

TOVÁBBKÉPZÉS

Anyagcsere betegségek újszülöttkori szűrése és klinikai jellemzőik

PAPP FERENC, RÓZSA MELINDA, WITTMANN GYULA, BARÁTH ÁKOS, MONOSTORI PÉTER, GÖRÖG MARIETTA,
GELLÉN BALÁZS, KARG ESZTER, PROF. TÚRI SÁNDOR

SZTE Gyermekgyógyászati Klinika és Gyermekegészségügyi Központ, Szeged

Összefoglalás: Magyarországon a veleszületett anyagcsere betegségek újszülöttkori szűrése 1968-ban a szegedi Gyermekklinikán kezdődött, a phenylketonuria (PKU) és galactosaemia szűrése használt Guthrie-féle mikrobiális módszer alkalmazásával. 1975-ben, a Budapesti Szűrőközpont megalakulását követően, a PKU és galactosaemia szűrése országossá vált. Az 1980-as évek alatt, a szűrt betegségek sora a congenitalis hypothyreosissal (1984) és a biotinidáz defektussal (1989) bővült.

A tandem tömegspektrometria (MS/MS) több, mint 30 anyagcsere betegség vizsgálatát teszi lehetővé az újszülöttkori vércsepp mintából. A kiterjesztett, tandem tömegspektrometriás újszülöttkori szűrővizsgálat 2007-ben került bevezetésre a két magyarországi szűrőközpontban (Simmelweis Egyetem, I.sz. Gyermekklinika, Budapest és Szegedi Tudományegyetem, Gyermekklinika, Szeged). Az MS/MS módszer használatával, a korábbi 4 betegségen túl, 22 új anyagcsere betegség (összesen 26) szűrése vált kötelezővé. A PKU szűrése használt bakteriális módszert az MS/MS váltotta fel. MS/MS vizsgálattal a veleszületett anyagcsere betegségek 5 csoportja kerül szűrésre: PKU és egyéb aminoacidopathiák (5 betegség), urea ciklus defektusok (2 betegség), organikus acidaemiák/aciduriák (8 betegség), zsírsavak β -oxidációjának (5 betegség) és a karnitin ciklusnak a defektusai (3 betegség). A szűrést, valamint a betegek kezelését és követését az anyagcsere szűrőközpontok végzik. A korai diagnózis és adekvát kezelés megelőzheti a tünetek kialakulását és javíthatja a kimenetelt. A szerzők bemutatják a szűrésben használt módszereiket és összefoglalják a szűrt anyagcsere betegségek klinikai megjelenését.

Kulcsszavak: anyagcsere betegségek, újszülöttkori szűrés, tandem tömegspektrometria, klinikai jellemzők

Egészségtudomány 55/4 19-37 (2011)
Közlésre érkezett: 2011 január 27-én
Elfogadva: 2011 február 28-án

PROF. TURI SÁNDOR
SZTE Gyermekgyógyászati Klinika és
Gyermekegészségügyi Központ,
6725 Szeged, Korányi-fasor 14
tel: 62-545-330
e-mail: turi.sandor@med.u-szeged.hu

Bevezetés

A veleszületett anyagcsere betegségek az intermedier anyagcsere folyamatokat katalizáló enzimek öröklődő, genetikai defektusai. Az enzim hiányzó, vagy csökkent működése következtében a gátolt metabolikus lépés előtt bizonyos anyagok (szubsztrátok) felhalmozódnak, míg mögötte a szükséges termékek hiánya alakul ki. Bizonyos esetekben a felhalmozódott szubsztrát eliminálására a szervezet alternatív metabolikus utakat aktivál, amelyek melléktermékek képződéséhez vezetnek. A szubsztrátok és melléktermékek felhalmozódása, valamint a termékek hiánya együttesen általában súlyos, akut és/vagy krónikus klinikai tüneteket okoz. Az anyagcsere betegségek döntően autoszómális recesszív (AR) módon öröklődő kórképek, melyekre nagy genetikai és klinikai heterogenitás jellemző. Egy-egy betegség hátterében különböző génmutációk állhatnak, és részben az eltérő mutációk, részben a környezeti hatások miatt ugyanaz a betegség különböző súlyossági formában jelentkezhethet. Több mint 3000 veleszületett anyagcsere betegség ismert, melyek egyenként ritkák, de együttesen jelentős csoportot képviselnek, összesített gyakoriságuk kb. 1:2000.

A klinikai tünetek, maradandó károsodások kialakulásának megelőzését célozza bizonyos anyagcsere betegségek újszülöttkori szűrése, amivel lehetővé válik a betegek mielőbbi kiemelése és az adekvát terápia megkezdése. Az anyagcsere betegségek újszülöttkori szűrése az Amerikai Egyesült Államokban az 1960-as évek elején kezdődött a phenylketonuria (PKU), majd a galactosaemia szűréseivel. Ezen betegségek szűrésehez évtizedekig használt módszer kidolgozása *Robert Guthrie*, amerikai mikrobiológus nevéhez fűződik. A programhoz hazánk is korán csatlakozott: 1968-ban a szegedi Gyermekklinikán Dr. *Szabó Lajos* irányításával megkezdődött a PKU, majd néhány évvel később a galactosaemia szűrése. A budapesti szűrőközpont (Országos Csecsemő és Gyermekegészségügyi Intézet részlege, amely 1988-ban helyileg, később szervezetenként is a Budai Gyermekkórházba integrálódott) megalakulását követően 1975-ben az újszülöttkori anyagcsere szűrés országos méretűvé vált, kezdetben a PKU és galactosaemia szűréseivel, melyhez az 1980-as években először a congenitalis hypothyreosis (1984), végül a biotinidáz defektus szűrése (1989) is csatlakozott (1).

Az anyagcsere betegségek szűrésében forradalmi előrelépést jelentett a tandem tömegspektrometria (MS/MS) alkalmazása, amely egyetlen mintából egy méréssel legalább 30 anyagcsere betegség egyidejű vizsgálatára alkalmas. Ezzel a módszerrel a szűrt betegségek száma jelentősen bővíthető (2).

A számos anyagcsere betegség közül, korábban *Wilson* és *Junger* által felállított kritérium rendszer alapján történt az újszülöttkori szűrésre alkalmas kórképek kiválasztása (3)]. Valójában a klasszikusan szűrt betegségek közül sem teljesítette mindegyik azt a

feltételt, hogy megfelelő kezeléssel a beteg tünetmentes állapotát biztosítsa (pl. galactosaemia késői tünetei) (4). Az MS/MS módszer bevezetése óta módosított feltételrendszer szerint egy betegség szűrését az is indokolja, ha a szűréssel elkerülhetővé válik a metabolikus krízis állapotában intenzív osztályra kerülő gyermeket megterhelő diagnosztikus vizsgálatok során elvégzése, a diagnosztikus útvesszőkkel együtt. Mindemellett lehetővé teszi a prenatalis diagnosztikát és elősegíti a családtervezést (I. táblázat).

I. TÁBLÁZAT: Az újszülöttkori szűrés kritériumainak (Wilson és Junger) módosított részlete

A megbetegedés elég gyakori és súlyos legyen ahhoz, hogy népegészségügyi problémát jelentsen
Jól meghatározott tüneteket okozzon
A szűrőmódszer legyen egyszerű, megbízható, az álpozitív és álnegatív esetek száma legyen alacsony
A megbetegedés legalább olyan mértékben kezelhető legyen, hogy az a súlyos negatív kimenetelt, pl. halálozást, csökkentse (diagnosztikus útvesszők elkerülése, családtervezés, prenatalis diagnosztika, családvizsgálat)
Legyen biztosítva a betegek gondozása, követése

Kiterjesztett újszülöttkori anyagcsere szűrővizsgálat

Az MS/MS módszer bevezetésével 2007. októberétől a korábbi 4 anyagcsere betegség mellett még 22, így összesen 26 veleszületett anyagcsere betegség szűrése vált kötelezővé Magyarországon (Eü. Min. rendelet 44/2007). A PKU szűrésében a korábbi bakteriális módszer helyett az MS/MS vizsgálat került alkalmazásra. A módszerrel a PKU és egyéb aminosav anyagcsere zavarok (5 betegség), urea ciklus defektusok (2 betegség), organikus savak metabolizmusának zavarai (8 betegség), zsírsavoxidációs- (5 betegség) és karnitin anyagcsere (3 betegség) zavarok kerülnek szűrésre (II. táblázat).

**II. TÁBLÁZAT: Tandem tömegspektrometriával (MS/MS) szűrt betegségek
Magyarországon**

Betegségcsoport	Betegség
Aminoacidopathiák	Phenylketonuria (PKU) Jávorfaszörp betegség (MSUD) Tyrosinaemia I és II Homocystinuria
Urea ciklus zavarok	Citrullinaemia I (argininoszukcinát szintáz hiány) Citrullinaemia II (argininoszukcinát liáz hiány)
Organikus acidaemiák/aciduriák	Propionsav acidaemia (propionil-CoA karboxiláz hiány) Metilmalonsav acidaemia (metilmalonil-CoA mutáz hiány) Izovaleriánsav acidaemia (izovaleril-CoA dehidrogenáz hiány) Metilkrotonil-CoA karboxiláz hiány 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA liáz hiány Béta-ketotioláz hiány Multiplex karboxiláz hiány
Zsírsv oxidációs zavarok	Glutársav aciduria I (glutaril-CoA dehidrogenáz hiány) Rövidláncú acil-CoA dehidrogenáz (SCAD) hiány Középláncú acil-CoA dehidrogenáz (MCAD) hiány Hosszúláncú hidroxiacil-CoA dehidrogenáz (LCHAD) hiány Nagyon hosszúláncú acil-CoA dehidrogenáz (VLCAD) hiány Multiplex acil-CoA dehidrogenáz hiány (Glutársav aciduria II)
Karnitin anyagcsere zavarok	Karnitin-palmitoil-transzferáz I hiány Karnitin-palmitoil-transzferáz II hiány Karnitin transzport zavara

A szűrést és a kiszűrt betegek gondozását az országban két anyagcsere szűrő- és gondozó központ végzi (Simmelweis Egyetem I. sz. Gyermekklinika, Budapest és Szegedi Tudományegyetem Gyermekklinika, Szeged).

A vizsgálat az újszülöttől speciális szűrőpapírra levett és beszárított vércsepp mintából történik, amely postai úton jut el a születési helyhez kijelölt szűrőközpontba. A kiterjesztett szűrővizsgálat bevezetésével egyidőben a mintavétel időpontja is megváltozott. A születést követő első 24 órában a vérminta értékelhetősége (anyagcsere szűrés szempontjából) korlátozott, 24-48 óra között kielégítő, 48 órán túl optimális([5]). Azokban az országokban,

ahol MS/MS szűrés történik, a mintavételt egyértelműen 48 és 72 életóra között végzik. A szűrés célja a betegségek időben, tünetmentes állapotban való felismerése. Az újonnan vizsgált betegségek egy része azonban már az első néhány életnapban súlyos, irreverzibilis károsodást okozhat (pl. jávorfaszörp-betegség, organikus acidaemiák). Ez indokolja, hogy a mintavétel a fenti időperiódusban történjen (6). Transzfúzió, parenterális táplálás, 32 hétnél fiatalabb gesztációs kor és elégtelen táplálék bevitel esetén a mintavétel menete megváltozik.

A vérmintához számos kísérő adat is szükséges: személyi adatok, születési súly, gesztációs kor, életkor, táplálás, transzfúzió, gyógyszerek, első vagy ismételt minta. Az adatokra a vizsgálati eredmény korrekt értékeléséhez, illetve a kiszűrt gyermekek értesítéséhez van szükség. Az adatlap kitöltését segíti a kifejlesztett internetes rendszer, mellyel a beküldő intézet a minta beérkezését is ellenőrizni tudja.

Pozitív szűrési lelet esetén, a metabolit eltérések mértéke, a gyanított betegség természete és a klinikai körülmények határozzák meg, hogy a gyermek azonnali behívásra kerül-e vagy a vizsgálat ismétléséhez újabb vérmintát kérünk.

Az ismételt vérminta kérésnek több oka lehet: anyagcsere betegség fennállása, valós metabolit eltérés anyagcsere betegség nélkül vagy helytelen mintavételből eredő nem valós eltérés. A bővített szűrés bevezetése óta megnőtt az ismételt vérminták kérésének gyakorisága. Ennek a fő oka az, hogy a korábbi 4 kórkép helyett jelenleg 26 betegség szűrése történik. Az álpozitív esetek 50%-a kissúlyú, illetve intenzív ellátást igénylő újszülöttek közül kerül ki. Az álpozitív eredmény okai között szerepel az is, hogy a kóros/normál határérték optimalizálása nehéz és csak nagyszámú szűrővizsgálat elvégzése és megfelelő számú kóros eset diagnosztizálása után lehetséges. Nagyon gyakori a helytelen mintavételre visszavezethető kóros szűrési eredmény is.

Amennyiben az ismételten beküldött mintában is emelkedett metabolit szinteket találunk, a gyermek megerősítő vizsgálatokra a szűrőközpontba behívásra kerül. Ilyen vizsgálatok a vizelet organikus sav meghatározás gázkromatográfia-tömegspektrometria (GC-MS) módszerrel, az enzim diagnosztika, illetve genetikai vizsgálat. Ezekkel a vizsgálatokkal tisztázni tudjuk a diagnózist olyan esetekben, ahol egy metabolit változása több okra is visszavezethető (pl. propionilkarnitin emelkedés jelezhet propionsav- és metilmalonsav acidaemiát egyaránt), illetve a maradék enzimaktivitás mértéke, vagy a háttérben álló mutáció tisztázása prognosztikai értékű lehet a várható klinikai lefolyás szempontjából.

Az egyes betegségek klinikai jellemzői és szűrésük

A következőkben az egyes betegségek klinikai jellemzői és a szűrésükben alkalmazott laboratóriumi módszerek kerülnek bemutatásra. A betegségeket a szűrési módszer alapján mesterségesen képzett két fő csoportra osztva tárgyaljuk. Az első csoportba a „hagyományos”, nem tandem tömegspektrometriával, már régóta szűrt betegségeket (galactosaemia, congenitalis hypothyreosis és biotinidáz defektus, a szűrés bevezetésének sorrendjében) soroltuk. Történeti szempontból természetesen a PKU is ebbe a csoportba tartozna, de tekintettel az új meghatározási módszerre, a második csoportban, a tandem tömegspektrometriával szűrt betegségek között kerül ismertetésre.

1. „Hagyományosan” szűrt anyagcsere betegségek

1.1. Galactosaemia

A galactosaemia a szénhidrát anyagcsere örökletes megbetegedése, amelyben a szervezet, a táplálékkal felvett laktózból származó galaktózt (Gal) nem képes glükózzá alakítani. A folyamat három, egymást követő enzimelektől áll: a Gal-ból galaktokináz (GK) közreműködésével galaktóz-1-foszfát (G1P), majd ebből, a galaktóz-1-foszfát-uridil-transzferáz (G1PUT) által katalizált folyamatban uridin-difoszfát (UDP)-galaktóz képződik, melyet végül az UDP-4-epimeráz UDP-glükózzá alakít. A folyamat bármely lépése zavart szenvedhet, ami Gal felszaporodáshoz vezet. A galactosaemia összes formájának incidenciája hazánkban 1:32.000. A leggyakoribb forma a súlyos G1PUT defektussal járó, ún. klasszikus galactosaemia (1:47.000) (1). A GK defektus a fehér népességben nagyon ritka, a roma populációban jóval gyakoribb. Epimeráz hiány is ritkán fordul elő. AR módon öröklődnek.

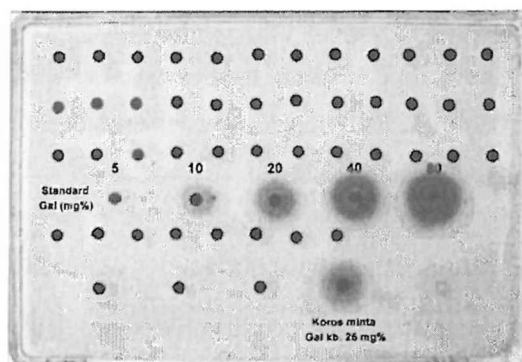
G1PUT defektus esetén a Gal mellett G1P halmozódik fel, ami erősen toxikus és elsődlegesen felelős a klinikai tünetek kialakulásáért. Súlyos enzimdefektust (klasszikus forma) okozó mutációk esetén (Q188R, K285N) a reziduális enzimaktivitás 1% alatt van. Ilyen esetben az anyatejjel táplált újszülöttnél táplálási nehézség, hypoglykaemia, aluszékonyosság, májelégtelenség, sárgaság, vese és idegrendszeri tünetek jelenhetnek meg, kifejezett a szepszisre (*E. coli*) való hajlam. Cataracta kialakulásáért a Gal-ból képződő galaktitol felelős. Időben elkezdett kezeléssel, amely az anyatej galaktóz mentes tápszerrel történő helyettesítését jelenti, a fenti tünetek megelőzhetők. A tej- és tejtermék mentes diéta tartása egész életen át szükséges. A kezelés mellett is előfordulhatnak késői szövődmények, mint beszédzavar, motoros funkció zavarai, kognitív zavarok, ovárium elégtelenség (4, 8, 9). A genotípustól való részleges enzimdefektust okozó mutáció esetén (pl. Duarte, N314D) (súlyos/enyhe vagy enyhe/enyhe mutáció) és az általa meghatározott maradék

enzimaktivitástól függ a klinikai megjelenés. Az enyhe formák általában tünetmentesek és diétás kezelés sem szükséges (7).

A GK defektus csak Gal felszaporodással jár, ennek klinikai következményeként kezeletlen esetben cataracta alakul ki. Tejmentes diéta szükséges (7).

A galactosaemia újszülöttkori tömegszűrése 1975 óta működik Magyarországon. A szűrésre évtizedekig a klasszikus, Guthrie-féle mikrobiológiai módszert alkalmaztuk, amely a vérminta Gal tartalmának szemikvantitatív meghatározását tette lehetővé. A módszerhez használt mutáns *E. coli* törzs fenntartását már nem lehetett hosszú távon biztosítani, illetve a szabad szemmel történő értékelés már korszerűtlenné vált, ezért 2004-ben az össz Gal (Gal+G1P) ELISA (enzyme linked immunoassay) módszerrel történő meghatározására tértünk át. A módszer előnye magas szenzitivitása, és hogy a Gal mellett a toxikus G1P metabolitot is méri.

Bár a klinikai gyakorlatban már nem használjuk, az újszülöttkori szűrővizsgálatok történetében játszott alapvető szerepe miatt érdemesnek tartjuk a galactosaemia szűrésére használt Guthrie-módszer rövid ismertetését. A metodika lényege, hogy Gal-ra érzékeny (Gal jelenlétében nem szaporodó) mutáns *E. coli* (W5) baktériumtörzset és metilénkék indikátort tartalmazó agaróz táptalajra helyezünk fel a vérrel átitatott szűrőpapír korongokat, különböző koncentrációjú (5, 10, 20, 40, 80 mg%) Gal standardok mellett. A szaporodó baktérium emésztí az indikátort, ezért a növekedési zóna területén a kék szín elhalványodik. Ha a szűrőpapírkorong Gal tartalma magas, a baktérium kevésbé szaporodik, körülötte az ún. kioltási zóna sötétkék marad. A kioltási zóna átmérője arányos a minta Gal tartalmával, ami a standard sorral összevetve szemikvantitatív módon meghatározható (1. ábra). A normál határérték 10 mg%. A módszer értékelhetőségét a klinikai körülmények jelentősen befolyásolták. Ha a mintavétel a tejtáplálás megkezdése előtt történt vagy az újszülött transzfúziót kapott álnegatív, ha a beteg a baktérium növekedését gátló antibiotikumot kapott, álpozitív eredmények születtek.



1. ábra: A galactosaemia szűrése hagyományos Guthrie-módszerrel (Gal, galaktóz)

Annak eldöntésére, hogy a kioltási zónát antibiotikum hatás vagy a magas Gal szint okozta, a *Weidemann*-próbát használjuk, amely a Gal mennyiségének szemikvantitatív meghatározására szolgál (10 mg% felett). Elve a következő: a Gal-dehidrogenáz enzim a Gal-ról a NAD-ra hidrogént visz át, fluoreszkáló NADH-t képezve. Ha a vérminta nem tartalmazott emelkedett mennyiségben Gal-t, a fluoreszcencia elmarad, ami antibiotikum hatás mellett szól (10).

A *Weidemann*-teszt az alapja a jelenleg használt ELISA össz Gal mennyiségi meghatározásnak. A nitroblue-tetrazolium (NBT) indikátor NADH hatására jól fotometrállható ibolyaszínű terméket képezve redukálódik, melynek intenzitása arányos az össz Gal mennyiségével.

A kiszűrt esetekben a G1PUT és GK defektusok elkülönítésére a kapilláris vérből fluoreszcens módszerrel végzett G1PUT enzimaktivitás meghatározás (*Beutler*-próba) ad lehetőséget, amellyel a különböző mértékű enzimaktivitás csökkenéssel járó variánsok is megítélhetők (pl. *Duarte*) (11).

1.2. *Congenitalis hypothyreosis*

A pajzsmirigy veleszületett alulműködése a leggyakoribb szűrt rendellenesség, incidenciája 1:3000-re tehető. Oka leggyakrabban a pajzsmirigy fejlődési zavara (*dysgenesise*), ami a mirigy teljes vagy részleges hiányához, rendellenesen elhelyezkedéséhez vezet. A pajzsmirigyhormon szintézis AR módon öröklődő enzimdefektusai is előfordulnak. Átmeneti hypothyreosist okozhat extrém jódhány, terhesség alatti tireosztatikum szedés vagy anyai eredetű pajzsmirigy ellenes antitestek jelenléte. Az említett pajzsmirigy szintű, primer eltérések mellett ritkán szekunder és terciér formák is előfordulhatnak, amikor a hypophysis vagy a hypothalamus anatómiai vagy funkcionális károsodása okozza a pajzsmirigy működés elégtelenségét (12).

A thyroxin (T4) döntő szerepet játszik a központi idegrendszer fejlődésében már a késői terhességtől kezdve a csecsemőkor végéig (13). Hiányába súlyos idegrendszeri károsodás alakul ki, amely újszülött korban általában még nem észlelhető, de később, kezeletlen esetben egyre nyilvánvalóbbá válik. Ezt megelőzően jellegzetes és egyre bővülő tünetek sora hívhatja fel a figyelmet a betegségre: etetési nehézség, obstipáció, elődomborodó has, köldöksérv, elhúzódó icterus, aluszékonyság, rekedt sírás, a csecsemő feltűnően „jó”, száraz bőr, nagy nyelv, hypotonia, szomatikus és mozgásfejlődés elmaradása (12).

A tünetek, elsősorban az irreverzibilis idegrendszeri károsodás kialakulását hivatott megelőzni a betegség újszülöttkori szűrése és korai kezelése. A diagnózis felállítása után mihamarabb, ideálisan a 10., de legkésőbb a 14. életnapig el kell kezdeni az adekvát

hormonpótló kezelést (L-thyroxin) (12), amit nagyobb adagban célszerű elindítani (12-15 µg/kg/nap), majd a későbbi dózist a klinikai tünetek és a laboreredmények alapján kell alakítani (14).

A primer eredetű congenitalis hypothyreosisban a T₄ hiány, a feedback mechanizmus révén a thyreoida stimuláló hormon (TSH) emelkedését vonja maga után. A szűrés a megemelkedett TSH koncentráció kimutatásán alapszik. A TSH mérése fluorimetriás ELISA módszerrel történik (15).

A módszer elve: A humán TSH molekula egy α és egy β láncból álló globulin. Az ELISA lemez falára humán TSH β lánc ellen termelt IgG-t visznek fel, amelyhez kötődik az újszülött mintájában lévő TSH. A következő lépésben egy európiummal jelzett, humán TSH α és β lánc ellen termelt IgG-t adunk a rendszerhez, ami kötődik az előző komplexhez, kialakítva az ún. „szendvics”-szerkezetet. Megfelelő mosási eljárások után már csak az ELISA lemez falán lévő szendvics-komplex van jelen. Ehhez egy „erősítő” oldatot adva az európium leválik a komplexről és megfelelő hullámhosszú fényel besugározva fluoreszkál. A kibocsátott jelet, melynek intenzitása arányos a mintában lévő TSH mennyiségével, fluoriméterrel mérjük.

1.3. Biotinidáz defektus

A biotin egy esszenciális vitamin (H-vitamin), amely a szervezet négy karboxiláz enzimének a kofaktora. A táplálékkal felvett biotin enzimatisz uton (holokarboxiláz szintáz) a karboxiláz enzimekhez kötődik és aktiválja azokat. Működésük végeztével a karboxiláz enzimekről leváló biotinil-lizinből a biotinidáz enzim biotint szabadít fel, így az újra elérhető a karboxilázok számára (biotin ciklus). A biotin anyagcsere zavarai mind a négy karboxiláz enzim működését érintő ún. multiplex karboxiláz defektust okoznak. A korai, már újszülöttkorban jelentkező, súlyos klinikummal járó forma a holokarboxiláz szintáz, a késői, csecsemőkorban jelentkező forma a biotinidáz defektusa miatt alakul ki (16).

Biotinidáz defektusban a biotin ciklus folyamatának megszakadása miatt biotin hiányos állapot jön létre, amely kezeletlen esetben atópiás vagy seborrhoeás dermatitis, alopecia, fejlődésbeni elmaradás, idegrendszeri tünetek, immungyengeség kialakulásához vezet. A maradék enzimaktivitás alapján a biotinidáz defektusnak két súlyossági formája különíthető el: a súlyos (profound) és a részleges (parciális) forma (az enzimaktivitás az előbbiben 10% alatti, az utóbbiban 10 és 30% közötti) (16). Az AR módon öröklődő betegség összesített gyakorisága Magyarországon 1:20 000 (a súlyos formáé 1:85 000, míg a részlegesé 1:26 000) (17). Biotin pótlással a betegek tünetmentesek.

A biotinidáz defektus szűrése magának az enzim aktivitásának meghatározásán alapszik. Az újszülött szűrőpapír mintájához biotin-paraaminobenzoésavat adunk feleslegben.

Amennyiben a vérminta enzimaktivitással rendelkezik, lehasítja a biotint, és a szabadon maradó paraaminobenzoésav színreakcióba vihető. A keletkezett ibolyaszín intenzitása arányos a mintában lévő enzim aktivitásával (18, 19)

2. Tandem tömegspektrometriával szűrt anyagcsere betegségek

A tandem tömegspektrometriával (MS/MS) szűrt betegségek közül az aminosav anyagcsere zavarok betegségeként, míg a többiek betegségecsoportként, általános jellemzőik alapján kerülnek bemutatásra. A betegségek ismertetése után az MS/MS módszert vázoljuk röviden.

2.1. *Phenylketonuria és egyéb aminosav anyagcsere zavarok*

Az aminosavak lebontásának/átalakulásának zavarai. A felhalmozódó prekursor aminosav/aminosavak koncentrációja a vérben MS/MS vizsgálattal mérhető, ami az újszülöttkori szűrés alapját jelenti

2.1.1. **Phenylketonuria (PKU)**

A primer hyperphenylalaninaemiát (HPA) okozó kórképekben a fenilalanin (Phe) tirozinná (Tyr) történő átalakulása szenved zavart. Oka leggyakrabban a folyamatot katalizáló enzim, a fenilalanin-hidroxiláz (PAH) hiányzó vagy csökkent működése, amely különböző mértékű HPA-hoz vezet (vér Phe 120 $\mu\text{mol/l}$ felett). Az enzim kofaktora a szervezetben szintetizálódó tetrahydrobiopterin (BH_4). Súlyos PAH defektusban (klasszikus PKU) a vér Phe szint meghaladja az 1200 $\mu\text{mol/l}$ értéket, ami a vizeletben fenilketonok ürülését eredményezi. Ezek a vizeletnek jellegzetes egérürülék vagy dohos szagot kölcsönöznek. Enyhébb formákban a HPA mértéke kisebb (120-1200 $\mu\text{mol/l}$), fenilketonok nem jelennek meg a vizeletben. A PAH defektuson belül újabban elkülönítjük a BH_4 adására reagáló eseteket, melyek elsősorban az enyhébb fenotípusok közül kerülnek ki (BH_4 -reszponzív HPA). Ritkán (az esetek 1-2 %-a) a BH_4 szintézis/átalakulás valamely enzime károsodik, amely mérsékelt HPA mellett súlyos, nehezen kezelhető neurológiai tüneteket okozhat (BH_4 -dependens HPA, atípusos vagy malignus PKU).

A patomechanizmusban a központi idegrendszerben felhalmozódó Phe toxikus hatása mellett fontos szerepe van az egyidejűleg fennálló neurotranszmitter (szerotonin, dopamin és noradrenalin) deficienciának, ami különösen kifejezett lehet a BH_4 -hiányos formában, hiszen a BH_4 ezek szintézisében közreműködő enzimeknek is kofaktora.

Kezeletlen esetekben néhány hónapon belül hányások, hiperaktivitás, fokozott izomtónus, hyperreflexia és görcsök jelentkeznek, majd később egyre szembetűnőbbé válik a növekedésbeni elmaradás, microcephalia és mentális retardáció. A BH_4 -dependens formában már újszülöttkorban jelentkezhetnek tünetek, hányás, nyálcsorgás, súlyos

hypotonia, myoclonusos görcsök képében. A betegekre a Tyr hiányából adódó csökkent melanin képződés miatt világos bőr, szőke haj, kék szem jellemző. Az időben elkezdett és fenntartott kezeléssel normál testi és szellemi fejlődés biztosítható. Atípusos formában a kezelés ellenére is számolni lehet idegrendszeri tünetek kialakulásával.

A betegség relatíve gyakori, a különböző formák összesített incidenciája Magyarországon 1:8900 (1). Újszülöttkori szűrésében a korábbi bakteriális szemikvantitatív *Guthrie*-tesztet a kvantitatív MS/MS vizsgálat váltotta fel, amellyel az újszülött vérmintájának Phe koncentrációja pontosan meghatározható. A BH₄-dependens forma elkülönítésére BH₄-terheléses teszt végzése és vizelet pterin meghatározás szükséges, amelyet minden kiszűrt újszülöttnél el kell végezni.

Kezelése a Phe egész életre szóló diétás megszorításán alapul, amely fehérjeszegény étrenddel és Phe-mentes tápszerek adásával lehetséges. Mivel a Phe esszenciális aminosav, a túlzott diéta hiánytünetek kialakulásához vezethet. Cél a szérumban Phe szint 120-360 µmol/l között tartása. BH₄-dependens formában a diéta mellett BH₄ (gyógyszerként sapropterin) és neurotranszmitter előanyagok adása is szükséges (20).

PKU-s terhesekben a magas Phe szint súlyos fetopathiát, ún. anyai PKU-szindrómát okozhat (intrauterin növekedésbeni elmaradás, microcephalia, mentális retardáció, szívfejlődési rendellenesség). Megelőzésére már a fogamzást megelőzően és a terhesség teljes időtartama alatt a diétát szigorúan kell tartani ([20, 21]).

2.1.2. Tyrosinaemiák

Az 1-es típusú, ún. hepatorenalis tyrosinaemiában a tirozin (Tyr) lebontásának utolsó lépése (fumarilacetoacetát hidroláz) károsodik, következményes szukcinilaceton (SA) képződéssel, ami a klinikai tüneteket okozza. A betegségben a Tyr csak enyhén emelkedik, a diagnózis felállításához a kórosan emelkedett SA kimutatása szükséges, amely szintén MS/MS vizsgálaton történik. A súlyos kórkép, amely már 6 hónapos kor előtt adhat tüneteket, elsősorban májbetegség formájában manifesztálódik, mely lehet akut májelégtelenség, cirrhosis vagy hepatocelluláris carcinoma (HCC). Ehhez veseérintettség (elsősorban proximalis tubulopathia), akut perifériás polyneuropathia és cardiomyopathia társulhat. Kezelésében a Phe és Tyr szegény diéta mellett, a megelőző enzimatis lépést gátló vegyület (nitisinone, vagy a kémiai névből röviden NTBC) is használatos, amely hatékony az akut krízisek megelőzésében és a HCC kialakulásának kockázatát is csökkenti. A végső megoldást a májtranszplantáció jelentheti.

A 2-es típusú, oculocutan formát, a Tyr lebontás első enzimatis lépésének (tirozin aminotranszferáz) defektusa okozza, kifejezett Tyr emelkedéssel jár. Szemtünetek

(photophobia, könnyezés, cornea fekény), hyperkeratotikus bőrléziók a tenyéren és talpon, valamint mentális retardáció jellemzik. Kezelése diétás (22).

2.1.3. Jávorfaszörp-betegség (Maple syrup urine disease, MSUD)

A betegségben az elágazó láncú aminosavakból (valin, izoleucin és leucin) képződő elágazó láncú ketosavak lebontása károsodik a thiamin (B₁-vitamin) kofaktorú elágazó láncú ketosav dehidrogenáz multienzim komplex defektusa következtében, ami a ketosavak illetve a prekursor aminosavak felhalmozódásához vezet (különös tekintettel a leucinra, melynek döntő szerepe van a betegségre jellemző akut encephalopathia kialakulásában). Az aminosavak emelkedése MS/MS alapján detektálható, ez képezi a szűrés alapját. A ketosist, metabolikus acidosist okozó ketosavak a vizeletben GC-MS vizsgálattal kimutathatók. A testnedvek jávorfa szirupra emlékeztető édeskés illata a betegség jellemző tünete lehet.

Klinikailag több forma különíthető el:

- klasszikus: újszülöttkorban a táplálás bevezetését követően akut progresszív encephalopathia alakul ki (mélyülő tudatzavar, görcsök, opisthotonus),
- intermedier: kevésbé súlyos, krónikus tünetekkel jár,
- intermittáló: normál fejlődés mellett katabolikus állapotok vagy fehérjeterhelés kapcsán visszatérően encephalopathiás krízisek jelentkeznek, és
- thiaminra reagáló forma, ami klinikailag az intermedier típusnak felel meg.

A betegség kezelése fehérjeszegény diétával, a prekursor aminosavakat nem tartalmazó speciális tápszer adásával, az arra reagáló esetekben thiamin pótlással történik (23).

2.1.4. Homocystinuria (HCU)

A metioninból (Met) képződő homocisztein (Hom) lebontásáért felelős enzim, a cisztation- β -szintáz (kofaktora a piridoxin, B₆-vitamin) defektusa következtében kialakuló kórkép a klasszikus HCU. Ezen kívül HCU-hoz vezethetnek még a metilén-tetrahidrofolát-reduktáz (MTHFR) deficiencia és a kobalamin defektusok is. Klasszikus HCU-ban a vérben a Hom mellett a Met is emelkedik (ellentétben az egyéb HCU-val járó defektusokkal, ahol a Met inkább alacsony), amely az MS/MS szűrés alapjául szolgál. A Hom felhalmozódás elsősorban kollagénzavarokhoz vezet, melyek tünetei kisdedkor után jelennek meg lencse subluxatio, gyorsan romló myopia, majd Marfanoid küllemmel járó vázrendszeri eltérések, deformitások, osteoporosis formájában. A betegek egy részében epilepsia és mentális retardáció alakulhat ki. A thromboemboliás szövődmények érinthetik az agyi- és veseereket, coronariákat. A klasszikus HCU-ban alkalmazott speciális diétás kezelés a homocisztein remetilációját elősegítő Betain, folsav és nagy dóziszú B₆-vitamin adásával egészül ki (24).

2.2. Urea ciklus zavarok (UCD)

Az aminosavak lebomlása során képződő ammónia erősen toxikus, különösen a központi idegrendszerre. Az ammónia méregtelenítése karbamiddá a májsejtekben zajló enzimatis reakciók sorozatán, az urea cikluson keresztül történik. A reakciósorozatban hat enzim vesz részt, bármelyikük károsodhat, primer hyperammonaemiát okozva: 1. N-acetil-glutamát-szintáz, 2. karbamoil-foszfát-szintáz, 3. ornitin-transzkarbamiláz (OTC), 4. argininoszukcinát-szintáz (ASS), 5. argininoszukcinát-liáz (ASL), 6. argináz. Az urea ciklus enzimdefektusai közül biztonsággal csak az ASS (citrullinaemia I) és ASL (argininoszukcinát aciduria vagy citrullinaemia II) defektusok szűrhetők.

Relatív gyakori kórképek, összesített incidenciájuk 1:30 000, leggyakoribb az OTC defektus (1:14 000). Öröklődésük AR, kivéve az OTC defektust, amely X-hez kötött öröklődik (heterozygota nők is mutathatnak tüneteket!).

UCD esetén hyperammonaemiás encephalopathia alakulhat ki, újszülöttkorban, a táplálás megkezdését követően, vagy később, bármely életkorban. Az akut hyperammonaemia klinikai tünetei a következők: centrális tachypnoe, respiratorikus alkalosis, hányás, letargia, görcsök, tudatzavar. A későbbi életkorokban jelentkező krónikus hyperammonaemia változatos tüneteket eredményezhet, mint fejlődésbeni elmaradás, táplálási nehézség, visszatérő hányások, fejfájásos epizódok, viselkedészavar, intermittáló ataxia, mentális retardáció, görcsök, kóma, magas fehérjetartalmú ételekkel szembeni averzió.

ASS és ASL defektusokban jellegzetes tünet lehet a száraz, törékeny haj (trichorrhexis nodosa).

Az argináz deficiencia (argininaemia) a fentiekől eltérő klinikai képpel jár. Nem kíséri súlyos hyperammonaemia, főképp progresszív spasticus quadriplegia és mentális retardáció jellemzi. Az urea ciklus zavarainak egyéb hyperammonemiát okozó állapotoktól (pl. organikus acidaemiák), illetve az egyes enzimdefektusok egymástól való elkülönítésében többek között az MS/MS és vizelet GC-MS vizsgálatok lehetnek segítségünkre.

Hyperammonaemiáról

100 $\mu\text{mol/L}$ (újszülötteknél 150 $\mu\text{mol/L}$) ammónia szint felett beszélünk. A súlyos hyperammonaemia (> 200 $\mu\text{mol/L}$) akut életveszélyes állapot, azonnali és erélyes beavatkozást kíván. A terápia alapelvei a következők: fehérjebevitel korlátozása, fokozott kalória bevitel, ammónia eltávolítása gyógyszerekkel, súlyos esetben peritonealis- vagy inkább hemodialízissel.

Az urea ciklus zavarainak krónikus kezelése fehérjeszegény diétán, csak esszenciális aminosavakat tartalmazó speciális tápszer és az ammóniát megkötő gyógyszerek (nátriumbenzoát vagy -fenilbutirát) tartós adásán alapul (25).

2.3. *Organikus acidaemiák*

Az organikus acidaemiák/aciduriák közös jellemzője, hogy az intermedier anyagcsere során képződő nem amino szerves savak enzimdefektus következtében nem tudnak lebomlani, így azok a szervezetben felhalmozódnak (acidaemia) és a vizelettel ürülnek (aciduria). Bár szerves savak egyaránt keletkeznek a glükóz, különböző aminosavak illetve zsírsavak anyagcsere folyamatai során, az organikus acidaemiák közé elsődlegesen az elágazó láncú aminosavak (valin, izoleucin és leucin) lebontási zavarait soroljuk. A vizelettel ürülő szerves savak kimutatására és kvantitatív meghatározására a gázkromatográfia-tömegspektrometria (GC-MS) vizsgálat ad lehetőséget. Az organikus acidaemiák egy jelentős részében a felhalmozódó szerves savak karnitinhoz kötődnek, karnitin-észterek képződnek. A vérben felhalmozódó acil-karnitinek MS/MS vizsgálattal azonosíthatók. A kóros acil-karnitin mintázat jellegzetes lehet egy adott betegségre, ez képezi bizonyos organikus acidaemiák újszülöttkori szűrésének alapját is. A szűrés alá eső organikus acidaemiákat a *II. táblázat* mutatja. A betegségek AR módon öröklődnek.

A szűkebb értelemben vett organikus acidaemia/aciduria betegcsoport biokémiai és klinikai jellemzők alapján két nagyobb csoportra osztható. Az ún. klasszikus organikus acidaemiák a szerves sav felhalmozódás és ürülés mellett általában szisztémás tünetekkel és súlyos biokémiai eltérésekkel járnak, míg az ún. cerebralis organikus aciduriákra szinte kizárólag központi idegrendszeri tünetek jellemzők és a szerves sav ürülésen kívül egyéb biokémiai vagy laboratóriumi eltérések hiányoznak vagy enyhék (26, 27).

2.3.1. **Klasszikus organikus acidaemiák/aciduriák**

Az elágazó láncú aminosavak lebontásának zavarai tartoznak ebbe a csoportba. Összesített gyakoriságuk kb. 1:50 000. A patomechanizmus középpontjában a felhalmozódó szerves sav áll, amely jellegzetes biokémiai eltéréseket okoz, valamint különböző szervek működését károsítja. A laboratóriumi eltérések a következők: kiszélesedett anion réssel járó metabolikus acidózis és laktát felszaporodás, hypoglykaemia, ketosis, szekunder hyperammonaemia és a csontvelő működésének gátlásából adódó pancytopenia. Az érintett szervek közül elsősorban a központi idegrendszer emelendő ki, emellett a máj, vese és hasnyálmirigy károsodása is jellemző lehet.

A klasszikus organikus acidaemiák klinikai megjelenésénél elsősorban az említett biokémiai eltéréseken alapuló akut toxikus encephalopathia kialakulásával kell számolni, melyek

anyagcsere kisiklás esetén jelentkeznek. Tünetei: hányások, táplálhatatlanság, tachypnoe, dyspnoe, izomtónus zavarok, görcsök, letargia, kóma.

Az anyagcsere katasztrófa bekövetkezhet újszülöttkorban, a táplálás megkezdését követően (akut újszülöttkori forma) vagy bármely életkorban, katabolikus állapotok (láz, interkurrens fertőzés, éhezés) kapcsán (krónikus intermittáló forma). Krónikus progrediáló formában táplálási nehézség, krónikus hányás, pszichomotoros retardáció, visszatérő infekciók, krónikus pancreatitis fordulhatnak elő.

Anyagcsere krízisben az akut kezelés célja a katabolikus állapot minél gyorsabb megállítása és a biokémiai egyensúly helyreállítása. Ez a fehérje bevitel korlátozásával, hiperkalorizálással, alkalizálással, a hyperammonaemia agresszív kezelésével és a szerves savakat megkötő karnitin nagy dózisban történő adásával lehetséges. A krónikus kezelés alapelve a fehérjeszegény diéta, amely csökkentett természetes (teljes értékű) fehérjebevitelt jelent, a prekursor aminosavat vagy aminosavakat nem tartalmazó speciális tápszer kiegészítéssel. Az elégtelen természetes fehérjebevitel hiánytünetek kialakulásához (acrodermatitis, anaemia, hajhullás, dystrophia) vezethet. A fehérjeszegény diétát emelt szénhidrát bevitel, karnitin pótlás, az arra reagáló esetekben kofaktor adása egészíti ki.

A klasszikus organikus acidaemiák legjelentősebb betegségei a propionsav, metilmalonsav és izovaleriánsav acidaemia (26, 27).

2.3.2. Cerebrális organikus acidaemiák/aciduriák

A betegségcsoportra a progresszív központi idegrendszeri tünetek jellemzők, melyek általában kisedekorban jelentkeznek. Leggyakrabban extrapyramidalis tünetek, progresszív ataxia, myoclonus görcsök, pszichomotoros retardáció fordulnak elő, gyakori a macrocephalia. Jellegzetes neuroradiológiai eltérésekkel járnak: progresszív demyelinatio, körülírt agyi atrophia, basalis ganglionok léziója. A progresszió általában lassú. Jóval ritkábban fordulnak elő, mint a klasszikus csoport kórképei. A csoportba tartozik többek között az 1-es típusú glutársav acidaemia (GA-1), az L-2-hidroxi-glutársav aciduria, a *Canavan*-betegség vagy etilmalonsav aciduria. Közülük csak a GA-1 szűrhető, a többieket klinikai gyanú esetén vizelet GC-MS vizsgálattal lehet diagnosztizálni, a jellegzetes szerves sav ürülés alapján. A GA-1 diétával és karnitin adásával kezelhető, egyéb kórképekben jelenleg csak tüneti kezelésre van lehetőség (28).

2.4. Zsírsvioxidációs és karnitin anyagcsere zavarok

A zsírsavak mitochondrialis β -oxidációja a szervezet fontos energiatermelő folyamata, különösen éhezéskor. A vázizom és szívizom a zsírsavakat tökéletesen elégeti, míg az agy a

zsírsavak oxidációja során keletkező ketontesteket használja energiaforrássul hypoglykaemia esetén.

A β -oxidáció négy egymást követő lépését a különböző hosszúságú (rövidláncú <C8, középláncú C8-C12 és hosszúláncú C14-C18) zsírsavakra specifikus enzimek végzik. Az első lépésben a különböző szénlánc hosszúságnak megfelelő dehidrogenázok (SCAD, MCAD és VLCAD) vesznek részt. A fentiek mellett a hosszúláncú hidroxiacil-CoA dehidrogenáz (LCHAD) defektus kerül még szűrésre. A zsírsavoxidáció különböző enzimdefektusai hasonló tünetekkel járnak: leginkább éhezés kapcsán jelentkezhet akut életveszélyes állapot májelégtelenséggel, akár újszülöttkorban (újszülöttek fiziológias éhezése) vagy bármikor később (interkurrens betegségek, fogyókúra). Akut rhabdomyolysis, krónikus izomgyengeség és cardiomyopathia is előfordulhat, de bizonyos típusokban az érintettek akár tünetmentesek is lehetnek. Legjellemzőbb laboratóriumi eltérés a hypoketotikus hypoglykaemia.

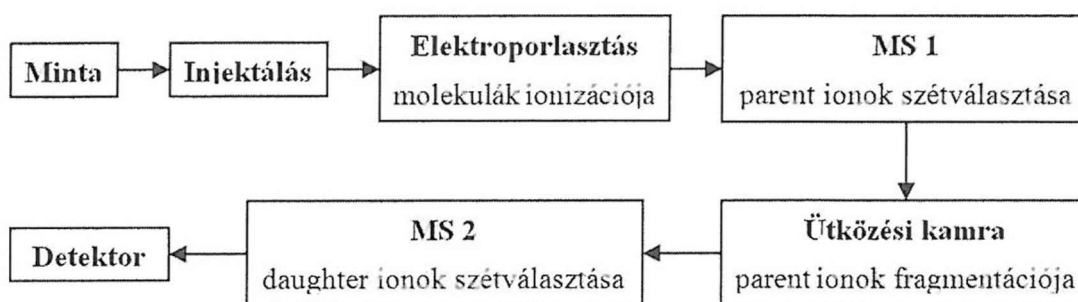
Az enzimdefektusnak megfelelő acilkarnitin emelkedések a vérben MS/MS vizsgálattal kimutathatók. A vizeletben az enzimhibára jellemző szerves savak ürülnek (GC-MS). Leggyakoribb a középláncú acil-CoA dehidrogenáz (MCAD) defektus, incidenciája 1:13 000. Kezelésük az éhezéssel kapcsolatos állapotok kerüléséből, akut krízis esetén magas cukortartalmú infúzió adásából áll. Hosszúláncú zsírsavoxidációs zavarok esetén zsírszegény, magas MCT (medium chain triglyceride) és szénhidrát tartalmú diéta tartása szükséges.

A hosszúláncú zsírsavak mitochondriumba való felvétele karnitin segítségével, enzimatis reakciókon keresztül történik. A karnitin ciklus zavarai a zsírsavoxidációs zavarokhoz hasonlóan elsősorban izomgyengeséggel és cardiomyopathiával járnak. Szűrésük a specifikus acilkarnitin eltérések kimutatásával történik (29).

2.5. A tandem tömegspektrometria (MS/MS)

A tömegspektrométer (MS) analitikai műszer, amely a különböző vegyületek szétválasztását és azonosítását tömegük alapján végzi. Mivel eltérő szerkezetű molekulák is rendelkezhetnek azonos tömeggel, ez a detektálási mód komplex minta pl. vér esetén nem elég specifikus. A módszer specifitását fokozni lehet több tömegspektrométer összekapcsolásával, ezt nevezzük tandem tömegspektrometriának (MS/MS) (30). Az MS/MS készülék működési elve röviden a következő: a megfelelően előkészített mintát a készülékbe injektáljuk, ami ezután az ionforrásba jut. Az elektroporlasztás (electrospray ionization) során az oldószerben feloldott minta erős elektromos téren keresztül haladva parányi töltéssel rendelkező cseppekké alakul. A porlasztógáz hatására az oldószer elpárolog és a csepp zsugorodik. A folyamat végén a minta ionizált molekulái (egységnyi töltéssel rendelkező molekulák) jönnek létre. A „molekulaionokat” az első tömegspektrométerben (MS1) változó elektromágneses

mezőben megfuttatjuk. A prekursor vagy ún. parent ionok a tömeg/töltés (m/z) arányuktól függően egymástól szétválnak és a tömegük is meghatározható. Ezt követően az ionok az ütközési kamrába kerülnek, ahol semleges gázatomokkal (argon) ütközve fragmentálódnak, töredékek vagy ún. daughter ionok jönnek létre. A töredékek tömege az eredeti molekulaszervezettől függ, a fragmentáció tehát lehetővé teszi az azonos tömegű, de különböző szerkezetű molekulák megkülönböztetését. A második MS-ben (MS2) a daughter ionok szétválasztása történik az előzőhöz hasonló módon. A detektor megméri az adott m/z -értékhez tartozó részecskék mennyiségét és ebből kiszámítható az eredeti mintában lévő molekulák koncentrációja. A fenti módszerrel a vérmintában az aminosavak és acilkarnitinek koncentrációja pontosan meghatározható. A kóros aminosav vagy acilkarnitin mintázat utal egy-egy anyagcsere betegségre (31).



2. ábra: A tandem tömegspektrometria vázlatja (magyarázat a szövegben)

IRODALOM

1. Schuler Á, Somogyi Cs, Kiss E, és mtsai.: Veszélyes anyagcsere-betegségek nyugat-magyarországi újszülöttkori szűrése és gondozása 1988-2006 között a Budai Gyermekkorházban. *Gyermekgyógyászat* 2007. 58(2). 103-107.
2. Sharad M, Pollitt R: Metabolic screening in children: newborn screening for metabolic diseases past, present and future. *Pediatrics and Child Health* 2007. 17(7). 273-278.
3. Wilson JMG, Junger G: Principles and Practice of Screening for Disease. Public health papers 1968. no. 34. Geneva: WHO,
4. Schweitzer S, Shin Y, Jacobs C. et al.: Long-term outcome in 134 patients with galactosaemia. *Eur J Pediatr* 1993. 152. 36-43.
4. Newborn Screening in New York State. A Guide for Health Professionals, 2003. <http://www.wadsworth.org/newborn/phyguidelines.pdf>
5. Walter JH: Arguments for early screening: a clinician's perspective. *Eur J Pediatr* 162.S2-S4
6. Berry GT, Segal S, Gitzelmann R: Disorders of galactose metabolism. In: Fernandes J, Saudubray JM, van den Berghe et al. (eds.) *Inborn Metabolic Diseases* 4th ed., Springer MedizinVerlag, Heidelberg, 2006. 121-130.

7. *Ridel K, Leslie N, Golbert D*: An updated review of the long-term neurological effect on galactosaemia. *Pediatr Neurol* 2005. 33. 153-161.
8. *Waggoner D, Buist N, Donnell G*: Long-term prognosis in galactosaemia: Results os a survey of 350 cases. *J Inherit Metab Dis* 1990. 13. 802-818.
9. *Weidemann G*: Screening test for galactosemia. *Z Klin Chem Klin Biochem* 9(6). 527. 1971. 1990 German.
10. *Beutler E, Mitchell M*: New rapid for the estimation of red cell galactose-1-phosphate uridyl transferase activity. *J Lab Clin Med* 1968. 72. 527-532.
11. Az Egészségügyi Minisztérium szakmai protokollja A pajzsmirigyműködés zavarairól (Csecsemő- és Gyermekgyógyászati Szakmai Kollégium)
12. *Ilyés I.*: A perinatalis thyreoidologia gyakorlati kérdései. *LAM* 2000.10(2). 106-112.
13. *Jones JH, Gellén B, Paterson et al.*: Effect of high versus low initial doses of L-thyroxine for congenital hypothyroidism on thyroid function and somatic growth. *Arch Dis Child* 2008. 93(11). 940-944.
14. *Torresani TE, Scherz T*: Thyroid screening of neonates without use of radioactivity: evaluation of time-resolved fluoroimmunoassay of thyrotropin. *Clin Chem* 1986. 32. 1013-1016.
15. *Baumgartner MR, Suormala T*: Biotin-responsive disorders. In: *Fernandes J, Saudubray JM, van den Bergheet al.*: (eds.) *Inborn Metabolic Diseases 4th ed.*, Springer MedizinVerlag, Heidelberg, 2006. 331-337.
16. *Milánkovics I, Kámory E., Csókay B.,és mtsai.*: Mutation causing biotinidase deficiency in children ascertained by newborn screening in Western Hungary. *Mol Genet Metab* 2007. 90. 345-348.
17. *Havass Z*: Neonatal screening for biotinidase deficiency in East-Hungary. *J Inherit Metab Dis* 1991. 14(6). 928-931.
18. *László A, Schuler Á, Sallay É, KP, et al*: Neonatal screening for biotinidase deficiency in Hungary: Clinical, biochemical and molecular studies. *J Inherit Metab Dis* 2003. 26(7). 693-698.
19. *Walter JH, Lee PJ, Burgard P*: Hyperphenylalaninaemia. In: *Fernandes J, Saudubray JM, van den Berghe et al.*: (eds.) *Inborn Metabolic Diseases 4th ed.*, Springer MedizinVerlag, Heidelberg, 2006. 221-232.
20. *Krishnamoorthy U, Dickinson M*: Maternal phenylketonuria in pregnancy. *The Obstetrician and Gynaecologist* 2005. 7. 28-33.
21. *Chakrapani A, Holme E*: Disorders of tyrosine metabolism. In: *Fernandes J, Saudubray JM, van den Berghe G, et al.* (eds.) *Inborn Metabolic Diseases 4th ed.*, Springer MedizinVerlag, Heidelberg, 2006. 233-243.
22. *Strauss KA, Puffenberger EG, Morton DH*: Maple syrup urine disease. In: *Pagon RA, Bird TC, Dolan CR, et al.*: (eds). *GeneReviews*, Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1319/>

23. *Picker JD, Levy HL*: Homocystinuria caused by cystathion beta-synthase deficiency. In: *Pagon RA, Bird TC, Dolan CR, et al.*:eds. GeneReviews, Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1524/>
24. *Leonard JV*: Disorders of the urea cycle and related enzymes. In: *Fernandes J, Saudubray JM, van den Berghe G, Walter JH, eds. Inborn Metabolic Diseases 4th ed.*, Springer MedizinVerlag, Heidelberg, 2006. 263-272.
25. *Seashore MR*: The Organic Acidemias: An Overview. In: *Pagon RA, Bird TC, Dolan CR, et al.*:(eds.) GeneReviews, Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1134/>
26. Classical organic acidurias. In: *Zschocke J, Hoffmann GF, Vademecum Metabolicum 2nd ed.*, Milupa GmbH, Friedrichsdorf, Germany, 2004. 65-67.
27. „Cerebral” organic acidurias. In: *Zschocke J, Hoffmann GF, Vademecum Metabolicum 2nd ed.*, Milupa GmbH, Friedrichsdorf, Germany, 2004. 67-69.
28. *Rinaldo P, Matern D, Bennett MJ*: Fatty acid oxidation disorders. *Annu Rev Physiol* 2002. 64. 477-502.
29. *McLafferty FW*: Tandem mass spectrometry. *Science* 1981. 214. 280-287.
30. *Karg E, Wittmann Gy, Túri S*: Anyagcserebetegségek újszülöttkori szűrése tandem tömegspektrometriával. *Gyermeorvos Továbbképzés* 2008. 7(3). 163-166.

* * *

FERENC PAPP, MELINDA RÓZSA, GYULA WITTMANN, ÁKOS BARÁTH, PÉTER MONOSTORI, MARIETTA GÖRÖG,
BALÁZS GELLÉN, ESZTER KARG, SÁNDOR TÚRI

University of Szeged, Department of Paediatrics, Szeged 6725 Szeged, Korányi-fasor 14

tel: 62-545-330

e-mail: turi.sandor@med.u-szeged.hu

Newborn screening for metabolic diseases and their clinical features

Abstract: In Hungary, newborn screening for inherited metabolic diseases (IMDs) began in 1968 at the Paediatric Clinic of Szeged by adoption of the Guthrie microbial assays for phenylketonuria (PKU) and a few years later for galactosaemia. In 1975, after the foundation of a Budapest Screening Centre, newborn screening programme for PKU and galactosaemia became nationwide. During the 1980s, the screening panel was flared with congenital hypothyroidism (1984) and biotinidase deficiency (1989). Tandem mass spectrometry (MS/MS) allows detection of more than 30 metabolic disorders using the neonatal screening blood spot. Expanded newborn screening by MS/MS was introduced in 2007 at the two screening centres of Hungary (Semmelweis University, 1st Department of Paediatrics, Budapest and University of Szeged, Department of Paediatrics, Szeged). By introduction of the MS/MS method, screening of 22 new metabolic diseases, beyond the earlier 4 (all together 26) became obligatory. PKU screening was changed from the bacterial method to MS/MS. Five groups of IMDs are screened by MS/MS: PKU and other aminoacidopathies (5 disorders), urea cycle defects (2 disorders), organic acidemias/acidurias (8 disorders), fatty acid β -oxidation (5 disorders) and carnitine cycle defects (3 disorders). Screening, as well as treatment and follow-up of patients are done by the metabolic screening centres. Early diagnosis and adequate treatment may prevent the manifestation of symptoms and improve outcome. The authors introduce their screening methods and summarize the clinical presentation of IMDs included in the screening panel.

Key words: metabolic diseases, newborn screening, tandem mass spectrometry, clinical presentation