

بولتن داخلی

(نیوفوسازی)

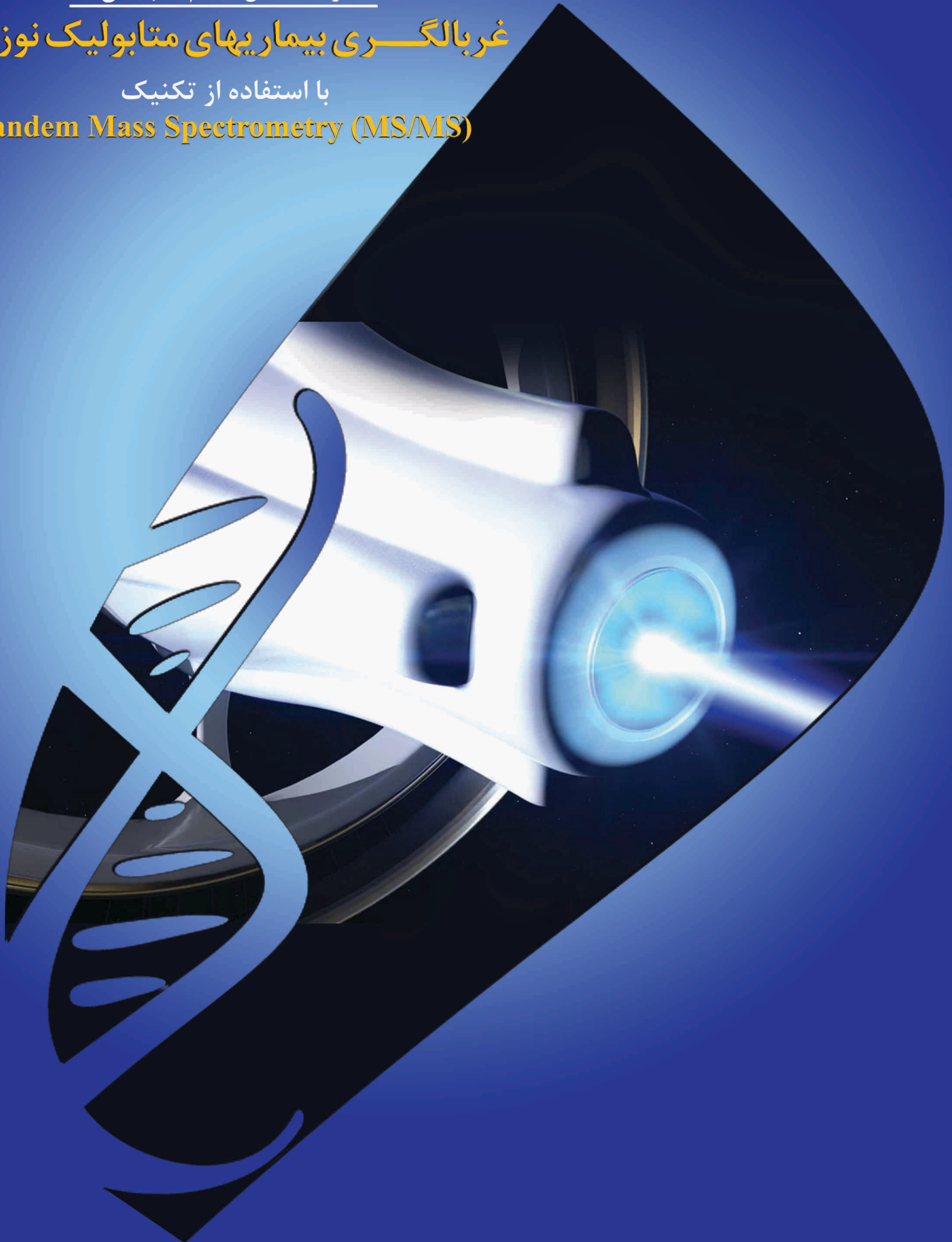


شماره ۱۲، سال ششم، تابستان ۹۴

غربالگری بیماریهای متابولیک نوزادان

با استفاده از تکنیک

Tandem Mass Spectrometry (MS/MS)



نوزادان این است از ریسک بیماری های تشخیص داده نشده یا دیر تشخیص داده شده اجتناب شده و از بسیاری از موارد مرگ یا معلولیت شدید ممانعت به عمل می آورد. اگرچه غربالگری نوزادان در بهبود پیش آگهی بسیاری از اختلالات متابولیک بسیار مفید و مؤثر شناخته شده است، با این وجود هنوز در طیف بیماری های مورد نظر برای غربالگری اختلاف نظر وجود دارد که ناشی از عدم وجود آمار کافی در باره شیوع این بیماری ها است.

هنوز در طیف بیماری های مورد نظر برای غربالگری اختلاف نظر وجود دارد که ناشی از عدم وجود آمار کافی در باره شیوع این بیماری ها است.

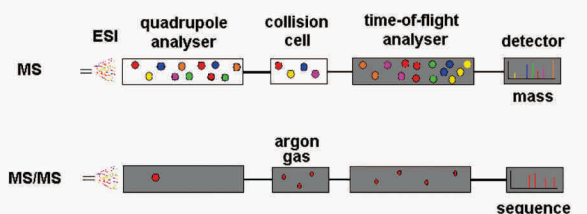
کاربرد طیف سنجی جرمی در غربالگری نوزادان

با استفاده از تکنیک Tandem Mass Spectrometry در یک دور آزمایش، بیش از ۴۰ آنالیت را می توان شناسایی کرد. این توانایی موجب کاهش زمان هر کدام از آزمایش های غربالگری نوزادان می شود زیرا بسیاری از متابولیت ها، را می توان به طور موازی و نه متوالی اندازه گیری کرد. این روش از نظر بالینی بسیار کارآمد است زیرا غربالگری اختلالات متابولیک گاهی مستلزم اندازه گیری بیش از یک نشانگر برای تعریف بیماری است. با طیف سنج جرمی دو گانه، امکان شناسایی یک پروفایل متابولیکی نسبتاً کامل برای بیمار در یک بار آزمایش وجود دارد.

بر خلاف روش های رایج غربالگری، MS/MS یک آنالیت واحد را اندازه نمی گیرد (یک تست -یک بیماری)؛ بلکه پروفایل متابولیت ها را شناسایی و تعیین مقدار می کند. ارزیابی یک نمونه لکه خون خشک توسط MS/MS می تواند در مورد ۶۰ اسید آمینه، اسیل کربنیتین ها و نسبت میان آن ها اطلاعات کافی جهت تشخیص حدود ۴۰ بیماری متابولیک به دست دهد. البته تفسیر این اطلاعات بسیار پیچیده و تکنیکال است

اساس کار طیف سنجی جرمی

طیف سنج جرمی دو گانه اسپکترومتری است که دارای دو آنالایزر است و



(تصویر شماره ۱) نمای کلی طیف سنجی دو گانه MS/MS

غربالگری نوزادان با استفاده از روش های جدید تشخیص و درمان به موقع چندین بیماری متابولیک ارثی را امکان پذیر ساخته و از بروز مشکلات عمده ای نظیر ناتوانی های جسمی، عقب ماندگی ذهنی و حتی مرگ نوزادان جلوگیری می کند. بیماری های متابولیک ارثی معمولاً در زمان تولد علائم بالینی خاصی ندارند و تشخیص قطعی آنها فقط با انجام آزمایش های غربالگری میسر می گردد. در بسیاری از موارد بیماری هایی که از طریق غربالگری تشخیص داده می شوند به سادگی و با مداخله های تغذیه ای قابل درمان و کنترل هستند. باور عموم متخصصین بر این است که غربالگری، پیش آگهی بسیاری از بیماری ها نظیر گلو تار یک اسیدوری تیپ I، تیروزینمی تیپ I و II، آرژنینوسوکسینیک اسیدوری و نقایص اکسیداسیون اسید چرب را بهبود می بخشد. بیماری هایی که از این روش شناسایی می شوند عبارتند از نقایص متابولیکی نظیر آمینواسیدوپاتی ها، ارگانیک اسیدمی ها، و اختلالات اکسیداسیون اسیدهای چرب.

تاریخچه

غربالگری نوزادان در سال های ۱۹۶۰ و با ابداع تست Guthrie آغاز شد. در سال ۱۹۷۳ مطالعات Dussault و Laberge سبب شد که هیپوتیروئیدیسیم مادرزادی به برنامه غربالگری اضافه شود. Laberge و همکاران در سال ۱۹۷۵ تأثیر غربالگری تیروزینمی را در سلامت نوزادان به اثبات رساندند. تا سال ها، فنیل کتونوری و هیپوتیروئیدیسیم مادرزادی و چند بیماری محدود دیگر، تنها بیماری هایی بودند که در برنامه غربالگری گنجانده شده بودند. مهمترین پیشرفت در انجام آزمایشات غربالگری، ظهور طیف سنجی جرمی MS/MS بود.

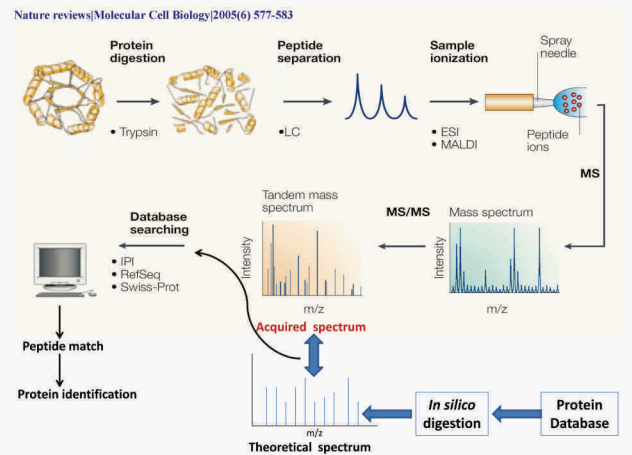
مهمترین پیشرفت در انجام آزمایشات غربالگری، ظهور طیف سنجی جرمی MS/MS بود.

که استفاده از آن توسط Millington به عنوان ابزاری در تشخیص بیماری های متابولیک ارثی در سال ۱۹۹۰ پیشنهاد گردید. بعد از کامپیوتری شدن روش طیف سنج جرمی دو گانه، امکان استفاده از این فناوری در غربالگری نوزاد به صورت گسترده فراهم گردید پس از آن بود که برنامه های غربالگری در مقیاس وسیع در آمریکا، استرالیا و عربستان آغاز شد آمد.

برنامه غربالگری بیماری های متابولیک نوزادان

در حال حاضر در کشورهای مختلف از ۵ تا ۳۰ بیماری برای غربالگری نوزادان مد نظر قرار داده شده است. مزایای غربالگری گسترده

مانند بقیه با تفکیک و اندازه گیری مواد براساس وزن آن ها کار میکند (تصویر شماره ۱).



(تصویر شماره ۲) اصول روش MS/MS

نکات بالینی

نتایج به دست آمده از تست های غربالگری باید در زمینه بالینی تفسیر گردد. سن بارداری، وزن تولد، سن به روز و بیماری های همراه، عواملی هستند که باید مد نظر قرار گیرند. تغییرات غیر اختصاصی پروفایل متابولیت ها معمولاً در نوزادان نارس و نوزادانی که با وزن کم متولد می شوند به دلیل نارس بودن عملکرد کبد و کلیه دیده می شود. بیشترین تغییراتی که در این نوزادان دیده می شود، بالا رفتن تیروزین و متیونین در پروفایل اسیدهای آمینه است. افزایش آرژنینین و اسیدهای آمینه شاخه دار نیز در این گروه از بیماران دیده می شود که معمولاً به دلیل متکی بودن گلوکونئوزن و کتوزن به متابولیسم این ترکیبات است. در نوزادان نارس و نوزادان با وزن پایین، گوتامات نیز ممکن است کاهش نشان دهد.

وجود عوامل پرخطر مانند رابطه خویشاوندی میان والدین و وجود خواهر یا برادر مبتلا، نیازمند توجه بیشتری به نتیجه آزمایشات است.

- نکات تغذیه ای

وضعیت تغذیه نیز در تفسیر نتایج حاصل از تست های غربالگری اهمیت به سزایی دارد

- نوع تغذیه

مصرف مقادیر زیاد پروتئین در شیر به افزایش اسیدهای آمینه به خصوص متیونین و تیروزین منجر می شود. تجویز شیر خشک های غنی از پروتئین یا شیر گاو می تواند سطح بعضی از اسیدهای آمینه مانند فنیل آلانین یا تیروزین را افزایش دهد. اگر چنین مسائلی در تفسیر تست ها در نظر گرفته نشود، ممکن است نتایج مثبت کاذب حاصل شود. بعضی از اسیل کارنیتین ها در نوزادانی که با شیر خشک حاوی مقادیر بالای اسیدهای چرب زنجیره متوسط تغذیه می شوند، افزایش می یابند.

- گرسنگی و سوءتغذیه

گرسنگی بیش از چهار تا شش ساعت باعث افزایش گلوکونئوزن از اسیدهای آمینه عضلات می شود. در نتیجه، بیشتر اسیدهای آمینه در گرسنگی طولانی کاهش می یابند؛ به جز اسیدهای آمینه شاخه دار که ممکن است افزایش یابند

- سایر مواردی که ممکن است سبب بالا رفتن بیومارکرها شوند

پروفایل غیر طبیعی متابولیت ها همیشه نشان دهنده اختلال متابولیک نیست. در بچه های بستری که تحت درمان با آنتی بیوتیک هستند و گلوکز داخل وریدی و تغذیه تزریقی دریافت می کنند، معمولاً اسیدهای آمینه شاخه دار، متیونین، و آرژنین بالا رفته و گوتامات کاهش می یابد. با توجه به حساسیت بالای تکنیک MS/MS می توان حاملین

زمانی که یک قطره خون نوزاد در دستگاه طیف سنج جرمی دو گانه قرار می گیرد، یک محفظه خاص در دستگاه موجب می شود تا همه مواد در خون تفکیک و حرکت کنند. مواد سبک تر و کوچک تر سریع تر از مواد بزرگ تر و سنگین تر حرکت می کنند. مواد در طول یک فیلتر حرکت کرده و یک طیف از داده های کامپیوتری با مواد تشکیل می شوند. علاوه بر ثبت انواع مواد موجود، کامپیوتر، مقدار یک ماده خاص را اندازه گیری می کند. (تصویر شماره ۲)

نمونه مورد نیاز

حدود ۲۴ تا ۷۲ ساعت بعد از تولد نوزاد، چند قطره خون از پاشنه نوزاد گرفته شده و بر روی یک کاغذ صافی که قبلاً مشخصات و اطلاعات مربوط به نوزاد بر روی آن نوشته شده است، قرار می گیرد. کاغذ صافی در داخل یک پاکت به آزمایشگاه رسال می شود (تصویر شماره ۳).

مراحل فرآیند غربالگری نوزادان

مرحله اندازه گیری برنامه غربالگری با پردازش نمونه های لکه خون و تزریق آن ها به دستگاه MS/MS برای به دست آوردن پروفایل اسیدهای آمینه و اسیل کارنیتین ها آغاز می شود. چنانچه یک نتیجه غیر طبیعی به دست بیاید، نمونه اولیه باید مجدداً ارزیابی شود. اگر نتیجه غیر طبیعی تکرار شود، یک نمونه دیگر باید درخواست شود.



References

1. Newborn Screening by Tandem Mass Spectrometry: Impacts, Implications and Perspectives, François Rousseau, Yves Giguère, Marie-Thérèse Berthier, Dominique Guérette, Jean-Guy Girard and Michel Déry Service de Biochimie, Dépt. Biologie Médicale, Centre Hospitalier Universitaire de Québec & Université Laval, Canada, 2012

2. Newborn Screening In America: Problems and Policies, Vani Kilakkathi, Council for Responsible Genetics, 2012

3. Tandem mass spectrometry in newborn screening, American College of Medical Genetics/America Society Human Genetics Test and Technology Transfer Committee, July/August 2000 z Vol. 2 z No. 4

4. غربالگری اختلالات متابولیک به کمک طیف سنجی جرمی، مرکز تحقیقات اختلالات متابولیک، دانشگاه تهران ۱۳۹۴
<http://emri.tums.ac.ir/pages/mainPage.asp?I=S18M6P1>

و هتروز یگوت های اختلالات متابولیک و مادران حامل را از طریق بالا بودن مارکرهای اولیه شناسایی کرد. حتی کمبود ویتامین در مادر را می توان با آزمایش نمونه خون نوزاد شناسایی نمود. پروفایل متابولیک نوزادانی که از مادران مبتلا به کمبود ریوفلاوین متولد می شوند الگوی تغییر یافته ای مشابه گلو تار یک اسیدوری تیپ I نشان می دهد.



(تصویر شماره ۳) خونگیری در غربالگری نوزادان

مفهوم بیومارکرهای اولیه و ثانویه

بیومارکرها مولکول هایی هستند که در مایعات بدن موجود بوده و اندازه گیری آن ها می تواند برای بررسی فرایندهای بیولوژیکی نرمال، وضعیت بیماری یا پاسخ به درمان مورد استفاده قرار بگیرد. در این چارچوب، مارکرهای اولیه در غربالگری نوزادان، متابولیت هایی هستند که مربوط به یک مسیر بیوشیمیایی تغییر یافته (کاهش یا افزایش یافته) در یک بیماری خاص هستند و از نظر تشخیصی ارزش دارند. در حالیکه بیومارکرهای ثانویه، بیومارکرهایی هستند که نشان دهنده ی افزایش ریسک یک بیماری متابولیک هستند که در این مورد می توان به نسبت میان آنالیت ها اشاره کرد. رتبه بندی بیومارکرها، تفسیر پروفایل این متابولیت ها را تسهیل کرده و حساسیت تست ها را افزایش می دهد.

بهترین زمان انجام غربالگری ۴۸ تا ۷۲ ساعت پس از تولد نوزاد است

تست های تکمیلی

تست های تکمیلی در زمینه بیماری های متابولیک ارثی عبارتند از آنالیز ارگانیک اسیدها در ادرار و آنالیز اسیدهای آمینه و آنالیز اسیدهای آمینه و اسیل کارنیتین ها در پلاسما یا سرم. وقتی که بیماری متابولیک هیچ پروفایل اختصاصی مشخصی ندارد، تشخیص قطعی با تعیین فعالیت آنزیم یا تعیین نقص ژنتیکی انجام می شود.

بولتن داخلی

مدیر مسئول: محمدرضا حکمت

به کوشش گروه علمی آزمایشگاه دنا

دکتر مسعود گرشاسبی، دکتر میترا رفیع زاده، دکتر علی شجاعی
دکتر محمد رضا حکمت

شماره سند: ۸۱-۳-۳۰

گروه آزمایشگاه دنا

۱. تهران، آزمایشگاه دنا (تیلور سابق)، خیابان ولیعصر، بین بیمارستان دی و پل همت، خیابان نیلو، نبش بن بست دوم
تلفن: ۳۳۹۳۶

۲. اسلامشهر، آزمایشگاه کامت، خیابان امام سجاد (زرافشان)، نبش کوچه ۲۱ (شهید موسوی)، پلاک ۳
تلفن: ۵۶۳۲۰۲۴۳

۳. کرج، آزمایشگاه دنا، خیابان طالقانی شمالی، بالاتر از خیابان بهار، نبش خیابان کاج، پلاک ۱۵۱
تلفن: ۰۲۶-۳۲۲۱۳۵۹۵

www.DNA-LAB.ir