



**BİRÜNİ**  
LABORATUVARI

25. yıl



# DOĞUMSAL METABOLİZMA HASTALIKLARININ TANISINDA LABORATUVAR TESTLERİNİN ROLÜ

Doğumsal metabolizma hastalıkları vücudun biyokimyasal iflevlerindeki bozukluklar sonucu gelipen, çoğunluğu otozomal resesif geçifflili kalıtsal hastalıklardır. İlk kez 1908 yılında Garrod tarafından tanımlanmıştır. Ülkemizde akraba evliliği ve doğum oranının yüksek olması nedeniyle doğumsal metabolizma hastalıkları sık görölmektedir.

Metabolik hastalıkların tesbiti çok erken yaflarda, semptomlar ortaya çıkmadan önce ve mevcut metabolik bozukluk zihinsel, fiziksel sağlığı ve büyümeyi etkilemeden önce yapılmalıdır. Doğumsal metabolizma hastalıklarının yalnızca yenidoğan ve süt çocuklarında görölebileceğinin düffünülmesi

yanlıftır. Bu hastalıklar doğumsal olmakla birlikte klinik bulguların belirleme yaflı, metabolik bozukluğun derecesine göre farklı olur. Erifkin yafla kadar belirti vermeyebilir.

Günümüzde doğumsal metabolizma hastalıklarının tanısında laboratuvar testleri önemli rol oynamaktadır. Biyokimyasal, hematolojik, histolojik ve moleküler testler yapılmaktadır. Doğumsal metabolizma hastalıklarının taranmaları özellikle diyet ve/veya ilaç tedavisi olan hastalıkların erken teflhis edilmesine olanak veren en etkin yöntemdir. Son kriterler WHO (Dünya Sağlık Örgütü) tarafından kabul edilen ve Wilson ile Jungner tarafından geliiftirilmiş olan esaslara dayanır:

, Neonatal dönemde tan›s› konulmam›fl hastal›¤›n ciddi morbidite ve mortaliteye neden olmas›,

, Zaman›nda yap›lm›fl medikal m¼dahalenin mortalite, morbidite ve efllik eden bozukluklarda önemli bir azalmaya yol açmas›,

, Hastal›¤›n prevalans›n›n göreceli olarak yüksek olmas› (>1/10000-15000),

, D¼flük maliyetli, sensitivitesi ve spesifitesi uygun bir test olmas›,

, Örnek alma ifleminin basit ve transportunun kolay olmas›, bafl›ca kriterlerdir.

Taramas› yap›lan metabolik hastal›klar ÷lkeden ÷lkeye ve ayn› ÷lkenin de¤iflik bölgelerinde farklılıklar göstermektedir. Metabolik tarama testleri genellikle bir panel halinde uygulan›r. Paneller merkezler aras›nda farklılık gösterebilir. Akut atak ile seyreden metabolik hastal›klarda atak an›nda örnek alınmas› tan›da önem tafl›r. Kesin tan› için enzimatik ve genetik analiz, v.b. ileri incelemeler yap›lmal›d›r.

## Tarama Testlerini Etkileyen Durumlar

Tarama testlerinde yanlıfl pozitif ve yanlıfl negatif sonuçlara birçok faktör neden olabilir:

### Yanlıfl Pozitiflik Nedenleri

, Genetik heterojenite (klinik olarak hafif varyantlar)

, Kontaminasyon

, Örnek kar›flmas›

, Laboratuvar hatas›

, Yanlıfl bilgilendirme

### Yanlıfl Negatiflik Nedenleri

, Genetik heterojenite (hafif-orta varyantlar)

, Kontaminasyon

, Örnek kar›flmas›

, Laboratuvar hatas›

, Örne¤in alkol veya ›s› ile denatüre olmas›

, Erken veya yetersiz numune alınmas›

Yanlıfl pozitif ve yanlıfl negatif durumlardan kaç›nmak için preanalitik dönemde dikkat edilmesi gereken noktalar flunlardır:

, Kan ideal olarak do¤umdan sonraki 3.-5. günlerde alınmal›d›r. Fenilketonüri için do¤umdan sonra en az 24 saat beklenmesi gerekir. Do¤umdan sonraki ilk 24 saat, hatta 48 saat kan alınmamalıdır. Baflta tiroid hormonlar› olmak üzere pek çok metabolit do¤um stresine bağlı olarak de¤iflir.

, Bebe¤e kan de¤iflimi yap›lacaksa, yap›lmadan önce veya yap›ld›ktan 48 saat sonra kan alınmal›d›r.

, Antibiyotik kullan›m› veya prematüre do¤um var ise bilgi formuna ifaretlenmelidir.

, Prematüre olan ve parenteral beslenen bebeklerin kan örne¤i 6.-8. günlerde alınmal›d›r.

, Kan almadan önce deri %70'lik izopropil alkol ile temizlenmelidir.

, Kan örnek kaç›d›nda ifaretlenmiifl olan 4 halkay› tamamen dolduracak flekilde alınmal›d›r. Kan kaç›d›n her iki yüzüne deffit geçmelidir. Kan alma s›ras›nda kaç›da ađ›r› bast›r›lmamal›, kan›n hemoliz olmamas› veya doku s›v›s› ile dilüe olmamas› için topuk sağ›lmamal›, ađ›r› derecede sık›lmamal›d›r. Kan ak›m›n› kolaylaft›rmak için kan al›nacak bölge ›st›labilir ve venöz dönüflü h›zlandırılmak için bebe¤in bacağ› kalp seviyesi alt›nda tutulabilir.

Kan alınldktan sonra numune kaadndaki kan damlalarına dokunulmamalı, bu alanlar birbirleri ile veya slak yüzeylerle temas ettirilmemelidir. Oda sında 2-3 saat kurutulmalı, bu sırada dorudan s veya flk ile temas ettirilmemelidir.

## Tarama Programına Dahil Hastalar

### Fenilketonüri

Fenilketonüri, fenilalaninin tirozine çevrilmesi için gerekli olan fenilalanin hidroksilaz adlı enzimin kalıtsal eksikliği veya yokluğu nedeniyle görülür. Otozomal resesif bir hastalıktır ve genetik olarak çok heterojendir. Her iki cinsiyette eşit oranda görülür. Mental retardasyon en önemli klinik bulgudur. Tirozine çevrilemediği için fenilalanin ve metabolitleri anormal miktarda birikir. Fenilketonüri taraması için Guthrie testi (bakteriyel inhibisyon yöntemi), kromatografik (kaıt, ince tabaka) ve fluorometrik yöntemler ile enzim tayinleri ve Tandem MS yapılabilir. Kromatografik yöntemin duyarlılığı düşüktür. Fluorometrik ve Tandem MS yöntemleri kantitatifler ve Guthrie yöntemine göre daha düşük yanlış pozitif sonuç verirler.

Guthrie testi mikrobiyolojik bir yöntem olup, Bacillus subtilis bakterilerinin fenilalanin içeren ortamda kolay üremesi esasına dayanır. Besiyerine ilave edilen beta-tiyenilalanin kanda normalde bulunan fenilalanin etkisini yok eder fakat hiperfenilalaninemisi olan bebekte, fazla fenilalanin beta-tiyenilalanin inhibisyonunu engelleyerek kan örneğinin etrafında büyüklüğü fenilalanin miktarına bağlı olarak bir üremeye yol açar. Guthrie yönteminde

yanlış negatif sonuçlar elde edilmemesi için alınan örneğin antibiyotik, v.b. ilaçlar ile bakteri üremesini inhibe eden endojen maddeleri içermemesi gerekir. Guthrie testi sonucu elde edilen her pozitif değer kantitatif olarak biyokimyasal veya kromatografik yöntemler ile doğrulanmalıdır. Prematürelde karaciğerin tam gelişmemesi amino asit düzeyinin artmasına, dolayısıyla pozitif sonuçlara neden olur. Doğumu izleyen ilk 48 saat örnek alınmamalıdır. Çünkü anormal düzeyde amino asit birikimi için 2 gün protein alınmalıdır. Guthrie testinin subjektif bir test olması ve antibiyotik etkileşiminin sonuçları etkilemesi nedeniyle son dönemlerde daha objektif yöntemler olan fluorometri ve kromatografi tercih edilmektedir.

Tandem MS ile fenilalanin/tirozin oranı saptandığı için fenilketonüride klasik mikrobiyolojik ve fluorometrik yöntemlere göre kimyasal interferans, parenteral beslenme gibi nedenlerle yanlış pozitiflikler ile prematürite ve mevsimsel varyasyon gibi nedenlerle olufabilecek hatalar önlenir.

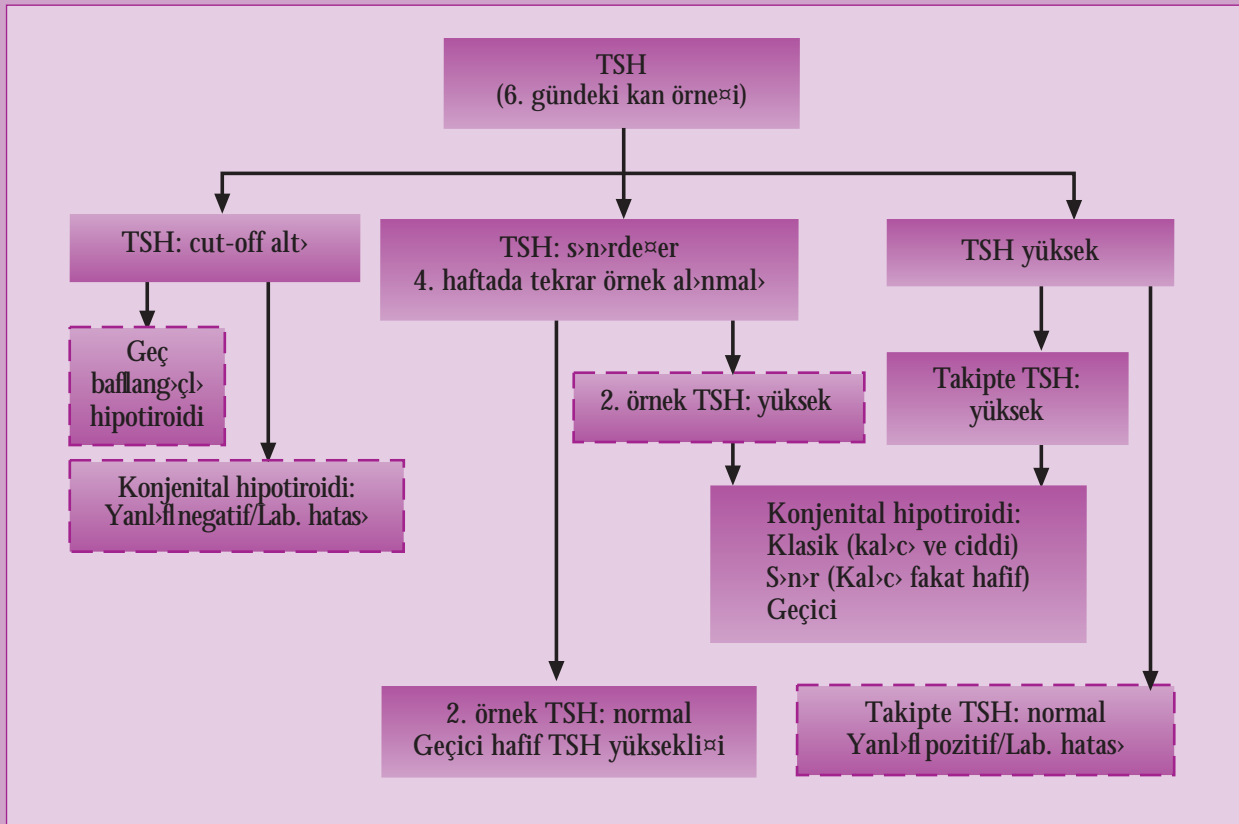
### Neonatal Hipotiroidi

Doğumdan bafllayarak tiroid bezinin fonksiyonundaki yetersizlik olarak tanımlanır. Primer hipotiroidi doğumsal tiroid agenezisi, ektopik tiroid veya tiroksinin (T<sub>4</sub>) sentezindeki bozukluk sonucu gelişebilir. Annenin inorganik iyot veya anti-tiroid ilaç kullanımı sonucu fetal tiroid supresyonu nedeniyle de neonatal hipotiroidi olufabilir. Sekonder hipotiroidi, hipotalamus-hipofiz eksenindeki bozukluk sonucu dolafımdaki tirotropin hormonunun (TSH) tamamen yokluğu veya çok düşük

düzeyde bulunması nedeniyle gelişebilir. 3500-4000 canlı doğumda bir görülür.

Neonatal hipotiroidinin erken tanısı ve tedavisi mental retardasyonun önlenmesi açısından çok önemlidir. Bu amaçla T<sub>4</sub>, TSH veya her ikisi ölçülebilir. Neonatal TSH kuru kan damlasından veya kordon kanından çalınabilir. Hipotiroidi tanısında kullanılan test yöntemi ve örneğin alınma zamanı çok önemlidir. T<sub>4</sub> taraması ile hem primer hem de sekonder hipotiroidi tanılabilir, ancak özgüllüğü düşüktür ve olguların yaklaşık %20'sinde tekrar TSH analizi gerekir. Sadece T<sub>4</sub> ölçümü yanlış pozitifliğe neden olabilir, çünkü hem prematürelde hem de tiroid bağlayıcı globulinin (TBG) konjenital eksikliğinde T<sub>4</sub> düzeyi düşük olur. Tek başına T<sub>4</sub> analizi

ile kompanse hipotiroidi ve kısmi tiroid fonksiyon yetersizliği olan olgular gözden kaçabilir. Bu olgularda serum T<sub>4</sub> düzeyleri referans aralık sınırları içerisinde olmasına rağmen TSH düzeyi yüksektir. TSH yüksekliği konjenital hipotiroidi tanısında T<sub>4</sub>'e göre daha duyarlı bir testtir. Ancak prematürelere ile ciddi stres altındaki bebeklerde yanlış pozitif sonuçlar görülebilir. Ayrıca sadece TSH ölçümü ile hipotalamik veya hipofiz kaynaklı konjenital hipotiroidi olguları gözden kaçabilir. Özellikle düşük doğumlu bebeklerde geç başlangıçlı geçici hipotiroidinin tanısı için 2.-4. ve 6. haftalarda ayrıca tetkik yapılması önerilmektedir. TSH analizi sonucu sınırlarda değerlerde tekrar kan örneği alınmalıdır (fişkil 1).



fişkil 1: Konjenital primer hipotiroidide tarama testinin uygulanması (kesik çizgili kutular az rastlanılan durumları gösterir) (Pollitt RJ et al'dan alınmıştır).

## Biyotidinaz eksikliği

Biyotidinaz, doğal biyositin molekülünün (biyotinin-L-lizine) serbest biyotin ve lizine ayrılmasını sağlayan bir enzimdir. Biyotin, dört karboksilaz enziminin kofaktörü olarak görev yapan bir vitamindir. Hücrenin protein döngüsü sürecinde karboksilazlara bağlı olan biyotin, biyotidinaz tarafından serbestleştirilip, tekrar döngüye girer. Biyotidinaz eksikliğinde bu siklus işleyemez. Biyotinin diyetle alınması yetersizdir ve biyotin eksikliği ortaya çıkar.

Biyotidinaz eksikliği otozomal resesif kalıtım gösterir. Tarama testi basit bir kolorimetrik yöntem olup, bebeğin beslenme durumundan etkilenmediğinden, kan örneği herhangi bir zamanda alınabilir. Alınan örnek laboratuvara geç ulaşılmıyorsa veya bir sıvı kaynağıyla temas etmiyorsa yalancı negatif ya da sulfonamid kullanılmıyorsa yalancı pozitif sonuç alınabilir. Oda sıcaklığı veya daha yüksek sıcaklıkta 180 günden daha uzun süre tutulan örneklerde enzim aktivitesi kaybolur. Tarama yönteminin basitliği ve ağız biyotidinaz eksikliği olan hastalardaki ciddi nörolojik bulguların erken tedavi ile önlenmesi nedeniyle son dönemlerde tarama programlarına dahil edilmektedir. Tarama testi sonucu biyotidinaz eksikliği saptanan bebeklerde bu tanı kantitatif ölçüm ile doğrulanmalıdır.

## Diğer Tarama Testleri

### İdrarda Organik Asit Analizi

Bu analiz ile organik asidemiler, yağ asidi oksidasyon defektleri, mitokondriyal ve peroksizomal hastalıklar saptanabilir. Analiz için 5-10 mL idrar örneği yeterlidir.

Örnekler hemen dondurulmalıdır. Bakteriyel enfeksiyon (D-laktik asit), gastroenterit (metilmalonik asit, vitamin B12 eksikliği) asetaminofen ve vigabatrin kullanımı hatalı sonuçlara yol açar.

### Açilkarnitin ve Açılgisin Tayini

Bu tarama testi ile yağ asidi oksidasyon defektleri ve karnitin metabolizma bozuklukları, organik asidemiler, amino asit bozuklukları ile üre siklusu enzim defektleri tespit edilir. MS/MS ile elde edilen sonuçlar konvansiyonel GC-MS'den daha iyidir. Açilkarnitin analizinin duyarlılığı karnitin yüklemesiyle artar. Ağızdan 100 mg/kg L-karnitin verilip, 8-12 saat süre ile idrar örneği toplanır. Aynı idrar örneğinde açılgisin analizi de yapılır. Açılgisin analizi yağ asidi oksidasyon defektlerinin tanısında açilkarnitin analizinden daha duyarlıdır. Günümüzde kanda açilkarnitin düzeyi Tandem MS ile tayin edilmektedir. Tercihen açlıkta Guthrie kağıdına alınan kan örnekleri kullanılır. Test sonuçlarının uzun süre açık, valproik asit kullanımı, ketojenik diyet ve özellikle ayçiçek yağı kullanımı, karnitin tedavisi ve kalça bağırsak sendromu etkilemektedir.

Diğer tarama testleri arasında hücresel metabolik tarama testleri, provokasyon testleri, patolojik ve morfolojik incelemeler ile biriken materyallerin tespiti ve spesifik enzim eksikliğinin gösterilmesi yer almaktadır. Bunların yanı sıra moleküler tarama testleri ve DNA mikroarray çiplerinden tanı da faydalanılmaktadır.

## Kaynaklar

1. Fernhoff PM. Newborn screening for genetic disorders. *Pediatr Clin North Am* 2009; 56(3): 505-513.
2. Sahai I, Marsden D. Newborn screening. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2009; 46(2):55-82.
3. Wicken B. Recent advances in newborn screening. *J Inherit Metab Dis* 2007; 30: 129-133.
4. Longo N. Inborn errors of metabolism: New challenges with expanded newborn screening programs. *Am J Med Genet Part C (Semin Med Genet)* 2006; 142C, 61-63.
5. American College of Medical Genetics Newborn Screening Expert group. Newborn screening: toward a uniform screening panel and system-executive summary. *Genet Med* 8 (Sup1), 1S-252S.
6. Clarke JTR. Laboratory Investigation. In: *A Clinical Guide to Inherited Metabolic Diseases*. Second Ed. 2004; Cambridge University Press, Cambridge, 209-252.
7. Dave U.P. Guest Lecture - Inborn error of Metabolism - Post and Prenatal Diagnosis by GC/MS: CREMERE Experience. Proceeding 7th National Conference of ISPAT, 23rd-25th Jan. Ahmedabad. *Int J Human Genetic*, 2004; 1: 5.
8. Pampols T. Neonatal screening. *The Turkish Journal of Pediatrics* 2003; 45: 87-94.
9. Pollit RJ, Green A, McCabe CJ et al. Neonatal screening for inborn errors of metabolism: Cost, yield and outcome. *Health Technol Assessment* 1997; 1(7).

### MECİDİYEKÖY

Büyükdere Cad.  
Gökfiliz Afl Merkezi No: 11 Kat: 3  
34387 Mecidiyeköy - İstanbul  
Tel. : (212) 217 41 41  
Faks : (212) 217 41 10

### KADIKÖY

Cemil Topuzlu Cad. Fazilet Sitesi  
No: 44 Kat: 2  
34726 Çiftelavuzlar - Kadıköy - İstanbul  
Tel. : (216) 369 17 67  
Faks : (216) 369 01 61

### BAKIRKÖY

İncirli Cad. Santral Çikmaz  
Toprak Bloklar A-Blok 1-2  
34147 Bakırköy - İstanbul  
Tel. : (212) 570 88 60  
Faks : (212) 570 93 00

### ETİLER

Tepecik Yolu  
No: 28/A  
34337 Etiler - İstanbul  
Tel. : (212) 358 51 00  
Faks : (212) 358 50 56

### NİFİANTAfi

Valikonaş Cad. Çam Apt.  
No: 161 Kat: 1  
34363 Nifiantafl - İstanbul  
Tel. : (212) 233 22 95  
Faks : (212) 233 38 42

### ULUS

Etiler Adnan Saygun Cad. Uydu Sok.  
Gündel Apt. No: 2/B Kat: 1  
34340 Ulus - İstanbul  
Tel. : (212) 287 43 00  
Faks : (212) 287 33 83

### ERENKÖY

İemsettin Günaltay Cad.  
No: 184/B  
34738 Erenköy - İstanbul  
Tel. : (216) 411 31 66  
Faks : (216) 411 20 61

### FINDIKZADE

Millet Cad. Emir Han  
No: 55 Kat: 2  
34096 Fındıkzade - İstanbul  
Tel. : (212) 633 41 42  
Faks : (212) 633 49 05

### ACIBADEM

Acıbadem Cad. Aydın Apt.  
No: 109 Kat: 2  
34718 Acıbadem - İstanbul  
Tel. : (216) 545 72 72  
Faks : (216) 545 74 77

### YEfiLİKÖY

İstasyon Cad.  
No: 21 Kat: 1  
34149 Yeşilköy - İstanbul  
Tel. : (212) 662 99 77  
Faks : (212) 662 68 00

### ÇEKMEKÖY

Aydın Menderes Cad.  
Carpe-Diem Afl Merkezi Kat: 1  
34782 Çekmeköy - İstanbul  
Tel. : (216) 642 43 00  
Faks : (216) 642 54 84

### KEMERBURGAZ

İstanbul Cad.  
Artell Forum Çarflı No: 38/14  
34075 Göktürk - Kemerburgaz - İstanbul  
Tel. : (212) 322 68 22  
Faks : (212) 322 68 28