

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI ve HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ORGANİK ASİDEMİLİ HASTALARDA OKSİSTEROL TÜRLERİNİN
LC-MS/MS YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

Dr. Yasemin Eraslan

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

ANKARA

2018

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI ve HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ORGANİK ASİDEMİLİ HASTALARDA OKSİSTEROL TÜRLERİNİN
LC-MS/MS YÖNTEMİ İLE İNCELENMESİ

Dr. Yasemin Eraslan

UZMANLIK TEZİ

Olarak Hazırlanmıştır

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Turgay Coşkun

ANKARA

2018

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın tasarımı ve yürütülmesinde her aşamada katkıda bulunan, sabrını, vaktini, bilgisini, desteğini esirgemeyen sevgili tez hocam Prof. Dr. Turgay Coşkun'a teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Çalışma sürecinde bana destek olup yol gösteren Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı Öğretim Üyeleri, değerli hocalarım Prof. Dr. Ayşegül Tokatlı, Prof. Dr. Serap Sivri, Prof. Dr. Ali Dursun, Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı'nda çalışan ekip arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Bilgi ve deneyimlerini sürekli paylaşarak çocuk hekimi olma yolunda desteklerini esirgemeyen Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı'nın tüm öğretim üyelerine, beraber çalışma fırsatı bulduğum tüm asistan arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca sevgilerini, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen canım annem, babam ve ablama sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Yasemin Eraslan

Ankara, 2018

ÖZET

Eraslan Y. Organik Asidemili Hastalarda Oksisterol Türlerinin LC-MS/MS Yöntemi ile İncelenmesi. Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Tezi Ankara 2018.

Organik asidemiler karbonhidrat, amino asit ve yağ asidi metabolizmasındaki defektlere bağlı oluşan, organik asitlerin dokularda birikimi ve idrarda artmış atılımı ile karakterize bir grup kalıtsal metabolik hastalıktır. Organik asidemilerin patofizyolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır ve bu durum uygun tedavi stratejilerinin geliştirilmesini önlemektedir. Patofizyolojiden sorumlu ana faktörlerin toksik metabolit birikimi ve esansiyel metabolitlerin eksikliği olduğu düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda organik asidemilerde biriken toksik metabolitlerin oksidatif stresi artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca bu hastaların tedavisinde önemli bir yeri olan kısıtlı diyetin antioksidan savunma sistemlerinde görevli bazı esansiyel maddelerin eksikliğine neden olarak doku antioksidan kapasitesinde azalmaya sebep olabileceği düşünülmektedir.

Bu çalışmada Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı'nda izlenen organik asidemi (maple syrup urine disease, metilmalonik asidemi, propionik asidemi, izovalerik asidemi, glutarik asidüri tip 1)'li hastalarda oksidatif stres biyobelirteci olarak oksisteroller (7-ketokolesterol, kolestan-3 β ,5 α ,6 β -triol) LC-MS/MS yöntemi ile incelendi.

Organik asidemili hastalarda plazma oksisterol düzeyleri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek bulundu. Organik asidemi tanı alt gruplarının plazma oksisterol düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Organik asidemili hastaların rutin poliklinik kontrolü ile herhangi bir yakınmayla çocuk acil polikliniğine başvuruları karşılaştırıldığında plazma oksisterol düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Organik asidemili hastalarda plazma oksisterol düzeyleri ile yaş, LDL, trigliserid, total kolesterol, ESR, CRP, kan pH değeri, idrar ketonu, idrar ketoasit düzeyi, plazma serbest karnitin düzeyi arasında; MSUD'li hastalarda plazma oksisterol düzeyleri ile lösin düzeyi arasında güçlü bir korelasyon yoktu.

Bu bulgulara dayanarak organik asidemili hastalarda kolesterolün serbest radikal aracılı oksidasyon ürünü olan oksisterollerin serum total kolesterol ve LDL düzeylerinden bağımsız olarak toksik metabolit uyarımı ile artmış oksidatif stres nedeniyle oluştuğunu, bu hastalarda artmış oksidatif stresin akut değil kronik bir süreç olduğunu, hastalığın uzun dönem patofizyolojisinde ve prognozunda etkili olduğunu, oksisterollerin hastaların uzun dönem izleminde kullanılabileceğini söyleyebiliriz. Ayrıca bu hastaların tedavisinde antioksidanların adjuvan olarak kullanılması düşünülebilir.

Literatürde organik asidemili hastalarda plazma oksisterol düzeylerinin incelenmesi ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır ve çalışmamız ilk olmuştur. Organik asidemili hastalarda oksisterol üretiminin altta yatan mekanizmalarını ve bunların klinik anlamlarını anlamak için ileri çalışmalar gereklidir.

Anahtar kelimeler: organik asidemi, oksisterol, maple syrup urine disease, metilmalonik asidem, propionik asidemi, izovalerik asidemi, glutarik asidüri tip 1, LC-MS/MS

ABSTRACT

Eraslan Y. Investigation of Oxysterols in Patients with Various Organic Acidurias by LC-MS/MS. Hacettepe University, Faculty of Medicine, Thesis on Department of Pediatrics. Ankara 2018.

Organic acidemias are a group of inborn errors of metabolism (IEM) caused mostly by a deficient enzyme in the catabolic pathways of amino acids, carbohydrates or lipids and characterized by abnormal urinary excretion of organic acids. The pathophysiology of these diseases is poorly known and this prevents the development of appropriate treatment strategies. The main factors responsible for the pathophysiology of these diseases are thought to be the accumulation of toxic metabolites and the deficiency of essential metabolic intermediates. Recent studies have shown that accumulating toxic metabolites increases oxidative stress in these disease. It is also thought that the restricted diets which have an important role in the treatment of these patients may lead to a decrease in the antioxidant capacity of tissues due to the lack of certain essential substances in the antioxidant defense systems.

In this study, oxysterols (7-keto cholesterol and cholestane-3 β ,5 α ,6 β -triol) were studied as oxidative stress biomarkers in patients with various organic acidurias (maple syrup urine disease, methylmalonic acidemia, propionic acidemia, isovaleric acidemia, glutaric aciduria type 1) followed at Hacettepe University Department of Pediatrics Metabolism Unit were studied by LC-MS/MS.

Plasma oxysterol levels in organic acidemia patients were found to be significantly higher than the control group. No statistically significant difference was found between organic acidemia patient subgroups with respect to oxysterols. There was no statistically significant difference in plasma oxysterol levels of the patients between who were coming for routine clinic visits and who were brought to emergency department. There was no strong correlation between plasma oxysterol levels and age, LDL, triglyceride, total cholesterol, ESR, CRP, blood pH value, urine ketone, urine ketoacid level, plasma free carnitine level in organic acidemia patients; plasma oxysterol levels and leucine levels in patients with MSUD.

Based on these findings, it is suggested that oxysterols, free radical-mediated oxidation product of cholesterol, in organic acidemia patients are increased and cause oxidative stress by inducing toxic metabolite stimulation, independent of serum total cholesterol and LDL levels. Increased oxidative stress in these patients is not an acute but chronic process and plays a role in the long-term pathophysiology and prognosis of these diseases and oxysterols can be used in the long-term follow-up of these patients. The use of antioxidants as an adjuvant in the treatment of these patients may be considered.

To our knowledge, this is the first study to determine plasma levels of oxysterols in organic acidemia patients. Further studies are required to understand the underlying mechanisms of oxysterol production in depth and their clinical implications in patients with organic acidemia.

Key words: organic acidemia, oxysterol, maple syrup urine disease, methylmalonic acidemia, propionic acidemia, isovaleric acidemia, glutaric aciduria type 1, LC-MS/MS

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
KISALTMALAR	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
TABLolar DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Maple Syrup Urine Disease	4
2.1.1. Klasik MSUD	8
2.1.2. Intermediate MSUD	9
2.1.3. Intermittent MSUD	9
2.1.4. Tiamin yanıtı MSUD	9
2.1.5. E ₃ defektif MSUD	10
2.2. Metilmalonik Asidemi	11
2.2.1. Metilmalonil-CoA Mutaz Eksikliği	13
2.2.2. Vitamin B ₁₂ Metabolizması Bozuklukları	14
2.2.3. Metilmalonil-CoA Epimeraz Eksikliği	17
2.2.4. Kombine malonik ve metilmalonik asidüri (CMAMMA)	17
2.2.5. Suksinil-CoA Ligaz Eksikliği	17
2.3. Propionik Asidemi	23
2.4. İzovalerik Asidemi	27
2.5. Glutarik Asidüri Tip 1	31
2.6. Kalıtsal Metabolik Hastalıkların Patofizyolojisinde Oksidatif Stres	35
2.7. Oksisteroller	36
2.7.1. Oksidatif Stres Biyobelirteci olarak Oksisteroller	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM	39
3.1. Çalışma Grupları	39
3.1.1. Hastaların Tanılarına göre Gruplandırılması	39
3.1.2. Hastaların Başvuru Polikliniğine Göre Gruplandırılması	39
3.2. Örneklerin Toplanması	40

3.3. LC-MS/MS Yöntemi ile Plazma Oksisterol Analizi	40
3.4. Biyokimyasal Parametreler	41
3.5. Çalışma Kaynakları	41
3.6. İstatiksel Yöntemler	41
4. BULGULAR	43
4.1. Organik Asidemili Hastaların ve Kontrol Grubunun Demografik Özellikleri	43
4.2. Organik Asidemili Hastaların ve Kontrol Grubunun Biyokimyasal Özellikleri	48
4.3. Organik Asidemili Hastalar ve Kontrol Grubunun Plazma Oksisterol Düzeylerinin Karşılaştırılması	51
4.4. Organik Asidemili Hastalarda Tanı Alt Gruplarında Plazma Oksisterol Düzeylerinin Karşılaştırılması	54
4.5. Organik Asidemili Hastaların Rutin Poliklinik Kontrolü ve Çocuk Acil Polikliniği Başvurusu Esnasında Ölçülen Plazma Oksisterol Düzeylerinin Karşılaştırılması	56
4.6. Organik Asidemili Hastalarda ve Kontrol Grubunda Plazma Oksisterol Düzeylerinin Klinik ve Biyokimyasal Parametrelerle Korelasyonu	60
5. TARTIŞMA	63
SONUÇLAR ve ÖNERİLER	74
KAYNAKLAR	76
EKLER	
EK 1	

KISALTMALAR

7-KC	7-ketokolesterol
BCKDH	Dallı Zincirli α -ketoasit Dehidrogenaz
BOS	Beyin Omurilik Sıvısı
Cbl	Kobalamin
CRP	C-reaktif Protein
ÇAP	Çocuk Acil Polikliniği
DEHAB	Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu
DNPH	Dinitro Fenil Hidrazin
EDTA-K ₂	Etilendiamintetraasetik asit dipotasyum
ESR	Eritrosit Sedimentasyon Hızı
GA Tip 1	Glutarik Asidüri Tip 1
GCDH	Glutaril-CoA Dehidrogenaz
GC-MS	Gaz Kromatografi-Mass Spektrometri
IVD	İzovaleryl-CoA Dehidrogenaz
İVA	İzovalerik Asidemi
K-triol	Kolestan-3 β ,5 α ,6 β -triol
MMA	Metilmalonik Asidemi
MR	Manyetik Rezonans
MRS	Manyetik Rezonans Spektroskopi
MSUD	Maple Syrup Urine Disease
MUT	Metilmalonil-CoA Mutaz
PA	Propionik Asidemi

PCC	Propionil-CoA Karboksilaz
RPK	Rutin Poliklinik Kontrolü
TAR	Total Antioksidan Reaktivite
TBARS	Tiyobarbitürik Asit Reaktif Türleri
TPP	Tiamin Pirofosfat
TRAP	Total Radikal Yakalayıcı Antioksidan Reaktivite



ŞEKİLLER DİZİNİ

2.1.	Dallı Zincirli Amino Asit Katabolizmasında BCKDH Aktivitesinde Bozukluk Sonucu MSUD	5
2.2.	MSUD Patofizyolojisi	6
2.3.	MUT Enzim Eksikliklerinde ve Vitamin B12 Metabolizması Bozukluklarında MMA	13
2.4.	Propionik Asidemi Metabolik Yolağı	24
2.5.	İzovalerik Asidemi Metabolik Yolağı	28
2.6.	Glutarik Asidüri Tip 1 Metabolik Yolağı	31
2.7.	Oksiteroller	37
4.1.	RPK Grubu ve Kontrol Grubunun Plazma 7-KC ve K-triol Düzeylerinin Karşılaştırılması	53
4.2.	RPK Grubunda Tanı Alt Grupları Arasında Plazma 7-KC ve K-triol Düzeylerinin Karşılaştırılması	55
4.3.	RPK Grubu ve ÇAP Grubunun Plazma 7-KC ve K-triol Düzeylerinin Karşılaştırılması	57
4.4.	Hem Rutin Poliklinik Kontrolü Hem de Çocuk Acil Polikliniği Başvurusu Esnasında Çalışmaya Dahil Edilen Hastaların Plazma 7-KC ve K-triol Düzeylerinin Karşılaştırılması	59

TABLOLAR DİZİNİ

4.1.	Organik Asidemili Hastaların ve Kontrol Grubunun Demografik Özellikleri	43
4.2.	Organik Asidemili Hastalarda Tanı Öncesi İlk Semptom	44
4.3.	Organik Asidemi Tanı Alt Gruplarında Demografik Özellikler	45
4.4.	RPK ve ÇAP Grubunun Demografik Özellikleri	46
4.5.	RPK Grubu ve ÇAP Grubunda Görülen Yakınmalar ve Sıklıkları	47
4.6.	RPK Grubunda Tanı Alt Gruplarında Demografik Özellikler	48
4.7.	RPK Grubunun ve Kontrol Grubunun Biyokimyasal Özellikleri	49
4.8.	RPK ve ÇAP Grubunun Biyokimyasal Özellikleri	50
4.9.	RPK Grubunda Tanı Alt Gruplarında Biyokimyasal Özellikler	51
4.10.	RPK Grubu ve Kontrol Grubunun Plazma Oksisterol Düzeyleri	52
4.11.	RPK Grubunda Tanı Alt Gruplarında Plazma Oksisterol Düzeyleri	54
4. 12.	RPK Grubu ve ÇAP Grubunun Plazma Oksisterol Düzeyleri	56
4.13.	Hem Rutin Poliklinik Kontrolü Hem Çocuk Acil Polikliniği Başvurusu Esnasında Çalışmaya Dahil Edilen Hastalarda Plazma Oksisterol Düzeyleri	58

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Organik asidemiler karbonhidrat, amino asit ve yağ asidi metabolizmasındaki defektlere bağlı oluşan, organik asitlerin dokularda birikimi ve idrarda artmış atılımı ile karakterize bir grup kalıtsal metabolik hastalıktır.

Organik asidemilerin patofizyolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır ve bu durum uygun tedavi stratejilerinin geliştirilmesini önlemektedir. Patofizyolojiden sorumlu ana faktörlerin toksik metabolit birikimi ve esansiyel metabolitlerin eksikliği olduğu düşünülmektedir. Oksidatif stresin birçok kalıtsal metabolik hastalığın patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığı öne sürülmektedir ve son yıllarda yapılan çalışmalarda organik asidemilerde biriken toksik metabolitlerin oksidatif stresi artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca bu hastaların tedavisinde önemli bir yeri olan kısıtlı diyetin antioksidan savunma sistemlerinde görevli bazı esansiyel maddelerin eksikliğine neden olarak doku antioksidan kapasitesinde azalmaya sebep olabileceği düşünülmektedir.

Organik asidemilerle oksidatif stresin ilişkisini inceleyen az sayıda çalışma olması da göz önünde bulundurularak organik asidemili hastalarda oksidatif stres biyobelirteçlerinin araştırılması planlandı.

Bu çalışmada Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı'nda izlenen organik asidemi (maple syrup urine disease, metilmalonik asidemi, propionik asidemi, izovalerik asidemi, glutarik asidüri tip 1)'li hastalarda oksidatif stres biyobelirteci olarak plazmada oksisterollerin (7-ketokolesterol ve kolestan-3 β ,5 α ,6 β -triol) LC-MS/MS yöntemi ile incelenmesi, sağlıklı kontrol grubu ile organik asidemili hastalar arasında plazma oksisterol düzeyleri farkı, organik asidemili hastalarda kriz dışı dönem ile akut metabolik kriz esnasında plazma oksisterol düzeyleri farkı, organik asidemi alt türleri arasında plazma oksisterol düzeyleri farkının belirlenmesi amaçlandı.

Literatürde organik asidemili hastalarda plazma oksisterol düzeylerinin incelenmesi ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır ve çalışmamız ilk olmuştur.

2. GENEL BİLGİLER

Organik asidemiler karbonhidrat, amino asit ve yağ asidi metabolizmasındaki enzim veya transport proteinlerindeki eksikliklere bağlı oluşan bir grup kalıtsal metabolik hastalıktır. Organik asitler bu yollarda ara metabolit olarak oluştuğu için buradaki defektler organik asitlerin anormal birikimine ve idrarda artmış atılımına yol açmaktadır. Dolayısıyla bu hastaların idrar organik asit profillerinde defektin yerine göre değişen özelliklerde artmış organik asit atılımları görülmektedir (1-4).

Tanımlanmış 65'ten fazla organik asidemi bulunmaktadır. Organik asit metabolizma bozukluklarının insidansı 10000'de 1 ile 1000000'da 1 arasında değişmekle birlikte toplam insidansları yaklaşık 3000 canlı doğumda birdir (4, 5). Organik asidemilerin Türkiye'deki insidansı tam olarak bilinmemekte ancak akraba evliliklerinin sık görülmesi nedeniyle daha yüksek olabileceği düşünülmektedir.

Maple syrup urine disease (MSUD), metilmalonik asidemi (MMA), propionik asidemi (PA), izovalerik asidemi (İVA), glutarik asidüri tip 1 (GA Tip 1) ve multiple karboksilaz eksikliği bazı önemli organik asidemi tipleridir. MSUD kanda artmış amino asitlere bağlı olarak dallı zincirli aminoasidüri olarak da adlandırılmaktadır. MSUD, MMA, PA, İVA klasik organik asidüriler olarak da bilinmektedir (4, 6). Nörolojik bulguların ön planda olduğu GA tip 1, 4-hidroksibutirik asidüri, mevalonik asidüri, N-asetilaspartik asidüri, ve L-2-hidroksiglutarik asidüri serebral organik asidüriler olarak da sınıflandırılmaktadır (6, 7). Bu çalışmada MSUD, MMA, PA, İVA ve GA Tip 1'li hastalar çalışmaya dahil edilmiştir.

Enzim eksikliğinin yerine, rezidüel enzim aktivitesine, çevresel tetikleyici faktörlere bağlı olarak organik asidemiler farklı yaşlarda kusma, beslenme güçlüğü, hipotoni, letarji, koma, nöbet, ataksi, distoni, büyüme geriliği, gelişme geriliği, mental gerilik, kardiyak fonksiyon bozukluğu, böbrek fonksiyon bozukluğu, hepatomegali, pankreatit, psikiyatrik semptomlar gibi geniş spektrumda bir klinik gösterebilirler. Yenidoğanlarda sorunsuz bir doğum öyküsü ve hayatın ilk günlerinde asemptomatik dönem sonrası beslenme güçlüğü, kusma, hipotoni, nöbet gibi semptomların gelişmesi organik asidemileri akla getirecek klasik klinik tablodur.

Organik asidemiler enfeksiyon, cerrahi stres, yüksek protein alımı gibi etkenlerle tetiklenen akut ataklar ile kendini gösterebileceği gibi kronik sinsi seyirli de olabilir. Metabolik dekompanzasyon dönemlerinde veya hastalığın uzun dönem seyrinde hayatı tehdit edici, geri dönüşümsüz organ zedelenmesi görülebilir ve en duyarlı organ beyindir. Beyin ödemi ve akut bazal ganglion zedelenmesi (metabolik stroke) sık görülen patolojilerdir ve motor ve mental etkilenme, hareket bozukluğu, epilepsi ile sonuçlanabilir. Böbrek yetmezliği, kardiyak fonksiyon bozukluğu, pankreatit ve diğer organlardaki zedelenmeler klinik tablolar arasındadır (1, 6, 8). Son yıllarda metabolik olarak stabil seyreden hastalarda kronik organ zedelenmesi geliştiğinin de görülmesi ile birlikte uzun dönem komplikasyonlara sebep olan akut dekompanzasyon dışı patofizyolojik mekanizmalar araştırılmaya başlanmıştır (6).

Organik asidemilerde enzim eksikliğinin yerine göre idrarda artmış organik asit atılımıyla birlikte genellikle yüksek anyon açıklı metabolik asidoz, amonyak yüksekliği, ketozis gibi biyokimyasal bulgular mevcuttur. Amonyak yüksekliğinin çok belirgin olduğu durumlarda respiratuvar alkaloz da tabloya eşlik edebilir. Kan şekeri düşük, yüksek ya da normal olabilir. Anemi, nötropeni ve sitopeni görülebilir. Tanıda plazma açilkarnitin profili ve idrar organik asit atılımının incelenmesinin önemi büyüktür. Plazma amino asitlerinin ölçümü MSUD tanısında önemlidir. Tanının teyit edilmesi için enzim analizi ve/veya moleküler analize gereksinim vardır. Dinitro fenil hidrazin (DNPH), ince tabaka kromatografi gibi teknikler tarama testi olarak kullanılabilir (1, 6, 8).

Toksik metabolit öncüllerinin kısıtlanması, esansiyel maddelerin ve uygun enerjinin sağlanmasına dayalı diyet tedavisi, açlığın ve katabolizmanın önlenmesi, bağırsaklarda endojen metabolit oluşumunun önlenmesi için metronidazol verilmesi uzun dönem tedavinin temel ilkelerini oluşturmaktadır. L-karnitin, glisin ve biotin replasmanı uzun dönem tedavide yer almaktadır. Yeterli beslenmenin sağlanabilmesi için bazı hastalarda nazogastrik tüp veya gastrostomi aracılığıyla beslenme gerekebilir. Akut dekompanzasyon dönem tedavisinde sıvı-elektrolit ve asit-baz dengesinin sağlanması, yüksek enerji alımı sağlanarak (gerekli durumlarda intravenöz lipid ve glukoz ile) hastanın katabolik süreçten çıkarılması, mevcut ise hiperamonyemi ve hipoglisemiye yönelik tedavi verilmesi ve atağı tetikleyen

faktörlerin düzeltilmesi temel hedeflerdir. Bu girişimlere rağmen bazı hastalarda toksik metabolitlerin ekstrakorporeal yöntemlerle uzaklaştırılması gerekebilir (2, 8, 9).

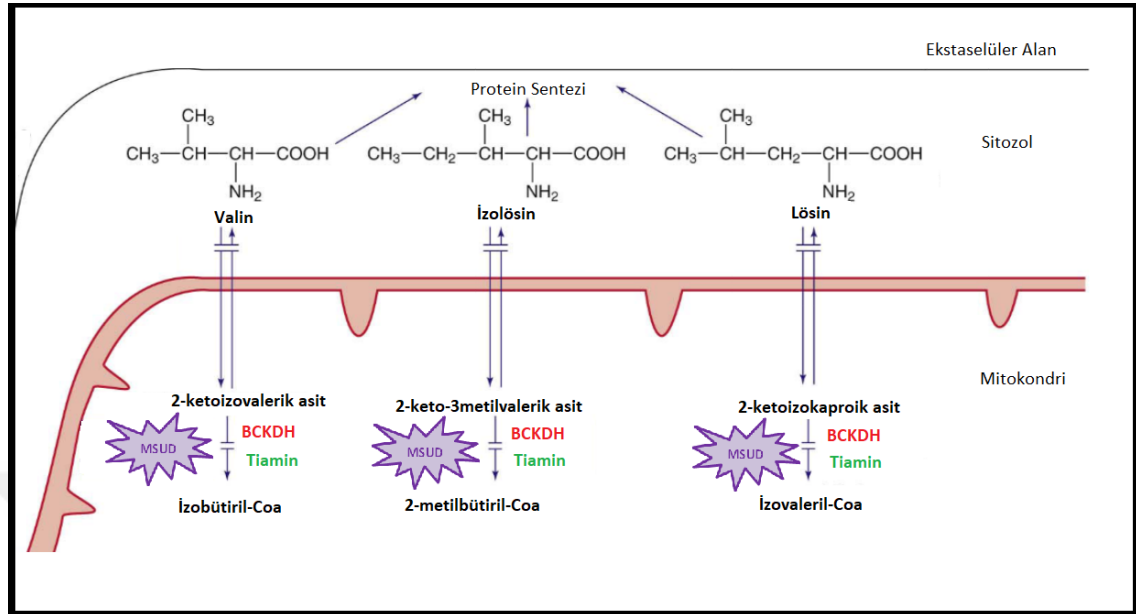
Organik asidemilerin çoğu otozomal resesif kalıtım göstermekle birlikte bir kısmı X'e bağlı kalıtılmaktadır. Kesin tanı konulması, tedavinin mümkün olmadığı durumlarda aileye genetik danışmanlık verilmesi açısından önemlidir (1).

Organik asidemilerin patofizyolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır ve sorumlu ana faktörlerin toksik metabolit birikimi ve esansiyel metabolitlerin eksikliği olduğu düşünülmektedir. Oksidatif stresin birçok kalıtsal metabolik hastalığın patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığı öne sürülmektedir ve son yıllarda yapılan çalışmalarda organik asidemilerde biriken toksik metabolitlerin oksidatif stresi artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca bu hastaların tedavisinde önemli bir yeri olan kısıtlı diyetin antioksidan savunma sistemlerinde görevli bazı esansiyel maddelerin eksikliğine yol açarak doku antioksidan kapasitesinde azalmaya sebep olabileceği düşünülmektedir. Oksidatif stresin organik asidemiler ve başka birçok kalıtsal metabolik hastalığın patofizyolojisinde hücre zedelenmesinde temel neden olduğu ve mitokondri fonksiyon bozukluğundan kaynaklandığı öne sürülmektedir (10-13). Bu çalışmada organik asidemili hastalarda oksidatif stresin bir göstergesi olarak plazma oksisterol (7-ketokolesterol ve kolestan-3 β ,5 α ,6 β -triol) düzeyleri ölçülmüştür.

2.1. Maple Syrup Urine Disease

Maple syrup urine disease (MSUD) (OMIM #248600), diğer adıyla dallı zincirli ketoasidüri, dallı zincirli amino asitlerin (lösin, izolösin, valin) katabolizmasında ikinci basamakta görevli dallı zincirli α -ketoasit dehidrogenaz (BCKDH) kompleks aktivitesinde bozukluk olması sonucu plazmada dallı zincirli amino asitlerin, idrarda α -ketoasitlerin (α -ketoizokaproik asit, α -keto-metilvalerik asit, β -ketoizovalerik asit) yükselmesi ile karakterize bir metabolik hastalıktır (Şekil 2.1). MSUD otozomal resesif kalıtım göstermektedir ve BCKDHA, BCKDHB, DBT ve DLD genindeki mutasyonlar hastalığa sebep olmaktadır (14, 15). Dünya'da görülme sıklığı yaklaşık 185000 canlı doğumda 1'dir (15, 16).

Şekil 2.1. Dalı Zincirli Amino Asit Katabolizmasında BCKDH Aktivitesinde Bozukluk Sonucu MSUD



*Nelson Textbook of Pediatrics

Patofizyoloji

Dalı zincirli amino asitler esansiyel amino asitlerdir ve katabolizmaları normal fizyolojik fonksiyonlar için gereklidir. Katabolizmalarında ilk basamak lösin, izolösin ve valinin mitokondride dalı zincirli aminotransferaz tarafından kendi α -ketoasitlerine dönüştürülmesidir. İkinci basamakta BCKDH kompleksi α -ketoasitlerin oksidatif dekarboksilasyonunu sağlar. Bu yolağın sonunda dalı zincirli amino asitler asetoasetat, asetil-CoA ve süksinil-CoA'ya katabolize edilir (14, 15)

BCKDH kompleksi $E_{1\alpha}$, $E_{1\beta}$, E_2 ve E_3 olmak üzere 4 alt üniteden oluşmaktadır. E_1 dekarboksilaz, E_2 dihidrolipoil transasetilaz ve E_3 dihidrolipoamid dehidrogenaz aktivitesi göstermektedir. E_1 kofaktör olarak tiamin pirofosfat (TPP) kullanır. E_3 alt ünitesi pirüvat dehidrogenaz ve α -ketoglutarat dehidrogenaz ile ortakır. $E_{1\alpha}$ BCKDHA, $E_{1\beta}$ BCKDHB, E_2 DBT ve E_3 DLD geni tarafından kodlanmaktadır. Bu alt ünitelerden herhangi birinde defekt olması MSUD'ye yol açar. $E_{1\alpha}$ 'da defekt olursa MSUD tip 1 A, $E_{1\beta}$ 'da defekt olursa MSUD Tip 1 B, E_2 'de defekt olursa MSUD Tip 2 olarak adlandırılır. Bu alt tipler biyokimyasal olarak birbirinden ayrılamazlar. E_3 alt ünitesinde defekt olduğunda ise MSUD Tip 3

α -ketoizokaproik ve diğ er dallı zincirli α -ketoasitler beyin ve kas dokusunda transaminasyon reaksiyonlarında yarışarak toksisiteye katkıda bulunurlar. α -ketoizokaproik asit beyne monokarboksilat taşıyıcısı aracılığıyla girer ve serebral transaminasyonu tersine çevirerek beyin glutamat, GABA, glutamin düzeylerinin düşmesine, lösin, α -ketoglutarat, laktat düzeylerinin ise yükselmesine sebep olur (Şekil 2.2). MSUD'li hastalarda manyetik rezonans spektroskopisi (MRS) ile kortikal glutamat seviyelerinin %60-70 azalmış olduğu gösterilmiştir (23, 25-28). Akut ensefalopati dönemlerinde MSUD'li hastaların serebral laktat düzeyinde yükselme gözlenmiştir. Ayrıca fare modellerinde serebral ATP ve fosfokreatinin düzeyleri düşük ve doku laktat/pirüvat oranı artmış olarak saptanmıştır. Bunlara dayanarak MSUD'li hastalardaki biyokimyasal tablonun nöronal enerji metabolizmasını bozduğu düşünülmektedir (23, 29, 30).

Biyokimyasal Bulgular

MSUD'li hastalarda dallı zincirli amino asit katabolizmasındaki defekte bağlı olarak plazma dallı zincirli amino asit (lösin, izolösin ve valin) düzeyleri yükselmiştir ve kantitatif plazma amino asit analizi genellikle MSUD tanısı için yeterlidir. Lösin yüksekliği daha ön plandadır ve bazı hastalarda izolösin ve valin düzeyleri normal veya düşük olabilir. Klasik MSUD'li hastalarda amino asit homeostazı birçok noktada bozulur ve plazma amino asitlerinin oranları da bozulur. Plazmada alloizolösin saptanması patognomoniktir ve tüm MSUD alt tiplerinde görülür. Bu hastalarda plazma, idrar ve BOS'ta dallı zincirli ketoasit birikimi olur. İdrarda dallı zincirli ketoasit ve hidroksi asitlerin (2-ketoizokaproik asit, 2-ketoizovalerik asit, 2-keto-3-metilvalerik asit, 2-hidroksiizokaproik asit, 2-hidroksiizovalerik asit, 2-hidroksi-3-metilvalerik asit) atılımının gaz kromatografi-mass spektrometri (GC-MS) yöntemi ile saptanması tanıyı destekler. DNPH testi hayatın ilk 48-72 saatinden sonra idrarda α -ketoasitlerinin saptanmasına dayalı bir testtir ve tarama testi olarak kullanılabilir. Ayrıca DNPH testi hastaların evde idrar dallı zincirli α -ketoasit düzeyini izlemelerine olanak vermektedir. MSUD'li

hastalarda ketonüri olabilmekle birlikte hipoglisemi ve hiperamonyemi görülmesi beklenmez (8, 14, 15).

BCKDH enzim aktivitesinin in vitro analizinin in vivo lösin oksidasyonu, diyetteki lösin intoleransı ile korelasyon göstermemesi nedeniyle enzim aktivitesi tayini tanıyı doğrulamak için güvenilir bulunmamaktadır. MSUD tanısı genetik testler ile doğrulanmalıdır (14, 31, 32).

Klinik

MSUD semptomların başlangıç yaşı, derecesi, tiamine yanıt ve biyokimyasal bulgulara dayanarak 5 fenotipik alt gruba ayrılmıştır ve belirgin genotip-fenotip korelasyonu göstermemektedir. Genellikle düşük BCKDH aktivitesi daha ağır klinik ile ilişkilidir (14, 15, 17).

2.1.1. Klasik MSUD

En sık görülen tiptir. Klasik MSUD'li hastalarda BCKDH aktivitesi %2'nin altındadır. Doğumda normal görünen hasta genellikle 4-7. günlerde irritabilite, letarji, beslenme güçlüğü, apne, opistotonus gibi semptomlarla bulgu verir, tedavisiz kalırsa beyin ödeme bağlı koma ve ölüm ile sonuçlanabilir. İdrar ve serumde akçaağaç şurubu kokusu mevcuttur. Klasik MSUD'li hastalarda ateş, yenidoğan döneminden sonra da herhangi bir yaşta enfeksiyon, egzersiz, travma, cerrahi gibi endojen protein katabolizmasının yüksek olduğu durumlarda akut lösin intoksikasyonuna (lösinozis) bağlı nörolojik detoriasyon görülebilir. Süt çocuklarında bulantı, kusma, anoreksi, distoni, ataksi, daha büyük çocuklarda kognitif bozukluk, hiperaktivite, uyku bozuklukları, halüsinasyonlar, fokal distoni, koreatetoz, ataksi şeklinde bulgu verebilir. Her lösinozis epizodunda serebral ödem riski mevcuttur. Serebral ödem mekanizması tam anlaşılamamış olmakla birlikte bu dönemde hastaların idrarlarının konsantrasyonu, plazma vazopressin düzeylerinin yüksek ve idrarla sodyum kaybının fazla olduğu görülmüştür (14, 15, 17, 33).

Klasik MSUD'li hastalarda plazmada artmış dallı zincirli amino asitler ve alloizolösin, idrarda artmış dallı zincirli ketoasitler görülür. DNPH testi pozitifdir ve ketonüri olabilir (14, 15).

2.1.2. Intermediate MSUD

BCKDH %30'a kadar rezidüel aktiviteye sahiptir. Yenidoğan döneminde idrar ve serumende akçaağaç şurubu kokusu olabirse de hastalar genellikle asemptomatiktir. Hayatın ilk yıllarında beslenme sorunları, büyüme geriliği, entelektüel gerilik şeklinde bulgu verebilir. Özellikle enfeksiyon gibi katabolik dönemlerde ağır lösinozis ve beyin ödemi sonucu hastalar ensefalopati bulgularıyla karşımıza gelebilir. Biyokimyasal olarak klasik MSUD'ye benzer şekilde plazmada artmış dallı zincirli amino asitler ve alloizolösin, idrarda artmış dallı zincirli ketoasitler görülür ancak daha hafiftir (14, 15, 17).

2.1.3. Intermittent MSUD

BCKDH aktivitesi %5-20 arasındadır. Enfeksiyon, cerrahi stres gibi katabolik durumlarda klasik MSUD'nin klinik ve biyokimyasal özelliklerini gösteren ataklar ile seyreder. Ataklar dışında hastalar asemptomatiktir, büyüme ve gelişmeleri normaldir. Atak anında biyokimyasal özellikler klasik MSUD ile benzerlik gösterirken ataklar dışında normaldir (14, 15, 17).

2.1.4. Tiamin yanıtı MSUD

BCKDH kompleksinin E₂ ünitesini kodlayan DBT geninde mutasyon olması sonucu görülen alt tiptir. %2-40 arasında BCKDH aktivitesi mevcuttur. Intermediate tipine benzer klinik özellikler gösterir ve tedavide dallı zincirli amino asitlerden kısıtlı diyet ve tiamin desteği gereklidir. Tiamin desteği ile lösin toleransında artma ve plazma dallı zincirli amino asit düzeylerinde düşme görülür (14, 15, 17). Tiamine tam yanıtı olup diyet kısıtlamasına gerek kalmayan vakalar da bildirilmiştir (34).

2.1.5. E₃ defektif MSUD

Dihidrolipoamid dehidrogenaz üç mitokondriyal enzim kompleksinde (BCKDH, α -ketoglutarat dehidrogenaz, pirüvat dehidrogenaz) E₃ alt ünitesi olarak görev yapmaktadır. Dolayısıyla E₃ defektif MSUD'li hastalar erken başlangıçlı nörolojik semptomlardan erişkin başlangıçlı izole karaciğer hastalığına geniş bir fenotipik spektrumda görülebilir. En sık metabolik asidoz, ensefalopati, beslenme güçlüğü, karaciğer yetmezliği ve erken ölüm ile karakterize erken başlangıçlı şekli görülür. Biyokimyasal olarak klasik MSUD bulgularına ek olarak mitokondri fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak plazma laktat, pirüvat, alanin düzeylerinde ve idrar α -ketoglutarat düzeyinde yükseklik görülür. Hepatik şeklindeki hastalar herhangi bir yaşta hiperkatabolik durumlarla tetiklenen ve tekrarlayan hepatopati epizotlarıyla prezente olabilirler (14, 35).

Tedavi

Akut ensefalopati döneminde yüksek enerji alımının sağlanması (gerekli durumlarda intravenöz glukoz ve lipid ile), oral veya intravenöz olarak dallı zincirli amino asit içermeyen amino asitlerin verilmesi, izolösin ve valin düzeylerini 400-600 μ mol/L düzeyinde tutacak şekilde izolösin ve valin desteği, serum sodyum konsantrasyonunu 138-145 mEq/L arasında tutacak şekilde sıvı-elektrolit dengesinin sağlanması, beyin ödemi açısından hastanın yakın izlenmesi ve gerekli durumlarda furosemid, mannitol, hipertonic sodyum klorür solusyonu verilmesi ve altta yatan tetikleyici faktörün tedavi edilmesi temel tedavi prensipleridir. Bazı hastalarda bu girişimlere ek olarak lösinin ekstrakorporeal yöntemlerle (periton diyalizi, hemodiyaliz, venövenöz hemofiltrasyon) uzaklaştırılması gerekebilir (15, 36).

MSUD'li hastaların uzun dönem tedavisinin temeli yaşa ve cinsiyete uygun, normal büyüme ve gelişmeyi sağlayacak, dallı zincirli amino asit düzeylerini ve oranlarını stabil tutacak, esansasiyel amino asit, yağ asidi ve mikroblesleyici eksikliğine sebep olmayacak diyet tedavisidir. Bu tedavi ile plazma lösin düzeyi 150-300 μ mol/L arasında tutulmaya çalışılmaktadır. Klasik MSUD'li hastalarda lösin toleransı yenidoğan döneminde 65-85 mg/kg/gün, çocuklarda 20-40 mg/kg/gün,

erişkinlerde 10-15 mg/kg/gün arasındadır. Ancak lösin toleransı hastanın yaşına, cinsiyetine, rezidüel enzim aktivitesine göre değişmektedir ve plazma lösin düzeyi izlemi ile her hasta için uygun aralık bulunmalıdır. Plazma lösin/valin oranı 0.5 ve lösin/izolösin oranı 2.0 olacak şekilde valin ve izolösin desteği verilmelidir (15, 31).

Özellikle patojenik varyantın fonksiyonel etkisinin bilinmediği MSUD'li hastalarda dört hafta süreyle 50-100 mg/gün tiamin tedavisi denenebilir (15).

Ortotopik karaciğer transplantasyonu ise metabolik kür sağlayarak lösin toleransını arttırmakta, plazma dallı zincirli amino asit düzeyi ve diğer amino asitlerle olan oranlarını normale dönüştürmektedir. Mevcut nörolojik ve psikiyatrik sekeller geri dönüşümsüz olsa da hastalığın ilerlemesini önlemektedir (37, 38).

İzlem

Hastalar büyüme ve gelişme, ek bulguların varlığı açısından izlenmelidir. Gerekli durumlarda nörokognitif gelişimin değerlendirilmesi için standart değerlendirme testleri uygulanmalıdır. Dikkat eksikliği hiperaktivite bozukluğu (DEHAB), anksiyete veya depresyon bulguları görülen hastalar psikiyatrist tarafından değerlendirilmelidir (15).

MSUD'li hastaların plazma amino asit düzeylerini izlem sıklığı yaşı, hastanın diyet uyumuna ve hasta bazındaki deneyime dayalı olarak değişmekle birlikte süt çocukluğu döneminde haftada bir izlem önerilmektedir (31).

MSUD otozomal resesif geçişli bir hastalık olduğu için aileye genetik danışmanlık verilmelidir.

2.2. Metilmalonik Asidemi

Metilmalonik asit; izolösin, valin, treonin, metionin, kolesterol ve tekli sayıda karbon içeren yağ asitlerinin katabolizmasında bir metabolit olan propionik asitin propionil-CoA karboksilaz ile karboksilasyonu sonucu oluşur. Bu reaksiyon sonucu

oluşan D-metilmalonil-CoA metilmalonil-CoA rasemaz tarafından L-metilmalonil-CoA'ya dönüştürülür. L-metilmalonil-CoA ise metilmalonil-CoA mutaz (MUT) enzimi tarafından süksinil-CoA'ya dönüştürülür. MUT koenzim olarak vitamin B₁₂'nin aktif metaboliti olan adenzilkobalamine gereksinimi olan mitokondriyal bir apoenzimdir. MUT enziminde veya koenzimi adenzilkobalaminin oluşumunda bir defekt olması metilmalonik asit ve prekürsörlerinin birikimine sebep olur (Şekil 3). İzole metilmalonik asidemi insidansının 1:50000 ile 1:100000 arasında olduğu tahmin edilmektedir (39).

Homosisteinden metionin sentezinde görev alan metionin sentaz ise koenzim olarak metilkobalamine gereksinim duyar. Dolayısıyla bazı vitamin B₁₂ metabolizması bozukluklarında hem metilmalonik asit hem homosistein birikimi görülür (Şekil 2.3). MUT enzim defekti, kobalamin A (*Cbl A*), kobalamin B (*Cbl B*), kobalamin D-MMA (*Cbl D-MMA*) defektinde izole metilmalonik asidemi görülür ve benzer biyokimyasal ve klinik özellikler gösterir. Diğer tiplerde ise defektin yerine göre farklı biyokimyasal ve klinik özellikler tabloya eşlik eder (39).

#251000) yol açmaktadır. MUT enzim defekti otozomal resesif kalıtılır ve izole metilmalonik asidemili hastaların yaklaşık %60'ını bu grup oluşturur (39).

Tanımlanmış iki tip apoenzim eksikliği vardır:

(1) *mut*⁰: MUT enzim aktivitesi sıfırdır. Bu hastalar genellikle erken süt çocukluğu döneminde bulgu verir. Doğumda normal olan yenidoğanın beslenmeye başladıktan sonra kusma, beslenememe, dehidratasyon, letarji, hipotoni, hepatomegali, ensefalopati şeklinde bulgu vermesi tipiktir. Artmış anyon açıklı metabolik asidoz, ketozis, ketonüri, hiperamonyemi ve hiperglisinemi mevcuttur. Anemi, nötropeni, trombositopeni tabloya eşlik edebilir. Agresif tedaviye rağmen ölüm ile sonuçlanabilir (39, 40).

(2) *mut*⁻: rezidüel MUT enzim aktivitesi vardır. Hayatın ilk aylarında veya yıllarında, kusma, beslenme sorunları, anoreksi, büyüme geriliği, hipotoni, gelişme geriliği, protein alımından kaçınma, protein alımı sonrası gelişen kusma ve letarji ile ortaya çıkar (39).

Her iki grupta da hayat boyu enfeksiyon, cerrahi stres, yüksek protein alımı gibi stressörlerle tetiklenen akut dekompanzasyon dönemleri görülebilir. Akut ataklar dışında göreceli olarak stabil seyreder. Ayrıca izole renal tübüler asidoz veya kronik böbrek yetmezliği şeklinde bulgu verebilir. *mut*⁰ vitamin B₁₂ tedavisine yanıt vermezken *mut*⁻ verebilir (39, 41, 42).

2.2.2. Vitamin B₁₂ Metabolizması Bozuklukları

Kobalamin A (*Cbl A*) Defekti (OMIM #251100)

4q31'de lokalize MMAA geninde defekt olması sonucu oluşur. *Cbl A* defekti otozomal resesif kalıtılır. İzole metilmalonik asidemili hastaların yaklaşık %25'ini bu grup oluşturur. *mut*⁻'e benzer klinik görülür. B₁₂ tedavisine yanıt verir (39, 42).

Kobalamin B (*Cbl B*) Defekti (OMIM #251110)

12q24'te lokalize MMAB geninde defekt olması sonucu oluşur. *Cbl B* defekti otozomal resesif kalıtılır. İzole metilmalonik asidemili hastaların yaklaşık %12'sini

bu grup oluşturur. Klinik tablo *mut⁰* fenotipine benzer. B₁₂ tedavisine yanıt verebilir. (39, 40, 42).

Kobalamin C (Cbl C) Defekti (OMIM #277400)

1p34'te lokalize MMACHC geninde defekt olması sonucu oluşur. Otozomal resesif kalıtım gösterir. En sık görülen kalıtsal kobalamin metabolizması bozukluğudur. Metilmalonik asit ve homosistein birikimi ile birlikte azalmış metionin sentezine sebep olur (43, 44).

Klinik fenotipe dayanarak iki alt gruba ayrılabilir:

(1) Erken başlangıçlı: Hayatın ilk yılında ağır nörolojik (hipotoni, gelişme geriliği, mikrosefali, nöbet, hidrosefali), oküler (nistagmus, optik atrofi, maküler atrofi), hematolojik (megaloblastik anemi, hipersegmente nötrofiller, trombositopeni, ağır pansitopeni), renal (hemolitik üremik sendrom, segmental glomeruloskleroz), gastrointestinal (kusma, glossit, stomatit, atrofik gastrit, protein kaybettiren enteropati), kardiyak (konjenital kalp defektleri, kardiyomiyopati, kor pulmonale) ve pulmoner (bronşiolit benzeri ağır tablo, pulmoner tromboembolizm) bulgular görülür (43, 44).

(2) Geç başlangıçlı: Hastalar çocukluk döneminden erişkin dönemine kadar herhangi bir yaşta karşımıza gelebilir. Erken başlangıçlı şekle göre daha nadir görülür. Davranış sorunları, psikiyatrik sorunlar, ani mental bozulma, demans, deliryum, psikoz, akut veya kronik gelişen saf ekstrapiramidal bulgular, multiple skleroz benzeri yürüme bozuklukları, subakut spinal kord dejenerasyonuna bağlı myelopati şeklinde bulgu verebilir. Bazı hastalarda araknodaktili, eklem hiperlaksisitesi, skolyoz gibi marfanoid bulgular bildirilmiştir. Kranial manyetik rezonans (MR) görüntülemelerde periventriküler beyaz cevher lezyonları, kortikal atrofi, bilateral ventriküler dilatasyon gibi spesifik olmayan bulgular görülebilir (43, 44).

Erken başlangıçlı şeklinin prognozu daha kötüdür (44).

Kobalamin D (*Cbl D*) Defekti (OMIM #277410)

2q23.2'de lokalize MMADHC geninde defekt olması sonucu oluşur. *Cbl D* defekti otozomal resesif kalıtılır ve oldukça seyrek görülür. İzole metilmalonik asidemi (*CblD*-MMA), izole homosistinüri veya kombine metilmalonik asidemi ve homosistinüriye sebep olabilir (39).

Kobalamin F (*Cbl F*) Defekti (OMIM #277380)

6q13'te lokalize LMBRD1 geni tarafından kodlanan lizozomal kobalamin taşıyıcısında defekt olması sonucu gelişir. Otozomal resesif kalıtım gösterir ve oldukça seyrek görülür. Kombine metilmalonik asidemi ve hiperhomosisteinemi görülür. Bildirilen vakalarda beslenme güçlüğü, büyüme ve gelişme geriliği, ciltte pigmentasyon anomalisi, ensefalopati gözlenmiştir (45).

Kobalamin J (*Cbl J*) Defekti (OMIM #614857)

ATP-bağlayıcı kaset transporterı kodlayan ABCD4 geninde bir defekt olması sonucu gelişir. Kombine metilmalonik asidemi ve hiperhomosisteinemiye sebep olur. Hastalarda hipotoni, letarji, beslenememe, kemik iliği baskılanması, makrositik anemi görülür (46).

Kobalamin X (*Cbl X*) Defekti (OMIM #309541)

MMACHC ekspresyonunu kontrol eden bir transkripsiyonel ko-regülatör olan HCFC1 geninde defekt olması sonucu oluşur. X'e bağlı kalıtılır. Kombine metilmalonik asidemi ve hiperhomosisteinemi görülür. Ağır entelektüel gerilik, nöbetler ve diğer nörolojik bulgular görülür (47).

Transkobalamin Reseptör (TCbIR) Eksikliği (OMIM #613646)

CD320 geninde defekt olması sonucu oluşur. Yüksek plazma ve idrar metilmalonik asit düzeyi, artmış plazma propionilkarnitin düzeyi, normal serum vitamin B₁₂ düzeyi görülür. Homosistein yüksekliği eşlik edebilir. Hidroksikobalamin ile biyokimyasal anormalliklerin düzeldiği görülmüştür (39).

2.2.3. Metilmalonil-CoA Epimeraz Eksikliği

MCEE geninde defekt olması sonucu oluşur (OMIM #251120). İzole metilmalonik asidemi görülür. Asemptomatik şeklinden hipotoni, nöbet, ataksi, dizartri gibi semptomlarla birlikte metabolik asidoz, ketonüri, artmış metilmalonik asit ve 2-metilsitrat atılımının görüldüğü tabloya uzanan bir spektrumda klinik gösterebilir (48, 49).

2.2.4. Kombine Malonik ve Metilmalonik Asidüri (CMAMMA)

Metilmalonil-CoA sentetaz ve malonil-CoA sentetazı kodlayan ACSF3 geninde mutasyon olması sonucu oluşur (OMIM #614265). İdrarda ve plazmada yüksek malonik asit ve metilmalonik asit düzeyleri mevcuttur. Metilmalonik asit atılımı malonik asit atılımından 5 kat daha fazladır. Propionilkarnitin yüksek olmadığı için kuru kan örneğinde açılarnitin analizine dayalı yenidoğan tarama programlarında saptanamazlar. Asemptomatik şekilden büyüme geriliği, hipotoni, gelişme geriliği, mikrosefali, distoni, nöbet, psikiyatrik sorunlar, kognitif bozukluğa uzanan geniş bir klinik spektrum görülebilir. Hastalığın doğası henüz tam olarak anlaşılamamıştır (50-52).

2.2.5. Süksinil-CoA Ligaz Eksikliği

Süksinil-CoA ligaz süksinil-CoA'nın süksinata dönüşümünü katalize eder. α alt ünitesi SUCLG1 geni, β alt ünitesi SUCLA2 veya SUCLG2 geni tarafından kodlanmaktadır. Biallelik SUCLG1 mutasyonları laktik asidoz ve hayatın ilk

günlerinde ölüm ile sonuçlanan ağır fenotipik tabloya yol açar. Biallelik SUCLA2 mutasyonları ise büyüme geriliği, hipotoni, kas atrofisi, hiperkinezi, nöbet, işitme kaybı şeklinde bulgu verir. Mitokondriyal DNA deplesyonu tablosuna yol açan bu defektlerde laktik asidoz, artmış metilsitrat, 3-hidroksipropionik asit, 3-hidroksizovalerik asit, propionilkarnitin C4-dikarboksilikkarnitin tabloya eşlik eder (53, 54).

Patofizyoloji

MMA'lı hastalarda klinik tabloyu oluşturan patofizyolojik mekanizmalar tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte bazı mekanizmaların üzerinde durulmaktadır. Bu hastalarda defektin yerine göre farklı biyokimyasal bulgular görülse de metilmalonik asit birikimi öne çıkan bulgudur. Metilmalonik asit birikiminin nörotoksin olarak etki ettiği ve nörolojik bulguların oluşumunda rol oynadığı düşünülmektedir. Metilmalonik asit, metilsitrat, malonik asit ve propionil-CoA'nın santral sinir sisteminde enerji metabolizmasını bozduğu ve eksitotoksik hücre zedelenmesine sebep olduğuna ilişkin görüşler vardır. Ayrıca dikarboksilik asitlerin beyinde birikimi ve kan beyin bariyerinin bu asitleri temizleme kapasitesinin zayıf olması sonucu metilmalonik asitin beyinde biriktiği ve nörolojik zedelenmeye yol açtığı düşünülmekte, bu mekanizma “dikarboksilik asit tuzak hipotezi” olarak adlandırılmaktadır (55).

Metilmalonik asitin proteinüri ve renal tübüler zedelenmeye yol açan bir nefrotoksin olduğu düşünülmektedir (56). MMA'lı hastalarda gelişen böbrek fonksiyon bozukluğu patofizyolojisinde sekonder mitokondri fonksiyon bozukluğunun etken olduğuna ilişkin çalışmalar vardır. Bazı insan ve fare çalışmalarında proksimal tübüllerde mitokondriyal patoloji ile birlikte sitokrom oksidaz c eksikliği ve plazma ve idrarda artmış oksidatif stres göstergeleri gösterilmiştir (57-59).

MMA'lı hastalarda ikincil mitokondri fonksiyon bozukluğunun patofizyolojik mekanizmalardan biri olduğu düşünülmektedir. Mut^{-/-} farelerin karaciğer, pankreas ve proksimal tübül hücrelerinde megamitokondri ve dismorfik krista,

intramitokondriyal lameller inklüzyon cisimciği ve daha az elektro-dens mitokondriyal matriks gözlenmiştir. Bu durumun açıklamasının mitokondriyal DNA deplesyonu olabileceği düşünülmektedir (60, 61).

Bazı MMA alt tiplerinde homosistein yüksekliği de eşlik etmektedir ve bu durumun MMA patofizyolojisinde rolü olabileceği düşünülmektedir. Homosistein yüksekliğinin kognitif bozukluk, demans, zayıf nörokognitif performans, Alzheimer ve Parkinson hastalığı ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (62). Homosisteinin nörotoksik etki ile hücre ölümüne sebep olarak, apoptoz kaskadını başlatarak, tau ve beta amiloidin hiperfosforilasyonuna sebep olarak ve endoplazmik retikulumun stres yanıtını stimüle ederek etki ettiği öne sürülmektedir (63, 64). Ayrıca hiperhomosisteineminin ateroskleroz için bir risk faktörü olduğu gösterilmiştir (65).

Bazı MMA alt tiplerinde görülen metionin düşüklüğünün de klinik tabloya katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Metionin içermeyen besi yerlerinde yapılan nöronal hücre kültürlerinde homosistein ilişkili apoptozun daha fazla olduğunun gösterilmesi bu düşüncüyü desteklemektedir (66).

Biyokimyasal Bulgular

MMA vücutta metilmalonik asit birikimi ile karakterizedir, GC-MS yöntemi ile idrar organik asit analizi ile idrarda, plazma açilkarnitin analizi ile plazmada yüksek metilmalonik asit düzeyi gösterilebilir. Ayrıca idrar organik asit analizinde 3-hidroksipropionat, 2-metilsitrat ve tigilglisin varlığı, plazma açıl karnitin analizinde ise artmış propionilkarnitin (C3), C4-dikarboksilik asit, metilmalonil/süksinilkarnitin (C4DC) saptanır. Plazma amino asit analizinde artmış glisin düzeyi görülür. Özellikle metabolik dekompanzasyon dönemlerinde artmış anyon açıklı metabolik asidoz, ketonüri, laktik asidoz, hiperamonyemi, hipoglisemi tabloya eşlik eder. Anemi, nötropeni, sitopeni görülebilir (39).

Plazma homosistein ve serum vitamin B₁₂ düzeyleri defektin yerini belirlemede yol göstericidir (39).

Ayrıca maternal B₁₂ eksikliğinin de yenidoğan döneminde plazma ve idrar metilmalonik asit yüksekliğine, artmış serum propionilkarnitin düzeyine ve hatta ensefalopati tablosuna kadar gidebilecek klinik bulgulara sebep olacağı unutulmamalı, anne vitamin B₁₂ düzeyi de değerlendirilmelidir (67, 68).

MMA, Amerika Birleşik Devletleri'nde ve başka birçok ülkede yenidoğan tarama programı kapsamına alınmıştır. Yenidoğan MMA taraması MS/MS yöntemi ile kanda artmış propionilkarnitin saptanması esasına dayanır. *mut⁰* hastaların önemli bir çoğunluğunun yenidoğan tarama sonuçlarından önce semptom verebileceği unutulmamalıdır (39).

Hastanın tanısı moleküler genetik testler ile doğrulanmalıdır. Özellikle moleküler yöntemlerle kesin tanının sağlanamadığı durumlarda MMA alt tipi ve B₁₂ yanıtını belirlemede fibroblast kültüründe enzim aktivitesi ölçümü altın standarttır (39).

Klinik

MMA'lı hastalar defektin yerine ve çevresel faktörlerin değişkenliğine göre farklı yaşlarda farklı şekilde karşımıza gelebilir. Yenidoğan döneminde beslenmeye başlanmasından sonra kusma, beslenememe, hipotoni, letarji şeklinde bulgu verir. Süt çocukluğu döneminde ve daha büyük çocuklarda büyüme geriliği, böbrek fonksiyon bozukluğu, renal tübüler asidoz, hipotoni, entelektüel kapasitede azalma, akut ve kronik nörolojik bozukluklar ile kendini gösterebilir. Ayrıca enfeksiyon gibi durumlarla tetiklenen akut metabolik dekompanzasyon dönemleri her yaşta görülebilir. Kombine metilmalonik asidemi homosistinüri olan hastalarda altta yatan defekte bağlı olarak farklı klinik tablolar görülebilir (39).

Uzun dönem komplikasyonlar arasında büyüme geriliği, entelektüel kapasitede azalma, tübülointerstisyel nefrit, böbrek fonksiyon bozukluğu, akut metabolik dekompanzasyon dönemlerinde gelişen bazal ganglia enfarktına (metabolik stroke) bağlı hareket bozuklukları, distoni, tremor, kemik iliği baskılanmasına bağlı sitopeni, pankreatit, optik sinir atrofi gibi birçok organ

tutulumu görülebilir. mut^0 enzimatik alt tipindeki hastalarda nörolojik komplikasyon ve mortalite oranları mut^- ve $CblA$ alt tiplerine göre daha yüksektir. Son dönem böbrek yetmezliği mut^0 alt tipindeki hastalarda %61, $CblA$ hastalarında %21 $CblB$ hastalarında %66 oranında saptanmıştır (39, 42).

Ortalama mortalite mut^0 hastalarda %50, mut^- hastalarda %40, $CblA$ hastalarında %5 ve $CblB$ hastalarında %50 olarak gözlenmiştir (69).

Tedavi

MMA'lı hastaların akut ve uzun dönem tedavisi konusunda metabolizma merkezleri arasında bir görüş birliği yoktur (39).

Akut metabolik kriz döneminde yüksek enerji alımı sağlanarak (intravenöz glukoz ve lipid ile) hastanın katabolik süreçten çıkarılması, sıvı-elektrolit ve asit-baz dengesinin sağlanması, gerekli durumlarda diyetteki proteinin geçici olarak azaltılması/kesilmesi, hastanın krizini tetikleyen faktörün düzeltilmesi önerilmektedir. Karnitin tedavisine devam edilmeli, hastanın durumuna göre 50-100 mg/kg/gün karnitin intravenöz verilmelidir. Hiperamonyemi mevcut ise buna yönelik ajanlar (N-karbamilglutamat) verilmelidir. Bu tedavilere yanıt alınamayan hastalarda periton diyalizi, hemodiyaliz veya hemofiltrasyon uygulanabilir (70).

MMA'lı hastaların uzun dönem tedavisinde yaşa ve cinsiyete uygun büyümeyi sağlayacak yüksek enerjili, proteinden kısıtlı diyet verilmelidir. Propionat öncüllerini (izolösin, valin, metionin, treonin) içermeyen amino asit mama destekleri kullanılabilir. MMA'lı hastalarda ikincil karnitin eksikliği görülebileceği ve karnitin propionik asitin propionilkarnitin şeklinde atılımını kolaylaştırdığı için uzun dönem tedavide oral karnitin (50-100 mg/kg/gün) önerilmektedir. Bağırsak bakterileri tarafından propionat üretimini önlemek için oral neomisin veya metronidazol tedaviye eklenmelidir. Amonyak düzeyi ataklar arasında genelde normal düzeye dönmektedir ve uzun dönemde hiperamonyemi tedavisine gereksinim duyulmamaktadır (39, 70).

Cbl C defektinin tedavisi izole metilmalonik asidemilerden farklılık göstermektedir. Bu konuda bir görüş birliği olmamakla birlikte hastaların tedavisi hidroksikobalamin, betain ve folik asit replasmanına dayanmaktadır (43, 44).

Bütün hastalarda B₁₂ tedavisine yanıt değerlendirilmelidir. Bunun için standart bir uygulama olmasa da hastanın stabil olduğu dönemde 1-2 hafta boyunca her gün 1 mg hidroksikobalaminin intramusküler veya intravenöz olarak verilmesi önerilmektedir. Plazma ve idrar metabolitlerinde %50'den fazla azalma olması durumunda B₁₂ tedavisine yanıtı olarak değerlendirilmektedir. Yanıtlı olan vakalarda gün aşırı 1 mg intramusküler hidroksikobalamin tedavisine devam edilmelidir (39).

Propionatın metilmalonik aside dönüşümünün büyük bir kısmı karaciğerde gerçekleştiği için karaciğer transplantasyonunun metabolik dekompanzasyonu önleyeceği düşünülmektedir. Karaciğer transplantasyonu metabolik stabiliteyi sağlamaktadır ancak küratif değildir ve izole MMA'lı hastalar karaciğer transplantasyonu sonrası kronik böbrek hastalığı, bazal ganglia zedelenmesi, nörolojik komplikasyonlar gibi uzun dönem komplikasyonları açısından risk taşımaya devam etmektedir (71-73).

İzlem

MMA'lı hastalar; büyüme, gelişme, nörolojik komplikasyonların gelişimi, böbrek fonksiyonları ve diğer organ fonksiyonları açısından izlenmelidir. Hastalar hayatın ilk yılında haftada bir değerlendirilmelidir. Hastanın yaşına ve metabolik stabilizasyonuna bağlı değişen sıklıklarda plazma amino asitleri, plazma ve idrar metilmalonik asit düzeyleri, serum açilkarnitin profili ve serbest karnitin düzeyi, karaciğer ve böbrek fonksiyonları, tam kan sayımı değerlendirmesi yapılmalıdır. Protein kısıtlı diyetin sebep olabileceği akrodermatitis enteropatika benzeri bulgu verebilen esansiyel amino asit eksikliğinin önlenmesine dikkat edilmelidir. Düzenli göz ve işitme değerlendirmesi yapılmalıdır (39).

Akut dekompanzasyon dönemleri dışında enfeksiyon, cerrahi gibi durumlarda agresif önlemler alınarak dekompanzasyon önlenmelidir. Protein alımını azaltan veya sıfıra indiren “hasta dönem” diyet uygulamaları ailelere anlatılmalıdır. Hastaların ailelerine acil hekimine vermek üzere acil tedavi protokolü verilmeli, hastalar için acil durum medikal bilezik veya kimliği temin edilmelidir (39).

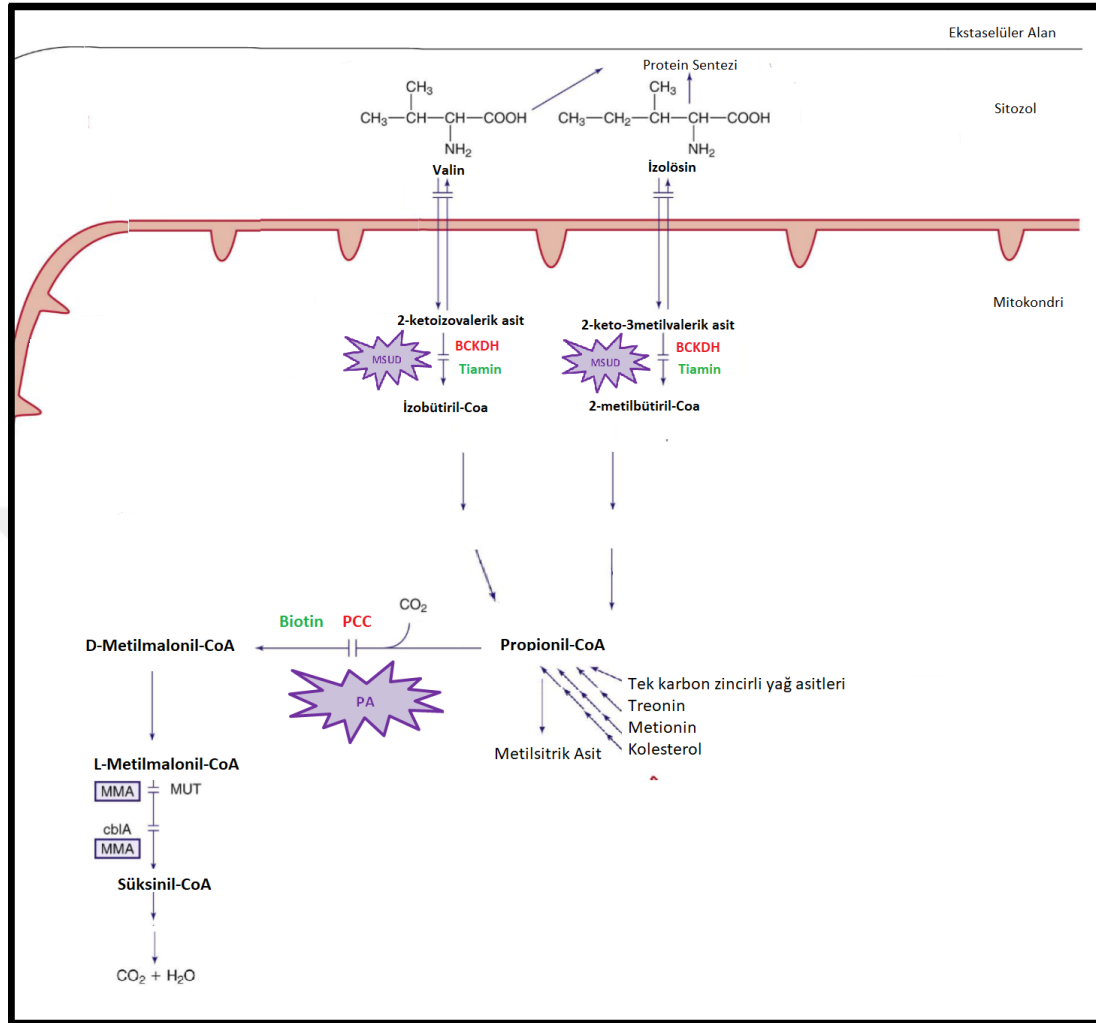
Hastalığın seyrinde karşılaşılan sekellerle baş edebilmek için hasta fizyoterapist, psikiyatrist, çocuk nöroloğu ve gerekli diğer uzmanlar ile iş birliği içerisinde izlenmelidir. Aileye genetik danışmanlık verilmelidir (39).

2.3. Propionik Asidemi

Propionik asidemi (PA) (OMIM #606054) dallı zincirli amino asit, metionin, treonin, yağ asidi ve kolesterol katabolizması sonucu oluşan propionil-CoA'nın metilmalonil-CoA'ya dönüşümünü sağlayan enzim propionil-CoA karboksilaz (PCC) defekti sonucu oluşan, otozomal resesif olarak kalıtılan bir metabolik hastalıktır (Şekil 2.4) (74).

PCC altı propionil-CoA karboksilaz alfa (PCCA, OMIM *232000) ve altı propionil-CoA karboksilaz beta (PCCB, OMIM *232050) alt ünitesinden oluşan, kofaktör olarak biotine gereksinimi olan mitokondriyal bir enzimdir. PCCA geni 13q32.3'te PCCB geni ise 3.22.3'te yerleşmiştir (75-80).

Şekil 2.4. Propionik Asidemi Metabolik Yolağı



* Nelson Textbook of Pediatrics

Patofizyoloji

PCC eksikliği sonucu vücutta propionil-CoA birikir. Propionil-CoA'nın hücre içi birikiminin mitokondri fonksiyon bozukluğuna yol açtığı, sitrat, GTP ve ATP sentezini düşürdüğü gösterilmiştir (81). PCC'ın ürünü olan metilmalonil-CoA krebs döngüsü ara metaboliti olan süksinil-CoA'nın yerine konmasını sağlar. Beyinde krebs döngüsü ara metaboliti olan α -ketoglutaratın, GABA ve glutamin sentezine katkıda bulunması nedeniyle PCC ürünü metilmalonil-CoA'nın TCA havuzunu desteklemesi daha da önem kazanmaktadır. PA'lı hastaların beyin MRS incelemelerinde glutamin ve glutamatın TCA havuzunu desteklemek için deamine olmuş olabileceklerini gösteren azalmış glutamin/glutamat düzeyleri saptanmıştır. Bu

mekanizmaların PA'lı hastalarda görülen nörokognitif bulguların patofizyolojisinde rol aldığı düşünülmektedir (82).

Biyokimyasal ve Radyolojik Bulgular

PCC eksikliği vücutta propionik asit ve propionil-CoA ilişkili metabolitlerin birikimine yol açar. Propionil-CoA'nın levokarnitin esteri olan propionilkarnitin (C3) plazma, serum ve idrarda saptanabilir. Ayrıca idrar organik asit analizinde artmış 3-hidroksipropionat ve metilsitrat, tiglilglisin, propionilglisin ve laktik asit varlığı görülür (8, 75, 83, 84). Plazma amino asitlerinde ise yüksek glisin düzeyi mevcuttur ve bu nedenle MMA ile birlikte "ketotik hiperglisinemi" olarak adlandırılır. Yenidoğan tarama programları MS/MS yöntemi ile plazma açıl karnitin analizinde yüksek propionilkarnitin (C3) saptanması esasına dayanır. PA tanısı PCC enzim aktivitesi ölçümü ve/veya PCCA ve PCCB genlerinde patojenik varyantların gösterilmesi ile doğrulanır (74).

PA'lı hastalarda akut atak esnasında artmış anyon açıklı metabolik asidoz, ketozis, hiperamonyemi, anemi, nötropeni, trombositopeni ve hipoglisemi görülür.

PA'lı hastalarda kranial görüntülemelerde serebral atrofi, demyelinizasyon, beyaz cevher değişiklikleri, serebellar hemoraji ve özellikle akut dekompanzasyon dönemlerinde oluşabilecek metabolik stroke düşündürecek bazal ganglia ve globus pallidus bulguları görülebilir (85, 86).

Klinik

PA'da erken başlangıçlı şekilden geç başlangıçlı şekle uzanan bir klinik spektrum görülür. Hastalığın erken başlangıçlı şekli en sık görülür. Hayatın ilk günlerinde beslenememe, kusma, aktivitede azalma şeklinde bulgu verir, ilerleyen dönemde letarji, hipotoni, nöbet, komaya ilerler ve tedavisiz kalması durumunda ölüm ile sonuçlanır. İlk atak sonrası enfeksiyon, konstipasyon, yüksek proteinli diyet

gibi tetikleyicilerin olması durumunda benzer ataklar görülebilir ve bu ataklar hayatı tehdit edici olabilir (74, 87).

Geç başlangıçlı hastalar uzun dönem asemptomatik seyredip enfeksiyon, açlık, cerrahi stres gibi katabolizmanın arttığı durumlarda metabolik kriz ile karşımıza gelebilir. Ayrıca bu hastalarda sinsi bir seyir ile gelişme geriliği, psikomotor gerilik, büyüme geriliği, kronik gastrointestinal sorunlar, protein intoleransı, akut psikoz, kardiyomiyopati şeklinde bulgu verebilir (74, 88, 89).

Hastalığın her iki şeklinde de büyüme-gelişme geriliği, nöbet, piramidal (parapleji) ve ekstrapiramidal (distoni, koreatetoz, tremor) bulgular, pankreatit, kardiyomiyopati, uzun QT, anemi, lökopeni, trombositopeni, optik atrofi, işitme kaybı, osteopeni, osteoporoz, prematür ovaryan yetmezlik ve kronik böbrek yetmezliği görülebilir (74, 85). Klinik metabolik kriz veya nörokognitif bulgular olmadan izole kardiyomiyopati görülen hastalar da bildirilmiştir (90).

Tedavi

Akut metabolik kriz döneminde yüksek enerji alımı sağlanarak (intravenöz glukoz ve lipid ile) hastanın katabolik süreçten çıkarılması, sıvı-elektrolit ve asit-baz dengesinin sağlanması, diyetteki proteinin geçici olarak azaltılması/kesilmesi, hastanın krizini tetikleyen faktörün düzeltilmesi önerilmektedir. İntestinal propionik asit üretimini önlemek amacıyla intestinal trakt sterilizasyonu için antibiyotik (oral neomisin veya metronidazol) tedavisi verilmelidir. Karnitin tedavisine devam edilmeli hastanın durumuna göre intravenöz karnitin verilmelidir. Hiperamonyemi mevcut ise buna yönelik ajanlar (N-karbamilglutamat) verilmelidir. Bu tedavilere yanıt alınamayan durumlarda periton diyalizi, hemodiyaliz veya hemofiltrasyon uygulanabilir (74).

PA'lı hastaların uzun dönem tedavisinde yaşa ve cinsiyete uygun enerji alımını sağlayacak şekilde proteinden kısıtlı diyet verilmelidir. Propionat öncüllerini (izolösin, valin, metionin, treonin) içermeyen amino asit mama destekleri kullanılabilir. PA'lı hastalarda ikincil karnitin eksikliği görülebileceği için uzun

dönem tedavide oral karnitin (50-100 mg/kg/gün) önerilmektedir. Bağırsak bakterileri tarafından propionat üretimini önlemek için metronidazol tedaviye eklenmelidir. Amonyak düzeyi ataklar arasında genelde normal düzeye dönmektedir ve uzun dönemde hiperamonyemi tedavisine gereksinim duyulmamaktadır (74).

Sık metabolik kriz, kontrol edilemeyen hiperamonyemi, büyüme geriliği olan hastalarda tedavide ortotopik karaciğer transplantasyonu düşünülebilir (74).

İzlem

PA'lı hastalar yaş, cinsiyet ve hastalığın seyrine göre değişen sıklıklarda değerlendirilmelidir. Hastalar büyüme, beslenme, psikomotor gelişim, görme, işitme, kardiyak fonksiyon, hematolojik bulgular ve böbrek fonksiyonları açısından izlenmelidir. Hastanın mevcut durumu da göz önünde bulundurularak idrar organik asitleri, plazma amino asit düzeyleri, plazma serbest ve total karnitin düzeyi, tam kan sayımı, böbrek fonksiyon testleri değerlendirilmelidir (74).

PA otozomal resesif geçişli bir hastalık olduğu için aileye genetik danışmanlık verilmelidir (74).

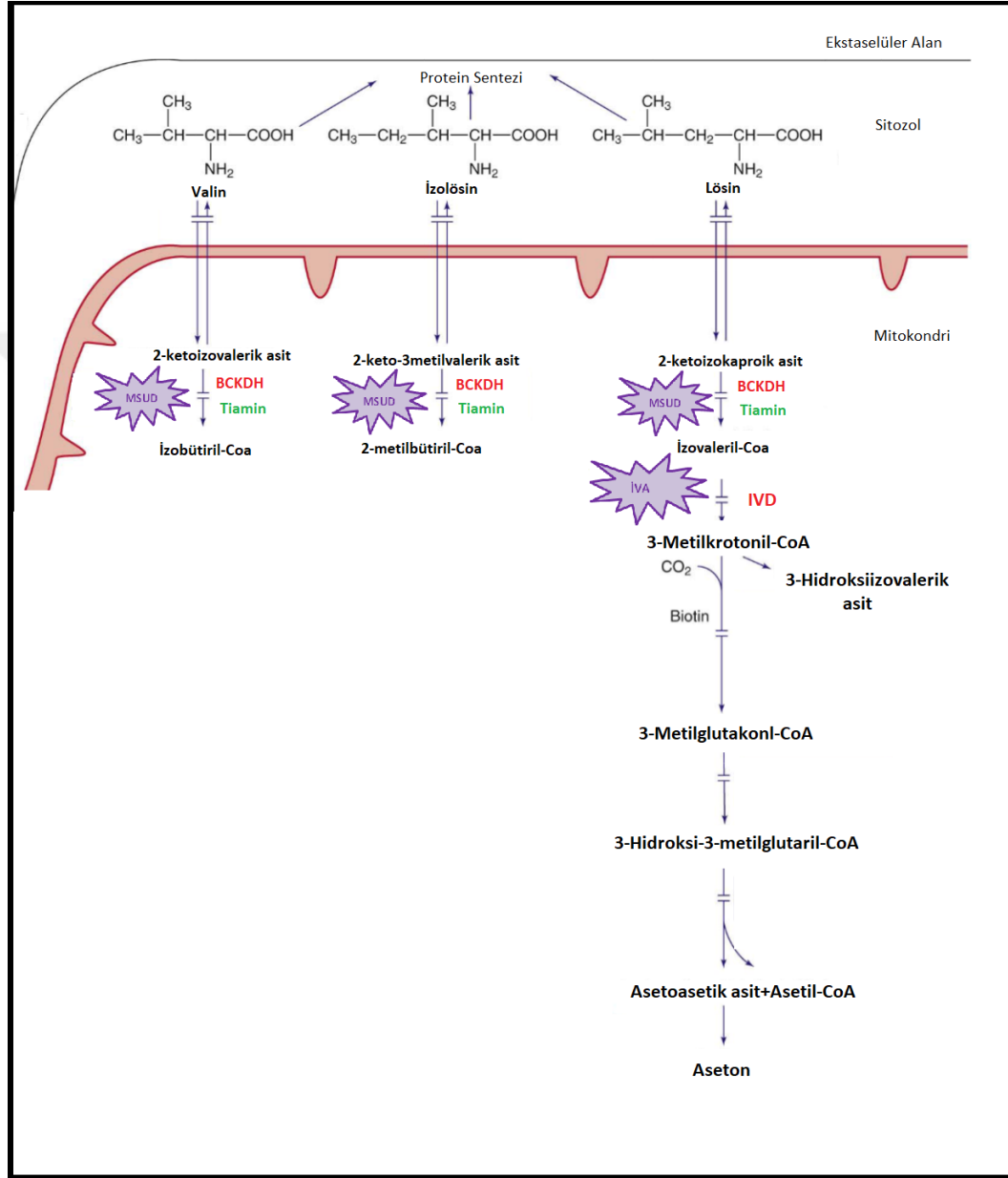
2.4. İzovalerik Asidemi

İzovalerik asidemi (İVA) (OMIM #243500) lösin katabolizmasında üçüncü basamakta görevli mitokondriyal bir enzim olan izovaleril-CoA dehidrogenaz (IVD) eksikliğinden kaynaklanan, izovalerik asit ve metabolitlerinin birikimi ile karakterize otozomal resesif kalıtım gösteren bir metabolik hastalıktır (Şekil 5) (91-95).

Homotetramerik intramitokondriyal bir flavoenzim olan IVD izvolaril-CoA'nın 3-metilkronotil-CoA'ya dönüşümünü ve elektronların elektron transfer flavoprotein aracılığıyla solunum zincirine transferini sağlar (Şekil 2.5) (96). IVD enzimi 15q14-15'te lokalize 12 exondan oluşan IVD geni tarafından kodlanmaktadır. IVD geninde birçok mutasyon tanımlanmıştır ve yenidoğan tarama programında tanı

alan hastaların çoğunda 9'uncu exonunda 932C>T (A282V) mutasyonu saptanmıştır (97-99).

Şekil 2.5. İzovalerik Asidemi Metabolik Yolağı



* Nelson Textbook of Pediatrics

Biyokimyasal Bulgular

İVA'lı hastalarda kanda ve idrarda birçok izovaleril-CoA metabolitinin artışı gösterilmiştir ancak plazmada izovalerilkarnitin ve idrarda izovalerilglisin artışı

karakteristiktir. Yenidoğan taramasında MS/MS yöntemi ile C5 açıl karnitin yüksekliği saptanır. İVA'lı hastalarda plazma lösin seviyesinde artış görülmez (99).

Akut dekompanzasyon döneminde serbest izovalerik asit düzeyi idrarda ve kanda normalin yüzlerce katına yükselebilir. Akut dönemde artmış anyon açıklı metabolik asidoz, hiperamonyemi, hipo/hiperglisemi, ketozis, sitopeni olabilir (91, 94, 95). Hiperglisemi, asidoz ve idrarda keton pozitifliği nedeniyle akut ataklar diyabetik ketoasidoz ile karıştırılabilir (100).

Klinik

Klinik fenotipe dayanarak akut neonatal, kronik intermittan ve asemptomatik olmak üzere üç tip İVA tanımlanmıştır. Akut neonatal şeklinde hastalar hayatın ilk günlerinde beslenme güçlüğü, kusma, letarji, nöbet gibi semptomlar gösterir. Bu dönemde tedavi edilmeyen hastalarda serebral ödem ve kanamaya bağlı koma, ölüm görülebilir. Akut dönemde hastanın terinde ve serumeninde terli ayak kokusu olabilir. Kronik intermittan şeklinde büyüme-gelişme geriliği, mental gerilik gibi nonspesifik bulgular görülür. Hayatın ilk günlerinde akut bir epizot geçirmiş olan hastalar ilerleyen yıllarda kronik intermittan şeklinden klinik olarak ayrılamayabilir ve her iki şeklinde hastalarda enfeksiyon, açlık gibi tetikleyici durumlarda akut dekompanzasyon epizodları görülebilir. Günümüzde İVA'lı hastaların akuttan kronik intermittan şekle geniş bir spektrumda klinik gösterebileceği düşünülmektedir (91, 94, 95, 99, 101). Literatürde İVA'lı hastalarda pankreatit, myeloproliferatif sendrom, Fanconi sendromu, kardiyak aritmi, globus pallidus anomalileri bildirilmiştir (102-106).

MS/MS yönteminin yenidoğan taramasında kullanılmaya başlanmasıyla hafif biyokimyasal özellikler (izovaleril-CoA metabolitlerinde hafif yükselme) gösteren ancak klinik olarak asemptomatik olan yeni bir İVA grubu tanımlanmıştır. Bu grubun yaklaşık üçte ikisinde genellikle birleşik heterozigot olarak 9'uncu exonda 932C>T (A282V) mutasyonu saptanmıştır. Bu hastaların ilerleyen yıllarda klinik bulgu gösterip göstermeyeceği henüz bilinmemektedir (97, 99).

Tedavi

Uzun dönem tedavide hastanın yaşına göre normal büyümesini sağlayacak enerji içeren, izovaleril-CoA üretimini azaltmak üzere proteinden veya lösinden kısıtlı diyet önerilmektedir. Bunu sağlayabilmek için lösün içermeyen amino asit mama desteği kullanılmalıdır. İzovaleril-CoA'nın idrarla atılabilen metaboliti izovalerilglisine dönüşümünü artırarak vücutta izovaleril-CoA birikimini azaltmak üzere 150-600 mg/kg/gün glisin önerilmektedir. Benzer şekilde izovaleril-CoA'nın izovalerilkarnitine dönüşümünü artırmak ve genellikle görülen ikincil karnitin eksikliğini önlemek amacıyla uzun dönem tedavide 50-100 mg/kg/gün karnitin verilmelidir (99, 107, 108).

Yenidoğan taramasıyla tanı almış 932C>T (A282V) mutasyonuna sahip hastalarda tedavi konusunda net öneriler mevcut değildir ancak stres durumlarında yakın izlemleri ve plazma serbest karnitin düzeyi düşük ise karnitin tedavisi önerilmektedir (99).

Akut dekompanzasyon döneminde yüksek enerji alımı sağlanarak hastanın katabolik süreçten çıkarılması, sıvı-elektrolit ve asit-baz dengesinin sağlanması, diyetteki lösünün geçici olarak azaltılması/kesilmesi, hastanın krizini tetikleyen faktörün düzeltilmesi önerilmektedir. Ayrıca karnitin tedavisi akut atak döneminde intravenöz olarak verilebilir (8).

İzlem

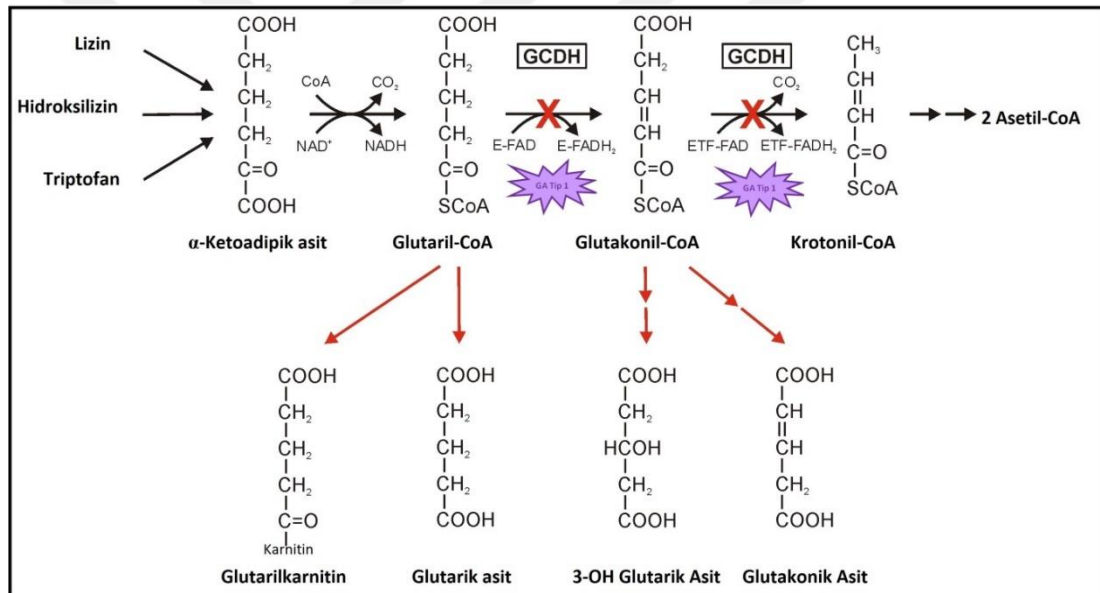
Hastaların izleminde kullanılan spesifik bir biyokimyasal belirteç yoktur. Hastaların büyüme ve gelişmesi, ek bulguların varlığı izlenmelidir. Beslenme ve malnütrisyon değerlendirmesi için plazma amino asit, albümin ve prealbumin düzeyleri kullanılabilir (99).

İVA otozomal resesif geçişli bir hastalık olduğu için aileye genetik danışmanlık verilmelidir (99).

2.5. Glutarik Asidüri Tip 1

Glutarik asidüri tip 1 (OMIM #231670) ilk kez 1975 yılında Goodman ve arkadaşları tarafından tanımlanmış, lizin, hidroksilizin, triptofan katabolizmasında görevli, flavin adenin dinükleotid bağımlı bir mitokondriyal matriks enzimi olan glutaril-CoA dehidrogenaz (GCDH) eksikliğinden kaynaklanan otozomal resesif kalıtım gösteren bir metabolik hastalıktır (Şekil 2.6) (109-112). GCDH 19p13.13'te lokalize GCDH geni tarafından kodlanmaktadır ve bu güne kadar 187 patojenik mutasyon tanımlanmıştır (113, 114). GA Tip 1 insidansı dünya genelinde yaklaşık 1:110000'dur (115, 116).

Şekil 2.6. Glutarik Asidüri Tip 1 Metabolik Yolağı



Patofizyoloji

GCDH lizin, hidroksilizin, triptofan katabolizmasında glutaril-CoA'nın glutakionil-CoA'ya, glutakionil-CoA'nın da krotonil-CoA'ya dönüşümünü katalize eder. Bu enzimde eksiklik olması sonucu vücut sıvılarında ve dokularda glutarik asit, 3-hidroksiglutarik asit, glutakionik asit ve glutarilkarnitin (C5DC) birikimi görülür (Şekil 2.6). İntraserebral glutarik asit ve 3-hidroksi glutarik asit birikiminin GA Tip 1'deki nörodejenrasyona sebep olabileceği düşünülmektedir (117).

Biyokimyasal ve Radyolojik Bulgular

GA Tip 1 biyokimyasal olarak vücut sıvılarında [idrar, plazma, beyin omurilik sıvısı (BOS)] ve dokularda glutarik asit, 3-hidroksiglutarik asit, glutakonik asit ve glutarilkarnitin (C5DC) birikimi ile karakterizedir. Bu birikimler idrar organik asit analizi ve plazma açıl karnitin analizi ile gösterilebilir. Kranial görüntülemelerde subdural kanama, bilateral temporal sıvı birikimi, bilateral araknoid kist sık görülen bulgulardır. Nöroradyolojik çalışmalarda GA Tip 1’li hastalarda yaşla birlikte ilerleme gösteren beyaz cevher lezyonları ve artmış intraserebral glutarik asit ve 3-hidroksi glutarik asit konsantrasyonları gösterilmiştir (118).

GA Tip 1 idrarda metabolit atılımına dayanarak iki alt gruba ayrılmıştır; (1) düşük atımlı, (2) yüksek atımlı. Her iki grup da benzer şekilde geniş bir spektrumda klinik özellikler gösterebilirler. GA Tip 1 tanısını doğrulamak için GCDH enzim aktivitesi ölçümü veya GCDH geninde mutasyon analizi yapılmalıdır (119-122).

Klinik

Yenidoğan ve süt çocukluğu döneminde hastaların yaklaşık yarısında hipotoni, motor gelişimde gecikme gibi nonspesifik nörolojik bulgular görülür. Klinik tabloyu genellikle ilk 6 yaşta görülen, ateşli hastalık, aşılama, cerrahi gibi stresler tarafından tetiklenen akut ensefalopatik kriz sonrası gelişen nörolojik sekeller oluşturmaktadır. Bu krizlerin karakteristik sekeli distoni, spastisite, hareket bozuklukları, epilepsi gibi farklı klinik tablolara sebep olabilen bilateral striatal zedelenmedir. Yaş ilerledikçe özellikle 6 yaştan sonra akut ensefalopatik krizlerin azaldığı görülmüştür (121, 123-125). Hastaların yaklaşık %75’inde makrosefali olmakla birlikte nonspesifik bir bulgudur (123). Subdural kanama, bitemporal araknoid kistler GA Tip 1’li hastalarda sık görülen diğer bulgulardır. Subdural kanama ve araknoid kistlerin cerrahi tedavisi ancak hayatı tehdit eden akut durumlarda düşünülmelidir (109, 120).

“*Insidious onset*” olarak adlandırılan hasta grubunda herhangi bir ensefalopatik kriz olmaksızın nörolojik hastalık gelişimi bildirilmiştir (124, 126-128). “*Late onset*” grubunda ise baş ağrısı, vertigo, ince motor becerilerde azalma gibi nonspesifik nörolojik semptomlar görülür, kranial manyetik rezonans görüntülemeye periventriküler beyaz cevher lezyonları mevcutken striatal zedelenme bulunmamaktadır (126, 128).

Tedavi

Uzun dönem tedavide yaşa ve hastanın bireysel gereksinimlerine göre gerekli günlük enerji, esansiyel amino asit, mineral ve mikrobisleyicileri sağlayan, glutarik asit ve 3-hidroksi glutarik asit üretimini azaltmak üzere lizinden kısıtlı diyet ve bunu sağlamak için lizin içermeyen, triptofandan kısıtlı amino asit mama desteği önerilmektedir. Diyet tedavisinin altı yaştan sonraki etkinliği sistematik çalışmalarla araştırılmamıştır ve bu konudaki bilgi oldukça kısıtlıdır. Altı yaştan sonra yaşa uygun kontrollü protein alımı ve lizinden zengin proteinlerden kaçınılması önerilmektedir. Glutarik asidin konjuge edilerek toksik olmayan glutaril karnitine dönüştürülmesi nedeniyle GA Tip 1’li hastalarda ikincil karnitin eksikliği görülmektedir. Başlangıç dozu 100 mg/kg/gün olacak şekilde ve plazma serbest karnitin düzeyinin normal aralıkta kalmasını sağlayacak doz ayarlamasıyla yaşam boyu oral karnitin tedavisi önerilmektedir. GCDH enzimi kofaktör olarak riboflavin kullanmaktadır ve bazı hastalarda riboflavin tedavisine biyokimyasal yanıt gözlenmiştir ancak riboflavine yanıtı değerlendirmede standardize bir protokol yoktur. Hareket bozukluğu ve distoni mevcut olan hastalarda baklofen, diazepam, klonazepam gibi ilaç tedavileri, kontraktür gelişmiş olan hastalarda bölgesel botulinum toksini enjeksiyonu, nöbet yakınması olan hastalarda hastanın nöbet semiyolojisine ve elektorensefalografi (EEG) bulgularına göre antiepileptik ajan kullanımı önerilmektedir. Valproik asit mitokondri fonksiyon bozukluğuna ve karnitin deplesyonuna sebep olabileceği için kaçınılmalıdır (109, 120).

Akut krizlerin tedavisinde yüksek enerji alımı sağlanarak hastanın katabolik süreçten çıkarılması, sıvı-elektrolit ve asit-baz dengesinin sağlanması, organik asit

üretimini azaltmak üzere doğal protein alımının geçici olarak azaltılması/kesilmesi, karnitin tedavisine devam edilmesi ve hastanın krizini tetikleyen faktörün düzeltilmesi önerilmektedir (109, 120).

Akut ensefalopatik kriz sonrası tanı alan hastalarda morbidite yüksek olsa da kriz öncesi tanı almış hastaların çoğu idame tedavi ile birlikte asemptomatik seyretmektedir (109, 121, 122, 124, 125, 127). Akut metabolik kriz sonrası sekel gelişmiş olan hastalarda da idame tedavi yeni kriz ve sekel gelişimini önlemektedir (121, 123-125) (129, 130) Tedavi önerilerine uyum gösteren hastalarda distoni seyrek olarak (%5) gelişmektedir. Tedavi uyumu olmayan hastalarda ise bu oran %44'e kadar çıkmaktadır (131). Dolayısıyla GA Tip 1 tedavi edilebilir bir hastalık olarak görülmekte ve kuru kan örneğinde MS/MS tekniği ile glutaril karnitin (C5DC) ölçümüne dayalı yenidoğan taraması birçok ulusal yenidoğan tarama programında yer almaktadır. Pozitif yenidoğan tarama sonuçlarında idrarda glutarik asit, 3-hidroksi glutarik asit kantitatif olarak ölçülmeli, enzim aktivitesi ve/veya moleküler analiz yapılarak tanı doğrulanmalıdır. GA Tip 1 yenidoğan taramasının amacı erken tanı ve tedavi ile geri dönüşümsüz nörolojik sekel riskini azaltmaktır (109, 132).

İzlem

GA tip 1'li hastalar genel pediatrist, metabolizma uzmanı, diyetisten ve gerekli olan durumlarda pediatrik nörolog, psikiyatrist, fizyoterapistten oluşan multidisipliner bir ekip tarafından izlenmelidir. Hastalar hayatın ilk yılında en az üç ayda bir, 1-6 yaş arası en az altı ayda bir, 6 yaştan sonra en az yılda bir değerlendirilmelidir. Büyüme ve gelişmeleri, tedaviye uyumu, nörolojik semptomları ve mevcut yakınmaları açısından yakından izlenmelidir. İzlemde plazma amino asitleri ve plazma karnitin düzeyi ölçülmelidir. İdrar organik asit (glutarik asit ve 3-hidroksi glutarik asit) atılımı hastaların kliniği ile korelasyon göstermediği için izlemde önerilmemektedir. Glutaril karnitin (C5DC) tarama amaçlı kullanılan bir belirteç olmakla birlikte hastaların izleminde herhangi bir yeri yoktur. Nörolojik bulgularda değişiklik olması durumunda nöroradyolojik inceleme yapılmalıdır (109, 120).

GA Tip 1 otozomal resesif geçişli bir hastalık olduğu için aileye genetik danışmanlık verilmelidir (109).

2.6. Kalıtsal Metabolik Hastalıkların Patofizyolojisinde Oksidatif Stres

Kalıtsal metabolik hastalıklar metabolik yolaklardaki enzim, protein veya taşıyıcılarda bir bozukluk olması sonucu bu yolaklarda duraksama ve buna bağlı bulguların görüldüğü bir grup hastalıktır (133). Bu hastalıkların patofizyolojisinde toksik metabolit birikimi, esansiyel metabolit eksikliği, enerji metabolizmasında bozulma, glutamat ilişkili eksitotoksiste, mitokondri fonksiyon bozukluğu gibi birçok mekanizmanın rol oynadığı düşünölmektedir (134, 135).

Sağlıklı dokularda serbest oksijen radikali üretimi ile antioksidan sistemler arasında bir denge vardır. Serbest radikal üretiminin arttığı, antioksidan sistemlerin yetersiz kaldığı durum oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır (11). Son yıllarda oksidatif stresin kalıtsal metabolik hastalıkların patofizyolojisinde rol oynadığı düşünölmeye başlanmıştır. Kalıtsal metabolik hastalıklarda artmış oksidatif stresin sebebi tam olarak anlaşılamamış olmakla birlikte toksik metabolit birikiminin serbest radikal üretiminde artışa ve hücrenin antioksidan kapasitesinde azalmaya neden olabileceği düşünölmektedir. Maleilasetoasetat (MAA) ve fumarilasetoasetat (FAA) tirozinemi tip 1’de biriken metabolitlerdir. Farelerde MAA ve FAA’ın karaciğer glutatyon seviyesinde azalmaya sebep olduğu gösterilmiştir. Ayrıca tip 1 tirozinemili hastalarda total antioksidan düzeyinin azaldığı görölmüştür (136, 137).

Kalıtsal metabolik hastalıkların birçoğunun tedavisinde yer alan proteinden kısıtlı diyetin antioksidan kapasitede azalmayla sonuçlanacak nutrisyonel eksikliklere sebep olabileceği bu konuda ileri sürölen bir başka hipotezdir. Fenilalaninden kısıtlı diyet alan fenilketonürlü hastalarda selenyum düzeyinin sağlıklı kontrollere göre daha düşük olduğu gözlenmiştir (138). Sonraki çalışmalarda fenilketonüri ve hafif hiperfenilalaninemili hastalarda selenyum düzeyi normal olsa bile vücuttaki antioksidan sistemin önemli bir enzimi olan erosit glutatyon peroksidaz aktivitesinin sağlıklı kontrol grubundan daha düşük olduğu görölmüştür (139). Hayvan çalışmalarında fenilketonürlü farelerin beyin dokusunda ve erositlerinde

antioksidan kapasitenin göstergesi olan glutatyonun düşük olduğu, artmış oksidatif stres göstergesi olan glutatyon disülfid düzeylerinin yüksek olduğu, lipid peroksidasyon göstergesi olan malondialdehit düzeylerinin artmış olduğu gösterilmiştir (136). Fenilketonürlü hastalarda yapılan bir başka çalışmada ise tedavi uyumu düşük olan hasta grubunda glutatyon peroksidaz ve koenzim Q10 düzeylerinin sağlıklı kontrol grubuna göre düşük olduğu, L-karnitin düzeyinin tedavi uyumu iyi olan hastalara göre düşük olduğu gözlenmiştir ve tedavi uyumu düşük olan hasta grubunun oksidatif strese açık olduğu vurgulanmıştır (140).

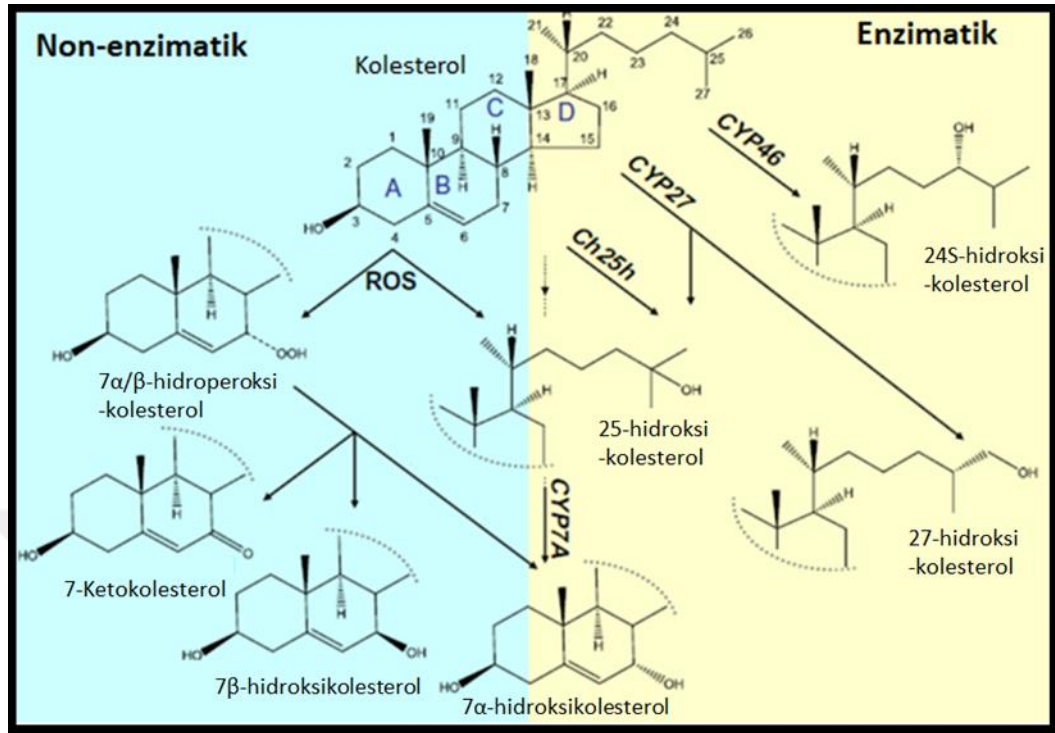
Üre döngüsü bozukluklarında oksidatif stresin araştırıldığı in vitro fare çalışmalarında L-sitrülinin fare beyinde total radikal bağlayıcı antioksidan kapasite ve total antioksidan reaktiviteyi, amonyağın total antioksidan reaktiviteyi azalttığı görülmüştür (141). Bir başka çalışmada ise parenteral arjinin uygulanarak arjininemi tablosu oluşturulan farelerin beyinlerinde antioksidan enzim olan katalaz aktivitesinde düşüş olduğu gözlenmiştir (142).

Organik asidemilerle oksidatif stresin ilişkisini inceleyen az sayıda çalışma bulunması göz önünde bulundurularak bu çalışmada organik asidemili hastalarda oksidatif stres belirteci olarak oksisterollerin ölçülmesi planlandı.

2.7. Oksisteroller

Oksisteroller kolesterolün enzimatik veya non-enzimatik oksidasyonu sonucu oluşan türevleridir. Bazı oksisteroller hem enzimatik hem de non-enzimatik olarak oluşabilir (143). Kolesterolün enzimatik oksidasyonu birçoğu sitokrom (CYP) P450 ailesine ait olan enzimler tarafından gerçekleştirilir (Şekil 2.7) (144).

Şekil 2.7. Oksisteroller



Kolesterolün non-enzimatik oksidasyonu ise serbest radikaller aracılığıyla olmakta ve dolayısıyla oksisterollerin in vivo oksidatif stresin non-invaziv göstergesi olabileceği düşünülmektedir. Non-enzimatik kolesterol oksidasyonu hücre membranında veya lipoproteinlerde gerçekleşebilir. Hücre membranındaki oksisterol:kolesterol oranı oldukça düşüktür. Oksisterol miktarındaki değişiklikler hücre membran yapısında ve işlevinde, protein, şeker, nükleik asit gibi diğer bileşenlerin yapısında ve işlevinde değişikliğe sebep olarak zedelenmeye yol açabilir, reseptör proteinlerle ilişkiye girerek işlevlerini değiştirebilir. Bu kaskadın lipid peroksidasyonunun kardiyovasküler hastalıklar, nörolojik hastalıklar, kanser ve yaşlanma gibi durumlardaki patofizyolojik rolünü açıklayabileceği düşünülmektedir (143, 145-148).

2.7.1. Oksidatif Stres Biyobelirteci olarak Oksisteroller

Serbest radikal üretiminin artması ve/veya antioksidan sistemlerin yetersiz kalması sonucu bu iki sistem arasındaki dengenin bozulması oksidatif stres olarak

tanımlanmaktadır (11). Serbest radikallerin ve yüksek reaktif türlerin yarı ömrünün kısa olması sistemlerdeki ölçümlerini zorlaştırmaktadır. Bu nedende geçmiş yıllarda amino asit, karbonhidrat, nükleik asit gibi bileşenlerin oksidasyon ürünleri oksidatif stres göstergesi olarak kullanılmıştır. Enzimatik reaksiyonlar ile oluşan ürünlerin in vivo oksidatif stresin güvenilir bir göstergesi olamayacağı göz önünde bulundurularak kolesterolün non-enzimatik yollarla oluşan oksidasyon ürünlerinin bu amaçla kullanılabileceği düşünülmüştür. Kolesterolün non-enzimatik oksidasyon basamaklarına bakıldığında 7- β -hidroksikolesterol, 7-ketokolesterol, epoksikolesterol ve kolestantriol zincir reaksiyonunun son ürünleri olmaları nedeniyle in vivo oksidatif stresin güvenilir non-invaziv biyobelirteçleri olarak kullanılabilirler (11, 143, 149-151).

Kalıtsal metabolik hastalıkların patofizyolojisinde oksidatif stresin rol oynadığının bilinmesi, organik asidemilerle oksidatif stresin ilişkisini inceleyen az sayıda çalışma bulunması ve oksisterollerin in vivo oksidatif stresin güvenilir biyobelirteçleri olması nedeniyle bu çalışmada organik asidemili hastalarda oksisteroller (7-ketokolesterol, kolestan-3 β ,5 α ,6 β -triol) LC-MS/MS yöntemi ile incelendi. Literatürde organik asidemili hastalarda plazma oksisterol düzeylerinin incelenmesi ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır ve çalışmamız ilk olmuştur.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grupları

Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı'na Aralık 2016-Aralık 2017 tarihleri arasında rutin kontrol amacıyla başvuran ve çalışmaya katılmayı kabul eden organik asidemili hastalar, Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Acil Polikliniği'ne Aralık 2016-Aralık 2017 tarihleri arasında herhangi bir şikayetle başvuran ve çalışmaya katılmayı kabul eden organik asidemili hastalar ve Hacettepe Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Genel Pediatri polikliniğine Aralık 2016-Aralık 2017 tarihleri arasında başvuran ve çalışmaya katılmayı kabul eden sağlıklı kontrol grubu çalışmaya dahil edildi. Toplam 111 hasta ve 100 sağlıklı kontrol çalışmaya alındı.

3.1.1. Hastaların Tanılarına göre Gruplandırılması

Hastalar tanılarına göre MSUD, MMA, PA, İVA, GA Tip 1 olmak üzere beş alt grupta incelendi. Hastaların 43'ü (%38,7) MSUD, 26'sı (%23,4) MMA, 13'ü (%11,7) PA, 13'ü (%11,7) İVA ve 16'sı (%14,4) GA Tip 1 idi.

3.1.2. Hastaların Başvuru Polikliniğine Göre Gruplandırılması

Hastalar başvuru polikliniklerine göre rutin poliklinik kontrol (RPK) grubu, çocuk acil polikliniği (ÇAP) grubu olmak üzere iki alt grupta incelendi. 99 hasta rutin poliklinik kontrolü esnasında, beş hasta çocuk acil polikliniği başvurusu esnasında ve yedi hasta hem rutin poliklinik kontrolü hem çocuk acil polikliniği başvurusu esnasında çalışmaya dahil edildi. RPK grubunda 106, ÇAP grubunda 12 hasta değerlendirildi.

3.2. Örneklerin Toplanması

99 hastadan rutin poliklinik kontrolü esnasında, beş hastadan çocuk acil polikliniği başvurusu esnasında ve yedi hastadan hem rutin poliklinik kontrolü hem çocuk acil polikliniği başvurusu esnasında olmak üzere hastalardan toplam 118 kan ve idrar örneği alındı. 100 sağlıklı kontrolden 100 kan örneği alındı.

3.3. LC-MS/MS Yöntemi ile Plazma Oksisterol Analizi

100 sağlıklı kontrolden ve 111 organik asidemi tanısı almış hastadan kan örnekleri etilendiamintetraasetik asit dipotasyum (EDTA-K2) içeren tüplere alındıktan sonra bekletilmeden santrifüj edilerek plazma ayrıldı ve çalışmaya alınana kadar -80°C’de saklandı.

Çalışma ve kontrol gruplarından alınan plazma örneklerinde kantitatif olarak 7-ketokolesterol (7-KC) ve kolestan-3 β ,5 α ,6 β -triol (K-triol) Jiang ve arkadaşlarının metoduna dayalı olarak LC-MS/MS yöntemi ile (Shimadzu) ölçüldü (152-154). Bu yöntemde plazma örneklerinin saponifikasyonu gerekli değildi ve sadece serbest ve esterlenmemiş oksisterol türleri ölçüldü. İnsan plazmasındaki oksisterol türlerinin kütle/yük tespiti yapıldı. 7-KC ve K-triol’ün iyonizasyon ve fragmentasyonunu artırmak için plazma 7-KC ve K-triol N,N-dimetilglisin esterleri ile türevlendirildi. İç standart olarak 3 β ,5 α ,6 β -trihidroksikolestan D7 (Toronto Research Chemicals, Toronto, Kanada) ve 3 β -hidroksi-5-kolestan-7-one D7 (Avanti Polar Lipids, Alabaster, AL, ABD) kullanıldı. Miktar tayini için sekiz düzey kalibratör (3,12-400 ng/mL) hazırlandı. Kalite kontrol olarak 7-KC ve K-triol’ün sırasıyla 40/40 ve 150/150 ng/mL endojen düzeylerinin elde edildiği plazmalar kullanıldı. Kromatografik ayırtırmada lineer asetronitril gradienti (pH 3; 1 mM amonyum format) kullanıldı. C18 kolonunda (100 mm x 2,1 mm, 5 μ m) (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, ABD) kromatografik ayırım yapıldı. Kütle spektrometre analizi elektrosprey iyonizasyon (ESI) kaynağı kullanılarak pozitif iyonizasyon modunda yapıldı. 7-KC ve K-triol düzeyleri 50 mL’lik plazmada belirlendi. Örnekler üç aşamada hazırlandı: faz bir protein presipitasyonu, ayırtırma ve kurutma, faz iki türevlendirme ve faz üç LC ile örneklerin temizlenmesini içeriyordu.

3.4. Biyokimyasal Parametreler

Hasta kan örneklerinde eş zamanlı tam kan sayımı, eritrosit sedimentasyon hızı (ESR), C-reaktif protein (CRP), serum total kolesterol, serum LDL, serum trigliserid, kan gazı ölçümü yapıldı. Hasta idrar örneklerinde eş zamanlı keton ve ketoasit olup olmadığı araştırıldı.

Kontrol kan örneklerinde eş zamanlı tam kan sayımı, ESR, CRP, serum total kolesterol, serum LDL, serum trigliserid ölçümü yapıldı.

3.5. Çalışma Kaynakları

Hasta bilgileri arşiv dosyalarından, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi İhsan Doğramacı Çocuk Hastanesi Nucleus veri tabanı enformasyon sisteminden, hasta ve hasta ailelerinden edinildi.

3.6. İstatiksel Yöntemler

Araştırma verisi “SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 22.0 (SPSS Inc, Chicago, IL)” aracılığıyla bilgisayar ortamına yüklendi ve değerlendirildi. Tanımlayıcı istatistikler ortalama±standart sapma, ortanca (minimum-maksimum) ve yüzde olarak sunuldu. Kategorik değişkenlerin değerlendirmesinde Pearson Ki-Kare Testi ve Fisher’in Kesin Testi uygulandı. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu görsel (histogram ve olasılık grafikleri) ve analitik yöntemler (Kolmogorov-Smirnov/Shapiro-Wilk Testi) kullanılarak incelendi. Normal dağılıma uyan değişkenler için iki bağımsız grup arası farklar bağımsız gruplarda T testi, ikiden fazla bağımsız grup arası farklar ise tek yönlü varyans analizi ile belirlendi. Normal dağılıma uymadığı saptanan değişkenler için; iki bağımsız grup arasındaki istatistiksel anlamlılıklarda Mann-Whitney U Testi, üç bağımsız grup arasında ise; Kruskal Wallis Testi istatistiksel yöntem olarak kullanıldı. Aynı hastaların RPK-ÇAP arası farklılıkları Wilcoxon testi ile değerlendirildi. Sayısal değişkenler arası ilişki normal dağılıma uygunluk olması

durumunda Pearson korelasyon katsayısı ile, olmaması durumunda ise Spearman korelasyon katsayısı ile belirlendi. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p<0,05$ olarak kabul edildi.



4. BULGULAR

4.1. Organik Asidemili Hastaların ve Kontrol Grubunun Demografik Özellikleri

Çalışmaya 111 hasta ve 100 sağlıklı kontrol dahil edildi. İncelenen hastaların 58'i (%52,3) kız, 53'ü (%47,7) erkekti. Kontrol grubunun 46'sı (%46) kız, 54'ü (%54) erkekti. Hasta yaşı ortalama 100 ay (min-maks 3-214), kontrol yaşı ortalama 106,5 ay (2-361) idi. Hasta ve kontrol grubu arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Hasta ve kontrol grubunun yaş ve cinsiyet dağılımı Tablo 4.1'de verilmiştir.

Tablo 4.1. Organik Asidemili Hastaların ve Kontrol Grubunun Demografik Özellikleri

	Hasta n: 111	Kontrol n: 100	p Değeri
Kız : Erkek	58:53	46:54	0,364
Yaş (ay) Ortanca (min-maks)	100 (3-214)	106,5 (2-361)	0,889

111 hastanın dördü kardeş öyküsü nedeniyle, ikisi yenidoğan tarama programından fenilalanin yüksekliği nedeniyle yönlendirilmesi sonucu yapılan kan amino asit kromatografisi sonucu ile ve ikisi pilot genişletilmiş yenidoğan tarama programı ile asemptomatik dönemde tanı almıştı. Semptomatik dönemde tanı alan 103 hastanın 89'unda tanı öncesi ilk semptom bilgilerine ulaşıldı. Tanı öncesi ilk semptom yaşının ortalama 7 gün (min-maks 1-2670 gün) olduğu görüldü. 89 hastanın 47'sinde (%52,8) beslenememe, 29'unda (%32,6) hipotonisite-hipoaktivite, 27'sinde (%30,3) kusma, 18'inde (%20,2) inleme-takipne, 18'inde (%20,2) nöbet, 17'sinde (%19,3) ağlama-huzursuzluk, 12'sinde (%13,5) ateş, 11'inde (%12,4) ishal, 8'inde (%9) sarılık, 4'ünde (%4,5) anormal koku, 3'ünde (%3,4) öksürük, 2'sinde makrosefali (%2,2) ve 1'inde (%1,1) karın ağrısı ilk semptomdu. Hastalarda tanı öncesi görülen ilk semptomlar ve sıklıkları Tablo 4.2'de verilmiştir.

Tablo 4.2. Organik Asidemili Hastalarda Tanı Öncesi İlk Semptom

Semptom	n (%)
Beslenememe	47 (%52,8)
Hipotonisite-hipoaktivite	29 (%32,6)
Kusma	27 (%30,3)
İnleme-takipne	18 (%20,2)
Nöbet	18 (%20,2)
Ağlama-huzursuzluk	17 (%19,3)
Ateş	12 (%13,5)
İshal	11 (%12,4)
Sarılık	8 (%9)
Anormal koku	4 (%4,5)
Öksürük	3 (%3,4)
Makrosefali	2 (%2,2)
Karın ağrısı	1 (%1,1)

Hasta grubunda tanı yaşı ortalıca 22,5 gün (min-maks 1-5400), tanı sonrası izlem süresi ortalıca 91 ay (min maks 1-382) idi.

111 hastanın 105'inde anne-baba arasındaki akrabalığa ilişkin bilgiye ulaşıldı ve 105 hastanın 90'ında (%85,7) anne-baba arasında akrabalık varken 15'inde (%14,3) anne-baba arasında akrabalık yoktu. Anne-baba arasında akrabalık olan 90 hastanın 87'sinde akrabalık derecesinin bilgisine ulaşıldı ve bu 87 hastanın 55'inin (%63,2) anne-babası arasında birinci derece kuzen akrabalığı varken 32'sinin (%36,8) anne-babası arasında ikinci ve daha uzak derecelerde akrabalık mevcuttu.

Doğum vücut ağırlığı bilgisine ulaşılabilen 96 hastanın ortanca doğum vücut ağırlığı 3200 g (min-maks 1600-4500) idi.

Hastaların 43'ü (%38,7) MSUD, 26'sı (%23,4) MMA, 13'ü (%11,7) PA, 13'ü (%11,7) İVA ve 16'sı (%14,4) GA Tip 1 idi. Ortanca yaş MSUD'li hastalarda 99 ay, MMA'lı hastalarda 103 ay, PA'lı hastalarda 61 ay, İVA'lı hastalarda 145 ay ve GA Tip 1'li hastalarda 116 aydı. Organik asidemi tanı alt gruplarında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Hasta tanı alt grupları tanı dağılımları, yaş ve cinsiyet özellikleri Tablo 4.3'te verilmiştir.

Tablo 4.3. Organik Asidemi Tanı Alt Gruplarında Demografik Özellikler

	MSUD	MMA	PA	İVA	GA Tip 1	Toplam	P Değeri
Sayı	43	26	13	13	16	111	-
(%)	(%38,7)	(%23,4)	(%11,7)	(%11,7)	(%14,4)	(%100)	
Kız:	24:19	13:13	6:7	7:6	8:8	58:53	0,972
Erkek							
Yaş (ay)							
Ortanca	99	103	61	145	116	100	0,245
(min- maks)	(2-304)	(9-300)	(23-205)	(9-361)	(15-266)	(2-361)	

Hasta tanıları moleküler genetik yöntemler ve enzim çalışmaları ile doğrulanmıştı ve çalışma grubundaki 111 hastanın 84'ü moleküler genetik yöntemlerle tanı almıştı. Hastalarda görülen mutasyonlar ve dağılımları Ek 1'de verilmiştir.

Hastaların 99'u (%89,2) rutin poliklinik kontrolü esnasında, 5'i (%4,5) çocuk acil polikliniği başvurusu esnasında ve 7'si (%6,3) hem rutin poliklinik kontrolü hem çocuk acil polikliniği başvurusu esnasında çalışmaya dahil edildi. 99 hastadan rutin

poliklinik kontrolü esnasında, beş hastadan çocuk acil polikliniği başvurusu esnasında ve yedi hastadan hem rutin poliklinik kontrolü hem çocuk acil polikliniği başvurusu esnasında olmak üzere hastalardan toplam 118 kan ve idrar örneği alındı.

Rutin poliklinik kontrolü (RPK) grubunda 106, çocuk acil polikliniği (ÇAP) grubunda 12 hasta değerlendirildi. RPK grubunun 54'ü kız (%50,9), 52'si (%49,1) erkek, ÇAP grubunun 8'i (%66,7) kız 4'ü (%33,3) erkekti. RPK grubunda ortalama hasta yaşı 102,5 ay (min-maks 2-361), ÇAP grubunda ortalama hasta yaşı 105,5 (min-maks 35-185) idi. RPK ve ÇAP grubu arasında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. RPK ve ÇAP grubunun yaş ve cinsiyet dağılımları Tablo 4.4'te verilmiştir.

Tablo 4.4. RPK ve ÇAP Grubunun Demografik Özellikleri

	RPK n: 106	ÇAP n: 12	p Değeri
Kız : Erkek	54:52	8:4	0,466
Yaş (ay) Ortanca (min-maks)	102,5 (2-361)	105,5 (35-185)	1,0

Rutin poliklinik kontrolü esnasında çalışmaya dahil edilen 106 hastanın yakınmaları sorgulandığında 5'inde (%4,7) burun akıntısı, 4'ünde (%3,8) öksürük, 2'sinde (%1,9) kusma, 1'inde (%0,9) ishal, 1'inde (%0,9) ateş, 1'inde (%0,9) döküntü yakınması olduğu öğrenildi, hastaların hiç birinde karın ağrısı, beslenememe, halsizlik yakınması yoktu.

Çocuk acil polikliniğine herhangi bir yakınma ile başvuru esnasında çalışmaya dahil edilen 12 hastanın 10'unda (%83,3) kusma, 5'inde (%41,7) öksürük, 3'ünde (%25) ateş, 3'ünde (%25) burun akıntısı, 2'sinde (%16,7) karın ağrısı, 1'inde (%8,3) ishal, 1'inde (%8,3) beslenememe ve 1'inde (%8,3) halsizlik yakınması mevcuttu, hastaların hiç birinde döküntü yakınması yoktu.

RPK grubu ve ÇAP grubunda görülen yakınmalar ve sıklıkları Tablo 4.5'te verilmiştir.

Tablo 4.5. RPK Grubu ve ÇAP Grubunda Görülen Yakınmalar ve Sıklıkları

	RPK n (%)	ÇAP n (%)
Ateş	1 (0,9)	3 (%25)
Kusma	2 (%1,9)	10 (%83,3)
İshal	1 (0,9)	1 (%8,3)
Karın Ağrısı	0	2 (%16,7)
Öksürük	4 (%3,8)	5 (%41,7)
Burun akıntısı	5 (%4,7)	3 (%25)
Beslenememe	0	1 (8,3)
Halsizlik	0	1 (%8,3)
Döküntü	1 (%0,9)	0

RPK grubunun 41'i (%38,7) MSUD, 25'i (%23,6) MMA, 11'i (%10,4) PA, 13'ü (%12,3) İVA ve 16'sı (%15,1) GA Tip 1 idi ve RPK grubunda organik asidemi tanı alt gruplarında yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. RPK grubunda tanı alt gruplarında yaş ve cinsiyet dağılımı Tablo 4.6'da verilmiştir.

Tablo 4.6. RPK Grubunda Tanı Alt Gruplarında Demografik Özellikler

	MSUD	MMA	PA	İVA	GA Tip 1	Toplam	P Değeri
Kız: Erkek	22:19	12:13	5:6	7:6	8:8	54:52	0,983
Yaş (ay) Ortanca (min- maks)	99 (2-304)	100 (9-300)	61 (23-205)	145 (9-361)	116,5 (15-266)	102,5 (2-361)	0,338

4.2. Organik Asidemili Hastaların ve Kontrol Grubunun Biyokimyasal Özellikleri

Çalışmaya toplam 111 hasta ve 100 sağlıklı kontrol dahil edildi. 99 hastadan rutin poliklinik kontrolü esnasında, beş hastadan çocuk acil polikliniği başvurusu esnasında ve yedi hastadan hem rutin poliklinik kontrolü hem çocuk acil polikliniği başvurusu esnasında olmak üzere hastalardan toplam 118 kan ve idrar örneği alındı. Rutin poliklinik kontrolü (RPK) grubunda 106, çocuk acil polikliniği (ÇAP) grubunda 12 hasta değerlendirildi.

Hasta ve kontrol grubunun biyokimyasal özelliklerine bakıldığında RPK grubunun ortalama serum LDL düzeyi 90,67 mg/dL, kontrol grubunun ortalama serum LDL düzeyi 97,85 mg/dL olarak bulundu ve her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,022$). Ortalama serum trigliserid düzeyi RPK grubunda 129,06 mg/dL, kontrol grubunda 79,54 mg/dL olarak bulundu ve RPK grubunun serum trigliserid düzeyi kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı ölçüde yüksekti ($p=0,002$). Ortalama serum total kolesterol düzeyi RPK grubunda 152,55 mg/dL, kontrol grubunda 164,166 mg/dL olarak bulundu ve her iki grup arasında total kolesterol düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. RPK grubunun ortalama eritrosit sedimentasyon hızı 6,10 mm/saat, kontrol

grubunun ortalama eritrosit sedimentasyon hızı 6,85 mm/saat olarak bulundu ve her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p=0,039$). RPK grubunun ortalama CRP düzeyi 0,43mg/dL, kontrol grubunun ortalama CRP düzeyi 1,40 mg/dL olarak bulundu ve her iki grup arasında CRP düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p=0,193$). RPK grubu ve kontrol grubunun biyokimyasal özellikleri Tablo 4.7’de verilmiştir.

Tablo 4.7. RPK Grubunun ve Kontrol Grubunun Biyokimyasal Özellikleri

	RPK n: 106	Kontrol n: 100	p Değeri
LDL (mg/dL) Ortalama$\pm$SS	90,67 $\pm$ 24,63	97,85 $\pm$ 19,48	0,022
Trigliserid (mg/dL) Ortalama$\pm$SS	129,06 $\pm$ 102,69	79,54 $\pm$ 34,57	0,002
Total kolesterol (mg/dL) Ortalama$\pm$SS	152,55 $\pm$ 35,99	164,166 $\pm$ 23,36	0,134
ESR (mm/saat) Ortalama$\pm$SS	6,10 $\pm$ 5,89	6,85 $\pm$ 5,40	0,039
CRP (mg/dL) Ortalama$\pm$SS	0,43 $\pm$ 1,32	1,40 $\pm$ 11,43	0,193

RPK grubu ve ÇAP grubunun biyokimyasal parametrelerine bakıldığında RPK grubunun ortalama serum LDL değeri 90,67 mg/dL ÇAP grubunun ortalama serum LDL değeri 87,00 mg/dL olarak bulundu ve her iki grup arasında serum LDL değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. RPK grubunun ortalama serum trigliserid değeri 129,06 mg/dL ÇAP grubunun ortalama serum trigliserid değeri 125,08 mg/dL olarak bulundu ve her iki grup arasında serum trigliserid değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. RPK grubunun ortalama serum total kolesterol değeri 152,55 mg/dL ÇAP grubunun ortalama serum total kolesterol değeri 141,18 mg/dL olarak bulundu ve her iki grup arasında serum total kolesterol değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. RPK grubunun ortalama

eritrosit sedimentasyon hızı 6,10 mm/saat ÇAP grubunun ortalama eritrosit sedimentasyon hızı 11,30 mm/saat olarak bulundu ve her iki grup arasında eritrosit sedimentasyon hızı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. RPK grubunun ortalama CRP düzeyi 0,43 mg/dL ÇAP grubunun ortalama CRP düzeyi 2,64 mg/dL olarak bulundu ve her iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$). RPK grubu ve ÇAP grubunun biyokimyasal özellikleri Tablo 4.8’de verilmiştir.

Tablo 4.8. RPK ve ÇAP Grubunun Biyokimyasal Özellikleri

	RPK n: 106	ÇAP n: 12	p Değeri
LDL (mg/dL) Ortalama±SS	90,67±24,63	87,00±28,34	0,482
Trigliserid (mg/dL) Ortalama±SS	129,06±102,69	125,08±46,98	0,338
Total kolesterol (mg/dL) Ortalama±SS	152,55±35,99	141,18±52,56	0,952
ESR (mm/saat) Ortalama±SS	6,10±5,89	11,30±11,32	0,077
CRP (mg/dL) Ortalama±SS	0,43±1,32	2,64±3,03	<0,001

RPK tanı alt gruplarının biyokimyasal parametrelerine bakıldığında ortalama serum LDL düzeyi MSUD’li hastalarda 84,14 mg/dL, MMA’lı hastalarda 91,20 mg/dL, PA’lı hastalarda 93,72 mg/dL, İVA’lı hastalarda 111,76 mg/dL, GA Tip 1’li hastalarda 87,35 mg/dL olarak bulundu. Gruplar arasında serum LDL değeri açısından MSUD ve İVA arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü ($p=0,010$). Ortalama serum trigliserid değeri MSUD’li hastalarda 128,90 mg/dL, MMA’lı hastalarda 157,16 mg/dL, PA’lı hastalarda 102,63 mg/dL, İVA’lı hastalarda 134,30 mg/dL, GA Tip 1’li hastalarda 99,50 mg/dL olarak bulundu. Gruplar arasında serum trigliserid değeri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu. Ortalama

serum total kolesterol değeri MSUD'li hastalarda 143,68 mg/dL, MMA'lı hastalarda 152,16 mg/dL, PA'lı hastalarda 158,45 mg/dL, İVA'lı hastalarda 184,23 mg/dL, GA Tip 1'li hastalarda 146,12 mg/dL olarak bulundu. MSUD ve İVA alt grupları arasında serum total kolesterol düzeyinin istatistiksel olarak anlamlı ölçüde farklı olduğu görüldü ($p=0,008$). RPK grubunda tanı alt gruplarının biyokimyasal özellikleri Tablo 4.9'da verilmiştir.

Tablo 4.9. RPK Grubunda Tanı Alt Gruplarında Biyokimyasal Özellikler

	MSUD n: 41	MMA n: 25	PA n: 11	İVA n: 13	GA Tip 1 n: 16	P Değeri
LDL (mg/dL) Ortalama±SS	84,14 ±21,41	91,20 ±21,99	93,72 ±33,35	111,76 ±27,51	87,35 ±19,59	0,010
Trigliserid Ortalama±SS	128,90 ±128,79	157,16 ±108,27	102,63 ±51,59	134,30 ±68,38	99,50 ±50,30	0,198
Total Kolesterol (mg/dL) Ortalama±SS	143,68 ±31,58	152,16 ±33,39	158,45 ±47,60	184,23 ±42,90	146,12 ±22,11	0,008

4.3. Organik Asidemili Hastalar ve Kontrol Grubunun Plazma Oksisterol Düzeylerinin Karşılaştırılması

Çalışma kapsamında 106 organik asidemili hastadan rutin poliklinik kontrolü esnasında kan örneği alındı. RPK grubunun ortalama plazma 7-KC ve K-triol değerleri sırasıyla 36,85 ng/mL ve 21,69 ng/mL olarak bulundu. Kontrol grubunun ortalama plazma 7-KC ve K-triol değerleri sırasıyla 21,53 ng/mL ve 9,39 ng/mL olarak bulundu. Her iki grup karşılaştırıldığında RPK grubunun plazma 7-KC ve K-triol değerlerinin kontrol grubunun plazma 7-KC ve K-triol değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek olduğu görüldü (sırasıyla $p<0,001$ ve $p<0,001$).

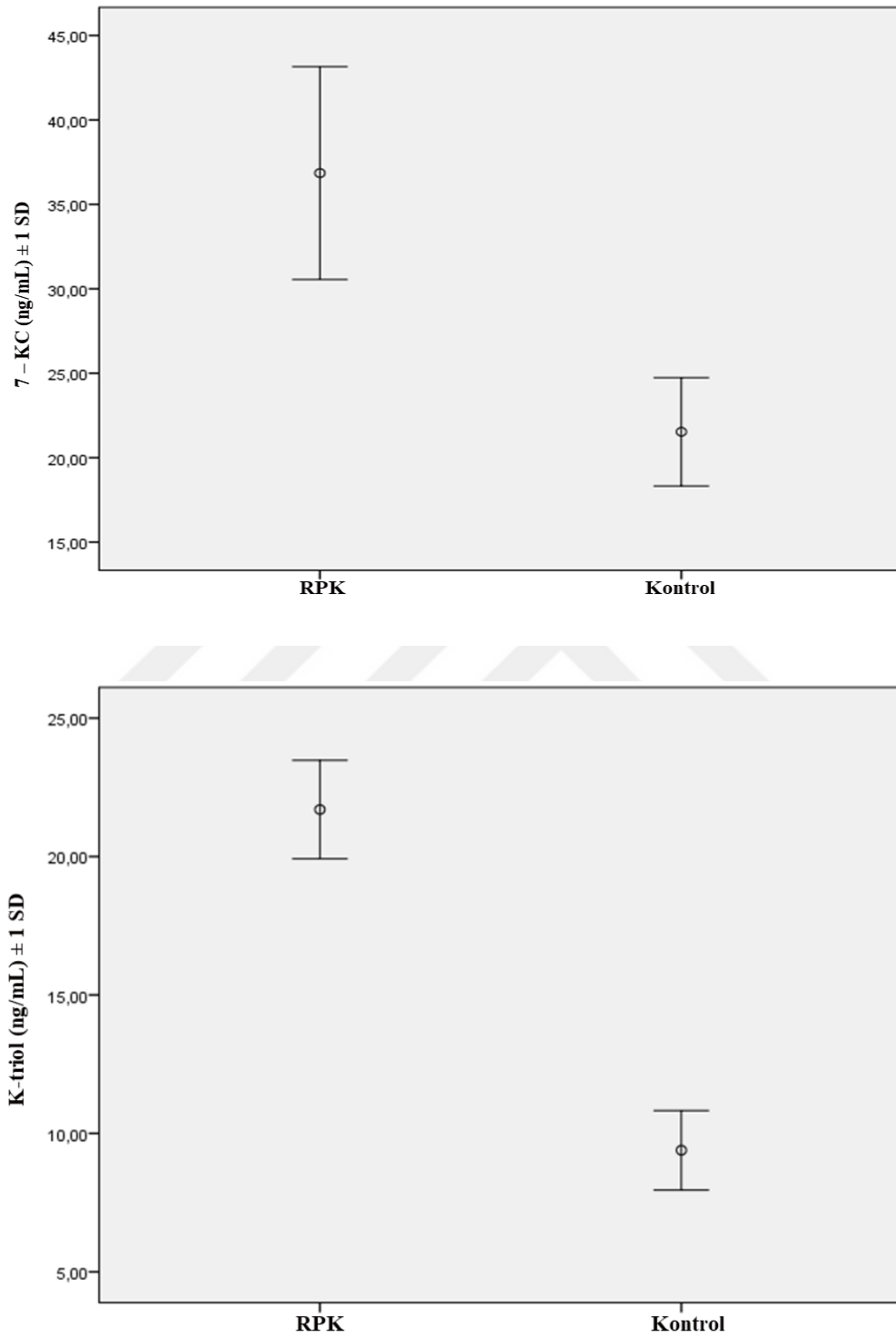
RPK grubu ve kontrol grubunun plazma oksisterol düzeyleri Tablo 4.10'da verilmiştir.

Tablo 4.10. RPK Grubu ve Kontrol Grubunun Plazma Oksisterol Düzeyleri

	RPK n: 106	Kontrol n: 100	p Değeri
7-KC (ng/mL) Ortalama ± SD	36,85±6,30	21,53±3,20	<0,001
K-triol (ng/mL) Ortalama ± SD	21,69±1,77	9,39±1,43	<0,001

RPK grubu ve kontrol grubunun plazma 7-KC ve K-triol düzeylerinin karşılaştırılması Şekil 4.1'de verilmiştir.

Şekil 4.1. RPK Grubu ve Kontrol Grubunun Plazma 7-KC ve K-triol Düzeylerinin Karşılaştırılması



4.4. Organik Asidemili Hastalarda Tanı Alt Gruplarında Plazma Oksisterol Düzeylerinin Karşılaştırılması

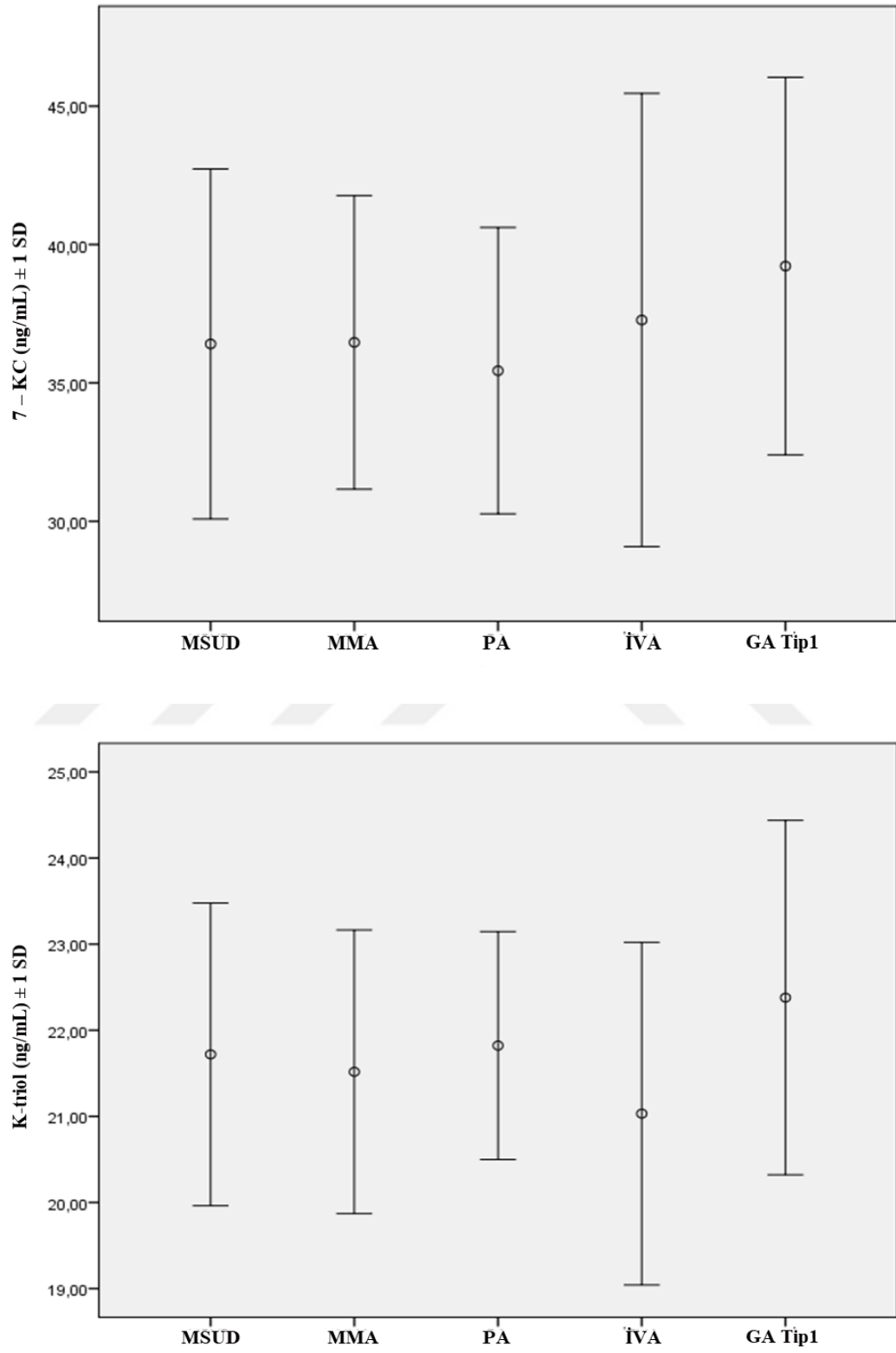
RPK grubunun 41'i (%38,7) MSUD 25'i (%23,6) MMA, 11'i (%10,4) PA, 13'ü (%12,3) İVA ve 16'sı (%15,1) GA Tip 1 idi. Ortalama plazma 7-KC düzeyi MSUD'li hastalarda 36,40 ng/mL, MMA'lı hastalarda 36,46 ng/mL, PA'lı hastalarda 35,44 ng/mL, İVA'lı hastalarda 37,27 ng/mL ve GA Tip 1'li hastalarda 39,22 ng/mL olarak bulundu. Gruplar arasında plazma 7-KC düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. Ortalama plazma K-triol düzeyi MSUD'li hastalarda 21,72 ng/mL, MMA'lı hastalarda 21,51 ng/mL, PA'lı hastalarda 21,82 ng/mL, İVA'lı hastalarda 21,03 ng/mL, GA Tip 1'li hastalarda 22,37 ng/mL olarak bulundu. Gruplar arasında plazma K-triol düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı. RPK grubunda tanı alt gruplarında plazma oksisterol düzeyleri Tablo 4.11'de verilmiştir.

Tablo 4.11. RPK Grubunda Tanı Alt Gruplarında Plazma Oksisterol Düzeyleri

	MSUD n: 41	MMA n: 25	PA n: 11	İVA n: 13	GA Tip 1 n: 16	p Değeri
7-KC (ng/mL)	36,40	36,46	35,44	37,27	39,22	0,537
Ortalama	±6,31	±5,30	±5,17	±8,18	±6,82	
±SS						
K-triol (ng/mL)	21,72	21,51	21,82	21,03	22,37	0,347
Ortalama	±1,75	±1,64	±1,32	±1,98	±2,05	
±SS						

RPK grubunda tanı alt grupları arasında plazma 7-KC ve K-triol düzeylerinin karşılaştırılması Şekil 4.2'de verilmiştir.

Şekil 4.2. RPK Grubunda Tanı Alt Grupları Arasında Plazma 7-KC ve K-triol Düzeylerinin Karşılaştırılması



4.5. Organik Asidemili Hastaların Rutin Poliklinik Kontrolü ve Çocuk Acil Polikliniği Başvurusu Esnasında Ölçülen Plazma Oksisterol Düzeylerinin Karşılaştırılması

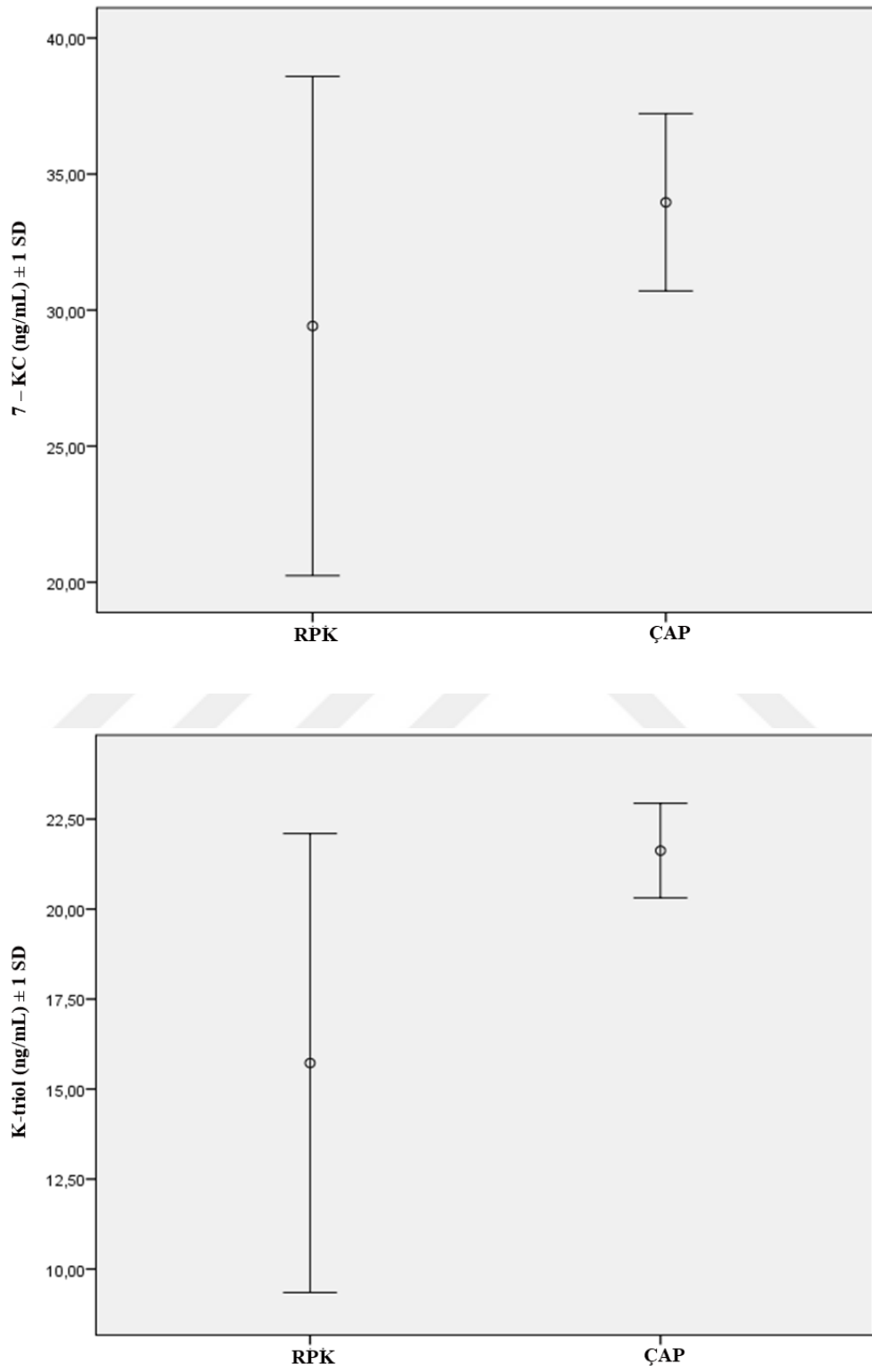
Çalışma kapsamında rutin poliklinik kontrolü esnasında 106, herhangi bir yakınma ile çocuk acil polikliniği başvurusu esnasında 12 kan örneği alınmıştır. Ortalama plazma 7-KC düzeyi PRK grubunda 36,85 ng/mL ÇAP grubunda 33,96 ng/mL olarak bulundu. Her iki grup karşılaştırıldığında gruplar arasında plazma 7-KC düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi. Ortalama plazma K-triol düzeyi PRK grubunda 21,69 ng/mL ÇAP grubunda 21,62 ng/mL olarak bulundu. Her iki grup karşılaştırıldığında gruplar arasında plazma K-triol düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi. RPK grubu ve ÇAP grubunun plazma oksisterol düzeyleri Tablo 4.12’de verilmiştir.

Tablo 4.12. RPK Grubu ve ÇAP Grubunun Plazma Oksisterol Düzeyleri

	RPK n: 106	ÇAP n: 12	p Değeri
7-KC (ng/mL) Ortalama ± SD	36,85±6,30	33,96±3,25	0,170
K-triol (ng/mL) Ortalama ± SD	21,69±1,77	21,62±1,31	0,890

RPK grubu ve ÇAP grubunun plazma 7-KC ve K-triol düzeylerinin karşılaştırılması Şekil 4.3’te verilmiştir.

Şekil 4.3. RPK Grubu ve ÇAP Grubunun Plazma 7-KC ve K-triol Düzeylerinin Karşılaştırılması



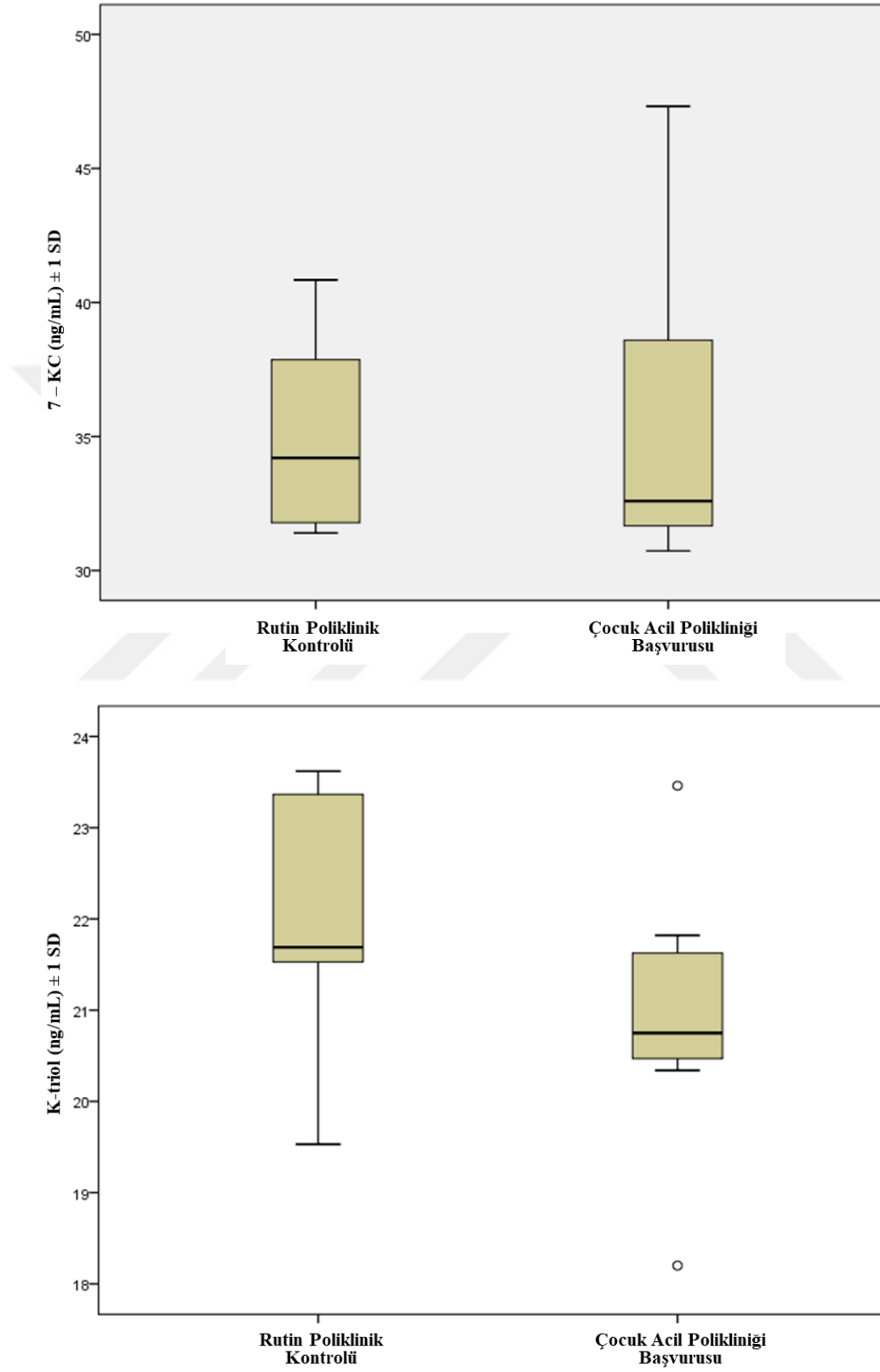
Hem rutin poliklinik kontrolü hem de herhangi bir yakınma ile çocuk acil polikliniğine başvuru sırasında olmak üzere iki kere kan örneği alınan yedi hasta vardı. Bu hastaların ortalama plazma 7-KC düzeyi rutin poliklinik başvurusunda 32,59 ng/mL çocuk acil polikliniği başvurusunda 34,20 ng/mL olarak bulundu ve her iki başvuru arasında plazma 7-KC düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Bu hastaların ortalama plazma K-triol düzeyi rutin poliklinik başvurusunda 20,75 ng/mL çocuk acil polikliniği başvurusunda 21,69 ng/mL olarak bulundu ve her iki başvuru arasında plazma K-triol düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Hem rutin poliklinik kontrolü hem de çocuk acil polikliniği başvurusu esnasında çalışmaya dahil edilen yedi hastanın plazma oksisterol düzeyleri Tablo 4.13'te verilmiştir.

Tablo 4.13. Hem Rutin Poliklinik Kontrolü Hem Çocuk Acil Polikliniği Başvurusu Esnasında Çalışmaya Dahil Edilen Hastalarda Plazma Oksisterol Düzeyleri

	Rutin Poliklinik Kontrolü	Çocuk Acil Polikliniği Başvurusu	p Değeri
7-KC (ng/mL)	32,59	34,20	0,866
Ortanca (min-maks)	(30,73-47,32)	(31,40-40,84)	
K-triol (ng/mL)	20,75	21,69	0,128
Ortanca (min-maks)	(18,20-23,46)	(19,53-23,62)	

Hem rutin poliklinik kontrolü hem de çocuk acil polikliniği başvurusu esnasında çalışmaya dahil edilen yedi hastanın plazma 7-KC ve K-triol düzeylerinin karşılaştırılması Şekil 4.4'te verilmiştir.

Şekil 4.4. Hem Rutin Poliklinik Kontrolü Hem de Çocuk Acil Polikliniği Başvurusu Esnasında Çalışmaya Dahil Edilen Hastaların Plazma 7-KC ve K-triol Düzeylerinin Karşılaştırılması



4.6. Organik Asidemili Hastalarda ve Kontrol Grubunda Plazma Oksisterol Düzeylerinin Klinik ve Biyokimyasal Parametrelerle Korelasyonu

Kontrol grubunda yaş ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon yoktu.

RPK grubunda hasta yaşı ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Kontrol grubunda serum LDL düzeyi ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı.

RPK grubunda serum LDL düzeyi ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon yoktu.

ÇAP grubunda serum LDL düzeyi ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Kontrol grubunda serum trigliserid düzeyi ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı.

RPK grubunda serum trigliserid düzeyi ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon yoktu.

ÇAP grubunda serum trigliserid düzeyi ile plazma 7-KC düzeyi arasında negatif korelasyon saptandı ($p < 0,001$ korelasyon kat sayısı = -0,872). ÇAP grubunda serum trigliserid düzeyi ile plazma K-triol düzeyi arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Kontrol grubunda serum total kolesterol düzeyi ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı.

RPK grubunda serum total kolesterol düzeyi ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon yoktu.

ÇAP grubunda serum total kolesterol düzeyi ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Kontrol grubundaki 100 kişinin 100'ünde eş zamanlı ESR değeri mevcuttu ve kontrol grubunda ESR değeri ile plazma 7-KC düzeyi arasında zayıf negatif korelasyon saptandı ($p=0,45$ korelasyon kat sayısı=-0,201). Kontrol grubunda ESR değeri ile plazma K-triol düzeyi arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı.

RPK grubundaki 106 hastanın 105'inde eş zamanlı ESR değeri mevcuttu. RPK grubunda ESR değeri ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon yoktu.

ÇAP grubundaki 12 hastanın 10'unda eş zamanlı ESR değeri mevcuttu. ÇAP grubunda ESR değeri ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Kontrol grubundaki 100 kişinin 100'ünde eş zamanlı CRP değeri mevcuttu ve kontrol grubunda CRP değeri ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı.

RPK grubundaki 106 hastanın 106'sında eş zamanlı CRP değeri mevcuttu. RPK grubunda CRP değeri ile plazma 7-KC düzeyi arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı. RPK grubunda CRP değeri ile plazma K-triol arasında zayıf pozitif korelasyon saptandı ($p=0,47$ korelasyon kat sayısı=0,193).

ÇAP grubundaki 12 hastanın 12'sinde eş zamanlı CRP değeri mevcuttu. ÇAP grubunda CRP değeri ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı.

RPK grubundaki 106 hastanın 102'sinde kan pH değeri mevcuttu. RPK grubunda kan pH değeri ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

ÇAP grubundaki 12 hastanın 10'unda kan pH değeri mevcuttu. ÇAP grubunda kan pH değeri ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon yoktu.

RPK grubundaki 106 hastanın 99'unda idrarında keton olup olmadığı araştırılmıştı. RPK grubunda idrar ketonu ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı.

ÇAP grubundaki 12 hastanın 6'sında idrarında keton olup olmadığı araştırılmıştı. ÇAP grubunda idrar ketonu ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

RPK grubundaki 106 hastanın 93'ünde idrar ketoasit testi yapılmıştı. RPK grubunda idrar ketoasit düzeyi ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon yoktu.

ÇAP grubundaki 12 hastanın 7'sinde idrar ketoasit testi yapılmıştı. ÇAP grubunda idrar ketoasit düzeyi ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı.

RPK grubundaki 106 hastanın 19'unun plazma serbest karnitin düzeyi mevcuttu. RPK grubunda plazma serbest karnitin değeri ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

39'u rutin poliklinik kontrolü, ikisi çocuk acil poliklinik başvurusu ve ikisi hem rutin poliklinik kontrolü hem çocuk acil poliklinik başvurusu sırasında olmak üzere çalışmaya toplam 43 MSUD'li hasta dahil edilmişti. 41'i rutin poliklinik kontrolü, biri çocuk acil poliklinik başvurusu esnasında olmak üzere toplam 42 eş zamanlı plazma lösin düzeyi ölçülmüştü. MSUD'li hastaların ortanca plazma lösin düzeyi 369,25 nmol/mL (min-maks 25,6-912,9) idi. Eş zamanlı alınan plazma lösin düzeyi ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı.

5. TARTIŞMA

Organik asidemiler karbonhidrat, amino asit ve yağ asidi metabolizmasındaki bozukluklara bağlı olarak oluşan, organik asitlerin dokularda birikimi ve idrarda artmış atılımı ile karakterize bir grup kalıtsal metabolizma hastalığıdır (1, 2).

Organik asidemilerin patofizyolojisi tam olarak aydınlatılamamıştır ve bu durum uygun tedavi stratejilerinin geliştirilmesini önlemektedir. Patofizyolojiden sorumlu ana faktörlerin toksik metabolit birikimi ve esansiyel metabolitlerin eksikliği olduğu düşünülmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda organik asidemilerde biriken toksik metabolitlerin oksidatif stresi artırdığı gösterilmiştir. Ayrıca bu hastaların tedavisinde önemli bir yeri olan kısıtlı diyetin antioksidan savunma sistemlerinde görevli bazı esansiyel maddelerin eksikliğine neden olarak doku antioksidan kapasitesinde azalmaya sebep olabileceği düşünülmektedir. Çeşitli mekanizmalarla ortaya çıkan oksidatif stresin organik asidemiler ve başka birçok kalıtsal metabolizma hastalığının patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığı, hücre zedelenmesinde temel neden olduğu öne sürülmektedir (10, 11, 13, 155).

Serbest radikal üretiminin artması ve/veya antioksidan sistemlerin yetersiz kalması sonucu bu iki sistem arasındaki dengenin bozulması oksidatif stres olarak tanımlanmaktadır (11). Oksijen tüketiminin ve oksidasyona açık doymamış yağ asidi oranının yüksek olması, yüksek metabolik hıza sahip olması, yüksek oranda demir içermesi ve antioksidan kapasitesinin düşük olması nedeniyle beynin oksidatif strese en duyarlı organlardan biri olduğu düşünülmektedir. Bu nedenle özellikle nörolojik bulguların patofizyolojisinde oksidatif zedelenmenin rol oynuyor olabileceği düşünülmektedir (156-159).

Kalıtsal metabolik hastalıkların patofizyolojisinde oksidatif stresin rol oynadığının bilinmesi, organik asidemilerle oksidatif stresin ilişkisini inceleyen az sayıda çalışma bulunması ve oksisterollerin in vivo oksidatif stresin güvenilir biyobelirteçleri olması nedeniyle bu çalışmada organik asidemili hastalarda oksidatif stres biyobelirteci olarak oksisteroller (7-KC, K-triol) incelendi.

Çalışmaya 111 hasta ve 100 sağlıklı kontrol dahil edildi. Hastaların 99'u (%89,2) rutin poliklinik kontrolü esnasında, 5'i (%4,5) çocuk acil polikliniği başvurusu esnasında ve 7'si (%6,3) hem rutin poliklinik kontrolü hem çocuk acil polikliniği başvurusu esnasında çalışmaya dahil edildi. Hastaların 43'ü (%38,7) MSUD, 26'sı (%23,4) MMA, 13'ü (%11,7) PA, 13'ü (%11,7) İVA ve 16'sı (%14,4) GA Tip 1 idi. Rutin poliklinik kontrolü (RPK) grubunda 106, çocuk acil polikliniği (ÇAP) grubunda 12 hasta değerlendirildi. RPK grubunun 41'i (%38,7) MSUD, 25'i (%23,6) MMA, 11'i (%10,4) PA, 13'ü (%12,3) İVA ve 16'sı (%15,1) GA Tip 1 idi.

Hastalarda tanı öncesi en sık görülen üç semptom beslenememe (%52,8), hipotonisite-hipoaktivite (%30,3) ve kusma (%20,2) idi. Ülkemizden yayınlanan literatüre baktığımızda Ocak 2010-Haziran 2013 yılları arasında Ankara Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hematoloji ve Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi Yenidoğan Yoğun Bakım Ünitesi'nde yatarak izlenmiş ve kalıtsal metabolik hastalık (fenilketonüri, MSUD, nonketotik hiperglisinemi, tirozinemi, PA, MMA, glutarik asidüri tip 2, sitrülünemi, galaktozemi, pirüvat karboksilaz eksikliği, pirüvat dehidrogenaz eksikliği, GM₁, Zellweger, süksinil-CoA ketoasit transferaz eksikliği, molibden kofaktör eksikliği, transkobalamin defekti, konjenital glikozilasyon defekti, Wolman hastalığı, konjenital laktik asidoz) tanısı almış 51 hastanın incelendiği çalışmada tanı öncesi en sık görülen üç semptomun benzer şekilde beslenememe/hipoaktivite, sarılık, solunum sıkıntısı olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada hastaların doğum vücut ağırlığı ortalama 2960±631 g olarak belirtilmiştir. Bizim çalışma grubumuzda ise hastaların doğum vücut ağırlığı ortanca 3200 g (min-maks 1600-4500) idi. Hasta grubumuzda anne-baba arasında akrabalık oranı %85,7 olarak bulunurken Gündüz M. ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada akrabalık oranı %70,6 olarak bulunmuştur (160).

Çalışmamızdaki 111 hastanın tanısı moleküler genetik yöntemler ve enzim çalışmaları ile doğrulanmıştı ve 84 (%75) hasta moleküler genetik yöntemlerle tanı almıştı. MSUD'li hastalarda en sık görülen iki mutasyon BCKDHA geninde c.757G>A p.Ala253Thr ve BCKDHA geninde c.773_774delinsAA p.Cys258*, MMA'lı hastalarda en sık görülen iki mutasyon MUT geninde c.1843C>A p.Pro615Thr ve MUT geninde c.2020p.Leu674Phe, PA'lı hastalarda en sık görülen

iki mutasyon PCAA geninde IVS13+3A>G kırılma, PCCB geninde c.1309G>A p.Gly437Ser, İVA'lı hastalarda en sık görülen iki mutasyon IVD geninde c.1222G>A p.Glu379Lys ve IVD geninde IVS4+2T>C kırılma, GA Tip 1'li hastalarda en sık görülen mutasyon GCDH geninde c.1204C>T p.Arg402Trp idi. Türk MSUD'li hastaların moleküler genetik analizlerinin incelendiği bir çalışmada bizim çalışmamızdan farklı olarak en sık BCKDHB geninde c.1149T>A homozigot mutasyonu saptanmıştır (161). Hastanemiz Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı'nda tanı almış 30 mut MMA'lı hasta incelendiğinde en sık görülen mutasyonun bizim çalışmamıza benzer şekilde c.1843C>A olduğu görülmüştür (162). Yine hastanemiz Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı'nda izlenen 26 İVA'lı hasta incelendiğinde bu hasta grubunda en sık görülen mutasyonlar bizim çalışmamıza benzer şekilde c.890C>T, c.1222G>A ve c.456+2T>C olarak bildirilmiştir (163).

Rutin poliklinik kontrolü esnasında çalışmaya dahil edilen hastaların yakınması sorgulandığında en sık üç yakınmanın burun akıntısı (%4,7), öksürük (%3,8) ve kusma (%1,9) olduğu görüldü. Çocuk acil polikliniğine başvuru esnasında çalışmaya dahil edilen hastalarda ise en sık yakınmalar kusma (%83,3), öksürük (%41,7), ateş (%25) ve burun akıntısı (%25) idi. MSUD, MMA ve PA'lı hastaların acil başvurularının retrospektif olarak incelendiği bir çalışmada en sık başvuru yakınmalarının bizim bulgularımıza benzer şekilde kusma, ateş ve ishal olduğu bildirilmiştir (164).

Hasta ve kontrol grubunun biyokimyasal özelliklerine bakıldığında RPK grubunun ortalama serum LDL düzeyi kontrol grubunun ortalama serum LDL düzeyinden düşük bulundu. Her iki grup arasında serum total kolesterol düzeyi açısından bir fark görülmezken serum trigliserid düzeyi RPK grubunda yüksek bulundu. RPK grubunda serum LDL düzeyinin düşük bulunmasını hastaların protein kısıtlı diyet nedeniyle doymuş yağ asidinden de kısıtlı besleniyor olmalarına bağlayabiliriz. Barschak A. G. ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada MSUD'li hastalarda total kolesterol sağlıklı kontrol grubundan düşük bulunurken LDL ve trigliserid düzeyinin kontrol grubundan farklı olmadığı gözlenmiştir (165). RPK grubunun ortalama eritrosit sedimentasyon hızı kontrol grubunun ortalama

eritrosit sedimentasyon hızından düşük bulundu ancak her iki grubun düzeyi de normal aralıklarda olduğu için bu fark anlamlı kabul edilmedi. RPK grubunun ortalama CRP düzeyi ile kontrol grubunun ortalama CRP düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.

RPK grubu ve ÇAP grubunun biyokimyasal parametreleri karşılaştırıldığında her iki grup arasında serum LDL, total kolesterol, trigliserid düzeyi ve eritrosit sedimentasyon hızı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmedi. CRP düzeyi ise ÇAP grubunda RPK grubundan yüksek bulundu. ÇAP grubundaki CRP yüksekliği organik asidemili hastaların o esnada dekompanzasyonu tetikleyen bir enfeksiyonu olmasına bağlanabilir.

RPK tanı alt gruplarının biyokimyasal parametrelerine bakıldığında ortalama serum LDL ve total kolesterol düzeyinin MSUD'li hastalarda İVA'lı hastalardan düşük olduğu ancak her iki grubun değerlerinin de normal aralıklarda olduğu görüldü. MSUD ve İVA'lı hastalar arasındaki bu farkın farklı içerikte diyet ve mama desteği alıyor olmalarından kaynaklı olabileceği düşünüldü. Tanı alt grupları arasında serum trigliserid değeri açısından bir fark görülmedi.

Hasta ve kontrollerin plazma oksisterol düzeyleri karşılaştırıldığında RPK grubunun ortalama plazma 7-KC ve K-triol değerlerinin kontrol grubunun ortalama plazma 7-KC ve K-triol değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek olduğu görüldü. Bu bulguya dayanarak organik asidemili hastalarda artmış oksidatif stresin bulunduğunu ve bu durumun patofizyolojide rol oynuyor olabileceğini söyleyebiliriz.

Literatür incelendiğinde organik asidemili hastalarda oksidatif stres biyobelirteci olarak plazma oksisterollerinin kullanımını inceleyen bir çalışmaya rastlanmadı ancak geçmiş yıllarda organik asidemilerin patofizyolojisinde artmış oksidatif stresin rolünü inceleyen hayvan ve insan çalışmaları mevcuttur. Geçmiş yıllardaki çalışmalarda oksidatif stres göstergesi olarak amino asit, karbonhidrat, nükleik asit gibi bileşenlerin oksidasyon ürünleri kullanılmıştır ancak bu yöntemlerin in vivo örneklerdeki sensitivitesi ve spesifitesi düşüktür (166). Kolesterolün non-

enzimatik yollarla oluşan oksidasyon ürünü oksisterollerin in vivo oksidatif stresin daha güvenilir bir göstergesi olduğu düşünülmektedir.

MSUD’de görülen nörolojik bulguların patofizyolojisinin aydınlatılması amacıyla Bridi R. ve arkadaşları tarafından lösin, izolösin ve valinin fare serebral korteksindeki in vitro etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada lösin uygulamasının lipid peroksidasyonunun göstergesi olan kemiluminesans ve tiyobarbitürik asit reaktif türlerini (TBARS), izolösin uygulamasının kemiluminesansı yükselttiği, valin uygulamasının ise kemiluminesans ve TBARS üzerine etkisi olmadığı görülmüştür. Lösin, izolösin ve valin uygulamasının doku non-enzimatik antioksidan kapasite göstergesi olan total radikal yakalayıcı antioksidan potansiyeli (TRAP) düşürdüğü gözlenmiştir. Total antioksidan reaktivitenin (TAR) ise sadece lösin tarafından düşürüldüğü, izolösin ve valinin etkisinin olmadığı saptanmıştır. Bizim bulgularımızı destekler nitelikteki bu sonuçlara dayanarak MSUD’de biriken amino asitlerin oksidatif strese yol açtığı ve oksidatif stresin MSUD’de görülen nörolojik bulgulara katkıda bulunuyor olabileceği öne sürülmüştür (167).

Benzer şekilde biyokimyasal yöntemlerle oluşturulan kronik MSUD hayvan modellerinde lipid oksidasyon göstergesi olan TBARS düzeylerinin fare serebral korteks ve serebellumunda, protein oksidasyon göstergesi olan karbonil içeriğinin fare serebellumunda arttığı ve TBARS düzeylerindeki artışın L-karnitin tedavisiyle önlendiği görülmüştür. Oksidatif stres parametrelerinin serebellumdan çok serebral kortekste gözlemlendiği bu çalışmada bunun sebebinin serebral korteksin oksidatif strese karşı daha duyarlı olması ve serebellumun antioksidan sistemlerinin daha gelişmiş olması olabileceği düşünülmüştür (168).

Taschetto L. ve arkadaşlarının farelerde intraserebroventriküler α -ketoizokaproik asit uygulamasının akut (1 saat sonra) ve kronik (15 saat sonra) etkilerini incelediği çalışmada akut ve kronik dönemde lipid oksidasyon zedelenmesinin göstergesi olan TBARS düzeyinin, protein oksidasyon zedelenmesinin göstergesi olan protein karbonil içeriğinin ve DNA zedelenmesi göstergelerinin hipokampus, striatum ve serebral kortekste arttığının gözlenmesi de

bizim bulgularımıza benzer şekilde MSUD patofizyolojisinde artmış oksidatif strese işaret etmektedir (169).

MSUD'li hastalarda oksidatif stres parametreleri ilk kez 2006 yılında Barschak A. G. ve arkadaşları tarafından MSUD'li hastalardan alınan plazma örneklerinde incelenmiştir. Bu çalışmada kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MSUD grubunda bizim çalışmamıza benzer şekilde artmış oksidatif stresin göstergesi olan lipid peroksidasyon biyobelirteci TBARS düzeyinin yüksek olduğu görülmüştür. Aynı çalışmada doku TAR düzeyinin düşük olduğu ve doku antioksidan miktarının değişmediği görülmüştür. Bu sonuçlardan yola çıkılarak MSUD patofizyolojisinde serbest radikal üretiminin ve oksidatif stresin rol oynadığı ileri sürülmüştür (170).

Mescka C. ve arkadaşları MSUD'li hastalardan alınan kan örneklerinde lipid peroksidasyon göstergesi olan malondialdehidin, DNA zedelenmesi indeksinin ve protein oksidasyon göstergesi olan protein karbonil içeriğinin kontrol grubuna göre yüksek olduğunu göstererek bizim bulgularımıza paralel şekilde MSUD'li hastalarda artmış oksidatif stresin bulunduğunu ve bu durumun hastalığın patofizyolojisinde rol oynuyor olabileceğini belirtmişlerdir. Ayrıca L-karnitin tedavisi sonrası maloniladehid düzeyi ve DNA zedelenmesi indeksinde azalma gözlemlenmiş ancak protein karbonil içeriğinde bir değişiklik görülmemiş ve önemli antioksidan işlevleri olan L-karnitin tedavisinin oksidatif stresi azaltmada etkili olabileceği vurgulanmıştır (171-173).

MSUD'li hastalardan alınan idrar örneğinde oksidatif stres biyobelirteçlerinin incelendiği bir başka çalışmada ise yine bizim çalışmamıza benzer şekilde artmış oksidatif stres göstergesi olarak protein oksidatif zedelenmesi göstergesi olan di-tirozin düzeyi, araşidonik asit peroksidasyonu göstergesi olan izoprostan düzeyi hasta grubunda kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Aynı çalışmada idrar antioksidan kapasitesi hasta grubunda kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur (174).

Fontella F. U. ve arkadaşları bizim bulgularımıza benzer şekilde MMA ve PA'da biriken metabolitlerden metilmalonik asit ve propionik asitin fare serebral korteksinde in vitro uygulamasının lipid peroksidasyon göstergesi olan kemiluminesans ve TBARS düzeyini artırdığını, doku total antioksidan potansiyelini azalttığını gözlemlemiş ve bu hastalıkların patofizyolojisinde oksidatif stresin rolü olabileceğini ileri sürmüştür (175).

Kobalamin C defekti olan hastalarda uzun dönem tedavi sonuçlarının kötü olmasının altındaki nedenlerden biri olabilecek oksidatif stresin bu hastalığındaki rolünü araştırmak üzere yapılan bir çalışmada kobalamin C defekti olan 18 hastadan alınan kan örneğinde lenfosit glutatyon düzeyleri incelenmiştir. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hasta grubunda total glutatyon düzeyi, indirgenmiş glutatyon düzeyi düşük, oksidasyona uğramış glutatyon düzeyi ve oksidasyona uğramış glutatyonun total glutatyon oranı yüksek olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgulara paralel olan bu bulgularla birlikte kobalamin C defekti olan hastalarda oksidatif dengede bozulma olduğu ileri sürülmüştür (176).

Propionik asidemili hastalardan alınan fibroblast örneklerinde bizim bulgularımızı destekler şekilde reaktif oksijen radikalleri kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (177). Bu bulgulardan yola çıkarak propionik asidemi patofizyolojisinde oksidatif stresin rol oynuyor olabileceği ve tedavide antioksidan ajanların kullanılabileceği düşüncesiyle propionik asidemili hastalardan alınan fibroblast örneklerinde antioksidan ajanların etkisi gözlemlenmiştir. Tiron, mitoQ, trolox ve resveratrol fibroblast kültüründe reaktif oksijen radikallerinin düzeyini azaltırken, N-asetilsistein (NAC), melatonin ve vitamin E herhangi bir etki göstermemiştir (178).

İVA'lı hastalarda vücut doku ve sıvılarında biriken major metabolitlerden izovalerik asit ve izovaleril glisin oksidatif stres parametrelerine etkisini incelemek üzere düzenlenen bir çalışmada fare beynine in vitro izovalerik asit ve izovaleril glisin enjeksiyonu yapılmıştır. İzovaleril glisin enjeksiyonu sonrası fare serebral korteksinde lipid peroksidasyon göstergelerinin (TBARS ve kemilüminesans) arttığı ve bu artışın antioksidan ajanlar (NAC, α -tokoferol, melatonin ve glutatyon)

tarafından önlenemediği gözlenmiştir. Ayrıca izovaleril glisin enjeksiyonu sonrası fare serebral korteksinde beyin temel non-enzimatik antioksidanı olan glutatyon konsantrasyonunda azalma gözlenmiştir. Bizim çalışmamıza benzer şekilde bu bulgulara dayanarak izovaleril glisin reaktif radikal üretimine sebep olarak artmış oksidatif strese yol açtığı öne sürülmüştür (179).

Kölker S. ve arkadaşları oksidatif stresin GA Tip 1’li hastalarda görülen nörotoksitedeki rolünü araştırmak üzere civciv telensefalonundan hazırlanan hücre kültürlerine in vitro 3-OH glutarik asit uygulamış ve mitokondriyal reaktif oksijen radikal üretiminde artış olduğunu, α -tokoferol, kreatin ve melatonin bu artışta ve hücre zedelenmesinde azalma sağladığını gözlemlemiş ve yine bizim bulgularımızı destekler şekilde GA Tip 1 patofizyolojisinde artmış oksidatif stresin rol oynuyor olabileceğini belirtmiştir (180).

Latini A. ve arkadaşları GA Tip 1’de görülen nörolojik zedelenmenin patofizyolojik mekanizmalarını araştırmak üzere yaptıkları çalışmada fare serebral korteksine in vitro 3-OH glutarik asit uygulaması sonrası lipid peroksidasyon göstergelerinin (TBARS ve kemiluminesans) arttığını ve doku total antioksidan kapasitesinin azaldığını gözlemlemiştir (181). Aynı grup tarafından yürütülen bir başka çalışmada fare striatumuna in vitro 3-OH glutarik asit uygulaması yapıldığında non-enzimatik antioksidan savunma sistemlerinde (TRAP, TAR ve glutatyon konsantrasyonu) kontrol grubuna göre belirgin bir şekilde azalma gözlenmiştir. Bizim bulgularımıza benzer şekilde GA Tip 1’de artmış oksidatif stresin gösterildiği bu çalışmada ayrıca 3-OH glutarik uygulaması sonrası fare striatumunda H_2O_2 ve NO üretiminin ve lipid peroksidasyon belirteci malondialdehidin arttığı görülmüştür. Bu bulgulara dayanarak GA Tip 1’li hastalarda görülen beyin zedelenmesinde oksidatif stresin rol oynuyor olabileceği düşünülmüştür (182).

GCDH eksikliği olan fare modelleri oluşturularak yapılan bir çalışmada yüksek lizin içerikli besinlerle beslenen *Gcdh* $-/-$ farelerin serebral korteks ve striatumunda lipid peroksidasyon belirteçlerinin (malondialdehid) arttığı, glutatyon düzeyinin azaldığı, süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (KAT) enzim aktivitelerinin arttığı ancak hipokampus, karaciğer ve kalp dokusunda bir değişiklik

gözlenmediği belirtilmiştir. Aynı çalışmada yüksek lizin içerikli besinlerle beslenen *Gcdh* -/- farelerin serebral korteksinde reaktif oksijen radikal üretiminde artış gözlenmiştir. Bu çalışmada *Gcdh* -/- farelerde gözlenen artmış oksidatif stres bulguları yine bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulguları desteklemektedir (183).

Çalışmamızda organik asidemi tanı alt gruplarının plazma oksisterol düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında plazma 7-KC ve K-triol düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü.

Literatür incelendiğinde Salmi H. ve arkadaşlarının yürüttüğü bir çalışmada sağlıklı gönüllülerden alınan fibroblast kültürlerinde izovalerik asit ve propionik asit karşılaşması sonrası indirgenmiş ve total glutatyon konsantrasyonunun düştüğü, metilmalonik asit ile karşılaşma sonrası indirgenmiş ve total glutatyon konsantrasyonunda bir değişiklik olmadığı görülmüştür. Fibroblastlarda indirgenmiş glutatyonun indirgenmemiş glutatyon oranının metilmalonik asit ve propionik asit ile karşılaşma sonrası düştüğü, izovalerik asit ile karşılaşma sonrası değişmediği saptanmıştır. Ayrıca izovalerik asit, metilmalonik asit ve propionik asitle karşılaştırılan fibroblastlarda indirgenmiş sistein konsantrasyonunun ve sistein/sistin oranının kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gözlenmiştir. Bu bulgular bizim çalışmamıza benzer olarak bu üç hastalıkta organik asit birikiminin oksidan bir ortama yol açtığını göstermekle birlikte organik asidemi tanı alt grupları arasında oksidatif stres düzeyinin kantitatif olarak karşılaştırılmasına imkan sağlamamaktadır (184).

Literatürde organik asidemili hastalarda tanı alt gruplarının plazma oksidatif stres belirteçlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmaya rastlanmadı.

Organik asidemili hastaların rutin poliklinik kontrolü ile herhangi bir yakınmayla çocuk acil polikliniğine başvuruları karşılaştırıldığında PRK ve ÇAP grubu arasında plazma 7-KC ve K-triol düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Benzer şekilde hem rutin poliklinik kontrolü hem de herhangi bir yakınma ile çocuk acil polikliniğine başvuru sırasında olmak üzere iki kere kan örneği alınan yedi hastanın bu iki başvuruları esnasındaki plazma oksisterol

düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı görüldü. Bu bulgulara dayanarak organik asidemili hastalarda oksidatif stresin akut değil kronik bir süreç olduğunu, hastalığın uzun dönem patofizyolojisinde ve prognozunda etkili olduğunu, bu parametrelerin hastaların uzun dönem takibinde kullanılabileceğini söyleyebiliriz.

Kontrol grubunda ve RPK grubunda yaş ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı.

Kontrol grubu, RPK grubu ve ÇAP grubunda serum LDL düzeyi ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı. Kontrol grubu ve RPK grubunda serum trigliserid düzeyi ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı. ÇAP grubunda serum trigliserid düzeyi ile plazma 7-KC düzeyi arasında negatif korelasyon saptanırken serum trigliserid düzeyi ile plazma K-triol düzeyi arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı. Barschak A. G. ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada MSUD'li hastalarda plazma trigliserid düzeyi ile lipid peroksidasyonunun göstergesi olan TBARS düzeyi arasında bizim bulgularımızdan farklı olarak pozitif bir korelasyon bulunurken, total kolesterol, HDL, LDL ve TBARS düzeyi arasında bizim bulgularımıza benzer şekilde bir ilişki saptanmamıştır (165). Kontrol grubu, RPK grubu ve ÇAP grubunda plazma oksisterol düzeyleri ile serum total kolesterol düzeyi arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı. Bu bulgulara dayanarak kolesterolün serbest radikal aracılı oksidasyon ürünü olan oksisterollerin organik asidemili hastalarda serum total kolesterol ve LDL düzeylerinden bağımsız olarak toksik metabolit uyarımı ile artmış oksidatif stres nedeniyle oluştuğunu söyleyebiliriz.

Kontrol grubunda ESR değeri ile plazma 7-KC düzeyi arasında zayıf negatif korelasyon saptanırken ESR değeri ile plazma K-triol düzeyi arasında anlamlı bir korelasyon saptanmadı. RPK ve ÇAP grubunda ESR değeri ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı. Kontrol grubunda ve ÇAP grubunda CRP değeri ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı. RPK grubunda ise CRP değeri ile plazma 7-KC düzeyi arasında anlamlı bir korelasyon bulunmazken CRP değeri ile plazma K-triol düzeyi arasında zayıf pozitif korelasyon saptandı. RPK ve ÇAP grubunda kan pH değeri, idrar ketonu ve

idrar ketoasit düzeyi ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı. Bu bulgulara dayanarak organik asidemili hastalarda hastaların enfeksiyöz durumlarından ve metabolik dekompanzasyonlarından bağımsız olarak artmış oksidatif stresin bulunduğunu söyleyebiliriz.

RPK grubunda plazma serbest karnitin düzeyi ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı. Bizim çalışmamızdan farklı olarak Guerreiro G. ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada MSUD'li hastalarda kan serbest karnitin düzeyi ile idrar oksidatif stres biyobelirteci di-tirozin düzeyi arasında zayıf bir negatif korelasyon saptanmış ve idrar di-tirozin düzeyi, izoprostan düzeyi ve antioksidan kapasitesinin L-karnitin tedavisiyle normal düzeye geldiği görüşmüştür (174).

Çalışmamızda MSUD'li hastalarda plazma lösin düzeyi ile plazma oksisterol düzeyleri arasında anlamlı bir korelasyon bulunmadı. Barschak A. G. ve arkadaşlarının MSUD'li hastalarda yaptığı bir çalışmada bizim bulgularımıza benzer şekilde hastalarda oksidatif stres belirteci olan TBARS ve TAR düzeyleriyle plazma lösin, izolösin ve valin düzeyleri arasında bir korelasyon bulunamamıştır (155). MSUD, kobalamin metabolizma bozuklukları, propionik asidemi, homosistinüri ve ornitin transkarbamilaz eksikliği olan hastaların idrar örneklerinin incelendiği bir başka çalışmada ise lipid peroksidasyon belirteci F-2 izoprostan ve protein oksidasyon belirteci di-tirozinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu ve bizim sonuçlarımızdan farklı olarak MSUD'li hastalarda lösin düzeyi ile oksidatif stres parametreleri arasında konkordans bulunduğu görülmüştür (57).

SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı'nda izlenen organik asidemili (maple syrup urine disease, metilmalonik asidemi, propionik asidemi, izovalerik asidemi, glutarik asidüri tip 1) hastalarda sağlıklı kontrol grubu ile organik asidemili hastalar arasında plazma oksisterol düzeyleri farkı, organik asidemili hastalarda kriz dışı dönem ile akut metabolik kriz esnasında plazma oksisterol düzeyleri farkı, organik asidemi alt türleri arasında plazma oksisterol düzeyleri farkının belirlenmesi amacıyla oksidatif stres biyobelirteci olarak plazmada oksisteroller (7-ketokolesterol ve kolestan-3 β ,5 α ,6 β -triol) LC-MS/MS yöntemi ile incelendi.

Çalışmaya 111 hasta ve 100 sağlıklı kontrol dahil edildi. 99 hastadan rutin poliklinik kontrolü esnasında, beş hastadan çocuk acil polikliniği başvurusu esnasında ve yedi hastadan hem rutin poliklinik kontrolü hem çocuk acil polikliniği başvurusu esnasında olmak üzere toplam 118 kan ve idrar örneği alındı. 100 sağlıklı kontrolden 100 kan örneği alındı.

Hastalar tanılarına göre MSUD, MMA, PA, İVA, GA Tip 1 olmak üzere beş alt grupta incelendi. Hastaların 43'ü (%38,7) MSUD, 26'sı (%23,4) MMA, 13'ü (%11,7) PA, 13'ü (%11,7) İVA ve 16'sı (%14,4) GA Tip 1 idi. Hastalar başvuru polikliniklerine göre rutin poliklinik kontrol (RPK) grubu, çocuk acil polikliniği (ÇAP) grubu olmak üzere iki alt grupta incelendi. 99 hasta rutin poliklinik kontrolü esnasında, beş hasta çocuk acil polikliniği başvurusu esnasında ve yedi hasta hem rutin poliklinik kontrolü hem çocuk acil polikliniği başvurusu esnasında çalışmaya dahil edildi. RPK grubunda 106, ÇAP grubunda 12 hasta değerlendirildi.

- Hasta ve kontrollerin plazma oksisterol düzeyleri karşılaştırıldığında RPK grubunun ortalama plazma 7-KC ve K-triol değerlerinin kontrol grubunun ortalama plazma 7-KC ve K-triol değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek bulundu.

- Organik asidemi tanı alt gruplarının plazma oksisterol düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında plazma 7-KC ve K-triol düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.
- Organik asidemili hastaların rutin poliklinik kontrolü ile herhangi bir yakınmayla çocuk acil polikliniğine başvuruları karşılaştırıldığında PRK ve ÇAP grubu arasında plazma 7-KC ve K-triol düzeyi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu. Benzer şekilde hem rutin poliklinik kontrolü hem de herhangi bir yakınma ile çocuk acil polikliniğine başvuru sırasında olmak üzere iki kere kan örneği alınan yedi hastanın bu iki başvuruları esnasındaki plazma oksisterol düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu.
- Organik asidemili hastalarda plazma oksisterol düzeyleri ile yaş, LDL, trigliserid, total kolesterol, ESR, CRP, kan pH değeri, idrar ketonu, idrar ketoasit düzeyi, plazma serbest karnitin düzeyi arasında; MSUD'li hastalarda plazma oksisterol düzeyleri ile lösün düzeyi arasında güçlü bir korelasyon yoktu.

Bu bulgulara dayanarak organik asidemili hastalarda kolesterolün serbest radikal aracılı oksidasyon ürünü olan oksisterollerin serum total kolesterol ve LDL düzeylerinden bağımsız olarak toksik metabolit uyarımı ile artmış oksidatif stres nedeniyle oluştuğunu, bu hastalarda artmış oksidatif stresin akut değil kronik bir süreç olduğunu, hastalığın uzun dönem patofizyolojisinde ve prognozunda etkili olduğunu, oksisterollerin hastaların uzun dönem izleminde kullanılabileceğini söyleyebiliriz. Ayrıca bu hastaların tedavisinde antioksidanların adjuvan olarak kullanılması düşünülebilir.

Literatürde organik asidemili hastalarda plazma oksisterol düzeylerinin incelenmesi ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır ve çalışmamız ilk olmuştur. Organik asidemili hastalarda oksisterol üretiminin altta yatan mekanizmalarını ve bunların klinik anlamlarını anlamak için ileri çalışmalar gereklidir.

KAYNAKLAR

1. Ozand PT, Gascon GG. Organic acidurias: a review. Part 1. Journal of child neurology. 1991;6(3):196-219.
2. Ozand PT, Gascon GG. Organic acidurias: a review. Part 2. Journal of child neurology. 1991;6(4):288-303.
3. Vaidyanathan K, Narayanan MP, Vasudevan DM. Organic acidurias: an updated review. Indian journal of clinical biochemistry : IJCB. 2011;26(4):319-25.
4. Villani GR, Gallo G, Scolamiero E, Salvatore F, Ruoppolo M. "Classical organic acidurias": diagnosis and pathogenesis. Clinical and experimental medicine. 2017;17(3):305-23.
5. Lehotay DC, Clarke JT. Organic acidurias and related abnormalities. Critical reviews in clinical laboratory sciences. 1995;32(4):377-429.
6. Kolker S, Burgard P, Sauer SW, Okun JG. Current concepts in organic acidurias: understanding intra- and extracerebral disease manifestation. Journal of inherited metabolic disease. 2013;36(4):635-44.
7. Hoffmann GF, Gibson KM, Trefz FK, Nyhan WL, Bremer HJ, Rating D. Neurological manifestations of organic acid disorders. European journal of pediatrics. 1994;153(7 Suppl 1):S94-100.
8. Ogier de Baulny H, Saudubray JM. Branched-chain organic acidurias. Seminars in neonatology : SN. 2002;7(1):65-74.
9. Dionisi-Vici C, Deodato F, Röschinger W, Rhead W, Wilcken B. 'Classical' organic acidurias, propionic aciduria, methylmalonic aciduria and isovaleric aciduria: long-term outcome and effects of expanded newborn screening using tandem mass spectrometry. Journal of inherited metabolic disease. 2006;29(2):383-9.
10. Colome C, Sierra C, Antonia Vilaseca M. [Congenital errors of metabolism: cause of oxidative stress?]. Medicina clinica. 2000;115(3):111-7.
11. Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals in biology and medicine: Oxford University Press, USA; 2015.
12. Stepien KM, Heaton R, Rankin S, Murphy A, Bentley J, Sexton D, et al. Evidence of Oxidative Stress and Secondary Mitochondrial Dysfunction in Metabolic and Non-Metabolic Disorders. Journal of clinical medicine. 2017;6(7).

13. Wajner M, Latini A, Wyse AT, Dutra-Filho CS. The role of oxidative damage in the neuropathology of organic acidurias: insights from animal studies. *Journal of inherited metabolic disease*. 2004;27(4):427-48.
14. Blackburn PR, Gass JM, Vairo FPE, Farnham KM, Atwal HK, Macklin S, et al. Maple syrup urine disease: mechanisms and management. The application of clinical genetics. 2017;10:57-66.
15. Strauss KA, Puffenberger EG, Morton DH. Maple Syrup Urine Disease. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, et al., editors. *GeneReviews*((R)). Seattle (WA): University of Washington, Seattle University of Washington, Seattle. *GeneReviews* is a registered trademark of the University of Washington, Seattle. All rights reserved.; 1993.
16. Nellis MM, Kasinski A, Carlson M, Allen R, Schaefer AM, Schwartz EM, et al. Relationship of causative genetic mutations in maple syrup urine disease with their clinical expression. *Molecular genetics and metabolism*. 2003;80(1-2):189-95.
17. Chuang JL, Wynn RM, Moss CC, Song JL, Li J, Awad N, et al. Structural and biochemical basis for novel mutations in homozygous Israeli maple syrup urine disease patients: a proposed mechanism for the thiamin-responsive phenotype. *The Journal of biological chemistry*. 2004;279(17):17792-800.
18. Araujo P, Wassermann GF, Tallini K, Furlanetto V, Vargas CR, Wannmacher CM, et al. Reduction of large neutral amino acid levels in plasma and brain of hyperleucinemic rats. *Neurochemistry international*. 2001;38(6):529-37.
19. Boado RJ, Li JY, Nagaya M, Zhang C, Pardridge WM. Selective expression of the large neutral amino acid transporter at the blood-brain barrier. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999;96(21):12079-84.
20. Gjedde A, Crone C. Biochemical modulation of blood-brain barrier permeability. *Acta neuropathologica Supplementum*. 1983;8:59-74.
21. Kamei A, Takashima S, Chan F, Becker LE. Abnormal dendritic development in maple syrup urine disease. *Pediatric neurology*. 1992;8(2):145-7.
22. Killian DM, Chikhale PJ. Predominant functional activity of the large, neutral amino acid transporter (LAT1) isoform at the cerebrovasculature. *Neuroscience letters*. 2001;306(1-2):1-4.
23. Zinnanti WJ, Lazovic J, Griffin K, Skvorak KJ, Paul HS, Homanics GE, et al. Dual mechanism of brain injury and novel treatment strategy in maple syrup urine disease. *Brain : a journal of neurology*. 2009;132(Pt 4):903-18.
24. Smith QR, Takasato Y. Kinetics of amino acid transport at the blood-brain barrier studied using an in situ brain perfusion technique. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1986;481:186-201.

25. Yudkoff M, Daikhin Y, Nissim I, Horyn O, Luhovyy B, Lazarow A, et al. Brain amino acid requirements and toxicity: the example of leucine. *The Journal of nutrition*. 2005;135(6 Suppl):1531s-8s.
26. Prensky AL, Moser HW. Brain lipids, proteolipids, and free amino acids in maple syrup urine disease. *Journal of neurochemistry*. 1966;13(9):863-74.
27. Dodd PR, Williams SH, Gundlach AL, Harper PA, Healy PJ, Dennis JA, et al. Glutamate and gamma-aminobutyric acid neurotransmitter systems in the acute phase of maple syrup urine disease and citrullinemia encephalopathies in newborn calves. *Journal of neurochemistry*. 1992;59(2):582-90.
28. Muelly ER, Moore GJ, Bunce SC, Mack J, Bigler DC, Morton DH, et al. Biochemical correlates of neuropsychiatric illness in maple syrup urine disease. *The Journal of clinical investigation*. 2013;123(4):1809-20.
29. Heindel W, Kugel H, Wendel U, Roth B, Benz-Bohm G. Proton magnetic resonance spectroscopy reflects metabolic decompensation in maple syrup urine disease. *Pediatric radiology*. 1995;25(4):296-9.
30. Jan W, Zimmerman RA, Wang ZJ, Berry GT, Kaplan PB, Kaye EM. MR diffusion imaging and MR spectroscopy of maple syrup urine disease during acute metabolic decompensation. *Neuroradiology*. 2003;45(6):393-9.
31. Strauss KA, Wardley B, Robinson D, Hendrickson C, Rider NL, Puffenberger EG, et al. Classical maple syrup urine disease and brain development: principles of management and formula design. *Molecular genetics and metabolism*. 2010;99(4):333-45.
32. Schadevaldt P, Bodner-Leidecker A, Hammen HW, Wendel U. Whole-body L-leucine oxidation in patients with variant form of maple syrup urine disease. *Pediatric research*. 2001;49(5):627-35.
33. Strauss KA, Morton DH. Branched-chain Ketoacyl Dehydrogenase Deficiency: Maple Syrup Disease. *Current treatment options in neurology*. 2003;5(4):329-41.
34. Scriver CR, Clow C, Mackenzie S, Delvin E. Thiamine-responsive maple-syrup-urine disease. *The Lancet*. 1971;297(7694):310-2.
35. Brassier A, Ottolenghi C, Boutron A, Bertrand AM, Valmary-Degano S, Cervoni JP, et al. Dihydrolipoamide dehydrogenase deficiency: a still overlooked cause of recurrent acute liver failure and Reye-like syndrome. *Molecular genetics and metabolism*. 2013;109(1):28-32.
36. Jouvét P, Jugie M, Rabier D, Desgres J, Hubert P, Saudubray JM, et al. Combined nutritional support and continuous extracorporeal removal therapy in the severe acute phase of maple syrup urine disease. *Intensive care medicine*. 2001;27(11):1798-806.

37. Mazariegos GV, Morton DH, Sindhi R, Soltys K, Nayyar N, Bond G, et al. Liver transplantation for classical maple syrup urine disease: long-term follow-up in 37 patients and comparative United Network for Organ Sharing experience. *The Journal of pediatrics*. 2012;160(1):116-21.e1.
38. Strauss KA, Mazariegos GV, Sindhi R, Squires R, Finegold DN, Vockley G, et al. Elective liver transplantation for the treatment of classical maple syrup urine disease. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2006;6(3):557-64.
39. Manoli I, Sloan JL, Venditti CP. Isolated Methylmalonic Acidemia. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, et al., editors. *GeneReviews*((R)). Seattle (WA): University of Washington, Seattle University of Washington, Seattle. *GeneReviews* is a registered trademark of the University of Washington, Seattle. All rights reserved.; 1993.
40. Matsui SM, Mahoney MJ, Rosenberg LE. The natural history of the inherited methylmalonic acidemias. *The New England journal of medicine*. 1983;308(15):857-61.
41. Shapira SK, Ledley FD, Rosenblatt DS, Levy HL. Ketoacidotic crisis as a presentation of mild ("benign") methylmalonic acidemia. *The Journal of pediatrics*. 1991;119(1 Pt 1):80-4.
42. Horster F, Baumgartner MR, Viardot C, Suormala T, Burgard P, Fowler B, et al. Long-term outcome in methylmalonic acidurias is influenced by the underlying defect (mut0, mut-, cblA, cblB). *Pediatric research*. 2007;62(2):225-30.
43. Martinelli D, Deodato F, Dionisi-Vici C. Cobalamin C defect: natural history, pathophysiology, and treatment. *Journal of inherited metabolic disease*. 2011;34(1):127-35.
44. Rosenblatt DS, Aspler AL, Shevell MI, Pletcher BA, Fenton WA, Seashore MR. Clinical heterogeneity and prognosis in combined methylmalonic aciduria and homocystinuria (cblC). *Journal of inherited metabolic disease*. 1997;20(4):528-38.
45. Rutsch F, Gailus S, Miousse IR, Suormala T, Sagne C, Toliat MR, et al. Identification of a putative lysosomal cobalamin exporter altered in the cblF defect of vitamin B12 metabolism. *Nature genetics*. 2009;41(2):234-9.
46. Coelho D, Kim JC, Miousse IR, Fung S, du Moulin M, Buers I, et al. Mutations in ABCD4 cause a new inborn error of vitamin B12 metabolism. *Nature genetics*. 2012;44(10):1152-5.

47. Yu HC, Sloan JL, Scharer G, Brebner A, Quintana AM, Achilly NP, et al. An X-linked cobalamin disorder caused by mutations in transcriptional coregulator HCFC1. *American journal of human genetics*. 2013;93(3):506-14.
48. Dobson CM, Gradinger A, Longo N, Wu X, Leclerc D, Lerner-Ellis J, et al. Homozygous nonsense mutation in the MCEE gene and siRNA suppression of methylmalonyl-CoA epimerase expression: a novel cause of mild methylmalonic aciduria. *Molecular genetics and metabolism*. 2006;88(4):327-33.
49. Gradinger AB, Belair C, Worgan LC, Li CD, Lavallee J, Roquis D, et al. Atypical methylmalonic aciduria: frequency of mutations in the methylmalonyl CoA epimerase gene (MCEE). *Human mutation*. 2007;28(10):1045.
50. Ledley FD, Levy HL, Shih VE, Benjamin R, Mahoney MJ. Benign methylmalonic aciduria. *The New England journal of medicine*. 1984;311(16):1015-8.
51. Alfares A, Nunez LD, Al-Thihli K, Mitchell J, Melancon S, Anastasio N, et al. Combined malonic and methylmalonic aciduria: exome sequencing reveals mutations in the ACSF3 gene in patients with a non-classic phenotype. *Journal of medical genetics*. 2011;48(9):602-5.
52. Sloan JL, Johnston JJ, Manoli I, Chandler RJ, Krause C, Carrillo-Carrasco N, et al. Exome sequencing identifies ACSF3 as a cause of combined malonic and methylmalonic aciduria. *Nature genetics*. 2011;43(9):883-6.
53. Elpeleg O, Miller C, HersHKovitz E, Bitner-Glindzicz M, Bondi-Rubinstein G, Rahman S, et al. Deficiency of the ADP-forming succinyl-CoA synthase activity is associated with encephalomyopathy and mitochondrial DNA depletion. *American journal of human genetics*. 2005;76(6):1081-6.
54. Carrozzo R, Dionisi-Vici C, Steuerwald U, Luciola S, Deodato F, Di Giandomenico S, et al. SUCLA2 mutations are associated with mild methylmalonic aciduria, Leigh-like encephalomyopathy, dystonia and deafness. *Brain : a journal of neurology*. 2007;130(Pt 3):862-74.
55. Kolker S, Sauer SW, Hoffmann GF, Muller I, Morath MA, Okun JG. Pathogenesis of CNS involvement in disorders of amino and organic acid metabolism. *Journal of inherited metabolic disease*. 2008;31(2):194-204.
56. Sauer SW, Opp S, Haarmann A, Okun JG, Kolker S, Morath MA. Long-term exposure of human proximal tubule cells to hydroxycobalamin[c-lactam] as a possible model to study renal disease in methylmalonic acidurias. *Journal of inherited metabolic disease*. 2009;32(6):720-7.
57. Mc Guire PJ, Parikh A, Diaz GA. Profiling of oxidative stress in patients with inborn errors of metabolism. *Molecular genetics and metabolism*. 2009;98(1-2):173-80.

58. Zsengeller ZK, Aljinovic N, Teot LA, Korson M, Rodig N, Sloan JL, et al. Methylmalonic acidemia: a megamitochondrial disorder affecting the kidney. *Pediatric nephrology* (Berlin, Germany). 2014;29(11):2139-46.
59. Manoli I, Sysol JR, Li L, Houillier P, Garone C, Wang C, et al. Targeting proximal tubule mitochondrial dysfunction attenuates the renal disease of methylmalonic acidemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2013;110(33):13552-7.
60. Chandler RJ, Zerfas PM, Shanske S, Sloan J, Hoffmann V, DiMauro S, et al. Mitochondrial dysfunction in mut methylmalonic acidemia. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2009;23(4):1252-61.
61. de Keyzer Y, Valayannopoulos V, Benoist JF, Batteux F, Lacaille F, Hubert L, et al. Multiple OXPHOS deficiency in the liver, kidney, heart, and skeletal muscle of patients with methylmalonic aciduria and propionic aciduria. *Pediatric research*. 2009;66(1):91-5.
62. Smith AD. The worldwide challenge of the dementias: a role for B vitamins and homocysteine? *Food and nutrition bulletin*. 2008;29(2 Suppl):S143-72.
63. Obeid R, Herrmann W. Mechanisms of homocysteine neurotoxicity in neurodegenerative diseases with special reference to dementia. *FEBS letters*. 2006;580(13):2994-3005.
64. Mattson MP, Shea TB. Folate and homocysteine metabolism in neural plasticity and neurodegenerative disorders. *Trends in neurosciences*. 2003;26(3):137-46.
65. Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *The New England journal of medicine*. 1998;338(15):1042-50.
66. Pogribna M, Melnyk S, Pogribny I, Chango A, Yi P, James SJ. Homocysteine metabolism in children with Down syndrome: in vitro modulation. *American journal of human genetics*. 2001;69(1):88-95.
67. Chace DH, DiPerna JC, Kalas TA, Johnson RW, Naylor EW. Rapid diagnosis of methylmalonic and propionic acidemias: quantitative tandem mass spectrometric analysis of propionylcarnitine in filter-paper blood specimens obtained from newborns. *Clinical chemistry*. 2001;47(11):2040-4.
68. Marble M, Copeland S, Khanfar N, Rosenblatt DS. Neonatal vitamin B12 deficiency secondary to maternal subclinical pernicious anemia: identification by expanded newborn screening. *The Journal of pediatrics*. 2008;152(5):731-3.
69. Horster F, Kolker S, Loeber JG, Cornel MC, Hoffmann GF, Burgard P. Newborn Screening Programmes in Europe, Arguments and Efforts Regarding Harmonisation: Focus on Organic Acidurias. *JIMD reports*. 2017;32:105-15.

70. Baumgartner MR, Horster F, Dionisi-Vici C, Haliloglu G, Karall D, Chapman KA, et al. Proposed guidelines for the diagnosis and management of methylmalonic and propionic acidemia. *Orphanet journal of rare diseases*. 2014;9:130.
71. Kaplan P, Ficicioglu C, Mazur AT, Palmieri MJ, Berry GT. Liver transplantation is not curative for methylmalonic acidopathy caused by methylmalonyl-CoA mutase deficiency. *Molecular genetics and metabolism*. 2006;88(4):322-6.
72. Nyhan WL, Gargus JJ, Boyle K, Selby R, Koch R. Progressive neurologic disability in methylmalonic acidemia despite transplantation of the liver. *European journal of pediatrics*. 2002;161(7):377-9.
73. Chakrapani A, Sivakumar P, McKiernan PJ, Leonard JV. Metabolic stroke in methylmalonic acidemia five years after liver transplantation. *The Journal of pediatrics*. 2002;140(2):261-3.
74. Shchelochkov OA, Carrillo N, Venditti C. Propionic Acidemia. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, et al., editors. *GeneReviews*((R)). Seattle (WA): University of Washington, Seattle University of Washington, Seattle. GeneReviews is a registered trademark of the University of Washington, Seattle. All rights reserved.; 1993.
75. Wongkittichote P, Ah Mew N, Chapman KA. Propionyl-CoA carboxylase - A review. *Molecular genetics and metabolism*. 2017;122(4):145-52.
76. Rodriguez-Pombo P, Hoenicka J, Muro S, Perez B, Perez-Cerda C, Richard E, et al. Human propionyl-CoA carboxylase beta subunit gene: exon-intron definition and mutation spectrum in Spanish and Latin American propionic acidemia patients. *American journal of human genetics*. 1998;63(2):360-9.
77. Rodriguez-Melendez R, Cano S, Mendez ST, Velazquez A. Biotin regulates the genetic expression of holocarboxylase synthetase and mitochondrial carboxylases in rats. *The Journal of nutrition*. 2001;131(7):1909-13.
78. Lau EP, Cochran BC, Munson L, Fall RR. Bovine kidney 3-methylcrotonyl-CoA and propionyl-CoA carboxylases: each enzyme contains nonidentical subunits. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1979;76(1):214-8.
79. Lamhonwah AM, Barankiewicz TJ, Willard HF, Mahuran DJ, Quan F, Gravel RA. Isolation of cDNA clones coding for the alpha and beta chains of human propionyl-CoA carboxylase: chromosomal assignments and DNA polymorphisms associated with PCCA and PCCB genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1986;83(13):4864-8.

80. Frenkel EP, Kitchens RL. Intracellular localization of hepatic propionyl-CoA carboxylase and methylmalonyl-CoA mutase in humans and normal and vitamin B12 deficient rats. *British journal of haematology*. 1975;31(4):501-13.
81. Fenton WA, Gravel RA, Rosenblatt DS. Disorders of propionate and methylmalonate metabolism. *The metabolic and molecular bases of inherited disease*. 2001;2:2165-93.
82. Davison JE, Davies NP, Wilson M, Sun Y, Chakrapani A, McKiernan PJ, et al. MR spectroscopy-based brain metabolite profiling in propionic acidemia: metabolic changes in the basal ganglia during acute decompensation and effect of liver transplantation. *Orphanet journal of rare diseases*. 2011;6:19.
83. Ando T, Rasmussen K, Wright JM, Nyhan WL. Isolation and identification of methylcitrate, a major metabolic product of propionate in patients with propionic acidemia. *The Journal of biological chemistry*. 1972;247(7):2200-4.
84. Ando T, Rasmussen K, Nyhan WL, Hull D. 3-hydroxypropionate: significance of -oxidation of propionate in patients with propionic acidemia and methylmalonic acidemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1972;69(10):2807-11.
85. Grunert SC, Mullerleile S, de Silva L, Barth M, Walter M, Walter K, et al. Propionic acidemia: neonatal versus selective metabolic screening. *Journal of inherited metabolic disease*. 2012;35(1):41-9.
86. Scholl-Burgi S, Haberlandt E, Gotwald T, Albrecht U, Baumgartner Sigl S, Rauchenzauner M, et al. Stroke-like episodes in propionic acidemia caused by central focal metabolic decompensation. *Neuropediatrics*. 2009;40(2):76-81.
87. Rousson R, Guibaud P. Long term outcome of organic acidurias: survey of 105 French cases (1967-1983). *Journal of inherited metabolic disease*. 1984;7 Suppl 1:10-2.
88. Delgado C, Macias C, de la Sierra Garcia-Valdecasas M, Perez M, del Portal LR, Jimenez LM. Subacute presentation of propionic acidemia. *Journal of child neurology*. 2007;22(12):1405-7.
89. Shuaib T, Al-Hashmi N, Ghaziuddin M, Megdad E, Abebe D, Al-Saif A, et al. Propionic acidemia associated with visual hallucinations. *Journal of child neurology*. 2012;27(6):799-803.
90. Lee TM, Addonizio LJ, Barshop BA, Chung WK. Unusual presentation of propionic acidemia as isolated cardiomyopathy. *Journal of inherited metabolic disease*. 2009;32 Suppl 1:S97-101.
91. Budd MA, Tanaka K, Holmes LB, Efron ML, Crawford JD, Isselbacher KJ. Isovaleric acidemia. Clinical features of a new genetic defect of leucine metabolism. *The New England journal of medicine*. 1967;277(7):321-7.

92. Burke DG, Halpern B, Malegan D, McCairns E, Danks D, Schlesinger P, et al. Profiles of urinary volatiles from metabolic disorders characterized by unusual odors. *Clinical chemistry*. 1983;29(10):1834-8.
93. Rhead WJ, Tanaka K. Demonstration of a specific mitochondrial isovaleryl-CoA dehydrogenase deficiency in fibroblasts from patients with isovaleric acidemia. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1980;77(1):580-3.
94. Tanaka K. Isovaleric acidemia: personal history, clinical survey and study of the molecular basis. *Prog Clin Biol Res*. 1990;321:273-90.
95. Tanaka K, Budd MA, Efron ML, Isselbacher KJ. Isovaleric acidemia: a new genetic defect of leucine metabolism. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1966;56(1):236-42.
96. Tanaka K, Ikeda Y, Matsubara Y, Hyman D. Molecular basis of isovaleric acidemia and the study of the acyl-CoA dehydrogenase family. *Advances in neurology*. 1988;48:107-31.
97. Ensenauer R, Vockley J, Willard JM, Huey JC, Sass JO, Edland SD, et al. A common mutation is associated with a mild, potentially asymptomatic phenotype in patients with isovaleric acidemia diagnosed by newborn screening. *American journal of human genetics*. 2004;75(6):1136-42.
98. Parimoo B, Tanaka K. Structural organization of the human isovaleryl-CoA dehydrogenase gene. *Genomics*. 1993;15(3):582-90.
99. Vockley J, Ensenauer R. Isovaleric acidemia: new aspects of genetic and phenotypic heterogeneity. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*. 2006;142C(2):95-103.
100. Attia N, Sakati N, al Ashwal A, al Saif R, Rashed M, Ozand PT. Isovaleric acidemia appearing as diabetic ketoacidosis. *Journal of inherited metabolic disease*. 1996;19(1):85-6.
101. Fischer AQ, Challa VR, Burton BK, McLean WT. Cerebellar hemorrhage complicating isovaleric acidemia: a case report. *Neurology*. 1981;31(6):746-8.
102. Weinberg GL, Laurito CE, Geldner P, Pygon BH, Burton BK. Malignant ventricular dysrhythmias in a patient with isovaleric acidemia receiving general and local anesthesia for suction lipectomy. *Journal of clinical anesthesia*. 1997;9(8):668-70.
103. Sogut A, Acun C, Aydin K, Tomac N, Demirel F, Aktuglu C. Isovaleric acidemia: cranial CT and MRI findings. *Pediatric radiology*. 2004;34(2):160-2.

104. Kahler SG, Sherwood WG, Woolf D, Lawless ST, Zaritsky A, Bonham J, et al. Pancreatitis in patients with organic acidemias. *The Journal of pediatrics*. 1994;124(2):239-43.
105. Gilbert-Barness E, Barness LA. Isovaleric acidemia with promyelocytic myeloproliferative syndrome. *Pediatric and developmental pathology : the official journal of the Society for Pediatric Pathology and the Paediatric Pathology Society*. 1999;2(3):286-91.
106. Arnold WC, Brewster M, Byrne WJ, Booth B. Fanconi syndrome in a patient with a variant of isovaleric acidemia. *The International journal of pediatric nephrology*. 1986;7(2):95-8.
107. Krieger I, Tanaka K. Therapeutic effects of glycine in isovaleric acidemia. *Pediatric research*. 1976;10(1):25-9.
108. Mayatepek E, Kurczynski TW, Hoppel CL. Long-term L-carnitine treatment in isovaleric acidemia. *Pediatric neurology*. 1991;7(2):137-40.
109. Boy N, Muhlhausen C, Maier EM, Heringer J, Assmann B, Burgard P, et al. Proposed recommendations for diagnosing and managing individuals with glutaric aciduria type I: second revision. *Journal of inherited metabolic disease*. 2017;40(1):75-101.
110. Fu Z, Wang M, Paschke R, Rao KS, Frerman FE, Kim JJ. Crystal structures of human glutaryl-CoA dehydrogenase with and without an alternate substrate: structural bases of dehydrogenation and decarboxylation reactions. *Biochemistry*. 2004;43(30):9674-84.
111. Goodman SI, Markey SP, Moe PG, Miles BS, Teng CC. Glutaric aciduria; a "new" disorder of amino acid metabolism. *Biochemical medicine*. 1975;12(1):12-21.
112. Greenberg CR, Reimer D, Singal R, Triggs-Raine B, Chudley AE, Dilling LA, et al. A G-to-T transversion at the +5 position of intron 1 in the glutaryl CoA dehydrogenase gene is associated with the Island Lake variant of glutaric acidemia type I. *Human molecular genetics*. 1995;4(3):493-5.
113. Goodman SI, Stein DE, Schlesinger S, Christensen E, Schwartz M, Greenberg CR, et al. Glutaryl-CoA dehydrogenase mutations in glutaric acidemia (type I): review and report of thirty novel mutations. *Human mutation*. 1998;12(3):141-4.
114. Zschocke J, Quak E, Guldberg P, Hoffmann GF. Mutation analysis in glutaric aciduria type I. *Journal of medical genetics*. 2000;37(3):177-81.
115. Kolker S, Garbade SF, Boy N, Maier EM, Meissner T, Muhlhausen C, et al. Decline of acute encephalopathic crises in children with glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency identified by newborn screening in Germany. *Pediatric research*. 2007;62(3):357-63.

116. Lindner M, Kolker S, Schulze A, Christensen E, Greenberg CR, Hoffmann GF. Neonatal screening for glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. *Journal of inherited metabolic disease*. 2004;27(6):851-9.
117. Tian F, Fu X, Gao J, Ying Y, Hou L, Liang Y, et al. Glutaric acid-mediated apoptosis in primary striatal neurons. *BioMed research international*. 2014;2014:484731.
118. Harting I, Boy N, Heringer J, Seitz A, Bendszus M, Pouwels PJ, et al. (1)H-MRS in glutaric aciduria type 1: impact of biochemical phenotype and age on the cerebral accumulation of neurotoxic metabolites. *Journal of inherited metabolic disease*. 2015;38(5):829-38.
119. Hoffmann GF, Trefz FK, Barth PG, Bohles HJ, Biggemann B, Bremer HJ, et al. Glutaryl-coenzyme A dehydrogenase deficiency: a distinct encephalopathy. *Pediatrics*. 1991;88(6):1194-203.
120. Kolker S, Christensen E, Leonard JV, Greenberg CR, Burlina AB, Burlina AP, et al. Guideline for the diagnosis and management of glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency (glutaric aciduria type I). *Journal of inherited metabolic disease*. 2007;30(1):5-22.
121. Kolker S, Garbade SF, Greenberg CR, Leonard JV, Saudubray JM, Ribes A, et al. Natural history, outcome, and treatment efficacy in children and adults with glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. *Pediatric research*. 2006;59(6):840-7.
122. Kyllerman M, Skjeldal O, Christensen E, Hagberg G, Holme E, Lonnquist T, et al. Long-term follow-up, neurological outcome and survival rate in 28 Nordic patients with glutaric aciduria type 1. *European journal of paediatric neurology : EJPN : official journal of the European Paediatric Neurology Society*. 2004;8(3):121-9.
123. Bjugstad KB, Goodman SI, Freed CR. Age at symptom onset predicts severity of motor impairment and clinical outcome of glutaric acidemia type 1. *The Journal of pediatrics*. 2000;137(5):681-6.
124. Hoffmann GF, Athanassopoulos S, Burlina AB, Duran M, de Klerk JB, Lehnert W, et al. Clinical course, early diagnosis, treatment, and prevention of disease in glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. *Neuropediatrics*. 1996;27(3):115-23.
125. Strauss KA, Donnelly P, Wintermark M. Cerebral haemodynamics in patients with glutaryl-coenzyme A dehydrogenase deficiency. *Brain : a journal of neurology*. 2010;133(Pt 1):76-92.
126. Bahr O, Mader I, Zschocke J, Dichgans J, Schulz JB. Adult onset glutaric aciduria type I presenting with a leukoencephalopathy. *Neurology*. 2002;59(11):1802-4.

127. Busquets C, Merinero B, Christensen E, Gelpi JL, Campistol J, Pineda M, et al. Glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency in Spain: evidence of two groups of patients, genetically, and biochemically distinct. *Pediatric research*. 2000;48(3):315-22.
128. Kulkens S, Harting I, Sauer S, Zschocke J, Hoffmann GF, Gruber S, et al. Late-onset neurologic disease in glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. *Neurology*. 2005;64(12):2142-4.
129. Boy N, Haegi G, Heringer J, Assmann B, Muhlhausen C, Ensenauer R, et al. Low lysine diet in glutaric aciduria type I--effect on anthropometric and biochemical follow-up parameters. *Journal of inherited metabolic disease*. 2013;36(3):525-33.
130. Couce ML, Lopez-Suarez O, Boveda MD, Castineiras DE, Cocho JA, Garcia-Villoria J, et al. Glutaric aciduria type I: outcome of patients with early- versus late-diagnosis. *European journal of paediatric neurology : EJPN : official journal of the European Paediatric Neurology Society*. 2013;17(4):383-9.
131. Heringer J, Boy SP, Ensenauer R, Assmann B, Zschocke J, Harting I, et al. Use of guidelines improves the neurological outcome in glutaric aciduria type I. *Annals of neurology*. 2010;68(5):743-52.
132. Loeber JG, Burgard P, Cornel MC, Rigter T, Weinreich SS, Rupp K, et al. Newborn screening programmes in Europe; arguments and efforts regarding harmonization. Part 1. From blood spot to screening result. *Journal of inherited metabolic disease*. 2012;35(4):603-11.
133. El-Hattab AW. Inborn errors of metabolism. *Clinics in perinatology*. 2015;42(2):413-39, x.
134. Kolker S, Koeller DM, Sauer S, Horster F, Schwab MA, Hoffmann GF, et al. Excitotoxicity and bioenergetics in glutaryl-CoA dehydrogenase deficiency. *Journal of inherited metabolic disease*. 2004;27(6):805-12.
135. Olsen RK, Cornelius N, Gregersen N. Redox signalling and mitochondrial stress responses; lessons from inborn errors of metabolism. *Journal of inherited metabolic disease*. 2015;38(4):703-19.
136. Ercal N, Aykin-Burns N, Gurer-Orhan H, McDonald JD. Oxidative stress in a phenylketonuria animal model. *Free radical biology & medicine*. 2002;32(9):906-11.
137. Bird S, Miller N, Collins J, Rice-Evans C. Plasma antioxidant capacity in two cases of tyrosinaemia type 1: one case treated with NTBC. *Journal of inherited metabolic disease*. 1995;18(2):123-6.
138. Rottoli A, Lista G, Zecchini G, Butte C, Longhi R. Plasma selenium levels in treated phenylketonuric patients. *Journal of inherited metabolic disease*. 1985;8 Suppl 2:127-8.

139. Sierra C, Vilaseca MA, Moyano D, Brandi N, Campistol J, Lambruschini N, et al. Antioxidant status in hyperphenylalaninemia. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 1998;276(1):1-9.
140. Kumru B, Kaplan DS, Ozturk Hismi B, Celik H. Effect of Blood Phenylalanine Levels on Oxidative Stress in Classical Phenylketonuric Patients. *Cellular and molecular neurobiology*. 2017.
141. Prestes CC, Sgaravatti AM, Pederzolli CD, Sgarbi MB, Zorzi GK, Wannmacher CM, et al. Citrulline and ammonia accumulating in citrullinemia reduces antioxidant capacity of rat brain in vitro. *Metabolic brain disease*. 2006;21(1):63-74.
142. Delwing D, Delwing D, Dutra-Filho CS, Wannmacher CM, Wajner M, Wyse AT. Arginine administration reduces catalase activity in midbrain of rats. *Neuroreport*. 2002;13(10):1301-4.
143. Iuliano L. Pathways of cholesterol oxidation via non-enzymatic mechanisms. *Chemistry and physics of lipids*. 2011;164(6):457-68.
144. Russell DW. Oxysterol biosynthetic enzymes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids*. 2000;1529(1):126-35.
145. Wang J, Megha, London E. Relationship between sterol/steroid structure and participation in ordered lipid domains (lipid rafts): implications for lipid raft structure and function. *Biochemistry*. 2004;43(4):1010-8.
146. Massey JB, Pownall HJ. The polar nature of 7-ketocholesterol determines its location within membrane domains and the kinetics of membrane microsolvubilization by apolipoprotein AI. *Biochemistry*. 2005;44(30):10423-33.
147. Girotti AW. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. *Journal of lipid research*. 1998;39(8):1529-42.
148. Olkkonen VM, Hynynen R. Interactions of oxysterols with membranes and proteins. *Molecular aspects of medicine*. 2009;30(3):123-33.
149. Iuliano L, Micheletta F, Natoli S, Ginanni Corradini S, Iappelli M, Elisei W, et al. Measurement of oxysterols and alpha-tocopherol in plasma and tissue samples as indices of oxidant stress status. *Analytical biochemistry*. 2003;312(2):217-23.
150. Arca M, Natoli S, Micheletta F, Riggi S, Di Angelantonio E, Montali A, et al. Increased plasma levels of oxysterols, in vivo markers of oxidative stress, in patients with familial combined hyperlipidemia: reduction during atorvastatin and fenofibrate therapy. *Free radical biology & medicine*. 2007;42(5):698-705.

151. Korade Z, Xu L, Mirnics K, Porter NA. Lipid biomarkers of oxidative stress in a genetic mouse model of Smith-Lemli-Opitz syndrome. *Journal of inherited metabolic disease*. 2013;36(1):113-22.
152. Jiang X, Sidhu R, Porter FD, Yanjanin NM, Speak AO, te Vrugte DT, et al. A sensitive and specific LC-MS/MS method for rapid diagnosis of Niemann-Pick C1 disease from human plasma. *J Lipid Res*. 2011;52(7):1435-45.
153. Reunert J, Lotz-Havla AS, Polo G, Kannenberg F, Fobker M, Griesse M, et al. Niemann-Pick Type C-2 Disease: Identification by Analysis of Plasma Cholestane-3 β ,5 α ,6 β -Triol and Further Insight into the Clinical Phenotype. *JIMD reports*. 2015;23:17-26.
154. Polo G, Burlina A, Furlan F, Kolamunnage T, Cananzi M, Giordano L, et al. High level of oxysterols in neonatal cholestasis: a pitfall in analysis of biochemical markers for Niemann-Pick type C disease. *Clinical chemistry and laboratory medicine*. 2016;54(7):1221-9.
155. Barschak AG, Sitta A, Deon M, Barden AT, Dutra-Filho CS, Wajner M, et al. Oxidative stress in plasma from maple syrup urine disease patients during treatment. *Metabolic brain disease*. 2008;23(1):71-80.
156. Dugan LL, Sensi SL, Canzoniero LM, Handran SD, Rothman SM, Lin TS, et al. Mitochondrial production of reactive oxygen species in cortical neurons following exposure to N-methyl-D-aspartate. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 1995;15(10):6377-88.
157. Mattson MP, Barger SW, Begley JG, Mark RJ. Calcium, free radicals, and excitotoxic neuronal death in primary cell culture. *Methods in cell biology*. 1995;46:187-216.
158. Karelson E, Bogdanovic N, Garlind A, Winblad B, Zilmer K, Kullisaar T, et al. The cerebrocortical areas in normal brain aging and in Alzheimer's disease: noticeable differences in the lipid peroxidation level and in antioxidant defense. *Neurochemical research*. 2001;26(4):353-61.
159. Halliwell BaG JM. *Free Radicals in Biology and Medicine*: Oxford University Press. 2007.
160. Gunduz M, Unal S, Okur I, Ayranci Sucakli I, Guzel F, Koc N. Neonates with inborn errors of metabolism: spectrum and short-term outcomes at a tertiary care hospital. *Turk J Pediatr*. 2015;57(1):45-52.
161. Gorzelany K, Dursun A, Coskun T, Kalkanoglu-Sivri SH, Gökçay GF, Demirkol M, et al. Molecular genetics of maple syrup urine disease in the Turkish population. *The Turkish journal of pediatrics*. 2009;51(2):97.
162. Dunder H, Ozgul RK, Guzel-Ozanturk A, Dursun A, Sivri S, Aliefendioglu D, et al. Microarray based mutational analysis of patients with methylmalonic

- acidemia: identification of 10 novel mutations. *Molecular genetics and metabolism*. 2012;106(4):419-23.
163. Ozgul RK, Karaca M, Kilic M, Kucuk O, Yucel-Yilmaz D, Unal O, et al. Phenotypic and genotypic spectrum of Turkish patients with isovaleric acidemia. *Eur J Med Genet*. 2014;57(10):596-601.
 164. Henriquez H, el Din A, Ozand PT, Subramanyam SB, al Gain SI. Emergency presentations of patients with methylmalonic acidemia, propionic acidemia and branched chain amino acidemia (MSUD). *Brain & development*. 1994;16 Suppl:86-93.
 165. Barschak AG, Marchesan C, Sitta A, Deon M, Giugliani R, Wajner M, et al. Maple syrup urine disease in treated patients: biochemical and oxidative stress profiles. *Clinical biochemistry*. 2008;41(4-5):317-24.
 166. Meagher EA, FitzGerald GA. Indices of lipid peroxidation in vivo: strengths and limitations. *Free radical biology & medicine*. 2000;28(12):1745-50.
 167. Bridi R, Araldi J, Sgarbi MB, Testa CG, Durigon K, Wajner M, et al. Induction of oxidative stress in rat brain by the metabolites accumulating in maple syrup urine disease. *International journal of developmental neuroscience : the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience*. 2003;21(6):327-32.
 168. Mescka CP, Rosa AP, Schirmbeck G, da Rosa TH, Catarino F, de Souza LO, et al. L-carnitine Prevents Oxidative Stress in the Brains of Rats Subjected to a Chemically Induced Chronic Model of MSUD. *Molecular neurobiology*. 2016;53(9):6007-17.
 169. Taschetto L, Scaini G, Zapelini HG, Ramos AC, Strapazzon G, Andrade VM, et al. Acute and long-term effects of intracerebroventricular administration of alpha-ketoisocaproic acid on oxidative stress parameters and cognitive and noncognitive behaviors. *Metabolic brain disease*. 2017;32(5):1507-18.
 170. Barschak AG, Sitta A, Deon M, de Oliveira MH, Haeser A, Dutra-Filho CS, et al. Evidence that oxidative stress is increased in plasma from patients with maple syrup urine disease. *Metabolic brain disease*. 2006;21(4):279-86.
 171. Mescka CP, Guerreiro G, Hammerschmidt T, Faverzani J, de Moura Coelho D, Mandredini V, et al. L-Carnitine supplementation decreases DNA damage in treated MSUD patients. *Mutation research*. 2015;775:43-7.
 172. Mescka CP, Guerreiro G, Donida B, Marchetti D, Wayhs CA, Ribas GS, et al. Investigation of inflammatory profile in MSUD patients: benefit of L-carnitine supplementation. *Metabolic brain disease*. 2015;30(5):1167-74.
 173. Mescka CP, Wayhs CA, Vanzin CS, Biancini GB, Guerreiro G, Manfredini V, et al. Protein and lipid damage in maple syrup urine disease patients: l-carnitine

- effect. *International journal of developmental neuroscience : the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience*. 2013;31(1):21-4.
174. Guerreiro G, Mescka CP, Sitta A, Donida B, Marchetti D, Hammerschmidt T, et al. Urinary biomarkers of oxidative damage in Maple syrup urine disease: the L-carnitine role. *International journal of developmental neuroscience : the official journal of the International Society for Developmental Neuroscience*. 2015;42:10-4.
 175. Fontella FU, Pulrolnik V, Gassen E, Wannmacher CM, Klein AB, Wajner M, et al. Propionic and L-methylmalonic acids induce oxidative stress in brain of young rats. *Neuroreport*. 2000;11(3):541-4.
 176. Pastore A, Martinelli D, Piemonte F, Tozzi G, Boenzi S, Di Giovamberardino G, et al. Glutathione metabolism in cobalamin deficiency type C (cblC). *Journal of inherited metabolic disease*. 2014;37(1):125-9.
 177. Gallego-Villar L, Perez-Cerda C, Perez B, Abia D, Ugarte M, Richard E, et al. Functional characterization of novel genotypes and cellular oxidative stress studies in propionic acidemia. *Journal of inherited metabolic disease*. 2013;36(5):731-40.
 178. Gallego-Villar L, Perez B, Ugarte M, Desviat LR, Richard E. Antioxidants successfully reduce ROS production in propionic acidemia fibroblasts. *Biochemical and biophysical research communications*. 2014;452(3):457-61.
 179. Solano AF, Leipnitz G, De Bortoli GM, Seminotti B, Amaral AU, Fernandes CG, et al. Induction of oxidative stress by the metabolites accumulating in isovaleric acidemia in brain cortex of young rats. *Free Radic Res*. 2008;42(8):707-15.
 180. Kolker S, Ahlemeyer B, Kriegelstein J, Hoffmann GF. Contribution of reactive oxygen species to 3-hydroxyglutarate neurotoxicity in primary neuronal cultures from chick embryo telencephalons. *Pediatric research*. 2001;50(1):76-82.
 181. Latini A, Borba Rosa R, Scussiato K, Llesuy S, Bello-Klein A, Wajner M. 3-Hydroxyglutaric acid induces oxidative stress and decreases the antioxidant defenses in cerebral cortex of young rats. *Brain research*. 2002;956(2):367-73.
 182. Latini A, Scussiato K, Leipnitz G, Dutra-Filho CS, Wajner M. Promotion of oxidative stress by 3-hydroxyglutaric acid in rat striatum. *Journal of inherited metabolic disease*. 2005;28(1):57-67.
 183. Seminotti B, Amaral AU, da Rosa MS, Fernandes CG, Leipnitz G, Olivera-Bravo S, et al. Disruption of brain redox homeostasis in glutaryl-CoA dehydrogenase deficient mice treated with high dietary lysine supplementation. *Molecular genetics and metabolism*. 2013;108(1):30-9.

184. Salmi H, Leonard JV, Lapatto R. Patients with organic acidaemias have an altered thiol status. *Acta paediatrica* (Oslo, Norway : 1992). 2012;101(11):e505-8.



EKLER

EK 1

Hasta Grubunda Görülen Mutasyonlar ve Dağılımları

	Gen	Mutasyon	n
MSUD			
	BCKDHA	c.500G>C p.Arg167Pro homozigot	1
	BCKDHA	c.757G>A p.Ala253Thr homozigot	6
	BCKDHA	c.773_774delinsAA p.Cys258* homozigot	6
	BCKDHA	c.773C>A p.Cys258* homozigot	2
	BCKDHA	c.783G>A .784C>A p.Cys258* birleşik heterozigot	1
	BCKDHA	c.1087C>T p.Arg363Trp homozigot	1
	BCKDHA	c.1234G>A p.Val412Met heterozigot	1
	BCKDHB	c.169C>T p.Gln57* homozigot	1
	BCKDHB	c.508C>T p.Arg170Cys	1

		homozigot	
	BCKDHB	c.509G>A p.Arg170His homozigot	1
	BCKDHB	c.547C>T p.Arg183Trp homozigot	1
	BCKDHB	c.564T>A p.Cys188* homozigot	1
	BCKDHB	c.853C>T p.Arg285* c.988G>A p.Glu330Lys birleşik heterozigot	1
	BCKDHB	c.1015T>C p.Ser339Leu homozigot	1
	BCKDHB	c.1149T>A p.Tyr383* homozigot	4
	BCKDHB	IVS5+1G>A kırılma Homozigot	1
	DBT	c.191T>C p.Val64Ala homozigot	1
	DBT	c.1238T>C p.Ile413Thr homozigot	2
MSUD Toplam			33
MMA			
	MUT	c.410C>G	1

		p.Ala137Gly homozigot	
	MUT	c.420_421delG p.Leu140Leufs*39 homozigot	2
	MUT	c.454C>T p.Arg152* homozigot	2
	MUT	c.682C>T p.Arg228* c.1399C>T p.Arg467* birleşik heterozigot	1
	MUT	c.914T>C p.Leu305Ser homozigot	1
	MUT	c.1105C>T p.Arg369Cys homozigot	1
	MUT	c.1106G>A p.Arg369His homozigot	1
	MUT	c.1106G>A p.Arg369His p.Arg269His birleşik heterozigot	1
	MUT	c.1160C>T p.Thr387Met homozigot	1
	MUT	c.1311_1312insA p.Val438Serfs*3 homozigot	1
	MUT	c.1843C>A p.Pro615Thr homozigot	3

	MUT	c.2020C>T p.Leu674Phe homozigot	3
	MUT	c.2116insA p.Pro706Thrfs*5 homozigot	1
	MMAA	c.592_595delACTG p.Thr198Serfs*6 homozigot	1
	MMACHC	c.394C>T p.Arg132* homozigot	1
MMA Toplam			21
PA			
	PCAA	c.1219_1220insA Homozigot	1
	PCAA	IVS13+3A>G Kırpılma homozigot	3
	PCCB	c.1309G>A p.Gly437Ser homozigot	3
PA Toplam			7
İVA			
	IVD	c.149G>C p.Arg21Pro homozigot	1
	IVD	c.154delC p.Leu52Phefs*63 homozigot	1
	IVD	c.158G>C p.Arg53Pro homozigot	1

	IVD	c.890C>T p.Ala268Val homozigot	1
	IVD	c.1133G>A p.Gly346Asp homozigot	1
	IVD	c.1183C>T p.Arg395Cys homozigot	1
	IVD	c.1184G>A p.Arg395His homozigot	1
	IVD	c.1222G>A p.Glu379Lys homozigot	2
	IVD	IVS2+3G>C Kırpılma homozigot	1
	IVD	IVS4+2T>C Kırpılma homozigot	2
İVA Toplam			12
GA Tip 1			
	GCDH	c.120C>T Homozigot	1
	GCDH	c.383G>A p.Arg128Gln homozigot	1
	GCDH	c.433delT p.Ser145Profs*78 c.1253A>T p.Asp418Val birleşik heterozigot	1
	GCDH	c.469_499del p.Pro166fs*20	1

		homozigot	
	GCDH	c.743C>T p.Pro248Leu homozigot	1
	GCDH	c.1018C>T p.Leu340Phe homozigot	1
	GCDH	c.1204C>T p.Arg402Trp homozigot	3
	GCDH	c.1204C>T p.Arg402Trp c.349G>A p.Gly117Arg birleşik heterozigot	1
	GCDH	c.1249C>T p.His417Tyr homozigot	1
GA Tip 1 Toplam			11