

YENİ DOĞAN METABOLİK HASTALIKLARI LABORATUVAR YAKLAŞIM

Prof.Dr.Dildar Konukoğlu



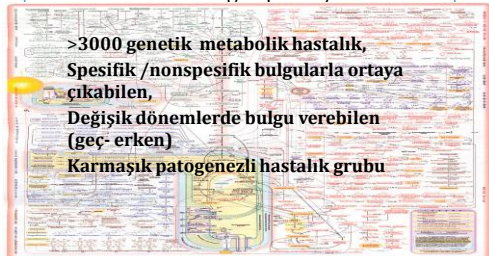
İstanbul Üniversitesi
CTF Tıp Fakültesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı
Merkez Biyokimya Laboratuvarı

İçerik

- Metabolik hastalık nedir?
- Genel klinik özellikleri
- Tanı testleri
- Tarama testleri
- Yeni doğan taramaları

Metabolik Hastalık

Protein, karbohidrat ve lipid, sentezi ya da katabolizması ile ilgili patolojik tablolar



Genel klinik özellikleri

- Yenidoğan döneminde doğuştan metabolik hastalıkların klinik bulguları genellikle **çok ağır**
- Uygun ve acil tedavi edilmez ise **ölümcül**
- Klinik belirtiler genellikle nonspesifik
- Yenidoğan **sistemik enfeksiyon** belirtilerine benzer
- Ciddi hastalığı olan yenidoğanda doğuştan metabolik hastalıklar ayırıcı tanıda mutlaka düşünülmelidir.

Metabolik hastalıkların tanısı çoğu kez geçür

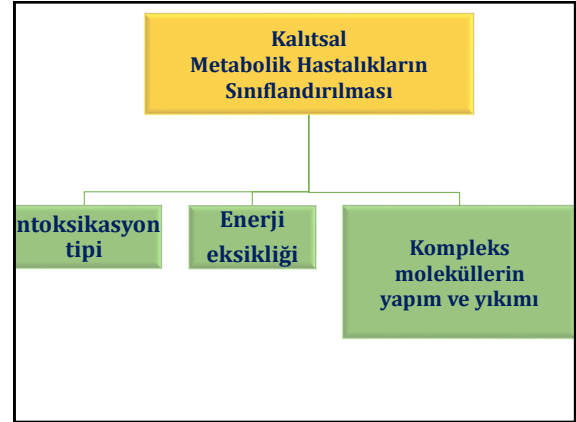
- Metabolik hastalıklar herediterdir. Bunların doğumdan sonra bulgu vereceği düşünülür. Bu yüzde geç çocukluk/ adölesan dönemde klinik bulgu veren hastalarda metabolik hastalık akla gelmez.
- Daha büyük yaş gruplarında metabolik hastalıklar psikomotor, retardasyon ve konvülsiyon gibi olaylarda düşünülür. Diğer bulgular göz ardı edilebilir.

Metabolik hastalık düşündürən semptomlar

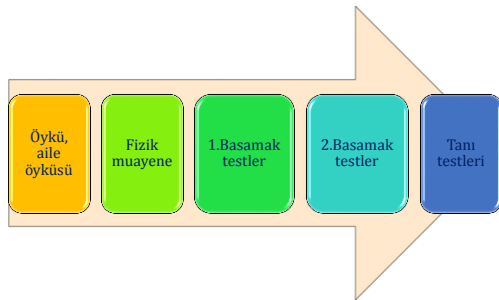
Yenidoğan döneminde akut semptom ve bulgularla	Kusma, beslenme güçlüğü, bilinç değişikliği, koma
Geç dönemde akut veya tekrarlayan semptom ve bulgularla	Ataksi, kusma, asidoz, bilinç değişikliği, koma
Geç dönem	Kronik ilerleyici nörolojik semptom veya bulgularla
Bir organa özel akut veya kronik semptom ve bulgularla	Katarakt İşitme kaybı Reye send. benzer tablo Kardiyak aritmi

Yenidoğan döneminde görülebilecek doğuştan metabolik hastalıklar

- ❑ Amino asidüriler
- ❑ Organik asidemiler
- ❑ Üre siklus defektleri
- ❑ Lizozomal depo hastalıkları
- ❑ Peroksizomal hastalıklar
- ❑ Mitokondriyal hastalıklar
- ❑ Yağ asidi oksidasyon defektleri
- ❑ Galaktozemi
- ❑ Molibden kofaktör eksikliği



Metabolik hastalıkların değerlendirilmesi



Kalıtısal metabolik hastalıkların tanısında başlangıç testleri

Kan

- Tam kan
- Elektrolitler(anyon açığı)
- Kan şekeri, Ca
- Kan gazları
- Ürik asit
- PT
- KC fonksiyon testleri
- Amonyak
- Laktik asit, piruvik asit
- CK

İdrar

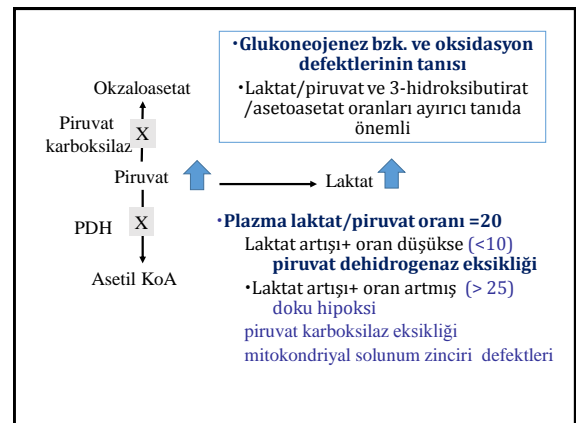
- Koku
- Görünüm
- Redüktan madde
- Ketoasitler(DNPH)
- pH
- Sülfite testi
- FeCl₃
- Nitroprussiyat testi

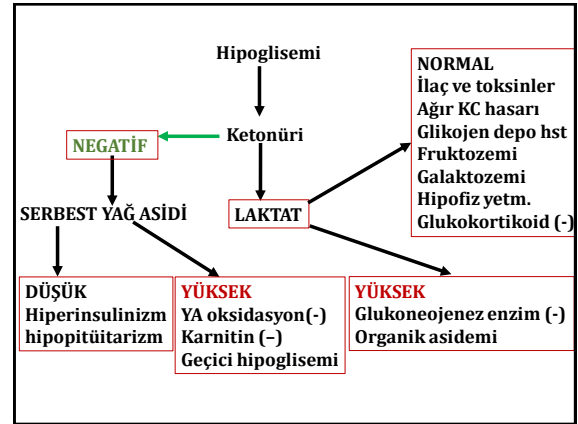
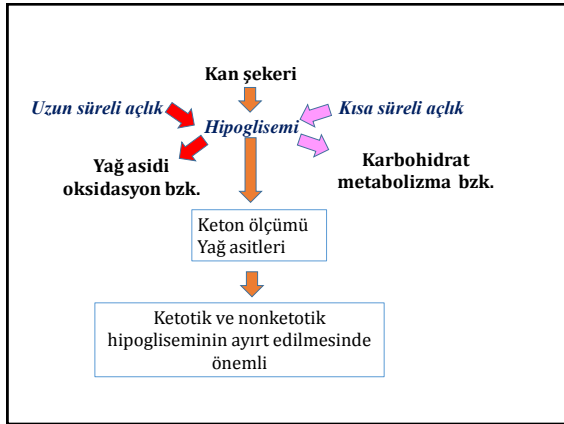
BOS analizi

- Laktik asit, piruvik asit
- Protein

İdrar

- **Redüktan madde** → Galaktozemiler, Herediter fruktoz intoleransının tanısında ilk tarama testi
- Ketoasitler(DNPH; 2,4-dinitrofenilhidrazin testi)
- pH
- **Sülfite testi** - Tedaviye dirençli konvülsiyonlarla karakterize molibden kofaktör eksikliği ve izole sülfite oksidaz (-)
- FeCl₃
- Nitroprussiyat testi-Sistinosis





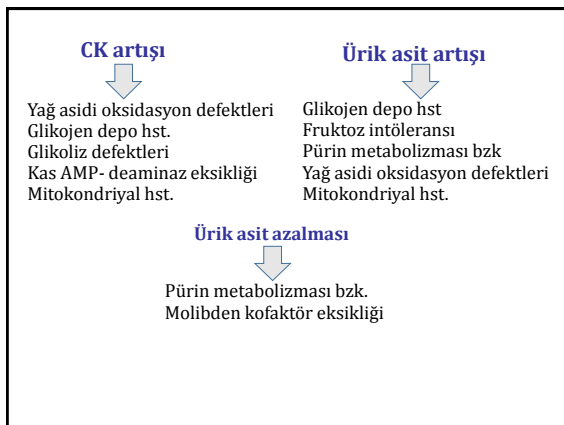
Keton	İdrar testleri sadece asetoasetat'ı ölçtüğü için < bir ay çocuklarda idrarda (+) keton varlığı ağır metabolik bzk.
Amonyak	<ul style="list-style-type: none"> • Açıklanamayan kusma, letarjisi, veya ensefalopati • Normalde açlık düzeyleri <65 µmol /L • >200µmol/L: çoğunlukla kalıtsal bir metabolik hst. • >400µmol/L: genellikle üre döngüsü defektleri

Metabolik asidoz

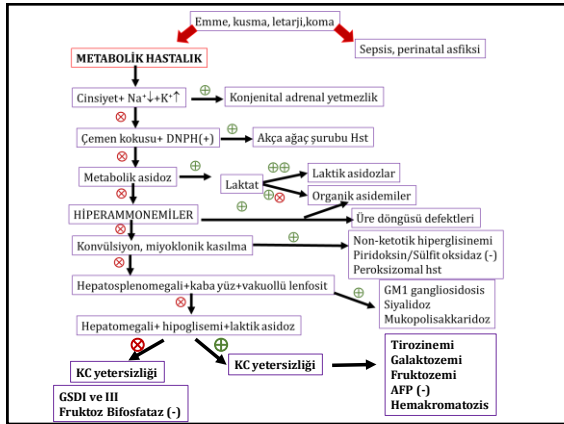
- Laktik asidoz- en sık görülen asit-baz dengesizliği + nadiren ketoz
- Anyon açığının hesaplanması önemli
- Anyon açığı: $[Na - (Cl + HCO_3)]$, pH
- Organik asidemiler
- Bazı glikojen depo hst.
- Glukoneojenez defektleri
- Solunum zinciri hst.
- Piruvat metabolizması bzk.

Respiratuvar alkaloz

Üre siklus defektlerine bağlı hiperammonemi doğrudan SSS üzerinden solunum yoluna etki ile respiratuvar alkalozu neden olabilir

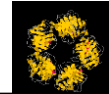


Karaciğer fonksiyonları	Primer hepatik yetm.; Hipoglisemi, galaktozüri, hiperammonemi ve laktik asidoz ilk haftalarda KC yetm. → Mitokondriyal hastalıklar, tirozinemi tip 1, neonatal hemokromatozis, galaktozemi KC yetm. → Üre döngüsü defektleri, yağ asidi oksidasyon bzk
Tam kan sayımı	• Pansitopeni , özellikle nötropeni organik asidemilerin bulgusu olabilir • Vakuolli lenfositler : Lizozomal depo hastalıkları
Lipid artışı	Glikojen depo hastalıkları Lipoprotein hastalıkları



İleri tetkikler

- Kantitatif amino asit ölçümü
- Organik asit analizi (GC-MS)
- Açılkarnitin ve amino asit analizi "Tandem mass spectrometry"
- Çok uzun zincirli yağ asitleri (GC-MS)
- Pürin, pirimidin bazları
- Biyojenik aminler
- GAG, oligosakkaridler
- Enzimatik analizler (Lizozomal depo ve glikojen depo hastalıkları)
- Proteomik, Metabolomik
 - NMR
 - Kütle spektrometre
- Genetik analizler



Yenidoğan taraması

- Erken tanı tedavide başarı sağlanması ve kalıcı sekellerin önlenmesi açısından önemlidir. Bu amaçla bütün dünyada genişletilmiş yenidoğan tarama programları sürdürülmektedir.



Tarama Kriterleri

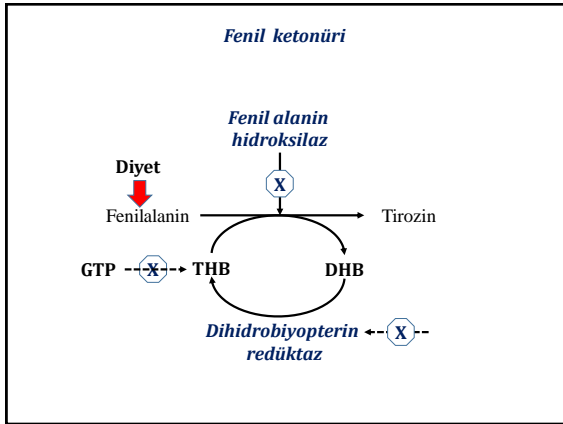
- Taraması yapılacak hastalık öncelikle toplum için önemli bir sağlık sorunu olmalıdır. Bir toplumda en sık görülen, en çok ölüme yol açan, sakat bırakan ve iş gücü kaybına yol açan hastalıklar önemli halk sağlığı sorunu olarak kabul edilir.
- Hastalığın latent veya erken semptomatik bir dönemi olmalıdır. Semptomlar gelişmeden önce verilen tedavi, gelişikten sonra verilen tedaviden daha yararlı sonuçlar sağlayabilmelidir.
- Hastalık tedavi edilmezse ağır hasar oluşturmaldır.
- Hastalığın doğal seyri bilinmelidir.
- Hastalık için, etik, güvenli, uygun ve pratik test ve muayene yöntemleri olmalı ve bunlar toplum tarafından kabul edilmelidir.

Tarama Kriterleri

- Taramada kullanılacak tanı yöntemlerinin validitesi (geçerliliği) ve sensitivitesi (hassasiyeti) mümkün olduğunca yüksek olmalı
- Taraması yapılacak hastalığın uygun ve etkili bir tedavi yöntemi olmalı
- Taramanın maliyeti düşük, yararı yüksek olmalı
- Toplumda yeni vaka bulma işi sürekli olmalı
- Hastalığın prevalansı nispeten yüksek (1/10000-15000'den büyük) olmalı
- Numune alma işleminin basit olmalı, örneklerin transportunun kolay olması

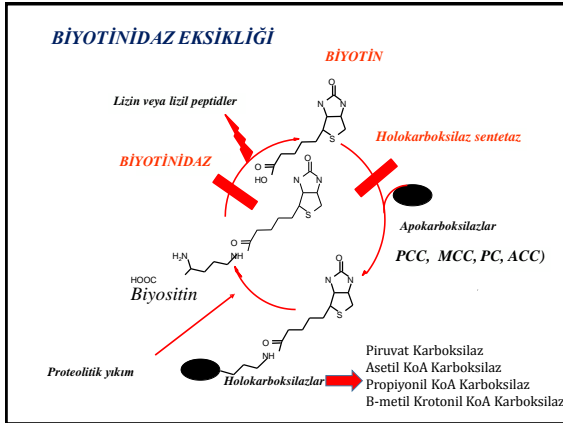
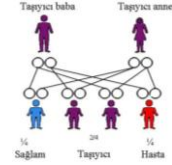
Kalıtısal Metabolik Hastalıklar

Fenilketonüri	Konjenital Hipotiroidi
Hemoglobinopatiler	Enfeksiyöz(HIV, Toxoplazmoz)
Galaktozemi	Tümör (Nöroblastoma)
MSUD	Kurşun Zehirlenmesi
Biotinidaz eksikliği	Hiperkolesterolemi
Homosistinüri	Orta Zincirli Açıl-KoA DH(-)
Tirozinemi	G-6-PD (-)
Konjenital Adrenal Hiperplazi	α1-Antitripsin eksikliği
Kistik Fibrozis	Duchenne Musküler Distrofi



FENİL KETONÜRİ

- Türkiye fenilketonüri hastalığının en sık görüldüğü bir ülkedir.
- Hastalığın oluşması için anne ve babanın her ikisinin de taşıyıcı ve/veya hasta olması gerekir.
- Anne veya babadan tek bozuk gen alan çocuk taşıyıcı olarak doğar.
- Taşıyıcılar sağlıklıdır ancak hasta geni bir sonraki kuşaklara iletirler.



Konjenital hipotiroidizm

İnsidans 1/4000
Tiroid hormon sentezinde yetersizlik



Mental ve gelişme geriliği

Kistik fibrosis

- Kistik fibrosis yaşam süresini kısaltan ve yaşam kalitesini etkileyen kalıtsal bir hastalıktır
- Hastalık akciğerdeki solunum yollarında yoğun sekresyonlara ve tekrarlayan akciğer enfeksiyonları sonucunda kronik akciğer hastalığına yol açar.
- Sindirim sistemi de sıklıkla etkilenir ve malabsorpsiyon nedeniyle hastalar kilo alamazlar
- Kistik fibrosis hastaları erken tanı alırlar ve uygun tedavi edilirse hem yaşam süreleri uzar hem de yaşam kaliteleri artar

Genişletilmiş Yenidoğan Taraması

- Son yıllarda birçok ülkede 'Genişletilmiş Yenidoğan Taraması' programına geçilmiştir.
- Tandem Mass Spektrometri cihazı ile uygulanan yenidoğan taramasında, 35'in üzerinde hastalığın taraması yapılmaktadır.
- Ek yöntemler uygulanarak; Biotinidaz eksikliği, Galaktozemi, Doğumsal adrenal hiperplazi, Orak hücreli anemi, Glukoz-6 fosfat-dehidrogenaz eksikliği gibi hastalıklar da tarama programına eklenebilmektedir.

TANININ DOĞRULANMASI

Tanı konulması:

GC-MS ile organik asid analizleri PA?
MMA?METH? ARGİNİNOSUKSİNİKASİDÜRİ?

Likid kromatografi amino asid analizleri ile

Doku enzim analizleri

Moleküler genetik analizler

Tarama testi

- Yeni doğan tüm bebeklere uygulanır.
- Doğru zamanda, doğru materyalle kan örneği alınmalı ve örneğin vakit geçirilmeden laboratuvara ulaşması sağlanmalıdır.
- Kan alınmadan önce bebeğin en az 24, ideali 48-72 saat beslenmiş olması gerekir
- Kan özel filtre kağıdına alınmalı
- Kan örnekleme en kısa sürede laboratuvara ulaştırılmalı

Tarama testi HASTALIK ŞÜPHESİNİ gösterir, KESİN TANI YÖNTEMİ DEĞİLDİR

TARAMA İÇİN KAN ALMA

İdeal olan yaşının 3-5. günlerinde

- Hasta bebekler
- Prematüre bebekler
- Sağlıklı doğan bebeklerden
Kan örneği alınmalıdır!
- Hasta bebekler nakledilecek ise nakilden önce
Kan örneği alınmalı, çıkış özetinde belirtilmelidir!
- Nakil gelen bebeklerde çıkış özetinde not yoksa
Kan örneği alınmalıdır!
- **❖ Bebeğe kan değişimi yapılacaksa, değişim yapılmadan önce veya yapıldıktan sonra beslenmeyi takiben 48-72 saat sonra kan alınmalı ve bu durum Guthrie kağıdı ile birlikte olan bilgi formunda belirtilmelidir.**

NE ZAMAN

mutlaka 2. kan örneği alınmalıdır??

- Hastanelerde doğan ve topuk kanı ilk 24 saatten önce alınan bebeklerden ikinci kan örneği mutlaka doğumu takip eden 3.-7. günler arası,
- İntravenöz mayi ile tedavi edilen yenidoğanlarda ağızdan beslenmeye başladıktan 24 saat sonra,
- Prematüre bebeklerde doğumu takip eden 10-15. günlerde,
- Antibiyotik tedavisindeki bebeklerden, ilaç kesildikten en az 48 saat sonra.
- Kan değişimi yapıldıysa beslenmeyi takiben 48-72 saat sonra.

Amino asit analizi

- **Örnekler**
 - **Plazma:** En az 0,5 ml heparinli tüpe, sabah açlıkta veya son yemekten 4-6 saat sonra (Gönderirken acilen santrifüj edilip mümkünse kuru buzda)
 - **İdrar:** 5-10mL(donmuş)
 - **BOS:** 0.5mL
 - **Plazma, idrar ve BOS amino asitlerinin referans değerleri yaşa göre değişir**

Organik asit analizi

- GC-MS
- **Örnekler**
 - Spot idrar uygun, sabah idrarı tercih edilir, Dondurularak kuru buzda gönderilmeli
 - Bakteriyel bulaşma önemli
 - Kullanılan ilaçlar ve diyet analizi etkiler
 - Plazma; BOS, vitreus sıvısı: 1mL hemen dondurulmalı, kuru buzda gönderilmeli
 - **Örneklerin semptomlu zamanda toplanması çok önemlidir**

TMS ile açılıkarnitin ve amino asit analizi

- Tarama için kan örnekleri ilk 48-72 saat içinde
- Riskli hastalardan atak anında kan alınması tercih edilir
- Örnek alma tekniği önemlidir
- Numuneler serin ve kuru bir ortamda saklanmalıdır.
- Plazma örnekleri dondurularak gönderilmelidir

Örnek alındıktan sonra...

- Topuk kanı örneği **3 saat oda sıcaklığında** kurumaya bırakılmalı
- Bundan sonra zarf ya da kutu içinde **buzdolabında +4°C'de** saklanmalı
- Kapalı zarf ya da kutuda** gönderilmelidir

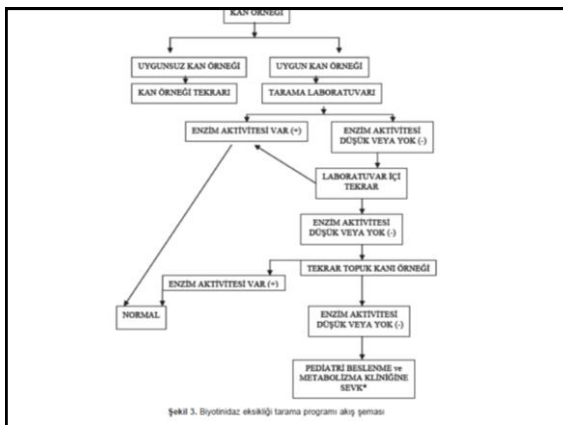
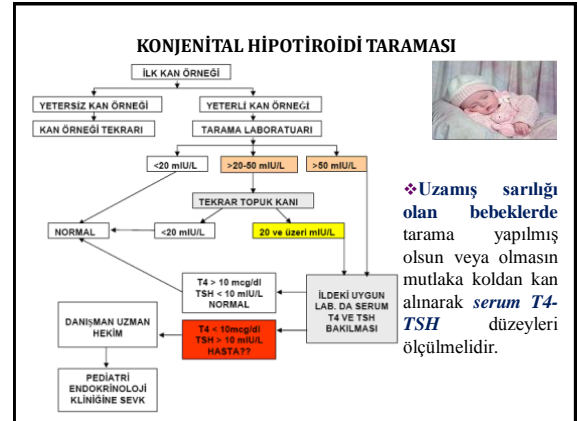
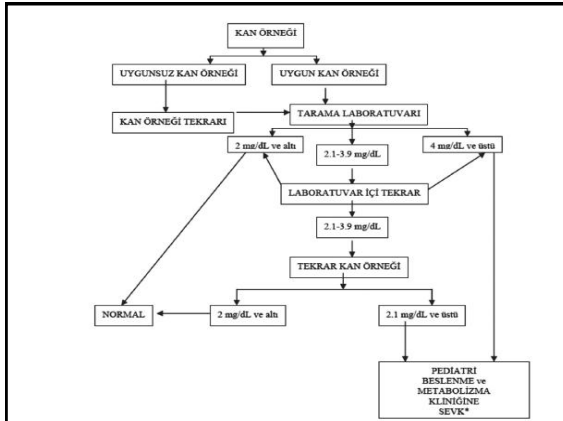
Topuk kanı tekrarında !!!!

Tekrar örnekleri zaman yitirilmeden alınıp laboratuvara gönderilmelidir

Örneğin bilgi formuna **TEKRAR** yazılmalıdır

Birinci ayını dolduran bebeklerde topuk kanında TSH ölçümünün **DEĞERİ YOKTUR!!**

koldan kan alınmalı ve serum T4-TSH ölçülmelidir



Şekil 3. Biotinitaz eksikliği tarama programı akış şeması

Kistik fibrozis

- 1 Ocak 2015 tarihi itibarı ile dünyanın birçok gelişmiş ülkesinde olduğu gibi "Kistik fibrozis" ülkemizde de yenidoğan tarama programına alınmıştır.
- Tarama **programı iki aşamalı olarak** yapılmaktadır.
- Alınan ilk tarama testinde pozitif sonuç saptanan bebekler ikinci bir kan örneği alınması için tekrar çağrılmaktadır.
- İkinci kan örneğinde de pozitif değer saptanırsa bu kez kistik fibrozis hastalığının olup olmadığını araştırılması için bazı testler yapılması gerekmektedir.

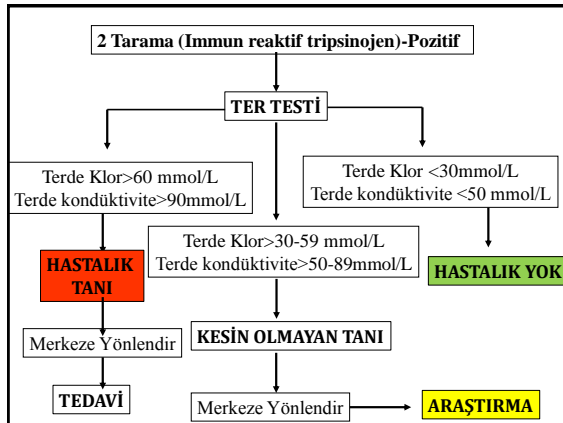
Ter testi

- Ter testinde **hastaların terindeki klor miktarı** ölçülür.
- Bu işleme terde klor ölçümü denir ve tercih edilen yöntemdir.
- Ülkemizde ise terde klor ölçümü çok az merkezde yapılabildiğinden genellikle terde konduktivite ölçülmektedir.
- Konduktivite ölçümünde terde klor yanında sodyum, potasyum gibi diğer iyonlarında ölçümü yapıldığından ter testi için pozitiflik değerleri değişmektedir.

Ter testi yorumlanırken,

- Sonucu veren laboratuvarın hangi yöntemle testi yaptığı
- Sonuç aralıkları
- Yaş grupları

Yöntem	Yaş grupları	Ter testi negatif (KF olasılığı çok düşük)	Ara değer (Test tekrarı gerekir)	Ter testi pozitif (KF tansımı destekler)
Terde klor ölçümü	İlk 6 ay	<30 mmol/L	30-59 mmol/L	>60 mmol/L
	6 ay ve üzeri	<40 mmol/L	40-59 mmol/L	>60 mmol/L
Terde konduktivite ölçümü	Her yaş grubu	<50 mmol/L	50-89 mmol/L	>90 mmol/L



Tedavi-Temel ilkeler;

- Katabolizmanın önlenmesi
- Neden olan maddenin alınımının sınırlandırılması
- Toksik metabolitlerin atılımının artırılması
- Rezidüel enzim aktivitesinin artırılması
- Transplantasyon, gen tedavisi

SONUÇ

- Örneklerin UYGUN ALINMASI
- Uygun alınmamış örneklerin TEKRAR EDİLMESİ
- Bilgi formunun DİKKATLİ doldurulması
- Tarama konusunda bilinçli olmak
- Tarama organizasyonunda, bebeğe ulaşmada hızlı hareket etmek gerektiğini unutmamak
- Bebeklerin taranıp taranmadığını kontrol etmek
- Aileleri tarama konusunda bilgilendirmek ve bilinçlendirmek