

PRESEJANJE NOVOROJENCEV ZA VROJENE BOLEZNI PRESNOVE

Andraž Šmon

UKC, Pediatrična klinika, Služba za specialno laboratorijsko diagnostiko, Bohoričeva 20, Ljubljana

Uvod

Vrojene bolezni presnove (VBP) so genetsko pogojene motnje s pojavnostjo, nižjo od 1 : 10.000 živorojenih otrok (1). Pravilna in pravočasna diagnoza VBP lahko prepreči hude posledice bolezni ali smrt, zato so presejalne metode zelo pomembne v preventivni medicini. Njihov cilj je odkritje bolezni preden se pojavijo prvi simptomi oz. v prvih stadijih bolezni. Uporabljajo se na večji populaciji ljudi brez znakov bolezni, med katerimi se išče posameznike, ki imajo določeno tveganje za specifično bolezen. Presejanje novorojencev (NBS) za VBP se je začelo leta 1963 v ZDA s pomočjo bakterijskega inhibicijskega testa za fenilketonurijo (Guthriejev test), motnjo v metabolizmu aminokislin (2). NBS se je kmalu razširilo z vključitvijo novih bolezni in sedaj poteka v številnih državah po svetu (3). Pomembno vlogo pri presejanju novorojencev ima tandemna masna spektrometrija (MS/MS), saj je s to metodo mogoče kvantificirati številne aminokislino in acilkarnitine iz posušenih vzorcev krvi, kar omogoča detekcijo številnih motenj v metabolizmu aminokislin, organskih kislin in motenj v metabolizmu maščobnih kislin (4).

Izbor vrojenih bolezni presnove za vključitev v programe presejanja novorojencev

Presejanje na vse VBP, ki jih je mogoče odkriti z MS/MS, ni smiselno. Veliko od njih namreč ne zadošča osnovnim pogojem za vključitev v programe presejanja, saj ne povzročajo klinične slike, zanje ni razvitega učinkovitega zdravljenja in niso stroškovno učinkoviti (4). Tako v programe presejanja države oziroma centri za presejanje novorojencev v nabor za presejanje vključijo bolezni, za katere presodijo, da imajo dovolj visoko pojavnost, za njihovo detekcijo obstaja dovolj specifičen in občutljiv test ter je dokazano izboljšanje zdravja zaradi zgodnjega odkritja bolezni (5,6).

Ameriška in evropska priporočila za izbor presejanih bolezni se med seboj razlikujejo (5,6). V ZDA ima vsaka zvezna država svoj nabor presejanih bolezni (7). Tudi med evropskimi državami so velike razlike v naboru presejanih bolezni (8). V večini evropskih držav (tudi v

Sloveniji (9)), poteka presejanje vsaj za kongenitalno hipotirozo in fenilketonurijo (10). Za njuno detekcijo namreč ni potrebna draga oprema, kot je tandemski masni spektrometer (8). Tudi med evropskimi državami, kjer poteka presejanje za VBP z MS/MS, je število presejanih bolezni različno (8). V Veliki Britaniji tako z MS/MS določajo poleg fenilketonurije le 5 drugih VBP (11). Nemčija in Danska presejata na 15 VBP, Avstrija pa na 29 VBP (3,8). V ZDA je v programu NBS 20 primarnih VBP, ki naj bi bile vključene v vseh zveznih državah, in 22 sekundarnih VBP, za vključitev katerih poteka odločitev na ravni vsake zvezne države (4,12).

Glede na to, da je skupna pojavnost VBP, ki jih imajo države vključene v programe presejanja novorojencev, je med 1 : 800 in 1 : 2500 (13), bi v Sloveniji letno pričakovali okrog 10 novih bolnikov z VBP, ki pa so doslej večinoma ostajali neprepoznani. Po uvedbi razširjenega presejanja novorojencev so v nekaterih državah poročali o višjih izračunanih incidencah oz. o porastu diagnosticiranih bolnikov z VBP (14). Pred presejanjem presnovnih bolezni lahko le-te niso bile diagnosticirane ali pa so bolniki v presnovnih iztirjenjih umrli z drugo diagnozo. Zgodnja prepoznavna VBP je ključna za preprečevanje življenje ogrožajočih presnovnih poslabšanj (15–17). Obenem je prava diagnoza pomembna tudi za genetsko svetovanje družini in za kaskadno presejanje sorojencev in drugih svojcev.

Preiskava presejanja novorojencev v Sloveniji

Glede na VBP, za katere presejajo v EU ter ZDA in na podlagi naših rezultatov analiz v DBS, smo za našo preiskavo izbrali nabor VBP, primeren za Slovenijo (tabela 1). S pomočjo tandemske masne spektrometrije smo kvantificirali 28 acilkarnitinov in 12 aminokislin v posušeni vzorci krvi na filtrirnem papirju 10048 novorojenčkov. Med njimi smo izbrali 113 novorojencev, ki so imeli najvišje tveganje za izbrane vrojene bolezni presnove, in jih povabili na potrditvene analize. Na vabila se je odzvalo 85 preiskovancev. Pri njih smo opravili presnovne potrditvene analize (ponovno analizo acilkarnitinov in aminokislin iz posušeni vzorcev krvi, analizo organskih kislin v urinu ter analizo aminokislin v plazmi ter analizo) ter analizo izbranih genov, povezanih z vrojenimi boleznimi presnove, ki smo jih analizirali s pomočjo sekvenciranja naslednje generacije. Dokončno smo VBP potrdili pri 4 bolnikih, med njimi smo našli en primer glutarične acidemije tipa 1, en primer pomanjkanja zelo-dolgoveržne-acil-CoA-dehidrogenaze ter dva primera pomanjkanja 3-metil-krotonil-CoA-karboksilaze. Pri vseh bolnikih smo našli vzročne genetske spremembe, ki v slovenski

populaciji še niso bile opisane. S pomočjo rezultatov smo postavili tudi ustrezne izključitvene vrednosti za slovensko populacijo ter s pomočjo rezultatov naše preiskave ter števila klinično potrjenih primerov vrojenih bolezni presnove v Sloveniji med preiskovanci, ki so bili rojeni med 1999 in 2013 ocenili pojavnosti VBP v Sloveniji (tabela 1), ki so primerljive z evropskimi (18).

Bolezen	Ocenjena pojavnost v Sloveniji
<i>Vse vključene vrojene bolezni presnove</i>	1 : 2.762
Pomanjkanje 3-metilketonil-CoA-karboksilaze	1 : 5.024
Fenilketonurija	1 : 6.769
Pomanjkanje zelo-dolgoverižne-acil-CoA-dehidrogenaze	1 : 10.048
Pomanjkanje srednjeverižne-acil-CoA-dehidrogenaze	1 : 54.007
Glutarična acidemija tipa 1	1 : 146.949
Glutarična acidemija tipa 2	1 : 293.897
Pomanjkanje 3-hidroksiacil-CoA-dehidrogenaze	1 : 293.897
Metilmalonska acidemija	1 : 293.897
Propionska acidemija	1 : 293.897
Pomanjkanje karnitin-palmitoiltransferaze 1	< 1 : 293.897
Pomanjkanje karnitin-palmitoiltransferaze 2	< 1 : 293.897
Motnja privzema karnitina	< 1 : 293.897
Izovalerična acidemija	< 1 : 293.897
Bolezen javorjevega sirupa	< 1 : 293.897

V naši raziskavi smo odkrili bolnike pred pojavom kliničnih znakov, kar lahko pomembno pripomore k preprečitvi znakov in najboljšemu ukrepanju proti razvoju bolezni. Želimo, da bi naši rezultati vplivali na vpeljavo novih metod za NBS v Sloveniji in na širitev programa

NBS novorojencev z dodatnimi VBP, kot so huda kombinirana imunska pomankljivost, kongenitalna adrenalna hiperplazija in cistična fibroza.

Viri

1. Kasper DC, Ratschmann R, Metz TF, Mechtler TP, Möslinger D, Konstantopoulou V, et al. The national Austrian newborn screening program - eight years experience with mass spectrometry. Past, present, and future goals. *Wien Klin Wochenschr.* 2010;122(21–22):607–13.
2. MacCready RA, Hussey MG. Newborn phenylketonuria detection program in Massachusetts. *Am J Public Heal Nations Heal.* 1964;54(12):2075–81.
3. Burgard P, Cornel M, Filippo F Di, Haegel G, Hoffmann GF, Lindner M, et al. Report on the practices of newborn screening for rare disorders implemented in Member States of the European Union, Candidate, Potential Candidate. 2012;(2009).
4. Watson MS, Mann MY, Lloyd-Puryear MA, Rinaldo P, Howell RR, Group AC of MGNSE. Newborn screening panel and system. *Genet Med.* 2006;8(Suppl 1):12S–252S.
5. Cornel M, Rigter T, Weinreich S, Burgard P, Hoffmann GF, Lindner M, et al. Newborn screening in Europe Expert Opinion document. 2011;399755(2009):1–49.
6. Wilson J, Jungner Y. Principles and practice of screening for disease. *World Heal Organ.* 1968;65(4):281–393.
7. Therrell BL, Padilla CD, Loeber JG, Kneisser I, Saadallah A, Borrajo GJC, et al. Current status of newborn screening worldwide: 2015. *Semin Perinatol.* 2015;39(3):171–87.
8. Loeber JG, Burgard P, Cornel MC, Rigter T, Weinreich SS, Rupp K, et al. Newborn screening programmes in Europe; arguments and efforts regarding harmonization. Part 1 - From blood spot to screening result. *J Inherit Metab Dis.* 2012;35(4):603–11.
9. Smon A, Groselj U, Tansek MZ, Bicek A, Oblak A, Zupancic M, et al. Newborn screening in Slovenia. *Zdr Var.* 2015;54(2):86–90.
10. Groselj U, Tansek MZ, Smon A, Angelkova N, Anton D, Baric I. Newborn screening in southeastern Europe. *Mol Genet Metab* Groselj U, Tansek MZ, Smon A, al Newborn Screen Southeast Eur *Mol Genet Metab* 2014; 113 42–45. 2014;113(1–2):42–5.
11. Newborn blood spot test.
12. U.S. Department of Health and Human Services. Recommended uniform screening

panel [Internet]. [cited 2016 Aug 5]. Available from:

<https://www.hrsa.gov/advisorycommittees/mchbadvisory/heritabledisorders/recommendedpanel/index.html>

13. Applegarth DA, Toone JR, Lowry RB, Frpc C. Incidence of Inborn Errors of Metabolism in British Columbia , 1969 – 1996. *Pediatrics*. 2000;105(1):1–6.
14. Harms E, Olgemöller B. Neonatal screening for metabolic and endocrine disorders. *Dtsch Arztebl Int*. 2011;108(1–2):11–21.
15. Lindner M, Ho S, Fang-Hoffmann J, Hoffmann GF, Kölker S. Neonatal screening for glutaric aciduria type I: strategies to proceed. *J Inherit Metab Dis*. 2006;29(2–3):378–82.
16. Derks TGJ, Boer TS, van Assen A, Bos T, Ruiten J, Waterham HR, et al. Neonatal screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency in The Netherlands: the importance of enzyme analysis to ascertain true MCAD deficiency. *J Inherit Metab Dis*. 2008;31(1):88–96.
17. Lindner M, Hoffmann GF, Matern D. Newborn screening for disorders of fatty-acid oxidation: experience and recommendations from an expert meeting. *J Inherit Metab Dis*. 2010;33(5):521–6.
18. Smon A, Repic Lampret B, Groselj U, Zerjav Tansek M, Kovac J, Perko D, et al. Next generation sequencing as a follow-up test in an expanded newborn screening programme. *Clin Biochem*. 2018;52:48–55.