



İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI ENSTİTÜSÜ

VE

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI

YENİDOĞAN TARAMA İLE SAPTANAN BİYOTİNİDAZ EKSİKLİĞİ VAKALARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. Süeda İŞ

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Gülden Fatma GÖKÇAY

İSTANBUL- 2021



İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI ENSTİTÜSÜ
VE
İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI

YENİDOĞAN TARAMA İLE SAPTANAN BİYOTİNİDAZ EKSİKLİĞİ VAKALARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

(UZMANLIK TEZİ)

Dr. Süeda İŞ

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Gülden Fatma GÖKÇAY

İSTANBUL- 2021

ÖNSÖZ

Tez çalışmamın yürütülmesinde yol gösterici olan, yoğun temposu içerisinde bana her daim değerli vaktini ayıran, asistanlığım süresince bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım çok saygıdeğer tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Gülden Fatma Gökçay'a,

Tez çalışmama beraber başladığım, asistanlığımın başından itibaren bilgisi, tecrübesi ve etik duruşuyla örnek aldığım saygıdeğer hocam, eski Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Mübeccel Demirkol'a,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım İÜ Çocuk Sağlığı Enstitüsü ve İTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nın tüm saygı değer öğretim üyelerine ve Enstitü müdürümüz Prof. Dr. Gülbin Gökçay ile Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Zeynep Karakaş'a,

Asistanlığım ve tez çalışma sürecimde de desteklerini esirgemeyen, her kapılarını çaldığımda vakit ayıran Uzm. Dr. Meryem Karaca ve Uzm. Dr. Mehmet Cihan Balcı'ya,

Üniversite yıllarımdan beri her anımda olan ve asistanlıkta da bulduğumuz canım arkadaşım Sevgi' ye,

Asistanlığım boyunca her zaman yanımda olan ve asistanlık yıllarımı çok daha güzel kılan başta eşkıdemlerim Ceyda, Merve, Ceren, Tuğçe ve Erzat olmak üzere; Ayça, Bahriye, Burcu Sena, Burcu, İrem, Medis ve Pınar'a,

Birlikte çalışmaktan her zaman keyif aldığım tüm asistan ve hemşire arkadaşlarıma, sevgili uzmanlarıma,

Beni yetiştiren, hayatımın her anında yanımda olan ve desteklerini hissettiğim canım annem, babam ve kardeşime,

Üniversite yıllarımdan itibaren, zorlu asistanlık sürecinde de sevgisini ve desteğini hep hissettiğim, tez sürecimde büyük yardımı olan sevgili eşim Efe'ye,

Asistanlık sürecimde daha doğmamışken nöbetlerimde bana eşlik eden ve tez çalışma sürecimde belki de istediği kadar vakit geçiremediğim için bana en çok kızan, ama en büyük destekçim olan oğlum Demir Ege'ye içtenlikle teşekkür ediyorum.

Dr. Süeda İş

İstanbul 2021

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	1
İÇİNDEKİLER.....	2
TABLolar LİSTESİ.....	5
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	7
KISALTMALAR.....	8
ÖZET.....	0
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	5
2.GENEL BİLGİLER	7
2.1. YENİDOĞAN TARAMA.....	7
2.2 TARİHÇE.....	10
2.3 BİYOTİN, BİYOTİN DÖNGÜSÜ VE BİYOTİN İLİŞKİLİ ENZİMLERİN METABOLİZMASI.....	11
2.4 PREVALANS.....	15
2.5 ADLANDIRMA.....	15
2.6 GENETİK.....	15
2.7 GENOTİP FENOTİP İLİŞKİSİ.....	16
2.7.1 Belirgin biyotinidaz eksikliği.....	17
2.7.2 Kısmi biyotinidaz eksikliği	17
2.7.3 Taşıyıcılar.....	17
2.8 AYIRICI TANI.....	17
2.8.1 Biyotin eksikliği	17
2.8.2 İzole karboksilaz eksikliği.....	18
2.8.3 Holokarboksilaz sentetaz eksikliği.....	18
2.8.4 Sensorinöral işitme kaybı	19
2.9 KLİNİK PREZENTASYON	19

III

2.9.1 Belirgin biyotinidaz eksikliği	20
2.9.2 Kısmi Biyotinidaz Eksikliği	22
2.10 TANI TESTLERİ	22
2.11 TEDAVİ VE PROGNOZ	24
2.11.1 Belirgin biyotinidaz eksikliği	24
2.11.2 Kısmi biyotinidaz eksikliği	25
2.12 YÖNETİM.....	25
2.12.1 İlk tanı sonrası değerlendirmeler	25
2.12.2 Hastalık bulgularının önlenmesi.....	26
2.12.3 İzlem.....	27
2.12.4 Kaçınılması Gerekenler	28
2.12.5 Aile taraması	28
2.12.6 Gebelik yönetimi	28
2.12.7 Genetik danışma	28
2.12.8 Prenatal test ve preimplantasyon genetik moleküler test	28
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER.....	30
4. BULGULAR	34
4.1 DEMOGRAFİK VERİLER.....	36
4.2 AİLE VERİLERİ.....	37
4.3 KLİNİK VERİLER.....	39
4.3.1 Tanı Verileri	39
4.3.2 Muayene ve İzlem Verileri.....	41
4.4 LABORATUVAR VERİLERİ.....	53
5. TARTIŞMA	64
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	83
7. KAYNAKÇA	87
8.EKLER.....	95

IV

Ek-1. ETİK KURUL ONAYI.....	95
Ek-2. ÖZGEÇMİŞ	96



TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 2.1 Yaşlara göre önerilen günlük biyotin miktarı.....	13
Tablo 2.2 Florometrik ve spektrofotometrik yöntemin referans aralıkları	23
Tablo 4.1 Farklı tarama programlarına göre belirgin ve kısmi biyotinidaz eksikliği tanısı konulan vaka sayıları.....	34
Tablo 4.2 Yıllara göre biyotinidaz tarama programından yönlendirilen ve biyotinidaz eksikliği tanısı koyulan hasta sayıları	35
Tablo 4.3 Kısmi ve belirgin biyotinidaz eksikliği hastalarının demografik özellikleri	36
Tablo 4.4 Hastaların aile özellikleri.....	38
Tablo 4.5 Hastaların tanı yaşı ve tanı yaşlarının yıllara göre değişimi	40
Tablo 4.6 Hastaların ilk şikayet yaşı ve tüm izlem boyunca gelişen semptomların dağılımı.....	41
Tablo 4.7 Hastaların semptomlara göre biyotinidaz aktivite yüzdeleri.....	42
Tablo 4.8 Semptomlar için biyotinidaz aktivite yüzdesi eşik değerleri	43
Tablo 4.9 KBE olan hastalarda biyotinidaz aktivite yüzdesine göre semptom varlığı	43
Tablo 4.10 Hastaların birinci ayda bulgu varlığı ve biyotinidaz aktivitesi yüzdeleri..	44
Tablo 4.11 Hastaların ilk muayenede semptom varlığı ve muayene bulguları	45
Tablo 4.12 Hastaların son muayenede semptom varlığı ve tedavi uyumları.....	46
Tablo 4.13 Tedaviye uyumlu olduğu halde son muayenede semptomu olan hastaların muayene bulguları ve biyotinidaz aktivite yüzdeleri	47
Tablo 4.14 Tedaviye uyumlu hastalarda semptomların gerileme durumu (semptomu gerileyen hasta sayısı/semptomu olan tüm hastalar (%))	48
Tablo 4.15 İlaç doz artışı yapılan hastalar ve semptomları	49
Tablo 4.16 Düzensiz ilaç kullanan hastalar ve semptomları	50
Tablo 4.17 Tedavide duraklama yapan hastalar, duraklama süreleri ve semptomları.	51
Tablo 4.18 Hastaların takip süresi, takipsiz kalan hastalar ve takipsizlik süresi.....	52
Tablo 4.19 Biyotinidaz eksikliği tanılı kaybedilen hastaların özellikleri	52
Tablo 4.20 Hastaların biyotinidaz enzim aktivitesi özellikleri.....	53
Tablo 4.21 Hastaların Sağlık Bakanlığı Taraması sonuçları	54
Tablo 4.22 Sağlık Bakanlığı Taraması eşik değerleri.....	54
Tablo 4.23 Hastaların tedavi öncesi metabolik testlerinin laboratuvar sonuçları.....	55
Tablo 4.24 Laktat yüksekliği olan hastaların özellikleri	56

Tablo 4.25 Hiperamonyemisi olan hastaların özellikleri.....	56
Tablo 4.26 Ardışık kütle spektrometrisi C0 karnitin düşüklüğü olan hastaların özellikleri	57
Tablo 4.27 Ardışık kütle spektrometrisi C5OH karnitin yüksekliği olan hastaların özellikleri.....	57
Tablo 4.28 İdrar organik asitlerinde 3-hidroksi izovalerik asit yüksekliği olan hastaların özellikleri.....	58
Tablo 4.29 Metabolik laboratuvar sonuçları için biyotinidaz aktivitesi yüzdesi eşik değerleri.....	59
Tablo 4.30 Hastaların kranial MRG sonuçları.....	59
Tablo 4.31 Kısmi biyotinidaz eksikliği olan hastaların moleküler DNA analiz sonuçları	60
Tablo 4.32 Belirgin biyotinidaz eksikliği olan hastaların moleküler DNA analiz sonuçları	61
Tablo 4.33 p.D444H mutasyonu olan hastaların özellikleri.....	62
Tablo 4.34 p.R157H mutasyonu olan hastaların özellikleri	62
Tablo 4.35 p.T532M mutasyonu olan hastaların özellikleri.....	63

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. Topuk kanı örneği alım yeri.....	9
Şekil 2. Doğru alınmış kan örneği	9
Şekil 3. BE tarama sonucu değerlendirme şeması	10
Şekil 4. Biyotin bağımlı karboksilazların metabolizması	13
Şekil 5. Biyotin döngüsü	13
Şekil 6. Sağlık Bakanlığı Taraması değerleri için ROC eğrisi	55



VIII

KISALTMALAR

BE	: Biyotinidaz eksikliği
BBE	: Belirgin biyotinidaz eksikliği
KBE	: Kısmi biyotinidaz eksikliği
YTP	: Yenidoğan tarama programı
RIA	: Radioimmunassay
ACC	: Asetil koA karboksilaz
PC	: Piruvat karboksilaz
PCC	: Propiyonil koA karboksilaz
MCC	: Metilkrotonil koA karboksilaz
HCS	: Holokarboksilaz sentetaz
MCD	: Çoklu karboksilaz eksikliği
İOA	: İdrar organik asitleri
BEA	: Biyotinidaz enzim aktivitesi
3-OH IVA	: 3-hidroksi izovalerik asit
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
BT	: Bilgisayarlı tomografi
MSMS	: Ardışık kütle spektrometrisi
B-PABA	: Biyotininil-para aminobenzoik asit
TANDEM MS	: Tandem kütle spektrometrisi
NM/DK/ML	: nanomol/dakika/mililitre
MRU	: Motion reference unit

ÖZET

Yenidoğan Tarama ile Saptanan Biotinidaz Eksikliği Vakalarının Değerlendirilmesi

Giriş: Biotinidaz enzimi biyotinin kullanılabilir serbest formuna dönüşmesinde ve geri kazanılmasında görev alır. Otozomal resesif geçişli biotinidaz eksikliği hastalığı serum biotinidaz enzim aktivitesine göre belirgin (<%10 aktivite) ve kısmi biotinidaz eksikliği (%10-30 aktivite) olarak tanımlanır. Hastalık dermatolojik, nörolojik semptomlara, görme ve işitme bozukluklarına yol açabilir. Tanıda serum/plazmada biotinidaz enzim aktivitesinin ölçümü ve moleküler analiz yol göstericidir.

Amaç: Çalışmamızda yenidoğan tarama programı ile tanı konulmuş biotinidaz eksikliği olgularının demografik, klinik ve karakteristik özelliklerinin geriye dönük incelenmesi hedeflendi.

Yöntem ve Gereç: Kliniğimizde takip edilen yenidoğan taraması ile saptanmış, 30.06.2020 tarihine kadar başvurmuş tüm biotinidaz eksikliği hastalarının dosyalarının incelenmesi, takiplerinde biotinidaz enzim aktivitesi normal saptanan hastaların çalışma dışı bırakılması, çalışmaya alınan hastaların demografik, aile, klinik izlem, laboratuvar ve görüntüleme verilerinin kaydedilmesi planlandı. Verilerin analizinde SPSS v.21 programı kullanıldı.

Bulgular: Dosyası incelenen 2178 hastanın 76'sı takiplerinde biotinidaz enzim aktivitesi normal saptanarak çalışma dışı bırakıldı, çalışmaya alınan 2102 hastanın %46.3'ü kız %53.7'si erkekti. Yaş ortalaması 5.0 ± 4.7 yıl, medyan tanı yaşı 22 gündü. Hastalığın en sık görüldüğü bölge Doğu Anadolu Bölgesi ve Ağrı ili idi. Akraba evliliği oranı %37.3'tü. Biotinidaz enzim aktiviteleri değerlendirilerek hesaplanan aktivite eşik değeri deri, saç, nörolojik bulgular ve konjunktivit bulguları için $\approx$ %14, görme bozukluğu için ise $\approx$ %5'ti. Enzim aktivitesi %25'in üzerinde olan kısmi eksiklikler düşük olan kısmi eksikliklere göre yüksek anlamlılık düzeyinde az semptomatiktir. Tedaviye uyum; deri ve saç bulgularını, hipotoni, hipertoniye tama yakın, nöbetler ve konjunktiviti tamamen, işitme bozukluğunu %70, nöromotor gelişim geriliğini %25 oranında gerilettiler. Görme bozukluğunda iyileşme görülmedi. Hastaların ortalama takip süresi 2.7 ± 3.4 (medyan 1, dağılımı 0-25) yıldır. Hastaların kantitatif biotinidaz aktivitesi ortalaması 1.6 ± 0.8 nm/dk/ml ($N > 2.6$ nm/dk/ml), yüzde biotinidaz enzim aktivitesi değerleri ortalaması 18.2 ± 9.1 'di. Sağlık Bakanlığı tarama sonuçlarına göre

belirgin eksiklik eşik değeri birinci tarama sonucu için 26.17 MRU, ikinci tarama için 34.35 MRU saptandı. Benzer hesaplamayla MSMS C5OH yüksekliği için %6.7 eşik değeri yüksek sensitivite ve spesifite gösterdi. Moleküler analiz sonuçlarına göre; en sık p.R157H, p.D444H ve p.T532M, aleller birlikte değerlendirildiğinde ise en sık p.R157H-p.R157H, p.T532M-p.T532M ve p.D444H-p.A171T mutasyonları görüldü.

Sonuç: Biotinidaz eksikliği kalıtsal bir metabolik hastalık olup, erken tanı ve tedaviye uyumla başarılı bir şekilde yönetilebilir. Hastalığın karakteristik özelliklerinin iyi anlaşılması tedaviye yön verecek, morbidite ve mortaliteyi azaltacaktır. Bu konudaki çalışmaların artması, hastaların genotip fenotip ilişkilerinin aydınlatılması, hastalık hakkındaki bilgileri geliştirecektir.

Anahtar kelimeler: Biotinidaz eksikliği, yenidoğan taraması, metabolik hastalıklar

ABSTRACT

Evaluation of Biotinidase Deficiency Cases Detected by Newborn Screening

Introduction: The biotinidase enzyme is involved in the recovery of biotin and conversion of biotin into its usable free form. Autosomal recessive biotinidase deficiency is defined as profound (<10% activity) and partial biotinidase deficiency (10-30% activity) according to serum biotinidase enzyme activity. The disease can cause dermatological and neurological symptoms, visual and hearing impairments. Measurement of biotinidase enzyme activity in serum / plasma and molecular analysis give guidance in diagnosis.

Objective: In this study, our aim was to investigate the demographic, clinical and characteristic features of biotinidase deficiency cases detected by newborn screening program retrospectively.

Patients and Methods: It was planned to examine the files of all biotinidase deficiency patients detected by newborn screening who were followed up in our clinic and whose first visit was until 30.06.2020, excluding patients with normal biotinidase enzyme activity in their follow-up, and to record the demographic, family, clinical follow-up, laboratory and imaging data of the patients included in the study. SPSS v.21 program was used to analyze the data.

Results: 2178 patient files were examined and 76 patients who had normal biotinidase enzyme activity during their follow-up were excluded from the study. 2102 patients were included in the study, 46.3% were female and 53.7% were male. Average age was 5.0 ± 4.7 years; median age at diagnosis was 22 days. Eastern Anatolia Region and Ağrı province were the most common regions of the disease. Consanguineous marriage rate was 37.3%. Threshold values calculated by evaluating biotinidase activities for skin, hair, neurological findings and conjunctivitis symptoms were $\approx 14\%$ and $\approx 5\%$ for visual impairment. Partial deficiencies with enzyme activity above 25% were less symptomatic at high significance level compared to partial deficiencies with lower activity. Almost all of the skin and hair findings, hypotonia, hypertonia, seizures and conjunctivitis, 70% of hearing impairment and 25% of neuromotor growth retardation regressed with compliance to treatment. There was no improvement in visual impairment. The mean follow-up period of the patients was 2.7 ± 3.4 (median 1, range 0-25) years. The average quantitative biotinidase activity was 1.6 ± 0.8 nm/min/ml ($N > 2.6$ nm/dk/ml) and the average percentage values were $18.2 \pm 9.1\%$. According to the screening results of the Ministry of Health, the profound deficiency threshold value was found to be 26.17 MRU for

the first screening result and 34.35 MRU for the second screening. With a similar calculation, the threshold value of 6.7% for high levels of C5OH in MSMS showed high sensitivity and specificity. According to the molecular analysis results; the most common mutations were p.R157H, p.D444H and p.T532M. When alleles were evaluated together, the most common mutation pairs were p.R157H-p.R157H, p.T532M-p.T532M and p.D444H-p.A171T.

Conclusion: Biotinidase deficiency is an inherited metabolic disease and can be successfully managed with early diagnosis and compliance with treatment. A good understanding of the characteristics of the disease will help to direct treatment and reduce morbidity and mortality. Increasing studies on this subject, enlightening the genotype phenotype relationships of the patients will improve the knowledge about the disease..

Keywords: Biotinidase deficiency, neonatal screening, metabolic diseases

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Biyotin suda çözünen bir vitamindir. Biyotinidaz enzimi diyetle alınan biyotin kullanılabılır serbest formuna dönüşmesinde ve biyotin döngüsündeki biyotin geri kazanılmasında görev alır.

Biyotinidaz eksikliği (BE) otozomal resesif kalıttır. BTD geni ile kodlanır. Dünya çapında taranmasıyla elde edilen sonuçlara göre eksikliğin görülme sıklığı; belirgin biyotinidaz eksikliği (BBE) için 137.401’de 1, kısmi biyotinidaz eksikliği (KBE) için 109.921’de 1, BBE ve KBE’nin birlikte insidansı için 61.067’ de birdir (1).

BE serum biyotinidaz enzim aktivitesine (BEA) göre belirgin (tam) ve kısmi (parsiyel) eksiklik olmak üzere ikiye ayrılır. BBE’de serum BEA %10’un altında ve KBE’de serum BEA %10-30 arasındadır (2). Tedavi edilmeyen vakalar özellikle yenidoğan döneminde başlayan, ilerleyici nörolojik ve dermatolojik semptomlara neden olur. Nöbetler, işitme kaybı, görme kaybı, optik atrofi, konjunktivit, gelişim geriliği, hipotoni, cilt döküntüleri, alopesi, organik asidüri, metabolik asidoz görülebilen başlıca klinik bulgulardır (3). Ensefalopati, hipotoni, grand mal ve miyoklonik nöbetler, ataksi gibi nörolojik belirtiler en sık görülen ilk semptomlardır. Açıklanamayan gelişimsel geriliği ve sensorinöral işitme kaybı olan her çocukta BE akla gelmelidir (4, 5). Semptomlar gelişmeden önce, örneğin yenidoğan tarama sonrasında biyotin başlanması ile çocuklar gelişim basamaklarını normal olarak kazanır (6, 7). Mevcut semptomlar ise biyotin desteğinin başlanması ya da doz arttırılması ile kısmen geriler. Belirgin klinik tablonun oturması için ortalama 7 hafta gibi bir süre bildirilmiştir (8). Ancak klinik bulguların değişkenliği ve özgül olmaması nedeni ile tanıda gecikme olasıdır. Yenidoğan taraması, BE’de zamanında tanı ve doğru tedavi için en iyi fırsatı sunar. Tedavisi kolaydır, oral olarak alınan serbest formdaki biyotin kullanılır. Doğumdan kısa süre sonra bebeklerde biyotin tükenebileceği için tedaviye gecikmeden başlanmalıdır (8).

BE ilk kez 1983 yılında Wolf ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır (9). Dünyada ilk kez 1989 yılında tarama programına alınmıştır. Erken tedaviye yanıtının yüksek olması sebebiyle birçok ülkenin yenidoğan tarama programında (YTP) bulunmaktadır. Ülkemizde İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı tarafından 1991 yılında Sağlık Bakanlığı ile birlikte İstanbul ili genelinde pilot olarak BE için yenidoğan taraması başlatılmıştır. Bu taramanın sonuçlarından yola çıkılarak 2008 yılı Ekim ayında Sağlık Bakanlığı bünyesinde Ulusal YTP’ye alınmıştır.

İstanbul Tıp Fakóltesi, ölkemizde hastalık sıklığının yüksek olması ve taramada saptanan bebeklerin yönlendirildiğı merkezlerden biri olması nedeniyle çok sayıda vakaya sahiptir ve izlenen vaka sayısı her geçen gün artmaktadır. Bu konuda İstanbul Tıp Fakóltesi'nde yakın zamanda yapılmış bir çalışma yoktur. Aynı şekilde bu konu ile ilgili yapılmış ayrıntılı araştırma ölkemizde de az sayıdadır. Uygulanan tedavi ve yaklaşımlara göre merkezlerin morbidite ve mortalite oranları değişmektedir. Bu verilerin iyi bilinmesi gelecekte bize ışık tutacak, en uygun yaklaşımın ve tedavi seçeneklerinin belirlenmesini sağlayacaktır. Bu çalışmada çok sayıda BE olgusu takip eden ve taramanın Türkiye'de ilk başlatıldığı yer olan merkezimizde, 2000'in üzerinde hastaya ait verinin istatistiksel yorumuyla tedavinin hastalığın morbidite ve mortalitesine olan etkisini değerlendirmeyi, yeni çalışmalara yön vermeyi ve literatüre katkı sunmayı amaçladık. Bu amaçla İstanbul Tıp Fakóltesi'nde yenidoğan tarama ile saptanan ve izlenen BE vakalarına ait karakteristik özelliklerin detaylı olarak incelenmesi hedeflendi.

2.GENEL BİLGİLER

2.1. YENİDOĞAN TARAMA

Guthrie ve Susi isimli araştırmacılar 1963 yılında, fenilalaninin saptanması için bir bakteriyel inhibisyon testini raporlayarak yenidoğanlarda fenilketonüri tanısı için ilk yenidoğan tarama çalışmasını başlattılar (10). Bakteriyel inhibisyon yöntemi ile yenidoğan tarama testleri daha sonra akçaağaç şurubu idrarı hastalığı ve homosistinüri gibi diğer doğumsal metabolik hastalıkları taramak için kullanıldı. Sonraki yıllarda, galaktozemi taraması için enzim aktivitesi analizi (11), konjenital hipotiroidizm, konjenital adrenal hiperplazi ve alfa-1-antitripsin eksikliğini taramak için ‘radioimmünassay’ (RIA) gibi yöntemler kullanıldı (12). Bakteriyel inhibisyon testi florometrik testlerin geliştirilmesiyle 1980’lerde terk edildi. 1990’larda tandem kütle spektrometrisinin (MSMS) geliştirilmesi ile aynı anda birden fazla hastalığın bir damla kan ile taranması devrim yarattı. Zaman içerisinde bu test için maliyet ve sonuçlanma süresi önemli ölçüde azaldı ve bugün birçok ülkede kullanılan halini aldı (13).

Türkiye’de ‘**Fenilketonüri Tarama Programı**’ 1987 yılında başlatıldı, 1993 yılında ülke geneline yaygınlaştırıldı, 2006 yılından itibaren Sağlık Bakanlığı sorumluluğunda yürütülmeye başlandı. BE için yenidoğan taramasına İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı tarafından 1991 yılında Sağlık Bakanlığı ile birlikte ‘**İstanbul İli YTP**’de pilot çalışma olarak başlandı. Ulusal YTP fenilketonüri ile birlikte konjenital hipotiroidinin ülke genelinde taranması ile 25.12.2006 tarihinde başlatıldı. 2008 yılının Ekim ayında programa BE, 2015 ocak ayında ise kistik fibrozis taraması dahil edildi. 2017 yılında konjenital adrenal hiperplazi için 4 pilot ilde (Konya, Kayseri, Samsun, Adana) tarama başlatıldı ve 2020 yılında 41 ile genişletildi (14).

YTP’de sürecin işleyişi; tüm illerde alınan topuk kanlarının, İl Sağlık Müdürlükleri bünyesinde toplanıp, Ankara ve İstanbul’daki tarama laboratuvarlarına gönderilmesi ile başlar. Tarama sonuçları şüpheli çıkan bebeklere geri dönüş yapılır ve ilgili kliniklere yönlendirilirler. Tarama sonucu normal saptanan bebeklere ise geri dönüş yapılmamaktadır. Bu şekilde ilerletilen tarama programı sayesinde yılda yaklaşık 4500 çocuk erken tedavi şansı sağlanarak mevcut hastalıklarının yol açabileceği sorunlardan korunmaktadır (14).

Yenidoğan taramalarında amaç, erken dönemde şüpheli hastaların belirlenmesi ve erken tedavi ile gelişebilecek morbidite ve mortalitenin azaltılmasıdır.

Dünya Sağlık Örgütü, ulusal tarama programına alınacak hastalıkların belirlenmesi için Wilson-Jungner kriterlerini belirlemiştir. Bu kriterler (15):

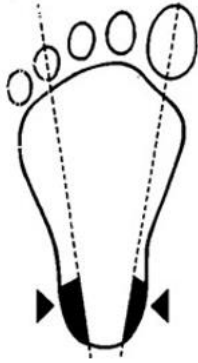
1. Taranan hastalık önemli bir sağlık sorunu olmalıdır.
2. Hastalığı saptananlar için kabul edilen bir tedavi yöntemi olmalıdır.
3. Hastalığın teşhis ve tedavi olanakları ulaşılabilir olmalıdır.
4. Hastalığın fark edilebilen latent bir dönemi veya semptomatik olduğu erken bir evresi olmalıdır.
5. Saptanabilmesi için uygun bir test veya muayene metodu olmalıdır.
6. Tanı testi, uygulanacak popülasyon tarafından kabul edilebilir olmalıdır.
7. Latent hastalıktan belirgin hastalığa kadar doğal seyri yeterince anlaşılmış olmalıdır.
8. Kime hastalık tanısı ile tedavi verileceği konusunda bir uzlaşma olmalıdır.
9. Testin maliyet yarar oranı dengeli olmalıdır.
10. Vakaları saptama sürekli bir süreç olmalıdır.

Sonuç olarak ideal bir tarama testi; pahalı ve invazif olmamalı, aynı zamanda özgünlük ve duyarlılığı da yüksek olmalıdır. Tüm bunlar düşünüldüğünde YTP'lerin ilk hedefi doğumsal metabolik hastalıklar olmuştur.

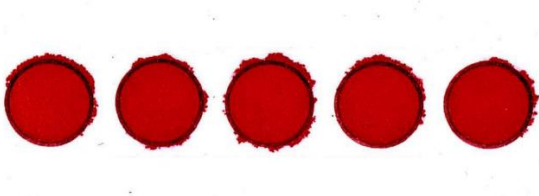
Yenidoğan metabolik tarama testleri için en uygun zaman dilimi, doğumdan sonraki 48-72. saattir. Buradaki amaç yenidoğanın yeterli beslenmesi ile metabolik yolaktaki bozukluğa bağlı olarak biriken patolojik metabolitlerin analiz edilebilecek düzeye erişmesidir. BE taramasında enzim aktivitesi değerlendirildiğinden tarama için örnek alım saatinin bir özelliği olmasına gerek yoktur. Diğer taramalarda kan örneği alma zamanı için bazı istisnalar vardır. Örneğin yağ asidi oksidasyon bozukluğu şüphesinde 24-36. saatler arası daha uygundur (16, 17). Prematüreler, 1500 gr altı bebekler ve total parenteral beslenme (TPN) ile beslenen bebeklerde örnek 7. gün civarında alınmalı; eğer hastanede kalış süresi 14 günden uzunsa taburcu olmadan önce, 1 aydan uzunsa 1. ayda alınacak yeni bir örnekte yinelenmelidir (16, 18). Eğer annenin erken taburculuğu söz konusu ise, bebekten hastaneden çıkmadan hemen önce örnek alınmalı ve 14. gün öncesi ikinci kan örneği alınarak test tekrarlanmalıdır (16, 17).

Yenidoğan bebeklerde kan almak için en uygun bölge topuktur. Topuk hafifçe ısıtılarak, topuk bölgesi üç eşit bölgeye ayrılır. Topuk temizlenir, kuruması beklenir ve yan bölgelerinden biri lanset yardımıyla delinir (Şekil 1). Gelen ilk damla kan kuru pamuk ile silinir ve ikinci damla kan filtre kağıdının (Guthrie kağıdı) bir yüzüne, işaretlenmiş halka içine gelecek şekilde emdirilir (Şekil 2). Topuk kağıda değmemeli, sadece kan damlası kağıda emdirilmelidir. Kan alınırken dokunun çok sıkılmamasına, EDTA'lı tüp kullanılmamasına, örneğin alınacağı bölgelere el ile dokunulmamasına dikkat edilmelidir. Kağıtta yer alan daireler içine aynı noktadan üst üste kan gelmemeli ve kan kağıdın her iki yüzünden emdirilmemelidir. Filtre kağıdı ısı, nem ve direkt güneş ışığına maruz bırakılmamalı ve üzerine süt, idrar gibi başka maddeler bulaşmamalıdır. Kan örneği alımı sonrası yenidoğan bebekle ilgili kartta istenen bilgiler okunaklı şekilde doldurulmalı; kimlik bilgileri, kullanılan ilaçlar, beslenme ve transfüzyon durumu mutlaka belirtilmelidir. Alınan kan örnekleri oda ısısında yatay bir şekilde kurutularak en hızlı şekilde analiz yapılacak laboratuvara ulaştırılmalıdır (19).

Şekil 1. Topuk kanı örneği alım yeri



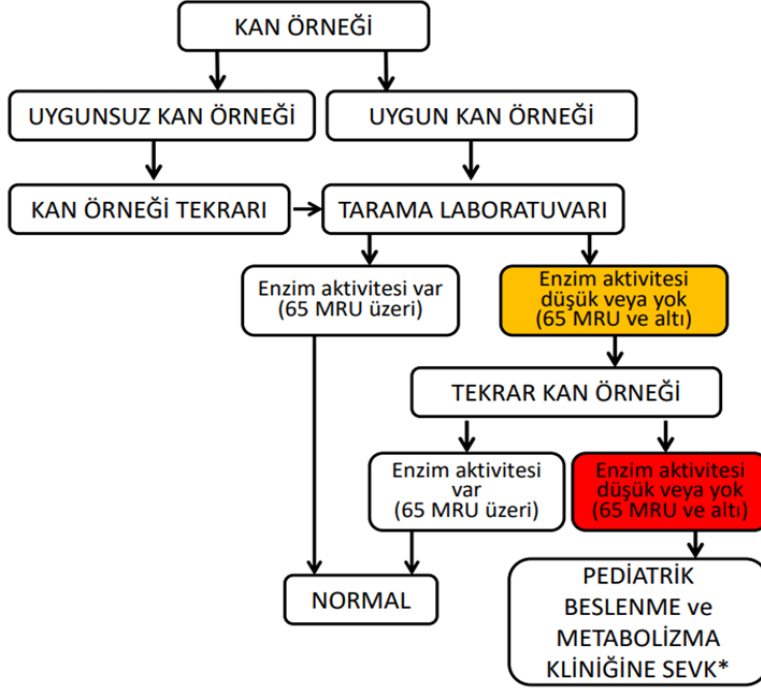
Şekil 2. Doğru alınmış kan örneği



Ekim 2008'den itibaren Guthrie kağıdına alınan kandan biyotinidaz enzim aktivitesi ölçülerek ülke genelinde tarama yapılmaktadır. Tanı konmuş bebeklere erken dönemde başlanan ve düzenli uygulanan biyotin tedavisi, yaşamlarını tamamen sağlıklı bireyler olarak

devam ettirebilmelerini sağlamaktadır (20). BE için tarama sonucu değerlendirilme akış şeması Şekil 3’de belirtilmiştir.

Şekil 3. BE tarama sonucu değerlendirme şeması (21)



MRU: Motion reference unit

2.2 TARİHÇE

1930’lu yıllarda farelerde yapılan bazı araştırmalarda, diyetle yüksek oranda çiğ yumurta ile beslendiklerinde nörolojik bozukluklar, dermatit ve alopesi gibi bulgular gözlenmiştir. ‘Koruyucu Faktör X’ denilen maddenin diyetlerine eklenmesiyle bu bulguların gerilediği görülmüştür (22). Daha sonra vitamin H (biyotin) olarak adlandırılan bu madde 1936 yılında B grubu vitaminlerin içinde tanımlanmış ve organizma için gerekli bir faktör olduğu saptanmıştır (23).

Biyotinidaz enzimi ilk olarak 1956 yılında Thoma ve Peterson tarafından, domuz karaciğer ve böbreği ile tavuk pankreasında saptanmıştır (24). 1970’lerin sonlarında mitokondriyal, biyotine bağımlı 4 karboksilazdan üçünün izole kalıtsal eksiklikleri tanımlanmıştır (25). Bunlar; piruvatı glukoneogenezin ilk basamağında oksaloasetata dönüştüren piruvat karboksilazın (PC) eksikliği, dallı zincirli aminoasit ve tek zincirli yağ asitlerini katabolize eden propiyonil-koA karboksilazın (PCC) eksikliği ve lösin

metabolizmasında rol oynayan metilkrotonil-koA karboksilazın (MCC) eksikliğidir. Bu enzimlere ait eksiklikleri olan çocuklarda genellikle nörolojik semptomlar görülmekteydi. Bu olgularda beslenme tedavileri fayda sağlamış ancak, biyotine yanıtı vaka bildirilmemişti. Diğer yandan, izole karboksilaz eksikliklerinde görülen semptomlara benzer semptomlar sergileyen, mitokondriyal karboksilazların da eksik aktivite gösterdiği ve biyotin tedavisine yanıtı çocuklar vardı. 1971 yılında böyle bir bozukluğu olan ilk hastanın biyotine yanıtı beta-metilkrotonil glisinüri olduğu bildirildi (26). Bu hastada metabolik ketoasidoz ile birlikte idrarında yüksek miktarda beta-metilkrotonik asit ve beta-metilkrotonil glisin atılımı vardı. Oral biyotin tedavisine başlandıktan sonra birkaç gün içinde hastanın semptomlarının düzelip, idrar metabolitlerinin de normale döndüğü görüldü. Bu hasta periferik kan lökositlerinde ve deri fibroblastlarında mitokondriyal karboksilaz enzimlerinin tamamında yetersiz aktiviteye sahipti (27). Bu bulgular, çoklu karboksilaz eksikliğinin (MCD) tanımlanmasına neden oldu ve sonrasında da aynı klinik tabloda başka çocuklar da tanımlandı. 1981 yılında bu hastalık, semptomların başlangıç yaşına bağlı olarak yenidoğan döneminde erken başlangıçlı MCD ve çocukluk döneminde geç başlangıçlı MCD olarak adlandırıldı (28). Erken başlangıçlı olan hastaların çoğu yetersiz holokarboksilaz sentetaz (HCS) aktivitesine sahipti. Geç başlangıçlı olan iki çocuk hastada ise, oral biyotin yükleme tedavisine anormal yanıtlar görüldü. Bu sebeple transfer kusuruna sahip oldukları aynı yıl içinde bildirildi (28-30). 1983 yılında geç başlangıçlı MCD olan çoğu hastada temel biyokimyasal kusurun, serum biyotinidaz enziminin yetersiz aktivitesinden kaynaklandığı gösterildi (9). Bağırsak transport sorunu olduğu varsayılan iki hastada da daha sonra aslında BE olduğu aynı yıl içinde bildirildi (30). Böylelikle MCD'nin erken başlangıçlı olan formunun aslında HCS eksikliği ve geç başlangıçlı formunun da BE olduğu açıklığa kavuşmuş oldu.

Biyotinidaz enziminin 11 farklı izoformu 1992 yılında Hark ve arkadaşları tarafından gösterildi (31). 1994 yılında da Cole ve arkadaşları insan serum biyotinidaz enziminin DNA dizi analizini tanımladılar (32).

2.3 BİYOTİN, BİYOTİN DÖNGÜSÜ VE BİYOTİN İLİŞKİLİ ENZİMLERİN METABOLİZMASI

Biyotin, suda çözünen bir vitamindir ve B grubu vitaminlerin içinde B7 vitamini olarak bilinmektedir. Bir vitamin olarak tanımlanması, eksikliğinde kofaktör olarak görev aldığı birden fazla sayıda karboksilaz enziminin yetersiz aktivitesiyle karakterize klinik bir sendroma neden olduğu keşfine dayanmaktadır (33, 34). Çeşitli bitkilerde bulunabilir, ancak karaciğer,

yumurta sarısı, soya fasulyesi ve mayada en yüksek seviyelerde bulunur. Gıdalarda proteinlere bağlı olarak bulunur ve vücutta biyotinidaz enziminin etkisiyle kullanılabilir serbest formuna dönüşür.

Kimyasal olarak bir üreido ve bir tetrahidrotiyofen halkasından oluşur. Birkaç farklı izomeri de bulunmaktadır (35). D-biyotin, biyolojik olarak tek aktif izomeridir.

Oral olarak alınan biyotin dışında, bağırsaktaki bir dizi bakteri biyotini, proteolitik aktiviteleri sonucunda sentezler. Biyotin çoğunlukla proksimal ince bağırsakta ve daha az olarak da çekumda emilir. Emilmemiş biyotin bağırsaklardan dışkı ile dışarı atılır. Serumdaki biyotinin fazlası ise böbrek yoluyla atılır (36). Günlük normal biyotin atılımı erişkinlerde yapılan bir çalışmada 4.0-16.6 micromol/mol kreatinin ve bir başka çalışmada da benzer şekilde 5-13.4 micromol/mol kreatinin olarak belirtilmiştir (37). Biyotinin yaşa göre günlük ne kadar alınması gerektiği konusunda Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü'nün önerileri Tablo 2.1'de verilmiştir (38).

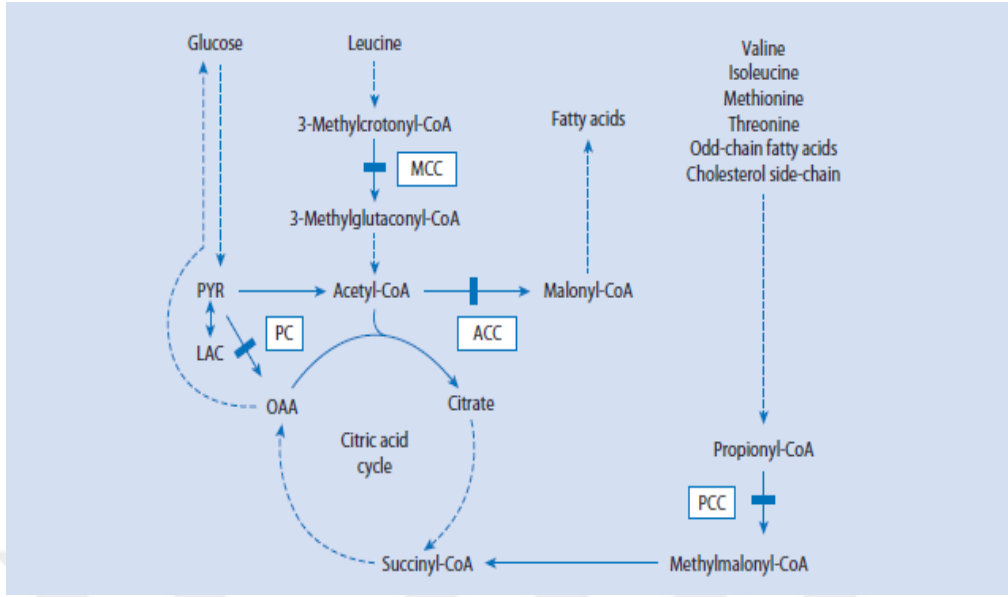
Tablo 2.3 Yaşlara göre önerilen günlük biyotin miktarı (38)

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

mcg: mikrogram

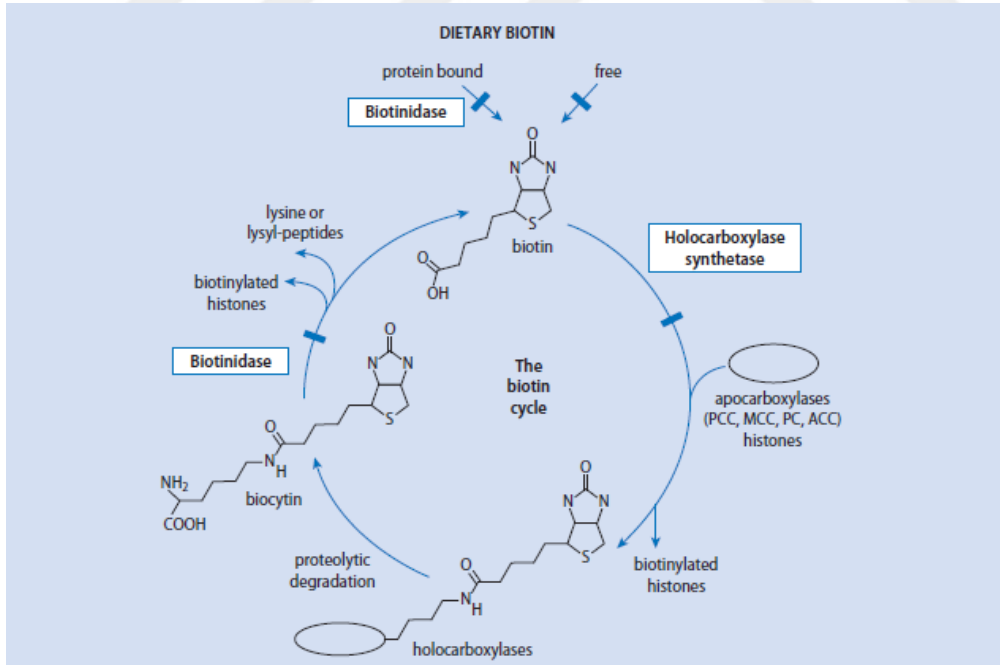
Biyotin protein sentezi ve hücre replikasyonu dahil birçok metabolik olayda önemli role sahiptir. Klasik rolü; glukoneogenezde, yağ asit sentezinde ve bazı önemli aminoasitlerin katabolizmasında rol alan karboksilazlar asetil koA karboksilaz (ACC), PC, PCC, MCC'nin kofaktörü olmasıdır (şekil 4). Bununla birlikte, HCS ile katalize edilen reaksiyonda inaktif karboksilaza kovalent bağlanması, aktif holokarboksilaz oluşturmak için gereklidir (3) (şekil 5).

Şekil 4. Biyotin bağımlı karboksilazların metabolizması (3)



PC: Piruvat karboksilaz, PCC: Propiyonil- koenzim A karboksilaz, ACC: Asetil koenzim-A karboksilaz, MCC: metil-krotonil koenzimA karboksilaz, PYR: piruvat, LAC: laktat, CoA: koenzim A

Şekil 5. Biyotin döngüsü (3)



PC: Piruvat karboksilaz, PCC: Propiyonil koenzim A karboksilaz, ACC: Asetil koenzim A karboksilaz, MCC: metil krotonil koenzim A karboksilaz

Biyotinin geri dönüşümü ilk olarak holokarboksilazların proteolitik olarak parçalanmasıyla başlar ve sonucunda lizine bağlı biyotin (biyositin) ya da kısa biyotinil peptitler açığa çıkar. Sonrasında biyotinidaz enzimi bu endojen yolla üretilen molekülden ya da diyetle alınan protein bağlı biyotinden biyotini serbestleştirir. BE’de biyotin, biyositin ve kısa biyotinil peptitlerden salınamaz. Bu nedenle, BE olan hastalar endojen biyotini geri dönüştüremez ve proteinlere bağlı besin kaynaklı biyotini kullanamaz (39). Sonuç olarak, biyotin biyositin şeklinde idrar yoluyla atılır ve ilerleyici biyotin kaybı ile biyotin tükenir (8, 40). Diyetteki serbest biyotin miktarına ve enzim miktarındaki eksikliğin ciddiyetine bağlı olarak hastalık kendini yaşamın ilk aylarında veya daha sonraki dönemlerde gösterir (3).

Hem HCS hem de biyotinidazın, biyotini histonlara kovalent olarak bağladığı gösterilmiştir (3). Bununla birlikte, biyotinidazın bu biyotiniltransferaz aktivitesinin fizyolojik önemi bilinmemektedir (4). Son çalışmalar, HCS’nin deasetilazlarla ilişkili kromatin bazlı bir düzenleyici kompleksin parçası olduğunu ve muhtemelen genel bir transkripsiyonel baskılayıcı olarak da işlev gördüğünü göstermektedir (41). Ek olarak, HCS’yi ve biyotine bağımlı karboksilazları kodlayanlar da dahil olmak üzere çok sayıda genin transkripsiyonu, HCS reaksiyonunun ara maddesi olan biyotinil-5’-AMP gerektiren bir süreçte biyotin tarafından düzenlenmektedir (42). Biyotin ile düzenlenen bir başka gen, tiamin taşıyıcı hTHTR2’yi kodlayan SLC19A3’tür. SLC19A3 mutasyonları, tiamin ve biyotine duyarlı bazal gangliyon hastalığına sebep olur (43). Bununla birlikte, biyotin bu taşıyıcı için bir substrat olmadığından, klinik semptomların yüksek dozlarda biyotin ile düzeltilmesi, muhtemelen bazı fonksiyonların yeniden düzenlenmesine sebep olacak reseptör ekspresyonunun artmasının sonucu olmaktadır (44). Son veriler, yüksek doz biyotinin ilerleyici seyirli multipl sklerozda demiyelinizasyon sürecinin ilerlemesi üzerinde bir etkiye sahip olduğunu ileri sürmektedir ve bu vitaminin nöronal enerji metabolizmasındaki potansiyel rolü hakkında soruları ortaya çıkarmaktadır (45).

Biyotinin kofaktör fonksiyonu ile ilgili iki kalıtsal kusur bilinmektedir. Bunlar BE ve HCS eksikliğidir. Her ikisi de biyotine bağlı tüm karboksilazların eksikliğine, yani MCD’ye yol açar (3). Biyotine bağımlı karboksilazların yetersiz aktivitesi her iki hastalıkta da laktik asit, 3-metilkrotonil-koenzim A ve propiyonil-koenzim A türevlerinin birikmesine neden olur (3). HCS eksikliğinde, biyotin için enzimin afinitesinin azalması inaktif apokarboksilazlardan holokarboksilazların oluşumunun azalmasına yol açar (46-48). Bu sebeple HCS eksikliğinde serumda düşük biyotin seviyeleri görülmez ve düşük serum biyotin konsantrasyonu, biyotin eksiklikleri ve BE’lerin HCS eksikliğinden ayırt edilmesinde yararlıdır (2). BE’de, endojen

biyotinin geri dönüştürülememesi ve besinlerle alınan proteine bağlı biyotinin kullanılmaması biyotinin tükenmesine sebep olur (3).

Üç mitokondriyal karboksilaz olan PCC, MCC, PC'nin her birinin izole edilmiş kalıtsal eksiklikleri ayrıca bilinmektedir (3, 49). Bu izole eksiklikler, apoenzimin yokluğu veya anormal yapıda olmasından kaynaklanır ve biyotin tedavisine yanıt vermez (3). İzole kısmi MCC eksikliği olan ve biyotin tedavisine kısmi yanıt veren bir hasta da ayrıca bildirilmiştir (50).

Biyotin taşınmasındaki bir kusur nedeni ile biyotine bağımlılık, normal serum biyotinidaz aktivitesi ve besinsel biyotin alımı olan 3 yaşındaki bir erkek çocukta öne sürülmüştür (51). Ancak genetik temeli bugüne kadar çözülememiştir (3).

2.4 PREVALANS

BE'nin tarama sonuçlarına göre görülme sıklığı; BBE için 137.401'de 1, KBE için 109.921'de 1'dir. BBE ve KBE'nin birlikte insidansı ise 61.067'de 1'dir (1). BE insidansı genellikle Türkiye, Suudi Arabistan gibi yüksek akraba evliliği oranına sahip popülasyonlarda daha yüksektir (2). Ülkemizde BE 1:11614, KBE 1:53093 ve BBE 1:14866 sıklığında bildirilmektedir (52). Ayrıca Hispanik popülasyonda görülme sıklığı artmıştır (53) ve Afro-Amerikan popülasyonunda da daha az sıklıkta görülür. Genel popülasyondaki taşıyıcı sıklığı yaklaşık 120'de birdir (2).

2.5 ADLANDIRMA

Belirgin (tam) ve kısmi (parsiyel) biyotinidaz eksikliği bu hastalık için kabul edilen isimlendirmedir. Amerikan Tıbbi Genetik Laboratuvarı Kalite Güvence Komitesi Çalışma Grubu, BE teşhisi için teknik standartlar ve kılavuzlar oluşturmuştur (54). Buna göre; ortalama serum biyotinidaz aktivitesinin yüzde 10'undan daha az aktivitesi olanlar BBE, ortalama serum biyotinidaz aktivitesinin yüzde 10 ila 30'u arası aktivitesi olanlar ise KBE olarak gruplandırılmıştır (2).

KBE olan vakalar daha önceden geç başlangıçlı veya juvenil MCD olarak da tanımlanmıştır. BE, daha önce erken başlangıçlı veya infantil MCD olarak adlandırılan HCS eksikliği ile karıştırılmamalıdır (2).

2.6 GENETİK

BE otozomal resesif olarak kalıtılır (3). BE olan bir bireyin kardeşlerinin %25 etkilenme riski, %50 asemptomatik taşıyıcı olma riski ve %25 etkilenmeme şansı vardır. Taşıyıcılar

asemptomatiktir ve hastalık riski taşımazlar. BE olan bir bireyin tüm çocukları, BTB patojenik varyantı için zorunlu taşıyıcılardır. BE olan bir bireyin çocuklarındaki BE riski, diğer ebeveyn bir BTB patojenik varyantı için taşıyıcı değilse sıfırdır (2). Genel popülasyonda yaklaşık 120’de 1 taşıyıcı oranına bağlı olarak (1), BE olan bir bireyin yine BE olan bir çocuğa sahip olmasının ampirik riski 240’da birdir (2).

Kalıttan 3p25.1 kromozomunda bulunan BTB geni sorumludur (609019, OMIM). BTB dört ekzondan oluşan biyotinidaz enzimini kodlayan gendir (55). BBE olan semptomatik çocuklarda yaklaşık 200 patojenik varyant tanımlanmıştır. Mevcut patojenik varyantların veritabanı sürekli güncellenmektedir (http://arup.utah.edu/database/BTD/BTD_welcome.php) (56).

Alellerin üçte birini oluşturan, ABD’de BBE olan semptomatik hastalarda saptanan en yaygın iki mutasyon c.98-104del7ins3 ve p.R538C’dir (57, 58). Aksine, yenidoğan taramasıyla saptanan BBE hastalarında p.Q456H, çift mutant alel p.A171T + p.D444H ve p.D252G mutasyonları saptanan mutant alellerin yaklaşık yarısını oluşturmuştur. Bu mutasyonlar ilginç bir şekilde semptomatik vakaların hiçbirinde saptanamamıştır (57, 58). Yenidoğan taraması ile tanı alan çocuklarda ve semptomatik çocuklarda saptanan bu mutasyonların karşılaştırılması, tüm mutant alellerin %60’ını oluşturan altı mutasyonu ortaya çıkarmıştır (4). KBE olan hemen hemen tüm bireyler ise, ikinci alelde BBE’ye neden olan bir mutasyonla birlikte p.D444H (p.Asp444His) mutasyonuna sahiptir (4, 59).

Taşıyıcıların belirlenmesi moleküler genetik test ile mümkündür. Risk altındaki aile bireyleri için taşıyıcılıklarının saptanması (4), ailedeki BTB patojenik varyantlarının önceden bilinmesini gerektirir. Ayrıca taşıyıcılar genellikle, hastalar ve normal bireyler arasında orta seviyede bir serum enzim düzeyine sahiptir (9). Serum enzim aktivitesi kullanılarak, taşıyıcılık yaklaşık %95 doğrulukla teşhis edilebilir (60). Bununla birlikte eğer ailedeki BTB patojenik varyantı tanımlanmışsa moleküler tanı tercih edilir (2).

2.7 GENOTİP FENOTİP İLİŞKİSİ

BE vakalarında genotip ve fenotip ilişkisi tam olarak kurulamamıştır. Delesyonlar, insersiyonlar veya anlamsız varyantlar genellikle BEA’nın tamamen kaybına neden olurken, yanlış anlamlı mutasyon sonucu oluşan varyantlar enzim aktivitesinin tamamen kaybına neden olmayabilir. Bazı genotipler BBE ile ve bazıları da KBE ile ilişkilidir (2). Genotip fenotip ilişkisi tam olarak belirlenmemiş olsa da bir çalışmada ‘null’ varyantlar sonucu BBE olan

çocukların, yanlış varyantlara sahip olanlara göre işitme kaybı geliştirme olasılığı daha yüksek saptanmıştır (61).

2.7.1 Belirgin biyotinidaz eksikliği: Çoğu BTB patojenik varyantı, BEA'nın tama yakın ya da tamamen kaybına neden olur. Bu aleller, BBE alelleri olarak kabul edilir. Homozigot veya bileşik heterozigot olsun, bu tür iki alelin kombinasyonu BBE'ye sebep olur (62). BBE olan hemen hemen tüm çocuklar semptomatik hale gelir veya tedavi olmazsa semptomatik olma riski altındadır. Bazı çalışmalarda yenidoğan tarama ile saptanan BBE olan çocukların, asemptomatik BBE olan ebeveynleri olduğu raporlanmıştır (62, 63). BBE olan birçok yetişkin hiçbir zaman semptom göstermemiş ve hiç tedavi almamıştır (62). Bununla birlikte aynı patojenik varyantlara sahip bazı çocuklar semptomatiktir. Bu sebeple BBE olan bazı çocukların tedavi edilmezse de hafif semptomlar gösterebileceği veya hiç semptom göstermeyebileceği düşünülmektedir. Ancak yine de bu çocukların tedavi edilmesi önerilmektedir (64).

2.7.2 Kısmi biyotinidaz eksikliği: p.Asp444His (p.D444H) ile birlikte belirgin eksikliğe neden olan bir varyant birleşik heterozigot olduğunda genellikle normal serum biyotinidaz aktivitesinin % 20-25'i saptanır ve KBE görülür (65).

2.7.3 Taşıyıcılar: Bir BBE veya bir KBE BTB varyantına sahip olan heterozigot bireyler, BE'nin taşıyıcılarıdır ve semptom göstermezler. Bu tür bireylerde biyotin tedavisine gereksinim duyulmaz. p.Asp444His (p.D444H) patojenik varyantı için homozigot olan bireylerin, ortalama serum biyotinidaz aktivitesinin yaklaşık %45-50'sine sahip olması ve biyotin tedavisine gereksinim duymaması beklenir (2).

2.8 AYIRICI TANI

Kalıtsal metabolik hastalıklarda metabolik ketoasidoz, laktik asidoz veya hafif hiperamonyeminin eşlik ettiği kusma, hipotoni ve nöbetler gibi klinik özellikler sıklıkla gözlenir. BE olan kişiler doğru tanıyı almadan önce örneğin izole karboksilaz eksikliği gibi yanlış tanıları alabilirler (66). BE'nin karakteristik özelliği olan deri döküntüsü, alopesi gibi semptomlar beslenmeye bağlı biyotin eksikliği, çinko eksikliği ve esansiyel yağ asidi eksikliği olan çocuklarda da ortaya çıkabilir (2). Ayırıcı tanıya giren patolojiler aşağıda sıralanmıştır.

2.8.1 Biyotin eksikliği: Biyotin eksikliği genelde beslenme anamnezi ile teşhis edilir. Aşırı çiğ yumurta akı tüketimi, emilim bozukluğu, biyotin almaksızın uzun süreli parenteral beslenme, hemodiyaliz ve uzun süreli antikonvülzan tedaviden kaynaklanabilir. Biyotinle bağlanan ve bağırsak emilimini önleyen avidin proteini yönünden zengin çiğ yumurta içeren

bir diyet sonucu olarak 11 yaşındaki zeka geriliği olan bir çocukta bildirilmiştir (67). Düşük serum biyotin konsantrasyonları, biyotin eksikliği ve BE'nin HCS eksikliğinden ayırt edilmesini sağlar (2).

2.8.2 İzole karboksilaz eksikliği: İdrar organik asit analizi (İOA) ve MSMS analizi ile asilkarnitinlerin tayini izole karboksilaz eksikliklerini, BE ve HCS eksikliğinde meydana gelen MCD'den ayırmak için yardımcıdır (2).

- 3-hidroksi izovalerat (3-OH IVA); BE, HCS eksikliği, izole 3-hidroksi metilkrotonil-koA karboksilaz eksikliği ve edinilmiş biyotin eksikliğinde en yaygın olarak yükselen idrar metabolitidir.

- İdrarda yüksek miktarda laktat, metil sitrat ve beta-hidroksi propiyonat konsantrasyonları ile yukarıdaki bozukluklar, propiyonik asidemi ve PC eksikliği dahil olmak üzere MCD'nin göstergesidir (2).

- MSMS analizinde PCC eksikliğinde C3 karnitin yüksekliği, MCC eksikliğinde C5OH karnitin yüksekliği, PC eksikliğinde ise serbest karnitin düşüklüğü görülebilir (68-70). BE'de ise C5OH karnitin yüksekliği ve C0 karnitin düşüklüğü görülebilir (71).

MCD biyotine yanıt verirken izole karboksilaz eksikleri yanıtsızdır. Bu bozuklukları ayırt etmek için tedavide biyotin denenmesi faydalı olabilir. İzole karboksilaz eksikliği tanısı, lökositlerdeki ya da biyotin içeren ortamda kültürü yapılan fibroblastlardaki üç mitokondriyal karboksilazdan birinin yetersiz enzim aktivitesi ve diğer karboksilazların normal enzim aktivitesinin gösterilmesi ile konabilir (2). Ayrıca bu hastalıkların ayırımında moleküler tanının da yeri olduğu unutulmamalıdır (68-70).

2.8.3 Holokarboksilaz sentetaz eksikliği: HCS eksikliği olan bireyler, sadece fetal buzağı serumu (düşük biyotin) içeren ortamda inkübe edilen fibroblast ekstraktlarındaki üç mitokondriyal karboksilazın eksik aktivitetlerine sahiptir. BE olan bireyler ise fibroblastlarda normal karboksilaz aktivitetlerine sahiptir. HCS eksikliği olan bireylerin fibroblastlarındaki karboksilaz aktivitetleri, ortamda yüksek biyotin bulunduğunda normale yakın hale gelir (2). BE ve HCS eksikliğinin semptomları benzerdir ve klinik olarak ayırt etmek zordur. HCS eksikliğinin daha erken klinik bulgu vermesi beklenir ancak; her iki hastalıkta da semptom/bulgular çok erken dönemde ortaya çıkabilir. Her iki hastalıkta da görülen İOA anormallikleri benzerdir ve MCD ile uyumlu olarak rapor edilebilir (2). BE'de, özellikle hastalığın erken evresinde sadece 3-OH IVA'nın yüksek atılımı bulunabilir (4). Bu iki

bozukluğu ayırt etmek için kesin enzim düzeylerinin çalışılması gereklidir. HCS eksikliği olan bireylerin serumlarında BEA normaldir. Bu nedenle, yenidoğan taramasında kullanılan biyotinidaz aktivitesinin enzimatik analizi BE için spesifiktir ve HCS eksikliği olan çocukları tanımlamaz (2, 23). Karboksilazlar çeşitli aminoasitlerin katabolizmasında, glukoneogenezde ve yağ asidi sentezinde önemli rol oynadığından, bunların eksikliği yaşamı tehdit eden metabolik sorunlara sebep olur. Her iki bozuklukta da klinik görünüm oldukça değişkendir. Karakteristik semptomlar arasında metabolik asidoz, hipotoni, nöbetler, ataksi, bilinç bozukluğu, deri döküntüsü ve alopesi gibi semptomlar bulunur (3).

2.8.4 Sensorinöral işitme kaybı: Sensorinöral işitme kaybının birçok nedeni vardır. Bu hastalarda önlenabilir bir neden olduğu için mutlaka serumdaki BEA belirlenerek BE dışlanmalıdır. Bu test, BE ile uyumlu başka klinik bulgular da gösterebilen işitme kaybı olan çocuklarda özellikle yapılmalıdır (2).

2.9 KLİNİK PREZENTASYON

YTP pozitif sonuç veren bebeklerde, klinik bulgusu olup biyotin tedavisi almayan bebeklerde ve BE'yi düşündüren laboratuvar bulgusu olan bebeklerde BE'den şüphelenilmelidir (4).

Hastalardaki şu laboratuvar bulguları BE düşündürür (2):

- Metabolik ketoasidoz, laktik asidoz
- Hiperamonyemi
- Organik asidüri (Genellikle MCD'de görülen metabolitler görülür, ancak 3-OH IVA tek metabolit olabilir. Bununla birlikte semptomatik olan BE vakalarında bile İOA normal olabilir.)
- MSMS'de C5OH karnitin yüksekliği (71)

Semptom gelişmeden önce örneğin yenidoğan tarama ile teşhis edilen ve biyotin ile tedavi edilen bireyler normal gelişim gösterir (6, 7). Gelişmiş olan semptomların da besinlerle veya destek olarak serbest biyotin alımı ile gerilemesi önemli bir özelliktir. Tam klinik tablonun yerleşmesi için ortalama 7 hafta gibi erken bir zamanda bildirilmiştir ancak; nörolojik semptomlar neonatal dönemde dahi ortaya çıkabilir (8). Ensefalopati, hipotoni, hipertoni, generalize ve miyoklonik nöbetler, ataksi gibi nörolojik belirtiler en sık görülen ilk semptomlardır. Ek olarak birçok çocukta gelişimsel gecikme, işitme kaybı, konjunktivit ve optik atrofi dahil görme sorunları görülür. Ayrıca keratokonjunktivit de bildirilmiştir (3). BE,

açıklanamayan gelişimsel geriliği ve özellikle sensorinöral işitme kaybı olan her çocukta düşünülmelidir. Egzamatöz dermatit, vücudun çoğunluğunu kaplayan eritemli bir deri döküntüsü ve alopesi hastalığın ayırt edici özellikleridir. Ancak bunlar geç gelişebilir ya da hiç gelişmeyebilir (4, 5). Deri lezyonları genellikle yamalı, eritemli, eksüdatiftir ve tipik olarak ağız çevresi ve bez bölgesi lokalizasyonlarında görülür. Saç dökülmesi ile birlikte ciddi durumlarda kirpikler ve kaşlarda da dökülme görülebilir. Akut tablodaki hastalarda immünolojik disfonksiyon ortaya çıkabilir (3).

Metabolik asidoz ve organik asidüri genellikle hastalığın erken evrelerinde görülmez. Plazmada laktat ve idrarda 3-OH IVA hafifçe yükselebilirken, beyin omurilik sıvısı seviyeleri anlamlı derecede yüksek olabilir (72). Bu durum nörolojik semptomların baskın olmasını açıklayabilir ve BE’de beyin daha erken ve daha fazla etkilendiğini gösterir. Belirgin bir organik asidüri ya da kutanöz bulgular olmasa da geri dönüşümü olmayan bir beyin hasarı tehdidi, BE’ye sahip tüm çocukların dikkate alınmasını gerektirir. BE için neonatal taramanın olmadığı bölgelerde tanısal gecikmede maalesef beklenen iyileşme sağlanamamıştır (7, 73). Bu nedenle yenidoğan taraması, BE’de sonucu değiştirmek için en iyi şansı sağlar. Doğumdan sonraki günler içinde bebeklerde biyotin tükenebileceği için tedaviye gecikmeden başlanmalıdır (8).

2.9.1 Belirgin biyotinidaz eksikliği: BBE bulunan tedavi uygulanmayan kişilerde BE’ye spesifik olarak şu özellikler bulunur (2):

- Egzama benzeri deri döküntüleri
- Alopesi
- Konjunktivit
- Kandidiyazis
- Ataksi

Tedavi edilmemiş BBE olan çocuklar veya yetişkinlerde ise genellikle sadece bu hastalığa özel olmayan aşağıdaki nonspesifik özelliklerden bir veya bir kaç görülür (2):

- Nöbetler
- Hipotoni
- Hiperventilasyon, laringeal stridor ve apne gibi solunumsal problemler
- Nörogelişimsel gerilik
- İşitme kaybı

- Optik atrofi gibi görme problemleri

Tedavi edilmemiş BBE'nin semptomları genellikle 1 hafta ile 10 yaş arasında, ortalama 3,5 ay civarında ortaya çıkar (74). Nöbetler genellikle miyoklonik olmakla birlikte generalize ve fokal de olabilir. Bazı çocuklarda infantil spazmlar da görülebilir (75). Tedavi edilmeyen bazı çocuklar ilerleyici spastik parezi ve miyelopati ile karakterize omurilik tutulumu sergiler (76). Bu hastalar BE tanısı almadan önce başka bir tanıyla tedavi edilmiş olabilir (77). Daha büyük yaşta etkilenen çocuklarda genellikle ekstremitelerde zayıflık, ataksi ve gelişimsel gecikme görülür. BE olan birçok semptomatik çocuğun beyin manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ya da beyin tomografisi (BT)'sinde çeşitli merkezi sinir sistemi anormallikleri görülür. Bu bulgular biyotin tedavisinden sonra düzelebilir veya kalıcı olabilir (2).

BBE olup tedavi edilmemiş semptomatik çocukların yaklaşık %76'sında sensorinöral tipte işitme kaybı vardır. Bu işitme kaybı genelde iyileşme göstermez ancak verilen biyotin tedavisi ile ilerlemesi durdurulabilir (78). BBE olan bir grup çocukta ergenlikte ilerleyici optik nöropati ve ani görme kaybı geliştiği bildirilmiştir (79) .

Kutanöz belirtiler arasında deri döküntüsü, alopesi ve immünolojik disfonksiyonun neden olduğu tekrarlayan viral veya fungal enfeksiyonlar bulunur.

Hiperventilasyon, laringeal stridor ve apne gibi solunum problemleri ortaya çıkabilir (2). Ayrıca; ani bebek ölüm sendromu olarak düşünülen bir ölümün daha sonradan BE kaynaklı olduğu da bildirilmiştir (80).

Klinik belirtilerin değişkenliği ve özgül olmaması nedeni ile tanıda gecikme riski çok yüksektir (73, 81-83). Geç tanı alan hastalarda klinik bulgular ölüme neden olabilir (5, 7, 73, 78, 81, 83).

Geç Başlangıç: BBE olan bazı çocuklar, ileri çocukluk dönemlerine veya ergenlik dönemine kadar semptom geliştirmeyebilir (4, 84). Semptomları genellikle daha az karakteristik olarak motor zayıflık, spastik paraparezi, omurilik demiyelinizasyonu, kraniyal MRG'de olağandışı bulgular ve optik nöropati, görme kaybı gibi göz problemlerini içerebilir (4, 81, 84). BBE olan bir grup çocuğun, ilerleyici optik nöropati ve spastik paraparezi ile ani görme kaybı geliştiğinde ergenliğe kadar asemptomatik olduğu görülmüş ve birkaç aylık biyotin tedavisinden sonra göz bulguları ve spastik paraparezi düzelmiştir (85). Bazı asemptomatik BBE olan erişkinler, yenidoğan taraması ile saptanan hastaların aile taramaları sonucu belirlenmiştir. Bu nedenle, BE olan hastaların tüm aile bireylerinin araştırılması, her

yaşta semptom gösterme riski taşıyan asemptomatik bireylerin saptanması için çok önemlidir (3).

2.9.2 Kısmi Biyotinidaz Eksikliği: Tedavi almayan KBE olan çocuklar veya yetişkinler herhangi bir semptom sergileyebilirler. Belirtiler hafiftir ve genelde kişi enfeksiyon gibi bir stres faktörü yaşadığında ortaya çıkar. Biyotin tedavisi almayan KBE olan 6 aylık bir çocukta, gastroenterit atağı sırasında hipotoni, deri döküntüsü ve saç dökülmesi görülmüştür. Biyotin ile tedavi edildiğinde semptomlar düzelmiştir (2).

2.10 TANI TESTLERİ

BE’de tanı; serum ya da plazmada eksik biyotinidaz enzim aktivitesinin saptanması ya da enzimatik testin sonuçları belirsiz olduğunda BTB genindeki bialelik patojenik varyantların belirlenmesi ile konulur (2).

Biyotinidaz enziminin doğal substratı biyositindir ve bu enzim biyotin ile farklı yapılar arasındaki amid bağları üzerine de etkilidir. Bu özelliğinden dolayı aktivitesini ölçmek için yapay substratlar geliştirilmiştir. Biyotinidaz aktivitesini ölçmede en sık kullanılan yöntem Knappe ve arkadaşları (1963) tarafından tanımlanan kolorimetrik ölçüm yöntemidir ve biyotinitil-para aminobenzoik asit (B-PABA) substrat olarak kullanılır (86). Bu test yenidoğan biyotinidaz enzim eksikliği taramalarında kullanılan temel yöntemdir (87). Buna karşın, BEA florometrik yöntem ile daha hassas ölçülebilir (88). Florometrik yöntemde kullanılan substrat, kolorimetrik yöntemde kullanılanlara göre daha pahalıdır ancak yenidoğan taramalarına uygundur, bu nedenle florometrik yöntem modifiye edilmiştir (89).

Kolorimetrik (Spektrofotometrik) Ölçüm Yöntemi: Bu yöntemde substrat olarak B-PABA kullanılır. Biyotinidaz, B-PABA’dan serbest biyotin ve PABA oluşmasını sağlar. PABA, azo boyar madde ile boyanarak mor renge döner ve spektrofotometrik olarak ölçüm yapılır. Biyotinidaz aktivitesi olmadığında renk oluşumu gözlenmez. Bu yöntemde saptanan en düşük biyotinidaz aktivitesi, ortalama plazma biyotinidaz aktivitesinin %3’ü kadardır. Bu sebeple %3’ün altında biyotinidaz aktivitesine sahip hastalar için daha hassas metodlara gereksinim vardır (90). Sulfonamid grubu ilaçların kullanımı yanlış negatif sonuçlara yol açabilmektedir. YTP açısından hamile ve yenidoğanlarda bu ilaçların kullanımının kontrendike olması olumlu olmuştur (91).

Florometrik Ölçüm Yöntemi: Substrat olarak B-6AQ’nin (biyotinitil-6-aminokinolin) kullanıldığı yöntemdir (88).

Hem florometrik, hem kolorimetrik yöntem, filtre kağıdına emdirilmiş kan damlasından çalışılır ve yenidoğan taramalarında kullanılmak üzere geliştirilmiştir (87, 89). İki yöntemin de referans aralıkları Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 2.4 Florometrik ve spektrofotometrik yöntemin referans aralıkları (9, 86)

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

Radyoiyot Ölçüm Yöntemi: Hassas 14C-biyositin (92), 14C-B-PABA (86) ya da radyoiyotlanmış biyotinilamid analoglarının (93) kullanıldığı radyoimmün yöntemler geliştirilmiştir, ancak ticari olarak kullanılmamaktadır.

Fibroblastlarda Ölçüm Yöntemi: Fibroblastlarda bulunan apokarboksilazların aktifleşme reaksiyonu sırasında serbest biyotinin ölçümü (94) ya da biyotin bağımlı bakteri ya da protozoaların üreme döngüleri sırasında BEA’nın hesaplandığı yöntemler bildirilmiştir (95).

HPLC Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) Yöntemi: Biyositinden serbestleşen biyotinin radyoizotopik avidin tarafından bağlanması özelliğine dayanır. Bu metod tam enzim eksikliğini, %0,5 enzim aktivitesinin varlığından ayıracak derecede hassastır ancak; çok zaman alıcı olduğu için rutin kullanıma uygun bulunmamıştır (90).

Moleküler tanı, tek gen testi ile gerçekleştirilir. İlk olarak BTĐ’nin sekans analizi gerçekleştirilir. Ardından sadece bir patojenik varyant bulunursa veya hiç bulunmazsa gen hedefli delesyon/duplikasyon analizi yapılır (2).

Plazma veya idrardaki biyotin konsantrasyonlarının belirlenmesinin tanısal değeri çok düşüktür. Ancak tedavi uyumunun değerlendirilmesinde kullanılabilir.

BE’de serumdaki biyotinidaz aktivitesi yok veya azalmıştır. Birçok hasta ölçülebilir rezidüel aktiviteye sahiptir. Kalıntı aktivite seviyesi, 4 aylık veya daha sonra elde edilen ikinci

bir serum örneğinde doğrulanmalıdır (3). Lenfositlerdeki karboksilaz aktiviteleri, biyotin eksikliği olan hastalarda azalır, ancak tek bir oral biyotin dozundan sonra saatler içinde normale döner (8).

2.11 TEDAVİ VE PROGNOZ

BE geri döndürülemez nörolojik hasar meydana gelmeden önce oral biyotin tedavisinin başlanması ile etkili bir şekilde tedavi edilebilir. BE tedavisinde 30 yıldan fazla süredir kullanılan biyotin kaynaklı hiçbir yan etki ve toksisite yüksek dozlarda dahi bildirilmemiştir (59, 96) ve olası bir risk olarak vücut sıvılarında biyositin birikimi de görülmemiştir (40). Ayrıca biyotin özelliikle kozmetik kullanımının yaygınlaşması ile beraber bu konuda yapılan çalışmaların sayısı artmıştır. Farelerle yapılan çalışmalarda verilen yüksek doz biyotin kan fonksiyon testlerini etkilememekle beraber karaciğer (97) ve erkek üreme sisteminde (98) histolojik değişikliklere yol açtığı bildirilmiştir. Multipl skleroz hastalarında yüksek doz biyotin etkilerini araştıran başka bir çalışmada, yüksek doz biyotin semptomlarda artışa neden olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar bu durumu santral sinir sisteminin mevcut hastalık dolayısıyla yüksek doz biyotini işleyememesiyle ilişkilendirmiştir (99).

Protein alımının kısıtlanması gerekli değildir. Çiğ yumurta beyazı biyotini bağlayan ve vitaminin biyoyararlanımını azaltan bir protein olan avidini içerdiği için, çiğ yumurta tüketiminden kaçınılmalıdır (4).

Amerika Birleşik Devletleri'nde ve diğer birçok ülkede BE için yenidoğan taraması yapılması bu hastalığa sahip olan çocukların hemen hemen tümünü saptasa dahi, zaman zaman taranmamış ya da taramada normal sonucu olup ileride bulgu veren BE hastalarına rastlamak mümkündür. Bu çocuklar bazen metabolik olarak dekompanse olabilir, asidoz ve hiperamonyemi için tedaviye gereksinim duyabilirler. MCD olan bir çocuğa biyotin veya biyotin içeren bir kokteyl uygulandığında metabolik dekompensasyonu hızlıca düzelebilir ve klinik semptomlar günler hatta saatler içinde iyileşebilir (2). Metabolik dekompensasyonu olan özellikle laktik asidozla başvuran akut tablodaki hastalara, biyotin tedavisi ile birlikte genel acil yaklaşımı gereklidir (3).

2.11.1 Belirgin biyotinidaz eksikliği

BE için yenidoğan taraması erken tanı ve etkili tedaviyi sağlar. Taramada şüpheli sonuçlar varsa bu tür hastalarda tanı, biyotinidaz aktivitesinin kantitatif ölçümü ile doğrulanmalıdır. BBE olan erken teşhis edilmiş çocuklarda günde 5-10 mg oral biyotin tüm klinik ve biyokimyasal

anormallikleri tersine çevirir veya önler. Uzun süreli tedavi için de aynı doz önerilir. Dikkatli klinik ve biyokimyasal kontrol altında, günlük dozu 2,5 mg'a düşürmek mümkün olabilir. Bununla birlikte, biyotin tükenmesi hızla geliştiği için biyotin tedavisi tanı sonrası gecikmeden başlanmalı, yaşam boyunca ve her gün düzenli olarak verilmelidir (8). Belirgin eksikliği olan bazı hastaların semptomlar geliştirdiği ve biyotin dozunun günlük 15-20 mg'a çıkılmasıyla gerilediği bildirilmiştir (4).

Geç teşhis edilen hastalarda, tedavinin başlamasından önce geri dönüşü olmayan beyin hasarı meydana gelmiş olabilir. Özellikle işitsel ve görsel eksiklikler genellikle biyotin tedavisine rağmen devam eder (5, 7, 72, 78) ve uzun vadeli komplikasyonlar olarak entelektüel bozukluklar ve ataksi gözlenmiştir (5, 7, 73, 78).

Genellikle yenidoğan taraması veya aile taramaları ile saptanan %10'a kadar rezidüel aktiviteye sahip hastalar, birkaç yıl boyunca hatta yetişkinliğe kadar asemptomatik kalabilir (6, 90). Bununla birlikte bu vakalarda eksikliğin kliniğe yansması riski çok yüksektir ve tedavi edilmelidir (1, 4, 90).

2.11.2 Kısmi biyotinidaz eksikliği

KBE olan hastalar çoğunlukla neonatal taramada veya aile taramalarında saptanırlar ve genellikle asemptomatik kalırlar. Bununla birlikte yenidoğan taramasında saptanan ancak biyotin ile tedavi edilmeyen KBE olan 20'den fazla çocuk; hipotoni, deri döküntüleri, saç dökülmesi gibi, özellikle bir hastalık gibi stres yaratan durum araya girdiğinde, tipik olarak BBE semptomları geliştirmiştir. Böylelikle, tedavi edilmeyen bazı çocuklarda semptomlar olabileceği ve kesin kanıtlar olmadığı için, bu hastalara 2,5-5 mg/gün kadar biyotin desteği yapmak akıllıca görünmektedir (59, 96).

2.12 YÖNETİM

2.12.1 İlk tanı sonrası değerlendirmeler

BE teşhisi konulan semptomatik bir kişide hastalığın derecesini ve gereksinimlerini belirlemek için aşağıdaki değerlendirmeler önerilir (2):

- Nöbet, denge sorunları, beslenme sorunları, solunum sorunları, saç dökülmesi, mantar enfeksiyonları, deri döküntüsü, konjunktivit öyküsünün sorgulanması

- Fizik muayenede ensefalopati, hipotoni, ataksi, optik atrofi gibi göz bulguları, egzamatöz deri döküntüsü, alopesi, konjunktivit, stridor, pamukçuk ya da kandidiyaz gibi bulguların varlığı
- Psikomotor değerlendirme
- Oftalmolojik muayene
- İşitme değerlendirmesi
- İmmünolojik disfonksiyonun neden olduğu tekrarlayan viral veya fungal enfeksiyon riskinin artması nedeniyle hücresel immünolojik anormalliklerin belirlenmesi
- Bir çocuk metabolizma hastalıkları uzmanı ile konsültasyon

Yenidoğan taraması sonucu BE teşhisi konan bebeklerde hastalığın durumunu ve bebeğin gereksinimlerini belirlemek için aşağıdaki değerlendirmeler önerilir (2):

- Nörolojik bulgular (hipotoni, ataksi), göz bulguları (konjunktivit), deri bulguları (egzamatöz döküntü, alopesi), solunum anormallikleri (stridor) ve immünolojik işlev bozukluklarının neden olduğu mantar enfeksiyonları (pamukçuk) için fizik muayene
- Psikomotor durumun değerlendirilmesi
- Oftalmolojik muayene (optik atrofi gibi bulgular için)
- İşitme değerlendirmesi
- Bir çocuk metabolizma hastalıkları uzmanı ile konsültasyon

2.12.2 Hastalık bulgularının önlenmesi

BE olan tüm bireyler, genotiplerinden bağımsız olarak biyotin ile tedavi edilmelidir (100). BBE olan çocukların biyotin ile tedavisi önerilir. BE'deki genotip fenotip ilişkisi tam olarak kurulmadığından, tedaviye ilişkin kararlar moleküler genetik testten çok enzim aktivitesi sonuçlarına dayanmalıdır (2).

BE serbest formda oral biyotin ile tedavi edilir. Yenidoğan tarama ile BE saptanan çocuklar biyotin tedavisine uyum ile asemptomatik kalacaktır. BE olan tüm semptomatik çocuklar, erken tanı ve günde 5-10 mg oral biyotin ile tedaviden sonra iyileşmiştir (2).

Biyotin genellikle tablet veya kapsül olarak verilir. Bir bebeğe veya çocuğa biyotin uygulamak için tablet ezilebilir veya kapsülün içeriği bir kaşık ya da şırıngada anne sütü ile karıştırılabilir. Ezilen tablet ya da kapsül içeriği şişeye yapışacağı ve meme ucundan geçemeyeceği için biberonla verilmesi önerilmez. Biyotinın sıvı preparatları bir süspansiyon

olan karışım özellikle soğutma ile çökelme ve saklama sırasında bakteri üretme eğiliminde olduğundan önerilmez. Genellikle tutarlı bir doz sağlamazlar (2).

Biyokimyasal anormallikler ve nöbetler, biyotin tedavisinden sonra hızla düzelir ve ardından kutanöz bulgularda düzelme olur. Alopesi olan çocuklarda saç uzaması haftalar ile aylar arası geri döner. Optik atrofi ve işitme kaybı, özellikle tanıdan tedavinin başlangıcına kadar uzun süre geçmişse tedaviye dirençli olabilir. Tedavi gören bazı çocuklar hızla gelişim basamaklarını yakalarken, bazıları gecikmeler göstermeye devam etmiştir (2).

KBE olan ve biyotin ile tedavi edilmeyen çocuklarda semptomlarla ilgili az sayıda bildirim mevcuttur. Biyotin için bilinen bir toksisite olmadığı için, KBE olan çocuklar günde 1-10 mg oral biyotin ile tedavi edilir (2).

Biyotin tedavisi ömür boyu sürdürülmelidir. Farmakolojik biyotin dozlarının herhangi bilinen bir yan etkisi yoktur. En büyük sorun tedavinin olmaması veya reçete edilen tedaviye uyulmamasıdır. İlaç olarak satılmayan bazı destek ürünlerde belirtilen miktarda dozaj içermeme sorunu olabileceğinden tedavide bunlar tercih edilmemelidir. BBE veya KBE’de biyotin gereksinimini belirlemek için daha fazla veriye gereksinim vardır ancak, hemen tüm çocuklar hiçbir yan etki olmaksızın 10 mg biyotini tolere etmiştir. BBE olan iki kız hastanın ergenlik döneminde saç dökülmesi olup, biyotin dozlarının 10 mg/gün’den 15 veya 20 mg/gün’e çıkılması ile şikayetleri düzelmiştir (2).

2.12.3 İzlem

BE olan tüm çocuklar için;

- BBE olanlara yılda bir ve KBE olanlara iki yılda bir oftalmolojik muayene ve işitme testi,
- Birinci basamak hekimlerle düzenli olarak planlanmış randevular,
- Çocuk metabolizma hastalıkları uzmanı ile BBE olan hastalar için yıllık ve KBE olan hastalar için iki yılda bir değerlendirme,
- Klinik problemleri olan semptomatik çocukların ilgili uzmanların yönlendirdiği şekilde izlemi,
- Biyotin tedavisi sırasında semptomların geri dönmesi durumunda tedavinin sorgulanması ve idrarda organik asitlerinin değerlendirilmesi önerilir (2).

2.12.4 Kaçınılması Gerekenler

Çiğ yumurta tüketiminden kaçınılmalıdır. Çünkü biyotini bağlayan yumurta beyazı proteini olan avidin sebebi ile biyoyararlanım azalır. İyiye pişmiş yumurtalar sorun teşkil etmez, çünkü ısıtma ile avidin etkisiz hale gelir ve biyotini bağlayamaz (2).

2.12.5 Aile taraması

BE tanılı kardeşi olan bir yenidoğan, biyotinidaz enzim sonuçları ve/veya moleküler genetik testlerin sonuçları çıkana kadar (ailede BTB patojenik varyantları biliniyorsa) biyotin ile tedavi edilmelidir.

BE tanısı alan bir çocuğun kardeşlerinin biyotinidaz enzim aktiviteleri ve genetik durumu, asemptomatik olsalar dahi görülmelidir. BE ile uyumlu semptomları olan bir akrabanın da biyotinidaz enzim aktivitesi ve moleküler genetik testi görülmelidir (2).

2.12.6 Gebelik yönetimi

BE tanısı olan bir gebe ya da BE tanılı bir bebek doğurma riski olan bir gebe de olsa yapılacak şey anneye biyotin tedavisidir. Doğum öncesi optimal bir biyotin dozu belirlenmemiştir (2).

2.12.7 Genetik danışma

Genetik danışmanlık, bireylere ve ailelere, bilinçli tıbbi ve kişisel kararlar vermelerine yardımcı olmak için genetik bozuklukların doğası, kalıtımı ve sonuçları hakkında bilgi sağlama sürecidir. Genetik riskin belirlenmesi, taşıyıcılık durumunun açıklığa kavuşturulması ve prenatal testlerin tartışılması için en uygun dönem hamilelik öncesidir. Etkilenen, taşıyıcı olan veya taşıyıcı olan riski olan genç yetişkinlere genetik danışmanlık sunulması uygundur (2).

2.12.8 Prenatal test ve preimplantasyon genetik moleküler test

1983 yılında çeşitli dokularda BEA'nın ölçülmesi amacıyla geliştirilen radyoassay test ile, amniyotik sıvıda ve kültürlenmiş amnion hücrelerinde enzim aktivitesinin ölçülebileceği bildirilmiştir. İleri anne yaşı sebebi ile riskli olan gebeliklerde 16-20. haftalar arası amniyosentez ile alınan örneklerde ölçümler yapılmıştır. Amniyotik sıvı ve hücrelerdeki enzim aktivitesinin referans aralıkları belirlenmiştir (86). Günümüzde prenatal tanı enzimatik tanı ile veya mutasyon biliniyorsa mutasyon analizi ile yapılabilir (101). Ancak prenatal testler aslında erken teşhis için değil, sıklıkla gebeliğin sonlandırma kararı amacıyla yapıldığı ve bu yöntemler

sağlıklı gebeliklerde risk oluşturduğu için, BE gibi kolay ve başarılı tedavi edilen bir hastalıkta rutin olarak yapılmaz ve aileler tarafından da talep edilmez. BBE tanısı almış ve semptomatik çocuğı olan aileler, tarama ile hastalığı saptanan ve semptomsuz çocuğı olan ailelere göre prenatal testlerini daha çok talep etmektedir (102).



3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı Polikliniği'nde takip edilen İstanbul ili BE Pilot YTP, Sağlık Bakanlığı YTP, İstanbul Tıp Fakültesi Genişletilmiş YTP ile saptanmış ve 30.06.2020 tarihine kadar başvurmuş olan bütün BE tanılı hastaların dosyası geriye dönük olarak incelendi. Çalışma için İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Klinik Araştırmaları Etik Kurulu'ndan etik kurul onayı (Tarih ve Sayı: 28.01.2021-53653) alındı.

Çalışmaya alınma kriterleri

Başvuru sonrasında muayenesi yapılmış ve tarafımızca BE tanısı konmuş (biyotinidaz enzim aktivitesi %30'un altında saptanmış ve tekrarlanan ölçümlerinde de %30'un altında seyretmiş) olan tüm hastalar çalışmaya dahil edilmesi planlandı. İlk biyotinidaz enzim aktivitesi %30'un altında ölçülen ancak takiplerinde enzim aktiviteleri normal sınırlarda sonuçlanan ve takipten çıkarılan semptomsuz hastaların çalışmaya dahil edilmemesine karar verildi.

Dosya değerlendirmesi

Hasta dosyalarının geriye dönük incelenmesiyle kaydedilmesi planlanan bilgiler:

- Hastaların tanı aldığı tarama programı
- Demografik özellikleri: Kimlik bilgileri, doğum tarihi, yaş, cinsiyet, anne ve baba memleketleri
- Aile bilgileri: Anne, baba ve kardeşlerin biyotinidaz enzim aktiviteleri, BE tanılı kardeş bilgisi, akraba evliliği durumu, ailede benzer vaka
- Klinik bilgileri: Tanı yaşı (gün), ilk muayene bulguları (hipertoni, hipotoni, nöromotor gelişim geriliği, ataksi, konvülsiyon, letarji, işitme bozukluğu, görme bozukluğu, deri bulgusu, saç bulgusu, konjunktivit), ilk 1 ayda şikayet olup olmadığı, şikayetlerin başlama yaşı (ay), takip süresince ortaya çıkan şikayetler, ilaç tedavisi dozu, tedaviye uyum, ilaç tedavi dozunda değişiklik gereksinimi, tedavide duraklama olup olmadığı ve varsa duraklama sırasında gelişen şikayetler, izlem süresi, son muayene tarihi, son muayene bulguları, eşlik eden hastalıklar

Değerlendirmede BE ile ilişkili olabilecek bulgular pozitif olarak kabul edildi. Dermatolojik bulgular olan dermatit, eritem, soyulmalar, ciddi kuruluk, alopesi, saçta seyrekleşme, cansız-cılız saç varlığı deri ve saç bulguları için pozitif kabul edildi. Görme

muayenesi sonucunda optik atrofi, korneal ülser, retinal displazi, göz hastalıkları uzmanı tarafından anormal yorumlanan VEP-ERG sonucu ve işitme muayenesi sonucunda işitme kaybı saptanan hastalar görme ve işitme bozukluğu açısından pozitif kabul edildi.

Hastaların gruplandırılmasında aşağıdaki kriterlerin kullanılması planlandı.

Tedaviye uyumlu grup: İlk muayenede değerlendirilip, kontrol muayenelerine gelen, ilacını düzenli kullandığını belirten ve tedaviye hiç ara vermeyen hastalar tedaviye uyumlu olarak kabul edildi.

Tedaviye uyumsuz grup: İlk muayenede değerlendirilip devamında kontrole gelmeyen ya da düzensiz ilaç kullanan ya da tedavide duraklama yapan hastalar tedaviye uyumsuz kabul edildi.

Kontrollerine gelmiş ancak ilaç kullanımında miktar ya da gün olarak düzensizlikler bulunan hastalar **düzensiz ilaç kullanan hastalar** olarak kabul edildi.

Kontrollerine gelmiş ancak ilaç kullanımını belirli bir süre tamamen bırakmış hastalar **tedavide duraklaması olan hastalar** olarak kabul edildi.

Düzenli takipsiz hastalar: Sadece ilk muayeneye gelen ve tekrar kontrole gelmeyen ya da en son 2018 yılı ve öncesinde muayeneye gelmiş hastalar düzenli takipsiz olarak kabul edildi. En son 2019 yılında muayeneye gelmiş olan hastalar, yıllık kontrollerine 2020 yılında gelmemiş olsalar dahi Covid-19 pandemisi nedeniyle takipsiz kabul edilmedi.

- Laboratuvar ve görüntüleme tetkikleri değerlendirmeleri: BEA'nın kalitatif, kantitatif ölçümleri ve yüzde değerleri, Sağlık Bakanlığı YTP sonuçları, tedavi öncesi ve sonrası amonyak, laktat, MSMS ile C5OH karnitin ve İOA'da 3-OH IVA değerlerinin laboratuvar sınır değerlerinin üzerinde olması, tedavi öncesi ve sonrası MSMS C0 karnitin düşüklüğü, moleküler DNA analizi sonuçları, kranial MRG'de anormal bulgu varlığı (BE için anlamlı olan serebral atrofi, ventrükülomegali, bazal ganglion kalsifikasyonları ve T2 hiperintensiteleri, hipokampus ve hipokampal girustaki T2 ve FLAIR hiperintensiteleri pozitif kabul edildi (103))

Biyotinidaz enzim aktivitesi ölçümü

Tüm hastaların kalitatif, kantitatif biyotinidaz enzim aktivitesi ve yüzde değerleri İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Beslenme ve Metabolizma Laboratuvarında ölçülmüştü.

Kalitatif yöntem: Tarama testi olarak filtre kağıdına alınan bir damla kuru kanda uygulanır. Kağıtlardan çıkarılan 3-5 mm çapında disklerden substrat olarak B-PABA kullanılarak çalışılır. Kolorimetrik yöntem hastalardan alınan örneklerde biyotinidaz enzim aktivitesine göre renklenme esasına dayanır. Bu yöntemde göre hastalara renksiz, çok az renkli, az renkli, hafif az renkli ve normal renklenme olmak üzere sonuç verilmiştir.

Kantitatif yöntem: Hastadan alınan serum ya da plazma örneğinde çalışılır. Bu yöntemde de substrat olarak B-PABA kullanılır. Yine örneklerin renklenme esasına dayanır (kolorimetrik) ve renklenme spektrofotometrik olarak ölçümle sonuç nm/dk/ml olarak değerlendirilir. Bu değer standart formül üzerinden yüzde değerine çevrilir. Kalite kontrolü sağlamak için her ölçümde, substrat içermeyen bir kör ve PABA standartları kullanılır (std1, std2 ve std3). Her ölçümde çift hasta numunesi çalışılır (numune1 ve numune2) ve böylece çift ölçüm yapılmış olur. Serum biyotinidazı numunelerdeki B-PABA'nın amid bağı keser ve serbest biyotin ile PABA oluşur. Ortamdaki PABA azo boyasına dönüştürülür, renklenir (kolorimetrik) ve 546 nm'de spektrofotometrik ölçüm yapılarak miktar tayini yapılır. Alınan iki numune sonucunun ortalaması alınır ve bu ortalama std1, 2 ve 3'ün içerdiği PABA miktarına göre karşılaştırılarak üç değer elde edilir. Kalitenin sağlanması için bu değerlerin eşit olması beklenir. Bulunan bu 3 değer de yeniden ortalaması alındığında nm/dk/ml cinsinden kantitatif değer ortaya çıkmış olur. Ortaya çıkan bu değer çalışıldığı laboratuvarın %100 enzim aktivitesindeki referans değerine göre oranlanması ile yüzde değeri hesaplanmış olur (54, 91). İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Beslenme ve Metabolizma Laboratuvarı'nda %100 biyotinidaz aktivitesi için bu değer 8,7 nm/dk/ml olarak hesaplanmıştır (104).

İstatistiksel Yöntem

Çalışma verilerinin analizinde SPSS v.21 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov-Smirnov ve Shapiro Wilk testi ile değerlendirildi. Sürekli değişkenler ortalama $\pm$ standart sapma ve medyan (minimum-maksimum) ile gösterildi. Kategorik değişkenlerin gösteriminde frekans ve yüzde (%) kullanıldı. Sürekli değişkenlerin bağımsız gruplar arasındaki karşılaştırmalarında Mann Whitney U testi, bağımlı gruplar arasındaki karşılaştırmalarında ise Wilcoxon İşaretli Sıralar

Testi kullanıldı. Kategorik değişkenler Ki-kare Testi ve Fisher Kesin Testi ile değerlendirildi. Sağlık Bakanlığı Taraması ve metabolik laboratuvar sonuçları için eşik değerler ROC (Receiver Operating Characteristic) analizi ile belirlendi, sensitivite ve spesifisite değerleri verildi. Anlamlılık düzeyi $p<0.05$ olarak kabul edildi.



4. BULGULAR

İstanbul Üniversitesi, İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Beslenme ve Metabolizma Hastalıkları Bilim Dalı tarafından Ocak 1991– Haziran 2020 tarihleri arasında ‘Biyotinidaz Eksikliği’ tanısı ile izlenen 2178 hasta dosyası değerlendirildi. 76 hasta tekrar edilen BEA ölçümlerinin normal olması ve semptomsuz olmaları nedeni ile takipten çıkarıldıkları için çalışma dışı bırakıldı. 2102 hasta dosyası değerlendirmeye alındı.

Hastaların %94’ü Sağlık Bakanlığı YTP, %5.2’si İstanbul İli Biyotinidaz Eksikliği Pilot YTP ve %0.8’i Genişletilmiş YTP ile tanı almıştı. BBE olanlarda İstanbul İli Pilot YTP ile tanı konulma oranı KBE olanlardan anlamlı olarak yüksekti (%14.4, %2.4, $p<0.001$). Sağlık Bakanlığı YTP’de ise KBE’lere tanı konulma oranı BBE’lerden anlamlı olarak yüksekti (%96.7, %85.2, $p<0.001$). Tablo 4.1’de hastalarda farklı tarama programlarına göre belirgin ve kısmi BE tanısı konulan vaka sayıları verilmiştir.

Tablo 4.1 Farklı tarama programlarına göre belirgin ve kısmi biyotinidaz eksikliği tanısı konulan vaka sayıları

	Tüm hastalar n (%)	Kısmi BE n (%)	Belirgin BE n (%)	KBE/BBE (n/n)	p değeri
SBT	1975 (94)	1550 (96.7)	425 (85.2)	3.6	<0.001 ^b
İstanbul İli Pilot YTP	110 (5.2)	38 (2.4)	72 (14.4)	0.52	
Genişletilmiş YTP	17 (0.8)	15 (0.9)	2 (0.4)	7.5	
Toplam	2102 (100)	1603 (100)	499 (100)	3.21	

BE: Biyotinidaz eksikliği, KBE: Kısmi biyotinidaz eksikliği, BBE: Belirgin biyotinidaz eksikliği, SBT: Sağlık Bakanlığı Taraması, YTP: Yenidoğan Tarama Programı, ^b Fisher Kesin Testi

Yıllar içerisinde tarafımıza tarama sonucu başvuran birey sayısının, KBE sayısının ve KBE/BBE sayısının arttığı, BBE sayılarının hemen hemen aynı kaldığı saptanmıştır. Son 6, özellikle son 3 yılda KBE sayılarında belirgin artış görülmektedir. Bu dönemde ülkemizin aldığı göç göz önüne alınarak memleketi Türkiye dışında olan hasta başvurularına bakılmıştır ancak tüm seride bu hastaların toplamı 13 olup, 8’i son 3 yılda başvurmuştur ve artışı açıklamamaktadır. Yıllara göre Sağlık Bakanlığı taraması sonucu pozitif olup (65 MRU (motion reference unit) ve altı) tarafımıza yönlendirilen hasta sayısı, KBE ve BBE hasta sayıları

ile yüzdeleri, bu iki gruptaki hasta sayılarının birbirine oranları ve yıllara göre BEA kantitatif değeri ortalaması Tablo 4.2’de verilmiştir.

Tablo 4.2 Yıllara göre biyotinidaz tarama programından yönlendirilen ve biyotinidaz eksikliği tanısı konan hasta sayıları

Tanı yılı	Bakanlık Taraması pozitif	Tüm hastalar n (%)	Kısmi BE n (%)	Belirgin BE n(%)	KBE/BBE (n/n)	Kantitatif BEA (nm/dk/ml)
2020 (ilk 6 ay)	332 (38.8)*	129 (6.1)	115 (7.2)	14 (2.8)	8.2	2 ± 0.7
2019	643 (57.5)*	370 (17.6)	333 (20.8)	37 (7.4)	9	1.9 ± 0.7
2018	512 (64.4)*	330 (15.7)	294 (18.3)	36 (7.2)	8.2	1.8 ± 0.6
2017	294 (63.6)*	187 (8.9)	151 (9.4)	36 (7.2)	4.2	1.6 ± 0.7
2016	323 (65.3)*	211 (10)	171 (10.7)	40 (8)	4.3	1.7 ± 0.7
2015	283 (70.6)*	200 (9.5)	167 (10.4)	33 (6.6)	5.1	1.7 ± 0.7
2014	169 (69.8)*	118 (5.6)	89 (5.6)	29 (5.8)	3.1	1.5 ± 0.7
2013	125 (59.2)*	74 (3.5)	39 (2.4)	35 (7)	1.1	1.1 ± 0.6
2012	91 (75.8)*	69 (3.3)	33 (2.1)	36 (7.2)	0.9	1 ± 0.7
2011	133 (86.4)*	115 (5.5)	72 (4.5)	43 (8.6)	1.7	1.2 ± 0.8
2010	171 (60)*	103 (4.9)	59 (3.7)	44 (8.8)	1.3	1.2 ± 0.7
2009	111 (64.8)*	72 (3.4)	34 (2.1)	38 (7.6)	0.9	1 ± 0.7
2008	23 (73.9)*	17 (0.8)	11 (0.7)	6 (1.2)	1.8	0.9 ± 0.7
2007		1 (0)	0 (0)	1 (0.2)	0	0.5 ± 0
2005		8 (0.4)	5 (0.3)	3 (0.6)	1.7	1.1 ± 0.6
2004		10 (0.5)	4 (0.2)	6 (1.2)	0.7	0.6 ± 0.4
2003		12 (0.6)	5 (0.3)	7 (1.4)	0.7	0.9 ± 0.6
2002		7 (0.3)	1 (0.1)	6 (1.2)	0.2	0.5 ± 0.5
2001		11 (0.5)	2 (0.1)	9 (1.8)	0.2	0.5 ± 0.5
2000		10 (0.5)	3 (0.2)	7 (1.4)	0.4	0.8 ± 0.6
1999		11 (0.5)	5 (0.3)	6 (1.2)	0.8	0.9 ± 0.6
1998		12 (0.6)	7 (0.4)	5 (1)	1.4	0.9 ± 0.7
1997		9 (0.4)	1 (0.1)	8 (1.6)	0.1	0.3 ± 0.4
1996		7 (0.3)	1 (0.1)	6 (1.2)	0.2	0.3 ± 0.5
1995		4 (0.2)	0 (0)	4 (0.8)	0	0.3 ± 0.2
1994		5 (0.2)	1 (0.1)	4 (0.8)	0.3	0.5 ± 0.6
Toplam		2102 (100)	1603 (100)	499 (100)	3.2	1.6 ± 0.8

BE: Biyotinidaz eksikliği, KBE: Kısmi biyotinidaz eksikliği, BBE: Belirgin biyotinidaz eksikliği, BEA: Biyotinidaz enzim aktivitesi, nm/dk/ml: nanomol/dakika/mililitre

Parantez içerisindeki yüzde değerleri ilgili hasta sayısının ilgili hasta grubundaki (tüm/kısmi/belirgin) tüm hastalara oranıdır. * ile işaretlenmiş yüzdelere ise ilgili yıl biyotinidaz eksikliği tanısı alan hastaların, ilgili yıl bakanlık taraması pozitif çıkan bireylere oranıdır.

4.1 DEMOGRAFİK VERİLER

Çalışmaya alınan hastaların %46.3'ü kız %53.7'si erkekti ve güncel yaş ortalaması 5.0 ± 4.7 yıl, medyan 4, dağılımı 0-26 yıldır. KBE olan hastaların yaş ortalaması, BBE olan hastalardan anlamlı olarak azdır ($p < 0.001$). Cinsiyetler açısından fark yoktur ($p = 0.217$). İki grupta da ebeveynlerin memleketi en sık Ağrı'ydı ve en sık bölge Doğu Anadolu'ydu. Kısmi ve belirgin BE olan hastaların demografik özellikleri Tablo 4.3'te gösterilmiştir.

Tablo 4.3 Kısmi ve belirgin biyotinidaz eksikliği hastalarının demografik özellikleri

	Tüm hastalar	Kısmi BE	Belirgin BE	p değeri
Cinsiyet				0.217 [†]
Kız, n (%)	973 (46.3)	730 (45.5)	243 (48.7)	
Erkek, n (%)	1129 (53.7)	873 (54.5)	256 (51.3)	
Yaş (yıl) ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	5.0 ± 4.7 4 (0-26)	4.0 ± 3.7 3 (0-26)	8.1 ± 6.1 7 (0-26)	$<0.001^{\phi}$
Ebeveyn Memleket, n (%)				
1. Ağrı	630 (15)	486 (15.2)	144 (14.4)	
2. Iğdır	300 (7.1)	194 (6.1)	106 (10.6)	
3. Van	212 (5)	172 (5.4)	40 (4)	
4. Erzurum	199 (4.7)	164 (5.1)	35 (3.5)	
5. Kars	190 (4.5)	134 (4.2)	56 (5.6)	
Bölge sıklığı				
Marmara	390 (9.6)	345 (11)	45 (4.8)	
Ege	34 (0.8)	30 (1)	4 (0.4)	
Akdeniz	92 (2.3)	72 (2.3)	20 (2.1)	
Karadeniz	758 (18.6)	573 (18.3)	185 (19.8)	
İç Anadolu	200 (4.9)	164 (5.2)	36 (3.9)	
Doğu Anadolu	2036 (50.1)	1537 (49)	499 (53.5)	
Güneydoğu Anadolu	471 (11.6)	336 (10.7)	135 (14.5)	

BE: Biyotinidaz eksikliği, [†] Ki-kare Testi, ^ϕ Mann Whitney U Testi

Her hasta için anne ve baba memleketleri hesaplamaya ayrı ayrı dahil edilmiştir ve yüzdeler toplam ebeveyn sayısı üzerinden hesaplanmıştır.

4.2 AİLE VERİLERİ

BBE olan hastaların anne, baba ve kardeşlerinin BEA düzeyi; KBE olan hastaların anne, baba ve kardeşlerinden düşüktü ($p<0.001$, $p<0.001$, $p=0.029$, sırasıyla).

BBE olan hastaların hem anne hem de babalarında kısmi ve BBE görülme oranı, KBE olan hastaların anne ve babalarından yüksekti ($p<0.001$, $p=0.024$, sırasıyla). En az bir kardeşte KBE görülme oranı KBE olan hastalarda yükseken, en az bir kardeşte BBE görülme oranı BBE olan hastalarda yüksekti ($p<0.001$ ikisi de).

BBE olan hastalarda akraba evliliklerinin ve 1. kuzen evliliklerinin oranı KBE olan hastalardan yüksekti ($p<0.001$, $p=0.008$, sırasıyla).

Hastaların anne, baba ve kardeş BEA yüzdeleri ortalamaları; annede, babada ve kardeşte BE bulunma oranları; ailede benzer hastalık varlığı ve hangi hastalık olduğu ile akraba evliliği oranları Tablo 4.4'te gösterilmiştir.

Tablo 4.4 Hastaların aile özellikleri

	Tüm hastalar	Kısmi BE	Belirgin BE	p değeri
Anne BEA (%) ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	52.2 $\pm$ 21.1 50.5 (2.1-170)	54.2 $\pm$ 20.0 52.4 (3.2-170)	46.8 $\pm$ 23.1 44.2 (2.13-136)	<0.001 [†]
Baba BEA (%) ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	54.6 $\pm$ 21.8 53.5 (0-169)	55.7 $\pm$ 20.5 55 (0-163.6)	51.6 $\pm$ 24.8 49 (0-169)	<0.001 [†]
Kardeş BEA (%) ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	50.4 $\pm$ 28.9 48.9 (0.56-246)	51.5 $\pm$ 26.6 49.8 (4.7-246)	47.8 $\pm$ 33.8 44.7 (0.56-165)	0.029 [†]
Annede KBE, n (%) BBE, n (%)	101 (9) 28 (2.5)	63 (7.7) 10 (1.2)	38 (12.5) 18 (5.9)	<0.001 [†]
Babada KBE, n (%) BBE, n (%)	80 (7.6) 29 (2.7)	52 (6.8) 16 (2.1)	28 (9.7) 13 (4.5)	0.024 [†]
≥ 1 kardeşte KBE n (%)	177 (26.7)	146 (31.2)	31 (15.8)	<0.001 [†]
≥ 1 kardeşte BBE n (%)	74 (11.1)	15 (3.2)	59 (30.1)	<0.001 [†]
Ailede benzer hastalık, n (%)	760 (36.2)	515 (32.2)	245 (49.2)	<0.001 [†]
Benzer hastalık tanısı Tanılı KBE, n (%) Tanılı BBE, n (%) BE düşündürülen bulgu, n (%)	378 (49.7) 176 (23.2) 206 (27.1)	304 (59) 56 (10.9) 155 (30.1)	74 (30.2) 120 (49) 51 (20.8)	<0.001 [†]
Akraba evliliği, n (%)	783 (37.3)	488 (30.5)	295 (60)	<0.001 [†]
1. kuzen evliliği n (%)	436 (55.7)	254 (52)	182 (61.7)	0.008 [†]

BE: Biotinidaz eksikliği, KBE: Kısmi biotinidaz eksikliği, BBE: Belirgin biotinidaz eksikliği, BEA: Biotinidaz enzimi aktivitesi, ort: Ortalama, SS: Standart sapma
[†] Mann Whitney U Testi, [‡] Ki-kare Testi

4.3 KLİNİK VERİLER

4.3.1 Tanı Verileri

Hastaların ortalama tanı yaşı 30 ± 31 gün, medyan tanı yaşı 22 gün, dağılımı 1-544 gündü. KBE'lerde ortalama tanı yaşı 28 ± 21 gün, medyan tanı yaşı 22 gün, dağılımı 1-180 gün ve BBE'lerde ortalama tanı yaşı 30 ± 20 gün, medyan tanı yaşı 25 gün, dağılımı 1-150 gün bulundu. Tüm hastalarla anlamlı bir fark yoktu. Hastaların tümü yenidoğan taraması ile tanı almış olmalarına rağmen, merkezimize bazı hastaların geç başvurusu olduğu görüldü. Tüm hastalar değerlendirildiğinde %69.9'u (n=1469) ilk 30 gün içerisinde, %22.5'i (n=473) 30-60 gün arası tanı almıştı. 60 gün ve üzerinde tanı alan hastalar %7.6 (n=160) oranında saptandı. Bunların 18'i (%0.08) 180 gün sonrası tanı almıştı. 180 gün sonrası tanı alan 18 hasta dışlandığında ortalama tanı yaşı tüm hastalar için 28 ± 20 gün, medyan tanı yaşı 22 gün, dağılımı 1-180 gün olarak hesaplandı.

BBE olan hastaların tanı yaşı KBE olan hastalardan yüksekti ($p<0.001$). Tanı yaşları 2008 yılı öncesi ve sonrası olarak değerlendirildiğinde; 2008 öncesi KBE tanısı alan 35 hastanın ortalama tanı yaşı, 2008 ve sonrası tanı alan 1560 hastadan yüksekti ($p<0.001$). 2008 öncesi BBE tanısı alan 72 hastanın ortalama tanı yaşı, 2008 ve sonrası tanı alan 424 hastadan düşüktü ($p<0.042$). Yıllara göre tanı yaşları ayrı ayrı değerlendirildiğinde son 3 yılda tanı yaşı medyan değerinin 20 gün altına indiği görüldü (2018'de 18, 2019'da 17, 2020'de 15 gün). Sonuçlar ve 2008 yılından itibaren tanı yaşı günleri tablo 4.5'te gösterilmiştir.

Tablo 4.5 Hastaların tanı yaşı ve tanı yaşlarının yıllara göre değişimi

	Tüm hastalar	Kısmi BE	Belirgin BE	p değeri
Tanı yaşı (gün) ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	30 $\pm$ 31 22 (1-544)	28 $\pm$ 24 21 (1-243)	35 $\pm$ 46 25 (1-544)	<0.001 [‡]
Yıllara göre tanı yaşı (gün) ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)				
2008 öncesi	35 $\pm$ 30 28 (4-184)	48 $\pm$ 39 33 (8-184)	28 $\pm$ 23 23 (4-120)	0.001 [‡]
2008 ve sonrası	30 $\pm$ 31 22 (1-544)	28 $\pm$ 23 21 (1-243)	36 $\pm$ 49 25 (1-544)	<0.001 [‡]
p değeri*	0.042 [‡]	<0.001 [‡]	0.042 [‡]	
Yıllara göre tanı yaşı (gün) ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)				
2008	46 $\pm$ 24 36 (13-93)	47 $\pm$ 27 39 (13-93)	44 $\pm$ 19 36 (27-75)	
2009	33 $\pm$ 30 28 (1-225)	28 $\pm$ 13 27 (3-62)	38 $\pm$ 39 29 (1-225)	
2010	46 $\pm$ 55 32 (7-365)	37 $\pm$ 26 30 (7-155)	58 $\pm$ 78 35 (9-365)	
2011	28 $\pm$ 17 25 (1-111)	28 $\pm$ 17 24 (1-111)	29 $\pm$ 16 25 (10-100)	
2012	30 $\pm$ 18 22 (7-90)	30 $\pm$ 17 23 (7-75)	31 $\pm$ 19 22 (8-90)	
2013	34 $\pm$ 27 28 (12-165)	37 $\pm$ 30 29 (13-165)	31 $\pm$ 23 26 (12-120)	
2014	31 $\pm$ 23 25 (11-180)	33 $\pm$ 25 26 (11-180)	26 $\pm$ 15 22 (11-90)	
2015	32 $\pm$ 25 25 (8-196)	32 $\pm$ 23 26 (8-180)	34 $\pm$ 33 25 (12-196)	
2016	37 $\pm$ 32 28 (11-285)	36 $\pm$ 27 27 (11-188)	44 $\pm$ 45 32 (14-285)	
2017	34 $\pm$ 28 24 (9-202)	34 $\pm$ 30 23 (9-202)	30 $\pm$ 17 25 (14-90)	
2018	26 $\pm$ 37 18 (7-544)	25 $\pm$ 25 18 (9-243)	39 $\pm$ 88 19 (7-544)	
2019	23 $\pm$ 27 17 (5-365)	21 $\pm$ 12 17 (5-100)	42 $\pm$ 76 21 (11-365)	
2020	17 $\pm$ 14 15 (7-147)	17 $\pm$ 14 15 (7-147)	15 $\pm$ 5 14 (10-27)	

BE: Biotinidaz eksikliği, ort: Ortalama, SS: Standart sapma, [‡] Mann Whitney U Testi, * 2008 öncesi – 2008 ve sonrası karşılaştırmasının p değeri

4.3.2 Muayene ve İzlem Verileri

BBE olan hastaların ilk şikayet yaşı ile KBE olan hastaların ilk şikayet yaşı arasında anlamlı fark yoktu ($p=0.955$). Ancak, BBE olan hastalarda semptom varlığı KBE olan hastalardan yüksekti ($p<0.001$).

KBE olan hastalarda en sık görülen üç şikayet sırasıyla deri bulgusu (%58.9), saç bulgusu (%15.3) ve nörolojik bulgular (%11.9). BBE olan hastalarda en sık görülen üç şikayet sırasıyla deri bulgusu (%43.4), nörolojik bulgular (%20.8) ve saç bulgusuydu (%16.7). KBE olan hastalarda deri bulgusu, BBE olan hastalardan anlamlı olarak yüksekken, nörolojik bulgular anlamlı olarak düşüktü ($p<0.001$). Sonuçlar Tablo 4.6’da gösterilmiştir.

Tablo 4.6 Hastaların ilk şikayet yaşı ve tüm izlem boyunca gelişen semptomların dağılımı

	Tüm hastalar	Kısmi BE	Belirgin BE	p değeri
İlk şikayet yaşı (ay) ort $\pm$ SS, medyan, dağılım	7.7 $\pm$ 21.4 1 (1-216)	6.4 $\pm$ 16.1 1 (1-132)	9.8 $\pm$ 27.9 1 (1-216)	0.955 $^{\phi}$
Semptom varlığı (tüm izlem) n (%)	547 (26)	341 (21.3)	206 (41.3)	<0.001 ‡
Semptomlar (tüm izlem)				0.001 ‡
Deri bulgusu, n (%)	376 (52.1)	238 (58.9)	138 (43.4)	
Saç bulgusu, n (%)	115 (15.9)	62 (15.3)	53 (16.7)	
Nörolojik bulgular, n (%)	114 (15.8)	48 (11.9)	66 (20.8)	
Hipotoni	38 (5.3)	19 (4.7)	19 (6)	
Hipertoni	33 (4.6)	14 (3.5)	19 (6)	
Nöromotor gg	18 (2.5)	8 (2)	10 (3.1)	
Konvülziyon	18 (2.5)	6 (1.5)	12 (3.8)	
Letarji	6 (0.8)	1 (0.2)	5 (1.6)	
Ataksi	1 (0.1)	0 (0)	1 (0.3)	
Konjunktivit n (%)	50 (6.9)	24 (5.9)	26 (8.2)	
İşitme bozukluğu n (%)	41 (5.7)	21 (5.2)	20 (6.3)	
Görme bozukluğu n (%)	26 (3.6)	11 (2.7)	15 (4.7)	

BE: Biotinidaz eksikliği, gg: Gelişim geriliği, ort: Ortalama, SS: Standart sapma

$^{\phi}$ Mann Whitney U Testi, ‡ Ki-kare Testi

Semptomlar için parantez içerisindeki yüzde değerleri ilgili semptom sayısının ilgili hasta grubunda (tüm/kısmi/belirgin) görülen tüm semptomlara oranıdır.

Hastaların semptomlara göre biyotinidaz aktivitesi yüzdeleri Tablo 4.7’de verilmiştir.

Tablo 4.7 Hastaların semptomlara göre biyotinidaz aktivite yüzdeleri

	Tüm hastalar	Kısmi BE	Belirgin BE
Deri bulgusu (%) ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	15.3 $\pm$ 9.2 16 (0-31.1)	21.2 $\pm$ 5.7 21.1 (11-31.1)	5.1 $\pm$ 3.3 5.4 (0-17)
Saç bulgusu (%) ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	13.5 $\pm$ 9.4 13 (0.1-31)	21.1 $\pm$ 5.7 21.6 (11-31)	5.4 $\pm$ 5.6 5 (0.1-10.2)
Nörolojik bulgular (%) ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	10.6 $\pm$ 9.6 6.6 (0-33.6)	20.7 $\pm$ 5.9 21 (11-33.6)	3.4 $\pm$ 2.8 2.6 (0-10)
Hipotoni	12.2 $\pm$ 9.1 10.9 (0-30)	20 $\pm$ 5.7 17.9 (11.7-30)	4.4 $\pm$ 3.2 4.3 (0-10)
Hipertoni	10.5 $\pm$ 9.2 7.2 (0-33.6)	19.6 $\pm$ 6.7 19 (11-33.6)	3.8 $\pm$ 2.6 3.6 (0-9)
Nöromotor gg	11.1 $\pm$ 11.1 5.2 (0.2-28.8)	23.3 $\pm$ 5.0 22 (15-28.8)	2.5 $\pm$ 2.1 1.9 (0.2-5.4)
Ataksi	0.2 $\pm$ 0 0.2 (0.2-0.2)	-	0.2 $\pm$ 0 0.2 (0.2-0.2)
Konvülziyon	9.4 $\pm$ 10.1 5.3 (0-28)	22.2 $\pm$ 6.2 23.7 (15-28)	3.1 $\pm$ 2.6 2.3 (0-7.5)
Letarji	5.0 $\pm$ 8.6 1.2 (0-22)	22 $\pm$ 0 22 (22-22)	1.6 $\pm$ 2.2 0.4 (0-5.2)
Konjunktivit (%) ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	11.7 $\pm$ 9.7 9.5 (0-31)	20.6 $\pm$ 6.1 21.3 (11-30.7)	3.7 $\pm$ 3.1 3.6 (0-10.4)
İşitme bozukluğu (%) ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	14.6 $\pm$ 9.8 9.8 (0-34.7)	22.7 $\pm$ 6.3 22.1 (13-34.7)	6.1 $\pm$ 3.4 6.4 (0-10.5)
Görme bozukluğu (%) ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	10.3 $\pm$ 9.3 7.6 (0-30.3)	20.3 $\pm$ 5 20.1 (14-30.3)	3.6 $\pm$ 3.5 2 (0-10.4)

BE: Biyotinidaz eksikliği, ort: Ortalama, SS: Standart sapma, gg: Gelişim geriliği

ϕ Mann Whitney U Testi, $\ddagger$ Ki-kare Testi

Semptomlar için biyotinidaz aktivite yüzdesi eşik değerleri, bu eşik değerlere ait sensitivite ve spesifisitesi sonuçları ve eğri altında kalan alanlar Tablo 4.8’de verilmiştir.

Tablo 4.8 Semptomlar için biyotinidaz aktivite yüzdesi eşik değerleri

	BEA% eşik değer	Sensitivite	Spesifisite	AUC	SE	p değeri
Deri bulgusu	13.9	%46.4	%72.9	0.616	0.017	<0.001
Saç bulgusu	14.1	%67.2	%70	0.716	0.032	<0.001
Nörolojik bulgu	14.1	%67.6	%70.1	0.730	0.032	<0.001
Konjunktivit	13.5	%61.7	%71.6	0.689	0.043	<0.001
İşitme bozukluğu	-	-	-	0.591	0.092	0.257
Görme bozukluğu	5.2	%80	%88.5	0.847	0.084	0.007

BEA%: Biyotinidaz enzim aktivite yüzdesi, AUC: Eğri altı alan, SE: Standart hata

KBE olan hastalarda semptom varlığı için de bir eşik değer hesaplaması yapıldı. BEA %25’ten az olan hastalar ve BEA %25 ve üstü olan hastalar şeklinde iki grup olarak incelendiğinde BEA %25’ten az olan hastalarda semptom varlığı anlamlı olarak yüksek bulundu ($p<0.001$). Sonuçlar Tablo 4.9’da gösterilmiştir.

Tablo 4.9 KBE olan hastalarda biyotinidaz aktivite yüzdesine göre semptom varlığı

	BEA% <%25	BEA% ≥ %25	p değeri
Semptom yok, n (%)	734 (75.8)	528 (83.1)	<0.001 [‡]
Semptom var, n (%)	234 (24.2)	107 (16.9)	

BEA%: Biyotinidaz enzim aktivite yüzdesi, [‡] Ki-kare Testi

BBE olan hastalarda birinci ayda bulgu varlığı KBE olan hastalardan yüksekti ($p<0.001$). Birinci ayda bulgusu olan ve olmayan hastaların tanı yaşları incelendiğinde bulgusu olmayan hastaların tanı yaşlarının daha düşük olduğu saptandı (tüm grupta $p=0.047$). KBE ve BBE olan hastalarda bulgusu olanlar ve olmayanların tanı yaşları ayrı değerlendirildiğinde anlamlı fark saptanmadı. Birinci ayda bulgusu olan hasta sayısı, tanı yaşı ortalamaları ve BEA yüzdeleri Tablo 4.10’da verilmiştir.

Tablo 4.10 Hastaların birinci ayda bulgu varlığı ve biyotinidaz aktivitesi yüzdeleri

	Tüm hastalar	Kısmi BE	Belirgin BE	p değeri
Birinci ayda bulgu varlığı, n (%)	408 (19.4)	251 (15.7)	157 (31.5)	$<0.001^{\dagger}$
Birinci ayda bulgu var Tanı yaşı (gün), ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	30.8 $\pm$ 30.8 23 (1-365)	29.6 $\pm$ 26.1 21 (2-202)	32.6 $\pm$ 37.1 27 (1-365)	
Birinci ayda bulgu yok Tanı yaşı (gün), ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	29.9 $\pm$ 30.7 21 (1-544)	28.2 $\pm$ 23.4 21 (1-243)	36.5 $\pm$ 49.7 24 (5-544)	
p değeri $^{\phi}$	0.047	0.553	0.312	
BEA (%) ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	15 $\pm$ 9.2 15 (0-34.7)	20.1 $\pm$ 5.8 21 (11-34.7)	5.4 $\pm$ 4.2 5.3 (0-10.4)	$<0.001^{\phi}$

BE: Biyotinidaz eksikliği, BEA: Biyotinidaz enzim aktivitesi, ort: Ortalama, SS: Standart sapma, $^{\phi}$ Mann Whitney U Testi, † Ki-kare Testi

Hastaların ilk muayene bulguları değerlendirildiğinde, ilk muayenede semptom varlığı BBE olan hastalarda daha yüksekti ($p<0.001$). Ayrıca, işitme ve ataksi hariç tüm bulgular, BBE olan hastalarda daha sık görüldü ($p<0.05$). Hem KBE olan hastalarda hem de BBE olan hastalarda en sık görülen semptomlar deri bulguları ve nörolojik bulgularıdır. Hastaların ilk muayene bulguları Tablo 4.11’de verilmiştir.

Tablo 4.11 Hastaların ilk muayenede semptom varlığı ve muayene bulguları

	Tüm hastalar	Kısmi BE	Belirgin BE	p değeri
Semptom varlığı, n (%)	430 (20.5)	261 (16.4)	169 (33.9)	$<0.001^{\dagger}$
Deri bulgusu, n (%)	317 (15.1)	196 (12.3)	121 (24.3)	$<0.001^{\dagger}$
Saç bulgusu, n (%)	64 (3.1)	28 (1.8)	36 (7.2)	$<0.001^{\dagger}$
Nörolojik bulgu, n (%)	71 (3.4)	30 (1.9)	41 (8.2)	$<0.001^{\dagger}$
Hipotoni, n (%)	36 (1.7)	17 (1.1)	19 (3.8)	$<0.001^{\dagger}$
Hipertoni, n (%)	29 (1.4)	11 (0.7)	18 (3.6)	$<0.001^{\dagger}$
Nöromotor gg, n (%)	9 (0.4)	1 (0.1)	8 (1.6)	$<0.001^{\dagger}$
Ataksi, n (%)	0	0	0	
Konvülsiyon, n (%)	11 (0.5)	2 (0.1)	9 (1.8)	$<0.001^{\dagger}$
Letarji, n (%)	6 (0.3)	1 (0.1)	5 (1)	0.004^b
Konjunktivit, n (%)	47 (2.2)	23 (1.4)	24 (4.8)	$<0.001^{\dagger}$
İşitme boz., n (%)	13 (0.6)	7 (0.4)	6 (1.2)	$0.057^{\dagger}$
Görme boz., n (%)	5 (0.2)	1 (0.1)	4 (0.8)	0.013^b

BE: Biotinidaz eksikliği, ort: Ortalama, SS: Standart sapma, † Ki-kare Testi, b Fisher Kesin Testi, boz.: bozukluğu

Parantez içerisinde belirtilen yüzde değerleri ilgili semptomu olan hasta sayısının ilgili gruptaki (tüm/kısmi/belirgin) tüm hasta sayısına oranıdır.

Son muayene semptomları incelendiğinde, BBE olan hastalarda semptom görülme sıklığı KBE olan hastalardan yüksekti ($p<0.001$). Semptom varlığı ile tedaviye uyum ilişkisi incelendiğinde, KBE olan hastalardan tedaviye uyumsuz olanlarda semptom görülme sıklığı (%31.6) tedaviye uyumlu olanlarda semptom görülme sıklığından (%4.8) yüksekti ($p<0.001$). Aynı şekilde BBE olan hastalardan tedaviye uyumsuz olanlarda da semptom görülme sıklığı (%47.8) tedaviye uyumlu olanlarda semptom görülme sıklığından (%10.6) yüksekti ($p<0.001$). Hastaların son muayenede semptom varlığı ve tedavi uyumları Tablo 4.12’de verilmiştir.

Tablo 4.12 Hastaların son muayenede semptom varlığı ve tedavi uyumları

	Tüm hastalar (n=1640)	Kısmi BE (n=1215)	Belirgin BE (n=425)	p değeri
Semptom varlığı, n (%)	149 (9.1)	79 (6.5)	70 (16.5)	$<0.001^{\dagger}$
Semptom var, n (%)				
Tedaviye uyumlu	93 (6.2)	55 (4.8)	38 (10.6)	
Tedaviye uyumsuz	56 (39.2)	24 (31.6)	32 (47.8)	
p değeri*	$<0.001^{\dagger}$	$<0.001^{\dagger}$	$<0.001^{\dagger}$	

BE: Biotinidaz eksikliği, † Ki-kare Testi, * semptomu olanlar ile olmayanların tedavi uyumu karşılaştırması

Tedaviye uyumlu olduğu halde son muayenede semptomu olan hastaların muayene bulguları ve biyotinidaz enzim aktivite yüzdeleri Tablo 4.13'te verilmiştir.

Tablo 4.13 Tedaviye uyumlu olduğu halde son muayenede semptomu olan hastaların muayene bulguları ve biyotinidaz aktivite yüzdeleri

	Tüm hastalar		Kısmi BE		Belirgin BE	
	n (%)	BEA% ort. $\pm$ SS	n (%)	BEA% ort. $\pm$ SS	n (%)	BEA% ort. $\pm$ SS
Deri bulgusu	21 (22.6)	16.3 $\pm$ 9.3	14 (25.5)	21.7 $\pm$ 6.0	7 (18.4)	5.5 $\pm$ 3.0
Saç bulgusu	18 (19.4)	16.7 $\pm$ 9.9	13 (23.6)	21.8 $\pm$ 6.1	5 (13.2)	3.5 $\pm$ 2.5
Nörolojik bulgu	29 (31.2)	14.2 $\pm$ 9.7	14 (25.5)	21.5 $\pm$ 5.5	15 (39.6)	4.5 $\pm$ 2.7
Hipotoni	8 (8.6)	9.3 $\pm$ 6.9	3 (5.5)	16.7 $\pm$ 5.2	5 (13.2)	4.8 $\pm$ 1.9
Hipertoni	4 (4.3)	14.6 $\pm$ 8.7	2 (3.6)	22 $\pm$ 0	2 (5.3)	7.1 $\pm$ 2.7
Nöromotor gg	11 (11.8)	15.2 $\pm$ 11.1	6 (10.9)	24.3 $\pm$ 4.1	5 (13.2)	4.3 $\pm$ 3.4
Konvülziyon	5 (5.4)	13.4 $\pm$ 10.4	3 (5.5)	20.8 $\pm$ 6.1	2 (5.3)	3.7 $\pm$ 2.1
Letarji	1 (1.1)	5.2 $\pm$ 0	0	0	1 (2.6)	5.2 $\pm$ 0
Konjunktivit	2 (2.2)	5.2 $\pm$ 6.0	0	0	2 (5.3)	5.2 $\pm$ 6.0
İşitme bozukluğu	25 (26.9)	14.1 $\pm$ 9.6	13 (23.6)	18.7 $\pm$ 5.6	12 (31.6)	5.6 $\pm$ 3.6
Görme bozukluğu	21 (22.6)	11.2 $\pm$ 8.6	9 (16.4)	20.2 $\pm$ 5.0	12 (31.6)	5.3 $\pm$ 3.4

BE: Biyotinidaz eksikliği, BEA%: Biyotinidaz enzim aktivite yüzdesi, ort: Ortalama, SS: Standart sapma

Semptomlar için belirtilen parantez içerisindeki yüzde değerleri ilgili semptomun tedavi uyumu olup son muayenede semptomu olan hastalardaki tüm semptomlara oranıdır.

İlk muayenede semptom görülen ve tedaviye uyumlu olan hastalarda gerileyen semptomlar Tablo 4.14'te verilmiştir. Örneğin tüm grupta ilk muayenede deri bulgusu olan 239 hastanın uyumlu tedavi ile 232'sinin (%97.1'i) bulgusu gerilemiştir. İlk muayenede görme bulgusu olup tedaviye uyumlu hasta yoktur. Bu yüzden tabloda verilmemiştir.

Tablo 4.14 Tedaviye uyumlu hastalarda semptomların gerileme durumu (semptomu gerileyen hasta sayısı/semptomu olan tüm hastalar (%))

	Tüm hastalar	Kısmi BE	Belirgin BE
Deri bulgusu	232/239 (97.1)	149/154 (96.8)	83/85 (97.6)
Saç bulgusu	40/43 (93)	18/20 (90)	22/23 (95.7)
Nörolojik bulgu	46/55 (83.6)	19/19 (100)	27/36 (75)
Hipotoni	20/24 (83.3)	10/10 (100)	10/14 (71.4)
Hipertoni	19/20 (95)	7/7 (100)	12/13 (92.3)
Nöromotor gg	1/4 (25)	0	1/4 (25)
Konvülziyon	4/4 (100)	1/1 (100)	3/3 (100)
Letarji	2/3 (66.7)	1/1 (100)	1/2 (50)
Konjunktivit	36/36 (100)	17/17 (100)	19/19 (100)
İşitme bozukluğu	7/10 (70)	5/6 (83.3)	2/4 (50)

BE: Biotinidaz eksikliği

Tüm hasta grubunda ilaç doz artışı gereksinimi olan hasta sayısı 84'tü (tüm hastaların % 4'ü). İlaç doz artışı yapılma oranı KBE (%3.7) ve BBE (%5) olan hastalarda benzerdi ($p=0.185$). Hastaların semptomları incelendiğinde, KBE olan hastalarda deri ve saç bulguları daha sık iken BBE olan hastalarda işitme bozukluğu daha sıklı, ancak anlamlı fark yoktu ($p=0.420$). Sonuçlar Tablo 4.15'te verilmiştir.

Tablo 4.15 İlaç doz artışı yapılan hastalar ve semptomları

	Tüm hastalar n (%)	Kısmi BE n (%)	Belirgin BE n (%)	p değeri
İlaç doz artırımı	84 (4)	59 (3.7)	25 (5)	0.185 [‡]
Deri bulgusu	28 (27.7)	21 (30.9)	7 (21.2)	0.420 [‡]
Saç bulgusu	25 (24.8)	19 (27.9)	6 (18.2)	
Nörolojik bulgular	14 (13.9)	9 (13.2)	5 (15.2)	
Hipotoni	4 (4)	2 (2.9)	2 (6.1)	
Hipertoni	1 (1)	1 (1.5)	0	
Nöromotor gg	6 (6)	3 (4.4)	3 (9.1)	
Konvülziyon	3 (3)	3 (4.4)	0	
İşitme bozukluğu	19 (18.8)	10 (14.7)	9 (27.3)	
Görme bozukluğu	15 (14.9)	9 (13.2)	6 (18.2)	

BE: Biotinidaz eksikliği, gg: gelişim geriliği, [‡] Ki-kare Testi

Semptomlar için belirtilen parantez içerisindeki yüzde değerleri ilgili semptomun ilaç doz artışı gereksinimi olan hastalardaki tüm semptomlara oranıdır.

Tüm hastalar arasında düzensiz ilaç kullanan hasta sayısı 34'tü (%1.6). KBE'lerin %1.6'sı ve BBE'lerin %1.6'sı düzensiz ilaç kullanmaktaydı. KBE ve BBE olan hastalar arasında düzensiz ilaç kullanma sıklığı açısından fark yoktu ($p=0.980$). Düzensiz ilaç kullanan hastalardan KBE olanlarda daha sık deri ve saç bulguları görülürken BBE olan hastalarda nörolojik bozukluk görüldü ($p<0.001$). Sonuçlar Tablo 4.16'da verilmiştir.

Tablo 4.16 Düzensiz ilaç kullanan hastalar ve semptomları

	Tüm hastalar n (%)	Kısmi BE n (%)	Belirgin BE n (%)	p değeri
Düzensiz ilaç kullanımı	34 (1.6)	26 (1.6)	8 (1.6)	0.980 [†]
Deri bulgusu	18 (42.9)	15 (60)	3 (17.6)	<0.001 ^b
Saç bulgusu	12 (28.6)	9 (36)	3 (17.6)	
Nörolojik bulgular	5 (11.9)	0	5 (29.4)	
Hipertoni	1 (2.4)	0	1 (5.9)	
Nöromotor gg	2 (4.8)	0	2 (11.8)	
Konvülziyon	2 (4.8)	0	2 (11.8)	
Konjunktivit	1 (2.4)	0	1 (5.9)	
İşitme bozukluğu	4 (9.5)	1 (4)	3 (17.6)	
Görme bozukluğu	2 (4.8)	0	2 (11.8)	

BE: Biotinidaz eksikliği, gg: gelişim geriliği, [†] Ki-kare Testi, ^b Fisher Kesin Testi

Semptomlar için belirtilen parantez içerisindeki yüzde değerleri ilgili semptomun düzensiz tedaviye bağlı semptom gelişen hastalardaki tüm semptomlara oranıdır.

Tedaviye düzenli devam etmelerine rağmen tüm hastalar içerisinde 2 hastada kozmetik amaçlı biyotin preparatı kullanımına bağlı semptom görüldü. İki hastanın da medikal amaçlı kullanılan biyotin tedavisi sonrası yeni gelişen semptomlarının tamamen gerilediği saptandı.

Tedavide duraklama görülme sıklığı tüm hastalarda %5.3'tü ($n=111$). BBE (%12.5) olan hastalarda %12.5 ve KBE olan hastalarda %3.1 sıklıkta saptandı. BBE olan hastalarda daha yüksekti ($p<0.001$). Duraklamada semptomsuz olma oranı ise KBE olan hastalarda daha yüksekti ($p=0.029$). Ancak KBE ve BBE olan hastaların ortalama duraklama süreleri ve semptom dağılımları arasında anlamlı fark yoktu ($p=0.668$, $p=0.419$, sırasıyla). Sonuçlar Tablo 4.17'de verilmiştir.

Tablo 4.17 Tedavide duraklama yapan hastalar, duraklama süreleri ve semptomları

	Tüm hastalar n (%)	Kısmi BE n (%)	Belirgin BE n (%)	p değeri
Tedavide duraklama	111 (5.3)	49 (3.1)	62 (12.5)	<0.001 [‡]
Duraklama süresi (ay), ort ± SS, medyan (dağılım)	17.5 ± 24.1 7 (1-144)	18.4 ± 26.9 7 (2-144)	16.8 ± 21.8 7 (1-108)	0.668 ^φ
Duraklamada semptomsuz	55 (49.5)	30 (61.2)	25 (40.3)	0.029 [‡]
Deri bulgusu	32 (47.1)	9 (42.9)	23 (48.9)	0.419 [‡]
Saç bulgusu	23 (33.8)	7 (33.3)	16 (34)	
Nörolojik bulgular	9 (13.2)	4 (19)	5 (10.6)	
Hipotoni	3 (4.4)	2 (9.5)	1 (2.1)	
Hipertoni	2 (2.9)	1 (4.8)	1 (2.1)	
Nöromotor gg	1 (1.5)	0	1 (2.1)	
Konvülziyon	3 (4.4)	1 (4.8)	2 (4.2)	
İşitme bozukluğu	3 (4.4)	0	3 (6.4)	
Görme bozukluğu	1 (1.5)	1 (4.8)	0	

BE: Biotinidaz eksikliği, ort: Ortalama, SS: Standart sapma, gg: gelişim geriliği, [‡] Ki-kare Testi, ^φ Mann Whitney U Testi, [‡] Fisher Kesin Testi

Parantez içerisindeki yüzde değerleri ilgili semptomun görüldüğü hasta sayısının tedavide duraklama yapan hastalarda görülen tüm semptomlara oranıdır.

Tüm hastalarda ortalama yaş (yıl) 5.0 ± 4.7 (medyan değer 4, 0-26), ortalama takip süresi (yıl) 2.7 ± 3.4 (medyan değer 1, 0-17) ve takipsizlik süresi (yıl) 4.4 ± 4.1 (medyan değer 3, 0-23) olarak bulundu. BBE olan hastalarda, yaş, takip süresi ve takipsizlik süresi KBE olan hastalardan uzundu ($p < 0.001$ tümü). Ayrıca, takipsizlik oranı da BBE olan hastalarda daha yüksekti ($p = 0.005$). Hem KBE olan hastaların hem de BBE olan hastaların yaşları ile takip süreleri arasında anlamlı fark vardı ($p < 0.001$ tümü). Hastaların takip süresi, takipsiz kalan hastalar ve takipsizlik süreleri Tablo 4.18’de gösterilmiştir.

Tablo 4.18 Hastaların takip süresi, takipsiz kalan hastalar ve takipsizlik süresi

	Tüm hastalar	Kısmi BE	Belirgin BE	p değeri
Yaş (yıl), ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	5 $\pm$ 4.7 4 (0-26)	4 $\pm$ 3.7 3 (0-26)	8.1 $\pm$ 6.1 7 (0-26)	<0.001 ^ϕ
Takip süresi (yıl) ort $\pm$ SS, medyan (dağılım) p değeri*	2.7 $\pm$ 3.4 1 (0-25) <0.001 ^b	2.2 $\pm$ 2.6 1 (0-17) <0.001 ^b	4.6 $\pm$ 4.7 3 (0-25) <0.001 ^b	<0.001 ^ϕ
Takipsizlik, n (%)	919 (43.8)	674 (42.1)	245 (49.2)	0.005 [‡]
Takipsizlik süresi (yıl), ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	4.4 $\pm$ 4.1 3 (0-23)	3.8 $\pm$ 3.5 2 (0-22)	6.2 $\pm$ 5.1 5 (1-23)	<0.001 ^ϕ

BE: Biotinidaz eksikliği, ort: Ortalama, SS: Standart sapma, ^ϕ Mann Whitney U Testi,
[‡] Ki-kare Testi, ^b Wilcoxon İşaretili Sıralar Testi, * hastaların yaş ve takip sürelerinin
karşılaştırılması

Kaybedilen 6 hastanın kaybedildiği yaş, biotinidaz enzim aktivite yüzdesi ve ek hastalıkları Tablo 4.19’da verilmiştir. 2 numaralı hasta tarafımıza tarama sonucu yönlendirildikten sonra BEA %34 bulunmuş, BEA tekrarı için kontrole çağırıldığında dış merkezde kaybedildiği öğrenilmiştir.

Tablo 4.19 Biotinidaz eksikliği tanılı kaybedilen hastaların özellikleri

No.	Kaybedildiği yaş (ay)	Biotinidaz enzim aktivitesi (%)	Ek hastalık
1	1	8.7	Ani bebek ölümü sendromu
2	3	34	Fin tipi nefrotik sendrom
3	1.5	26.93	Down sendromu ve kardiyak anomali
4	2	15.27	Spinal müsküler atrofi tip 1
5	2.5	23.42	Down sendromu
6	2	17.99	Solunum sıkıntısı ve mantar sepsisi

4.4 LABORATUVAR VERİLERİ

Hastaların kalitatif yönetime göre boyanma özellikleri incelendiğinde, BBE olan hastalarda boyanma olmayanların ve çok az renkli olanların oranı KBE olanlardan yüksek iken az, hafif az renkli boyanma ve renklenme olanların oranı düşüktü ($p<0.001$).

BBE olan hastalarda BEA kantitatif değeri ve yüzdesi KBE olanlardan düşüktü (ikisi de $p<0.001$). Hastaların kalitatif ve kantitatif yöntemle değerlendirilen BEA özellikleri Tablo 4.20’de gösterilmiştir.

Tablo 4.20 Hastaların biyotinidaz enzim aktivitesi özellikleri

	Tüm hastalar	Kısmi BE	Belirgin BE	p değeri
Kalitatif, n (%)				$<0.001^{\dagger}$
Boyanma yok	212 (12)	16 (1.2)	196 (48.4)	
Çok az renkli	190 (10.8)	60 (4.4)	130 (32.1)	
Az renkli	534 (30.3)	463 (34.1)	71 (17.5)	
Hafif az renkli	540 (30.6)	535 (39.4)	5 (1.2)	
Renklenme var	286 (16.2)	283 (20.9)	3 (0.7)	
Kantitatif BEA (nm/dk/ml), ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	1.6 $\pm$ 0.8 1.6 (0-3.68)	1.9 $\pm$ 0.5 2 (0.1-3.7)	0.5 $\pm$ 0.3 0.5 (0-2)	$<0.001^{\phi}$
BEA (%), ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	18.2 $\pm$ 9.1 19 (0-35)	22.2 $\pm$ 6.2 22.8 (11-35)	5.4 $\pm$ 3.4 5.4 (0-10.4)	$<0.001^{\phi}$

BE: Biyotinidaz eksikliği, BEA: Biyotinidaz enzim aktivitesi, ort: Ortalama, SS: Standart sapma, nm/dk/ml: nanomol/dakika/mililitre, ϕ Mann Whitney U Testi, † Ki-kare Testi

KBE olan hastaların Sağlık Bakanlığı Taraması'nda enzim aktivitesi BBE olan hastalardan yüksekti ($p < 0.001$ tümü). Sonuçlar Tablo 4.21'de gösterilmiştir.

Tablo 4.21 Hastaların Sağlık Bakanlığı Taraması sonuçları

	Tüm hastalar	Kısmi BE	Belirgin BE	p değeri
SBT1 (MRU), ort $\pm$	40 $\pm$ 17.9	45.1 $\pm$ 14.2	16.7 $\pm$ 14.2	<0.001 [†]
SS, medyan (dağılım)	41.6 (0-155.3)	45.6 (2.4-155.3)	13.9 (0-90.6)	
SBT 2 (MRU), ort $\pm$	46.3 $\pm$ 18	51.8 $\pm$ 13	20.4 $\pm$ 15.6	<0.001 [†]
SS, medyan (dağılım)	50.2 (0-134.8)	54.4 (0-134.8)	18.6 (0-65)	
SBT 3 (MRU), ort $\pm$	42.7 $\pm$ 24.6	57.9 $\pm$ 15.4	20 $\pm$ 17	<0.001 [†]
SS, medyan (dağılım)	46.8 (2.1-97)	56.4 (41-97)	17.6 (2.1-55.6)	

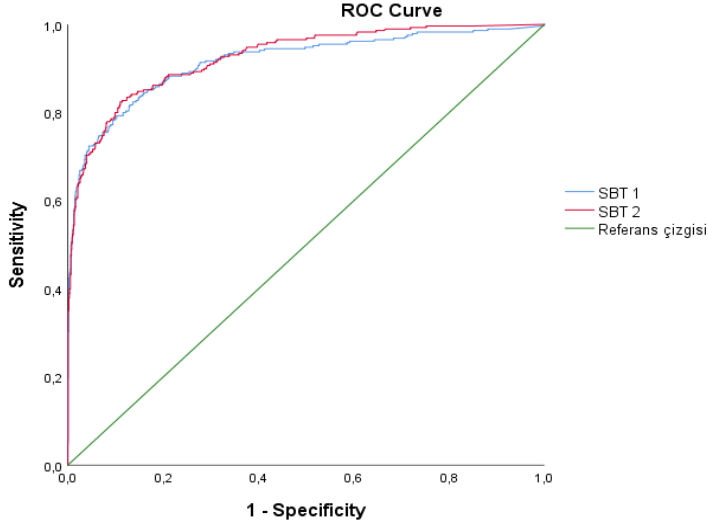
BE: Biotinidaz eksikliği, SBT: Sağlık Bakanlığı Taraması, [†] Mann Whitney U Testi
Sağlık Bakanlığı tarama sonuçları birimi MRU'dur (motion reference unit).

Hastalara yapılan Sağlık Bakanlığı Taraması sonuçları ile kısmi ve belirgin BE için eşik değer incelendiğinde; ilk tarama sonuçlarında eşik değer 26.17 MRU (motion reference unit) bulunmuş ve kısmi ve belirgin BE'yi ayırmada %79.5 sensitivite ve %89.9 spesifisite göstermiştir. İkinci tarama sonuçlarında ise eşik değer 34.35 MRU bulunmuş ve %82,5 sensitivite ve %89 spesifisite göstermiştir. Sonuçlar Tablo 4.22 ve Şekil 4.1'de gösterilmiştir.

Tablo 4.22 Sağlık Bakanlığı Taraması eşik değerleri

	Eşik değer	Sensitivite	Spesifisite	AUC	SE	p değeri
SBT 1	26.17 MRU	%79.5	%89.9	0.916	0.011	<0.001
SBT 2	34.35 MRU	%82.5	%89	0.926	0.009	<0.001

SBT: Sağlık Bakanlığı Taraması, AUC: Eğri altı alan, SE: Standart hata

Şekil 6. Sağlık Bakanlığı Taraması değerleri için ROC eğrisi

Hastaların tedavi öncesi metabolik testlerinin laboratuvar sonuçları incelendiğinde; belirgin ve kısmi BE olanlar arasında laktat yüksekliği ve hiperamonyemi sıklığı açısından anlamlı fark yoktu ($p=0.855$, $p=0.064$, sırasıyla). Ancak, MSMS (ardışık kütle spektrometrisi) ile C0 karnitin düşüklüğü, MSMS ile C5OH karnitin yüksekliği ve İOA 3-OH IVA yüksekliği, BBE olan hastalarda daha sıklıkla sıklıkla ($p=0.011$, $p<0.001$, $p=0.012$, sırasıyla). Sonuçlar 4.23'te gösterilmiştir.

Tablo 4.23 Hastaların tedavi öncesi metabolik testlerinin laboratuvar sonuçları

	Tüm hastalar	Kısmi BE	Belirgin BE	p değeri
Laktat yüksekliği, n (%) [*]	13 (13.8)	4 (12.9)	9 (14.3)	0.855 [‡]
Hiperamonyemi, n (%) [*]	22 (24.7)	3 (11.5)	19 (30.2)	0.064 [‡]
MSMS C0 karnitin düşüklüğü, n (%) [*]	10 (0.6)	4 (0.3)	6 (1.5)	0.011 ^b
MSMS C5OH karnitin yüksekliği, n (%) [*]	15 (0.8)	1 (0.1)	14 (3.5)	<0.001 ^b
İOA 3-OH IVA yüksekliği, n (%) [*]	127 (8)	83 (7)	44 (11)	0.012 [‡]

BE: Biotinidaz eksikliği, MSMS: Ardışık kütle spektrometrisi, İOA: İdrar organik asitleri, 3-OH IVA: 3-hidroksi izovalerik asit, [‡] Ki-kare Testi, ^b Fisher Kesin Testi.

^{*} ile işaretlenmiş yüzdeler ilgili laboratuvar parametrisi mevcut olan hastalar içerisindeki yüzdelerdir.

Laktat yüksekliği olan 13 hastanın (KBE n=4, BBE n=9) biyotinidaz aktivite yüzdesi, en sık görülen semptom, semptomu olmayan ve tedavi ile normale dönen hasta sayıları Tablo 4.24'te gösterilmiştir.

Tablo 4.24 Laktat yüksekliği olan hastaların özellikleri

	Tüm hastalar	Kısmi BE	Belirgin BE
BEA (%), ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	7.4 $\pm$ 8.8 2 (0-25.6)	19.2 $\pm$ 5.5 18.5 (14.2-25.6)	2.1 $\pm$ 2.2 1.8 (0-6.2)
En sık semptom, n (%)	Hipotoni (%38)	Nöromotor gg (%75)	Hipotoni (%44)
Semptomsuz, n (%)	4 (30.8)	1 (25)	3 (33.3)
Tedavi ile normale dönenler, n (%)	13 (100)	4 (100)	9 (100)

BE: Biyotinidaz eksikliği, ort: Ortalama, SS: Standart sapma, BEA: Biyotinidaz enzim aktivitesi

Hiperamonyemisi olan 22 hastanın (KBE n=3, BBE n=19) biyotinidaz aktivite yüzdesi, en sık görülen semptom, semptomu olmayan ve tedavi ile normale dönen hasta sayıları Tablo 4.25'te gösterilmiştir.

Tablo 4.25 Hiperamonyemisi olan hastaların özellikleri

	Tüm hastalar	Kısmi BE	Belirgin BE
BEA (%), ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	5.2 $\pm$ 6.2 2.9 (0-22.5)	18.5 $\pm$ 4.9 20 (13-22.5)	3.1 $\pm$ 2.8 2 (0-8.5)
En sık semptom, n (%)	Deri bulgusu (%50)	Deri bulgusu (%33.3)	Deri bulgusu (%52.6)
Semptomsuz, n (%)	8 (36.4)	2 (66.7)	6 (31.6)
Tedavi ile normale dönenler, n (%)	22 (100)	3 (100)	19 (100)

BE: Biyotinidaz eksikliği, ort: Ortalama, SS: Standart sapma, BEA: Biyotinidaz enzim aktivitesi

MSMS ile C0 karnitin düşüklüğü olan 10 hastanın (KBE n=4, BBE n=6) biyotinidaz aktivite yüzdesi, en sık görülen semptom, semptomu olmayan ve tedavi ile normale dönen hasta sayıları Tablo 4.26’da gösterilmiştir.

Tablo 4.26 Ardışık kütle spektrometrisi C0 karnitin düşüklüğü olan hastaların özellikleri

	Tüm hastalar	Kısmi BE	Belirgin BE
BEA (%), ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	11.6 $\pm$ 8 11.2 (0-24)	18.8 $\pm$ 4.6 18.5 (14-24)	6.9 $\pm$ 6 7 (0-8.4)
En sık semptom, n (%)	Deri ve saç bulgusu (%100)	-	Deri ve saç bulgusu (%100)
Semptomsuz, n (%)	9 (90)	4 (100)	5 (83.3)
Tedavi ile normale dönenler, n (%)	9 (90)	4 (100)	5 (83.3)

BE: Biyotinidaz eksikliği, ort: Ortalama, SS: Standart sapma, BEA: Biyotinidaz enzim aktivitesi

MSMS ile C5OH karnitin yüksekliği olan 15 hastanın (KBE n=1, BBE n=14) biyotinidaz aktivite yüzdesi, en sık görülen semptom, semptomu olmayan ve tedavi ile normale dönen hasta sayıları Tablo 4.27’de gösterilmiştir.

Tablo 4.27 Ardışık kütle spektrometrisi C5OH karnitin yüksekliği olan hastaların özellikleri

	Tüm hastalar	Kısmi BE	Belirgin BE
BEA (%), ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	3.2 $\pm$ 4.3 2 (0-17)	17 $\pm$ 0	2.2 $\pm$ 2.2 1.5 (0-6.2)
En sık semptom, n (%)	Deri bulgusu (%60)	-	Deri bulgusu (%64.3)
Semptomsuz, n (%)	2 (13.3)	1 (100)	1 (7.1)
Tedavi ile normale dönenler, n (%)	15 (100)	1 (100)	14 (100)

BE: Biyotinidaz eksikliği, ort: Ortalama, SS: Standart sapma, BEA: Biyotinidaz enzim aktivitesi

İOA 3-OH IVA atılımında yüksekliği olan 127 hastanın (KBE n=83, BBE n=44) biyotinidaz aktivite yüzdesi, en sık görülen semptom, semptomu olmayan ve tedavi ile normale dönen hasta sayıları Tablo 4.28’de gösterilmiştir.

Tablo 4.28 İdrar organik asitlerinde 3-hidroksi izovalerik asit yüksekliği olan hastaların özellikleri

	Tüm hastalar	Kısmi BE	Belirgin BE
BEA (%), ort $\pm$ SS, medyan (dağılım)	14.9 $\pm$ 9.3 16.1 (0-31.1)	20.7 $\pm$ 5.5 19.6 (11.3-31.1)	4.1 $\pm$ 3.1 4.4 (0-10)
En sık semptom, n (%)	Deri bulgusu (%27.6)	Deri bulgusu (%20.5)	Deri bulgusu (%40.9)
Semptomsuz, n (%)	80 (63)	62 (74.7)	18 (40.9)
Tedavi ile normale dönerler, n (%)	94 (95.9)	62 (100)	32 (88.8)

BE: Biotinidaz eksikliği, ort: Ortalama, SS: Standart sapma, BEA: Biotinidaz enzim aktivitesi

Tedavi öncesi 3-OH IVA yüksekliği olan 127 hastanın 98’inin tedavi sonrası kontrol ölçümlerine ulaşılmıştır. Parantez içerisindeki yüzdeler kontrol ölçümüne ulaşılabilen hastalar üzerinden hesaplanmıştır.

Metabolik testlerin laboratuvar sonuçları için biyotinidaz aktivite yüzdesi eşik değerleri, bu eşik değerlere ait sensitivite ve spesifisitesi sonuçları ve eğri altında kalan alanlar Tablo 4.29’da verilmiştir.

Tablo 4.29 Metabolik laboratuvar sonuçları için biyotinidaz aktivitesi yüzdesi eşik değerleri

	BEA% eşik değeri	Sensitivite	Spesifisite	AUC	SE	p değeri
Laktat yüksekliği	-	-	-	0.601	0.089	0.243
Hiperamonyemi	8.75	%86.4	%43.3	0.658	0.063	0.026
MSMS ile C0 karnitin düşüklüğü	17.01	%80	%58.1	0.721	0.065	0.016
MSMS ile C5OH karnitin yüksekliği	6.27	%86.7	%86.9	0.872	0.066	<0.001
İOA 3-OH İVA yüksekliği	21.63	%77.2	%41.4	0.593	0.027	0.001

BEA%: Biyotinidaz enzim aktivite yüzdesi, AUC: Eğri altı alan, SE: Standart hata, MSMS: Ardışık kütle spektrometrisi, İOA: İdrar organik asitleri, 3-OH İVA: 3-hidroksi izovalerik asit

Tüm hastalar arasında 71 hastanın kranial MRG’si bulunmaktaydı. BBE olan hastalar ile KBE olan hastaların kranial MRG sonuçları arasında anlamlı fark yoktu ($p=0.662$). Sonuçlar Tablo 4.30’da verilmiştir.

Tablo 4.30 Hastaların kranial MRG sonuçları

	Tüm hastalar (n=71)	Kısmi BE (n=30)	Belirgin BE (n=41)	p değeri
Kranial MRG anormal	16 (22.5)	6 (20)	10 (24.4)	0.662 [†]
BEA (%) ort ± SS, medyan (dağılım)	11.7 ± 10.3 7.1 (0.2-27.5)	24 ± 3 24 (20-27.5)	4.3 ± 3.1 4.4 (0.2-9)	<0.001 ^φ

BE: Biyotinidaz eksikliği, BEA: Biyotinidaz enzim aktivitesi, MRG: Manyetik rezonans görüntüleme, ort: Ortalama, SS: Standart sapma, [†] Ki-kare Testi, ^φ Mann Whitney U Testi

Hastaların moleküler DNA analiz sonuçları değerlendirildiğinde, etkilenen alel sıklığına göre, en sık görülen üç mutasyon sırasıyla p.R157H (%27.4, n=45), p.D444H (%17.7, n=29) ve p.T532M (%12.8, n=21) mutasyonlarıydı. Alel çiftleri değerlendirildiğinde ise en sık görülen mutasyonlar p.R157H-p.R157H (%17.7, n=14), p.T532M-p.T532M (%10.1, n=8) homozigotluğu ile p.D444H-p.A171T (%10.1, n=8) birleşik heterozigot mutasyonlarıydı.

KBE olan hastaların moleküler değerlendirmesinde etkilenen alel sıklığına göre en sık görülen üç mutasyon sırasıyla p.D444H (%35.2, n=19), p.R157H (%31.5, n=17) ve c.98-104del7ins3 frameshift (%9.3, n=5) mutasyonlarıydı. Alel çiftleri değerlendirildiğinde ise en sık görülen mutasyonlar p.R157H-p.R157H (%26.9, n=7) homozigotluğu ile, c.98-104del7ins3 frameshift-p.D444H (%19.2 n=5) ve p.R157H-p.D444H ile p.Q456H-p.D444H (%11.5, n=3) birleşik heterozigot mutasyonlarıydı.

BBE olan hastalarda etkilenen alel sıklığına göre en sık görülen üç mutasyon sırasıyla p.R157H (%25.5, n=28), p.T532M (%18.2, n=20) ve p.R79C (%10.0, n=11) mutasyonlarıydı. Alel çiftleri birlikte değerlendirildiğinde ise en sık görülen mutasyonlar p.T532M-p.T532M (%15.1, n=8), p.R157H-p.R157H (%13.2, n=7) homozigotluğu ile ve c.98-104del7ins3 frameshift-R157H ile p.D444H-p.A171T (%11.3, n=6) birleşik heterozigot mutasyonlarıydı.

Kısmi ve belirgin BE olan hastaların moleküler DNA analiz sonuçları sırasıyla Tablo 4.31 ve Tablo 4.32’de verilmiştir.

Tablo 4.31 Kısmi biyotinidaz eksikliği olan hastaların moleküler DNA analiz sonuçları

Mutasyon 1	Mutasyon 2	n	%	BEA%, ort + SS
p.R157H	p.R157H	7	25.9	14.7 ± 2.9
c.98-104del7ins3 frameshift	p.D444H	5	18.5	19.5 ± 5.4
p.R157H	p.D444H	3	11.1	22.5 ± 0.5
p.Q456H	p.D444H	3	11.1	23.3 ± 1.2
p.D444H	p.A171T	2	7.4	22 ± 1.4
p.D444H	p.A100T,p.P368L	2	7.4	22 ± 0
p.T532M	p.V199M	1	3.7	21 ± 0
p.D444H	p.D444H	1	3.7	25.4 ± 0
p.D444H	p.T196R	1	3.7	17 ± 0
p.D444H	c.1395del10nt frameshift*	1	3.7	25 ± 0

BEA: Biotinidaz enzim aktivitesi, ort: Ortalama, SS: Standart sapma

*yeni tanımlanmış mutasyonu göstermektedir.

Tablo 4.32 Belirgin biyotinidaz eksikliği olan hastaların moleküler DNA analiz sonuçları

Mutasyon 1	Mutasyon 2	n	%	BEA% ort + SS
p.T532M	p.T532M	8	15.1	3.6 ± 2.6
p.R157H	p.R157H	7	13.2	7.7 ± 2.1
c.98-104del7ins3 frameshift	p.R157H	6	11.3	4.1 ± 2.8
p.D444H	p.A171T	6	11.3	3.8 ± 3.2
p.R79C	p.R79C	4	7.5	0.4 ± 0.4
p.Y93C	p.Y93C	2	3.8	1.6 ± 2.2
c.98-104del7ins3 frameshift	c.98-104del7ins3 frameshift	2	3.8	1.6 ± 2
p.T532M	p.C186Y	2	3.8	1.7 ± 0.1
p.R157H	p.R79C	2	3.8	5.1 ± 2.8
p.R157H	p.V457M	2	3.8	7 ± 2.1
p.R157H	p.R122G	1	1.9	1.3 ± 0
p.R157H	p.D444H	1	1.9	7.2 ± 0
p.D444H,p.A171T	p.Y454C	1	1.9	10 ± 0
p.P497S	c.1106delC frameshift*	1	1.9	1.1 ± 0
p.G310E	p.G310E	1	1.9	0.1 ± 0
p.T532M	p.D444H,p.A171T	1	1.9	1.7 ± 0
p.T532M	p.R157H	1	1.9	5.4 ± 0
p.C186Y	p.C186Y	1	1.9	0.8 ± 0
p.Q456H	p.Q456H	1	1.9	8.7 ± 0
p.Q456H	p.D444H,p.A171T	1	1.9	1.6 ± 0
p.R79C	p.Y434C,p.R157H	1	1.9	0.2 ± 0
3' splice site	p.V457M	1	1.9	0.01 ± 0

BEA: Biyotinidaz enzim aktivitesi, ort: Ortalama, SS: Standart sapma

*yeni tanımlanmış mutasyonu göstermektedir.

Tüm hastalarda en sık görülen alelleri (p.D444H, p.R157H, p.T532M) taşıyan hastaların klinik özellikleri değerlendirildi. p.D444H mutasyonu olan hastaların özellikleri Tablo 4.33’te verilmiştir.

Tablo 4.33 p.D444H mutasyonu olan hastaların özellikleri

	Homozigot	Birleşik Heterozigot
Kısmi BE	1	17
Belirgin BE	0	10
Semptomlar		
Deri bulgusu	0	8 (29.6)
Saç bulgusu	0	6 (22.2)
Nörolojik bulgular	0	3 (11.1)
Hipotoni	0	1 (3.7)
Nöromotor gelişim geriliği	0	1 (3.7)
Letarji	0	1 (3.7)
Konjunktivit	0	1 (3.7)

p.R157H mutasyonu olan hastaların özellikleri Tablo 4.34’te verilmiştir.

Tablo 4.34 p.R157H mutasyonu olan hastaların özellikleri

	Homozigot	Birleşik Heterozigot
Kısmi BE	7	3
Belirgin BE	7	14
Semptomlar		
Deri bulgusu	3 (21.4)	13 (76.5)
Saç bulgusu	1 (7.1)	4 (23.5)
Nörolojik bulgular	0	5 (29.4)
Hipotoni	0	1 (5.9)
Nöromotor gelişim geriliği	0	2 (11.8)
Konvülziyon	0	2 (11.8)
Görme bozukluğu	0	1 (5.9)

p.T532M mutasyonu olan hastaların özellikleri Tablo 4.35'te verilmiştir.

Tablo 4.35 p.T532M mutasyonu olan hastaların özellikleri

	Homozigot	Birleşik Heterozigot
Kısmi biyotinidaz eksikliği	0	1
Belirgin biyotinidaz eksikliği	8	4
Semptomlar		
Deri bulgusu	4 (50)	2 (40)
Saç bulgusu	1 (12.5)	1 (20)
Konjunktivit	0	1 (20)
Görme bozukluğu	1 (12.5)	0

5. TARTIŞMA

BE kalıtsal metabolik hastalıklar arasında önemli bir yere sahiptir. Hastalığın en önemli özelliği yenidoğan taraması ile erken dönemde teşhis edilebilmesi ve erken başlanan tedaviyle çocukların normal gelişim göstermesidir. Ülkemizde akraba evliliklerinin sık görülmesi sebebi ile beklenen ve saptanan insidansı diğer toplumlara göre daha yüksektir. Bu durum hastalığın ülkemiz açısından önemini arttırmakta, yüksek hasta sayısı ile literatüre katkıda bulunma sorumluluğunu vermektedir. Çalışmamızda BE'nin demografik, klinik, laboratuvar bulguları yenidoğan taraması ile saptanan hasta grubunda retrospektif olarak ayrıntılı bir şekilde değerlendirilmiş, sonuçlar literatürle kıyaslanarak, hastalığın tanı ve tedavisine katkıda bulunabilecek verilerin ortaya çıkarılması amaçlanmıştır.

Çalışmamıza yenidoğan taraması ile tanı koyulan toplam 2102 BE tanılı hasta dahil edilmiştir. Bu sayı literatür taramasında erişebildiğimiz vaka serileri içerisindeki en yüksek sayıdır. Çalışmamıza en yakın sayıda hastaya sahip çalışmalar yine ülkemizde yapılmıştır. Canda ve arkadaşları 259 hastanın (105), Yılmaz ve arkadaşları 203 hastanın (106) verilerini sunmuştur. Hastalığın dünya çapında taranmasıyla elde edilen sonuçlara göre görülme sıklığı; BBE için 137.401'de 1, KBE için 109.921'de 1, BBE ve KBE'nin birlikte insidansı için 61.067'de birdir (1). Bazı ülkelerde akraba evliliği oranının yüksek olmasına bağlı olarak insidans daha yüksektir. Ülkemizde 1:11614 sıklığında bildirilmektedir. Dünyada KBE insidansı daha yüksek bildirilirken, ülkemizde özellikle eski yayınlarda BBE 1:14.866, KBE 1:53.093 sıklıkta bildirilmiştir (52). Çalışmamızda yıllara göre hasta sayıları incelendiğinde 2008 yılı öncesi İstanbul İli Pilot YTP ile saptanan BE vakalarının %65'i BBE iken, 2008 yılı sonrası Sağlık Bakanlığı YTP ile saptanan vakalarımızın %21.5'i BBE olarak saptanmıştır. 2018 yılında ülkemizden Canda ve arkadaşlarının yayınladığı retrospektif vaka serisi çalışmasında da kısmi eksiklik %71.8 ve belirgin eksiklik %28.2 oranında verilmiştir (105). Yılmaz ve arkadaşlarının 2018 yılında yayınladıkları 203 yenidoğan tarama ile saptanan hastayı retrospektif değerlendirdikleri çalışmada da KBE %77 ve BBE %23 olarak saptanmıştır (106). Yıllara göre yenidoğan tarama programından yönlendirilen hastaların sayısı ve bu hastalardan BE tanısı alanların oranı değerlendirildiğinde 2008 yılında tarama ile yönlendirilen hastaların %47.8'i KBE ve %26'sı BBE tanısı alırken; 2020 yılında hastaların %34.6'sı KBE ve %4.2'si BBE tanısı almıştır. Bununla birlikte tanı konulan hasta sayıları incelendiğinde BBE'lerin sayılarının hemen hemen değişmediği, 2008 yılında KBE'lerin BBE'leri sayıca geçtiği, 2014 yılında KBE'lerin BBE'lerin 3 katına ulaştığı görülmektedir. KBE'lerdeki bu artış sonraki yıllarda da devam etmiş ve 2018 yılında KBE hastalarının sayısı BBE'lerin 8 katı olmuştur.

Takip eden dönemde de KBE'lerin oranı artmaya devam etmektedir. Bunun sebebi yenidoğan tarama programında tanı hassasiyetinin artmış olması gibi görünmektedir. Sonuç olarak toplamda tarama sonrasında tanı alan hastaların oranı düşse de sayısı artmaktadır. Yenidoğan tarama ile saptanan BBE'lerin sayısının aynı kalması ve beraberinde KBE sayılarındaki artış, önceden saptanamayan kısmi eksikliklerin de saptanabilir hale geldiğini göstermektedir. Hastaların yıllara göre kantitatif biyotinidaz aktivitelerinin ortalaması da KBE'lerdeki sayı artışıyla paralel olarak artmaktadır. 2008 yılı kantitatif BEA ortalaması 0.9 ± 0.7 nm/dk/ml iken, 2014 yılına kadar yaklaşık aynı düzeyde seyretmiş, 2014 yılında 1.5 ± 0.7 nm/dk/ml saptanmıştır. Ortalama BEA KBE tanılı hasta sayısının çoğalmasıyla artmaya devam etmiş ve 2020 yılında hastalarımızın ortalama kantitatif BEA 2 ± 0.7 nm/dk/ml bulunmuştur.

Çalışmamızdaki hastaların %46.3'ü kız (n=973), %53.7'si erkek (n=1129) saptanmıştır. KBE'ler arasında %45.5 kız, %54.5 erkek ve BBE'ler arasında %48.7 kız, %51.3 erkek saptanmıştır. BE otozomal resesif kalıtılan bir hastalık olması nedeni ile cinsiyetler arasında hastalık görülme sıklığı açısından çalışmamızda ve literatürdeki diğer vaka serilerinde anlamlı fark yoktur (105, 107). Çalışmamıza katılan hastaların ortalama yaşı 5.0 ± 4.7 yıl ve medyan yaşı 4 (dağılımı: 0-26) yıl saptandı. KBE grubunda medyan yaş 3 iken BBE grubunda 7 yaş olduğu görüldü. Canda ve arkadaşlarının serisinde yenidoğan tarama ile tanı alan hastaların ortalama yaşı 3.5 ± 2.58 yıl olarak verilmiştir (105). Bizim çalışmamızda özellikle BBE grubunda daha yüksek yaş ortalamasının görülme sebebi muhtemelen YTP'ye daha erken başlanmış olması ve özellikle 2008 öncesi tanı alan hastalar arasında da BBE vakalarının daha fazla olması olabilir. Amerika Birleşik Devletleri Michigan'da yapılan Jay ve arkadaşlarının 25 yıllık deneyimlerini paylaştığı bir çalışmada yenidoğan taraması ile saptanan 22 BBE ve 120 KBE tanılı hasta değerlendirilmiştir. Bu çalışmada da kliniğimize benzer şekilde BBE tanısı ile takip edilen hastaların ortalama yaşı 8.3 yıl ve KBE tanısı ile takip edilen hastaların ortalama yaşı 5.3 yıldır (59). Çalışmamızdaki hastaların anne ve baba memleketleri incelendiğinde en sık memleketler sırasıyla Ağrı, Iğdır, Van ve en sık bölge Doğu Anadolu saptandı. Bunun sebebi bu illerin bulunduğu Doğu Anadolu bölgesinde akraba evliliklerinin fazla görülmesi, çocuk sayısının fazla olması ve genetik nedenler olabilir. Ülkemizden bildirilen vaka serilerinde hastaların memleket bilgileri konusunda veri bulunamıştır.

YTP ile saptanan hastalarımızın aile taraması sonucunda %37.3 akraba evliliği oranı saptandı ve bunların %55.7'si birinci kuzen evliliği idi. KBE'lerde akraba evliliği oranı %30.5 (%52'si birinci kuzen) iken BBE'lerde %60'a (%61.7'si birinci kuzen) çıktığı görüldü.

Ülkemizde yapılan 259 hastalık bir seride BE için akraba evliliği oranı %33.2 saptanmış olup, çalışmamıza benzer bir sonuç görülmüştür (105). Ülkemizin güneydoğu bölgesinde YTP için referans merkezin yayınladığı 203 hastalık vaka serisinde ise akraba evliliği oranı %61.5 bulunmuştur (106). Kanada'dan 1989 yılında Dunkel ve arkadaşlarının yayınladığı 15 hastalık bir seride %6.6 kadar akraba evliliği bildirmiştir (108). Buradan yola çıkarak akraba evliliklerinin düşük olduğu toplumlarda BE sıklığının az görüldüğü sonucuna varılabilir ve akraba evliliklerinin günümüzde Türkiye'de BE'nin de içinde olduğu kalıtsal metabolik hastalıklar açısından önemli bir sorun olduğu söylenebilir.

Çalışmamıza katılan hastaların annelerinin biyotinidaz aktivitesi ortalaması %50.5, babalarının ortalaması %53.5 ve kardeşlerinin ortalaması %48.9 bulunmuştur. Bu değerler taşıyıcı bireylerin değerlerine denk gelmektedir. Aynı zamanda BBE olan hastaların ebeveynlerinin BEA yüzdeleri KBE olan hastaların ebeveynlerine göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ve KBE olan hastaların ebeveynlerinde ve kardeşlerinde daha çok KBE, BBE olan hastaların ebeveynlerinde ve kardeşlerinde de daha çok BBE görülmüştür. Literatüre bakıldığında %10-30 arası enzim aktivitesinin KBE olarak tanımlanıp, tedavi başlanmasını sağlayan Mc Voy ve arkadaşlarının çalışmasında da benzer sonuca ulaşılmıştır (109). Bunun sebebi hastalığa sebep olan mutasyonun enzim aktivitesi üzerine olan etkisi olabilir. Örneğin; en az bir alelinde p.D444H mutasyonu saptanan olgularda BEA diğer mutasyon tiplerindeki enzim aktiviteleri ile kıyaslandığında daha yüksek seyretmektedir (110). Bununla birlikte çevresel ve biyokimyasal etmenlerin de etkisi olduğu söylenebilir. Tüm hastalar arasında annede KBE %9 (n=109) ve BBE %2.5 (n=28) oranında, babada KBE %7.6 (n=80) ve BBE %2.7 (n=29) oranında görülmüştür. Kardeşlerde de KBE %26.7 (n=177), BBE %11.1 (n=74) oranında görülmüştür. Hastaların kardeşlerinin aralarında taşıyıcı olmayanlar da bulunacağı için BEA ortalamalarının anne ve baba ortalamalarına göre daha yüksek bulunması beklenir. Ancak çalışmamızda kardeşlerde anne ve babalara göre daha yüksek oranda BBE görülmüş olması, BEA ortalamalarının daha düşük olmasının muhtemel sebebidir. Literatürde yapılan aile taraması çalışmalarına bakıldığında; Möslinger ve arkadaşları 2001 yılında yenidoğan tarama ile saptadıkları 18 BBE hastasından 15'inin ailesini ve 12 KBE hastasından 7'sinin ailesini taramışlardır. BBE olan hastaların ailelerinin biri hariç tamamında enzim aktivitesi %33-74 aralığında bulunmuştur (6). Bu değerler bizim çalışmamızdaki ortalamalara benzer niteliktedir. Asgari ve arkadaşlarının 2016 yılında yayınladıkları 8 hastalık bir çalışmada tüm hastaların anne ve baba biyotinidaz enzim aktivitelerine bakılmış ve 4 BBE olan hastanın 2'sinin anne ve babasının KBE olduğu, diğer 2 hastanın da anne ve babasından birinin KBE

olduğu görülmüştür (111). Bu sonuçlarla ebeveynlerdeki hastalık sıklığı daha fazla görülse de hasta sayısının kısıtlı olması bunun nedeni olabilir. Çalışmamızda tüm taranan akrabalara bakılacak olursa hastalarımızdan 378'inin KBE tanılı, 176'sının BBE tanılı akrabaları vardır. Aynı zamanda 206'sının da ailesinde işitme ve görme bozuklukları, nedeni bilinmeyen nöromotor gelişim geriliği, dermatolojik semptomlar, ani bebek ölümleri gibi BE düşündürülen bulguya sahip bireyler bulunmaktadır. Ülkemizden Baykal ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada 121 BE tanılı hastaya yapılan aile taraması sonucunda, 26'sının (%21.6) ailesinde toplam 32 vaka saptanmıştır. Bunların 17'si BBE, 15'i KBE olup; BBE olan 3 hastanın semptomatik olduğu görülmüştür (63). Canda ve arkadaşlarının yayınında 69 hastanın (%26.6) akrabalarında BE saptanmıştır (105). Bu oran bizim çalışmamızda da %26.3' tür.

Çalışmamızda hastaların tanı yaşı çok geniş bir aralıkta dağılım gösterdiği için istatistiksel olarak medyan değerin alınması daha doğru olacağı düşünüldü. Hastalarımızın medyan tanı yaşı tüm vakalar için 22 gün (ortalama 30 ± 31), KBE için 21 gün (ortalama 28 ± 24) ve BBE için 25 gündür (ortalama 35 ± 46). Çalışmamızda yenidoğan tarama ile saptanan hastaları değerlendirmemize rağmen tarafımıza geç başvuru yapan hastalar dikkat çekti. Hastaların %69.9'u (n=1469) ilk 30 gün içerisinde, %22.5'i (n=473) 30-60 gün arası, %7.6'sı (n=160) 60 gün ve üzerinde tanı almıştı. 18 hasta ise (%0.08) 180 gün sonrası tanı almıştı. 180 gün sonrası tanı alan 18 hasta dışlandığında benzer şekilde ortalama tanı yaşı tüm hastalar için 28 ± 20 gün, medyan tanı yaşı 22 gün, dağılımı 1-180 gün olarak hesaplandı. Hasta sayımızın fazla olması sebebiyle sonucun değişmediği görüldü. İlk ayda semptomu olan ve olmayan hastaların tanı yaşları karşılaştırıldığında semptomu olmayan hastaların medyan tanı yaşının 21 gün (ortalama 29.9 ± 30.7 , dağılım 1-544), semptomu olan hastaların medyan tanı yaşının 23 gün (ortalama 30.8 ± 30.8 , dağılım 1-365) olduğu görüldü ($p=0.047$). Bu durum yenidoğan tarama ile saptanan hastalarımızda tanı yaşının daha erken güne çekilme gereksinimi olduğunu göstermektedir. Jay ve arkadaşları tarafından yürütülen çalışmada BBE için tanı yaşı çalışmamıza benzer olarak 1-3 hafta arası olarak ifade edilmiştir (59). İzmir Dokuz Eylül Üniversitesi'nde 2020 yılında yenidoğan tarama ile saptanan 83 BE hastasını değerlendirdikleri tez çalışmasında tanı yaşı medyan değeri 15'tir (112). Merkezimiz Türkiye'nin pek çok ilinden hasta gelen bir referans merkezi olduğundan, tanı yaşındaki farklılığın sebebi olarak il dışı başvuran hasta sayısının daha çok olmasından ve ulaşım için geçen süreden kaynaklandığı düşünüldü. Bununla birlikte yıllara göre tanı yaşlarını değerlendirdiğimizde özellikle 2018 yılı sonrası medyan tanı yaşlarının merkezimiz için de 20 günün altına indiğini söyleyebiliriz.

Hastalarımızın tüm izlemleri boyunca %26'sında (n=547) semptom görülmüştür. KBE'lerin %21.3'ü ve BBE'lerin de %41.3'ü semptomatik olmuştur. KBE olan hastalarda en sık deri bulgusu (%58.9), saç bulgusu (%15.3) ve nörolojik bulgular (%11.9), BBE olan hastalarda en sık deri bulgusu (%43.4), nörolojik bulgular (%20.8) ve saç bulgusu (%16.7) geliştiği görülmüştür. Nörolojik semptomlar içerisinde de hem KBE hem BBE grubunda en sık hipotoni (tüm semptomlar içinde %5.3), hipertoni (%4.32), gelişme geriliği (%2.5), nöbet (%2.5) görülmüştür. Literatüre bakıldığında genellikle yenidoğan tarama ile saptanan hastaların asemptomatik seyrettiği bildirilmiştir (7, 107). Kanada'dan Gannavarapu ve arkadaşlarının 2007-2014 yılları arası yenidoğan tarama ile saptanan 71 hasta ile yaptıkları çalışmada tedaviye ara veren 3 KBE hastasının 2'si semptomatik olmuştur. Semptom geliştiren hastaların biyotin tedavisine 4-5 yıl kadar ara verdiği ve bunun sonucunda gelişimsel gecikme, deri lezyonları ve alopesi gibi bulgular görüldüğü ifade edilmiştir (113). Avusturya' da yenidoğan taraması sonucu tanı alan 33 BE hastası ile yapılan bir çalışmada KBE hastalarında hiç semptom görülmemiştir. BBE'lerde ise yalnızca <%1 enzim aktivitesine sahip hastalarda hipotoni, nöbet, deri lezyonları gibi semptomlar görüldüğü belirtilmiştir. Enzim aktivitesi %1.2-4.6 düzeyindeki hastaların ise tedavide duraklama yapmadıkları sürece semptom geliştirmedikleri bildirilmiştir (6). Ülkemizde Canda ve arkadaşlarının vaka serisinde 259 hasta içerisinde yalnızca 12 hastada semptom görülmüş ve bunların da sadece 4'ünün YTP ile saptandığı ifade edilmiş. Bu 4 hastanın biyotinidaz enzim aktivitelerinin %0.05- 2.06 arasında olduğu görülmüş. Semptomatik 12 hasta arasında en sık nöbet, dermatit, gelişme geriliği ve işitme kaybı semptomları bildirilmiştir (105). Bununla birlikte eski yayınlara bakıldığında KBE hastalarının sadece stres altında semptom geliştirdiğine dair yayınlar vardır (109). Jay ve arkadaşlarının serisinde 22 BBE hastasının izleminde 5'inde görme bozukluğu dışında hiç semptom görülmemiştir. 120 KBE hastasının içerisinde ise yenidoğan döneminde inme öyküsü olan bir hastada nöbet öyküsü alınmıştır, 5 yıl tedaviye ara veren bir başka hastada deri lezyonları ve ataksi, 4 çocukta işitme sorunu, 11 çocukta nöromotor gelişim geriliği ve 20 çocukta da deri bulguları gözlenmiştir (59). Canda ve arkadaşlarının serisinde de semptom geliştiren KBE tanılı hastalar vardır (105). Bizim serimizde de KBE grubunda semptom geliştiren hastalar vardır. Çalışmamızda semptomatik olan hasta sayısının görece fazla oranda olmasının sebebi merkezimizde daha fazla sayıda hasta takip edilmesi, bu takip edilen hastaların değişik sosyokültürel bölgelerden geliyor olması ve bu durumun tedaviye uyumlarını etkiliyor olması olabilir. Daha sonra da bahsedileceği üzere semptomatik hale gelen hastaların mevcut şikayetlerinin biyotin tedavisinin düzenlenmesi ile gerilemesi şikayetlerin BE kaynaklı olduğunun anlaşılması açısından kritiktir.

Literatüre bakıldığında BE’de semptom başlangıç yaşının 2 haftadan 2 yıla kadar değişebildiği görülmüştür. Bazı hastaların ise erişkin yaşa kadar semptomsuz geldikleri bilinmektedir (2, 78). Çalışmamızda semptomu olan hastalarda ilk semptom yaşı medyan değeri KBE ve BBE fark etmeksizin doğum sonrası ilk 1 aydır. Vaka serimizde izlemi boyunca semptom geliştiren toplam 547 hasta varken, ilk 1 ayda semptomu olan hasta sayısı 408’dir. Yani semptomu olan hastaların %74.5’inin ilk 1 ay içinde şikayeti başlamaktadır. Ayrıca bu hastalar değerlendirildiğinde BBE’lerin KBE’lere göre şikayeti olanlarının sayısının anlamlı olarak yüksek olduğu görülmüştür. İlk 1 ay içinde şikayeti olan hastaların biyotinidaz enzim aktiviteleri incelendiğinde ise 15 ± 9.2 (medyan değer %15, dağılım: %0-34.7) değerine ulaşılmıştır. Bu durum akraba evliliğinin sık olduğu ve saptanan hastaların enzim yüzdelerinin BBE’ye daha yakın olabileceği düşünülen bölgelerde semptom gelişmeden en erken dönemde başlanması gereken tedavinin önemini ortaya çıkarmaktadır.

Çalışmamızda ayrıca tüm izlem boyunca gelişen semptomlar özelinde biyotinidaz enzim aktiviteleri değerlendirilerek, eşik değerler hesaplanmıştır. Deri, saç bulgusu, nörolojik bulgular ve konjunktivit gibi işitme ve görme bozukluğu haricindeki semptomlarda biyotinidaz aktivitesi eşik değerinin ≈ 14 olması (deri bulgusu için sensitivite %46.4, spesifite %72.9; saç bulgusu için sensitivite %67.2, spesifite %70; nörolojik bulgular için sensitivite %67.6, spesifite %70.1; konjunktivit için sensitivite %61.7, spesifite %71.6) dikkat çekicidir. Görme bozukluğu içinse bu eşik değer ≈ 5 (sensitivite %80, spesifite %88.5) bulunmuştur. Literatürde benzer bir eşik değer hesaplamasına rastlanmamıştır. Ancak diğer vaka serilerinde semptomatik hasta sayısının az olması bu tip bir hesaplama olanağı vermemiş olabilir. Çalışmamızda benzer bir hesaplama da %30 enzim aktivitesi düzeyinden başlayarak geriye dönük olarak yapılmış ve enzim aktivitesi %25’ten az olan KBE hastalarının diğer KBE’lere göre yüksek anlamlılık düzeyinde daha fazla semptomatik olduğunu saptanmıştır. %25 üzerinde aktiviteye sahip semptom geliştirmemiş hastalarda moleküler tanı bu hastaların tedavilerinin değerlendirilmesi için önemli olacaktır.

Hastalarımızın ilk muayenelerindeki semptomları değerlendirildiğinde KBE’lerin %16.4’ünde, BBE’lerin %33.9’unda semptom vardı. KBE’ler için ilk muayenede en sık deri bulgusu (%12.3, n=196), nörolojik bulgu (%1.9, n=30), saç bulgusu (%1.8, n=28) ve konjunktivit (%1.4, n=23) görüldü. Nörolojik bulgu görülen 30 hastanın 17’sinin hipotonisi, 11’inin hipertoni ve 2 hastanın ise nöbet öyküsü vardı. BBE’ler için ilk muayenede en sık deri bulgusu (%24.3, n=121), nörolojik bulgu (%8.2, n=41), saç bulgusu (%7.2, n=36) ve

konjunktivit (%4.8, n=24) görüldü. Nörolojik bulgu görülen 41 hastanın 19'unun hipotonisi, 18'inin hipertoni ve 9 hastanın ise nöbet öyküsü vardı. Hastalığı tanımlayan Dr. Wolf'un derlemelerinde en sık ilk bulgunun nörolojik bulgular olduğu ifade edilmektedir (3-5). Venkataraman ve arkadaşları da vaka serilerinde en sık ilk semptomun nöbet olduğunu bildirmiştir (114). Salbert ve arkadaşları da 78 semptomatik BE hastasından oluşan serilerinde en sık ilk semptomun %38 ile nöbet olduğunu ifade etmişlerdir (115). Möslinger ve arkadaşlarının 33 hastalık serisinde ilk muayenede bulgu görülen hastalardan birinin ciddi ensefalopatisi, birinin dermatiti ve birinin de orta derecede hipotonisi saptanmıştır (6). Porta ve arkadaşlarının 30 yıllık deneyimlerini aktardığı 18 hastalık seride yenidoğanların ilk muayenelerinde semptom görülmediğini belirtmişlerdir (107). Ancak bu yayınlar çok daha az hasta sayısına sahiptir. Çalışmamızda semptomatik hastalarda görülen tüm semptomların %74'ü olarak her iki grupta da en sık deri bulgularının görülmesinin sebebi, hastalık ile ilgili deri bulgularına yönelik farkındalığın yıllar içerisinde artması olabilir. Bir diğer bakış açısı da Möslinger'in de ifade ettiği gibi deri bulgularına yönelik aşırı bir hassasiyet olabilir (6).

Değerlendirmemizde hastaların %78'inin (n=1640) bir defadan fazla sayıda kontrole geldiği görüldü. Bu hastaların %91'i tedaviye uyumluydu. Tedaviye uyum gösteren hastaların %6.2'sinin son muayenesinde semptomu olduğu, tedavi uyumu olmayan hastaların ise %39.2'sinin son muayenede semptomatik olduğu görüldü. Hem tedaviye uyumlu hem de uyumsuz grupta BBE hastaları anlamlı olarak daha sık semptomatiktir. Hastalarımızın yaklaşık olarak %22'sinin yalnızca 1 kere muayene gelmesinin sebebi; son yıllarda artan hasta sayısı ile birlikte fazlaca sayıda hastanın uzak şehirlerden ulaşımında gecikmeleri olabilir. Ayrıca bu hastaların yaklaşık olarak 1/3'ünün ikinci kontrol zamanının Covid-19 pandemisi dönemine denk gelmesi de bu oranın artışına sebep olmuştur. Bununla birlikte ailelerin pandemi dönemi olmasına rağmen çocuklarının semptom geliştirmeleri durumunda tarafımıza başvuracağı düşünüldüğünde, verilen tedavi ile çocukların semptomsuz olduklarını söyleyebiliriz.

Tedaviye uyumlu olduğu halde son muayenede bulgu saptanan hastaların (%6.2) biyotinidaz aktivite yüzdeleri değerlendirildiğinde tüm grupta tüm semptomlar için bu değerin $\approx$ %15 civarında olduğunu gördük. Bu hastalar arasında KBE'lerde en sık deri bulguları (%25.5), nörolojik bulgular (%25.5) ve işitme bozukluğu (%23.6) görülürken, BBE'lerde en sık nörolojik bulgular (%39.6), işitme bozukluğu (%31.6) ve görme bozukluğu (%31.6) saptandı. Hem KBE hem BBE'ler için nörolojik bulgular arasında da en sık nöromotor gelişim geriliği izlendi. Buradan yola çıkılarak nörolojik bulgulardan özellikle nöromotor gelişim

geriliğinin, işitme ve görme bozukluklarının önlenmesi için verilen tedavinin ve kullanılan preparatın gözden geçirilmesi gerektiğine ve bu bulgular eğer ortaya çıktıysa etkili ve düzenli ilaç kullanımına rağmen tedaviden beklenildiği kadar fayda görülmediği sonucuna varılabilir.

Çalışmamızda izlemleri süresince tedavide biyotin doz artışı yapılan hastalar ve bu doz artışına en çok hangi bulgular sebebiyle gereksinim duyulduğu değerlendirildi. KBE'lerin %3.7' sinde (n=59) ve BBE'lerin %5'inde (n=25) doz artışı yapıldığı saptandı. KBE grubunda ilaç doz artışına en sık deri bulgusu (%30.9) ve saç bulgusunun (%27.9); BBE grubunda ise işitme bozukluğu (%27.3), deri bulgusu (%21.2), saç bulgusu (%18.2) ve görme bozukluğunun (%18.2) sebep olduğu görüldü. Nörolojik şikayetler sebebi ile KBE grubunda 9 hastada (%13.2), BBE grubunda 5 hastada (%15.2) biyotin doz artışına gereksinim duyulmuştu. Canda ve arkadaşlarının serisinde de yenidoğan tarama ile saptanan, BEA %16 olan KBE tanılı bir hastanın 3.5 yaşında gelişimsel gecikme gösterdiği bildirilmiştir ve ilaç dozunun artırılmasına gereksinim duyulmuştur (105). Jay ve arkadaşlarının serisinde KBE tanılı 20 hastanın tedavi altında deri semptomları gelişmiş, 2 hastada orta derecede işitme kaybı olduğu saptanmış, 11 hastada nöromotor gelişim geriliği saptanmış ve ilaç dozlarında artış gereksinimi olmuştur (59). Yılmaz ve arkadaşlarının çalışmasında da araya giren stres faktörüyle tedavi dozunun artırılmasına gereksinim olan bir hasta bildirilmiştir. Enzim aktivitesi %0.9 olan bu hasta akut gastroenterit ile birlikte metabolik asidoz ve ketozis ile başvurmuş ve aldığı 10 mg biyotin tedavisi artırılınca bulguları düzelmiştir (106). Bu durum, tedaviye uyumlu KBE olgularının dahi semptomatik hale gelmesi, hastaların rutin izleminin ve semptomlarla ilişkili olarak aile eğitiminin önemini ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda düzensiz ilaç kullanımı olan hastalar ve tedavide duraklama yapan hastalar da değerlendirilmiştir. KBE'lerin %1.6'sında (n=26) ve BBE'lerin de %1.6'sında (n=8) düzensiz ilaç kullanımı olduğu görülmüştür. Düzensiz ilaç kullanan hastalar arasında, KBE grubunda en sık semptom deri bulgusu (%60) ve BBE grubunda nörolojik bulgular (%29.4) olarak saptandı. Buradan yola çıkarak özellikle BBE tanılı hastalarda düzensiz ilaç kullanımının kliniğe geç tanı gibi yansıyacağını söyleyebiliriz. Tedavide duraklama yapan hastaların oranı BBE grubunda (%12.5) KBE'lere (%3.1) göre daha yüksekti. Duraklama süresinin medyan değeri her iki grupta da 7 ay olarak hesaplandı. Tedavide duraklama yapan KBE'lerin %61.2'sinin, BBE'lerin %40.3'ünün semptomsuz olduğu saptandı. Duraklamada semptomatik olan hastalar arasında her iki grupta da en sık deri (KBE'de %42.9 ve BBE'de %48.9) ve saç bulguları (KBE'de %33.3 ve BBE'de %34) gelişti. Duraklama süresinin uzamasıyla

semptomlar arasında bir ilişki saptanmadı. Jay ve arkadaşlarının Michigan’da 25 yıllık tecrübelerini paylaştıkları 142 hastalık vaka serisinde KBE tanılı, 5 yıl tedaviye ara vermiş ve sonucunda deri lezyonları, ataksi ve hafif sensorinöral işitme kaybı gelişmiş bir çocuk bildirilmiştir (59). Benzer şekilde Kanada’dan Gannavarapu ve arkadaşlarının yenidoğan taraması sonucu tespit ettikleri 71 vakalık serilerinde de 3 KBE tanılı hastada tedavide duraklama görülmüş ve 2’si semptomatik olduğu ifade edilmiştir (113). Bu vaka örnekleri de KBE ya da BBE olsun fark etmeksizin BE tanılı hastalarda düzenli ve devamlı takip ile biyotin kullanımının önemini bir kez daha ortaya koymaktadır. Tedavide sağlanan bu uyumla birlikte semptomların gelişmesi önlenabilir, semptom geliştiren hastalara da erken dönemde müdahale edilerek semptomlar geri döndürülebilir.

Düzenli takip ve devamlı tedavi ile birlikte doğru biyotin preparatı kullanımı da önemlidir. Son yıllarda biyotin özellikle kozmetik amaçlı kullanımının artışıyla piyasada içerisindeki biyotin miktarları farklı olan birçok seçenek bulunmaktadır. İki hastamızın daha çok kozmetik amaçlı kullanılan bu ürünleri kullandıkları bir dönemde semptom geliştirdiği görülmüştür. Birincisi 7.5 yaşında BBE tanılı bir hastamız, son 2 gündür olan sık ve derin nefes alıp verme şikayeti ile acile başvurmuştu. Tetkiklerinde metabolik asidoza sekonder solunumsal alkaloz, hafif amonyak ve laktat yüksekliği saptanmıştı. Aileden öykü alındığında yaklaşık son 6 aydır kozmetik amaçlı kullanılan bir biyotin preparatından günde 2 kere kullanıldığı öğrenildi. Ürünün içeriği değerlendirildiğinde biyotin oranının değiştiği ve birçok farklı doz seçeneği olduğu, hatta süspansiyon formunun da olduğu görüldü. Tedavi amaçlı kullanılan 20 mg/gün biyotin ile ilk 24 saat içinde şikayetlerinde gerileme oldu. İkinci hastamız ise KBE tanılı olup ilk 1 ay içerisinde yapılan muayenede semptomu olmayan ve 5 mg biyotin tedavisine başlanan bir bebektir. Yaklaşık 3 aylıkken deri döküntüleri başlamıştı. Deri döküntüleri tedavi altında başladığı için aile önce başka merkezlere başvurmuş, ardından tarafımızca yeniden değerlendirildiğinde bu hastada da kozmetik amaçlı ürün kullanıldığı saptanmıştı. Yine bu hastamızda da kullandığı ürün medikal amaçlı kullanılan biyotine değiştirilince birkaç gün içinde şikayetlerinin gerilediği görüldü ve semptomsuz izlemine devam edildi. Kozmetik amaçlı kullanılan biyotin preparatlarının yan etkileri ya da BE tedavisinde kullanımına dair literatürde bir çalışmaya rastlanmadı. Bu örneklerden yola çıkarak BE tedavisinde sorun yaşamamak için, piyasada kolay ulaşılabilirliği olan ve tıbbi tedavi amaçlı üretilen biyotin preparatlarını kullanmak gerekir.

Tedavi uyumunun semptomların gerilemesi üzerine etkisini görmek amacıyla ilk muayenede semptomatik olan hastaların tedavi sonrası değerlendirmeleri yapılmıştı. Tedavi uyumuyla birlikte; deri bulgularının %97.1, saç bulgularının %93, hipotoninin %83.3, hipertoninin %95, nöromotor gelişim geriliğinin %25, nöbetlerin %100, konjunktivitinin %100 ve işitme bozukluğunun %70 oranında gerilediği tespit edildi. Son muayenede toplam 26 hastamızda görme bozukluğu saptandı ve bu hastaların 21 tanesi tedaviye uyumlu hastalardı. Biotin doz artışına yanıt vermemişlerdi. Buradan bizim çalışmamızda görme bozukluğu ve göz patolojileri için biyotin ile gerileme saptanmadığını, işitme kaybı için ise erken dönemde saptanır ve düzenli biyotin kullanımı olursa yüksek oranda gerilediği sonucuna varabiliriz. Literatüre baktığımızda; 2000 yılında Straussberg ve arkadaşlarının yayınladığı çalışmada işitme kaybının gerilediği bildirilmiş olsa da (116), 2002 yılında Wolf ve arkadaşları 33 semptomatik çocuktan 25'inde kalıcı işitme kaybı saptamıştır (78). Sivri ve arkadaşlarının 2007 tarihli yayınında da “null” mutasyona sahip BE olan hastalarda işitme kaybı gelişme olasılığının daha yüksek olduğu doğumdan hemen sonra başlanacak biyotin tedavisi ile bu hastalarda işitme kaybının önlenebilir olduğu, bununla beraber işitme kaybı mevcut olan hastalarda biyotin ile işitme kaybında gerileme olmadığı ancak ilerlemesinin durdurulabileceği bildirilmiştir (61).

Szymariska ve arkadaşlarının 2015 yılında 20 yıllık biyotin tedavisinin sonuçlarını yayınladıkları çalışmada, optik atrofisi ve sensorinöral işitme kaybı olan hastalarda bulguların ilerlemediği ancak düzelme olmadığı belirtilmiştir. BE tanısı koyulur koyulmaz semptomatik hastalarda başlanan biyotin ile deri döküntülerinin kaybolduğu ve psikomotor becerilerde hızlı gelişme görüldüğü, tedavi öncesi mental retardasyonu olan çoğu hastada tedavi sonrasında da hafif mental retardasyon ve davranış bozukluğunun devam ettiği de saptanmıştır (117). Wolf ve arkadaşlarının 1985 tarihli 31 hasta ile yaptıkları çalışmada semptomatik hastalarda tedavi dozunda biyotin ile kutanöz semptomların hızlıca düzeldiği, nöbetler ve ataksinin gerilediği, ancak optik atrofi ve işitme kaybının daha az geri döndürülebilir olduğu bildirilmiştir (74). Wastell ve arkadaşlarının 1988 yılında tümü geç tanılı 10 vaka ile yaptıkları çalışmada işitme bozukluğu, görme bozukluğu, ataksi ve mental retardasyon şikayetlerinde gerileme olmadığı görülmüştür. Metabolik asidoz, organik asidüri ve dermatit semptomlarının biyotin tedavisi ile gerilediği bildirilmiştir (5). Buradan yola çıkarak genel anlamda dermatolojik bulguların, metabolik bozuklukların ve nöbet gibi nörolojik problemlerin biyotine yanıtlarının iyi olduğunu, ancak mental retardasyon, ataksi, görme ve işitme bozukluğu gibi semptomlara yanıtın değişken olduğunu söyleyebiliriz. Bu durum henüz hastalar semptomatik olmadan önce

biyotin tedavisi başlanması ve dolayısıyla da yenidoğan taramasının önemini bir kez daha ortaya çıkarmaktadır.

Ramaerkers ve arkadaşları 1992 yılında akut bilateral optik nöropati, spastik paraparezi ve nöroaksonal motor nöropati ile gelen bir hasta bildirmişler ve sonradan muayenede konjunktivit ve dermatiti olduğunu saptamışlardır. Önce Leber'in optik atrofisi düşünülen hastada maternal kalıtıma dair kanıt olmayınca tanıdan uzaklaşmış ve hasta BE tanısı almıştır. Biyotin tedavisi ile optik nöropati önemli ölçüde iyileşmiş, piramidal bulgular kaybolmuş ve nöropatinin ilerlemesi durmuştur (83). Tokatlı ve arkadaşları 1997 yılında 20 günde gelişen solunum güçlüğü, dizatri, yürüyüş ve sfinkter bozukluğu şikayetleri olan 15 yaşında bir hastayı bildirmişlerdir. Bu hasta multipl skleroz benzeri bulgularla başvurmuş, ancak öyküsünde 15 aylıkken nöbet geçirdiği, deri lezyonları olduğu, ayrıca 5 yaşından itibaren işitme cihazı kullandığı, 1 yıl kadar önce de birkaç gün süren dengesiz yürümesinin olduğu belirtilmiştir. Şüphe üzerine BEA bakıldığında BBE olduğu görülmüş ve 4 dozda verilen 60 mg biyotin ile 24 saatte metabolik anormalliklerinin düzeldiği, izleminde de yardım almadan yürüyebilir hale geldiği bildirilmiştir (118). Son yıllarda da BE'nin nöromiyelitis optika benzeri bir tablo ile ortaya çıkabileceğini gösteren yayınlar bulunmaktadır. (119). Kalkanoğlu ve arkadaşları 2004 yılında, 4.5 yaşında spastik paraparezi ve dispne şikayeti ile başvuran bir hastayı bildirmişler. Bu hastanın şikayetleri hastane başvurusundan 40 gün önce başlamış, yürüyememe ile kaşlarında seyrekleşme görülmüştür. Öncesinde nöromotor gelişiminin normal seyrettiği bildirilmiştir. Başvurusunda metabolik asidozu olan hastaya başlanan 40 mg biyotin tedavisi ile 12 saatte asidozu düzelmiş ve 6 haftada normal yürüyebilir hale gelmiş, kaşları da düzelmiştir (120). Chedrawi ve arkadaşları 2008 yılında alt ekstremitelerde ilerleyici spastik paraparezi ile başvuran 3 yaşındaki bir erkek çocuğun, BBE olduğu anlaşıldıktan sonra 6 aylık 15 mg/gün biyotin tedavisinin ardından hafif bir spastisitesi kaldığını bildirdiler. Bu vaka nedeniyle yazarlar BE'nin miyelopati ayırıcı tanısına dahil edilmesini önermişlerdir (76). Tüm bu örneklerden yola çıkarak BE tanısı konulamamış olup tedavisiz kalan hastalarda ciddi nörolojik tablolarla karşılaşılabilceğini söyleyebiliriz. Bu sebeple özellikle YTP öncesi doğmuş olan bireyler benzer bir klinikle karşımıza geldiğinde BE mutlaka ayırıcı tanıda aklımıza gelmelidir. Benzer vakalara bizim serimizde de rastlanmıştır. Yenidoğan taramasında topuk kanı değerleri 1 ve 3 MRU saptanmış olmasına rağmen ilgili merkezlere başvurmayan bir ailenin bebeği 3 aylıkken nöbet geçirme şikayeti ile dış merkeze başvurmuş ve yoğun bakımda izlemi yapılmış, muayenesinde hafif hipertonsi ve konjunktiviti saptanmıştır. Tetkiklerinde hiperamonyemi, laktat yüksekliği, MSMS ile C5OH karnitin yüksekliği, idrar organik asit analizinde 3-OH

IVA'da belirgin atılımı ve BEA 0 nm/dk/ml (%0) saptanmıştır. Bunun üzerine başlanan 10 mg biyotin ile tüm semptomları normale dönen hasta şu anda tedaviye düzenli devam etmekte, işitme cihazı kullanmakta ve başka şikayeti bulunmamaktadır. Bir başka hastamız ise tarafımıza 45 günlükken spontan klonus, konjunktivit, tüm vücutta yaygın dermatit, gövdesel hipotoni ile başvurmuştur. BEA 0.48 nm/dk/ml (%5.4) tespit edilmiştir. İdrarda yüksek miktarda 3-OH IVA atılımı mevcut olan ve C5OH karnitini yüksek olan hastaya başlanan 15 mg biyotin sonrası bu değerleri normale dönmüş ve bulguları gerilemiştir. Sonrasında aldığı düzenli tedavi ile de semptomsuz izlemine devam edilmektedir.

Çalışmamızda BBE olan hastalarda takip süresi 4.6 ± 4.7 yıl (medyan 3, dağılım: 0-25 yıl), KBE olan hastalarda ise 2.2 ± 2.6 yıl (medyan 1, dağılım: 0-17 yıl) bulunmuştur. Takip ve takipsizlik süresi BBE hastalarında KBE'lerden daha uzun saptanmıştır. Bunun sebebi muhtemelen BBE tanılı hastalarımızın büyük çoğunun ilk hastalarımız olması, dolayısıyla yaşlarının daha büyük olması olabilir. Uzun zamandır hasta kabul eden bir merkez için takip süresi ortalama ve medyan değerlerinin düşük gözükmesinin sebebi tablo 4.2'de verildiği gibi son 6 ve hatta özellikle son 3 yılda hasta sayısının belirgin olarak artmasıdır.

Vakalarımız incelendiğinde toplam 6 hastamız izlem süresi içerisinde vefat etmiştir. Bu hastalardan ikisinin ölüm sebebinin BE ilişkili olabileceği söylenebilir. Diğer dördünün ise eşlik eden Down sendromu ve kardiyak anomali, Fin tipi nefrotik sendrom, spinal musküler atrofi tip 1 ve Down sendromu ile ilişkili olduğunu düşünmekteyiz. BE ilişkili olarak kaybettiğimizi düşündüğümüz hastalardan biri 1995 yılında doğan bir erkek bebektir. Tarama için alınan ve tarafımıza gönderilen topuk kanı örneklerinde renklenme olmamış ve bunun üzerine aileye bilgi verilerek kliniğimizde ilk 1 hafta içerisinde değerlendirilmiş. Fizik muayenesinde ikterik olması dışında bir bulguya rastlanmamıştı. BEA 0,64 nm/dk/ml (%8.7 ve çok az renkli) saptanarak 10 mg biyotin başlanmıştı. Aile taramasında annesinin %4, babasının %81, kardeşlerinin sırasıyla %3.8 ve %75 enzim aktiviteleri saptanmıştı. Moleküler DNA analizinde p.Q456H homozigot mutasyonu tespit edilmişti. Herhangi bir sıkıntısı yokken 32 günlükken sabaha karşı beşiğinde ölü bulunmuştu. Ani bebek ölüm sendromu olarak değerlendirilen bu hastamız gibi literatürde BE ile ilişkilendirilen bir vaka vardır. Burton ve arkadaşları 1987 yılında, BE tanılı, 5.5 aya kadar normal gelişim gösteren ve sonrasında karbamazepin ile kontrol altına alınan konvülsiyonları olan bir çocuğun 23 aylıkken ani ölümünü raporlamıştır (80). Ölümünü BE ile ilişkilendirdiğimiz diğer hastamız ise 2015 yılında doğan bir kız bebektir. Sağlık Bakanlığı taraması neticesinde 20 günlükken tarafımıza

başvurmuş, BEA değerlendirmesi için kan örnekleri alınarak 5 mg/gün biyotin tedavisine başlanmış. İşitme testini geçtiği görülmüş ve MSMS incelemesinde anormal bulgu saptanmamıştı. Fizik muayene bulguları normal olan hastanın BEA 1.56 nm/dk/ml (%17.99 ve hafif az renkli) tespit edilmişti. Ailede benzer bir hastalık olmadığı kaydedilmişti. 47 günlükken solunum sıkıntısı ile bir dış merkeze başvurmuş, yoğun bakım ve mekanik ventilasyon gereksinimi olmuş ve mantar sepsisi nedeni ile hayatını kaybetmişti. Bu hastanın metabolik asidoz ile hastaneye başvurduğu düşünülebilir. Beraberinde ölümüne sebep verecek mantar sepsisi geçirmiş olması bir immünolojik disfonksiyon olabilir mi sorusunu akla getirmektedir. BE'nin akut tablodaki hastalarda immün yetmezliğe neden olabileceği belirtilmiştir (3, 4). BE'nin primer immün yetmezlikleri taklit ettiğine dair 2015 yılında ülkemizden Kıyıkım ve arkadaşlarının yayınladığı bir vaka örneğinde, 3 yaşında tekrarlayan enfeksiyon nedeni hastane yatışları olan, kandidiyazis ve deri lezyonları görülen bir çocuk bildirilmiştir. BE için ulusal YTP başlamadan önce doğan bu hastada işitme cihazı kullanımı, tedaviye dirençli oral moniliyazis, tekrarlayan üst solunum yolu enfeksiyonları, tekrarlayan diaper dermatit, ciltte kuruluk, eritematöz deri lezyonları görülmekle birlikte immünolojik değerlendirmeleri normal bulunarak bakılan BEA 1.6 IU/L (normal değer>3.5 IU/L) saptanmıştır. Başlanan 5 mg biyotin ile birlikte işitme kaybı haricindeki tüm şikayetleri belirgin bir şekilde düzelmiştir (121). Bununla birlikte literatürde BE'nin CD4+ T hücrelerinde anormal inflamatuvar yanıtı neden olduğu da belirtilmektedir (122).

Çalışmamızda hastaların biyotinidaz enzim aktiviteleri kalitatif, kantitatif ve aktivite yüzdesi olarak değerlendirildi. Boyanma özellikleri incelendiğinde, BBE'lerin daha çok renksiz ya da çok az renkli boyandığı, KBE'lerin ise az renkli, hafif az renkli ya da renkli boyandığı görüldü. Tüm hastaların BEA kantitatif değeri ortalaması 1.6 ± 0.8 nm/dk/ml iken, KBE'lerde 1.9 ± 0.5 nm/dk/ml ve BBE'lerde 0.5 ± 0.3 nm/dk/ml idi. Aktivitelerin yüzde değerleri değerlendirildiğinde tüm hastaların ortalaması $\%18.2 \pm 9.1$, KBE'lerde $\%22.2 \pm 6.2$ ve BBE'lerde $\%5.4 \pm 3.4$ tü. Hastaların Sağlık Bakanlığı tarama değerleri de değerlendirildi. Tüm hastalarımızın 1. tarama değerleri ortalaması 40 ± 17.9 MRU (KBE 45.1 ± 14.2 ve BBE 16.7 ± 14.2), 2. tarama değerleri ortalaması 46.3 ± 18 MRU (KBE 51.8 ± 13 ve BBE 20.4 ± 15.6), 3. tarama değerleri ortalaması 42.7 ± 24.6 MRU (KBE 57.9 ± 15.4 ve BBE 20 ± 17) bulundu. KBE olan hastaların Sağlık Bakanlığı Taraması'nda enzim aktivitesi BBE olan hastalardan anlamlı olarak yüksek bulundu. Ardından KBE ve BBE hastalarının bakanlık taraması sonuçlarına göre ayrımı için yapılan eşik değer incelemesinde birinci tarama sonucu için eşik değer 26.17 MRU ve ikinci tarama sonuçlarında ise eşik değer 34.35 MRU bulunmuş ve her

ikisi de yüksek sensitivite ve spesifisite göstermiştir. Elde ettiğimiz bu değerler ile hastalara henüz ilk tarama sonucu geldiğinde kantitatif değerler çıkana kadar başlanan biyotin dozu daha doğru şekilde ayarlanabilir ve böylelikle özellikle BBE vakalarının da erken dönemde gerektiği kadar biyotin dozu almaları sağlanarak semptomların önüne geçilebilir.

Çalışmamızdaki hastaların tedavi öncesi ve sonrası; laktat, amonyak, MSMS C5OH karnitin ve C0 karnitin düzeyleri ve İOA incelemesinde 3-OH IVA atılımları değerlendirildi. Laktat bakılan hastalar içerisinde %13.8'inde (13 hastada) yükseklik saptandı. Bu hastaların ortalama serum biyotinidaz aktivitesi 7.4 ± 8.8 (medyan değeri %2) olarak tespit edildi. Laktat yüksekliği ile beraber en sık görülen semptom hipotonydi. Tedavi sonrasında tüm hastalarda laktat değerlerinin normale döndüğü görüldü. Amonyak bakılan hastalar içerisinde %24.7'sinde (22 hastada) yükseklik saptandı. Bu hastaların ortalama serum biyotinidaz aktivitesi 5.2 ± 6.2 (medyan değeri %2.9) olarak tespit edildi. Amonyak yüksekliğine en sık deri bulguları eşlik etmekteydi. Tedavi sonrasında tüm hastalarda amonyak değerlerinin normale döndüğü görüldü. Laktat yüksekliği katabolizmanın bir sonucu olduğu için (123) bu hastalarda daha çok hipotoni gibi nörolojik bulguların görülmesi beklenen bir durumdur. Amonyak yüksekliği görülen olgularda daha çok serebral kortikal atrofi ve nekroz, bazal ganglia lezyonları, gliotik değişiklikler, miyelinizasyon bozukluğu, intrakranial kanama ve ventrikülomegali gibi değişiklikler görülmesi beklenir. Kranial görüntülemelerde kortikal atrofi ve gri ya da ak maddede hipointensiteler beklenir. Kanda amonyak seviyesi ne kadar yükselirse ve ne kadar uzun süre yüksek seyredirse etkileri o kadar fazla görülür (124). Bizim vakalarımızda amonyak yüksekliği görülse de en sık bulgularının deri bulgusu olmasının nedeni; amonyak yüksekliğinin orta derecede olup uzun süre seyretmeyip, kısa sürede tedavi ile gerilemesi olabilir. Suormalı ve arkadaşları da bir BE olgusunda 23 günlükken orta derecede hiperamonyemi saptamışlar ve 10 mg biyotin ile kısa süre içerisinde yanıt almışlardır (90).

MSMS incelemesi yapılan hastalar içerisinde %0.6'sında (10 hastada) C0 karnitin değerlerinde düşüklük, %0.8'inde (15 hastada) C5OH karnitin değerlerinde yükseklik saptandı. C0 karnitin düşüklüğü saptanan hastaların ortalama serum biyotinidaz aktivitesi 11.6 ± 8 (medyan değeri %11.2) ve C5OH karnitin yüksekliği saptanan hastaların 3.2 ± 4.3 (medyan değeri %2) olarak tespit edildi. C0 karnitin düşüklüğü ile beraber tek bir hastada saç ile deri bulguları görüldü. Tedavi sonrasında 9 hastada C0 karnitin değerlerinin normale döndüğü görüldü. C5OH karnitin yüksekliği ile beraber en sık deri bulguları görüldü. Tedavi sonrasında tüm yükseklik değerler normale döndü. İOA incelemesi yapılan hastalar içerisinde %8'inde

(127 hastada) 3-OH IVA değerlerinde yükseklik saptandı. Bu hastaların ortalama serum biyotinidaz aktivitesi 14.9 ± 9.3 (medyan değeri %16.1) olarak tespit edildi. İdrarda 3-OH IVA atılımı ile beraber en sık deri bulguları görüldü. Tedavi sonrasında %95.9 hastada atılım yoktu. Plazmada 3-OH izovaleril karnitin (C5OH) yüksekliğinin ve idrarda onun metaboliti olan 3-OH IVA atılımının biyotin eksikliğinin erken ve hassas göstergesi olduğu Stratton ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda gösterilmiştir (125, 126). 2018 yılında Japonya’da Tokuriki ve arkadaşları tarafından 42 hasta ile yayınlanan çalışmada C5OH karnitin biyotin eksikliği için taramada kullanılabileceği ve C0 karnitin düşüklüğü ile C5OH karnitin yüksekliği arasında güçlü korelasyon olduğu ifade edilmiştir. (127). Horvath ve arkadaşları da 3-OH IVA atılımının biyotin eksikliğinin bir göstergesi olduğunu destekler bir çalışma yayınlamışlardır (128). Bu belirteçlerin BE için yüksek düzeyde spesifik olduğunu düşünecek olursak, serimizde en sık görülen semptom olan deri bulgularının bu hastalarda da görülmesinin beklenen bir durum olduğunu söyleyebiliriz. Canda ve arkadaşlarının serisinde tüm hastalarının asil karnitin profilleri normal saptanmış ve İOA analizlerinde 2 hastada metilsitrat atılımı dışında anlamlı bulgu görülmemiştir (105). Bizim çalışmamızda elde edilen sonuçlarla özellikle MSMS ile C5OH karnitin yüksekliği için %6.7 enzim aktivitesinde yüksek sensitivite (%86.7) ve spesifite (%86.9) ile eşik değer hesaplandı. MSMS ile C0 karnitin için %17.01 saptanan bu değerin, idrarda 3-OH IVA atılımı için %21.63 ve hiperamonyemi için %8.75 olduğu tespit edildi. Amonyak için %8.75 ve C5OH karnitin için saptanan %6.7 eşik değeri ile C5OH karnitin ve amonyak yüksekliğinin kuvvetle BBE sonucunda ortaya çıktığı söylenebilir. İdrar 3-OH IVA atılımı için hesaplanan %21.63 eşik değerinden yola çıkarak KBE’lerde de 3-OH IVA atılımın yüksek olabileceği söylenebilir. Mardiah ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada da 1 BBE olan hastada C5OH karnitin yüksekliği ile beraber idrarda 3-OH IVA atılımı, 1 KBE olan hastalarında da yalnızca idrarda 3-OH IVA atılımı olduğu görülmüştür (71).

Hastalarımızdan 71’inin kranial görüntülemesi vardı. Görüntülemesinde anlamlı patoloji saptanan 6 KBE ve 10 BBE olmak üzere toplam 16 hasta tespit edildi. Bu hastaların biyotinidaz aktiviteleri ortalaması KBE’lerde 24 ± 3 , BBE’lerde 4.3 ± 3.1 saptandı. Kranial MRG’de bulgusu olan hastalarımızdan biri, Sağlık Bakanlığı YTP öncesi doğmuş, İstanbul İli Pilot YTP sayesinde kliniğimize 37 günlükken getirilmişti. Anne babası arasında birinci kuzen evliliği vardı ve 20 günlükken kaybedilen kardeş öyküsü bulunmaktaydı. Moleküler DNA analizinde p.R79C homozigot olarak bulunan hastanın %0.36 enzim aktivitesi tespit edilmişti. Fizik muayenesinde deri döküntüleri, konjunktiviti ve laboratuvarında amonyak yüksekliği bulunmaktaydı. 10 mg biyotin tedavisi başlanan hasta takiplerinde gelişim basamaklarını

yakalayamamıştı ve kranial MRG’de her iki frontal lob üzerinde subaraknoidal alanda genişleme ile T2 ağırlıklı sekansa serebellar ve serebral hemisferlerde parankimde hiperintens sinyal değişiklikleri izlenmişti. Gelişim basamaklarını geriden takip eden hastanın tedavide duraklama yaptığı bir dönemde bulgularına saçlarda seyrelme ile işitme bozukluğu da eklenmişti. Devamında düzenli ilaç kullanımı ile ilkinden 8 yıl sonra çekilen kontrol MRG’de bulgusu gerilemişti. 19 yıllık takibin ardından hafif mental retardasyonu dışında şikayeti yoktu. 2004 yılında Grünweld ve arkadaşları 5 hastalık serilerinde BE’yi klinik öykü ve nöroradyolojik bulgular açısından değerlendirmiştir. İlk şikayeti nöbet olan 2 hastanın kranial MRG’sinde demiyelinizasyon alanları izlenmiş ve biyotin tedavisinin ardından 7 ve 12 ay sonra yapılan yeniden görüntülemelerde bu alanların gerilediği görülmüştür. Bu hastalardan biri normal gelişim gösterirken diğerinin nörolojik bulguları ağırlaşarak seyretmiştir (73). Başka bir yayında da 2 aydır devam eden nöbet şikayeti ile biri 6.5 aylık biri 17 aylık 2 çocuk değerlendirilmiştir. Bu hastalarda yapılan ilk görüntülemelerde beyaz maddede sinyalde azalma ve ilerleyici belirgin serebral atrofi görülmüş ve tanı sonrası biyotin tedavisinin başlanması sonrasında bu bulgulara gerileme olduğu saptanmıştır (129). Bu vakalar özelinde MRG bulguları düzelse dahi nörolojik etkilenmenin kalıcı olabileceğinden yola çıkılarak klinik takibin görüntüleme ile takibe göre daha önemli olduğu söylenebilir.

Hastalarımızın 79’unun moleküler DNA analizi sonuçları mevcuttu. Buna göre en sık görülen üç mutasyon p.R157H (%27.4), p.D444H (%17.7) ve p.T532M (%12.8) mutasyonlarıydı. Mutasyonların popülasyonlara göre değişiklik gösterebileceği bilinmektedir (63). Bu durumu destekleyici şekilde 2015 yılında ülkemizden Karaca ve arkadaşlarının yayınladığı 210 hastalık büyük seride de p.R157H ilk sırada olmak üzere en sık p.D444H, p.T532M ve c.98-104delins3 mutasyonları saptanmıştır. (121). Çalışmamızda alel çiftlerine göre en sık görülen mutasyonlar p.R157H-p.R157H (%17.7), p.T532M-p.T532M (%10.1) homozigot ve p.D444H-p.A171T (%10.1) birleşik heterozigot mutasyonlarıydı. Ülkemizden Canda ve arkadaşlarının 2018 tarihli yayınında sırasıyla en sık p.R157H-p.D444H, p.D444H’nin birleşik heterozigot olduğu mutasyonlar ve p.D444H’nin homozigot olduğu mutasyonlar saptanmıştır (105).

KBE tanılı hastalarımızda aleller değerlendirildiğinde en sık görülen üç mutasyon sırasıyla p.D444H (%35.2), p.R157H (%31.5) ve c.98-104del7ins3 frameshift (%9.3) mutasyonlarıydı. Alel çiftlerine göre değerlendirmede ise en sık görülen mutasyonlar p.R157H-p.R157H (%26.9) homozigotluğu ile c.98-104del7ins3 frameshift-p.D444H (%19.2) ve

p.R157H-p.D444H ile p.Q456H-p.D444H (%11.5) birleşik heterozigot mutasyonlarıydı. KBE'lerde en yüksek enzim aktivitesine sahip olan mutasyonlar p.D444H homozigotlardı (25.4 ± 0). Yedi p.R157H homozigot ve 1 p.T532M-p.V199M mutasyonu taşıyan hasta dışında tüm kısmi eksikliği olan hastalarda p.D444H birleşik heterozigot mutasyonları saptandı. Literatüre bakıldığında p.D444H mutasyonunun BEA'nın %48'ini sağladığı raporlanmıştır (65). p.D444H aleli BBE nedeni olduğu bilinen bir allele bir araya geldiğinde genellikle KBE'ye neden olur, homozigot olduğunda ise genellikle daha yüksek aktivite sağlar (113, 130). p.D444H mutasyonu bulunduran hastalarımızın özelliklerini değerlendirdiğimizde 18 KBE ve 10 BBE tanıli hastada bulunduğu ve bu mutasyonu homozigot olarak taşıyan hastamızın tamamen semptomsuz izlendiği saptanmıştır. Ancak ülkemizden başka bir vaka serisi yayınında homozigot p.D444H mutasyonu olan, motor mental retardasyonu ve konvülziyonları olan bir vaka bildirilmiştir (105). Vaka grubumuzda birleşik heterozigot saptandığında sadece 1 hastada nörolojik bulgularla birlikteliği olduğu görülmüştür. Ancak bu hastamız korpus kallosum disgenezi mevcut olan bir hastamızdı. Bununla birlikte p.D444H-p.R157H ve p.D444H-p.A171T mutasyonu hem KBE grubumuzda hem de BBE grubumuzda görülmüştür. p.R157H mutasyonu literatüre bakıldığında genelde düşük enzim aktivitesi ile ilişkili mutasyonlardan biridir (131). Ancak bizim 7 KBE hastamızda homozigot olarak saptanmıştır ve KBE'ler içindeki en düşük enzim aktivitesi (14.7 ± 2.9) olan grubu oluşturmuştur. Karaca ve arkadaşları da serilerinde hem KBE hem BBE grubunda p.R157H homozigot mutasyonunu bildirmişlerdir (132). Ayrıca KBE ya da BBE olsun p.R157H homozigot mutasyona sahip hastaları incelediğimizde hiç nörolojik semptomları olmadığı tespit edilmiştir. Bu örneklerden yola çıkarak BEA üzerine başka epigenetik, biyokimyasal veya çevresel faktörlerin de etkili olduğunu söyleyebiliriz.

BBE tanıli hastalarımız alellere göre değerlendirildiğinde en sık görülen üç mutasyon sırasıyla p.R157H (%25.5), p.T532M (%18.2) ve p.R79C (%10.0) mutasyonlarıydı. Alel çiftleri değerlendirildiğinde ise en sık görülen mutasyonlar p.T532M-p.T532M (%15.1), p.R157H-p.R157H (%13.2) homozigotluğu ve c.98-104del7ins3 frameshift-p.R157H ile p.D444H-p.A171T (%11.3) birleşik heterozigot mutasyonlarıydı. p.T532M homozigot mutasyonunun Türk popülasyonunda sık görüldüğü Pomponio ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. Ayrıca aynı çalışmada hafif ve geç başlangıçlı semptomlara neden olan en yaygın mutasyonlardan biri olduğu da belirtilmiştir (110). Tek başına p.T532M mutasyonunun da Türk popülasyonunda yaygın olduğu daha önceden Möslinger ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir (6). Karaca ve arkadaşlarının 2015 tarihli yayınında da bu mutasyonun görülme oranı sıklığı %7.8 saptanmış

ve bu yayınlar desteklenmiştir (132). Bizim çalışmamızda p.T532M mutasyonu olan hastaların özelliklerini değerlendirdiğimizde 13 hastadan 12'sinde BBE ile ilişkili olduğunu ve hiçbir hastada nörolojik semptom gelişmediğini saptadık. Canda ve arkadaşlarının çalışmasında BBE'lerde en sık homozigot mutasyon p.R157H-p.R157H saptanmıştır (105). Bizim çalışmamızda BBE'lerde en sık saptanan p.R157H ve p.T532M mutasyonlarının, ve beraberinde p.C186Y ile p.Q456H mutasyonlarının daha önceden düşük enzim aktivitesi ile ilişkilendirildiği belirtilmiştir (131).

Çalışmamızda BBE tanılı hastalar arasında en yüksek enzim aktivitesine sahip olan mutasyon homozigot p.Q456H (8.7 ± 0) mutasyonu saptandı. Bu mutasyon daha çok asemptomatik ama düşük enzim aktivitesi ile bilinmektedir (132). Serimizde p.Q456H homozigot mutasyonu taşıyan bir olgu öncesinde hiçbir semptomu olmaksızın 32 günlükken ani bebek ölüm sendromu nedeni ile kaybedilmiştir. BBE'ler arasında en düşük enzim aktivitesine sebep olan mutasyonlar ise 3' splice site-p.V457M (0.01 ± 0), p.R79C-p.Y434C, p.R157H (0.2 ± 0) ve p.R79C homozigotlar (0.4 ± 0.4) olarak tespit edildi. 3' splice site mutasyonunun BBE'ye neden olan bir mutasyon olduğu Pomponio ve arkadaşları tarafından bildirilmiştir. Aynı çalışmada p.V457M mutasyonunun da fonksiyonu olmayan enzim üretimine neden olduğu belirtilmiştir (133). Her iki mutasyonu taşıyan hastalarımızın tümü BBE'dir. p.R79C mutasyonu Pomponio ve arkadaşları tarafından ilk kez Türk popülasyonunda tanımlanmıştır. Aynı çalışmada p.R79C homozigot mutasyonunun BBE, p.D444H ya da p.Q511H ile birleşik heterozigotluk durumunda ise KBE'ye neden olduğu bildirilmiştir (110). Liu ve arkadaşları p.R79C mutasyonunu wild tip mutasyon olarak tanımlamışlardır (134). Serimizde p.R79C taşıyan hastaların tümü BBE olarak saptanmıştır.

p.D444H mutasyonunun BBE'ye neden olan bir mutasyonla beraber görüldüğünde KBE'ye neden olduğu bilinmekle birlikte (65) serimizde BBE grubunda p.D444H-p.A171T birleşik heterozigot ve p.R157H-p.D444H birleşik heterozigot olan hastalar vardı. p.D444H-p.A171T birleşik heterozigot mutasyonuna sahip ve BEA %5,2 olan bir hastamız 10 günlükken tarafımızca değerlendirilmiş ve ilk muayenesinde hipertoni, deri bulguları bulunmuş ve letarjik olduğu görülmüştü. Kranial MRG'sinde korpus kallosum disgenезisi saptanmıştı. Takiplerinde nöromotor gelişim geriliğinin devam ettiği görüldü. Canda ve arkadaşlarının çalışmasında BBE grubunda p.D444H mutasyonuna rastlanmamıştır ve KBE olmasına rağmen p.A171T-p.D444H birleşik heterozigot mutasyonuna sahip olup, nöromotor gelişim geriliği olan bir hasta bildirilmiştir. Ancak bu hastanın kranial MRG'sinde özellik bulunmamıştır (105). p.A171T ve

p.D444H'nin aynı alelde çift mutasyonu ise Amerika Birleşik Devletleri'nde çocuklarda en yaygın mutasyonlardan biri ve BBE sebebi olarak tanımlanmıştır (135). Bizim serimizde de bu mutasyonun saptandığı hastaların tümü BBE'dir.

Çalışmamızda BBE olan bir hastada p.P497S mutasyonuna da rastlanmıştır. Bu mutasyonun sıklıkla Kafkasyalı ve Afrika kökenli hastalarda görüldüğü ve BBE'ye yol açtığı bildirilmiştir (136). Ülkemizden bir çalışmada ise p.D444H ile birlikte KBE'ye neden olduğu bir hasta saptanmıştır (105).

Çalışmamızda yüksek sıklıkta hem BBE hem KBE'lerde saptadığımız c.98-104del7ins3 mutasyonu ile ilişkili olarak Karaca ve arkadaşlarının 2015 tarihli yayınında 9 tane YTP ile saptanan hastadan bahsedilmiştir. Bu hastaların nöbet, ensefalopati ve laktik asidemi şeklinde başlangıç semptomları olduğu bildirilmiştir (132). Türkiye'den farklı çalışmalarda da benzer sonuçlar bulunmuştur (103, 105). Wolf ve arkadaşları delesyonlarda daha düşük enzim aktivitesi bekleneceğini bildirmişlerdir (137). Bizim çalışmamızda bu mutasyon ile birleşik heterozigot p.R157H mutasyonunu taşıyan Sağlık Bakanlığı YTP öncesinde tespit edilen bir hastamızın ilk 1 ayında herhangi biri semptomu yokken, kliniğimize 19 aylık olana kadar başvurmadığı ve aileye ulaşamadığı için tedavisine başlanamamıştır. 19 aylıktan tarafımıza başvurduğunda 2 kez nöbet geçirdiği öğrenilen hastanın muayenesinde deri lezyonları, saçlarda seyreklik, nöromotor gelişim geriliği ve hipertoni saptanmıştır. Bu hasta dışında birleşik heterozigot c.98-104del7ins3 mutasyonunu taşıyan hastalarımızda belirgin bir semptom görülmemiştir. Benzer şekilde bu mutasyonu homozigot taşıyan 2 hastamızın birinde hiç semptom görülmemiş, birinde ise tedavide duraklama yaptığı dönemde saçlarında dökülme görülüp yeniden biyotin başlandığında şikayeti gerilemiştir. Hastalığın seyrinde genetik özelliklerle birlikte çevresel etmenlerin de etkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca tanı konulurken enzim aktivitesinin moleküler analiz ile desteklenmesi sayesinde gereksiz tedaviden kaçınılabılır ya da henüz semptom gelişmemiş hastalarda erken tedavi ile gelişebilecek semptomlar önlenabilir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

YTP ile saptanan 2102 hastanın dahil edildiği çalışmamızda BE olgularının demografik, klinik ve laboratuvar özellikleri değerlendirildi. Hasta sayısının Sağlık Bakanlığı YTP'ye BE dahil olduktan sonra ve özellikle son 6 yılda belirgin olarak arttığı görüldü. Özellikle doğu şehirlerinde daha yüksek doğum sayısı ve sık görülen akraba evliliklerinin hasta sayısında ve oranında artışta önemli bir rol oynadığı saptandı. KBE olan hastaların ebeveynlerinde ve kardeşlerinde daha çok KBE, BBE olan hastaların ebeveynlerinde ve kardeşlerinde de daha çok BBE görüldü. Çalışmamızda tüm taranan akrabalar değerlendirildiğinde hastalarımızdan toplam % 26.3'ünün (n=554) BE tanılı akrabası vardı.

Hastaların %69.9'una (n=1469) tanı ilk 1 ay içerisinde konulmuş ve tedavi başlanmıştı. Hastaların ilk semptomatik olma yaşı medyan değeri hem KBE hem BBE'ler için 1 ay olarak hesaplandı. Literatürden farklı olarak KBE'lerin % 21.3'ü ve BBE'lerin % 41.3'ü izlem süreleri içerisinde en az 1 defa semptomatik oldular. Her iki grupta da en sık deri bulguları izlendi. KBE'de deri bulgularını, saç bulguları ve nörolojik bulgular takip etti. BBE'de ikinci sıklıkta nörolojik bulgular görüldü ve onu da saç bulguları izledi. İstatistiksel analizler sonucunda deri bulguları (sensitivite %46.4, spesifite %72.9), saç bulguları (sensitivite %67.2, spesifite %70), nörolojik bulgular (sensitivite %67.6, spesifite %70.1) ve konjunktivit (sensitivite %61.7, spesifite %71.6) için $\approx$ %14 değerinin eşik değer olabileceği hesaplandı. Bu değer görme bozukluğu (sensitivite %80, spesifite %88.5) içinse $\approx$ %5'ti. Bu eşik değerler doğrultusunda hastaların tedavi dozlarının yeniden gözden geçirilebilmesi önerildi. Benzer bir istatistiksel analizle enzim aktivitesi %25'in üzerinde olan KBE hastalarının diğer KBE'lere göre yüksek anlamlılık düzeyinde daha az semptomatik olduğunu görüldü. BEA %25 üzerinde ve semptom geliştirmemiş KBE'lerde yapılacak moleküler tanı bu hastaların tedavi gereksinimlerinin tekrar değerlendirilmesine olanak sağlayabilir.

İlk muayenede beklendiği üzere BBE'ler KBE'lere göre daha semptomatiktir. Her iki grupta da en sık görülen semptomlar deri bulguları ve nörolojik bulgulardır. Tedavi uyumu değerlendirilebilen tüm hastaların %91'i tedaviye uyumluydu. Semptom varlığı açısından değerlendirildiğinde tedaviye uyumlu ve uyumsuz olan iki grup arasında hem BBE hem KBE'lerde anlamlı fark saptandı. Tedaviye uyumlu olduğu halde hastaların %6.2'sinde semptom görüldü. Bu semptomlar KBE için en sık deri ve nörolojik bulgulardır. BBE içinse nörolojik bulgular, işitme ve görme bozukluğuydu. Burada dikkat edilmesi gereken nokta

literatürde genelde ifade edilenin aksine KBE'lerin de, tedavi altında dahi, semptomatik olabileceğidir.

Tedavi ile birlikte; nöbetlerin ve konjunktivitinin tamamının; deri bulgularının, saç bulgularının, hipotoninin, hipertoninin çok yüksek oranda; nöromotor gelişim geriliğinin %25 kadarının ve işitme bozukluğunun %70'inin gerilediği saptandı. Görme bozukluğu saptanan 26 hastanın hiçbirinin tedaviye yanıt vermediği görüldü. Buradan literatürle uyumlu olarak görme bozukluğu ve göz patolojileri için biyotin ile gerileme saptanmadığını, işitme kaybı için ise erken dönemde saptanır ve düzenli biyotin kullanımı olursa yüksek oranda gerileyebileceğini söyleyebiliriz.

Takip ve takipsizlik süresi BBE hastalarında KBE'lerden anlamlı olarak daha uzundu. Bunun sebebi muhtemelen BBE tanılı hastalarımızın büyük çoğunun ilk hastalarımız olması, dolayısıyla yaşlarının daha büyük olması olabilir. BE tanısı almış ve vefat eden 6 hastanın dördünün ölümleriyle ilişkilendirilebilecek ek hastalığı vardı. Diğer iki olgudan birinin muhtemelen BE ilişkili immun disfonksiyon sonucu kaybedildiği, diğerinin ise ani bebek ölüm sendromu olduğu düşünülürse tedavisi kolay olan bu hastalığın da ciddi sonuçlarının olabileceği görüldü.

KBE tanılı hastaların Sağlık Bakanlığı Taraması'nda enzim aktivitesi (MRU), BBE olan hastalardan anlamlı olarak yüksek saptandı. Bu iki grubun ayrımı için yapılan eşik değer incelemesinde 1. tarama sonucu için eşik değer 26.17 MRU ve ikinci tarama sonuçlarında ise eşik değer 34.35 MRU bulunmuş ve her ikisi de yüksek sensitivite ve spesifisite göstermiştir. Elde ettiğimiz bu değerler ile hastalara henüz ilk tarama sonucu geldiğinde kantitatif değerler çıkana kadar başlanan biyotin dozu daha doğru şekilde ayarlanabilir ve böylelikle özellikle BBE vakalarının da erken dönemde gerektiği kadar biyotin dozu almaları sağlanarak semptomların gelişmesinin önüne geçilebilir.

Çalışmamızda hastaların tedavi öncesi ve sonrası; laktat, amonyak, MSMS C5OH karnitin ve C0 karnitin düzeyleri ve idrar organik asit incelemesinde 3-OH IVA atılımları değerlendirilmiş; düzenli uygulanan biyotin tedavisi ile bu bulguların gerilediği ve C5OH karnitin yüksekliğinin özellikle BBE açısından uyarıcı olabileceği sonucuna varılmıştır. Laboratuvar parametreleri içerisinde laktat yüksekliği dışındaki parametreler en sık deri bulguları ile birliktelik göstermişlerdir. Laktat yüksekliğine ise en sık hipotoni eşlik etmiştir.

Moleküler DNA analizi yapılan hastalarımız içerisinde en sık görülen üç mutasyon literatürle benzer şekilde p.R157H (%27.4), p.D444H (%17.7) ve p.T532M (%12.8) saptandı. Alel çiftleri değerlendirildiğinde en sık görülen mutasyonlar p.R157H-p.R157H (%17.7), p.T532M-p.T532M (%10.1) ve p.D444H-p.A171T (%10.1) mutasyonlarıydı. Daha önceki çalışmalarla uyumlu olarak en yüksek enzim aktivitesi sağlayan mutasyonların p.D444H homozigotlar (25.4 ± 0) olduğu görüldü. p.R157H mutasyonunu yayınlara bakıldığında düşük enzim aktivitesi ile ilişkiliyken 7 KBE hastamızda homozigot olarak saptandı ve KBE'ler içindeki en düşük enzim aktivitesi (14.7 ± 2.9) olan grubu oluşturdu. BBE tanıli hastalar arasında en yüksek enzim aktivitesi sağlayan mutasyonun homozigot p.Q456H (8.7 ± 0) olduğu tespit edildi. Asemptomatik ama daha çok düşük enzim aktivitesi ile ilişkili olduğu bilinen bu mutasyonu homozigot bulunduran bir hastamız hiçbir semptomu olmaksızın 32 günlükken ani bebek ölüm sendromu nedeni ile kaybedilmişti. BBE'ler arasında en düşük enzim aktivitesine sebep olan mutasyonlar 3' splice site-p.V457M (0.01 ± 0), p.R79C-p.Y434C, p.R157H (0.2 ± 0) ve p.R79C homozigotlar (0.4 ± 0.4) olarak saptandı. p.D444H mutasyonu ile beraber BBE'ye neden olan bir mutasyon birleşik heterozigot olduğunda KBE'ye neden olduğu bildirilmiştir ama serimizde BBE olup, p.D444H-p.A171T birleşik heterozigot ve p.R157H-p.D444H birleşik heterozigot saptanan hastalar vardı. Aynı alelde p.A171T ve p.D444H'nin çift mutasyonu ise literatürle uyumlu olarak ağır enzim eksikliğine sebep olup, taşıyan tüm hastalarımızın BBE olduğu saptandı. BE her hasta özelinde ayrı değerlendirilmeli, genetikle birlikte çevresel etmenler de göz önünde bulundurulmalıdır. Tanı için enzim aktivitesi moleküler analiz ile desteklenmelidir. Bunun sonucunda gereksiz tedaviden kaçınılabilir ya da henüz semptom gelişmemiş hastalarda gelişebilecek semptomlar erken tedavi ile önlenabilir.

Çalışmamızın Gücü

Yaptığımız literatür taramasına göre BE konusundaki vaka serileri içerisinde en yüksek hasta sayısına ulaşılan çalışmadır.

Merkezimizin İstanbul'da referans merkez olması ve İstanbul'un kozmopolit yapısı göz önüne alındığında, ki verilerimiz de bunu doğrular niteliktedir, sonuçlarımızın Türkiye genelini yansıttığı söylenebilir.

BE'de yenidoğan taramanın ülkemizde ilk başlatıldığı yer İstanbul Tıp Fakültesi, Çocuk Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı olup çalışmamıza 1991 yılından itibaren saptanan hastalar dahil edilmiştir ve verilerimiz 30 yıllık deneyimi yansıtmaktadır.

Çalışmamızın Kısıtlılıkları

Çalışmamızdaki en önemli kısıtlama hastalarımızın relatif olarak çok azında moleküler DNA analizlerinin yapılmış olmasıdır.

30 yıl geriye dönük olarak incelendiği için dosyalarda bazı ulaşılamayan bilgiler olmuştur. Bu sebeple değerlendirmeler ulaşılabilen veriler üzerinden yapılmıştır.

Tek merkezde bu kadar çok hastanın takip ediliyor olması gerekli iş gücünü artırmaktadır. İyi izlemin önemli olduğu bu hastalıkta iş gücünün artırılması fayda sağlayacaktır.

Öneriler

BE kalıtsal bir metabolik hastalık olup, YTP ile erken dönemde tanı ve başlanan tedavi ile başarılı sonuçlanabilecek hastalıkların en iyi örneklerindendir. Tedavisi biyotin desteği olup, ulaşılabilirliği ve tedavi uyumu kolaydır. Yenidoğan taramasında saptandığında kolaylıkla tedavi edilebilir. Ülkemizde de asemptomatik hastaların sayısı her geçen yıl daha da artmaktadır. Bu konudaki çalışmaların artması ve günümüzde özellikle moleküler DNA analizinin daha kolay yapılabilir olması nedeni ile hastaların genotip fenotip ilişkilerinin aydınlatılması, bize bu hastalık hakkında daha çok şey öğretecek ve tedavide daha başarılı sonuçlar almamızı sağlayacaktır.

7. KAYNAKÇA

1. Wolf B. Worldwide survey of neonatal screening for biotinidase deficiency. *J Inherit Metab Dis.* 1991;14(6):923-7.
 2. Wolf B. Biotinidase Deficiency. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, et al., editors. *GeneReviews*(®). Seattle (WA): University of Washington, Seattle
- Copyright © 1993-2020, University of Washington, Seattle. GeneReviews is a registered trademark of the University of Washington, Seattle. All rights reserved.; 1993.
3. Baumgartner MR, Suormala T. Biotin-responsive Disorders. In: Saudubray J-M, Baumgartner MR, Walter J, editors. *Inborn Metabolic Diseases Diagnosis and Treatment*. 6th Edition ed: Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2016. p. 375-83.
 4. Wolf B. Biotinidase deficiency: "if you have to have an inherited metabolic disease, this is the one to have". *Genet Med.* 2012;14(6):565-75.
 5. Wastell HJ, Bartlett K, Dale G, Shein A. Biotinidase deficiency: a survey of 10 cases. *Arch Dis Child.* 1988;63(10):1244-9.
 6. Möslinger D, Stöckler-Ipsiroglu S, Scheibenreiter S, Tiefenthaler M, Mühl A, Seidl R, et al. Clinical and neuropsychological outcome in 33 patients with biotinidase deficiency ascertained by nationwide newborn screening and family studies in Austria. *Eur J Pediatr.* 2001;160(5):277-82.
 7. Weber P, Scholl S, Baumgartner ER. Outcome in patients with profound biotinidase deficiency: relevance of newborn screening. *Dev Med Child Neurol.* 2004;46(7):481-4.
 8. Baumgartner ER, Suormala T, Wick H, Bausch J, Bonjour JP. Biotinidase deficiency associated with renal loss of biocytin and biotin. *Ann N Y Acad Sci.* 1985;447:272-87.
 9. Wolf B, Grier RE, Allen RJ, Goodman SI, Kien CL. Biotinidase deficiency: the enzymatic defect in late-onset multiple carboxylase deficiency. *Clin Chim Acta.* 1983;131(3):273-81.
 10. Guthrie R, Susi A. A Simple Phenylalanine Method for Detecting Phenylketonuria in Large Populations of Newborn Infants. *Pediatrics.* 1963;32:338-43.
 11. Beutler E, Baluda M, Donnell GN. A new Method for the Detection of Galactosemia and Its Carrier State. *J Lab Clin Med.* 1964;64:694-705.
 12. Dussault JH, Laberge C. [Thyroxine (T4) determination by radioimmunological method in dried blood eluate: new diagnostic method of neonatal hypothyroidism?]. *Union Med Can.* 1973;102(10):2062-4.
 13. Almannaï M, Marom R, Sutton VR. Newborn screening: a review of history, recent advancements, and future perspectives in the era of next generation sequencing. *Curr Opin Pediatr.* 2016;28(6):694-9.
 14. Yenidoğan Metabolik ve Endokrin Hastalık Tarama Programı (NTP) [Available from: https://hsgm.saglik.gov.tr/tr/cocukergen-tp-liste/yenidogan_tarama_programi.html].
 15. Wilson JMG, Jungner G, World Health O. Principles and practice of screening for disease / J. M. G. Wilson, G. Jungner. Geneva: World Health Organization; 1968.
 16. S D, DS M. Tandem Mass Spectrometry in Clinical Diagnosis. In: N.Blau, M.Duran, M.E.Blaskovics, K.M.Gibson, editors. *Physician's Guide to the Laboratory Diagnosis of Metabolic Diseases* 2th edition ed. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag 2003. p. 57-77.
 17. Pourfarzam M, Zadhoush F. Newborn Screening for inherited metabolic disorders; news and views: *J Res Med Sci.* 2013; 18(9):801-8.
 18. Genetic A, The New York-Mid-Atlantic Consortium for G, Newborn Screening S. Genetic Alliance Monographs and Guides. *Understanding Genetics: A New York, Mid-Atlantic Guide for Patients and Health Professionals*. Washington (DC): Genetic Alliance

Copyright © 2008, Genetic Alliance.; 2009.

19. Uslu S, Zubarioglu AU. Selective Metabolic Screening from Neonatology Perspective. *Journal of Academic Research in Medicine*. 2015;5.
20. Erçin S, Ovalı F. Yenidoğan Taramaları. *Klinik Tıp Pediatri Dergisi*. 2019;11(4):193-9.
21. T.C Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü Çocuk ve Ergen Sağlığı Dairesi Başkanlığı [Available from: https://hsgm.saglik.gov.tr/depo/birimler/cocuk_ergen_db/dokumanlar/BIO_Akis_Semasi.pdf.
22. Sweetman L, Nyhan WL. Inheritable biotin-treatable disorders and associated phenomena. *Annu Rev Nutr*. 1986;6:317-43.
23. Wolf B, Heard GS, McVoy JR, Grier RE. Biotinidase deficiency. *Ann N Y Acad Sci*. 1985;447:252-62.
24. Thoma RW, Peterson WH. The enzymatic degradation of soluble bound biotin. *J Biol Chem*. 1954;210(2):569-79.
25. Wolf B, Feldman GL. The biotin-dependent carboxylase deficiencies. *Am J Hum Genet*. 1982;34(5):699-716.
26. Gompertz D, Draffan GH, Watts JL, Hull D. Biotin-responsive beta-methylcrotonylglycinuria. *Lancet*. 1971;2(7714):22-4.
27. Feldman GL, Wolf B. Deficient acetyl CoA carboxylase activity in multiple carboxylase deficiency. *Clin Chim Acta*. 1981;111(2-3):147-51.
28. Thoene J, Baker H, Yoshino M, Sweetman L. Biotin-responsive carboxylase deficiency associated with subnormal plasma and urinary biotin. *N Engl J Med*. 1981;304(14):817-20.
29. Munnich A, Saudubray JM, Carré G, Coudé FX, Ogier H, Charpentier C, et al. Defective biotin absorption in multiple carboxylase deficiency. *Lancet*. 1981;2(8240):263.
30. Thoene J, Wolf B. Biotinidase deficiency in juvenile multiple carboxylase deficiency. *Lancet*. 1983;2(8346):398.
31. Hart PS, Hymes J, Wolf B. Biochemical and immunological characterization of serum biotinidase in profound biotinidase deficiency. *Am J Hum Genet*. 1992;50(1):126-36.
32. Cole H, Reynolds TR, Lockyer JM, Buck GA, Denson T, Spence JE, et al. Human serum biotinidase. cDNA cloning, sequence, and characterization. *J Biol Chem*. 1994;269(9):6566-70.
33. Fujimoto W, Inaoki M, Fukui T, Inoue Y, Kuhara T. Biotin deficiency in an infant fed with amino acid formula. *J Dermatol*. 2005;32(4):256-61.
34. Mock DM, Baswell DL, Baker H, Holman RT, Sweetman L. Biotin deficiency complicating parenteral alimentation: diagnosis, metabolic repercussions, and treatment. *J Pediatr*. 1985;106(5):762-9.
35. Mock D. Biotin. In: Shils ME, Olsen JA, Shike M, Ross AC, editors. *Modern Nutrition in Health and Disease*. 9th ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 1999. p. 459.
36. Kopinski JS, Leibholz J, Bryden WL. Biotin studies in pigs. 3. Biotin absorption and synthesis. *Br J Nutr*. 1989;62(3):767-72.
37. Mishra S, Storer MK, Sherwin CM, Lewis JG. A simple binding assay for the direct determination of biotin in urine. *Clin Chim Acta*. 2005;360(1-2):60-6.
38. Supplements NIOHOD. Fact sheet for health professional [updated 15.01.2021.
39. Baumgartner ER, Suormala T. Multiple carboxylase deficiency: inherited and acquired disorders of biotin metabolism. *Int J Vitam Nutr Res*. 1997;67(5):377-84.
40. Suormala TM, Baumgartner ER, Bausch J, Holick W, Wick H. Quantitative determination of biocytin in urine of patients with biotinidase deficiency using high-performance liquid chromatography (HPLC). *Clin Chim Acta*. 1988;177(3):253-69.
41. Gravel RA. Holocarboxylase synthetase: a multitasking protein with roles in biotin transfer, gene regulation and chromatin dynamics. *Mol Genet Metab*. 2014;111(3):305-6.

42. León-Del-Río A. Biotin-dependent regulation of gene expression in human cells. *J Nutr Biochem.* 2005;16(7):432-4.
43. Zeng WQ, Al-Yamani E, Acierno JS, Slaugenhaupt S, Gillis T, MacDonald ME, et al. Biotin-responsive basal ganglia disease maps to 2q36.3 and is due to mutations in SLC19A3. *Am J Hum Genet.* 2005;77(1):16-26.
44. Subramanian VS, Marchant JS, Said HM. Biotin-responsive basal ganglia disease-linked mutations inhibit thiamine transport via hTHTR2: biotin is not a substrate for hTHTR2. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2006;291(5):C851-9.
45. Tourbah A, Lebrun-Frenay C, Edan G, Clanet M, Papeix C, Vukusic S, et al. MD1003 (high-dose biotin) for the treatment of progressive multiple sclerosis: A randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Mult Scler.* 2016;22(13):1719-31.
46. Aoki Y, Suzuki Y, Li X, Sakamoto O, Chikaoka H, Takita S, et al. Characterization of mutant holocarboxylase synthetase (HCS): a Km for biotin was not elevated in a patient with HCS deficiency. *Pediatr Res.* 1997;42(6):849-54.
47. Burri BJ, Sweetman L, Nyhan WL. Heterogeneity of holocarboxylase synthetase in patients with biotin-responsive multiple carboxylase deficiency. *Am J Hum Genet.* 1985;37(2):326-37.
48. Sakamoto O, Suzuki Y, Li X, Aoki Y, Hiratsuka M, Suormala T, et al. Relationship between kinetic properties of mutant enzyme and biochemical and clinical responsiveness to biotin in holocarboxylase synthetase deficiency. *Pediatr Res.* 1999;46(6):671-6.
49. Blom W, de Muinck Keizer SM, Scholte HR. Acetyl-CoA carboxylase deficiency: an inborn error of de novo fatty acid synthesis. *N Engl J Med.* 1981;305(8):465-6.
50. Baumgartner MR, Dantas MF, Suormala T, Almashanu S, Giunta C, Friebe D, et al. Isolated 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency: evidence for an allele-specific dominant negative effect and responsiveness to biotin therapy. *Am J Hum Genet.* 2004;75(5):790-800.
51. Mardach R, Zemleni J, Wolf B, Cannon MJ, Jennings ML, Cress S, et al. Biotin dependency due to a defect in biotin transport. *J Clin Invest.* 2002;109(12):1617-23.
52. Baykal T, Hüner G, Sarbat G, Demirkol M. Incidence of biotinidase deficiency in Turkish newborns. *Acta Paediatr.* 1998;87(10):1102-3.
53. Cowan TM, Kazerouni NN, Dharajiya N, Lorey F, Roberson M, Hodgkinson C, et al. Increased incidence of profound biotinidase deficiency among Hispanic newborns in California. *Mol Genet Metab.* 2012;106(4):485-7.
54. Cowan TM, Blitzer MG, Wolf B. Technical standards and guidelines for the diagnosis of biotinidase deficiency. *Genet Med.* 2010;12(7):464-70.
55. Knight HC, Reynolds TR, Meyers GA, Pomponio RJ, Buck GA, Wolf B. Structure of the human biotinidase gene. *Mamm Genome.* 1998;9(4):327-30.
56. Procter M, Wolf B, Crockett DK, Mao R. The Biotinidase Gene Variants Registry: A Paradigm Public Database. *G3 (Bethesda).* 2013;3(4):727-31.
57. Hymes J, Stanley CM, Wolf B. Mutations in BTBD9 causing biotinidase deficiency. *Hum Mutat.* 2001;18(5):375-81.
58. Pomponio RJ, Hymes J, Reynolds TR, Meyers GA, Fleischhauer K, Buck GA, et al. Mutations in the human biotinidase gene that cause profound biotinidase deficiency in symptomatic children: molecular, biochemical, and clinical analysis. *Pediatr Res.* 1997;42(6):840-8.
59. Jay AM, Conway RL, Feldman GL, Nahhas F, Spencer L, Wolf B. Outcomes of individuals with profound and partial biotinidase deficiency ascertained by newborn screening in Michigan over 25 years. *Genet Med.* 2015;17(3):205-9.
60. Weissbecker KA, Nance WE, Eaves LJ, Piussan C, Wolf B. Statistical approaches for the detection of heterozygotes for biotinidase deficiency. *Am J Med Genet.* 1991;39(4):385-90.

61. Sivri HS, Genç GA, Tokatli A, Dursun A, Coşkun T, Aydın HI, et al. Hearing loss in biotinidase deficiency: genotype-phenotype correlation. *J Pediatr*. 2007;150(4):439-42.
 62. Wolf B, Norrgard K, Pomponio RJ, Mock DM, McVoy JR, Fleischhauer K, et al. Profound biotinidase deficiency in two asymptomatic adults. *Am J Med Genet*. 1997;73(1):5-9.
 63. Baykal T, Gokcay G, Gokdemir Y, Demir F, Seckin Y, Demirkol M, et al. Asymptomatic adults and older siblings with biotinidase deficiency ascertained by family studies of index cases. *J Inherit Metab Dis*. 2005;28(6):903-12.
 64. Möslinger D, Mühl A, Suormala T, Baumgartner R, Stöckler-Ipsiroglu S. Molecular characterisation and neuropsychological outcome of 21 patients with profound biotinidase deficiency detected by newborn screening and family studies. *Eur J Pediatr*. 2003;162 Suppl 1:S46-9.
 65. Swango KL, Demirkol M, Hüner G, Pronicka E, Sykut-Cegielska J, Schulze A, et al. Partial biotinidase deficiency is usually due to the D444H mutation in the biotinidase gene. *Hum Genet*. 1998;102(5):571-5.
 66. Suormala T, Wick H, Bonjour JP, Baumgartner ER. Rapid differential diagnosis of carboxylase deficiencies and evaluation for biotin-responsiveness in a single blood sample. *Clin Chim Acta*. 1985;145(2):151-62.
 67. Sweetman L, Surh L, Baker H, Peterson RM, Nyhan WL. Clinical and metabolic abnormalities in a boy with dietary deficiency of biotin. *Pediatrics*. 1981;68(4):553-8.
 68. Grünert SC, Stucki M, Morscher RJ, Suormala T, Bürer C, Burda P, et al. 3-methylcrotonyl-CoA carboxylase deficiency: clinical, biochemical, enzymatic and molecular studies in 88 individuals. *Orphanet J Rare Dis*. 2012;7:31.
 69. Marin-Valencia I, Roe CR, Pascual JM. Pyruvate carboxylase deficiency: mechanisms, mimics and anaplerosis. *Mol Genet Metab*. 2010;101(1):9-17.
 70. Shchelochkov OA, Carrillo N, Venditti C. Propionic Acidemia. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Mirzaa G, et al., editors. *GeneReviews*(®). Seattle (WA): University of Washington, Seattle
- Copyright © 1993-2021, University of Washington, Seattle. GeneReviews is a registered trademark of the University of Washington, Seattle. All rights reserved.; 1993.
71. Mardhiah M, Azize NAA, Yakob Y, Affandi O, Hock NL, Rowani MR, et al. Clinical, biochemical and mutational findings in biotinidase deficiency among Malaysian population. *Mol Genet Metab Rep*. 2020;22:100548.
 72. Duran M, Baumgartner ER, Suormala TM, Bruinvis L, Dorland L, Smeitink JA, et al. Cerebrospinal fluid organic acids in biotinidase deficiency. *J Inherit Metab Dis*. 1993;16(3):513-6.
 73. Grünewald S, Champion MP, Leonard JV, Schaper J, Morris AA. Biotinidase deficiency: a treatable leukoencephalopathy. *Neuropediatrics*. 2004;35(4):211-6.
 74. Wolf B, Heard GS, Weissbecker KA, McVoy JR, Grier RE, Leshner RT. Biotinidase deficiency: initial clinical features and rapid diagnosis. *Ann Neurol*. 1985;18(5):614-7.
 75. Salbert BA, Pellock JM, Wolf B. Characterization of seizures associated with biotinidase deficiency. *Neurology*. 1993;43(7):1351-5.
 76. Chedrawi AK, Ali A, Al Hassnan ZN, Faiyaz-Ul-Haque M, Wolf B. Profound biotinidase deficiency in a child with predominantly spinal cord disease. *J Child Neurol*. 2008;23(9):1043-8.
 77. Wolf B. Biotinidase deficiency should be considered in individuals exhibiting myelopathy with or without and vision loss. *Mol Genet Metab*. 2015;116(3):113-8.
 78. Wolf B, Spencer R, Gleason T. Hearing loss is a common feature of symptomatic children with profound biotinidase deficiency. *J Pediatr*. 2002;140(2):242-6.

79. Lott IT, Lottenberg S, Nyhan WL, Buchsbaum MJ. Cerebral metabolic change after treatment in biotinidase deficiency. *J Inherit Metab Dis*. 1993;16(2):399-407.
80. Burton BK, Roach ES, Wolf B, Weissbecker KA. Sudden death associated with biotinidase deficiency. *Pediatrics*. 1987;79(3):482-3.
81. Mc Sweeney N, Grunewald S, Bhate S, Ganesan V, Chong WK, Hemingway C. Two unusual clinical and radiological presentations of biotinidase deficiency. *Eur J Paediatr Neurol*. 2010;14(6):535-8.
82. Baumgartner ER, Suormala TM, Wick H, Probst A, Blauenstein U, Bachmann C, et al. Biotinidase deficiency: a cause of subacute necrotizing encephalomyelopathy (Leigh syndrome). Report of a case with lethal outcome. *Pediatr Res*. 1989;26(3):260-6.
83. Ramaekers VT, Suormala TM, Brab M, Duran R, Heimann G, Baumgartner ER. A biotinidase Km variant causing late onset bilateral optic neuropathy. *Arch Dis Child*. 1992;67(1):115-9.
84. Bottin L, Prud'hon S, Guey S, Giannesini C, Wolf B, Pindolia K, et al. Biotinidase deficiency mimicking neuromyelitis optica: Initially exhibiting symptoms in adulthood. *Mult Scler*. 2015;21(12):1604-7.
85. Ramaekers VT, Brab M, Rau G, Heimann G. Recovery from neurological deficits following biotin treatment in a biotinidase Km variant. *Neuropediatrics*. 1993;24(2):98-102.
86. Wolf B, Secor McVoy J. A sensitive radioassay for biotinidase activity: deficient activity in tissues of serum biotinidase-deficient individuals. *Clin Chim Acta*. 1983;135(3):275-81.
87. Heard GS, Secor McVoy JR, Wolf B. A screening method for biotinidase deficiency in newborns. *Clin Chem*. 1984;30(1):125-7.
88. Wastell H, Dale G, Bartlett K. A sensitive fluorimetric rate assay for biotinidase using a new derivative of biotin, biotiny-6-aminoquinoline. *Anal Biochem*. 1984;140(1):69-73.
89. Broda E, Baumgartner ER, Scholl S, Stopsack M, Horn A, Rhode H. Biotinidase determination in serum and dried blood spots--high sensitivity fluorimetric ultramicro-assay. *Clin Chim Acta*. 2001;314(1-2):175-85.
90. Suormala TM, Baumgartner ER, Wick H, Scheibenreiter S, Schweitzer S. Comparison of patients with complete and partial biotinidase deficiency: biochemical studies. *J Inherit Metab Dis*. 1990;13(1):76-92.
91. Strovel ET, Cowan TM, Scott AI, Wolf B. Laboratory diagnosis of biotinidase deficiency, 2017 update: a technical standard and guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med*. 2017;19(10).
92. Thuy LE, Zielinska B, Sweetman L, Nyhan W. Determination of Biotinidase Activity in Human Plasma Using [14C]Biocytin as Substrate. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2006;447:434-.
93. Livaniou E, Evangelatos GP, Ithakissios DS. Biotin radioligand assay with an 125I-labeled biotin derivative, avidin, and avidin double-antibody reagents. *Clin Chem*. 1987;33(11):1983-8.
94. Weiner DL, Grier RE, Wolf B. A bioassay for determining biotinidase activity and for discriminating biocytin from biotin using holocarboxylase synthetase-deficient cultured fibroblasts. *J Inherit Metab Dis*. 1985;8 Suppl 2:101-2.
95. Kumasaka K, Muratsugu M, Fukui T, Kimura M, Takagi Y, Hashizume N. A new quantitative analytical method of serum biotinidase activity using biocytin as a substrate and its clinical significance in Japan. *Clin Chim Acta*. 2001;306(1-2):71-7.
96. Wolf B. Why screen newborns for profound and partial biotinidase deficiency? *Mol Genet Metab*. 2015;114(3):382-7.

97. Riverón-Negrete L, Sicilia-Argumedo G, Álvarez-Delgado C, Coballase-Urrutia E, Alcántar-Fernández J, Fernandez-Mejia C. Dietary Biotin Supplementation Modifies Hepatic Morphology without Changes in Liver Toxicity Markers. *Biomed Res Int*. 2016;2016:7276463.
98. Pastén-Hidalgo K, Riverón-Negrete L, Sicilia-Argumedo G, Canul-Medina G, Salazar-Anzures T, Tapia-Rodríguez M, et al. Dietary Biotin Supplementation Impairs Testis Morphology and Sperm Quality. *J Med Food*. 2020;23(5):535-44.
99. Birnbaum G, Stulc J. High dose biotin as treatment for progressive multiple sclerosis. *Mult Scler Relat Disord*. 2017;18:141-3.
100. Wolf B. Biotinidase Deficiency: New Directions and Practical Concerns. *Curr Treat Options Neurol*. 2003;5(4):321-8.
101. Biotinidase Deficiency Expert reviewer(s): Dr Barry WOLF - Last update: September 2020 [Available from: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?lng=EN&Expert=79241].
102. Secor McVoy JR, Heard GS, Wolf B. Potential for prenatal diagnosis of biotinidase deficiency. *Prenat Diagn*. 1984;4(4):317-8.
103. Canda E, Kalkan Uçar S, Çoker M. Biotinidase Deficiency: Prevalence, Impact And Management Strategies. *Pediatric Health Med Ther*. 2020;11:127-33.
104. Özer I. Karbonhidrat metabolizması bozukluklarında biyotinidaz aktivitesinin yeri: Retrospektif değerlendirme: İstanbul Üniversitesi; 2009.
105. Canda E, Yazici H, Er E, Kose M, Basol G, Onay H, et al. Single center experience of biotinidase deficiency: 259 patients and six novel mutations. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2018;31(8):917-26.
106. Seker Yilmaz B, Mungan NO, Kor D, Bulut D, Seydaoglu G, Öktem M, et al. Twenty-seven mutations with three novel pathogenic variants causing biotinidase deficiency: a report of 203 patients from the southeastern part of Turkey. *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2018;31(3):339-43.
107. Porta F, Pagliardini V, Celestino I, Pavanello E, Pagliardini S, Guardamagna O, et al. Neonatal screening for biotinidase deficiency: A 30-year single center experience. *Mol Genet Metab Rep*. 2017;13:80-2.
108. Dunkel G, Sriver CR, Clow CL, Melançon S, Lemieux B, Grenier A, et al. Prospective ascertainment of complete and partial serum biotinidase deficiency in the newborn. *J Inherit Metab Dis*. 1989;12(2):131-8.
109. McVoy JR, Levy HL, Lawler M, Schmidt MA, Ebers DD, Hart PS, et al. Partial biotinidase deficiency: clinical and biochemical features. *J Pediatr*. 1990;116(1):78-83.
110. Pomponio RJ, Coskun T, Demirkol M, Tokatli A, Ozalp I, Hüner G, et al. Novel mutations cause biotinidase deficiency in Turkish children. *J Inherit Metab Dis*. 2000;23(2):120-8.
111. Asgari A, Rouhi Dehnebesh S, Zargari M, Khani S, Mozafari H, Varasteh A, et al. Clinical, Biochemical and Genetic Analysis of Biotinidase Deficiency in Iranian Population. *Arch Iran Med*. 2016;19(11):774-8.
112. Gökpınar GU. Yenidoğan Tarama Programı ile Tanı Konulmuş Biotinidaz Eksikliği Olan Hastalarımızın Retrospektif Değerlendirilmesi [Tıpta Uzmanlık Tezi]: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi 2020.
113. Gannavarapu S, Prasad C, DiRaimo J, Napier M, Goobie S, Potter M, et al. Biotinidase deficiency: Spectrum of molecular, enzymatic and clinical information from newborn screening Ontario, Canada (2007-2014). *Mol Genet Metab*. 2015;116(3):146-51.
114. Venkataraman V, Balaji P, Panigrahi D, Jamal R. Biotinidase deficiency in childhood. *Neurol India*. 2013;61(4):411-3.
115. Salbert BA, Astruc J, Wolf B. Ophthalmologic findings in biotinidase deficiency. *Ophthalmologica*. 1993;206(4):177-81.

116. Straussberg R, Saiag E, Harel L, Korman SH, Amir J. Reversible deafness caused by biotinidase deficiency. *Pediatr Neurol*. 2000;23(3):269-70.
117. Szymańska E, Średzińska M, Ługowska A, Pajdowska M, Rokicki D, Tylki-Szymańska A. Outcomes of oral biotin treatment in patients with biotinidase deficiency - Twenty years follow-up. *Mol Genet Metab Rep*. 2015;5:33-5.
118. Tokatli A, Coşkun T, Ozalp I. Biotinidase deficiency with neurological features resembling multiple sclerosis. *J Inher Metab Dis*. 1997;20(5):707-8.
119. Shah S, Khan N, Lakshmanan R, Lewis B, Nagarajan L. Biotinidase deficiency presenting as Neuromyelitis Optica Spectrum Disorder. *Brain Dev*. 2020;42(10):762-6.
120. Kalkanoğlu HS, Dursun A, Tokatli A, Coşkun T, Karasimav D, Topaloğlu H. A boy with spastic paraparesis and dyspnea. *J Child Neurol*. 2004;19(5):397-8.
121. Kiykim E, Kiykim A, Cansever MS, Zeybek CA. Biotinidase deficiency mimicking primary immune deficiencies. *BMJ Case Rep*. 2015;2015.
122. Elahi A, Sabui S, Narasappa NN, Agrawal S, Lambrecht NW, Agrawal A, et al. Biotin Deficiency Induces Th1- and Th17-Mediated Proinflammatory Responses in Human CD4(+) T Lymphocytes via Activation of the mTOR Signaling Pathway. *J Immunol*. 2018;200(8):2563-70.
123. Adeva-Andany M, López-Ojén M, Funcasta-Calderón R, Ameneiros-Rodríguez E, Donapetry-García C, Vila-Altesor M, et al. Comprehensive review on lactate metabolism in human health. *Mitochondrion*. 2014;17:76-100.
124. Auron A, Brophy PD. Hyperammonemia in review: pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Pediatr Nephrol*. 2012;27(2):207-22.
125. Stratton SL, Horvath TD, Bogusiewicz A, Matthews NI, Henrich CL, Spencer HJ, et al. Plasma concentration of 3-hydroxyisovaleryl carnitine is an early and sensitive indicator of marginal biotin deficiency in humans. *Am J Clin Nutr*. 2010;92(6):1399-405.
126. Stratton SL, Horvath TD, Bogusiewicz A, Matthews NI, Henrich CL, Spencer HJ, et al. Urinary excretion of 3-hydroxyisovaleryl carnitine is an early and sensitive indicator of marginal biotin deficiency in humans. *J Nutr*. 2011;141(3):353-8.
127. Tokuriki S, Hayashi H, Okuno T, Yoshioka K, Okazaki S, Kawakita A, et al. Biotin and carnitine profiles in preterm infants in Japan. *Pediatr Int*. 2013;55(3):342-5.
128. Horvath TD, Matthews NI, Stratton SL, Mock DM, Boysen G. Measurement of 3-hydroxyisovaleric acid in urine from marginally biotin-deficient humans by UPLC-MS/MS. *Anal Bioanal Chem*. 2011;401(9):2805-10.
129. Bousounis DP, Camfield PR, Wolf B. Reversal of brain atrophy with biotin treatment in biotinidase deficiency. *Neuropediatrics*. 1993;24(4):214-7.
130. Wolf B. Clinical issues and frequent questions about biotinidase deficiency. *Mol Genet Metab*. 2010;100(1):6-13.
131. Thodi G, Schulpis KH, Molou E, Georgiou V, Loukas YL, Dotsikas Y, et al. High incidence of partial biotinidase deficiency cases in newborns of Greek origin. *Gene*. 2013;524(2):361-2.
132. Karaca M, Özgül RK, Ünal Ö, Yücel-Yılmaz D, Kılıç M, Hişmi B, et al. Detection of biotinidase gene mutations in Turkish patients ascertained by newborn and family screening. *Eur J Pediatr*. 2015;174(8):1077-84.
133. Pomponio RJ, Reynolds TR, Mandel H, Admoni O, Melone PD, Buck GA, et al. Profound biotinidase deficiency caused by a point mutation that creates a downstream cryptic 3' splice acceptor site within an exon of the human biotinidase gene. *Hum Mol Genet*. 1997;6(5):739-45.
134. Liu Z, Zhao X, Sheng H, Cai Y, Yin X, Chen X, et al. Clinical features, BTM gene mutations, and their functional studies of eight symptomatic patients with biotinidase deficiency from Southern China. *Am J Med Genet A*. 2018;176(3):589-96.

135. Norrgard KJ, Pomponio RJ, Swango KL, Hymes J, Reynolds T, Buck GA, et al. Double mutation (A171T and D444H) is a common cause of profound biotinidase deficiency in children ascertained by newborn screening the the United States. Mutations in brief no. 128. Online. Hum Mutat. 1998;11(5):410.
136. Sarafoglou K, Bentler K, Gaviglio A, Redlinger-Grosse K, Anderson C, McCann M, et al. High incidence of profound biotinidase deficiency detected in newborn screening blood spots in the Somalian population in Minnesota. J Inherit Metab Dis. 2009;32 Suppl 1:S169-73.
137. Wolf B. First microdeletion involving only the biotinidase gene that can cause biotinidase deficiency: A lesson for clinical practice. Mol Genet Metab Rep. 2016;6:74-6.

