Metabolizma Hastalıkları Uzmanı Gözüyle «Genişletilmiş Yenidoğan Taramaları»

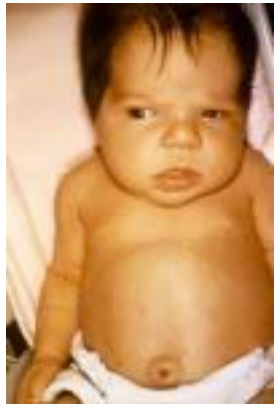
Dr. A. Çiğdem Aktuğlu-Zeybek

İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD
Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı

Yenidoğan Taraması kriterleri

1. Toplumda önemli bir sağlık sorunu
2. Doğal seyrinin biliniyor olması
3. Basit ve güvenilir testlerle taranıyor olması
4. Yenidoğan döneminde bulgusunun az olması, atlanabilir olması
5. Kesin tanı yöntemi ve etkin bir tedavisinin olması
6. Hangi hastaların tedavi edileceğine karar verilmiş olması
7. Test maliyet-yarar oranı yüksek olmalı

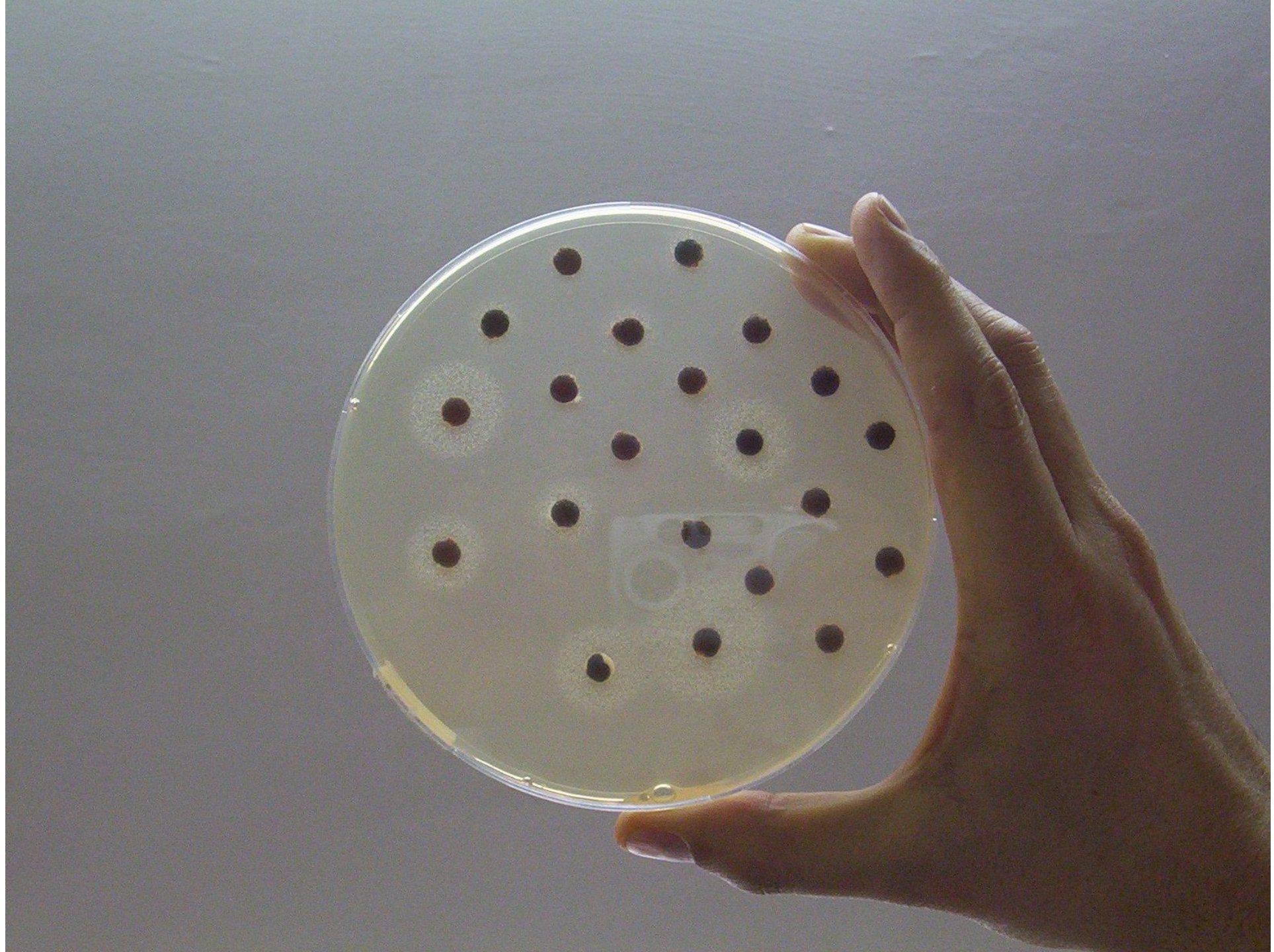
Wilson & Jungner, 1968



Doğumsal Metabolizma Hastalıklarında Taramanın Geçmişi

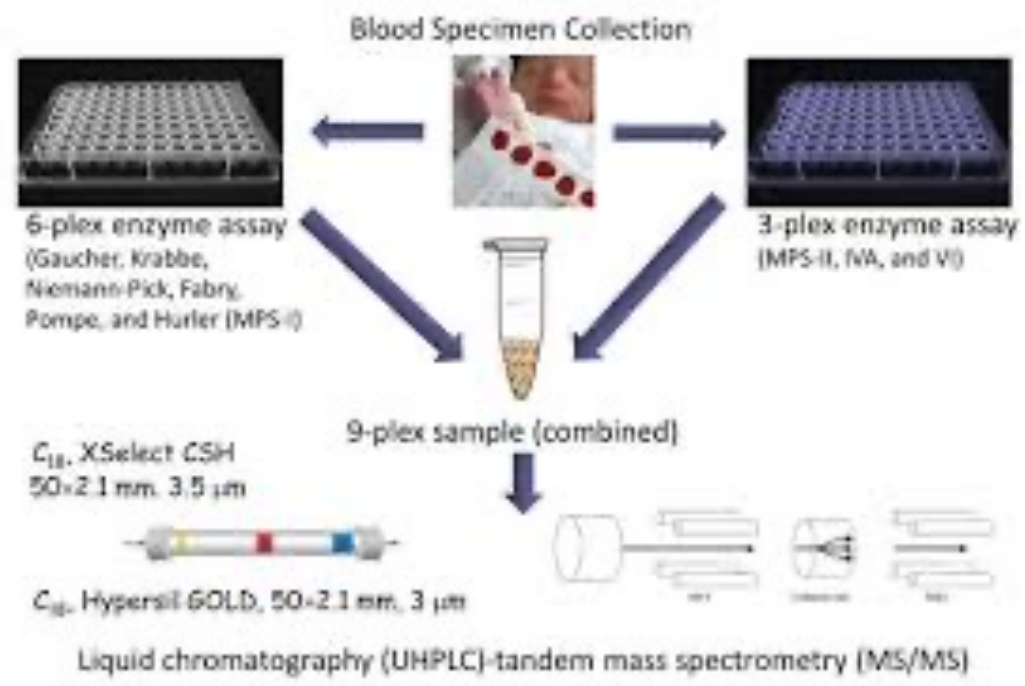
- 1934… FKU'lu hastaların idrarlarında fenilpiruvik ve fenillaktik asit artışının saptanması (Dr. Fooling)
- 1951... Bickel ve akr.-FKU'nun diyet ile tedavisi
- 1957.... Dr.Willard Centerwall idrarda "demir-3-klorür testi"ile YD tarama programları
- 1959.... Kağıt kromataografisi ile kan AA tespiti (yüksek miktarda kan-taramaya uygun değil)

- 1961…. Robert Guthrie’nin FKU tanı ve izleminde “bakteriyel inhibisyon” yöntemini geliştirmesi.
- 1962....FKU için yenidoğanlarda ilk tarama programı-Massachusetts



- 1974…Taramalarda immunoassay yönteminin kullanılması
  - Konjenital hipotiroidi
  - Alfa-1-AT eksikliği
  - Konjenital adrenal hiperplazi
- 1960-1980… Organik asidemiler tanı almaya başladı
- 1984… MCAD tanımlandı. Ardından 15'ten fazla YAO bozukluğu tanımlandı

❖ 1997…. ABD'DE MS/MS ile önce pilot bölge sonra birçok eyalette kütle spektrometresi ile tarama programı



HEDEFTEKİ HASTALIKLAR

1. Amino asit metabolizması hastalıkları
2. Üre döngüsü bozuklukları
3. Yağ asidi oksidasyon bozuklukları
4. Organik asidemiler
5. Endokrinopatiler
6. Kistik fibroz
7. Hemoglobinopatiler
8. İşitme kaybı
9. Konjenital kalp defektleri
10. Ağır kombine immun yetersizlik
11. Diğer hastalıklar

Dünya hangi hastalıkları tarıyor?

- Fenilketonüri
- Konjenital hipotiroidi
- Galaktozemi
- MS/MS ile AApati, OA, YAO boz.
- Konjenital adrenal hiperplazi
- Biyotinidaz eksikliği
- Kistik fibroz
- Alfa-1-AT eksikliği
- Lizozomal depo hastalıkları
- G6PDH
- Ağır Kombine immün yetmezilik
- X-ALD
- SMA
- HIV, toksoplasma
- İşitme kaybı, Konjenital kalp hastalığı

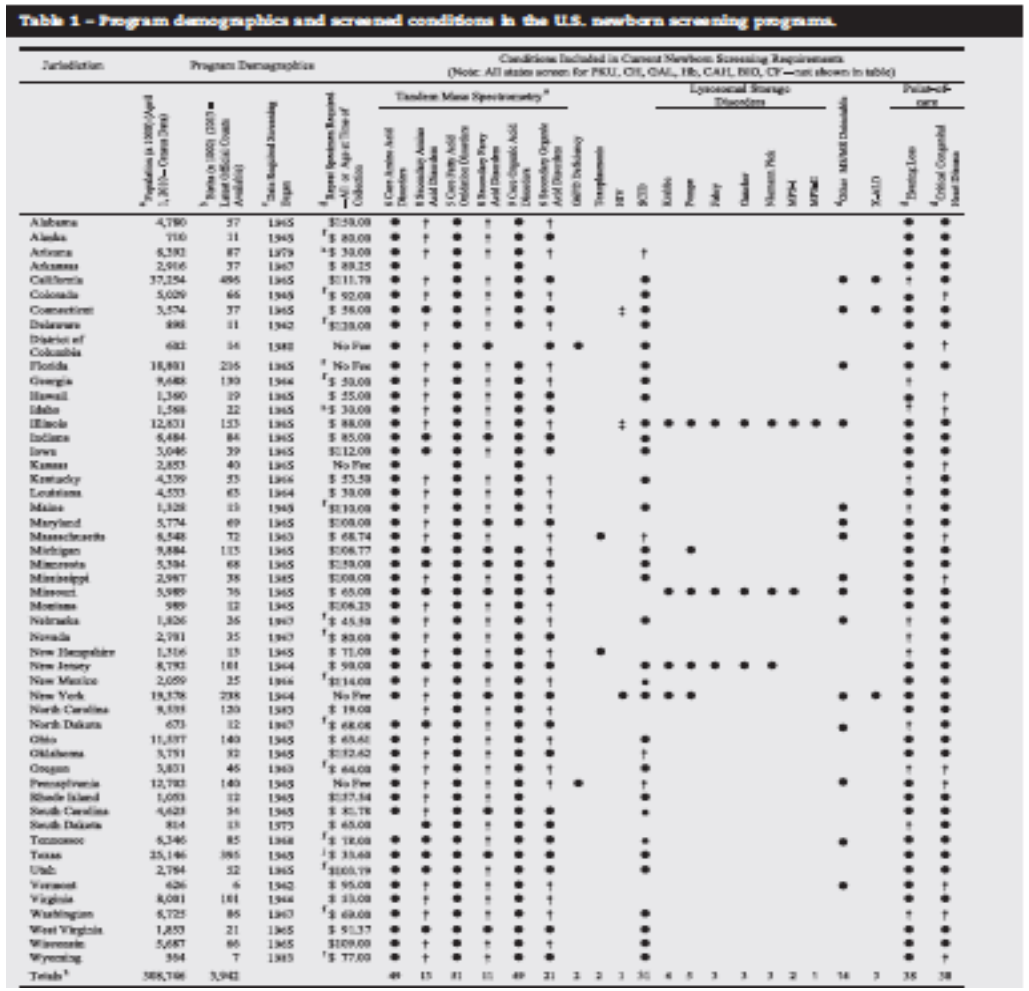


Table 1 – Program demographics and screened conditions in the U.S. newborn screening programs.

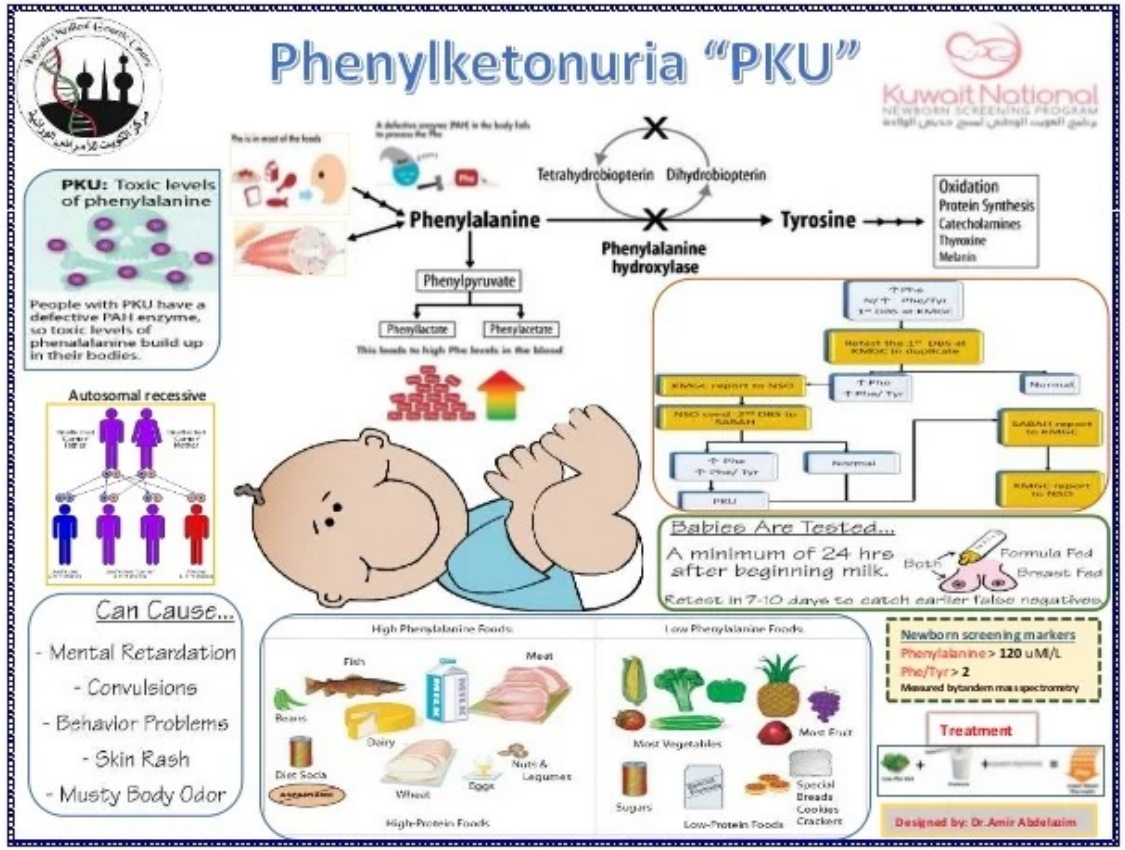
Semin Perinatol. 2015 Apr;39(3):171-87. doi: 10.1053/j.semperi.2015.03.002.

Current status of newborn screening worldwide: 2015.

Therrell BL[1], Padilla CD[2], Loeber JG[3], Kneisser I[4], Saadallah A[5], Borrajo GJ[6], Adams J[7].

Türkiye ???

- Fenilketonüri : 1987'de seçili illerde, 1993'te tüm Türkiye'de
- Hipotiroidi : 25.02.2006
- Biyotinidaz eksikliği : Ekim 2008
- Kistik fibroz : Ocak 2015
- Konjenital adrenal hiperplazi : 2017'de 4 ilde pilot çalışma2022 yılında, tarama programına eklenmiştir
- Spinal muskuler distrofi : 09.05.2022 tarihinde tarama programına dahil edilmiştir.
- İşitme taraması, kalça çıkığı



Fenilketonüri

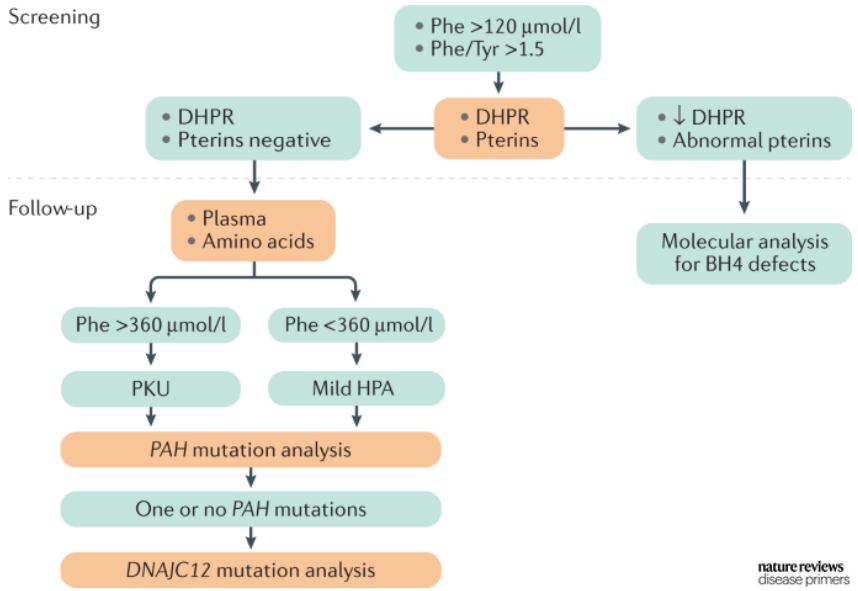
- Fenilalanin hidroksilaz aktivitesi bozuk
- Fenilalanin tirozine dönüşemez. Yan metabolizma yollarına sapar
- Fenil-laktik, –fenilpirüvik asit, -fenilasetik asitler =Nörotoksisite→ Kronik entoksikasyon tablosu

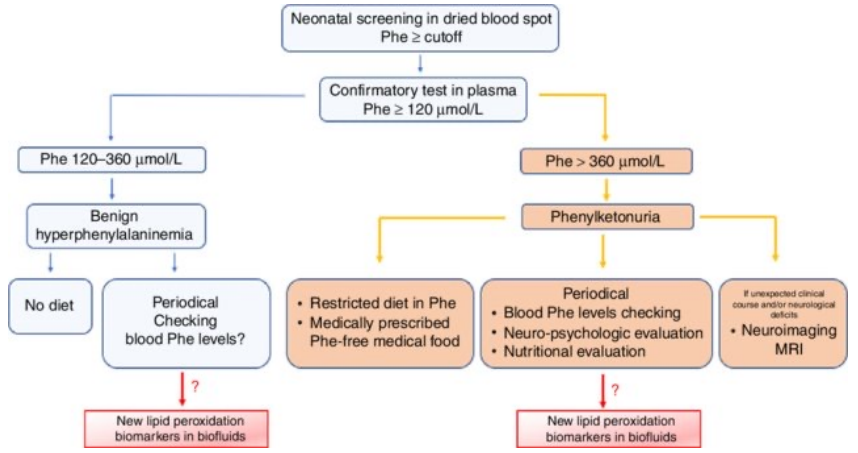
FKU'de Tedavide Gecikme??

- Klasik PKU' da
  IQ' da her hafta 1-3 puan gerileme

- Geç tanılı hastalarda
  IQ normali yakalayamaz.

- Tanı yaşına bağlı olarak ileri yaşlarda IQ normal olsa bile kognitif bozukluklar





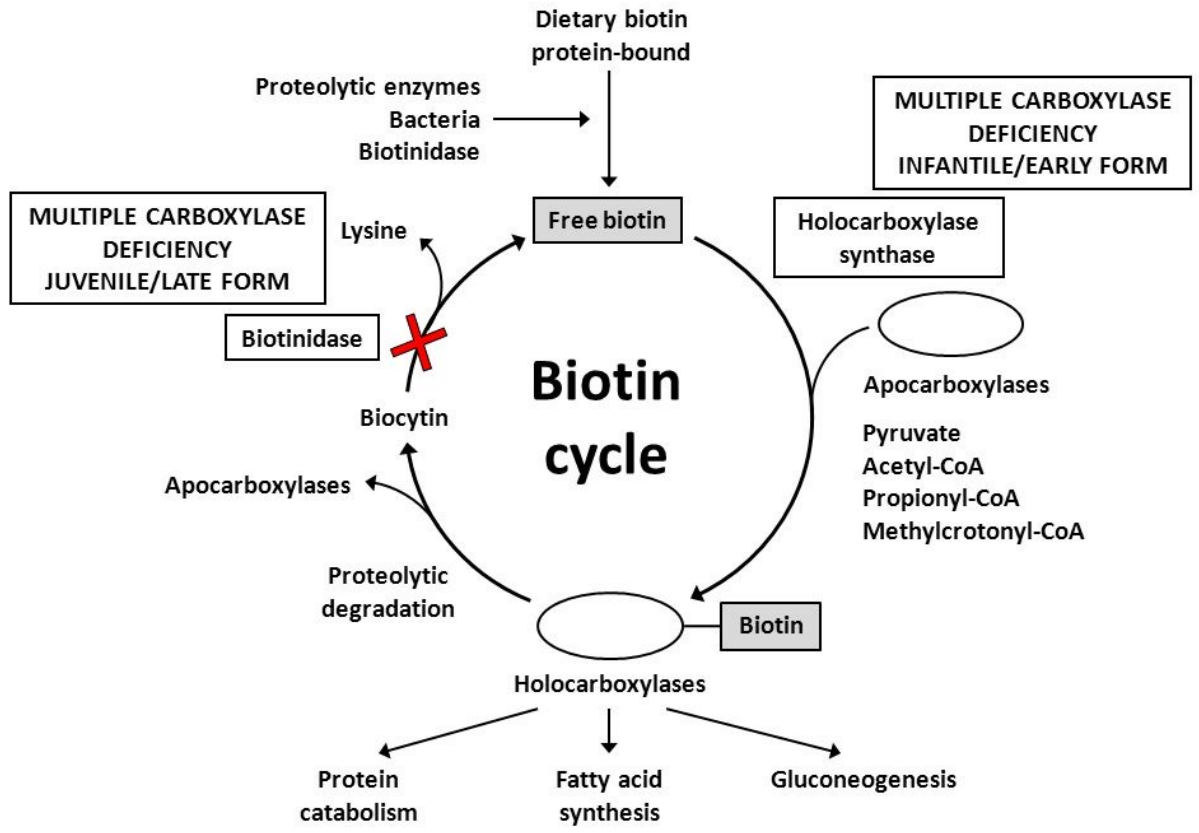
BİYOTİNİDAZ EKSİKLİĞİ

- Biyotin = H vitamini

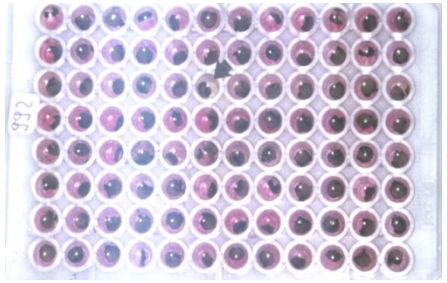
  Karboksilazların kofaktörü (PC, ACC, PCC, MCC)

  Karboksilazların protein kısımlarına bağlanır

  Enzimin fonksiyonu tamamlanınca koparılarak tekrar kullanılır
- Biyotini koparan, döngüye sokan enzim BİYOTİNİDAZ
- Karaciğerde sentezlenir, plazmada serbest dolaşır
- Eksikliği 1983' de tanımlandı



Biyotinidaz Eksikliği Tarama

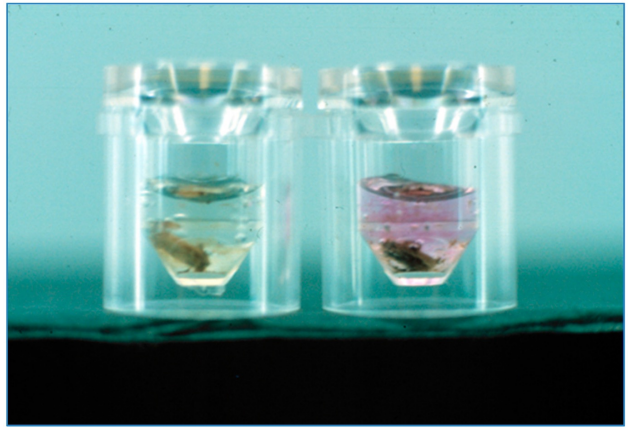


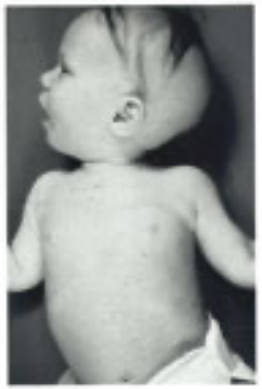
Kuru kan örneklerinde

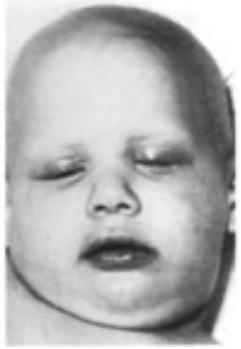
Doğrudan enzim aktivitesi ölçülür

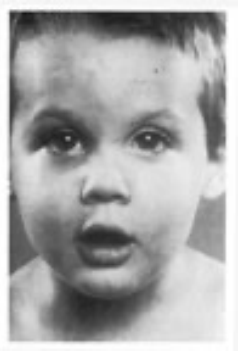
Günde 5-10 mg biyotin desteği bulguları engeller

Hasta sağlıklı olarak yaşamını sürdürür.





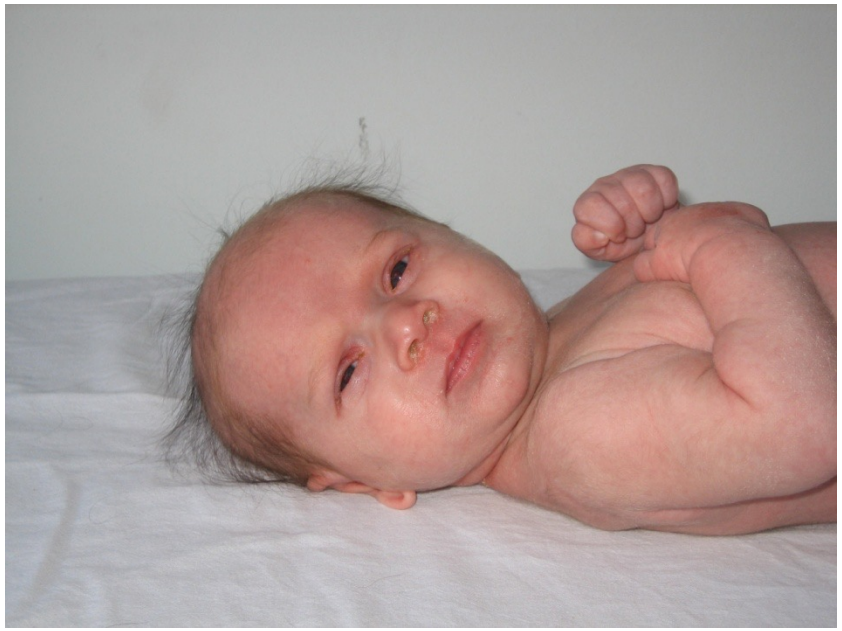


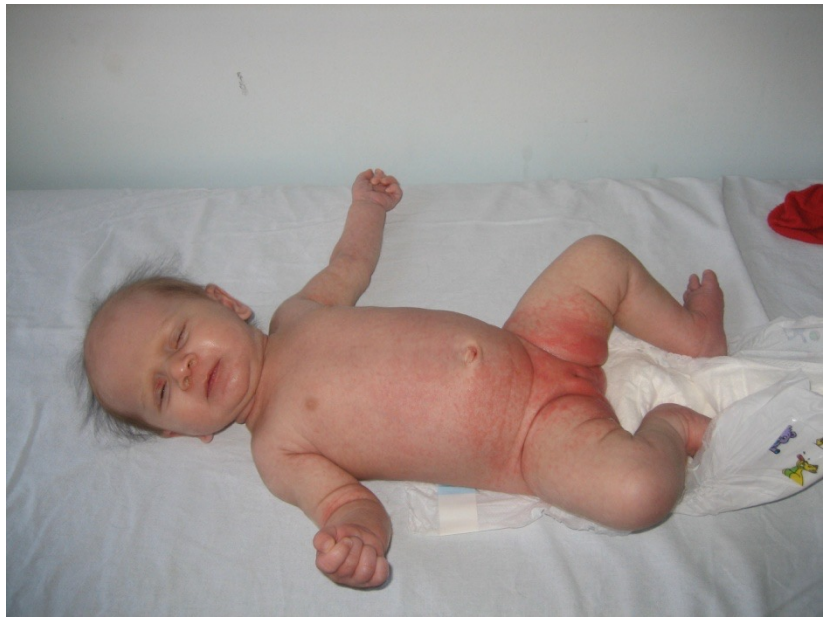


Geç tanılı hastalarda biyotin tedavisine dramatik yanıt gözlenir

Ulusal Yenidoğan Tarama Programında saptanan

35 günlük bebek

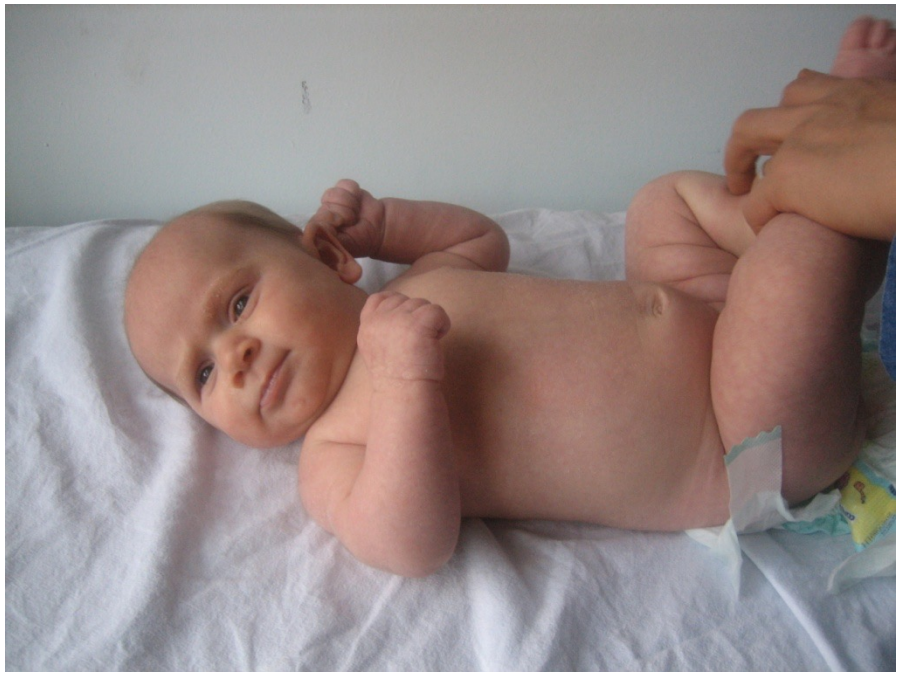


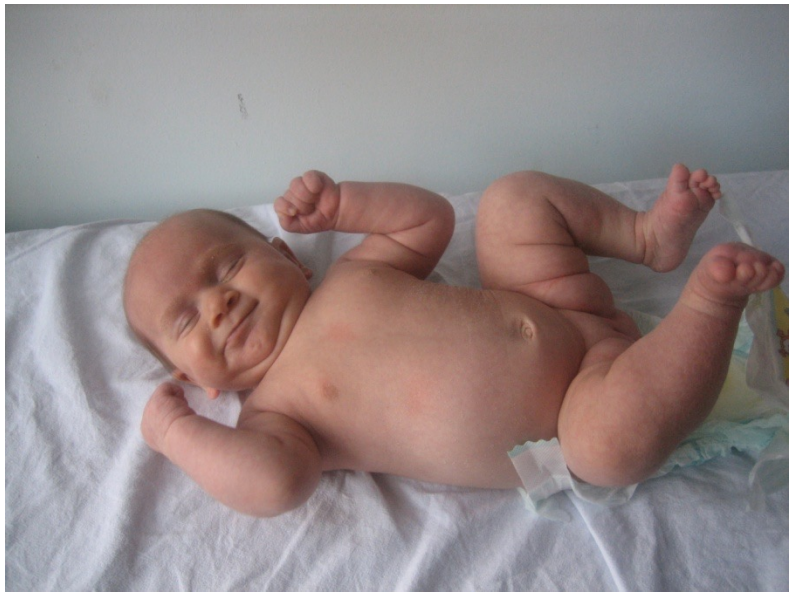


Belirgin biyotinidaz eksikliği

15 gün

15 mg/gün biyotin tedavisi sonrası





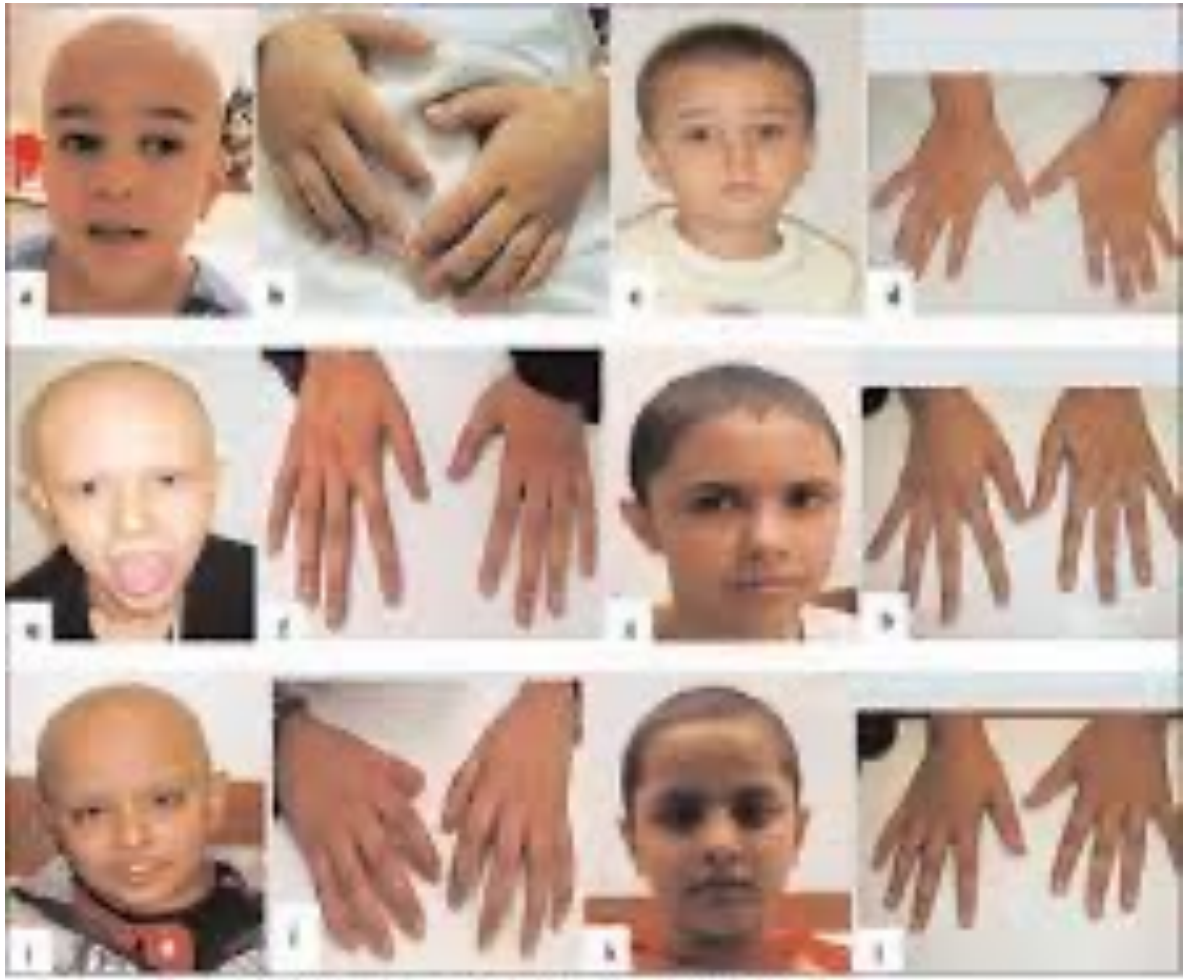
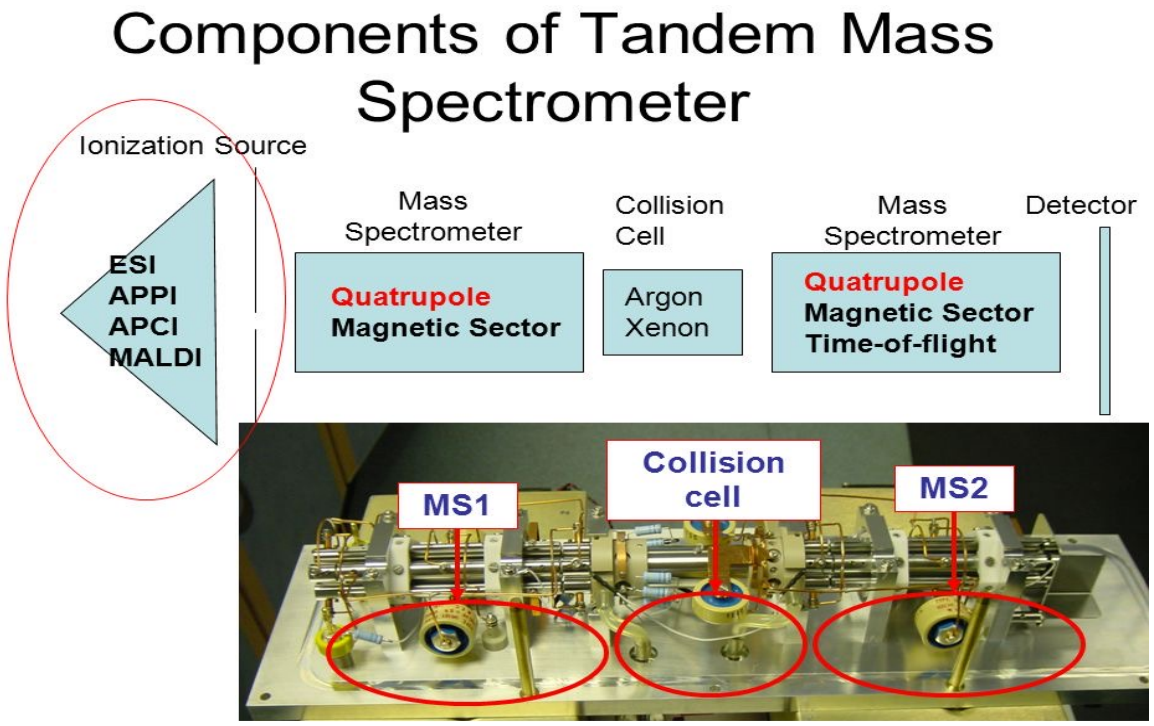


Figure 1: (a-d) Patient 1. (e-h) Patient 3. (i-l) Patient 4.
(a,e,i) Alopecia, periorbital and periorbital rashes before treatment. (b,f,j) Periungual rashes before treatment. (c,g,k) Resolved periorbital, periorbital rashes and growth of scalp hair after treatment. (d,h,l) Resolved periungual rashes after treatment.

BİYOTİNİDAZ EKSİKLİĞİ

Peki «ardışık kütle spektrometresi» ile yapılan genişletilmiş yenidoğan taraması (Aminoasit-asilkarnitin düzeyleri) ülkemizde uygulanmalı mıdır ????



Article

Expanded newborn screening experience in Istanbul

August 2007 · Journal of Inherited Metabolic Disease 30:3-3

Mübeccel Demirkol · S. Celik · G. Gokgay · Show all 7 authors · R. Kose

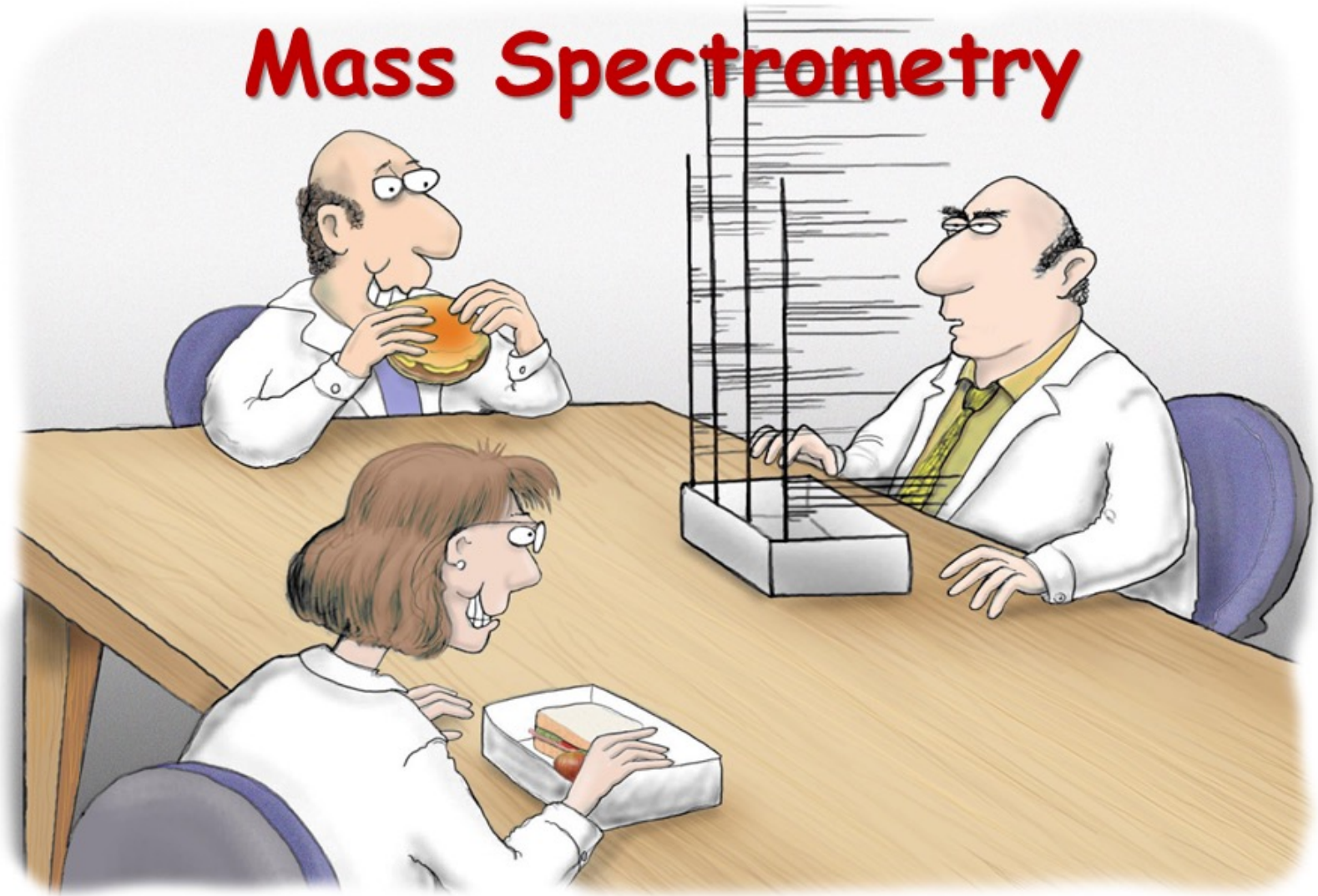
l prevalence in a Turkish pilot study was 1:839 [

Efficacy and outcome of expanded newborn screening for metabolic diseases - Report of 10 years from South-West Germany *

Martin Lindner[1†], Gwendolyn Gramer[1†], Gisela Haege[1], Junmin Fang-Hoffmann[1], Karl O Schwab[2], Uta Tacke[2], Friedrich K Trefz[3], Eugen Mengel[4], Udo Wendel[5], Michael Leichsenring[6], Peter Burgard[1†] and Georg F Hoffmann[1*†]

likely high benefit of extended NBS in Turkey, Middle East and North African countries.

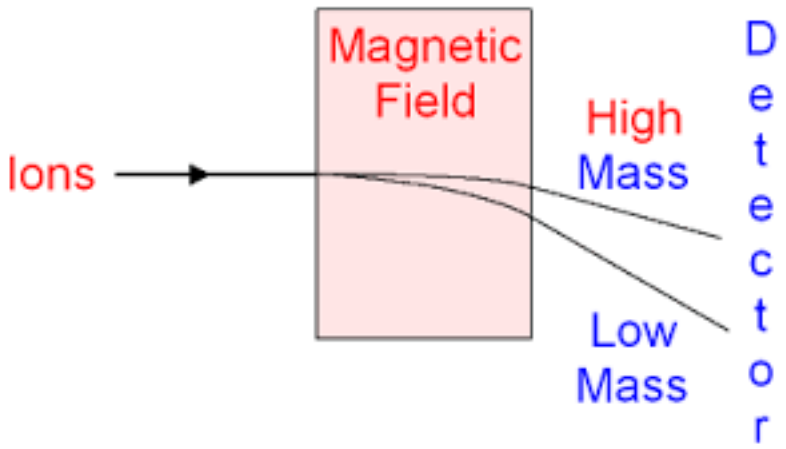
Mass Spectrometry

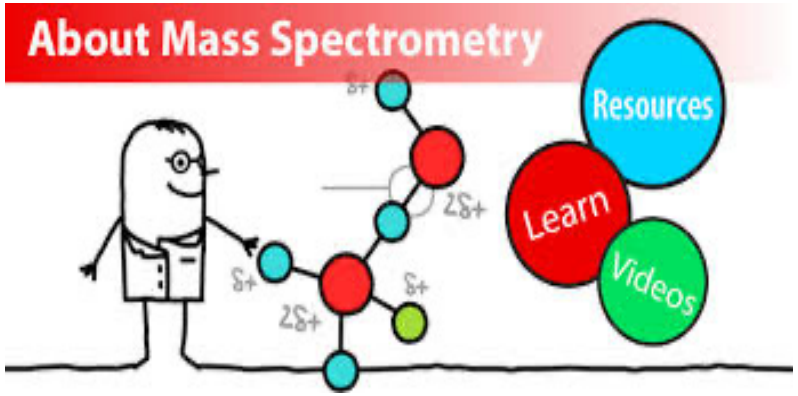


"Okay—who put my lunch through the mass spectrometer..?"

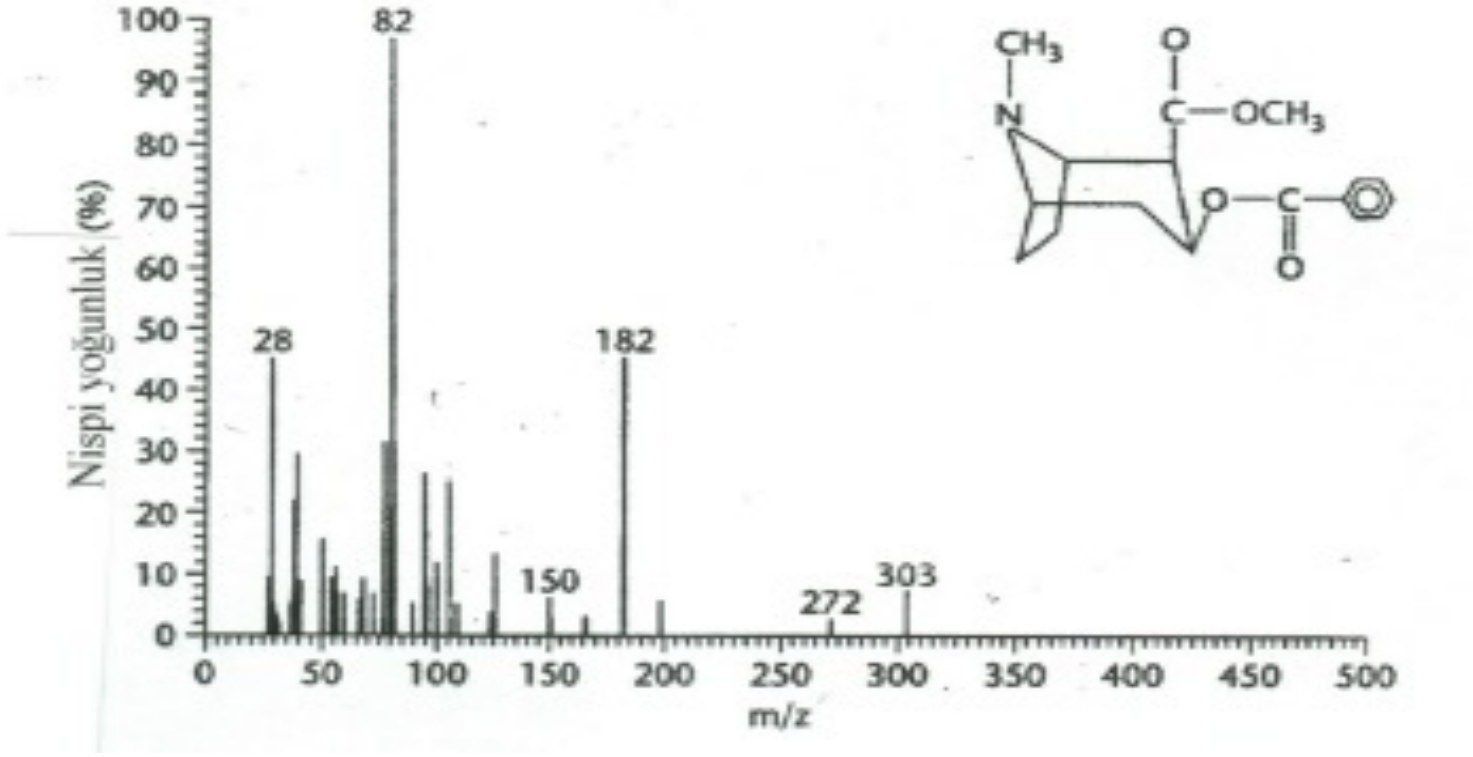
Courtesy www.lab-initio.com

- Kütle spektrometreleri:
  - Manyetik veya elektriksel bir alanda hareket eden yüklü partikülleri **kütle/yük** (**m/z**) oranlarına göre diğer yüklü partiküllerden ayırt ederek analizleme esasına göre çalışırlar





- Oluşan her bir iyon spesifik bir moleküler kütleye ve yüke sahiptir
- Bir bileşik, m/z değerlerinin yoğunluğa (intensite) karşı gösterildiği bir spektrum ile tanımlanır



- Ardışık kütle spektrometrelerinin geliştirilmesi ve yenidoğan tarama programlarında kullanılmaya başlanması ile bir test=bir hastalık modeli **bir test=çok sayıda hastalık** yaklaşımına dönmüştür.

200 örnek 10 saatte,
400 örnek 1 günde :
1 damla kan örneğinde > 30 hastalık taraması
TOPLUM TARAMASI İÇİN UYGUN !!!

JIMD
JOURNAL OF INHERITED METABOLIC DISEASE
SSIEM

Original Article

Long-term outcome of expanded newborn screening at Boston children's hospital: benefits and challenges in defining true disease

Yuval E. Landau, Susan E. Waisbren, Lawrence M. A. Chan, Harvey L. Levy

First published: 04 January 2017 | https://doi.org/10.1007/s10545-016-0004-4 | Cited by: 1

Although the NBS-identified and clinically-identified cohorts were not completely comparable, this long-term study shows likely substantial improvement overall in the outcome of these metabolic disorders in the NBS infants. Infants with mild disorders and benign variants may represent a significant number of infants identified by ENBS. The future challenge will be to unequivocally differentiate the disorders most benefitting from ENBS and adjust programs accordingly.

MassSpectrometryReviews

Review Article

Expanded newborn screening by mass spectrometry: New tests, future perspectives

Daniela Ombrone, Elisa Giocaliere, Giulia Forni, Sabrina Malvagia, Giancarlo la Marca

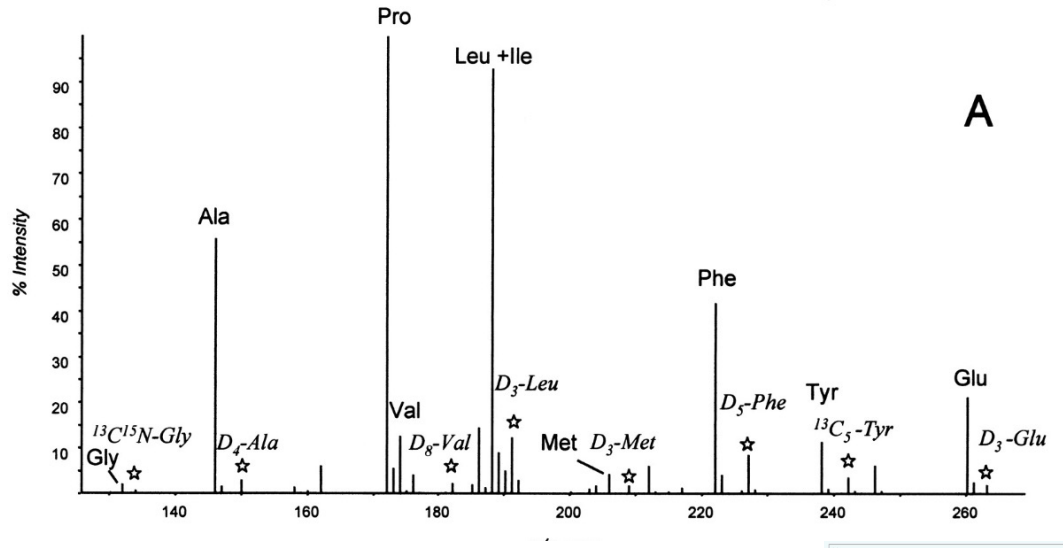
early detection of new disorders such as some lysosomal storage disorders, ADA and PNP SCIDs, X-adrenoleucodistrophy (X-ALD), Wilson disease, guanidinoacetate methyltransferase deficiency (GAMT), and Duchenne muscular dystrophy. The new

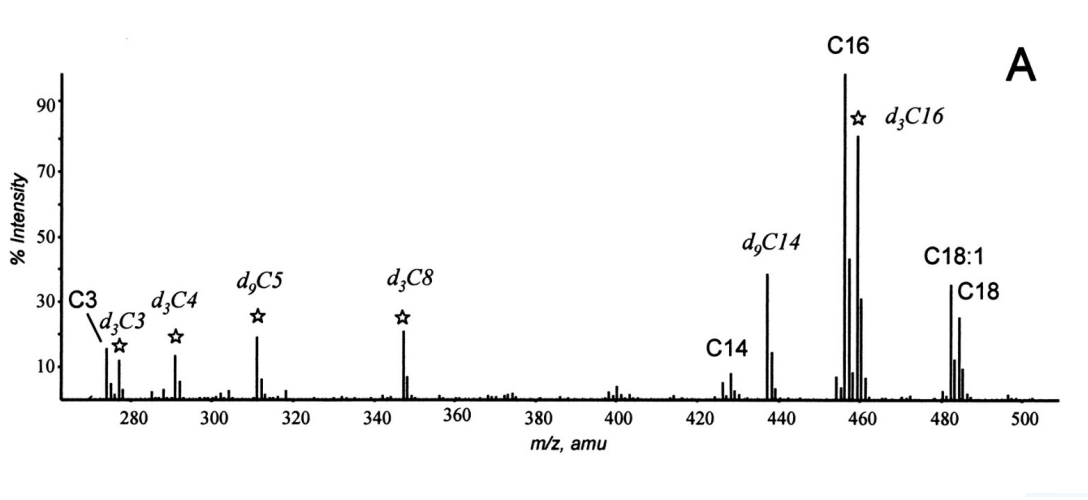
Ardışık Kütle Spektrometresi ile Aminoasit-Asilkarnitin Profili

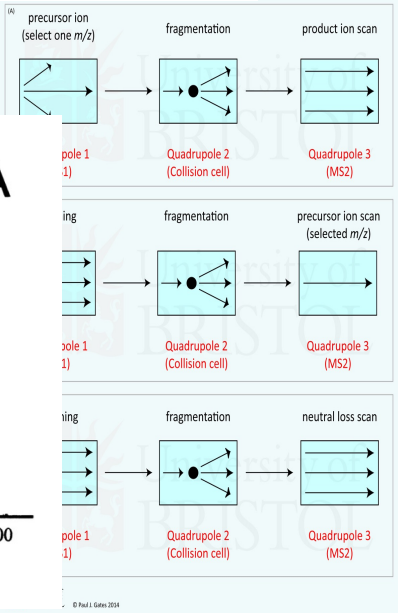
- Aminoasitler
  - AA-butiril esterleri

- Yağ asidi oksidasyon bozukluk-

ları ve organik asidemiler
  - Asilkarnitin butiril esterleri



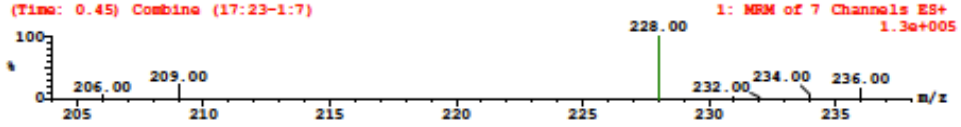




Sample Report:

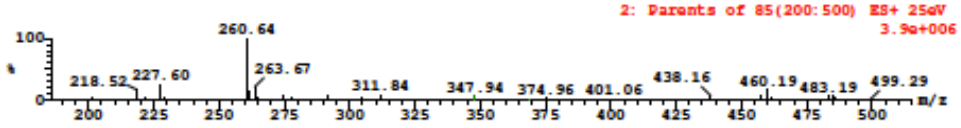
1: MRM of 7 Channels ES+

(Time: 0.45) Combine (17:23-1:7)



Test Name	Calculated Conc	Units	Low Conc	High Conc
MRM227	1.27e+005	Counts	1.00e+004	1.00e+007

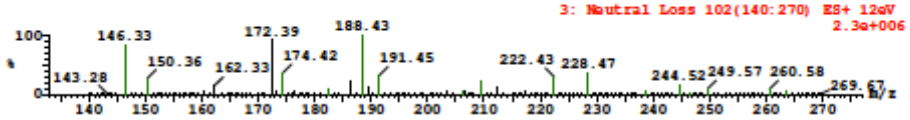
2: Parents of 85(200:500) ES+ 25eV



Test Name	Calculated Conc	Units	Low Conc	High Conc
C18:2-OH	0.0100	µM/L	0.000	0.250
C18:1-OH	0.0200	µM/L	0.000	0.250
C18	0.580	µM/L	0.000	2.50
C18:1	0.600	µM/L	0.000	3.50
C18:2	0.0900	µM/L	0.000	1.00
C16-OH	0.0100	µM/L	0.000	0.200
C16	0.520	µM/L	0.000	7.50
C16:1	0.0400	µM/L	0.000	1.00
C14	0.0900	µM/L	0.000	0.800
C14:1	0.170	µM/L	0.000	0.600
C14:2	0.0600	µM/L	0.000	0.200
C5DC	0.0400	µM/L	0.000	0.250
C4DC	0.310	µM/L	0.000	1.40
C10	0.110	µM/L	0.000	0.500
C10:1	0.0400	µM/L	0.000	0.400
C10:2	0.0200	µM/L	0.000	0.350
C3DC	0.0300	µM/L	0.000	0.320
C8	0.0400	µM/L	0.000	0.500
C5-OH	0.160	µM/L	0.000	0.900
C8	0.0500	µM/L	0.000	0.500
C4-OH	0.340	µM/L	0.000	0.500
C5	0.130	µM/L	0.000	0.800
C5:1	0.0200	µM/L	0.000	0.250
C4	0.150	µM/L	0.000	1.40
C3	1.41	µM/L	0.000	6.00
C2	23.9	µM/L	4.00	70.0
Free carnitine	14.4	µM/L	8.60	90.0

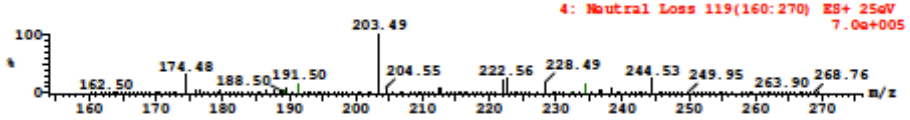
Sample Report (continued):

3: Neutral Loss 102(140:270) ES+ 12eV



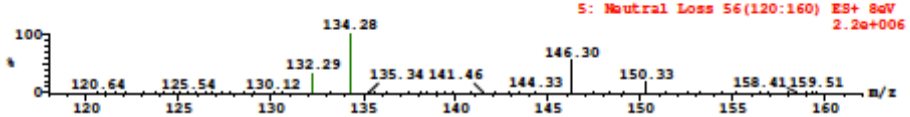
Test Name	Calculated Conc	Units	Low Conc	High Conc
Glutamat	101.	µM/L	0.000	650.
Aspartat	16.2	µM/L	0.000	150.
tyrosine	29.3	µM/L	20.0	350.
phenylalanine	54.5	µM/L	15.0	150.
methionine	11.2	µM/L	10.0	90.0
leu-ileu	208.	µM/L	15.0	350.
valine	179.	µM/L	13.0	300.
Alanine	144.	µM/L	0.000	700.
Phe/Thy	1.98	-	0.000	2.50

4: Neutral Loss 119(160:270) ES+ 25eV



Test Name	Calculated Conc	Units	Low Conc	High Conc
citrulline	7.83	µM/L	3.00	60.0
ornithine	25.5	µM/L	0.000	175.

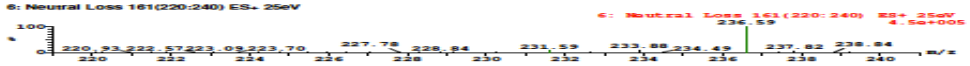
5: Neutral Loss 56(120:160) ES+ 8eV



Test Name	Calculated Conc	Units	Low Conc	High Conc
glycine	90.1	µM/L	80.0	700.

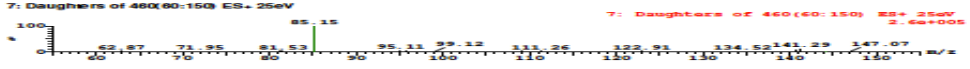
Sample Report (continued):

6: Neutral Loss 161(220:240) ES+ 25eV



Test Name	Calculated Conc	Units	Low Conc	High Conc
arginine	4.80	µM/L	0.000	60.0

7: Daughters of 460(60:150) ES+ 25eV



Test Name	Calculated Conc	Units	Low Conc	High Conc
ASA (argininosuccinic acid)	0.0100	µM/L	0.000	0.0500

Table 4. [M+H]⁺ Ions of Acylcarnitine-Butyl-Esters

Acyl-carnitine	Chain Length	$[M^+H]^+$
Acetyl-	C2	260
Acrylyl-	C3:1	272
Propionyl-	C3	274
Formiminoglutamate (FIGLU)		287
Isobutyryl-/Butyryl-	C4	288
Tiglyl-	C5:1	300
Isovaleryl-/2-methylbutyryl-	C5	302
3-hydroxybutyryl	C4-OH	304
Hexanoyl-	C6	316
3-hydroxyisovaleryl-	C5-OH	318
2-methyl-3-hydroxybutyryl-		
Heptanoyl-	C7	330
3-hydroxyhexanoyl-	C6-OH	332
Octenoyl-	C8:1	342
Octanoyl-	C8	344
Malonyl-	C3-DC	360
Decadienoyl-	C10:2	368
Decenoyl-	C10:1	370
Decanoyl-	C10	372
Methylmalonyl-	C4-DC	374
3-hydroxydecenoyl-	C10:1-OH	386
Glutaryl-/3-hydroxydecanoyl-	C5-DC/ C10-OH	388
Dodecenoyl-	C12:1	398
Dodecanoyl- (lauroyl-)	C12	400
3-hydroxydodecenoyl-	C12:1-OH	414
3-hydroxydodecanoyl-	C12-OH	416
Tetradecadienoyl-	C14:2	424
Tetradecenoyl-	C14:1	426
Tetradecanoyl- (myristoyl-)	C14	428
3-hydroxytetradecenoyl-	C14:1-OH	442
3-hydroxytetradecenoyl-	C14-OH	444
Hexadecenoyl-	C16:1	454
Hexadecanoyl- (palmitoyl-)	C16	456
3-hydroxyhexadecenoyl-	C16:1-OH	470
3-hydroxyhexadecanoyl-	C16-OH	472
Octadecadienoyl-	C18:2	480
Octadecenoyl-	C18:1	482
Octadecanoyl- (stearyl-)	C18	484
3-hydroxyoctadecadienoyl-	C18:2-OH	496
3-hydroxyoctadecenoyl-	C18:1-OH	498
3-hydroxyoctadecanoyl-	C18-OH	502

Table 5. Representative Multiple Reaction Monitoring (MRM) Transitions for Underivitized Acylcarnitines

Acyl-carnitine	Chain Length	MRM Transition
Acetyl-	C2	204/85
Propionyl-	C3	218/85
Isobutyryl-/Butyryl-	C4	232/85
Isovaleryl-/2-methylbutyryl-	C5	246/85
Hexanoyl-	C6	260/85
Octanoyl-	C8	288/85
Decanoyl-	C10	316/85
Dodecanoyl- (lauroyl-)	C12	344/85
Tetradecanoyl- (myristoyl-)	C14	372/85
Hexadecanoyl- (palmitoyl-)	C16	400/85

Table 2. Neutral Losses of Amino Acid Butyl Esters ([M+H]⁺ ions are shown)

Amino Acid	[M+H]⁺ Ions (m/z)	Neutral Losses
L-Alanine	146	102
L-Arginine	231	161
L-Asparagine		
L-Aspartic acid	246	
beta-Alanine		
L-Citrulline	232	119 (102, 17)
L-Lysine	203	
L-Glutamic acid	260	
Glycine	132	
L-Histidine	212	
L-Hydroxyproline		
L-Leucine + L-Isoleucine + L-Hydroxyproline	188	
L-Methionine	206	102
L-Ornithine	189	
L-Phenylalanine	222	102
L-Proline	172	
L-Serine	162	
L-Threonine	176	
L-Tryptophan	261	
L-Tyrosine	238	
L-Valine	174	

Table 3. Neutral Losses of Underivitized Amino Acids ([M+H]⁺ ion masses are shown)

Amino Acid	[M+H]⁺ Precursor Ions (m/z)	Neutral Losses
L-Alanine	90	46 (HCOOH = formic acid)
L-Arginine	175	105 (HCOOH and H2NCNHNH2
L-Asparagine	133	59 H3CCONH2)
L-Aspartic acid	134	60 (H3CCOOH = acetic acid)
beta-Alanine	90	18 (H2O)
L-Citrulline	176	106 (HCOOH and H2NCONH2)
L-Glutamine/ L-Lysine	147	63 (HCOOH and NH3)
L-Glutamic acid	148	46 (HCOOH = formic acid)
Glycine	76	46 (HCOOH = formic acid)
L-Histidine	156	46 (HCOOH = formic acid)
L-Hydroxyproline	132	64 (HCOOH, H2O)
L-Leucine + L-Isoleucine + L-Hydroxyproline	132	46 (HCOOH = formic acid)
L-Methionine	150	94 (HCOOH and HSCH3)
L-Ornithine	133	63 (HCOOH and NH3)
L-Phenylalanine	166	46 (HCOOH = formic acid)
L-Proline	116	46 (HCOOH = formic acid)
L-Serine	106	46 (HCOOH =formic acid)
L-Threonine	120	46 (HCOOH = formic acid)
L-Tryptophan	205	17 (NH3)
L-Tyrosine	182	46 (HCOOH = formic acid)
L-Valine	118	46 (HCOOH = formic acid)

BELİRTEÇLER

UNUTMA !!!

- MS/MS **izobarik bileşikleri** birbirinden ayıramıyor
- MS/MS **yapısal izomerleri** birbirinden ayıramıyor:
  - Ör: C5= izovaleril karnitin= 2-metilbutirilkarnitin

BELİRTEÇLER

- Kromatogramları değerlendirirken sadece birincil-ikincil belirteçleri değil toplu olarak paterni değerlendir !!!!
  - Ör:
    - **MCAD:** C6, C8, C10, C10:1
    - **MSUD:** Leu (+Ile, allo-Ile,OH-Pro) ve Val ve Leu/Ala

BELİRTEÇLER: ORANLAR

- Biyokimyasal öncül/ürün oranlarına dikkat et:
  - **Fenilketonuri** : Phe/Tir
  - **MCAD** : C8/C2, C10:1/C2
  - **VLCAD** : C14:1/C2
  - **CPT II ya da CACT** : C16/C2

- Değişen metabolizmaya bağlı değişen oranlar:
  - **MSUD** : Ile/Ala
  - **CPT I** : FC/C16; FC/18

YAŞ VE REFERANS ARALIKLARI

- Yenidoğan : 0-7 gün
- Yenidoğan-SÇ : 8-60 gün
- Süt çocuğu : 61-365 gün
- Çocuk : > 365 gün
- Prematür : 0-60 gün, < 2000 gr
- Prematür-TPN : 0-60 gün, < 2000 gr (TPN +)

NEDİR BU METABOLİTLER ????

NE ANLAMI VAR ???

NE YAPMALIYIM ???

GERÇEKTEN ANLAMLI MI ????

Serbest Karnitin (C0)

(Referans aralığı (CDC): 8.8-90 mMol/L)

m/z 218.4
IS:m/z 227.4

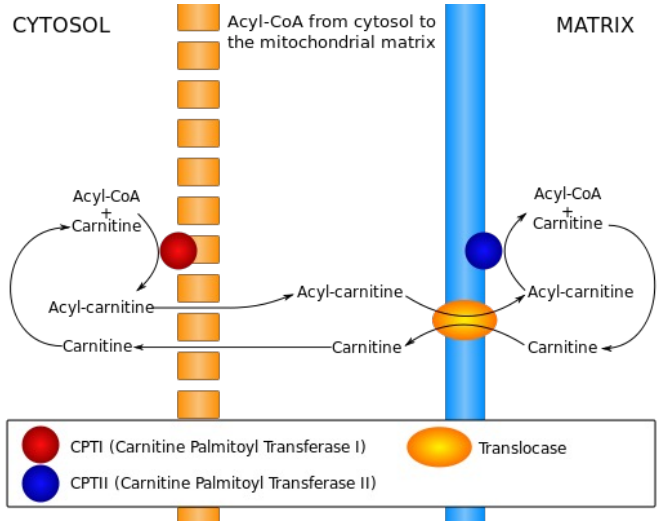
- **ARTIŞ:**
  - ***CPT tip 1*:**
    - C0 > 90
    - C16 <1.7
    - C18 < 0.16

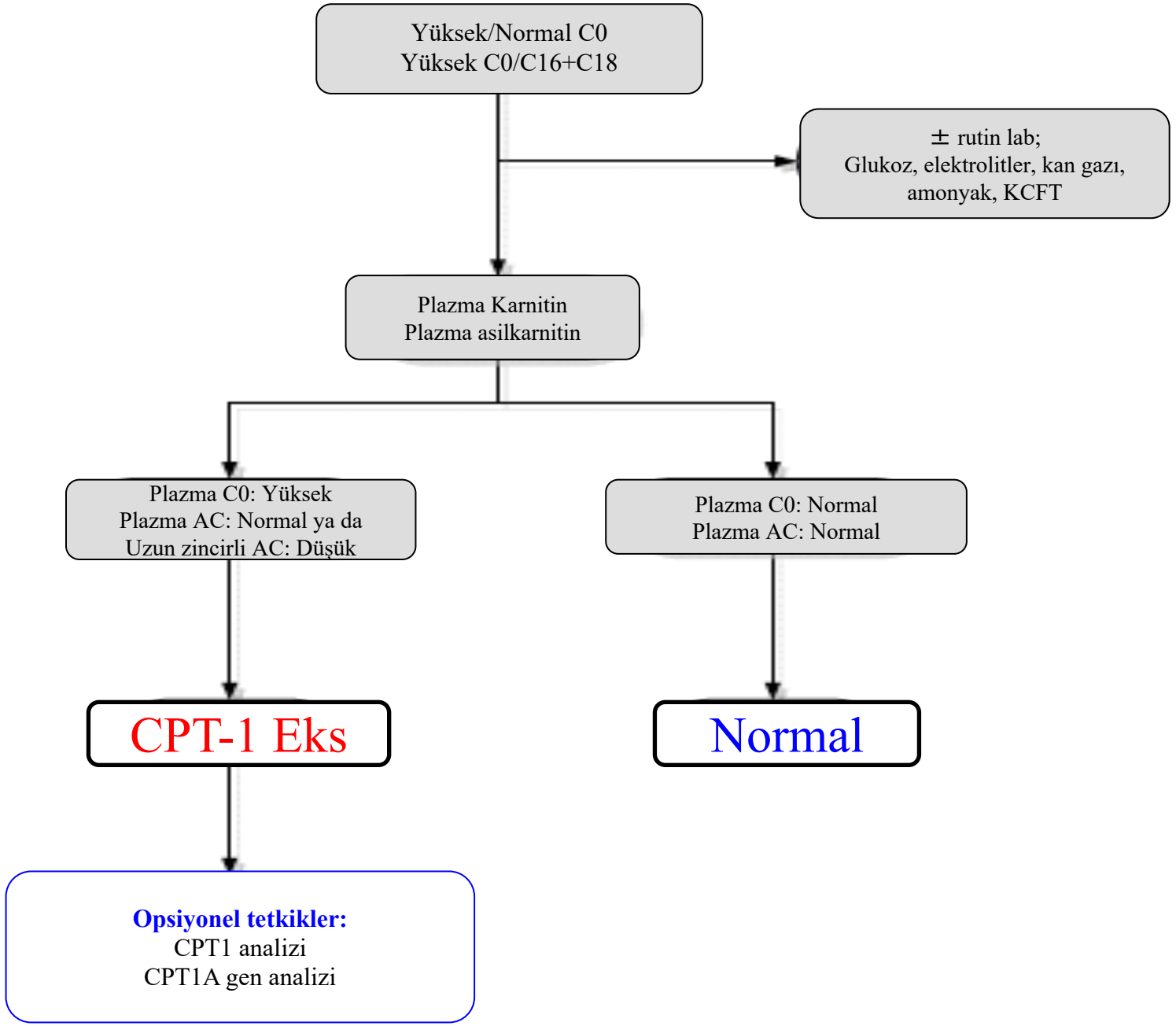
C0/C16+18 > 70

⇩

SPESİFİK BULGU

  - **Karnitin kullanımı**
  - **Ağır kas hasarı**




Yüksek/Normal C0
Yüksek C0/C16+C18
± rutin lab;
Glukoz, elektrolitler, kan gazı,
amonyak, KCFT
Plazma Karnitin
Plazma asilkarnitin
Plazma C0: Yüksek
Plazma AC: Normal ya da
Uzun zincirli AC: Düşük
Plazma C0: Normal
Plazma AC: Normal
CPT-1 Eks
Normal
Opsiyonel tetkikler:
CPT1 analizi
CPT1A gen analizi

Serbest Karnitin (C0)

AZALMA

CO < 10
AC < 5

– **Primer karnitin eksikliği**

(Carnitine uptake defect=carnitine transporter defect)

– **İkincil karnitin eksikliği**

- Organik asidemiler
- Annede organik asidemi

– **CPT II/CACT eksikliği** (Ana metabolit değil)

– İlaçlar : Valproat, benzoat)

– Diyaliz/kısa bağırsak sendromu

C0 < 10

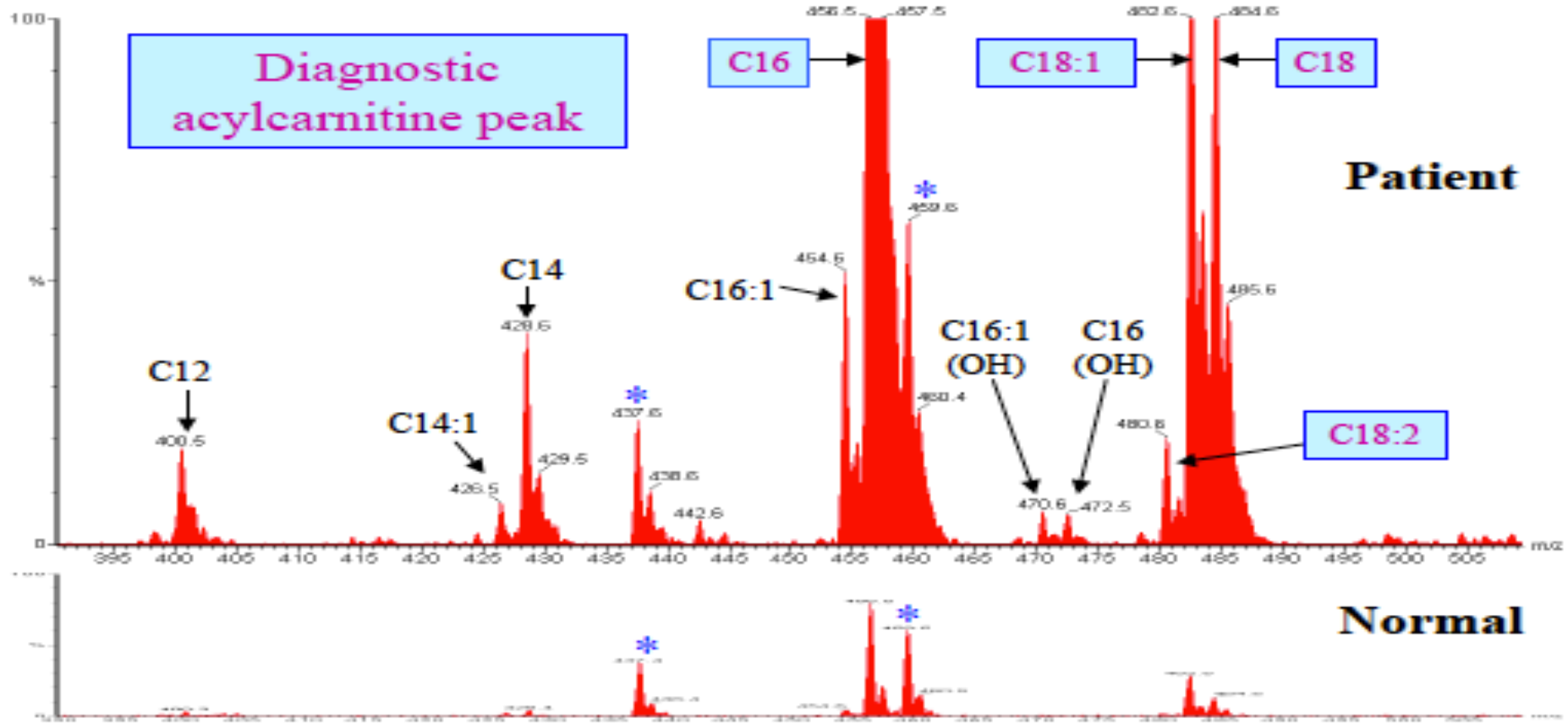
C16 > 10.6

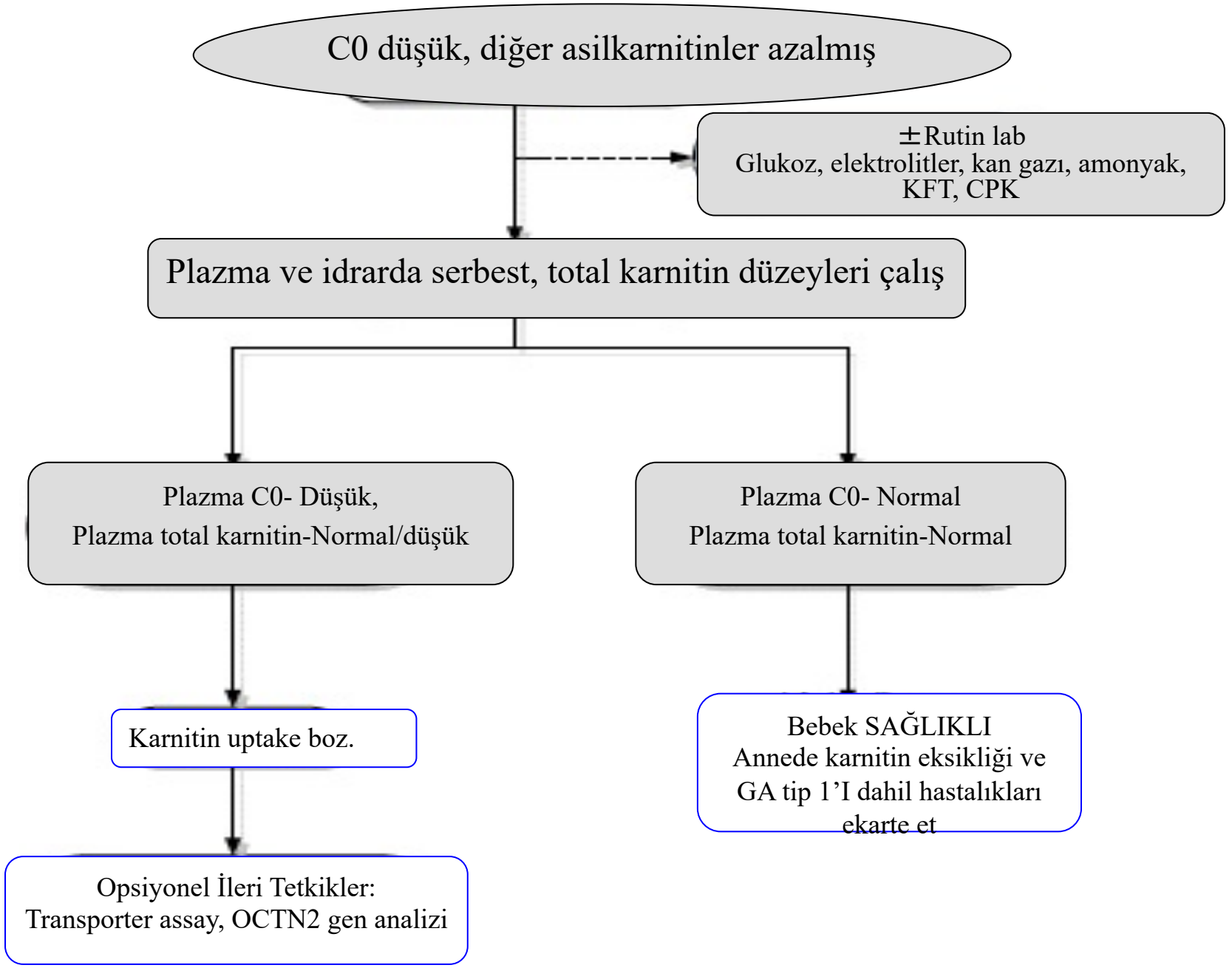
C18 , C18:1-C18:2 ↑

C0/C16+C18 **<3**

C16+C18:1/C2 (n< 0.15) ↑

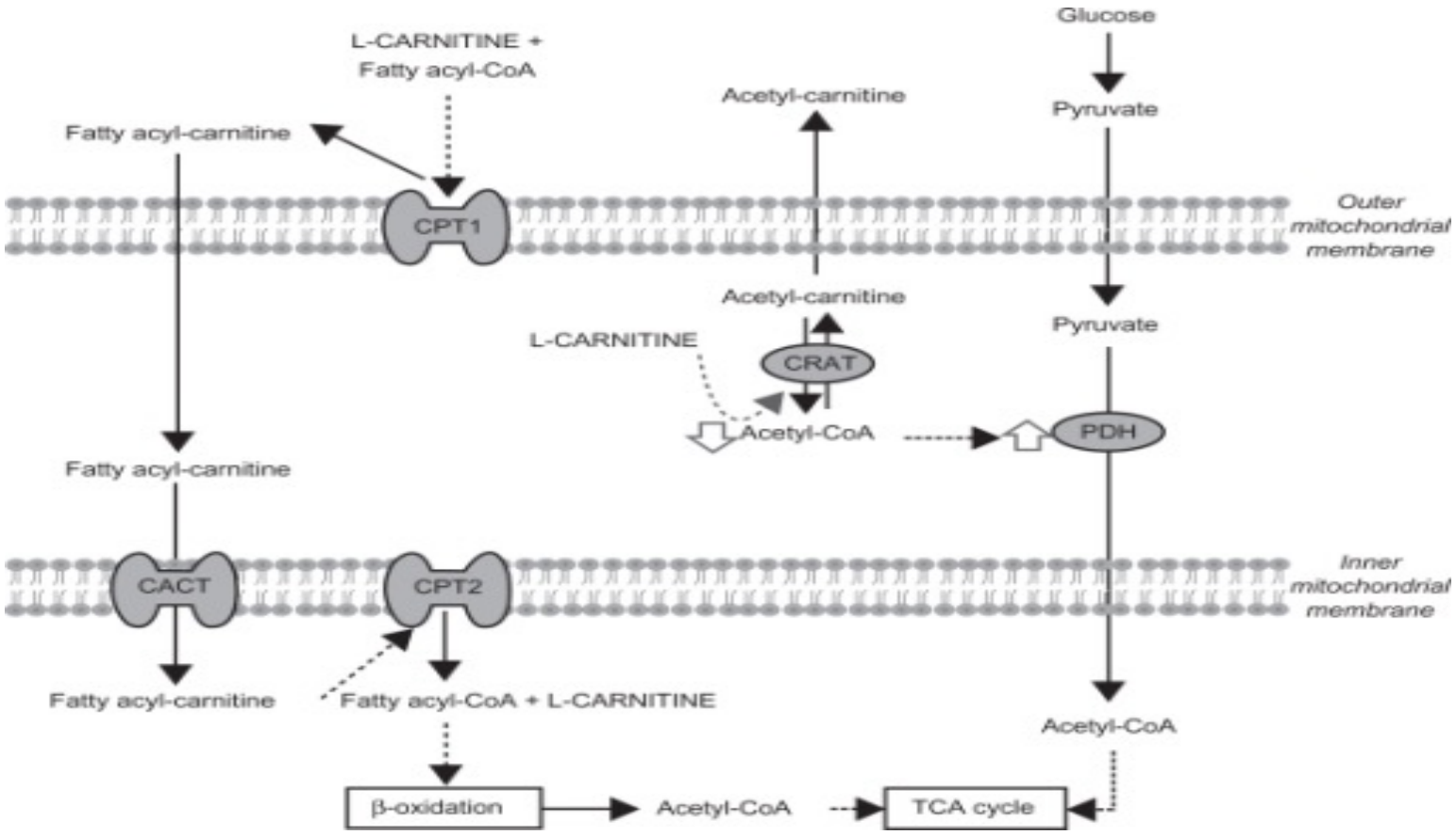
CPT-II


Diagnostic acylcarnitine peak
C16
C18:1
C18
Patient
C12
C14
C14:1
C16:1
C16:1 (OH)
C16 (OH)
C18:2
Normal
100
%
0
m/z


C0 düşük, diğer asilkarnitinler azalmış
±Rutin lab
Glukoz, elektrolitler, kan gazı, amonyak, KFT, CPK
Plazma ve idrarda serbest, total karnitin düzeyleri çalış
Plazma C0- Düşük,
Plazma total karnitin-Normal/düşük
Plazma C0- Normal
Plazma total karnitin-Normal
Karnitin uptake boz.
Bebek SAĞLIKLI
Annede karnitin eksikliği ve GA tip 1'I dahil hastalıkları ekarte et
Opsiyonel İleri Tetkikler:
Transporter assay, OCTN2 gen analizi

C2 (asetilkarnitin)

m/z 260



CPT, carnitine polmitoyl transferase; CRAT, Acetyl-carnitine transferase; CACT, carnitine-acylcarnitine translocase; TCA, tricarboxylic acid

C2 (asetilkarnitin) (N: 4-70)

m/z 260

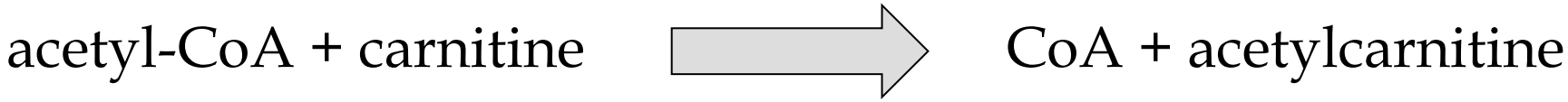
- **ARTIŞ**
  - *Ketoz*:
    - Ketojenik diyet C2, C4-OH, C12, C12:1, C14:1
    - Açlık ketozu C2, C4-OH, C12, C12:1, C14:1
  - *Laktik asidoz*
  - *Karnitin kullanımı (*C0 ve tüm karnitinler)

Azalma:

- ***C0+C2 düşüklüğü***
  - Birincil/ikincil karnitin eksikliği
  - Prematürite
  - İlaçlar

Dikkat!!

- Bekleyen kan örneklerinde (> 1 hafta), özellikle yeterli kurutulmadan poşetlenmiş örneklerde ***C2 yıkılarak C0'a döner.***
- Bu durum ***C0 düzeyini normalden yüksek*** gösterir !!! Oran hesaplamalarında dikkat)



C3 (Propionylcarnitine)

CDC < 6 Mmol/L

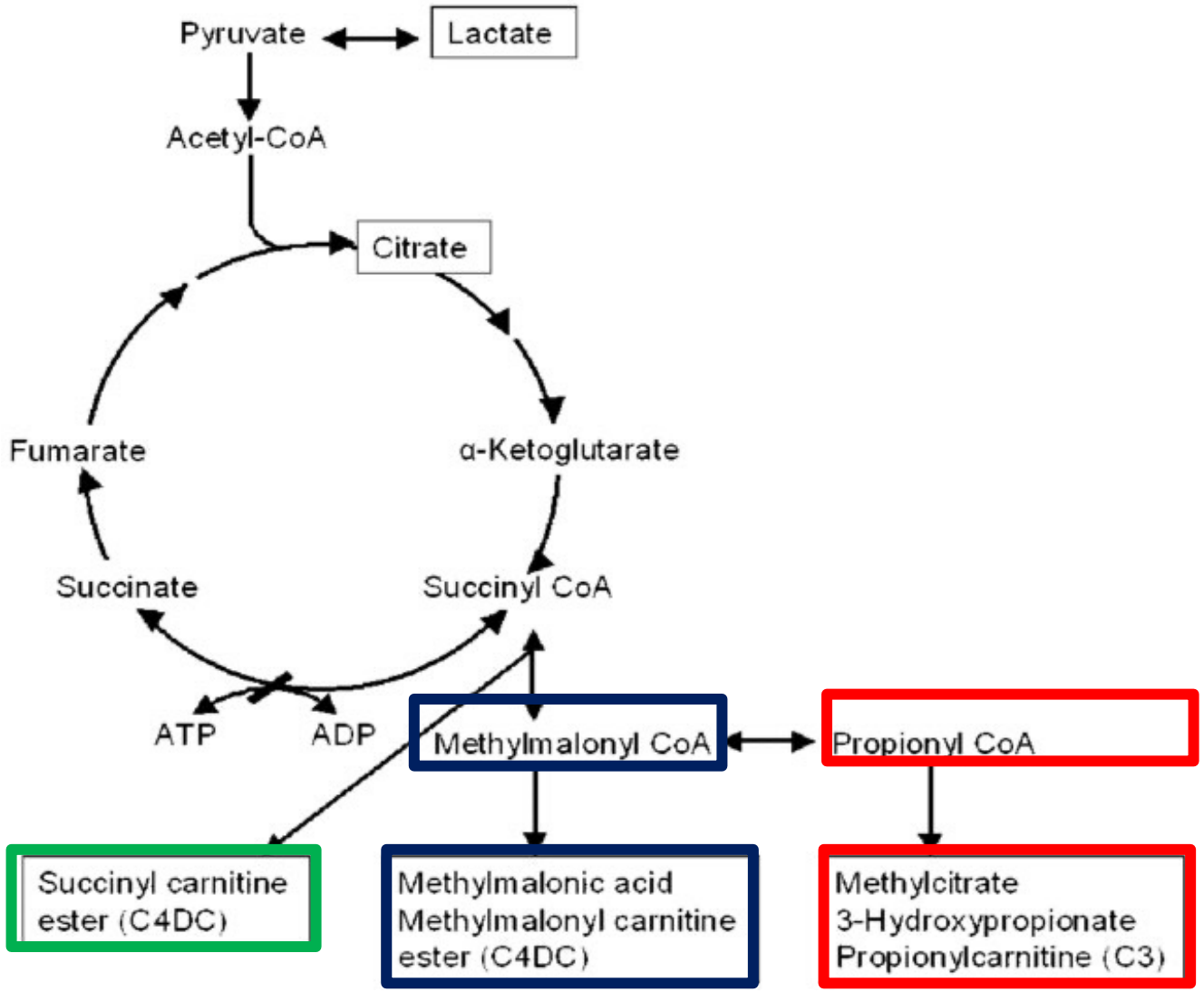
m/z 274

ARTIŞ

- **Propiyonik asidemi**
  - Genellikle >10 Mmol/l
- **Metilmalonik asidemi**
  - 6-10 Mmol/l
- **Kobalamin eksikliği**
  - 6-10 Mmol/l
  - metionin düzeyine dikkat !!!
- **B12 eksikliği**
- **Suksinil KoA ligaz eksikliği**

(Mitokondriyal DNA deplesyon sendromu tip 5 = Ansefalomiyopatik metilmalonik asidüri)

  - SUCLA ve SUCLG1 mutasyonları
  - ***C4DC artışı ile birlikte***
- **Holokarboksilaz eksikliği**
- **Biyotinidaz eksikliği**


Pyruvate
Lactate
Acetyl-CoA
Citrate
Fumarate
α-Ketoglutarate
Succinate
Succinyl CoA
ATP
ADP
Methylmalonyl CoA
Propionyl CoA
Succinyl carnitine ester (C4DC)
Methylmalonic acid
Methylmalonyl carnitine ester (C4DC)
Methylcitrate
3-Hydroxypropionate
Propionylcarnitine (C3)


mtdna
c10orf2
dguok
aciduria
ophthalmoplegia
faroe
methylmalonic
c4-dicarboxylic
6.2.1.5
thiokinase
dystonia
molecular biology
encephalomyopathic
dtdp
3,3'-dithiodipropionic
deafness
suclg1
hepatocerebral

Oranlar yardımcı olur mu???

- C3/C2 (n< 0,19)
- C3/C16 (n< 0,20)
- C3/C2 (n < 2)

- Bazı merkezler C3 üst sınırı 4 olarak alıyor.

MMA AYIRICI TANISI İÇİN

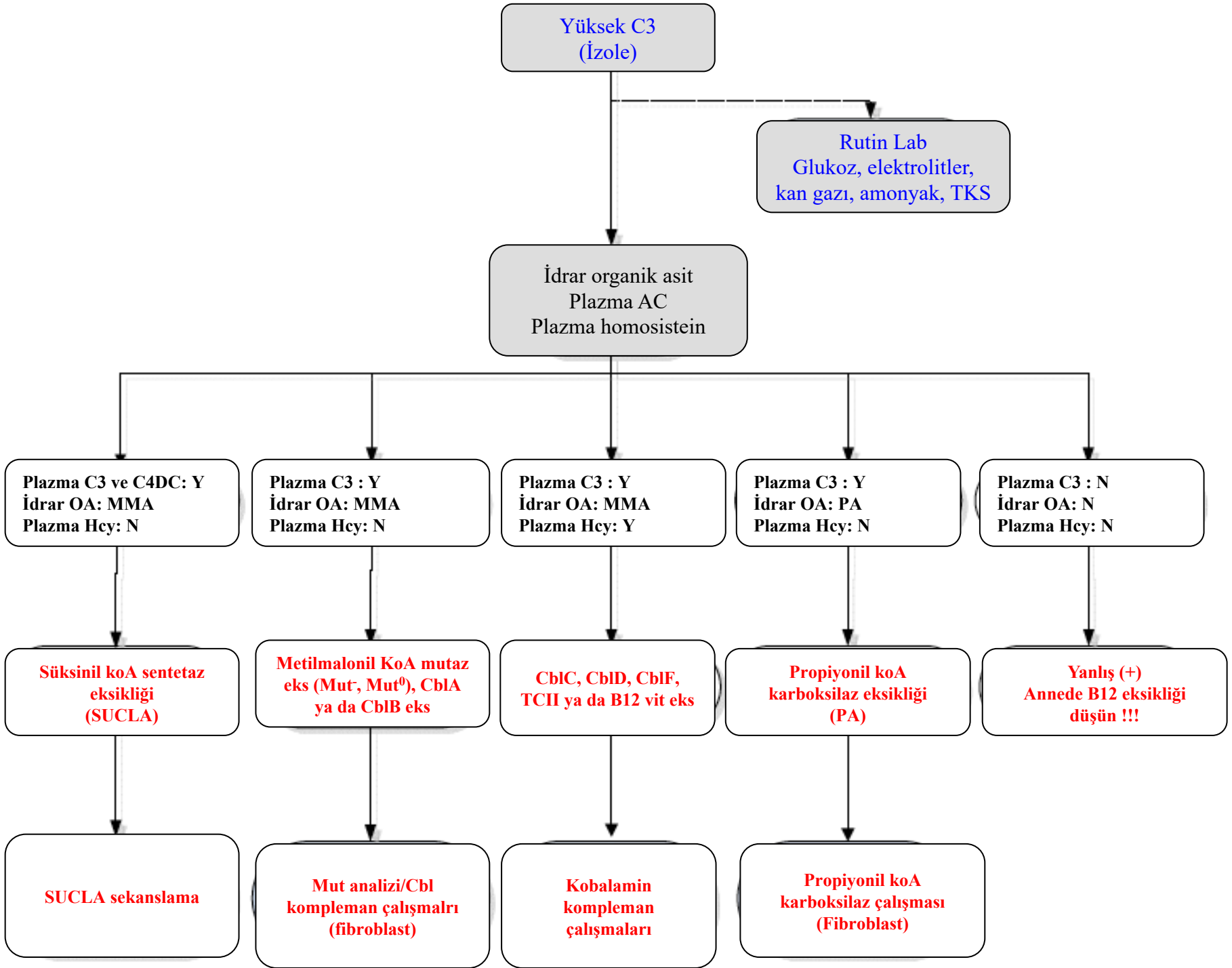
4-5.25 arası:

C3/C2 yüksek ise: kan MMA bak, MMA yüksek ise: MMA

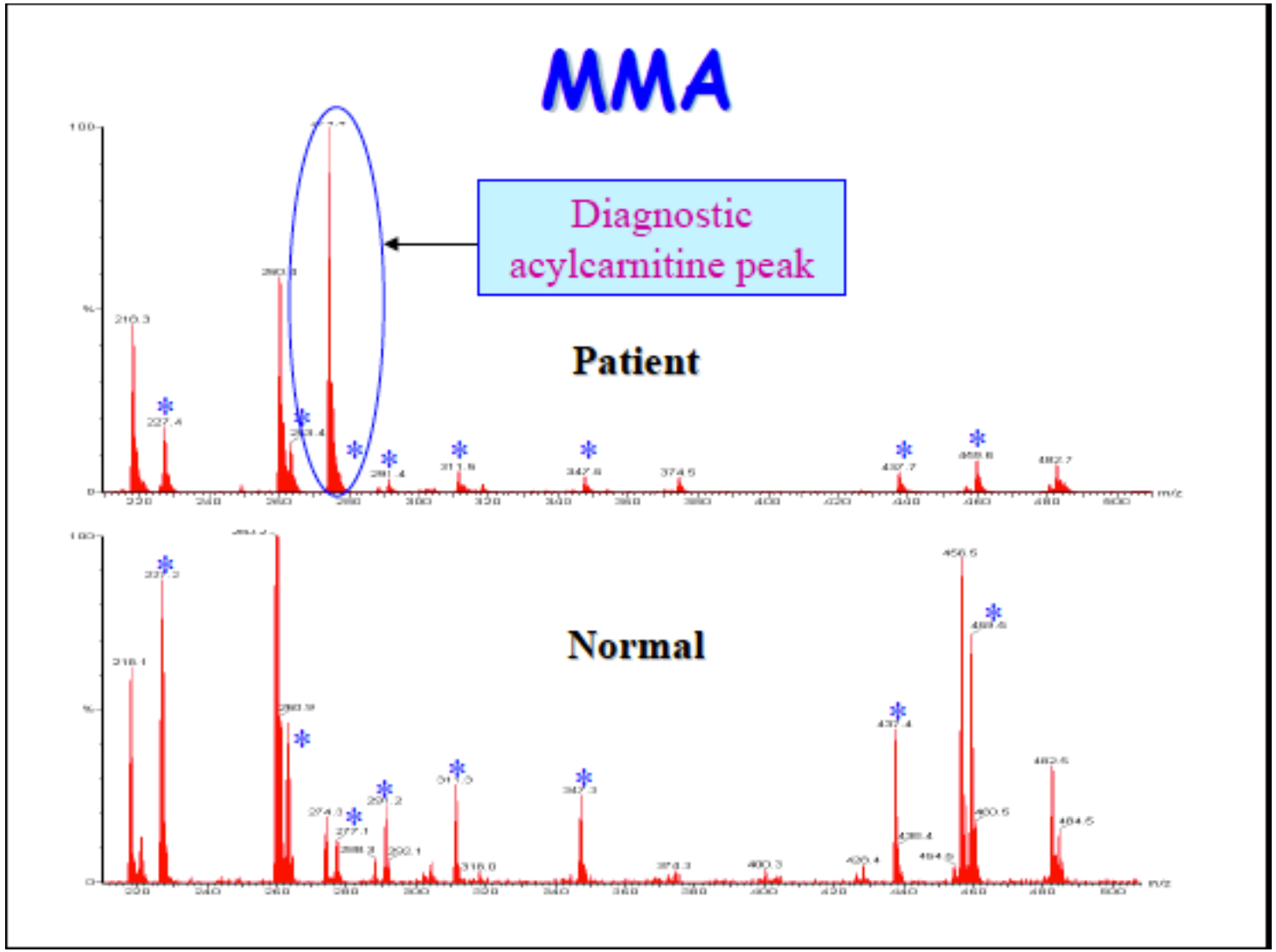
C3/C 2 normal ama C3/C16 yüksek ise: kan MMA bak yüksek ise: MMA

5.25-10 : Kan MMA yüksek ise : MMA

>10 : PATOLOJİK


Yüksek C3
(İzole)
Rutin Lab
Glukoz, elektrolitler,
kan gazı, amonyak, TKS
İdrar organik asit
Plazma AC
Plazma homosistein
Plazma C3 ve C4DC: Y
İdrar OA: MMA
Plazma Hcy: N
Plazma C3 : Y
İdrar OA: MMA
Plazma Hcy: N
Plazma C3 : Y
İdrar OA: MMA
Plazma Hcy: Y
Plazma C3 : Y
İdrar OA: PA
Plazma Hcy: N
Plazma C3 : N
İdrar OA: N
Plazma Hcy: N
Süksinil koA sentetaz
eksikliği
(SUCLA)
Metilmalonil KoA mutaz
eks (Mut-, Mut0), CblA
ya da CblB eks
CblC, CblD, CblF,
TCII ya da B12 vit eks
Propiyonil koA
karboksilaz eksikliği
(PA)
Yanlış (+)
Annede B12 eksikliği
düşün !!!
SUCLA sekanslama
Mut analizi/Cbl
kompleman çalışmalrı
(fibroblast)
Kobalamin
kompleman
çalışmaları
Propiyonil koA
karboksilaz çalışması
(Fibroblast)

MMA

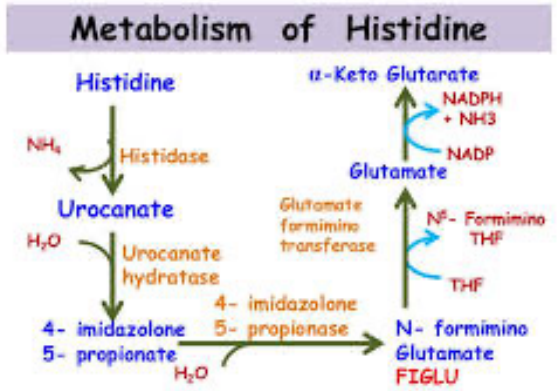


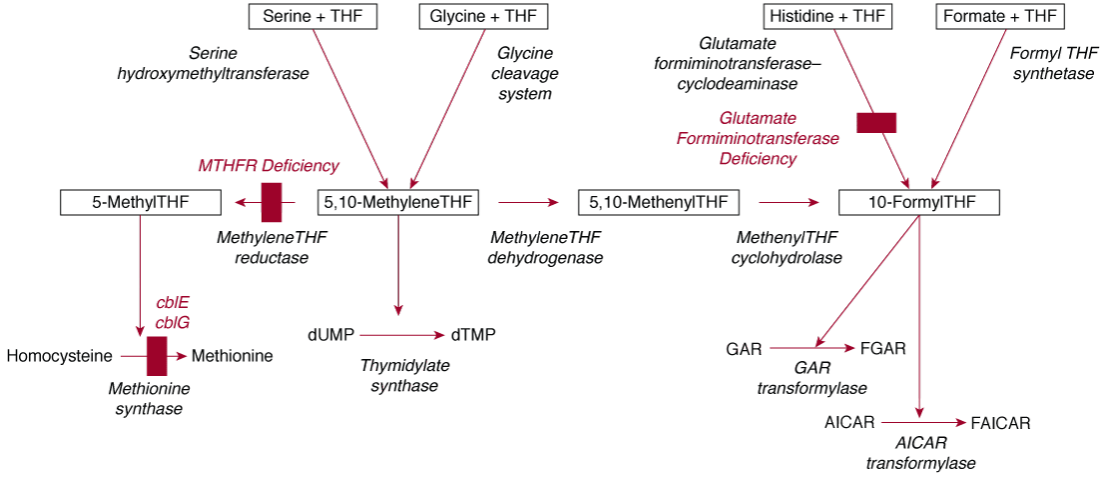
FIGLU

(Formiminoglutamat)

m/z 287

- **Glutamat formimino-transferaz** eksikliğinde gözlenir.
- C4 (m/z 288)'e çok yakın olduğu için bazen karışıklığa yol açar.





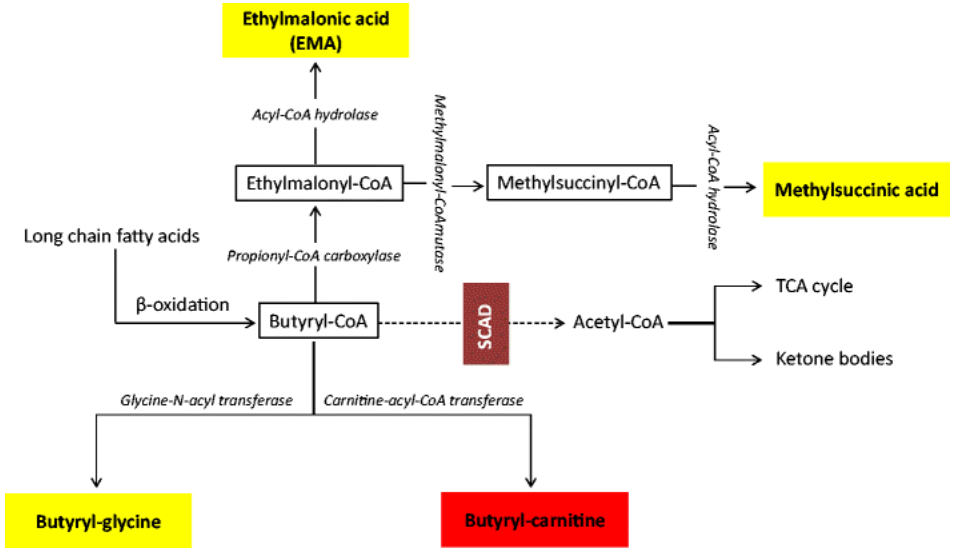
C4

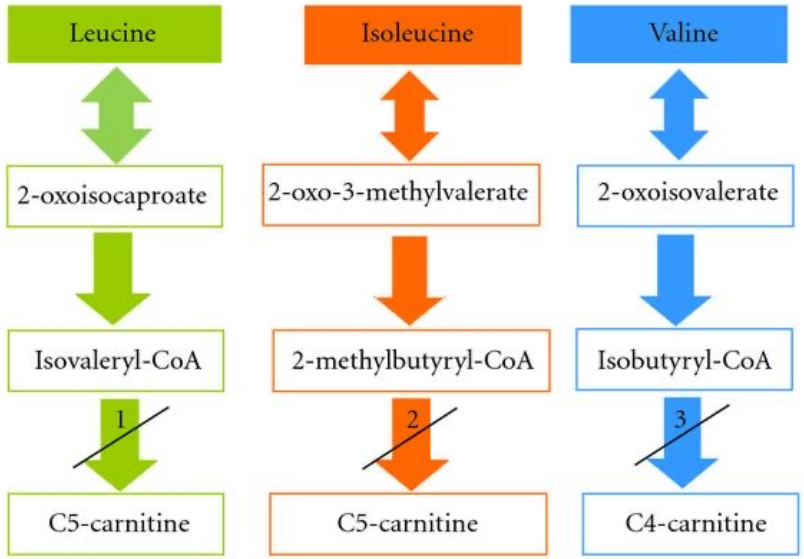
(Butirilkarnitin- İzobutirilkarnitin)

m/z 288

CDC <1.23 Mmol/L

- C4-asilkarnitin, **yağ asidi** metabolizmasından gelen ***butirilkarnitin*** ile **valin** metabolizmasından gelen ***izobutirilkarnitinin*** bir karışımıdır.



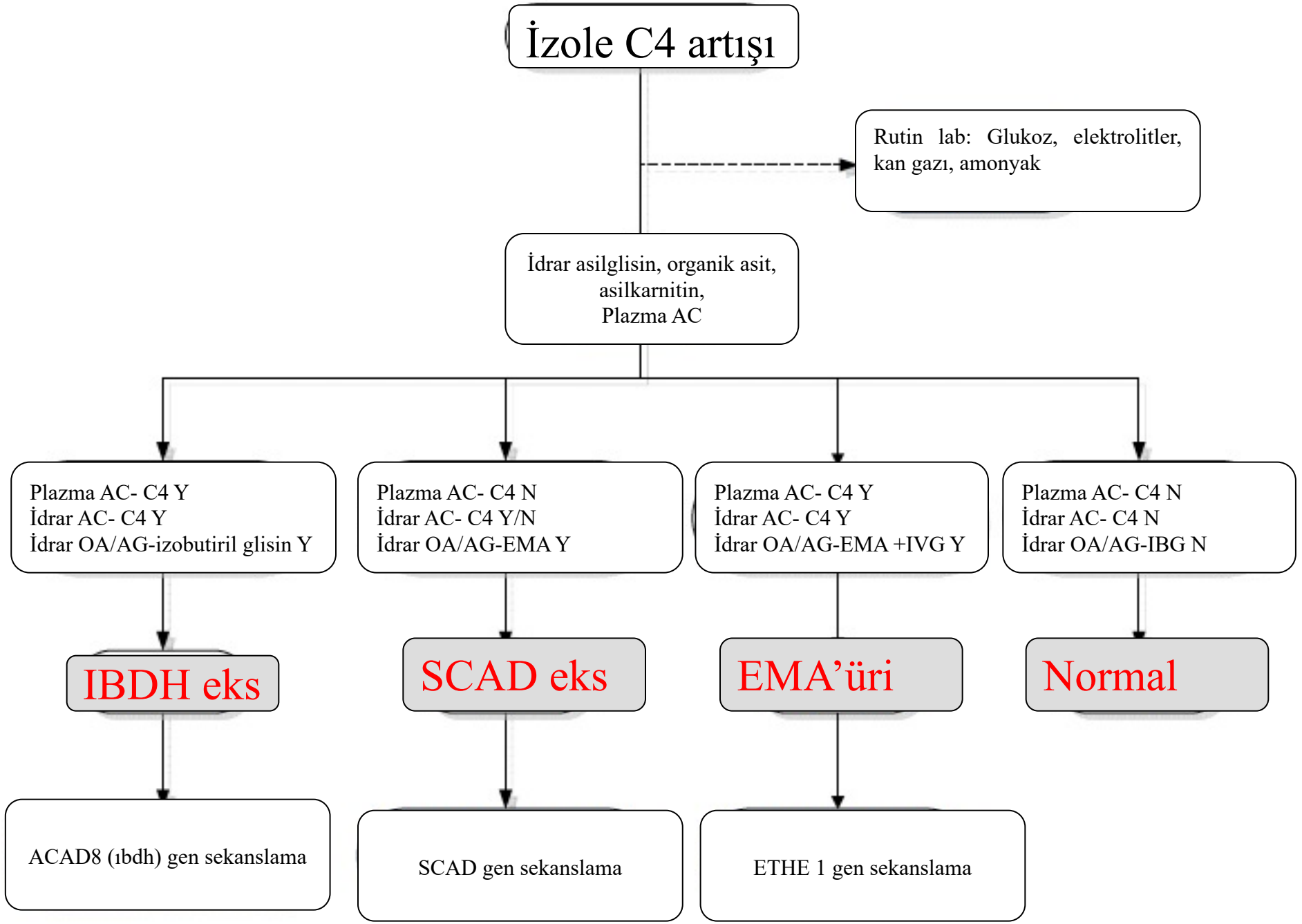


C4 ARTIŞ

- **SCAD**

  (Oranlara dikkat: C4/C2; C4/C3)
- **İzobutiril ko A dehidrogenaz eksikliği**
- **Etilmalonik asidüri**

  (C4 ve C5 artışı)
- C4-C18 arası artış: **MADD**
- C4 + diğer kısa zincirli asilkarnitin artışı: **Ketoz-yeni ölmüş bebek**
- C4 + diğer kısa zincirli asilkarnitin artışı**:** **SCHAD**
- **TPN**


İzole C4 artışı
Rutin lab: Glukoz, elektrolitler, kan gazı, amonyak
İdrar asilglisin, organik asit, asilkarnitin, Plazma AC
Plazma AC- C4 Y
İdrar AC- C4 Y
İdrar OA/AG-izobutiril glisin Y
Plazma AC- C4 N
İdrar AC- C4 Y/N
İdrar OA/AG-EMA Y
Plazma AC- C4 Y
İdrar AC- C4 Y
İdrar OA/AG-EMA +IVG Y
Plazma AC- C4 N
İdrar AC- C4 N
İdrar OA/AG-IBG N
IBDH eks
SCAD eks
EMA'üri
Normal
ACAD8 (ıbdh) gen sekanslama
SCAD gen sekanslama
ETHE 1 gen sekanslama

C5:1

(Tiglilkarnitin/3-metilkrotonilkarnitin)

CDC <0.35 Mmol/L

m/z 300

- **Artış:**
  - **β-ketotiyolaz eksikliği** (mitokondriyal asetoasetil koA tiyolaz eksikliği)
  - **3- MCC eksikliği** (C5OH+C5:1)
  - Annede 3-MCC eks (C5OH+C5:1)
  - **2-metilbutiril-3-OH-butiril koA dehidrogenaz eksikliği**
  - **İzobutiril koA dehidrogenaz eksikliği**

C5

(İzovaleril-/2-metilbutiril-/pivanoilkarnitin)

CDC <0.7 Mmol/L (Toscana:0.56)

M/Z 302

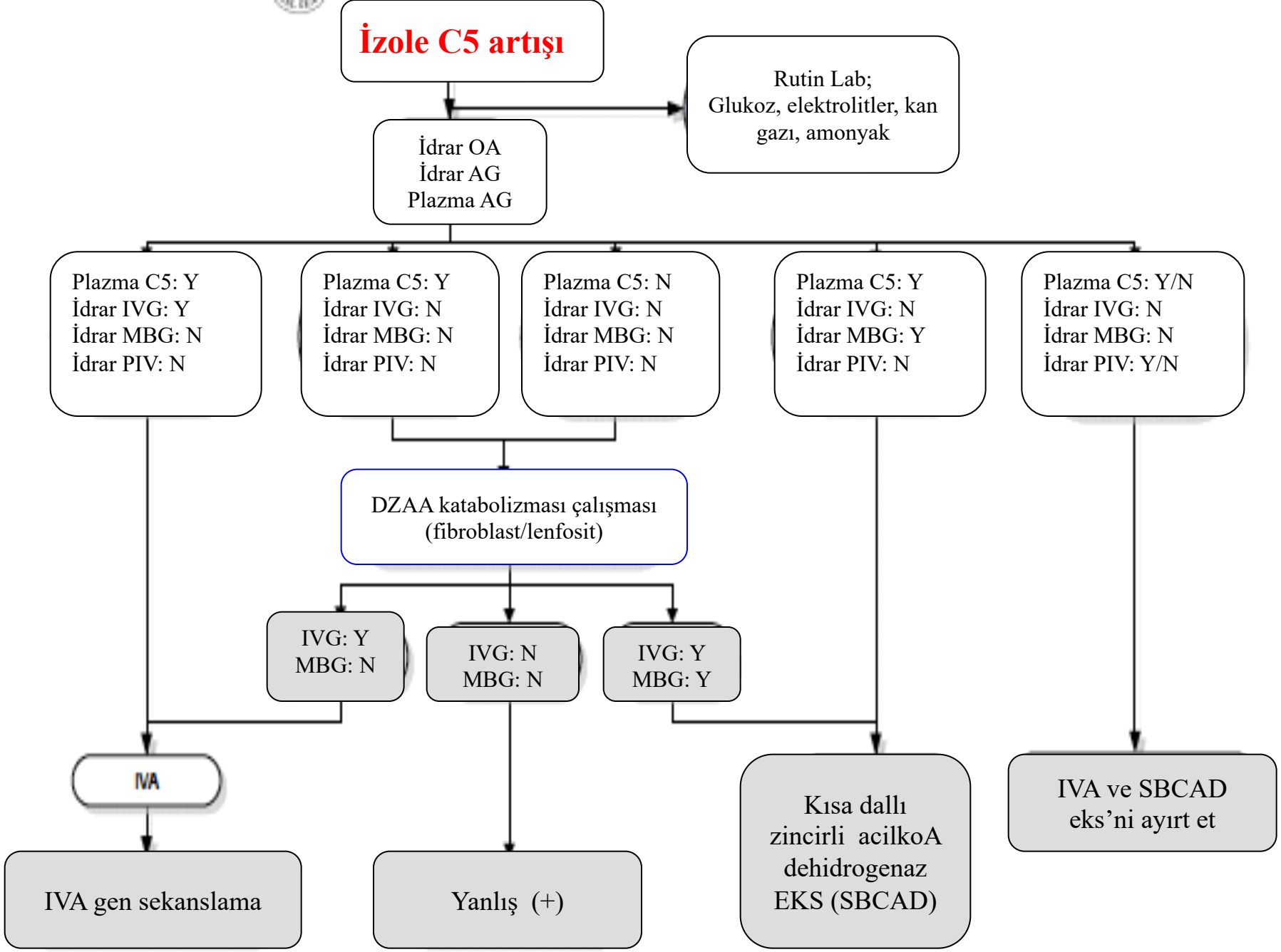
ARTIŞ

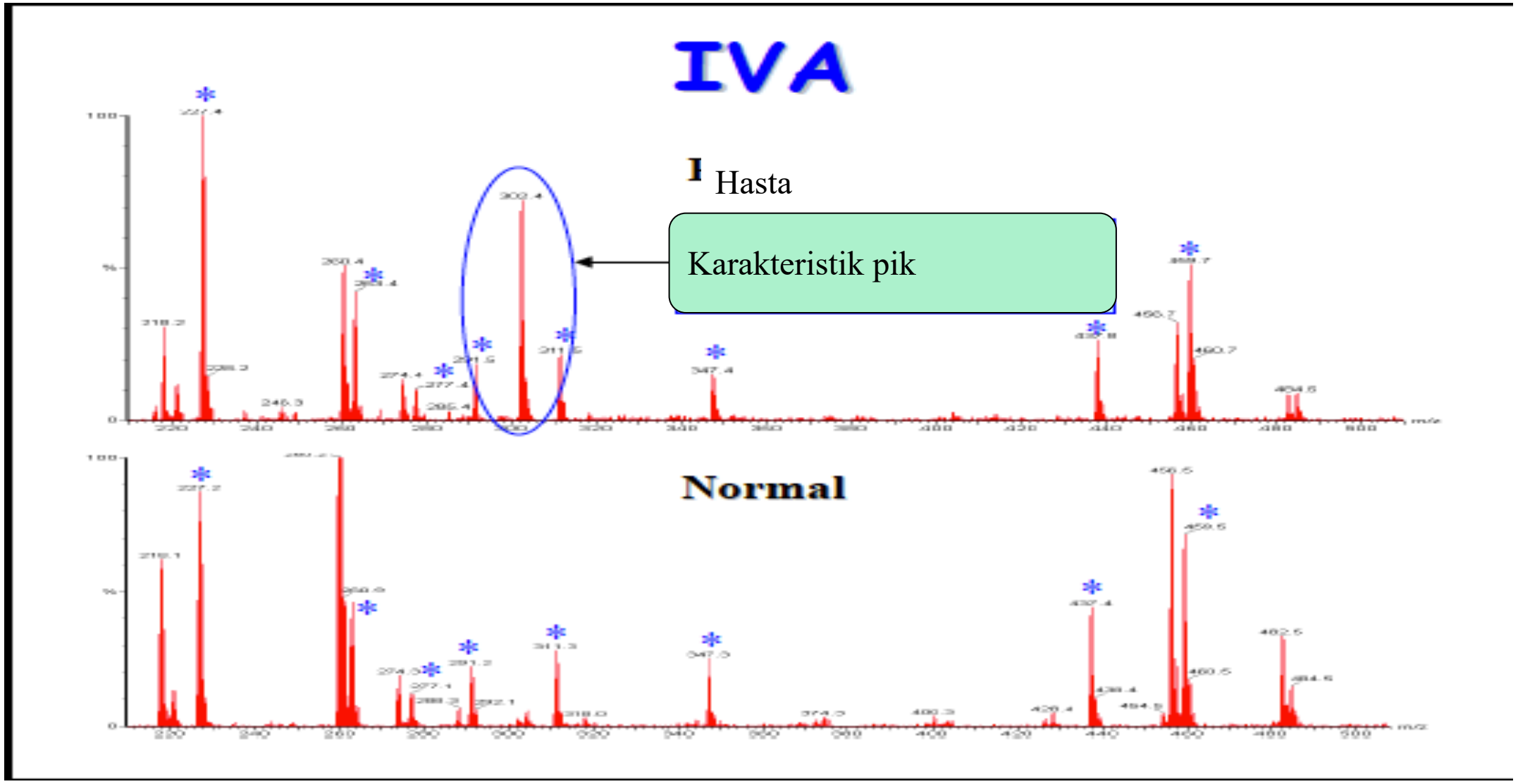
- **İzovalerik asidemi**
- **2-metilbutiril koA dehidrogenaz eksikliği** (kısa/dallı zincirli asilkoA dehidrogenaz eks: SBCADD)
- **Kısa zincirli asil koA dehidrogenaz eksikliği** (SCAD)
- **MADD**
- **Etilmalonik asidüri** (C4+C5)
- **Pivalik asit içeren antibiyotikler**
- **Düşük doğum ağırlıklı bebekler**

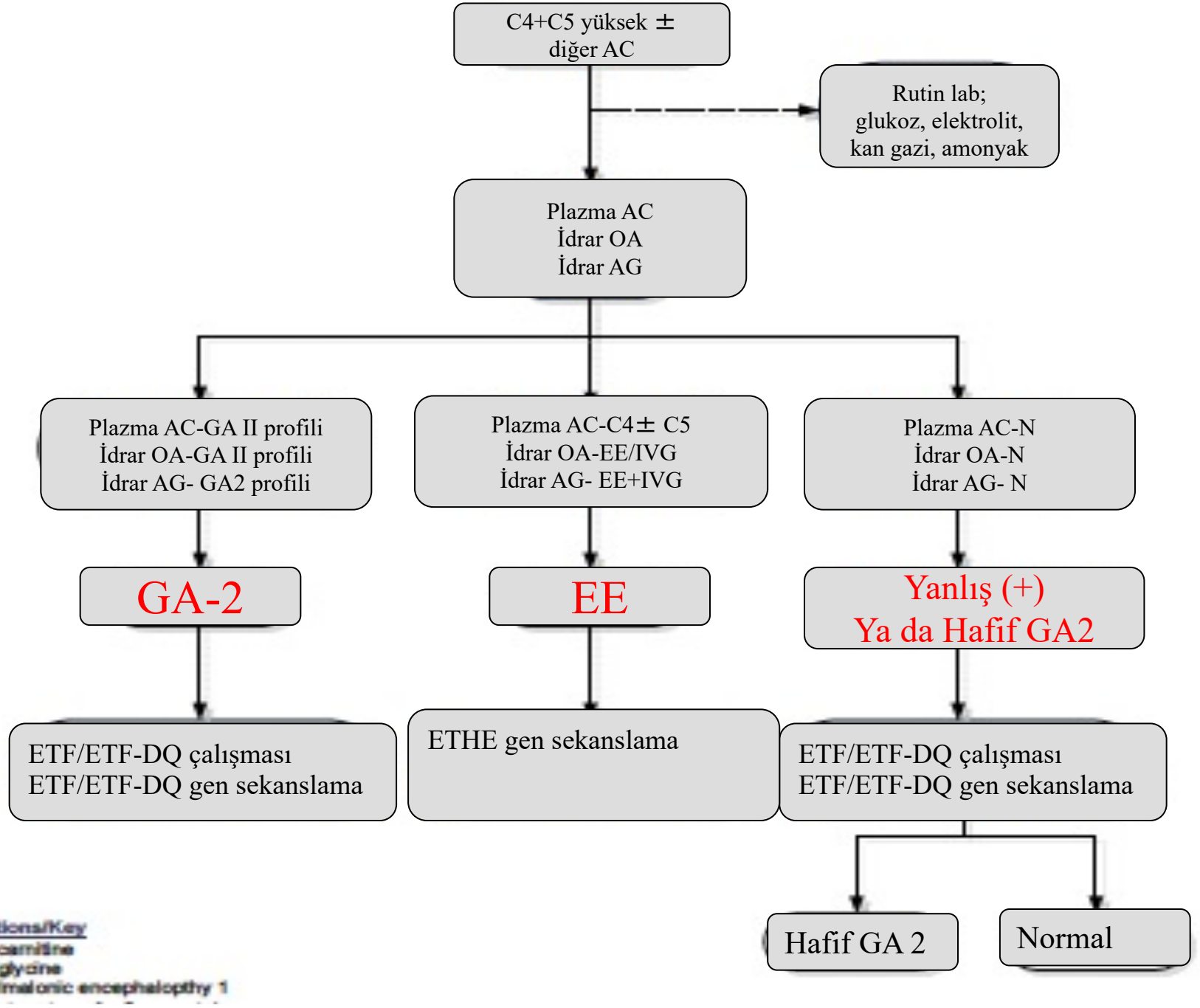
C5: 0.26-0.91 Mmol/L

C5 ARTIŞI: ORANLAR…

- **Oranlar:**
  - C5/C3 > 0,29 (??? 0,5)
  - C5/C8 > 4,2
  - C5/C4 > 1,36
  - C5/C2 >0,05


İzole C5 artışı
Rutin Lab;
Glukoz, elektrolitler, kan gazı, amonyak
İdrar OA
İdrar AG
Plazma AG
Plazma C5: Y
İdrar IVG: Y
İdrar MBG: N
İdrar PIV: N
Plazma C5: Y
İdrar IVG: N
İdrar MBG: N
İdrar PIV: N
Plazma C5: N
İdrar IVG: N
İdrar MBG: N
İdrar PIV: N
Plazma C5: Y
İdrar IVG: N
İdrar MBG: Y
İdrar PIV: N
Plazma C5: Y/N
İdrar IVG: N
İdrar MBG: N
İdrar PIV: Y/N
DZAA katabolizması çalışması
(fibroblast/lenfosit)
IVG: Y
MBG: N
IVG: N
MBG: N
IVG: Y
MBG: Y
IVA
IVA gen sekanslama
Yanlış (+)
Kısa dallı zincirli acilkoA dehidrogenaz EKS (SBCAD)
IVA ve SBCAD eks'ni ayırt et


IVA
I Hasta
Karakteristik pik
Normal


C4+C5 yüksek ± diğer AC
Rutin lab; glukoz, elektrolit, kan gazi, amonyak
Plazma AC
İdrar OA
İdrar AG
Plazma AC-GA II profili
İdrar OA-GA II profili
İdrar AG- GA2 profili
Plazma AC-C4± C5
İdrar OA-EE/IVG
İdrar AG- EE+IVG
Plazma AC-N
İdrar OA-N
İdrar AG- N
GA-2
EE
Yanlış (+)
Ya da Hafif GA2
ETF/ETF-DQ çalışması
ETF/ETF-DQ gen sekanslama
ETHE gen sekanslama
ETF/ETF-DQ çalışması
ETF/ETF-DQ gen sekanslama
Hafif GA 2
Normal

C4OH

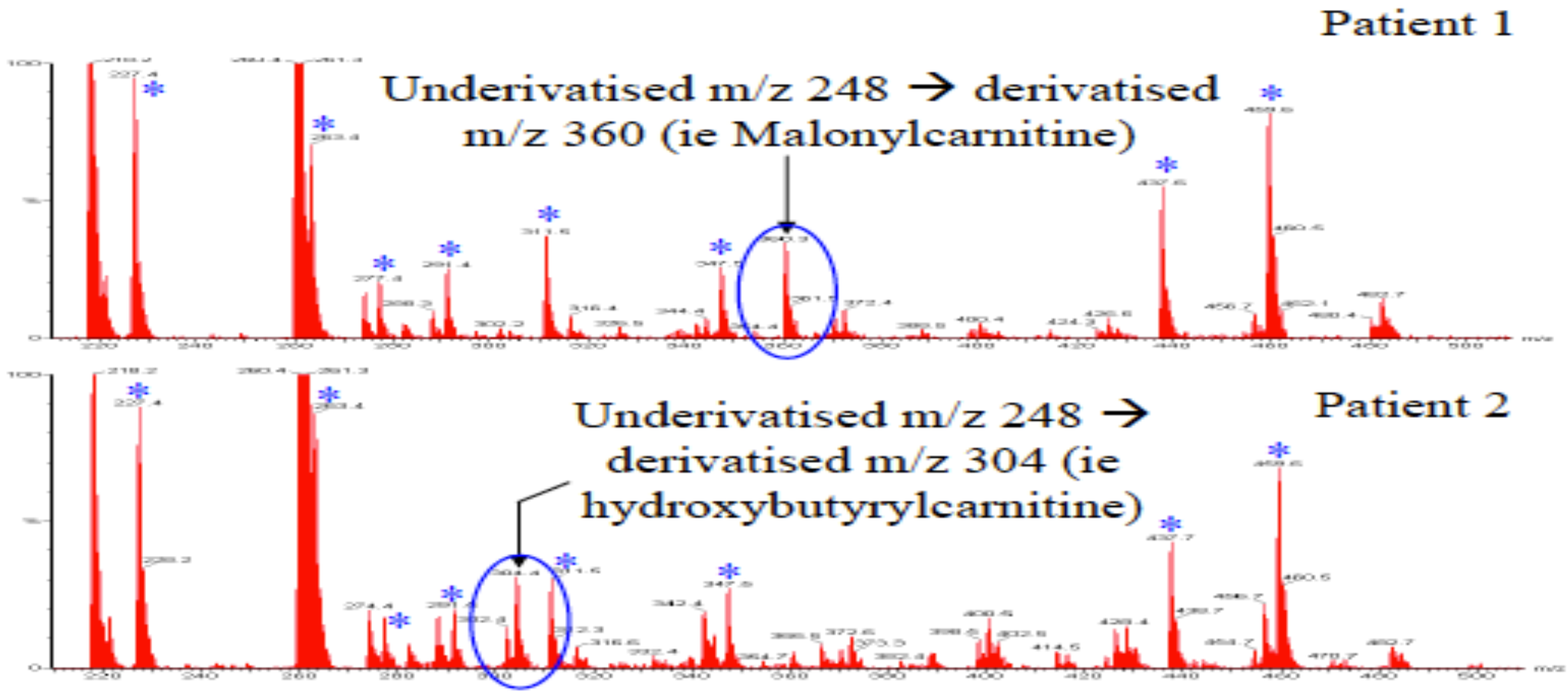
(3-hidroksibutirilkarnitin ----- Betahidroksibutirat)

CDC < 0.65 Mmol/L

m/z 304

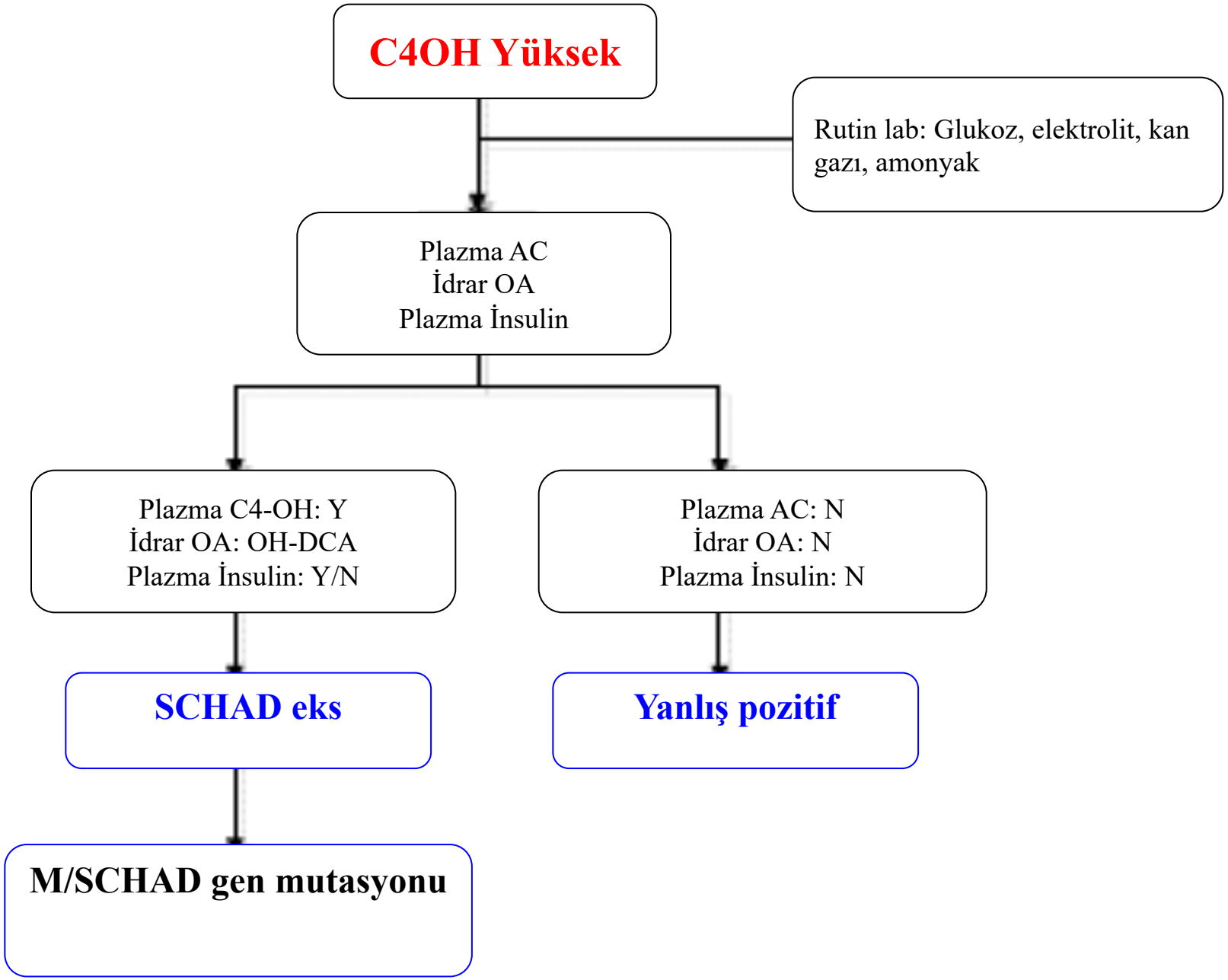
- Dikkat ! Derivatize edilmezse hem "C4OH" hem de "malonilkarnitin" için m/z=248.
- Butilasyon ile derivatize edilirse:
  - C4OH: m/z 304
  - Malonilkarnitin : m/z 360

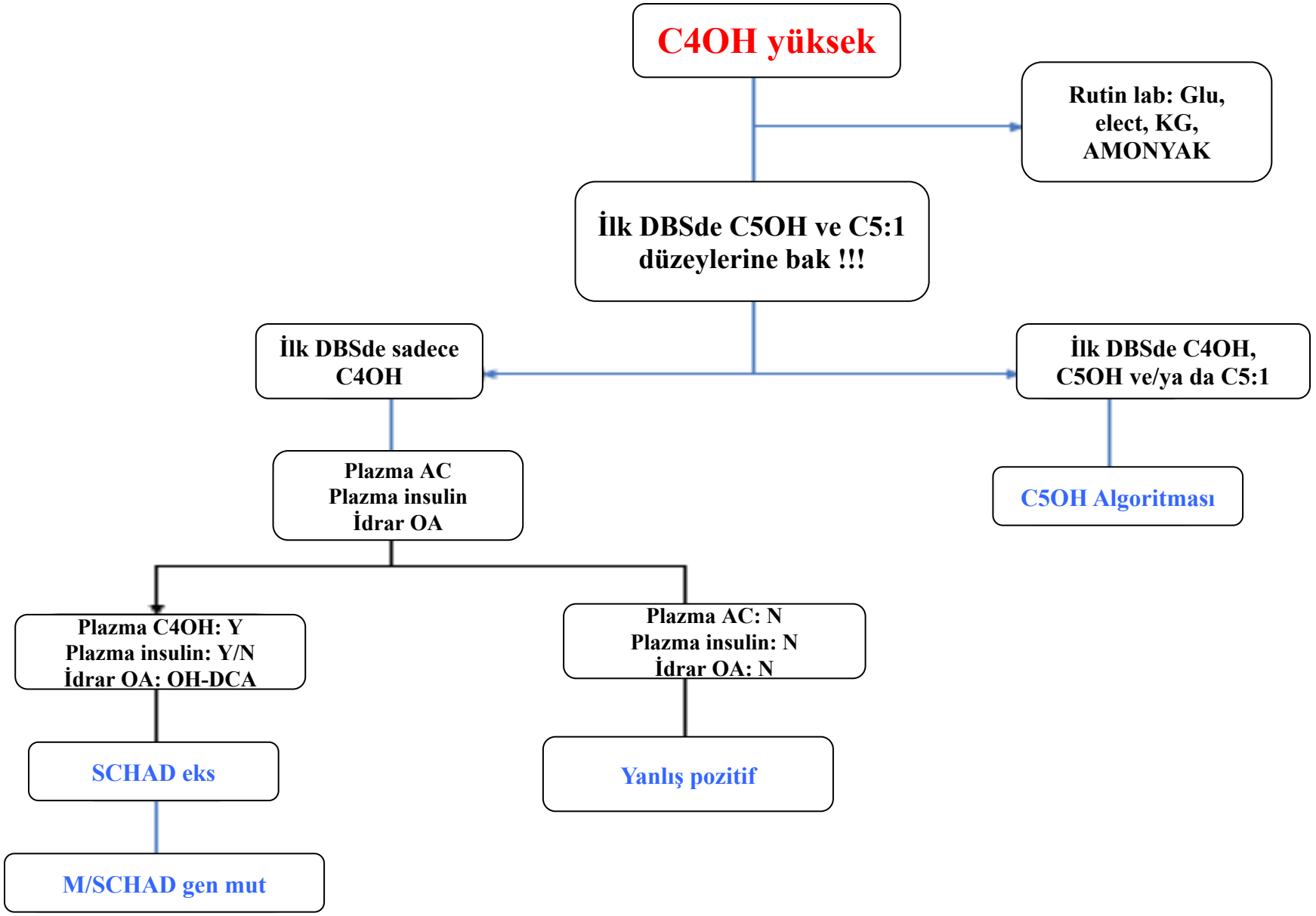
Derivatised plasma sample



C4OH ARTIŞ

- SCHAD
- Açlık ketozu
- 3-hidroksibutirilkoA deaçilaz eks
- 3-OH-butirat dehidrogenaz eks


C4OH Yüksek
Rutin lab: Glukoz, elektrolit, kan gazı, amonyak
Plazma AC
İdrar OA
Plazma İnsulin
Plazma C4-OH: Y
İdrar OA: OH-DCA
Plazma İnsulin: Y/N
Plazma AC: N
İdrar OA: N
Plazma İnsulin: N
SCHAD eks
Yanlış pozitif
M/SCHAD gen mutasyonu


C4OH yüksek
Rutin lab: Glu, elect, KG, AMONYAK
İlk DBSde C5OH ve C5:1 düzeylerine bak !!!
İlk DBSde sadece C4OH
İlk DBSde C4OH, C5OH ve/ya da C5:1
Plazma AC
Plazma insulin
İdrar OA
C5OH Algoritması
Plazma C4OH: Y
Plazma insulin: Y/N
İdrar OA: OH-DCA
Plazma AC: N
Plazma insulin: N
İdrar OA: N
SCHAD eks
Yanlış pozitif
M/SCHAD gen mut

C6:1

(3-Metilglutakonil-)

m/z 314

- **Artış:**
  - 3-metilglutakonik asidüri tip 1

    (3-metilglutakonil koA dehidrataz eksikliği)

C6

(Hekzanoyl-)

CDC < 0.45 Mmol/L

M/Z 316

- **Artış:**
  - Izole C6 artışı tanımlanan bir metabolik hastalık bulunmuyor
  - MCAD
  - MADD
  - HMG-koA liyaz eksikliği

C5
C6
C6DC
C5OH

M/Z 318

C5OH

(3-hidroksiizovaleril-/2-metil-3-hidroksi butiril-)

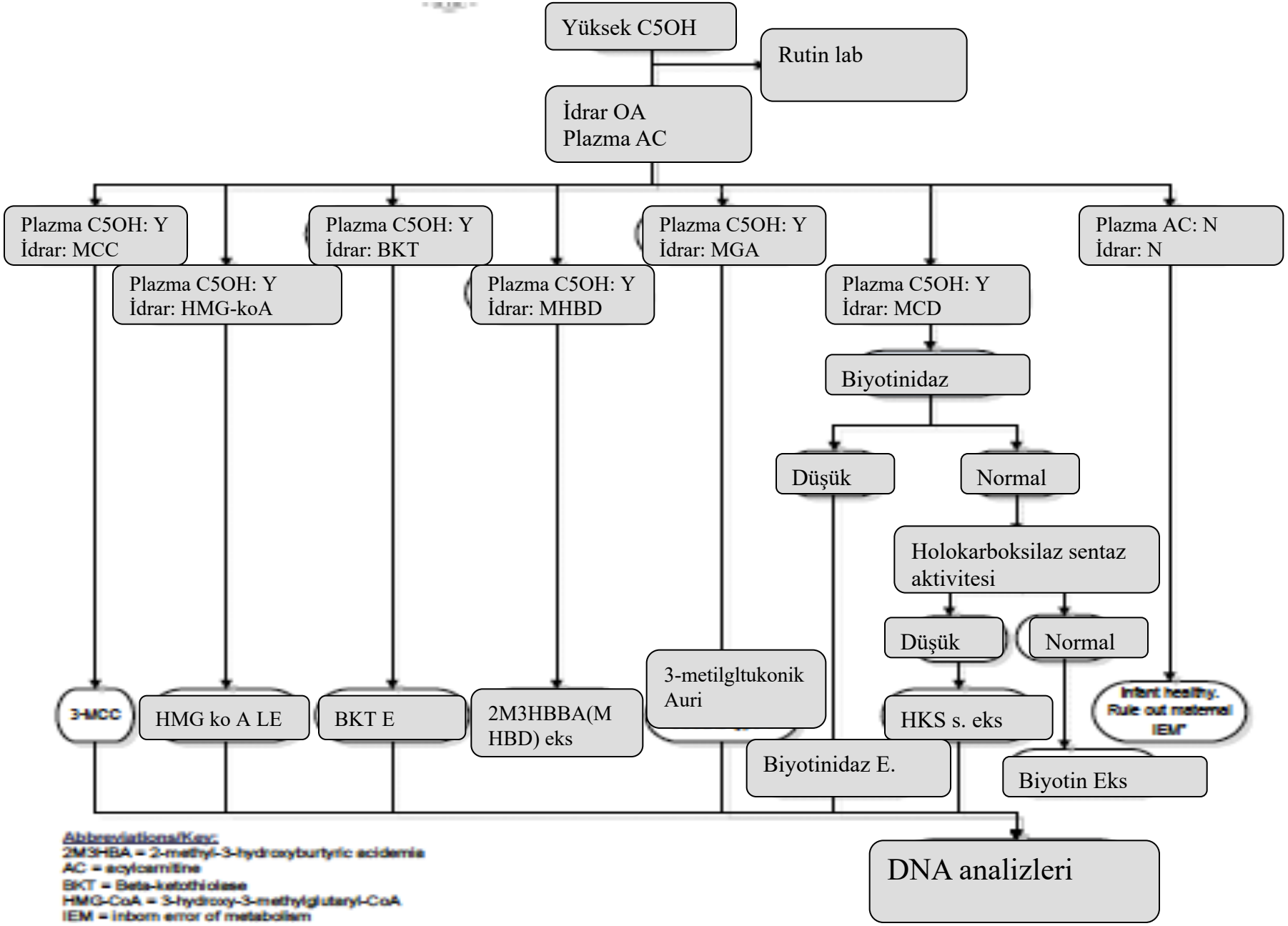
(CDC <0.9 Mmol/L)

ARTIŞ

- **3-MCC eks**, Annede 3-MCC eks
- **Holokarboksilaz sentaz eksikliği** (C5OH+C3+C5:1)
- **3-OH-3-metilglutaril ko A liyaz eks**
- **3-metilglutakonil koA hidrataz eksikliği**

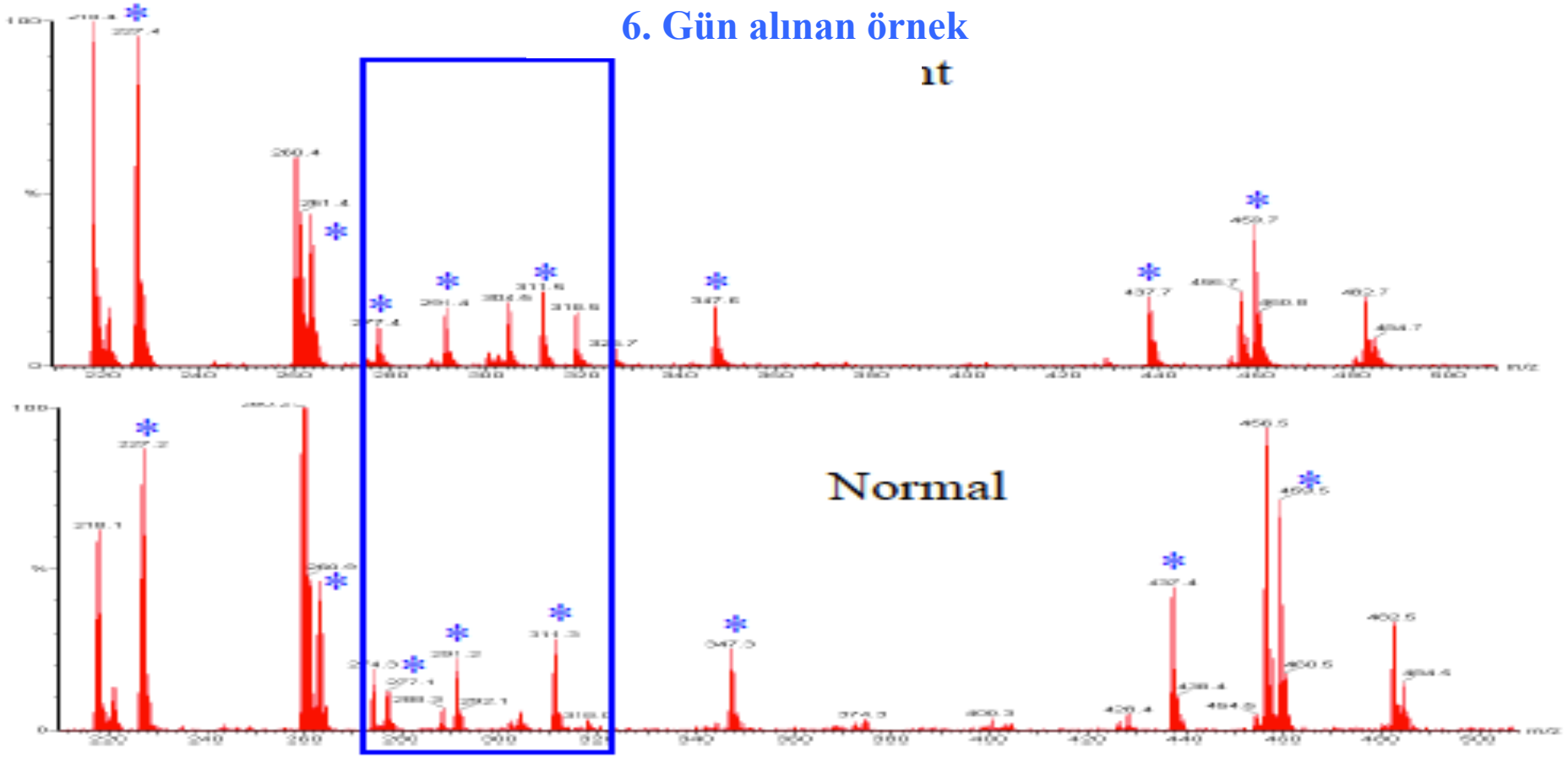
  (C5OH+C6)
- **Biyotinidaz eksikliği** (C5OH+C3)
- **Beta-ketotiyolaz eks** (C5:1+C5OH)
- **2-metil-3 hidroksibutiril koA dehidrogenaz (MHBD) eksikliği** (C5:1+C5OH)

- Valproik asit kullanımı
- Prematürite
- Ketoz


Yüksek C5OH
Rutin lab
İdrar OA
Plazma AC
Plazma C5OH: Y
İdrar: MCC
Plazma C5OH: Y
İdrar: HMG-koA
Plazma C5OH: Y
İdrar: BKT
Plazma C5OH: Y
İdrar: MHBD
Plazma C5OH: Y
İdrar: MGA
Plazma C5OH: Y
İdrar: MCD
Plazma AC: N
İdrar: N
Biyotinidaz
Düşük
Normal
Holokarboksilaz sentaz aktivitesi
Düşük
Normal
3-MCC
HMG ko A LE
BKT E
2M3HBBA(MHBD) eks
3-metilgltukonik Auri
HKS s. eks
Infant healthy. Rule out maternal IEM*
Biyotinidaz E.
Biyotin Eks
DNA analizleri
Abbreviations/Key:
2M3HBA = 2-methyl-3-hydroxybutyric acidemia
AC = acylcarnitine
BKT = Beta-ketothiolase
HMG-CoA = 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA
IEM = Inborn error of metabolism

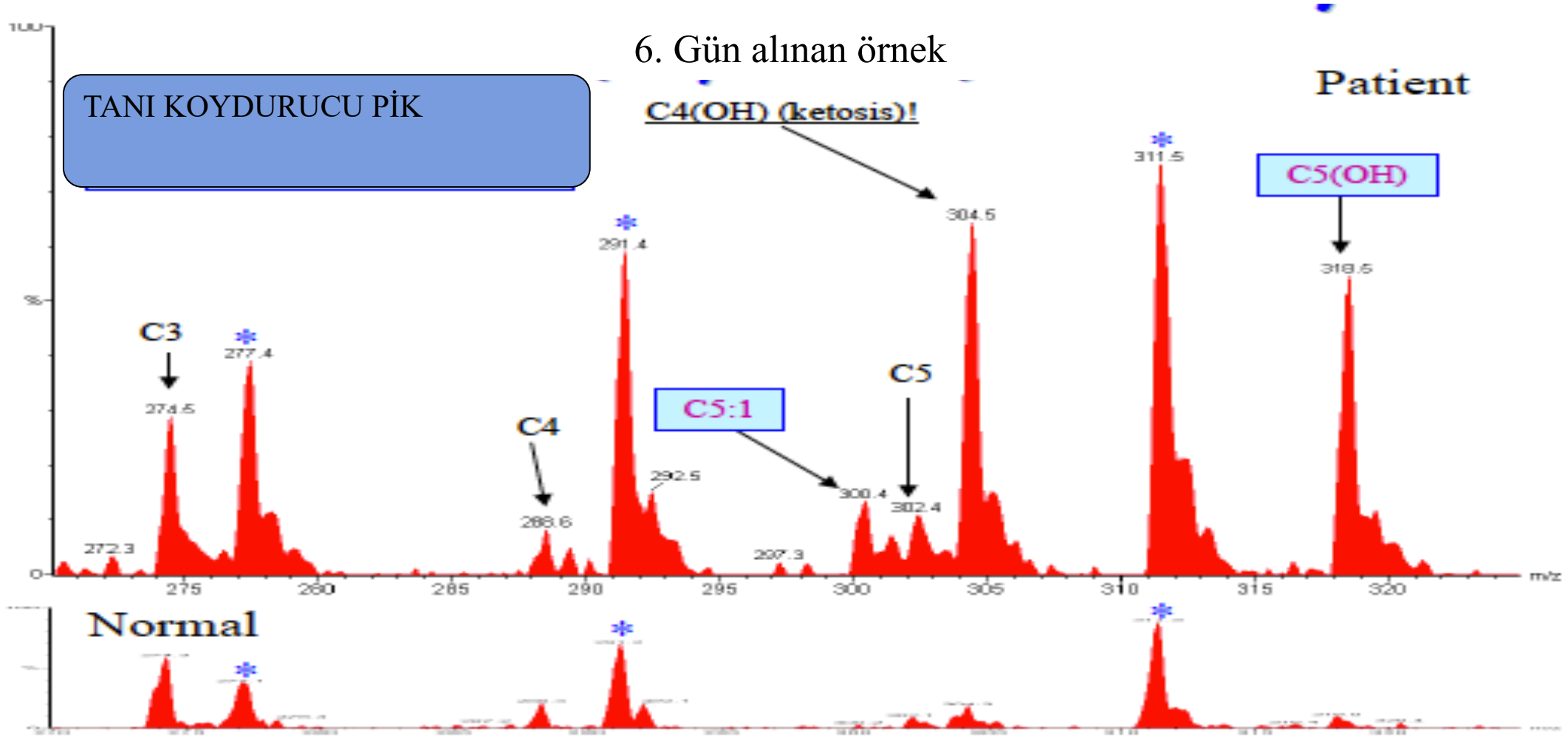
B-Ketotiyolaz eksikliği

6. Gün alınan örnek



6. Gün alınan örnek

TANI KOYDURUCU PİK



C8

(Oktanoyl-)

CDC< 0.45 Mmol/L

M/Z 342

- Artış:
  - MCAD
  - MADD
  - MCHAD
  - Karnitin kullanımı
  - Valproik asit
  - MCT yağı kullanımı

- Homozigotlarda (985 A>G mut) C8: 4-10 Mmol/L
- Heterozigotlarda 1-4 Mmol/l
- 0.35-1 Mmol/l arasında
  - A985G
  - T199C mut olabilir

ORANLAR:

- C8/C2> 0.02
- C8/C10 >1.6
- C8/C12 > 1.6

Her yaş için:

C8 > 0.3 ve C8/C10 > 2 ise

MCAD !!!

Valproik asit vb iatrojenik MCADde ORANLAR DEĞİŞMEZ !!!!!!

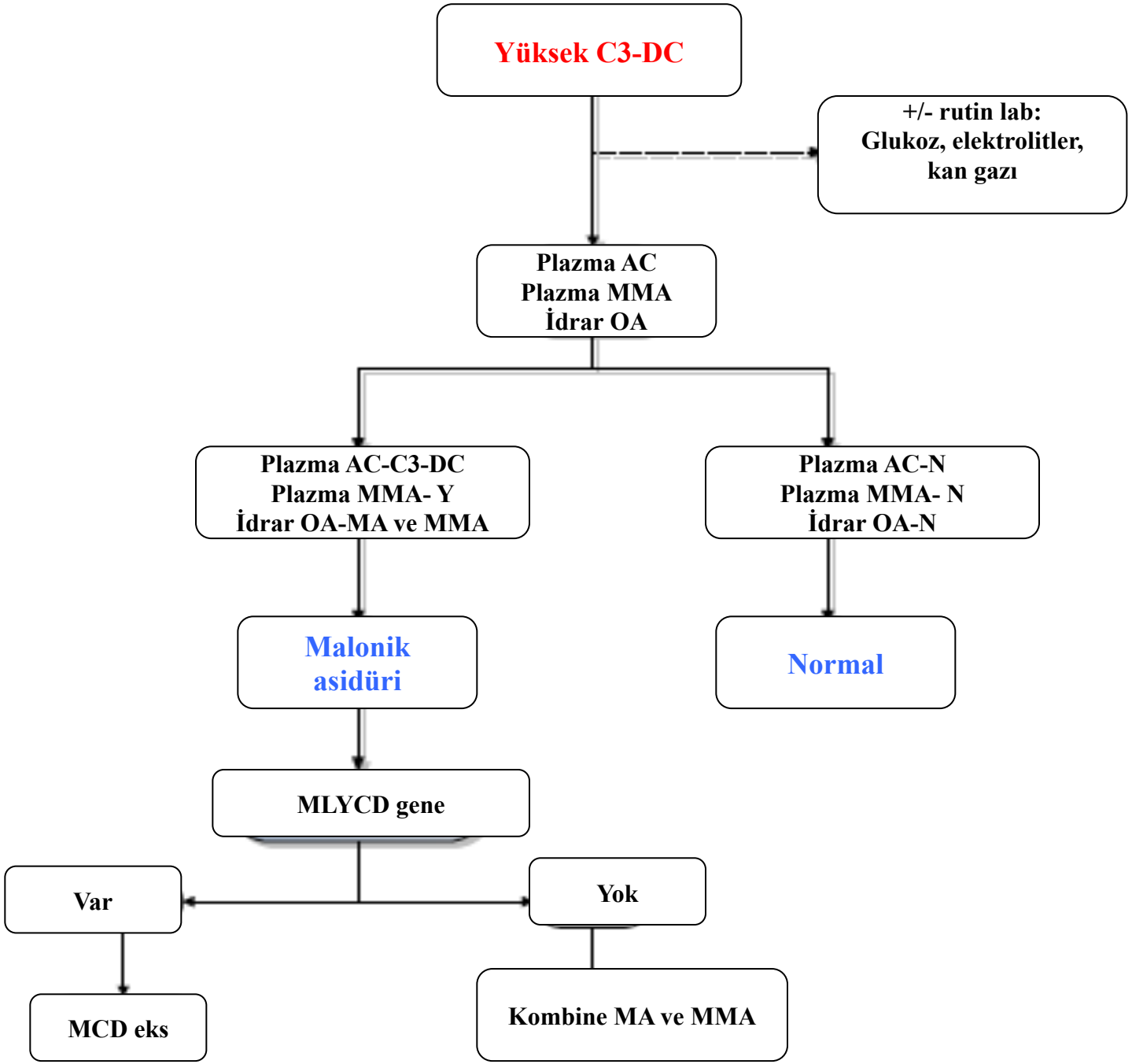
M/Z 360

C3DC(Malonyl-)

C8-OH (3-hidroksi oktanoil-)

(CDC < 0.30 Mmol/l)

- **Artış**
  - Malonik asidüri
  - MKAT (orta zincirli 3-ketoasil koA tiolaz eksikliği)


Yüksek C3-DC
+/- rutin lab:
Glukoz, elektrolitler,
kan gazı
Plazma AC
Plazma MMA
İdrar OA
Plazma AC-C3-DC
Plazma MMA- Y
İdrar OA-MA ve MMA
Plazma AC-N
Plazma MMA- N
İdrar OA-N
Malonik
asidüri
Normal
MLYCD gene
Var
Yok
MCD eks
Kombine MA ve MMA

C10:2

(Dekadienoil-)

CDC <0.15 Mmol/L

m/z 368

- **Artış:**
  - 2,4-dienoyil-koA redüktaz eksikliği

C10:1

(Decenoyl-)

CDC< 0.39 Mmol/l

m/z 370

- **Artış**
  - MCAD eksikliği
  - MADD eksikliği
  - MCT kullanımı
  - Valproik asit kullanımı
  - İlaçlar

C10

(Decanoyl-)

M/Z 372

CDC < 0,45 Mmol/L

- **Artış:**
  - MCAD
  - ***MADD***
  - MCT kullanımı
  - Valproik asit kullanımı

C4DC

(Metilmalonil-/suksinil-)

m/z 374

- **Artış:**
  - MMA
  - SUCLA2, SUCLG1 mutasyonu
  - B12 eksikliği

C5-DC (Glutaril-)
C10-0H (3-hidroksi decanoyl-)

CDC < 0.35 Mmol/L

M/Z 388

- **Artış:**
  - GA tip 1
  - MADD
  - M/SCHAD eks
  - MKAT (Orta zincirli ketoasil koA tiolaz) eks

ORANLAR:

- C5DC/C8 >1.8
- C5DC/C16 > 0.08
- C5DC/C12 >1

BÖBREK YETERSİZLİĞİ !!!!

C12

(Dodecanoyl-)

M/Z 400

- **Artış:**
  - MADD
  - Açlık ketozu

C6-DC

(3-metilglutaril-)

CDC cut off <0,36

m/z 402

- **Artış:**
  - HMG koA liyaz eksikliği
  - **C5OH\C4DC < 0.32**

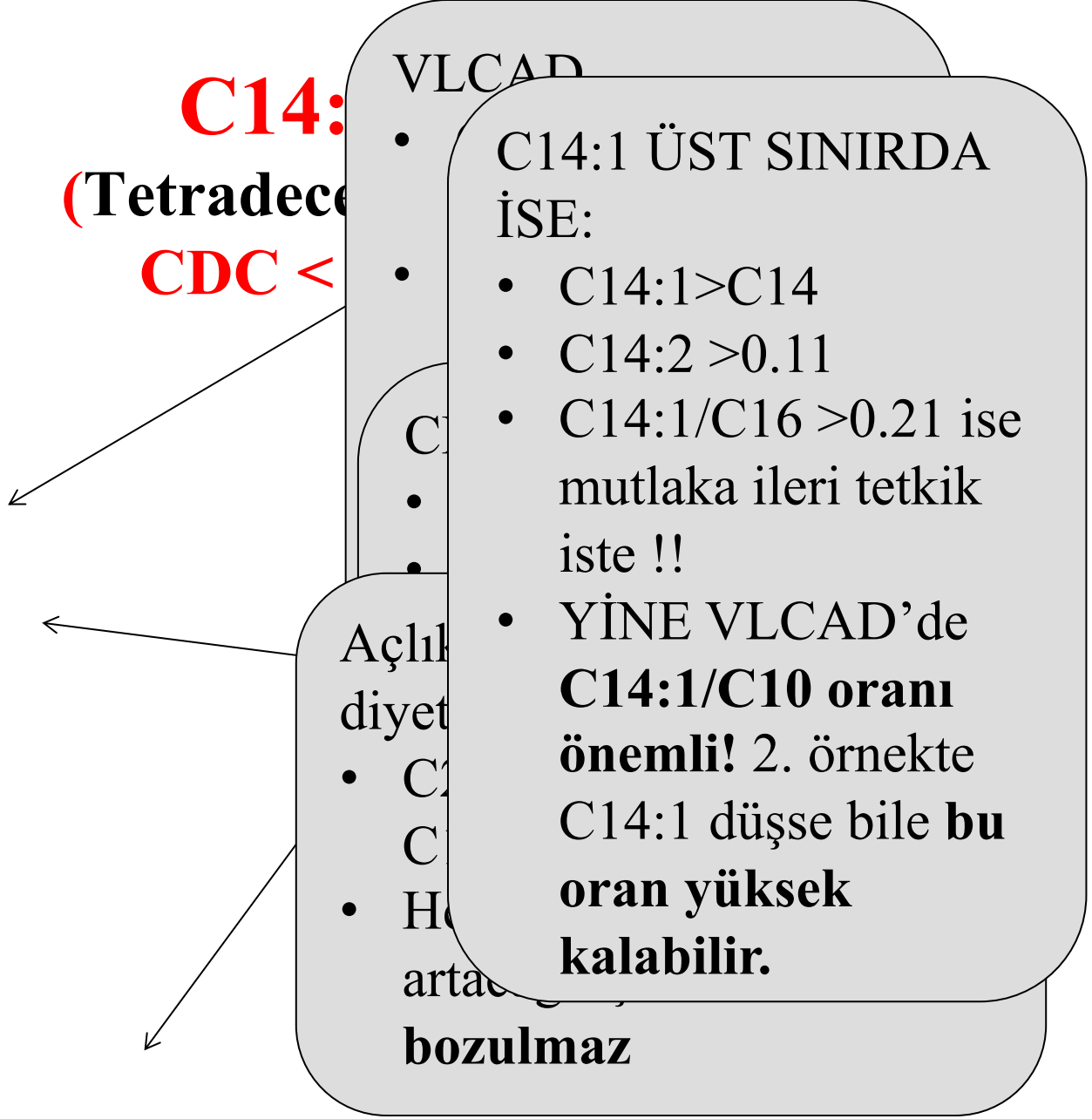
C12-OH

(3-Hidroksidodekanoil-)

m/z 416

- **Artış:**
  - LCHAD/TFP eksikliği

- Artış:
  - VLCAD
  - CPT tip II
  - CACT eksikliği
  - MADD
  - LCHAD/TFP eks
  - Ketojenik diyet
  - Açlık ketozu
  - İlaçlar

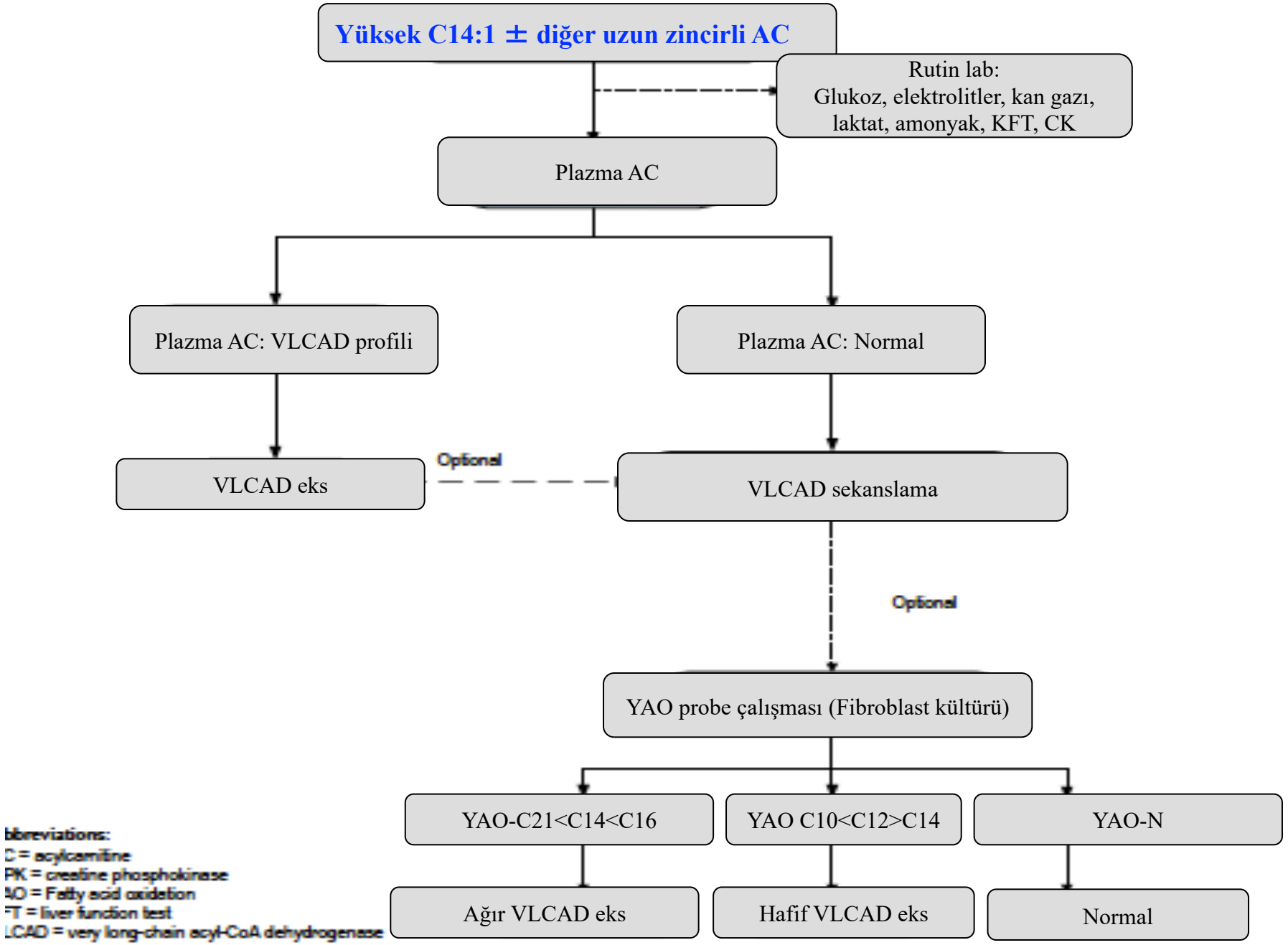


C14

(Miristoyl-)

m/z 428

- **Artış:**
  - CACT eks
  - CPT tip II
  - GA tip II
  - VLCAD eks
  - LCHAD/TFP eks
  - Açlık ketozu (C2 de artacağı için C14:1/C2, C14/C2 oranı değişmez)


Yüksek C14:1 ± diğer uzun zincirli AC
Rutin lab:
Glukoz, elektrolitler, kan gazı,
laktat, amonyak, KFT, CK
Plazma AC
Plazma AC: VLCAD profili
Plazma AC: Normal
VLCAD eks
Optional
VLCAD sekanslama
Optional
YAO probe çalışması (Fibroblast kültürü)
YAO-C21<C14<C16
YAO C10<C12>C14
YAO-N
Ağır VLCAD eks
Hafif VLCAD eks
Normal
bbreviations:
C = acylcarnitine
PK = creatine phosphokinase
AO = Fatty acid oxidation
FT = liver function test
LCAD = very long-chain acyl-CoA dehydrogenase

C14 0H

(3-hidroksi tetradekanoyil-)

M/Z 444

- Artış:
  - LCHAD/TFP eksikliği

- C14OH **>0.12**
  Ve/ ya da
- C16OH
- C16:1 OH
- C18OH
- C18:1OH

C16

(Palmitoyil-)

m/z 456

CDC < 7.5 Mmol/L

- Artış:
  - CPT tip II
  - VLCAD
  - CAT
  - LCHAD/TFP eks
  - MADD

FC düşük

C16, C18, C18:1, C18:2

YÜKSEK

C0/C16+C18:1 < 3

C16

(Palmitoyil-)

CDC < 7.5 Mmol/L

- **Azalma:**
  - **CPT-1 eksikliği**

FC/C16+18 artar >70

(NOT:sepsis vb nekrotik doku artışı olduğunda çok uzun zincirli asilkarnitin düzeyleri artabilir !!!)

- **Primer karnitin eksikliği** (FC ve tüm asilkarnitinler düşük)

C16-OH

(3-Hidroksi hekzadekanoyl-)

m/z 472

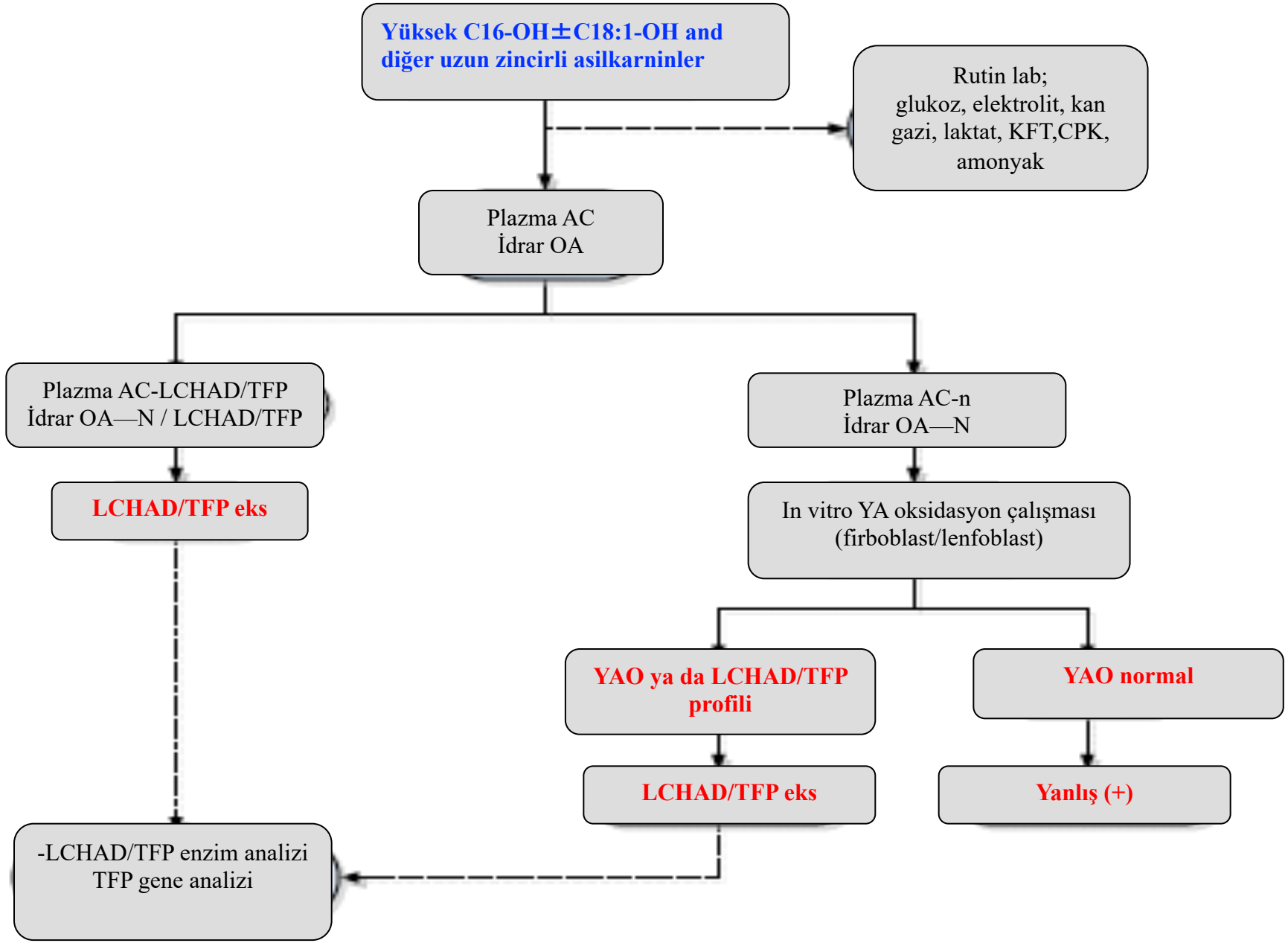
CDC < 0.15 Mmol/L

- Artış
  - LCHAD
  - TFP eksikliği

LCHAD/TFP eksikliği

- C16OH
- C18:1-OH
- C18-OH artar
- Bazen
  - C14-OH
  - C14, C16, C18:1 ve C18 de artabilir
- C16OH/C16 <1

(Tedavi başlayınca oran önemini kaybeder)


Yüksek C16-OH±C18:1-OH and diğer uzun zincirli asilkarninler
Rutin lab; glukoz, elektrolit, kan gazi, laktat, KFT,CPK, amonyak
Plazma AC
İdrar OA
Plazma AC-LCHAD/TFP
İdrar OA—N / LCHAD/TFP
Plazma AC-n
İdrar OA—N
LCHAD/TFP eks
In vitro YA oksidasyon çalışması (firboblast/lenfoblast)
YAO ya da LCHAD/TFP profili
YAO normal
LCHAD/TFP eks
Yanlış (+)
-LCHAD/TFP enzim analizi
TFP gene analizi

C18:2
(Linoleyl-)

- **Artış:**
  - CPT-II eksikliği
  - CAT eksikliği
  - VLCAD
  - LCHAD/TFP eks

C18:1

(Oleyl-)

CDC < 3.5 Mmol/L

m/z 482

- **Artış:**
  - CACT eks
  - CPT-tip II
  - VLCAD
  - LCHAD/TFP eks
- **Azalma:**
  - CPT-tip 1

C18

(Stearoyl-)

CDC < 2.5 Mmol/L

m/z 484

- **Artış:**
  - CACT eks
  - CPT-tip II
  - VLCAD
  - LCHAD/TFP eks

C18:1-OH
(3-hidroksi oleoyl -)

m/z 498

- **Artış:**
  - LCHAD/TFP eks

C18-OH

(3-hidroksi stearoyl -)

CDC < 0.1 Mmol/L

m/z 500

- **Artış:**
  - LCHAD/TFP eks

VE SON OLARAK AMİNOASİTLER……

Amino Acid Profile *(Method: Tandem Mass Spectrometry)*

Disorder	Primary Biomarker
Argininemia (ARG)	Arginine
Argininosuccinic Aciduria (ASA Lyase)	Citrulline
Carbamoylphosphate Synthase Deficiency (CPS)	Citrulline
Citrullinemia (CIT-I)	Citrulline
Homocystinuria (HCY)	Methionine
Hypermethioninemia (MET)	Methionine
Hyperammonemia, Hyperornithinemia, Homocitrullinemia (HHH Syndrome)	Ornithine and homocitruline
Hyperornithinemia with Gyrate Atrophy (HOGA)	Ornithine
Maple Syrup Urine Disease (MSUD)	Leucine plus isoleucine and/or valine
Liver Disease	Various biomarkers
Phenylketonuria (PKU) - *Classical Hyperphenylalaninemia* - *Biopterin Cofactor Deficiencies*	Phenylalanine
Tyrosinemia -*Transient Neonatal Tyrosinemia* - *Tyrosinemia Type I* - *Tyrosinemia Type II* - *Tyrosinemia Type III*	Tyrosine

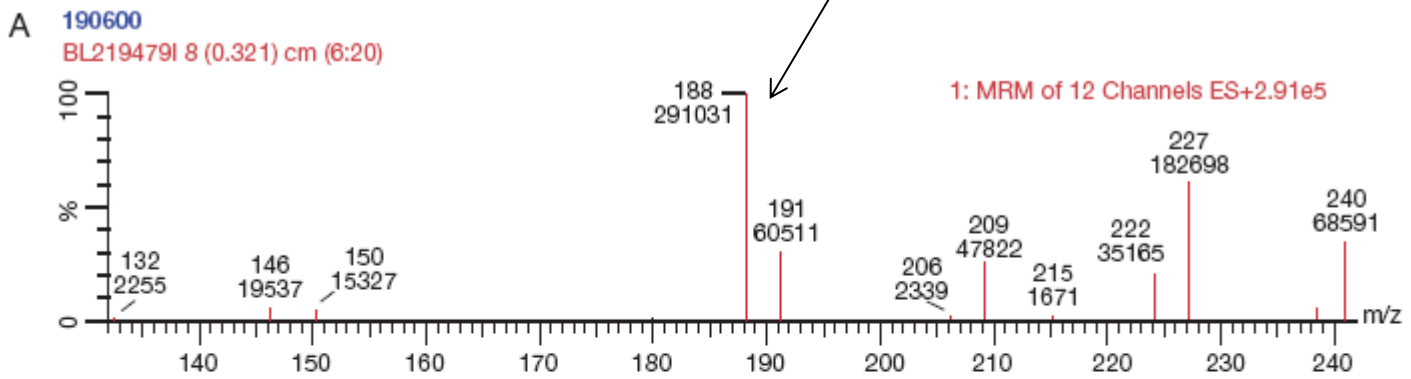
Hangi aminoasitler ??

- Fenilalanin
- Tirozin
- Metionin
- Arginin
- Sitrullin
- Argininosüksinik asit
- Glutamin
- Glutamik asit
- Valin
- İzolösin/lösin
- Glisin
- Ornitin
- Serin
- Alanin

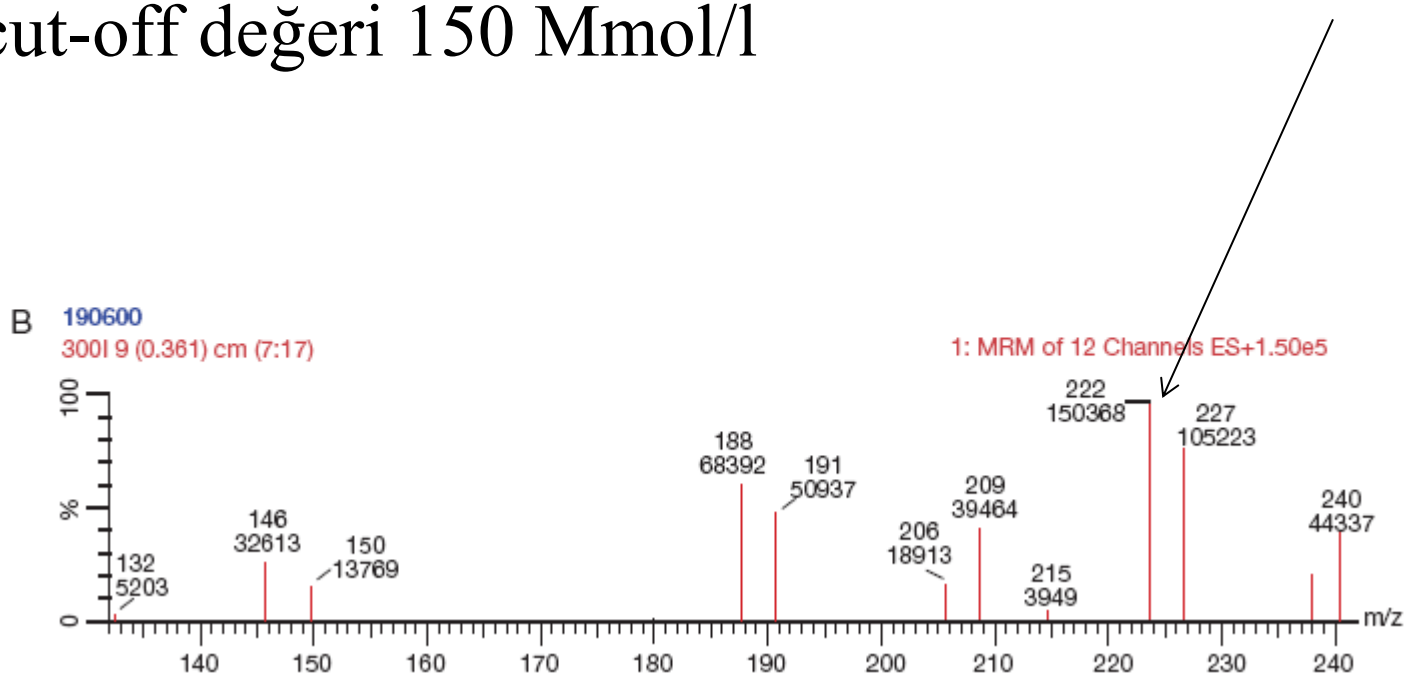
- Dikkat:
  - Lösin piki:
    - Lösin
    - İzolösin
    - Alloizolösin
    - Hidroksiprolin

Val/Phe
(Ile+Leu)/Phe >5.9
(Ile + Leu)/Ala

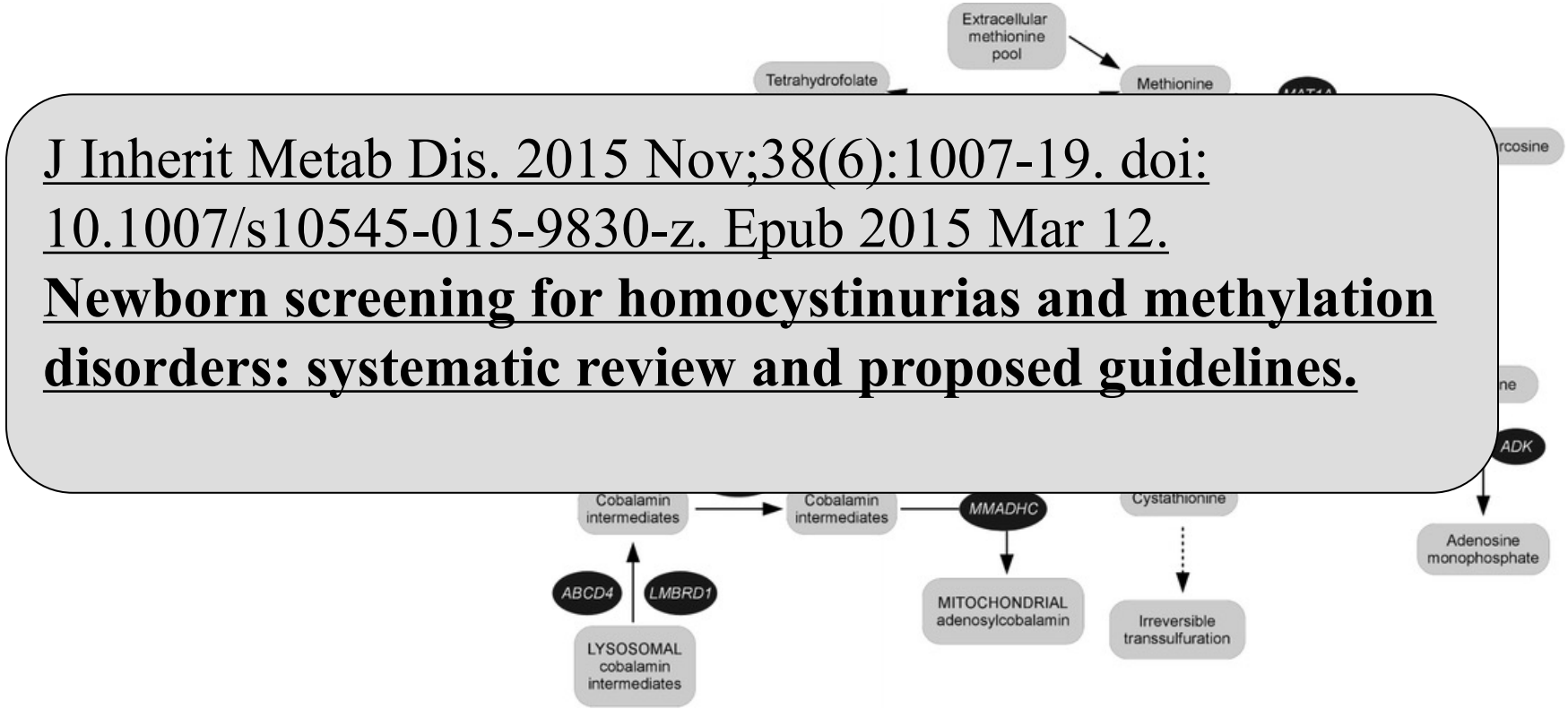
Lösin ve valin cut off < 300 Mmol/L



- Fenilalanin:
  - CDC cut-off değeri 150 Mmol/l



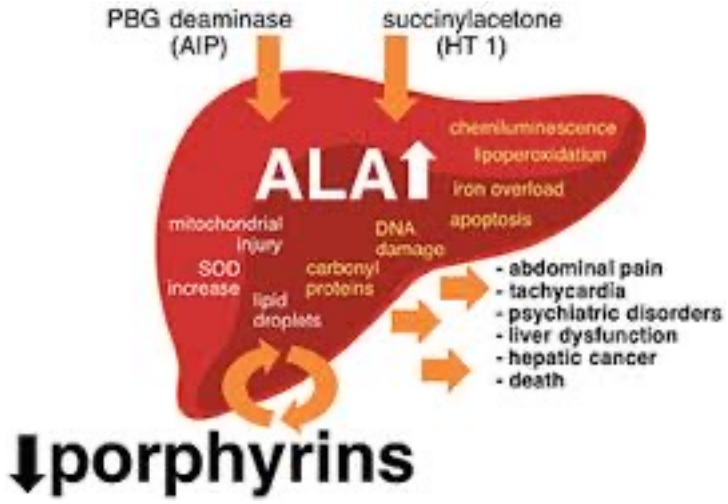
- Metiyonin
  - Sistatiyonin beta sentaz tanısında önemli. Metiyonin/fenilalanin oranı yükselir. (>0.75–0.97)
  - Kc hast, MAT II/III, GNMT, SAHH eksde de artar. Bu nedenle ikinci basamakta homosistein çalışmakta yarar var



J Inherit Metab Dis. 2015 Nov;38(6):1007-19. doi: 10.1007/s10545-015-9830-z. Epub 2015 Mar 12.
Newborn screening for homocystinurias and methylation disorders: systematic review and proposed guidelines.

Simultaneous determination of **cystathionine**, **total homocysteine**, and methionine in dried blood spots by liquid chromatography/tandem mass spectrometry and its utility for the management of patients with homocystinuria. Bártl J, Chrastina P, Krijt J, Hodík J, Pešková K, Kožich V. Clin Chim Acta. 2014 Nov 1;437:211-7.

- Tirozin
  - CDC cut-off 400 Mmol/L
  - Tirozinemi tip 1-2-3 de, kc hasarında artabilir.
  - Tirozinemi tip 1de tamamen normal olabilir.



- **Arginin (CDC cut-off < 70 Mmol/L)**
  - Argininaz eksikliği
- **Argininosüksinik asit:**
  - ASAuri (ASA ve Cit artar)
- **Sitrullin:** (cut-off < 55 Mmol/l)
  - Sitrullinemi tip 1 (cit/arg > 15; Orn/cit < 1.5)
  - PC,LPI
  - Sitrullinemi tip 2
  - ASAuri
- **Ornitin**
  - Hiperornitinemi (HHH)
  - OAT

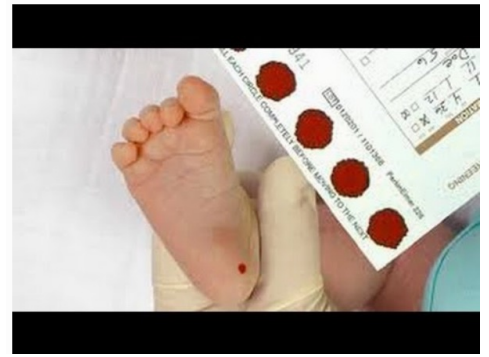
DİKKAT'!
Düşük sitrullin değerleri NAGS, CPS-I ve OTC için uyarıcı olmalı.
Ancak sitrullinin alt sınırının düşük !!!

- **Glisin**
  - Hiperglisinemi
  - Nonketotik HG
  - Yanlış pozitifliği ya da NKHG dışında yükseklik görülme olasılığı yüksek
  - Taramada kullanılmak üzere pek uygun br metabolit değil.

SONUÇ……

AMACIMIZ DOĞUMSAL METABOLİZMA HASTALIKLARININ ERKEN TANI VE TEDAVİSİ İSE

GENİŞLETİLMİŞ YENİDOĞAN TARAMASI UYGULAMASI ÜLKEMİZ İÇİN BİR ZORUNLULUKTUR !!!!



SABRINIZ İÇİN
TEŞEKKÜRLER…..