-CoA dehydrogenase deficiency." *J Pediatr* **158**(6): 1031-1032.
- Mensink, G., C. L. Barbosa and A.-K. Brettschneider (2016). "Verbreitung der vegetarischen Ernährungsweise in Deutschland." *Journal of Health Monitoring* **1**(2).
- Miller, M. J., B. L. Bostwick, A. D. Kennedy, T. R. Donti, Q. Sun, V. R. Sutton and S. H. Elsea (2016). "Chronic Oral L-Carnitine Supplementation Drives Marked Plasma TMAO Elevations in Patients with Organic Acidemias Despite Dietary Meat Restrictions." *JIMD reports* **30**: 39-44.
- Nennstiel-Ratzel, U., B. Liebl and A. Zapf (2003). "Modellprojekt zur Neuordnung des Neugeborenen-Screenings in Bayern." *Gesundheitswesen* **65**(S 1): 31-35.
- Nezu, J., I. Tamai, A. Oku, R. Ohashi, H. Yabuuchi, N. Hashimoto, H. Nikaido, Y. Sai, A. Koizumi, Y. Shoji, G. Takada, T. Matsuishi, M. Yoshino, H. Kato, T. Ohura, G. Tsujimoto, J. Hayakawa, M. Shimane and A. Tsuji (1999). "Primary systemic carnitine deficiency is caused by mutations in a gene encoding sodium ion-dependent carnitine transporter." *Nat Genet* **21**(1): 91-94.
- Niu, D. M., Y. H. Chien, C. C. Chiang, H. C. Ho, W. L. Hwu, S. M. Kao, S. H. Chiang, C. H. Kao, T. T. Liu, H. Chiang and K. J. Hsiao (2010). "Nationwide survey of extended newborn screening by tandem mass spectrometry in Taiwan." *J Inherit Metab Dis* **33**(Suppl 2): 295-305.
- Novak, M., E. F. Monkus, D. Chung and M. Buch (1981). "Carnitine in the perinatal metabolism of lipids. I. Relationship between maternal and fetal plasma levels of carnitine and acylcarnitines." *Pediatrics* **67**(1): 95-100.
- Novakova, K., O. Kummer, J. Bouitbir, S. D. Stoffel, U. Hoerler-Koerner, M. Bodmer, P. Roberts, A. Urwyler, R. Ehrsam and S. Krähenbühl (2016). "Effect of L-carnitine supplementation on the body carnitine pool, skeletal muscle energy metabolism and physical performance in male vegetarians." *Eur J Nutr* **55**(1): 207-217.
- Pasquali, M. and N. Longo (2013). "Response to Chen et al.: Carnitine Uptake Defect (Primary Carnitine Deficiency): Risk in Genotype–Phenotype Correlation." *Human Mutation* **34**(4): 656-656.
- Pekala, J., B. Patkowska-Sokola, R. Bodkowski, D. Jamroz, P. Nowakowski, S. Lochyński and T. Librowski (2011). "L-carnitine--metabolic functions and meaning in humans life." *Curr Drug Metab* **12**(7): 667-678.

- Peng, G., P. Shen, N. Gandotra, A. Le, E. Fung, L. Jelliffe-Pawlowski, R. W. Davis, G. M. Enns, H. Zhao, T. M. Cowan and C. Scharfe (2019). "Combining newborn metabolic and DNA analysis for second-tier testing of methylmalonic acidemia." *Genet Med* **21**(4): 896-903.
- Peng, G., Y. Tang, T. M. Cowan, G. M. Enns, H. Zhao and C. Scharfe (2020). "Reducing False-Positive Results in Newborn Screening Using Machine Learning." *Int J Neonatal Screen* **6**(1).
- Peng, G., Y. Tang, T. M. Cowan, H. Zhao and C. Scharfe (2020). "Timing of Newborn Blood Collection Alters Metabolic Disease Screening Performance." *Front Pediatr* **8**: 623184.
- Phan, K., Y. H. Gomez, L. Elbaz and S. S. Daskalopoulou (2014). "Statin treatment non-adherence and discontinuation: clinical implications and potential solutions." *Curr Pharm Des* **20**(40): 6314-6324.
- Pierpont, M. E., G. N. Breningstall, C. A. Stanley and A. Singh (2000). "Familial carnitine transporter defect: A treatable cause of cardiomyopathy in children." *Am Heart J* **139**(2 Pt 3): 96-106.
- Pochini, L., M. Scalise and C. Indiveri (2009). "Inactivation by omeprazole of the carnitine transporter (OCTN2) reconstituted in liposomes." *Chem Biol Interact* **179**(2-3): 394-401.
- Pons, R. and D. C. De Vivo (1995). "Primary and secondary carnitine deficiency syndromes." *J Child Neurol* **10 Suppl 2**: 8-24.
- PubChem. (2021). "PubChem Compound Summary for CID 10917, Levocarnitine." Retrieved April 15, 2021, 2021, from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Levocarnitine>.
- Rasmussen, J., D. M. Hougaard, N. Sandhu, K. Fjaellegaard, P. R. Petersen, U. Steuerwald and A. M. Lund (2017). "Primary Carnitine Deficiency: Is Foetal Development Affected and Can Newborn Screening Be Improved?" *JIMD Rep* **36**: 35-40.
- Rasmussen, J., L. Køber, A. M. Lund and O. W. J. J. o. I. M. D. Nielsen (2014). "Primary Carnitine deficiency in the Faroe Islands: health and cardiac status in 76 adult patients diagnosed by screening." *J Inherit Metab Dis* **37**(2): 223-230.
- Rasmussen, J., A. M. Lund, L. Risom, F. Wibrand, H. Gislason, O. W. Nielsen, L. Kober and M. Duno (2014). "Residual OCTN2 transporter activity, carnitine levels and symptoms correlate in patients with primary carnitine deficiency." *Mol Genet Metab Rep* **1**: 241-248.
- Rasmussen, J., O. W. Nielsen, N. Janzen, M. Duno, H. Gislason, L. Kober, U. Steuerwald and A. M. Lund (2014). "Carnitine levels in 26,462 individuals from the nationwide screening program for primary carnitine deficiency in the Faroe Islands." *J Inherit Metab Dis* **37**(2): 215-222.
- Rasmussen, J., O. W. Nielsen, A. M. Lund, L. Kober and H. Djurhuus (2012). "Primary carnitine deficiency and pivalic acid exposure causing encephalopathy and fatal cardiac events." *J Inherit Metab Dis* **36**(1): 35-41.
- Rijlaarsdam, R. S., F. J. V. Spronzen, M. T. E. Bink-Boelkens, D.-J. Reijngoud, R. J. A. Wanders, K. E. Niezen-Koning, F. H. Van Der Sluijs, B. Dorland and G. C. M. Beaufort-Krol (2004). "Ventricular Fibrillation Without Overt Cardiomyopathy as First Presentation of Organic Cation Transporter 2-Deficiency in Adolescence." *Pacing and Clinical Electrophysiology* **27**(5): 675-676.
- Roscher, A. A., R. Fingerhut, B. Liebl and B. Olgemöller (2001). "Erweiterung des Neugeborenen screenings durch Tandem-Massenspektrometrie. ." *Monatsschrift Kinderheilkunde* **149**: 1297-1303.

- Röschinger, W., S. Sonnenschein, E. Schuhmann, U. Nennstiel-Ratzel, A. A. Roscher and B. Olgemöller (2015). "Neue Zielerkrankungen im Neugeborenen-screening." *Monatsschrift Kinderheilkunde* **163**(2): 142-149.
- Rose, E. C., C. A. di San Filippo, U. C. Ndukwe Erlingsson, O. Ardon, M. Pasquali and N. Longo (2012). "Genotype-phenotype correlation in primary carnitine deficiency." *Hum Mutat* **33**(1): 118-123.
- Roussel, J., F. Labarthe, J. Thireau, F. Ferro, C. Farah, J. Roy, M. Horiuchi, M. Tardieu, B. Lefort, J. Francois Benoit, A. Lacampagne, S. Richard, J. Fauconnier, D. Babuty and J. Y. Le Guennec (2016). "Carnitine deficiency induces a short QT syndrome." *Heart Rhythm* **13**(1): 165-174.
- Scaglia, F. and N. Longo (1999). "Primary and secondary alterations of neonatal carnitine metabolism." *Semin Perinatol* **23**(2): 152-161.
- Schiattarella, G. G., A. Sannino, E. Toscano, G. Giugliano, G. Gargiulo, A. Franza, B. Trimarco, G. Esposito and C. Perrino (2017). "Gut microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide as cardiovascular risk biomarker: a systematic review and dose-response meta-analysis." *Eur Heart J* **38**(39): 2948-2956.
- Schimmenti, L. A., E. A. Crombez, B. C. Schwahn, B. A. Heese, T. C. Wood, R. J. Schroer, K. Bentler, S. Cederbaum, K. Sarafoglou, M. McCann, P. Rinaldo, D. Matern, C. A. di San Filippo, M. Pasquali, S. A. Berry and N. Longo (2007). "Expanded newborn screening identifies maternal primary carnitine deficiency." *Mol Genet Metab* **90**(4): 441-445.
- Schmidtke, C., B. Kuntz, A. Starker and T. Lampert (2018). "Inanspruchnahme der Früherkennungsuntersuchungen für Kinder in Deutschland – Querschnittsergebnisse aus KiGGS Welle 2." *Journal of Health Monitoring* **2018**(3(4)).
- Schulpis, K. H., E. D. Papakonstantinou, G. D. Vlachos, D. G. Vlachos, A. Antsaklis, I. Papassotiriou and S. Tsakiris (2008). "The effect of the mode of delivery on the maternal-neonatal carnitine blood levels and antioxidant status." *Clin Chem Lab Med* **46**(5): 680-686.
- Schulze, A., M. Lindner, D. Kohlmüller, K. Olgemöller, E. Mayatepek and G. F. Hoffmann (2003). "Expanded Newborn Screening for Inborn Errors of Metabolism by Electrospray Ionization-Tandem Mass Spectrometry: Results, Outcome, and Implications." *Pediatrics* **111**(6): 1399.
- Shanmuganathan, M., M. Bogert, Z. Kroezen, P. Britz-Mckibbin and S. A. Atkinson (2023). "Dynamic Metabolic Signatures of Choline and Carnitine across Healthy Pregnancy and in Cord Blood: Association with Maternal Dietary Protein." *J Nutr* **153**(4): 999-1007.
- Shibata, N., Y. Hasegawa, K. Yamada, H. Kobayashi, J. Purevsuren, Y. Yang, V. C. Dung, N. N. Khanh, I. C. Verma, S. Bijarnia-Mahay, D. H. Lee, D. M. Niu, G. F. Hoffmann, Y. Shigematsu, T. Fukao, S. Fukuda, T. Taketani and S. Yamaguchi (2018). "Diversity in the incidence and spectrum of organic acidemias, fatty acid oxidation disorders, and amino acid disorders in Asian countries: Selective screening vs. expanded newborn screening." *Mol Genet Metab Rep* **16**: 5-10.
- Siebertz, K., D. van Bebber and T. Hochkirchen (2010). Sensitivitätsanalyse. *Statistische Versuchsplanung: Design of Experiments (DoE)*. Berlin, Heidelberg, Springer Berlin Heidelberg: 247-260.
- Sörensen, L., U. von Döbeln, H. Åhlman, A. Ohlsson, M. Engvall, K. Naess, C. Backman-Johansson, Y. Nordqvist, A. Wedell and R. H. Zetterström (2020). "Expanded Screening of One Million Swedish Babies with R4S and CLIR for Post-Analytical Evaluation of Data." *Int J Neonatal Screen* **6**(2): 42.

- Stanley, C. A. (2004). "Carnitine deficiency disorders in children." *Ann N Y Acad Sci* **1033**: 42-51.
- Steuerwald, U., A. Lund, J. Rasmussen, N. Janzen, D. Hougaard and N. Longo (2017). "Neonatal Screening for Primary Carnitine Deficiency: Lessons Learned from the Faroe Islands." *International Journal of Neonatal Screening* **3**(1): 1.
- Tamai, I., R. Ohashi, J. Nezu, H. Yabuuchi, A. Oku, M. Shimane, Y. Sai and A. Tsuji (1998). "Molecular and functional identification of sodium ion-dependent, high affinity human carnitine transporter OCTN2." *J Biol Chem* **273**(32): 20378-20382.
- Tang, N. L., V. Ganapathy, X. Wu, J. Hui, P. Seth, P. M. Yuen, R. J. Wanders, T. F. Fok and N. M. Hjelm (1999). "Mutations of OCTN2, an organic cation/carnitine transporter, lead to deficient cellular carnitine uptake in primary carnitine deficiency." *Hum Mol Genet* **8**(4): 655-660.
- Tang, N. L., W. L. Hwu, R. T. Chan, L. K. Law, L. M. Fung and W. M. Zhang (2002). "A founder mutation (R254X) of SLC22A5 (OCTN2) in Chinese primary carnitine deficiency patients." *Hum Mutat* **20**(3): 232.
- Tang, W. H., Z. Wang, B. S. Levison, R. A. Koeth, E. B. Britt, X. Fu, Y. Wu and S. L. Hazen (2013). "Intestinal microbial metabolism of phosphatidylcholine and cardiovascular risk." *N Engl J Med* **368**(17): 1575-1584.
- Tangeraas, T., I. Sæves, C. Klingenberg, J. Jørgensen, E. Kristensen, G. Gunnarsdottir, E. V. Hansen, J. Strand, E. Lundman, S. Ferdinandusse, C. L. Salvador, B. Woldseth, Y. T. Bliksrud, C. Sagredo, Ø. E. Olsen, M. C. Berge, A. K. Trømborg, A. Ziegler, J. H. Zhang, L. K. Sørgjerd, M. Ytre-Arne, S. Hogner, S. M. Løvoll, M. R. Kløvstad Olavsen, D. Navarrete, H. J. Gaup, R. Lilje, R. H. Zetterström, A. Stray-Pedersen, T. Rootwelt, P. Rinaldo, A. D. Rowe and R. D. Pettersen (2020). "Performance of Expanded Newborn Screening in Norway Supported by Post-Analytical Bioinformatics Tools and Rapid Second-Tier DNA Analyses." *International Journal of Neonatal Screening* **6**(3).
- Tein, I., D. C. De Vivo, F. Bierman, P. Pulver, L. J. De Meirleir, L. Cvitanovic-Sojat, R. A. Pagon, E. Bertini, C. Dionisi-Vici, S. Servidei and et al. (1990). "Impaired skin fibroblast carnitine uptake in primary systemic carnitine deficiency manifested by childhood carnitine-responsive cardiomyopathy." *Pediatr Res* **28**(3): 247-255.
- Therrell, B. L., Jr., M. A. Lloyd-Puryear, K. M. Camp and M. Y. Mann (2014). "Inborn errors of metabolism identified via newborn screening: Ten-year incidence data and costs of nutritional interventions for research agenda planning." *Mol Genet Metab* **113**(1-2): 14-26.
- Timmermans, S. and M. Buchbinder (2010). "Patients-in-Waiting: Living between Sickness and Health in the Genomics Era." *Journal of Health and Social Behavior* **51**(4): 408-423.
- Tu, W. J., J. He, H. Chen, X. D. Shi and Y. Li (2012). "Psychological effects of false-positive results in expanded newborn screening in China." *PLoS One* **7**(4): e36235.
- Vallance, H. D., A. Koochin, J. Branov, A. Rosen-Heath, T. Bosdet, Z. Wang, S. L. Hazen and G. Horvath (2018). "Marked elevation in plasma trimethylamine-N-oxide (TMAO) in patients with mitochondrial disorders treated with oral l-carnitine." *Mol Genet Metab Rep* **15**: 130-133.
- van der Leij, F. R., N. C. Huijkman, C. Boomsma, J. R. Kuipers and B. Bartelds (2000). "Genomics of the human carnitine acyltransferase genes." *Mol Genet Metab* **71**(1-2): 139-153.

- Vaz, F. M., H. R. Scholte, J. Ruiter, L. M. Hussaarts-Odijk, R. R. Pereira, S. Schweitzer, J. B. de Klerk, H. R. Waterham and R. J. Wanders (1999). "Identification of two novel mutations in OCTN2 of three patients with systemic carnitine deficiency." *Hum Genet* **105**(1-2): 157-161.
- Vaz, F. M. and R. J. Wanders (2002). "Carnitine biosynthesis in mammals." *Biochem J* **361**(Pt 3): 417-429.
- Vijay, S., A. Patterson, S. Olpin, M. J. Henderson, S. Clark, C. Day, G. Savill and J. H. Walter (2006). "Carnitine transporter defect: diagnosis in asymptomatic adult women following analysis of acylcarnitines in their newborn infants." *J Inherit Metab Dis* **29**(5): 627-630.
- Vill, K., O. Schwartz, A. Blaschek, D. Gläser, U. Nennstiel, B. Wirth, S. Burggraf, W. Röschinger, M. Becker, L. Czibere, J. Durner, K. Eggermann, B. Olgemöller, E. Harms, U. Schara, H. Kölbel and W. Müller-Felber (2021). "Newborn screening for spinal muscular atrophy in Germany: clinical results after 2 years." *Orphanet J Rare Dis* **16**(1): 153.
- Violante, S., L. Ijlst, H. Te Brinke, J. Koster, I. Tavares de Almeida, R. J. Wanders, F. V. Ventura and S. M. Houten (2013). "Peroxisomes contribute to the acylcarnitine production when the carnitine shuttle is deficient." *Biochim Biophys Acta* **1831**(9): 1467-1474.
- Waisbren, S. E., S. Albers, S. Amato, M. Ampola, T. G. Brewster, L. Demmer, R. B. Eaton, R. Greenstein, M. Korson, C. Larson, D. Marsden, M. Msall, E. W. Naylor, S. Pueschel, M. Seashore, V. E. Shih and H. L. Levy (2003). "Effect of expanded newborn screening for biochemical genetic disorders on child outcomes and parental stress." *Jama* **290**(19): 2564-2572.
- Wanders, R. J. A., G. Visser, S. Ferdinandusse, F. M. Vaz and R. H. Houtkooper (2020). "Mitochondrial Fatty Acid Oxidation Disorders: Laboratory Diagnosis, Pathogenesis, and the Complicated Route to Treatment." *J Lipid Atheroscler* **9**(3): 313-333.
- Wang, Y., S. H. Korman, J. Ye, J. J. Gargus, A. Gutman, F. Taroni, B. Garavaglia and N. Longo (2001). "Phenotype and genotype variation in primary carnitine deficiency." *Genet Med* **3**(6): 387-392.
- Wilcken, B. (2010). "Fatty acid oxidation disorders: outcome and long-term prognosis." *J Inherit Metab Dis* **33**(5): 501-506.
- Wilcken, B., V. Wiley, J. Hammond and K. Carpenter (2003). "Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry." *N Engl J Med* **348**(23): 2304-2312.
- Wilcken, B., V. Wiley, K. G. Sim and K. Carpenter (2001). "Carnitine transporter defect diagnosed by newborn screening with electrospray tandem mass spectrometry." *J Pediatr* **138**(4): 581-584.
- Wilson, C., D. Knoll, M. de Hora, C. Kyle, E. Glamuzina and D. Webster (2019). "The decision to discontinue screening for carnitine uptake disorder in New Zealand." *J Inherit Metab Dis* **42**(1): 86-92.
- Wilson, J. M. G. and G. Jungner (1968). *Principles and practice of screening for disease*. Geneva, Public health papers, World Health Organisation.
- Winter, S. C., L. S. Linn and E. Helton (1995). "Plasma carnitine concentrations in pregnancy, cord blood, and neonates and children." *Clin Chim Acta* **243**(1): 87-93.
- Wu, X., P. D. Prasad, F. H. Leibach and V. Ganapathy (1998). "cDNA sequence, transport function, and genomic organization of human OCTN2, a new member of the organic cation transporter family." *Biochem Biophys Res Commun* **246**(3): 589-595.

Zabransky, S. (2012). "10. Interdisziplinärer SGA-Workshop, Proceedingband 2012." Hrsg. Siegfried Zabransky, 2012, Medizinischer Verlag Siegfried Zabransky.

Zhu, W., Z. Wang, W. H. W. Tang and S. L. Hazen (2017). "Gut Microbe-Generated Trimethylamine N-Oxide From Dietary Choline Is Prothrombotic in Subjects." Circulation **135**(17): 1671-1673.

8 Abkürzungsverzeichnis

5'UTR	5'-untranslatierten Region
ALT	Alanin-Aminotransferase
AST	Aspartat-Aminotransferase
C0	Freies Carnitin
CACT	Carnitin-Acylcarnitin-Translocase
cDNA	komplementäre DNA <i>engl.</i> „deoxyribonucleic acid“, <i>dt.</i> Desoxyribonukleinsäure
CDSP	<i>engl.</i> „Carnitine deficiency, systemic primary“, <i>dt.</i> primärer, systemischer Carnitin-Mangel
CK	Creatin-Kinase
CK-MB	Creatin-Kinase-Myokardtyp
CLIR	Collaborative Laboratory Integrated Reports 2.0
CoA	Coenzym A
CPT I	Carnitin-Palmitoyl-CoA-Transferase-I
CPT II	Carnitin-Palmitoyl-CoA-Transferase-II
CTD	Carnitin-Transporter-Defekt
EKG	Elektrokardiogramm
Renale Resorption	fraktionelle, tubuläre Rückresorption von Carnitin, gemessen in % der gefilterten Ladung
GA Typ I	Glutarazidurie Typ I
G-BA	Gemeinsamer Bundesausschuss der Ärzte und Krankenkassen
γ-GT	γ-Glutamyltransferase
i.v.	intravenös = über die Vene
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
KI	Konfidenzintervall
L	Liter
LGL	Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit
MCADD	Medium-Chain-Acyl-CoA-Dehydrogenase-Mangel
min	Minute
mg	Milligramm

NGS	Neugeborenenscreening
OCTN2	„Organic cation transporter 2“
pmol	Picomol
PKU	Phenylketonurie
PPW	positiv prädiktiver Wert
SD	Standardabweichung
<i>SLC22A5</i>	Solute carrier family 22 member 5, Gen das für OCTN2 kodiert
TMS	Tandem-Massenspektrometrie
TMA	Trimethylamin
TMAO	Trimethylamin-N-oxid
UK	Universitätsklinikum
UKG	Echokardiographie
VLCADD	Very-Long-Chain-Acyl-CoA-Dehydrogenase-Mangel
VUS	Variante unbekannter Signifikanz
µmol	Mikromol

9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Strukturformel von L-Carnitin.....	1
Abbildung 2: Das Carnitin-Shuttle.....	8
Abbildung 3: Schematische Darstellung des OCTN2.....	9
Abbildung 4: Rückseite der Probenkarte des NGS.....	17
Abbildung 5: Flussdiagramm der Konfirmationsdiagnostik bei V.a. CTD nach auf-fälligem NGS.....	18
Abbildung 6: Analytische Qualität des bayerischen NGS auf CTD im Zeitraum 01.01.2008 bis 30.06.2018.....	26
Abbildung 7 Untersuchtes Patientenkollektiv aus dem bayerischen NGS auf CTD von 01/1999 bis 06/2018.....	27
Abbildung 8: Streudiagramm des C0 im NGS in Erst- und Zweitkarte, nach Erkrankungskategorie unterteilt.....	36
Abbildung 9: C0-Konzentration im Plasma der Kinder (links) und Mutter (rechts) nach Erkrankungskategorie unterteilt.....	38
Abbildung 10: Streudiagramm renale Exkretion von C0 über C0 im Plasma der Kinder (links) und Mütter (rechts) nach Erkrankungskategorie unterteilt.....	39

10 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zielerkrankungen des erweiterten NGS in Deutschland.....	2
Tabelle 2: Screening-Zeitraum und Inzidenz des bayerischen NGS auf CTD....	25
Tabelle 3: NGS, Konfirmationsdiagnostik und Symptomatik der Kinder mit CTD	30
Tabelle 4: Konfirmationsdiagnostik und Symptomatik der gesicherten, materna- len CTD-Fälle.....	32
Tabelle 5: Konfirmationsdiagnostik und Symptomatik der Fälle mit mildem, funk- tionellem CTD und des Falles mit Glutarazidurie Typ I.....	35
Tabelle 6: Korrelation von C0 der TBK mit dem Abnahmezeitpunkt.....	37
Tabelle 7: Nachgewiesene SLC22A5-Allele der Patienten und ihre Erstbeschrei- bung.....	41
Tabelle 8: Dosierung der Carnitin-Supplementierung und C0-Konzentrationen der Kinder mit CTD.....	43
Tabelle 9: Dosierung der Carnitin-Supplementierung und C0-Konzentrationen der Mütter mit CTD.....	44

11 Danksagung

Ganz besonders möchte ich mich bei meiner Doktormutter Prof. Dr. med. Esther M. Maier, ehemalige Leiterin der Ambulanz für angeborene Stoffwechselerkrankungen am Dr. von Haunerschen Kinderspital, für die Überlassung des Themas und das große entgegengebrachte Vertrauen bedanken. Ihre sehr kompetente und lehrreiche Betreuung waren der Grundstein und Schlussstein, die diese Arbeit erst möglich machten. Sie hat mich mit ihrer Begeisterung für das spannende Gebiet der angeborenen Stoffwechselstörungen angesteckt. Vielen herzlichen Dank für ihre wertvolle Begleitung und den Freiraum, die sie mir bei der Entstehung dieser Arbeit einräumte.

Herzlich möchte ich mich auch bei meiner Betreuerin Dr. med. Katharina Schiergens bedanken, die durch ihre Hilfe und Diskussion die Arbeit erst zu dem formte, was sie jetzt ist. Auch Dr. med. Katharina Weiß möchte ich sehr für den gegenseitigen Austausch über die Statistik und für die Motivation danken, der Teufel steckt bekanntermaßen im Detail. Auch den weiteren Kollegen der Ambulanz für angeborene Stoffwechselerkrankungen, insbesondere PD Dr. med. Amelie Lotz-Havla, möchte ich für die Unterstützung bei der Arbeit danken. Ebenso gilt mein Dank den Kollegen aus der Kinderkardiologie Prof. Dr. med. Robert Dalla Pozza und Dr. med. Sarah Ullrich für die kompetente Reevaluation der kardiologischen Befunde.

Auch bei dem Team des Landesamtes für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit, besonders der Leitung des Tracking-Zentrums Frau Dr. med. Uta Nennstiel und Frau Dr. Birgit Odenwald, möchte ich mich bedanken. Prof. Dr. med. Joachim Kreuder gilt mein Dank für die Möglichkeit der Verwendung der Resorptions-Messungen. Auch bei PD Dr. med. Wulf Röschinger, als Leiter des Screeninglabors in München, möchte ich mich sehr herzlich bedanken.

Meiner Frau Lea gilt ein besonders herzlicher Dank für ihre Motivation, Zuversicht und ihre Geduld, sie hat immer an mich geglaubt. Vielen Dank auch an meine Schwiegermutter Ruth für die aufbauenden Gespräche. Mein größter Dank gilt meiner Familie, meinen Eltern Anne und Walter Schmitt, die mir durch ihre bedingungslose Unterstützung den Weg zum Arzt und Doktor erst möglich gemacht haben. Und meinen beiden Geschwistern Christina und Dominik, die mein Leben bereichern.

**Eidesstattliche Versicherung**

Gelfert-Schmitt, Joachim

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

**Erfassung des Carnitin-Transporter-Defekts im bayerischen NeugeborenenScreening
- Erfahrung aus 19 Jahren -**

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

Fürstenfeldbruck, 16.10.2025

Ort, Datum

Joachim Gelfert-Schmitt

Unterschrift Joachim Gelfert-Schmitt

**Erklärung zur Übereinstimmung der gebundenen Ausgabe der Dissertation
mit der elektronischen Fassung**

Gelfert-Schmitt, Joachim

Name, Vorname

Hiermit erkläre ich, dass die elektronische Version der eingereichten Dissertation mit dem Titel:

**Erfassung des Carnitin-Transporter-Defekts im bayerischen Neugeborenenscreening
- Erfahrung aus 19 Jahren -**

in Inhalt und Formatierung mit den gedruckten und gebundenen Exemplaren übereinstimmt.

Fürstenfeldbruck, 16.10.2025

Ort, Datum

Joachim Gelfert-Schmitt

Unterschrift Joachim Gelfert-Schmitt