

# Üle-eestiline vastsündinute laiendatud sõeltestimine tandemmass-spektromeetria meetodil ravitavate kaasasündinud ainevahetushaiguste suhtes

Karit Reinson<sup>1,2</sup>, Kairit Joost<sup>2</sup>, Mari-Liis Uudelepp<sup>2,3</sup>, Riina Žordania<sup>2</sup>, Kadi Künnapas<sup>2</sup>, Katrin Õunap<sup>1,2</sup>

Eesti Arst 2014;  
93(4):218–222

Saabunud toimetusse:  
05.02.2014  
Avaldamiseks vastu võetud:  
20.03.2014  
Avaldatud internetis:  
30.04.2014

<sup>1</sup> TÜ lastekliinik,  
<sup>2</sup> TÜ Kliinikumi ühendlabori  
geneetikakeskus,  
<sup>3</sup> TÜ arstiteaduskonna bio-  
ja siirdemeditsiini instituut

Kirjavahetajaautor:  
Karit Reinson  
karit.reinson@kliinikum.ee

Võtmesõnad:  
kaasasündinud  
ainevahetushaigus,  
vastsündinute laiendatud  
sõeltestimine, tandemmass-  
spektromeetria

Ainevahetushaigused (av-haigused) on rühm pärilikke haigusi, mille korral ensüümidefakti tõttu pidurdub organismis teatud metaboliitide lammutamine, ülesehitus või transport. Selle tagajärjel võivad häiruda kehas mitmed elutähtsad funktsioonid, põhjustades ägedat või kroonilist elundipuudulikkust, eluohtlikke seisundeid ja enneaegset surma. Haigused avalduvad eri vanuses – vastsündinuest täiskasvanueani – ning esmased sümptomid on sageli mittespetsiifilised. See muudab nende haiguste õigeaegse diagnoosimise ja ravi keeruliseks. Alates 1. jaanuarist 2014 alustati Eestis katseprojekti vastsündinute laiendatud sõeltestimiseks tandemmass-spektromeetria meetodil, mille raames lisandub kahele juba skriinitavale haigusele, milleks on fenüülketonuuria ja kaasasündinud hüpotüreos, veel 18 uut ravitavat av-haigust. Katseuringu eesmärk on uue laborimeetodi juurutamine ja sellega teatud ravitavate ainevahetushaiguste võimalikult varane diagnoosimine ning ravi alustamine haiguste kaugprognoosi parandamiseks.

Ainevahetushaigused (av-haigused) on rühm pärilikke haigusi, mille korral esineb organismis spetsiifiline biokeemiline kõrvalekalle, mis on põhjustatud patogeenset geenimutatsioonist. Nüüdseks on teada üle 525 pärilikke av-haigusi põhjustava ensüümidefakti (1). Kliinilise leiu poolest on see haiguste rühm väga heterogeenne ja enam ei saa öelda, et suurem osa av-haigusi avaldub vastsündinu- ja/või imikueas – üha enam kasvab ka hilisemas lapseas ja täiskasvanueas diagnoositud haigusjuhtude osakaal. Haiguste esmaseks kliiniliseks avaldumiseks võib olla näiteks äkksurm, psüühikahäired, elundite arengu häired, vaimse arengu mahajäämus jm. Valdavalt on haiguste tekkemehhanism seotud rakkude tasandil tekkinud metaboliitide kuhjumise, transpordihäire või energia puudulikkusega, mis tundide, päevade, kuude või aastate jooksul põhjustab erinevaid tervisehäireid. Sageli on haiguste esmased sümptomid väga mittespetsiifilised ning see muudab õigeaegse diagnoosimise ja ravi võimatuks ning hilinenud ravi alustami-

sega pole alati võimalik tekkinud kahjustusi olematuks muuta.

Eraldiseisvana on iga konkreetne av-haigus harva esinev, kuid kõiki haigusi kokku võttes on nende esinemissagedus üsna märkimisväärne: ligikaudu 40 haigusjuhtu 100 000 sünni kohta ehk 1 : 2500 sünni kohta (2). Saksamaal ajavahemikul 1999–2009 teostatud vastsündinute sõeluringul diagnoositi av-haigusi keskmiselt 1 : 2907 vastsündinu kohta (3). Sealhulgas on pärilike rasvhapete (RH) oksüdatsiooni defektide esinemissagedus Austraalia, Saksamaa ja USA skriiningu koondandmete põhjal ligikaudu 1 juht 9300 vastsündinu kohta (kokku ligikaudu 5 miljonit testitud vastsündinut) (4). Neid andmeid arvestades peaks Eestis sündima 5–6 esmase av-haigusega last aastas. Ajavahemikul 1990–2008 Eestis diagnoositud av-haigusega isikute andmete analüüsi tulemuste põhjal võib öelda, et nende haiguste levimus on Eestis praegu 1 : 5000 elusa lapse kohta, millest võib järeldada, et ligikaudu iga teine patsient

jääb meil seni leidmata. Seega on meil kindlasti nende haiguste diagnoosimiseks arenguruumi ning vastsündinute sõeltestimine oleks oluliseks abiks. Laiendades sõeltestitavate haiguste hulka, saab parema ülevaate ravitavate av-haiguste levimusest, ning mis peamine – haiguste diagnoosimine ja ravi alustamine asümptomaatilises perioodis tagab haigetele oluliselt parema prognoosi edasiseks eluks.

Paljudes Euroopa riikides on vastsündinute sõeltestimine eri ulatuses kestnud juba üle 50 aasta. See sai võimalikuks tänu dr Robert Guthriele, kes võttis 1960. aastate alguses kasutusele spetsiaalse filterpaberi kapillaarvere kogumiseks, mida algul kasutati vaid ühe haiguse – fenüülketonuuria (FKU) – diagnoosimiseks asümptomaatilises perioodis (5). Enamikus Euroopa Liidu (EL) riikides, USAs ja Austraalias on praeguseks kasutusele võetud tandemmass-spektromeetria (tandem-MS) meetod, mille abil on võimalik ühe testiga määrata kuni 50 erineva metaboliidi taset, millest 29 tõus viitab kindlale haigusele ning 25 metaboliidi tõusu näeme põhihaigusest tingitud sekundaarsete muutuste korral (3, 6, 7). 2013. aasta sügisel soetati ka Tartu Ülikooli Kliinikumi ühendlaborisse tandem-MS aparaat, mis võimaldab meil samuti laiendatud skriininguprotokolli kasutusele võtta.

Riigiti on uuritavate haiguste arv erinev: alates USAst, kus uuritakse 29 pärilikku haigust ja 25 sekundaarset seisundit, kuni näiteks Saksamaani, kus on hõlmatud 12 haigust. ELi riikides on 2012. aasta kirjanduse andmeil laiendatud tandemmass-spektromeetria sõeluuring kasutusel vähemalt 12 riigis (Austria, Belgia, Kreeka, Tšehhi, Taani, Ungari, Island, Holland, Portugal, Hispaania, Šveits ja Suurbritannia) (8). Rootsis ja Norras alustati tandem-MS skriiningut 2011. aastal (9). Detailsed andmed skriinitavate haiguste kohta ELi liikmesriikides on toodud Loeberi jt (8) ning Bugardi jt 2012. aasta artiklites (9).

Vastsündinute skriiningul uuritavad haigused valib iga riik eraldi välja, lähtudes sotsiaal-majanduslikust ja epidemioloogilisest eripärast. Valik peab vastama 1968. aastal J. M. G. Wilsoni ja G. Jungneri välja töötatud kriteeriumitele (10), mida hiljem on tunnustanud ka Maailma Terviseorganisatsioon (11). Need kriteeriumid on järgmised:

- haiguse esinemissagedus (eeldatav esinemissagedus) riigis on piisavalt

suur, et õigustada analüüsimist haiguse asümptomaatilises faasis;

- teada on täpne loomulik haiguse kulgravimata juhul;
- haigus põhjustab ravimata juhtudel patsiendi üldseisundi märkimisväärset halvenemist ja/või enneaegset surma;
- haigus on ravitav ja ravi parandab oluliselt haiguse loomulikku kulgu;
- haiguse testimiseks on kättesaadav ohutu, lihtne ja piisavalt tundlik uurigumeetod ning on olemas spetsiifilised diagnoosi kinnitavad uuringud;
- haiguse suhtes sõeltestimine ja varane ravi alustamine on riigile/ühiskonnale kulutõhus.

## OLUKORD EESTIS

1993. aastast alates on Eestis sõeluuritud kõiki vastsündinuid ühe päriliku av-haiguse – fenüülketonuuria – (12) ja 1996. aastast alates kaasasündinud endokriinhäire – hüpötüreoosi – suhtes (13). Igal aastal diagnoositakse keskmiselt 1–3 uut FKU ja 1–5 kaasasündinud hüpötüreoosi haigusjuhtu. Viimase kümne aasta jooksul on Eestis sõeltestimisega olnud püsivalt hõlmatud üle 99% vastsündinutest (14), mis muu maailmaga võrreldes on väga hea tulemus. Sõeltestimist on rahastanud Eesti Haigekassa.

FKU on autosoom-retsessiivselt päranduv aminohapete ainevahetuse häire, mille korral on organismis puudulik ensüüm fenüülalaniini hüdroksülaas. Ensüümidefekti tõttu ei lammutata maksas normaalse toiduvalgu koostises olevat aminohapet fenüülalaniini, vaid see kuhjub ajukoosse ja põhjustab ravimata juhtudel vaimse arengu mahajäämuse (15). Haiguse varase diagnoosimise korral saab alustada ravidieediga asümptomaatilises perioodis ning laps areneb eakohaselt. Enne sõeltestimise algust oli retrospektiivselt hinnatuna Eestis FKU esinemissagedus 1 : 8090, kuid sõeltestides ilmnes esinemissagedus 1 : 6010 (12). Seega on FKU kõige sagedasem pärilik av-haigus Eestis ning välja on töötatud ka üleriigiline ravijuhend (16).

Kaasasündinud hüpötüreoosi (KSHT) põhjustab sageli kilpnäärme arenguhäire looteas: aplaasia, hüpoplaasia või ektoopia. Harvem võivad seda põhjustada ka mõned muud seisundid – kilpnäärme pärilik düshomogenees – või hüpotalamus – hüpofüsaarse süsteemi häired (17). Eestis sünnib keskmiselt 1 KSHTga laps iga 4500

**Tabel 1.** 18 uut ainevahetushaigust, mis lisandusid 1. jaanuaril 2014 vastsündinute laiendatud sõeltestimise programmi

Aminoatsiduuriad	Orgaanilised atsiduuriad	Rasvhapete (RH) ainevahetushäired
Vahtrasiirupitõbi	Isovaleraatatsiduuria	Keskmise ahelaga RH oksüdatsiooni puudulikkus
I tüüpi türosineemia	Metüülmalonaatatsiduuria	Pika ahelaga RH oksüdatsiooni puudulikkus
Homotsüstinuuria	B <sub>12</sub> -vitamiini puudulikkus	Väga pika ahelaga RH oksüdatsiooni puudulikkus
Argininosuktsinaatatsiduuria	Proprioonaatatsiduuria	Karnitiintransportija puudulikkus
I tüüpi tsitrullineemia	I tüüpi glutaraatatsiduuria	Karnitiini-atsüülkarnitiini translokaasi puudulikkus
	II tüüpi glutaraatatsiduuria	Karnitiin-palmitoüültransferaas I puudulikkus
		Karnitiin-palmitoüültransferaas II puudulikkus

vastsündinu kohta (13). 90% KSHT-juhtudest esineb sporaadiliselt, vaid 10%-l juhtudest on haiguse genees pärilik. KSHT põhjustab ravimata juhtudel lapse raske füüsilise ja vaimse arengu mahajäämuse, mis on adekvaatse raviga välditav.

Vereproov sõeltestimiseks võetakse kapillaarverest sünnitusmajas või lastehaiglas lapse 3.–5. elupäeval. Spetsiaalsele filterpaberile võetud vereplekk saadetakse edasiseks uuringuks Tartu Ülikooli Kliinikumi ühendlabori geneetikakeskusesse. Kui analüüsi vastustes kõrvalekaldeid ei esine, siis sellest lapsevanemaid ei teavitata, kuid patoloogilise leiu korral võetakse kohe lapsevanemaga telefoni teel ühendust ning korraldatakse vajalikud lisauuringud ja analüüsid, et kinnitada diagnoos. Molekulaardiagnostika haigust põhjustava geeni suhtes tehakse võimaluse korral ka mõlemale lapsevanemale, et nõustada perekonda kordusriskide suhtes seoses järgnevate lastega.

## VASTSÜNDINUTE SKRIININGU LAIENDAMINE EESTIS 2014. AASTAST ALATES

Alates 1. jaanuarist 2014 algas üle-eestiline katseprojekt vastsündinute sõeltestimiseks laiendatud programmi alusel. Kokku lisandub sõeltesti programmi 18 uut ainevahetushaigust: enamik RH oksüdatsiooni defekte, teatud ravitavad orgaanilised atsiduuriad ja aminoatsiduuriad (k.a FKU) (3, 4) (vt tabel 1). Skriinitavate haiguste esialgne valik põhineb teiste riikide kogemusel (3, 7, 8). Vastsündinute laiendatud sõeluurimise katseprojektiks on loa andnud Tartu Ülikooli eetikakomitee (taotlus nr 231/T-5; koosolek 18.11.2013).

Kuna juba käigusolev sõeltestimise logistikasüsteem toimib hästi, siis rakenda-

takse seda ka katseprojektis. Testid tehakse samadest testkaartidest, mis saadetakse geneetikakeskusesse FKU ja kaasasündinud hüpoteerose uurimiseks. Vastsündinute laiendatud sõeltestimise projekti kohta jagatakse tutvustavat infot sünnitusmajades ja lastehaiglates ning selle lihtsustamiseks oleme välja töötanud ka infovoldiku.

## KATSEPROGRAMMI RAAMES SÕELTESTITAVAD HAIGUSED

Kõige suurema esinemissagedusega haiguste rühm laiendatud skriininguprogrammis on rasvhapete oksüdatsiooni defektid (4). Rasv on organismile väga oluline energiaallikas, eriti suure füüsilise koormuse ja nälguse/paastumise ajal, mistõttu on selle haigusrühma kõige sagedasemateks kliinilisteks sümptomiteks ägeda algusega hüpoketootiline hüpoglükeemia, sile- ja võõtlhase kahjustus, entsefalopaatia ja äkksurm. Haigushoo vallandajaks imikutel ja väikelastel on enamjaolt infektsioon või pikad toitmispausid, vanematel lastel ja täiskasvanutel tugev füüsiline pingutus. Täiskasvanutel võib olla haiguse ainuväljenduseks ka isoleeritult äge rabdomüolüüs või krooniline müopaatia. Samas võivad patsiendid ilma piisavalt tugeva välise ärritajata olla aastaid asümptoomsed (18).

Praegu on Eestis teada vaid ühe rasvhapete oksüdatsiooni defektiga haiguse – pika ahelaga hüdroksüatsüül-CoA dehüdrogenaasi (LCHAD) puudulikkuse – haigusjuht ehk selle haiguse levimus on 1 : 94 864 (19), kuid täielikult puuduvad andmed teiste seda tüüpi haiguste kohta. MCADD, mida põhjustab keskmise ahelaga rasvhapete atsüül-koensüüm A dehüdrogenaasi puudulikkus, sõeluuritakse 13 riigis, kuna haiguse esinemissagedus on väga suur – ligikaudu 1

juht 6000 vastsündinu kohta Hollandis (20) ja 1 juht 10 000 vastsündinu kohta Inglismaal (21). Samas on Eestis selle haiguse levimus oluliselt väiksem: molekulaargeneetiliste uuringute alusel on see 1 : 193 000 elussünni kohta ning Soomes 1 : 147 000 elussünni kohta (22). Praeguseks oleme MCAD defekti diagnoosinud Eestis sümptomaatilistel patsientidel vaid ühel korral.

Vahtrasiirupitõbi (MSUD) on oma nime saanud omapärasest vahtrasiirupi lõhna meenutavast uriini lõhnast. Haiguse põhjuseks on hargnenud ahelaga aminohapete (leutsiini, isoleutsiini ja valiini) katabolismi võtmeensüümi – hargnenud ahelaga  $\alpha$ -ketohapete dehüdrogenaasi kompleksi (BCKDC) – häire, mis viib hargnenud ahelaga aminohapete ja nende ketoderivaatide kuhjumiseni veres ja rohkuseni uriinis. Võtmeensüüm koosneb kuuest valgulisest koostisosast, mille funktsioon võib olla häiritud neljas geenis olevatest mutatsioonidest. Sageli on nende patsientide vere biokeemiline analüüs imikueas oluliste kõrvalekalleteta, esineda võib vaid tagasihoidlik hüperammoneemia ja/või ketoatsidoos, samas kui kliiniliselt esineb äge vedelikupuudus, krambid ning koomaseisund. Krooniliseks haiguse ilminguks on vaimne ja füüsiline alaareng, kuna kuhjuvad metaboliidid on neurotoksilised. Haiguse esinemissagedus riigiti on varieeruv: keskmiselt 1 : 120 000 – 500 000 elussünni kohta. Riikides, kus esineb sageli sugulusabielusid, näiteks Türgis, on see 1 : 50 000 (22). Vahtrasiirupitõvel esineb 5 alavormi, neist kõige raskema kliinilise kuluga on klassikaline vahtrasiirupitõbi, mis moodustab 75% kõigist haigusvormidest. Praeguseks on Eestis diagnoosinud kaks intermitteeruva kuluga vahtrasiirupitõve haigusjuhtu (23).

Türosineemia on aminoatsiduuria, millel on kolm alatüüpi ja igat haigustüüpi põhjustavad erineva geeni mutatsioonid. Esimene haigustüüp on kõige sagedasem, 1 : 100 000 elussünni kohta (24), ning kliiniliselt põhjustab kõige raskemaid tervisekahjustusi. Selle haigustüübi korral on häirunud ensüümi fumarüül-atseetoatsetaasi funktsioon. I tüüpi türosineemia sümptomid ilmnevad enamjaolt esimeste elukuude järel: lapsel on kehv kaaluivõime ning esinevad seedetraktitegevuse häired. Kõige enam kahjustub maksakude, põhjustades juba varajases lapseas ägedat maksapuudulikkust, maksatsirroosi ja/või hepatotsellu-

laarset maksakasvajajat. Lisaks võib kaasuda neerude funktsioonihäire. Kliiniline pilt ja avaldumisaeg võib olla väga varieeruv ka sama perekonna eri liikmetel. Ravimata juhtudel on lapse eluiga keskmiselt 10 aastat. Eestis on varem I tüüpi türosineemiat diagnoositud ühel juhul.

Homotsüstiniuria on samuti aminoatsiduuria, kuid see põhjustab teistsuguseid tervisekaebusi. Klassikalist vormi (kõige levinum haigusvorm) põhjustab ensüümi tsüstationiini beetasüntaasi puudulikkus. Seda haigusvormi iseloomustab ravimata juhtudel sidekoe nõrkus, kesknärvisüsteemikahjustus (sh psüühikahäired), kardiovaskulaarsed haigused (nt sagedased ja varases eas esinevad trombid) ning lihase- ja luukahjustus (küfoos, skolioos, osteoporoos). Klassikalise homotsüstiniuria esinemissagedus maailmas on vähemalt 1 : 344 000, kuid regiooniti on varieeruvus väga suur (25). Teiste homotsüstiniuria alavormide esinemissagedus on oluliselt harvem ning sageli leiab kirjandusest vaid juhupõhiseid artikleid. Eestis ei ole haiguse esinemissagedus teada.

Laiendatud sõeltestimise programmi on lisatud ka osa ravitavaid orgaanilisi atsiduuriaid: isovaleraatatsiduuria (ensüümi isovaleraat-koensüüm A dehüdrogenaasi puudulikkus); metüülmalonaatatsiduuria (ensüümi metüülmalonüül-koensüüm A mutaasi puudulikkus); propionaatatsiduuria (ensüümi propionüül-koensüüm A karboksülaasi puudulikkus); I tüüpi glutaaratsiduuria (ensüümi glutarüül-koensüüm A dehüdrogenaasi puudulikkus) ja II tüüpi glutaaratsiduuria (elektrone ülekandev flavoproteiin ja/või elektroni ülekandva flavoproteiini dehüdrogenaasi defekt). Kõik need haigused avalduvad enamjaolt juba imikueas, harvemal juhul võib kliiniline kulg olla ka lainetav. Nende haiguste korral kuhjuvad toksilised vaheühendid põhjustavad peamiselt kesknärvisüsteemi kahjustust. Esmased haigusilmingud imikueas on sageli mittespetsiifilised: loidus, isutus, oksendamine. Haiguse arenedes lisandub ka dehüdratatsioon, hüpoglükeemia ja ketoatsidoos, mis adekvaatse ravita võib põhjustada krambisündroomi ning koomat, harvemal juhul lõpeb surmaga.

## KOKKUVÕTE

Enamiku Euroopa riikide kogemused tõestavad, et vastsündinute laiendatud sõeltestimine on kasulik ja kulutõhus. Ainuüksi

kliinilise pildi põhjal on keeruline kaasa-sündinud av-haigusi diagnoosida, mistõttu paljudel juhtudel ravitavate av-haigustega lastel ei alustata õigel ajal etioloogilist ravi. Haiguse hilinenud diagnoosimisel võib õige hetk ravi alustamiseks olla möödunud ja pöördumatud kahjustused juba tekkinud. Enamik pärilikke av-haigusi on autosoom-retsessiivset pärilikkusetüüpi, mistõttu sama haiguse risk teistel peres sündivatel lastel on 25%. Nii võimaldab õige diagnoos pakkuda peredele ka sünnieelset diagnostikat järgnevate raseduste korral. Sellest lähtudes alustati 1. jaanuaril 2014 üle-eestilist vastsündinute laiendatud sõeltestimise katseprogrammi 18 ainevahetushaiguse suhtes, et anda Eestis sündinud haigetele lastele võrdsed võimalused areneda sarnaselt tervete eakaaslastega ja parandada nende elukvaliteeti.

## HUVIDE KONFLIKTI DEKLARATSIOON

Autoritel puudub huvide konflikt.

## SUMMARY

### Nationwide expanded newborn screening by tandem mass spectrometry to detect treatable inborn errors of metabolism

**Karit Reinson<sup>1,2</sup>, Kairit Joost<sup>2</sup>, Mari-Liis Uudelepp<sup>2,3</sup>, Riina Žordania<sup>2</sup>, Kadi Künnapas<sup>2</sup>, Katrin Ōunap<sup>1,2</sup>**

Inborn errors of metabolism are a group of hereditary diseases that can cause an accumulation of certain metabolites in body fluids and organs, interfere a transport of molecules and/or cause energy deficiency at the cellular level. The first symptoms of the disease can present in different age groups, and cause serious disabilities or premature death. Often the first manifestations of these diseases are highly non-specific, which makes timely diagnosis and treatment, and hence prevention of permanent damage, difficult. Based on our present statistics, in every second patient with metabolic disease in Estonia, the diagnosis is delayed or undiagnosed. At the beginning of 2014 a pilot study of expanded neonatal screening by tandem mass spectrometry for other 18 treatable metabolic diseases was started in

Estonia. The paper presents a summary of screened metabolic diseases.

## KIRJANDUS/REFERENCES

- Blau N, Leonard J, Hoffmann GF, Clarke JTR. Physician's guide to the treatment and follow-up of metabolic diseases. 2nd ed. Berlin: Springer-Verlag; 2006.
- Applegarth DA, Toone JR, Lowry RB. Incidence of inborn errors of metabolism in British Columbia, 1969–1996. *Pediatrics* 2000;105:e10.
- Lindner M, Gramer G, Haege 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.
- Lindner M, Hoffmann GF, Matern D. Newborn screening for disorders of fatty-acid oxidation: experience and recommendations from an expert meeting. *J Inher Metab Dis* 2010;33:521–6.
- Guthrie R, Susi A. A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. *Pediatrics* 1963;32:338–43.
- Bodamer OA, Hoffmann GF, Lindner M. Expanded newborn screening in Europe 2007. *J Inher Metab Dis* 2007;30:439–44.
- 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.
- 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 Inher Metab Dis* 2012;35:603–11.
- Burgard P, Rupp K, Lindner M, et al. Newborn screening programmes in Europe; arguments and efforts regarding harmonization. Part 2. From screening laboratory results to treatment, follow-up and quality assurance. *J Inher Metab Dis* 2012;35:613–25.
- Wilson JMG, Jungner YG. Principles and practice of mass screening for disease. *Bol Oficina Sanit Panam* 1968;65:281–393.
- Wilson JMG, Jungner YG. Principles of screening for disease. Geneva: World Health Organization; 1968.
- Ōunap K, Lilleväli H, Metspalu A, Lipping-Sitska M. Development of the phenylketonuria screening programme in Estonia. *J Med Screen* 1998;5:22–3.
- Mikelsaar RV, Žordania R, Viikmaa M, Kudrjavitseva G. Neonatal screening for congenital hypothyroidism in Estonia. *J Med Screen* 1998;5:20–1.
- Eesti Haigekassa. Haiguste ennetamise tegevuskava aastaks 2012. 2012.
- Scriver CR, Beaudet AL, Williams SS, et al. The Hyperphenylalaninemia. In: C.R. Scriver, ed. *The metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*. New York: McGraw-Hill; 1995. p. 1015–75.
- Uudelepp M-L, Joost K, Žordania R, Ōunap K. Fenülketonuuria Eesti ravijuhend. *Eesti Arst* 2012;91:46–51.
- Park SM, Chatterjee VK. Genetics of congenital hypothyroidism. *J Med Genet* 2005;42:379–89.
- Lund AM, Skovby F, Vestergaard H, Christensen M, Christensen E. Clinical and biochemical monitoring of patients with fatty acid oxidation disorders. *J Inher Metab Dis* 2009;33:495–500.
- Joost K, Ōunap K, Žordania R, et al. Prevalence of Long-Chain 3-Hydroxyacyl-CoA Dehydrogenase Deficiency in Estonia. *JIMD Rep* 2012;2:79–85.
- Derks TG, Boer TS, van Assen A, et al. Neonatal screening for medium-chain acyl-CoA dehydrogenase (MCAD) deficiency in The Netherlands: the importance of enzyme analysis to ascertain true MCAD deficiency. *J Inher Metab Dis* 2008;31:88–96.
- Oerton J, Khalid JM, Besley G, et al. Newborn screening for medium chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency in England: prevalence, predictive value and test validity based on 1.5 million screened babies. *J Med Screen* 2011;18:173–81.
- Lilleväli H, Margus K, Ōunap K, Metspalu A. Mutation 985A>G in the MCAD gene shows low incidence in Estonian population. *Hum Mutat* 2000;15:293–4.
- Aevarsson A, Chuang JL, Wynn RM, Turley S, Chuang TD, Hol WG. Crystal structure of human branched-chain alpha-ketoacid dehydrogenase and the molecular basis of multienzyme complex deficiency in maple syrup urine disease. *Structure* 2000;8:277–91.
- Uudelepp ML, Talvik I, Laugesaar R, Kall K, Hein H, Ōunap K. Acute metabolic encephalopathy caused by intercurrent illness: two cases of intermittent form of maple syrup urine disease in Estonia. In: proceedings of the 2nd Baltic Pediatric Congress; 2013 May 30–June 01; Pärnu, Estonia.
- Laberge C, Grenier A, Valet JP, Morissette J. Fumarylacetoacetase measurement as a mass-screening procedure for hereditary tyrosinemia type I. *Am J Hum Genet* 1990;47:325–8.
- Skovby F, Gaustadnes M, Mudd SH. A revisit to the natural history of homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency. *Molecular Genetics and Metabolism* 2010;99:1–3.

<sup>1</sup> Department of Pediatrics, University of Tartu, Estonia,

<sup>2</sup> Centre of Genetics, United Laboratories of Tartu University Hospital, Tartu, Estonia,

<sup>3</sup> Faculty of Medicine, University of Tartu, Institute of Biomedicine and Translational Medicine, Tartu, Estonia

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

### Keywords:

Inborn errors of metabolism, expanded newborn screening, tandem mass spectrometry