



**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI**

**BİYOTİNİDAZ EKSİKLİĞİ OLAN HASTALARDA
KLİNİK VE GENOTİPİK ÖZELLİKLERİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Dudu Duygu CİVAN(ALTIN)

Antalya, 2022



T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

BİYOTİNİDAZ EKSİKLİĞİ OLAN HASTALARDA
KLİNİK VE GENOTİPİK ÖZELLİKLERİN
DEĞERLENDİRİLMESİ

UZMANLIK TEZİ

Dr. Dudu Duygu CİVAN(ALTIN)

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Erdoğan SOYUÇEN

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya,2022

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın yürütülmesinde yol gösterici olan, akademik heyecanı destekleyen ve teşvik eden, tez sürecimde desteğini yanımda hissettiğim, saygın duruşu ve hoşgörüsü ile insanlık adına çok şey öğrendiğim danışman hocam Prof. Dr. Erdoğan SOYUÇEN'e,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nın tüm saygıdeğer hocalarıma,

Gece gündüz demeden sorularımı yanıtlayan yandal uzmanlarıma, hasta başında birlikte sabahladığım, omuz omuza çalıştığım tüm asistan ve hemşire arkadaşlarıma, sorunlarımızda yardımcı anabilim dalı sekreterlerimize,

Tanıştığım günden itibaren beraber gülüp ağladığım, asistanlık yıllarımı güzel kılan, desteklerini hiç esirgemeyen sevgili Pelin, Nazan, Elif, Tuba ve Ayşe'ye,

Üniversiteye başladığımdan beri ikinci ailem olan, yanyanayken huzura boğulduğum, kilometrelerce uzaktan bile yakınlıklarıyla ısındığım Fatma ve Selin'e,

Beni yetiştiren, hayatımın her anında yanımda olan, ayaklarımın üzerinde durmamı sabır ve heyecanla destekleyen canım annem ve babama, gözümde hiç büyümeyecek olan canım kardeşime,

Hayatımı kolaylaştıran, düştüğümde yanıbaşında biten, bakış açımı genişleten, çabasına ve duruşuna hayran olduğum, yol arkadaşım ve sevgili eşim Murat'a,

Sonsuz teşekkür ederim...

Dr. Dudu Duygu CİVAN(ALTIN)

Antalya, 2022

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	iii
Tablolar Dizini	iv
Resim Ve Şekiller Dizini	v
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Yenidoğan Tarama Programları ve Önemi	2
2.2. Yenidoğan Tarama Programı Tarihçesi	2
2.3. Fenilketonüri(FKU)	3
2.4. Konjenital hipotiroidi	5
2.5. Kistik Fibrozis	6
2.6. Konjenital Adrenal Hiperplazi	7
2.7. Biyotinidaz Eksikliği	8
2.7.1. Biyotin ve Biyotin Eksikliği	10
2.7.2. Biyotin Döngüsü	11
2.7.3. Biyotinidaz Eksikliği Tarihçesi	12
2.7.4. Biyotinidaz Eksikliğinde Epidemiyoloji	12
2.7.5. Biyotinidaz Eksikliği Patofizyolojisi	13
2.7.6. Biyotinidaz Eksikliğinde Klinik Bulgular	14
2.7.7 Biyotinidaz Eksikliğinde Laboratuvar Bulgular	15
2.6.8. Biyotinidaz Eksikliğinde Genetik Analiz	17
2.6.9. Biyotinidaz Eksikliğinde Radyoloji	19
2.7.10. Biyotinidaz Eksikliğinde Tedavi	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	20
4. BULGULAR	21
5. TARTIŞMA	43
6. SONUÇLAR	49

7. ÖZET	51
8. ABSTRACT	53
9. KAYNAKLAR	55



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

BBE	Belirgin Biotinidaz Eksikliği
BE	Biotinidaz Eksikliği
BEA	Biyotinidaz Enzim Aktivitesi
bp	Baz Çifti
BTD	Biotinidaz Enzim Eksikliği
B-PABA	Biyotinil-p-aminobenzoik asit
BT	Bilgisayarlı Tomografi
B-6AQ	Biyotinil-6-aminokinolin
DM	Diyabetes Mellitus
FKU	Fenilketonüri
FMF	Ailesel Akdeniz Ateşi
GKD	Gelişimsel Kalça Displazisi
IRT	Immunreaktif Tripsinojen
KAH	Konjenital Adrenal Hiperplazi
KBE	Kısmi Biotinidaz Eksikliği
KH	Konjenital Hipotiroidi
KF	Kistik Fibrozis
MR	Manyetik Rezonans
MRS	Manyetik Rezonans Spektroskopisi
NAA	N-asetil Aspartat
RIA	Radyoimmunassay
SMVT	Sodyum Bağımlı Multivitamin Transporteri
TSH	Tiroit Uyarıcı Hormon

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
1. Türkiye’de FKU tarama programı aşamaları	3
2. Yaşlara göre önerilen günlük biyotin miktarı	10
3. Florometrik ve kolorimetrik yöntemin referans değerleri	16
4. Demografik ve klinik özellikler	21
5. Ek hastalıklar	22
6. Serum biyotinidaz enzim aktivitesi düzeyi (nmol/dk/ml)	22
7. Serum biyotinidaz enzim aktivitesi düzeyine göre sınıflama	23
8. Semptom varlığı ve gözlenen bulgular	24
9. Memleket dağılımı	25
10. Bölge dağılımı	26
11. Mutasyon dağılımı	27
12. Varyant adları	27
13. Sınıflamaya göre demografik ve klinik özellikler	28
14. Sınıflamaya göre semptom varlığı ve gözlenen bulgular	29
15. Sınıflamaya göre genotipik özellikler	30
16. Sınıflamaya göre mutasyon adları	31
17. Mutasyon varlığına göre demografik ve klinik özellikler	32
18. Mutasyon varlığına göre semptom varlığı ve gözlenen bulgular	34
19. Mutasyon şekline göre demografik ve klinik özellikler	35
20. Mutasyon şekline göre semptom varlığı ve gözlenen bulgular	36
21. Semptomatik hastaların özellikleri	37
22. Ek hastalığı olan hastaların özellikleri	38
23. Bileşik heterozigot olan hastaların özellikleri	39
24. Bölgelere göre mutasyonlar	40
25. Bölgelere göre varyant dağılımı	40
26. p.D424H ve p.Q436H mutasyonu olan hastaların biyotinidaz enzim aktivitesine göre sınıflamaları ve semptom varlığı	41

RESİMLER VE ŞEKİLLER DİZİNİ

Sekil

Sayfa

1.	Fenilketonüri Akış Şeması	4
2.	Konjenital Hipotiroidi Akış Şeması	5
3.	Kistik Fibrozis Akış Şeması	6
4.	Konjenital Adrenal Hiperplazi Akış Şeması	8
5.	Biyotinidaz Eksikliği Akış Şeması	9
6.	Biyotin Döngüsü	11
7.	Biyotin Siklusu	14
8.	Biyotinidaz Eksikliği Olan Yenidoğanda Seboroik Dermatit	15
9.	Varyant Sınıflaması	17
10.	Varyant tipleri	18
11.	BEA Düzeyi Histogramı	22
12.	Memleket	26

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Biotinidaz eksikliği (BE), otozomal resesif geçiş gösteren nörokutanöz bir bozukluktur (1,2). Dünyadaki insidansı yaklaşık 1:40000-60000 doğum olan metabolik bir hastalıktır (3). Biositinden biyotine dönüşümü sağlayan biotinidaz enziminin eksikliğinden ileri gelmektedir. Bu dönüşümde aksaklık olduğunda serbest biyotin azalır.

Biyotin, aktif transport ile hücre içine alındıktan sonra glukoneogeneizde, aminoasitlerin katabolizmasında ve yağ asidi sentezinde kullanılan dört karboksilazın koenzimidir (4). Biotinidaz eksikliği tedavi edilmediği takdirde nöbetler, hipotoni, beslenme sorunları, işitme kaybı, optik atrofi, alopesi, ataksi ve seboroik dermatit gibi nörolojik ve dermatolojik belirtilerle gelebilir (4).

Biyotinidaz eksikliği ilk olarak 1983 yılında tanımlanmış (5). Erken başlanmış tedavi ile normal bir yaşama ulaşılabilmesi, bilim insanlarını tarama programı oluşturmaya yöneltmiştir. Amerikan Pediatri Akademisi Genetik Komitesi, 1984 yılında Virginia’da yenidoğan tarama testleri başlatılmış (6). Türkiye 2008 yılında yenidoğan taramalarına dahil etmiştir. Hastalığın tanısının konması neredeyse tüm dünyada, gelişmiş tanı yöntemleri ve tarama programları sayesinde kolaylaşmıştır.

Biotinidaz geni kromozom 3q25’te bulunur (7). Toplam uzunluğu 1629 bp olan dört ekzondan oluşur (8,9). 200’den fazla mutasyon tanımlanmış ve bu sayı gün geçtikçe artmaya devam etmektedir; ancak fenotip genotip ilişkisi henüz kurulamamıştır.

Bu çalışmanın amacı Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Metabolizma Hastalıkları Polikliniğinde takip edilmekte olan biyotinidaz eksikliği hastalarının semptomlarının, genetik analizinin belirlenmesi, kantitatif biyotinidaz düzeyi ile genotipik varyantların arasında ilişki olup olmadığının belirlenmesi, genotip ve fenotip ilişkisinin ortaya konulması hedeflenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Yenidoğan Tarama Programları ve Önemi

Tarama; tanımlanmış popülasyonda asemptomatik hastalıkların aranmasıdır. Taramanın esas amacı ise; semptomatik olmadıkları dönemde belirlemek olduğundan tarama testleri için en uygun zaman yenidoğan dönemidir.

Yenidoğan taraması; yenidoğan döneminde klinik bulguları ortaya çıkmadan ve tedavi edilebilir olan genetik, endokrinolojik, metabolik hastalıkların test edilme işlemidir. Yenidoğan tarama hizmetleri erken teşhisi mümkün kılarak erken müdahaleye ve dolayısı ile etkili tedaviye imkan sağlar.

Ülkelerin gelişmişlik düzeyine göre taranan hastalıklar değişmekle birlikte; taranacak olan hastalık toplumda sıklığının yüksek olması, hastalığın doğal seyrinde yaratacağı bozukluk şiddetinin fazla olması, kesin bir tanı ve tedavisinin olması ve test maliyet-yarar oranının ekonomik olarak dengeli olması ile belirlenir (10).

2.2.Yenidoğan Tarama Programı Tarihçesi

Yenidoğan tarama programlarının temeli; Dr.Horst Bickel fenilketonüri hastalığının diyetle tedavi edilebileceği düşüncesini 1953 yılında yayınladığında oluşmuş (11). Dr. Robert Guthrie'nin basillus subtilis kullanarak 1958 yılında geliştirdiği test ile 1965 yılında Amerika Birleşik Devletleri'nde zorunlu olarak yenidoğan taraması için kullanılmaya başlanmıştır. Bakteriyel inhibisyon testi ile fenilketonüri ve homosistinüri gibi doğuştan metabolik hastalıkları taramak için kullanılırken, radioimmünassay(RIA) yöntemi konjenital hipotiroidi, konjenital adrenal hiperplazi ve alfa-1 antitripsin eksikliğini taramak için kullanılmıştır (12,13). 1978 yılında konjenital hipotiroidi taramaya eklenmiş ve 1990'larda tandem kütle spektrometresinin geliştirilmesi, birden fazla hastalığın bir damla kan ile taranabilir olması, maliyet ve sonuçlanma süresinin kısılması ile bugün birçok ülkede kullanılabilmektedir (14).

Türkiye’de tarama programları 1983 yılında fenilketonüri ile başlamış ardından 1994 yılında ulusal tarama programına dönüştürülmüş. 2004 yılında yenidoğan işitme tarama programı başlatılmıştır. 2006 yılında konjenital hipotiroidi taraması ile birlikte ‘Neonatal Tarama Programı’ adı ile yürütölmeye başlanmış. 2008 yılında biyotinidaz eksikliği, 2010 yılında gelişimsel kalça displazisi (GKD), 2015 yılında ise kistik fibrozis taramaya alınmış. 2017 yılında ise konjenital adrenal hiperplazi (KAH) Taraması Pilot çalışması yapılmış olup 2018 yılında 14 ile yaygınlaştırılmış ardından 1 Ocak 2022 itibari ile de ulusal tarama programına alınmıştır.

Tablo 1. Türkiye’de FKU tarama programı aşamaları (15)

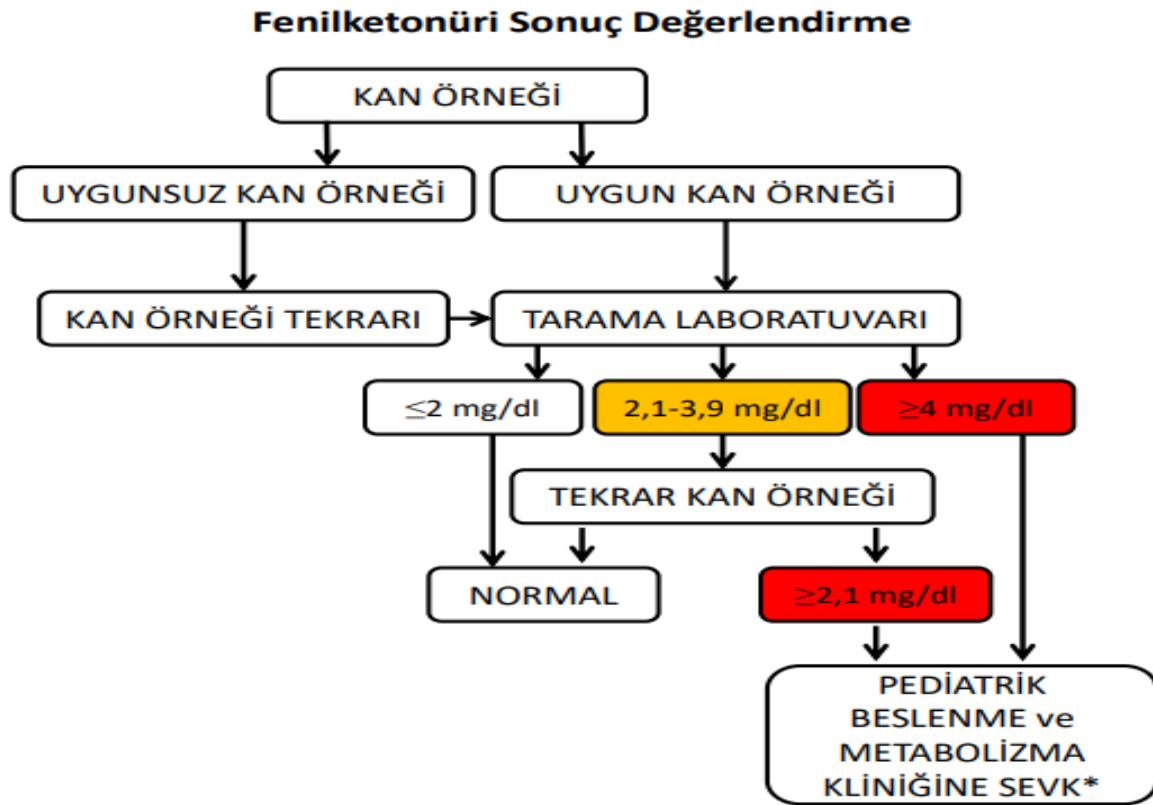
Aktivite	Tarih
MMR’li popülasyonda FKÜ prevelansı saptandı	1985
TÜBİTAK destekli pilot yenidoğan tarama projesi tamamlandı	1986
H.Ü.-Sağlık Bakanlığı işbirliği ile 26 ilde tarama başlatıldı	1986
Fenilketonürlü Çocukları Tarama ve Koruma Derneği kuruldu	1986
Fenilketonürlü Çocukları Tarama ve Koruma Derneği kamu yararı kapsamına alındı	1987
Dernek ‘European Society’nin üyesi oldu	1991
Tarama programı tüm il merkezlerini kapsamına aldı	1990
1 Haziran ‘Ulusal FKÜ’ günü olarak kabul edildi	1992

2.3.Fenilketonüri(FKU)

FKU, dünyada insidansı 1:15000 (16) , iken Türkiye’deki insidansı 1:5049 bulunmuştur (17). Otozomal resesif (OR) olarak kalıtılan metabolik bir hastalıktır. Esansiyel bir aminoasit olan fenilaleninden tirozine dönüşümü sağlayan fenilalenin hidroksilaz enziminin eksikliği ile artan fenilalenin, kan beyin bariyerini geçerek serotonin, dopamin norepinefrin gibi nörotransmitterlerin sentezini baskılar (18).

Tarama için doğru kan örneğinin alınması oldukça önemli olup bebek 48-72 saat beslendikten sonra kapiller kan örneği uygun yeterlilikte ve sayıda filtre kağıdına alınmalıdır. Tarama programı dahilinde alınan örneklere göre izlem şeması şekil 1’de belirtildiği gibidir.

FKU ailelerinde akraba evliliği; %45,7 olarak saptanmıştır (19). Klinik belirti ve bulgularda açık ten ve sarı saç, inatçı ağlama ve kusma, mental retardasyon, konvulsiyon, mikrosefali, ekzema benzeri döküntüler dikkati çeker. Mental retardasyon tedavi ile önlemekte ve bu nedenle yenidoğan taramasında önlem alınmaktadır (20). Tedavide en iyi sonuç için ilk 20 gün içerisinde tıbbi beslenme tedavisine başlanması gerekmektedir (21).



Şekil 1. Fenilketonüri Akış Şeması

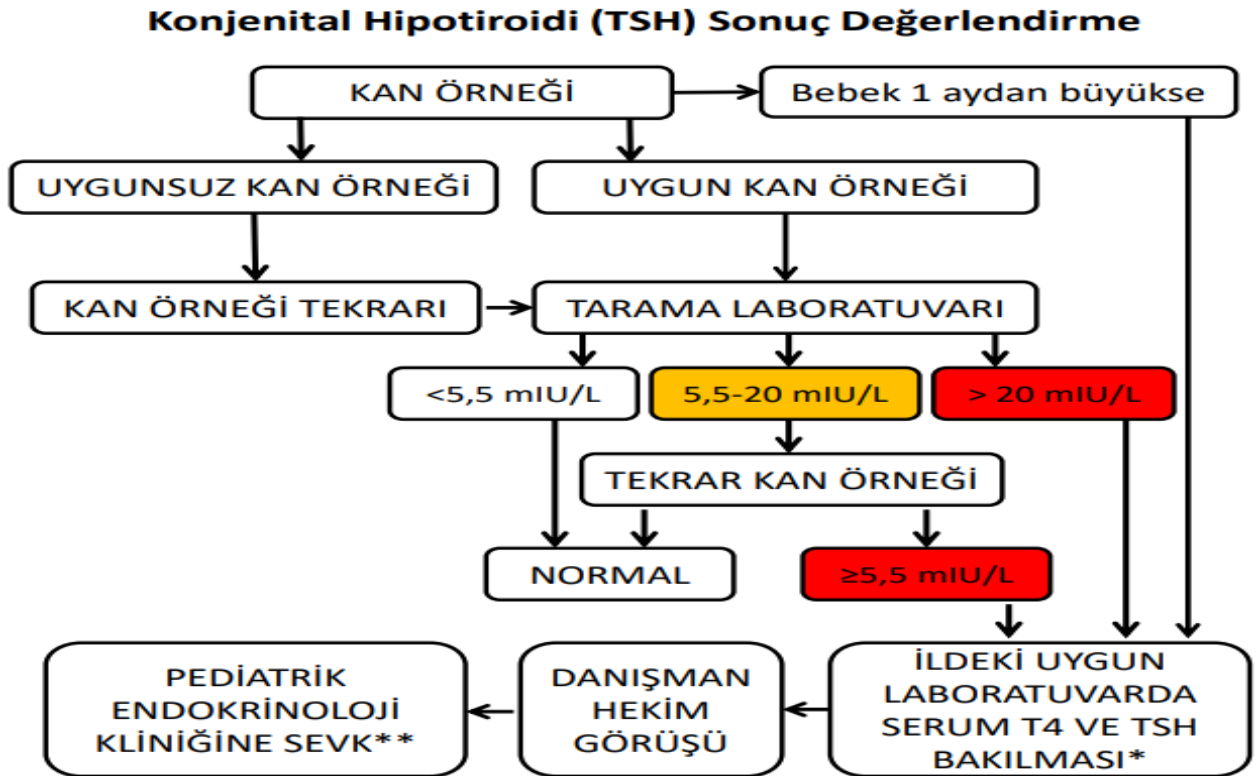
<https://hsgm.saglik.gov.tr>

2.4. Konjenital Hipotiroidi (KH)

Yenidoğan döneminde en sık karşılaşılan endokrinolojik sorundur. Prevalansı ırk ve etnik yapıya göre değişmekle birlikte dünya genelinde 1:3500 (22). Ülkemizde yürütülen bir insidans çalışmasında ise kalıcı KH sıklığı 1:3344 (23).

%95 vakada klinik bulgu olmamasına rağmen, kaba sesli ağlama, büyük dil, kabızlık, umbilikal herni, kuru cilt, hipotoni ve ilerleyen dönemde uzamış sarılık, arka fontanel açıklığı eşlik edebilir.

25 Aralık 2006 tarihinden itibaren, topuktan filtre kâğıdına alınan kandan, TSH ölçüm esasına dayalı olarak Türkiye genelinde uygulanmaya başlanmıştır (24). Topuk kanında TSH sonucuna göre akış şeması şekil 2’de gösterildiği gibidir. Topuk kanı ile tanı konulur konulmaz tedavi başlanır ise zeka geriliği önlenabilir (25,26).



Şekil 2. Konjenital Hipotiroidi Akış Şeması

<https://hsgm.saglik.gov.tr>

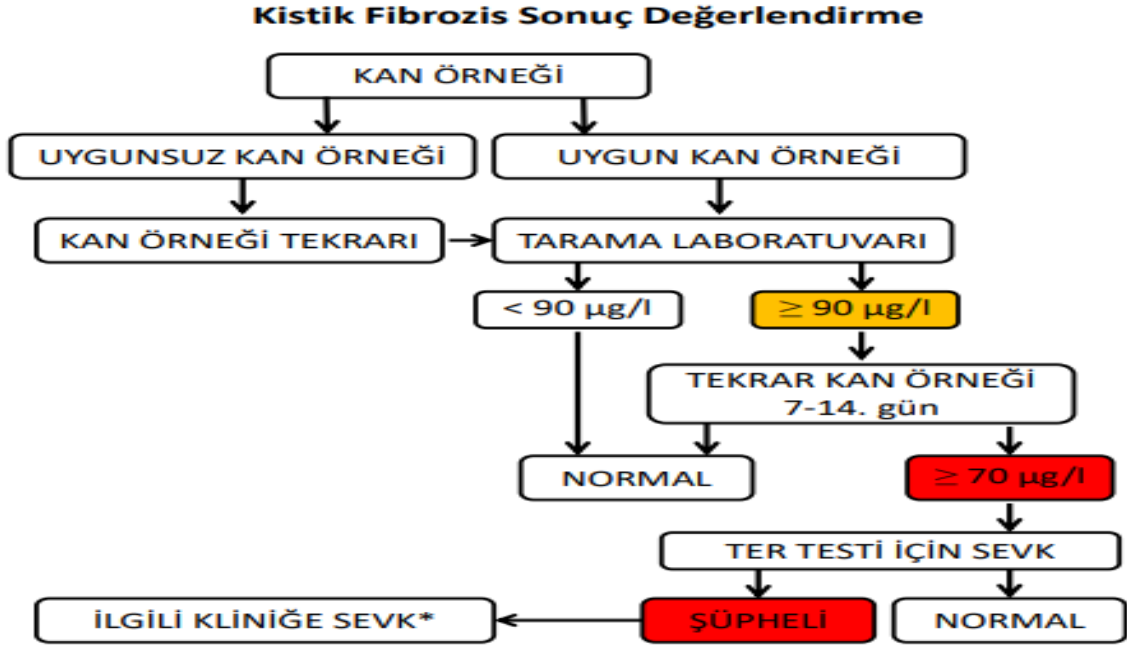
2.5. Kistik Fibrozis (KF)

KF; otozomal resesif kalıtılan, esas olarak salgı bezlerini bu nedenle de akciğerleri ve sindirim sistemini etkileyen genetik bir rahatsızlıktır. En sık beyaz ırkta görülüp Kuzey Avrupa'daki sıklığı 1:2500, ülkemizdeki sıklığı net olarak bilinmemekle birlikte 1973 yılında yapılan bir çalışmada sıklık 1:3000 olarak bulunmuştur (27).

Klinik bulgular yenidoğan döneminde; mekonyum ileusu, akciğer enfeksiyonu, yağlı gaita, büyüme gelişme geriliği iken büyük çocukta; kronik sinüzit, solunum yetmezliği, pankreas yetersizliğine sekonder malabsorpsiyon şeklinde karşımıza gelebilir (28).

2012 yılında ABD'de yeni tanı alan kistik fibrozisli hastaların %61'i yenidoğan tarama programı ile tanı almıştır (27). Tarama programı ile saptanan hastaların, semptomları ile tanı alan hastalar göre, hayatın ilerleyen yıllarında, daha iyi beslenme durumu, büyüme parametreleri ve daha sağlıklı akciğerlere sahip oldukları görülmüş, 2002'den 2012'ye kadar KF'li hastalarda yaşam süresi yaklaşık 10 yıl artmıştır (29). Bütün bunlar erken tanının ortalama yaşam süresi üzerine önemli bir rolü olduğunu göstermektedir.

KF hastalığında, pankreas kanallarının tıkanması, pankreas enzimlerinin kana karışması bu durumda serumda artan immünreaktif tripsinojenin (IRT) artışına neden olur ve KF yenidoğan taraması IRT düzey analizi ile Türkiye'de 2015 yılından beri yapılmaktadır. Tarama sonuçlarına göre akış şeması şekil 3'te gösterilmiştir.



Şekil 3. Kistik Fibrozis Akış Şeması

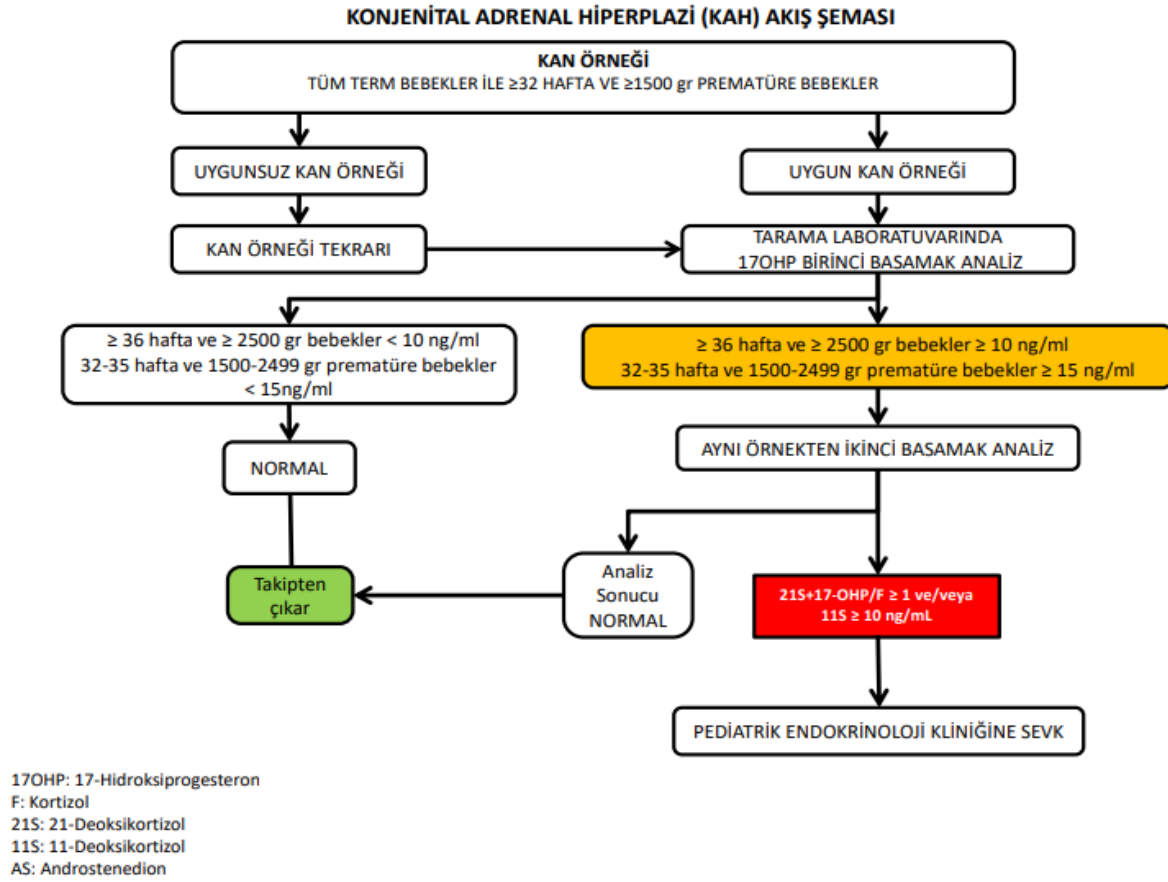
<https://hsgm.saglik.gov.tr>

2.6. Konjenital Adrenal Hiperplazi (KAH)

Konjenital adrenal hiperplazi (KAH), adrenal korteksteki kortikosteroid sentezinin oluşmasını engelleyen, bu nedenle de adrenal bezlerde hiperplaziye yol açan bir grup kalıtsal enzim eksikliğidir. Kortizol biyosentez yolu ile ilgili 5 enzimden birinde (kolesterol yan zincir yıkım enzimi, 3-beta-hidroksisteroid dehidrogenaz, 17-hidroksilaz, 21-hidroksilaz ve 11-hidroksilaz) oluşan bir defekt KAH oluşumundan sorumludur. KAH yenidoğan bebeklerde 1/10.000-16.000 arasındaki sıklıkta görülür (30).

Erkeklerde sadece penis büyüklüğü ve skrotumda hiperpigmentasyon olduğu ve fark edilmediği için ciddi enfeksiyonlara maruziyet nedeniyle ölümlere neden olur. Kızlarda ise kliteromegaliden tam erkek görünümüne kadar farklı cinsel gelişim bozukluklarına yol açabilmektedir. Tanı aldıktan sonra tıbbi ve cerrahi tedavisi mümkün olup erken tanı hem erkek hem de kız bebeklerin ölümünü engellemekte hem de bebek büyümeden erken tıbbi ve cerrahi müdahale ile problemler düzeltilebilmektedir.

1 Ocak 2022 itibari ile ulusal yenidoğan tarama programına dahil edilmiş olan KAH hastalarının takip şeması şekil 4’te gösterildiği gibi yapılmaktadır.



Şekil 4. Konjenital Adrenal Hiperplazi Akış Şeması

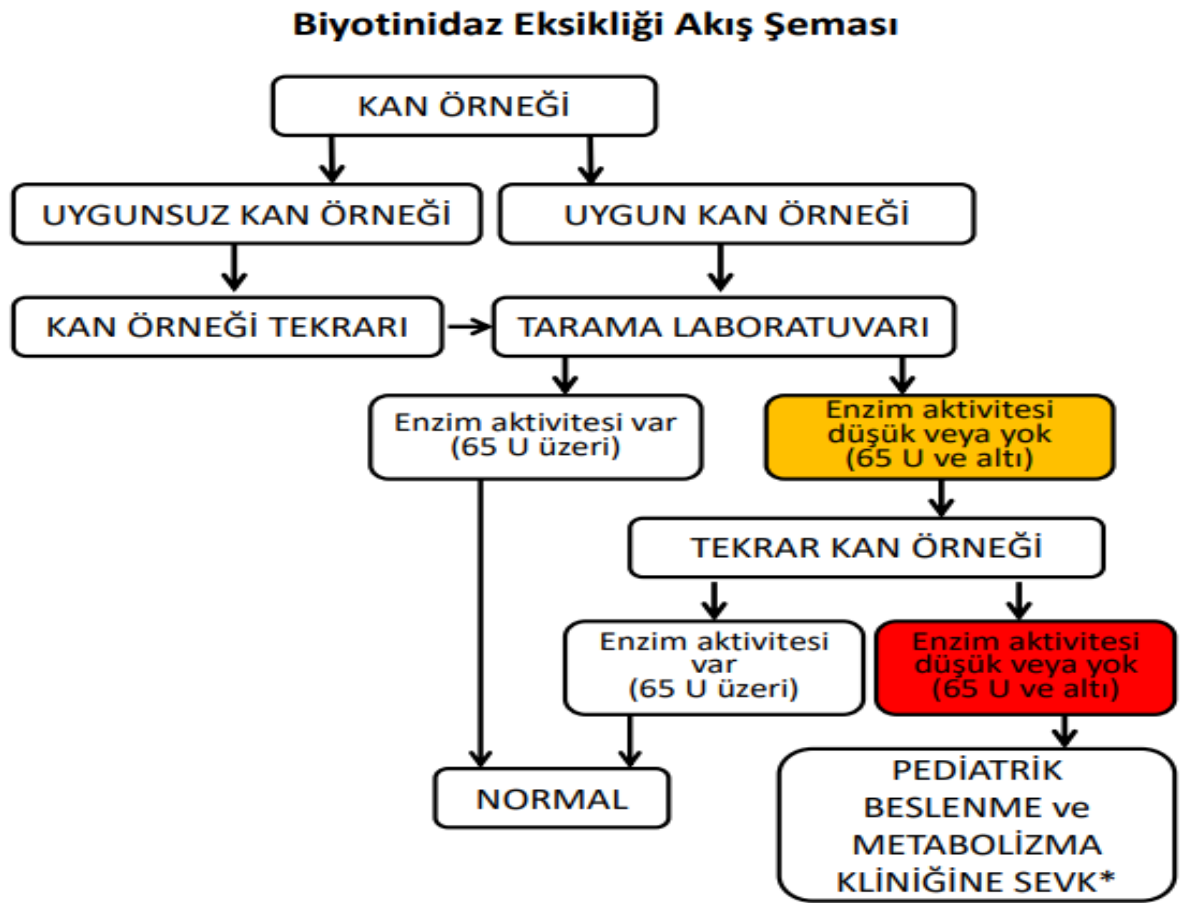
<https://hsgm.saglik.gov.tr>

2.7. Biotinidaz Eksikliği

Biotinidaz eksikliği (BE); otozomal resesif kalıtılan, eksikliği ile serbest biyotinin azalmasına ve ardından karboksilasyon reaksiyonlarındaki eksiklik ile nörokutanöz bulgu oluşturan metabolik bir hastalıktır (1,2). Dünyadaki insidansı yaklaşık 1:40000-60000 iken Türkiye’de Sağlık Bakanlığı verilerine göre insidans 1/7116 dır (3,31) .

Tedavi almamış hastalarda nöbet, hipotoni, beslenme sorunları, gelişimsel gecikme, işitme kaybı, optik atrofi, ataksi, alopesi ve deri döküntüsü gibi çeşitli nörolojik ve dermatolojik bulgular görülebilir.

1983 yılında BE tanımlanmasından sonra biyotinidaz aktivitesini ölçmek için hızlı bir kolorimetrik yöntem geliştirilmiş ve taramaların başlanması hastalık semptomlarının önlenmesini sağlamıştır (1). Türkiye’de 2008 yılında biyotinidaz enzim aktivitesi bakılarak tarama programına dahil edilmiştir.



Şekil 5. Biyotinidaz Eksikliği Akış Şeması

<https://hsgm.saglik.gov.tr>

2.7.1. Biotin ve Biotin Eksikliği

Biotin, vitamin B7 veya H vitamini olarak bilinen suda çözünebilen bir B vitamin kompleksidir. Ökaryotik hücrelerde biyotine bağımlı karboksilazların önemli bir kofaktörüdür ve DNA replikasyonu ve transkripsiyonunda rol oynadığı düşünülmektedir (32-34).

Memelilerin biyotini üretemediği gösterilmiş olup vücuda besinlerle ve endojen olarak kolon flora bakterileri yardımıyla alınır (35). Maya, tam buğday ekmeği, avokado, karnabahar, taze sebze ve meyve gibi bitkisel gıdalar ile karaciğer, yumurta, balık gibi hayvansal ürünler biyotin açısından zengindir (36,37). Pişirilme ile yapısı bozulmayan biyotini çiğ yumurta akı içerisinde bulunan avidin isimli protein bağlar ve bağırsaktan emilimini engeller. Bu nedenle iyi pişmemiş yumurta tüketiminde biyotin eksikliği görülebilir (38). Yine yetersiz beslenmenin söz konusu olduğu hamilelik ve gebelik döneminde, uzun süre total parenteral nutrisyon ile beslenen hastada, antibiyotik ve antikonvülzan kullanım öyküsü bulunan hastada biyotin eksikliği saptanabilir (39). Günlük alınması önerilen biyotin miktarı tablo 2’de gösterilmiştir (40).

Tablo 2. Yaşlara göre önerilen günlük biyotin miktarı

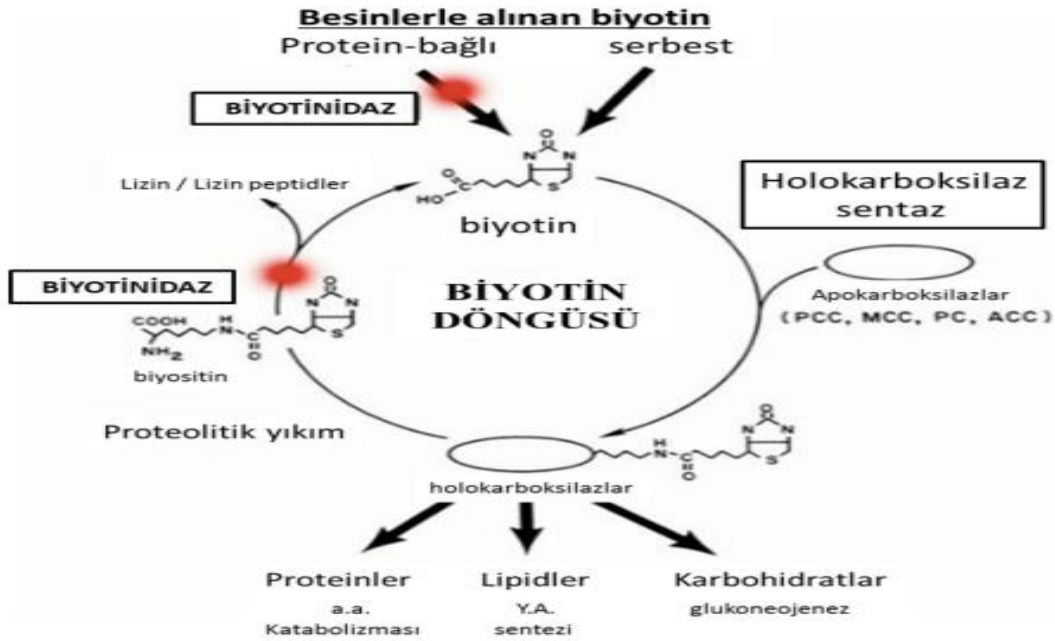
Yaş	Önerilen miktar mcg /gün
0-6 ay	5
7-12 ay	6
1-3 yıl	8
4-8 yıl	12
9-13 yıl	20
14-18 yıl	25
19+ yıl	30
Hamileler	30
Emzirenler	35

mcg: mikrogram

2.7.2. Biyotin Döngüsü

Oral olarak alınan ve kolon flora bakterileri tarafından sentezlenen biyotin, çoğunlukla proksimal ince bağırsak ve çekumda emilir. Emilmemiş olan biyotin ise bağırsaklardan ve serumdaki fazlası da böbrekler yolu ile atılır (41). Gastrointestinal sistemde proteazlar ve pankreas sekresyonunda bulunan BTB enzimi yardımıyla bileşiklerinden ayrılarak serbestleştirilir (2). Serbest biyotin ince bağırsak endotelinin membranında bulunan SMVT proteini (sodyum bağımlı multivitamin transporteri) aracılığıyla sistemik dolaşıma, yine aynı protein ile periferik dokulardan hücre içine alınmasını sağlar (42,43).

Biyotin, aktif transport ile hücreye ve ardından holokarboksilazların yapısına girer. Lipid metabolizması, glukoneogenezde ve aminoasit katabolizmasında dört karboksilazın koenzimi olarak rol oynar (2). Sonrasında biositinden biyotinidaz enzimi ile yeniden biyotine dönüşür (şekil 6). Biyotinidaz enzim eksikliği olan hastalarda biositinden biyotin dönüşümü azalır, idrar yoluyla biositin atılır (44). Enzim miktarındaki eksikliğin ciddiyetine bağlı olarak klinik gelişir.



Şekil 6. Biyotin Döngüsü

The-biotin-cycle-in-mammalian-cells_fig2_341999470

2.7.3. Biyotinidaz Eksikliği Tarihçesi

1930'larda fareler üzerinde yapılan çalışmalarda, diyetinde yüksek miktarda çiğ yumurta ile beslendiklerinde alopesi, dermatit ve nörolojik bozuklukların olduğu ardından koruyucu faktör X denilen maddenin diyetle eklenmesi ile de bulguların düzeldiği gösterilmiş (45). Sonrasında vitamin H(biyotin) olarak adlandırılmış ve 1936 yılında ise B grubu vitaminlerin içinde tanımlanmıştır (4).

Biyotinidaz enzimi ilk olarak Thoma ve Peterson tarafından 1950'lerde domuz karaciğer ve tavuk pankreasında saptanmış (46). 1970'li yıllarda ise biyotine bağımlı 3 karboksilaz enziminin kalıtsal eksiklikleri bildirilmiş (47). 1980'lerde tanımlanan hastalarda otozomal resesif kalıtıldığı gösterilmiş. 1981 yılında doğumdan hemen sonra ve erken çocukluk döneminde ketoasidoz ve organik asidemiye yol açan iki çeşit çoklu karboksilaz eksiklik olduğu kabul edilmiş (48).

1982 yılından itibaren juvenil ve geç başlangıçlı çoklu karboksilaz eksikliklerinin hemen hemen hepsinde biyotinidaz eksikliği olduğu tanımlanmış. 1983 yılında fibroblast konsantrlerinden biyotinidaz enzim aktiviteleri değerlendirilmiş, 1984 yılında ise 100 kat daha duyarlı olan biyotinitil-p-aminobenzoik asit(B-PABA) ile kolorimetrik olarak ölçümler yapılmış. İlk yenidoğan taraması 1984 yılında Viriginia'da başlatılmış (7). Ülkemizde ise yenidoğan taramasına 2008 yılında geçilmiştir.

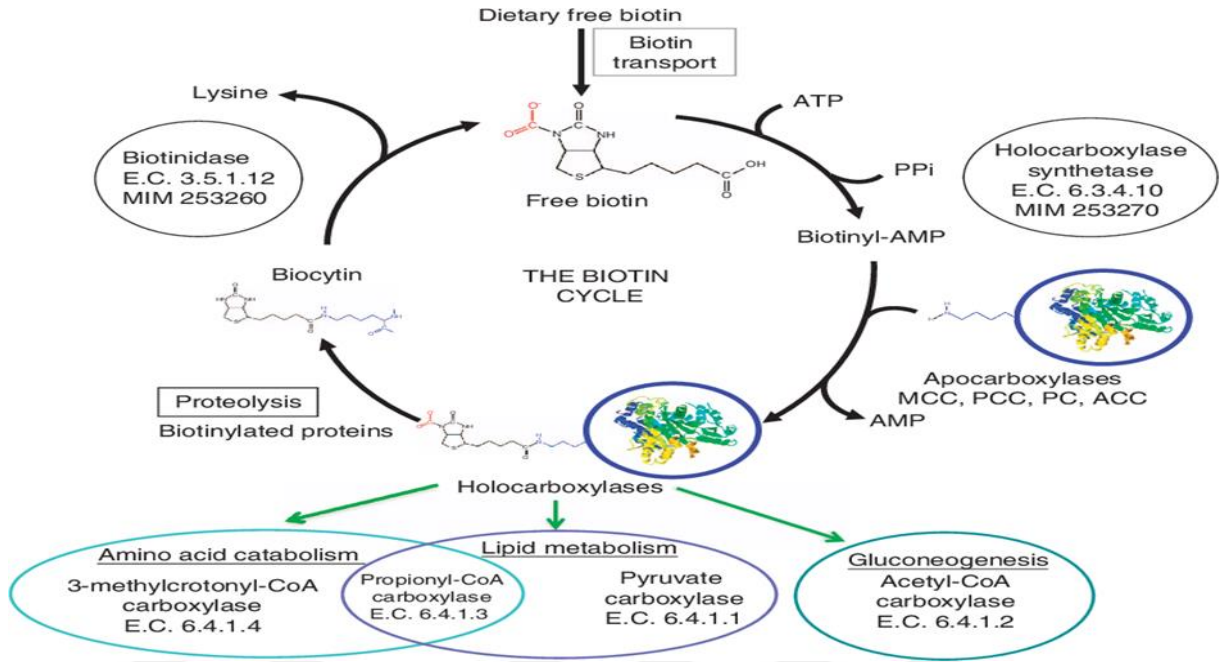
2.7.4. Biyotinidaz Eksikliğinde Epidemiyoloji

Biyotinidaz eksikliği, dünyada 40000 ile 60000 doğumda 1 görülen nadir bir hastalıktır. Akraba evliliğinin sık görüldüğü ülkelerde insidansı artmaktadır. Tam eksiklikte vaka insidansı 1:80000 iken kısmi eksiklikte insidans ABD'de 31000 'de 1 ile 40000 doğumda 1 arasındadır (49). Tahmini taşıyıcılık ise 123 kişide 1 dir. Ülkelere göre prevalanslar; Türkiye'de 1/7116, Brezilya'da 1/9000, İtalya'da 1/6300, Malezya'da 1/61000 dir (32,50, 51). Ülkemizde akraba evliliği oranlarının yüksek olmasının insidans üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir (52).

2.7.5. Biotinidaz Eksikliğinde Patofizyoloji

Biyotin, aktif transport ile hücreye ve ardından holokarboksilazların yapısına girer. Lipid metabolizması, glukoneogenezde ve aminoasit katabolizmasında dört karboksilazın koenzimi olarak rol oynar (2). Sonrasında biositinden biyotinidaz enzimi ile yeniden biyotine dönüşür. Pirüvat karboksilazın eksikliğinde laktik asit ve alanin birikirken, propionil-coa karboksilaz yetersizken propiyonik asit, 3-OH propionat ve metil sitrat birikir, C3(propionil karnitin) artmış olarak Tandem MS tetkikine yansır. 3- metilkrotonil-coa karboksilaz yetersizken 3- metilkrotonyglisin ve 3-hidroksiizolerat birikimi görülür ve Tandem MS de C5-OH(hidroksi-izovalerilkarnitin) ve C5-1(triglilkarnitin) artar. Dördüncü eksik enzim; asetil coa karboksilazdır. Şekil 7 ‘de gösterilmiştir.

Çalışmalarda beyin dokusunda sadece purkinje hücrelerinde, dorsal ve ventral koklear, vestibüler ve olivar nükleuslarda düşük düzeyde BTD aktivitesinin olduğu ve bu nedenle serbest biyotini kullandığı düşünülmektedir (52-54). Erken dönem nörolojik semptomların azalmış pirüvat karboksilaz aktivitesine sekonder artmış laktik asidoza bağlı olduğu, işitme ve görme bozukluklarının ise muhtemelen lipogenez bozukluğu sonucu olduğu varsayılmaktadır (55,56). Dermatolojik semptomların ise lipit metabolizma bozukluğu nedeniyle olduğu düşünülmektedir.



Şekil 7. Biotin siklusu(57)

2.7.6. Biotinidaz Eksikliğinde Klinik Bulgular

Çocuk doğduğunda tamamen normal olarak doğar ve yenidoğan taramaları ile erken tedavi başlanması hastaların normal gelişim göstermesini sağlar. Organik asit birikimleri ile nörolojik etkilenmenin yenidoğan döneminden itibaren olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Hipotoni, ataksi, konvülziyon, nöromotor gelişim geriliği, alopesi ve beslenme sorunları görülebilir. Tam eksikliği olan ileri yaş hastalarda ise sensörinöral işitme kaybı ortaya çıkar (4). Apne, laringeal stridor gibi solunum ve görme problemleri özellikle optik atrofi eşlik eden bulgular arasındadır. Peroral alanlarda eritemli plaklar ve sebaroik dermatit gibi cilt bulguları protein metabolizma bozukluğuna bağlı olarak görülür. Konjonktivit, immün sistem baskılanmasına bağlı olarak viral ve fungal enfeksiyonlar görülebilir (58). Daha büyük çocuklarda ise spinal kord tutulumu ve gelişimsel gerilik ile otizm benzeri bulgular görülebilir.

Biyotin tedavisi erken başlandığında ise klinik asemptomatik seyrederken; geç kalındığında nörolojik bulgular ve işitme kaybı geri dönüşümsüz olabilir (59). Literatürde tedavi edilmeyen hastalarda yaklaşık %76 sensörinöral işitme kaybı bildirilmiştir (60). Yenidoğan tarama programı dahilinde olduğundan semptomsuz hasta sayısı semptomlu hasta sayısına göre daha az olmakla birlikte; myelit, spastik parezi, paraplejik semptomları sergileyen erişkinlerde tam eksikliğin eşlik ettiği tespit edilmiştir (61). Çoğu BTĐ hastasının multiple skleroz, transvers myelit, miyastenia gravis ve beyin sapı ensefaliti olarak tanı alabildiği gösterilmiştir (62). Tüm bunlar bir yana hala hangi klinik semptomun biyotinidaz aktivitesinin şiddeti arasındaki ilişki şu anda bilinmemektedir (63).



Şekil 8. Biyotinidaz eksikliği olan bir yenidoğanda seboroik dermatit(64)

2.7.7. Biyotinidaz Eksikliğinde Laboratuvar Bulgular

Biyotinidaz enzimi biyotin ile yapılar arasındaki bağı kesme özelliğine sahip olduğundan enzim aktivitesini ölçmek için bazı substratlar kullanılmıştır. 1963 yılında Knappe ve ark geliştirdiği kolorimetrik(spektrofotometrik) yöntem ile biyotinil-p-aminobenzoik asit(B-PABA) substratı kullanılarak renk değişimi sağlanır (1,65,66). %3 ün altında enzim aktivitesin göstermekte zorlanan bu yöntem dışında fibroblastlar, lökositler ve ayrıca dokulardan daha seçici yöntemlerle enzim aktiviteleri ölçülebilir. Biyotinil-6-aminokinolin (B-6AQ) substrat olarak kullanıldığı florometrik yöntem ile filtre kağıdına emdirilmiş

numunelerden ölçüm yapılarak yenidoğan taramalarında kullanılabilir (67). Spektrofotometrik yöntem ile ölçümde çalışılacak olan serum örneğinin olabildiği kadar hızlı çalışılması önerilmekte olup oda sıcaklığında 2 saat, 4 °C ‘ de bir gün, daha fazla saklanması planlanıyor ise de -20 °C ve -80 °C’de korunması gerekmektedir.

Serum normal biyotinidaz enzim aktivitesi (BEA) 4,4-10 nmol/dk/ml olup ortalaması 7,1 nmol/dk/ml olarak kabul edilirse; %10’un altındaki enzim aktivitesi (0-0,7 nmol/dk/ml) tam eksiklik, %10-30 arasındaki enzim aktivitesi (0,7-2,1 nmol/dk/ml) ise kısmi eksiklik olarak değerlendirilir (1).

Tablo 3’te florometrik ve kolorimetrik yöntemin referans değerleri gösterilmiştir (1,68). Amerikan Tıbbi Genetik ve Genomik Kolejinin taşıyıcı olan hastalar için BTB enzim aktivitesinin referans aralıklarında 2,77-4,21 olarak bulunmuştur (69).

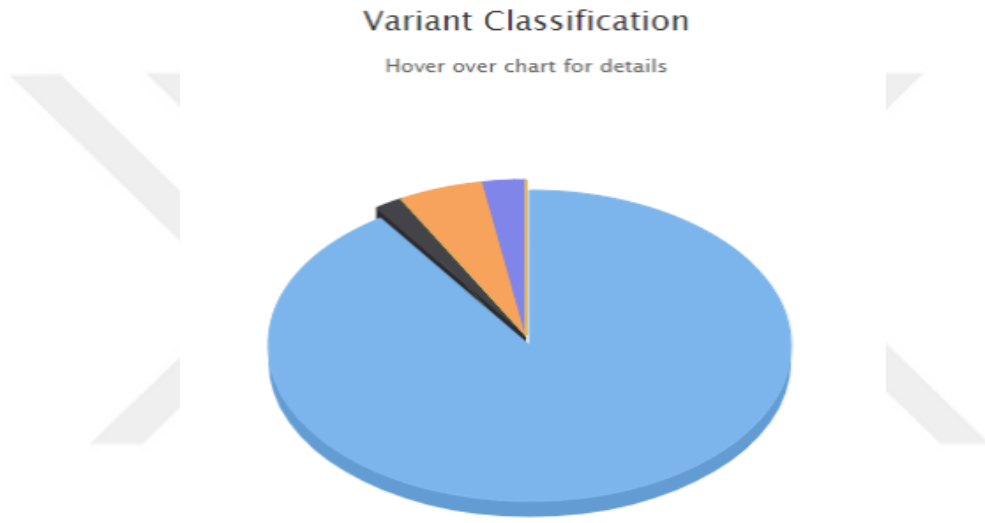
Metabolik ketoasidoz, laktik asidoz ve üre siklusunun baskılanmasına bağlı, hiperamonyemi görülebilir. İdrarda organik asit analizinde ise karboksilaz enzimlerinin az çalışmasına bağlı olarak 3-OH-izovalerik asit, 3-OH-propionik asit, laktik asit, 3-metilkrotonilglisin atılımı artar.

Tablo 3. Florometrik ve kolorimetrik yöntemin referans değerleri (68)

Serum Biyotinidaz Aktivitesi	Florometrik Yöntem	Kolorimetrik(spektrofotometrik) Yöntem
Normal (>%30)	3,63 U/L (3,53-3,79)	7,1 nmol/dk/ml(4,4-12)
Kısmi Eksiklik (%10-30)	0,36-1,09 U/L	0,7-2,1 nmol/dk/ml
Belirgin Eksiklik (<%10)	<0,36 U/L	<0,7 nmol/dk/ml

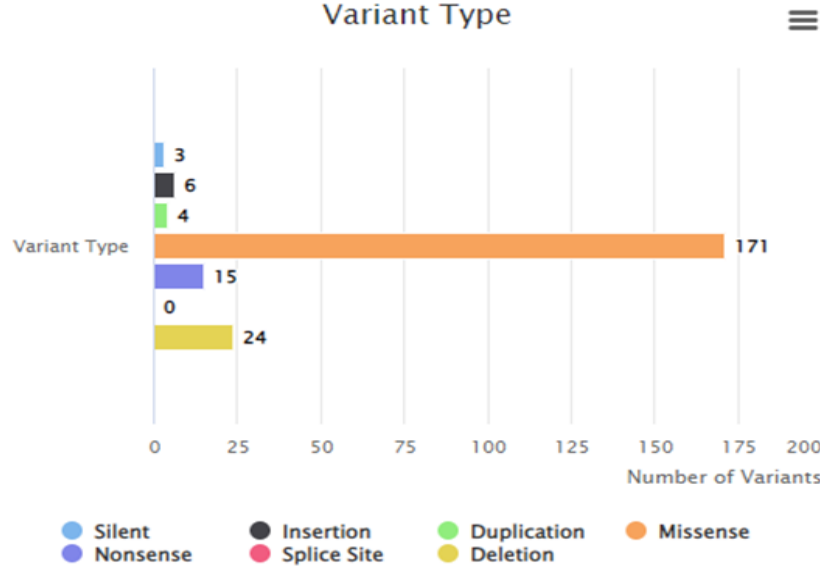
2.7.8. Biyotinidaz Eksikliğinde Genetik Analiz

BTD geni 1994 yılında bulunmuş (7). 543 aminoasit ve yaklaşık 57 Kd'luk kütleyle sahip olduğundan bahsedilmiş. 1998 yılında ise 3 p25 kromozom üzerinde sırası ile 79, 265, 150 ve 1502 bp boyutunda 4 ekzon içerdiği belirlenmiştir (9). 1629 baz çifti olan BTD geninde 200' den fazla mutasyon bildirilmiş (70). BTD geninde tanımlanmış mutasyon her geçen gün artmaya devam etmektedir.



Şekil 9: Varyant Sınıflaması

https://arup.utah.edu/database/BTD/BTD_welcome.php veri tabanına göre Temmuz 2020 de güncellenmiş hali ile 221 adet mutasyon tanımlanmış olup %90,3 patojenik, %5,3 benign, %2,6 belirsiz, %1,8 i muhtemel patojenik olarak sınıflandırılmıştır (şekil 9). Sessiz, yanlış anlamlı, anlamsız, tekli veya çoklu nükleotid yerleştirmeleri ve silmeleri gibi birçok mutasyon çeşidi biyotinidaz eksikliğinde görülür (şekil 10).



Şekil 10 : Varyant tipleri

Mutasyon spektrumu farklı ülkelerde değişiklik göstermekle birlikte; dünyada en yaygın görülen mutasyonlar c.98_104delinsTCC, p.Q456H, p.R538C, kompleks mutasyon olan p.D444H/A171T şeklinde iken Türkiye’de ise yenidoğan ve aile taramasıyla yaygın görülen mutasyonlar; p.R157H, p.D444H, c.98-104del7ins3(exon 2), p.T532M şeklindedir (71,72).

p.A171T:D444H mutasyonu, ABD de yenidoğan taramasında en sık görülen mutasyonlardan biri iken, derin BTD’nin en yaygın nedenidir (73). Homozigot p.D444H mutasyonları taşıyan hastalar yaklaşık %50 serum biyotinidaz aktivitesine sahiptir (74).

BD’de genotip-fenotip korelasyonları iyi kurulmamış olsa da, Sivri ve arkadaşları, derin BB’si olan ve null mutasyonları olan çocukların, yanlış anlamlı mutasyonlara sahip olan çocuklara göre işitme kaybı geliştirme olasılığının daha yüksek olduğunu bildirmiştir (75).

Biyotinidaz eksikliği tespit edildikten sonra risk altındaki akrabaları değerlendirilmeli ve genetik test yapılmalıdır.

2.7.9. Biyotinidaz Eksikliğinde Radyoloji

Biyotinidaz eksikliğinde bilgisayarlı tomografi (BT) taramalarında atrofi, ödem ve bazal gangliyonlarda kalsifikasyon dikkati çekmiştir (76). Literatürde bildirilen en yaygın kranial manyetik rezonans (MR) anormallliği, bazen subdural higroma veya hematoma ile ilişkili olan serebral atrofidir. Hastalığın geç evresi olmakla birlikte gecikmiş myelinizasyon ve beyaz cevher ödemi yaygın görüntüleme bulguları arasındadır (77). Yeni gözlem olarak bilateral hipokampi ve para hipokampal girusta T2 ve FLAIR hiperintensitelerini bildirmiştir (78). Manyetik rezonans spektroskopisi (MRS), düşük N-asetil aspartat (NAA) ile yüksek laktat ve kolin ortaya çıkarabilir. Omurilik tutulumu özellikle geç başlangıçlı BE'li yaşlı hastalarda tanımlanmıştır (79).

2.7.10. Biyotinidaz Eksikliğinde Tedavi

Yenidoğan taramaları ile erken tanı ve tedavi imkanı sağlanmış olup kısmi biyotinidaz eksikliği genellikle asemptomatik seyrettikleri halde stres ve enfeksiyon durumlarında semptomatik hale gelebildiklerinden hastalara 2,5-5 mg/gün biyotin desteği önerilir (80).

Yenidoğan taramaları sonrasında çocuk metabolizma polikliniklerine yönlendirilen hastaların biyotinidaz aktivitelerinin kantitatif ölçümü sonrasında tespit edilen belirgin biyotinidaz eksikliği olan hastalara 5-10 mg/gün dozunda başlanan biyotin, semptomların takibine göre 10-20 mg/gün dozuna artırılabilir (58). Geç tanı alan hastalarda görsel veya işitsel bulguların geri dönüşümsüz olabileceği gösterilmiştir. Bunun dışındaki bulgularda ise günler ve haftalar içerisinde gerileme eğilimindedir (59).

Yaşam boyu devam edecek olan tedavide izlem idrar organik asitleri ile yapılmalıdır. Görme ve işitme bozukluğu açısından belirgin biyotinidaz eksikliği olan hastalar yıllık, kısmi eksikliği olanlar ise 2 yılda bir taranmalıdır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamıza, Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Kliniği'nde 01.01.2018 – 30.09.2021 tarihleri arasında başvurmuş, BE tanısı almış 107 hastanın dosyaları geriye dönük olarak incelenmiştir. Çalışma için Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı (Tarih ve Karar no: 13.10.2021-KAEK-736) alındı.

Tüm olguların demografik verileri (yaş, cinsiyet, akrabalık durumu, memleketleri) başvuru sırasındaki şikayetleri ile fizik muayene bulguları (antropometrik ölçümler, egzematöz döküntüler, saç dökülmesi, nöromotor gelişim geriliği, nöbet, işitme ve görme kaybı) eşlik eden hastalıkları dosyalarından kaydedilmiştir.

BE tanısı konulan hastalar BTDA enzim aktivitesine göre kısmi ve belirgin BE olarak iki gruba ayrıldı. Yine hastanemizde normal BTDA aktivitesi referans değerleri 4,4-12 nmol/dk/ml olup 2,1 nmol/dk/ml %30 aktivite ile uyumlu kabul edildi. Hesaplama yapılarak kantitatif değerler % olarak hesaplanarak BTDA enzim aktivitesi %0-10 arasında olan hastalar tam (belirgin) eksiklik, %10-30 aralığı kısmi eksiklik ve %30-50 aralığı ise taşıyıcı olarak gruplandırıldı.

Gruplar arasındaki enzim aktivite düzeyleri, klinikleri arasındaki ilişki ve mutasyon analiz bulguları ayrıntılı değerlendirildi. En yaygın mutasyonlar, homozigot, heterozigot, birleşik heterozigot mutasyonların sayı ve yüzdeleri, klinik semptomlar ile birlikteliği, bölgelere göre dağılımları, semptomlar ile genotipik özellikler arasında ilişki incelendi.

Veriler IBM SPSS Statistics 18 © Copyright SPSS Inc. 1989, 2010 yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir. Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov testi ile incelenmiştir. Çalışmada yer alan kategorik değişkenler frekans (n) ve yüzde (%) ile normal dağılan sürekli değişkenler ortalama±standart sapma (SS), normal dağılmayan sürekli değişkenler medyan (IQR: 25-75. persentil) değerleri ile sunulmuştur. Kategorik değişkenler arasındaki ilişki Pearson Ki-kare test ve Yates düzeltmesi, Fisher's Exact test, Fisher Freeman Halton Exact test ile incelenmiştir. Veriler nonparametrik özellik gösterdiklerinden dolayı iki grup ortalama karşılaştırmalarında Mann-Whitney U testi, ikiden fazla grup ortalama karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi ve post hoc Bonferroni düzeltmesi yapılmıştır. Çalışmada istatistiksel anlamlılık düzeyi 0,05 olarak kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya toplam 107 hasta dahil edilmiştir. Bu 107 hastanın 60'ı (%56,1) erkek, 47'si (%43,9) kızdır. Yaş ortalamaları $61,06 \pm 52,83$ ay olarak hesaplanmıştır. Ebeveynlerinde akrabalık öyküsü bulunan 38 (%35,5) hasta bulunmaktadır. 5 (%4,7) hastada ise boy kısalığı bulunmaktadır (Tablo 4).

Tablo 4. Demografik ve klinik özellikler

Değişkenler	Tüm hastalar (n=107)
Cinsiyet, n(%)	
Kız	47(43,9)
Erkek	60(56,1)
Yaş (ay), Ort $\pm$ SS	61,06 $\pm$ 52,83
Akrabalık, n(%)	
Yok	69(64,5)
Var	38(35,5)
Boy kısalığı, n(%)	
Yok	102(95,3)
Var	5(4,7)

6 (%5,6) hastada ek hastalık bulunmaktadır. Bu hastalıklar Down sendromu, FMF taşıyıcılığı, geçici hipogamaglobulinemi, hipertansiyon, obezite ve tip 1 DM'dir (Tablo 5).

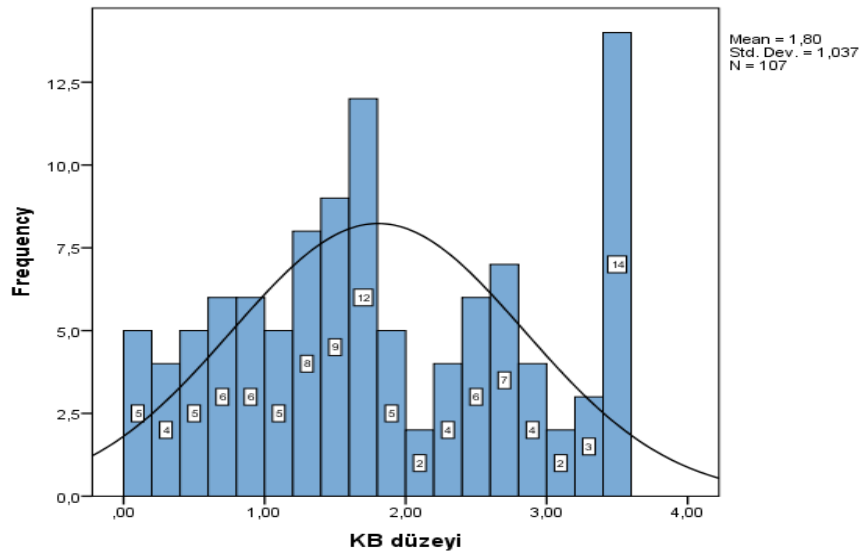
Tablo 5. Ek hastalıklar

Ek hastalık, n(%)	Tüm hastalar (n=107)
Yok	101(94,4)
Down Sendromu	1(0,9)
FMF taşıyıcılığı	1(0,9)
Geçici Hipogamaglobulinemi	1(0,9)
Hipertansiyon	1(0,9)
Obezite	1(0,9)
Tip 1 DM	1(0,9)

Hastaların serum biyotinidaz enzim aktivitesi düzeyleri 0,01 ile 3,50 (nmol/dk/ml) arasında değişmektedir ve ortalama $1,80 \pm 1,03$ (nmol/dk/ml) olarak hesaplanmıştır (Tablo 6, şekil 11).

Tablo 6. Serum biyotinidaz enzim aktivitesi düzeyi (nmol/dk/ml)

	Ort±SS	Medyan(IQR)	Min-maks
BEA düzeyi (n=107)	1,80±1,03	1,70(1,0-2,7)	0,01-3,50

**Şekil 11. BEA düzeyi histogramı**

Serum biyotinidaz enzim aktivitesi düzeylerine göre hastalar tam eksiklik, kısmi eksiklik ve taşıyıcılık gözlenenler olmak üzere üç gruba ayrılmıştır. Tam eksiklik gözlenen 15 (%14,0), kısmi eksiklik gözlenen 50 (%46,7) ve taşıyıcılık gözlenen 42(%39,3) hasta bulunmaktadır (Tablo 7).

Tablo 7. Serum biyotinidaz enzim aktivitesi düzeyine göre sınıflama

Sınıflama, n(%)	Tüm hastalar (n=107)
Tam eksiklik	15(14,0)
Kısmi eksiklik	50(46,7)
Taşıyıcılık	42(39,3)

Semptom gözlenen 17 (%15,9) hasta bulunmaktadır. 1 (%0,9) hastada görme bozukluğu, 2 (%1,9) hastada işitme bozukluğu, 4 (%3,7) hastada konvülsiyon, 5 (%4,7) hastada nöromotor gelişim geriliği, 7 (%6,5) hastada saç bulgusu, 8(%7,5) hastada ise cilt bulgusu tespit edilmiştir (Tablo 8).

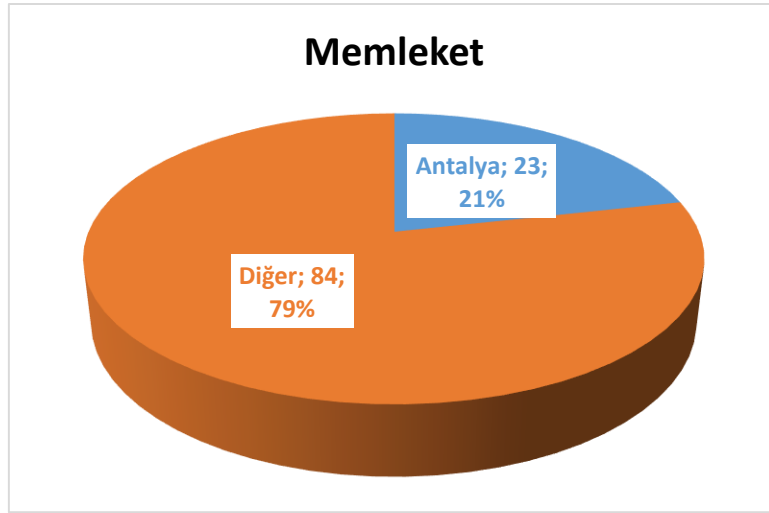
Tablo 8. Semptom varlığı ve gözlenen bulgular

Değişkenler, n(%)	Tüm hastalar (n=107)
Semptom	
Yok	90(84,1)
Var	17(15,9)
Görme bozukluğu	
Yok	106(99,1)
Var	1(0,9)
İşitme bozukluğu	
Yok	105(98,1)
Var	2(1,9)
Konvülsiyon	
Yok	103(96,3)
Var	4(3,7)
Nöromotor gelişim geriliği	
Yok	102(95,3)
Var	5(4,7)
Saç bulgusu	
Yok	100(93,5)
Var	7(6,5)
Cilt bulgusu	
Yok	99(92,5)
Var	8(7,5)

Memleket dağılımları incelendiğinde 23 (%21,5) hastanın memleketinin Antalya, 7'ser (%6,5) hastanın Ağrı ve Şırnak, 6'sar (%5,6) hastanın Mardin ve Şanlıurfa, 5'er (%4,7) hastanın Batman, Isparta ve Van, 4'er (%3,7) hastanın Burdur, Diyarbakır ve Konya, 2'ser (%1,9) hastanın Afyon, Denizli, Hakkâri, Mersin, Muğla ve Ordu olduğu gözlenmiştir. 19 (%17,8) hastanın memleketleri ise başka illerdir (Tablo 9, Şekil 12).

Tablo 9. Memleket dağılımı

Tüm hastalar (n=107)	
Memleket, n(%)	
Antalya	23(21,5)
Ağrı	7(6,5)
Şırnak	7(6,5)
Mardin	6(5,6)
Şanlıurfa	6(5,6)
Batman	5(4,7)
Isparta	5(4,7)
Van	5(4,7)
Burdur	4(3,7)
Diyarbakır	4(3,7)
Konya	4(3,7)
Afyon	2(1,9)
Denizli	2(1,9)
Hakkâri	2(1,9)
Mersin	2(1,9)
Muğla	2(1,9)
Ordu	2(1,9)
Diğer iller	19(17,8)



Şekil 12. Memleket

Hastalar memleketlerinin yer aldığı bölgelere göre analiz edildiğinde ise %33,6'sının (n=36) Akdeniz, %29,9'unun (n=32) Güneydoğu Anadolu, %17,8'inin (n=19) Doğu Anadolu, %6,5'inin (n=7) Ege, %6,5'inin (n=7) Karadeniz ve %5,6'sının (n=6) İç Anadolu bölgesinden olduğu anlaşılmıştır (Tablo 10).

Tablo 10. Bölge dağılımı

Tüm hastalar (n=107)	
Bölge, n(%)	
Akdeniz	36(33,6)
Ege	7(6,5)
Karadeniz	7(6,5)
İç Anadolu	6(5,6)
Doğu Anadolu	19(17,8)
Güneydoğu Anadolu	32(29,9)

Tablo 11'de hastaların mutasyon dağılımları sunulmuştur. 24 (%22,4) hastada mutasyon bulunmamaktadır. Sırası ile en çok gözlenen mutasyonlar şu şekildedir; heterozigot %39,3, homozigot %21,5, bileşik heterozigot %7,5, frame shift+homozigot %3,7, frame shift+heterozigot %2,8, homozigot+heterozigot %2,8.

Tablo 11. Mutasyon dağılımı

	Tüm hastalar (n=107)
Mutasyon, n(%)	
Yok	24(22,4)
Homozigot	23(21,5)
Bileşik heterozigot	8(7,5)
Heterozigot	42(39,3)
Homozigot+heterozigot	3(2,8)
Frame shift+homozigot	4(3,7)
Frame shift+heterozigot	3(2,8)

Mutasyon gözlenen 83 hastanın varyant adları tablo 12 ile gösterilmiştir. Yapılan analizlere göre hastaların %47,0'sinde heterozigot p.D444H, %19,3'ünde homozigot p.D444H, %8,4'ünde p.V422Sfs*59 + p.D444H, %7,2'sinde homozigot p.Q456H, %6,0'sında p.D444H / p.Q456H, %3,6'sında Het p.Q456H, %3,6'sında p.D444H / p.F403V, %2,4'ünde p.D444H / p.T532M, %1,2'sinde p.D444H / p.G460E ve yine %1,2'sinde homozigot p.T532M mutasyonları tespit edilmiştir.

Tablo 12. Varyant adları

	Mutasyon olan hastalar (n=83)
Varyant adı, n(%)	
Homozigot p.D444H	16(19,3)
Heterozigot p.D444H	39(47,0)
Homozigot p.Q456H	6(7,2)
Heterozigot p.Q456H	3(3,6)
p.V422Sfs*59 + p.D444H	7(8,4)
p.D444H / p.Q456H	5(6,0)
p.D444H / p.F403V	3(3,6)
p.D444H / p.T532M	2(2,4)
p.D444H / p.G460E	1(1,2)
Homozigot p.T532M	1(1,2)

Hastaların BEA düzeylerine göre yapılan sınıflama ile demografik ve klinik özellikleri arasındaki ilişkiler analiz edilmiş ve analiz sonuçları tablo 13 ile sunulmuştur. Tam eksiklik olanların %66,7'si, kısmi eksiklik olanların %56'sı, taşıyıcı olanların %52,4'ü erkektir, cinsiyet oranları gruplar arasında benzer bulunmuştur ($p=0,633$). Ortanca yaş değerleri tam eksiklik olan grupta 97 (IQR= 67-136), kısmi eksiklik olan grupta 56 (IQR= 29-95), taşıyıcılık olan grupta 21,5(IQR= 11-43) olarak hesaplanmıştır ve bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Taşıyıcılık olan grubun ortanca yaş değeri tam eksiklik ve kısmi eksiklik olan gruba göre anlamlı olarak daha düşüktür ($p<0,001$). Tam eksiklik olanların %66,7'si, kısmi eksiklik olanların %34'ü, taşıyıcı olanların %26,2'sinde akrabalık vardır, akrabalık oranları gruplar arasında farklı bulunmuştur ($p=0,018$). Akrabalık oranı tam eksiklik olan grupta taşıyıcılık olan gruba göre anlamlı olarak daha yüksektir. Boy kısalığı olan 5 hastanın 2'si kısmi eksiklik, 3'ü taşıyıcılık olan grupta yer almaktadır. Tam eksiklik olanların %13,3'ünün, kısmi eksiklik olanların %20,0'sinin, taşıyıcı olanların %26,2'sinin memleketi Antalya'dır. Boy kısalığı ve memleket açısından gruplar arasında fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 13).

Tablo 13. Sınıflamaya göre demografik ve klinik özellikler

Değişkenler	Tam eksiklik (n=15)	Kısmi eksiklik (n=50)	Taşıyıcılık (n=42)	p
Cinsiyet, n(%)				
Kız	5(33,3)	22(44)	20(47,6)	0,633
Erkek	10(66,7)	28(56)	22(52,4)	
Yaş (ay), Medyan(IQR)	97(67-136)	56(29-95)	21,5(11-43)	<0,001
Akrabalık, n(%)				
Yok	5(33,3)	33(66) ^a	31(73,8)	0,018
Var	10(66,7)	17(34)	11(26,2)	
Boy kısalığı, n(%)				
Yok	15(100)	48(96)	39(92,9)	0,692
Var	0(0)	2(4)	3(7,1)	
Memleket, n(%)				
Antalya	2(13,3)	10(20)	11(26,2)	0,557
Diğer	13(86,7)	40(80)	31(73,8)	

Pearson Ki kare test, Fisher Freeman Halton Exact test, Kruskal Wallis test, post hoc Bonferroni.

Tam eksiklik olanların %20'sinde, kısmi eksiklik olanların %16'sında, taşıyıcı olanların %14,3'ünde semptom görülmüştür ($p=0,873$) (Tablo 14). Görme bozukluğu olan 1 kişide BBE vardır. İşitme bozukluğu olan 1 kişide BBE, 1 kişide taşıyıcılık vardır. Konvulziyon gözlenen 4 kişinin 1'inde BBE, 3'ünde KBE tespit edilmiştir. Nöromotor gelişim geriliği gözlenen 5 kişinin 4'ünde KBE, 1'inde taşıyıcılık tespit edilmiştir. Saç bulgusu olan 7 kişinin 2'sinde BBE,

Tablo 14. Sınıflamaya göre semptom varlığı ve gözlenen bulgular

Değişkenler, $n(\%)$	Tam eksiklik ($n=15$)	Kısmi eksiklik ($n=50$)	Taşıyıcılık ($n=42$)	p
Semptom				
Yok	12(80)	42(84)	36(85,7)	0,873
Var	3(20)	8(16)	6(14,3)	
Görme bozukluğu				
Yok	14(93,3)	50(100)	42(100)	0,140
Var	1(6,7)	0(0)	0(0)	
İşitme bozukluğu				
Yok	14(93,3)	50(100)	41(97,6)	0,130
Var	1(6,7)	0(0)	1(2,4)	
Konvülziyon				
Yok	14(93,3)	47(94)	42(100)	0,250
Var	1(6,7)	3(6)	0(0)	
Nöromotor gelişim geriliği				
Yok	15(100)	46(92)	41(97,6)	0,444
Var	0(0)	4(8)	1(2,4)	
Saç bulgusu				
Yok	13(86,7)	46(92)	41(97,6)	0,206
Var	2(13,3)	4(8)	1(2,4)	
Cilt bulgusu				
Yok	15(100)	45(90)	39(92,9)	0,614
Var	0(0)	5(10)	3(7,1)	

Pearson Ki kare test, Fisher Freeman Halton Exact test

4'ünde KBE, 1'inde taşıyıcılık tespit edilmiştir. Cilt bulgusu olan 8 kişinin 5'inde kısmi eksiklik, 3'ünde taşıyıcılık tespit edilmiştir. Semptom ve bulgular açısından gruplar arasında farklılık gözlenmemiştir ($p>0,05$).

Hastalarda görülen genotipik özellikler analiz edildiğinde tam eksiklik grubundakilerin %46,7'sinde mutasyon olmadığı, %40'ında homozigot, %6,7'sinde heterozigot, %6,7'sinde homozigot+heterozigot mutasyon olduğu görülmüş. Kısmi eksiklik grubundakilerin %22'sinde mutasyon olmadığı, %8'inde homozigot, %54'ünde heterozigot, %4'ünde homozigot+heterozigot, %6'sında frame shift+homozigot mutasyon olduğu; taşıyıcılık grubundakilerin %14,3'ünde mutasyon olmadığı, %31'inde homozigot, %11,9'unda bileşik heterozigot, %33,3'ünde heterozigot, %2,4'ünde frame shift+homozigot, %7,1'inde frame shift+heterozigot mutasyon olduğu tespit edilmiştir. Bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ve farkın kaynaklandığı satırları belirlemek için yapılan analizler sonuçlarına göre mutasyon olmama oranının tam eksiklik olan grupta taşıyıcılık olan gruba göre daha yüksek olduğu anlaşılmıştır. Homozigot mutasyon görülme oranı kısmi eksiklik olan grupta diğer iki gruba göre daha düşüktür. Heterozigot mutasyon görülme oranı ise kısmi eksiklik olan grupta tam eksiklik olan gruba göre daha yüksek bulunmuştur ($p<0,001$) (Tablo 15).

Tablo 15. Sınıflamaya göre genotipik özellikler

Mutasyon, n(%)	Kısmi eksiklik			p
	Tam eksiklik (n=15)	(n=50)	Taşıyıcılı k (n=42)	
Yok	7(46,7) ^a	11(22) ^{a,b}	6(14,3) ^b	<0,001
Homozigot	6(40) ^a	4(8) ^b	13(31) ^a	
Bileşik heterozigot	0(0)	3(6)	5(11,9)	
Heterozigot	1(6,7) ^a	27(54) ^b	14(33,3) ^{a,b}	
Homozigot+heterozigot	1(6,7)	2(4)	0(0)	
Frame shift+homozigot	0(0)	3(6)	1(2,4)	
Frame shift+heterozigot	0(0)	0(0)	3(7,1)	

Ki-kare, Fisher Freeman Halton Exact test

Gruplar arasındaki farklar küçük harflerle gösterilmiştir.

Sınıflamaya göre mutasyon adlarının analiz sonuçları tablo 16 ile gösterilmiştir. Tam eksiklik olan grupta, 5 hastada homozigot p.Q456H, 1 hastada birleşik heterozigot p.D444H / p.F403V, 1 hastada homozigot p.T532M mutasyonu, 1 hastada heterozigot p.D444H bulunmuştur. Kısmi eksiklik olan grupta 26 hastada heterozigot p.D444H, 3 hastada homozigot p.D444H, 3 hastada p.V422Sfs*59 + p.D444H, 2'şer hastada birleşik heterozigot p.D444H / p.Q456H ve p.D444H / p.F403V, 1 hastada birleşik heterozigot p.D444H / p.T532M mutasyonu, 1 hastada homozigot p.Q456H, 1 hastada heterozigot p.Q456H; taşıyıcılık olan 13 hastada homozigot p.D444H, 12 hastada heterozigot p.D444H, 2 hastada heterozigot p.Q456H, 4 hastada p.V422Sfs*59 + p.D444H, 3 hastada birleşik heterozigot p.D444H / p.Q456H, 1 hastada p.D444H / p.T532M, 1 hastada p.D444H / p.G460E mutasyonu tespit edilmiştir. Bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ve farkın kaynaklandığı satırları belirlemek için yapılan analizler sonuçlarına göre homozigot p.D444H mutasyonu taşıyıcılık olan grupta kısmi eksiklik olan gruba göre daha fazla, heterozigot p.D444H mutasyonu kısmi eksiklik olan grupta diğer iki gruba göre daha fazla, homozigot p.Q456H mutasyonu ise tam eksiklik olan grupta diğer iki gruba göre daha fazla gözlenmiştir (Tablo 16).

Tablo 16. Sınıflamaya göre mutasyon adları

Mutasyon adı, n(%)	Tam eksiklik (n=8)	Kısmi eksiklik (n=39)	Taşıyıcılık (n=36)	p
Homozigot p.D444H	0(0) ^{a,b}	3(7,7) ^b	13(36,1) ^a	0,001
Heterozigot p.D444H	1(12,5) ^a	26(66,7) ^b	12(33,3) ^a	
Homozigot p.Q456H	5(62,5) ^a	1(2,6) ^b	0(0) ^b	
Heterozigot p.Q456H	0(0)	1(2,6)	2(5,6)	
p.V422Sfs*59 + p.D444H	0(0)	3(7,7)	4(11,1)	
p.D444H / p.Q456H	0(0)	2(5,1)	3(8,3)	
p.D444H / p.F403V	1(12,5)	2(5,1)	0(0)	
p.D444H / p.T532M	0(0)	1(2,6)	1(2,8)	
p.D444H / p.G460E	0(0)	0(0)	1(2,8)	
Homozigot p.T532M	1(12,5)	0(0)	0(0)	

Ki-kare, Fisher Freeman Halton Exact test

Gruplar arasındaki farklar küçük harflerle gösterilmiştir.

Tablo 17’te hastalardaki mutasyon varlığına göre demografik ve klinik özelliklerin analiz sonuçları gösterilmiştir. Ortanca yaş değeri mutasyon olmayan grupta 88 (IQR=30-148) iken mutasyon olan grupta 39 (IQR=20-67) olarak hesaplanmıştır ve mutasyon olmayan grupta anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (p=0,009). Akrabalık oranı ise mutasyon olmayan grupta %58,3 iken mutasyon olan grupta %28,9 olarak hesaplanmıştır ve mutasyon olmayan grupta anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (p=0,008). Tam eksiklik oranı da mutasyon olmayan grupta %29,2 iken mutasyon olan grupta %9,6 olarak hesaplanmıştır ve mutasyon olmayan grupta anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (p=0,036). Cinsiyet, boy kısalığı, memleket dağılımı açısından gruplar arasında fark gözlenmemiştir.

Tablo 17. Mutasyon varlığına göre demografik ve klinik özellikler

Değişkenler	Mutasyon yok (n=24)	Mutasyon var (n=83)	p
Cinsiyet, n(%)			
Kız	9(37,5)	38(45,8)	0,627
Erkek	15(62,5)	45(54,2)	
Yaş (ay), <i>Medyan(IQR)</i>	88(30-148)	39(20-67)	0,009
Akrabalık, n(%)			
Yok	10(41,7)	59(71,1)	0,008
Var	14(58,3)	24(28,9)	
Boy kısalığı, n(%)			
Yok	21(87,5)	81(97,6)	0,073
Var	3(12,5)	2(2,4)	
Memleket, n(%)			
Antalya	7(29,2)	16(19,3)	0,449
Diğer	17(70,8)	67(80,7)	
Sınıflama, n(%)			
Tam eksiklik	7(29,2) ^a	8(9,6) ^b	0,036
Kısmi eksiklik	11(45,8)	39(47,0)	
Taşıyıcılık	6(25,0)	36(43,4)	

Pearson Ki kare test, Yates düzeltmesi, Fisher Exact test, Mann Whitney U test

Gruplar arasındaki farklar küçük harflerle gösterilmiştir.

Mutasyon olmayan grubun %16,7'sinde, olan grubun %15,7'sinde semptom bulunmaktadır, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,99$). Bulgular incelendiğinde konvülziyonun mutasyon olmayan grubun %12,5'inde, olan grubun ise %1,2'sinde gözlemlendiği görülmektedir ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p=0,0359$). Görme bozukluğu olan 1 hasta mutasyon olmayan gruptadır. İşitme bozukluğu olan 2 hastanın birinde mutasyon var iken diğerinde yoktur. Nöromotor gelişim geriliği olan 5 hastanın 4'ünde mutasyon var iken 1'inde yoktur. Saç bulgusu olan 7 hastanın 5'inde mutasyon var iken 2'sinde yoktur. Cilt bulgusu olan 8 hastanın 7'sinde mutasyon var iken 1'inde yoktur. Tüm bu farklar istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 18).

Mutasyon şekline göre demografik ve klinik özellikler analiz edildiğinde tam eksiklik oranının homozigot mutasyona sahip olanlar arasında %26,1, heterozigot mutasyonu olan grupta %2,4 olduğu; kısmi eksiklik oranının homozigot olan grupta %17,4, heterozigot olan grupta %64,3 olduğu ve bu farkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu anlaşılmıştır ($p=0,003$). Homozigot olan grubun %69,6'sı, heterozigot olan grubun %45,2'si, bileşik heterozigot olan grubun %50'si, diğer grubun %60'ı erkektir ve bu farklar istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p=0,296$). Yaş ($p=0,759$), akrabalık ($p=0,867$), boy kısalığı ($p=0,999$) ve memleket ($p=0,054$) açısından da gruplar arasında fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 19).

Tablo 18. Mutasyon varlığına göre semptom varlığı ve gözlenen bulgular

Değişkenler, <i>n</i> (%)	Mutasyon		<i>p</i>
	Mutasyon yok (<i>n</i> =24)	var (<i>n</i> =83)	
Semptom			
Yok	20(83,3)	70(84,3)	0,999
Var	4(16,7)	13(15,7)	
Görme bozukluğu			
Yok	23(95,8)	83(100)	0,224
Var	1(4,2)	0(0)	
İşitme bozukluğu			
Yok	23(95,8)	82(98,8)	0,400
Var	1(4,2)	1(1,2)	
Konvülziyon			
Yok	21(87,5)	82(98,8)	0,035
Var	3(12,5)	1(1,2)	
Nöromotor gelişim geriliği			
Yok	23(95,8)	79(95,2)	0,999
Var	1(4,2)	4(4,8)	
Saç bulgusu			
Yok	22(91,7)	78(94)	0,999
Var	2(8,3)	5(6)	
Cilt bulgusu			
Yok	23(95,8)	76(91,6)	0,795
Var	1(4,2)	7(8,4)	

Pearson Ki kare test, Yates düzeltmesi, Fisher Exact test

Tablo 19. Mutasyon şekline göre demografik ve klinik özellikler

Değişkenler	Homozigot (n=23)	Heterozigot (n=42)	Bileşik heterozigot (n=8)	Diğer (n=10)	p
Cinsiyet, n(%)					
Kız	7(30,4)	23(54,8)	4(50)	4(40)	0,296
Erkek	16(69,6)	19(45,2)	4(50)	6(60)	
Yaş (ay), Medyan(IQR)	43(21-84)	36(19-79)	41(24-50)	35(17-65)	0,759
Akrabalık, n(%)					
Yok	17(73,9)	28(66,7)	6(75)	8(80)	0,867
Var	6(26,1)	14(33,3)	2(25)	2(20)	
Boy kısalığı, n(%)					
Yok	22(95,7)	41(97,6)	8(100)	10(100)	0,999
Var	1(4,3)	1(2,4)	0(0)	0(0)	
Memleket, n(%)					
Antalya	5(21,7)	5(11,9)	1(12,5)	5(50)	0,054
Diğer	18(78,3)	37(88,1)	7(87,5)	5(50)	
Sınıflama, n(%)					
Tam eksiklik	6(26,1) ^a	1(2,4) ^b	0(0) ^{a,b}	1(10) ^{a,b}	0,003
Kısmi eksiklik	4(17,4) ^a	27(64,3) ^b	3(37,5) ^{a,b}	5(50) ^{a,b}	
Taşıyıcılık	13(56,5)	14(33,3)	5(62,5)	4(40)	

Ki-kare, Fisher Freeman Halton Exact test, Kruskal Wallis test.

Gruplar arasındaki farklar küçük harflerle gösterilmiştir.

Homozigot olan grubun %17,4'ünde, heterozigot olan grubun %14,3'ünde, bileşik heterozigot olan grubun %12,5'inde, diğer grubun %20'sinde semptom bulunmaktadır. Görme bozukluğu olan hastada mutasyon yok iken işitme bozukluğu olan 1 hasta homozigot, konvülziyon olan 1 hasta ve nöromotor gelişim geriliği olan 4 hasta ise heterozigot mutasyona sahiptir. Saç bulgusu olan 1 hastanın homozigot, 3 hastanın heterozigot ve 1 hastanın ise bileşik heterozigot mutasyonu mevcuttur. Cilt bulgusu olan 3 hasta homozigot, 1 hasta heterozigot, 1 hasta bileşik heterozigottur ve 2 hasta da diğer grupta yer almaktadır. Semptom ve gözlenen bulgular gruplar arasında farklı bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 20).

Tablo 20. Mutasyon şekline göre semptom varlığı ve gözlenen bulgular

Değişkenler, n(%)	Homozigot (n=23)	Heterozigot (n=42)	Bileşik heterozigot (n=8)	Diğer (n=10)	p
Semptom					
Yok	19(82,6)	36(85,7)	7(87,5)	8(80)	0,931
Var	4(17,4)	6(14,3)	1(12,5)	2(20)	
Görme bozukluğu					
Yok	23(100)	42(100)	8(100)	10(100)	-
Var	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	
İşitme bozukluğu					
Yok	22(95,7)	42(100)	8(100)	10(100)	0,494
Var	1(4,3)	0(0)	0(0)	0(0)	
Konvülziyon					
Yok	23(100)	41(97,6)	8(100)	10(100)	0,999
Var	0(0)	1(2,4)	0(0)	0(0)	
Nöromotor gelişim geriliği					
Yok	23(100)	38(90,5)	8(100)	10(100)	0,481
Var	0(0)	4(9,5)	0(0)	0(0)	
Saç bulgusu					
Yok	22(95,7)	39(92,9)	7(87,5)	10(100)	0,645
Var	1(4,3)	3(7,1)	1(12,5)	0(0)	
Cilt bulgusu					
Yok	20(87)	41(97,6)	7(87,5)	8(80)	0,092
Var	3(13)	1(2,4)	1(12,5)	2(20)	

Ki-kare, Fisher Freeman Halton Exact test

Tablo 21’de semptomatik hastaların özellikleri tek tek sunulmuştur. Görme bozukluğu olan 1 hasta 4 yaşında bir erkek hastadır, BEA 0,01 nmol/dl/ml ve tam eksiklik grubunda yer almaktadır. Bu hastada mutasyon gözlenmemiştir. İşitme bozukluğu olan 2 hastadan 1’i görme bozukluğu olan hasta ile aynı kişidir. İşitme bozukluğu olan diğer hasta 12 aylık bir erkek hastadır ve taşıyıcılık grubunda yer almaktadır. Bu hastada homozigot p.D444H mutasyonu görülmüştür. Konvülziyon gözlenen 1 hasta yine görme bozukluğu gözlenen hasta ile aynı kişidir. Konvülziyon gösteren diğer 3 hasta ve diğer tüm hastaların özellikleri ayrıntılı bir şekilde tabloda yer almaktadır.

Tablo 21. Semptomatik hastaların özellikleri

Hasta no	Yaş (ay)	Cinsiyet	Klinik	BEA	Sınıf	Mutasyon	Mutasyon adı
5	11	Erkek	Cilt bulgusu	3,5	Kısmi	Homozigot	p.D444H
13	6	Kız	Cilt bulgusu	3,50	Taşıyıcılık	Frame Shift + Het	p.V422Sfs*59 + p.D424H
21	67	Erkek	Saç bulgusu	0,36	Tam	Homozigot	p.Q456H
22	14	Erkek	Cilt bulgusu	1,0	Kısmi	Homozigot+Heterozigot	p.D444H + p.F403V
23	85	Kız	Konvülziyon	1,70	Kısmi	Heterozigot	p.D444H
26	206	Kız	Saç bulgusu	0,70	Kısmi	Heterozigot	p.D444H
30	62	Kız	Nöromotor gelişim geriliği+ Saç bulgusu	1,70	Kısmi	Heterozigot	p.D444H
31	97	Kız	Saç bulgusu	1,6	Kısmi	Yok	-
32	204	Kız	Saç bulgusu	0,5	Tam	Yok	-
61	79	Erkek	Nöromotor gelişim geriliği	1,40	Kısmi	Heterozigot	p.D444H
73	36	Erkek	Cilt bulgusu	1,9	Kısmi	Bileşik Heterozigot	
82	168	Erkek	Konvülziyon + nöromotor gelişim geriliği	1,5	Kısmi	Yok	-
84	25	Erkek	Saç bulgusu	2,40	Taşıyıcılık	Bileşik Heterozigot	p.D444H / p.T532M
92	84	Kız	Cilt bulgusu	1,5	Kısmi	Homozigot	-
93	48	Erkek	Görme + işitme bozukluğu + konvülziyon	0,01	Tam	Yok	-
99	48	Erkek	Cilt bulgusu	1,5	Kısmi	Heterozigot	p.D444H
100	12	Erkek	İşitme bozukluğu+konvülziyon	3,5	Taşıyıcılık	Homozigot	p.D444H
101	22	Kız	Nöromotor gelişim geriliği+Saç bulgusu	1,20	Kısmi	Heterozigot	p.D444H
103	13	Erkek	Nöromotor gelişim geriliği	2,80	Taşıyıcılık	Heterozigot	p.D444H
104	13	Erkek	Konvülziyon + Cilt bulgusu	1,50	Kısmi	Yok	-
107	44	Erkek	Cilt bulgusu	3,50	Taşıyıcılık	Homozigot	p.D444H

Ek hastalığı olan 6 hastanın özellikleri de tablo 22 ile gösterilmiştir. Tip 1 DM'si kısmi eksikliğe sahip hastada mutasyon gözlenmemiştir. Obezitesi olan 152 aylık bir kız hastadır, BEA 0,80 nmol/dk/ml ve kısmi eksiklik grubunda yer almaktadır. Bu hastada da mutasyon gözlenmemiştir. Hipertansiyonu olan 206 aylık bir kız hastada BEA 0,70 nmol/dk/ml'dır ve kısmi eksiklik grubunda yer almaktadır. Bu hastada heterozigot P.D444H mutasyonu gözlenmiştir. Geçici hipogamaglobulinemisi olan 36 aylık bir erkek hastadır, BEA 1,90 nmol/dk/ml'dır ve kısmi eksiklik grubunda yer almaktadır. Bu hastada bileşik heterozigot P.D444H+ P.T532M mutasyonu gözlenmiştir. FMF taşıyıcılığı olan 84 aylık bir kız hastadır, BEA 1,50 nmol/dk/ml'dır ve kısmi eksiklik grubunda yer almaktadır. Bu hastada homozigot mutasyon gözlenmiştir ve mutasyonun adı P.D444H'dir. Down sendromu olan 24 aylık bir kız hastadır, BEA 3,40 nmol/dk/ml'dır ve taşıyıcılık grubunda yer almaktadır. Bu hastada heterozigot P.D444H mutasyonu gözlenmiştir.

Tablo 22. Ek hastalığı olan hastaların özellikleri

Hasta no	Ek hastalık	Yaş (ay)	Cinsiyet	BEA(nmol/dk/ml)	Sınıf	Mutasyon	Mutasyon adı
82	Tip 1 DM	168	Erkek	1,50	Kısmi	Yok	-
47	Obezite	152	Kız	0,80	Kısmi	Yok	-
26	Hipertansiyon	206	Kız	0,70	Kısmi	Heterozigot	P.D444H
73	Geçici Hipogamaglobulinemi	36	Erkek	1,90	Kısmi	Bileşik Heterozigot	P.D444H+ P.T532M
92	FMF Taşıyıcı	84	Kız	1,50	Kısmi	Homozigot	P.D444H
71	Down Sendromu	24	Kız	3,40	Taşıyıcılık	Heterozigot	P.D444H

Bileşik heterozigot mutasyonu olan 1. hasta 25 aylık bir erkek hasta taşıyıcı grupta olup saç bulgusu gözlenmiştir ve birleşik heterozigot p.D444H+ p.T532 mutasyona sahiptir. 2. hasta 36 aylık bir erkek hastadır, BEA düzeyi 1,90 nmol/ml/dk ve kısmi eksiklik grubunda yer almaktadır, cilt bulgusu gözlenmiştir ve birleşik heterozigot p.D444H+ p.T532M mutasyonu mevcuttur. 3. hasta 63 aylık bir erkek hastadır, taşıyıcı grupta yer alır ve birleşik heterozigot p.D444H + p.G460E varyanta sahiptir. Birleşik heterozigot p.D444H + p.Q456H mutasyona sahip hastalardan 3 tanesi taşıyıcı, 2 tanesi kısmi eksiklik grubunda yer alıp herhangi bir semptom eşlik etmemektedir (Tablo 23).

Bölgelere göre mutasyonlar incelendiğinde homozigot mutasyon sayısının Akdeniz bölgesinde 9, Ege bölgesinde 3, Karadeniz bölgesinde 0, İç Anadolu bölgesinde 1, Doğu Anadolu bölgesinde 3 ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde 7 olduğu gözlenmiştir. Bileşik heterozigot mutasyon sayısı Akdeniz bölgesinde 2, Ege bölgesinde 0, Karadeniz bölgesinde 3, İç Anadolu bölgesinde 1, Doğu Anadolu bölgesinde 0 ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde 2'dir. Heterozigot mutasyon sayısı Akdeniz bölgesinde 9, Ege bölgesinde 2, Karadeniz bölgesinde 3, İç Anadolu bölgesinde 3, Doğu Anadolu bölgesinde 13 ve Güneydoğu Anadolu bölgesinde 12'dir. Homozigot+heterozigot mutasyon 3 kişi ile, frame shift+homozigot mutasyon 4 kişi ile yalnızca Akdeniz bölgesinde görülmüştür. Frame shift+heterozigot mutasyon sayısı ise Akdeniz bölgesinde 1, Ege bölgesinde 2'dir (Tablo 24).

Tablo 23. Bileşik heterozigot olan hastaların özellikleri

Hasta no	Yaş (ay)	Cinsiyet	Klinik	BEA (nmol/ml/dk)	Sınıf	Mutasyon adı
84	25	Erkek	Saç bulgusu	2,40	Taşıyıcılık	p.D444H+ p.T532M
73	36	Erkek	Cilt bulgusu	1,90	Kısmi	p.D444H+ p.T532M
39	63	Erkek	-	3,20	Taşıyıcılık	p.D444H + p.G460E
69	52	Kız	-	1,10	Kısmi	p.D444H + p.Q456H
27	45	Kız	-	2,20	Taşıyıcılık	p.D444H + p.Q456H
8	9	Erkek	-	2,70	Taşıyıcılık	p.D444H + p.Q456H
63	48	Kız	-	1,70	Kısmi	p.D444H + p.Q456H
48	22	Kız	-	2,50	Taşıyıcılık	p.D444H + p.Q456H

Tablo 24. Bölgelere göre mutasyonlar

Mutasyonlar	Bölgeler (n)					
	Akdeniz	Ege	Karadeniz	İç Anadolu	Doğu Anadolu	Güneydoğu Anadolu
Yok	8	0	1	1	3	11
Homozigot	9	3	0	1	3	7
Bileşik Heterozigot	2	0	3	1	0	2
Heterozigot	9	2	3	3	13	12
Homozigot+Heterozigot	3	0	0	0	0	0
Frame Shift+Hom	4	0	0	0	0	0
Frame Shift + Het	1	2	0	0	0	0

Bölgelere göre mutasyon adları incelendiğinde ise Hom P.D444H, P.V422Sfs*59 + P.D444H, P.D444H + P.F403V mutasyonlarının en çok Akdeniz; Het P.D444H mutasyonunun en çok Doğu Anadolu; Hom P.Q456H mutasyonunun en çok Güneydoğu Anadolu bölgelerinde olduğu gözlenmiştir. Het P.Q436H mutasyonu olan 1'er hasta Akdeniz, Ege ve Karadeniz bölgelerinde bulunmaktadır. P.D444H + P.Q456H mutasyonu olan 2 hasta Karadeniz, 2 hasta Güneydoğu Anadolu, 1 hasta İç Anadolu bölgesinde bulunmaktadır. P.D444H+ P.T532M olan 1'er hasta ise Akdeniz ve Karadeniz bölgelerinde bulunmaktadır (Tablo 25).

Tablo 25. Bölgelere göre varyant dağılımı

Mutasyonlar	Bölgeler (n)					
	Akdeniz	Ege	Karadeniz	İç Anadolu	Doğu Anadolu	Güneydoğu Anadolu
Homozigot P.D444H	6	3	0	1	3	3
Heterozigot P.D444H	8	1	2	3	13	12
Homozigot P.Q456H	2	0	0	0	0	4
Heterozigot P.Q456H	1	1	1	0	0	0
P.V422Sfs*59 + P.D444H	5	2	0	0	0	0
P.D444H / P.Q456H	0	0	2	1	0	2
P.D444H / P.F403V	3	0	0	0	0	0
P.D444H / P.T532M	1	0	1	0	0	0
P.D444H / P.G460E	1	0	0	0	0	0
Homozigot P.T532M	1	0	0	0	0	0

p.D444H ve p.Q456H mutasyonu olan hastaların kan biyotinidaz düzeylerine göre sınıflamaları ve semptom varlığı tablo 26 ile gösterilmiştir. Homozigot p.D444H mutasyonu olan 3 kişi kısmi eksiklik grubundadır ve bunların hiçbirinde semptom yoktur, 13 kişi ise taşıyıcılık grubundadır ve bu 13 kişinin 3'ünde semptom bulunmaktadır. 2 tanesi cilt bulgusuna, 1 tanesi de işitme bozukluğuna sahiptir. Heterozigot p.D444H mutasyonu olan 1 kişi tam eksiklik grubundadır bu kişide semptom yoktur, 26 kişi kısmi eksiklik grubundadır ve 5 tanesi semptomatiktir. 2 hastanın saç bulgusu ve nöromotor gelişim geriliği birlikteliği varken 3 tane hastada izole konvülsiyon, nöromotor gelişim geriliği ve cilt bulgusu bulunmaktadır. 12 kişi taşıyıcılık grubunda olanların 1'inde nöromotor gelişim geriliği bulunmaktadır.

Homozigot p.Q456H mutasyonu olan 1 kişi kısmi eksiklik grubundadır bu kişide semptom yoktur, 5 kişi ise tam eksiklik grubundadır ve 1'inde saç bulgusu bulunmaktadır.

Heterozigot p.Q456H mutasyonu olan 1 kişi kısmi eksiklik, 2 kişi de taşıyıcılık gruplarındadır bu kişilerde semptom bulunmamaktadır.

Tablo 26. p.D444H ve p.Q456H mutasyonu olan hastaların biyotinidaz enzim aktivitesine göre sınıflamaları ve semptom varlığı

Değişken, n(%)	Tam eksiklik	Kısmi eksiklik	Taşıyıcılık
p.D444H			
Homozigot	0	3	13
Semptomu olan	0	0	3
Heterozigot	1	26	12
Semptomu olan	0	5	1
p.Q456H			
Homozigot	5	1	0
Semptomu olan	1	0	-
Heterozigot	0	1	2
Semptomu olan	0	0	0

TARTIŞMA

BE, biyotin siklusunda bozulma sonrasında meydana gelen, otozomal resesif katılıtan nörolojik ve kutanöz bulgularla seyreden metabolik bir hastalıktır (1-3). Siklustaki bozulma sonrası biyotin vücudumuzdaki karboksilaz enzimlerinin yapısına giremez ve aminoasit katabolizması, glukoneogenez, yağ asidi sentezi basamaklarındaki eksiklikler hastada klinik gelişmesine neden olur (2).

Biyotinidaz enzim aktivitesine göre tam ve kısmi eksiklik olarak iki gruba ayrılır. %3 ün altında olduğu durumlarda klinik 2- 6 yaş civarında görülür (81). Kısmi eksiklik grubunda genellikle semptom gelişmemiş olup stres ve enfeksiyon durumlarında bulgu gelişebilir. Yenidoğan tarama programı nedeniyle klinik bulgu olmadan erken tanı ve tedavi almış olmak hastaları komplikasyonlardan korunma imkanı sağlamıştır. Akraba evliliği oranlarının yüksek olduğu ülkemizde, hastalık insidansının birçok ülkeye göre yüksek olduğu görülmüştür. Bu nedenle biz de literatüre katkı sağlama sorumluluğunu taşıyarak çalışmamızda hastaların demografik verileri, klinik ve laboratuvar verileri, genetik varyantları ile ilişkisi, ülkemizde Akdeniz Bölgesi ve diğer bölgelere göre varyant analizlerini değerlendirmeyi, tespit edilmiş varyant ile semptom ilişkilerini kurabilmeyi amaçladık.

Çalışmamızdaki 107 hastanın 60'ı (%56,1) erkek, 47'si (%43,9) kızdır. Tam eksikliğe sahip hastaların %33,3'ü kız, %66,7 si erkek iken; kısmi eksikliğe sahip hastalarda ise %56 sı erkek, %44'ü kızdır. Otozomal resesif kalıtılan bu hastalıkta literatürdeki diğer serilerde de cinsiyet açısından fark bildirilmemektedir (61,82,83). Hastalarımızda yaş ortalamaları $61,06 \pm 52,83$ ay olarak hesaplanmış olup BE nedeniyle takip edilen tam eksikliğe sahip hastalarda ortalama yaş 97 ay, kısmi eksikliği olanlarda 56 ay, taşıyıcı grupta ise 21, 5 ay olarak bulunmuştur. Jay ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada yenidoğan taraması ile saptanan 22 BBE ve 120 KBE tanılı hasta değerlendirilmiştir. Bu çalışmada da BBE tanısı ile takip edilen hastaların ortalama yaşı 8.3 yıl ve KBE tanısı ile takip edilen hastaların ortalama yaşı 5.3 yıldır (84). Bunun nedeni muhtemelen YTP nedeniyle tanı alan asemptomatik hasta grubunun daha düşük yaş ortalamasına sahip olması olabilir. Hastalar genetik varyantın bulunup bulunmamasına göre sınıflandırıldığında ise; mutasyona sahip hastalardaki yaş ortalamasının 39 ay, mutasyon olmayan hasta grubunun ise 88 ay olduğu bulunmuş ve istatistiksel olarak anlamlıdır ($p:0,009$).

Ebeveynlerinde akrabalık öyküsü bulunan 38 (%35,5) hasta bulunmaktadır. BBE olan hasta grubunda %66, KBE olanda %34, taşıyıcı olan hasta grubunda ise %26,2 bulunmuştur. Canda ve arkadaşlarının 259 hasta ile yaptığı çalışmada akraba evliliği oranı %33,2 olarak bulunmuştur. Çalışmamızda Akdeniz Bölgesi'nde akraba evliliği oranı %22 iken, Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde ise %68 bulunmuştur. TÜİK 2019 verilerine göre en fazla akraba evliliği %17,2-20,8 oranı ile Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde görülmüştür (85).

Hastalarımızın yoğunlukta olduğu iller sırası ile Antalya %21,5, Ağrı ve Şırnak %6,5'er, Mardin ile Şanlıurfa %5,6'şar, Batman ve Isparta %4,7'şer, Burdur, Diyarbakır ve Konya ise %3,7 şer oran içermektedir. Bu ise akraba evliliğinin ve çocuk sayısının fazla görüldüğü iller ile Antalya'ya komşu iller varlığı ile açıklanabilir. Ülkemiz yayınları incelendiğinde ise memleket bilgilerine ulaşamamıştır.

BEA'leri incelendiğinde ortalama BEA:1,8 nmol/ml/dk olarak saptanmıştır.%14 hasta BBE, %46 hasta KBE, taşıyıcı olan %39,3 hasta bulunmakta olup hastaların 17 'si (%15,9) semptomatiktir. BBE sahip hastaların %20 si, KBE olanların %16 sı, taşıyıcı olanların ise %14,3'ü semptomatiktir. Semptomatik 17 hastadan 8 tanesi (%7,5) cilt bulgusu, 7 tanesi (%6,5), saç bulgusu, 5 tanesi (%4,7) nöromotor gelişim geriliği, 4 tanesi (%3,7) konvülsiyon, 2 tanesi (%1,9) işitme ve 1 tanesi (%0,9) görme bozukluğuna sahiptir. Literatür taramalarında ise Kanada'da yapılmış bir çalışmada BBE olan hastalarda semptom görülmüş olup, KBE olan grupta ise tedavi bırakma sonrasında semptom geliştiği bildirilmiş, Türkiye'de yapılan bir çalışmada semptom geliştiren hastalar arasında KBE olanlar da yer almış (61,86). Çalışmamızda semptomatik hasta sayısının görece fazla olmasının nedeni değişik sosyokültürel bölgelerden geliyor olmaları ve tedaviye uyumsuzluk olabilir.

BTD genindeki mutasyonlar toplumlara göre değişmekle birlikte dünyada en sık görülen mutasyonlar; p.G456H ve p.C33Fsf* 36, p.R538C, A171T, p.D252G mutasyonlarıdır (87). Çalışmamızda 107 hastanın moleküler DNA analizi yapıldığında 83 hastada mutasyon olduğu görüldü. Gözlenen mutasyonlar %39,3 heterozigot, %21,5 homozigot, %7,5 birleşik heterozigot, %3,7 frame shift+homozigot, %2,8 frame shift+heterozigot ve %2,8 homozigot+heterozigot şeklindeydi. Ülkemizde Canda E. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada BTD gen analizinde %42,9'unda homozigot, %55,3'ünde birleşik heterozigot, %1,7'inde ise heterozigot mutasyon olduğu gözlenmiştir. Hasta grubunda en sık p.R157H-p.D444H, p.D444H'nin birleşik heterozigot ve p.D444H'nin homozigot olduğu mutasyonlar saptanmıştır. 2015 yılında yine ülkemizden Karaca ve arkadaşlarının yayınladığı 210 hastalık büyük seride de p.R157H ilk sırada olmak üzere en sık p.D444H, p.T532M ve

c.98-104delins3 mutasyonları saptanmıştır. Çalışmamızda ise %47,0'sinde heterozigot p.D444H, %19,3'ünde homozigot p.D444H, %18,8'inde p.D444H nin birleşik heterozigot mutasyonları, %8,4'ünde p.V422Sfs*59 + p.D444H, %7,2'sinde homozigot p.Q456H, %3,6'sında heterozigot p.Q456H, %1,2'sinde homozigot p.T532M varyantı saptanmıştır. %18,8 lik birleşik heterozigot p.D444H varyantları incelendiğinde %6,0'sında p.D444H + p.Q456H, %3,6'sında p.D444H + p.F403V, %2,4'ünde p.D444H+ p.T532M ve %1,2'sinde p.D444H + p.G460E varyantı tespit edilmiştir. p.R157H ve c.98-104delins3 mutasyonlarının çalışmamızda saptanmamış olması ve p.D444H heterozigot, homozigot ile birleşik heterozigot mutasyonların daha ön planda olması dikkat çekmiştir ve literatür ile uyumludur. Bu durumun aynı toplumda farklı popülasyonlarda dahi genetik farklılık göstermesi ve akraba evliliğinin toplumumuzda daha fazla görülmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir.

Asemptomatik (%47) ve semptomatik (%41) hastalar ayrı ayrı değerlendirildiğinde her iki grupta da en sık görülen mutasyon heterozigot p.D444H'tır. BBE olan mutasyon saptanmış hastalarda (n:8) en sık görülen mutasyon %62,5 (n:5) homozigot p.Q456H'tır. %12,5 heterozigot p.D444H, birleşik heterozigot p.D444H + p.F403V ve homozigot p.T532M varyantı eşlik etmektedir. Funghini S ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada %12 ve %4 allel sıklığı ile p.Q456H ve p.T732M varyantları bulunmuştur (88). KBE olan mutasyon saptanmış hastalarda (n:39) en sık görülen mutasyon %66,7 (n:26) heterozigot p.D444H 'tır. %7,7 homozigot p.D444H ve p.V422Sfs*59 + p.D444H varyantı eşlik etmektedir. Taşıyıcı olan ve mutasyon saptanmış hastalar değerlendirildiğinde (n:36) en sık görülen varyantlar %36,1 (n:13) homozigot p.D444H ve %33,3 (n:12) ile heterozigot p.D444H 'tır. Rzayev A. ve ark 2021 yılında yaptığı çalışmada KBE 143 hastada %33,5 birleşik heterozigot p.D444H / p.R157H ve homozigot p.D444H (%28,5) mutasyonuna rastlanırken, taşıyıcı grupta heterozigot p.D444H (%10,5) mutasyonu görülmüştür (89).

Tam eksiklik, kısmi eksiklik ve taşıyıcı olarak hastaları gruplandırdığımızda ise sırası ile genetik varyant taşımayan %46,7, %22 ve %14,3 hasta olup istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Homozigot varyanta sahip hastalar incelendiğinde %8 hastanın KBE, %31 hastanın taşıyıcı, %40 hastanın BBE olduğu saptandı. BBE olan grupta genetik analiz incelemelerinde 1 hastada heterozigot p.D444H, 5 hastada homozigot p.Q456H, 1 hastada p.D444H / p.F403V birleşik heterozigot, 1 hastada homozigot p.T532M mutasyonu yer alır. Bu durum Pomporino ve arkadaşları tarafından tanımlanan p.Q456H homozigot mutasyonunun çalışmamızda BBE hastalarında çok görülmüş olması ile açıklanabilir.

Heterozigot varyanta sahip hastalar incelendiğinde ise %6,7 hastanın BBE, %33,3 hastanın taşıyıcı ve %54 hastanın KBE olduğu görülmüş. KBE hastaların genetik analizleri incelendiğinde ise; 3 hastada homozigot p.D444H, 26 hastada heterozigot p.D444H, 1 hastada homozigot p.Q456H, 1 hastada heterozigot p.Q456H, 3 hastada p.V422Sfs*59 + p.D444H, 2 hastada p.D444H + p.Q456H, 2 hastada p.D444H + p.F403V, 1 hastada p.D444H+ p.T532M mutasyonu olduğu görüldü. Bu durum literatür ile uyumlu olarak p.D444H heterozigot ve birleşik heterozigot mutasyonunun BEA %20-25'ine sahip olması ile açıklanabilir (74).

Homozigot p.D444H mutasyona sahip 16 hasta incelendiğinde; KBE'nde %7,7 ve taşıyıcı olan grupta ise %36,1 hastada olmakla birlikte, BBE hastalarımızda olmadığı gösterilmiştir. Bu durum homozigot p.D444H varyanta sahip hastalarda %50 BEA'ne sahip olması ile açıklanabilir ve literatür ile de uyumlu bulunmuştur (74).

Homozigot varyantlar detaylı olarak incelendiğinde ise p.D444H varyanta sahip BBE olan hiç hasta bulunmamakta iken KBE 'de 3 hasta (%7,7), taşıyıcı hasta grubunda ise 13 hasta (%36,1) bulunmuştur. Homozigot p.Q456H varyanta sahip hastalar incelendiğinde; 5 hastada (%62,5) BBE, 1 hastada (%2,6) KBE olduğu görülmüştür. Gökpınar ve ark. 2020 yılında yaptığı çalışmada en az 1 allelinde p.D444H mutasyonu taşıyanların enzim aktivitelerinin daha yüksek olduğu gösterilmiş (90). Heterozigot varyantlar detaylı incelendiğinde ise; heterozigot p.D444H varyantında; 1 hastanın (%12,5) BBE, 12 hastanın (%33,3) taşıyıcı, 26 hastanın (%66,7) KBE olduğu görüldü. Tüm bunların hepsi literatür ile uyumlu, istatistiksel olarak da anlamlı bulundu.

Semptomatik hastalar incelendiğinde; 107 hastadan 17 (%15,9) tanesinin semptomu mevcuttu. %41 (n:7) ile saç bulgusu, %29 (n:5) ile nöromotor gelişim geriliği, %23(n:4) ile konvülziyon eşlik etmekte idi. BBE hastalardan %20 si, KBE %16'sı semptomatik olmuştur. BBE olan hasta grubunda en sık saç bulgusu görülürken KBE olan hasta grubunda (n:42) cilt bulgusu (n:5), saç bulgusu (n:4), nöromotor gelişim geriliği (n:4) ve konvülziyon (n:3) görülmüştür. Literatüre bakıldığında yenidoğan taramaları ile saptanan hastaların asemptomatik seyrettiği bildirilmiştir (91). Canda ve arkadaşlarının vaka serisinde 259 hasta içerisinde yalnızca 12 hastada en sık nöbet, dermatit, gelişme geriliği ve işitme kaybı semptomları bildirilmiştir (61).Sidar S. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada tüm izlemleri boyunca 547 hasta semptomatik olmuştur. KBE 'de en sık %58,9 cilt bulgusu, saç bulgusu %15,3 ve nörolojik bulgu %11,9 iken BBE'de en sık cilt bulgusu %43,4, nörolojik bulgu %20,8 ve saç bulgusu %16,7 oranında görülmüştür (92). Ülkemizde yapılan bu çalışmalar bulgularımızı desteklemektedir.

Literatür taramasında şimdiye kadar sadece 2007 yılında Sivri HS. ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada BBE olan ve null mutasyonları olan çocukların, yanlış anlamlı mutasyonlara sahip olan çocuklara göre işitme kaybı geliştirme olasılığının daha yüksek olduğunu bildirmiştir (75). Bizim çalışmamızda iki hastanın işitme kaybı mevcut olup 1 tanesi 0,01 nmol/ml/dk biyotinidaz aktivitesine sahip olup mutasyon saptanamamıştır. Diğer hastada ise p.D444H homozigot mutasyonu mevcut olup taşıyıcı hasta grubunda yer almaktadır. Canda ve arkadaşlarının yaptığı 259 hastalık seride 2 kişide işitme kaybı mevcut olup p.D444H ve p.C33Ffs*36 homozigot varyant tespit edilmiştir (61). 4 tane hastanın konvülziyonu mevcut olup 1 tanesi heterozigot p.D444H varyantı taşımakta olup KBE grubundadır, diğer 3 hastada mutasyon bulunmamaktadır. Ülkemizde yapılmış bir çalışmada 4 hastada konvülzyon tespit edilmiş, bu hastalarda 4 farklı varyant tespit edilmiştir. Bu varyantlar şu şekildedir: p.Val207del, p.D444H, p.L440Lfsx61 / p.D444H, p.V442Sfs*59 / p.D444H. 5 tane hastada nöromotor gelişim geriliği mevcut olup 4 tanesi heterozigot p.D444H mutasyonu taşımaktadır ve bunların 3 tanesi KBE, 1 tanesi ise taşıyıcı hasta grubunda yer alır. İş Ş. ve ark. yaptığı çalışmada nöromotor gelişim geriliği olan 1 hastada p.D444H birleşik heterozigot mutasyonu bulunmuştur (92). Bu bulgu semptomatik hasta sayısı az olduğundan istatistiksel olarak anlamlı bulunamamıştır.

7 hastada saç bulgusu mevcut olup 1 BBE ile 1 KBE hastasında mutasyon saptanamamıştır. Kısmi eksikliğe sahip 3 hastanın heterozigot p.D444H, taşıyıcı grupta yer alan birleşik heterozigot p.D444H / p.T732M ve 1 tanesi de homozigot p.Q456H mutasyona sahiptir. İş Ş. ve ark. yaptığı çalışmada saç bulgusu olan 6 hastada p.D444H, 4 hastada p.R157H heterozigot varyant tespit edilmiş (92). Saç bulgusu olan hastalarda genotipik özellik değerlendirmesinde istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

8 hastada cilt bulgusu mevcut olup 5 tane hasta KBE, 3 tane hasta taşıyıcı grupta yer almaktadır. KBE olanların 4 tanesinin genetik analizinde 1 hastada birleşik heterozigot p.D444H / p.T732M, 1 hastada p.D444H / p.F403V, birer tane de p.D444H heterozigot ve homozigot mutasyon içermektedir. Taşıyıcı olanlar arasında ise 2 homozigot p.D444H ve 1 tane de çerçeve kayması p.V422Sfs*59 / p.D444H mutasyonu içermektedir. Semptomatik hasta grubumuzda az hasta sayısına sahip olduğumuzdan bulgularımız anlamlı değildir.

Hasta grubumuzda eşlik eden hastalıklar incelendiğinde ise; 1 hastanın down sendromu, 1 hastanın FMF taşıyıcı, 1 hastanın giçici hipogamaglobulinemi, 1 hastanın hipertansiyon, 1

hastanın obezite, 1 hastanın ise tip 1 DM olduğu görüldü. Obezitesi ve tip 1 DM olan hastalarda herhangi bir mutasyona rastlanmadı. Hipertansiyon ve down sendromu olan hastalarda heterozigot p.D444H una rastlandı.geçici hipogamaglobulinemi olanda birleşik heterozigot p.D444H / p.T532M, FMF taşıyıcı olan hastada ise homozigot p.D444H varyantı izlendi. Literatür taramalarında eşlik eden hastalık ile arasında ilişki daha önce saptanmamıştır.

Birleşik heterozigot analize sahip 8 hasta incelendiğinde KBE ve taşıyıcı grupta hastalara rastlanmıştır. p.D444H / p.Q456H (2,04 nmol/ml/dk) varyantının 5 hastada olduğu, p.D444H / p.T532M (2,15 nmol/ml/dk) varyantının 2 hastada olduğu, taşıyıcı grupta yer alan 1 tane hastanın ise p.D444H / p.G460E (3,2 nmol/ml/dk) varyantı taşıdığı bulunmuştur.

Çalışmamız Türkiye'nin genetik profilini çıkarmak adına varyantları tanımlanmış ilk çalışmadır. Ülkemizde daha önce bölgelere göre genetik analizleri inceleyen bir çalışma bulunmamaktadır. Akdeniz Bölgesi genetik analizleri değerlendirildiğinde; 36 hastanın 8 tanesinde mutasyon tespit edilememiştir. 9 tane hastada homozigot varyant mevcut olup bunlardan 6 tanesi p.D444H, 2 tanesi p.Q456H ve 1 tanesi de p.T732M varyantıdır. 9 tane heterozigot varyant içerip 8 tanesi p.D444H 1 tanesi de p.Q456H varyantı taşımaktadır. Birleşik heterozigot p.D444H / p.G460E ve p.D444H / p.T532M olan birer tane hasta vardır. Ekzon 4'te homozigot + heterozigot mutasyona sahip 3 hasta p.D444H / P.F403V varyantını taşımaktadır. Frame shift mutasyonu ise 5 hastada p.V422Sfs*59 + p.D444H olarak yer alır.

Ege Bölgesi genetik analizlerinde 3 hastanın homozigot p.D444H, 2 hastanın p.V422Sfs*59 + p.D444H ve birer hastanın da heterozigot p.D444H ile p.Q456H varyantı bulunmaktadır. delesyon sonrası frame shift mutasyonu Akdeniz ve Ege Bölgesi dışında görülmemiştir. Bu bilgi hasta sayısının az olması nedeniyle istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

Karadeniz Bölgesi'nde 1 hastada mutasyon yoktur. Birleşik heterozigot p.D444H / p.T532M ve p.D44H / p.Q456H varyantı içeren 2 hasta, heterozigot mutasyon olarak da p.D444H ve p.Q456H taşıyan hastalar oluşturur. Homozigot mutasyona sahip hiç hasta bulunmamaktadır.

İç Anadolu Bölgesi'nde 1 hastada mutasyon yoktur. 1 homozigot p.D444H, birleşik heterozigot p.D444H /p.Q456H taşıyan 1 ve homozigot p.D444H taşıyan 3 hasta vardır. Doğu Anadolu Bölgesinde 3 hastada mutasyon yoktur. 13 adet heterozigot p.D444H ve 3 tane p.D444H homozigot varyantı yer alır.

Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nde 11 hastada mutasyon saptanmamışken 7 tane homozigot mutasyondan 3 tanesi p.D444H, 4 tanesi de p.Q456H'a sahiptir. 12 tane heterozigot p.D444H ve 2 tane birleşik heterozigot p.D444H /p.Q456H varyant tespit edilmiştir.



SONUÇLAR

- 1) Çalışmamızda, biyotinidaz eksikliği nedeniyle takip edilen 107 hastanın verileri retrospektif olarak tarandı. BE saptanmış hastaların (%14) 15'i BBE (enzim aktivitesi < %10), (%46,7) 50'si KBE (enzim aktivitesi %10-30), (%39,3) 42'si taşıyıcı (enzim aktivitesi %30-50) grupta yer almaktadır. Çalışmamızda üç grup arasında cinsiyet dağılımı açısından anlamlı fark yoktu. Yaş dağılımı açısından hastalarımız taşıyıcı olanlar 21,5 ay, KBE 56 ay, BBE 97 ay olarak istatistiksel olarak anlamlı bulundu, bu durum YTP taşıyıcı hasta grubunu semptomu oluşmadan tespiti ile açıklandı. Hasta grubumuz %33,6 Akdeniz, %29,9 Güneydoğu Anadolu ve %17,8 Doğu Anadolu bölgesinden oluşmaktadır. Hastaların 38'inde (%35,5) akrabalık öyküsü bulunmaktadır.
- 2) 1 Ocak 2018 ve Eylül 2021 tarihleri arasındaki izlemleri boyunca hasta ve taşıyıcı gruptan toplam 17 tanesi semptomatik olmuştur. Birden fazla semptomu olan hastalarımızın varlığı da söz konusu olup sırası ile 8 hastada cilt bulgusu, 7 hastada saç bulgusu, 5 hastada nöromotor gelişim geriliği, 4 hastada konvülziyon, 2 hastada işitme 1 hastada da görme bozukluğu tespit edilmiştir. Hasta gruplarımız arasında istatistiksel olarak anlamlı olabilecek semptom bulunmamaktadır. BBE grubumuzda saç bulgusu, konvülziyon, işitme ve görme bozukluğu yer alırken KBE grubunda cilt ve saç bulgusu, konvülziyon, taşıyıcı grupta ise cilt ve saç bulgusu mevcuttur. Literatürde genel ifadenin aksine, biz çalışmamızda taşıyıcı hastalarda dahi semptom olabileceğini tespit ettik.
- 3) Tüm hasta grubumuzda en sık görülen mutasyonlar sırası ile %47 heterozigot p.D444H, %21,6 p.D444H birleşik heterozigot varyantları, %19,3 homozigot p.D444H, %7,2 homozigot p.Q456H, %3,6 heterozigot p.Q456H, %1,2 homozigot p.T532M şeklinde bulunmuştur.
- 4) Hasta gruplarımız ayrı değerlendirildiğinde ise en sık görülen mutasyonlar BBE'te homozigot Q456H mutasyonu, KBE'nde heterozigot p.D444H ve taşıyıcı grupta ise homozigot p.D444H şeklindedir. Diğer gruplara göre her birinin en sık görülmesi istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p:0,001).
- 5) Hastalar mutasyon olanlar ve mutasyona sahip olmayanlar olarak ayrıldığında ise mutasyonu olmayanların yaş ortalaması mutasyonu olanlara göre daha yüksek bulunmuştur ve istatistiksel olarak anlamlıdır (p:0,09).

Akrabalık ilişkileri ise beklenenin aksine mutasyonu olmayan grupta %58,3 mutasyon olan grupta ise %28,9 olarak istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p:0,08).

- 6) Mutasyon varlığına göre klinik değerlendirildiğinde mutasyon olmayan hastaların %12,5'inde mutasyon olanların ise %1,2'sinde konvülziyon gözlenmekle birlikte bu istatistiksel olarak anlamlıdır (p=0,0359).
- 7) Mutasyon şekillerine göre hastalar sınıflandırıldığında BBE sahip hastaların %26,1'i homozigot, %2,4'ü heterozigot, KBE hastaların %17,4'ü homozigot, %64,3'ü heterozigot mutasyona sahiptir ve istatistiksel olarak anlamlıdır (p:0,03).
- 8) Mutasyon şekillerine göre klinik bulgular ve semptomlar değerlendirildiğinde ise istatistiksel anlamlı fark bulunamamıştır.
- 9) Birleşik heterozigot mutasyona sahip hastalar incelendiğinde en sık görülen varyant p.D444H / p.Q456H olarak bulunmuştur.
- 10) Bölgelere göre mutasyon analizi yapılmak istendiğinde daha önce yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bu analizi nedeniyle çalışmamız ilk olma özelliği taşımaktadır. Bölgelere göre en sık görülen iki mutasyondan bahsetmek gerekirse; Güneydoğu ve Doğu Anadolu Bölgesi'nde heterozigot p. D444H ve homozigot p. D444H, İç Anadolu Bölgesi'nde heterozigot p.D444H, Karadeniz Bölgesi'nde heterozigot p.D444H ve birleşik heterozigot p.D444H / p.Q456H, Ege Bölgesi'nde homozigot p.D444H ve p.V422Sfs*59 / p.D424H ve son olarak Akdeniz Bölgesi'nde heterozigot ve homozigot p. D444H bulunmuştur.
- 11) p.V422Sfs*59 / p.D424H birlikteliği sadece Ege ve Akdeniz Bölgesi'nde bulunmuştur.
- 12) Ülkemizde Marmara, Ege ve Güneydoğu Anadolu Bölgelerinde yapılmış biyotinidaz eksikliği hastalarının retrospektif değerlendirildiği görülmüştür. Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Metabolizma Polikliniği'ne başvuru yapmış hastaları değerlendirmiş ve Akdeniz bölgesindeki genotipik özellikleri çıkarmayı amaçlamış ve bunu göstermiştir. Bölgelere göre mutasyon şekillerinin değerlendirilmesi açısından da ilk olma özelliği taşımaktadır.
- 13) Daha önce literatüre girmiş birçok yayında klinik ve genotipik özelliklerin ortaya koyulması amaçlanmış ve korelasyon sağlanamamıştır. Ülkemizde insidansı yüksek olan bu hastalıkta görevimiz büyük olup YTP dahil olması ile semptomatik hasta sayımızın az olması nedeniyle anlamlı sonuç bulunamamıştır. Semptomatik hasta sayısının daha fazla olduğu çalışmalara ihtiyaç vardır.50

7. ÖZET

Biyotinidaz Eksikliği Olan Hastalarda Klinik ve Genotipik Özelliklerin Değerlendirilmesi

Giriş: Biyotinidaz eksikliği (BE), insidansı dünyada 1:40000-60000 doğum olan otozomal resesif geçişli nörokutanöz bulguların olduğu metabolik bir hastalıktır. Serum biyotinidaz aktivitesine göre tam eksiklik(<%10 aktivite), kısmi eksiklik(<%10-30 aktivite) ve taşıyıcılık(<%30-50) aktivite olarak tanımlanmaktadır. 4 ekzondan oluşmakta olan bu gende gün geçtikçe tanımlanan mutasyon sayısı artmış, fenotip ve genotip korelasyonu sağlanamamıştır.

Amaç: Çalışmamızda biyotinidaz eksikliği nedeniyle takipli hastaların demografik, klinik ve karakteristik özellikleri ile genetik analizleri incelenmesi, fenotip ve genotip ilişkisinin değerlendirilmesi hedeflendi.

Yöntem ve Gereç: Akdeniz üniversitesi tıp fakültesi çocuk metabolizma polikliniğine Ocak 2018-Eylül 2021 tarihleri arasında başvurmuş tüm biyotinidaz eksikliği olan hastaların dosyalarının incelenmesi, demografik özellikleri, klinik ve laboratuvar verileri ile genetik analizlerinin kaydedilmesi, biyotinidaz enzim aktiviteleri ile varyantlar arasında ilişkilerin gösterilmesi, fenotip ve genotip ilişkisinin ortaya konulması planlandı. Veriler IBM SPSS Statistics 18 © Copyright SPSS Inc. 1989, 2010 yazılımı kullanılarak analiz edildi.

Bulgular: Dosyası incelenen 107 hastanın %60'ı erkek, %47'si kızdır. Yaş ortalamaları $61,06 \pm 52,83$ ay olarak hesaplanmıştır. Hastaların en sık görüldüğü bölge %33 oranında Akdeniz Bölgesi ve %21 oranında Antalya ilindendi. Akraba evliliği oranımız %35,5'tir. Biyotinidaz enzim aktivite ortalamaları $1,80 \pm 1,03$ nmol/dk/ml'dir. Hastaların %14'ü tam eksiklik, %46'7 si kısmi eksiklik, %39,3'ü taşıyıcı grupta yer almaktadır. % 15,9 hastada semptom mevcut olup %7,5 cilt ve %6,5 saç bulgusu, %4,7'sinde nöromotor gelişim geriliği, %3,7 konvülziyon en sık gözlenen semptomlardır. Hastalar tam eksiklik, kısmi eksiklik ve

taşıyıcı olarak gruplandırıldığında yaş ortalaması en düşük olan grup taşıyıcılar 21,5 ay olarak bulundu. Akrabalık öyküsü %66,7 oranında tam eksiklik grubunda fazla tespit edildi. Semptomatik olan 17 hasta değerlendirildiğinde ise istatistiksel olarak anlamlı sonuca ulaşılamadı. 107 hastanın 83'ünde mutasyon saptanmıştır. En sık görülen mutasyon %47 heterozigot p.D444H mutasyonudur. Tam eksikliğe sahip olanlarda %62,5 oranında homozigot p.Q456H, kısmi eksiklikte heterozigot p.D444H, taşıyıcı grupta ise homozigot p.D444H mutasyonu bulundu. Frame shift mutasyonu sadece Ege ve Akdeniz Bölgesi'nde bulundu.

Sonuç: Metabolik bir hastalık olan biyotinidaz eksikliğinde yenidoğan tarama programları ile erken tanı ve tedavi imkanı sağlanmıştır. BTD enzim aktivitesi tanıda esas olsa da BTD gen analizinin yapılması tanının desteklenmesi, hastanın komplikasyonlar açısından takibi ve genotip - fenotip ilişkisinin belirlenmesinde önem taşımaktadır.

Anahtar kelime: biyotinidaz eksikliği, kalıtsal metabolik hastalık, genotip – fenotip ilişkisi

ABSTRACT

Evaluation of Clinical and Genotypic Characteristics in Patients with Biotinidase Deficiency

Introduction: Biotinidase deficiency (BE) is a metabolic disease with autosomal recessive neurocutaneous findings with an incidence of 1:40000-60000 births in the world. According to serum biotinidase activity, it is defined as complete deficiency (<10% activity), partial deficiency (<10-30% activity) and carrier (<30-50%) activity. The number of mutations identified in this gene, which consists of 4 exons, increased day by day, and phenotype and genotype correlation could not be achieved.

Objective: In our study, it was aimed to examine the demographic, clinical and characteristic features and genetic analyzes of patients followed up for biotinidase deficiency, and to evaluate the relationship between phenotype and genotype.

Methods and Materials: Examining the files of all patients with biotinidase deficiency who applied to Akdeniz University Medical Faculty Pediatric Metabolism Polyclinic between January 2018 and September 2021, recording their demographic characteristics, clinical and laboratory data and genetic analysis, showing the relationship between biotinidase enzyme activities and variants, phenotype and It was planned to reveal the genotype relationship. Data IBM SPSS Statistics 18 © Copyright SPSS Inc. It was analyzed using the 1989, 2010 software.

Results: Of the 107 patients whose files were examined, 60% were boys and 47% were girls. The mean age was calculated as 61.06 ± 52.83 months. The most common region of the patients was the Mediterranean Region (33%) and Antalya (21%). Our consanguineous

marriage rate is 35.5%. Biotinidase enzyme activity averages are 1.80 ± 1.03 nmol/min/ml. 14% of the patients are in the complete deficiency, 46.7% in the partial deficiency, and 39.3% in the carrier group. Symptoms are present in 15.9% of the patients, 7.5% of the patients have skin and 6.5% hair findings, 4.7% of them have neuromotor developmental delay, 3.7% of them have convulsions. When the patients were grouped as complete deficiency, partial deficiency and carriers, the carriers with the lowest mean age were found to be 21.5 months. The history of consanguinity was found to be higher in the complete deficiency group with a rate of 66.7%. When 17 symptomatic patients were evaluated, no statistically significant results could be obtained. Mutation was detected in 83 of 107 patients. The most common mutation is 47% heterozygous p.D444H. Homozygous p.Q456H mutation was found in 62.5% in complete deficiency, heterozygous p.D444H mutation in partial deficiency, and homozygous p.D444H mutation in carrier group. Frame shift mutation was found only in Aegean and Mediterranean Regions.

Conclusion: Neonatal screening programs provide early diagnosis and treatment in biotinidase deficiency, which is a metabolic disease. Although BTB enzyme activity is essential in the diagnosis, performing BTB gene analysis is important in supporting the diagnosis, following the patient in terms of complications, and determining the genotype-phenotype relationship.

Keyword: biotinidase deficiency, hereditary metabolic disease, genotype-phenotype correlation

KAYNAKLAR

1. Wolf, B., Grier, R. E., Allen, R. J., Goodman, S. I., & Kien, C. L. (1983). Biotinidase deficiency: the enzymatic defect in late-onset multiple carboxylase deficiency. *Clin Chim Acta*, 131(3), 273–81.
2. Wolf B, Grier RE, Secor McVoy JR, Heard GS. Biotinidase deficiency: a novel vitamin recycling defect. *J Inherit Metab Dis*. 1985;8(Suppl 1):53–58.
3. Wolf B. Clinical issues and frequent questions about biotinidase deficiency. *Mol Genet Metab*. 2010;100(1):6–13.
4. Wolf, B., Heard, G. S., Weissbecker, K. A., McVoy, J. R. S., Grier, R. E., & Leshner, R. T. (1985). Biotinidase deficiency: Initial clinical features and rapid diagnosis. *Annals of Neurology*, 18(5), 614–17.
5. Baumgartner ER, Suormala T: Multiple carboxylase deficiency: inherited and acquired disorders of biotin metabolism. *Int J Vitam Nutr Res*. 1997;67(5):377-84.
6. Wolf, B., Heard, G. S., Jefferson, L. G., Proud, V. K., Nance, W. E., & Weissbecker, K. A. (1985). Clinical Findings in Four Children with Biotinidase Deficiency Detected through a Statewide Neonatal Screening Program. *N Engl J Med*.313(1), 16–19.
7. Cole, H. (1994). Localization of Serum Biotinidase (BTD) to Human Chromosome 3 in Band p25. *Genomics*, 22(3), 662–63.
8. Cole H, Reynolds TR, Lockyer JM, et al. Human serum biotinidase. cDNA cloning, sequence, and characterization. *J Biol Chem*. 1994;269(9):6566-70.
9. Knight, H. C., Reynolds, T. R., Meyers, G. A., Pomponio, R. J., Buck, G. A., & Wolf, B. (1998). Structure of the human biotinidase gene. *Mammalian Genome*, 9(4), 327–330.
10. Thorner R.M, Remein Q.R Principles and Procedures in the Evaluation of Screening for Disease. PHS publications. 1961:846(4)24.
11. Bélanger-Quintana A, Burlina A, Harding, C.O et al(2011). Up to date knowledge on different treatment strategies for phenylketonuria. *Mol Genet Metab*, 104, S19–S25.
12. Beutler E, Baluda M, Donnell G.N. A new Method for the Detection of Galactosemia and Its Carrier State. *J Lab Clin Med*. 1964;64:694-705.
13. Dussault JH, Laberge C. [Thyroxine (T4) determination by radioimmunological method in dried blood eluate: new diagnostic method of neonatal hypothyroidism?]. *Union Med Can*. 1973;102(10):2062-4.

14. Almannai M, Marom R, Sutton VR. Newborn screening: a review of history, recent advancements, and future perspectives in the era of next generation sequencing. *Curr Opin Pediatr.* 2016;28(6):694-9.
15. Özalp İ. VIII. Uluslararası Katılımlı Beslenme ve Metabolik Hastalıklar Kongre Kitabı, Sayfa: 146, 27-30 Nisan, 2005.
16. Kaye CI, Committee on Genetics. Newborn screening fact sheets. *Pediatrics* 2006;118:934–63.
17. Özalp İ, Coşkun T, Tokatlı A, et al. Newborn PKU screening in Turkey: at present and organization for future. *Turk J Pediatr.* 2001;43:97– 101.
18. Butler, I. J, O’Flynn, M.E, Howell R. Neurotransmitter defects and treatment of disorders of hyperphenylalaninemia. *The Journal of Pediatrics*, 1981;98(5), 729–33.
19. Özalp I., Coşkun T., Tokatli A., et all. Neonatal PKU screening in Turkey: 7 years experience in a developing country. *Screening*, 1995;4(3), 139–47.
20. Levy, H. L. Phenylketonuria: Old disease, new approach to treatment. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1999;96(5), 1811–13.
21. Hendriksz C.J, Walter J.H. Update on phenylketonuria. *Current Pediatrics* 2004;14, 400-6.
22. Ford G, & LaFranchi, S. H. (2014). Screening for congenital hypothyroidism: A worldwide view of strategies. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 28(2), 175–87.
23. <http://cocukergen.thsk.saglik.gov.tr/daire-faaliyetleri/taramalar/758-yenido%C4%9Fan-tarama-program%C4%B1.html>
24. <http://sbu.saglik.gov.tr/sb/default.asp?sayfa=birimler&cid=4>.
25. Rastogi M. V, LaFranchi S. H. Congenital hypothyroidism. *Orphanet J. of Rare Dis*, 2010;5(1), 17.
26. Hulse, J. A. (1984). Outcome for congenital hypothyroidism. *Archives of Disease in Childhood*, 59(1), 23–9.
27. T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu Ulusal Yenidoğan Tarama Programı Kistik Fibrozis Taraması Ter Testi Rehberi 2015;pp:3.
28. Egan M. Cystic Fibrosis. In: Nelson Textbook of Pediatrics, 19th Edition, Kliegman RM, Stanton BF, Geme JW, Schor NF, Behrman RE (Eds). Elsevier Saunder. Philadelphia 2011; pp:1481-97.
29. Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry. Annual Data Report, 2014;pp:73.

30. Forest MG. Recent advances in the diagnosis and management of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Hum Reprod Update*. 2004;10:469-85.
31. Baykal, T., Hüner, G., Sarbat, G., & Demirkol, M. (1998). The incidence of biotinidase deficiency in Turkish newborns. *Acta Paediatrica*, 87(10), 1102–1102.
32. Wolf B, et al. Disorders of biotin metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, et al., editors. *The metabolic and molecular bases of inherited disease* 2001; 3935–62.
33. Camporeale, G., Giordano, E., Rendina, R., Zemleni, J., & Eissenberg, J. C. (2006). *Drosophila melanogaster* Holocarboxylase Synthetase Is a Chromosomal Protein Required for Normal Histone Biotinylation, Gene Transcription Patterns, Lifespan, and Heat Tolerance. *J Nutr*, 136(11), 2735–42.
34. Kothapalli, N., Sarath, G., & Zemleni, J. (2005). Biotinylation of K12 in Histone H4 Decreases in Response to DNA Double-Strand Breaks in Human JAr Choriocarcinoma Cells. *J. Nutr*, 135(10), 2337–42.
35. Said HM. Biotin: biochemical, physiological and clinical aspects. *Subcell Biochem* 2012;56:1-19.
36. Dietary reference intakes for thiamin, riboflavin, niacin, vitamin b6, folate, vitamin b12, pantothenic acid, biotin, and choline. In Institute of Medicine (US) Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes and its Panel on Folate, Other B Vitamins, and Choline. *Dietary Reference Intakes for Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pan*. Washington, D.C.: National Academies Press; 1998: 374- 389.
37. Combs GF, Jr. *The vitamins: fundamental aspects in nutrition and health*. Third ed. Burlington, MA: Elsevier Academic Press 2008; 331-44.
38. Jennifer J, Jennifer P, Linda D. Meyers: Institute of Medicine. *Dietary reference intakes: the essential guide to nutrient requirements*. National Academies Press 2006; 1344:196-97.
39. Sealey WM, Teague AM, Stratton SL, Mock DM. Smoking accelerates biotin catabolism in women. *Am. J. Clin. Nutr*. 2004; 80(4), 932–35.
40. Institute of Medicine. Food and Nutrition Board. *Dietary Reference Intakes: Thiamin, Riboflavin, Niacin, Vitamin B6, Folate, Vitamin B12, Pantothenic Acid, Biotin, and Choline*. Washington, DC: National Academy Press; 1998.57
41. Kopinski JS, Leibholz J, Bryden WL. Biotin studies in pigs. 3. Biotin absorption and synthesis. *Br J Nutr*. 1989;62(3):767-72.

42. Said HM. Cellular uptake of biotin: mechanisms and regulation. *J. Nutr.* 1999; 129: 490–3.
43. Said HM. Recent advances in carrier-mediated intestinal absorption of water-soluble vitamins. *Annu. Rev. Physiol.* 2004; 66: 419–46.
44. Suormala TM, Baumgartner ER, Bausch J, Holick W, Wick H. Quantitative determination of biocytin in urine of patients with biotinidase deficiency using high-performance liquid chromatography (HPLC). *Clin Chim Acta.* 1988;177(3):253-69.
45. Sweetman L, Nyhan WL. Inheritable biotin-treatable disorders and associated phenomena. *Annu Rev Nutr.* 1986;6:317-43.
46. Thoma RW, Peterson WH. The enzymatic degradation of soluble bound biotin. *J Biol Chem.* 1954;210(2):569-79.
47. Wolf B, Feldman GL. The biotin-dependent carboxylase deficiencies. *Am J Hum Genet.* 1982;34(5):699-716.
48. Sweetman, L. Two forms of biotin-responsive multiple carboxylase deficiency. *Journal of Inherited Metabolic Disease*, 1981;4(1), 53–54.
49. Strovel E.T, Cowan T.M, Scott AI, Wolf, B. Laboratory diagnosis of biotinidase deficiency, 2017 update: a technical standard and guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med*, 2017;19(10).
50. Neto E, Schulte J, Rubim R et al. Newborn screening for biotinidase deficiency in Brazil: biochemical and molecular characterizations. *Braz J Med Biol Res* 2004;37: 295-99.
51. Mardhiah M, Azize N.A.A, Yakob Y et al. Clinical, biochemical and mutational findings in biotinidase deficiency among Malaysian population. *Molecular Genetics and Metabolism Reports*, 2020;22, 100548.
52. Suchy S.F, McVoy J.S, Wolf, B. Neurologic symptoms of biotinidase deficiency: Possible explanation. *Neurology*, 1985;35(10), 1510-11.
53. Heller A. J, Stanley C., Shaia W.T et al. Localization of biotinidase in the brain: implications for its role in hearing loss in biotinidase deficiency. *Hear Res*, 2002;173(1-2), 62–68.
54. Oizumi, J, Hayakawa, K. Biotinidase in the porcine cerebrum. *Arch Biochem Biophys*, 1990;278(2), 381–85.
55. Honavar M, Janota I, Neville B.G.R, Chalmers, R.A. Neuropathology of biotinidase deficiency. *Acta Neuropathologica*, 1992;84(4).

56. Diamantopoulos N, Painter M.J, Wolf B, et al. Biotinidase deficiency: accumulation of lactate in the brain and response to physiologic doses of biotin, *Neurology*-36 1986; 1107–09.
57. Strovel, E. T., Cowan, T. M., Scott, A. I., & Wolf, B. Laboratory diagnosis of biotinidase deficiency, 2017 update: a technical standard and guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genetics in Medicine*, 2017;19(10).
58. Wolf, Barry. Biotinidase deficiency: “if you have to have an inherited metabolic disease, this is the one to have”. *Genetics in Medicine*, 2012;14(6), 565–75.
59. Wolf B, Spencer R, Gleason T. Hearing loss is a common feature of symptomatic children with profound biotinidase deficiency. *J Pediatr*. 2002;140(2):242–46.
60. Wolf B. Children with profound biotinidase deficiency should be treated with biotin regardless of their residual enzyme activity or genotype. *Eur J Pediatr*. 2002;161(3):167–68.
61. Canda E, Yazici H, Er E, et al. Single center experience of biotinidase deficiency: 259 patients and six novel mutations. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2018;31(8):917–26.
62. Wolf B. “Think metabolic” in adults with diagnostic challenges: biotinidase deficiency as a paradigm disorder. *Neurol Clin Pract*. 2017;7(6):518–22.
63. Ye J, Wang T, Han LS, et al. Diagnosis, treatment, follow-up and gene mutation analysis in four Chinese children with biotinidase deficiency. *J Inherit Metab Dis*. 2009;32(Suppl1):S295–302.
64. Canda E, Kalkan Uçar S, Çoker M. Biotinidase Deficiency: Prevalence, Impact And Management Strategies. *Pediatric Health Med Ther*. 2020;11:127-33.
65. Knappe J, Brümmer W, Biederbick K. Purification And Properties Of Biotinidase From Swine Kidney And *Lactobacillus Casei*. 1963;338:599–613.
66. Wolf B, Hymes J, Heard GS. Biotinidase. *Methods Enzymol* 1990;184:103–11.
67. Wastell H, Dale G, Bartlett K. A sensitive rate assay for biotinidase using a new derivative of biotin, biotinyl-6-aminoquinoline. *Anal Biochem* 1984;140:69–73.
68. Wolf B, Secor McVoy J. A sensitive radioassay for biotinidase activity: deficient activity in tissues of serum biotinidase-deficient individuals. *Clin Chim Acta*. 1983;135(3):275-81.
69. Erin T. Strovel, Tina M. Cowan. Laboratory diagnosis of biotinidase deficiency, 2017 update: A technical standard and guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics, *Genet Med*. 2017; 19(10).

70. Cole H, Reynolds TR, Lockyer JM, et al. Human serum biotinidase. cDNA cloning, sequence, and characterization. *J Biol Chem*. 1994;269(9):6566–70.
71. Seker Yilmaz B, Mungan NO, Kor D, et al. Twenty-seven mutations with three novel pathogenic variants causing biotinidase deficiency: a report of 203 patients from the southeastern part of Turkey. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2018;31(3):339–43.
72. Sivri HS, Genç GA, Tokatli A, Dursun A, Coşkun T, et al. Hearing loss in biotinidase deficiency: genotype-phenotype correlation. *J Pediatr* 2007;150:439–42.
73. Norrgard KJ, Pomponio RJ, Swango KL, et al. Double mutation (A171T and D444H) is a common cause of profound biotinidase deficiency in children ascertained by newborn screening in the United States. *Hum Mutat*. 1998;11(5):410.
74. Swango KL, Demirkol M, Hüner G, et al. Partial biotinidase deficiency is usually due to the D444H mutation in the biotinidase gene. *Hum Genet*. 1998;102(5):571–75.
75. Sivri HS, Genç GA, Tokatli A, et al. Hearing loss in biotinidase deficiency: genotype-phenotype correlation. *J Pediatr*. 2007;150(4):439–42.
76. Schulz PE, Weiner SP, Belmont JW, et al. Basal ganglia calcifications in a case of biotinidase deficiency. *Neurology* 1988;38:1326-28.
77. Desai S, Ganesan K, Hegde A. Biotinidase deficiency: a reversible metabolic encephalopathy. neuroimaging and MR spectroscopic findings in a series of four patients. *Pediatr Radiol* 2008;38:848–56.
78. Bhat MD, Bindu PS, Christopher R, Prasad C, Verma A. Novel imaging findings in two cases of biotinidase deficiency—a treatable metabolic disorder. *Metab Brain Dis*. 2015;30(5):1291–94.
79. Raha S, Udani V. Biotinidase deficiency presenting as recurrent myelopathy in a 7-year-old boy and a review of the literature. *Pediatr Neurol*. 2011;45(4):261–64.
80. Jay AM, Conway RL, Feldman GL, Nahhas F, Spencer L, Wolf B. Outcomes of individuals with profound and partial biotinidase deficiency ascertained by newborn screening in Michigan over 25 years. *Genet Med*. 2015;17(3):205-9.
81. Cowan TM, Blitzer MG, Wolf B. Technical standards and guidelines for the diagnosis of biotinidase deficiency. *Genet Med* 2010; 12:464–70.
82. Wolf, B. Worldwide survey of neonatal screening for biotinidase deficiency. *J Inher Metab Dis*. 1991;14(6), 923–27.

83. Porta F, Pagliardini V, Celestino I, Pavanello E, Pagliardini S, Guardamagna O, et al. Neonatal screening for biotinidase deficiency: A 30-year single center experience. *Mol Genet Metab Rep*. 2017;13:80-2.

84. Jay A.M, Conway R.L, Feldman G.L et all. Outcomes of individuals with profound and partial biotinidase deficiency ascertained by newborn screening in Michigan over 25 years. *Genetics in Medicine*, 2014;17(3), 205–9.

85. <https://www.tuik.gov.tr>

86. Gannavarapu S, Prasad C, DiRaimo J, Napier M, Goobie S, Potter M, et al. Biotinidase deficiency: Spectrum of molecular, enzymatic and clinical information from newborn screening Ontario, Canada (2007-2014). *Mol Genet Metab*. 2015;116(3):146-51.

87. Pomponio RJ, Hymes J, Reynolds TR, Meyers GA, Fleischhauer K, Buck GA, et al. . Mutations in the human biotinidase gene that cause profound biotinidase deficiency in symptomatic children: molecular, biochemical, and clinical analysis. *Pediatr Res*. (1997) 42:840–8.

88. Funghini S, Tonin R. , Malvagia S. High frequency of biotinidase deficiency in Italian population identified by newborn screening *Mol Genet Metab Rep* 2020 Dec 5;25:100689.

89. Rzayev A. Biyoitinidaz eksikliği tanılı hastaların klinik, laboratuvar bulguları ile uzun dönem izlem sonuçlarının değeriendirilmesi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul – 2021; YÖK Tez Merkezi, Tez no:656147.

90. Gökpınar G.U. Yenidoğan tarama programı ile tanı konulmuş biotinidaz eksikliği olan hastalarımızın retrospektif değeriendirilmesi, Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir – 2020; YÖK Tez Merkezi, Tez no:623425.

91. Porta F, Pagliardini V, Celestino I, Pavanello E, Pagliardini S, Guardamagna O, et al. Neonatal screening for biotinidase deficiency: A 30-year single center experience. *Mol Genet Metab Rep*. 2017;13:80-2.

92. Sıdar S. Yenidoğan tarama ile saptanan biyoitinidaz eksikliği vakalarının değeriendirilmesi, İstanbul Üniversitesi, İstanbul – 2021; YÖK Tez Merkezi, Tez no:662057

