

# Anyai és újszülöttkori B<sub>12</sub>-vitamin-hiány felismerése kiterjesztett újszülöttkori szűréssel

Papp Ferenc dr. ■ Rácz Gábor dr. ■ Lénárt István ■ Kóbor Jenő dr.  
Bereczki Csaba dr. ■ Karg Eszter dr. ■ Baráth Ákos dr.

Szegedi Tudományegyetem, Általános Orvostudományi Kar, Szent-Györgyi Albert Klinikai Központ,  
Gyermekgyógyászati Klinika és Gyermek-egészségügyi Központ, Szeged

*Bevezetés:* A csecsemőkori B<sub>12</sub>-vitamin-hiány súlyos neurodegeneratív betegségként jelenhet meg, és rendszerint vegetáriánus étrend vagy anaemia perniciosa következtében létrejövő anyai hiány okozza. Korai felismerésével és kezelésével a potenciálisan súlyos és irreverzibilis neurológiai károsodás megelőzhető. Biokémiaiilag a B<sub>12</sub>-vitamin-hiány metil-malonsav-, homocisztein- és propionil-karnitin-felhalmozódáshoz vezet. A tandem tömegspektrometriás kiterjesztett újszülöttkori szűrés azonosíthatja az újszülöttkori és anyai B<sub>12</sub>-vitamin-hiányt, a propionil-karnitinnek és egyéb metabolitoknak az újszülöttek beszárított vércseppmintájában történő mérésével.

*Célkitűzés:* A B<sub>12</sub>-vitamin-hiány szűrésével nyert tapasztalataink összefoglalása.

*Módszer:* Retrospektív módon elemeztük a Szegedi Szűrőközpontban diagnosztizált B<sub>12</sub>-vitamin-hiányos csecsemők klinikai és laboratóriumi adatait.

*Eredmények:* Magyarországon a kiterjesztett újszülöttkori szűrés 2007-ben került bevezetésre. Központunkban azóta körülbelül 395 000 újszülött szűrése történt, és közülük négy újszülöttet azonosítottunk B<sub>12</sub>-vitamin-hiánnyal a szűrési eredményeik alapján. Három esetben emelkedett propionil-karnitin-szint és a negyedikben alacsony metioninszint utalt B<sub>12</sub>-vitamin-hiányra. Egy további B<sub>12</sub>-vitamin-hiányos, neurológiai tüneteket mutató csecsemő is észlelésre került négy hónapos életkorban, normális újszülöttkori szűrést követően, a vizelet-metil-malonsav-koncentráció emelkedése alapján. A B<sub>12</sub>-vitamin-hiány mind az öt csecsemőben anyai autoimmun anaemia perniciosa miatt másodlagosan jelentkezett. A felismert esetekből következően a csecsemőkori B<sub>12</sub>-vitamin-hiány incidenciája a kelet-magyarországi régióban 1,26/100 000 születés volt, de a valós gyakoriság feltehetően magasabb.

*Következtetések:* A B<sub>12</sub>-vitamin-hiány felismerési aránya a jelenleg használt szűrési paraméterek határértékeinek optimalizálásával és a beszárított vércseppmintában másodlagos vizsgálatként a metil-malonsav és/vagy homocisztein mérésével javítható.

Orv Hetil. 2017; 158(48): 1909–1918.

**Kulcsszavak:** B<sub>12</sub>-vitamin-hiány, anaemia perniciosa, újszülöttkori szűrés, tandem tömegspektrometria, metil-malonsav

## Maternal and neonatal vitamin B<sub>12</sub> deficiency detected by expanded newborn screening

*Introduction:* Infant vitamin B<sub>12</sub> deficiency can manifest as a severe neurodegenerative disorder and is usually caused by maternal deficiency due to vegetarian diet or pernicious anaemia. Its early recognition and treatment can prevent potentially serious and irreversible neurologic damage. Biochemically, vitamin B<sub>12</sub> deficiency leads to an accumulation of methylmalonic acid, homocysteine, and propionylcarnitine. Expanded newborn screening using tandem mass spectrometry may identify neonatal and maternal vitamin B<sub>12</sub> deficiency by measurement of propionylcarnitine and other metabolites in the dried blood spot sample of newborns.

*Aim:* To summarize our experiences gained by screening for vitamin B<sub>12</sub> deficiency.

*Method:* Clinical and laboratory data of vitamin B<sub>12</sub>-deficient infants diagnosed in Szeged Screening Centre were retrospectively analysed.

*Results:* In Hungary, expanded newborn screening was introduced in 2007. Since then approximately 395 000 newborns were screened in our centre and among them, we identified four newborns with vitamin B<sub>12</sub> deficiency based on their screening results. In three cases an elevated propionylcarnitine level and in the fourth one a low methionine level were indicative of vitamin B<sub>12</sub> deficiency. We also detected an additional vitamin B<sub>12</sub>-deficient infant with neurological symptoms at 4 months of age, after a normal newborn screening, because of elevated urinary methylmalon-

ic acid concentration. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency was secondary to maternal autoimmune pernicious anaemia in all the five infants. As a result of the recognized cases the incidence of infant vitamin B<sub>12</sub> deficiency in the East-Hungarian region was 1.26/100 000 births, but the real frequency may be higher.

**Conclusions:** Optimizing the cut off values of current screening parameters and measuring of methylmalonic acid and/or homocysteine in the dried blood spot, as a second tier test, can improve recognition rate of vitamin B<sub>12</sub> deficiency.

**Keywords:** vitamin B<sub>12</sub> deficiency, pernicious anemia, newborn screening, tandem mass spectrometry, methylmalonic acid

Papp F, Rác G, Lénárt I, Kóbor J, Bereczki Cs, Karg E, Baráth Á. [Maternal and neonatal vitamin B<sub>12</sub> deficiency detected by expanded newborn screening]. *Orv Hetil.* 2017; 158(48): 1909–1918.

(Beérkezett: 2017. augusztus 18.; elfogadva: 2017. szeptember 14.)

### Rövidítések

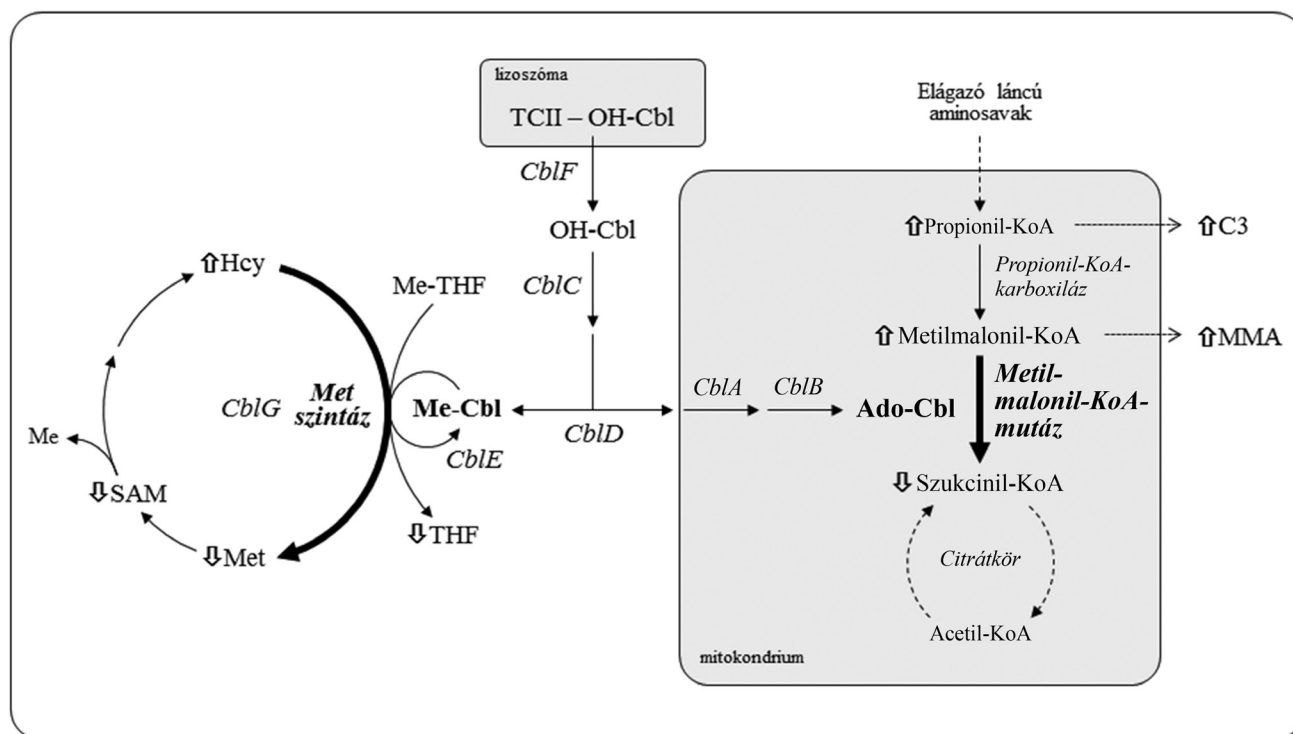
Ado-Cbl = adenzil-kobalamin; APCA = gyomor parietalis sejt elleni antitest; C0 = szabad karnitin; C2 = acetyl-karnitin; C3 = propionil-karnitin; C16 = palmitoil-karnitin; Cbl = kobalamin; GC-MS = gázkromatográfia-tömegspektrometria; Hcy = homocisztein; Hgb = hemoglobin; Htk = hematokrit; KoA = koenzim A; MCA = 2-metil-citrát; MCV = átlagos vörösvérsejt-térfogat; Me-Cbl = metil-kobalamin; Met = metionin; MMA = metil-malonsav; MS/MS = tandem tömegspektrometria

A veleszületett anyagcsere-betegségek újszülöttkori szűrésében forradalmi előrelépést jelentett a tandem tömegspektrometria (MS/MS) alkalmazása a 2000-es évek elejétől kezdve, amellyel a vizsgálható betegségek száma jelentősen bővült, és ezért kiterjesztett újszülöttkori szűrésnek nevezzük. Az MS/MS módszer nagyszámú anyagcseretermék (metabolit) gyors és mennyiségi meghatározását teszi lehetővé egyetlen mintából. Az újszülöttkori szűrésben jelenleg két metabolitsoport, aminosavak és acil-karnitinek meghatározása történik, amellyel a veleszületett anyagcsere-betegségek közül aminosav-anyagcsere-zavarok, bizonyos ureaciklus-defektusok, organikus aciduriák, valamint a karnitin-anyagcsere és a zsírsav-oxidáció zavarai vizsgálhatók [1, 2]. Magyarországon a kiterjesztett újszülöttkori szűrés bevezetésére 2007 októberében került sor, összesen 26 betegség szűrésével, országosan két központban (Semmelweis Egyetem, I. Gyermekgyógyászati Klinika, Budapest és Szegedi Tudományegyetem, Gyermekgyógyászati Klinika, Szeged) [2].

Az újszülöttkori szűrés kiterjesztése számos fontos megfigyeléshez vezetett, amelyek nem kapcsolódnak közvetlenül az újszülöttek veleszületett anyagcsere-betegségeinek felismeréséhez. Ezek közé tartozik az újszülöttek B<sub>12</sub>-vitamin-hiányának azonosítása is. Az újszülöttkori szűrőprogramok elterjedése világszerte ráirányította a figyelmet a B<sub>12</sub>-vitamin-hiányra, és az ezekből származó adatok azt mutatják, hogy előfordulása jóval gyakoribb a fejlett országokban is, mint ahogy azt korábban feltételezték [3, 4].

A B<sub>12</sub>-vitamin vagy kobalamin (Cbl) az emberi szervezet számára nélkülözhetetlen vegyület, amely csak állati eredetű táplálékokban (húsok, hal, tojás, tej) található. A táplálékkal elfogyasztott Cbl megfelelő felszívódásához a tápcsatornában termelődő kötőfehérjékre van szükség, mint a haptocorrin és a gyomornyálkahártya parietalis sejtjei által termelt intrinszik faktor. A felvételre került Cbl a *transz*-kobalamin II szállítófehérjéhez kötődve jut a májba, illetve a szervezet sejtjeihez. A célsejtek által endocytosissal felvett hidroxikobalamin a lizoszómákból felszabadul, és több egymást követő – CblF, CblC, CblD, CblA és CblB rövidítéssel jelölt – enzimatis reakción keresztül végül a Cbl két aktív formája képződik, a metil-kobalamin (Me-Cbl) és az adenzil-kobalamin (Ado-Cbl), amelyek a szervezet két alapvető fontosságú biokémiai reakciójának a kofaktorai (1. ábra). Az egyik a homocisztein (Hcy) remetilációja metioninná (Met), amelyben a Me-Cbl a folyamatot katalizáló metioninszintáz enzim (CblG) kofaktora. Az enzimhez kötődő Me-Cbl enzimatis redukciója a kofaktort aktív formában tartja (CblE). A Met-ből képződő S-adenozil-metionin (SAM) metildonorként nagyszámú metilációs reakcióban – többek között a DNS-metilációban – játszik szerepet. A reakció során egyúttal a metil-tetrahidrofoláttól (Me-THF) tetrahidrofolát (THF) képződik, ezáltal az enzimreakció a DNS-szintézisben alapvető fontosságú folátciklus működéséhez is szükséges. A másik reakcióban az Ado-Cbl az elágazó szénláncú aminosavak és egyéb vegyületek lebontása során képződő metil-malonil-koenzim A (KoA) átalakulását katalizálja a metil-malonil-KoA-mutáz enzim kofaktoraként, aminek eredményeként szukcinil-KoA, a citrátkör közti termék képződik [5–7]. A fenti anyagcsere-folyamat minden lépése zavart szenvedhet szerzett vagy veleszületett okok miatt, beleértve az elégtelen bevitt is, ami különböző B<sub>12</sub>-vitamin-hiánnyal járó kórképek kialakulásához vezethet csecsemő- és felnőttkorban egyaránt.

Az újszülött- és csecsemőkori B<sub>12</sub>-vitamin-hiány az esetek döntő többségében kizárólagos anyatejes táplálás mellett, anyai B<sub>12</sub>-hiány következtében lép fel, amelynek hátterében legtöbbször táplálkozással történő elégtelen



1. ábra Intracelluláris kobalamin-anyagcsere és a B<sub>12</sub>-vitamin-hiány által okozott biokémiai eltérések (magyarázat a szövegben)

Ado-Cbl = adenoszil-kobalamin; C3 = propionil-karnitin; Cbl = kobalamin; CblA-G = a kobalaminátalakulás egyes enzimatiskus lépései; Hcy = homocisztein; KoA = koenzim A; Me = metilsoport; Me-Cbl = metil-kobalamin; Met = metionin; Me-THF = metil-tetrahidrofolát; MMA = metil-malonsav; OH-Cbl = hidroxil-kobalamin; SAM = S-adenoszil-metionin; TCII = *transz*-kobalamin II; TCII-OH-Cbl = *transz*-kobalamin II-hidroxil-kobalamin komplex; THF = tetrahidrofolát; ↑ = emelkedés; ↓ = csökkenés

bevitel vagy anaemia perniciosa áll. A diétás hiány általában vegetáriánus vagy vegán étrend következménye, de rossz szociális körülmények miatti alultápláltság is okozhatja [4, 6, 8]. Azokban az országokban, ahol tradicionálisan nagyobb a vegetáriánusok aránya és/vagy a szociális körülmények is rosszabbak, a B<sub>12</sub>-vitamin-hiány előfordulása jóval gyakoribb a nyugat-európai országokhoz vagy az Egyesült Államokhoz viszonyítva, ami az anyai és csecsemőkori B<sub>12</sub>-hiány magasabb prevalenciáját is eredményezi [9, 10]. Az anaemia perniciosa szülőképes korú nők közötti előfordulási gyakoriságáról nincsenek adatok, az átlagpopulációban a prevalenciáját 0,1%-ra becsülik, és a felnőttkori B<sub>12</sub>-vitamin-hiány 20–50%-áért lehet felelős [11].

Az anya hiányállapota legtöbbször tünetmentes, és a B<sub>12</sub>-vitamin szérumszintje lehet a normális vagy alacsony-normális tartományban. A B<sub>12</sub>-hiányos anya újszülöttjében a raktározott vitamin mennyisége kevés, és mivel az anyatej B<sub>12</sub>-vitamin-tartalma is alacsonyabb, a kizárólagos anyatejes táplálás nem biztosítja a megfelelő utánpótlást. Emiatt a hiány mértéke idővel egyre fokozódik, és néhány hónap után klinikai tünetek alakulhatnak ki [4]. A csecsemők B<sub>12</sub>-hiányának korai tünetei nem specifikusak, ami megnehezíti a felismerést. Ilyen lehet többek között a táplálási nehézség, hányás, irritabilitás, gyarapodási elégtelenség vagy súlyvesztés. A neurológiai

tünetek megjelenése gyakori, amelyek között szerepelhet apátia, letargia, izomgyengeség, fejlődési elmaradás vagy regresszió, különböző mozgászavarok és görcs, illetve microcephalia is kialakulhat. A B<sub>12</sub>-hiány idővel macrocytás anaemiát eredményez, de a neurológiai tünetek megjelenésekor a hematológiai paraméterek még lehetnek normálisak [4, 6, 12]. B<sub>12</sub>-vitamin-pótlással a neurológiai tünetek általában heteken belül javulnak, ugyanakkor a hiányállapot mértékétől és időtartamától függően a neurológiai károsodások lehetnek irreverzibilisek, tartós idegrendszeri tüneteket és szomatomentális elmaradást eredményezve [13, 14]. Ennek elkerülése a hiányállapot korai felismerésével és a pótlás azonnali megkezdésével lehetséges, ami általában intramuscularis cianokobalamin-injekció adásával történik [6]. Feltételezések szerint az anyai B<sub>12</sub>-vitamin-hiány már a méhen belüli fejlődést is befolyásolhatja, és hajlamosíthat többek között velőcső-záródási rendellenesség kialakulására, koraszülésre, vagy alacsony születési súlyt is eredményezhet [15–19].

A csecsemőkori B<sub>12</sub>-vitamin-hiányt néha ritka genetikai kórkép okozza, amely érintheti a B<sub>12</sub>-vitamin felszívódását, transzportját vagy az intracelluláris B<sub>12</sub>-vitamin-metabolizmus valamelyik enzimatiskus lépését. Utóbbiakban az Ado-Cbl mitokondriális szintézise (CblA- és CblB-defektusok) vagy a Me-Cbl felhasználása (CblE- és CblG-defektusok) károsodik, vagy a kialakulásuk közös lépéseit

érintő defektusok (CblC-, CblD- és CblF-defektusok) miatt mindkettő hiányzik (1. ábra) [20]. A veleszületett defektusok klinikai megjelenése, diagnosztikája és kezelése – bizonyos hasonlóságok mellett – alapvetően különbözik a szerzett B<sub>12</sub>-vitamin-hiánytól [7].

A B<sub>12</sub>-vitamin-hiány jellegzetes laboratóriumi eltérése a macrocytás anaemia, amely korai stádiumban és enyhe esetekben nincs feltétlenül jelen [7]. A B<sub>12</sub>-vitamin szérum-szintjének meghatározása általában jelzi a hiányállapotot, azonban számos korlással is rendelkezik. Nem tisztázott, hogy pontosan milyen érték alatt beszélhetünk klinikailag is releváns hiányról, illetve annak korai stádiumában a szérum-szint még lehet a normális tartományban vagy annak alsó határán a szöveti szinten fennálló, akár klinikai tüneteket is okozó hiány ellenére [7]. A B<sub>12</sub>-vitamin-anyagcsere veleszületett zavarainak egy részében a szérum-B<sub>12</sub>-vitamin-szint a normális tartományban van. A hiány szérum-szint alapján történő korai felismerését megnehezíti az is, hogy tünetmentes egyénekben (mint amilyenek általában a B<sub>12</sub>-vitamin-hiányos anyák és újszülöttjeik) nem kerül meghatározásra. Ezzel szemben, a B<sub>12</sub>-vitamin-hiány által érintett két biokémiai reakció metabolikus eltéréseinek vizsgálata lehetővé teszi a hiány korai felismerését és a B<sub>12</sub>-vitamin-felhasználás veleszületett zavarainak a kimutatását is. Az eltérések egy

része a rutinszerűen végzett MS/MS vizsgálattal kimutatható, ami lehetőséget ad a kiterjesztett újszülöttkori szűréssel történő azonosításra, még tünetmentes állapotban. A Me-Cbl hiánya miatt a Hcy a plazmában megemelkedik, és fokozott mértékben ürül a vizelettel, ugyanakkor a Met vérszintje csökkenhet. Az Ado-Cbl hiánya a metil-malonil-KoA és a megelőző metabolit, a propionil-KoA felszaporodását eredményezi. A vérben felhalmozódó metil-malonsav (MMA) a vizelettel kiválasztódik. A kóros mennyiségű MMA mellett 2-metil-citromsav (MCA) és 3-hidroxi-propionsav is megjelenhet a vizeletben. A propionil-KoA-ból propionil-karnitin (C3) képződik. A Hcy és különösen a MMA koncentrációja a vérben és vizeletben sokkal érzékenyebb jelzője a B<sub>12</sub>-vitamin-ellátottságnak, mint a szérum-B<sub>12</sub>-vitamin-szint. Ezek felhalmozódása megelőzi a hematológiai és neurológiai tünetek kialakulását, sőt emelkedésük már akkor jelezheti a sejt-, illetve szöveti szinten fennálló B<sub>12</sub>-vitamin-hiányt, amikor a szérum-B<sub>12</sub>-vitamin-szint még nem csökken kóros mértékben. Meghatározásukkal tehát a B<sub>12</sub>-vitamin-hiány korán, még tünetmentes stádiumban felismerhető, és normális szintjük lényegében kizárja a klinikailag szignifikáns hiányállapotot [21]. Az újszülöttkori szűrésben leggyakrabban a C3-szint emelkedése utalhat B<sub>12</sub>-vitamin-hiányra, ami alapvetően a

1. táblázat | B<sub>12</sub>-vitamin-hiányos újszülöttek metabolikus paraméterei (a kóros értékek vastagon kiemelve)

Metabolikus paraméterek			Újszülöttek					
			1.	2.	3.	4.	5.	
MS/MS szűrőpapíros vérmintából	C3 (μmol/l) (kóros: >5,75)	1. minta	7,24	4,47	7,74	7,77	3,71	
		2. minta	7,69	3,96	2,59	4,45	2,85	
		3. minta	8,27	8,91	3,37	n. a.	3,44	
	C3/C2 (kóros: >0,26)	1. minta	0,26	0,25	0,29	0,18	0,17	
		2. minta	0,66	0,56	0,22	0,18	0,30	
		3. minta	0,74	1,45	0,22	n. a.	0,52	
	C3/C16 (kóros: >2,42)	1. minta	1,64	2,29	0,98	1,71	0,97	
		2. minta	7,69	8,43	2,87	3,15	4,67	
		3. minta	10,88	46,89	4,26	n. a.	9,30	
	C3/Met (kóros: >0,38)	1. minta	0,45	0,91	0,78	0,66	0,32	
		2. minta	0,37	0,86	0,16	0,15	0,38	
		3. minta	0,34	1,40	0,15	n. a.	0,54	
	Met (μmol/l) (kóros: <9,6)	1. minta	15,93	4,90	9,88	11,70	11,53	
		2. minta	20,76	4,62	15,99	28,70	7,57	
		3. minta	24,15	6,36	21,56	n. a.	6,34	
	Vizelet-MMA (mmol/mol kreatinin) (kóros: >30)			10 000	2000	1000	65	1050
	Plazma-Hcy (μmol/l) (normális tartomány: 5,7–9,5)			90,1	110	20,1	n. a.	67,9
	Szérum-B <sub>12</sub> -vitamin (pmol/l) (normális tartomány: 141–489)			22	38	188	n. a.	89

C2 = acetyl-karnitin; C3 = propionil-karnitin; C16 = palmitoil-karnitin; Hcy = homocisztein; Met = metionin; MMA = metil-malonsav; MS/MS = tandem tömegspektrometria; n. a. = nincs adat

propionaciduria (propionil-KoA-karboxiláz-defektus) és metil-malonát-aciduria (metil-malonil-KoA-mutáz- vagy CblA- és CblB-defektusok) veleszületett anyagcsere-betegségek kimutatásának elsődleges paramétere. A C3-szint-emelkedéssel járó patológiás állapotok felismerését a C3 más metabolitok koncentrációjához viszonyított arányának értékelése segítheti, mint másodlagos szűrési paraméter. Ilyenek lehetnek a C3/C0 (szabad karnitin), C3/C2 (acetyl-karnitin), C3/C16 (palmitoil-karnitin) vagy C3/Met arányok, amelyek kórosan megemelkedhetnek akár olyan esetekben is, amikor a C3-szint emelkedése elmarad. A magas C3-szintet időnként másodlagos karnitinhány kísérheti, ami a C0-szint csökkenésében nyilvánul meg. A Met-szint csökkenése bizonyos veleszületett enzimdefektusok (CblG-, CblE- és metilén-tetrahydrofolát-reduktáz-defektus) mellett B<sub>12</sub>-vitamin-hiányra is jellemző lehet. Az intracelluláris Cbl-átalakulás kezdeti lépéseinek enzimdefektusaiban (CblE, CblC és CblD) a diétás B<sub>12</sub>-vitamin-hiánynak megfelelő metaboliteltérések léphetnek fel. Az újszülöttkori szűrés fenti eltérései esetén további vizsgálatok szükségesek az ok tisztázására, amelyek közül a legfontosabb a vizelet-szervessavak (MMA, MCA) meghatározása gázkromatográfia-tömegspektrometria (GC-MS) módszerrel, valamint a plazma-Hcy- és szérumb-B<sub>12</sub>-vitamin-szint mérése. Ezeket a vizsgálatokat az MS/MS vizsgálattal együtt az anyánál is szükséges elvégezni.

## Módszer

A kiterjesztett újszülöttkori szűrés 2007 októberében történt bevezetése óta a Szegedi Anyagcsere Szűrőközpontban körülbelül 395 000 újszülöttet vizsgáltunk. B<sub>12</sub>-vitamin-hiány eddig négy újszülöttben igazolódott, amelynek hátterében minden esetben anyai hiány állt. Egy betegnél negatív újszülöttkori szűrés után csecsemőkori jelentkező klinikai tünetek kapcsán került felismerésre a B<sub>12</sub>-hiány-állapot, ami szintén anyai okra volt visszavezethető. Az öt újszülött esetét az alábbiakban ismertetjük, illetve klinikai és laboratóriumi adataikat retrospektív módon elemezzük.

Az újszülöttek és az anyák B<sub>12</sub>-vitamin-hiány szempontjából releváns metabolikus paramétereit az 1. és 2. táblázat tartalmazza részletesen. Az újszülöttek esetében szűrőpapíros vérmintából MS/MS vizsgálat több alkalommal is történt. Ezek közül az 1. táblázatban az első három vizsgálat eredményeit tüntettük fel. Az első minta mindig a harmadik életnapon levett újszülöttkori szűrést jelenti. A második minta a kóros első minta miatt ismétlésre bekért új szűrőpapíros mintát jelöli (kivéve az ötödik beteg esetében, akinek az újszülöttkori szűrése negatív volt). A második mintában észlelt kórjelző eltérések miatt az újszülöttek további vizsgálatok céljából behívásra kerültek (a negyedik beteg kivételével, akinek megerősítő vizsgálata területen, illetve beküldött vizeletmintából történt). A klinikai vizsgálat kapcsán került sor a harmadik mintavételre, illetve ezzel együtt a vizelet GC-MS

vizsgálatára, valamint a plazma-Hcy- és szérumb-B<sub>12</sub>-vitamin-szint meghatározására. A második és harmadik mintavétel időpontja az egyes betegeknek változó volt, ezeket az eseteket ismertetésekor jelezzük. A kivizsgáláskor lehetőség szerint az anyáknál szűrőpapíros vérmintából aminosav- és acil-karnitin-profil-meghatározást és egyéb vizsgálatokat végeztünk, mint vizelet-MMA és -MCA, plazma-Hcy, szérumb-B<sub>12</sub>-vitamin és gyomor parietalis sejt ellenes antitest (APCA) meghatározása az újszülött metaboliteltéréseinek tisztázása érdekében.

A szűrőpapíros vérmintából végzett MS/MS vizsgálatok Alliance 2795 nagynyomású folyadékromatográfával kapcsolt Quattro micro-API tömegspektrométerrel történtek (Waters Corp., Amerikai Egyesült Államok). A vizelet-szervessavak meghatározását HP-5MS oszloppal felszerelt GC-MS-készülékkel végeztük (Agilent Technologies, Amerikai Egyesült Államok). A plazma-Hcy-, szérumb-B<sub>12</sub>-vitamin- és APCA-szintek mérésére rutin laboratóriumi eljárás keretében került sor, kereskedelmi forgalomban kapható immunanalitikai kitek alkalmazásával.

2. táblázat | B<sub>12</sub>-vitamin-hiányos anyák metabolikus paramétereit (a kóros értékek vastagon kiemelve)

Metabolikus paraméterek		Anyák				
		1.	2.	3.	4.	5.
MS/MS szűrőpapíros vérmintából	C3 (μmol/l) (kóros: >5,75)	2,45	2,93	2,01	n. a.	n. a.
	C3/C2 (kóros: >0,26)	0,31	0,24	0,14	n. a.	n. a.
	C3/C16 (kóros: >2,42)	2,09	2,99	1,60	n. a.	n. a.
	C3/Met (kóros: >0,38)	0,15	0,21	0,16	n. a.	n. a.
	Met (μmol/l) (kóros: <9,6)	16,81	14,20	11,95	n. a.	n. a.
Vizelet-MMA (mmol/mol kreatinin) (kóros: >30)	48	240	95	n. a.	45	
Plazma-Hcy (μmol/l) (normális tartomány: 5,7–9,5)	n. a.	57,1	62,9	n. a.	55,3	
Szérumb-B <sub>12</sub> -vitamin (pmol/l) (normális tartomány: 141–489)	125	<22	39	150	33	
Gyomor parietalis sejt elleni antitest titer (U/ml) (normális tartomány: 0–10)	>100	>100	26,5	>100	>100	

C2 = acetyl-karnitin; C3 = propionil-karnitin; C16 = palmitoil-karnitin; Hcy = homocisztein; Met = metionin; MMA = metil-malonsav; MS/MS = tandem tömegspektrometria; n. a. = nincs adat



## Eredmények

### *Első eset*

Az elsőként észlelt újszülött két megelőző spontán abortuszt követően, zavartalan terhességéből, a 41. terhességi héten, 3000 gramm súllyal született, a perinatalis időszak problémamentes volt. Első vizsgálatában és annak egy héttel később végzett ismétlésében a C3-értékek emelkedettek voltak: 7,2 és 7,7  $\mu\text{mol/l}$  (kóros  $>5,75$ ). A C3/C2 és C3/C16 arányok csak a második mintában váltak kórossá, míg a kezdeti emelkedett C3/Met arány normalizálódott. A kizárólagosan anyatejjel táplált újszülött kéthetes életkorban differenciáldiagnosztikai vizsgálatok elvégzése céljából került klinikai felvételre, tünetmentes állapotban. Általános laboratóriumi vizsgálataiban enyhe macrocytás anaemiát észleltünk (Hgb: 129 g/l, Htk: 40,5%, MCV: 110 fl). A kivizsgáláskor vett harmadik mintában az acil-karnitin-profil kórjelző eltérései változatlanul jelen voltak egyéb eltérés nélkül. A vizeletben jelentős mennyiségű MMA: 3600 és 10 000 mmol/mol kreatinin (kóros  $>30$ ), valamint MCA: 15 és 60 mmol/mol kreatinin (kóros  $>1$ ) ürült, ami veleszületett metil-malonát-aciduria lehetőségét vetette fel a szervessav-ürülés mértéke alapján. A B<sub>12</sub>-vitamin adására reagáló forma felismerésére B<sub>12</sub>-vitamin-terhelést végeztünk három egymást követő napon napi 1000  $\mu\text{g}$  cianokobalamin intramuscularis injekció adásával. Erre gyors és egyértelmű biokémiai válasz jelentkezett: a vérben az acil-karnitin-eltérések már a második injekciót követő napra normalizálódtak, míg a vizelet-MMA- és -MCA-ürülés jelentősen csökkent, majd szinte megszűnt. Időközben ismertté vált a terhelés előtti kifejezetten emelkedett plazma-Hcy: 90,1  $\mu\text{mol/l}$  (normális  $<9,5$ ) és extrém alacsony szérumb<sub>12</sub>-vitamin-szint: 22 pmol/l (normális  $>141$ ), ami az újszülött súlyos B<sub>12</sub>-vitamin-hiányát igazolta. A B<sub>12</sub>-vitamin-injekciók hatására ezek is normalizálódtak. A terhelés után két héttel, majd havonta még két alkalommal részesült cianokobalamin-injekcióban, emellett a metabolikus eltérések nem tértek vissza. A tünetmentes, vegyes étrendet tartó, vérszegénységet nem mutató édesanyánál enyhe B<sub>12</sub>-vitamin-hiány igazolódott (125 pmol/l), amelynek hátterében a magas APCA-titer alapján anaemia perniciosa állt. Az anya MS/MS vizsgálatában csak a C3/C2 arány mutatott enyhe emelkedést (0,31, kóros  $>0,26$ ), normális C3-koncentráció (2,4  $\mu\text{mol/l}$ ) mellett, a vizeletben jelzett MMA- és MCA-ürüléssel (48 és 2 mmol/mol kreatinin).

### *Második eset*

A második újszülött a 40. terhességi héten, 3420 grammal született, adaptációja rendben zajlott. Újszülöttkori szűrésében és annak kéthetes életkorban végzett ismétlésében kórosan alacsony Met-szint: 4,9 és 4,6  $\mu\text{mol/l}$  (kóros  $<9,6$ ) került észlelésre, emelkedett C3/Met aránnyal. A vér-C3-koncentráció nem mutatott emelke-

dést (4,5 és 4  $\mu\text{mol/l}$ ), míg a C3/C2 és C3/C16 arányok a második mintában a kóros tartományba kerültek. Hcy remetilációs defektus gyanújával négyhetes életkorban került klinikai felvételre a kizárólag anyatejjel táplált, tünetmentes csecsemő. Mérsékelt macrocytás anaemián (Hgb: 116 g/l, Htk: 35%, MCV: 105 fl) kívül általános laboratóriumi vizsgálataiban nem volt eltérés. A kivizsgálás kapcsán vett harmadik mintában az aminosav- és acil-karnitin-profilban a korábbi eltéréseken túlmenően a C3-szint is kóros tartományba emelkedett (8,9  $\mu\text{mol/l}$ ), és a vizeletben jelentős mennyiségű MMA és MCA volt kimutatható (2000 és 50 mmol/mol kreatinin) kifejezetten emelkedett plazma-Hcy-koncentráció (110  $\mu\text{mol/l}$ ) kíséretében. Az alacsony szérumb<sub>12</sub>-vitaminszint (38 pmol/l) alapján az újszülöttnél súlyos B<sub>12</sub>-vitamin-hiány igazolódott. A három egymást követő napon 1000  $\mu\text{g}$ /nap dózisban adott cianokobalamin-injekció hatására a vér és vizelet metabolikus eltérései néhány napon belül mérséklődtek, illetve normalizálódtak, és a B<sub>12</sub>-vitamin-hiány rendeződött. Az újszülött eltérései miatt az édesanya is vizsgálatra került, akinél B<sub>12</sub>-vitamin-hiány igazolódott, nagyon alacsony szérumb<sub>12</sub>-vitaminszinttel ( $<22$  pmol/l), kórjelző mértékű plazma-Hcy- (57  $\mu\text{mol/l}$ ) és vizelet-szervessav emelkedése kíséretében (MMA és MCA: 240 és 3 mmol/mol kreatinin). A vér-acil-karnitin-profilban és Met-szintben nem volt eltérés. Vérékében normális Hgb- (130 g/l) és Htk- (38%) értékek mellett macrocytosis látszott (MCV: 112 fl). Az anyai B<sub>12</sub>-vitamin-hiány okaként APCA-vizsgálattal anaemia perniciosa igazolódott. A B<sub>12</sub>-vitamin-hiány magyarázatot adott az anya végtagszibbadására. Az anyai B<sub>12</sub>-vitamin-hiány fennállásának időtartama nem ismert, de feltételezésünk szerint összefüggésben állhatott előző gyermekének hét évvel korábban, öt hónapos életkorban bekövetkezett halálával, amelynek hátterében anaemiát, szepszist és a csontvelő kórszöveti vizsgálatával súlyos pancytopeniát állapítottak meg. Ekkor kiterjesztett újszülöttkori szűrés Magyarországon még nem volt.

### *Harmadik eset*

A harmadik újszülött a 39. terhességi héten, 3770 grammal született, adaptációs zavara nem volt. Öt napig tartó anyatejes táplálást követően anyatej pótló tápszert kapott. Az anya krónikus vérszegénység miatt időszakosan vaspótlásban részesült, amire nem volt érdemi javulás. Az újszülöttkori szűrés emelkedett C3-szintet mutatott. (7,74  $\mu\text{mol/l}$ ), amely az ismételt vizsgálatokban (10 napos és héthetes életkorokban) már normalizálódott (2,59 és 3,37  $\mu\text{mol/l}$ ), csakúgy, mint a kezdetben enyhén emelkedett C3/C2 arány. A 10 napos vett vizeletmintában jelentős mennyiségű MMA (1000 mmol/mol kreatinin) ürült, amely héthetes életkorra csökkent (235 mmol/mol kreatinin). Ennek oka főképp a tápszerral történő táplálás lehetett, amely hat hét alatt rendezte az újszülött B<sub>12</sub>-vitamin-hiányát, és a szérumb<sub>12</sub>-vitamin-

szint ekkor már az alacsony-normális tartományban volt (188 pmol/l). Az anyai hiány laboratóriumi igazolódott (szérum-B<sub>12</sub>-vitamin: 39 pmol/l), amihez enyhe MMA-ürítés (95 mmol/mol kreatinin) és kifejezett Hcy-emelkedés (62,9 μmol/l) társult. Az APCA-titer enyhe emelkedése anaemia perniciosát igazolt. Az anya vércépében anaemia vagy macrocytosis nem látszott (Hgb: 115 g/l, Htk: 37%, MCV: 76 fl).

#### *Negyedik eset*

A negyedik újszülöttről kevés klinikai és laboratóriumi adat áll rendelkezésre, mivel megerősítő vizsgálatai területen történtek. Időre született, perinatalis anamnézisében kóros nem szerepelt, anyatejes táplálásban részesült. Az újszülöttkori szűrésben észlelt C3-emelkedés (7,77 μmol/l) miatt ismételt MS/MS vizsgálat történt, amiben a C3-eltérés normalizálódott (4,45 μmol/l), emellett a C3/C16 arány enyhén emelkedett volt. A vizeletben az MMA koncentrációja jelzett emelkedést mutatott (65 mmol/mol kreatinin). A szérum-B<sub>12</sub>-vitamin-meghatározás az újszülöttnél enyhe hiányt igazolt (128 pmol/l), míg az anyánál a normális alsó határához közeli érték (150 pmol/l) háttérben APCA-vizsgálattal anaemia perniciososa került felismerésre.

#### *Ötödik eset*

Az ötödik újszülött a 40. terhességi héten, 3400 gramm súllyal született, a születés utáni időszak problémamentes volt. Az újszülöttkori szűrésében (első minta) egyik paraméterben sem volt körjelző eltérés, ezért ismétlés nem történt. Az anyatejjel táplált csecsemőnél három és fél hónapos kortól egyre súlyosbodó és gyakoribbá váló epilepsziás roszullétek jelentkeztek, ami klinikailag csecsemőkori malignus migráló parciális epilepsziának felelt meg. A tünetek miatti kivizsgálása során rutinszerűen MS/MS és egyéb anyagcsere-vizsgálatok is történtek, amelyek több alkalommal ismétlésre kerültek (második és harmadik minta). Az aminosav- és acil-karnitin-profilban rendre normális C3-szint (2,85 és 3,44 μmol/l) mellett a C3-hoz köthető arányok emelkedést mutattak, és a Met-szint is csökkent. A vizelet-GC-MS-vizsgálatokban változó mértékben emelkedett MMA- (150–1050 mmol/mol kreatinin) és MCA- (10–15 mmol/mol kreatinin) koncentráció volt észlelhető. A koponya-MR-vizsgálat nem mutatott kórosat. A metaboliteltérésekre való tekintettel szérum-B<sub>12</sub>-vitamin-meghatározás történt, ami hiányt igazolt (89 pmol/l). B<sub>12</sub>-vitamin-pótlás hatására a metabolitértékek normalizálódtak, de a klinikai tünetekben nem következett be javulás. A tünetmentes anyában súlyos B<sub>12</sub>-hiány igazolódott (33 pmol/l), a vizelet-MMA enyhe (45 mmol/mol kreatinin) és a plazma-Hcy jelentős (55,3 μmol/l) emelkedésével. A csecsemőnél a B<sub>12</sub>-hiány egyértelműen jelen volt, de a súlyos neurológiai tünetek háttérben a B<sub>12</sub>-

vitamin-hiány kóros szerepe kérdéses, mivel a későbbiekben genetikai vizsgálat a csecsemőkori malignus parciális epilepsziát megerősítette.

#### **Megbeszélés**

Az MS/MS vizsgálaton alapuló kiterjesztett újszülöttkori szűrés az újszülöttek veleszületett anyagcsere-betegségeinek azonosításán túlmenően lehetőséget ad egyéb kórállapotok felismerésére. Ezek közé tartozik az újszülött B<sub>12</sub>-vitamin-hiánya is, ami a legtöbb esetben anyai eredetű, ezért az újszülöttnél igazolt hiányállapot egyúttal az anya B<sub>12</sub>-hiányára is felhívhatja a figyelmet. Ilyen esetekben a kizárólagosan anyatejjel táplált csecsemőkben néhány hónapos korra súlyos, akár irreverzibilis neurológiai tünetek alakulhatnak ki, amelyek az időben, lehetőleg még tünetmentes állapotban elkezdett B<sub>12</sub>-vitamin-pótlással megelőzhetők. A csecsemőkori B<sub>12</sub>-vitamin-hiány tüneteken alapuló felismerése nem könnyű, tekintettel a nem specifikus klinikai megjelenésre. Esettanulmányok összesítése alapján a csecsemőkori B<sub>12</sub>-vitamin-hiány első tüneteinek kialakulása és a diagnózis felállítása között eltelt idő, vagyis a diagnosztikus késés medián értéke négy hónap [13]. Mindezek hangsúlyozzák az állapot korai felismerésének fontosságát, amelynek a leghatékonyabb módja az újszülöttkori szűréssel történő azonosítás. Ezzel a hiányállapot gyakorisága is pontosabban meghatározható, amire vonatkozóan korábban nagyon kevés adat állt rendelkezésre, és ezek is elsősorban a szérum-B<sub>12</sub>-szint meghatározásán alapultak, ami nem a legmegbízhatóbb paraméter a valós hiányállapot megítélésére.

A B<sub>12</sub>-vitamin-hiány következtében fellépő metaboliteltérések kimutatása lehetőséget ad a hiányállapot pontos és korai észlelésére, amelyek közül több MS/MS vizsgálattal az újszülöttkori vérmintában is vizsgálható. Ugyanakkor ezek az eltérések nem specifikusak B<sub>12</sub>-hiányra, és változó érzékenységgel detektálják azt. A rutinszerűen végzett újszülöttkori szűrésben a C3-vérszint emelkedése utal leggyakrabban B<sub>12</sub>-vitamin-hiányra. A C3-emelkedéssel járó patológias állapotok mellett a C3 egyéb ismert (például újszülöttkori sárgaság vagy túltáplálás miatti fokozott karnitinbevitel) vagy ismeretlen ok miatt is megemelkedhet, hamisan pozitív szűrést eredményezve. A C3-szűrés kapcsán hamisan negatív eredmény is előfordulhat, amelynek elkerülése klinikai szempontból különösen fontos. Ennek egyik ismert oka lehet az újszülött elégtelen karnitinbevitel, ami általánosságban csökkentheti az acil-karnitinek (köztük a C3) és a C0 szintjét. A hamisan negatív szűrés eredmények arányát jelentősen befolyásolja a C3-szint felső határértéke, amelynek csökkentésével ezek száma mérsékelhető, ezzel együtt azonban a hamisan pozitív esetek gyakoribbá válnak. A C3-hoz kapcsolódó arányok elemzése segítheti a valós kórállapot felismerését, de ezek az értékek is lehetnek hamisan negatívak. A szűrés érzékenysége ugyan-

azon mintából végzett másodlagos metabolitmeghatározással (úgynevezett „second-tier” teszt) fokozható. A B<sub>12</sub>-vitamin-hiány felismerésére a legalkalmasabb a vér MMA- vagy MMA- és Hcy-koncentrációjának együttes meghatározása, azonban a legtöbb szűrőprogramban ezt még nem alkalmazzák rutinszerűen [3, 22–24]. Egy Minnesotában végzett vizsgálatban 2005 és 2010 között közel 365 000 újszülött szűréséből 46 esetben észleltek kóros C3-vérszintet vagy C3/C2 és C3/C16 arányokat. Ilyen esetekben a másodlagos tesztként alkalmazott Hcy- és MMA-meghatározás eredményeként 11 újszülöttnél anyai eredetű B<sub>12</sub>-vitamin-hiány igazolódott. Ez alapján a B<sub>12</sub>-vitamin-hiány felismerési aránya 3,02/100 000 élveszületés volt [3]. Ez jóval magasabb, mint amit egy megelőző vizsgálat során tapasztaltak, amelyben 12 állam C3-meghatározáson alapuló szűrési eredményeinek összesítésével a gyakoriság 0,88/100 000 születésnek adódott [25]. A magasabb prevalencia elsősorban a C3-határérték csökkentésével és így a hamisan negatív esetek elkerülésével magyarázható [3]. Saját adatainkat összesítve a kiterjesztett újszülöttkori szűrés bevezetése óta eltelt közel 10 évben négy esetben igazolódott B<sub>12</sub>-vitamin-hiány az újszülöttkori szűrés eltérései alapján. A szűréssel felismert újszülöttek mindegyike tünetmentes volt. Egy esetben négy hónapos korban, neurológiai tünetek miatti kivizsgálás során került felismerésre B<sub>12</sub>-vitamin-hiányos állapot, negatív újszülöttkori szűrést követően. Az összes esetet alapul véve, az általunk szűrt kelet-magyarországi régióban az újszülött/csecsemőkori B<sub>12</sub>-vitamin-hiány incidenciája 1,26/100 000 születés. Egy Olaszországban végzett, B<sub>12</sub>-vitamin-hiány kimutatását célzó, hat évig tartó próbaszűrésben 35 000 újszülött közül hét esetben igazoltak B<sub>12</sub>-vitamin-hiányt, ami az előzőekhez képest jóval magasabb, 1/5000 gyakoriságot jelent. A magas felismerési arány elsődlegesen a C3-határérték jelentős csökkentéséből adódott [24]. A negatív újszülöttkori szűrést követően észlelt B<sub>12</sub>-hiányos esetünk és a nemzetközi gyakorisági adatok alapján úgy gondoljuk, hogy a B<sub>12</sub>-vitamin-hiány előfordulási aránya hazánkban is magasabb.

Az általunk kiszűrt négy esetből három újszülött emelkedett C3-érték alapján került kiemelésre, míg egy újszülöttben a normális C3-szint mellett csökkent Met-koncentráció vetette fel a remetilációs defektus gyanúját. Az ismételt mintákban a C3-szint csak egy esetben maradt tartósan magas, a másik két esetben a normális tartományba csökkent, viszont az alacsony Met-értékkel kiszűrt újszülöttnél a harmadik mintában már körjelző emelkedést mutatott, a megelőző két normális eredményt követően. A kóros C3-szint csökkenését a harmadik életnap után vett mintákban más közlemények is említik [8, 24]. A másodlagos paraméterek közül az első mintában a C3/Met arány minden esetben emelkedett volt, ami később a kezdeti C3-emelkedést mutató újszülöttnél normalizálódott. Ezzel szemben a C3/C16 arány kezdetben egyik újszülöttnél sem mutatott poziti-

vitást, majd az ismételt mintákban minden esetben kórossá vált. A C3/C2 arány az induló mintákban csak egy esetben volt emelkedett, ami azután normalizálódott, míg azokban az újszülöttekben, akikben kezdetben negatív volt, később pozitívvá vált. Az alacsony Met-szinttel kiszűrt újszülöttnél az eltérés konzekvensen megmaradt a pozitív C3/Met arány kíséretében. A csecsemőkori felismert esetenél az újszülöttkori szűrésben a C3-szint nem közelítette meg a határértéket, és a csecsemő négy hónapos korban végzett vizsgálatában is a normális tartományban volt, de ekkorra már az összes C3-hoz kapcsolódó arány és a Met-szint is a kóros tartományba került. A szűrési eredményekből az a következtetés vonható le, hogy az emelkedett C3-vérszint a B<sub>12</sub>-vitamin-hiány újszülöttkori szűrésében jól használható paraméter, de bizonyos esetekben nem jelzi a hiányállapotot, illetve a kezdetben kóros C3-érték egy későbbi mintában már normalizálódhat, ami nem zárja ki a B<sub>12</sub>-hiány meglétét. Ennek a lehetőségét mindenképpen figyelembe kell venni a C3-emelkedés miatt kért ismételt minta értékelésénél, mert egyéb paraméterek vizsgálata (például vér- vagy vizelet-MMA) nélkül hamisan negatív szűrést eredményezhet [8]. Az alacsony Met-szint a C3-értéktől függetlenül, önállóan is utalhat B<sub>12</sub>-vitamin-hiányra. A C3-hoz köthető arányok segítik a B<sub>12</sub>-vitamin-hiány felismerését is, de eltérések nem konzekvensék és nem állandóak, vagyis a C3-szinthez hasonlóan idővel változhatnak. A kiszűrt eseteinkben az első mintában a C3/Met arány, az ismételt mintákban a C3/C16 arány tűnt a legérzékenyebb másodlagos paraméternek. A vizelet-MMA-koncentráció az összes B<sub>12</sub>-hiányos esetben emelkedett volt, függetlenül a C3-emelkedés meglététől. A vizelet-MMA-ürítés mértéke arányban állt a szérumb-B<sub>12</sub>-szint alapján meghatározható hiány súlyosságával, és bizonyos esetekben elérte a súlyos veleszületett metil-malonát-aciduriára jellemző többzres értéket, ami – összehasonlítva más közlemények adataival – nem szokványos B<sub>12</sub> hiányban [8, 24]. A vizeletben észlelhető MMA-ürítéssel együtt a vér MMA-koncentrációja is emelkedik, és sokkal érzékenyebb jelzője a hiánynak, mint a C3-emelkedés. A vér-MMA-koncentráció másodlagos tesztként történő meghatározásával a B<sub>12</sub>-vitamin-hiány is hatékonyan azonosítható az újszülöttkori szűrésben [3, 22–24]. Plazma-Hcy-meghatározás egy újszülöttnél nem történt, a többi esetben emelkedett volt, időnként kifejezetten magas értékkel. A Hcy-vérszint másodlagos tesztként történő vizsgálata szintén hatékonyan azonosíthatja a B<sub>12</sub>-vitamin-hiányos eseteket [3, 24]. Van olyan szűrőprogram, amelyben a Hcy-szintet elsődleges paraméterként határozzák meg, ami a klasszikus homocystinuria kimutatásán túlmenően a remetilációs betegségek és a B<sub>12</sub>-vitamin-hiány felismerését is elősegíti. A Katarban kidolgozott új szűrési stratégia alapján Hcy-emelkedés esetén a Met- és C3-szint, valamint Met/fenilalanin és C3/C2 arányok másodlagos paraméterként történő együttes elemzésével a hamisan pozitív szűrési eredmények könnyebben azonosíthatók, és a



Hcy-emelkedést okozó valódi kórállapotok hatékonyabban felismerhetők és egymástól elkülöníthetők [26].

A szérumb<sub>12</sub>-vitamin-szint meghatározása négy esetben egyértelműen igazolta az újszülött B<sub>12</sub>-vitamin-hiányát. Egy újszülöttnél a mintavételre csak több héttel a tápszeres táplálás megkezdését követően került sor (harmadik újszülött), és ekkor a szérumb<sub>12</sub>-vitamin-szint már az alacsony-normális tartományban volt. Az újszülöttek első mintáiban mért C3-szint és a B<sub>12</sub>-hiány mértéke között, úgy tűnik, nincs összefüggés. Az általunk felismert B<sub>12</sub>-hiányos esetek háttérben minden esetben anyai B<sub>12</sub>-vitamin-hiány állt, amit kivétel nélkül APCA-vizsgálattal igazolt anaemia perniciosa okozott, fehérjeszegény diétát tartó vagy vegetáriánus nem volt közöttük. Az anyák szinte mindegyike tünetmentes volt, egy esetben kézzsibbadás utalt a B<sub>12</sub>-vitamin-hiányra. A szérumb<sub>12</sub>-vitamin-meghatározás három anyánál súlyos, egy anyánál enyhe hiányt igazolt, és egy anya szérumszintje a normális alsó tartományában volt. Aminosav- és acil-karnitin-profil-meghatározásra három anyánál került sor, minden esetben lényegében negatív eredménnyel. (Az egyik anyánál enyhe C3/C2, egy másiknál C3/C16 emelkedés látszott, egyéb eltérés nélkül.) Akinél történt vizelet-MMA-meghatározás, a koncentrációja enyhén emelkedett volt (45–240 mmol/mol kreatinin). A mért esetekben a plazma-Hcy-szint mérsékelt emelkedést mutatott. Adataink alapján az anyai hiány, amely a szérumszint alapján lehetne súlyos is, általában szubklinikus formában volt jelen, és a társuló metaboliteltérések az enyhén vagy mérsékelt kóros tartományban voltak, szemben az újszülöttek sokkal kifejezettebb eltéréseivel. Úgy tűnik, hogy az újszülött metaboliteltéréseinek mértéke nem tükrözi egyértelműen az anyai szérumb<sub>12</sub>-vitaminszintet, vagy másként, az újszülött eltérései a normálshoz közeli anyai B<sub>12</sub>-vitaminszint esetén is lehetnek nagyon kifejezettek. A B<sub>12</sub>-vitamin-pótlás hatására az újszülöttek metabolikus eltérései tartósan normalizálódtak.

## Következtetések

Az újszülött- és csecsemőkori B<sub>12</sub>-vitamin-hiány súlyos pszichomotoros elmaradáshoz vezethet, ami az időben elkezdett kezeléssel megelőzhető. A hiányállapot korai, még tünetmentes állapotban történő felismerésére ad lehetőséget a kiterjesztett újszülöttkori szűrés, amellyel a B<sub>12</sub>-vitamin-hiányos újszülöttek többsége azonosítható. Az újszülött B<sub>12</sub>-hiánya szinte mindig anyai B<sub>12</sub>-vitamin-hiány következtében alakul ki, így az újszülöttkori szűréssel a B<sub>12</sub>-vitamin-hiányos anyák is felismerésre kerülnek. Több metabolit eltérése is utalhat B<sub>12</sub>-vitamin-hiányra, és a hatékony felismeréshez ezek együttes elemzésére van szükség. A legtöbb országban és nálunk is elsődlegesen a C3 és a C3-hoz kapcsolódó arányok vizsgálatán alapul a B<sub>12</sub>-vitamin-hiány azonosítása. Ezen túlmenően az alacsony Met-szint is utalhat B<sub>12</sub>-vitamin-hiányra, amire szintén figyelemmel kell lenni a szűrési

eredmény értékelésénél. A jelenlegi szűrési stratégia alkalmazásával a B<sub>12</sub>-vitamin-hiány kimutatása kapcsán hamisan negatív szűrési eredmény is előfordulhat. Ennek elkerülésére a szűrési paraméterek határértékeinek optimalizálása mellett másodlagos szűrőtesztek alkalmazása adhat lehetőséget. A B<sub>12</sub>-vitamin-hiány felismerésében a vér-MMA-koncentráció meghatározása tűnik a leghatékonyabb másodlagos vizsgálatnak. A vér Hcy-szintjének mérésével a B<sub>12</sub>-vitamin-hiány mellett egyéb remetilációs zavarok is kimutathatók. A felismert esetek alapján az általunk vizsgált kelet-magyarországi régióban az újszülöttkori B<sub>12</sub>-vitamin-hiány incidenciája 1,26/100 000 születés, de a valós gyakoriság feltehetően ettől magasabb. A B<sub>12</sub>-vitamin-hiányos esetek felderítése a magyarországi szűrőprogramnak is fontos feladata. Felmerül továbbá a terhes nők rutinszerű szűrése B<sub>12</sub>-vitamin-hiányra MS/MS módszer alkalmazásával. A tünetmentes nőkben a hiányállapot ilyen módon történő felismerése lehetőséget adhatna az adekvát vitaminpótlásra, ami különösen fontos azokban az esetekben, amelyekben a különböző magzatvédő multivitaminokkal bevitt B<sub>12</sub>-vitamin mennyisége nem elegendő, vagy felszívódása anaemia perniciosa miatt károsodott. Ennek a csecsemőkori B<sub>12</sub>-vitamin-hiány mellett bizonyos fejlődési rendellenességek és terhességi szövődmények megelőzésében is lehet szerepe.

*Anyagi támogatás:* A kézirat megírása anyagi támogatásban nem részesült.

*Szerzői munkamegosztás:* P. F.: A téma felvetése, adatok gyűjtése, a kézirat megszövegezése. B. Á., R. G., L. I., K. J.: Adatok szolgáltatása. B. Á., R. G., B. Cs., K. E.: A kézirat lektorálása, módosítása. A cikk végleges változatát valamennyi szerző elolvasta és jóváhagyta.

*Érdekltségek:* A szerzőknek nincsenek érdekltségeik.

## Irodalom

- [1] Pourfarzam M, Zadhoush F. Newborn screening for inherited metabolic disorders; news and views. *J Res Med Sci.* 2013; 18: 801–808.
- [2] Papp F, Rózsa M, Wittmann Gy, et al. Newborn screening for metabolic diseases and their clinical features. [Anyagcsere-betegségek újszülöttkori szűrése és klinikai jellemzőik.] *Egészségtudomány* 2011; 55: 19–37. [Hungarian]
- [3] Sarafoglou K, Rodgers J, Hietala A, et al. Expanded newborn screening for detection of vitamin B<sub>12</sub> deficiency. *JAMA* 2011; 305: 1198–1200.
- [4] Roumeliotis N, Dix D, Lipson A. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency in infants secondary to maternal causes. *CMAJ* 2012; 184: 1593–1598.
- [5] Food and Nutrition Board Institute of Medicine. Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin B<sub>6</sub>, folate, vitamin B<sub>12</sub>, pantothenic acid, biotin, and choline. Vitamin B<sub>12</sub>. National Academies Press, Washington DC, 1998; pp. 307–308.
- [6] Smith J, Coman D. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency: an update for the general paediatrician. *Pediatr Therapeut.* 2014; 4: 188.

- [7] Rasmussen SA, Fernhoff PM, Scanlon KS. Vitamin B<sub>12</sub> deficiency in children and adolescents. *J Pediatr.* 2001; 138: 10–17.
- [8] Marble M, Copeland S, Khanfar N, et al. Neonatal vitamin B<sub>12</sub> deficiency secondary to maternal subclinical pernicious anemia: identification by expanded newborn screening. *J Pediatr.* 2008; 152: 731–733.
- [9] Casterline JE, Allen LH, Ruel MT. Vitamin B-12 deficiency is very prevalent in lactating Guatemalan women and their infants at three months postpartum. *J Nutr.* 1997; 127: 1966–1972.
- [10] Agarwa N, Chandrakanta, Koonwar S, et al. Epidemiology and neurodevelopmental correlates of cobalamin deficiency in hospitalized North Indian infants. *J Pediatr Neurol Med.* 2016; 1: 103.
- [11] Andres E, Serraj K. Optimal management of pernicious anemia. *J Blood Med.* 2012; 3: 97–103.
- [12] Emery ES, Homans AC, Colletti RB. Vitamin B12 deficiency: A cause of abnormal movements in infants. *Pediatrics* 1997; 99: 255–256.
- [13] Dror DK, Allen LH. Effect of vitamin B12 deficiency on neurodevelopment in infants: current knowledge and possible mechanisms. *Nutr Rev.* 2008; 66: 250–255.
- [14] Von Schenck U, Bender-Götze C, Koletzko B. Persistence of neurological damage induced by dietary vitamin B-12 deficiency in infancy. *Arch Dis Child.* 1997; 77: 137–139.
- [15] Kirke PN, Molloy AM, Daly LE, et al. Maternal plasma folate and vitamin B12 are independent risk factors for neural tube defects. *QJ Med.* 1993; 86: 703–708.
- [16] Molloy AM, Kirke PN, Troendle JF, et al. Maternal vitamin B12 status and risk of neural tube defects in a population with high neural tube defect prevalence and no folic acid fortification. *Pediatrics* 2009; 123: 917–923.
- [17] Thompson MD, Cole DE, Ray JG. Vitamin B-12 and neural tube defects: the Canadian experience. *Am J Clin Nutr.* 2009; 89(Suppl): 697S–701S.
- [18] Molloy AM, Kirke PN, Brody LC, et al. Effects of folate and vitamin B<sub>12</sub> deficiencies during pregnancy on fetal, infant, and child development. *Food Nutr Bull.* 2008; 29(2 Suppl): S101–S111.
- [19] Sukumar N, Rafnsson SB, Kandala NB, et al. Prevalence of vitamin B-12 insufficiency during pregnancy and its effect on offspring birth weight: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 2016; 103: 1232–1251.
- [20] Watkins D, Rosenblatt DS, Fowler B. Disorders of cobalamin and folate transport and metabolism. In: Saudubray JM, van den Berghe G, Walter JH. (eds.) *Inborn metabolic diseases*, 5<sup>th</sup> edn. Springer-Verlag, Berlin, 2012; pp. 386–393.
- [21] Savage DG, Lindenbaum J, Stabler SP, et al. Sensitivity of serum methylmalonic acid and total homocysteine determinations for diagnosing cobalamin and folate deficiencies. *Am J Med.* 1994; 96: 239–246.
- [22] Campbell CD, Ganesh J, Ficioglu C. Two newborns with nutritional vitamin B<sub>12</sub> deficiency: challenges in newborn screening for vitamin B<sub>12</sub> deficiency. *Haematologica* 2005; 90 (Suppl): ECR45.
- [23] Matern D, Tortorelli S, Oglesbee D, et al. Reduction of the false-positive rate in newborn screening by implementation of MS/MS-based second-tier tests: the Mayo Clinic experience (2004–2007). *J Inher Metab Dis.* 2007; 30: 585–592.
- [24] Scolamiero E, Villani GR, Ingenito L, et al. Maternal vitamin B12 deficiency detected in expanded newborn screening. *Clin Biochem.* 2014; 47: 312–317.
- [25] Hinton CF, Ojodu JA, Fernhoff PM, et al. Maternal and neonatal vitamin B12 deficiency detected through expanded newborn screening—United States, 2003–2007. *J Pediatr.* 2010; 157: 162–163.
- [26] Gramer G, Abdoh G, Ben-Omran T, et al. Newborn screening for remethylation disorders and vitamin B12 deficiency—evaluation of new strategies in cohorts from Qatar and Germany. *World J Pediatr.* 2017; 13: 136–143.

(Papp Ferenc dr.,  
Szeged, Korányi fasor 14–15., 6720  
e-mail: papp.ferenc@med.u-szeged.hu)

## Gyógyszertár és rendelő

1995 óta Budapesten működő, kisforgalmú **gyógyszertár** eladó saját ingatlannal (113 m<sup>2</sup>), melyből körülbelül 35 m<sup>2</sup> leválasztható **rendelőnek**.

Érdeklődni: H–P 9–20 óráig, Szombaton 9–13 óráig a 06-1 390 6042-es telefonszámon lehet.