

Vastsündinute laiendatud sõeluurimise juurutamine Eestis 19 kaasasündinud ainevahetushaiguse suhtes: esimese 1,5 aasta tulemuste kokkuvõte

Karit Reinson^{1,2}, Ursula Ilo³, Kadi Künnapas², Mari-Anne Vals^{1,2,4}, Kai Muru², Annika Kriisa², Katrin Õunap^{1,2}

Eesti Arst 2016;
95(8):506–514

Saabunud toimetusse:
27.11.2015
Avaldamiseks vastu võetud:
01.03.2016
Avaldatud internetis:
30.09.2016

¹ TÜ lastekliinik,
² Tü Kliinikumi ühendlabori
geneetikakeskus,
³ Tü molekulaar- ja
rakubioloogia instituut,
⁴ Tü Kliinikumi lastekliinik

Kirjavahetajaautor:
Karit Reinson
karit.reinson@kliinikum.ee

Võtmesõnad:
kaasasündinud
ainevahetushaigus,
vastsündinute laiendatud
sõeltestimine, tandem-
mass-spektromeetria

Taust. 1993. aastast alates on Eestis vastsündinuid sõeluuritud fenüülketonuuria ja 1996. aastast alates kaasasündinud hüpotüreooosi suhtes. Enamikus arenenud riikides kasutatakse vastsündinute sõeltestimisel tandem-mass-spektromeetriat, mis võimaldab testida ühe verepleki põhjal kuni 29 päriliku ainevahetushaiguse suhtes.

Metoodika. Üle-eestilise vastsündinute laiendatud sõeltestimise pilootprojekt algas 01.01.2014. Sellega lisati eelnevalt uuritud haigustele juurde veel 18 uut ravitavat ainevahetushaigust (aminoatsiduuriad, orgaanilised atsiduuriad, rasvhapete beetaoksüdatsioonihäired, karnitiini transpordihäired ja B₁₂-vitamiini puudulikkus).

Tulemused. 1,5 aasta jooksul sõeltestiti 20 147 vastsündinut, neist 11 lapsel kinnitati diagnoos: ühel biopteriinitundlik fenüülketonuuria, ühel vaba karnitiini vähene sisaldus, ühel I tüüpi glutaraatsiduuria ja 8 vastsündinul kaasasündinud B₁₂-vitamiini puudulikkus. Valepositiivsete tulemuste osakaal oli 0,16% ja positiivne ennustav väärtus 25,58%. Teadaolevalt valenegatiivseid tulemusi ei olnud.

Sel perioodil arvatati korduvalt Eesti populatsioonile iseloomulikud metaboliitide otsustuspiiri väärtused ning alates 7. uuringukuust alustati USA Mayo kliiniku hallatava andmebaasi Region 4 Stork kasutamist, sest see võimaldab suurendada positiivset ennustavat väärtust ning vähendada valepositiivsete tulemuste osakaalu, säilitades piisavalt suure tundlikkuse.

Järeldused. Heade tulemuste saavutamiseks, eriti väiksema esinemissagedusega haiguste puhul ning väikese sündimusega riikides nagu Eesti, on oluline nii rahvusvaheline kui ka riigisisene koostöö, mis tagab testimiseks vajaliku pädevuse, efektiivsuse ja ravikvaliteedi.

Paljud pärilikud ainevahetushaigused (av-haigused) avalduvad vastsündinu- ja/või imikueas. Osa, peamiselt ravitavate av-haiguste diagnoosimiseks kasutatakse kogu maailmas vastsündinute sõeltestimise programme, sest need võimaldavad üles leida veel asümptoomsed imikud, kelle organismis esinevad juba olulised biokeemilised kõrvalekalded. Uuritavad haigused on valdavalt dieetravi, spetsiaalse piimasegu ja/või toidulisanditega edukalt ravitavad, kuid nende ravimata jätmise korral kaasneb oluline arenguhäire ja/või enneaegne surm (1). On väidetud, et vastsündinute sõeltestimise programmid on viimase sajandi

üks olulisem laste tervist parandav meede (2). Laiendatud sõeltestimisel on võimalik ühe testiga tuvastada kümneid haigusi ning seeläbi ennetada raskeid tagajärgi (3). Enamikus Euroopa Liidu riikides, USAs ja Austraalias on üle mindud kõikide vastsündinute tandem-mass-spektromeetria (tandem-MS) meetodil sõeluurimisele, mis võimaldab testida ühest vereplekist kuni 29 pärilikku av-haigust (4, 5). Uuritavate haiguste arv on riigiti erinev. Täpsem ülevaade vastsündinute sõeltestimise olemusest ja näidustustest on avaldatud varem (6).

1993. aastast alates on Eestis vastsündinuid sõeluuritud fenüülketonuuria (ingl

phenylketonuria ehk PKU) ja 1996. aastast alates kaasasündinud endokriinhäire hüpotüreooosi suhtes. 2014. aastast alates alustati TÜ Kliinikumi ühendlabori geneetikakeskuses üle-eestilise vastsündinute laiendatud sõeltestimise pilootprojekti, mille käigus lisati sõeluuritavate haiguste hulka lisaks PKU-le ja kaasasündinud kilpnäärme alatalitlusele veel 18 uut ravitavat av-haigust (aminoatsiduuriad, orgaanilised atsiduuriad, rasvhapete beetaoksüdatsiooniaired, karnitiini transpordihäired ja B₁₂-vitamiini puudulikkus) (vt tabel 1). Eestis alustatud vastsündinute laiendatud sõeltestimisel uuritavad haigused on paljuski kokku pandud Euroopa ja USA kogemuse põhjal (4, 7–9). Otsustamisprotsessi kaasati kõik Eestis tegutsevad pärilike av-haiguste spetsialistid. Eelmainitud riigid on raporteerinud kaasuva leiuna kaasasündinud omandatud B₁₂-vita-

miini puudulikkust (10), mistõttu otsustati Eestis lisada see ainevahetuse kõrvalekalle juba sõeltestimise alguses protokoll, sest see annab võimaluse võtmemetaboliitide otsustuspiire kohandada ka omandatud B₁₂-vitamiini puudulikkuse kohta ja seega vajadusel korraldada vastsündinule täpsustavad analüüsid.

Pilootprojekti eesmärk oli juurutada uus sõeltestimise laborimetoodika ja selle abil diagnoosida Eestis võimalikult vara mitmeid ravitavaid pärilikke av-haigusi. Metoodika juurutamisel rakendati mitmeid laborisisesid ja -väliseid kontrollimehhanisme, et hinnata analüüsi töökindlust ja tulemuste usaldusväarsust. Pilootprojekti vältel arutati Eesti populatsioonipõhised otsustuspiiri väärtused (ingl *cut-off*-väärtused), mille alusel määrati metaboliitide kontsentratsiooni normivahemikud, et

Tabel 1. Eestis sõeltestitavad haigused tandem-MSi-meetodil koos (eeldatava) esinemissagedusega

AINEVAHETUSHAIGUSED	LÜHEND	OMIM NR	SAGEDUS
Aminoatsiduuriad			
Fenüülketonuuria	PKU	261 600	1 : 10 000 1 : 6010*
Vahtrasiirupitõbi	MSUD	248 600	1 : 200 000
Türosineemia, tüüp I	TYR I	276 700	1 : 100 000
Homotsüstinuuria	HCU	236 200	1 : 150 000
Arginineemia	ARG	207 800	1 : 350 000
Tsitruullineemia, tüüp I	CIT	215 700	1 : 60 000
Orgaanilised atsiduuriad			
Isovaleraatatsiduuria	IVA	243 500	1 : 100 000
Metüülmalonaatatsiduuria	MMA	251 000	1 : 75 000
Propionaatatsiduuria	PPA	606 054	1 : 75 000
Glutaaratsiduuria, tüüp I	GA I	231 670	1 : 50 000
Glutaaratsiduuria, tüüp II	GA II	231 680	1 : 200 000
B ₁₂ -vitamiini puudulikkus			1 : 5000***
Rasvhapete ainevahetushäired			
Keskmise ahelaga atsüül-CoA dehüdrogenaasi puudulikkus	MCAD	201 450	1 : 15 000
Pika ahelaga hüdroksüatsüül-CoA dehüdrogenaasi puudulikkus	LCHAD	609 016	1 : 75 000 1 : 94 864**
Väga pika ahelaga atsüül-CoA dehüdrogenaasi puudulikkus	VLCAD	201 475	1 : 75 000
Karnitiini transportija puudulikkus	CUD	212 140	1 : 75 000
Karnitiini-atsüülkarnitiini translokaasi puudulikkus	CACT	212 138	1 : 1 000 000
Karnitiin palmitoüültransferaas I puudulikkus	CPT I	255 120	1 : 1 000 000
Karnitiin palmitoüültransferaas II puudulikkus	CPT II	255 110	1 : 1 000 000

Esinemissagedused: Garg ja Dasouki, 2006

* Ünnap jt, 1998 (24); ** Joost jt, 2012 (29); *** Scolamiero jt, 2014 (10)

OMIM - *Online Mendelian Inheritance in Man* on internetipõhine versioon projektist *Mendelian Inheritance in Man* (inimese mendellik pärilikkus)

tuvastada haiguslikud kõrvalekalded. 2015. aastast alates on üle-eestiline vastsündinute laiendatud sõeltestimine Eesti Haigekassa tervishoiuteenuste loetelus (11).

Artiklis on antud ülevaade vastsündinute laiendatud sõeluurimise 1,5 aasta töö tulemustest.

MATERJAL JA METOODIKA

Vastsündinute laiendatud sõeluurimisel osalevatelt vastsündinutelt (sh pilootprojekti käigus) kogutakse 2.–7. elupäeval (valdavalt 72–120 tunni jooksul pärast sündi) kannast kapillaarvereproov spetsiaalsele filterpaberile Whatman 903 (GE Healthcare Life Sciences, Suurbritannia). See kuivatatakse 4 tunni jooksul toatemperatuuril ning saadetakse erinevatest meditsiinasutustest üle Eesti TÜ Kliinikumi ühendlabori geneetikakeskusesse, kus viiakse läbi analüüs.

Sõeltestimise programmis kasutatakse *MassChrom Kit*'i aminohapete ja atsüülkarbamiinide analüüsiks vedelikkromatograafia (LC) tandem-MSi-meetodit (Chromsystems, Gräfeling, Saksamaa). Proovide ettevalmistamisel ning analüüsimisel jälgiti tootja protokollit, meetodi täpsed parameetrid ja massiüleminekud on kättesaadavad tootja kodulehel. Töös kasutati kommertsiaalset *in vitro* diagnoosimise *kit*'i Kõik analüüsid tehti TÜ Kliinikumi ühendlaborisse soetatud kõrgsurvevedelikkromatograafia (ingl *high-pressure liquid chromatography*, HPLC) (Waters, Milford, Massachusetts, USA), mis võimaldab analüüsi teha oluliselt väiksema ajakuluga ning aeg on vastsündinute sõeltestimisel oluline tegur.

Esimestel pilootprojekti kuudel kasutasime kirjandusest saadud otsustuspiiri väärtusi. Pärast 1000-lt Eestis sündinud vastsündinult võetud vere analüüsimist arvutati juba Eesti-sisese otsustuspiiri

väärtused (metaboliitide 1. ja 99. protsentiiil). Andmete kogunemisel sai korduvalt need väärtused üle arvatud ning viimased tulemused, mida jätkuvalt kasutatakse, on arvatud esimese 15 kuu andmete põhjal. Eelmainitud väärtuste rahvastikupõhised tulemused on väga olulised, et määrata kindlaks haigusseisunditele iseloomulikud kõrvalekalded võrreldes tervete vastsündinute vastavate metaboliitide sisaldusega. Andmetöötluseks kasutati programme Excel (Microsoft Corp., Redmond, Oregon, USA) ja SAS 9.2. (SAS Institute Inc., North Carolina, USA).

VASTSÜNDINUTE SÕELTESTIMISE PROGRAMMI 1,5 AASTA TULEMUSED

Vastsündinute laiendatud sõeltestimise pilootprojekt kestis 12 kuud (01.01.–31.12.2014), mille jooksul uuriti kokku 13 632 vastsündinut. Uuringu tegemiseks oli eelnevalt taotletud Tartu Ülikooli inimuuringu eetika komitee luba (231/T-5, 18.11.2013). Analüüsist leitud kõrvalekalde tõttu kutsuti välja 33 vastsündinut. Projektis osalemast keeldusid kirjalikult 49 vastsündinut vanemad (kõikidest sündidest 0,36%) ning seega hõlmas laiendatud sõeluurimine pilootuuringu jooksul 99,64% Eesti vastsündinutest.

Pilootprojekti esimese 6 kuu jooksul kutsuti lisauuringutele 22 last (kokku sõeluurituid 6339). See oli periood, kus kogemusi oli veel vähe ning enamik kõrvalekalletega analüüse korrati üle veeniverest. Pilootprojekti järgneva 6 kuu jooksul (01.07.–31.12.2014) kutsuti välja 11 last (kokku sõeluurituid 7293), sest 7. uuringukuuks olid teist korda üle arvatud Eesti-sisese otsustuspiirid ja kasutusele võetud USA Mayo kliiniku hallatav andmebaas Region 4 Stork (R4S) (täpsemat kirjeldust vt peatükist

Tabel 2. Sõeltestimise koondtulemused

	01.01.– 30.06.2014	01.07.– 31.12.2014	Pilootuuring 2014	01.01.– 30.06.2015	18 kuu koondandmed
Sõeltestitud kokku	6339	7293	13 632	6515	20 147
Tagasi kutsutud	22	11	33	10	43
Valepositiivsed	18	7	25	7	32
Tõelised positiivsed	4	4	8	3	11
Tõelised negatiivsed	6335	7289	13 624	6512	20 136
Valepositiivsete osakaal (FPR)	0,28%	0,10%	0,18%	0,11%	0,16%
Positiivne ennustav väärtus (PPV)	18,18%	36,36%	24,24%	30,00%	25,58%

„Rahvusvaheline koostöö“). Pilootprojekti käigus esines 25 valepositiivset tulemust, s.o 0,18% esimese 12 kuu jooksul, kusjuures projekti esimese 6 kuu tulemustes oli valepositiivsete tulemuste osakaal (FPR) 0,28% ning 7.–12. kuu tulemustes vähenes see 0,09%-ni. Positiivne ennustav väärtus (PPV) oli esimese 6 kuu jooksul 18%; teisel poolaastal 36% ning pilootprojekti kohta tervikuna 24% (8 vastsündinul kinnitati diagnoos biokeemiliste markerite põhjal ja/või molekulaarselt ning 25-l väljakutsutud vastsündinul diagnoosi ei kinnitatud).

2015. aasta esimese kuue kuuga (01.01.–30.06.2015) sõeluuriti 6515 vastsündinut, täiendavale analüüsimisele kutsuti 10 last, neist 3-l kinnitati diagnoos. FPR oli kuue kuu kohta 0,11% ja PPV 30%.

Ühtekokku sõeluuriti 18 kuu jooksul 20 147 vastsündinut, diagnoos kinnitati 11 lapsel (1 juhtum 1832 vastsündinu kohta). FPR tervikuna oli 0,16%, PPV 25,58%, teadaolevalt valenegatiivseid tulemusi praeguse seisuga ei ole. Projekti koondtulemused on toodud tabelis 2.

Haigusjuhud

1. Ühel vastsündinul diagnoositi PKU (*PAH* geenis mutatsioonid p.R408W ja p.R261Q), mille korral on organismis ensüümi fenüülalaniini hüdroksülaasi puudulikkus ja seetõttu häirunud fenüülalaniini hüdroksüleerimine. Patsiendil on sapropteriin-dihüdrokloriidravi suhtes tundlik PKU alavorm. Seepärast tarvitab patsient igapäevaselt tableti kujul sapropteriin-dihüdrokloriidi, mis on ensüümi fenüülalaniini hüdroksülaasi kofaktor (12), ja dieedipiirangud igapäevase loodusliku valgu suhtes on tagasihoidlikumad kui klassikalise PKU korral.

2. Ühel lapsel leiti väga väike vaba karnitiini sisaldus veres, mis oli põhjustatud ema väga väiksest karnitiinisaldusest. Ema ise oli taimetoitlane ning suukaudse L-karnitiini manustamisega paranesid oluliselt nii ema kui ka lapse vaba karnitiini väärtused. Kahjuks ei tulnud ema enam korduvale vastuvõtule, mistõttu ei saanud uuringuid jätkata.

3. Projekti käigus diagnoositi Eestis esimest korda I tüüpi glutaraatatsiduuria (GA-I) (*GCDH* geenis mutatsioonid p.Arg402Trp ja p.Ala421Val). Selle haiguse korral esineb organismis ensüümi glutarüül-koensüüm-A

dehüdrogenaasi puudulikkus ning ravi põhineb peamiselt lüsiini, hüdroksüülüsiini ja trüptofaani tugevalt piiraval igapäevasel dieedil. Vajaliku valgupakkumise asendab spetsiaalne aminohapete segu, kus puuduvad eelnimetatud aminohapped ning mida on rikastatud vitamiinide ja mineraalidega. GA-I-ga patsient alustas dieetravi 22. elupäeval. Artikli kirjutamise ajaks on laps juba 6kuune ning tema psühhomotoorset arengut võib hinnata eakohaseks. Arvestades, et tegemist on päriliku haigusega, uuriti ka pere vanemaid lapsi. Ühel neist leidis samuti kinnitust GA-I ning mõlemal lapsel esinevad *GCDH* geenis samad mutatsioonid. Vanema lapse motoorne areng on kulgenud silmatorkava hilistumisega, mistõttu on ta saanud pidevalt füsioteraapiat ja arendusravi. Samas on lapse vaimset arengut hinnatud eakohaseks.

GA-I on autosoom-retsessiivselt päranduv haigus ning glutarüül-koensüüm-A dehüdrogenaasi puudulikkus põhjustab lüsiini, trüptofaani ja hüdroksüülüsiini osalist metabolismi mitokondri maatriksis. Seega kuhjuvad organismis neurotoksilised metaboliidid nagu glutaraat, glutarüülkarnitiin (*C5DC*) ja 3-hüdroksüglutaraat. *C5DC* on metaboliit, mida mõõdetakse vastsündinute sõeltestimisel. Haigust põhjustavad mutatsioonid *GCDH* geenis, nüüdseks on teada juba üle 200 haigusseoselise mutatsiooni (13). Veel 20 aastat tagasi arvati haiguse esinemissageduseks olevat 1 : 100 000, kuid viimase kümne aasta jooksul on haiguse esinemissagedus teatud piirkondades märgatavalt suurenenud – kuni 1 juhuni 35 000 elussünni kohta (14). Selliste tulemusteni on jõutud vastsündinute järjepideva sõeltestimisega.

GA-I on väga varieeruvat kliinilist pilti põhjustav haigus nii algusaja kui ka neuroloogilise kahjustuse poolest. Seda isegi pereliikmete hulgas, kellel esinevad identsed geenimutatsioonid (15). Valdaval osal vastsündinutest esineb siiski suhteliselt suur peaümberrõõm ja esimesed märgid normaalse arengu kõrvalekaldest ilmnevad 3.–24. elukuul. Peamiselt kahjustuvad glutaraat ja 3-hüdroksüglutaraat basaaltuumasid ning seetõttu tekivad motoorikahäired nagu düstooniad, orofatsiaalsed düskineesid ja koreatoossed liigutused (15). Sellist basaaltuumade kroonilist kahjustust saab ravidieediga edukalt ära hoida, kuid ka varakult ravil olevad lapsed on ohustatud

entsefalopaatilistest kriisidest, mida vallandavad tugevad kataboolsed protsessid organismis nagu nälgus, kõrge palavik, operatsioonid jm. Sageli on selliste kriiside tulemiks intellektipuu (16). Entsefalopaatiliste kriiside ennetamiseks on vaja sellistes olukordades korrigeerida dieeti ja pakkuda rohkesti glükoosi. Sellekohane patsiendile individuaalselt kohandatud käsitusjuhend on olemas nii vanematel kui ka edastatud Tallinna Lastehaiglastele.

4. Kaheksal vastsündinul on diagnoositud omandatud B₁₂-vitamiini-defitsiitsus. Kõigil neil vastsündinutel ning nende emadel määrati ka vereseerumist otsesel elektrokemoluminestsents-immuunmeetodil B₁₂-vitamiini sisaldus. Kõigil vastsündinutel oli B₁₂-vitamiini sisaldus referentsväärtusest väiksem, lisaks määrati vereseerumist samal meetodil ka folaadi sisaldus ning floromeetrilisel meetodil homotsüsteiini sisaldus. Osal patsientidel oli homotsüsteiini väärtus vähesel määral suurenenud, kuid kõrvalekalle normaliseerus pärast ravi B₁₂-vitamiiniga. Ka määrati kõigil neil lastel uriinist gaasikromatograafia-masspektromeetria meetodil metüülmalonaat koos kogu standardse orgaaniliste hapete profiiliga, mille põhjal sai välistada enamiku orgaanilisi atsidiuriaid, mis sekundaarselt võivad põhjustada B₁₂-vitamiini puudulikkust. Ravi tulemusena normaliseerus B₁₂-vitamiini sisaldus kõigil vastsündinutel.

Tandem-MSi-meetodiga ei ole võimalik määrata B₁₂-vitamiini otseselt, küll aga on see ühend väga oluline kofaktor hargnenud ahelaga aminohapete ja paarituurvalise süsinikuahelaga rasvhapete beetaoksidatsioonil, mistõttu on selle vitamiini puudulikkuse korral häiritud propionüülkarnitiini (C3) edasine metabolism ning see ühend kuhjub organismis. Seega leitakse vastsündinute sõeltestimisel üles vaid need vastsündinud, kellel juba esimestel elupäevadel esineb oluline B₁₂-vitamiini vaegus.

Arvestades, et sõeltestimisel on ilmnunud suhteliselt palju lapsi, kellel esineb B₁₂-vitamiini puudulikkus ja kelle emadel oli B₁₂-vitamiini väärtus vereseerumis normipärane, vajab see teema kindlasti edasisi uuringuid, kuna jätkuvalt ei ole selge, mis põhjusel tekib nii sageli vastsündinul selle vitamiini puudulikkus. Viimastel aastatel on sarnast leidu kirjeldanud ka teised vastsündinute sõeltestimisega tegelevad keskused ja riigid.

Sel põhjusel on osa keskusi korrigeerinud ka vastsündinute sõeltestimisel kasutatavaid otsustuspiiri väärtusi (10), sest nii on võimalik paremini üles leida B₁₂-vitamiini puudulikkusega lapsi.

See vitamiin on oluline nii vereloomes, rakkude regeneratsiooniprotsessis kui ka närvisüsteemi arengus ning sügav B₁₂-vitamiini puudulikkus võib väljenduda lapse rahutuse, arengu hilistumise, unehäirete, lihahüpotoonia ning harvematel juhtudel ka krambisündroomina. B₁₂-vitamiini defitsiitsusega vastsündinutele määrab perearst, neonatoloog või pediaater asendusravi. Meie kogemuste põhjal võib öelda, et enamikule patsientidest piisab ühekordsest süsteravikuurist, kuid üksikud lapsed vajavad seda ka korduvalt, kuni nende menüüsse lisandub loomne toit.

Eraldi, immunofluoromeetrilisel meetodil, jätkub sõeltestimine ka kaasasündinud hüpotüreooosi suhtes ning 2014. aastal diagnoositi kaasasündinud hüpotüreooosi kahel juhul ja 2015. aasta esimese 6 kuu jooksul kolmel juhul. Lapsed jõudsid ravile keskmiselt 13. elupäeval.

Teiste riikide kogemus

Uuritavate haiguste loetelu ning testimise algusaeg, mida arenenud riikides tandem-MSi-meetodil rakendatakse, erineb riigiti ning peegeldab erinevusi potentsiaalsete riskide ja kasude hinnangutes. Ehkki väidetakse, et kõik programmid tuginevad Wilsoni ja Jungeri kriteeriumitele (17), on tegelikult riikide vahel vähe konsensust küsimustes, milliseid haigusi uuringunimekirja lisada; kuidas reageerida kaasuvatele leidudele, mis ei kuulu uuritavate haiguste loetellu (8). Näiteks testitakse USAs vastsündinuid enam kui 40 päriliku av-haiguse suhtes (7). Euroopa Liidu liikmesriikide uuritavate haiguste loetelu ja sõeltestimise kogemus erinevad üksteistest samuti olulisel määral: Austrias sõeltestitakse jätkuvalt 29 av-haiguse suhtes ning naaberriigis Šveitsis vaid 7 haiguse suhtes (4, 8). Soomes sõeluriti varem vastsündinuid vaid kaasasündinud hüpotüreooosi suhtes, kuid alates 2015. aasta 1. jaanuarist kuuluvad uuritavate haiguste hulka ka PKU, MCAD, LCHAD ja GA-I (J. Ostrup, isiklik vestlus, 2015). Leedus lisandus PKU-le ja kaasasündinud hüpotüreosile 2015. aasta alguses ka galaktoseemia ja kaasasündinud neerupealisepuudulikkus (J. Songailienė,

isiklik vestlus, 2015) ning Lätis jätkub vaid PKU ja kaasasündinud hüpoteureosi sõeltestimine (8).

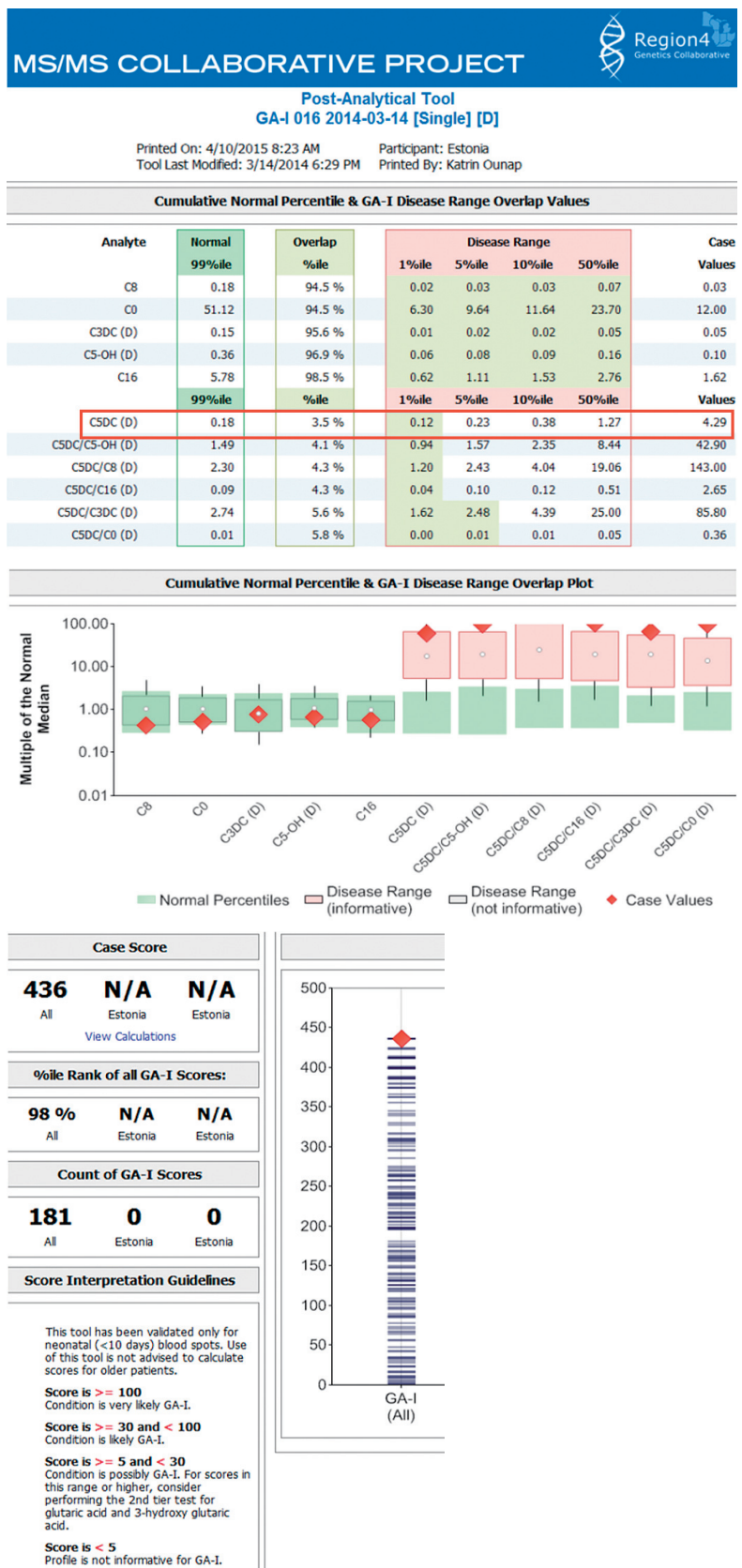
Samas ei ole uuritavate haiguste hulk püsiv, iga riik analüüsib teatud aja möödudes oma haiguste loetelu. Näiteks alustati Saksamaal vastsündinute sõeltestimist pilootprojektina juba 1998. aastal kõigi tandem-MSi-meetodil sõeluuritavate haiguste suhtes, kuid 2005. aastal otsustati jätkata vaid 10 av-haiguse testimist (5). Sarnaselt on analüüsinud oma tulemusi ka teised riigid ning seejärel muutnud uuritavate haiguste loetelu. Seda võib põhjustada teatud haiguste sümptomaatika ümberhindamine (biokeemiline kõrvalekalle on osutunud organismile kahjutuks) või fakt, et haiguse esinemissagedus on mingis piirkonnas väga väike (5).

Rahvusvaheline koostöö

Kogu maailm liigub koostöö suunas, kuna haiguste esinemine riigiti on suhteliselt harv, seega on kogemused väärt jagamist. Järjest enam leiab üle maailma kasutust USA Mayo kliiniku hallatav andmebaas Region 4 Stork (R4S). See on vastsündinute tandem-MSi-meetodil sõeltestimise laboratoorse kvaliteedi parandamise koostööprojekt, mis sai alguse 2004. aastal. Algsest regionaalsest projektist on välja kasvanud laiahaardeline rahvusvaheline koostöövõrgustik, mida kasutavad aktiivselt 48 USA osariiki ning enam kui 1050 vastsündinute sõeltestimisega tegelevat laborit rohkem kui 64 riigist (18).

Projekti peamiseks elemendiks on analüüsijärgne programm, mille eesmärk on aidata tõlgendada sõeltestimise tulemusi, et hinnata kõrvalekalde olulisust uuritava haiguse kontekstis. Sisestades süsteemi analüüsitud vereplekist saadud tulemused, võrdleb programm metaboliitide väärtusi ning arvutab suhtarvud, mille põhjal annab vastuse, mis iseloomustab konkreetse haiguse tõenäosust uuritava (vt pilt 1). Tulemus põhineb haiguspetsiifiliste ning informatiivsete analüütide haigusseoselistel vahemikel. Rakendust on võimalik täpsemaks muuta, korrigeerides analüüsitud erinevusi ning proovide ettevalmistamise tehnikat (derivatiseeritud või derivatiseerimata proovid) (18).

2014. aasta lõpu seisuga olid Mayo kliiniku andmebaasis 33 757 504 vastsündinute tulemused, millest 17 825 on kinnitatud



Pilt 1. Eestis esimest korda diagnoositud I tüüpi glutaraatatsiduuria patsiendi R4S postanalüütilise programmi raport (punased rombid viitavad uuritava patsiendi tulemustele)

av-haiguste juhud (2014. aasta jooksul lisandus 1212 uut juhtu). Ka Eestis analüüsitud 6000 vastsündinu testkaardi tulemused on lisatud Mayo kliiniku andmebaasi. Uue kasutajariigina tuli esimesed andmed sisestada 1. juuliks 2014. a ning selleks ajaks olime jõudnud sellise hulga vastsündinuid sõeltestida.

Vastsündinute sõeltestimise kvaliteedikontroll

Sõeltestimist läbiviivatel laboritel on vajalik osaleda kvaliteedi kontrolli võrgustikes, mis võimaldavad läbi viia objektiivseid võrdluskatseid ning hinnata labori suutlikkust ja täpsust tuvastamiseks kontrollproovidest kõrvalekaldeid atsüülkarnitiinide profiili analüüsimisel. Eesti vastsündinute sõeltestimise hindamise võrdluskatsed on läbi viidud ERNDIMi (*European Research Network for Evaluation and Improvement of Screening, Diagnosis and Treatment of Inherited Disorders of Metabolism*) raames juba 2014. aasta algusest. Seega on TÜ Kliinikumi ühendlabori geneetikakeskuse vastsündinute sõeltestimise labor eelmainitud võrdluskatsetel osalenud kolmel korral ning neist ühel juhul oli tulemuseks 10/12-st punktist ja kahel korral 12/12-st punktist.

ARUTELU

Artikli kirjutamise ajaks on Eestis kestnud vastsündinute laiendatud sõeltestimine juba 18 kuud, neist esimesed 12 kuud pilootprojekti näol. Selle aja jooksul on määratud Eesti populatsioonile iseloomulikud metaboliitide otsustuspiirid, kasutades 1. ja 99. protsentiili.

Laiendatud sõeltestimise laboratoorse efektiivsuse hindamiseks on olulised parameetrid analüüsi FPR ning PPV. Ehkki erinevate riikide programmide tulemused varieeruvad, on seatud sõeltestimisega tegelevatele laboritele teatavad analüütilised ja post-analüütilised eesmärgid: FPR <0,3% ja PPV > 20% (19). Enamik oma tulemusi avaldavaid riike on teada andnud ka oma laborite koondtulemused, kus FPR on 0,02–0,38% (9, 20, 21).

Eesti pilootprojekti puhul oli FPR 0,18%. Esimese kuue kuu kohta oli FPR 0,28% ning teisel poolaastal 0,1%. 2015. aasta esimesel kuuel kuul oli FPR 0,11%. FPRi vähenemine kogemuse kasvades iseloomustab ka teiste riikide praktikat. Taanis 2002.–2011. aastal korraldatud pilootuuringu ja riikliku programmi tulemustest nähtub, et sõeltestimise

esimesel aastal saavutati FPR 0,06% ja seda suudeti langetada 0,03%-ni viimase aasta jooksul (kogu programmi jooksul FPR 0,038%) (9). Seega on ootuspärane tulemus, et otsustuspiiride korrigeerimine projekti vältel aitab protsessi muuta efektiivsemaks ning täpsemaks – on näha FPRi vähenemise ja PPV suurenemise trend. FPRi väärutus ja PPV iseloomustavad nii sõeltestimise programmi tervikuna kui ka selles sisalduvaid haigusi eraldiseisvalt. Nii on erinevate haiguste vastavad väärtused erinevad. Pilootprojekti koondtulemuste põhjal ei ole võimalik eraldi välja tuua uuritavate haiguste vastavaid väärtusi ega hinnata esinemissagedust Eesti vastsündinute seas – seda põhjusel, et enamiku uuritavate haiguste esinemissagedus on harv (vt tabel 1) (22). Samas on mitmed vastsündinute sõeltestimise programmid näidanud pärast teatud uuringuperioodi olulist haiguste esinemissageduse suurenemist (9, 23–25).

Väiksema esinemissagedusega haiguste puhul on kompetentsi ja edasise ravikvaliteedi tagamiseks oluline riiklik (kui sõeluuringut tehakse mitmes laboris) ja rahvusvaheline koostöö. Koostööprojekti R4S interpretatsiooniprogramm (ingl *post-analytical interpretive tools*) võimaldab suurendada PPVd ning vähendada FPRi, säilitades samal ajal piisavalt suure tundlikkuse (26), sest av-haiguse kahtlusega tulemusi saab võrrelda enam kui 33 miljoni sisestusega maailma eri laboritest. Üldpopulatsiooni normivahemike põhjal otsusepiiride väärtusi määrates tõstatub probleem, et suurem osa sõeltestimise programme ei puutu praktikas kokku 30–80% haigus-tega, mis on nende uuritavate haiguste loetelus (23). Eriti oluline on see tegur väiksemates programmides, kus testitakse ka vähem vastsündinuid. Arvestades Eesti aastast vastsündinute arvu (ca 13 500), on selge, et võimekus kinnitada väga väikse esinemissagedusega haiguste puhul populatsioonipõhiseid normivahemikke ei ole niivõrd lühikese aja jooksul piisav. Samuti võib olla keeruline tagada äärmiselt harva esinevate haigusjuhtude piisavalt efektiivset tuvastamist. Samas on tegemist ravitavate pärilike av-haigustega ning selle meetodi puhul ei sõltu ühe proovi testimise hind uuritavate haiguste hulgast. Tuginedes pikema kogemusega riikide tulemustele, hinnatakse vastsündinute sõeltestimist kulutõhusaks (27, 28).

KOKKUVÕTE

1. jaanuaril 2014 algas Eestis vastsündinute laiendatud sõeltestimise (19 ravitavat av-haigust ja kaasasündinud hüpotüreos) pilootprojekt. Aasta hiljem lisas Eesti Haigekassa selle oma teenuste loetellu. 18 esimese kuu jooksul sõeluuriti 20 147 vastsündinut, kellest 11-l on kaasasündinud av-haiguse diagnoos kinnitatud.

Kindlasti on Eesti populatsioonipõhiste järelduste tegemiseks vajalik pikaajsem sõeltestimine ja andmete kogumine. Sealjuures on oluline ka pidev andmete analüüs ning tõenäoliselt ka uuritavate haiguste loetelu ülevaatamine ja korrigeerimine. Juba nüüd saab aga öelda, et üle-eestilise vastsündinute laiendatud sõeltestimine on taganud mitmele lapsele kvaliteetsema elu.

VÕIMALIKU HUVIKONFLIKTI DEKLARATSIOON

Artikkel on valminud autorite sõltumatu uurimistöö tulemusel. Projekti on toetanud Eesti Teadusagentuuri Personaalne uurimistöetus 0355.

SUMMARY

Expanded newborn screening by using tandem mass-spectrometry in Estonia: a review of 18-month' experience

Karit Reinson^{1,2}, Ursula Ilo³, Kadi Künnapas², Mari-Anne Vals^{1,2,4}, Kai Muru², Annika Kriisa², Katrin Õunap^{1,2}

Background. Starting from 1993 Estonian newborns were screened for phenylketonuria and three years later congenital hypothyroidism was added to the screening programme. Most developed countries use tandem mass spectrometry in order to screen for a large variety of congenital diseases.

Methods. Early in 2014, 18 new treatable congenital metabolic diseases (aminoacidurias, organic acidurias and fatty acid oxidation disorders with congenital vitamin B12 deficiency) were included in the Estonian pilot programme on screening newborns by using tandem mass spectrometry.

Results. During 18 months, altogether 20,147 newborns were screened while 43 of them required additional investigations. Confirmed diagnosis was made for

11 patients: one patient had biopterin responsive phenylalanine hydroxylase deficiency, one had low free carnitine, one had glutaric aciduria type I and eight had acquired vitamin B₁₂ deficiency. The positive predictive value was 25.6%. False-positive rate was 0.16%, which diminished after introducing our own cut-off values and applying The Region 4 Stork (R4S) project's post-analytical interpretative tool.

Conclusions. There are large variations in the design of newborn screening programmes and daily practices in different countries. Hence international cooperation and national cooperation are of great importance, especially in small countries with small screening programmes like Estonia, to improve the competence, efficiency and quality of treatment.

KIRJANDUS/REFERENCES

1. Abhyankar S, Lloyd-Puryear MA, Goodwin R, et al. Standardizing newborn screening results for health information exchange. *AMIA Annu Symp Proc* 2010;2010:1–5.
2. Carlson MD. Recent advances in newborn screening for neurometabolic disorders. *Curr Opin Neurol* 2004;17:133–8.
3. Wilcken B. Expanded newborn screening: reducing harm, assessing benefit. *J Inherit Metab Dis* 2010;33:S205–10.
4. Lindner M, Gramer G, Haegge G, et al. Efficacy and outcome of expanded newborn screening for metabolic diseases--report of 10 years from South-West Germany. *Orphanet J Rare Dis* 2011;6:44.
5. Bodamer OA, Hoffmann GF, Lindner M. Expanded newborn screening in Europe 2007. *J Inherit Metab Dis* 2007;30:439–44.
6. Reinson K, Joost K, Uudelepp ML, Žordania R, Künnapas K, Õunap K. Üle-eestilise vastsündinute laiendatud sõeltestimine tandemmass-spektromeetria meetodil ravitavate kaasasündinud ainevahetushaiguste suhtes. *Eesti Arst* 2014;93:218–22.
7. Watson MS, Mann MY, Lloyd-Puryear MA, Rinaldo P, Howell RR. American College of Medical Genetics Newborn Screening Expert Group: Newborn screening: toward a uniform screening panel and system - executive summary. *Pediatrics* 2006;117:S296–S307.
8. Loeber JG, Burgard P, Cornel MC, et al. Newborn screening programmes in Europe; arguments and efforts regarding harmonization. Part 1. From blood spot to screening result. *J Inherit Metab Dis* 2012;35:603–11.
9. Lund AM, Hougaard DM, Simonsen H, et al. Biochemical screening of 504,049 newborns in Denmark, the Faroe Islands and Greenland--experience and development of a routine program for expanded newborn screening. *Mol Genet Metab* 2012;107:281–93.
10. Scolamiero E, Villani GR, Ingenito L, et al. Maternal vitamin B12 deficiency detected in expanded newborn screening. *Clin Biochem* 2014;47:312–7.
11. Eesti Haigekassa tervishoiuteenuste loetelu (Vastu võetud 19.12.2014 nr 194). RT I 29.12.2014, 55. <https://www.riigiteataja.ee/akt/129122014055>; (viimati vaadatud 04.09.16.)
12. Fiege B, Ballhausen D, Kierat L, et al. Plasma tetrahydrobiopterin and its pharmacokinetic following oral administration. *Mol Genet Metab* 2004;81:45–51.
13. Zschocke J, Quak E, Guldberg P, Hoffmann GF. Mutation analysis in glutaric aciduria type I. *J Med Genet* 2000;37:177–81.
14. Couce ML, Castineiras DE, Boveda MD, et al. Evaluation and long-term follow-up of infants with inborn errors of metabolism identified in an expanded screening programme. *Mol Genet Metab* 2011;104:470–5.
15. Hedlund GL, Longo N, Pasquali M. Glutaric acidemia type 1. *American journal of medical genetics Part C, Seminars in medical genetics*. 2006;142C:86–94.
16. Hoffmann GF, Trefz FK, Barth PG, et al. Glutaryl-coenzyme A dehydrogenase deficiency: a distinct encephalopathy. *Pediatrics* 1991;88:1194–203.
17. Wilson JMG, Jungner G. Principles of screening for disease. Geneva: World Health Organization; 1968.

¹Department of Paediatrics, Institute of Clinical Medicine, University of Tartu, Estonia, ²Centre of Genetics, United Laboratories, Tartu University Hospital, Estonia, ³Department of Molecular and Cell Biology, Institute of Biomedicine and Translational Medicine, University of Tartu, Estonia, ⁴Children's Clinic, Tartu University Hospital, Estonia

Correspondence to: Karit Reinson, karit.reinson@kliinikum.ee

Keywords: congenital metabolic diseases; expanded newborn screening; tandem mass spectrometry

18. Hall PL, Marquardt G, McHugh DM, et al. Postanalytical tools improve performance of newborn screening by tandem mass spectrometry. *Genet Med* 2014;16:889–95.
19. Rinaldo P, Zafari S, Tortorelli S, Matern D. Making the case for objective performance metrics in newborn screening by tandem mass spectrometry. *Ment Retard Dev Disabil Res Rev* 2006;12:255–61.
20. Wilcken B, Haas M, Joy P, et al. Expanded newborn screening: outcome in screened and unscreened patients at age 6 years. *Pediatrics* 2009;124:e241–8.
21. Wilcken B. Ethical issues in newborn screening and the impact of new technologies. *Eur J Pediatr* 2003;162 Suppl 1:S62–6.
22. Garg U, Dasouki M. Expanded newborn screening of inherited metabolic disorders by tandem mass spectrometry: clinical and laboratory aspects. *Clin Biochem* 2006;39:315–32.
23. McHugh D, Cameron CA, Abdenur JE, et al. Clinical validation of cutoff target ranges in newborn screening of metabolic disorders by tandem mass spectrometry: a worldwide collaborative project. *Genet Med* 2011;13:230–54.
24. Ounap K, Lillevali H, Metspalu A, Lipping-Sitska M. Development of the phenylketonuria screening programme in Estonia. *J Med Screen* 1998;5:22–3.
25. Vilarinho L, Rocha H, Sousa C, et al. Four years of expanded newborn screening in Portugal with tandem mass spectrometry. *J Inher Metab Dis* 2010;33 Suppl 3:S133–8.
26. Marquardt G, Currier R, McHugh DM, et al. Enhanced interpretation of newborn screening results without analyte cutoff values. *Genet Med* 2012;14:648–55.
27. Pandor A, Eastham J, Beverley C, Chilcott J, Paisley S. Clinical effectiveness and cost-effectiveness of neonatal screening for inborn errors of metabolism using tandem mass spectrometry: a systematic review. *Health Technol Assess* 2004;8:iii1–121.
28. Schoen EJ, Baker JC, Colby CJ, To TT. Cost-benefit analysis of universal tandem mass spectrometry for newborn screening. *Pediatrics* 2002;110:781–6.
29. Joost K, Ounap K, Zordania R, et al. Prevalence of Long-Chain 3-Hydroxyacyl-CoA Dehydrogenase Deficiency in Estonia. *Jimd Rep* 2012;2:79–85. PubMed PMID: WOS:000301089700013.

Furosemiid põhjustab südamepuudulikkuse ravis tiamiinidefitsiiti

Südamepuudulikkuse puhul esinevat düspnoed ja turseid leevendatakse diureetikumidega, millest sagedamini kasutatakse lingudiureetikumi furosemiidi. On leitud, et pikaajaline ravi võib põhjustada tiamiini (B₁-vitamiin) defitsiiti ja kliinilist kardiaalset sündroomi märg beriberi, mida iseloomustab tahhükardia, düspnoe ja tursed. Raske tiamiinidefitsiidiga võib kaasneda kardiovaskulaarne kollaps, metaboolne atsidoos ja hemodünaamiline ebastabiilsus.

Vees lahustuva vitamiinina eritub B₁ uriinis, seega suurendab diureetikumide tarvitamine vitamiini kadu. Diureetikumid, eriti furosemiid on südamepuudulik-

kuse ravi aluseks, kuid on leitud, et nende pikaajaline tarvitamine võib põhjustada tiamiinidefitsiiti, süvendades seega südamepuudulikkust.

Uuringus, kus osales 100 patsienti erineva astme südamepuudulikkusega, määrati tiamiini sisaldus pärast 14 kuud 60 mg furosemiidi manustamist päevas. Kolmandikul südamepuudulikkusega patsientidest leiti vitamiinidefitsiit võrreldes 12%-ga kontrollrühmas ning erinevus oli veelgi suurem, kui välja arvata tiamiini lisaks saanud patsiendid (37,2% vs. 12,2%). Samas uuringus leiti ka, et B₁-vitamiini puuduse sagedus on proportsioonis südamepuudulikkuse raskusega. B₁-vitamiini defitsiit esines 40%-l III ja IV astme südamepuudulikkusega patsientidest võrreldes 24%-ga I ja II astme südamepuudulikkusega uuritutest.

LÜHIDALT

Pärast vitamiini lisamanustamist nädala jooksul veenisisesi leiti, et vasaku vatsakese väljutusfraktsioon suurenes 28%-lt 32%-ni ning pärast 6 nädalat suu kaudu B₁-vitamiini manustamist kasvas see 27%-lt 33%-ni.

Tiamiin on oluline kofaktor rakkudes energia produktsioonis ja sel on oluline roll müokardi kontraktilsuses. Furosemiid võib suurendada vitamiini kadu uriiniga ning tiamiini manustamine võib parandada vasaku vatsakese süstoolset funktsiooni südamepuudulikkusega patsientidel, kes tarvitavad furosemiidi.

REFEREERITUD

Katta N, Balla S, Alpert M. Does Long-Term Furosemide Therapy Cause Thiamine Deficiency in Patients with Heart Failure? A Focused Review. *Am J Med* 2016;129:753.e7–11.