



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

**YENİDOĞANLARDA SKROTAL PİGMENTASYONUN
HEKİM GÖZÜ YANI SIRA SPEKTROMETRE İLE
DEĞERLENDİRİLMESİ VE SONUÇLARIN
17-HİDROKSİPROGESTERON KAN DÜZEYİ İLE
KORELASYONUNUN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Abdurrahman Erdem BAŞARAN

Antalya, 2014



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

**YENİDOĞANLARDA SKROTAL PİGMENTASYONUN
HEKİM GÖZÜ YANI SIRA SPEKTROMETRE İLE
DEĞERLENDİRİLMESİ VE SONUÇLARIN
17-HİDROKSİPROGESTERON KAN DÜZEYİ İLE
KORELASYONUNUN İNCELENMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Abdurrahman Erdem BAŞARAN

Tez Danışmanı: Yrd.Doç.Dr. Sevtap VELİPAŞAOĞLU GÜNEY

“Kaynak gösterilerek tezimden yararlanılabilir”

Antalya, 2014

Bu çalışma, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından 2014.04.0103.005 Proje No ile desteklenmiştir.

TEŞEKKÜR

Tezime verdiği sınırsız destek, güler yüz ve emeği için tez danışmanım sayın Yrd.Doç.Dr. Sevtap VELİPAŞAOĞLU GÜNEY'e,

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları uzmanlık eğitimime katkıda bulunan bütün Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerine,

Tezimin spektrometrik ölçüm ve değerlendirmesindeki katkılarından dolayı sayın Prof.Dr. Murat CANPOLAT, sayın Aslınur SIRCAN KÜÇÜKSAYAN'a,

Tezimin istatistiksel analizinde yardımları için sayın Deniz ÖZEL'e,

Eğitimim boyunca birlikte olmaktan mutluluk duyduğum tüm çalışma arkadaşlarıma,

Bu günlere ulaşmamda büyük emeği olan anneme, babama, ablama ve bana her konuda desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili eşim Ayşen ve biricik oğlum Güney'e

tüm içtenliğimle teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
Kısaltmalar Dizini	ii
Tablolar Dizini	iii
Şekiller Dizini	iv
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Adrenal Bez Histolojisi	3
2.2. Adrenal Bez Embriyolojisi	5
2.3. Adrenal Bez Fizyolojisi	5
2.4. Konjenital Adrenal Hiperplazi	7
2.4.1. 21 Hidroksilaz enzim eksikliği	8
2.4.1.1. Klasik basit virilizan tip	9
2.4.1.2. Klasik tuz kaybı ile giden tip	10
2.4.1.3. Geç ortaya çıkan tip veya klasik olmayan KAH	11
2.4.1.4. Kriptik tip	12
2.4.2. 11 Beta-hidroksilaz eksikliği	12
2.4.3. 17 Alfa-hidroksilaz eksikliği	13
2.4.4. 3 Beta-hidroksisteroid dehidrogenaz eksikliği	13
2.5. Konjenital Adrenal Hiperplazi Tanısı	14
2.6. Yenidoğan Konjenital Adrenal Hiperplazi Taramaları	14
2.7. Hastalık Taramalarının Genel Özellikleri	17
3. OLGULAR VE YÖNTEM	18
3.1. Olgular	18
3.2. Spektroskopik Donanım	19
3.3. Ölçümler	21
3.4. Verilerin Analizi	21
3.5. Kullanılan İstatistiksel Yöntem	21
4. BULGULAR	23
5. TARTIŞMA	29
6. SONUÇLAR	32
7. ÖZET	34
8. ABSTRACT	36
9. KAYNAKLAR	38

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

17-OHP	: 17-hidroksiprogesteron
ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
DHEA	: Dehidroepiandrostenedion
DOC	: Deoksikortikosteron
KAH	: Konjenital Adrenal Hiperplazi
MSH	: Melanosit-stimüle edici hormon
PRA	: Plazma Renin Aktivitesi

TABLOLAR DİZİNİ

<u>Tablo</u>	<u>Sayfa</u>
4.1. Hekim gözüyle skrotum rengi hiperpigmente veya normal olarak değerlendirilen olguların demografik verileri, spektrometrik ölçüm değerleri ve 17-OHP düzeyleri	24
4.2. Tüm olgularda anne yaşı, gestasyon haftası, doğum ağırlığı, bebeğin yaşı, 17-OHP düzeyi, spektrometri değerinin birbirleriyle korelasyonu	25
4.3. Hekim gözüyle skrotum rengi hiperpigmente olan olguların anne yaşı, gestasyon haftası, doğum ağırlığı, yaşı, 17-OHP düzeyi, spektrometri değerinin birbirleriyle olan korelasyonu	26
4.4. Hekim gözüyle skrotum rengi normal olan olguların anne yaşı, gestasyon haftası, doğum ağırlığı, yaşı, 17- OHP düzeyi, spektrometri değerinin birbirleriyle olan korelasyonu	27
4.5. 37 hafta ve altı olan olgularla 37 hafta üzeri olan olguların 17-OHP düzeyleri arasındaki ilişki	27
4.6. 37 hafta ve altı olan olgularla 37 hafta üzeri olan olguların spektrometri değerleri arasındaki ilişki	28

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Sekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Steroid biyosentez yolakları	8
3.1. Deney düzeneği	19
3.2. Çalışmada kullandığımız fiber optik prob	20
3.3. Çalışmada kullanılan spektrometrenin iç yapısı	30
4.1. Çalışmadaki olguların skrotum renginin hekim gözüyle hiperpigmente ya da normal pigmente olarak değerlendirilmesi	23
4.2. 17-OHP düzeyi ile spektrometre değeri arasındaki ilişki	25

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Konjenital adrenal hiperplazi (KAH) kolesterolden kortizol biyosentezi için gerekli 5 enzimden herhangi birinin eksikliği sonucu ortaya çıkan otozomal resesif geçişli doğumsal bir hastalıktır. İlk tanımlama 1985 yılında De Crecchio isimli Napolili bir anatomist tarafından dişi cinsel gelişim bozukluğu gösteren bir vakada yapılmıştır (1). Kortizol sentezindeki eksiklik Adrenokortikotropik Hormon (ACTH) sentezinde artışa neden olur. ACTH artışı ise adrenokortikal hiperplaziye ve kortizol biyosentez yolağında blokaja neden olan enzim eksikliğinin öncesinde yer alan ara metabolitlerin üretiminde artışa yol açar (2).

Tüm KAH'lı olguların yaklaşık %90'mı 21-hidroksilaz enzim eksikliği oluşturur (3). 11-hidroksilaz eksikliği, 3-beta hidroksisteroid dehidrogenaz eksikliği, 17-alfa hidroksilaz /17-liyaz eksikliği ve lipoid adrenal hiperplazi daha az sıklıkla görülen formlardır. 21-Hidroksilaz eksikliğindeki farklı mutasyonlar kortizol sentezinin durmasına ya da çok azalmasına neden olur. Glukokortikoid eksikliği, hastalık seyrinde görülen birçok klinik bulgunun sebebidir. Bu hastaların bir kısmında görülen diğer bir bulgu mineralokortikoid sentezinin eksikliğidir. Mineralokortikoid eksikliğine bağlı olarak olgular ağırlık kaybı, dehidratasyon, hipotansiyon, hiponatremi ve hiperkalemi ile başvurabilirler.

21-hidroksilaz eksikliği olan hastaların en önemli klinik bulgularından biri de artmış androjen sentezine bağlı olarak görülen artmış virilizasyon ve maskulünizasyon bulgularıdır. İntrauterin dönemde fazla androjene maruz kalan dişi fetusta kliteromegali, dış genital organlarda erkek tipinde değişiklikler, kuşkulu genital yapı oluşabilir. Erkek fetusta ise intrauterin dönemde fazla androjene maruz kalınması penis büyüklüğüne, genital hiperpigmentasyona ve erken puberte bulgularına neden olabilir (4).

Erkek bebeklerde hekimi uyuracak kuşkulu genital yapı bulunmadığı için tanısız gecikmeler olmakta ve ancak ciddi adrenal yetmezlik geliştiğinde tanı konulabilmektedir. Tanısız gecikme nedeniyle hastalığın erkeklerde daha ölümcül seyrettiği bilinmektedir. Bu nedenle pek çok ülkede 21-hidroksilaz eksikliğinde artan bir ara metabolit olan 17-hidroksiprogesteron (17-OHP) düzeyine topuk kanından bakılarak hastalık yenidoğan döneminde taranmaktadır (5).

Ülkemiz koşullarında henüz böyle bir tarama söz konusu değildir. Bu nedenle, özellikle erkek bebeklerde hekimin dikkati, hastalığın erken tanısı için çok önemlidir. Erkek bebeklerde hastalığa bağlı olarak gelişen genital hiperpigmentasyon uyarıcı bir bulgu olarak kabul edilmektedir (4). Klinik uygulamamızda hekimin genital hiperpigmentasyondan şüphelendiği bebeklerde 17-OHP kan düzeyi istenmektedir. Ancak nesnel olmayan bu ölçüt (hekimin gözüne genital yapının koyu renkli görünmesi) olgularda atlamaya ya da gereksiz 17-OHP istemlerine neden olabilmektedir. Bu nedenle bebeklerin genital bölgesindeki melanin pigment yoğunluğunu ölçebilecek, nesnel, noninvazif bir yöntem olan spektrometreyi geliştirmek bu çalışmanın birincil amacıdır. Nesnel olarak ölçülen genital pigmentasyon ile hekim gözünün (öznel değerlendirme) uyumu değerlendirilecek ve her iki düzey erkek bebeklerin 17-OHP kan düzeyleri ile karşılaştırılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Adrenal Bez Histolojisi

Böbrek üstü bezleri yağ dokusu içerisinde gömülü olarak böbreklerin üst kısmında yerleşmiş yarım ay biçiminde yassılaştırmış yapılar olup, insanda, 4-6 cm boyunda, 1-2 cm genişliğinde ve 4-6 mm kalınlığındadırlar. Ağırlıkları ve büyüklükleri bireyin yaşına ve fizyolojik durumuna göre değışmekle beraber birlikte 8 gram civarındadır. Bez, sarı çevresel bir tabaka olan böbrek korteksi bezi ve kırmızımsı-kahverengi merkezi bir tabaka olan böbrek medullası bezi olmak üzere iki tabakadan oluşmaktadır (6).

Böbrek korteksi bezi; hücrelerin dağılımındaki ve görünümündeki farklılıklardan dolayı, sınırları insanlarda genellikle çok net tanımlanmayan, zona glomeruloza, zona fasikülata ve zona retikularis olmak üzere üst üste 3 tabakaya bölünmektedir. Bu tabakalardan en büyüğü zona fasikülata ve korteksin yaklaşık dörtte üçünü oluşturur; zona glomeruloza yaklaşık %15'ini ve zona retikularis ise yaklaşık %10'unu oluşturur (7).

Bağ dokusu kapsülünün hemen altındaki tabaka olan zona glomerulozada, kılcal kan damarı tarafından sarılan sıkı bir şekilde paketlenmiş, yuvarlak, ya da kavisli kordonlar içerisinde prizmatik ya da piramidal hücreler yerleşmiştir. Sonraki hücre tabakası, hücrelerin, bir ya da iki hücre kalınlığında olmak üzere, organın yüzeyine karşı dik açılarla seyrettiği ve aralarında kılcal kan damarlarının bulunduğu, düz kordonlar içerisinde yerleşmesinden dolayı zona fasikülata olarak adlandırılır. Korteksin en iç tabakası olan zona retikularis, zona fasikülata ile medulla arasında yer alır; bir anastomoz ağı oluşturan düzensiz kordonlar içerisinde yerleşmiş hücreler içermektedir. Bu hücreler diğer iki tabakada bulunan hücrelerden daha küçüktür (8).

Böbrek korteksi bezi hücreleri salgı ürünlerini granüllerde depolamazlar; daha ziyade sadece ihtiyaç olduğunda steroid hormonları sentezleyip salgırlar. Steroidler, yağda çözünebilen düşük moleköl ağırlıklı moleküller olarak, plazma zarından serbestçe geçebilirler ve salıverilme için özelleşmiş ekzositoz işlemlerini gerektirmezler.

Korteks tarafından salgılanan steroidler, temel fizyolojik etkilerine göre 3 gruba ayrılabilirler; glukokortikoidler, mineralokortikoidler ve androjenler. Zona glomeruloza başta aldosteron olmak üzere, elektrolit ve su dengesini sağlayan mineralokortikoidleri salgırlar. Zona fasikülata ve muhtemelen zona retikularis, kortizon ve kortizol ya da bazı hayvanlarda kortikosteron olmak üzere, glukokortikoidleri salgırlar; bu glukokortikoidler ayrıca androjenleri (başlıca dehidroepiandrosteron) ve belki az miktarda östrojenleri üretmektedir (9).

Yenidoğan döneminde böbrek üstü bezi oran olarak erişkininkinden daha büyüktür. Erken yaşta, medulla ile ince kalıcı korteks arasında fetal ya da geçici korteks olarak bilinen bir tabaka bulunmaktadır. Bu tabaka oldukça kalındır ve hücreleri kordonlar arasında yerleşmiştir. Doğumdan sonra, kalıcı korteks gelişerek yukarıda tarif edilen 3 tabakaya (zonlara) farklılaşırken, geçici korteks geriler. Fetal korteksin başlıca işlevlerinden biri, plasentada, maternal dolaşıma giren aktif androjenler ve östrojenlere dönüştürülen androjenlerin sülfat konjugatlarının salgılanmasıdır (10).

Böbrek medullası kordonlar veya kümeler içerisinde yerleşmiş olan çok yüzöl parankimal hücrelerden oluşmaktadır ve bir retiküler lif ağı ile desteklenmektedir. Komşu kordonlar arasına bol miktarda kılcal kan damarları girmektedir ve az miktarda parasempatik gangliyon hücreleri bulunmaktadır. Medüller parankim hücreleri nöral krest hücrelerinden meydana gelir. Böbrek üstü bezlerin parankim hücreleri, embriyonik gelişim sırasında aksonlarını ve dentritlerini kaybetmiş ve salgı hücrelerine dönüşmüş sempatik gangliyon sonrası nöronlar olarak kabul edilebilir.

Medullar parankim hücreleri, 150-350 nm çapında bol miktarda zarla sınırlı elektron yoğun salgı granüllerine sahiptir. Bu granüller, katekolaminler olan epinefrin ya da norepinefrinden birini içermektedir. Salgı granülleri ayrıca ATP, kromogranin adı verilen proteinler de içerir (8).

2.2. Adrenal Bez Embriyolojisi

Adrenal bezlerin korteksi mezodermiden, medullası nöral krest hücrelerinden gelişmektedir. Korteks, ilk olarak 6. haftada gelişmekte olan gonad ile dorsal mezenter kökleri arasında, her iki tarafta, mezenşimal hücrelerin agregasyonu sonucu ortaya çıkar. Medullayı oluşturan hücreler, nöral krest hücrelerinden köken alan, komşu sempatik gangliyondan gelişirler. Öncelikle, nöral krest hücreleri, embriyonik korteksin medial duvarında bir kitle oluştururlar. Korteks ile sarıldıklarında, bu hücreler, adrenal medullanın salgılayıcı hücrelerine farklılaşırlar. Daha sonra, mezotelden köken alan çok sayıda mezenşimal hücre korteksi çevreleyerek kalıcı korteksi oluşturur (11).

Yakın zamanda yapılan immünohistokimyasal çalışmalar, fetal korteks ile kalıcı korteks arasında bir “transizyonel zon”un varlığını göstermiştir. Zona fasikülata’nın bu üçüncü tabakadan köken aldığı ileri sürülmektedir. Zona fasikülata ve glomeruloza yaklaşık 3 yaşında tam olarak ayırt edilebilirken; zona retikularis tabakası puberteye kadar bütünüyle ayırt edilemeyebilir (7, 9).

Vücut ağırlığına göre, insan fetusunda adrenal bezler, yetişkinle karşılaştırıldığında, 10-20 kat daha ağırdır ve böbreklerden daha büyüktürler. Organların bu büyüklüğü, fetal korteksin genişliğinden kaynaklanmaktadır. Fetal korteks, östrojen sentezi için plasenta tarafından kullanılan steroid öncüllerini üretmektedir. Adrenal medulla, doğum sonrasına kadar nisbeten küçüktür. Birinci yılda, fetal korteksin gerilemesine bağlı olarak, adrenal bezler hızla küçülürler. Bezler, doğumdan sonra ilk 2-3 hafta içinde, ağırlıklarının 1/3’ünü kaybederler, ikinci yılın sonuna kadar orijinal ağırlıklarını kazanamazlar (12).

2.3. Adrenal Bez Fizyolojisi

Zona glomerülozadan aldosteron salgısı, potasyum ve anjiyotensinin adrenokortikal hücrelere doğrudan etkisiyle kontrol edilmektedir. Kortizol salgısı ise ön hipofiz bezinden salgılanan ACTH ile kontrol edilir. Kortikotropin veya adrenokortikotropin de denilen bu hormon adrenal androjenlerin yapımını artırır.

Ön hipofizden salgılanan ACTH büyük bir polipeptid olup, 39 aminoasit zincirlidir. ACTH’nın yıkım ürünü olan 24 amino asitli daha küçük bir polipeptid

tam molekülün bütün etkilerine sahiptir. Hipotalamustan salgılanan serbestleyici hormon veya faktörlerle kontrol edilen diğer hipofiz hormonları gibi ACTH salgılanması da serbestletici bir faktörle kontrol edilir. Buna kortikotropin serbestletici faktör (CFR) denir. Hipotalamusun median eminensiasında, hipofizer portal sistemin primer kapiller pleksusuna salgılanır ve sonra ön hipofiz bezine taşınarak ACTH salgılanmasını sağlar (13). CRF 41 amino asitten oluşan bir peptiddir. CRF salgılayan nöronların gövdeleri başlıca hipotalamusun paraventriküler çekirdeklerinde yerleşmiştir. Bu çekirdek limbik sistem ve beyin sapının daha aşağısından birçok sinirsel bağlantılar alır.

Adrenokortikal hücrelerde ACTH'nın başlıca etkisi hücre membranında adenil siklazı aktive etmektir. Bu, hücrelerin sitoplazmasında cAMP oluşumuna neden olur. cAMP daha sonra adrenokortikal hormonların yapımına neden olan hücre içi enzimleri aktive eder.

Adrenokortikal sekresyonu kontrol etmede ACTH ile uyarılan bütün basamaklar arasında en önemlisi protein kinaz A enziminin aktivasyonudur. Bu enzim ilk basamak olan kolesterolün pregnenolona dönüşümüne neden olur. Bu dönüşüm tüm adrenokortikal hormonlar için “ hız sınırlayıcı” aşamadır. Bu da ACTH'nın normal koşullarda adrenokortikal hormonların yapımında niçin gerekli olduğunu açıklar. Böbreküstü bezi korteksinin ACTH tarafından uzun süreli uyarımı sekresyonu arttırmanın yanısıra, adrenokortikal hücrelerde, özellikle kortizol ve androjenlerin salgılandığı zona fasikülata ve zona retikulariste hipertrofi ile proliferasyona neden olur.

Ön hipofizden ACTH salgılanırken aynı anda benzer kimyasal yapılarla sahip başka birçok hormon salgılanır. ACTH oluşturan RNA molekülü başlangıçta oldukça büyük bir protein molekülünü (preprohormon) oluşturmaktadır. Bu preprohormon ayrıca melanosit-stimüle edici hormon (MSH), beta-lipotropin ve beta-endorfini içerir. Normal koşullar altında, bu hormonlar insanda belirgin bir etki gösterebilecek yeterli miktarlarda salgılanmazlar. Bu durum özellikle Addison hastalığı gibi ACTH salgısının fazla olduğu durumlarda MSH için doğru değildir (14).

MSH, derinin dermis ve epidermis tabakaları arasında yerleşen melanositlerden koyu bir pigment olan melanin oluşmasına ve epidermiste

yayılmasına neden olur. Bir kişiye, 8-10 gün süreyle MSH enjeksiyonu uygulaması, derinin koyuluğunu belirgin ölçüde arttırabilir. Bu etki, genetik olarak açık renklilere göre koyu renkli kişilerde daha belirgindir (15).

MSH'a benzerliği nedeniyle ACTH, MSH'nin etkisinin yaklaşık 1/30'una sahiptir. İnsanlarda salgılanan saf MSH miktarının ileri derecede az, ACTH'nın ise daha fazla olması nedeniyle normal koşullarda derideki melanin pigmentinin miktarını belirlemede MSH'dan çok ACTH'nın daha önemli olması akla yatkındır (16).

2.4. Konjenital Adrenal Hiperplazi

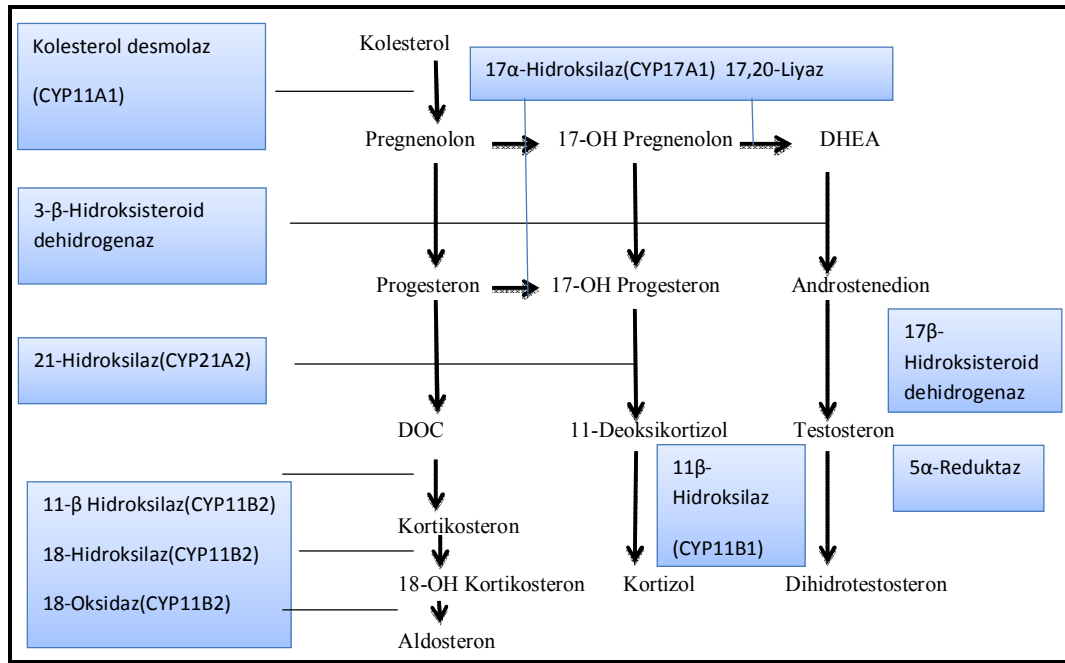
Konjenital adrenal hiperplazi (KAH) kolesterolde kortizol sentezi için gerekli beş enzimden birinin eksikliği sonucu ortaya çıkan otozomal resesif geçişli bir hastalıktır.

İnsidansı 1/10.000-1/20.000'dir. 21 hidroksilaz eksikliğinde ve 11 beta hidroksilaz (CYP11B1) eksikliğinde virilizasyon oluşurken, 3 beta hidroksisteroid dehidrogenaz ve 17 alfa hidroksilaz (CYP17) eksikliğinde kortizol ile seks steroidleri blokaja uğrar. KAH'ın en yaygın formu CYP21A2 genindeki mutasyon nedeniyle olanıdır. Bu gen adrenal steroid 21 hidroksilaz enzimini (P450c21) kodlar. Bu enzim 17 alfa hidroksiprogesteronu, 11 deoksikortizole ve progesteronu da deoksikortikosterona dönüştürür. Bu maddeler sırasıyla kortizol ve aldosteronun öncülüdür. Bu enzimin defekti KAH'ın yaklaşık %95'inden sorumludur (17).

Patofizyoloji

Adrenal korteks glukokortikoid, mineralokortikoid ve androjenler olmak üzere üç büyük hormon salgılar (Şekil 2.1). Bu hormonlar karbonhidrat metabolizmasına ve elektrolit dengesine etki ederler. Kortizol sentezi için gerekli enzimlerden herhangi birinin aktivitesindeki bozukluk, ACTH salgısının artmasına neden olur. Uzun süreli uyarı sonrası adrenal kortekste hiperplazi gelişir, bu olay enzimatik bloktan önceki steroidlerin ve eksik enzime bağlı olmayan adrenal hormonların yapımını aşırı derecede arttırır (18).

Glukokortikoid sentezinin terminal enzimlerinden olan 21-hidroksilaz veya 11- β hidroksilaz enzimlerinden birinin yetersiz olduğu durumlarda, hidrokortizon yapımı azalır. Bu durumu kompanse etmek üzere artmış ACTH salgılanmasına bağlı olarak aşırı androjen yapımı ortaya çıkar. Bu durum, kız çocuklarda virilizasyon, erkek çocuklarda erken maskülinizasyona neden olur. KAH'ın bu iki formu virilizan KAH olarak da bilinmektedir (19).



Şekil 2.1. Steroid biyosentez yolları.

2.4.1. 21-hidroksilaz enzim eksikliği

KAH'lı hastaların %90-95'ini 21-hidroksilaz (P450c21) enzim eksikliği oluşturmaktadır. Altıncı kromozomun kısa bacağı üzerinde oturan bir genin (CYP21) ürünü olan bu enzim, progesteronun 11-deoksikortikosterona (DOC), 17-OHP'un 11- deoksikortizole hidroksilasyonunu sağlar. Hastalık otozomal resesif geçiş gösterir. Çocuklukta görülen dış genital organ bozukluklarının en sık ve en önemli nedenidir. Şüpheli dış genital yapısı olan çocukların 1/3'ünde neden KAH'dır (18).

Yenidoğan taramalarına göre beyaz ırkta klasik tipin sıklığı 1/5.000-1/15.000 arasında değişmektedir (20). KAH'ın klasik tipi Akdeniz ülkelerinde her canlı doğum için ortalama 1/10866 sıklıkta görülmektedir. Alaska'da yaşayan

Yupik Eskimolarında ise klasik tipin tuz kaybeden formu için sıklık 1/282 ve 1/684 oranında değişmektedir. Klasik olmayan KAH, Askenazi Yahudilerinde 1/27, İspanyollarda 1/53, Yugoslavlarda 1/63, İtalyanlarda 1/333 ve diğer toplumlarda 1/1.000 sıklıkta görülür (21-22).

Klinik bulgular, enzim eksikliği nedeniyle yapılamayan kortizolün eksikliği sonucu ACTH salgılanmasının aşırı artışıyla progesteron ve 17-OHP ‘un ve buna paralel olarak artan adrenal androjenlerin, periferik dokularda testosteron ve dihidrotestosterona dönüşümüyle ortaya çıkar. Klinik olarak en belirgin bulgu virilizasyon ve hızlı somatik gelişmedir. Dişi yenidoğanda kuşkulu dış genital yapı görülür. Kliteromegali ve değişik derecelerde labioskrotal birleşme olur ancak iç genital yapı karyotiple uygun olarak normal dişi tipindedir. Müller kanalları normal geliştiği için uterus ve fallop tüpleri bu vakalarda normal bir gelişim gösterir. Klasik olarak çocukluk çağında tedavi edilmemiş bir XX kız çocuğunda adrenal glandlardan testosteron salgılanmasının ve andrestenodionun periferik dokularda testosterona çevrilmesinin devam etmesi dolayısıyla hızlı boy büyümesi, kas kitlesi artışı, kliteromegali, pubis, aksilla ve vücut kıllarında artışı ve kemik yaşının gerçek yaşa göre daha ileri olduğu görülür. Epifizlerin fazla androjen salgılanmasının etkisiyle erken kapanmalarından dolayı erişkin boy kısa kalır (23).

21-hidroksilaz eksikliği olan erkek çocuklarda doğum esnasında belirli bir anormallik saptanmaz. Ancak tedavi edilmedikleri takdirde gonadotropinlerin artışı ile gonadal matürasyon olmaksızın sekonder seks karakterlerinin ortaya çıkması ile karakterize erken yalancı puberte, ilerlemiş kemik yaşı, aşırı büyüme hızı ve testislerle orantısız bir şekilde peniste büyüme gibi şikayetlerle getirilirler.

Hastalığın basit virilizan ve tuz kaybeden iki klasik tipi, ayrıca daha geç başlayıp daha hafif seyreden klasik olmayan ve kriptik tipleri vardır.

2.4.1.1. Klasik basit virilizan tip

Klasik vakaların %25’i basit virilizan tiptir. KAH’ın bu formunda tuz kaybı olan vakalara göre daha hafif derecede enzim eksikliği söz konusudur, artmış ACTH salgısı ile kortizol salgılanması normal düzeylerde tutulabilmektedir. Ancak ACTH fazlalığı yine de kortizol öncüllerinin ve androjenlerin aşırı yapımına neden olmaktadır. Kortizol prekürsörleri olan progesteron ve 17-OHP,

böbrek tübülüsleri üzerinde mineralokortikoid reseptörlerinin antagonisti olarak rol oynayarak, aldosteronun tuz tutucu etkisini bloke edip tuz kaybına neden olmaktadır. Tuz kaybeden steroidlerin düzeyindeki artışa sekonder olarak aldosteron düzeylerinde de yükselme olur ve bu nedenle bu hastalarda tuz kaybı kompanse edilir (7).

Adrenal korteks işlevi gebeliğin 3. ayı içinde başladığından cinsel ayrımın kritik döneminde fetusun aşırı androjen etkisi altında kalması sonucu kız çocukları doğumda kuşkulu dış genital yapı gösterirler. Virilizasyon hafif bir kliteromegaliden, klitorisin aşırı büyüyerek penis görünümü alması, üretra ve vaginanın tek bir ürogenital sinüs şeklinde klitorisin tepesine açılması ve labiyumların tam birleşerek skrotum görüntüsü almasıyla ortaya çıkan dış genital yapıya kadar değişen şekillerde ortaya çıkabilir (24). Ağır virilizasyon gösteren kız çocuklar çoğu kez aileleri tarafından erkek olarak kabul edilir ve hekime geç yaşta, testislerin inmemesi, hipospadias veya erken yaştan başlayan kılınma şikayetleriyle getirilirler. Dış genital yapının virilizasyonuna karşılık Wolf yapılarının gelişimi için lokal androjen gerektiğinden bu vakalarda iç genital organlar normal over ve müller yapıları şeklindedir ve erken yaştan tedavi edilenlerde dişi tipte normal puberte gelişir. Bu vakalarda fertilité de normal olabilir. Erkeklerde dış genital yapı doğumda normaldir veya peniste hafif büyüme, skrotumda hiperpigmentasyon olabilir. Vakaların çoğu yaklaşık 2 yaşından sonra hızlı boy büyümesi, testiste büyüme olmadan peniste büyüme ve pubis kılınması şikayetiyle getirilirler (25).

2.4.1.2. Klasik tuz kaybı ile giden tip

21-hidroksilaz enziminin tam eksikliği söz konusudur. Bu formda ACTH artışına karşın plazma kortizol düzeyi düşüktür ve tuz kaybettiren kortizol öncüllerinin artışı yanı sıra aldosteronun yetersiz salgılanması ağır tuz kaybının nedeni olarak kabul edilmektedir. İdrarla kaybedilen tuz kaybının yoğunluğu aldosteron eksikliğinin şiddeti ile yakın ilişkilidir. Kortizol eksikliği, aldosteronun eksikliğine ve fetal yaşamın erken dönemlerinden itibaren de aşırı androjen üretimine neden olur. Aşırı androjen salgılanması ise dişi yenidoğanlarda virilize dış genital yapıyı ortaya çıkarır. 21- hidroksilaz enzim eksikliği olan hastaların %75'inde aldosteron eksikliği tanımlanmıştır. Aldosteron eksikliği sonucu renal

tubuluslerde potasyumun atılamaması ve sodyumun tutulmaması nedeni ile ağır kusmalarla seyreden hiperkalemi, hiponatremi, metabolik asidoz, uygunsuz natriüresis, yüksek PRA ile birlikte düşük serum ve idrar aldosteron düzeylerinin eşlik ettiği tuz kaybı krizi ortaya çıkar. Tuz kaybı formunun gerçek görülme sıklığı %75 olarak bilinmesine rağmen hastaların tuz kaybı krizi nedeniyle erken dönemde kaybedilmeleri sonucu bu oran azalmaktadır (9).

Fizik muayene bulguları basit virilizan tipe benzemektedir. Doğumda tuz eksikliği belirtileri belirgin olmamakla birlikte akut adrenal kriz genellikle doğumdan sonra 1 ila 4. haftalar arasında ortaya çıkar. Bu vakalarda kuşkulu genital yapı yanı sıra giderek beslenme güçlüğü, letarji, kusma, ishal, azotemi ve ağır dehidratasyon gelişir. Eğer tedavi edilmezse kardiyovasküler kollaps, şok, hipoglisemik konvülsiyon, bazen hiperkalemiye bağlı ani kardiyak arrest ile hastalar kaybedilir. Adrenal krizin erken bulgu ve belirtileri genellikle nonspesifiktir. Erken laboratuvar bulgusu serum potasyum düzeyinde artıştır ($K > 5$ mmol/l), ortalama 4. günde yükselmeye başlar, daha sonraki bulgu serum sodyum düzeyinde azalmadır ($Na < 128$ mmol/l). Bu vakalarda tuz kaybının erken dönemde tanısı ancak yakın tartı takibi ve 2-3 gün ara ile bakılan elektrolit değerlerinin ölçümü ile konulur (26).

2.4.1.3. Geç ortaya çıkan tip veya klasik olmayan KAH

Geç başlangıçlı, klasik olmayan semptomatik, postpubertal KAH terimleri de kullanılmaktadır. Hastalarda 21-hidroksilaz enzim eksikliği hafiftir. Görülme sıklığı beyaz popülasyonda %0.3 iken bazı ülkelerde daha yüksektir. Örneğin; Yugoslavlarda %1.6, İspanyollarda %1.9, Askenazi asıllı orta Avrupa Musevilerinde %3.7 sıklıkta görülür (21).

Bu vakalarda hafif derecede kortizol eksikliği, aşırı adrenal androjen üretimine ve normal aldosteron salgısına neden olur. Klinik semptomlar herhangi bir yaşta ortaya çıkabilir ve çok değişkendir. Böyle kadınlar veya genç kızlarda menarşe kadar normal somatik gelişme görülürken daha sonra giderek artan bir hirsutizm ve oligomenore saptanır. Puberteden sonraki dönemde infertilite ve overlerde kistik genişlemeler görülebilir. Bu hastalardaki infertilitenin nedeni uzun süreli aşırı androjen sonrası ovulatuvar disfonksiyondur. Bu bozukluk glukokortikoid tedavi sonrası normale döner.

Erkek çocuklarda erken sakal gelişimi, hızlı büyüme, akne, pubik kıllanmada artış, genişlemiş fallus ve rölatif olarak küçük testisler oluşur.

Bu vakalarda serum bazal 17-OHP düzeyleri normal bulunmasına rağmen kortizol üretiminin diurnal zirve yaptığı ve ACTH ile uyarı sonrası 17-OHP'nun orta derecede yükseldiği gözlenmiştir. DHEAS düzeyleri sıklıkla normaldir. Bu steroidler hastalık için belirleyici kabul edilememekle birlikte androstenedion düzeyleri, geç KAH'lı hastalarda PCOS'tan daha yüksek olduğu için, bu iki hastalığın ayrımında etkili bir belirleyici olarak kabul edilmektedir (27-30).

2.4.1.4. Kriptik tip

Kriptik 21-hidroksilaz enzim eksikliği klasik KAH'lı hastaların asemptomatik aile bireyleri için kullanılmaktadır. Bu vakalara ilk kez aile çalışmaları sırasında yüksek bazal 17-OHP düzeylerinin saptanması ile tanı konulmuştur. Tanımlanan vakalarda enzim eksikliğinin biyokimyasal bulguları saptanmasına karşın klinik belirtileri yoktur. Hormon profili geç KAH'lı hastalar gibidir (31).

2.4.2. 11 Beta-hidroksilaz eksikliği

KAH olgularının %5'inden azında saptanır ve insidansı 1/100.000 olarak bildirilmiştir (32). 21-hidroksilaz eksikliğinde olduğu gibi 17-OHP birikir, ancak esas biriken moleküller kortizol öncülü olan 11-deoksikortizol ve 11-deoksikortikosterondur. Klinik tablo 21-hidroksilaza benzer, ancak özellikle 11-deoksikortikosteron fazlalığına bağlı olarak, değişik derecelerde hipokalemi ve hipertansiyon gözlenir. KAH taramasında yalnızca 17-OHP bakıldığı ve beraberinde 11-deoksikortizol bakılmadığı için, hastaların büyük oranda gözden kaçtığı ya da 21-hidroksilaz eksikliği tanısı aldıkları düşünülmektedir (33).

21-hidroksilaz eksikliğinde olduğu gibi, kortizolün ACTH üzerine olan negatif etkisi ortadan kalktığı için, ACTH aşırı derecede artar. ACTH, başta androjenler olmak üzere diğer steroid hormonların yapım ve salınımını arttıracığından, bilinen basit virilizan KAH kliniği ortaya çıkar. 21-hidroksilaz eksikliğinden en önemli klinik farklılık, 11-beta-hidroksilaz eksikliğinde hipertansiyon bulunmasıdır. Hipertansiyonun nedeni mineralokortikoid etkinliği olan 11-deoksikortizolün birikmesidir. Ancak deoksikortizol sentez miktarı ile

hipertansiyon derecesi arasında bir ilişki yoktur. Tanı, artmış ACTH ile beraber 11-deoksikortizolün de artmış olduğunun gösterilmesi ile konulur.

2.4.3. 17 Alfa-hidroksilaz eksikliği

İnsidansı 50 binde bir olarak bildirilen, nadir bir KAH nedenidir (34). Brezilyalı ve Japonlar gibi bazı etnik gruplarda daha sık olarak bildirilmiştir (35). Sitokrom p17 geninde mutasyon sonucu hem 17-alfa-hidroksilaz, hem de 17,20-liyaz enzimlerinde eksiklik görülür. Bu nedenle hem kortizol hem de gonadal steroid sentezinde bozukluk vardır. Ancak çok nadiren, bu enzimlerden sadece birinde eksiklik olan olgular da bildirilmiştir. Kortizol sentez bozukluğu diğer enzim eksikliklerinde olduğu gibi ACTH salgısının artışına neden olur. Olgularda 11-deoksikortizol artışına bağlı olarak hipertansiyon ve hipokalemi görülür. Ayrıca gonadal seks steroidlerinin sentezi de bozuktur ve sonuçta bu olgularda gonadotropinler artmıştır (36). Kadınlarda primer amenore izlenirken, erkek olgularda (46, XY) uterus ve fallop tüpleri izlenmeksizin, kadın dış genital organları vardır (37).

2.4.4. 3 Beta-hidroksisteroid dehidrogenaz eksikliği

Çok nadir görülen bir enzim eksikliği olup, otozomal resesif geçiş gösterir. HSD3B2 geninde oluşan mutasyonlara bağlı olarak, hem adrenal hem de gonadal steroid sentezi bozuktur (29). Klinik oldukça büyük farklılıklar gösterir. Ciddi tuz kaybettiren formu ile beraber ambigus genitale görülebileceği gibi hiçbir genital anormallik de bulunmayabilir. Bunun dışında tuz kaybettirmeyen forma genital bozukluk eşlik edebileceği gibi, genital bozukluk olmaksızın erken çocukluk döneminde erken pubarş, daha ileri yaşlarda tüylenme artışı ve adet düzensizliği görülebilir. Normal şartlarda 3- beta hidroksisteroid dehidrogenaz enzimi, D5 steroidleri (pregnenolon, 17-hidroksipregnenolon, dehidroepiandrosteron) D4 steroidlere (progesteron, 17-alfa hidroksiprogesteron, androstenedion) çevirir. Tanıda ACTH ile uyarılmış D5 steroidlerin ya da D5 /D4 steroid oranının yüksek olması yardımcıdır (38). Kesin tanı genetik çalışma ile konur.

2.5. Konjenital Adrenal Hiperplazi Tanısı

Erken tanı, yaşamsal risklerin azaltılması, psikolojik destek ve genetik danışma açısından oldukça önemlidir. Yenidoğan döneminde kilo alamama ve tuz kaybı belirtileri gösteren bir bebekte, özellikle kuşkulu genital yapı eşlik ediyorsa, öncelikle KAH akla gelmelidir. Tuz kaybı ile giden vakalarda hiponatremi, hipokloremi, hiperpotasemi, metabolik asidoz ile kan üre azotu, plazma renin aktivitesi ve idrar sodyum düzeylerinde artış, serum aldosteron düzeylerinde azalma görülür (39).

Klasik 21-hidroksilaz eksikliği gösteren süt çocuklarında bazal serum 17-OHP düzeyi genellikle 100 ng/ml üzerindedir. Normal yenidoğanlarda ise 1 ng/ml altındadır. Ancak özellikle ölçümlerin doğumu takiben ilk gün yapıldığı durumlarda ağır vakalarda dahi normal değerler saptanabilir. Bu nedenle şüpheli vakalarda testler tekrarlanmalı, gerekirse ACTH testi (0.25 mg kosintropin IV) uygulanmalıdır. 21-hidroksilaz enzim eksikliğinde 17-OHP artışı androstenedion düzeyinin de paralel olarak artışına neden olur. Serum dehidroepiandrostenedion (DHEA) ve DHEA sülfat (DHEAS-S) hafif veya orta derece artmıştır. Androstenedionun periferik dönüşümüyle testosteron düzeyleri de artmıştır. Serum testosteron artışı kızlarda tüm yaşlarda önemlidir. Serum kortizol düzeyleri tuz kaybeden vakalarda düşük iken, basit virilizan vakalarda çoğu kez normaldir, ancak ACTH uyarısına yanıt yetersizdir. Özellikle tuz kaybı vakalarında ACTH uyarısı sonrası 17-OHP düzeyleri 1000 ng/ml'ye kadar artabilir. Nonklasik vakalarda sabah erken saatlerde alınmadıkça bazal serum 17-OHP değerleri normal olabilir. Sabah erken saatlerde çocuklarda 2.5 nmol/L (~0.8 ng/ml) altındaki değerler çoğu vakada non-klasik KAH tanısını dışlar. Daha yüksek değerlerin saptanması halinde ACTH testi gerekir (40).

2.6. Yenidoğan KAH Taramaları

Tarama testleri izotopik (RIA) ve non-izotopik (Delphia sistemi) doğrudan bağlanma yöntemleriyle yapılmaktadır (41). Günümüzde en yaygın kullanılan, en ucuz teknik, filtre kağıtlarına emdirilen kan örneklerinde RIA yöntemiyle 17-OHP

düzeyine bakılmasıdır. Bu yöntem ilk kez 1977’de Pang tarafından uygulanmıştır (42).

17-OHP düzeyi ile ilgili en önemli sorun yalancı pozitifliktir. Kanın alınma zamanı, bebeğin gestasyon haftası ve doğum ağırlığı sonuçları etkilemektedir. Özellikle prematüre bebeklerde 11 β -hidroksilaz enzim aktivitesinde fizyolojik gecikme 17-OHP düzeylerinde geçici yükselmeye neden olmaktadır (43). İmmunoassay metodlarda 17-OHP antikörlerinin diğer steroidlerle (özellikle yenidoğanda yüksek oranda bulunan 17-hidroksipregnenolonla) çapraz reaksiyona girmesi değerlendirmeyi zorlaştırır (44). 17-hidroksipregnenolon salgılanması stres, prematürelilik veya 3 β -HSD eksikliğinde artar. 3 β -HSD aktivitesinin olasılıkla maternal estrogenlerle baskılanması nedeniyle yenidoğanlarda düşük olduğu belirtilmektedir (45). 17-hidroksipregnenolon sentezi arttığında periferik enzimlerin (tip 1 3 β -HSD) normal etkisiyle kan 17-OHP düzeyi artar. 17-OHP’nin konjuge olan metabolitleri (biyolojik olarak inaktif) plazmada dolaşır ve immünolojik testlerde reaksiyon verebilir. Yalancı pozitifliğin diğer nedenleri hastalıklar, böbrek işlev bozukluğu ve strese 17-OHP düzeylerinin artışıdır (46). Öte yandan anne veya bebeğe akciğer olgunlaşması için verilen deksametazon yalancı negatif sonuçlara neden olabilir. Bu durumda analizlerin tekrarı gerekir. Ancak kan örneği doğumdan 48 saat sonra alınmışsa, annenin aldığı steroidin sonucu etkilemeyeceği belirtilmektedir (47).

Kan örneklerinin ideal alınma zamanı doğumu takiben 48-72 saatler arasındadır. Alınan örnekler 24 saat, en fazla 48 saat içinde çalışılmalıdır (48). Alınan sonuçlar nmol/L olarak bildirilir. Avrupa ülkelerinde kan örnekleri doğumdan iki gün sonra alınmaktadır. ABD’de taramalar için kan örnekleri doğumu izleyen ilk iki gün içinde alınmakta, KAH için testler 1-2 hafta içinde tekrarlanmaktadır. Çalışılan metoda göre 17-OHP düzeyinin normal dağılımında farklar görülmektedir. Delfia fluoroimmünassay metodunda saptanan 17-OHP düzeylerinin RIA kitlerinin sonuçlarına göre daha yüksek olduğu belirtilmektedir. Diğer yanda Delphiada kan örneğinden doğrudan 17-OHP ölçüldüğü halde, RIA kitlerinde sonuçlar ekstraksiyon sonrası elde edilmektedir. Bebeğe transfüzyon yapılacaksa; transfüzyon öncesi veya transfüzyondan en erken 4 gün sonra kan örneği alınmalıdır (48).

ESPE 2002 anket verilerine göre (41) ankete katılan 125 merkezden 60'ında yenidoğan KAH taraması yapılmaktadır. 17-OHP için sınır değer zamanında doğan bebeklerde 30 nmol/L (dağılım 20-100), prematürelerde gestasyon yaşına göre 30-310 nmol/L arasında değişmektedir. Sonuçlar pozitif bulunduğunda %50 merkez yeniden tarama yapmaktadır. Bunların %91'i ek olarak plazma 17-OHP düzeyini ölçmektedir. Tarama yapan merkezlerin %10'u pozitif sonuç alınması halinde genetik analizler yapmaktadır.

ESPE Yenidoğan KAH Taraması Çalışma Grubu, 36 haftanın üzerinde ve/veya doğum ağırlığı ≥ 2500 gram olan bebeklerde, 17-OHP için 90 nmol/L'den yüksek değerleri patolojik, 30 nmol/L (~ 10 ng/ml) ve altı değerleri ise normal olarak kabul etmektedir (48). Ara değer bulunduğunda, bebekten evde filtre kağıdına alınan kan örneğinde tarama testinin tekrarlanması veya hastane koşullarında serum 17-OHP bakılması önerilmektedir.

Anormal tarama sonuçlarında idrar steroid analizleri, ACTH uyarı testi ve CYP21A2 gen analizleri destekleyici testlerdir. İdrar steroid analizleri (gaz kromatografi-kütle spektrometri yöntemiyle) için koruyucu madde konmamış en az 10 ml idrar örneği gereklidir ve laboratuvara geldikten sonra 5 gün içinde çalışılmalıdır. Ancak idrar analizleri pahalıdır ve tüm Avrupa ülkelerinde mevcut değildir.

Taramalarda amaç nonklasik vakaları yakalamak olmamakla birlikte bazen bu vakalar da tarama programları ve destekleyici testlerle saptanabilir. Bu vakalarda yıllık büyümenin ve androjen fazlalığı bulgularının izlemi önerilmektedir (2).

Bu çalışmanın amacı, yenidoğanda KAH taraması yapılamayan ülkemizde bebeklerin genital bölgesindeki melanin pigment yoğunluğunu ölçebilecek nesnel, noninvazif bir yöntem olan spektrometreyi geliştirmek ve spektrometre değerleri ile hekim gözünün uyumu değerlendirilerek her iki düzey erkek bebeklerin 17-OHP kan düzeylerini karşılaştırmaktır.

2.7. Hastalık Taramalarının Genel Özellikleri

Yenidoğan tarama testleri sağlıklı popülasyona uygulanan, bir hastalık ya da bozukluk yönünden riski artmış bireyleri saptamak amacıyla yapılan testlerdir. Kesin sonuçlar vermek yerine hangi yenidoğanların ileri teste ihtiyacı olduğunu belirler (49).

Yenidoğan taramaları bir halk sağlığı programı olduğundan, tarama içerisinde hangi hastalıkların olması gerektiği ve tarama programlarının nasıl düzenlenmesi gerektiği bölgelere göre farklılık gösterebilir. Ülkeler arasındaki ve ülke içindeki farklılıklara rağmen, taramanın nasıl yapılacağı ve hangi şartlarda yapılacağı hakkında önemli bazı esaslar vardır. Bunlar; tarama yapılan hastalığın sıklığı ve hedef popülasyondaki durumunun ciddiyeti, tarama testinin bir tanı testi ile doğrulanabilirliği, tarama, tanı ve tedavi için kaynakların olmasıdır (50).

Testler kolay uygulanabilir, ucuz, geçerli, güvenilir, yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahip olmalıdır (50).

3. OLGULAR VE YÖNTEM

3.1. Olgular

Çalışmanın planlanma aşamasında 180 bebeğin çalışmaya dahil edilmesi düşünüldü. Ancak net sonuçlara varılabildiği için 40 olguda araştırma sonlandırıldı. Çalışmaya hekimler tarafından skrotal hiperpigmentasyonu olduğu düşünülen 22 olgu ile sağlam çocuk polikliniğinde uzamış sarılık nedeniyle değerlendirilen normal skrotal pigmentasyona sahip 18 olgu dahil edildi.

Çalışmaya alınan olguların ebeveynleri bilgilendirilerek “bilgilendirilmiş onam belgesi” alındı ve tüm çalışma süresince insanlar üzerindeki biyomedikal araştırmalara düzenleyen ve 2000 yılında gözden geçirilen “Helsinki Deklarasyonu”na uyuldu.

Uzamış sarılık nedeniyle Sağlam Çocuk Polikliniği’nde değerlendirilen 15-60 gün arası bebekler, hekim tarafından skrotal hiperpigmentasyonu olduğu düşünülen 2 günlükten büyük bebekler veya yeni tanı almış KAH’lı bebekler araştırmaya dahil edilecek grubu oluşturdu.

Kız bebekler, genital bölgede nevusları olan erkek bebekler, iki haftadan uzun süredir tedavi alan KAH’lı erkek bebekler ve düşük doğum ağırlıklı bebekler araştırmaya dahil edilmedi.

Çalışmaya alınan olguların yaşı, gestasyon haftası, doğum ağırlığı ve anne yaşı kayıt altına alındı. Tüm olguların fizik muayenesi yapılarak skrotum rengi hiperpigmente veya normal pigmente olarak hekim tarafından kaydedildi.

Skrotal hiperpigmentasyonu olan hastalardan KAH’ı dışlamak amacıyla 17-OHP kan düzeyi çalışıldı. Ek girişimsel işlemde bulunmamak amacıyla, uzamış sarılık için kan alınması planlanan yenidoğanlardan da eş zamanlı olarak kan 17-OHP düzeyi RIA (DIAsource 17OH-RIA-CT Kit, DIAsource ImmunoAssays S.A., Belgium) yöntemi ile çalışıldı.

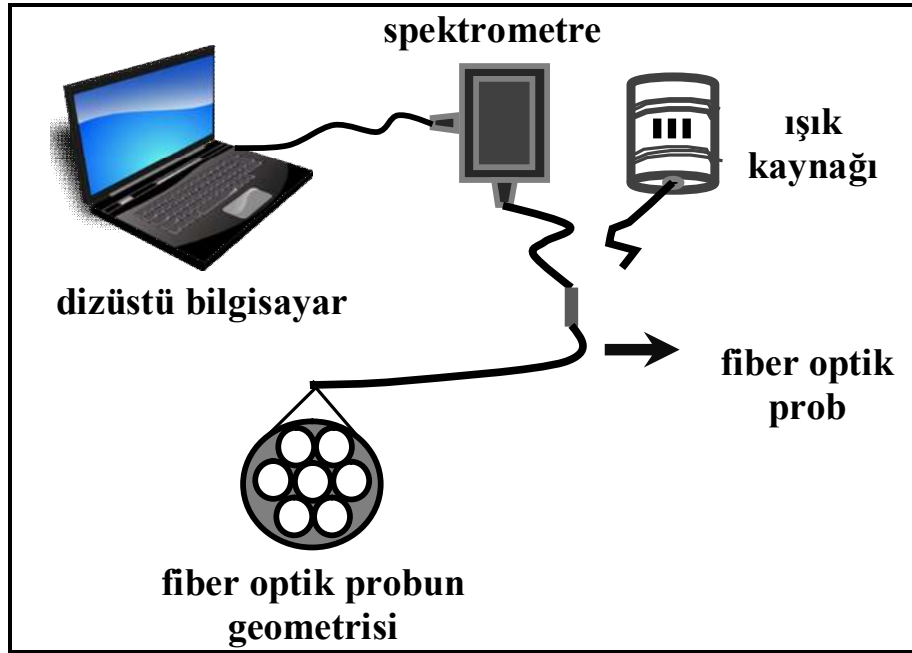
Tüm olguların skrotal pigmentasyon derecesini nesnel bir ölçüm haline getirmek amacıyla, hekim değerlendirmesinin yanı sıra spektrometre cihazı ile de ölçümler alındı.

Spektroskopik değerlendirmede temel olarak çevrel yansımaları ortadan kaldırmak için her ölçüm öncesi kalibrasyon yapıldı. Kalibrasyon ardından ışık

skrotum derisine gönderilip geri toplandı. Geri toplanan ışığın spektrometrik dağılımı özgül bir bilgisayar programı aracılığıyla değerlendirilerek melanine ait absorpsiyon değeri hesaplandı. Yöntemin detayları bölüm 3.2 - 3.4 arasında sunulmuştur.

3.2. Spektroskopik Donanım

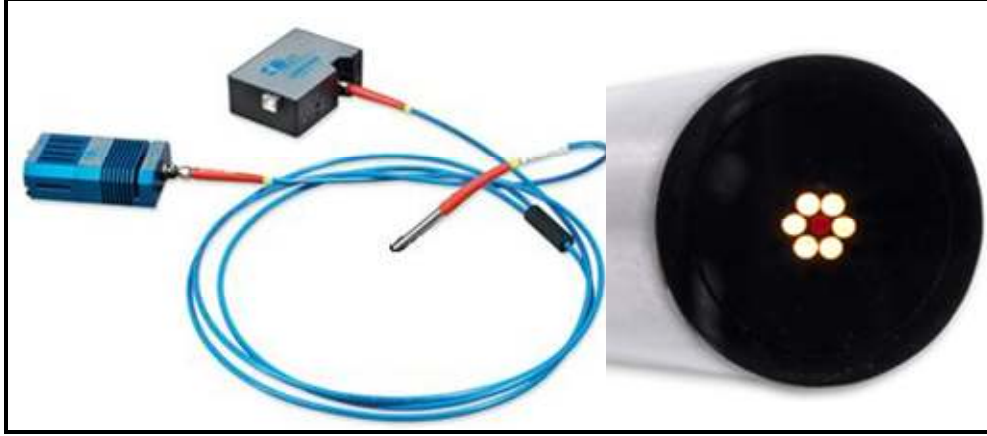
Spektroskopik verileri almak için Ocean Optics Incorporation'ın (Florida, ABD) USB2000 model spektrometresi kullanıldı. Sistemde ışık kaynağı olarak tungsten lamba (Ocean Optics, Inc. Florida, ABD) bulunmaktaydı. Kullanılan spektrometre 400 ile 850 nm arasındaki dalga boyuna duyarlı, 2048 elemanlı CCD detektör dizisine sahipti. Geri yansıma spektroskopik verileri, bilgisayarda OOIBase32 Platinum, Ocean Optics Inc., (Florida, USA) yazılımı ile işlendi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Deney düzeneği.

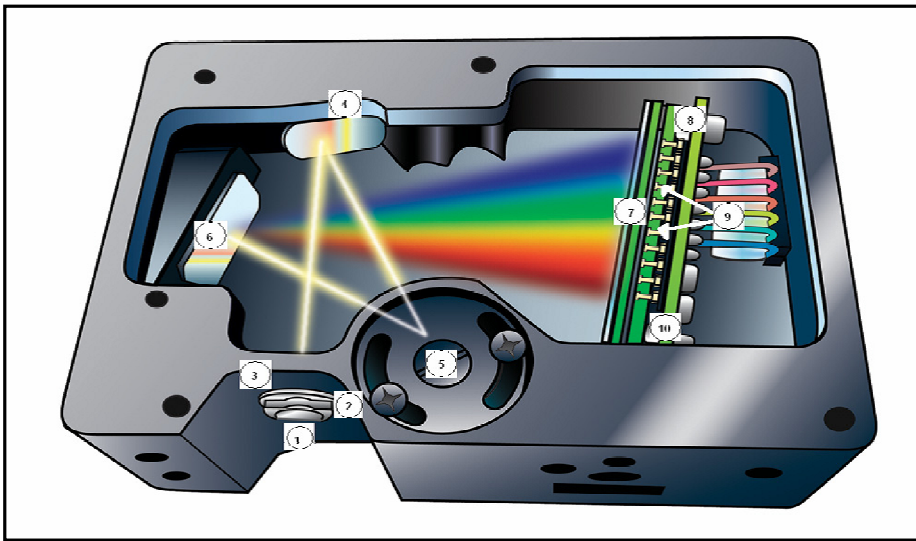
Kullanılan optik prob, altı tane simetrik olarak konumlandırılmış kaynak fiber ile bunların ortasında bir tane dedektör fiberden oluşan dairesel geometriye sahip bir probdu. Optik fiberlerin çapı 400 μm , sayısal açıklığı 0.22 ± 0.02 ve

yaklaşık uzunlukları 100 cm idi. Tüm fiberler bitişik olarak konumlandırılmıştı (Şekil 3.2).



Şekil 3.2. Çalışmada kullandığımız fiber optik prob.

Spektrometrenin temel bileşenleri; ışığı spektrumuna ayırmada kullanılan grating, ışık kaynağı, CCD (Charge Coupled Device) detektör, yön verici aynalar, optik fiber prob ve optik fiber kablo idi. Işık, kaynak fiber ile fantoma gönderildi ve fantomdan geri saçılan ışık dedektör fiber ile toplandı. Spektrometreye gelen bu ışık, özel aynalar ve grating aracılığı ile CCD detektör dizisi üzerine dağıtıldı. Bu CCD ile elektrik sinyaline çevrildi (Şekil 3.3). Dalga boyuna bağlı ışığın şiddeti yazılım aracılığı ile bilgisayara iletildi.



Şekil 3.3. Çalışmada kullanılan spektrometrenin iç yapısı.

3.3. Ölçümler

Prob aracılığıyla skrotuma gönderilip geri saçılan ışık toplanarak bilgisayara aktarıldı. Saçılan ışık bilgisi, spektrometre ve bilgisayar yazılımı (OOIBase32 Platinum Ocean Optics, Inc, Florida, USA) ile spektroskopik veri olarak kaydedildi. Prob kullanılmadan önce, optik fiberlerin bağlantı yerleri ile optik fiber doku ara yüzeyinde oluşan yansımaları hesaba katmak ve ışık kaynağının spektral dağılımını elimine etmek için kalibrasyon ölçümleri yapıldı (51).

Kalibrasyon işleminden sonra her bir fantomdan 8 kez ölçüm alındı ve alınan ölçümler kaydedildi. Elde edilen veriler, Igor Pro 4.03 teknik grafik ve veri analizi programı ile işlendi.

3.4. Verilerin Analizi

Skrotum dokusunda bulunan, ışık absorbe eden, melanin dışındaki bileşenlere bağlı etkinin ortadan kaldırılması için uyluğun iç kısmından kontrol ölçümleri yapıldı. Skrotumdan ölçülen spektrum, uyluğun iç kısmından alınan kontrol spektrumuna bölünerek dalga boyuna karşı oran spektrumları elde edildi. Böylece bebeklerin skrotum dışı dokularındaki melanin pigment yoğunluğunun etkisi ortadan kaldırıldı. Kan elemanlarına ait absorpsiyonun ortadan kaldırılması için ölçümler 600-800 nm dalga boyu aralığında yapıldı. Eğim ve 17-OHP düzeyi arasındaki ilişkiyi değerlendirmek amacıyla Spearman korelasyon katsayısı hesaplandı.

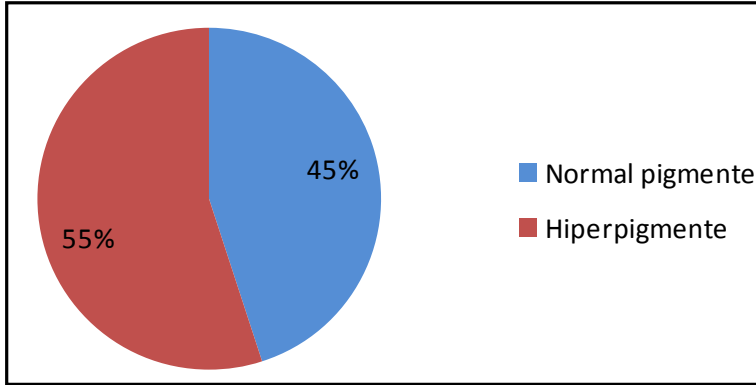
3.5. Kullanılan İstatistiksel Yöntem

Veriler SPSS 18.0 (Chicago) bilgisayar programı kullanılarak analiz edildi. Örneklemi tanımlamak için frekans dağılımı, ortalama, standart sapma gibi tanımlayıcı istatistikler kullanıldı. İki grubun sürekli dağılımların analizinde Shapiro-Wilk normallik testi yapılarak normal dağılıma uyan durumlarda Student-t testi, uymayan durumlarda Mann-Whitney U testi yapıldı. Ölçüm değişkenlerin ilişki analizinde test varsayımlarına göre Spearmann korelasyon analizi kullanıldı. Analizlerde farklılıkların belirlenmesi için %95 anlamlılık düzeyi (ya da $\alpha=0.05$ hata payı) kullanılmıştır. “Spearman korelasyon katsayısı

(r), 0.90-1.00 arası çok kuvvetli korelasyon, 0.70-0.89 arası kuvvetli korelasyon, 0.50-0.69 arasında orta kuvvetli korelasyon, 0.30-0.49 arası zayıf korelasyon, 0-0.29 arası korelasyon yok, negatif ise ters orantılı korelasyon olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Sağlam Çocuk Polikliniği'nde uzamış sarılık nedeniyle tetkik edilen normal skrotal pigmentasyona sahip 18 bebek (tüm olguların %45'i) ve fizik muayenede skrotal hiperpigmentasyon saptanan 22 bebek (tüm olguların %55'i) alındı (Tablo 4.1).



Şekil 4.1. Çalışmadaki olguların skrotum renginin hekim gözüyle hiperpigmente ya da normal pigmente olarak değerlendirilmesi

Olguların ortalama yaşı 29 gün, yaş aralığı 3-60 gündü. Ortalama doğum ağırlığı 3348 ± 387 gramdı (alt ve üst sınır; 2700-4345 gram). Ortalama gestasyon haftası $38,1 \pm 1,2$ haftaydı (alt ve üst sınır; 35-41 hafta). Olguların dokuzunun (%22,5) gestasyon haftası 37 ve altındaydı. Ortalama anne yaşı $30,2 \pm 5,0$ yıld. Annelerin en küçüğü 21 en büyüğü 40 yaşındaydı.

Ortalama spektrometri değeri $66,1 \times 10^{-6} \pm 29,5 \times 10^{-6}$ iken, en küçüğü $35,5 \times 10^{-6}$, en büyüğü $177,9 \times 10^{-6}$ idi.

Ortalama 17-OHP düzeyi $6,98 \pm 3,8$ ng/ml, en küçüğü 2,58 ng/ml, en büyüğü 21,7 ng/ml idi (Tablo 4.1).

İki olgunun 17-OHP düzeyi 10-20 ng/ml aralığındaydı. Bir olgunun 17-OHP düzeyi 20 ng/ml'nin üzerindeydi.

Hekim gözüyle skrotal hiperpigmentasyon saptanan olguların; ortalama yaşı $22,4 \pm 14,1$ gün, ortalama doğum ağırlığı 3355 ± 396 gram, ortalama gestasyon yaşı $38,3 \pm 1,0$ hafta, ortalama anne yaşı $30,2 \pm 5,2$ yıl, ortalama spektrometri değeri $69,8 \times 10^{-6} \pm 31,9 \times 10^{-6}$, ortalama 17-OHP düzeyi $7,19 \pm 4,3$ ng/ml idi.

Normal skrotal pigmentasyona sahip olguların ise ortalama yaşı $18,9 \pm 8,8$ gün, ortalama doğum ağırlığı 3340 ± 386 gram, ortalama gestasyon yaşı $37,9 \pm 1,3$ hafta, ortalama anne yaşı $30,1 \pm 4,9$ yıl, ortalama spektrometri değeri $61,6 \times 10^{-6} \pm 26,6 \times 10^{-6}$, ortalama 17-OHP düzeyi $6,72 \pm 3,1$ ng/ml idi. İki grup arasında hiçbir parametrede istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. Hekim gözüyle skrotum rengi hiperpigmente veya normal olarak değerlendirilen olguların demografik verileri, spektrometrik ölçüm değerleri ve 17-OHP düzeyleri.

	Tüm grup (n:40)	Hiperpigmente (n:22)	Normal (n:18)	P
Yaş (Ort)	$20,8 \pm 11,97$	$22,4 \pm 14,1$	$18,9 \pm 8,8$	,436
Doğum ağırlığı (Ort)	3348 ± 387	3355 ± 396	3340 ± 386	,849
Gestasyon haftası (Ort)	$38,1 \pm 1,2$	$38,3 \pm 1,0$	$37,9 \pm 1,3$	,518
Anne yaşı (Ort)	$30,2 \pm 5,0$	$30,2 \pm 5,2$	$30,1 \pm 4,9$	,916
Spektrometre değeri (Ort)	$66,1 \times 10^{-6} \pm 29,5 \times 10^{-6}$	$69,8 \times 10^{-6} \pm 31,9 \times 10^{-6}$	$61,6 \times 10^{-6} \pm 26,6 \times 10^{-6}$	,377
17 OH Progesteron düzeyi (Ort)	$6,98 \pm 3,8$	$7,19 \pm 4,3$	$6,72 \pm 3,1$	,807

Tüm olgularda anne yaşının hiçbir parametre ile korele olmadığı, gestasyon haftasının ise sadece doğum ağırlığı ile pozitif yönlü zayıf korelasyona sahip olduğu saptandı ($r=0,325$, $p=0,041$).

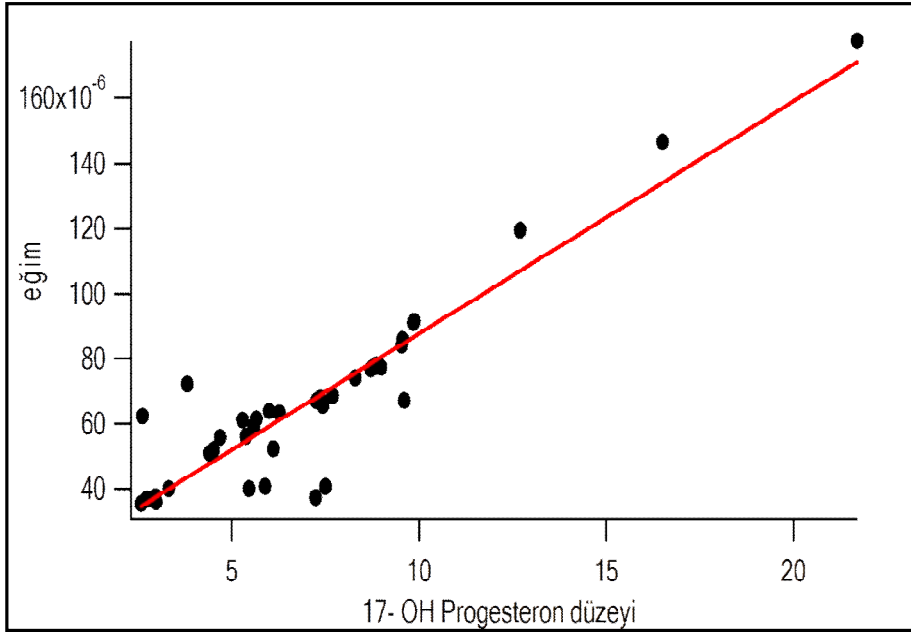
Doğum ağırlığının 17-OHP düzeyi ile negatif yönlü zayıf korelasyona sahip olduğu ($r=-0,332$, $p=0,036$), olgu yaşının ise hiçbir parametre ile korele olmadığı saptandı.

17-OHP düzeyi ile spektrometri değeri arasında pozitif yönlü kuvvetli bir ilişki saptandı ($r=0,857$, $p=0,000$) (Tablo 4.2) (Şekil 4.2).

Tablo 4.2. Tüm olgularda anne yaşı, gestasyon haftası, doğum ağırlığı, bebeğin yaşı, 17-OHP düzeyi, spektrometri değerinin birbirleriyle korelasyonu.

	Anne yaşı	Gestasyon haftası	Doğum ağırlığı	Yaş	17 OH Progesteron düzeyi	Spektrometri değeri
Anne yaşı	-	r=0,213 p=0,188	r=0,069 p=0,672	r=0,013 p=0,938	r=0,188 p=0,246	r=0,084 p=0,605
Gestasyon haftası		-	r=0,325 p=0,041	r=-0,092 p=0,574	r=-0,030 p=0,852	r=0,096 p=0,555
Doğum ağırlığı			-	r=-0,052 p=0,749	r=-0,332 p=0,036	r=-0,202 p=0,210
Yaş				-	r=-0,206 p=0,202	r=-0,151 p=0,352
17 OH Progesteron düzeyi					-	r=0,857 p=0,000
Spektrometri değeri						-

r : spearmen korelasyon katsayısı



Şekil 4.2. 17-OHP düzeyi ile spektrometre değeri arasındaki ilişki.

Hekim gözüyle skrotal hiperpigmentasyon saptanan olgularda anne yaşının hiçbir parametre ile korele olmadığı, gestasyon haftasının ise doğum ağırlığı ile pozitif yönlü zayıf ilişkisinin olduğu saptandı ($r=0,488$, $p=0,021$).

Doğum ağırlığının hiçbir parametreyle korelasyonu saptanmazken, olgu yaşının 17-OHP düzeyi ile negatif yönde zayıf korelasyonu saptandı ($r=-0,434$, $p=0,044$).

17-OHP düzeyinin spektrometri değeri ile pozitif yönlü kuvvetli bir ilişkisi saptandı ($r=0,869$, $p=0,000$)(Tablo 4.3).

Tablo 4.3. Hekim gözüyle skrotum rengi hiperpigmente olan olguların anne yaşı, gestasyon haftası, doğum ağırlığı, yaşı, 17-OHP düzeyi, spektrometri değerinin birbirleriyle olan korelasyonu.

	Anne yaşı	Gestasyon haftası	Doğum ağırlığı	Yaş	17 OH Progesteron düzeyi	Spektrometri değeri
Anne yaşı	-	$r=0,076$ $p=0,737$	$r=0,211$ $p=0,346$	$r=-0,034$ $p=0,879$	$r=0,254$ $p=0,254$	$r=0,112$ $p=0,619$
Gestasyon haftası		-	$r=0,488$ $p=0,021$	$r=0,025$ $p=0,913$	$r=-0,191$ $p=0,394$	$r=-0,173$ $p=0,441$
Doğum ağırlığı			-	$r=0,136$ $p=0,546$	$r=-0,169$ $p=0,452$	$r=-0,066$ $p=0,770$
Yaş				-	$r=-0,434$ $p=0,044$	$r=-0,340$ $p=0,122$
17 OH Progesteron düzeyi					-	$r=0,869$ $p=0,000$
Spektrometri değeri						-

r : spearmen korelasyon katsayısı

Skrotal hiperpigmentasyonu olmayan olgularda; anne yaşı, olgu yaşı ve gestasyon haftasının hiçbir parametre ile korele olmadığı saptandı. Doğum ağırlığının ise 17-OHP düzeyi ile negatif yönlü orta kuvvetli ilişkisi saptandı ($r=-0,609$, $p=0,007$).

17- OHP düzeyinin ise spektrometri değeri ile pozitif yönlü kuvvetli ilişkisi saptandı ($r=0,837$, $p=0,000$) (Tablo 4.4).

Tablo 4.4. Hekim gözüyle skrotum rengi normal olan olguların anne yaşı, gestasyon haftası, doğum ağırlığı, yaşı, 17- OHP düzeyi, spektrometri değerinin birbirleriyle olan korelasyonu.

	Anne yaşı	Gestasyon haftası	Doğum ağırlığı	Yaş	17 OH Progesteron düzeyi	Spektrometri değeri
Anne yaşı	-	r=0,341 p=0,166	r=-0,163 p=0,517	r=0,104 p=0,680	r=0,057 p=0,823	r=0,042 p=0,869
Gestasyon haftası		-	r=0,169 p=0,502	r=-0,261 p=0,296	r=0,139 p=0,583	r=0,401 p=0,100
Doğum ağırlığı			-	r=-0,309 p=0,212	r=-0,609 p=0,007	r=-0,341 p=0,167
Yaş				-	r=0,154 p=0,541	r=0,055 p=0,827
17 OH Progesteron düzeyi					-	r=0,837 p=0,000
Spektrometri değeri						-

r : spearmen korelasyon katsayısı

Gestasyonel haftası 37 hafta ve altı olan olguların ortalama 17-OHP düzeyi $6,28 \pm 2,62$ iken, gestasyonel haftası 37 hafta üzerindeki olguların ortalama 17-OHP düzeyi $7,18 \pm 4,13$ saptandı. Her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,456$) (Tablo 4.5).

Tablo 4.5. 37 hafta ve altı olan olgularla 37 hafta üzeri olan olguların 17-hidroksiprogesteron düzeyleri arasındaki ilişki.

	17 OH Progesteron (Ort)	SD	p
≤ 37 hafta	6,28	2,62	0,456
> 37 hafta	7,18	4,13	

Gestasyonel haftası 37 hafta ve altı olan olguların ortalama spektrometri değeri $56,5 \times 10^{-6} \pm 18,4 \times 10^{-6}$ iken, gestasyonel haftası 37 hafta üzerindeki olguların ortalama spektrometri değeri $68,9 \times 10^{-6} \pm 31,7 \times 10^{-6}$ saptandı. Her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,758$) (Tablo 4.6).

Tablo 4.6. 37 hafta ve altı olan olgularla 37 hafta üzeri olan olguların spektrometri değerleri arasındaki ilişki.

	Spektrometri değeri (Ort)	SD	p
≤ 37 hafta	$56,5 \times 10^{-6}$	$18,4 \times 10^{-6}$	0,758
> 37 hafta	$68,9 \times 10^{-6}$	$31,7 \times 10^{-6}$	

5. TARTIŞMA

Konjenital adrenal hiperplazi kortizol biyosentez bozukluğuyla karakterize otozomal resesif geçişli bir hastalıktır. Olguların %90'dan fazlasında CYP21A2 mutasyonu sonucu gelişen 21 hidroksilaz enzim eksikliği mevcuttur (52).

21 hidroksilaz enzim aktivitesinin tamamen olmaması, yaşamsal kortikosteroidlerin azlığıyla sonuçlanır. Bu anormallik taranmaz ve zamanında tedavi edilmezse erken süt çocukluğu döneminde şok, hiponatremi ve hiperkalemiye bağlı ölüme neden olabilir.

Çocukluk çağında sık görülen ve fatal seyreden, basit hormonal tetkik ile tanısı konulabilen, erken tanı ve tedavi ile ciddi morbidite ve mortalitesi engellenen bir hastalık olması nedeniyle KAH, yenidoğan taraması için uygun bir hastalıktır (3).

Günümüzde uygulaması giderek yaygınlaşan yenidoğan KAH tarama programları, özellikle tuz kaybıyla giden olguların, tuz kaybı olmayan erkeklerin ve yanlışlıkla erkek cinsiyeti verilen, ağır virilizasyon gösteren dişi yenidoğanların erken tanısında önemlidir (47). Yenidoğanda tuz kaybının, kısa dönemde yaşamı tehdit edici etkisinin yanı sıra uzun dönemde öğrenme güçlükleri ve davranış sorunlarına yol açacağı bildirilmektedir (53). Ayrıca birçok olgunun tanı konamadan kaybedilmesi, aileye genetik danışma verilemeden doğacak diğer çocukların da aynı sorunlarla karşılaşmasına neden olabilmektedir.

Yenidoğanda 21-hidroksilaz eksikliği taramasının maliyeti yüksektir. Ancak taramalardan elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde, taramada saptanan olguların en az %50'sine klinik olarak tanı konamamış olması, KAH tarama programlarını yaygınlaştırmıştır (54).

Günümüzde ABD'nin 49 eyaletinde ve en az 16 farklı ülkede yenidoğan döneminde KAH tarama programı kullanılmaktadır. Onüç ek ülkede de tarama programları ile ilgili pilot çalışmalar yapılmaktadır (3).

Ülkemiz koşullarında henüz böyle bir tarama söz konusu değildir. Bu nedenle özellikle erkek bebeklerde hekimin dikkati hastalığın erken tanısı için çok önemlidir. Erkek bebeklerde hastalığa bağlı olarak gelişen genital hiperpigmentasyon uyarıcı bir bulgu olarak kabul edilmektedir. Bu nedenle çalışmamızda bebeklerin genital bölgesindeki melanin pigment yoğunluğunu

ölçebilecek nesnel, noninvazif bir yöntem olan spektrometriyi geliştirmeyi planladık.

Bilgilerimize göre çalışmamız, literatürde spektrometre değerleriyle skrotal pigmentasyonun nesnel bir ölçüt hale getirildiği, 17-OHP ile ilişkisinin incelendiği, gelecekte erkek bebeklerde KAH taramasına dolaylı yoldan yardımcı olabileceğini düşündüğümüz ilk çalışmadır.

Tarama testleriyle ilgili en önemli sorun, 17-OHP düzeyindeki yalancı pozitifliklerdir. 17-OHP düzeyleri doğum esnasında yüksek olup, hızlıca ilk birkaç günde düşmektedir. Bu açıdan kan örnekleri doğumdan 48-72 saat sonra alınmalıdır, bu da ilk 2 günde tanı koymayı zorlaştırmaktadır. Biz de kan alınma zamanının 17-OHP düzeyi üzerine etkisini ortadan kaldırmak için 2 günden büyük bebekleri çalışmaya dahil ettik.

Preterm, hasta veya stresli bebeklerde 17-OHP düzeyleri sağlıklı çocuklara göre daha yüksek saptanmaktadır. Özellikle preterm bebeklerde 11 β -hidroksilaz enzim aktivitesinde fizyolojik gecikme 17-OHP düzeylerinde geçici yükselmelere neden olabilmektedir (43). Van der Kamp ve arkadaşları (55) 17-OHP düzeylerinin doğum ağırlığından daha çok gestasyonel haftayla ilişkili olduğunu belirtmişlerdir.

Çalışmamızda olguların 17-OHP düzeyi ile doğum ağırlığı arasında negatif yönlü zayıf ilişki saptadık ($r=-0,332$) (Tablo 4.9) fakat gestasyon haftasıyla 17-OHP düzeyi arasında anlamlı bir ilişki saptamadık ($p=0,456$). Bunun nedeni çok küçük preterm bebeklerin ya da düşük doğum ağırlıklı bebeklerin çalışmaya dahil edilmemesi olabilir.

Yenidoğan KAH tarama programlarında, uluslararası kabul edilmiş 17-OHP limit değerlerinin bulunmaması önemli sorunlardan bir tanesidir. ESPE yenidoğan KAH taraması çalışma grubu; 36 haftanın üzerinde ve/veya doğum ağırlığı ≥ 2500 gram olan bebeklerde 17-OHP için patolojik değeri 90 nmol/L (~ 30 ng/ml) olarak kabul etmektedir. 17-OHP düzeyi 30 nmol/L (~ 10 ng/ml) ve altındaki değerler normal olarak kabul edilmektedir. Ara değer bulunduğunda bebekten evde filtre kağıdına alınan kan örneğinde tarama testinin tekrarlanması veya hastane koşullarında serum 17-OHP bakılması önerilmektedir (48). Çalışma grubumuzda üç bebekte serum 17-OHP değeri 10 ng/ml üzerinde saptandı. Bu bebeklerin iki tanesinde fizik muayene ile skrotal hiperpigmentasyon gözlenmişti. Kontrol 17-OHP değerleri görüldü ve 10 ng/ml'nin altına düştüğü belirlendi.

Çalışmamızda, fizik muayeneyle skrotal hiperpigmentasyon var veya yok denilen olguların 17-OHP düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptamadık ($p=0,807$). Bunu da KAH tanısı öngörüsünde hekim gözünün yanılabilirliğini göstermesi açısından önemli bulmaktayız. Oysa ki tüm olguların 17-OHP düzeyi ile spektrometri değeri arasında pozitif yönlü kuvvetli bir ilişki saptamış bulunmaktayız ($r=0,857$, $p=0,000$).

Nitekim Gökdemir ve ark. (56) yapmış oldukları çalışmaya aldıkları 320 erkek bebeğin 90 tanesinde (%28,12) skrotal hiperpigmentasyon saptamıştır. Bu oran erkek bebeklerde skrotal hiperpigmentasyon sıklığının ne kadar azımsanamayacak değerlerde olduğunun bir göstergesidir. Dolayısıyla skrotal hiperpigmentasyonu fizik muayene ile değerlendirme; öznel, KAH tanısına çok yardımcı olmayan ve yanlış pozitifliği sık bir uygulamadır. Bu da gereksiz ek girişimsel işleme neden olabilir.

Ayrıca muayene ile skrotal hiperpigmentasyon saptanmayan, fakat yüksek 17-OHP düzeyine sahip olguların atlanması da olasıdır. Fizik muayenenin ayırtlamaya yetmediği yanlış negatif olgularda ise tanısal gecikme ve hatta ölüm riski bulunmaktadır. Çalışmamızda spektrometre değeri ile 17-OHP düzeyi arasında hekim gözüyle hem skrotal hiperpigmente ($p=0,000$, $r=0,869$), hem de normal pigmente olgularda ($p=0,000$, $r=0,837$) pozitif yönlü kuvvetli bir ilişki saptadık. Bu nedenle spektrometrik yöntemle KAH açısından şüphelenmenin mümkün hale getirilebileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızın kısıtlılıkları ise, düşük doğum ağırlıklı hastalarda spektrometrenin 17-OHP ile korelasyonunun incelenmemesi ve olgularımız arasında hiç KAH tanısı almış hastamızın olmayışdır.

Sonuç olarak biz bu pilot çalışmada, fizik muayeneyle saptanan skrotal hiperpigmentasyonun değil, spektrometri ile ölçülen melanin pigment yoğunluğunun 17-OHP kan düzeyi ile korele olduğunu gözledik. Spektrometrinin dolaylı ve noninvazif bir yöntem olarak KAH tanısında kullanılabilmesi için, bundan sonraki çalışmalarda, 10 ng/ml 17-OHP kan düzeyine denk gelen spektrometrik cut-off değerinin KAH tanısı almış ve almamış iki geniş hasta grubunda karşılaştırılarak testin duyarlılık ve seçiciliğinin saptanması gerekmektedir.

6. SONUÇLAR

- 1- Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Sağlam Çocuk Polikliniği'nde uzamış sarılık nedeniyle tetkik edilen normal skrotal pigmentasyona sahip 18 olgu ve rutin poliklinik muayenesi esnasında skrotal hiperpigmentasyon saptanan 22 olgu olmak üzere toplam 40 olgu üzerinde gerçekleştirildi.
- 2- Olguların ortanca yaşı 29 gün, yaş aralığı 3-60 gün, ortalama doğum ağırlığı 3348 ± 387 gram ve ortalama gestasyon süresi $38,1 \pm 1,2$ haftaydı. Olguların dokuzunun (%22,5) gestasyon haftası 37 ve altındaydı. Ortalama anne yaşı $30,2 \pm 5,0$ yılı. Ortalama spektrometri değeri $66,1 \times 10^{-6} \pm 29,5 \times 10^{-6}$ iken, en küçüğü $35,5 \times 10^{-6}$, en büyüğü $177,9 \times 10^{-6}$ idi. Ortalama 17-OHP düzeyi $6,98 \pm 3,8$ ng/ml saptandı.
- 3- İki olgunun 17-OHP düzeyi 10-20 ng/ml aralığındaydı. Bir olgunun 17-OHP düzeyi 20 ng/ml'nin üzerindeydi.
- 4- Fizik muayeneyle skrotal hiperpigmentasyon saptanan olguların; ortalama yaşı $22,4 \pm 14,1$ gün, ortalama doğum ağırlığı 3355 ± 396 gram, ortalama gestasyon yaşı $38,3 \pm 1,0$ hafta, ortalama anne yaşı $30,2 \pm 5,2$ yıl, ortalama spektrometri değeri $69,8 \times 10^{-6} \pm 31,9 \times 10^{-6}$, ortalama 17-OHP düzeyi $7,19 \pm 4,3$ ng/ml idi.
- 5- Normal skrotal pigmentasyona sahip olguların ise ortalama yaşı $18,9 \pm 8,8$ gün, ortalama doğum ağırlığı 3340 ± 386 gram, ortalama gestasyon yaşı $37,9 \pm 1,3$ hafta, ortalama anne yaşı $30,1 \pm 4,9$ yıl, ortalama spektrometri değeri $61,6 \times 10^{-6} \pm 26,6 \times 10^{-6}$, ortalama 17-OHP düzeyi $6,72 \pm 3,1$ ng/ml idi. İki grup arasında hiçbir parametrede istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı.
- 6- Tüm olgularda anne yaşının hiçbir parametre ile korele olmadığı, gestasyon haftasının ise sadece doğum ağırlığı ile pozitif yönlü zayıf korelasyona sahip olduğu saptandı ($r=0,325$, $p=0,041$). Doğum ağırlığının 17-OHP düzeyi ile negatif yönlü zayıf korelasyona sahip olduğu ($r=-0,332$, $p=0,036$), olgu yaşının ise hiçbir parametre ile korele

olmadığı saptandı. 17-OHP düzeyi ile spektrometri değeri arasında pozitif yönlü kuvvetli bir ilişki saptandı ($r=0,857$, $p=0,000$).

- 7- Skrotal hiperpigmentasyonu olan olgularda anne yaşının hiçbir parametre ile korele olmadığı, gestasyon haftasının ise doğum ağırlığı ile pozitif yönlü zayıf ilişkisinin olduğu saptandı ($r=0,488$, $p=0,021$). Doğum ağırlığının hiçbir parametreyle korelasyonu saptanmazken, olgu yaşının 17-OHP düzeyi ile negatif yönde zayıf korelasyonu saptandı ($r=-0,434$, $p=0,044$). 17-OHP düzeyinin spektrometri değeri ile pozitif yönlü kuvvetli bir ilişkisi saptandı ($r=0,869$, $p=0,000$).
- 8- Skrotal hiperpigmentasyonu olmayan olgularda, anne yaşı, olgu yaşı ve gestasyon haftasının hiçbir parametre ile korele olmadığı saptandı. Doğum ağırlığının ise 17-OHP düzeyi ile negatif yönlü orta kuvvetli ilişkisi saptandı ($r=-0,609$, $p=0,007$). 17-OHP düzeyinin ise spektrometri değeri ile pozitif yönlü kuvvetli ilişkisi saptandı ($r=0,837$, $p=0,000$).
- 9- Gestasyonel haftası 37 hafta ve altı olan olguların ortalama 17-OHP düzeyi $6,28 \pm 2,62$ iken, gestasyonel haftası 37 hafta üzerindeki olguların ortalama 17-OHP düzeyi $7,18 \pm 4,13$ saptandı. Her iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p=0,456$).

7. ÖZET

Yenidoğanlarda Skrotal Pigmentasyonun Hekim Gözü Yanı Sıra Spektrometre İle Değerlendirilmesi Ve Sonuçların 17-Hidroksiprogesteron Kan Düzeyi İle Korelasyonunun İncelenmesi

Erkek bebeklerde hekimi uyuracak kuşkulu genital yapı bulunmadığı için KAH tanısında gecikmeler olmakta ve ancak ciddi adrenal yetmezlik geliştiğinde tanı konulabilmektedir. Bu nedenle pek çok ülkede 21-hidroksilaz eksikliğinde artan bir ara metabolit olan 17-OHP düzeyine topuk kanından bakılarak hastalık yenidoğan döneminde taranmaktadır. Çalışmamızın amacı, yenidoğanda KAH taraması yapılamayan ülkemizde bebeklerin genital bölgesindeki melanin pigment yoğunluğunu ölçebilecek nesnel, noninvazif bir yöntem olan spektrometreyi geliştirmek ve spektrometre değerleri ile hekim gözünün uyumu değerlendirilerek her iki düzey erkek bebeklerin 17-OHP kan düzeylerini karşılaştırmaktır.

Çalışmaya hekimler tarafından skrotal hiperpigmentasyonu olduğu düşünülen 22 olgu ile sağlam çocuk polikliniğinde uzamış sarılık nedeniyle değerlendirilen normal skrotal pigmentasyona sahip 18 olgu olmak üzere toplam 40 bebek dahil edildi. Olguların yaşı, gestasyon haftası, doğum ağırlığı, anne yaşı, skrotum rengi kayıt altına alındı. Tüm olguların skrotal pigmentasyon derecesini nesnel bir ölçüm haline getirmek amacıyla spektrometre cihazı ile ölçümler alındı. Kan 17-OHP düzeyleri ise RIA (DIAsource 17OH-RIA-CT Kit, DIAsource ImmunoAssays S.A, Belgium) yöntemiyle ölçüldü.

Hekim gözüyle skrotal hiperpigmentasyonu saptanan ve saptanmayan grup arasında anne yaşı, olgu yaşı, gestasyon haftası, doğum ağırlığı, 17 OHP düzeyi ve spektrometri değeri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı.

Çalışmamızda fizik muayeneyle skrotal hiperpigmentasyon var veya yok dediğimiz olguların 17-OHP düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptamadık ($p=0,807$) fakat her iki grupta 17-OHP düzeyi ile spektrometri değeri arasında pozitif yönlü kuvvetli bir ilişki saptadık.

Sonuç olarak çalışmamız, literatürde spektrometre değerleriyle skrotal pigmentasyonun nesnel bir ölçüt hale getirildiği, 17-OHP ile ilişkisinin

incelendiđi, gelecekte erkek bebeklerde KAH taramasına dolaylı yoldan yardımcı olabileceđini dűşündűđűműz ilk çalıřmadır.

Anahtar kelimeler: Konjenital adrenal hiperplazi, spektrometre, skrotal hiperpigmentasyon.

8. ABSTRACT

Evaluation of Scrotal Pigmentation in Infants with Spectrometry in Addition to Physical Examination and Their Correlation with 17-Hydroxyprogesterone Blood Levels

Male infants have particular risk for late diagnosis of congenital adrenal hyperplasia (CAH) since many of them do not show clinical characteristics of ambiguous genitalia that may alert the physician. Due to this fact, many countries have adopted newborn screening programmes for 21-hydroxylase deficiency, by using 17-hydroxyprogesterone (17-OHP) levels on heel stick test. Since Turkey has not yet adopted a newborn screening for CAH, the aim of this study was to evaluate the scrotal melanin density of infants with spectrometry, which is an objective and none-invasive method and to determine the association of spectrometric evaluation with physical examination and blood 17-OHP levels.

A total of 40 infants were enrolled to the study, 22 of whom were diagnosed by a physician to have scrotal hyperpigmentation and 18 with normal scrotal pigmentation who were admitted for the evaluation of prolonged jaundice. Age, gestational week, birth weight, maternal age and scrotal pigmentation according to physician were recorded. Scrotal pigmentation was also determined by spectrometry and blood 17-OHP levels were measured by RIA (DIAsource 17OH-RIA-CT Kit, DIAsource ImmunoAssays S.A, Belgium).

No statistically significant difference was observed between the groups who were categorized by the physician as having “hyperpigmented” or “normal” scrotal color in terms of maternal age, infant’s age, gestational week, birth weight, 17-OHP level or spectrometric values.

We observed a strong correlation between 17-OHP levels and spectrometric values in all groups ($r:0.857$, $p<0,001$).

In conclusion this preliminary study is the first one in the literature which evaluates scrotal pigmentation with an objective spectrometric method, and determines its relation with 17-OHP levels. Further studies are needed to employ

this method as a none-invasive, indirect screening test for the screening of CAH in male infants.

Key words: Congenital adrenal hyperplasia, spectrometry, scrotal pigmentation.

9. KAYNAKLAR

- 1- Decrecchio L. Sopra un caso di apparenze virile in una donna. Morgagni 1865; 7: 1951.
- 2- Kurtoğlu S. Yenidoğan dönemi endokrin hastalıkları. Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul 2011; 33: 293.
- 3- White PC. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia. Nat Rev Endocrinol 2009; 5(9): 490-8.
- 4- Bilgin Y. Adrenal yetersizlik. Güncel Pediatri Dergisi 2008; 6.
- 5- Loeber JG. Neonatal screening in Europe; the situation in 2004. J Inherit Metab Dis 2007; 30: 430-8.
- 6- James VHT. The Adrenal Gland. New York: Raven Press 1979; 275.
- 7- Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF (Çeviri: Akçay T). Nelson Textbook of Pediatrics. 17th edition. Saunders Elseviers, Philadelphia 2004; 1898-9.
- 8- Junqueira LC, Carneiro J (Çeviri: Aytekin Y, Solakoğlu S). Temel Histoloji. Nobel Tıp Kitabevleri 2006; 413-8.
- 9- Brook CGD, Honour JW, Forest MG, Huma Z, Crawford C, New MI. Adrenal Cortex: Adrenal steroid Deficiency States; Adrenal Steroid Excess and Congenital Adrenal Hyperplasia. In: Brook CGD, ed, Clinical Pediatric Endocrinology. Oxford Blackwell Scientific Publication 1995; 434-557.
- 10- Christy NP. The Human Adrenal Cortex. Harper&Row 1971; 395-425.
- 11- Persaud TVN (Çeviri: Dalçık H, Yıldırım M). Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi. Nobel Tıp Kitabevleri 2009; 260-2.
- 12- Nishimura H. Atlas of Human Prenatal Histology. Tokyo, Igaku-Shoin 1983; 171-240.

- 13- Aguilera G, Harwood JP, Wilson JX, Morell J, Brown JH, Catt KJ. Mechanisms of action of corticotropin-releasing factor and other regulators of corticotropin release in rat pituitary cells. J Biol Chem 1983; 258: 8039-45.
- 14- Becker KL. Principles and Practice of Endocrinology and Metabolism. Philadelphia 2001; 704-19.
- 15- Goodman HM. Basic Medical Endocrinology. New York, Raven Press 1994; 71-113.
- 16- Guyton AC, Hall JE (Çeviri: Çavuşoğlu H). Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology, Nobel Tıp Kitapevleri 1996; 965-8.
- 17- Akarsu E, Atmaca H, Balcı M, Bolu E, Çolak R, Demirbaş B. Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği, Adrenal ve Gonadal Hastalıklar Çalışma Grubu 2011; 81.
- 18- Neyzi O, Ertuğrul YT. Pediatri 2, Sürrenal ve Hastalıkları. Nobel Tıp Kitapevi 2002; 1256-71.
- 19- Hung W. Adrenal Cortex and Medulla. Clinical Pediatric Endocrinology, Mosby Year Book 1994; 179-225.
- 20- Miller WL, Levine LS. Molecular and clinical advances in congenital adrenal hyperplasia. J Pediatr 1987; 111: 1-17.
- 21- Merke DP, Bornstein SR. Congenital adrenal hyperplasia. Lancet 2005; 365: 2125-36.
- 22- Rudolph AM, Hoffman JIE, Rudolph CD. Rudolph's Pediatrics. 22nd edition. New York, Mc Graw Hill 2011; 2048.
- 23- Danish RK, Dahms WT. Abnormalities of sexual differentiation and congenital adrenal hyperplasia. Neonatal and Perinatal Medicine. In Mosby Years Book 1997; 1500-21.

- 24- Prader A. The syndrome of male pseudohermaphroditism in congenital adrenocortical hyperplasia without overproduction of androgens (adrenal male pseudohermaphroditism). *Helv Paediat Acta* 1955; 10: 397-412.
- 25- New MI. An Update of congenital adrenal hyperplasia. *Ann NY Acad Sci* 2004; 1038: 14-43.
- 26- Specier WP, New IM, Ghizzoni L. Update on Congenital Adrenal Hyperplasia 1995; 305-20.
- 27- Miller WL. Clinical Review 54. Genetics, Diagnosis and management of 21-hydroxylase deficiency. *J Clinical Endocrinology and Metabolism* 1994; 78: 241-7.
- 28- Sandalcı Ö. Sürrenal Korteks Hastalıkları, İstanbul Tıp Fakültesi Yayınları. 1996; 265-314.
- 29- Burg FD, Wald ER, Ingelfinger JR, Richard AP. Disorders of Adrenal Gland. *Current Pediatric Therapy* 1999; 744-53.
- 30- Kuttan F, Coullin P, Girard F. Late-onset adrenal hyperplasia in hirsutism. *The New England Journal of Medicine* 1985; 314: 224-31.
- 31- Lifshitz F. An Update of Congenital Adrenal Hyperplasia. *Pediatric Endocrinology* 1990; 307-25.
- 32- Nasir J, Royston C, Walton C, White MC. 11 beta-hydroxylase deficiency: management of a difficult case by laparoscopic bilateral adrenalectomy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1996; 45: 225-8.
- 33- Kelestimur F, Sahin Y, Ayata D, Tutus A. The prevalence of non-classic adrenal hyperplasia due to 11 beta-hydroxylase deficiency among hirsute women in a Turkish population. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1996; 45: 381-4.

- 34- Grumbach MM, Hughes IA, Conte FA. Disorder of sex differentiation. In: Larsen PR, Kronenberg HM, Melmed S, et al, eds. Williams Textbook of Endocrinology, 10th ed. Philadelphia: Saunders 2003; 842-1002.
- 35- Yamakita N, Murase H, Yasuda K, Noritake N, Mercado- Asis LB, Miura K. Possible hyperaldosteronism and discrepancy in enzyme activity deficiency in adrenal and gonadal glands in Japanese patients with 17 alphahydroxylase deficiency. *Endocrinol Jpn* 1989; 36: 515-36.
- 36- Chung BC, Picado-Leonard J, Haniu M. Cytochrome P450c17 (steroid 17 alpha-hydroxylase/17,20 lyase): cloning of human adrenal and testis cDNAs indicates the same gene is expressed in both tissues. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 407-11.
- 37- Yanase T, Simpson ER, Waterman MR. 17 alphahydroxylase/17,20-lyase deficiency: from clinical investigation to molecular definition. *Endocr Rev* 1991; 12: 91-108.
- 38- Temeck JW, Pang S, Nelson C, New MI. Genetic defects of steroidogenesis in premature pubarche. Genetic defects of steroidogenesis in premature pubarche. *J Clin Endocrinol Metab* 1987; 64: 609-17.
- 39- Koshimizu T. Plasma renin activity and aldosterone concentration in normal subjects and patients with salt-losing type of congenital adrenal hyperplasia during infancy. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1979; 10: 515-22.
- 40- Merke DP and Bornstein SR. Congenital adrenal hyperplasia. *Lancet* 2005; 365: 2125-36.
- 41- Riepe FG, Krone N, Viemann M, Partsch CJ, Sippell WG. Management of congenital adrenal hyperplasia: results of the ESPE questionnaire. *Horm Res* 2002; 58(4): 196-205.
- 42- Pang S, Hotchkiss J, Drash AL, Levine LS, New MI. Microfilter paper method for 17 alpha-hydroxyprogesterone radioimmunoassay: its

- application for rapid screening for congenital adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab* 1977; 45(5): 1003-8.
- 43- Homma K, Hasegawa T, Takeshita E, Watanabe K, Anzo M, Toyoura T, et al. Elevated urine pregnanetriolone definitively establishes the diagnosis of classical 21-hydroxylase deficiency in term and preterm neonates. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89(12): 6087-91.
 - 44- Wong T, Shackleton CH, Covey TR, Ellis G. Identification of the steroids in neonatal plasma that interfere with 17 alpha-hydroxyprogesterone radioimmunoassays. *Clin Chem* 1992; 38(9): 1830-7.
 - 45- Honour JH, Wickramaratne K, Valman HB. Adrenal function in preterm infants. *Biol Neonate* 1992; 61(4): 214-21.
 - 46- Nordenström A, Wedell A, Hagenfeldt L, Marcus C, Larsson A. Neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia: 17-hydroxyprogesterone levels and CYP21 genotypes in preterm infants. *Pediatrics* 2001; 108(4): E68.
 - 47- Brosnan PG, Brosnan CA, Kemp SF, Domek DB, Jelley DH, Blackett PR, et al. Effect of Newborn Screening for Congenital Adrenal Hyperplasia *Arch Pediatr Adolesc Med* 1999; 153(12): 1272-8.
 - 48- Working Group on Neonatal Screening of the European Society for Paediatric Endocrinology, Procedure for neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Horm Res* 2001; 55(4): 201-5.
 - 49- Padilla CD, Therrell BL, Working Group of the Asia Pacific Society for Human Genetics on Consolidating Newborn Screening Efforts in the Asia Pacific Region. Consolidating newborn screening efforts in the Asia Pacific region: Networking and shared education. *J Community Genet* 2012; 3(1): 35-45.
 - 50- Evans MI, Krivchenia EL. Principles of screening. *Clin Perinatol* 2001; 28(2): 273.

- 51- Canpolat M, Mourant JR. Particle size analysis of turbid media with a single optical fiber in contact with the medium to deliver and detect white light. *Applied Optics* 2001; 40(22): 3792-9.
- 52- White P.C, Spesier PW. Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocr Rev* 2000; 21: 245-91.
- 53- Donaldson MD, Thomas PH, Love JG, Murray GD, McNinch AW, Savage DC. Presentation, accrue illness, and learning difficulties in salt wasting 21-hydroxylase deficiency. *Arch Dis Child* 1994; 70: 214-8.
- 54- Thil'én A, Nordenström A, Hagenfeldt L, von Döbeln U, Guthenberg C, Larsson A. Benefits of neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia (21-hydroxylase deficiency) in Sweden. *Pediatrics* 1998; 101(4): E11.
- 55- Van der Kamp HJ. Cutoff levels of 17- α -hydroxyprogesterone in neonatal screening for congenital adrenal hyperplasia should be based on gestational age rather than on birth weight. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 3904-7.
- 56- Gökdemir G, Erdoğan HK, Köşlü A, Baksu B. Cutaneous lesions in Turkish neonates born in a teaching hospital. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2009; 75: 638.