Yüksek Çözünürlüklü NMR Spektroskopisi Kullanılan İdrar Temelli Yenidoğan Tarama Projesi

Dr. Manfred Spraul ve Dr. Sitke Aygen

INFAI Ltd. ve Bruker BioSpin Ltd. Türkiye'deki yenidoğanların NMR tabanlı taramasını gerçekleştiren bir proje yönetmektedirler. Tüm Türkiye'den 10 hastane projeye katılarak yenidoğan idrar örneklerinin toplanması ve üst verinin sağlanması için destek sunmaktadır.

Proje etik komite oyu ile tümüyle desteklenmektedir. İdrarda NMR seçilmesi şu avantajları sağlamaktadır:

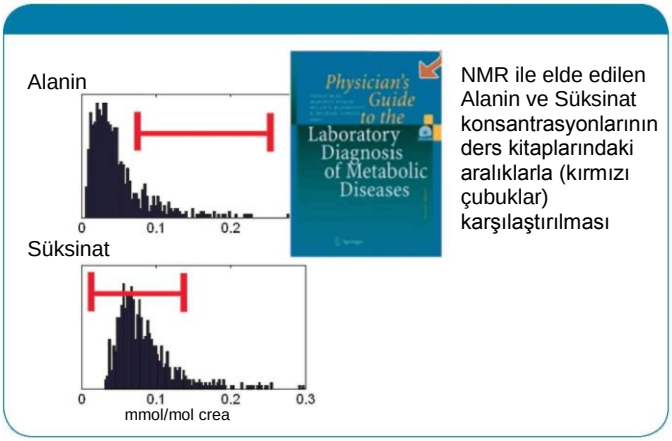
- Noninvazif örnek toplama
- Derivatizasyon ihtiyacı olmaksızın basit örnek hazırlama
- İdrarda bulunan tüm ilgili bileşiklerin konsantrasyonlarındaki en küçük değişimlerin dahi birden çok tespitinde en yüksek tekrarlanabilirlik olanağı
- Tam otomasyon altında yüksek iş verimliliği
- Plazma analizleriyle karşılaştırıldığında çok daha büyük sayılarda bileşiğe erişim
- Tek bir deneyde hedefe yönelik ve hedefe yönelik olmayan tarama

Projenin ilk bölümünde görev, idrar NMR spektrumlarına dayanarak, Türkiye'deki bebekler için bir normal model tanımlamaktır. Bu model yoğun biçimde doğrulanmış ve takiben projenin kalan süresi boyunca toplanan örnekler karşısında test edilmiş olmalıdır.

Normal modelin ötesinde, birkaçından bahsetmek gerekirse, yenidoğanların büyümeleri, matürite düzeyleri, sık görülen hastalıklarının bilinmesi ve NMR tarafından direkt olarak saptanamayan parametrelerle ilişkisi açısından yenidoğanların genel durumlarının tahminine olanak tanıyan çeşitli istatistik modeller geliştirilecektir.

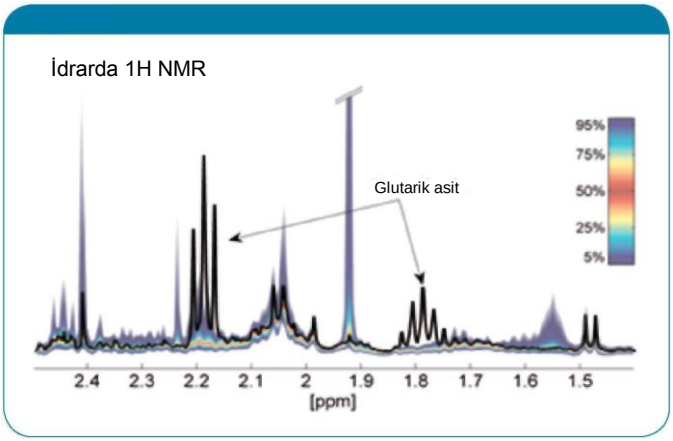
İstatistik metotlar kullanan hedefe yönelik olmayan yaklaşımlara ek olarak, bir dizi önemli bileşik, istatistik değerlendirme için yürütülen aynı deneyler kullanılarak ölçülecektir. Bileşikler, miktar tayini gerçekleşmeden önce ölçüm dizisine uygulanan bir hızlı 2D deney aracılığıyla güvenle identifiye edilmektedir. Bileşik konsantrasyonuna bağımlı olmayan ölçüm doğruluğuyla birlikte, miktar tayini için dâhili bir standart gerekli değildir. Modern dijital NMR teknolojisi temel alınarak, en az $2*10^5$ bileşik konsantrasyonunun bir dinamik aralığı tek denemede mümkün kılınmaktadır.

Saf referans bileşiklerin spektral veritabanı ve binlerce idrar örneğinden elde edilmiş bilgi bankası projeyi desteklemektedir. İdrarda açığa çıkan 600'ün üzerinde bileşik, doğumsal metabolik hastalıklarda belirteç olan bileşikler de dâhil olmak üzere, referans bileşik spektral veritabanının parçasıdırlar.



NMR ile elde edilen Alanin ve Süksinat konsantrasyonlarının ders kitaplarındaki aralıklarla (kırmızı çubuklar) karşılaştırılması

Her örnekte büyük sayılarda bileşiklerin ölçülebilmesi, ders kitaplarındaki ve örnek sayısının genelde küçük gruplarla sınırlı kaldığı doğumsal hastalık analizlerini içeren yayınlardaki normal değer aralıklarından sık sık farklılık gösteren geçerli konsantrasyon dağılımlarının oluşturulmasını mümkün kılar (bkz. Şekil 1).



Hedefe yönelik olmayan tarama

Hedefe yönelik olmayan tarama NMR tarafından görülebilen gerek bilinen gerekse bilinmeyen normalden sapmaların tümünün tayinine olanak tanır. Şekil 2 bu sapmaların identifikasyonunu göstermektedir. Normal modeli şekillendiren tüm spektrum, NMR spektrumunun üzerinde bir renk bandı olarak gösterilen bir dağılım grafiğinde birleştirilmiştir. Spektrumun her bir noktası için yoğunluk dağılımı görülebilir. Kırmızı renk %50 ortalama düzeyini, maviyse modeldeki sadece birkaç örneğin bu yoğunlukları gösterdiğini işaret etmektedir. Eğer tüm rezonanslar model tarafından oluşturulan sınırların içerisinde kalırsa, yeni bir örnek spektrumu oluşturulup araştırılabilir. Bu test otomatik olarak tek ya da çok değişkenli uygulanabilir.

Şekil 2'deki test edilen örnek spektrumu, bir glutarik asidüri vakasını ve tüm NMR spektrumunun yayılımını göstermektedir. Glutarik asit sinyalleri açıkça görülebilmektedir. Gösterilen spektral bölüm tüm spektrumun sadece yaklaşık %15'ini temsil etmektedir. Glutarik asit referans bileşik veritabanının bir parçası olduğundan, otomatik olarak identifiye edilebilir, bununla birlikte istatistikler daha çok bilinmeyen sapmanın varlığını aynı kesinlikte ortaya koyabilmektedir.

Görüldüğü gibi, NMR istatistik parametreleri verme ve aynı zamanda bir sayısal parametreler kümesi oluşturma potansiyeline sahiptir. Yenidoğan hastalıklarının analizinde NMR'nin gücü R. A. Wevers'in Nijmegen'deki grubu tarafından yayımlanan, NMR tarafından saptanan 80 farklı doğumsal hastalığın açıklandığı "Doğumsal Metabolizma Hastalıklarında ^{1}H-NMR Spektroskopisi El Kitabı"nda ayrıntılı biçimde tanımlanmaktadır (SPS, ISBN-10: 3936145024).

Normal model mevcut ise, bu potansiyel tek tuşla “Çok Sayıdaki Bileşiği Ayırma” (high throughput screening-HTS) modunda uygulanabilir. Normal modeller dünya genelinde geçerli olmayacaktır, zira ırk, fenotip, beslenme ve daha birçok parametrede farklılık bulunmaktadır. Bu nedenle bölgesel bir modelin uygulanabilirliği, çevreleyen bölgelerde test edilmelidir ve neticede farklı bir model geliştirilmelidir.

İletişim

NMR tabanlı yenidoğan ve genel doğumsal hastalık taramalarıyla ilgili daha fazla bilgi almak için lütfen bizimle iletişime geçiniz:

Dr. Manfred Spraul
Bruker BioSpin Ltd.
Silberstreifen, D-76287 Rheinstetten, Almanya
manfred.spraul@bruker-biospin.de

Türkiye’de gerçekleştirilen yenidoğan tarama çalışmasıyla ilgili bilgi için lütfen aşağıdaki iletişim bilgilerini kullanınız:

Dr. Sitke Aygen
INFAI Ltd., Gottfried-Hagen-Str. 60-62
D-51105 Köln, Almanya
sa@infai.de

Türkiye’de yürütülen yenidoğan tarama çalışmasının destekçisi

ZIM impulse für wachstum Zentrales Innovationsprogramm Mittelstand