

# YENİ DOĞANLARDA FENİLKETONÜRİ, GALAKTOZEMİ VE BİOTİNİDAZ EKSİKLİĞİ TARAMASI VE ÖNEMİ

NEWBORN SCREENING FOR PHENYLKETONURIA, GALACTOSEMIA AND BIOTINIDASE DEFICIENCY

Okşan Koçkar Erdoğan<sup>1</sup>, E. Zeynep Tuzcular Vural<sup>2</sup>, Ayça Vitrinel<sup>3</sup>, Doğan Çorbacıoğlu<sup>4</sup>

## Özet

Bu çalışmada, 269 yenidoğanın fenilketonüri ve galaktozemi için Guthrie bakteriyel inhibisyon testi ve biotinidaz eksikliği için PABA kolorimetrik testle taranması sonucu hiçbir pozitif olgu saptanmadı. Bu çalışmada akraba evliliği oranı %15.6 olarak bulundu. Bebek morbidite ve mortalitesini azaltmak, erken tanı ve tedavinin uygulanmadığı koşullarda ortaya çıkacak mental ve motor retardasyon gibi irreversible hasarları önlemek için ülke çapında yenidoğan tarama testlerinin yaygınlaştırılmasının yararlı olacağı sonucuna varıldı.

**Anahtar sözcükler:** Yenidoğan, fenilketonüri, galaktozemi, biotinidaz eksikliği, tarama testleri.

## Summary

In this study, 269 newborns were screened for phenylketonuria and galactosemia with Guthrie bacterial inhibition assay and for biotinidase with PABA colorimetric test. No positive results were detected. The rate of consanguineous marriage was 15.6%. We reach the conclusion that it is favorable to establish newborn screening programs in our country in order to decrease infant morbidity and mortality and to prevent irreversible damages such as mental and motor retardation.

**Key words:** Newborn phenylketonuria, galactosemia, biotinidase deficiency, screening tests.

## Giriş

Yenidoğan döneminde kalıtsal metabolik hastalıklar için kullanılan tarama testleri, bir yandan genetik danışmanlık ile hastalığın yeni bireylerde ortaya çıkmasını önlerler, diğer yandan tanı konulan bebeklerde erken ve etkili tedavi ile kaçınılmaz ölüm ve mental retardasyon gibi irreversible bozuklukları engellerler. Ülkemizde fenilketonüri (PKU) insidansı dünyada bilinen en yüksek değere sahiptir.<sup>1-5</sup> Galaktozemi ve biotinidaz eksikliği ile ilgili yeterli çalışma yoksa da, otozomal resesif geçiş gösteren bu hastalıkların ülkemizde akraba evliliği oranının yüksekliği ile (%22) ilgili olarak sık görülmesi olasıdır.

Bu çalışmanın amacı hastanemizde doğan yenidoğanların bir bölümünde bu üç hastalığın taramasını gerçekleştirmek ve ülkemiz için kalıtsal metabolik hastalıkların önemini vurgulamaktır.

## Gereç ve Yöntem

Bu çalışmaya Haydarpaşa Numune Hastanesinde miyadında doğan 269 bebek dahil edildi. En az 24 saatini doldurmuş bebeklerin topukları alkolle silinip kuruması beklendikten sonra steril lansetle delinerek kanları filtre kağıtlarına emdirildi. Açık havada kurutulduktan sonra düzenli aralarla İstanbul Tıp Fakültesi Padiyatri Anabilim Dalı Metabolizma Ünitesi'ne götürüldü. Fenilketonüri taraması için Guthrie'nin bakteriyel inhibisyon testi kullanıldı. Açık havada kurutulan kanlar 3 dakika 15 psi'de otoklavlandıktan sonra, hem kan örnekleri hem de referans örnekler *Bacillus subtilis*'in sporlarını içeren glikozlu agar besiyerine yerleştirildi. Örnekler 37°C'lik inkübatörde 16-18 saat bekletildikten sonra her disk etrafındaki büyüme zonu ölçüldü ve fenilalanin kalibrasyonunu florometrik olarak belirlenen referans örneklerle karşılaştırıldı.

<sup>1</sup> Ümraniye Ana Çocuk Sağlığı Merkezi, Aile Hekimliği Uzmanı

<sup>2</sup> Haydarpaşa Numune Hastanesi, Aile Hekimliği Uzmanı

<sup>3</sup> Haydarpaşa Numune Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Şef Muavini, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanı

<sup>4</sup> Haydarpaşa Numune Hastanesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği Şefi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanı

Galaktozemi taraması için Guthrie tarafından geliştirilen ve PKU testiyle aynı temele dayanan bakteriyel inhibisyon testi uygulandı. Burada *Bacillus subtilis* yerine *Escherichia coli* kullanıldı. Test kağıdına alınan kan aynı işlemlerden geçirildi ve inkübasyon bitiminde galaktoz içeren disklerin etrafındaki bakteri zonunun çapı ölçüldü.

Biotinidaz taraması için yine kan emdirilmiş filtre kağıtlarından diskler çıkarıldı. Substrat olarak biotidinil paba kullanıldı. Örnekler 37°C'lik inkübatörde 18-24 saat bekletildi. PABA'ya renklendirici eklendi. Pembe renk veren örneklerde enzim varlığı saptandı.

## Bulgular

Çalışma kapsamına alınan bebeklerin 146'sı (%54.3) erkek, 123'ü (%45.7) kız idi. Doğum tartısına göre sınıflandırıldığında bebeklerin 10'u (%3.7) 2500 g'ın altında iken, kalan 259 bebek (%96.3) 2500 g'ın üstünde idi. Bu 269 bebeğin 11 tanesi çeşitli nedenlerle (RDS- sepsis vb.) antibiyotik kullanmaktaydılar. Toplam 42 bebeğin (%15.6) aile anamnezinde 1. veya 2. derece akrabalık mevcuttu.

Taramaya alınan 269 bebekten 83'ü (%30.9) 24 saatini, 111'i (%41.3) 48 saatini, 35'i (%13) 72 saatini, 15'i (%5.6) 96 saatini, 8'i (%3) 120 saatini, 7'si (%2.6) 144 saatini, 3'ü (%1.1) 168 saatini, kalan 7'si (%2.6) ise 7 gününü doldurmuşken kanları alındı.

Çalışmamızda hiçbir bebekte hiperfenilalaninemi, galaktozemi ve biotinidaz eksikliği tespit edilemedi.

## Tartışma

Hiperfenilalaninemiler ülkemizde oldukça sık görülen aminoasit metabolizması bozukluklarıdır. Dünya ülkelerinde sıklığı 1/5000 (İrlanda'da) ve 1/14641 (İsveç'te) arasında değişirken, Hacettepe Üniversitesi'nin desteğiyle halen 34 il merkezinde sürdürülen taramalarda ülkemizde tüm hiperfenilalaninemi varyantlarının sıklığı 1/1750, klasik PKU sıklığı ise 1/2625 olarak bildirilmektedir.<sup>1,2,6</sup> Yine Hacettepe Üniversitesi desteğinde Karadeniz Teknik Üniversitesi'nde yapılan bir çalışmada 2127 vaka taranmış ve biri geçici neonatal hiperfenilalaninemi, diğeri klasik PKU olan iki olgu gösterilmiştir. Bu çalışma, akraba evliliklerinin genel popülasyona oranla daha sık görüldüğü Doğu Karadeniz bölgesinde sorunun önemini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda, hiçbir bebekte hiperfenilalaninemi, galaktozemi ve biotinidaz eksikliği tespit edemedik. Bu öncelikle taranan bebek sayısının yetersiz olmasından kaynaklanmaktadır. Bizim taradığımız 269 bebeğin yenidoğan tarama testi ölçekleri gözönüne alındığında istatistiksel olarak bir anlam taşımadığı açıktır. Ancak amacımız hastanemizde yenidoğan tarama programının baş-

latılması için bir örnek oluşturmak ve kalıtsal metabolizma hastalıkları açısından tarama testlerinin önemini vurgulamaktır.

Mc Cabe ve arkadaşları, Guthrie testi ile doğumdan itibaren ilk 12 saat içinde yapılan taramalarda vakaların %30'unun, ikinci 12 saat içinde yapılanlarda %10'unun gözden kaçabildiğini, 48 saatten sonra ise kaçırılan vaka olmadığını göstermişlerdir.<sup>7</sup> Holtzman ve arkadaşları, yenidoğan tarama sonuçlarının yüksek derecede güvenilir olduğunu bildirmelerine karşın, yine de 1/70 vakanın belirlenemediğini gösterdiler.<sup>8</sup> Bu gerçeğe rağmen zaman zaman hastanemizde günlük doğum sayısının yüksek olması ve hastaların erken taburcu olma eğilimi nedeniyle bebeklerden erken kan almak zorunda kaldık. Ülkemiz genelinde bildirilen sıklığa rağmen olgularımızda hastalıklara hiç rastlanmamış olması bebeklerin %30.9'unda ilk 24 saatte tarama testi yapılmış olmasından kaynaklanmış olabilir. Doherty ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, ilk 24 saatte anne sütüyle beslenen bebeklerde mama ile beslenen bebeklere oranla kan fenilalanin düzeyinin daha hızlı yükseldiği ortaya konmuştur. Bunun kolostrumdaki göreceli olarak yüksek fenilalanin düzeyine bağlı olduğu düşünülmektedir.<sup>9</sup> Klasik olarak Guthrie testinin 72 saatten sonra yapılması önerilmekte, ancak beslenmenin hemen doğumdan sonra başlatıldığı hasta bebeklerde kan fenilalanin düzeyinde artışın 4 saat kadar erken olabileceği de belirtilmektedir.<sup>6</sup> Hastanemizde bebeklerin anne sütüyle beslenmesi desteklenmekle birlikte, anne veya bebekten kaynaklanan nedenlerle ilk 24 saatte bebeklerin iyi beslenmemesinin de çalışmamızda pozitif olgu saptanmasına katkısı olabilir. Ayrıca Guthrie testinin antibiyotik kullanan bebeklerde de negatif olabileceği bilinmektedir. Bizim 11 bebeğimiz antibiyotik kullanıyordu. Toplam sayıya oranı %4 olmasına karşın bu da sonucu etkilemiş olabilir.

Kalıtsal karbonhidrat metabolizması bozuklukları içinde galaktozemi en sık görüldür. Galaktozemi sıklığı tüm dünyada 1/62.000 olarak bildirilmekle birlikte farklı popülasyonlarda değişkenlik göstermektedir. Avusturya'nın batısında 1/13.647, doğusunda 1/43.061, İsviçre'de 1/57.000, Almanya'da 1/45.282, ABD'de 1/60.000 ve Japonya'da 1/667.000 gibi değerlere rastlanmıştır.<sup>10</sup> Ülkemizde yeterli çalışma yoksa da otozomal resesif geçiş gösteren bu hastalığın sık görülmesi beklenir. Galaktozemi taramasında bebek anne sütü veya galaktoz içeren formülle beslenmediyse, galaktoz ve/veya galaktoz-1-fosfatı kan veya idrarda ölçen metodlar yetersiz kalacaktır. Öte yandan anne sütüyle beslenmeden önce göbük kordonundan alınan kanda bile galaktoz-1-fosfat yüksekliği saptanabildiği için bu metodlarla klasik galaktozeminin gözden kaçma olasılığı azdır.<sup>11</sup> Ancak bizim kullandığımız metodlarla ilk 24 saatte çeşitli nedenlerle iyi beslenemeyen bebeklerde yanlış negatif sonuç elde etme olasılığı bulunmaktadır. Kuzey yarımküre-

de filtre kağıdına alınan kan örneklerinde mevsimsel varyasyonlar bildirilmiştir. Florometrik testle ölçülen fenilalanin değerlerinde mevsimsel farklılıklar ortaya konmuştur. Alınan kanın difüzyonu yazın nemli havada daha fazla, kışın kuru havada daha az olmakta, bu da alınan diskin kalınlığını etkilemektedir. Yüksek sıcaklığın galaktoz transferaz da dahil olmak üzere bazı enzim aktivitelerini olumsuz yönde etkilediği bilinmektedir.<sup>12</sup> Çalışmanın ilkbahar ve yaz başında yapılması bu açıdan bir dezavantaj olabilir. Bazı antibiyotiklerin kullanımının galaktozemi taramasında yer alan mikrobiyolojik test sonuçlarını etkilediği bilinmektedir.<sup>13</sup> Bizim çalışmamızda 11 (%4) bebekte antibiyotik kullanılmaktaydı. Bu da sonuçları etkilemiş olabilir.

Multipl karboksilaz eksikliğinin geç ortaya çıkan formunda biotinidaz enzimi eksikliği mevcuttur. 1984-88 yılları arasında Avustralya, Meksika ve Japonya gibi ülkeleri de kapsayan 12 ülkede yapılan taramalarda görülme sıklığı tam eksiklik için 1/137.400 ve parsiyel eksiklik için 1/109.929 olarak saptanmıştır.<sup>14</sup> Macaristan'da 1/21.746, ABD'de Virginia'da 1/30.000 ve İtalya'da 1/24.300 gibi değerlere rastlanmaktadır.<sup>15</sup> Tam biotinidaz eksikliği konusunda çelişki olmamasına karşın parsiyel eksiklik kesin olarak değerlendirilememektedir. Yenidoğan taramasında kullanılan semikantitatif kolorimetrik testte hafif pembe diye değerlendirilen örnekler bizim programımızda normal kabul edilirken, bazı programlarda böyle bir sonuç kantitatif olarak yeniden değerlendirilmekte, bu durumda parsiyel eksiklik veya heterozigot olarak tanı konabilmektedir.<sup>14</sup> Bu da çalışmamızda pozitif olguya rastlamamızın bir nedeni olabilir. Québec'te yapılan bir çalışmada filtre kağıdına emdirilen kuru kan örneklerinde ölçülen biotinidaz aktivitesinde mevsimsel varyasyonlar gösterilmiştir. Kış aylarında alınan örneklerde ölçülen biotinidaz aktivitesi yaz aylarında alınan örneklerle göre daha yüksektir. Serum örnekleri 4 saat içinde dondurulmadığında aktivite kaybı olduğu ortaya konmuştur.<sup>16</sup> Çalışmanın yaz aylarında yapılmış olması pozitif vaka saptanamamasına katkıda bulunmuş olabilir. Miyadında doğan bebeklerde biotinidaz enzim aktivitesi 2 ilâ 10. günde artmaya başlar ve 4 ilâ 20. günde normal erişkin düzeyine ulaşır. Bu nedenle biotinidaz taramasında kan örneklerinin 4 ilâ 5. günde alınması önerilmektedir. Ancak prematüre bebeklerin bazılarında biotinidaz aktivitesinin 3 ilâ 7. günde düştüğü, daha sonra yavaş yavaş yükselerek 20 ilâ 40. günde normal erişkin düzeyine ulaştığı gösterilmiştir.<sup>17</sup> Eğer pozitif vaka saptanabilseydi, erken kan alımı yalancı pozitiflik açısından sorun yaratabilirdi.

Çalışmamızda 269 bebeğin anne babalarının %15.6'sının 1. veya 2. derece akraba evliliği yapmış olduğunu saptadık. Türkiye genelinde bildirilen akraba evliliği oranı %22 olmakla birlikte, bu denli küçük bir çalışma grubunda akraba evliliği oranının %15.6 olması sorunun ciddiyetini ortaya koymaktadır.

Yenidoğan tarama programları maliyet etkinlik açısından değerlendirildiğinde, hasta bir çocuk ve ailesi için gerekli tedavi, eğitim ve rehberlik giderleri bu testlerin mali yüküyle kıyaslanmayacak denli fazladır. Yenidoğan tarama testleri maliyetlerinin düşük, yanlış pozitif ve negatif sonuçların insidansının düşük olması ve erken tanı ve tedavinin prognozu değiştirebilmesi nedeniyle, 21. yüzyıla giderken bebek morbidite ve mortalitesini azaltmak amacıyla yaygınlaştırılmalıdır.

#### Kaynaklar

1. **Özalp İ, Coşkun T.** Yirmibin yenidoğanda fenilketonüri ve hiperfenilalaninemi insidansı. *Çocuk Sağlığı ve Hast Dergisi* 1985; 28: 257-65.
2. **Tunçbilek E.** Türkiye'de akraba evlilikleri. *Katkı* 1985; 6(2): 129-36.
3. **Ulusoy M, Tunçbilek E.** Türkiye'de akraba evlilikleri ve çocuk ölümlerine etkisi. *Nüfusbilim Dergisi* 1987; 9: 7-26.
4. **Özalp İ.** Fenilketonüri ve ülkemizde görülme sıklığı. *Katkı* 1991; 12(1): 6-9.
5. **Say B, Tunçbilek E, Baki S.** Incidence of congenital malformations in a sample of the Turkish population. *Human Hered* 1973; 23: 434-8.
6. **Rezvani I, Auerbach VH.** Defects in metabolism of aminoacids. Nelson textbook of Pediatrics'de. Ed. Behrman RE. 14. baskı. Philadelphia, WB Saunders Company, 1992; 307-10.
7. **Mc Cab ER, Mc Cabe L, Mocher GA.** Newborn screening for PKU predictive validity as a function of age. *Pediatrics* 1983; 72: 390-3
8. **Holtzman C, Slazyk WE.** Descriptive epidemiology of missed cases of PKU and congenital hypotiroidism. *Pediatrics* 1986; 78: 553-8
9. **Doherty LB, Rohr FJ, Levy HL.** Detection of phenylketonuria in the very early newborn blood specimen. *Pediatrics* 1991; 87: 240-4.
10. **Krassner MB.** Diet and brain function. *Nutr Rev* 1986; 44: 6-8.
11. **Greenberg CR, Dilling LA, Ford JD.** Newborn screening for Galactosemia: a new method used in Manitoba. *Pediatrics* 1989; 84: 331-45.
12. **Inoue B, Hata M, Ichiba Y, Wada H, Misumi H, Mari T.** Results of newborn screening for galactose metabolic disorders. *J In Met Dis* 1990; 13: 93-101.
13. **Beutler E.** Galactosemia: screening and diagnosis. *Clin Biochem* 1991; 24: 293-300
14. **Wolf B, Heard G.** Screening for biotinidase deficiency in newborns: worldwide experience. *Pediatrics* 1990; 85: 512-7.
15. **Burlien AB, Sherwood WG, Marchioro MW, Bernardina BD, Gaburro D.** Neonatal screening for biotinidase deficiency in north eastern Italy. *Eur J Pediat* 1988; 147: 317-8.
16. **Dunkel G, Scriver C, Clow CL ve ark.** Prospective ascertainment of complete and partial serum biotinidase deficiency in the newborn. *In Met Dis* 1989; 12: 131-8.
17. **Sourmala T, Wick H, Baumgartner ER.** Low biotinidase activity in plasma of some preterm infants: possible source of false-positive screening results. *Eur J Pediat* 1998; 147: 478-80.

Geliş tarihi: 21.05.1995

Kabul tarihi: 18.09.1996

#### İletişim adresi:

Uz. Dr. Okşan Koçkar Erdoğan

Ümraniye Ana Çocuk Sağlığı Merkezi

Ümraniye - İSTANBUL