



T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

FENİLKETONÜRİDE FENİLALANİN TOLERANSININ DEĞERLENDİRİLMESİNİN ÖNEMİ

[UZMANLIK TEZİ]

DR. GİZEM USLU

TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. MÜBECCEL DEMİRKOL

İSTANBUL – 2019



T.C.

İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ

İSTANBUL TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

FENİLKETONÜRİDE FENİLALANİN TOLERANSININ DEĞERLENDİRİLMESİNİN ÖNEMİ

[UZMANLIK TEZİ]

DR. GİZEM USLU

TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. MÜBECCEL DEMİRKOL

İSTANBUL – 2019

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince birlikte çalıştığımız her yeni gün, bilgi ve deneyimleri ile kendilerinden mesleğime ve hayata dair öğrendiklerimle kişisel gelişimime katkıda bulunan, başta tez konumun belirlenmesinden yazımına kadar her aşamada gösterdiği sabır ve ilgi ile desteğini hiç eksiltmeyen Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilimdalı Başkanı ve Çocuk Beslenme ve Metabolizma bölüm başkanı sayın Prof.Dr. Mübeccel Demirkol olmak üzere tüm Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilimdalı Öğretim üyelerine,

Uzmanlık eğitimimde ve tez yazım aşamasında her zaman yanımda olan, benden desteklerini esirgemeyen sayın Doç.Dr. Asuman Gedikbaşı, Uzm.Dr. Mehmet Cihan Balcı, Uzm.Dr. Dilek Kürkçü Güneş, Uzm.Dr. Seda Güneş, Uzm. Dr. Alihan Yeşil, Diyetisyen Mücahit Muslu ya,

Birlikte çalıştığımız dönem içinde gösterdikleri ilgi ve destekleriyle bir aile olduğumuzu hissettiren, heyecan, sıkıntı ve mutluluğuma ortak olan Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları'nda çalışan tüm asistan arkadaşlarıma, Çocuk Beslenme ve Metabolizma Bilimdalında çalışan sekreter, teknisyen, hemşire ve personellere,

Çalışmamın istatistiksel değerlendirmesinde sabırla bana yardımcı olan Kübra Pektaş Kaya ve Esin Yılmaz'a,

Beni bu günlere getiren, desteklerini hep arkamda hissettiğim anneme ve babama, çok sevdiğim ablama ve canım yeğenim Doruk'a;

Uzmanlık ve tez çalışmalarım boyunca zamanlarından en fazla çaldığım, fedakarlık ve hoşgörüsüyle bana her zaman destek olan çok sevgili eşim Dr. Muhammed Uslu'ya,

Teşekkürlerimi sunarım

Dr. Gizem Uslu

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR.....	iv
TABLolar	vi
ŞEKİLLER	viii
EK TABLOLAR.....	ix
ÖZET.....	1
SUMMARY.....	3
1. GİRİŞ VE AMAÇ	5
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. Fenilketonüri	6
2.1.1.Fenilketonürinin biyokimyası ve patolojisi	8
2.1.2.Fenilketonüride klinik	10
2.1.3.Hiperfenilalaninem tanı ve ayırıcı tanısına yönelik laboratuvar yaklaşımı.....	13
2.1.4.Hiperfenilalaninemide moleküler tanı	15
2.1.5.Fenilalanin hidroksilaz eksikliğine bağlı PKU’da tedavi	19
2.1.6.PKU’da izlem	21
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
4. BULGULAR	28
4.1. Demografik veriler	28
4.2. Tanıda PKU vakalarının özellikleri	30
4.3. Yenidoğanda 24 saatlik tetrahidrobiyopterin (BH4) yükleme testi yanıtları	32
4.4. İzlemde klinik fenotipte değişim.....	32
4.5. Mutasyonların değerlendirilmesi	33

4.6. Ailede indeks vaka dışında benzer durum	37
4.7. Yaşam boyu Phe toleransı.....	38
4.8. Çalışma döneminde son başvuru özellikleri	47
4.9. Son değerlendirilen üç günlük besin tüketim kaydı verilerine ilişkin değerlendirmeler	49
4.9.1.Tolerans-Fenotip Uyumlu Grup	49
4.9.2.Tolerans-Fenotip Uyumsuz Grup	57
4.10. İzlemde klinik fenotipte değişim gözlenen vakaların ayrıntılı değerlendirilmesi.....	59
5. TARTIŞMA.....	62
6. SONUÇ	76
7. KAYNAKLAR.....	79
8. EKLER	88

KISALTMALAR

HPA	Hiperfenilalaninemi
Phe	Fenilalanin
BTK	Besin tüketim kaydı
BeBİS	Beslenme bilgi sistemi
PKU	Fenilketonüri
OMİM	Online Mendelian İnheritance in Man
PAH	Fenilalanin hidroksilaz
ABD	Amerika Birleşik Devletleri
HHPA	Hafif hiperfenilalaninemi
BH4	Tetrahidrobiopterin
PCD	Pterin Karbinolamin Dehidrataz
DHPR	Dihidropteridin Redüktaz
NADH	Nikotinamid Adenin Dinükleotid
GTP	Güanozin Trifosfat
GTPCH	Güanozin Trifosfat Siklohidrolaz I
PTPS	Pirovil Tetrahidrobiopterin Sentaz
SR	Sepiapterin Redüktaz
kDa	kilodalton
pH	Power of Hydrogen
GCH1	Güanozin Trifosfat Siklohidrolaz
PCBD	Pterin-4 Alfa-Karbinolamin Dehidrataz
QDPR	Kinoid Dihidropteridin Redüktaz
SPR	Sepiapterin Redüktaz
IQ	İntelligence Quotient

Tandem-MS	Tandem kütle spektrometrisi
HPLC	Yüksek Basıncılı Likit Kromatografisi
RNA	Ribonükleik Asit
BiOPKU	International Database of Patients and Mutations causing PKU
APV	Alelik Fenotip Değeri
RDA	Önerilen günlük besin miktarı (Recommended Dietary Allowences)
DGE	German Nutrition Society (DGE)
WHO	World Health Organization
VKİ	Vücut Kitle İndeksi
KPKU	Klasik Fenilketonüri
HHPA	Hafif Hiperfenilalaninemi
USDA	Amerika Birleşik Devletleri Tarım Bakanlığı
NCSS	Number Cruncher Statistical System
DMH	Doğumsal metabolik hastalık
HPKU	Hafif Fenilketonüri
N/A	Not/Available

TABLOLAR

Tablo 1: Fenilketonürde yaşa göre protein ihtiyacı, Phe toleransı, hedef kan Phe değerleri, Phe içermeyen aminoasit karışımı ihtiyacı.....	22
Tablo 2: Vakaların güncel yaş (yıl), tanı yaşı (yıl), ebeveynlerde akrabalık durumu, akrabalık derecesi ve ailede benzer vaka bulunma durumunun dağılımı	29
Tablo 3: PKU ailelerinde (n=53) anne ve baba memleketlerinin dağılımı*	30
Tablo 4: Yenidoğan tarama ve geç tanı alan vakaların ilk tanı klinik fenotipleri ve başvuru fenilalanin (Phe), tirozin (Tyr) değerleri, Phe/Tyr oranı	31
Tablo 5: Yenidoğanda 24 saatlik tetrahidrobiopterin (BH4) yükleme testi yapılan vakaların ilk tanı klinik fenotipi ve BH4 yanıtılık verileri.....	32
Tablo 6: İzlemde klinik fenotipte değişim	33
Tablo 7: Alel 1’de p.L48S mutasyonu gösteren vakaların alel 2 mutasyonu, hasta sayısı, aile sayısı ve son tanı klinik fenotip dağılımları	34
Tablo 8: Zigoziteye göre son tanı klinik fenotipinin değerlendirilmesi	35
Tablo 9: İzlemde klinik fenotipi değişime uğrayan vakalar ile çalışma grubunda bulunan aynı genotipe sahip vakaların ilk tanı/son tanı dağılımları	36
Tablo 10: Genotipik özelliğe ve son tanı klinik fenotipine göre tetrahidrobiopterin (BH4) yükleme testi yanıtının dağılımı (n=19).....	36
Tablo 11: Zigoziteye göre yenidoğanda 24 saatlik tetrahidrobiopterin (BH4) yükleme testine yanıtın dağılımı	37
Tablo 12: Ailelerdeki vakaların son tanı klinik fenotipi, kardeş ya da kuzen** olma durumu ve alel 2 verileri.....	38
Tablo 13: Anne sütü ve ek gıda ile beslenme özelliklerinin dağılımı	39
Tablo 14: Zigoziteye göre ortalama yaş değerlendirmesi	39
Tablo 15: Zigoziteye göre fenilalanin (Phe) toleransı değerlendirmesi	41
Tablo 16: Son tanı klinik fenotipine göre fenilalanin (Phe) toleransı değerlendirmesi	44
Tablo 17: Son başvuru vücut tartısı, boy uzunluğu, persentil, Phe, Tyr, Phe/Tyr değerlerinin son tanı klinik fenotipinin cinsiyete göre dağılımı.....	47
Tablo 18: Son başvuru vücut tartısı, boy uzunluğu, tartı ve boy persentili, Phe, Tyr, Phe/Tyr değerlerinin son tanı klinik fenotipine göre dağılımı	48
Tablo 19: Üç günlük besin tüketim kaydı veren ‘ <i>Tolerans-Fenotip Uyumlu Grup</i> ’taki vakaların, zigoziteye göre yaş, vücut tartısı ve boy uzunluğu karşılaştırması	49
Tablo 20: Üç günlük besin tüketim kaydına göre total protein (gr/gün), doğal protein (gr/gün),	

Phe (fenilalanin) toleransı (mg/gün, mg/kg/gün), Phe içermeyen formuladan alınan protein (gr/gün), enerji (kcal/gün), enerjinin yağ, karbonhidrat ve protein yüzdelerinin zigoziteye göre karşılaştırılması	51
Tablo 21: Üç günlük besin tüketim kaydı veren <i>Tolerans-Fenotip Uyumlu Gruptaki</i> hastaların son tanı klinik fenotipine göre yaş, vücut tartısı ve boy uzunluğunun karşılaştırılması	52
Tablo 22: Son değerlendirilen üç günlük besin tüketim kaydı ile analiz edilen ortalama total protein (gr/gün), doğal protein (gr/gün), Phe (fenilalanin) toleransı (mg/gün, mg/kg/gün), Phe içermeyen formuladan alınan protein (gr/gün), enerji (kcal/gün), enerjinin yağ yüzdesi, karbonhidrat yüzdesi, protein yüzdesi miktarlarının, son tanı klinik fenotipine göre karşılaştırılması	53
Tablo 23: Son değerlendirilen üç günlük besin tüketim kaydı (BTK) ile analiz edilen ortalama fenilalanin (Phe) toleransı ile yaşam boyu Phe toleransı ilişkisi.....	55
Tablo 24: Son değerlendirilen üç günlük besin tüketim kaydı ile analiz edilen ortalama fenilalanin (Phe) toleransının (mg/gün, mg/kg/gün), alel 2 ve son tanı klinik fenotipine göre dağılımı.....	55
Tablo 25: İzlemde klinik fenotipi değişen vakaların (n=8) özellikleri.....	61

ŞEKİLLER

Şekil 1: Fenilalanin hidroksilasyon sistemi.....	8
Şekil 2: İnsan PAH monomerinin en sık görülen BH4 yanıtı mutasyonların bulunduğu üç boyutlu kristal yapısı.	18
Şekil 3: Alel 2 mutasyonuna göre son tanı dağılımları	35
Şekil 4: Zigoziteye göre yaşam boyu toplam fenilalanin (Phe) toleransı (mg/gün) eğrisi.....	42
Şekil 5: Zigoziteye göre yaşam boyu Fenilalanin (Phe) toleransı (mg/kg/gün) eğrisi	42
Şekil 6: Klinik fenotipe göre yaşam boyu fenilalanin (Phe) toleransı eğrisi (mg/gün).....	45
Şekil 7: Klinik fenotipe göre yaşam boyu fenilalanin (Phe) toleransı eğrisi (mg/gün).....	45
Şekil 8: Klinik fenotipe göre yaşam boyu fenilalanin (Phe) toleransı eğrisi (mg/kg/gün)	46
Şekil 9: Klinik fenotipe göre yaşam boyu fenilalanin (Phe) toleransı eğrisi (mg/kg/gün)	46
Şekil 10: Üç günlük besin tüketim kaydı veren vakaların yaşam boyu Phe toleranslarının (mg/gün) dağılımı (V= vaka no)	56
Şekil 11: Üç günlük besin tüketim kaydı veren vakaların yaşam boyu Phe toleranslarının (mg/kg/gün) dağılımı (V= vaka no)	56

EK TABLOLAR

Ek Tablo 1: Bir alelinde p.L48S mutasyonu gösteren vakaların alel 2 mutasyonuna göre fenilalanin hidroksilaz (PAH) aktivitesi, hasta sayısı, aile sayısı ve klinik fenotip dağılımları	88
Ek Tablo 2: Çalışmadaki vakaların alel 2'deki mutasyonlarının varyasyon tipi ve protein alanı dağılımı.....	89
Ek Tablo 3: Alel 1'de p.L48S mutasyonu gösteren çalışma vakalarının alel 2 mutasyonuna göre varyasyon tipi dağılımları	89
Ek Tablo 4: Alel 1'de p.L48S mutasyonu gösteren vakaların alel 2 mutasyonuna göre etkilenen protein alanı dağılımları.....	90
Ek Tablo 5: Son tanıya göre alel 2 varyasyon tipi ve etkilenen protein alanının karşılaştırılması	91
Ek Tablo 6: Çalışmadaki vakalar ile BİOPKU veri tabanında aynı mutasyon saptanmış vakaların, alel 2 mutasyonlarını BİOPKU veri tabanında ve önceki çalışma (72)da homozigot olarak gösteren vakaların klinik fenotipine göre hasta sayılarının dağılımı	92
Ek Tablo 7: Çalışmadaki vakalar ile BİOPKU veri tabanında aynı mutasyon saptanmış vakaların, alel 2 mutasyonlarını BİOPKU veri tabanında ve önceki çalışma (72) da homozigot olarak gösteren vakaların klinik fenotiplerinin karşılaştırılması.....	93
Ek Tablo 8: Çalışmadaki vakalar ile BİOPKU veri tabanında aynı mutasyon saptanmış vakaların ve alel 2 mutasyonlarını BİOPKU veri tabanında homozigot olarak gösteren vakaların BH4 yükleme testi sonuçlarına göre dağılımı	93
Ek Tablo 9: Çalışmadaki vakalar ile BİOPKU veri tabanında aynı mutasyon saptanmış vakaların ve alel 2 mutasyonlarını BİOPKU veri tabanında homozigot olarak gösteren vakaların BH4 yanıtlarının ilişkisi	94
Ek Tablo 10: Çalışmadaki vakaların vaka numarası ve aile numarası.....	94

FENİLKETONÜRİDE FENİLALANİN TOLERANSININ DEĞERLENDİRİLMESİNİN ÖNEMİ

ÖZET

Amaç: Hiperfenilalaninemi (HPA) (fenilalanin ≥ 120 $\mu\text{mol/L}$) vakalarının takibinde, literatürde öngörülen fenotip ile klinik fenotip arasındaki tutarsızlığın ve fenilalanin (Phe) toleransının fenotiplendirmede en önemli parametre olmasının dikkatimizi çekmesi üzerine; hastalığa neden olan belirli mutasyonu (p.L48S) taşıyan hasta grubunun fenilalanin toleransları değerlendirilerek, PKU vakalarının izlenmesinde kullanılmasının değerini belirlemek amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: Kesitsel nitelikte olan bu araştırmada, belirli mutasyonu (p.L48S) taşıyan 65 PKU hastası incelendi. Hastaların dosyaları değerlendirilerek demografik ve ilk tanı özellikleriyle ilgili verileri ve bir yaşından sonra yaşam boyu Phe toleransları değerlendirildi. Hastaların güncel durumları da değerlendirilerek vücut tartısı ve boy uzunluğu, Phe'den kısıtlı tirozin (Tyr)den zengin beslenme tedavisi uygulaması öğrenildi, güncel üç günlük (ikisi hafta içi, biri hafta sonu) BTK'ları alındı. Üç günlük BTK, tek diyetisyen (M.M.) tarafından BeBİS (Beslenme Bilgi Sistemi) programı 7.2 versiyonu ile analiz edilerek protein (g/gün), karbonhidrat (g/gün), yağ (g/gün), kalori (kcal/gün) ve Phe (mg/gün) miktarı hesaplandı. Alınan protein miktarı; doğal protein ve Phe içermeyen tıbbi L-amino asit formulaları açısından ayrı ayrı değerlendirildi. Sabah açlık kan Phe-Tyr değerleri BTK alımının son saatinde alındı. PKU izleminde beslenme tedavisi sırasında kantitatif Phe düzeyleri yaşa uygun sınırlarda kalan hastaların, doğal proteinden sağlanan Phe toleransları (mg/gün ve mg/kg/gün olarak) belirlendi.

Bulgular: Vakaların ilk tanı klinik fenotipleri incelendiğinde her üç PKU fenotipi [Hafif HPA %16,9 (n=11), Hafif PKU %40 (n=26), Klasik PKU %43 (n=28)] de belirlenmiştir. İlk tanısı Hafif HPA olan vakaların, izlemde Ort $\pm$ SS 11,65 $\pm$ 7,43 aylıkken fenilalanin düzeyi ≥ 600 $\mu\text{mol/L}$ seviyesini aşarak Hafif PKU'ya geçebileceği, çalışmadaki vakalarda bu oranın yüksek [n=8 (%72)] olduğu görülmüştür. p.L48S homozigot vakaların heterozigot vakalara göre ≥ 2 yaş ve üzerinde farklı yaş dönemlerindeki yaşam boyu Phe toleransı (mg/gün, mg/kg/gün) değerlendirildiğinde, anlamlı olarak yüksek saptanmıştır. <7 yaş altında farklı yaş dönemlerinde Hafif PKU ve Klasik PKU vakalarının, yaşam boyu Phe toleransı (mg/gün, mg/kg/gün) değerleri anlamlı farklılık göstermemiştir. ≥ 7 yaş döneminde ise Phe toleransının (mg/gün, mg/kg/gün) azaldığı ve Hafif PKU vakalarının Phe toleransı (mg/gün, mg/kg/gün)nin, Klasik PKU vakalarına göre anlamlı yüksek olduğu saptanmıştır (p=0,026, p=0,047). Üç

günlük BTK ile yaşam boyu Phe toleransı (mg/kg/gün) verileri karşılaştırıldığında, ≥ 7 yaş dönem ile aralarında anlamlı korelasyon olduğu, <7 yaş altındaki Phe tolerans (mg/kg/gün)ları ile karşılaştırıldığında ise korelasyon olmadığı belirlenmiştir ($p=0,001$, $p>0,05$).

Sonuç: Çalışmamız PKU hastalarının gerçek klinik fenotipinin belirlenmesinde ilk tanı kantitatif Phe düzeyinden çok, izlemdeki Phe toleransı ile değerlendirilmesinin daha anlamlı olduğunu ortaya koymaktadır ($p=0,001$). Ayrıca yaşam boyu beslenme tedavisinde Phe toleransının belirlenmesinin vazgeçilmez olduğunu göstermektedir. Bu nedenle PKU hastalarının izlemde vakaya özgü değerlendirilmesinin gerekliliği vurgulanmıştır.



THE IMPORTANCE OF THE EVALUATION OF THE PHENYLALANINE TOLERANCE IN PHENYLKETONURIA

SUMMARY

Objective: In the follow-up of hyperphenylalaninemia (HPA) cases (phenylalanine ≥ 120 $\mu\text{mol} / \text{L}$), because of the inconsistency between the predicted phenotype in the literature and the clinical phenotype and phenylalanine (Phe) tolerance is the most important parameter in phenotyping over; it was aimed to determine the value of phenylalanine tolerance in the patient group with certain disease-causing mutation (p.L48S) and to determine the value of their use in monitoring phenylketonuria (PKU) cases.

Material and Method: In this cross-sectional study, 65 PKU patients who are carrying a specific mutation (p.L48S) were compared. The data of the patients were evaluated and the data about the demographic and first diagnostic features and lifelong Phe tolerances after one year were evaluated. The current status of the patients was evaluated and the body weight and height, Phe restricted tyrosine (Tyr)-rich nutritional therapy application was learned, current three-day (two weekdays, one weekend) food consumption records (FCRs) were obtained. Current three-day FCRs are analysed with single 7.2 version of the BeBIS (Nutrition Information System) program by the dietician (M.M.) and the amount of protein (g/day), carbohydrate (g/day), fat (g/day), calories (kcal/day) and Phe (mg/day) was calculated. The amount of protein taken were evaluated separately for natural protein and Phe-free medical L-amino acid formula. Samples for morning fasting blood Phe-Tyr values were taken at the last hour of FCR reception. Phe tolerances (mg/day and mg/kg/day) obtained from natural protein were determined in patients who had quantitative Phe levels at age appropriate limits during nutritional therapy.

Results: When the first clinical phenotypes of cases were examined, all three PKU phenotypes (Mild HPA 16.9% Mild PKU (n=11), 40% (n=26), Classic PKU 43% (n=28)) were determined. Initial diagnosis Mild HPA can be passed to Mild PKU, at the age of mean $\pm$ SD 11.65 ± 7.43 months, by exceeding phenylalanine level to ≥ 600 $\mu\text{mol} / \text{L}$ in the follow-up, it was found that this rate was higher [n = 8(72%)] in this study. After ≥ 2 years of age homozygous cases' Phe tolerance (mg/day, mg/kg/day) is higher when compared to heterozygote cases of p.L48S at different ages. Life-long Phe tolerance (mg/day, mg/kg/day) before the age of <7 years, there was no significant difference between the cases with Mild PKU and Classic PKU clinical phenotype at different ages. After the age of 7, Phe tolerance (mg/day, mg/kg/day)

decreased, and of cases with Mild PKU clinical phenotype was found to be higher than Phe tolerance (mg/day, mg/kg/day) of cases with Classic PKU clinical phenotype ($p=0,026$, $p=0,047$). Phe tolerance (mg/kg/day) of current three days food consumption record analysis and lifetime Phe tolerance (mg/kg/day) in patients older than 7 years are found significantly correlated; but there was no correlation between the Phe tolerances (mg/kg/day) when compared with the patients younger than 7 years of age ($p=0,001$, $p>0,05$).

Conclusion: The study shows that while specifying PKU patients' real clinical phenotype, evaluating with monitoring Phe tolerance is more significant than first diagnosis quantitative Phe levels ($p=0,001$). Moreover, specification of Phe tolerance is essential in lifetime nutrition treatment. Therefore, it is stressed that PKU patients should be monitored individually in each case.



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Fenilketonüri (PKU) (HPA; OMİM 261600), esansiyel bir amino asit olan fenilalanin (Phe)i tirozine dönüştüren fenilalanin hidroksilaz (PAH) enziminin işlevinde eksiklik sonucu gelişir. Kan ve beyin omurilik sıvısında Phe düzeyi artarak beyinde geri dönüşümsüz zarara yol açar. Beyni, bu etkilerden korumak için Phe'den kısıtlı, tirozinden zengin beslenme tedavisi uygulanmaktadır. Hastaların izlenmesinde, *'fenilalanin toleransı'*nın değerlendirilmesi önemlidir. Bu çalışmada; ülkemizde akraba evlilikleri nedeniyle diğer ülkelere göre sık rastlanan, 1000'in üzerinde alel tanımlanan ve klinik fenotip sonuçları heterojen olan bu nadir hastalıkta, hastalığa neden olan belirli mutasyonu (p.L48S) taşıyan, literature göre araştırdığımızda en geniş hasta grubu seçilerek daha homojen bir grupta yaşam boyu Phe toleransı değerlendirilmiştir. p.L48S mutasyonu taşıyan vakalar, BİOPKU veri tabanında *in vitro* enzim aktivitesi ile hafif klinik fenotip olarak bildirilmesine karşın, daha önce yapılan çalışmalarda genotip/fenotip korelasyonu uyumsuz bulunmuş, fenotipik değerlendirmede en önemli parametrenin fenilalanin toleransı olduğu gösterilmiştir (1, 2). Aynı zamanda İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı tarafından izlenen bu mutasyonu taşıyan hastaların bir bölümünün, tanı anındaki kan fenilalanin düzeyine göre fenotip belirlendikten sonra, klinik (Phe toleransı ile) izlemde fenotipin değiştiği ve yenidoğanda 24 saatlik tetrahidrobiopterin testine yanıtı PKU durumunda tutarsızlık olduğu farkedilmesi üzerine, bu mutasyonu gösteren hasta grubu örneğinde Phe toleransı değerlendirmesinin tanıda ve izlemdeki önemini göstermek amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Fenilketonüri

Tarihçe. Fenilketonüri (PKU), hastalığın yıkıcı etkilerinin tedaviyle önlenebildiği ilk metabolik hastalıktır. Enzim eksikliklerinin mekanizmalarının anlaşılmasından, uygun tedavi başlanana kadar zihinsel engelliliğin ağır kinik bulgularını gösteren bir hikayesi vardır. 1938’de Nobel Edebiyat Ödülünü almış olan Pearl S. Buck (3), kızı Caroline Grace hakkında yazdığı kitabında tedavi uygulanmamış PKU hastalarının sürecini anlatmaktadır (4). PKU'nun tanınması bundan çok sonra olmuş, tedavinin bulunması ise 20 yıl daha sürmüştür.

1920'lerin sonlarında Norveçli çift Harry ve Borgny Egeland'ın kızları Liv ve oğulları Dag'ın doğumu, PKU'nun biyokimyasal etiolojisinin aydınlatılmasını sağladı (5, 6). Harry Egeland, çocuklarının idrarında küf kokusu alarak onları metabolik hastalıklar konusunda çalışan Norveçli hekim Dr. Asbjorn Følling (7)'e götürdü. O zamanlarda rutin idrarda keton tayini; asitlenmiş idrara ferri-klorür eklenmesi ile yapılmaktaydı. Bu çocukların idrar değerlendirmesinde, test daha önce tanımlanmamış ‘geçici koyu yeşil’ renkte reaksiyon gösterdi. Bu renk değişikliğinin nedeninin, idrarda fenilpirüvik asit artışı olduğu belirlendi. Bu şekilde 1934 yılında Følling (7), PKU'da idrardaki biyokimyasal değişikliği tanımladı.

"Fenilketonüri" tanımı 1930'larda Birleşik Krallık'ta bu alanda çalışan Lionel Penrose (8)'a atfedilmektedir, fakat bu isim Penrose'un çalışma arkadaşı Juda H. Quastel tarafından da konulmuş olabilir (5). Penrose (8), mental retardasyonlu kişilerin kaldıkları kuruluşları ziyaret ederek idrarlarındaki karakteristik küf kokusuyla PKU hastalarını belirlemiş; bu hastalara başlattığı şeker, meyve ve vitamin içeren beslenme tedavisi, malnütrisyonla sonuçlanınca terk edilmiştir. Kuruluşlarda kalan vakaları dikkatle çalışarak PKU'nun otozomal resesif kalıtımına dikkat çekmiştir (9). ABD'de PKU araştırmalarının öncüsü Dr George Jervis (10), PKU'da hiperfenilalaninemi (HPA) nedeni olarak fenilalanin hidroksilaz (PAH) enzim eksikliğini tanımlamıştır.

PKU tedavisinde ilk başarılı yaklaşım olan ‘Phe’inden kısıtlı beslenme’, 1950'lerde gerçekleşti. Birleşik Krallık’ta bir anne 17 aylık kızını tekrar tekrar Dr Horst Bickel (11)’e muayene ettirdi. Çocuk, tedavi almamış PKU hastalarının klasik bulguları olan ‘dil gelişiminde gerilik, çevreye ilgisizlik, mental retardasyon, ‘sürekli inleme ve başını vurma’ gibi davranış bozuklukları’, spastik refleksler, yürüme bozukluğu ve egzema gibi semptomlar

göstermekteydi. Bickel ve ark. (10), Følling (7) ve diğer araştırmacılar tarafından etkilenecek PKU tedavisini ilk kez geliştirmeyi başardılar. Protein hidrolizat formülü geliştirilerek Phe azaltılmış beslenme tedavisini başlattılar. PKU hastasının annesine bu formülü kullanarak diğer tüm protein kaynaklarının diyetten çıkarılmasını önerdiler. PKU'lu çocuğun davranışı, duyu durumu ve motor gelişiminde iyileşmeler gelişerek sadece iki hafta içinde emekleme ve ayakta durmayı başardığını gösterdiler. Dr. Bickel ve ark. (10), daha sonra diyetle Phe eklediklerinde, çocuk iki gün içinde eski klinik tablosuna gerilemişti. Bu bulgular, PKU'nun tarihçesinde, Phe kısıtlamasının anahtar rol oynadığını göstermiştir. Phe'den kısıtlanmış diyet, bu hastalık için standart tedavi haline gelerek en iyi sonuçlar tedavi olabildiğince erken başlandığı zaman alınmaktaydı.

PKU için ilk rutin tarama testi olan kan damlasında semikantitatif Phe belirlenmesi, Guthrie ve Susi (12) tarafından 1950'lerin sonunda geliştirildi. Bu test 1960'lar ve 1970'lerde yeniden doğanda PKU taramasına ve Phe kısıtlanmış beslenme tedavisine erken başlanarak PKU'nun daha ciddi komplikasyonlarının önlenmesine olanak sağladı. 1980'lerdeki çalışmalar sonucu, insan *PAH* geni 12. kromozomda lokalize edildi (13). Daha sonra yapılan çalışmalar, *PAH* geninde 1000'i aşkın mutasyon tanımlanmasını sağladı (1).

Günümüzde yeniden doğanda PKU taraması ve yaşam boyu Phe'den kısıtlı, tirozinden zengin beslenme tedavisi, etkin ve uygun maliyetli olarak tanı ve tedavide altın standart olarak kabul edilmiştir (14, 15). Hastalığın biyokimyasal ve moleküler kökeni, ayrıca yeni önerilerle tedavinin yönetimi geliştirilmiştir. Beyin gelişiminin 5-6 yaşlarda tamamlandığı, artık Phe yüksekliğinin beyine zarar vermeyeceği düşünülecek bir dönem bu yaşlarda Phe'den kısıtlı beslenme tedavisi kesilmişti. İlk olarak Polonya'dan, sonrasında Avrupa ve Kuzey Amerika'dan gelen benzer veriler; beslenme tedavisine devam edilmeyen hastalarda IQ'da azalma, ince motor beceri kaybı, öğrenme güçlüğü, duygusal değişiklikler ve dikkat eksiklikleri görüldüğü bildirilmiştir. Daha sonra tedavinin 12 yaşlarında kesilebileceği ileri sürülmüştür. 1980 sonlarında PKU'da *yaşam boyu beslenme tedavisi* önerilerek yeni bir dönem başlamıştır (16).

2000 yılında ABD Ulusal Sağlık Enstitüsü, PKU Konsensus Konferansı'nı düzenleyerek (14) (15), bu kararı uzlaşa haline getirmiştir. PKU'lu, hatta Hafif HPA (HHPA)'lı annelerde artmış Phe'nin derecesine göre embriyo teratojenik etkilenecek düşük, düşük doğum tartısı, gelişme geriliği, mikrosefali, konjenital kalp hastalığı gibi bulguların geliştiği belirlenerek *Maternal PKU/HHPA çocuğu* tablolarının önlenmesi için, gebelik öncesinden başlayarak beslenme tedavisinin uygulanmasının bu bulguları önleyeceği kanıtlanmıştır (17).

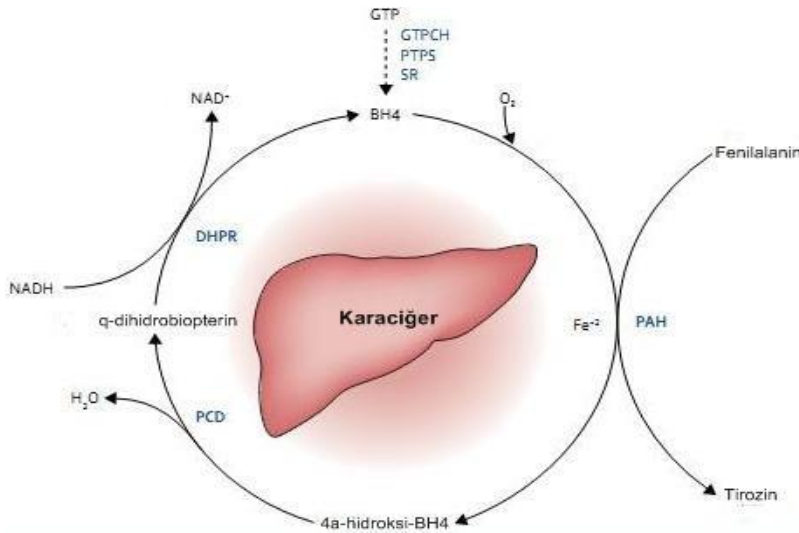
Prevelans. Bugün PKU vakaları, devletlerin sorumluluğunda yürütülen yenidoğan tarama programları ile tanı almaktadır. PKU prevelansı, küresel olarak 1: 10,000-15,000 yenidoğan olarak belirlenmiştir (14, 15). PKU sıklığı, Türkiye ve Kuzey İrlanda'da 1: 4000 olarak bildirilmiştir (18, 19). İstanbul İli'nde '*Genişletilmiş Yenidoğan Tarama*' ile tandem-kütle spektrometrisi yöntemi kullanılarak HPA sıklığı 1: 1,500 ve PKU sıklığı 1: 6,500 olarak bildirilmiştir (20).

2.1.1. Fenilketonürinin biyokimyası ve patolojisi

Fenilalanin hidroksilaz sistemi

PAH sisteminin eksiksiz çalışması için PAH enzimi, kofaktör tetrahidrobiopterin (BH4) ile pterin-4a-karbinolamin dehidrataz (PCD) ve dihidropteridin redüktaz (DHPR) enzimleri vazgeçilmezdir. Phe'in tirozine hidroksillenmesi için moleküler oksijen ve demir esansiyeldir (Şekil 1).

PAH Phe'nin tirozine çevrimini katalizler ve Phe katabolizmasında klinik önemi olan tek biyokimyasal yolun hız kısıtlayıcı basamağını temsil eder. Bu mekanizmanın diyetle alınan Phe'nin yıkımının 3/4'ünden sorumlu olduğu düşünülmektedir. PAH biyolojik olarak sadece fazla Phe'nin katabolik yıkımında değil ayrıca bu sayede esansiyel olmaktan çıkan tirozinin de novo sentezi için de önemlidir.



Şekil 1: Fenilalanin hidroksilasyon sistemi

Fenilalanin hidroksilaz (PAH) ile fenilalaninin tirozine hidroksilasyonu sırasında, tetrahidrobiopterin (BH4) 4a-hidroksi-BH4'e okside olur. Bu da karbinolamin-4a-dehidrataz

(PCD) ve NADH-bağımlı dihidropteridin redüktaz (DHPR) ile kinonoid (q)-dihidrobiyopterin aracılığıyla BH₄'e tekrar dönüşür. BH₄, üç ek enzim ile guanozin trifosfat'dan (GTP) sentezlenir [GTP siklohidrolaz I (GTPCH), 6-piruvoyl-tetrahidropterin sentaz (PTPS) ve sepiapterin redüktaz (SR)] (21).

PAH'ın yapısı tirozin hidroksilaz ve triptofan hidroksilaz 1,2 gibi diğer ana aromatik amino asit hidroksilazlar ile benzerdir. PAH enziminin alt birimleri 50kDa boyutlarındadır. Aktif enzim, bu birimlerin dimer veya sıklıkla tetramer yapıda bulunmasıdır. Bu formlar sitozolik pH'ya göre dengededir. Her alt birim; bir N-terminal düzenleyici bölge (1-142), bir katalitik bölge (143-410) ve alt birimleri tetramer düzenine sokan C-terminal bölgeye (410-452) sahiptir. C-terminal uca sahip olmayan mutasyonlarda proteinin katalitik aktif dimerler oluşturduğu fakat tetramerler oluşturamadığı görülmüştür (22).

PAH aktivitesinin büyük bir kısmı karaciğerde bulunmaktadır. Erken dönem çalışmalarda insan PAH ekspresyonu karaciğerde gözlenirken kemirgenlerde ekspresyon böbrekte de gösterilmiştir (23).

Fenilalanin hidroksilazın düzenlenmesi

PAH aktivitesi herhangi bir reaksiyon oluşmadan önce her üç substratının da bağlanmasını gerektirmektedir: Phe, moleküler oksijen ve kofaktör olan BH₄. Phe'nin kendisi PAH aktivitesinin ana düzenleyicisidir. PAH aktivitesinin Phe ile düzenlenmesi karmaşıktır (24, 25). PAH enziminin N-terminal ucunda *delesyon* sonucu, PAH'ın Phe'e afinitesi artar. Bu da inaktif enzimin N-terminal ucunun Phe bağlanmasını inhibe eder (22). Phe konsantrasyonu arttıkça, PAH enzimi pozitif etkileşim gösteren substratının bağlanmasıyla aktiflenir (26). Enzimin tetramerik formu sabitleşerek aktive edici regülasyon mekanizmasına eşlik eder. Bu durum, PKU ile ilişkili birçok PAH enzim mutantında bulunmamaktadır (27, 28). Memeli PAH enziminin aktivasyonunun moleküler temeli uzun süre tartışılmıştır. kooperatif bağlanmanın ya uzak katalitik bölgeden fiziksel olarak farklı düzenleyici bağlantı bölgesinde ya da Phe'nin homotropik kooperasyonla birleştiği katalitik bölgenin kendisinde olduğu öne sürülmüştür. Diferansiyel taramalı kalorimetri araştırmaları, Phe'nin sadece tam uzunluktaki tetramerik insan PAH'ında katalitik bölgeye bağlandığını göstermiştir (26).

Phe'nin düşük düzeyde bulunması, PAH'ın aktif durumdaki yapısını düzeltmeye meyillidir. Normal durumlarda, Phe düzeyinde artış olduğunda "ileri besleme" etkisi ile yıkım oranı artar. PAH'ın Phe ile aktivasyonu, Phe'in fizyolojik düzeyinde gerçekleşir. PAH'ın lokal

Phe düzeyi ve fosforilasyon ile düzenlenmesinin sağlam karaciğerde ve in vitro olarak gerçekleştiği gösterilmiştir (29).

Phe enzimi aktifleşirken, BH4 de aynı zamanda kofaktör rolünün yanında inhibitör olarak da görev yapar (30, 31). BH4 sentezinin inhibisyonu veya BH4'ün PAH'ın düzenleyici bölgesine bağlanmasını engelleyen inhibitör system içinde, hücrelerin inkübasyonu sonucu hepatositlerden BH4 azaltılması, hücrelerin içindeki PAH'ı Phe ile aktivasyona daha duyarlı hale getirmektedir.

BH4; fenilalanin hidroksilaz, dopamin ve serotonin nörotransmitterlerinin biyosentezinden sorumlu tirozin ve triptofan hidroksilazlar ile argininden nitrik oksit oluşumunu katalize eden nitrik oksit sentetazın kofaktörüdür (Şekil 1). *BH4 eksikliği*, PKU vakalarının %1-2'sini oluşturmaktadır (32). *BH4 metabolizma bozukluğu* sonucu sadece vücutta Phe miktarı artmaz, aynı zamanda dopamin, serotonin ve katekolamin sentezleri de bozulur. Hastalık semptomları bu nörotransmitterlerin azalması sonucu oluşur. BH4 metabolizması bozukluklarının çoğunluğu hafif kan Phe değeri yüksekliği ($> 120 \mu\text{mol/L}$) ile görülmektedir. Erken tanı ile bu hastaların büyük çoğunluğu etkin tedavi edilebilir.

BH4 biyosentezi için gerekli olan 3 gende çeşitli mutasyonlar tanımlanmıştır: *GCH1* için 110'u aşkın mutasyon bilinmektedir. Otozomal monoamin veya HPA oluşmadan gelişen nörotransmitter eksikliği ile ilişkilidir (*Dopa cevaplı distoni; Segawa hastalığı*). *GTPCH* eksikliğinin resesif şeklinde yalnız birkaç adet mutasyon tanımlanmıştır. *PTS* (50 üzerinde mutant allel), *PCBD* (en az 9 mutant allel) ve *QDPR* (35 mutant allel) otozomal resesif HPA ile ilişkilendirilmiştir, genellikle dopamin ve 5-hidroksitriptamin (serotonin) eksiklikleriyle beraberdir. *SPR* geninde en az 12 mutant allel HPA'sız BH4 eksikliğinin otozomal resesif şekliyle ilişkilendirilmiştir.

2.1.2. Fenilketonüride klinik

Hiperfenilalaninemi klinik tablolarının ayırıcı tanısı

PKU'da amaç, Phe yüksekliği ile oluşabilecek nörolojik hasarın önüne geçmektir. Ulusal ve/veya PKU merkezlerinin rehberlerinde, yenidoğan tarama sonucu belirlenen PKU hastalarına müdahale edilerek tedavinin başlanması gereken kesit (cut-off) kan Phe değeri [> 600 ($360 \mu\text{mol/L}$) değişiklik göstermektedir. HPA [(kantitatif Phe düzeyi $> 120 \mu\text{mol/L}$ ($> 2 \text{ mg/dl}$))] vakalarının sınıflandırılması, yenidoğan tarama sonrası ilk belirlenen tedavi öncesi en yüksek kan Phe değerine göre yapılmaktadır.

Hafif HPA. Tanıda kan Phe seviyesi 120-600 (360) $\mu\text{mol/L}$ arasında olan tedavi gerektirmeyen vakalardır. PAH enzim aktivitesi, normalin %5'i üzerindedir.

Hafif PKU. Tanıda kan Phe seviyesi 600 (360)-1200 $\mu\text{mol/L}$ olan tedavi gerektiren vakalardır. PAH enzim aktivitesi, normalin %1-5'i arasındadır.

Klasik PKU. Tanıda kan Phe seviyesi $> 1200 \mu\text{mol/L}$ olan, tedavi gerektiren vakalardır. PAH enzim aktivitesi, normalin %1'inin altındadır.

PKU hastalarına erken tanı konularak tedavi başlanmadığında fiziksel özellikleri. PKU'lu çocuklara, yenidoğan tarama ile erken tanı konularak hemen tedavi başlanmadığında, Phe'in zamanla kanda birikmesi, beyin omurilik sıvısına geçmesi ve idrarla metabolitlerinin atılması sonucu hastalar bulgu vermeye başlar. Enzim aktivitesindeki eksiklik derecesine göre bulguların şiddeti değişir. Nöromotor gelişimde gerilik, mikrosefali, konvülziyon, kendine zarar verme, agresiflik ve psikoz gibi anormal davranışlar, otizm, idrarda fenilketonların atılımına bağlı kötü koku (fare idrarı kokusu, çöven kokusu), melanin yapımının azalmasına bağlı saç, göz ve deri pigmentasyonunda azalma, egzema (%20-40) gelişmektedir. Zamanla ağır mental gerilik ($\text{IQ} \leq 50$) ortaya çıkar (33).

Geç tanı alan PKU vakalarında tedavi başlandığında klinik. Erken tanı konularak tedavi başlanmayan küçük çocuklar, beslenme tedavisine kısmi olarak hızlı ve belirgin cevap verirler. Yürüme ve konuşmaya başlayabilir, iyileşmiş zihinsel ve davranışsal özellikler gösterebilir. Phe'in beyinde geri dönüşümsüz yarattığı hasar nedeniyle, geç tedavi başlanan vakalarda çoğunlukla zihinsel engellilik önlenemez. Ciddi öğrenme güçlüğü gelişir. Bulguların derecesi, enzim eksikliğinin derecesine ve tedavinin başlandığı yaşa bağlıdır. Daha önce tedavi görmemiş yetişkin PKU hastalarında, Phe'den kısıtlı beslenme tedavisi sonrası kognitif fonksiyonlarda artış, agresyon, psikoz, kendine zarar vermede azalma, egzemanın ortadan kalkması gelişmektedir. Bu bulgular ilaç ve davranışsal tedavilere dirençli olmasına karşın, uzun süreli beslenme tedavisi ile Phe düzeyinin kontrol altına alınması ile değişime uğrayabilmektedir (34, 35, 36).

Yaşam boyu tedavi ve nöropsikolojik durum. PKU'da yaşam boyu tedavinin dikkatli yönetilmesi, zihinsel engelliliği önler, topluma sağlıklı birey kazandırılır. Literatür değerlendirildiğinde, nöropsikolojik işlevlerin her zaman tam olarak korunamadığı vakalar bildirilmiştir. Aynı ailedeki PKU'lu bireylerde de bazen farklı süreç ve sonuçlar gözlenebilir. Bu paradoksal gözlemlerin sebebi bilinmemektedir. PKU'lu çocukların IQ'larının normal

sınırlar (ortalama 100) içinde olmakla beraber yaşıtları ve kardeşlerine göre 7-10 puan daha düşük olduğu ileri sürülmüştür (37, 38).

PKU ile ilgili 40 çalışmanın meta-analizi, yaşam boyu ortalama kan Phe değerlerinin IQ ile anlamlı bir korelasyon gösterdiğini ortaya koymuştur. Phe aralığı 394 ile 750 arasında olan erken tedaviye başlanmış hastalarda, kan Phe değerlerinde 100 $\mu\text{mol/L}$ artışın IQ'da 2-4 puanlık düşüş ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (39).

Yavaşlamış reaksiyon zamanı, yürütücü (yüksek kognitif fonksiyonlar) ve yürütücü olmayan (bilgi işlem hızı, ince motor yetiler ve algı/görsel-uzaysal yetenek) işlevlerde azalma, artmış hiperaktivite ve impulsivite PKU'lu kişilerde görülebilen *nöropsikolojik bozukluklar* arasındadır (40).

Genç PKU'lu hastalarda, yaşamın erken dönemlerindeki Phe yüksekliğinin dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu semptomları ile ilişkisi desteklenmiştir (41).

PKU'lu çocuklar tüm akademik yetenekleri gösterebilseler de, özellikle metabolik kontrol yeterli değilse PKU hastası olmayan çocuklara kıyasla okulda daha az başarılıdır. Matematik performansları düşük, el yazıları kötüdür. PKU hastası olmayan çocuklara kıyasla görsel anlatımlardan daha az faydalanırlar (37, 42).

PKU hastalarının kan Phe seviyeleri değiştikçe, kişilik değişimleri yaşadıkları gözlenmiştir. Tedaviye bir süre uyumsuzluk sonrası Phe kısıtlı diyetle devam eden 15 erişkin hastada yapılan araştırmada hastaların yarısında sakinlik, uyanıklık, mutluluk ve “kendini canlı hissetme”de iyileşme, agresiflik, tartışmacılığa yatkınlıkta azalma bildirilmiştir (43).

Phe'den kısıtlı beslenme tedavisine uyumsuzluk veya tedaviyi bırakma nöbet, denge kaybı, halüsinasyonlar ve alt ekstremitelerde paralizisi gibi semptomlara yol açabilir. Metabolik kontrolün yeniden sağlanması bu semptomları azaltmaktadır, bu da HPA'nın toksik etkilerinin bu semptomların etiyolojisinde belirli bir dereceye kadar rol oynadığına işaret etmektedir (44)

BH4 yanıtı HPA/PKU

BH4 yanıtı PKU fenomeni ilk olarak bir Japon hastada tanımlanmıştır (44) ve PAH eksikliği bulunan 1730 hastanın retrospektif çalışılması ile doğrulanmıştır (45). Bazı PKU vakalarında, farmakolojik dozda eksojen BH4 verilmesiyle, PAH aktivitesinin artarak dolaşımdaki Phe düzeyinin tedavi aralığına düştüğü saptanmıştır (44).

BH4 yanıtı vakaların tanısı, 24 saatlik BH4 yükleme testinde kan Phe düzeyinin %30 ve üzeri azalması ile konur. *Kısmi yanıtı* vakalarda, Phe düzeyinde azalma %20-30 arasındadır.

HPA şiddeti arttıkça BH4 tedavisine güçlü yanıt veren hasta oranı azalmaktadır. BH4 yanıtı PKU tedavisinde, Phe toleransını artırmak amacıyla BH4 (10-20 mg/kg) uygulanmaktadır (46).

BH4 eksikliği (BH4 sentez ve geri dönüşüm bozuklukları)

Yenidoğan tarama ile HPA saptanan vakaların yaklaşık % 1-2'sinde BH4 eksikliği belirlenmektedir. Akraba evliliklerinin sık olduğu ülkelerde, örneğin, Türkiye veya Suudi Arabistan'da bu oranın daha yüksek olduğu bildirilmiştir (47) (48). BH4 metabolizmasının birçok bozukluğu kan Phe düzeyinde yükseklikle seyretmektedir. Özellikle, hafif kan Phe yüksekliği olan hastalarda ($> 120 \mu\text{mol/L}$) BH4 eksikliği ayırıcı tanısının yapılması önemlidir. BH4 eksikliği olan hastaların büyük çoğunluğu erken tanı ile etkin olarak tedavi edilebilir.

Yenidoğanda PKU taramasında HPA saptandığında ya da klinikte BH4 eksikliği semptom ve bulguları belirlendiğinde, BH4 eksikliği ayırıcı tanısı yapılmalıdır.

Bazı otozomal resesif GTPCH eksikliği ve SR eksikliği hastalarının yenidoğan döneminde kan Phe seviyelerinin normal olabileceğinden tanı konulması yenidoğan taramada risk yaratmaktadır (Şekil 1) (49).

Maternal PKU

Gebelikte fekondasyon sürecince HPA teratojeniktir. PKU hastası kadınlarda gebelik planlanırken ve gebelik sürecinde kan Phe düzeyi yakından izlenmelidir (17, 50). Maternal PKU ile ilişkili doğumsal bozukluklar arasında zihinsel engellilik (kan Phe düzeyinin $1200 \mu\text{mol/L}$ olduğu hamileliklerde %95), mikrosefali (%90) ve konjenital kalp hastalığı (%17) yer almaktadır (17). Ayrıca fiziksel olarak '*fasiyal dismorfoloji*' görülür. Bu risk HPA'nın şiddetine ve tedavinin zamanlamasına bağlıdır. Diyete sıkı uyum riski azaltır ve PKU dışı hafif HPA hastaları daha düşük risk altındadır (51, 52).

2.1.3. Hiperfenilalaninemi tanı ve ayırıcı tanısına yönelik laboratuvar yaklaşımı

Yenidoğan taraması

1950'lerde düşük Phe içeren diyetin yaşamın erken döneminde uygulanmasının, PKU hastalarında mental retardasyonu azaltabileceği veya önleyebileceği farkedilmiştir. Yenidoğanların bir şekilde taranması ile müdahaleye uygun adayların tanınabileceği düşünülmeye başlanmıştır. 1958'de ABD Çocuk Bürosu Teknik Adaptasyon Komitesi bebeklerin idrarlarının PKU için taranmasını önermiştir. Birkaç eyalette yaşamın ilk altı haftasında "*basit bebek bezi testi*" deneme amaçlı uygulanmış ve 25'ten çok çocuğa PKU tanısı konulmuş, bu çocuklarda nörolojik hasar gelişmeden düşük Phe içerikli diyet başlanmıştır.

1960-1961 yıllarında Teknik Adaptasyon Komitesi 'Guthrie testi'nin geliştirilmesinin ardından, kan örneklerinin toplanmasını önermiştir. Guthrie testinin erken denemeleri 1961-1962 yıllarında gerçekleştirilmiş, ilk olarak New York'ta 3000 kişide, daha sonra ABD eyaletlerinin yarısından daha fazlasında 400.000 bebeği kapsayan bir çalışma ABD Çocuk Bürosu tarafından kaynak sağlanarak gerçekleştirilmiş ve 37 bebekte PKU tanısı konulmuştur (53).1960 ortalarında Avrupa ülkelerinde de Yenidoğanda PKU taramasına geçilmiştir.

T.C. Sağlık Bakanlığı, 1986 yılında Hacettepe Üniversitesi ile 22 ilde '*Yenidoğanda Guthrie Testi ile PKU Taraması*' pilot çalışmasını, 1993 yılında ise Hacettepe Tıp, İstanbul Tıp, Dokuz Eylül Tıp ve Cumhuriyet Tıp Fakültelerinin Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Metabolizma Laboratuvarlarında Türkiye genelinde '*Ulusal Fenilketonüri Tarama Programı*'nı başlatmıştır. 19 Aralık 2006'da Refik Saydam Enstitüsü'nün Ankara ve İstanbul'da kurulan 'Neonatal Tarama Laboratuvarları'na bu program nakledilmiş, PKU ile birlikte Konjenital Hipotiroidi taraması da ulusal programa dahil edilmiştir. Yenidoğan tarama kuru kan örnekleri, Haziran 2009 tarihine kadar Guthrie bakteriyel inhibisyon yöntemi ile bundan sonra flourimetrik yöntem ile çalışılmıştır. Yeni yöneme geçilmesi ile yönlendirilen vakaların kuru kan örnekleri ile kantitatif Phe değerleri elde edilmeye başlanmıştır.

Genişletilmiş Yenidoğan Taraması. İstanbul ilinde pilot çalışması T.C. Sağlık Bakanlığı işbirliği ile İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Metabolizma Laboratuvarında gerçekleşerek HPA 1: 1,487 ve PKU 1, 6.570 olarak belirlenmiştir (20). Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi tarafından yapılan Guthrie testi ile Yenidoğan Taraması'nda PKU insidansı 1: 5,049 olarak bildirilmişti (54), Akraba evliliğinin ve doğum oranının yüksek olduğu ülkemizde PKU rastlanma oranı yüksektir.

Yenidoğanda fenilketonüri tarama yöntemleri

Guthrie testi. Robert Guthrie (12), 1960'ta uygun bir test sağlamak için bakteriyel inhibisyon analizi geliştirerek, 1963 yılında detaylı metodolojisini yayınlamıştır. Test topuktan alınan bir damla kanın özel bir filtre kağıdına emdirilerek havayla kurutulmasıyla başlamaktadır. Kuru kan damlasından zımba ile belirli çapta ufak örnekler alınarak Phe gereksinimi olan *Bactilis subtilis* ekili agar jel yüzeyine konulur. Jel ayrıca içerisinde bakteri tarafından Phe kullanımını inhibe ederek bakterinin büyümesini baskılayan β -2-tienilalanin de bulundurmaktadır. HPA'lı bebekten alınan Phe düzeyi yüksek kuru kan örneği, lokal Phe konsantrasyonunu artırarak bakterinin büyüme inhibisyonunu ortadan kaldırır ve bir gün içinde

pozitif örneğin etrafında bakteriyel büyüme halkası gelişir. Bakteri kolonisinin çapı örnekteki Phe konsantrasyonu hakkında semikantitatif bir değer sağlar.

Florimetrik tarama. Kantitatif değer elde etmek ve tanı zamanını kısaltmak için tercih edilmiştir. % 1 yalancı pozitif sonuç verir. Düşük ve yüksek Phe değerlerinde yanlış sonuçlar verebilmektedir.

Tandem kütle spektrometrisi (Tandem-MS) ile genişletilmiş yenidoğan tarama. Tandem-MS küçük çapta kuru kan örneğinde, güvenilir ve kantitatif bilgi sağlar. Yalancı pozitif sonuç oranı çok düşüktür. Phe ve tirozin değerleri dışında Phe/Tirozin oranı bildirir (55, 56). Phe düzeyinin Phe/tirozin oranı ile birlikte kullanılması ilk 24 saatte erken örnek alınmış vakalarda HPA belirlenebilmesini sağlamaktadır (57). Ayrıca tek yöntem ile ilave masraf olmadan, kısa sürede çok sayıda kalıtsal metabolizma bozukluğunun da taraması yapılabilmektedir.

Kantitatif Phe tayini ile tanıyı kesinleştirme

Yüksek basınçlı likit kromatografisi (HPLC). Yenidoğan taramada patolojik bulunan örneklerin 2. kontrolünün başka yöntemle kantitatif teyit edilmesi gerekmektedir. Bu amaçla kullanılan *yüksek basınçlı likit kromatografisi (HPLC, high pressure liquid chromatography)*; kantitatif Phe, tirozin ve diğer amino asitlerin ölçümünü yapabilen bir yöntemdir. Çoklu tanı özelliği, nispeten düşük maliyeti ve tam otomasyona uygun olması üstün yönleridir (58).

Yenidoğanda BH4 Yükleme Testi

BH4 yükleme testi de klasik PKU ile BH4 eksikliklerinin ayrımında hızlı ve doğrudan bir yöntem olarak yararlı olabilir ve BH4 yanıtı PAH eksikliklerini tanıyabilir. BH4 Eksikliği vakaları, tüm HPA vakaları içinde BH4 yanıtılık düzeyi en yüksek vaka grubunu oluşturmaktadır.

BH4 metabolizma bozukluklarında, kan ve idrarda pterin analizi ve DHPR ölçümü (Guthrie kartındaki kan damlasından örnek alınarak) tüm hastalarda uygulanmalıdır. Bu testler BH4 ayırıcı tanısını sağladığı için esansiyeldir.

2.1.4. Hiperfenilalaninemide moleküler tanı

PAH geni kromozom 12'de (gen haritası lokusu 12q23.2) bulunmaktadır ve 13 ekzonu vardır. PKU bu gendeki mutasyonlar sonucu ortaya çıkar ve otozomal resesif kalıttır (59). Her iki taşıyıcı ebeveynin çocuklarının %25 oranında PKU hastası, %50 PAH mutasyon taşıyıcısı ve %25 oranında sağlıklı olma olasılığı bulunmaktadır. Eğer sadece bir ebeveynde PAH geninin

mutasyon taşıyan bir kopyası varsa, çocukların % 25 PKU taşıyıcısı olma olasılığı vardır, klinik PKU görülmez. PKU hastası bir ebeveyni olan çocukların hepsi en az bir patojen varyant bulundurarak zorunlu taşıyıcı olacaktır fakat diğer ebeveyn PAH aktivitesini etkileyen bir mutasyon taşımadıkça klinik PKU riski bulunmamaktadır. Son olarak her iki ebeveyni de PKU hastası olan çocuklar da PKU hastası olacaktır.

PKU genotipi ve hiperfenilalaninemi derecesi

PAH gen lokusundaki yüksek alelik heterojenite nedeni ile, HPA derecesi oldukça değişkendir. *Hafif PKU*'da tedavi gerektirmeyen hafif kan Phe yüksekliğinden, *klasik PKU*'da olduğu gibi Phe'in PAH tarafından tirozine değiştirilmesinin tamamen ortadan kalktığı ağır zihinsel engelliliğe yol açan klinik tablolara kadar çeşitlilik göstermektedir. Bu farklılıklar, PAH geninde çeşitli mutasyonların görülmesinden kaynaklanmaktadır (60). Bu mutasyonlar, gen ifadesinin tamamen kaybına veya özellikleri değişmiş bir protein oluşumuna sebep olabilmektedir. Gen mutasyonları, baz çifti değişimi ('substitutions'), eklenmesi ('insertions') veya silinmesi ('deletions') şeklinde olabilir. Proteinlerin primer yapısını oluşturan aminoasit dizisinde değişimlere neden olan nokta mutasyonlar sonucu, farklı bir aminoasit gelebilir (yanlış anlamalı, 'missense'), erken dur kodonu oluşabilir (premature stop kodon, 'nonsense') veya RNA işlenmesi bozulabilir (kırılma hatası, 'splice'). Kodlanmayan bölgelerde (intronik) görülen nokta mutasyonları da çerçeve kaymasına veya erken dur kodonu oluşmasına sebep olabilir. Özellikle PKU gibi bazı tek gen hastalıklarında, lokus heterojenitesi (*PAH* ve *BH4* metabolizması ile ilgili 4 gen), alelik heterojenite (bir lokusta çok sayıda alel bulunması) ve modifiye edici genlerin etkisi nedeniyle genotip fenotip ilişkisi tam olarak kurulamaz (61).

HPA derecesi hastaların Phe toleransları ile kanıtlandığı üzere, oldukça heterojendir. *Hafif PKU*'da tedavi gerektirmeyen hafif kan Phe yüksekliğinden, *Klasik PKU*'da olduğu gibi Phe'nin PAH tarafından tirozine değiştirilmesinin tamamen ortadan kalktığı ağır zihinsel engelliliğe yol açan klinik tablolara kadar çeşitlilik göstermektedir. Halen BİOPKU veri tabanında bildirilmiş olan 1101 PAH varyantı bulunmaktadır ve PKU'da yanlış anlamalı mutasyonlar günümüze kadar saptanan mutasyonların yarısından fazlasını oluşturmaktadır (1). Mutasyonların bir bölümü, örneğin p.R408W veya p.R252W, belirgin şekilde PAH aktivitesini azaltarak orta veya ağır şiddetli PKU fenotiplerine sebep olmaktadır (60, 62, 63). Diğerleri, örneğin p.E390G, p.Y414C veya p.A300S, rezidüel PAH aktivitesi kalmasına sebep olur, bu durumda Phe toleransı daha yüksektir ve PKU fenotipi daha hafif şiddetlidir.

PKU hastalarının bir çoğunda her iki PAH geni allelinde farklı mutasyonlar bulunmaktadır ve bu durum genotip-fenotip ilişkisi kurmayı zorlaştırmaktadır. Örneğin p.R408W mutasyonunda, Phe aktivitesi beklenmezken, p.Y414C mutasyonunda ise önemli bir miktarda rezidüel PAH aktivitesi bulunmaktadır, bu iki mutasyon aynı hastada farklı allellerde görüldüğü zaman daha hafif şiddette bir PKU fenotipi ortaya çıkmaktadır. Fakat tüm PAH mutasyonlarının klinik öneme sahip HPA fenotipine yol açmadığına dikkat edilmelidir: PAH mutasyonlarının %5'i kadarının PAH aktivitesini biyolojik anlamlı derecede etkilemediği bilinmektedir (64).

Aynı genotipe sahip hastalarda farklı nörolojik sonuçlar görülmesi, diğer genetik ve çevresel faktörlerin de, PKU hastalarının fenotipinde etkili olduğunu düşündürmektedir (65). Avrupa'da 197 hastada gerçekleştirilen çok merkezli bir araştırmada, hastaların tanıdaki kan Phe düzeyi ile belirlenen fenotiplere göre sınıflanması ile PAH genotipi ile tahmin edilen PKU fenotipi arasında uyumsuzluklar olduğunu göstermiştir (66).

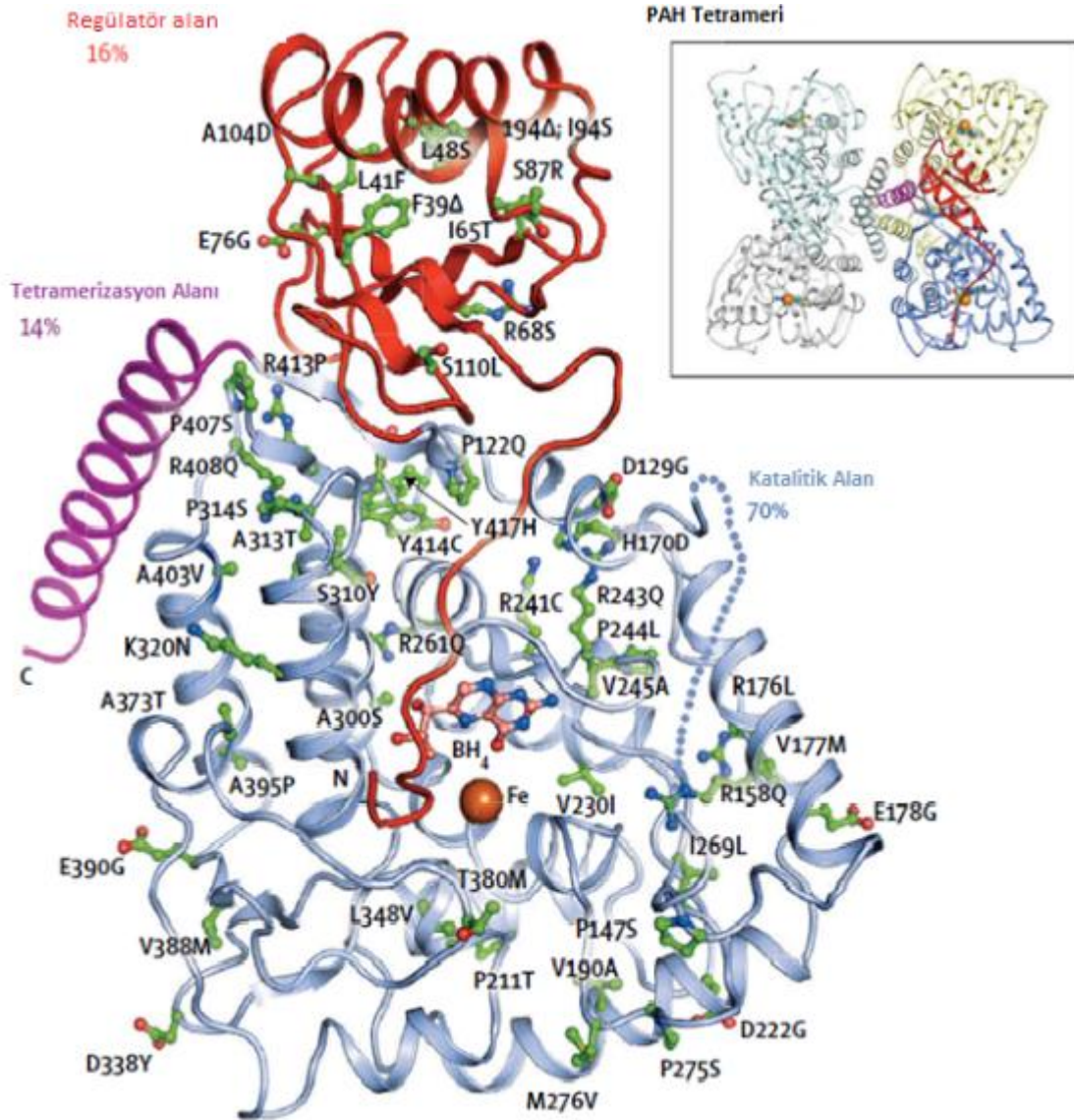
BH4 yanıtı PKU'ya yol açan PAH geni mutasyonları.

BİOPKU veri tabanında belirtilen mutasyonları gösteren hastalar, PAH veri bankası (PAHdb) bilgileri ile analiz edildiğinde; allellerin %32'si potansiyel BH4 yanıtı, geri kalanları ise ya cevapsız ya da belirsiz olarak sınıflandırılmıştır. Bazı mutasyonlar, BH4'ün farmakolojik dozlarda uygulanması ile dolaşımdaki Phe seviyelerinin klinik anlamlı derecede düşmesi ile sonuçlandığı BH4 (tetrahidrobiyopterin) yanıtı PKU ile ilişkilendirilmiştir (44, 67). Bu mutasyonlar genellikle belirgin rezidüel PAH aktivitesi olan hafif PKU'ya yol açmaktadır. Bazı çalışmalar, PAH proteininin BH4 ile stabilizasyonunu (moleküler şaperonlama) kolaylaştıran, BH4 yanıtı fenotip ile uyumlu mutasyonları tanımlamıştır (24, 62). BH4 yanıtı için diğer olası mekanizmalar arasında PAH'ın Phe için artmış afinitesi veya enzimin inaktivasyonunun azalması yer almaktadır (24).

BH4 duyarlılığının tahmin edilen sıklığı BH4 yükleme testlerinde gözlenen sıklıktan daha yüksektir. Yani genotip ile BH4 duyarlılığının "gerçek" insidansı arasındaki ilişki karmaşıktır. Bazı hastalar yükleme testinde BH4'e iyi cevap verirken uzun dönem tedavide daha az yanıt verebilir. Dahası BH4 yanıtı aynı genotipe sahip hastalar arasında bile farklılık gösterebilir. Günümüzdeki kanıtlar genotiplendirmenin BH4 yanıtı duyarlılığının varlığında yokluğunu daha iyi tahmin edebildiğine işaret etmektedir (46). Sonuç olarak BH4 duyarlı PKU fenotipin tahmininde genotiplendirme tek başına yeterli değildir fakat BH4 yanıtı hastaların belirlenmesinde yardımcıdır.

BH₄ yanıtılığın mekanizması multifaktöryeldir (68), fakat ana mekanizma PAH tetramerinin yanlış katlanmasının, subünit birleşmesinin, proteolitik bozulmasının, ve termal inaktivasyonun önlenerek stabilize olmasının sağlanmasıdır (22, 26).

Son zamanlarda alelik fenotip değerinin (APV) algoritmasının tanımlanması üzerine yapılan çalışmalarda, bu algoritma kullanılarak fenotip öngörüsü; klasik PKU'da %99, hafif PKU'da %46, Hafif HPA'da %90 doğru sonuç vermiştir (69).



Şekil 2: İnsan PAH monomerinin en sık görülen BH₄ yanıtılı mutasyonların bulunduğu üç boyutlu kristal yapısı.

Mutasyonların çoğu (%70) katalitik alanda (mavi) bulunmakta, %16'sı regülatör alanda (kırmızı), %14'ü ise tetramerizasyon alanında (lila) bulunmaktadır. Ekli küçük resim PAH tetrameridir (21).

p.L48S mutasyonu

Nükleotid aberrasyonu c.143T > C olan, protein varyantı p.Leu48Ser olan p.L48S mutasyonu, Exon 2 de yer alan, enzimin regülatör bölümüne etki eden fonksiyon kaybı (loss of function) mutasyondur. BİOPKU veri tabanında, *in vitro* PAH enzim aktivitesi %39, alelik fenotip değeri 2.4 olarak bildirilmiştir. Bu veri tabanına kayıtlı hastaların fenotipik olarak %22.86'sı klasik PKU, %68.57'si hafif PKU, %8.57'si hafif HPA olarak belirlenmiştir. Bu hastaların %79.17'si BH4 yanıtı, %8.33'ü yavaş yanıtı, %12.5'i de yanıtı olarak değerlendirilmiştir (1).

p.L48S mutasyonu ilk olarak PKU tanılı bir Türk hastada saptanmıştır (70). Bugüne kadar Avrupa'da çoğu popülasyonda %2-5 sıklığında görülmektedir (71). Daha yüksek sıklıkta görülen ülkeler ise; Sırbistan (%31), Hırvatistan (%10), İtalya (%9,7), ve Türkiye (%7)'dir (109).

Kliniğimizce 2010 yılında 588 hiperfenilalaninemik hasta ile yapılmış olan çalışmada 20'si yeni mutasyon olmak üzere toplam 88 mutasyon tanımlanmıştır. 464 hastanın oral BH4 yükleme testi verileri rapor edilerek, hastalık fenotipi, rezidüel PAH aktivitesi ve genotip arasındaki ilişki karşılaştırılmıştır. Bu çalışmanın sonuçlarına göre Türk PKU popülasyonunun yüksek klasik PKU prevalansı (%47), kısmen yüksek oranda (%22) olan BH4 terapisi adayları ve genel BH4 eksikliği olan vakalar (%2,4) dokümente edilmiştir. En sık görülen mutasyonlar sırasıyla IVS10-11G>A (alel sıklığı %24.6), p.R261Q (%8.7), p.P281L (%8.4), p.L48S (%7.0), p.R408W (%6.4), p.A300S (%5.0), p.E390G (%4.1), IVS4+5G>T (%3.0) olarak saptanmıştır. Çoğu homozigot genotiplerde fenotipik dağılım net olmasına (homozigot p.R408W mutasyonu olan hastalarda PAH aktivitesi bulunmamaktadır, klasik PKU fenotipi görülür, %100 BH4 yanıtıdır) rağmen, bazı genotiplerde (örneğin *in vitro* rezidüel PAH aktivitesi %39 homozigot p.L48S mutasyonu) fenotip ve BH4 yanıtı açısından uyumsuzluk gözlenmiştir (72).

2.1.5. Fenilalanin hidroksilaz eksikliğine bağlı PKU'da tedavi

Fenilalaninden kısıtlı, tirozinden zengin beslenme tedavisi

Phe'den kısıtlı beslenme tedavisine, kan Phe düzeyi ≥ 600 $\mu\text{mol/L}$ olan çocuklarda mutlaka başlanır. Kan Phe düzeyi 360-600 $\mu\text{mol/L}$ olan vakalarda ise tedavi uygulanması konusunda kanıta dayalı çalışmalara gereksinim vardır. Kliniğimizde yapılan bir çalışmada yenidoğan tarama ile saptanan HPA vakalarının yönetimi için kılavuz geliştirilmiş, vakanın izlemde bir kez fenilalanin ≥ 600 $\mu\text{mol/L}$ düzeyine ulaşmasının, PKU tedavisine geçilmesi için

yeterli olduğu (tedavi sınırı fenilalanin ≥ 360 $\mu\text{mol/L}$ kabul edildiğinde en az iki kez) sonucuna ulaşılmıştır (73).

Beyin hasarını önlemek için, vücut sıvılarında kan Phe düzeyini azaltmak tedavinin esas amacıdır. Hastanın rezidüel enzim aktivitesinin mümkün kıldığı ölçüde beslenme tedavisine doğal protein eklenmelidir, çünkü Phe esansiyel bir amino asittir. Hastanın normal büyümesi için gerekli ilave protein gereksinimi ise Phe içermeyen tıbbi amino asit karışımlarından sağlanır. Tirozin, düzeyinde düşüklük olduğunda desteklenmelidir.

Klasik PKU'lu sütçocukları genellikle 200 mg/gün Phe içeren diyeti tolere edebilmektedir. Büyük çocuklarda ise 600 mg/gün altında Phe alınması önerilmektedir (74).

Kan Phe düzeyinin; genellikle 10 yaştan küçük çocuklarda 60-360 $\mu\text{mol/L}$, 10-15 yaş arasında 60-600 $\mu\text{mol/L}$, ergen ve erişkinde 60-900 $\mu\text{mol/L}$ arasında idame ettirilmesi önerilmektedir (75). Yaş arttıkça kan Phe hedefleri daha esnek hale gelmektedir. Genellikle 4-8 yaş arasında hedef kan Phe değerleri yükselmekte, 10-16 yaşları arasında daha da rahatlamakta ve yetişkinler için sınırlar ülkeler arasında farklılık göstermektedir (Tablo 1), ortak bir uygulamanın kabul edilmesi için kanıta dayalı çalışmalara gereksinim vardır (76).

PKU hastalarının diyet tedavisinde en az RDA (Recommended Dietary Allowances) kadar besin ögesi almaları önerilmektedir, RDA'nın önerdiği boya (cm) ve yaşa göre kalori ve protein alımı mutlaka hesaplanmalıdır (77).

Yaşamın ilk iki yılında haftada en az bir kez, daha sonra 15 günde bir kan Phe düzeyi görülerek hastaların diyet tedavileri düzenlenmelidir. Genel olarak devamlı kan Phe düzeyi takibi ile IQ normal değer aralıklarında tutulabilmektedir fakat gelişimin farklı evrelerinde kan Phe sınır değerleri hala tartışmalıdır (78).

PKU ve HPA'ların yönetiminde yenidoğan tarama ve erken tedavi için ortak fikirler mevcuttur; fakat hangi kan seviyelerinde tedaviye başlanacağı, hedef kan Phe değerleri ve erişkin hastalarda tedavi ve izlemde görüş ayrılıkları vardır (79).

Phe kısıtlı diyet, doğal proteinden fakir olduğu için Phe içermeyen, tirozinden zengin tıbbi amino asit karışımları ile desteklenmeli; uygun miktarda vitamin, mineral, yağ asidi içermelidir. Anne sütü ile beslenme, sağlığa yararının yanında, gelişmekte olan ülkelerde aileye ekonomik katkı da sağlamaktadır. Anne sütü ile beslenen PKU hastaları ile yapılan bir çalışmada, büyüme ve bilişsel gelişim normal olarak saptanmış, kan Phe düzeyi hedeflenen aralıkta kalmıştır. Bu sebeple günümüzde PKU'lu bebeğin, formül süt ve Phe içermeyen

aminoasit formulası ile beslenmenin dışında anne sütü ile de beslenmesini destekleyen çalışmalar mevcuttur (80).

Diğer tedaviler. BH4 tedavisi, büyük nötral amino asitler, glikomakropeptitler uygulanan diğer tedavilerdir. Phe amonyak liyaz tedavisi ve gen tedavisi de PKU hastalarında kullanılmak üzere geliştirilmektedir (81). Son zamanlarda ‘*Escherichia coli Nissle*’ın kanda yükselen fenilalanini ortadan kaldırmak için programlanması üzerinde çalışılmaktadır. Çalışmacılar, fenilalaninin hücrelere alınmasını sağlayan bir fenilalanin taşıyıcıyı ve aminoasidi metabolitlerine dönüştüren enzimi kodlamak için bağırsak bakterilerinden genleri bakteriye eklemişlerdir.

2.1.6. PKU’da izlem

PKU’da beslenme durumu

Beslenme durumunun değerlendirilmesi ve hastanın gereksiniminin karşılanması bir denge içinde olmalıdır. Beslenme tedavisi uygulanması malnütrisyon riskini de beraberinde getirdiğinden yakın beslenme izlemi önemlidir.

PKU’da tedavide başarılı olmak için alınan doğal protein ve kalori miktarını da eksik bırakmamak ve en uygun büyümeyi ve gelişmeyi sağlamak önemlidir. Bu da beslenme durumunun yakın izlemiyle mümkün olmaktadır (82). PKU hastalarının beslenme tedavisinde en az RDA kadar besin ögesi almaları önerilmektedir (77).

Bir çalışmada erken tedavi başlanan PKU’lu bireylerle sağlıklı bireylerin arasında aşırı tartı, obezite, metabolik sendrom ve vücut bileşimi açısından anlamlı fark saptanmamıştır (83). PKU tedavisinde doğal protein alımının kısıtlı olması büyüme bozukluklarına yol açabilmektedir. Başka bir çalışmada ise Hafif ve Klasik PKU’lu vakalarla sağlıklı bireyler karşılaştırıldığında; PKU vakalarında kontrol grubuna göre boy uzunluğu daha az, vücut ağırlığı daha fazla saptanmıştır (84).

Besin tüketim kaydı değerlendirmesi

PKU’da besin tüketim kaydı değerlendirme yöntemi, hatırlama veya kayıt tutma tekniği ile yapılır. Besin tüketim kaydı çalışmalarında bazı durumlarda, 24 saatlik besin tüketim kaydı; 3, 5, 7 ve daha fazla günü içeren zaman diliminde tekrarlanır. *Üç günlük besin tüketim kaydı*nda genellikle iki gün hafta içi ve bir gün hafta sonu birlikte değerlendirilir. Her besinin sağladığı enerji ve besin ögeleri miktarları besin bileşim cetvelleri kullanılarak hesaplanır. Bu cetvelleri içeren programlar ile besin tüketim kayıtları hesaplanabilir. Tüm günlerin toplamı gün sayısına bölünerek ortalama bir günlük besin türlerinin ve besin ögelerinin miktarı bulunur. Bulunan

değerler yaş, cinsiyet, fizyolojik duruma göre “günlük tüketilmesi önerilen alım miktarları (RDA)” ile kıyaslanır. Böylece gereksinimin ne kadarının karşılandığı belirlenir (85).

PKU’da tedavi başlamak için kan Phe kesit değeri, hedeflenen kan Phe değerleri ve erişkin hastaların tedavi ve izleminde merkezler arasında farklılıklar mevcuttur (79).

Tablo 1: Fenilketonüride yaşa göre protein ihtiyacı, Phe toleransı, hedef kan Phe değerleri, Phe içermeyen aminoasit karışımı ihtiyacı (86)

Yaş	Protein gereksinimi (mg/kg/gün) ¹	Phe toleransı (mg/gün)	Hedef Phe (μmol/L)				Phe içermeyen aminoasit karışımı	
			Almanya	Hollanda	Birleşik Krallık	Amerika	Tip	g/gün ²
0-3 ay	2.1-2.7	~130-400	40-240	120-360	120-360	120-360	1	3-10
4-12 ay	2.1-2	~130-400	40-240	120-360	120-360	120-360	1	3-10
1-2 yaş	1.7	~130-400	40-240	120-360	120-360	120-360	2	20-50
2-3 yaş	1.7	~200-400	40-240	120-360	120-360	120-360	2	20-50
4-6 yaş	1.6	~200-400	40-240	120-360	120-360	120-360	2	20-50
7-9 yaş	1.4	~200-400	40-240	120-360	120-480	120-360	2	20-50
10-12 yaş	1.1	~350-800	40-900	120-360	120-480	120-360	2	50-90
13-15 yaş	1.0	~350-800	40-900	120-600	120-700	120-600	2	50-90
>16 yaş	0.9	~450-1,000	40-1,200	120-600	120-700	120-600	2	60-150

a DGE 1985; RDA; WHO

b Mümkün oldukça 24 saate yayılarak alınmalıdır

Fenilalanin Toleransı

PKU hastalarının beslenme tedavisinde; kan Phe düzeylerini santral sinir sistemine zarar vermeyecek hedef aralıkta (10 yaş ve altı 60-360 μmol/L, 10-15 yaş arası 60-600 μmol/L, 15 yaş ve üzeri 60-900 μmol/L) kalmasını sağlayan, doğal besinlerden alabilecekleri günlük Phe miktarı ‘Phe toleransı’ olarak tanımlanır. Genelde 5 yaşında değerlendirilmeye başlanır.

Günlük Phe toleransı değerlendirmesinin HPA’nın fenotipik değerlendirmesinin sabit parametresi olduğu bildirilmiştir. ‘Phe toleransı’ kullanılarak HPA’nın 3 farklı fenotipi sınıflandırılabilir: Phe toleransı <20 mg/kg/gün ise *Klasik PKU*, 20-50 mg/kg/gün aralığında ise *Hafif PKU* ve >50 mg/kg/gün ise *Hafif HPA* olarak değerlendirilmektedir (87). İleri

yaşlardaki bireysel *Phe toleransı* 'nın, 2 yaşındaki değer kullanılarak tahmin edilebileceği ve 2 yaş, 3 yaş ve 5 yaşındaki değerlerin 10 yaşındaki ile korele olduğu gösterilmiştir (88).

Phe toleransı düşük hastalarda; yetersiz enerji alımı veya büyüme hızında değişiklikler, kan Phe düzeyini değiştirebilir.

İzlemde PKU hastalarının durumu '*Phe toleransı*'na göre yeniden değerlendirilerek klinik fenotip izlenebilir (89).

Yenidoğan taramadaki gelişmeler ve doğumdan sonra hastanede yatış süresinin kısalığı nedeniyle, ideal olarak 3 günlükken ya da şartlar nedeniyle daha önce hastaların kuru kan örnekleri alınmakta, PKU tanısı daha erken konularak tedavi başlanmaktadır. Erken tanı nedeniyle, henüz kan Phe düzeyi hastanın klinik fenotipine ve mutasyonuna uygun potansiyel en yüksek Phe değerine ulaşmadan, daha düşük değerlerdeyken Phe kısıtlı beslenme tedavisine geçilmektedir. PKU fenotiplendirmesi, yenidoğan taramadan sonra tedavi öncesi Phe değeri kullanılarak yapıldığından, hastanın gerçek fenotipi her zaman bu değerlendirme ile anlaşılamamaktadır. Günlük pratikte, metabolizma merkezlerinin %70'i tedavi öncesi Phe değerini fenotiplendirmede kullanmaktadır. PKU sınıflandırmasının bu nedenlerle yenilenmesi gerekmektedir (67).

Phe toleransı, PKU fenotipinde iyi bir gösterge olsa da standardize koşullarda değerlendirilmesi gerekmektedir. Günlük uygulamada tavsiye edilen Phe alımı çoğunlukla evde alınan Phe miktarından daha düşüktür. Bu sebeple hastanın kendi günlük koşulları içine standardize edilmiş *Phe toleransı* 'değerlendirmesinin hassas diyet protokolleri ile uygulanması önerilmektedir.

BH4 yanıtı PKU hastalarında *Phe toleransı*. Bu hastalarda kullanılan sapropterin dihidroklorid tedavisinde, hastaların tedaviye yanıtlarının değerlendirilmesinde *Phe toleransı*, kan Phe düzeyindeki düşüşün izlenmesi ile birlikte önemli bir parametredir. Sapropterin dihidroklorid tedavisinin *Phe toleransı* üzerine etkisini araştıran çok sayıda çalışma mevcuttur (90). Genotip ile fenotip arasındaki ilişki ise komplekstir, PKU için aynı genotipe sahip kişilerde Phe toleransının farklı olduğu da gösterilmiştir (60).

Phe toleransının bireysel değerlendirilmesi önemlidir, çünkü PAH aktivitesi hastalarda değişkenlik göstermektedir. Erişkinlerde Phe toleransının VKİ ile birlikte değerlendirmesinin önemini araştıran bir çalışmada 8 PKU'lu hastanın Phe gereksinimi, kan Phe düzeyi, genotipi ve 5 yaşındaki Phe toleransı incelenmiştir. Hastaların kişisel Phe toleransları son birkaç yılda değerlendirilmemiş ve 5 hastanın VKİ 25-28 arasında saptanmıştır. Metabolik diyetisyen

rehberliğinde 7 hastanın Phe toleransının arttığı (%15-173) görülmüş ve kan Phe düzeylerinde belirgin artış saptanmamıştır. Phe toleransının artırılması hem diyet uyumunun gelişmesiyle, hem de başlangıçta gereksinimlere uygun olmayan Phe alımıyla ilişkilendirilmiştir. Diyet uyumunun artması, amino asit formulalarının alımının artırılmasını sağlamış ve dolayısıyla protein alımı artmıştır. Final Phe toleransının yüksek olmasındaki göstergeler VKİ'nin düşük olması ve cinsiyetin kadın olması olarak saptanmıştır. Böylece yükselen trend olan aşırı kilolu olmanın ve obezitenin erişkinlerdeki Phe toleransı üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda metabolik diyetisyenlerle etkileşim halinde vücut kitlesine göre Phe toleransının değerlendirilmesinin, protein sentezini desteklemek ve katabolizmadan kaçınmak için faydalı bir yöntem olduğu gösterilmiştir (91).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

Fenilketonüri (PKU)de fenilalanin (Phe) toleransının değerlendirildiği kesitsel nitelikte olan bu çalışma, İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı Polikliniğinde takip edilen, daha önce kliniğimizde yapılmış olan bir çalışma kapsamında mutasyon analizleri belirlenmiş, literatürle karşılaştırıldığında en büyük vaka grubuna sahip olduğumuz p.L48S mutasyonunu taşıyan hastalar (n=65) ile gerçekleştirildi (72). p.L48S mutasyonu taşıyan vakalar, BİOPKU veri tabanında *in vitro* enzim aktivitesi ile hafif klinik fenotip olarak bildirilmesine karşın, daha önce yapılan çalışmalarda genotip/fenotip korelasyonu uyumsuz bulunmuş, fenotipik değerlendirmede en önemli parametrenin fenilalanin toleransı olduğu gösterilmiştir (1, 2). Aynı zamanda bu mutasyonu taşıyan hastaların bir bölümünün, tanı anındaki kan fenilalanin (Phe) düzeyine göre metabolik fenotip belirlendikten sonra, klinik (Phe toleransı ile) izlemde fenotipin değiştiğinin ve tetrahidrobiopterin yanıtılık açısından tutarsız olduğunun tarafımızca farkedilmesi, genotip olarak öngörülen Hafif PKU fenotipi dışında diğer (KPKU, HHPA) fenotiplere sahip hastaların da bu genotipi taşıdığı görülmesi üzerine Phe toleranslarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Çalışmaya alınma kuralları. Belirli mutasyonu (p.L48S) olan HPA vakaları seçilerek çalışmaya katılmak için gönüllü olmayan, bilinen ek hastalığı olan, maternal HPA olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Dosya değerlendirmesi. Çalışmaya alınan vakaların değerlendirmesi Mart 2018- Ocak 2019 arasında yapıldı. İlgili mutasyonu taşıyan vakaların dosya değerlendirilmesinde yaş, cinsiyet, tanı, tanı yaşı, tanı anındaki biyokimyasal veriler, başvurusunda varsa pozitif muayene bulguları, anne sütü ve ek gıda ile beslenme özellikleri, beslenme tedavisi verilerine göre belirlenen fenilalanin toleransı, varsa tetrahidrobiopterin (BH4) yükleme testi yanıtları, genotip, izlem süresi, izlemde metabolik fenotip tanısında değişim, ebeveynlerde akrabalık durumu, kardeş sayısı, ailede hiperfenilalaninemi (HPA) görülme sıklığı ve ebeveynlerin yakın köyden olma durumu kaydedildi.

Vakaların 30'u kız, 35'i erkekti. Yaş aralığı 10.2-30.7 yıl arasındaydı. Tanı anındaki kan Phe düzeyi (ilk kantitatif Phe düzeyleri, beslenme tedavisi başlanmadan çocuk normal beslenirken alındı) ne göre metabolik fenotipler belirlendiğinde; 15 hasta Hafif Hiperfenilalaninemi (HHPA) (kan Phe düzeyi < 600 µmol/L), 23 hasta Hafif PKU (kan Phe düzeyi 600–1200 µmol/L) ve 27 hasta Klasik PKU (kan Phe düzeyi > 1200 µmol/L) idi.

Mevcut besin tüketim kayıt (BTK) verileri, 12-24 ay arası iki kez ve 24 ay üzeri yaşam boyu yılda bir kez hasta dosyalarından alındı. BTK alınan günün sonunda sabah *açlık kan Phe düzeyi* dosyadan kaydedildi. Bu düzey yaşa göre hedeflenen (hedef değerler: 10 yaş ve altı 60-360 $\mu\text{mol/L}$, 10-15 yaş arası 60-600 $\mu\text{mol/L}$, 15 yaş ve üzeri 60- 900 $\mu\text{mol/L}$) aralıkta ise, hastanın doğal besinlerden aldığı günlük Phe miktarı olan '*Phe toleransı*' kaydedildi. Hastaların ($n=12$), 12-24 ay arasında serbest anne sütü aldıkları Phe toleransları çalışmaya dahil edilmedi.

Dosyalar incelendiğinde tek doz BH4 yükleme (20 mg/kg) testi yapılan ve 24 saat fenilalanin izlemi yapılmış olan (0, 4, 8. ve 24. saat kan düzeyi bakılmış olan) hasta sayısı 28 idi. Yükleme öncesi bazal fenilalanin düzeyine göre %30 ve üzeri düşüş varsa, hasta BH4 yanıtı olarak değerlendirildi ve yanıtılık yüzdesi kaydedildi.

Hastalar ile görüşme. Hastalar kontrole çağrılarak araştırmacı (G.U.) tarafından değerlendirildi. Varsa pozitif muayene bulguları, tartı ve kiloları, beslenme tedavi verileri kaydedildi, güncel üç günlük (ikisi hafta içi, biri hafta sonu) BTK'ları alındı.

Besin tüketim kaydı analizi. Güncel üç günlük BTK, tek diyetisyen (M.M.) tarafından BeBİS (Beslenme Bilgi Sistemi) programı 7.2 versiyonu ile analiz edilerek protein (g/gün), karbonhidrat (g/gün), yağ (g/gün), kalori (kcal/gün) ve Phe (mg/gün) miktarı hesaplandı (92). Alınan protein miktarı; doğal protein ve Phe içermeyen tıbbi L-amino asit formülleri açısından ayrı ayrı değerlendirildi. Ayrıca tüketilen besinlerin BeBİS 7.2 programında belirtilen Phe içeriği "USDA Food Composition" verileri ile karşılaştırıldı (93). BeBİS programında "USDA Food Composition" verilerinden farklı olan Phe içeriği durumunda ise USDA esas alındı ve buna göre hesap yapıldı. Sabah açlık kan Phe-Tyr değerleri BTK alımının son saatinde alındı. PKU izleminde beslenme tedavisi sırasında kantitatif Phe düzeyleri yaşa uygun sınırlarda kalan hastaların, doğal proteinden sağlanan Phe toleransları (mg/gün ve mg/kg/gün olarak) belirlendi. Bu veriler, hastanın mutasyon analizleriyle birlikte, metabolik fenotip/genotip korelasyonu çerçevesinde değerlendirildi.

İstatistiksel İncelemeler. İstatistiksel analizler için NCSS (Number Cruncher Statistical System) 2007 (Kaysville, Utah, ABD) programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metotlar (ortalama, standart sapma, medyan, frekans, yüzde, minimum, maksimum) kullanıldı. Nicel verilerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilk testi ve grafiksel incelemeler ile sınanmıştır. Normal dağılım göstermeyen niceliksel verilerin iki grup karşılaştırmalarında Mann Whitney U testi kullanıldı. İlk tanı ve son tanı arası değerlendirmelerde Related-Samples Marginal Homogeneity Test kullanıldı. Normal dağılım

göstermeyen nicel değişkenler arası ilişkilerin değerlendirilmesinde Spearman korelasyon analizi kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise Fisher-Freeman-Halton testi kullanıldı. Anlamlılık en az $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

Etik kurul değerlendirmesi. Bu çalışma İstanbul Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 10.08.2018 tarihinde onaylandı (Dosya No: 2018/1055).



4. BULGULAR

Fenilketonüri (PKU)de fenilalanin (Phe) toleransının önemi'nin araştırıldığı bu çalışmada; İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı Polikliniği'nde izlenen vakalar içinde, özellikle literatüre göre en büyük grubu oluşturan ve BİOPKU veri tabanında bildirilen metabolik fenotip/genotip tiplendirmesi ile izlemde farklılık gösterdiği dikkatimizi çeken p.L48S mutasyonu saptanmış, 54 PKU ailesindeki hiperfenilalaninemi (HPA) vakaları (n=65) Mart 2018-Ocak 2019 döneminde değerlendirilmiştir.

4.1. Demografik veriler

Cinsiyet. Hastaların 30'u kız, 35'i erkektir (Tablo 2).

Yaş. Vakaların güncel yaşları [10,2-30,7] yıl arasında değişmekte olup Ort.±SS 17,39±5,64 yıl olarak belirlenmiştir.

Tanı yaşı. 27 hasta ilk ay, 20 hasta 1-3 ay, 2 hasta 3-6 ay, 4 hasta 6 ay-1 yaş, 3 hasta 1-2 yaş, 5 hasta 2-3 yaş arasında ve 2 hasta da 3 yaşından sonra tanı almıştır. 2 hastanın tanı tarihi bilinmemektedir. Tanı yaşları, [0,06-95,53] ay arasında değişmekte olup Ort.±SS 6,88±15,32 aydır.

Akrabalık. Ebeveynlerin akrabalık durumu derecesine göre sınıflandırılmıştır (Tablo 2). Aralarında akrabalık olmayan ebeveynler (n=39) incelendiğinde aynı köyden olanlar %20,5 (n=8), yakın köyden olanlar %25,6 (n=10), yakın köyden olmayanlar ise %53,8 (n=21) olarak saptanmıştır.

Memleket. Anne memleketleri incelendiğinde; en çok Sivas %13,2 (n=7), Artvin %9,4 (n=5), Trabzon %9,4 (n=5) ve Tokat illeri %7,5 (n=4) saptanmıştır. Baba memleketleri (n=54) incelendiğinde; en çok Trabzon %17,0 (n=9), Sivas %11,3 (n=6) ve Tokat illeri %7,5 (n=4) belirlenmiştir. Memleket dağılımları değerlendirildiğinde çoğunluk olarak Sivas, Trabzon ve Tokat illerinin olduğu gözlenmiştir (Tablo 3).

Tablo 2: Vakaların güncel yaş (yıl), tanı yaşı (yıl), ebeveynlerde akrabalık durumu, akrabalık derecesi ve ailede benzer vaka bulunma durumunun dağılımı

<i>Tanımlayıcı özellikler</i>		
Yaş (yıl) (n=65)	[min-mak](medyan)	[10,2-30,7] (16,9)
	Ort±SS	17,39±5,64
Tanı yaşı (ay) (n=63)	[min-mak](medyan)	[0,06-95,53] (1,1)
	Ort±SS	6,88±15,32
Cinsiyet (n), (n=65)	Kız	30 (%46,2)
	Erkek	35 (%53,8)
Ebeveynlerin akrabalık durumu (n=54), n (%)	Yok	39 (72,2)
	Var	15 (27,8)
Ailelerde akrabalık derecesi (n=54), n (%)	Yok	39 (72,2)
	1. derece	8 (14,8)
	1,5.derece	1 (1,8)
	2.derece	2 (3,7)
	3.derece	3 (5,5)
	4.derece	1 (1,8)
Ailede benzer vaka (n=54)	Yok	45 (83,3)
45/9	Var	9 (16,6)

p.L48S mutasyonu homozigot genotipteki vakaların aileleri (n=10) incelendiğinde; baba memleketleri Trabzon %20 (n=2), Sırbistan %20 (n=2), Sivas %10 (n=1), Hatay %10 (n=1), Ağrı %10 (n=1), Muş %10 (n=1), Tokat %10 (n=1), Artvin %10 (n=1), anne memleketleri ise Mardin %10 (n=1), Rize %10 (n=1), Sivas %10 (n=1), Kırklareli %10 (n=1), Ağrı %10 (n=1), Sırbistan %10 (n=1), Trabzon %10 (n=1), Muş %10 (n=1), Tokat %10 (n=1), Artvin %10 (n=1) illeri olarak saptanmıştır.

Tablo 3: PKU ailelerinde (n=53) anne ve baba memleketlerinin dağılımı*

Anne memleket	n (%)	Baba memleket	n (%)
Sivas	7 (13,2)	Trabzon	9 (17,0)
Artvin	5 (9,4)	Sivas	6 (11,3)
Trabzon	5 (9,4)	Tokat	4 (7,5)
Tokat	4 (7,5)	Artvin	3 (5,7)
Ağrı	2 (3,8)	Giresun	3 (5,7)
Erzincan	2 (3,8)	Samsun	3 (5,7)
Giresun	2 (3,8)	Sırbistan	3 (5,7)
Kocaeli	2 (3,8)	Erzurum	2 (3,8)
Ordu	2 (3,8)	İstanbul	2 (3,8)
Rize	2 (3,8)	Konya	2 (3,8)

*Tek ebeveynde görülen memleketler Tabloda gösterilmemiştir.
Anne ve babasının memleketi bilinmeyen bir vaka bulunmaktadır.

4.2. Tanıda PKU vakalarının özellikleri

Vakaların %80'i (n=52) yenidoğan tarama, %16,9'u (n=11) doğumsal metabolik hastalık (DMH) selektif tarama, %3,1'i (n=2) PKU'lu kardeş nedeniyle aile taraması ile tanı almıştır.

Başvuru fizik muayenesinde; vakaların %79,7'si (n=51) normal, %20,3'ünde (n=13) ise nöromotor gerilik saptanmıştır. Bir vakanın ilk muayene sonucuna ulaşılammıştır.

Başvuruda nöromotor gerilik saptanan 13 vaka [DMH selektif tarama sonucu (n=11) ve aile taraması nedeniyle (n=2)] incelendiğinde; tanı yaşı Ort.±SS 29,64±22,44 [10,6-95,5] aydı. Başvuru Phe değerleri [582-2562] µmol/L arasında değişmekteydi. İlk tanı klinik fenotip açısından Hafif PKU %23,1'i (n=3), Klasik PKU %76,9'u (n=10) olarak sınıflandırılmıştı.

Yenidoğan tarama ile tanı alan vakaların tanı yaşları 0,1 ile 3,6 ay arasında değişmekte olup ortalama 0,97±0,82 aydır. Yenidoğan tarama ile tanı alan vakaların ilk tanı klinik fenotipleri incelendiğinde; Hafif HPA %21,2 (n=11), Hafif PKU %44,2 (n=23) ve Klasik PKU %34,6 (n=18) olarak saptanmıştır (Tablo 4).

Vakaların ilk tanı klinik fenotipine göre tanı yaşları incelendiğinde, Hafif HPA olan vakaların Ort ± SS 0,85 ± 1 ay (medyan 0,37 ay), Hafif PKU olan vakaların Ort ± SS 6,82 ± 19,84 ay (medyan 1,1 ay), Klasik PKU olan vakaların Ort ± SS 9,08 ± 13,11 ay (medyan 1,35 ay) olarak belirlenmiştir.

Tablo 4: Yenidoğan tarama ve geç tanı alan vakaların ilk tanı klinik fenotipleri ve başvuru fenilalanin (Phe), tirozin (Tyr) değerleri, Phe/Tyr oranı

			Yenidoğan tarama ile tanı alan vakalar [n=52 (%80)]	Geç tanı alan vakalar [n=13 (%20)]	Toplam vaka [n=65 (%100)]
Tanı yaşı (ay)					
[min-mak](medyan)			[0,1-3,6] (0,7)	[10,6-95,5] (27,6)	[0,1-95,5] (1,1)
Ort±SS			0,97±0,82	29,64±22,44	6,88±15,32
İlk tanıda	HHPA		11 (21,2)	0 (0)	11 (16,9)
klinik fenotip (n=65)	HPKU		23 (44,2)	3 (23,1)	26 (40,0)
n (%)	KPKU		18 (34,6)	10 (76,9)	28 (43,1)
Başvuru Phe değeri	HHPA		168-487 (303)	-	168-487 (303)
(µmol/L)			326±104	-	326±104
[min-mak] (medyan)	HPKU		300-1194 (872)	582-1104 (972)	300-1194 (874)
Ort±SS			809±321	886±271	818±312
	KPKU		360-1902 (1326)	1152-2562 (1784)	360-2562 (1449,5)
			1249±453	1822±436	1464±521
Başvuru Tyr değeri	HHPA		31-102 (50)	-	31-102 (50)
(µmol/L)			57±25	-	57±25
[min-mak](medyan)	HPKU		36-334 (104,5)	38-55 (46,5)	36-334 (90)
Ort±SS			126±94	47±12	110±89
	KPKU		48-139 (82)	63-63 (63)	48-139 (79)
			82±30	63±0	80±29
Başvuru Phe/Tyr değeri	HHPA		2,2-11,8 (6,9)	-	2,2-11,8 (6,9)
[min+mak](medyan)			6,7±3,9	-	6,7±3,9
Ort±SS	HPKU		1,4-28 (9,6)	17,5-29 (23,3)	1,4-29 (12)
			11,3±9,1	23,3±8,1	13,7±9,9
	KPKU		1,7-29 (14)	28,3-28,3 (28,3)	1,7-29 (16)
			14,7±8,9	28,3±0	16,2±9,5

4.3. Yenidoğanda 24 saatlik tetrahidrobiyopterin (BH4) yükleme testi yanıtları

Yenidoğanda tarama sonucu HPA saptanan ve tedavi başlanmadan önce tek doz BH4 yükleme (20 mg/kg) testi yapılan ve 24 saat kantitatif Phe izlemi (0, 4, 8. ve 24. saat kuru kan düzeyi) olan vaka sayısı 19 idi. ‘BH4 yükleme testi’ yapılan vakaların %47,3 (n=9)’ü *yanıtsız*, %36,8 (n=7)’i *yanıtlı*, %15,7 (n=3)’si ise *kısmi yanıtlı* olarak saptanmıştır (Tablo 5). Phe düzeyinde başlangıca göre 24. saatteki düşüş (%) Ort±SS 15,00±26,18 [4,3-75] ve medyan 25 olarak belirlenmiştir.

‘BH4 yanıtlı vakaların (n=7 Hafif PKU) Phe düzeyinde başlangıca göre 24. saatteki düşüş Ort±SS %59±14 idi. p.L48S mutasyonunu homozigot taşıyan *yanıtlı* 3 Hafif PKU vakasında, 24. saatteki düşüş değerleri sırasıyla, %61, %66 ve %70, *kısmi yanıtlı* 1 Klasik PKU vakasında %25 idi. 1 Klasik PKU vakası ise *yanıtsız* olarak belirlendi. Bileşik heterozigot mutasyonu olan *yanıtlı* 4 Hafif PKU vakasının 24. saatteki düşüş değeri ise sırasıyla, alel 2’de p.E390G mutasyonu olan vakanın %75, p.E178G mutasyonu olan vakanın %64, IVS10-11G>A mutasyonu olan iki vakanın ise %44 ve 36 idi.

Tablo 5: Yenidoğanda 24 saatlik tetrahidrobiyopterin (BH4) yükleme testi yapılan vakaların ilk tanı klinik fenotipi ve BH4 yanıtlılık verileri

		İlk tanı klinik fenotipi			
		HHPA	HPKU	KPKU	Toplam
		(n=2)	(n=10)	(n=7)	(n=19)
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
BH4 yükleme testi	Yanıtlı	2 (100)	5 (50)	0 (0)	7 (36,8)
	Yanıtsız	0	4 (40)	5 (71,4)	9 (47,3)
n (%)	Kısmi yanıtlı	0	1 (10)	2 (28,6)	3 (15,7)

4.4. İzlemde klinik fenotipte değişim

PKU hastalarının klinik fenotipleri izlendiğinde; ilk tanıda Hafif HPA olan ve tedavi uygulanmayan 11 vakanın (*araştırma grubunun ilk tanıda %16,9’u*), 8’i Hafif PKU’ya değişmiş ve bu hastalara tedavi başlanmıştır. Son tanıda yalnız 3 vaka Hafif HPA (*araştırma grubunun son tanıda %4,6’sı*) olarak kalmıştır.

İlk tanıda araştırma grubunun %40’ını oluşturan Hafif PKU (n=26) ve %43,1’in oluşturan Klasik PKU (n=28) vakaları ise zaman içinde klinik fenotipte değişikliğe

uğramamıştır. Klinik fenotipte değişim sonucu, Hafif PKU vakalarının araştırma grubundaki oranı son tanıda %52,3'e yükselmiştir (Tablo 6).

Tablo 6: İzlemde klinik fenotipte değişim

		İlk tanı			Toplam	P*
		HHPA	HPKU	KPKU		
		n (%)	n (%)	n (%)		
Son tanı	HHPA	3 (4,6)	0 (0)	0 (0)	3 (4,6)	0,005
	HPKU	8 (12,3)	26 (40,0)	0 (0)	34 (52,3)	
	KPKU	0 (0)	0 (0)	28 (43,1)	28 (43,1)	
Toplam		11 (16,9)	26 (40,0)	28 (43,1)	65 (100)	

*'Related-Samples Marginal Homogeneity Test'

Klinik fenotipi değişen vakaların, genotipleri ile birlikte ayrıntılı incelemesi Tablo 25'te verilmiştir.

4.5. Mutasyonların değerlendirilmesi

Alel 2 mutasyonuna ilişkin değerlendirmeler. Çalışmaya alınan p.L48S mutasyonu olan HPA vakaları (n=65)nda toplam 130 alelin 77'sinde (%59,2) p.L48S mutasyonu bulunmaktaydı. Vakalarda 19 farklı alel mevcuttu ve Klasik PKU olan bir vakanın ikinci alelinde mutasyon belirlenememişti. 129 alelde mutasyonlar değerlendirildiğinde; vakaların %18,5'i (n=12) p.L48S mutasyonunu homozigot taşıırken, %81,5'inde (n=53) ise bileşik heterozigot mutasyon saptanmıştır (Tablo 7).

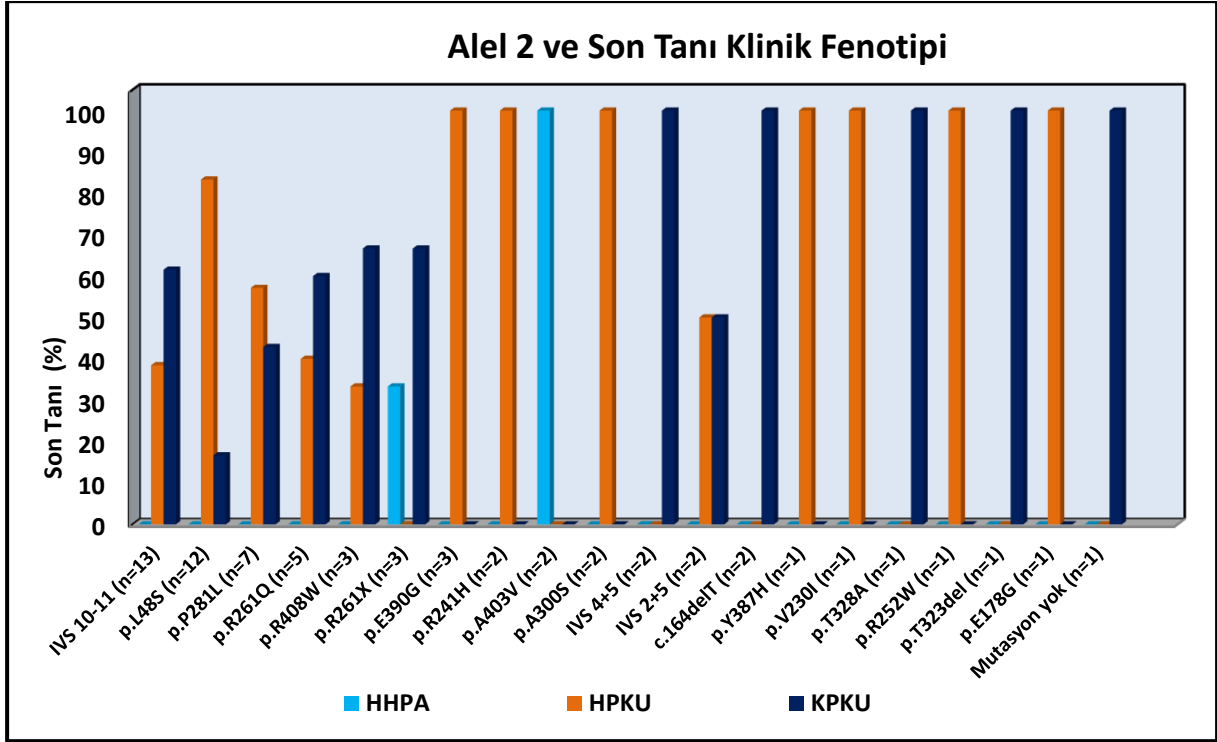
p.L48S homozigotluğu. Çalışmaya alınan vakaların (n=65) %18,5 (n=12)'inde, 54 ailenin ise %18,5 (n=10)'inde belirlenmiştir.

Bileşik heterozigotluk. Alellerinden biri p.L48S olan bileşik heterozigot vakaların (n=53) ikinci alellerinde sırasıyla en sık IVS10-11G>A (%20; n=13), p.P281L (%10,8; n=7) ve p.R261Q (%7,7; n=5) mutasyonları saptanmıştır.

Tablo 7: Alel 1’de p.L48S mutasyonu gösteren vakaların alel 2 mutasyonu, hasta sayısı, aile sayısı ve son tanı klinik fenotip dağılımları

Alel 2	Hasta sayısı n=65 n (%)	Aile sayısı n=54 n (%)	Klinik fenotip		
			HHPA n=3 n (%)	HPKU n=34 n (%)	KPKU n=28 n (%)
p.L48S	12 (18,5)	10 (18,5)	0 (0)	10 (29,4)	2 (7,1)
IVS10-11G>A	13 (20,0)	10 (18,5)	0 (0)	5 (14,7)	8 (28,6)
p.P281L	7 (10,8)	6 (11,1)	0 (0)	4 (11,8)	3 (10,7)
p.R261Q	5 (7,7)	4 (7,4)	0 (0)	2 (5,9)	3 (10,7)
p.R408W	3 (4,6)	3 (5,5)	0 (0)	1 (2,9)	2 (7,1)
p.R261*	3 (4,6)	3 (5,5)	1 (33,3)	0 (0)	2 (7,1)
p.E390G	3 (4,6)	3 (5,5)	0 (0)	3 (8,8)	0 (0)
p.R241H	2 (3,1)	1 (1,8)	0 (0)	2 (5,9)	0 (0)
p.A403V	2 (3,1)	2 (3,7)	2 (66,7)	0 (0)	0 (0)
p.A300S	2 (3,1)	2 (3,7)	0 (0)	2 (5,9)	0 (0)
IVS4+5G>T	2 (3,1)	2 (3,7)	0 (0)	0 (0)	2 (7,1)
IVS2+5G>C	2 (3,1)	2 (3,7)	0 (0)	1 (2,9)	1 (3,6)
c.164delT	2 (3,1)	1 (1,8)	0 (0)	0 (0)	2 (7,1)
p.Y387H	1 (1,5)	1 (1,8)	0 (0)	1 (2,9)	0 (0)
p.V230I	1 (1,5)	1 (1,8)	0 (0)	1 (2,9)	0 (0)
p.T328A	1 (1,5)	1 (1,8)	0 (0)	0 (0)	1 (3,6)
p.R252W	1 (1,5)	1 (1,8)	0 (0)	1 (2,9)	0 (0)
p.T323del	1 (1,5)	1 (1,8)	0 (0)	0 (0)	1 (3,6)
p.E178G	1 (1,5)	1 (1,8)	0 (0)	1 (2,9)	0 (0)
Mutasyon belirlenemeyen	1 (1,5)	1 (1,8)	0 (0)	0 (0)	1 (3,6)

Alel 1’de p.L48S gösteren vakaların alel 2 mutasyonuna göre hasta sayısı, aile sayısı ve klinik fenotip dağılımları Tablo 7’de ayrıntılı olarak verilmiştir. Vakaların alel 2 mutasyonuna göre son tanı dağılımları Şekil 3’te verilmiştir.



Şekil 3: Alel 2 mutasyonuna göre son tanı dağılımları

Zigoziteye göre son tanı değerlendirmesi. Homozigot veya heterozigot olma durumuna göre son tanı (klinik fenotip) istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermektedir ($p=0,047$). Homozigot vakalarda Hafif PKU oranı heterozigot vakalardan yüksek bulunmuştur. Heterozigot vakalarda Klasik PKU oranı homozigotlardan yüksek bulunmuştur (Tablo 8).

Tablo 8: Zigoziteye göre son tanı klinik fenotipinin değerlendirilmesi

		Zigozite		^a p
		Homozigot n (%)	Heterozigot n(%)	
Son tanı	HHPA	0 (0)	3 (5,7)	0,047*
	HPKU	10 (83,3)	24 (45,3)	
	KPKU	2 (16,7)	26 (49,1)	

^aFisher Freeman Halton Test

İzlemde klinik fenotipi değişime uğrayan vakalar ile çalışma grubunda aynı genotipe sahip vakaların ilk tanı ve değişime uğradığı son tanı dağılımları Tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo 9: İzlemde klinik fenotipi değişime uğrayan vakalar ile çalışma grubunda bulunan aynı genotipe sahip vakaların ilk tanı/son tanı dağılımları

Alel 2	İlk Tanı			Son tanı		
	HHPA	HPKU	KPKU	HHPA	HPKU	KPKU
	(n=8)	(n=12)	(n=10)	(n=0)	(n=20)	(n=10)
p.L48S	3	7	2	0	10	2
IVS10-11G>A	1	4	8	0	5	8
p.E390G	2	1	0	0	3	0
p.R241H	2	0	0	0	2	0

Alel 2 mutasyonuna göre BH4 yükleme testi yanıtı. Homozigot p.L48S mutasyonuna sahip BH4 yükleme testi yapılan 5 vakanın 1'inden yanıt alınmamış, 3'ünden yanıt alınmış, 1'inden kısmi yanıt alınmıştır. IVS10-11G>A mutasyonuna sahip bileşik heterozigot 5 vakanın 1'inden yanıt alınmamış, 2'sinden yanıt alınmış, 2'sinden kısmi yanıt alınmıştır (Tablo 10).

Tablo 10: Genotipik özelliğe ve son tanı klinik fenotipine göre tetrahidrobiopterin (BH4) yükleme testi yanıtının dağılımı (n=19)

BH4 yükleme testi yanıtı									
Alel 2	Var (n=7)			Yok (n=9)			Kısmi (n=3)		
	Klinik Fenotip								
	HHPA	HPKU	KPKU	HHPA	HPKU	KPKU	HHPA	HPKU	KPKU
p.L48S	0	3	0	0	0	1	0	0	1
IVS10-11G>A	0	2	0	0	0	1	0	1	1
p.P281L	0	0	0	0	1	1	0	0	0
p.R261Q	0	0	0	0	1	0	0	0	0
p.R408W	0	0	0	0	1	0	0	0	0
p.E390G	0	1	0	0	0	0	0	0	0
IVS4+5G>T	0	0	0	0	0	2	0	0	0
p.Y387H	0	0	0	0	1	0	0	0	0
p.E178G	0	1	0	0	0	0	0	0	0

Tablo 11: Zigoziteye göre yenidoğanda 24 saatlik tetrahidrobiopterin (BH4) yükleme testine yanıtın dağılımı

		Zigozite	
		Homozigot	Heterozigot
		n (%)	n(%)
BH4 yükleme testi (n=19)	Yanıtlı	3 (60)	4 (28,5)
	Yanıtsız	1 (20)	8 (57,1)
	Kısmi yanıtlı	1 (20)	2 (14,2)

4.6. Ailede indeks vaka dışında benzer durum

Çalışmaya katılan 54 (%100) ailenin, 45 (%83,3)'inde 1 hiperfenilalaninemi belirlenmiştir; 9 (%16,6) ailede ise indeks vaka dışında hiperfenilalaninemi vakaları olduğu görülmüştür.

Ailelerdeki genotipi henüz belirlenmemiş, çalışmaya dahil olmayan HPA vakaları sorgulandığında; indeks vaka dışında 7 ailede indeks vaka dışında 1 hiperfenilalaninemi, 2 ailede ise indeks vaka dışında 2 hiperfenilalaninemi vakası olduğu görülmüştür.

Aynı aileden olan vakaların klinik fenotipi, kardeş/kuzen olma durumu ve alel 2 verileri Tablo 5'te ayrıntılı olarak verilmiştir. Aile X'da bulunan ve Klasik PKU tanısıyla izlenmekte olan 3 kardeşten 2'sinin alel 2'de bulunan mutasyonu p.R261Q iken, diğer kardeşin mutasyonu p.R261* olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde Aile XIX'da bulunan 3 kardeşten 2'si Hafif PKU tanısıyla izlenmektedir ve alel 2 mutasyonları p.L48S olarak belirlenmiştir; diğer kardeş ise Hafif HPA tanısıyla izlenmektedir ve alel 2 mutasyonu p.A403V olarak belirlenmiştir. Aile XV ve XLI'da bulunan kardeşlerin genotipi (p.L48S/ IVS10-11G>A) aynı, klinik fenotipi farklıdır (Tablo 12).

Tablo 12: Ailelerdeki vakaların son tanı klinik fenotipi, kardeş ya da kuzen** olma durumu ve alel 2 verileri

Vaka numarası (n=20)	Alel 2 (vaka sırasına göre)	Klinik fenotip (vaka sırasına göre)	Aile numarası (n=9)
V21, V62	p.L48S, p.L48S	HPKU, HPKU	XVIII
V22, V43 , V44	p.L48S, p.L48S, p.A403V	HPKU, HPKU, HHPA	XIX
V16 , V17	p.R241H, p.R241H	HPKU, HPKU	XIV
V34, V42	p.P281L, p.P281L	HPKU, HPKU	XXX
V18, V52	IVS10-11G>A, IVS10-11G>A	KPKU, HPKU	XV
V48, V58	IVS10-11G>A, IVS10-11G>A	KPKU, HPKU	XLI
V14, V15	IVS10-11G>A, IVS10-11G>A	KPKU, KPKU	XIII
V10, V11, V28	p.R261Q, p.R261Q, p.R261*	KPKU, KPKU, KPKU	X
V57, V64**	c.164delT, c.164delT	KPKU, KPKU	XLIX

V16, V17, V43, V52 ve V62 ilk tanısı Hafif HPA iken izlemde Hafif PKU olarak değişmiştir.

**V57 ve V64 birinci dereceden kuzendir.

4.7. Yaşam boyu Phe toleransı

Anne sütü ve ek gıda ile beslenme özellikleri. Sadece anne sütü alma süreleri 0,02 ile 6 ay arasında değişmekte olup, ortalama $1,89 \pm 1,92$ ay; formül süt başlama zamanları 0,02 ile 7 ay arasında değişmekte olup, ortalama $1,63 \pm 1,95$ aydır.

Anne sütü kesilme zamanları 0,12 ile 36 ay arasında değişmekte olup, ortalama $15,19 \pm 9,15$ ay; tamamlayıcı besine başlama zamanları 1,3 ile 7,9 ay arasında değişmekte olup, ortalama $5,18 \pm 1,26$ aydır (Tablo 13).

Bir yaş öncesinde serbest anne sütü alımı nedeniyle bu vakaların Phe toleransları değerlendirilmeye dahil edilmemiştir. 1 yaş sonrası, anne sütü almayan vakaların Phe toleransları dahil edilmiştir.

Tablo 13: Anne sütü ve ek gıda ile beslenme özelliklerinin dağılımı

Sadece anne sütü alma süresi (ay)	[min-mak] (medyan)	[0,02-6] (1,1)
	Ort±SS	1,89±1,92
Formül süte başlama zamanı (ay) (n=6)	[min-mak] (medyan)	[0,02-7] (0,7)
	Ort±SS	1,63±1,95
Anne sütü kesilme zamanı (ay)	[min-mak] (medyan)	[0,12-36] (12,5)
	Ort±SS	15,19±9,15
Tamamlayıcı besine başlama zamanı (ay)	[min-mak] (medyan)	[1,3-7,9] (6)
	Ort±SS	5,18±1,26

Yaşam boyu Phe toleransı yaş dağılımı. Yaş dağılımının homozigot/heterozigotlarda istatistiksel olarak anlamlı fark göstermemesi, çalışma içinde karşılaştırma yapılan vakaların yaş dağılımının homojen olduğunu göstermektedir (Tablo 14).

Tablo 14: Zigoziteye göre ortalama yaş değerlendirmesi

Yaş	n	Toplam	Zigozite		^c p
			Homozigot	Heterozigot	
1-2 yaş grubu	39	[1-1,9]	[1,2-1,7]	[1-1,9]	0,798
ortalama yaş		(1,5)	(1,5)	(1,5)	
		Ort±SS	1,45±0,20	1,43±0,17	
2-4 yaş ortalama yaş	47	[2-8,7]	[2-3,3]	[2,2-8,7]	0,815
		(2,8)	(2,9)	(2,8)	
		Ort±SS	2,95±0,91	2,73±0,48	
4-7 yaş ortalama yaş	43	[4-6,8]	[4-6,5]	[4,3-6,8]	0,391
		(5,3)	(5)	(5,3)	
		Ort±SS	5,26±0,64	5,11±0,82	
≥7 yaş ortalama yaş	43	[7,3-23,1]	[8,8-18]	[7,3-23,1]	0,469
		(11,6)	(10,2)	(11,7)	
		Ort±SS	11,81±3,09	11,36±3,34	

^cMann Whitney U Test

Zigoziteye göre Phe toleransı değerlendirilmesi. İki yaş ve altı dönemde zigoziteye göre ortalama Phe toleransı (mg/gün) ölçümleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir (p>0,05).

2-4 yaşta, homozigot vakaların ortalama Phe toleransı (mg/gün) ölçümleri heterozigot vakalardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p=0,001$).

4-7 yaşta, homozigot vakaların ortalama Phe toleransı (mg/gün) ölçümleri heterozigot vakalardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p=0,001$).

7 ve üzeri yaşta, homozigot vakaların ortalama Phe toleransı (mg/gün) ölçümleri heterozigot vakalardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p=0,025$).

İki yaş ve altı dönemde, zigoziteye göre ortalama Phe toleransı (mg/kg/gün) ölçümleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

2-4 yaşta, homozigot vakaların ortalama Phe toleransı (mg/kg/gün) ölçümleri heterozigot vakalardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p=0,007$).

4-7 yaşta, homozigot vakaların ortalama Phe toleransı (mg/kg/gün) ölçümleri heterozigot vakalardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p=0,002$).

7 yaş ve üzeri dönemde, homozigot vakaların ortalama Phe toleransı (mg/kg/gün) ölçümleri heterozigot vakalardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p=0,001$) (Tablo 15).

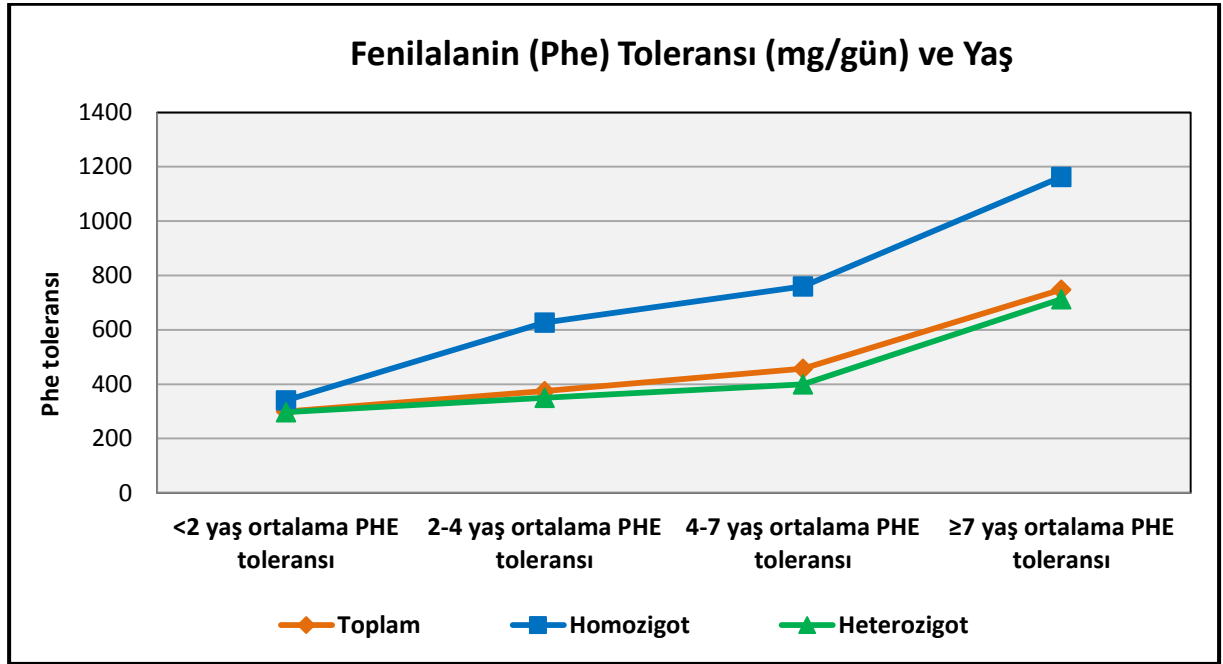
Tablo 15: Zigoziteye göre fenilalanin (Phe) toleransı değerlendirmesi

		Phe toleransı (mg/gün)					Phe toleransı (mg/kg/gün)				
		Zigozite					Zigozite				
		N	Toplam (n=65)	Homozigot (n=12)	Heterozigot (n=53)	<i>p</i>	N	Toplam (n=65)	Homozigot (n=12)	Heterozigot (n=53)	<i>p</i>
1-2 yaş	[min-mak]	34	[195-1787]	[240-1199,5]	[195-1787]	0,296	34	[16,8-156]	[19,8-123]	[16,8-156]	0,338
ortalama	(medyan)		(299,3)	(340,5)	(297)			(27,3)	(32,5)	(27)	
Phe toleransı	Ort±SS		423,01±354,12	520,57±349,04	397,72±357,52			37,61±33,43	46,90±36,64	35,21±32,85	
2-4 yaş	[min-mak]	47	[240-2613]	[353-1548,5]	[240-2613]	0,001**	47	[16,9-188]	[22,6-127,5]	[16,9-188]	0,007**
ortalama	(medyan)		(375)	(626,5)	(350)			(25,8)	(44)	(25)	
Phe toleransı	Ort±SS		498,23±410,23	761,85±430,71	426,99±379,65			34,91±30,48	54,56±34,91	29,60±27,31	
4-7 yaş	[min-mak]	43	[209-1577]	[424-1468,5]	[209-1577]	0,001**	37	[12,9-87,8]	[23,9-87,8]	[12,9-87,6]	0,002**
ortalama	(medyan)		(457,7)	(760)	(400)			(23,9)	(46)	(21,8)	
Phe toleransı	Ort±SS		531,83±293,77	827,98±347,35	464,13±237,52			28,43±17,88	47,35±22,80	24,01±13,51	
≥7 yaş	[min-mak]	38	[370-2291,7]	[584,3-1880]	[370-2291,7]	0,025*	43	[11,1-45,7]	[19,3-45,7]	[11,1-42,8]	0,001**
ortalama	(medyan)		(748)	(1163)	(712,6)			(18)	(26,1)	(17,7)	
Phe toleransı	Ort±SS		877,97±450,20	1202,51±423,58	817,12±434,46			21,34±8,78	31,19±10,27	19,42±7,15	

^CMann Whitney U' Testi ***p*<0,01

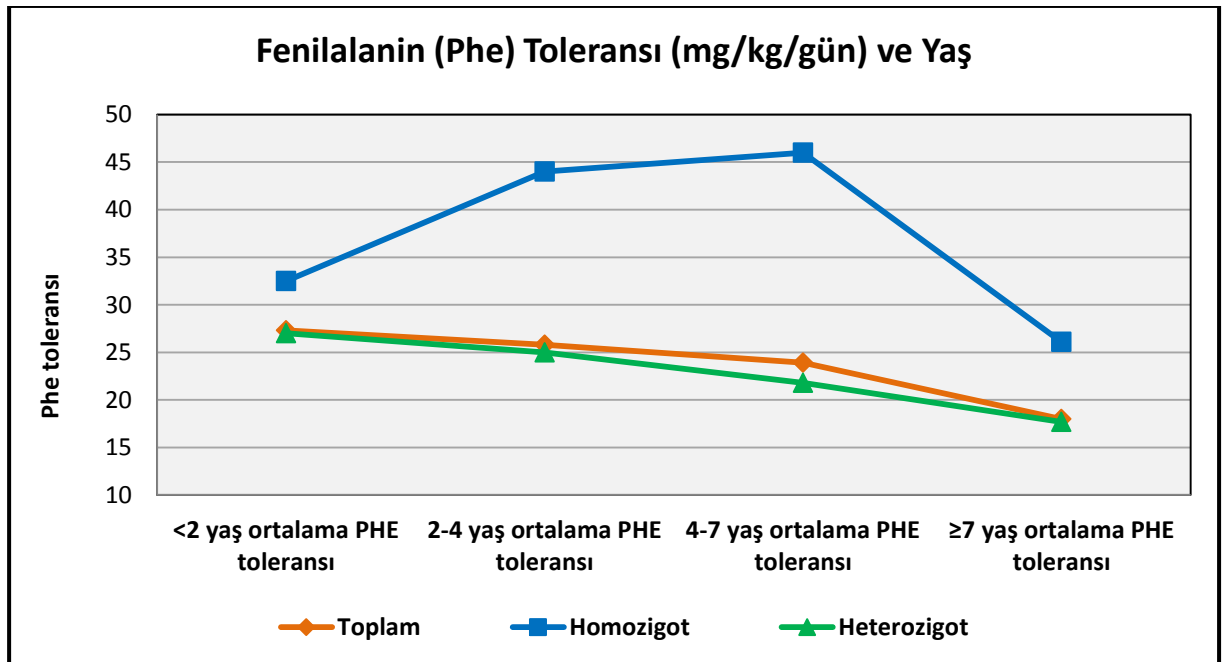
([min-mak]: minimum-maksimum, Ort±SS: Ortalama±Standart Sapma)

Zigoziteye göre Phe toleransı (mg/gün) eğrisi Şekil 4'te verilmiştir. Homozigot vakaların Phe toleransının heterozigot vakalara göre daha yüksek seyrettiği görülmektedir.



Şekil 4: Zigoziteye göre yaşam boyu toplam fenilalanin (Phe) toleransı (mg/gün) eğrisi

Zigoziteye göre Phe toleransı (mg/kg/gün) eğrisi Şekil 5'te verilmiştir. Homozigot vakaların Phe toleransının heterozigot vakalara göre daha yüksek seyrettiği ve 7 yaştan sonra her iki grubun da Phe toleransı (mg/kg/gün)nün azaldığı görülmektedir.



Şekil 5: Zigoziteye göre yaşam boyu Fenilalanin (Phe) toleransı (mg/kg/gün) eğrisi

Klinik fenotipe göre Phe toleransı değerlendirmesi. İki yaşı ve altı dönemde, 2-4 yaşı ve 4-7 yaşı klinik fenotipe göre ortalama Phe toleransı ölçümleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

7 ve üzeri yaşı, Hafif PKU klinik fenotipindeki vakaların ortalama Phe toleransı ölçümleri Klasik PKU klinik fenotipindeki vakalardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p=0,026$).

İki yaşı ve altı dönemde, 2-4 yaşı ve 4-7 yaşı klinik fenotipe göre ortalama Phe toleransı (mg/kg/gün) ölçümleri istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

7 yaşı ve üzeri dönemde, Hafif PKU klinik fenotipindeki vakaların ortalama Phe toleransı (mg/kg/gün) ölçümleri Klasik PKU klinik fenotipindeki vakalardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p=0,047$) (Tablo 16).

Tablo 16: Son tanı klinik fenotipine göre fenilalanin (Phe) toleransı değerlendirmesi

			Phe toleransı (mg/gün)					Phe toleransı (mg/kg/gün)				
			n	Klinik fenotip			<i>p</i>	N	Klinik fenotip			<i>p</i>
				HHPA	HPKU	KPKU			HHPA	HPKU	KPKU	
				(n=3)	(n=34)	(n=28)			(n=3)	(n=34)	(n=28)	
1-2 yaş	[min-mak]		34	[1787-1787]	[240-1447]	[195-527,5]	0,080	34	[156-156]	[19,8-140]	[16,8-44,4]	0,729
ortalama	(medyan)			(1787)	(310)	(290)			(156)	(26,3)	(27,6)	
Phe toleransı	Ort±SS			1787,00±0	486,11±378,67	304,74±71,57			156,00±0	43,24±38,91	27,24±6,18	
2-4 yaş	[min-mak]		47	-	[255-2613]	[240-600]	0,065	47	-	[17,5-188]	[16,9-38,9]	0,406
ortalama	(medyan)				(389,8)	(350)				(26)	(25)	
Phe toleransı	Ort±SS			-	640,39±564,60	373,14±93,80			-	44,90±42,47	26,11±5,47	
4-7 yaş	[min-mak]		37	-	[333,3-1577]	[209-697]	0,072	37	-	[14,6-87,8]	[12,9-34,6]	0,168
ortalama	(medyan)				(498,1)	(444,5)				(25,4)	(23,7)	
Phe toleransı	Ort±SS			-	665,83±388,22	435,34±145,29			-	35,96±24,49	22,69±6,75	
≥7 yaş	[min-mak]		43	-	[370-2291,7]	[420-1442]	0,026*	43	-	[11,1-45,7]	[13,5-33,1]	0,047*
ortalama	(medyan)				(1057,3)	(701,9)				(24,3)	(17,6)	
Phe toleransı	Ort±SS			-	1130,54±581,39	713,26±232,19			-	25,79±11,49	18,13±3,96	

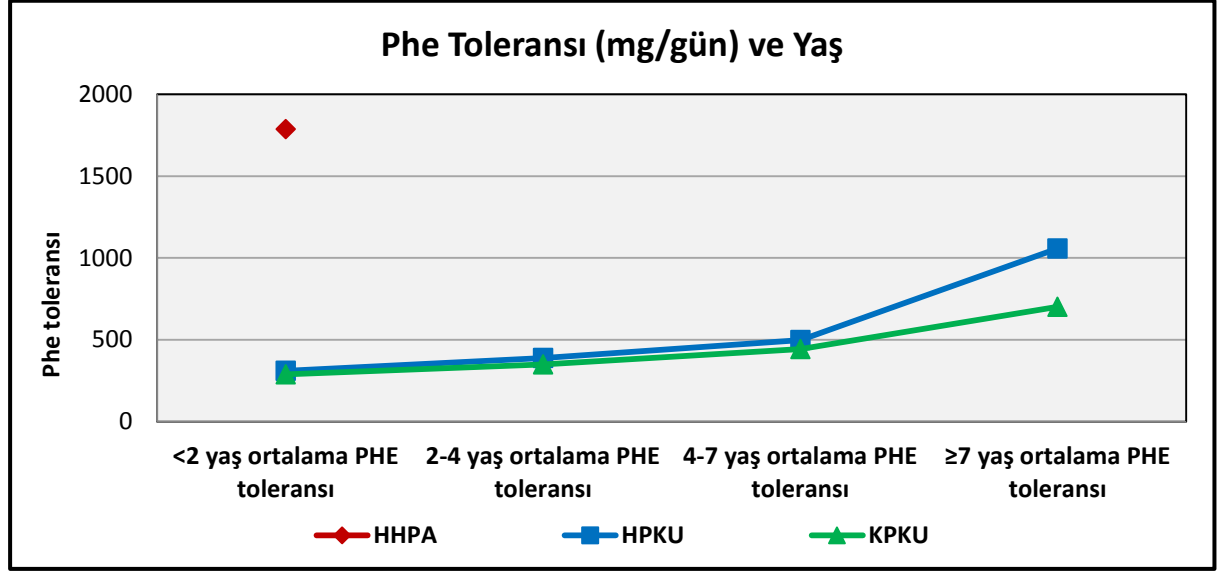
C' Mann Whitney U' Testi

*p<0,05

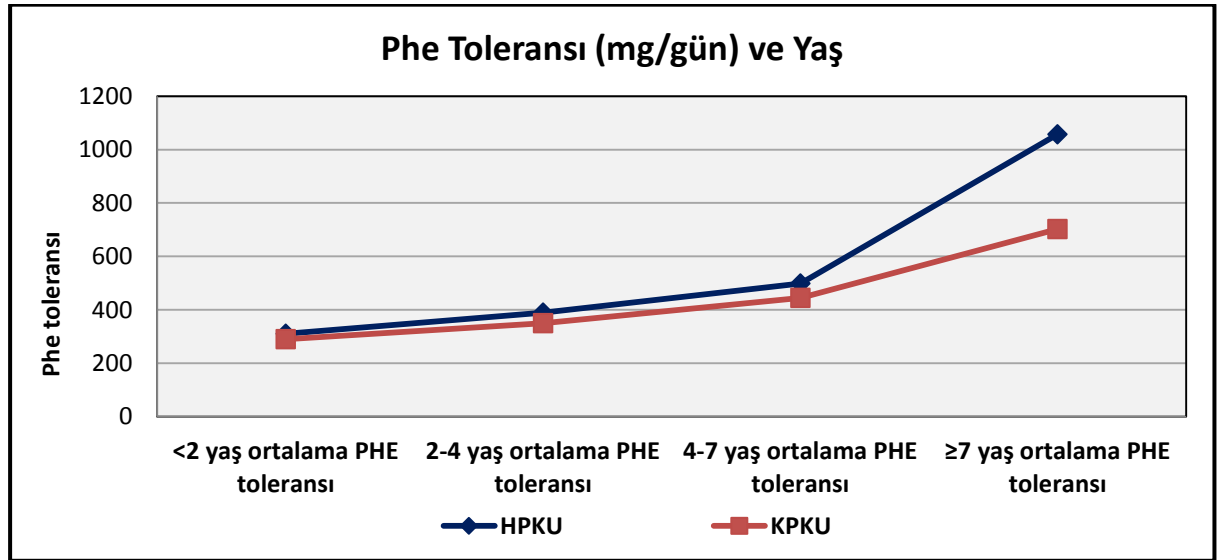
([min-mak]: minimum-maksimum, Ort±SS: Ortalama±Standart Sapma)

Hafif HPA grubunda yer alıp fenilalanin ölçümüne ulaşılan vaka sayısı yetersiz olduğundan analize dahil edilememiştir.

Klinik fenotipe göre Phe toleransı (mg/gün) eğrisi Şekil 6 ve Şekil 7’de verilmiştir. Hafif PKU ve Klasik PKU klinik fenotipindeki vakaların Phe toleransının 7 yaşına kadar benzer düzeyde seyrettiği; 7 yaşından sonra Hafif PKU klinik fenotipindeki vakaların Phe toleransının Kalasik PKU klinik fenotipindeki vakalardan yüksek seyrettiği görülmektedir.

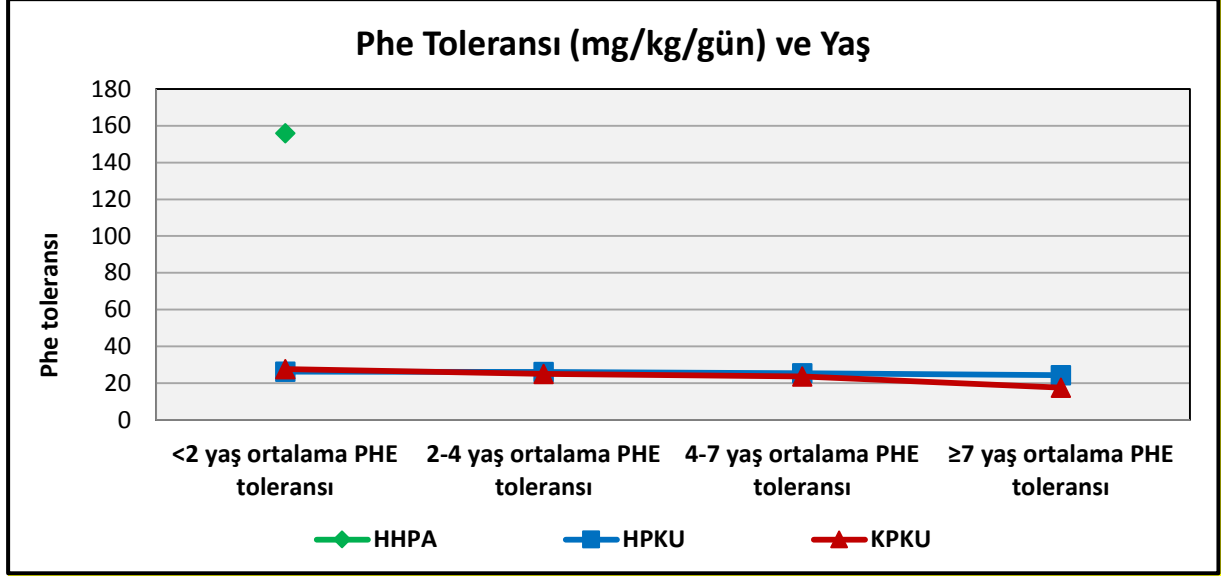


Şekil 6: Klinik fenotipe göre yaşam boyu fenilalanin (Phe) toleransı eğrisi (mg/gün)

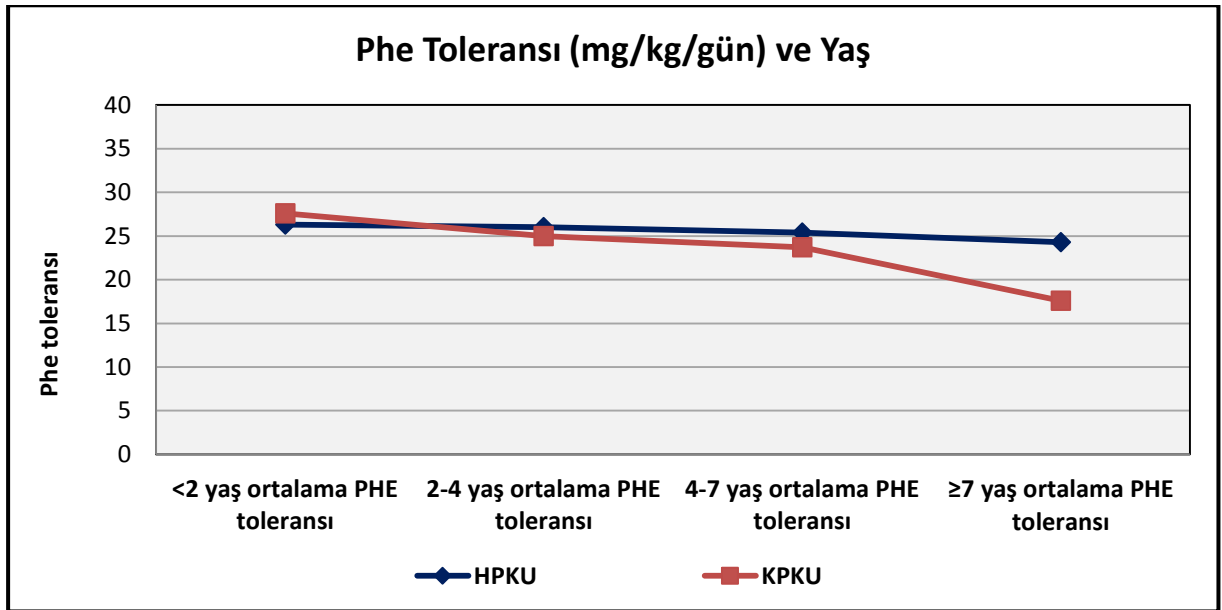


Şekil 7: Klinik fenotipe göre yaşam boyu fenilalanin (Phe) toleransı eğrisi (mg/gün)

Klinik fenotipe göre Phe toleransı (mg/kg/gün) eğrisi Şekil 8 ve Şekil 9’da verilmiştir. Hafif PKU ve Klasik PKU klinik fenotipindeki vakaların Phe toleransının 7 yaşına kadar benzer düzeyde seyrettiği; 7 yaşından sonra Klasik PKU klinik fenotipindeki vakaların Phe toleransının azaldığı görülmektedir.



Şekil 8: Klinik fenotipe göre yaşam boyu fenilalanin (Phe) toleransı eğrisi (mg/kg/gün)



Şekil 9: Klinik fenotipe göre yaşam boyu fenilalanin (Phe) toleransı eğrisi (mg/kg/gün)

4.8. Çalışma döneminde son başvuru özellikleri

Cinsiyete göre değerlendirme. Son tanılar incelendiğinde; %4,6 (n=3) Hafif HPA, %52,3 (n=34) Hafif PKU ve %43,1 (n=28) Klasik PKU klinik fenotipi saptanmıştır. İzlem sırasında klinik fenotipi değişen vakaların incelemesi Tablo 25’te verilmiştir.

Cinsiyete göre Phe, Tyr ve Phe/Tyr değerleri Tablo 17’de verilmiştir. Kızların Phe ve Phe/Tyr değerleri erkeklerden düşük, Tyr değerleri ise erkeklerden yüksektir .

Tablo 17: Son başvuru vücut tartısı, boy uzunluğu, persentil, Phe, Tyr, Phe/Tyr değerlerinin son tanı klinik fenotipinin cinsiyete göre dağılımı

		Kız	Erkek
Vücut tartısı (kg) (n=61)	<i>[min-mak]</i> (medyan) <i>Ort±SS</i>	[14-96] (50) 53,71±17,72	[12-94] (54) 53,96±23,89
Tartı persentili, n (%)	<3 3-10 10-25 25-50 50-75 75-90 90-97 97<	1 (3,7) 2 (7,4) 6 (22,2) 6 (22,2) 2 (7,4) 1 (3,7) 1 (3,7) 8 (29,6)	- 2 (5,8) 5 (14,7) 8 (23,5) 7 (20,5) 2 (5,8) 3 (8,8) 7 (20,5)
Boy uzunluğu (cm) (n=61)	<i>[min-mak]</i> (medyan) <i>Ort±SS</i>	[84-173] (156) 153,22±18,32	[89-195] (160,5) 155,94±25,36
Boy persentili, n (%)	<3 3-10 10-25 25-50 50-75 75-90 90-97 97<	1 (3,7) 1 (3,7) 4 (14,8) 7 (25,9) 5 (18,5) 3 (11,1) 5 (18,5) 1 (3,7)	1 (2,9) 1 (2,9) 2 (5,8) 10 (29,4) 7 (20,5) 9 (26,4) 2 (5,8) 2 (5,8)
Phe (mmol/L) (n=65)	<i>[min-mak]</i> (medyan) <i>Ort±SS</i>	[114-1144] (317) 461,23±310,35	[123-1453] (466) 508,40±267,35
Tyr (n=59)	<i>[min-mak]</i> (medyan) <i>Ort±SS</i>	[33-127] (61) 66,77±23,70	[27-159] (52) 57,33±26,75
Phe/Tyr (n=59)	<i>[min-mak]</i> (medyan) <i>Ort±SS</i>	[2,3-17] (5,9) 7,14±4,13	[1,3-23,3] (9,4) 9,66±4,86
Son tanı, n (%) (n=65)	HHPA HPKU KPKU	3 (10) 16 (53,3) 11 (36,7)	0 (0) 18 (51,4) 17 (48,6)

(*[min-mak]*: minimum-maksimum, *Ort±SS*: Ortalama±Standart Sapma)

Klinik fenotipe göre değerlendirme. Vakaların klinik fenotiplerine göre son başvurudaki vücut tartısı ölçümleri, tartı persentilleri, boy uzunluğu ölçümleri, boy persentilleri, Phe, Tyr ve Phe/Tyr değerleri Tablo 11’de verilmiştir. Klinik fenotip ile tartı persentil değerleri incelendiğinde Klasik PKU tanısıyla izlenen 5 hastanın 10. persentil altında olduğu; boy persentili değerlendirildiğinde Klasik PKU tanısıyla izlenen 2 vaka 3. persentil altında, Hafif PKU tanısıyla izlenen 2 vaka ise 3-10 persentil aralığında saptanmıştır (Tablo 18).

Tablo 18: Son başvuru vücut tartısı, boy uzunluğu, tartı ve boy persentili, Phe, Tyr, Phe/Tyr değerlerinin son tanı klinik fenotipine göre dağılımı

		Klinik fenotip		
		HHPA	HPKU	KPKU
Vücut tartısı (kg) (n=61)	[min-mak] (medyan) Ort±SS	[38,7-38,7] (38,7) 38,70±0	[12-96] (49) 51,75±23,56	[25-94] (54) 56,98±18,17
Tartı persentili, n (%)	<3 3-10 10-25 25-50 50-75 75-90 90-97 97<	0 0 0 0 1 (100) 0 0 0	0 0 6 (18,7) 8 (25) 2 (6,2) 3 (9,3) 3 (9,3) 10 (31,2)	1 (3,5) 4 (14,2) 5 (17,8) 6 (21,4) 6 (21,4) 0 1 (3,5) 5 (17,8)
Boy uzunluğu (cm) (n=61)	[min-mak] (medyan) Ort±SS	[108-108] (108) 108,00±0	[84-186] (152) 149,55±25,58	[132-195] (162) 162,81±12,85
Boy persentili, n (%)	<3 3-10 10-25 25-50 50-75 75-90 90-97 97<	0 0 0 1 (100) 0 0 0 0	0 2 (6,2) 3 (9,3) 9 (28,1) 4 (12,5) 9 (28,1) 4 (12,5) 1 (3,1)	2 (7,1) 0 3 (10,7) 7 (25) 8 (28,5) 3 (10,7) 3 (10,7) 2 (7,1)
Phe (mmol/L) (n=65)	[min-mak] (medyan) Ort±SS	[180-231] (183) 198,00±28,62	[123-1112] (379,5) 455,26±248,33	[114-1453] (539) 555,64±322,37
Tyr (n=59)	[min-mak] (medyan) Ort±SS	[55-74] (64,5) 64,50±13,44	[27-159] (54,5) 62,37±26,26	[30-127] (56) 60,30±26,30
Phe/Tyr (n=59)	[min-mak] (medyan) Ort±SS	[3,1-3,3] (3,2) 3,22±0,15	[1,3-23,3] (6,9) 8,23±4,98	[2,4-17,9] (9) 9,30±4,29

([min-mak]: minimum-maksimum, Ort±SS: Ortalama±Standart sapma)

4.9. Son değerlendirilen üç günlük besin tüketim kaydı verilerine ilişkin değerlendirmeler

Üç günlük ‘Besin Tüketim Kaydı’ (BTK) veren hastalar (n=31)ın Phe toleransları değerlendirildiğinde klinik fenotip ile toleransları uyumsuz olan hastalar (*Tolerans-Fenotip Uyumsuz Grup*, n=13) ile uyumlu olan hastalar (*Tolerans-Fenotip Uyumlu Grup*, n=18) ayrı olarak incelenmiştir.

4.9.1. Tolerans-Fenotip Uyumlu Grup

Zigoziteye göre değerlendirme. ‘*Tolerans-Fenotip Uyumlu Grup*’ (homozigot (n=5) ve heterozigot (n=13) mutasyon gösteren)’taki vakaların yaş (yıl), vücut tartısı (kg) ve boy uzunluğu (cm) Ort±SS, [min-mak] ve (medyan) değerleri Tablo 19’da bildirilmiştir.

Vakalar değerlendirildiğinde homozigot vakaların yaş ve vücut ağırlığı heterozigot vakalardan düşük saptanırken (sırasıyla, p=0,027, p=0,026); homozigot ile heterozigot grup arasında boy uzunluğu açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (p>0,05).

Tablo 19: Üç günlük besin tüketim kaydı veren ‘*Tolerans-Fenotip Uyumlu Grup*’taki vakaların, zigoziteye göre yaş, vücut tartısı ve boy uzunluğu karşılaştırması

		Zigozite			^c p
		Tüm vakalar (n=18)	Homozigot vakalar (n=5)	Heterozigot vakalar (n=13)	
Yaş (yıl)	[min-mak]	[11-29,6]	[11,3-16,3]	[11-29,6]	0,027*
	(medyan)	(16,4)	(14)	(17,8)	
	Ort±SS	17,40±4,97	13,75±1,94	18,80±5,10	
Vücut tartısı (kg)	[min-mak]	[39,1-91,3]	[40-59]	[39,1-91,3]	0,026*
	(medyan)	(59)	(49,4)	(75)	
	Ort±SS	63,69±17,99	48,14±8,17	69,25±17,36	
Boy uzunluğu (cm)	[min-mak]	[138-195]	[138-182]	[145-195]	0,153
	(medyan)	(164)	(156)	(168,5)	
	Ort±SS	164,98±14	157,36±16,08	167,91±12,57	

^c ‘Mann Whitney U’ Testi

*p<0,05

Protein alımı. Üç günlük BTK verilerinin incelenmesinde total protein alımı 18,7 ile 80,6 gr/gün arasında değişmekte olup, ortalama 43,38±14,68 gr/gündür. Zigoziteye göre alınan toplam protein ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır (p>0,05). Homozigot vakaların %80,0’i (n=4) RDA’ya göre alması gerekenden düşük protein tüketmiştir.

Heterozigot vakaların %76,9'u (n=10) RDA'ya göre alması gerekenden düşük protein tüketmiştir.

Doğal protein alımı 11,8 ile 55,1 gr/gün arasında değişmekte olup, ortalama $27,70 \pm 12,32$ gr/gündür. Zigoziteye göre alınan doğal protein ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0,05$).

Phe içermeyen formuladan alınan protein 5,3 ile 61,2 gr/gün arasında değişmekte olup, ortalama $17,89 \pm 12,46$ gr/gündür. Zigoziteye göre Phe içermeyen formuladan alınan protein ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0,05$).

Phe toleransları, 318,7 ile 2376,1 mg/gün arasında değişmekte olup, ortalama $1137,46 \pm 560,90$ mg/gün'dür. Zigoziteye göre Phe toleransları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0,05$).

Phe toleransları kilo başına 7 ile 41,9 mg/gün arasında değişmekte olup, ortalama $19,21 \pm 10,74$ mg/gündür. Homozigot vakaların kilogram başına Phe toleransları heterozigot vakalardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p = 0,043$).

Son kantitatif Phe ölçümleri, 114 ile 882 $\mu\text{mol/L}$ arasında değişmekte olup, ortalama $454,17 \pm 214,72$ $\mu\text{mol/L}$ 'dir. Zigoziteye son Phe ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p > 0,05$) (Tablo 20).

Tablo 20: Üç günlük besin tüketim kaydına göre total protein (gr/gün), doğal protein (gr/gün), Phe (fenilalanin) toleransı (mg/gün, mg/kg/gün), Phe içermeyen formüladan alınan protein (gr/gün), enerji (kcal/gün), enerjinin yağ, karbonhidrat ve protein yüzdelerinin zigoziteye göre karşılaştırılması

			Zigozite		^c p
			Tüm vakalar (n=18)	Homozigot vakalar (n=5)	Heterozigot vakalar (n=13)
Total protein (gr/gün)	[min-mak] (medyan)	[18,7-80,6] (40)	[27,6-54,1] (41,3)	[18,7-80,6] (40)	0,805
	Ort±SS	43,38±14,68	41,49±9,61	44,11±16,51	
Doğal protein (gr/gün)	[min-mak] (medyan)	[11,8-55,1] (23)	[19,5-39,3] (34,1)	[11,8-55,1] (20,4)	0,183
	Ort±SS	27,70±12,32	32,48±7,62	25,86±13,51	
Phe toleransı (mg/gün)	[min-mak] (medyan)	[318,7-2376,1] (944,6)	[826,5-1699,4] (1442,8)	[318,7-2376,1] (883,5)	0,349
	Ort±SS	1137,46±560,90	1270,42±406,08	1086,32±616,87	
Phe toleransı (mg/kg/gün)	[min-mak] (medyan)	[7-41,9] (18,6)	[15,8-38,4] (24,4)	[7-41,9] (14,3)	0,04*
	Ort±SS	19,21±10,74	26,78±9,35	16,30±10,06	
Phe içermeyen formüladan protein alımı (gr/gün)	[min-mak] (medyan)	[5,3-61,2] (14,7)	[5,3-20] (9,9)	[10,8-61,2] (15,1)	0,078
	Ort±SS	17,89±12,46	11,26±6,38	20,10±13,39	
Enerji (kcal/gün)	[min-mak] (medyan)	[887,6-2293,8] (1507,5)	[1165,7-1694,7] (1408,3)	[887,6-2293,8] (1522,4)	0,588
	Ort±SS	1474,02±310,28	1422,64±206,20	1493,78±347,41	
Enerjinin yağ yüzdesi	[min-mak] (medyan)	[28,3-49,3] (38,7)	[30,3-49,3] (43,3)	[28,3-44] (38,3)	0,126
	Ort±SS	38,06±6,10	41,63±6,96	36,69±5,41	
Enerjinin karbonhidrat yüzdesi	[min-mak] (medyan)	[41,7-58] (47,8)	[41,7-55,3] (45)	[42,3-58] (50)	0,138
	Ort±SS	49,46±5,77	46,40±5,28	50,64±5,70	
Enerjinin protein yüzdesi	[min-mak] (medyan)	[6,7-20,3] (12,5)	[10-17,2] (13,5)	[6,7-20,3] (12,3)	0,621
	Ort±SS	12,95±3,40	13,47±2,65	12,74±3,73	
Son Phe (µmol/L)	[min-mak] (medyan)	[114-882] (454,5)	[114-882] (339)	[184-788] (460)	0,805
	Ort±SS	454,17±214,72	453,00±319,10	454,61±177,13	

^cMann Whitney U Test

*p<0,05

Son tanı klinik fenotipine göre değerlendirme. Yaş, vücut ağırlığı ve boy uzunluğu istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$) (Tablo 21).

Tablo 21: Üç günlük besin tüketim kaydı veren *Tolerans-Fenotip Uyumlu Grup*taki hastaların son tanı klinik fenotipine göre yaş, vücut tartısı ve boy uzunluğunun karşılaştırılması

		Klinik fenotip		^c p
		HPKU (n=8)	KPKU (n=10)	
Yaş (yıl)	[min-mak]	[11-22,4]	[13,1-29,6]	0,110
	(medyan)	(15,4)	(18,3)	
	Ort±SS	15,11±3,74	19,22±5,23	
Vücut tartısı (kg)	[min-mak]	[39,1-91,3]	[45,6-87,1]	0,744
	(medyan)	(59)	(58,2)	
	Ort±SS	63,07±21,99	64,26±14,72	
Boy uzunluğu (cm)	[min-mak]	[138-182]	[157-195]	0,477
	(medyan)	(161,8)	(164,8)	
	Ort±SS	162,01±16,88	167,35±11,59	

^c 'Mann Whitney U' Testi

Üç günlük besin tüketim kaydı verilerine ulaşılan vakalar arasında Hafif HPA tanılı olan bulunmamaktadır.

Protein alımı. Hafif PKU saptanan vakaların total protein ölçümleri, Klasik PKU saptananlardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p=0,049$). Hafif PKU olanların %62,5'i (n=5) RDA'ya göre alması gerekenden düşük protein tüketmiştir. Klasik PKU vakaların %90,0'ı (n=9) RDA'ya göre alması gerekenden düşük protein tüketmiştir.

Doğal protein alımı. Hafif PKU saptanan vakaların doğal protein ölçümleri, Klasik PKU saptananlardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p=0,006$).

Phe toleransı. Hafif PKU saptanan vakaların Phe toleransları, Klasik PKU saptananlardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p=0,003$).

Phe toleransı (mg/kg/gün). Hafif PKU saptanan vakaların kilogram başına Phe toleransları Klasik PKU saptananlardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek saptanmıştır ($p=0,002$).

Phe içermeyen formuladan alınan protein. Klinik fenotipe göre Phe içermeyen formuladan alınan protein ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Enerji alımı. Klinik fenotipe göre alınan enerji ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$). Hafif PKU ve Klasik PKU saptanan vakaların tamamı alması gerekenden düşük düzeyde kalori almıştır.

Enerjinin yağ yüzdesi. Klinik fenotipe göre enerjinin yağ yüzdesi ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Enerjinin karbonhidrat yüzdesi. Hafif PKU saptanan vakaların ölçümleri Klasik PKU saptananlardan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük saptanmıştır ($p=0,023$).

Enerjinin protein yüzdesi, Klinik fenotipe göre enerjinin protein yüzdesi ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$).

Son Phe ölçümleri. Klinik fenotipe göre son Phe ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 22).

Tablo 22: Son değerlendirilen üç günlük besin tüketim kaydı ile analiz edilen ortalama total protein (gr/gün), doğal protein (gr/gün), Phe (fenilalanin) toleransı (mg/gün, mg/kg/gün), Phe içermeyen formuladan alınan protein (gr/gün), enerji (kcal/gün), enerjinin yağ yüzdesi, karbonhidrat yüzdesi, protein yüzdesi miktarlarının, son tanı klinik fenotipine göre karşılaştırılması

			Klinik fenotip		^c p
			HPKU (n=8)	KPKU (n=10)	
Total protein (gr/gün)		[min-mak] (medyan) Ort±SS	[27,6-69,1] (45,6) 47,62±12,55	[18,7-80,6] (39,2) 40,00±16,00	0,049*
Doğal protein (gr/gün)		[min-mak] (medyan) Ort±SS	[19,5-55,1] (36,7) 36,45±12,20	[11,8-36] (19,3) 20,7±6,96	0,006**
Phe toleransı (mg/gün)		[min-mak] (medyan) Ort±SS	[847,9-2376,1] (1617,5) 1581,99±528,14	[318,7-1164,1] (727,3) 781,83±247,24	0,003**
Phe toleransı (mg/kg/gün)		[min-mak] (medyan) Ort±SS	[21,7-41,9] (26,2) 27,33±6,50	[7-19,6] (11,9) 12,72±5,16	0,002**
Phe içermeyen formuladan protein alımı (gr/gün)		[min-mak] (medyan) Ort±SS	[8,2-21,5] (14) 14,89±5,05	[5,3-61,2] (15,1) 19,69±15,32	0,549
Enerji (kcal/gün)		[min-mak] (medyan) Ort±SS	[1165,7-1786,3] (1518,5) 1475,56±187,12	[887,6-2293,8] (1485,8) 1472,79±393,21	0,929
Enerjinin yüzdesi	yağ	[min-mak] (medyan) Ort±SS	[30,3-49,3] (41,9) 40,85±5,40	[28,3-44] (34) 35,83±5,93	0,182
Enerjinin karbonhidrat yüzdesi		[min-mak] (medyan) Ort±SS	[41,7-55,3] (45,2) 46,04±4,43	[44,3-58] (54,2) 52,20±5,38	0,023*
Enerjinin protein yüzdesi		[min-mak] (medyan) Ort±SS	[12-17,2] (13,9) 14,05±1,85	[6,7-20,3] (11,5) 12,07±4,16	0,119
Son Phe (mikromol/L)		[min-mak] (medyan) Ort±SS	[247-882] (463) 510,37±208,40	[114-788] (414,5) 409,20±219,67	0,328

^cMann Whitney U Test

* $p<0,05$

** $p<0,01$

Üç günlük besin tüketim kaydı verilerine ulaşılan vakalar arasında Hafif HPA tanılı olan bulunmamaktadır.

Günlük toplam Phe tolerasına ilişkin değerlendirmeler. İki yaş altı dönemdeki Phe toleransı ile güncel 3 günlük BTK analizi verileriyle değerlendirilen Phe toleransı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

Yaşın 2-4 arası olduğu dönemdeki Phe toleransı ile güncel 3 günlük BTK analizi verileriyle değerlendirilen Phe toleransı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

Yaşın 4-7 arası olduğu dönemdeki Phe toleransı ile güncel 3 günlük BTK analizi verileriyle değerlendirilen Phe toleransı ölçümleri arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

Yaşın 7 ve üzeri olduğu dönemdeki Phe toleransı ile güncel 3 günlük BTK analizi verileriyle değerlendirilen Phe toleransı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

Günlük kilogram başına düşen Phe tolerasına ilişkin değerlendirmeler. İki yaş altı dönemdeki kilogram başına Phe toleransı ile güncel 3 günlük BTK analizi verileriyle değerlendirilen Phe toleransı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

Yaşın 2-4 arası olduğu dönemdeki kilogram başına Phe toleransı ile güncel 3 günlük BTK analizi verileriyle değerlendirilen Phe toleransı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

Yaşın 4-7 arası olduğu dönemdeki kilogram başına Phe toleransı ile güncel 3 günlük BTK analizi verileriyle değerlendirilen Phe toleransı arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

Yaşın 7 ve üzeri olduğu dönemdeki kilogram başına Phe toleransı ile güncel 3 günlük BTK analizi verileriyle değerlendirilen Phe toleransı arasında pozitif yönlü %88,6 düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmıştır ($r:0,886$; $p=0,001$) (Tablo 23).

Tablo 23: Son değ erlendirilen     günlük besin tüketim kaydı (BTK) ile analiz edilen ortalama fenilalanin (Phe) toleransı ile yaşam boyu Phe toleransı ilişkisi

		��� günlük BTK Phe toleransı	
		Phe (mg/gün)	Phe (mg/kg/gün)
1-2 ya� Phe	N	8	8
	R	0,323	0,500
	P	0,435	0,207
2-4 ya� Phe	N	13	13
	R	0,088	0,303
	P	0,775	0,315
4-7 ya� Phe	N	13	13
	R	0,313	0,196
	P	0,297	0,542
�7 ya� Phe	N	16	16
	R	0,446	0,886
	P	0,095	0,001**

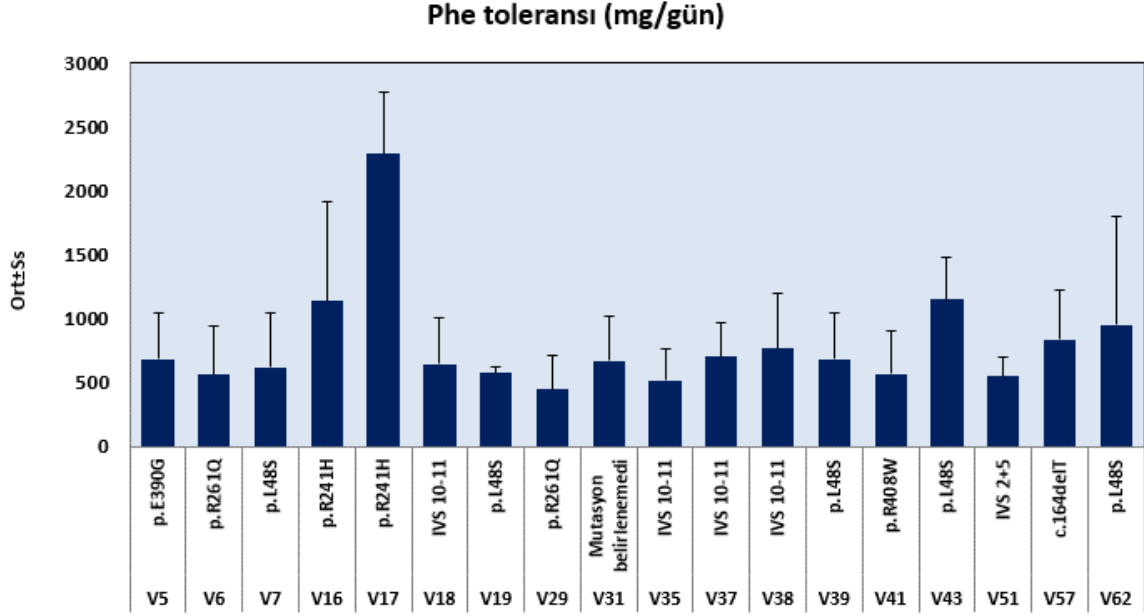
r: Spearman's Korelasyon Katsayısı *p<0,05 **p<0,01

Alel 2 ve son tanı klinik fenotipine göre Phe toleransı.     günlük besin tüketim kaydı veren vakaların (n=18), 2. aleline ve son tanı klinik fenotipine göre Phe toleransları (mg/gün, mg/kg/gün) Tablo 24'te ayrıntılı olarak verilmiştir.

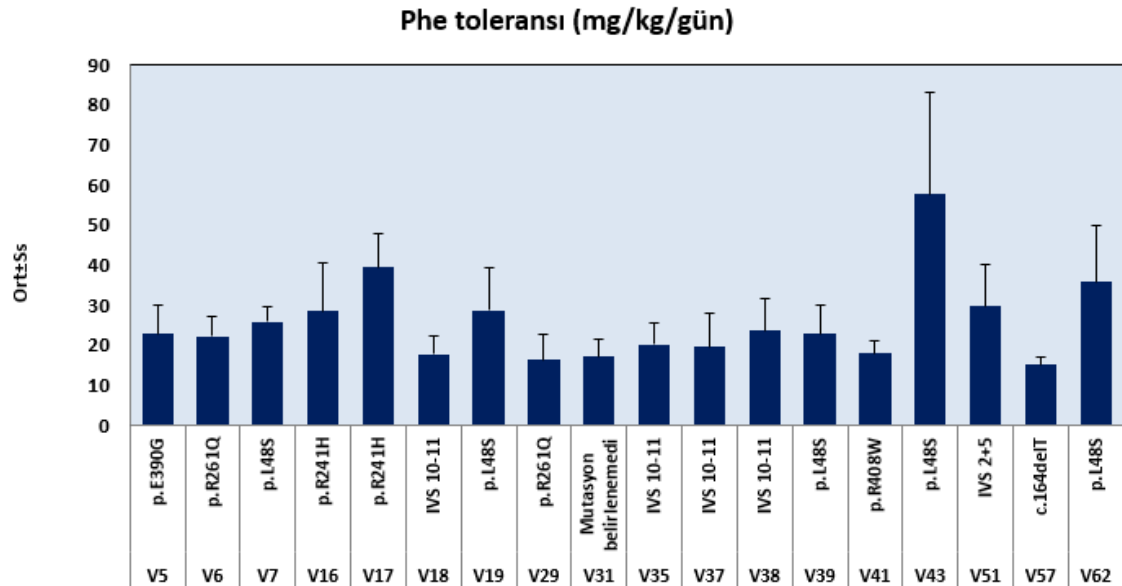
Tablo 24: Son değ erlendirilen     günlük besin tüketim kaydı ile analiz edilen ortalama fenilalanin (Phe) toleransının (mg/gün, mg/kg/gün), alel 2 ve son tanı klinik fenotipine göre dağılımı

Alel 2	n	Klinik fenotip	Phe (mg/gün)	Phe (mg/kg/gün)
p.L48S	5	HPKU (n=4)	1381,40�371,15	29,54�8,12
		KPKU (n=1)	826,50�0	15,77�0
IVS10-11G>A	4	HPKU (n=1)	-	-
		KPKU (n=4)	904,58�219,83	15,23�4,34
p.R241H	2	HPKU (n=2)	2120,40�361,66	24,26�5,36
		KPKU (n=0)	-	-
p.R261Q	2	HPKU (n=1)	883,47�0	21,78�0
		KPKU (n=1)	1066,20�0	19,60�0
p.E390G	1	HPKU (n=1)	2006,07�0	41,85�0
		KPKU (n=0)	-	-
p.R408W	1	HPKU (n=0)	-	-
		KPKU (n=1)	695,70�0	8,41�0
c.164delT	1	HPKU (n=0)	-	-
		KPKU (n=1)	604,77�0	7,65�0
IVS2+5G>C	1	HPKU (n=0)	-	-
		KPKU (n=1)	318,70�0	6,95�0
Mutasyon belirlenmedi	1	HPKU (n=0)	-	-
		KPKU (n=1)	688,10�0	7,89�0

Üç günlük besin tüketim kaydı veren vakaların yaşam boyu Phe toleranslarının (mg/gün, mg/kg/gün) dağılımı Şekil 10 ve Şekil 11’de vaka numarası ve alel 2 mutasyonları ile birlikte verilmiştir. Alel 1’de p.L48S mutasyonu gösteren vakaların Phe toleransı (mg/kg/gün) grafikleri değerlendirildiğinde, alel 2’de IVS10-11G>A, p.R408W ve c.164delT mutasyonlarını gösteren vakaların Phe tolerans dağılımının düşük seyrettiği görülmüştür.



Şekil 10: Üç günlük besin tüketim kaydı veren vakaların yaşam boyu Phe toleranslarının (mg/gün) dağılımı (V= vaka no)



Şekil 11: Üç günlük besin tüketim kaydı veren vakaların yaşam boyu Phe toleranslarının (mg/kg/gün) dağılımı (V= vaka no)

4.9.2. Tolerans-Fenotip Uyumsuz Grup

Bu gruptaki vakalar (n=13) tek tek ayrıntılı olarak değerlendirilmiştir.

Vaka 12, aile no XI olan hasta 32 aylıkken kantitatif Phe: 2100 $\mu\text{mol/L}$ saptanması üzerine selektif tarama ile Klasik PKU tanısı almıştır. Hastanın yaşam boyu Phe toleransı değerlendirildiğinde $Ort \pm SS$ 15,79 $\pm$ 7,45 mg/kg/gün, [min-mak] (medyan) [7,3-35,2] (14,8) mg/kg/gün olarak saptanmıştır. Son bakılan 3 günlük Phe toleransı değerlendirildiğinde ise ortalama 20,5 mg/kg/gün olarak saptandığından incelemeye dahil edilmemiştir. Hastanın 3 günlük BTK sonrasında sabah açken alınan kantitatif Phe değeri 406 $\mu\text{mol/L}$ saptanmıştır.

Vaka 21, aile no XVIII olan hasta 0,63 aylıkken kantitatif Phe: 1038 $\mu\text{mol/L}$ saptanması üzerine yenidoğan tarama ile Hafif PKU tanısı almıştır. Hastanın yaşam boyu Phe toleransı değerlendirildiğinde $Ort \pm SS$ 101,33 $\pm$ 70,88 mg/kg/gün, [min-mak] (medyan) [49-182] (73) mg/kg/gün olarak saptanmıştır. Son bakılan 3 günlük Phe toleransı değerlendirildiğinde ise ortalama 71,8 mg/kg/gün olarak saptandığından incelemeye dahil edilmemiştir. Hastanın 3 günlük BTK sonrasında sabah açken alınan kantitatif Phe değeri 469 $\mu\text{mol/L}$ saptanmıştır.

Vaka 22, aile no XIX olan hasta 95,5 aylıkken kantitatif Phe: 582 $\mu\text{mol/L}$ saptanması üzerine selektif tarama ile Hafif PKU tanısı almıştır. Hastanın izlemde 18 yaşında değerlendirilen Phe toleransı 23.7 mg/kg/gün olarak saptanmıştır. Son bakılan 3 günlük Phe toleransı değerlendirildiğinde ise ortalama 5.7 mg/kg/gün olarak saptandığından incelemeye dahil edilmemiştir. Hastanın 3 günlük BTK sonrasında sabah açken alınan kantitatif Phe değeri 313 $\mu\text{mol/L}$ saptanmıştır. Ailevi düzen ve alışkanlıklar, maddi sebepler göz önüne alındığında hastanın diyetinin, ihtiyacını karşılamadığı farkedilmiştir.

Vaka 26, aile no XXIII olan hasta 3,63 aylıkken kantitatif Phe: 966 $\mu\text{mol/L}$ saptanması üzerine yenidoğan tarama ile Hafif PKU tanısı almıştır. Hastanın yaşam boyu Phe toleransı değerlendirildiğinde $Ort \pm SS$ 29,62 $\pm$ 7,8 mg/kg/gün, [min-mak] (medyan) [20,1-37] (30,7) mg/kg/gün olarak saptanmıştır. Son bakılan 3 günlük Phe toleransı değerlendirildiğinde ise ortalama 16,2 mg/kg/gün olarak saptandığından incelemeye dahil edilmemiştir. Hastanın 3 günlük BTK sonrasında sabah açken alınan kantitatif Phe değeri 338 $\mu\text{mol/L}$ saptanmıştır.

Vaka 27, aile no XXIV olan hasta 2,16 aylıkken kantitatif Phe: 1013 $\mu\text{mol/L}$ saptanması üzerine yenidoğan tarama ile Hafif PKU tanısı almıştır. Hastanın yaşam boyu Phe toleransı değerlendirildiğinde $Ort \pm SS$ 18,7 $\pm$ 6,1 mg/kg/gün, [min-mak] (medyan) [10,3-25] (19) mg/kg/gün olarak saptanmıştır. Son bakılan 3 günlük Phe toleransı değerlendirildiğinde ise

ortalama 19,83 mg/kg/gün olarak saptandığından incelemeye dahil edilmemiştir. Hastanın 3 günlük BTK sonrasında sabah açken alınan kantitatif Phe değeri 481 $\mu\text{mol/L}$ saptanmıştır.

Vaka 30, aile no XXVI olan hasta 1,13 aylıkken kantitatif Phe: 708 $\mu\text{mol/L}$ saptanması üzerine yenidoğan tarama ile Hafif PKU tanısı almıştır. Hastanın yaşam boyu Phe toleransı değerlendirildiğinde $Ort \pm SS$ 35,4 $\pm$ 16 mg/kg/gün, [min-mak] (medyan) [19-65] (30) mg/kg/gün olarak saptanmıştır. Son bakılan 3 günlük Phe toleransı değerlendirildiğinde ise ortalama 17 mg/kg/gün olarak saptandığından incelemeye dahil edilmemiştir. Hastanın 3 günlük BTK sonrasında sabah açken alınan kantitatif Phe değeri 125 $\mu\text{mol/L}$ saptanmıştır.

Vaka 32, aile no XXVIII olan hasta, 1,5 aylıkken kantitatif Phe: 870 $\mu\text{mol/L}$ saptanması üzerine yenidoğan tarama ile Hafif PKU tanısı almıştır. Hastanın dosya değerlendirmesinde kayıtlı Phe toleransı bulunamamıştır. Son bakılan 3 günlük Phe toleransı değerlendirildiğinde ise ortalama 5 mg/kg/gün olarak saptandığından incelemeye dahil edilmemiştir. Hastanın 3 günlük BTK sonrasında sabah açken alınan kantitatif Phe değeri 289 $\mu\text{mol/L}$ saptanmıştır.

Vaka 34, aile no XXX olan hasta 0,5 aylıkken kantitatif Phe: 936 $\mu\text{mol/L}$ saptanması üzerine yenidoğan tarama ile Hafif PKU tanısı almıştır. Hastanın yaşam boyu Phe toleransı değerlendirildiğinde $Ort \pm SS$ 16,66 $\pm$ 5,23 mg/kg/gün, [min-mak] (medyan) [9,1-24,6] (16,02) mg/kg/gün olarak saptanmıştır. Son bakılan 3 günlük Phe toleransı değerlendirildiğinde ise ortalama 9,2 mg/kg/gün olarak saptandığından incelemeye dahil edilmemiştir. Hastanın 3 günlük BTK sonrasında sabah açken alınan kantitatif Phe değeri 670 $\mu\text{mol/L}$ saptanmıştır.

Vaka 44, aile no XIX olan hasta 1,06 aylıkken kantitatif Phe: 263 $\mu\text{mol/L}$ saptanması üzerine yenidoğan tarama ile Hafif HPA tanısı almıştır. Hastanın dosya değerlendirmesinde kayıtlı Phe toleransı bulunamamıştır. Son bakılan 3 günlük Phe toleransı değerlendirildiğinde ise ortalama 38,3 mg/kg/gün olarak saptandığından incelemeye dahil edilmemiştir. Hastanın 3 günlük BTK sonrasında sabah açken alınan kantitatif Phe değeri 183 $\mu\text{mol/L}$ saptanmıştır.

Vaka 49, aile no XLII olan hasta 1,2 aylıkken kantitatif Phe: 1640 $\mu\text{mol/L}$ saptanması üzerine yenidoğan tarama ile Klasik PKU tanısı almıştır. Hastanın yaşam boyu Phe toleransı değerlendirildiğinde $Ort \pm SS$ 23,7 $\pm$ 2,04 mg/kg/gün, [min-mak] (medyan) [22,1-26] (23) mg/kg/gün olarak saptanmıştır. Son bakılan 3 günlük Phe toleransı değerlendirildiğinde ise ortalama 22,2 mg/kg/gün olarak saptandığından incelemeye dahil edilmemiştir. Hastanın 3 günlük BTK sonrasında sabah açken alınan kantitatif Phe değeri 434 $\mu\text{mol/L}$ saptanmıştır.

Vaka 52, aile no XV olan hasta 0,16 aylıkken kantitatif Phe: 270 $\mu\text{mol/L}$ saptanması üzerine yenidoğan tarama ile Hafif HPA tanısı almıştır; izlemde 2.4 aylıkken bakılan Phe: 585

$\mu\text{mol/L}$ saptanması üzerine hasta Hafif PKU kabul edilerek diyet tedavisi başlanmıştır. Hastanın yaşam boyu Phe toleransı değerlendirildiğinde $Ort \pm SS$ $17,88 \pm 3,77$ mg/kg/gün, *[min-mak] (medyan)* [12,6-24,3] (18,5) mg/kg/gün olarak saptanmıştır. Son bakılan 3 günlük Phe toleransı değerlendirildiğinde ise ortalama $13,3$ mg/kg/gün olarak saptandığından incelemeye dahil edilmemiştir. Hastanın 3 günlük BTK sonrasında sabah açken alınan kantitatif Phe değeri 326 $\mu\text{mol/L}$ saptanmıştır.

Vaka 55, aile no XLVII olan hasta 18,3 aylıkken kantitatif Phe: 972 $\mu\text{mol/L}$ saptanması üzerine selektif tarama ile Hafif PKU tanısı almıştır. Hastanın dosya değerlendirmesinde kayıtlı Phe toleransı bulunamamıştır. Son bakılan 3 günlük Phe toleransı değerlendirildiğinde ise ortalama $10,5$ mg/kg/gün olarak saptandığından incelemeye dahil edilmemiştir. Hastanın 3 günlük BTK sonrasında sabah açken alınan kantitatif Phe değeri 269 $\mu\text{mol/L}$ saptanmıştır.

Vaka 60, aile no LI olan hasta 0,26 aylıkken kantitatif Phe: 1090 $\mu\text{mol/L}$ saptanması üzerine yenidoğan tarama ile Hafif PKU tanısı almıştır. Hastanın yaşam boyu Phe toleransı değerlendirildiğinde $Ort \pm SS$ $25 \pm 1,63$ mg/kg/gün, *[min-mak] (medyan)* [25-25] (25) mg/kg/gün olarak saptanmıştır. Son bakılan 3 günlük Phe toleransı değerlendirildiğinde ise ortalama $20,5$ mg/kg/gün olarak saptandığından incelemeye dahil edilmemiştir. Hastanın 3 günlük BTK sonrasında sabah açken alınan kantitatif Phe değeri 194 $\mu\text{mol/L}$ saptanmıştır.

4.10. İzlemde klinik fenotipte değişim gözlenen vakaların ayrıntılı değerlendirilmesi

Klinik fenotipinde değişim olan Hafif HPA vakalarının genotipik özellikleri. İlk tanı klinik fenotipi Hafif HPA iken izlemde Hafif PKU tanısı alan 8 vakanın 3'ü homozigot, 5'i ise heterozigottur (Tablo 9). Bu 8 vaka dışındaki vakaların fenotipi izlemde değişime uğramamıştır.

Klinik fenotipinde değişim olmayan (ilk/son tanı Hafif HPA olan) 3 vakanın genotipi incelendiğinde 2 vakanın 2. aleli p.A403V iken 1 vakanın 2. aleli ise p.R261* olarak belirlenmiştir.

İzlemde klinik fenotipi Hafif HPA'dan Hafif PKU'ya değişen vakalar incelendiğinde, 3 vakanın genotipi p.L48S homozigot, 2 vakanın genotipi p.L48S/p.E390G, kardeş olan 2 vakanın genotipi p.L48S/p.R241H, 1 vakanın genotipi p.L48S/IVS10-11G>A olarak belirlenmiştir.

Cinsiyet. Vakaların %25'i (n=2) kız, %75'i (n=6) erkektir.

Tanı yaşı. Vakaların tamamı yenidoğan tarama ile tanı almıştır. Tanı yaşları incelendiğinde [0.12-3.24] ay arasında değişmektedir.

Fenotip değişim yaşı. Phe kesit değeri 600 $\mu\text{mol/L}$ olarak kabul edilen vakaların fenotip değişim yaşları [2,4-25,9] ay arasında değişmektedir, medyan 11,4 ay olarak belirlenmiştir.

Başvuru Phe değeri. [227-487] $\mu\text{mol/L}$ arasında değişmektedir. 5 vakanın başvuru Phe değeri $>360 \mu\text{mol/L}$ olarak belirlenmiştir.

Başvuru Phe/Tyr değeri. [2,24-11,8] arasında değişmektedir, medyan 8,7 olarak belirlenmiştir.

Tek başına anne sütü alma süresi. [0.13-6] ay arasında değişmektedir, medyan 0.72 ay olarak belirlenmiştir.

Formül süt başlama yaşı. [0,13-1] ay arasında değişmektedir, 2 vakanın formül süt almadığı belirlenmiştir.

Memeden kesme yaşı. [0.25-36] ay arasında değişmektedir.

Katabolizan süreç. İzlemde fenotip değişim döneminde katabolizan süreç belirlenenler, fenotipi değişim gösteren vakaların %50 (n=4)'sidir.

Aynı mutasyonda klinik fenotipte değişim yüzdesi. p.L48S/p.R241H genotipine sahip vakalarda %100, p.L48S/p.E390G genotipine sahip vakalarda %66, p.L48S homozigot vakalarda %25, p.L48S/IVS10-11G>A genotipine sahip vakalarda ise %7 olarak belirlenmiştir.

Tablo 25: İzlemede klinik fenotipi değişen vakaların (n=8) özellikleri

Alel 2:	p.L48S	p.L48S	p.L48S	p.E390G	p.E390G	p.R241H	p.R241H	IVS10-11G>A
Vaka no	V43	V62	V63	V5	V24	V16	V17	V52
Aile no	XIX	XVIII	LIII	V	XXI	XIV	XIV	XV
Cinsiyet	K	E	E	K	E	E	E	E
Tanı yaşı(ay)	0,48	0,24	1,56	0,24	3,24	0,12	0,12	0,12
Fenotip değişim yaşı(ay) (Phe kesit değeri 600 μ mol/L)	16,8	25,9	8,4	12	4	10,8	12,96	2,4
Phe kesit değeri 360 μ mol/L kabul edilirse değişim yaşı (ay)	14,4	0,3	1,56*	12	3,24*	0,12*	0,12*	0,12*
Başvuru Phe (μ mol/L)	263	227	479	306	487	366	390	270
Başvuru Phe/Tyr	5,16	2,24	9,5	-	11,8	-	-	8,7
Değişim döneminde büyüme etkilenmiş mi?	Hayır	Azalmış**	Azalmış***	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır	Hayır
Tek başına anne sütü alma süresi (ay)	6	0,25	0,13	6	1	0,72	0,72	0,24
Tamamlayıcı beslenmeye başlama yaşı (ay)	6	6	6	6	6	6	6	6
Formül süt başlama yaşı (ay)	-	0,25	0,13	-	1	0,72	0,72	0,24
Memeden kesme yaşı (ay)	24	12,96	0,25	18	12	36	36	5
Katabolizan süreç (ay) (infeksiyon, dış çıkarma) varsa yaşı	13,2 *****	25,9*****	7,2*****	-	-	-	-	0,12*****
Anne memleketi	Ağrı	Kırklareli	Artvin	Bursa	İstanbul	Kastamonu	Kastamonu	Sivas
Baba memleketi	Ağrı	Sırbistan	Artvin	İstanbul	İstanbul	Urfa	Urfa	Sivas
Aynı mutasyonda klinik fenotipte değişim yüzdesi	%25	%25	%25	%66	%66	%100	%100	%7

* Tanı yaşıdır. **Tartı ve boy persentilleri 75-90 iken; 50-75 olmuş. *** Tartı persentili 75-90 iken; 50-75 olmuş. ****Bu dönemde infeksiyon geçirmiş. ***** Postnatal 1 hafta yenidoğanın geçici takipnesi nedeniyle yatmış.

5. TARTIŞMA

*'Fenilketonüri (PKU)de fenilalanin (Phe) toleransının önemi'*nin araştırıldığı bu çalışmada; özellikle literatüre göre 'en büyük grubu' oluşturan ve hasta izleminde 'klinik fenotipin değişimi' ile farklılık gösterdiği dikkatimizi çeken p.L48S mutasyonu saptanmış hasta grubunun yaşam boyu ve güncel 'Phe toleransı'nı değerlendirerek PKU'daki önemini belirlemek bu çalışmanın amacını oluşturmuştur (2, 72, 95, 96, 97, 98, 99).

Yenidoğan tarama ile belirlenen hiperfenilalaninemi (HPA) vakaları, ilk kantitatif Phe düzeyine göre klinik fenotipleri belirlenerek tanı almaktadır. PKU vakalarının Phe'den kısıtlı, tirozin (Tyr)den zengin beslenme tedavileri sırasında izlemlerinde, ayrıca BH4 yanıtı vakaların tanı ve tedaviye yanıtlarının değerlendirilmesinde 'Phe toleransı'nın belirlenmesinin önemi büyüktür (89). Daha önce İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı Polikliniği'nde izlenen 588 PKU vakasında yapılan bir çalışmada; genotipi belirlenmiş, en az bir alelinde p.L48S mutasyonu gösteren 54 PKU ailesindeki HPA vakaları (n=65) bu çalışmada yaşam boyu ve güncel Phe toleransı açısından değerlendirilmiştir (72). Literatürde, Türk PKU hasta topluluğunda en geniş genotip değerlendirmesinin yapılmış olduğu bu ilk makalede; p.L48S mutasyonu saptanan hastaların fenotip/genotip ilişkisi ve ayrıca tetrahidrobiopterin (BH4) yanıtı uyumsuz bulunmuştur (70, 78, 100).

Danimarka'da yapılan bir çalışmada p.L48S mutasyonu 4 hastada saptanmış ve bu mutasyon Akdeniz ülkeleri ile ilişkilendirilmiştir (68). Bu mutasyonun sık görüldüğü ülkeler ise sırasıyla; Sırbistan (%31), Hırvatistan (%10), İtalya (%9,7) ve Türkiye (%7) olarak bildirilmiştir (2, 72, 96, 101).

Çalışmamızdaki vakaların *memleket dağılımlarının* çoğunlukla Sivas, Trabzon ve Tokat illeri olduğu, Akdeniz Bölgesi'nden hastamızın olmadığı görülmüştür (Tablo 2). Avrupa'daki PKU mutasyonlarının kökenini inceleyen bir çalışmada, Türk PKU hastalarında en sık belirlenen IVS10-11G>A mutasyonu değerlendirilmiş, bu alelin İtalyanlarda görülmeden önce Türklerin ve başka Orta Doğu topluluklarının bulunduğu bölgelerden köken alabileceği ve göç ile taşınmış olabileceği bildirilmiştir (102).

İlk Tanıda kantitatif Phe düzeyi ile PKU tanısında vakaların özellikleri. Tedavi öncesi *ilk tanıda kantitatif Phe düzeyi*, metabolizma merkezlerinin %70'inde HPA'nın fenotiplendirmesinde kullanılmaktadır. Bu düzey, bazı değişkenlere bağlı değişebilir: kan alınma zamanı, neonatal katabolizma ve kan alındığı sırada uygulanan doğal beslenmenin protein,

dolayısı ile Phe içeriği (101). Örneğin anne sütündeki Phe miktarı, sütçocuğu formül sütünün üçte biri kadardır (103).

Yenidoğan taramadaki uygulamaların, özellikle genişletilmiş yenidoğan taramanın ‘tandem-MS’ ile geliştirilmesi nedeniyle ideal olarak bebek 3 günlükken olmak üzere, ilk 72 saatte daha erken kuru kan örneği alınabilmektedir. Erken tanı konularak Phe’den kısıtlı beslenme tedavisi başlanan PKU vakalarında tedavi öncesi kan Phe düzeyi, hastalığın doğal hikayesinde görülen potansiyel Phe yüksekliğinden daha düşük saptanabilir. PKU’nun klinik fenotipinin belirlenmesi, erken tanı ile tedavi başlanan vakalarda daha hafif bir klinik tanının konmasına neden olabilmektedir. Ülkemizde Ulusal Yenidoğan Tarama Programı sonucu tedavi başlanma günü halen ortalama 17. gün olduğundan, daha yüksek kan Phe düzeyi ile tanı konulması HPA vakalarının klinik fenotiplendirmesini etkileyebilir. Çalışmamızda yenidoğan tarama ile tanı konulan hastaların (n=52) tanı yaşı medyan 21 gündür (Tablo 4). İlk tanısı Hafif HPA olarak belirlenen vakaların tanı yaşları medyan 11 gündür.

BİOPKU veri tabanına kayıtlı, *homozigot p.L48S mutasyonu* gösteren hastaların (n=70) klinik fenotipleri incelendiğinde, Hafif PKU %68,6, Klasik PKU %22,9 ve Hafif HPA %8,6 olarak bildirilmiştir (1). Çalışmamızda hastalardan %18,5’i (n=12) bu mutasyonu ‘*homozigot*’, %81,5’i (n=53) ise ‘*bileşik heterozigot*’ olarak taşımaktadır (Tablo 6). Homozigot genotipteki hastaların ilk tanı klinik fenotipi değerlendirildiğinde, %58,3’ü Hafif PKU %58,3, Klasik PKU %16,7, Hafif HPA ise %25 olarak belirlenmiştir. Hafif HPA tanılı hastaların tamamı izlemde Ort.±SS 11,65±7,43 ayda Hafif PKU klinik fenotipine değişmiştir. BİOPKU veri tabanına kayıtlı hastalar, yenidoğan tarama sonrası ilk tanıdaki kantitatif Phe değerlerine göre sınıflandırılmıştır; izlemdeki fenotipik değişimle ilgili veri bildirilmemiştir. Hafif HPA tanılı hastalar, izlemde çalışmamızda olduğu gibi Hafif PKU klinik fenotipine değişmiş olabilir.

Türk PKU hasta topluluğunda p.L48S mutasyonu hastaların %7’sinde belirlenmiştir (72). Sırbistan’da 61 HPA vakasında yapılan bir çalışmada, p.L48S mutasyonunun alel frekansı %31 olarak belirlenmiş ve bu mutasyonu gösteren hasta grubunun (n=27) çoğunluğu oluşturduğu belirlenmiştir. Aynı zamanda bu çalışmada p.L48S homozigot vakalarda fenotipik tutarsızlık saptanmış (her üç fenotip te görülmüş), genotip-fenotip korelasyonunda interalelik komplementasyon veya ek faktörlerin rol oynayabileceği düşünülmüştür (2).

Bu çalışmaya dahil edilen tüm vakaların *ilk tanı klinik fenotipleri* incelendiğinde, Hafif HPA %16,9 (n=11), Hafif PKU %40 (n=26), Klasik PKU %43 (n=28) fenotipi saptanmıştır (Tablo 4). BİOPKU veri tabanı ile karşılaştırıldığında bu mutasyona sahip vakaların

fenotiplerinin tutarsız olduğu, her üç fenotipin de görülebileceği literatürde bildirilmiştir (72, 96).

Çalışmamızdaki vakaların %80'i yenidoğan tarama ile tanı alırken, % 16,9'u doğumsal metabolik hastalık (DMH) selektif tarama, % 3,1'i PKU'lu kardeş nedeniyle aile taraması ile tanı almıştır. (Tablo 4). Bu vakaların tanı yaşları [10,6-95,53] ay arasında değişmekte olup Ort.±SS 29,64±22,44 aydır. Tanı yaşı ileri olan bu vakalar arasında Hafif HPA tanısı bulunmamaktadır, ilk tanı Phe değeri ve Phe/Tyr oranı yenidoğan tarama ile tanı alan vakalara göre yüksektir (Tablo 4). Geç tanı konularak Phe kısıtlı beslenme tedavisi geç başlanan bu vakaların, hastalığın doğal hikayesinde görülen potansiyel Phe yüksekliğini gösterdikleri düşünülmüştür. Aile hikayesi nedeniyle 8 yaşında geç tanı alan, başvuru kantitatif Phe 582 $\mu\text{mol/L}$ olarak değerlendirilerek klinik fenotipi Hafif PKU olarak belirlenen bir vaka (Vaka No:22) da sınırdan mental retardasyon (ilk tanı IQ derecesi:72) saptanmış; bu vaka ilkokulu düşük-orta başarıyla bitirmiş ve meslek sahibi olabilmıştır. Karačić ve ark. (101), p.L48S homozigotluğu olan Klasik PKU klinik fenotipindeki 2 hastanın, diyet uygulanmadığında kan Phe düzeyi yükselme trendinin yavaş olduğunu bildirmiştir.

Çalışma grubumuzda *bileşik heterozigotluk* gösteren vakaların, önceki çalışmada değerlendirilen alel 2 mutasyonuna göre *in vitro fenilalanin hidroksilaz (PAH) aktivitesi*, hasta sayısı ve klinik fenotip dağılımları Ek Tablo 1'de verilmiştir (1). PKU'da genotip-fenotip korelasyonu ile ilişkili, BİOPKU veri tabanından alınan genel bilgilerde, *in vitro enzim aktivitesi* %15 ve altında olan mutasyonların Klasik PKU, %20'nin üzerinde aktivitesi olan mutasyonları gösteren hastaların ise hafif fenotipe sahip olabileceği belirtilmiştir (1, 32). Bu verilerde p.L48S mutasyonu *in vitro enzim aktivitesi* %39 olarak bildirilmektedir. Çalışma grubumuzda homozigot olan vakalarda Hafif PKU klinik fenotip oranı %83,3, heterozigot olan vakalarda ise Klasik PKU klinik fenotip oranı (%49,1) en yüksek saptanmıştır (Tablo 8). Homozigot genotipteki vakaların %16,6'sının klinik fenotipi Klasik PKU olarak belirlenmiştir. Bu durum HPA'larda güncel olarak bildirilen 1101 farklı alelden oluşan heterojenite nedeniyle; PAH lokusunda genotipik benzerlik olsa bile PKU'da fenotipik farklılıklar olabilmesi ile ilişkili bulunmuştur (1, 61).

Hafif mutasyon/klasik mutasyon birlikteliği, negatif interalelik komplementasyona bağlı olarak farklı fenotiplerin görülmesiyle sonuçlanabilir (32). Çalışma grubumuzda, *in vitro rezidüel enzim aktivitesi* %5 olarak bildirilen IVS10-11G>A mutasyonu ile p.L48S mutasyonu bileşik heterozigotluğunu gösteren vakaların klinik fenotipi incelendiğinde, %38,5'inde Hafif PKU, %61,5'inde ise Klasik PKU klinik fenotipi belirlenmiştir (Tablo 7).

Shen ve ark. (104), p.L48S homozigot mutasyonunun hem fenotipik olarak hem de BH4 yanıtılılıkta uyumsuz sonuçlar verebileceğini; bozulmuş protein katlanması, termal kararsızlık, proteoliz kararsızlığı, alt ünite kümelenmesi, substrat ve kofaktöre bağlanma afinitesindeki farklılıkların bu uyumsuzluğa sebep olabileceğini bildirmiştir. p.L48S/p.R261Q bileşik heterozigot mutasyonunda negatif interalelik komplementasyon gözlemlendiğini ve bu sebeple daha ağır kliniğe sebep olduğunu da saptamıştır. Çalışmamızda da p.L48S/p.R261Q bileşik heterozigot mutasyonunu gösteren vakaların klinik fenotipi incelendiğinde %60'ı Klasik PKU, %40'ı Hafif PKU olarak belirlenmiştir (Tablo 7).

Güney İtalya'da 51 PAH eksikliği olan hastanın genotip-fenotip karşılaştırmasının yapıldığı bir çalışmada, hastaların %76'sında genotipin fenotiplendirmede iyi bir gösterge olduğu saptanmıştır. Fakat hastaların yaklaşık %25'inde genotip-fenotip uyumsuzluğu görülmüş ve bu hastalarda görülen başlıca mutasyonlar p.L48S, p.R158Q, p.R261Q ve p.P281L olarak saptanmıştır. Aynı zamanda *in vitro rezidüel PAH aktivitesi* yüksek olan hafif şekillerde en sık görülen mutasyon p.L48S olarak saptanmıştır. p.L48S/p.R261Q heterozigotluğu olan 3 hastanın 2 si Klasik PKU, 1'i Hafif HPA kliniğinde, p.L48S/p.A403V mutasyonuna sahip hasta Hafif HPA kliniğinde saptanmıştır (96). Çalışmamızda ise p.L48S/p.R261Q bileşik heterozigotluğu gösteren 5 vakanın klinik fenotipi incelendiğinde, 2'si Hafif PKU, 3'ü Klasik PKU olarak belirlenmiş, Hafif HPA tanılı vaka saptanmamıştır. p.L48S/p.A403V mutasyonunu bileşik heterozigot olarak gösteren 2 hastanın tanısı ise benzer şekilde Hafif HPA olarak belirlenmiştir (Tablo 7).

Yenidoğanda tetrahidrobiopterin yükleme testi yanıtları. Enzimin *in vitro rezidüel aktivitesinin* %20'nin üzerinde olduğu mutasyonların '*BH4 yanıtılı*' olacağı ve bu hastaların orta-hafif fenotipe sahip olabileceği belirtilmiştir. *In vitro* çalışmalarda PAH aktivitesi %39 olarak hesaplanmış olan homozigot p.L48S mutasyonunu gösteren PKU hastalarının, BH4 yanıtılı olmaları beklenmektedir (32). Çalışmamızda homozigot vakaların %60'ı yenidoğanda 24 saatlik tetrahidrobiopterin (BH4) yükleme testine yanıtılı, %20'si kısmi yanıtılı, %20'si ise yanıtız olarak saptanmıştır (Tablo 11). p.L48S homozigot vakalarda BH4 yanıtılılık oranı (%60)'nın, heterozigot vakaların yanıtılılık oranı(%28,5)'na göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir. HPA'lı hastalarda BH4 yanıtılılığın incelendiği Türkiye'de yapılan bir çalışmada, p.L48S mutasyonunu homozigot olarak gösteren hastalardan biri BH4'e tam yanıtılı, biri de kısmi yanıtılı olarak saptanmıştır (100). Başka bir çalışmada ise p.L48S mutasyonu ile BH4 yanıtılılık arasındaki ilişkinin tutarsız olduğu saptanmış, bileşik heterozigotlarda ise genotip ile yanıtılılığın öngörülemediği belirtilmiştir (105).

Yenidoğanda 24 saatlik BH4 yükleme testi yapılan tüm vakaların yanıtlılıkları değerlendirildiğinde, ilk tanısı Hafif HPA olan vakaların *BH4 yanıtlılık* oranı %100, Hafif PKU olan vakaların ise %50 saptanmış; Klasik PKU olan vakaların hiçbirinde yanıtlılık belirlenmemiştir (Tablo 4). Çalışmamızdaki vakaların *BH4 yanıtlılık* oranları incelendiğinde, HPA kliniği ağırlaştıkça BH4'e güçlü yanıt veren hasta oranının azaldığını bildiren çalışmalar ile benzer sonuçlar bulunmuştur (45, 101).

Karačić ve ark. (101), Hırvat topluluğunda *BH4 yanıtlılığı* araştırdığı çalışmada, p.L48S homozigot olan Klasik PKU tanılı iki hastadan birini yanıtlı, diğerini kısmi yanıtlı olarak bildirmiştir. p.L48S/p.R261Q mutasyonu olan Hafif PKU tanılı hasta yanıtlı, p.L48S/p.R158Q olan Klasik PKU tanılı hastalardan biri yanıtlı biri yanıtızsız, p.L48S/p.R408W olan 6 Klasik PKU tanılı hastanın beşi yanıtızsız biri belirsiz, p.L48S/p.P281L Klasik PKU tanılı hasta yanıtızsız, p.L48S/p.IVS4+5G>T klasik PKU tanılı hasta yanıtızsız olarak saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da benzer şekilde; p.L48S/p.R261Q ve p.L48S/p.R408W mutasyonunu gösteren Hafif PKU tanılı hastalar yanıtızsız, p.L48S/p.P281L mutasyonunu gösteren Klasik PKU ve Hafif PKU tanılı hastaların ikisi de yanıtızsız, p.L48S/p.IVS4+5G>T mutasyonunu gösteren Klasik PKU tanılı iki hasta da yanıtızsız olarak saptanmıştır. Leuders ve ark. (106) ise bu bulgulardan farklı olarak tek aleilde p.L48S mutasyonu olan hastaların (n=7) tümünün BH4 yükleme testine yanıtlı olduğunu bildirmiştir. En az bir alelinde p.L48S mutasyonu gösteren vakaların dahil edildiği çalışmamızda ise yenidoğanda 24 saatlik BH4 yükleme testi yapılan vakaların %47'sinin yanıtızsız olduğu görülmüştür (Tablo 5).

Zurflüh ve ark. (67), BH4 yanıtlı hastalarda en sık (%45) görülen üç mutasyonu p.A403V, p.R261Q ve p.Y414C olarak belirlemiştir. Genotipe dayalı BH4 yanıtlılık öngörüsü, BH4 yükleme testi verilerindeki prevalansa göre daha yüksek saptanmıştır. p.L48S, p.I65T, p.R158Q, p.R261Q, ve p.Y414C mutasyonlarında ise tutarsız sonuçlar görülmüştür. Çalışma grubumuzda p.L48S/p.R261Q mutasyonunu gösteren Hafif PKU klinik fenotipindeki bir vakanın ve p.L48S/p.A403V mutasyonunu gösteren Hafif HPA tanılı bir vakanın yenidoğanda 24 saatlik BH4 yükleme testinde '*BH4 yanıtızsız*' olduğu belirlenmiştir (Tablo 10).

İsviçre (Zürich)de yapılan bir çalışmada ise *Phe toleransı* <20 mg/kg/gün ve tedavi öncesi kan Phe düzeyi >1000 µmol/L olarak saptanan 5 hastaya 24 ay boyunca BH4 (20mg/kg/gün) tedavisi uygulanmıştır. Tüm hastalarda uzun süre BH4 yanıtlılık saptanmış, diyetlerindeki sınırlandırmalar önemli derecede azalmıştır. BH4 tedavisi öncesinde günlük Phe toleransı 18-19 mg/kg iken, tedavi ile 30-80 mg/kg/gün'e kadar artış göstermiştir; tedavinin sonlanmasıyla tekrar 12-17 mg/kg/gün'e kadar gerilemiştir. Sonuç olarak BH4 duyarlılığın Hafif HPA ile

sınırlandırılmaması gerektiği, ağır PKU fenotipinin de önemli kısmında, BH4 tedavisinin Phe toleransının artmasına katkıda bulunabileceği gösterilmiştir (107). Ancak çalışma grubumuzdaki Klasik PKU klinik fenotipine sahip yenidoğanda 24 saatlik BH4 yükleme testi yapılan hastaların %28,5'i BH4 kısmi yanıtı iken, %71,5'i BH4 yanıtı olarak belirlenmiş; hastaların hiçbiri BH4 yüklemesine tam yanıt vermemiştir (Tablo 10).

Trefz ve ark. (97), iki alel de genotip olarak yanıtı iken BH4 yanıtı saptanan hastaların negatif interalelik komplementasyon ile ilişkili olabileceğini bildirmiştir. Aynı genotipte olmasına rağmen tutarsız yanıt veren hastalarda ise BH4'ün intestinal emilimi, katabolik sebepler, genetik faktörler gibi dış faktörlerin sorumlu olabileceği belirtilmiştir. BİOPKU veri tabanında p.R261Q mutasyonunu homozigot olarak gösteren vakaların %78'i, p.L48S mutasyonunu homozigot olarak gösteren vakaların %79'u, p.L48S/p.R261Q mutasyonunu bileşik heterozigot olarak gösteren vakaların %77'si BH4 yanıtı olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda ise p.L48S/p.R261Q bileşik heterozigot genotipini gösteren Hafif PKU klinik fenotipine sahip bir vaka, yenidoğanda 24 saatlik BH4 yükleme testinde BH4 yanıtı saptanmıştır (Tablo 10).

İzlemde klinik fenotipte değişim. Yenidoğanda protein metabolizması ve beslenmenin PKU taraması üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, 22 PKU'lu yenidoğanın fenotip, genotip, diyet Phe alımı, kan alınma zamanı ve Phe metabolizması incelenmiştir. Yenidoğanda protein katabolizması yüksekliğinin, HPA'da ana belirleyici faktör olduğu düşünülmüştür. Hastalar *Phe toleransına* göre gruplandırıldığında, Hafif HPA ve Hafif PKU'da, genetik faktörler ve katabolik durumun birlikte değerlendirilmesi gerektiği gösterilmiştir. Sonuç olarak ilk tanıdaki kantitatif Phe düzeyi ile PKU fenotiplendirmesinin kesin doğru sonuç veremeyebileceği ve erken dönemdeki yenidoğan tarama sonuçları için endişelerin önemi gösterilmiştir (108). Çalışmamızda, vakaların klinik fenotipleri incelendiğinde; ilk tanısı Hafif HPA ve tanı yaşı medyan 11 gün olan, tedavi gereksinimi olmayan vakaların %72'si, izlemde Phe düzeyini 600 $\mu\text{mol/L}$ 'nin üzerine aşarak Hafif PKU'ya değişmiş ve bu hastalara tedavi başlanmıştır.

İzlemde tanısı Hafif HPA olarak kalan 3 vakanın genotipi incelendiğinde; p.L48S/p.A403V bileşik heterozigotluğu (n=2) ve p.L48S/p.R261* bileşik heterozigotluğu (n=1) gösterdikleri belirlenmiştir. BİOPKU veri tabanında p.L48S/p.A403V genotipini gösteren vakaların %20'si Hafif PKU, %80'i ise Hafif HPA olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda p.L48S/p.A403V bileşik heterozigot genotipinde olan 2 vaka 11 ve 65. aylarına kadar izlenmiş ve bu süreçte Hafif HPA olarak kalmışlardır. İlk vaka izlemi kabul etmemiş ve son

değerlendirmeye de gelmemiştir. 12 aylıkken başka bir merkeze başvurduğunu ve Hafif HPA olması nedeniyle izlemiden çıkarıldığını bildirmiştir. İkinci vakanın son değerlendirmede alınan üç günlük besin tüketim kaydı ile hesaplanan ortalama Phe toleransı 38,3 mg/kg/gün olarak saptanması üzerine '*Tolerans-Fenotip Uyumsuz Grup*'a dahil edilmiştir. Bu vakanın diğer iki kardeşi Hafif PKU tanısıyla tedavi görmektedir. Aile içi mutfak alışkanlığı göz önünde bulundurulduğunda 2 kardeşi Hafif PKU klinik fenotipinde olan bu hastanın, düşük doğal protein -dolayısıyla düşük Phe alımı nedeniyle Phe toleransının düşük saptanmış olabileceği düşünülmüştür. BİOPKU veri tabanında p.L48S/p.R261* genotipindeki vakaların %50'si Klasik PKU, %50'si ise Hafif PKU olarak bildirilmiştir. Çalışmamızda p.L48S/p.R261* mutasyonunu bileşik heterozigot olarak gösteren vaka ise 9,7 aylık olana kadar izlenmiş, bu süreçte Hafif HPA olarak kalmış, sonrasında izlemi bırakmış ve son değerlendirmeye gelmemiştir. Klinik fenotipi BİOPKU veri tabanında bildirilen vakalar ile uyumsuz olan bu vakanın fenotipinin PKU'ya değişmiş olabileceği düşünülmüştür.

Mutasyonlar. Çalışma vakalarının 2. alel dağılımları değerlendirildiğinde (Tablo 7); kuzen olan 2 hastanın mutasyonları p.L48S/c.164delT bileşik heterozigot saptanmıştır. 2. aleldeki mutasyon c.164delT PKU veri tabanında yoktur (1), OMİM (94)'de Refsum hastalığı ile ilişkili bulunmuştur. Kliniğimizde 588 HPA vakasında yapılan daha önceki çalışmada, 12 hastanın bu mutasyonu bileşik heterozigot olarak taşıdığı belirlenmiştir (72).

Alel 1'de p.L48S mutasyonu gösteren vakaların alel 2'deki mutasyonlarının varyasyon tipi ve protein alanı dağılımı Ek Tablo 2a'da verilmiştir. İkinci aleller değerlendirildiğinde; BİOPKU veri tabanı ile benzer sonuçlara varılmıştır. En sık saptanan varyasyon tipi, vakaların %59,3'ünde belirlenen yanlış anlamlı ('missense') mutasyondur. En sık etkilenen protein alanı ise vakaların %49,2'sinde belirlenmiş olan katalitik alandır.

Alel 1'de p.L48S mutasyonu gösteren vakaların alel 2 mutasyonuna göre varyasyon tipi Ek Tablo 2b'de, son tanıya göre alel 2 varyasyon tipi ve etkilenen protein alanı dağılımı ve karşılaştırılması Ek Tablo 2d'de verilmiştir. En sık görülen IVS10-11G>A mutasyonunda *kırılma hatası* ('splice'); p.L48S, p.P281L ve p.R261Q mutasyonlarında *yanlış anlamlı* varyasyon mevcuttur. Son değerlendirmede Hafif HPA, Hafif PKU ve Klasik PKU olarak belirlenen vakaların varyasyon tipleri arasında istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı farklılık saptanmıştır (p=0,004). Klasik PKU grubunda kırılma hatası varyasyon oranı, Hafif PKU grubunda yanlış anlamlı varyasyon oranı, Hafif HPA grubunda dur kodonu ('nonsense') varyasyon oranı yüksek bulunmuştur. Blau ve ark. (32), kırılma hatası varyasyonlarının Klasik veya Hafif PKU'ya sebep olabileceklerini ve farklı fenotipik ilişkilere sahip olduklarını

belirlemiştir. Çalışma grubumuzda da kırılma hatası varyasyonunu gösteren vakaların %35,3'si Hafif PKU, %64,7'si Klasik PKU klinik fenotipindedir. Son tanıda Hafif HPA, Hafif PKU ve Klasik PKU saptanan vakaların protein alanları istatistiksel olarak anlamlı fark göstermektedir ($p=0,006$). Hafif HPA grubunda katalitik oranı, Hafif PKU grubunda ise regülatör oranı yüksektir (Ek Tablo 2d).

Çalışma grubumuzu oluşturan, alel 1'de p.L48S mutasyonu gösteren vakaların alel 2 mutasyonuna göre etkilenen protein alanı dağılımları Ek Tablo 2c'de verilmiştir. En sık görülen IVS10-11G>A mutasyonuna sahip vakalarda etkilenen protein alanı bilinmezken; p.L48S mutasyonuna sahip vakalarda regülatör, p.P281L ve p.R261Q mutasyonuna sahip vakalarda katalitik protein alanı etkilenmiştir. *BH4 yanıtlılık*la ilişkili olan mutasyonlar çoğunlukla doğrudan proteinin kofaktör bağlantısına dahil olmayan, katalitik alanında bulunmuştur (105). Çalışma grubumuzda etkilenen protein alanı katalitik alan olan mutasyonları gösteren vakaların BH4 yükleme testi yanıtları incelendiğinde, %28,5'i BH4 yanıtı, %71,5'i ise BH4 yanıtı olarak belirlenmiştir (Tablo 10). Trefz ve ark. (97), genotip ile BH4 yanıtı uyumlu olmayan mutasyonların regülatör alanla ilişkili olduğunu ileri sürmüştür. Çalışmamızda da regülatör alanı etkileyen p.L48S mutasyonuna sahip homozigot vakalar, BH4 yanıtı açısından her üç yanıtı (yanıtlı, kısmi yanıtlı, yanıtı) da vermiştir (Tablo 10).

BİOPKU veri tabanı ile çalışma vakalarının özelliklerinin karşılaştırılması. BİOPKU veri tabanı (1) ndaki vakalar ile çalışmamızdaki vakaların genotipe göre dağılımı Ek Tablo 3'te, klinik fenotipe göre karşılaştırmaları ise Ek Tablo 4'te verilmiştir. Çalışmada bileşik heterozigot olan vakaların, alel2'deki mutasyonlarının, BİOPKU veri tabanında bu mutasyonu homozigot gösteren vakaların klinik fenotipleri ile karşılaştırılması Ek Tablo 4'te verilmiştir.

Hafif HPA tanısına ilişkin değerlendirmeler. Çalışmada vakaların Hafif HPA klinik fenotipinde olma oranı ile BİOPKU veri tabanında aynı mutasyon saptanmış vakaların, alel 2 mutasyonlarını BİOPKU veri tabanında ve çalışmada homozigot olarak gösteren vakaların Hafif HPA tanılı olma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki saptanmamıştır ($p>0,05$).

Hafif PKU klinik fenotipine ilişkin değerlendirmeler. Çalışmada yer alan vakaların Hafif PKU klinik fenotipinde olma oranları ile BİOPKU veri tabanındaki vakaların ikinci alellerini homozigot taşıyan vakaların, Hafif PKU klinik fenotipinde olma oranları arasındaki pozitif yönlü zayıf ilişki istatistiksel olarak anlamlı saptanmıştır ($r:0,254$; $p=0,049$).

Çalışmada yer alan vakaların Hafif PKU klinik fenotipinde olma oranları ile BİOPKU veri tabanında aynı mutasyon saptanan vakaların, Hafif PKU klinik fenotipinde olma oranları arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmamıştır ($p>0,05$).

Çalışmada yer alan vakaların Hafif PKU klinik fenotipinde olma oranları ile ilk çalışmamızdaki vakaların ikinci alellerini homozigot taşıyanların, Hafif PKU klinik fenotipinde olma oranları arasında pozitif yönlü ilişki istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı saptanmıştır ($r:0,400$; $p=0,003$) (78).

Klasik PKU klinik fenotipine ilişkin değerlendirmeler. Çalışmada yer alan vakaların Klasik PKU klinik fenotipinde olma oranları ile BİOPKU veri tabanındaki vakaların ikinci alellerini homozigot taşıyanların Klasik PKU olma oranları arasında pozitif yönlü ilişki istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı saptanmıştır ($r:0,640$; $p=0,001$).

Çalışmada yer alan vakaların Klasik PKU olma oranları ile BİOPKU veri tabanında aynı mutasyon saptanan hastaların Klasik PKU olma oranları arasında pozitif yönlü ilişki istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı saptanmıştır ($r:0,729$; $p=0,001$).

Çalışmada yer alan vakaların Klasik PKU olma oranları ile ilk çalışmamızdaki vakaların ikinci alellerini homozigot taşıyanların Klasik PKU olma oranları arasında pozitif yönlü ilişki istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı saptanmıştır ($r:0,626$; $p=0,001$).

Çalışmada yer alan BH4 yükleme testi yapılan vakalardan %47,3'ü BH4 yanıtı, %36,1'i BH4 yanıtı ve %15,7'si BH4 kısmi yanıtı olarak saptanmıştır (Tablo 5). BİOPKU veri tabanında aynı mutasyon saptanan hastaların BH4 yükleme testinde yanıtı oranı %56,5, yanıtı oranı %35,1, kısmi yanıtı oranı %7,3 olarak bildirilmiştir. BİOPKU veri tabanındaki vakalarımızın alel 2 mutasyonunu homozigot olarak gösteren vakaların BH4 yükleme testinde yanıtı oranı %37,2, yanıtı oranı %55,9, kısmi yanıtı ise %6,2 olarak saptanmıştır (Ek Tablo 5).

Çalışmada yer alan vakalar ile BİOPKU veri tabanında aynı mutasyona sahip alel 2 mutasyonunu homozigot gösteren vakaların BH4 yükleme testine yanıtlarının karşılaştırması Ek Tablo 6'da verilmiştir.

Çalışmada yer alan vakaların BH4 yükleme testinde *yanıtı/yanıtı/kısmi yanıtı* oranları ile BİOPKU veri tabanında aynı mutasyonu gösteren vakaların değerleri ile ayrıca alel 2 mutasyonunu homozigot olarak gösteren vakaların BH4 *yanıtı/yanıtı/kısmi yanıtı* oranları ile karşılaştırıldığında aralarındaki pozitif yönlü ilişki her üç grupta da istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı saptanmıştır.

Ailede indeks vaka dışında benzer durum. Bu çalışmadaki aileler incelendiğinde; 9 ailede indeks vaka dışında HPA vakaları belirlenmiştir. Bir ailede vakaların 1. derece kuzen, diğer 8 ailede ise kardeş oldukları görülmüştür. Ailelerdeki genotipi belirlenmemiş, çalışmaya dahil olmayan HPA vakaları sorgulandığında; 7 ailede indeks vaka dışında 1 HPA, 2 ailede ise indeks vaka dışında 2 HPA vakası mevcuttur.

Kardeş olan vakaların farklı mutasyonlar (p.L48S/p.L48S - p.L48S/p.A403V; p.L48S/p.R261Q - p.L48S/p.R261*) gösterdiği 2 farklı aile belirlenerek ebeveynlerden birinin iki ayrı PKU mutasyonunu taşıdığı düşünülmüştür.

Kardeş olan vakaların mutasyonları aynı (p.L48S/IVS10-11G>A) olsa da farklı klinik fenotip (Hafif PKU, Klasik PKU) gösterdikleri 2 farklı ailede belirlenmiştir. Bu durum HPA'larda görülen yüksek alelik heterojenite ile ilişkili bulunmuştur (61).

Kardeş olan vakaların mutasyonları aynı (p.L48S/p.L48S, p.L48S/p.L48S, p.L48S/IVS10-11G>A) olsa da izlemde klinik fenotipin Hafif HPA'dan Hafif PKU'ya değişimi açısından farklı davranabilecekleri 3 farklı ailede görülmüştür. Genotipi homozigot p.L48S olarak belirlenen 2 kardeşten indeks vakanın ilk tanısı, 0,48 aylıkken yenidoğan tarama ile Hafif HPA olarak belirlenmiş, izlemde 16,8 aylıkken kantitatif Phe düzeyinin 600 µmol/L'yi aşması üzerine klinik fenotipi Hafif PKU'ya değişmiş ve tedavi başlanmıştır. Bu vaka 6 ay sadece anne sütü ile beslenmiş, formül süt almamış ve 24 aylıkken memeden kesilmiştir. İndeks vakanın tanı alması üzerine yapılan aile taramasında tanı alan kardeşinin ilk tanı klinik fenotipi 8 yaşında Hafif PKU olarak belirlenmiştir. Başka bir ailede ise genotipi p.L48S/IVS10-11G>A bileşik heterozigot saptanan 2 kardeşten indeks vaka 30 aylıkken DMH selektif tarama ile tanı almış, ilk tanı klinik fenotipi Klasik PKU olarak belirlenmiştir. Kardeşi ise yenidoğan tarama ile tanı almış, 0,12 aylıkken ilk tanısı Hafif HPA olarak belirlenmiş, izlemde 2,4 aylıkken klinik fenotipi Hafif PKU'ya değişmiştir. Bu vaka 0,24 aylıkken formül süt ile beslenmeye başlamış, 5 aylıkken memeden kesilmiştir (Tablo 12-25). Bu iki aile incelendiğinde, tanı yaşı arttıkça alınmış olan protein miktarı artacağından, başvuru kan Phe düzeylerinin daha yüksek saptanmış olabileceği düşünülmüştür.

Yaşam boyu Phe toleransı. Türkiyede anne sütü ile beslenme sıklığı Avrupa'ya göre daha yüksektir. Çalışmamızda bir yaş öncesinde PKU hastalarının fenilalaninden kısıtlı, tirozinden zengin formula ile birlikte serbest anne sütü alımı nedeniyle, bu vakaların Phe toleransları değerlendirmeye dahil edilmemiştir. Bir yaş sonrası, anne sütü almayan, tek başına beslenme tedavisi uygulanan vakaların yaşam boyu Phe toleransları gruplandırılarak çalışmada değerlendirilmiştir (Tablo 15-16).

Genotipe göre BH4 yanıtılılığının tahminini araştıran bir çalışmada, 61 vakada en sık karşılaşılan p.L48S (31%), p.R408W (16.4%), p.P281L (6%) ve p.E390G (5.2%) mutasyonları olmuştur. Hastaların fenotipik sınıflandırılması, iki parametreye göre yapılmıştır: tedavi öncesi/maksimum kantitatif Phe düzeyi ve Phe toleransı. İki fenotip sadece p.L48S mutasyonunu homozigot ve heterozigot gösteren hastalarda eşleşmemiş, bu mutasyona sahip hastalarda fenotipik sınıflandırmada Phe toleransının daha iyi bir parametre olduğu ileri sürülmüştür (2). Çalışmamızda 2 yaş ve üzerindeki PKU vakalarında yaşam boyu Phe toleransı değerlendirildiğinde; p.L48S homozigot vakaların heterozigot vakalara oranla Phe toleransının (mg/gün ve mg/kg/gün) yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 15).

PKU'lu 7 yaş altındaki çocuklarda yaşam boyu Phe toleransı değerlendirildiğinde; çalışmamızda klinik fenotipe (Hafif PKU, Klasik PKU) göre vakaların Phe toleransının (mg/gün ve mg/kg/gün) anlamlı fark göstermediği belirlenmiştir. Başvuru Phe düzeyine göre ilk tanı klinik fenotipi Klasik PKU olan bu vakaların, izlemde 7 yaşına kadar ortalama Phe toleranslarının 20 mg/kg/gün'ün üzerinde seyrettiği ve Hafif PKU klinik fenotipindeki vakalar ile anlamlı fark göstermediği farkedilmiştir. p.L48S mutasyonunu en az bir alelde gösteren -in vitro enzim aktivitesi %39 saptanması nedeniyle hafif klinik fenotip öngörülen (32) bu vakaların, her ne kadar başvuru kan Phe düzeyine göre konulan ilk tanı klinik fenotipleri Klasik PKU olsa da izlemde değerlendirilen Phe toleransları Hafif PKU klinik fenotipi ile uyumlu bulunmuştur. 7 yaş ve üzerinde ise Hafif PKU klinik fenotipindeki vakaların Phe toleransının, Klasik PKU klinik fenotipindeki vakaların Phe toleransına oranla beklendiği gibi yüksek olduğu görülmüştür (Tablo 16). Ek olarak 7 yaşından sonra vakaların Phe toleransı (mg/kg/gün) nın azaldığı görülmüştür (Şekil 5-8-9). von Spronsen ve ark (88) ise, 1 yaşından itibaren Phe toleransının azaldığını belirlemiştir.

Çalışma vakalarının son değerlendirmesi. Cinsiyete göre vakaların Phe düzeylerindeki farklılığın değerlendirildiği bir çalışmada, ergen erkeklerin düzeylerinin daha yüksek olduğu gösterilmiştir (109). Çalışmamızda da cinsiyete göre son başvuru Phe, Tyr ve Phe/Tyr değerleri incelendiğinde, kızların Phe ve Phe/Tyr değerleri erkeklerden düşük, Tyr değerleri ise erkeklerden yüksek saptanmıştır.

Üç günlük besin tüketim kaydı. PKU fenotiplendirmesinde, Phe toleransı iyi bir gösterge olsa da standardize koşullarda değerlendirilmezse güvenilir sonuçlar elde edilmeyebilir. Zurflüh ve ark. (67), günlük pratikte önerilen Phe alımının, hastanın aldığı Phe miktarından daha düşük olabileceğini düşünerek standardize koşullarda ve hastaya göre hazırlanmış diyet protokolleri ile değerlendirme önermiştir. Çalışmamızda son değerlendirilen üç günlük besin

tüketim kaydı verilerine göre homozigot vakaların %80'i (n=4), heterozigot vakaların ise %76,9'u (n=10) RDA'ya göre alması gerekenden düşük protein tüketmiştir. Diyet tedavisi uygulanan bu vakaların, malnütrisyon riskine ek olarak, poliklinik kontrolüne gelmeden önce diyetlerini olması gerektiğini düşündükleri şekilde kısıtlı protein içerikli almış olabilecekleri de ihtimaller arasındadır.

Hafif PKU klinik fenotipi oranı daha yüksek olan homozigot vakaların, heterozigotlara oranla Phe toleransı (mg/kg/gün) nın da daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 20). Klinik fenotipe göre değerlendirildiğinde ise Hafif PKU klinik fenotipine sahip vakaların doğal protein alımı ve Phe toleransı (mg/gün ve mg/kg/gün) nın Klasik PKU klinik fenotipine sahip vakalara kıyasla daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Tablo 22). Klinik hafifleştikçe Phe toleransının artması beklenen bir sonuçtur (32).

von Spronsen ve ark. (88), hem tedavi öncesi kan Phe konsantrasyonu, hem de 1 ay, 6 ay, 1, 2, 3, ve 5 yaş Phe toleransının 10 yaşındaki Phe toleransı ile korelasyonunu araştırmıştır. Sonuç olarak 2, 3, 5 yaş Phe toleransı ile 10 yaş Phe toleransı arasında korelasyon olduğu saptanmıştır. Buna ters olarak başka bir çalışmada ise Macleod ve ark. (91), erişkinlerde tekrar Phe toleransı değerlendirilmesinin gerekli olabileceğini göstermiştir. Çalışmamızdaki vakaların ise, 1 yaşından itibaren yaşam boyu değerlendirilen Phe toleransı ile son değerlendirilen üç günlük besin tüketim kaydının ortalama Phe toleransı (mg/kg/gün) nın korelasyonu araştırıldığında; 7 yaş öncesinde değerlendirilen Phe toleransı ile güncel Phe toleransı arasında korelasyon saptanmamış, 7 yaştan sonra ise pozitif yönlü istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı ilişki saptanmıştır.

İzlemde klinik fenotipi değişen vakaların değerlendirilmesi. BİOPKU veri tabanında homozigot p.L48S mutasyonu gösteren vakaların %8,57'si Hafif HPA tanısına sahiptir; çalışmamızda ilk tanısı Hafif HPA olan homozigot p.L48S genotipteki vakaların tamamı izlemde Hafif PKU klinik fenotipi göstermiştir. Hafif HPA'lar dünyada erken tanı aldıkları ve uzun süre izlenmedikleri için bu değişimin farkedilmemiş olabileceği düşünülmüştür.

Çalışmamızda izlemde klinik fenotipi değişime uğrayan vakaların tamamı yenidoğan tarama ile tanı almıştır; tanı yaşları incelendiğinde 0,12 ay ile 3,24 ay arasında değişmektedir. Katabolik süreçlerin ve protein alımındaki değişimin kan Phe düzeyini artırabileceği bilinen bir gerçektir; bu sebeple daha tanı anında aileler bu konuda bilgilendirilerek bu durumlarda kan damlası örneği göndermeleri açısından uyarılmaktadır. Bu çalışmada vakaların %12,5'inde

bilinen katabolik süreç ve/veya protein alımında artış olmadan klinik fenotipin değiştiği görülmüştür.

Hafif HPA vakalarının da nadiren değişime uğrayabileceği yapılmış olan çalışmalarda belirtilmiştir (110). Bu nedenle, yenidoğan tarama ile ilk tanısı Hafif HPA olarak belirlenen her vakanın en az bir yıl boyunca takip edilerek klinik fenotipte değişim açısından değerlendirilmesi önerilmektedir (48). Kliniğimizde ise Hafif HPA tanılı erkek vakalar 24 aylık olana kadar, kız vakalar ise (kendi gebeliklerindeki maternal etki açısından bilgilendirilmesi ve yıllık muayenelerinin yapılarak iletişimin koparılmaması için) yaşam boyu izlenmekte, fenotip değişimi için Phe kesit değeri 600 $\mu\text{mol/L}$ olarak kabul edilmektedir. Çalışmamızda vakaların fenotip değişim yaşları 2,4 ay ile 25,9 ay arasında değişmektedir, medyan 11,4 ay olarak belirlenmiştir (Tablo 25). Klinik fenotipi 25,9 aylıkken değişim gösteren erkek vakanın izlemine Hafif PKU tanılı kardeşi olması nedeniyle devam edilmiş ve değişim farkedilmiştir. Çalışmamızda ilk tanısı Hafif HPA olan vakaların literatürde belirtildiği şekilde bir yıl süreyle izleminin yetersiz olacağı, verilerimize göre Hafif HPA vakalarının düzenli kan Phe tayinleri ile iki yaşın üzerinde de izleminin değerlendirilmesi sonucuna ulaşılmıştır.

Kliniğimizde yapılmış olan bir çalışma sonucunda ilk tanısı Hafif HPA olan vakaların Phe düzeyinin 360 $\mu\text{mol/L}$ 'yi iki kez geçmesinin, PKU tedavisi başlanması için yeterli olabileceği; başvuru Phe düzeyi için 172 $\mu\text{mol/L}$ 'ün ve fenilalanin/tirozin için 2,8 değerinin, Hafif HPA'dan PKU'ya değişen vakaları önceden tahmin etmek için yol gösterici olabileceği sonucuna ulaşılmıştır (73). Bu çalışmada, izlemde klinik fenotipi değişim gösteren vakaların başvuru Phe değeri 227-487 $\mu\text{mol/L}$, Phe/Tyr değeri 2,24-11,8 arasında değişmektedir. 5 vakanın başvuru Phe değeri >360 $\mu\text{mol/L}$ olarak belirlenmiştir. Başvuru Phe/Tyr değeri kaydedilen vakaların %80'inin Phe/Tyr >2,8 olarak belirlenmiştir. Fenotip değişim yaşı 16,8 ay olan vakanın değişim için Phe kesit değeri 360 $\mu\text{mol/L}$ olarak alınırsa değişim yaşının 14,4 ay; fenotip değişim yaşı 25,9 ay olan vakanın değişim için Phe kesit değeri 360 $\mu\text{mol/L}$ olarak alınırsa değişim yaşının 0,3 ay olacağı belirlenmiştir.

İzlemde tanısı Hafif HPA'dan Hafif PKU'ya değişen vakalar incelendiğinde, 3 vakanın genotipi p.L48S homozigot, 2 vakanın genotipi p.L48S/p.E390G, kardeş olan 2 vakanın genotipi p.L48S/p.R241H, 1 vakanın genotipi p.L48S/IVS10-11G>A olarak belirlenmiştir.

Aynı mutasyonda klinik fenotipte değişim yüzdesi. p.L48S/p.R241H genotipine sahip vakalarda %100, p.L48S/p.E390G genotipine sahip vakalarda %66, p.L48S homozigot vakalarda %25, p.L48S/IVS10-11G>A genotipine sahip vakalarda ise %7 olarak belirlenmiş; bu genotiplere sahip vakaların ilk tanısı Hafif HPA ise fenotip değişimi açısından izlemine

devam edilmesinin gerektiği sonucuna varılmıştır. Kaynaklar incelendiğinde; HPA’da klinik fenotip değişimine uğrayan, PKU tedavisi için kesit (cut-off) sınırını geğen vakaların genotipik özelliklerini inceleyen araştırmalara rastlanmamıştır.



6. SONUÇ

1. Vakaların ilk tanı klinik fenotipleri incelendiğinde; %16,9 (n=11) Hafif HPA, %40 (n=26) Hafif PKU, %43 (n=28) Klasik PKU fenotipinde olduğu; literatürde in vitro enzim aktivitesi (%39) değerlendirildiğinde hafif fenotip öngörülen bu mutasyona sahip vakaların fenotiplerinin tutarsız olduğu,
2. p.L48S mutasyonuna sahip, ilk tanı klinik fenotipi Hafif HPA olan vakaların, izlemde fenilalanin düzeyi ≥ 600 $\mu\text{mol/L}$ seviyesini aşarak Hafif PKU'ya geçebileceği, çalışmadaki vakalarda bu oranın yüksek [n=8 (%72)] olduğu ,
3. Zigoziteye göre değerlendirildiğinde, homozigot vakaların yenidoğanda tetrahidrobiyopterin yükleme testinde yanıtılık oranı (%60)nın, bileşik heterozigot vakaların yanıtılık oranı (%28,5) ndan yüksek olduğu,
4. İzlemde klinik fenotipi Hafif HPA olarak kalan 3 vakanın genotipi incelendiğinde: p.L48S/p.A403V bileşik heterozigotluğu (n=2) ve p.L48S/p.R261* bileşik heterozigotluğu (n=1) gösterdikleri,
5. Kardeş olan vakaların farklı mutasyonlar (p.L48S/p.L48S -p.L48S/p.A403V; p.L48S/p.R261Q - p.L48S/p.R261*) gösterebileceği, bu durumda ebeveynlerden birinin iki ayrı PKU mutasyonunu taşıyor olabileceği,
6. Kardeş olan vakaların mutasyonları aynı (p.L48S/IVS10-11G>A) olsa da farklı klinik fenotip (Hafif PKU, Klasik PKU) gösterebileceği,
7. Kardeş olan vakaların mutasyonları aynı (p.L48S/p.L48S, p.L48S/p.L48S, p.L48S/IVS10-11G>A) olsa da izlemde klinik fenotip (Hafif HPA'dan Hafif PKU'ya) değişimi açısından farklı davranabileceği,
8. 2 yaş ve üzerindeki yaşam boyu Phe toleransı değerlendirildiğinde, p.L48S homozigot vakaların heterozigot vakalara oranla Phe toleransının (mg/gün, mg/kg/gün) yüksek olduğu,
9. 7 yaş altındaki yaşam boyu Phe toleransı değerlendirildiğinde, klinik fenotipe (Hafif PKU, Klasik PKU) göre vakaların Phe toleransının (mg/gün, mg/kg/gün) anlamlı fark göstermediği,

10. 7 yaş ve üzerinde Phe toleransının azaldığı ve Hafif PKU klinik fenotipindeki vakaların Phe toleransının, Klasik PKU klinik fenotipindeki vakaların Phe toleransına oranla yüksek olduğu,
11. Güncel üç günlük besin tüketim kayıtları değerlendirildiğinde, p.L48S homozigot vakaların Phe toleransının (mg/kg/gün), bileşik heterozigot vakalara göre daha yüksek olduğu,
12. Güncel üç günlük besin tüketim kayıtları değerlendirildiğinde, Hafif PKU klinik fenotipindeki vakaların Phe toleransının (mg/gün, mg/kg/gün) ve doğal protein alımlarının Klasik PKU klinik fenotipteki vakalara göre daha yüksek olduğu,
13. Güncel üç günlük besin tüketim kaydı analizi verileri ile 7 yaş ve üzeri dönemdeki yaşam boyu Phe toleransı (mg/kg/gün) değerleri karşılaştırıldığında aralarında anlamlı korelasyon olduğu,
14. HHPA klinik fenotipindeki vakaların katabolik süreç ve/veya protein alımındaki artıştan etkilenerek kan Phe düzeylerinin Hafif PKU'ya değişebileceği, çalışma grubundaki vakaların klinik fenotipindeki değişim yaşları (ortalama 11,65 ay; maksimum 25,9 ay) göz önüne alındığında, Hafif HPA vakalarının en az 30-36 ay boyunca izlenmesi ve bu süre içinde kan fenilalanin yüksekliğine göre en az ayda bir kan örneği gönderimi yapması gerektiği,
15. Katabolik süreç ve/veya protein alımındaki artış dışında da belirgin bir klinik nedene bağlı olmadan klinik fenotipin Hafif HPA'dan Hafif PKU'ya değişebileceği,
16. p.L48S mutasyonuna sahip bu vakaların, Klasik PKU klinik fenotipinde kırılma hatası ('splice'), Hafif PKU klinik fenotipinde yanlış anlamlı, Hafif HPA klinik fenotipinde dur kodonu ('nonsense') mutasyonu görülme sıklığının arttığı,
17. Etkilenen protein alanına göre Hafif HPA klinik fenotipinde katalitik alanın, Hafif PKU klinik fenotipinde ise regülatör alanın etkilenme oranının yüksek olduğu,
18. Çalışmada yer alan vakaların Hafif PKU klinik fenotipinde olma oranları ile BİOPKU veri tabanındaki vakaların ikinci alellerini homozigot taşıyan vakaların, Hafif PKU klinik fenotipinde olma oranları arasındaki pozitif yönlü zayıf ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu,

19. Çalışmada yer alan vakaların Hafif PKU klinik fenotipinde olma oranları ile ilk çalışmamızdaki vakaların ikinci alellerini homozigot taşıyanların, Hafif PKU klinik fenotipinde olma oranları arasında pozitif yönlü ilişkinin istatistiksel olarak anlamlı olduğu,
20. Çalışmada yer alan vakaların Klasik PKU klinik fenotipinde olma oranları ile BİOPKU veri tabanındaki vakaların ikinci alellerini homozigot taşıyanların Klasik PKU olma oranları arasında pozitif yönlü ilişkinin istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı olduğu,
21. Çalışmada yer alan vakaların Klasik PKU olma oranları ile BİOPKU veri tabanında aynı mutasyon saptanan hastaların Klasik PKU olma oranları arasında pozitif yönlü ilişkinin istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı olduğu,
22. Çalışmada yer alan vakaların Klasik PKU olma oranları ile ilk çalışmamızdaki vakaların ikinci alellerini homozigot taşıyanların Klasik PKU olma oranları arasında pozitif yönlü ilişkinin istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı olduğu,
23. Çalışmada yer alan vakaların yenidoğanda 24 saatlik BH4 yükleme testinde BH4 *yanıtsızlık/yanıtlılık/kısmi yanıtlılık* oranları ile BİOPKU veri tabanında aynı mutasyonu gösteren vakaların değerleri ile ayrıca alel 2 mutasyonunu homozigot olarak gösteren vakaların BH4 *yanıtsızlık/yanıtlılık/kısmi yanıtlılık* oranları ile karşılaştırıldığında aralarındaki pozitif yönlü ilişkinin her üç grupta da istatistiksel olarak ileri derecede anlamlı olduğu,
24. Başlangıç kan Phe düzeyine göre klinik fenotipi belirlenen PKU hastalarının izleminde yaşam boyu Phe toleransları ile klinik fenotip arasındaki uyumsuzluğun görülmesi nedeniyle, vakaya özgü izlem ile değerlendirmenin yapılması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır.

7. KAYNAKLAR

1. <http://www.biopku.org/> [Erişim Tarihi:15.02.2019].
2. Djordjevic M, Klaassen K, Sarajlija A, Tosic N, Zukic B, Kecman B, et al. Molecular genetics and genotype-based estimation of BH4-responsiveness in Serbian PKU patients: spotlight on phenotypic implications of p. L48S. In: JIMD Reports–Case and Research Reports, 2012/6. Springer, Berlin, Heidelberg, 2012;49-58.
3. Buck PS. The child who never grew. Bethesda, MD: Woodbine House; 1992.
4. Finger S, Christ SE, Pearl S. Buck and phenylketonuria (PKU). J Hist Neurosci 2004;13:44-57.
5. Centerwall SA, Centerwall WR. The discovery of phenylketonuria: the story of a young couple, two retarded children, and a scientist. Pediatr 2000;105;89-103.
6. Christ SE. Asbjorn Folling and the discovery of phenylketonuria. J Hist Neurosci 2003;12:44-54.
7. Følling A. Utskillelse av fenylpyrodruesyre i urinen som stoffskifteanomali i forbindelse med imbecillitet. Nord Med Tidskr, 1934;8:1054-9.
8. Penrose LS. Inheritance of phenylpyruvic amentia (phenylketonuria). Lancet 1935;2:192-4.
9. Penrose LS, Quastel JH. Metabolic studies in phenylketonuria. Biochem J 1937;31:266-74.
10. Jervis GA. Phenylpyruvic oligophrenia deficiency of phenylalanine-oxidizing system. Proc Soc Exp Biol Med. 1953;82:514-5.
11. Bickel H, Gerrard J, Hickmans EM. Influence of phenylalanine intake on phenylketonuria. Lancet 1953;2:812-3.
12. Guthrie R, Susi A. A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. Pediatr 1963;32:338-43.
13. Lidksy AS, Robson KJ, Thirumalachary CH, Barker PE, Ruddle FH, Woo SL. The PKU locus in man is on chromosome 12. Am J Hum Genetics 1984;36:527–33.
14. National Institutes of Health Consensus Development Panel. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: phenylketonuria: screening and management, October 16–18, 2000. Pediatr 2001;108:972-82.
15. Thomason MJ, Lord J, Bain MD, Chalmers RA, Littlejohns P, Addison GM, et al. A systematic review of evidence for the appropriateness of neonatal screening programmes for inborn errors of metabolism. J Public Health Med 1998;20:331-43.
16. Cabalska B, Duczyńska N, Borzymowska J, Zorska K, Koślacz-Folga A, Bożkowska K. Termination of dietary treatment in phenylketonuria. Eur J Ped 1977;126:253-62. .

17. Lenke RR, Levy HL. Maternal phenylketonuria and hyperphenylalaninemia. An international survey of the outcome of untreated and treated pregnancies. *N Engl J Med* 1980;303:1202-8.
18. Williams RA, Mamotte CD, Burnett JR. Phenylketonuria: an inborn error of phenylalanine metabolism. *Clin Biochem Rev* 2008;29:31-41.
19. Loeber JG. Neonatal screening in Europe; the situation in 2004. *J Inherit Metab Dis* 2007;30:430-8.
20. Demirkol M, Çelik S, Gokcay G, Ozer I, Baykal T, Karadag H, Kose R. Expanded newborn screening experience in Istanbul. *J Inherit Metab Dis* 2007;30:3.
21. Blau N, van Spronsen FJ, Levy HL. Phenylketonuria. *The Lancet* 2010;376(9750):1417-27.
22. Knappskog PM, Flatmark T, Aarden JM, Haavik J, Martínez A. Structure/function relationships in human phenylalanine hydroxylase: effect of terminal deletions on the oligomerization, activation and cooperativity of substrate binding to the enzyme. *Europ J Biochem* 1996;242:813-21.
23. Blau N. Phenylketonuria and BH4 deficiencies. 2nd ed., Bremen, UNI-MED, 2013;p.18-9.
24. Pey AL, Martinez A. The activity of wild-type and mutant phenylalanine hydroxylase and its regulation by phenylalanine and tetrahydrobiopterin at physiological and pathological concentrations: an isothermal titration calorimetry study. *Mol Genet Metab* 2005;86:43-53.
25. Kaufman S. The phenylalanine hydroxylating system. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol* 1993;67:77-264.
26. Thórólfsson M, Ibarra-Molero B, Fojan P, Petersen SB, Sanchez-Ruiz JM, Martínez A. L-phenylalanine binding and domain organization in human phenylalanine hydroxylase: a differential scanning calorimetry study. *Biochem* 2002;41:7573-85.
27. Gersting SW, Kemter KF, Staudigl M, Messing DD, Danecka MK, Lagler FB, et al. Loss of function in phenylketonuria is caused by impaired molecular motions and conformational instability. *Am J Hum Gen* 2008;83:5-17.
28. Erlandsen H, Pey AL, et al. Correction of kinetic and stability defects by tetrahydrobiopterin in phenylketonuria patients with certain phenylalanine hydroxylase mutations. *PNAS* 2004;101:16903-8.
29. Shiman R, Mortimore GE, Schworer CM, Gray DW. Regulation of phenylalanine hydroxylase activity by phenylalanine in vivo, in vitro, and in perfused rat liver. *J Biol Chem* 1982;257:11213-6.
30. Thöny B, Auerbach G, Blau N. Tetrahydrobiopterin biosynthesis, regeneration and

functions. *Biochem J* 2000;347:1-16.

31. Thöny B. Tetrahydrobiopterin and its functions. In: Blau N (ed). *Advances in phenylketonuria and tetrahydrobiopterin*. Heilbronn: SPS Verlagsgesellschaft, 2006 and p.495-546.

32. Blau N, Hennermann JB, Langenbeck U, Lichter-Konecki U. Diagnosis, classification, and genetics of phenylketonuria and tetrahydrobiopterin (BH4) deficiencies. *Mol Genet Metab* 2011;104:2-9.

33. Wilcken B, Wiley V. Newborn screening. *Pathol* 2008;40:104-15.

34. Yannicelli S, Ryan A. Improvements in behaviour and physical manifestations in previously untreated adults with phenylketonuria using a phenylalanine-restricted diet: a national survey. *J Inherit Metab Dis* 1995;18:131-4.

35. Baumeister AA. Dietary treatment of destructive behavior associated with hyperphenylalaninemia. *Clin Neuropharmacol* 1998;21:18-27.

36. Adams DJ. Treatment of an individual with phenylketonuria and neurological impairment with sapropterin. *Mol Genet Metab* 2009;98:25.

37. Gassio R, Fuste E, Lopez-Sala A, Artuch R, Vilaseca MA, Campistol J. School performance in early and continuously treated phenylketonuria. *Pediatr Neurol* 2005;33:267-71.

38. Koch R, Azen C, Freidman EG, Williamson ML. Paired comparisons between early treated PKU children and their matched sibling controls on intelligence and school achievement test results at eight years of age. *J Inherit Metab Dis* 1984;7:86-90.

39. Waisbern SE, Noel K, Fahrback K. Phenylalanine blood levels and clinical outcomes in phenylketonuria: A systematic literature review and meta-analyses. *Mol Genet Metab* 2007;92:63-70.

40. Janzen D, Nguyen M. Beyond executive function: non-executive cognitive abilities in individuals with PKU. *Mol Genet Metab* 2010;99:47-51.

41. Antshel KM, Waisbern SE. Developmental timing of exposure to elevated levels of phenylalanine is associated with ADHD symptom expression. *J Abnormal Child Psychol* 2003;31:565-74.

42. Beasley MG, Costello PM, Smith I. Outcome of treatment in young adults with phenylketonuria detected by routine neonatal screening between 1964 and 1971. *Q J Med* 1994;87:155-60.

43. Gassio R, Campistol J, Vilaseca MA, Lambruschini N, Cambra FJ, Fuste E. Do adult patients with phenylketonuria improve their quality of life after introduction/resumption of a

phenylalanine-restricted diet? *Acta Paediatr* 2003;92:1474-8.

44. Kure S, Shintaku H. Tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency. *J Hum Genet* 2018;1.

45. Bernegger C, Blau N. High frequency of tetrahydrobiopterin-responsiveness among hyperphenylalaninemias: a study of 1919 patients observed from 1988 to 2002. *Mol Genet Metab* 2002;77:304-13.

46. Blau N. Defining tetrahydrobiopterin (BH4)-responsiveness in PKU. *J Inherit Metab Dis* 2008;31:2-3.

47. Blau N. Nomenclature and laboratory diagnosis of tetrahydrobiopterin deficiencies. In Blau (ed). *PKU and BH4: Advances in Phenylketonuria and Tetrahydrobiopterin*. Heilbronn: SPS Verlagsgesellschaft; 2006 p.555-67.

48. Donlon J, Levy H, Scriver CR. Hyperphenylalaninemia: phenylalanine hydroxylase deficiency. Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, Childs B, Kinzler KW(Ed), *The Metabolic & Molecular Bases of Inherited Disease*. McGraw-Hill, New York 2007;p.1-150.

49. Blau N, Ichinose H, Nagatsu T, Heizmann CW, Zacchello F, Burlina AB. A missense mutation in a patient with guanosine triphosphate cyclohydrolase I deficiency missed in the newborn screening program. *J Pediatr* 1995;126:401-5.

50. Kirkman HN. Projections of a rebound in frequency of mental retardation from phenylketonuria. *Appl Res Ment Retard* 1982;3:319-28.

51. Koch R, Hanley W, Levy H, Matalon R, Rouse B, Cruz FD, et al. A preliminary report of the collaborative study of maternal phenylketonuria in the United States and Canada. *J Inherit Metab Dis* 1990;13:641-50.

52. Hanley WB, Clarke JTR, Schoonheydt W. Maternal phenylketonuria (PKU)—A review. *Clin Biochem* 1987;20:149-56.

53. Museum of disability history. "The Guthrie Test" (How did it all begin?). Erişim İnternet Sitesi: http://www.museumofdisability.org/original_newborn_guthrie.asp[Erişim Tarihi: 29.01.2019].

54. Özalp I, Coşkun T, Tokatlı A, Kalkanoğlu S, Dursun A, Tokol S, et al. (2001). Newborn PKU screening in Turkey: at present and organization for future. *Turk J Pediatr*. 43: 97-101.).

55. Chace DH, Millington DS, Terada N, Kahler SG, Roe CR, Hofman LF. Rapid diagnosis of phenylketonuria by quantitative analysis for phenylalanine and tyrosine in neonatal blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1993;39:66-71.

56. Lukacs, Z., & Santer, R. Evaluation of electrospray-tandem mass spectrometry for the detection of phenylketonuria and other rare disorders. *Mol Nutr Food Res* 2006;50:443-50.

57. Chace DH. Mass spectrometry in newborn and metabolic screening: historical perspective and future directions. *J Mass Spectrom* 2009;44:163–70.
58. Laboratory diagnosis of phenylketonuria. Blau, N (Ed) PKU and BH4: advances in phenylketonuria and tetrahydrobiopterin. SPS Verlagsgesellschaft, Heilbronn: 161-79.
59. <https://www.ensembl.org/index.html>[Erişim Tarihi: 11.02.2019].
60. Kayaalp E, Treacy E, Waters PJ, Byck S, Nowacki P, Scriver CR. Human phenylalanine hydroxylase mutations and hyperphenylalaninemia phenotypes: a metanalysis of genotype-phenotype correlations. *Am J Hum Genet* 1997;61:1309-17.
61. Nussbaum RL, McInnes RR, Willard HF. Thompson & Thompson Genetics in Medicine, 7th ed., Philadelphia, Elsevier, 2015;p.347-51.
62. Kim SW, Jung J, Oh HJ, Kim J, Lee KS, Lee DH, et al. Structural and functional analyses of mutations of the human phenylalanine hydroxylase gene. *Clin Chimica Acta* 2006;365:279-87.
63. Waters PJ, Parniak MA, Nowacki P, Scriver CR. In vitro expression analysis of mutations in phenylalanine hydroxylase: linking genotype to phenotype and structure to function. *Hum Mut* 1998;11:4-17.
64. Trefz FK, Burgard P, König T, Goebel-Schreiner B, Lichter-Konecki U, Konecki D et al. Genotype-phenotype correlations in phenylketonuria. *Clin Chimica Acta* 1993;217:15-21.
65. Özalp I, Coskun T, Özgüc M, Tokatlı A, Yalaz K, Vanlı L, et al. Genetic and neurological evaluation of untreated and late-treated patients with phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis* 1994;17:371.
66. Guldborg P, Rey F, Zschocke J, Romano V, François B, Michiels L, et al. A European multicenter study of phenylalanine hydroxylase deficiency: classification of 105 mutations and a general system for genotype-based prediction of metabolic phenotype. *The Am J Hum Genet* 1998;63:71-9.
67. Zurflüh MR, Zschocke J, Lindner M, Feillet F, Chery C, Burlina A, et al. Molecular genetics of tetrahydrobiopterin-responsive phenylalanine hydroxylase deficiency. *Hum Mut* 2008;29:167-75.
68. Bayat A, Yasmeen S, Lund A, Nielsen JB, Møller LB. Mutational and phenotypical spectrum of phenylalanine hydroxylase deficiency in Denmark. *Clin Genet* 2016;90.3:247-51.
69. Garbade SF, Shen N, Himmelreich N, Haas D, Trefz FK, Hoffmann GF, et al. Allelic phenotype values: a model for genotype-based phenotype prediction in phenylketonuria. *Genet Med* 2018;1.
70. Konecki DS, Schlotter M, Trefz FK, Lichter-Konecki U. The identification of two mis-

sense mutations at the PAH gene locus in a Turkish patient with phenylketonuria. *Hum Genet* 1991;87:389-93.

71. J., Zschocke. Phenylketonuria mutations in Europe. *Hum Mut* 2003;21:345-56.

72. Dobrowolski SF, Heintz C, Miller T, Ellingson C, Ellingson C, Özer I, et al. Molecular genetics and impact of residual in vitro phenylalanine hydroxylase activity on tetrahydrobiopterin responsiveness in Turkish PKU population. *Mol Genet Metab* 2011;102:116-21.

73. Erakın S. (Danışman M. Demirkol). Yenidoğan tarama ile saptanan hiperfenilalaninemi vakalarının yönetimi için kılavuz geliştirilmesi. 2014 (İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü(Çocuk Sağlığı Enstitüsü Pediatrik Temel Bilimler Anabilim Dalı). Çocuk Metabolizma Yüksek Lisans Tezi.

74. Demirkol M. Aminoasit metabolizma bozukları. *Pediyatri Neyzi O, Ertuğrul T. 1. Cilt. 4. Baskı. İstanbul, Nobel Tıp kitabevi 2010.s:792.*

75. Brumm VL, Azen C, Moats RA, Stern AM, Broomand C, Nelson MD, et al. Neuropsychological outcome of subjects participating in the PKU adult collaborative study: a preliminary review. *J Inherit Metab Dis* 2004;27:549-66.

76. Blau N, Bélanger-Quintana A, Demirkol M, Feillet F, Giovannini M, MacDonald A, et al. Management of phenylketonuria in Europe: survey results from 19 countries. *Mol Genet Metab* 2010;99:109-15.

77. <http://www.nap.edu/read/1349/chapter/7#66> [Erişim Tarihi 25.01.2019].

78. Feillet F, van Spronsen FJ, MacDonald A, Trefz FK, Demirkol M, Giovannini M, et al. Challenges and pitfalls in the management of phenylketonuria. *Pediatr* 2010;126:333-41.

79. Ahring K, Belanger-Quintana A, Dokoupil K. Dietary management practices in phenylketonuria across European centres. *Clin Nutr* 2009;28:231.

80. Demirkol M, Huner G, Kuru N, Donmez S, Bayka, T, Seckin Y. Feasibility of breast-feeding in inborn errors of metabolism: experience in phenylketonuria. *Ann Nutr Metab* 2001;45:497-8.

81. Blau N. Phenylketonuria and BH4 deficiencies. 2nd ed., Bremen, UNI-MED.2013 p.61-62.

82. MacDonald A, Rocha JC, Van Rijn M, Feillet F. Nutrition in phenylketonuria. *Mol Genet Metab* 2011;104:10-8.

83. Rocha JC, van Spronsen FJ, Almeida MF, Soares G, Quelhas D, Ramos E. Dietary treatment in phenylketonuria does not lead to increased risk of obesity or metabolic syndrome. *Mol Genet Metab* 2012;107:659.

84. Couce ML, Guler I, Anca-Couce A, Lojo M, Mirás A, Leis R et al. New insights in growth of phenylketonuria patients. *Eur J Pediatr* 2015;174:651.
85. Hammond KA. Intake: Analysis of Diet. Krause's Food and the Nutrition Care Process. Mahan LK, Escott-Stump S, Raymond JL. Elsevier, United States, 13th ed, 2012; p.275.
86. Blau N, Duran M, Gibson KM, Dionisi-Vici C, Blaskovics ME(Eds.). Physician's guide to the diagnosis, treatment, and follow-up of inherited metabolic diseases. Heidelberg: Springer, 2014;p.247-64.
87. Guttler, F. Hyperphenylalaninemia: diagnosis and classification of the various types of phenylalanine hydroxylase deficiency in childhood. *Hyperphenylalaninemia: diagnosis and classification of the various types of phenylalanine hydroxylase deficiency in childhood*. 1980, Suppl. 280.
88. van Spronsen FJ, Van Rijn M, Dorgelo B, Hoeksma M, Bosch AM, Mulder MF, et al. Phenylalanine tolerance can already reliably be assessed at the age of 2 years in patients with PKU. *J Inherit Metab Dis* 2009;32:27-31.
89. Blau N. Phenylketonuria and BH4 deficiencies. 2nd ed., Bremen, UNI-MED, 2013;p.13-5.
90. Stockler-Ipsiroglu S, Yuskiv N, Salvarinova R, Apatean D, Ho G, Cheng B, et al. Individualized long-term outcomes in blood phenylalanine concentrations and dietary phenylalanine tolerance in 11 patients with primary phenylalanine hydroxylase (PAH) deficiency treated with Sapropterin-dihydrochloride. *Mol Genet Metab* 2015;114:409-14.
91. MacLeod EL, Gleason ST, van Calcar SC, Ney DM. Reassessment of phenylalanine tolerance in adults with phenylketonuria is needed as body mass changes. *Mol Genet Metab* 2009;98:331-7.
92. BeBiS (Beslenme Bilgi Sistemi) bilgisayar yazılım programı versiyon 7.2 (2013) (Ebispro für Windows, Stuttgart, Germany; Türkçe Versiyonu). [Online]
93. <https://ndb.nal.usda.gov/ndb/nutrients/> [Erişim tarihi : 10.02.2019].
94. Stepien, K. M., Wierzbicki, A. S., Waterham, H. R., & Hendriksz, C. J. The Challenges of a Successful Pregnancy in a Patient with Adult Refsum's Disease due to Phytanoyl-CoA Hydroxylase Deficiency. In: *JIMD Reports*, Volume 33. Springer, Berlin, Heidelberg 2016;p.49-53. [Online]
95. Bercovich D, Elimelech A, Yardeni T, Korem S, Zlotogora J, Gal N, et al. A mutation analysis of the phenylalanine hydroxylase (PAH) gene in the Israeli population. *An Hum Genet* 2008;72:305-9.
96. Daniele A, Scala I, Cardillo G, Pennino C, Ungaro C, Sibilio M, et al. Functional and structural characterization of novel mutations and genotype–phenotype correlation in 51

phenylalanine hydroxylase deficient families from Southern Italy. *The FEBS J* 2009;276:2048-59.

97. Trefz FK, Scheible D, Götz H, Frauendienst-Egger G. Significance of genotype in tetrahydrobiopterin-responsive phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis* 2009;32:22-6.

98. Baldellou AV, Salazar MGB, Ruiz-Echarri MZ, Campos CC, Ruiz LD, Ugarte MP. Tetrahydrobiopterin therapy for hyperphenylalaninemia due to phenylalanine hydroxylase deficiency. When and how? *J Anals Pediatr* 2006;64:146-52.

99. Leuzzi V, Carducci C, Chiarotti F, Artiola C, Giovanniello T, Antonozzi I. The spectrum of phenylalanine variations under tetrahydrobiopterin load in subjects affected by phenylalanine hydroxylase deficiency. *J Inherit Metab Dis* 2006;29:38-46.

100. Yıldırım Ş, Tokatlı A, Yılmaz E, Coşkun T. Assessment of tetrahydrobiopterin responsiveness in Turkish hyperphenylalaninemic patients. *Turk J Pediatr* 2007;49:1-6.

101. Karačić I, Meili D, Sarnavka V, Heintz C, Thöny B, Ramadža, et al. Genotype-predicted tetrahydrobiopterin (BH4)-responsiveness and molecular genetics in Croatian patients with phenylalanine hydroxylase (PAH) deficiency. *Mol Genet Metab* 2009;97:165-71.

102. Eisensmith RC, Okano Y, Dasovich M, Wang T, Güttler F, Lou H, et al. Multiple origins for phenylketonuria in Europe. *Am J Hum Genet* 1992;51:1355.

103. Kanufre VC, Starling AL, Leão E, Aguiar MJ, Santos JS, Soares RD, et al. Breastfeeding in the treatment of children with phenylketonuria. *Jornal de Pediatria* 2007;83:447-52.

104. Shen N, Heintz C, Thiel C, Okun JG, Hoffmann GF, Blau N. Co-expression of phenylalanine hydroxylase variants and effects of interallelic complementation on in vitro enzyme activity and genotype-phenotype correlation. *Mol Genet Metab* 2016;117:328-35.

105. Muntau AC, Röschinger W, Habich M, Demmelmair H, Hoffmann B, Sommerhoff CP, et al. Tetrahydrobiopterin as an alternative treatment for mild phenylketonuria. *New Eng J Med* 2002;347:2122-32.

106. Leuders S, Wolfgart E, Ott T, du Moulin M, van Teeffelen-Heithoff A, Vogelpohl L, et al. Influence of PAH genotype on sapropterin response in PKU: results of a single-center cohort study. In: *JIMD Reports-Case and Research Reports, Volume 13*. Springer, Berlin, Heidelberg, 2013;p.101-9.

107. Hennermann JB, Bührer C, Blau N, Vetter B, Mönch E. Long-term treatment with tetrahydrobiopterin increases phenylalanine tolerance in children with severe phenotype of phenylketonuria. *Mol Genet Metab* 2005;86:86-90.

108. Ponzzone A, Spada M, Roasio L, Porta F, Mussa A, Ferraris S. Impact of neonatal protein metabolism and nutrition on screening for phenylketonuria. *J Pediatr Gastr Nutr* 2008;46:561-

9.

109. Gregory DM, Sovetts D, Clow CL, Scriver C.R. Plasma free amino acid values in normal children and adolescents, *Metab* 1986;35:967–9.

110. Berlin CM, Levy HL, Hanley WB. Delayed increase in blood phenylalanine concentration in phenylketonuric children initially classified as mild hyperphenylalaninemia. *Screen* 1995;4:35-9.



8. EKLER

EK TABLO LİSTESİ

Ek Tablo 1: Bir alelinde p.L48S mutasyonu gösteren vakaların alel 2 mutasyonuna göre fenilalanin hidroksilaz (PAH) aktivitesi, hasta sayısı, aile sayısı ve klinik fenotip dağılımları

Alel 2	Alel 2 PAH aktivitesi (%)	Hasta sayısı n=65 n (%)	Klinik fenotip		
			HPHA n=3 n (%)	HPKU n=34 n (%)	KPKU n=28 n (%)
p.L48S	39	12 (18,5)	0 (0)	10 (29,4)	2 (7,1)
IVS10-11G>A	5	13 (20,0)	0 (0)	5 (14,7)	8 (28,6)
p.P281L	2	7 (10,8)	0 (0)	4 (11,8)	3 (10,7)
p.R261Q	44	5 (7,7)	0 (0)	2 (5,9)	3 (10,7)
p.R408W	2	3 (4,6)	0 (0)	1 (2,9)	2 (7,1)
p.R261*	-	3 (4,6)	1 (33,3)	0 (0)	2 (7,1)
p.E390G	62	3 (4,6)	0 (0)	3 (8,8)	0 (0)
p.R241H	23	2 (3,1)	0 (0)	2 (5,9)	0 (0)
p.A403V	66	2 (3,1)	2 (66,7)	0 (0)	0 (0)
p.A300S	65	2 (3,1)	0 (0)	2 (5,9)	0 (0)
IVS4+5G>T	-	2 (3,1)	0 (0)	0 (0)	2 (7,1)
IVS2+5G>C	-	2 (3,1)	0 (0)	1 (2,9)	1 (3,6)
c.164delT	*	2 (3,1)	0 (0)	0 (0)	2 (7,1)
p.Y387H	-	1 (1,5)	0 (0)	1 (2,9)	0 (0)
p.V230I	63	1 (1,5)	0 (0)	1 (2,9)	0 (0)
p.T328A	*	1 (1,5)	0 (0)	0 (0)	1 (3,6)
p.R252W	15	1 (1,5)	0 (0)	1 (2,9)	0 (0)
p.T323del	-	1 (1,5)	0 (0)	0 (0)	1 (3,6)
p.E178G	39	1 (1,5)	0 (0)	1 (2,9)	0 (0)
Mutasyon belirlenemedi		1 (1,5)	0 (0)	0 (0)	1 (3,6)

('': enzim aktivitesi saptanmadı, '*': mutasyon veri tabanında bulunamadı)

Ek Tablo 2: Çalışmadaki vakaların alel 2'deki mutasyonlarının varyasyon tipi ve protein alanı dağılımı

Varyasyon tipi, n (%)	Kırılma hatası mutasyonu	17 (26,6)
(n=65)	Yanlış anlamlı mutasyon	38 (59,3)
	Dur kodonu mutasyonu	3 (4,7)
	Delesyon	3 (4,7)
	N/A	3 (4,7)
	Bilinmiyor	1 (1,5)
Protein alanı, n (%)	Katalitik	32 (49,2)
(n=65)	Regülatör	12 (18,5)
	Bilinmiyor	21 (32,3)

Mutasyon saptanamayan bir vakanın varyasyon ve etkilenen protein alanı bilgisi bulunmamaktadır. N/A: Not/Available, varyasyon tipi belirlenmeyen.

Ek Tablo 3: Alel 1'de p.L48S mutasyonu gösteren çalışma vakalarının alel 2 mutasyonuna göre varyasyon tipi dağılımları

Alel 2	Varyasyon tipi				
	Kırılma hatası mutasyonu (n=17)	Yanlış anlamlı mutasyon (n=38)	Dur kodonu mutasyonu (n=3)	Delesyon (n=3)	N/A (n=3)
IVS10-11G>A	13	0	0	0	0
p.L48S	0	12	0	0	0
p.P281L	0	7	0	0	0
p.R261Q	0	5	0	0	0
p.R408W	0	3	0	0	0
p.R261X	0	0	3	0	0
p.E390G	0	3	0	0	0
p.R241H	0	2	0	0	0
p.A403V	0	2	0	0	0
p.A300S	0	0	0	0	2
IVS4+5G>T	2	0	0	0	0
IVS2+5G>C	2	0	0	0	0
c.164delT	0	0	0	2	0
p.Y387H	0	1	0	0	0
p.V230I	0	1	0	0	0
p.T328A	0	1	0	0	0
p.R252W	0	0	0	0	1
p.T323del	0	0	0	1	0
p.E178G	0	1	0	0	0

Ek Tablo 4: Alel 1’de p.L48S mutasyonu gösteren vakaların alel 2 mutasyonuna göre etkilenen protein alanı dağılımları

Alel 2	Protein alanı		
	Katalitik (n=32)	Regülatör (n=12)	Bilinmiyor (n=21)
IVS10-11G>A	0	0	13
p.L48S	0	12	0
p.P281L	7	0	0
p.R261Q	5	0	0
p.R408W	3	0	0
p.R261*	3	0	0
p.E390G	3	0	0
p.R241H	2	0	0
p.A403V	2	0	0
p.A300S	2	0	0
IVS4+5G>T	0	0	2
IVS2+5G>C	0	0	2
c.164delT	0	0	2
p.Y387H	1	0	0
p.V230I	1	0	0
p.T328A	0	0	1
p.R252W	1	0	0
p.T323del	1	0	0
p.E178G	1	0	0
Mutasyon belirlenmedi	0	0	1

Ek Tablo 5: Son tanıya göre alel 2 varyasyon tipi ve etkilenen protein alanının karşılaştırılması

		Son tanı			^a p
		HHPA	HPKU	KPKU	
		n=3	n=34	n=28	
		n (%)	n (%)	n (%)	
Varyasyon tipi	Kırılma hatası	0 (0)	6 (17,6)	11 (40,7)	0,004**
	Yanlış anlamalı	2 (66,7)	25 (73,5)	11 (40,7)	
	Dur kodonu	1 (33,3)	0 (0)	2 (7,4)	
	Delesyon	0 (0)	0 (0)	3 (11,1)	
	N/A	0 (0)	3 (8,8)	0 (0)	
	<i>Toplam</i>	3 (100)	34 (100)	27 (100)	
Protein alanı	Katalitik	3 (100)	18 (52,9)	11 (39,3)	0,006**
	Regülatör	0 (0)	10 (29,4)	2 (7,1)	
	Bilinmiyor	0 (0)	6 (17,6)	15 (53,6)	

^aFisher Freeman Halton' Testi

Ek Tablo 6: Çalışmadaki vakalar ile BİOPKU veri tabanında aynı mutasyon saptanmış vakaların, alel 2 mutasyonlarını BİOPKU veri tabanında ve önceki çalışma (72)da homozigot olarak gösteren vakaların klinik fenotipine göre hasta sayılarının dağılımı

	Klinik Fenotip											
	Çalışmada yer alan vakalar			BİOPKU veri tabanında vakalarımızın alel 2 mutasyonlarını homozigot olarak gösteren vakalar			BİOPKU veri tabanında aynı mutasyon saptanan vakalar			Önceki çalışmada vakalarımızın alel 2 mutasyonlarını homozigot olarak gösteren vakalar		
	HHPA	HPKU	KPKU	HHPA	HPKU	KPKU	HHPA	HPKU	KPKU	HHPA	HPKU	KPKU
p.L48S	0	10	2	6	48	16	6	48	16	0	10	2
IVS10-11G>A	0	5	8	0	7	323	0	20	14	0	7	81
p.P281L	0	4	3	0	0	78	0	11	12	0	0	26
p.R261Q	0	2	3	0	133	54	0	32	15	0	19	8
p.R408W	0	1	2	0	4	898	0	32	40	0	0	16
p.R261*	1	0	2	0	1	27	0	2	2	-	-	-
p.E390G	0	3	0	13	4	0	7	1	0	6	3	0
p.R241H	0	2	0	2	3	0	1	0	0	1	0	1
p.A403V	2	0	0	14	2	0	4	1	0	-	-	-
p.A300S	0	2	0	10	2	0	11	1	0	3	4	2
IVS4+5G>T	0	0	2	0	0	20	0	1	6	0	0	11
IVS2+5G>C	0	1	1	0	2	67	7	1	0	0	0	2
c.164delT	0	0	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-
p.Y387H	0	1	0	0	0	2	0	3	0	0	0	1
p.V230I	0	1	0	2	0	0	-	-	-	-	-	-
p.T328A	0	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
p.R252W	0	1	0	0	0	42	0	0	8	0	2	3
p.T323del	0	0	1	0	0	3	-	-	-	-	-	-
p.E178G	0	1	0	1	0	0	4	2	0	-	-	-
Mutasyon belirlenemedi	0	0	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-

(-): Kişi sayılarına ulaşamamıştır.

Ek Tablo 7: Çalışmadaki vakalar ile BİOPKU veri tabanında aynı mutasyon saptanmış vakaların, alel 2 mutasyonlarını BİOPKU veri tabanında ve önceki çalışma (72) da homozigot olarak gösteren vakaların klinik fenotiplerinin karşılaştırılması

		Çalışmada yer alan vakaların klinik fenotipi		
		HHPA	HPKU	KPKU
Literatürde vakalarımızın ikinci	R	0,095	0,254	0,640
alellerini homozigot olarak gösteren vakalar	P	0,465	0,049*	0,001**
Literatürde aynı mutasyon saptanan vakalar	R	0,055	0,076	0,729
	P	0,679	0,569	0,001**
Önceki çalışmada vakalarımızın ikinci alellerini homozigot olarak gösteren vakalar	R	-0,100	0,400	0,626
	p	0,428	0,003**	0,001**
<i>r: Spearman's Korelasyon Katsayısı</i>		<i>*p<0,05</i>		<i>**p<0,01</i>

Ek Tablo 8: Çalışmadaki vakalar ile BİOPKU veri tabanında aynı mutasyon saptanmış vakaların ve alel 2 mutasyonlarını BİOPKU veri tabanında homozigot olarak gösteren vakaların BH4 yükleme testi sonuçlarına göre dağılımı

	BH4 yükleme testi yanıtı								
	Çalışmada yer alan vakalar			BİOPKU veri tabanında vakalarımızın alel 2 mutasyonlarını homozigot gösteren vakalar			BİOPKU veri tabanında aynı mutasyon saptanan vakalar		
	Yok	Var	Kısmi	Yok	Var	Kısmi	Yok	Var	Kısmi
p.L48S	1	3	1	6	38	4	6	38	4
IVS10-11G>A	1	2	2	101	0	6	10	8	5
p.P281L	2	0	0	44	0	0	7	6	0
p.R261Q	1	0	0	15	70	4	5	24	2
p.R408W	2	1	0	80	0	0	22	6	2
p.E390G	0	1	0	0	7	0	0	8	0
IVS4+5G>T	2	0	0	12	0	0	6	0	0
p.Y387H	1	0	0	1	0	0	1	2	0
p.E178G	0	1	0	-	-	-	-	-	-

(-): Kişi sayılarına ulaşamamıştır.

Ek Tablo 9: Çalışmadaki vakalar ile BİOPKU veri tabanında aynı mutasyon saptanmış vakaların ve alel 2 mutasyonlarını BİOPKU veri tabanında homozigot olarak gösteren vakaların BH4 yanıtlarının ilişkisi

		Çalışmada yer alan vakaların BH4 yükleme testi yanıtı		
		Yok	Var	Kısmi
Vakalarımızın ikinci alellerini BİOPKU veri tabanında homozigot taşıyan vakalar	r	0,705	0,477	0,544
	p	0,001**	0,001**	0,001**
BİOPKU veri tabanında aynı mutasyon saptanan vakalar	r	0,683	0,472	0,750
	p	0,001*	0,001**	0,001**
r:Spearman's Korelasyon Katsayısı		*p<0,05	**p<0,01	
(BH4: Tetrahidrobiyopterin)				

Ek Tablo 10: Çalışmadaki vakaların vaka numarası ve aile numarası

Vaka no	Aile No	Vaka No	Aile No	Vaka No	Aile No	Vaka No	Aile No	Vaka No	Aile No
V1	I	V14	XIII	V27	XXIV	V40	XXXVI	V53	XLV
V2	II	V15	XIII	V28	X	V41	XXXVII	V54	XLVI
V3	III	V16	XIV	V29	XXV	V42	XXX	V55	XLVII
V4	IV	V17	XIV	V30	XXVI	V43	XIX	V56	XLVIII
V5	V	V18	XV	V31	XXVII	V44	XIX	V57	XLIX
V6	VI	V19	XVI	V32	XXVIII	V45	XXXVIII	V58	XLI
V7	VII	V20	XVII	V33	XXIX	V46	XXXIX	V59	L
V8	VIII	V21	XVIII	V34	XXX	V47	XL	V60	LI
V9	IX	V22	XIX	V35	XXXI	V48	XLI	V61	LII
V10	X	V23	XX	V36	XXXII	V49	XLII	V62	XVIII
V11	X	V24	XXI	V37	XXXIII	V50	XLIII	V63	LIII
V12	XI	v25	XXII	V38	XXXIV	V51	XLIV	V64	XLIX
V13	XII	V26	XXIII	V39	XXXV	V52	XV	V65	LIV

İ.Ü.İTF KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

**T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI İZNİ GEREKLİ OLMAYAN (“KLİNİK
ARAŞTIRMALAR YÖNETMELİĞİ” NE TÂBİ OLMAYAN)
ARAŞTIRMALAR İÇİN
ÖZGEÇMİŞ FORMU**

ADI SOYADI: Gizem Uslu

1.GENEL

DÜZENLEME TARİHİ	30/07/2018		
T.C. KİMLİK NO	14629392354		
DOĞUM YERİ VE YILI	Ankara-1989		
GÖREV YERİ	İÜ İTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD		
GÖREV UNVANI	Tıpta Uzmanlık Öğrencisi		
YAZIŞMA ADRESİ	İÜ İTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD		
TEL	02124142000	GSM	05052956849
E-POSTA	gizem.uslu@istanbul.edu.tr	FAX	

2. EĞİTİM

MEZUNİYET TARİHİ	ÜNİVERSİTE-FAKÜLTE-BÖLÜM/ANABİLİM DALI
2014	İÜ Cerrahpaşa Tıp Fakültesi

3. ARAŞTIRMA PROJELERİ DENEYİMİ

PROJE ADI	KURUM	TARİH	GÖREV*	PROJE TÜRÜ**

* (Yürütücü, Araştırmacı/Uzman, Danışman, Bursiyer, Diğer)

** (Kurumsal, Ulusal, Uluslararası)

4. ARAŞTIRMA KONUSU İLE İLGİLİ YAYINLARI

- 1.....
- 2.....
- 3.....
- 4.....
- 5.....

(EL YAZISI İLE)

Özgeçmiş Sahibinin Adı ve Soyadı: Gizem Uslu

Tarih: 27/04/2018

İmza:

Not:

1. Gerektiğinde ilgili başlık altındaki satırların sayısı arttırılabilir.
2. Varsa, görev alınan tüm klinik araştırma projeleri yazılmalıdır.
3. Bilgiler, tarih sıralamasına göre, en eski tarihliden yeniye doğru sıralanmalıdır.
4. Tüm sayfalar imzalanmalıdır.



**“FENİLKETONÜRİDE FENİLALANIN TOLERANSININ
DEĞERLENDİRİLMESİNİN ÖNEMİ”**

BAŞLIKLİ ARAŞTIRMA İÇİN GÖNÜLLÜ BİLGİLENDİRİLMİŞ ONAM FORMU

Bu bilgilendirilmiş gönüllü olur formu “Fenilketonüride fenilalanin toleransının değerlendirilmesinin önemi” başlıklı araştırma hakkında sizi bilgilendirmek ve onay verirsiniz araştırmaya katılımınızı sağlamak için düzenlenmiş bir belgedir.

Bu araştırmayla fenilketonüri hastalarının fenilalanin toleranslarının belirlenmesi planlanmıştır. Hastalar çağırılarak üç günlük besin tüketim kayıtları değerlendirilecek, Phe toleransı belirlenecek, belirli mutasyonu olan hastalar seçilerek genotip fenotip ilişkileri değerlendirilecektir. Gönüllülerin kimlik ve iletişim bilgileri sorgulanmayacak, gönüllülerin maruz kalacağı risk veya rahatsızlıklar olmayacaktır. Araştırma sırasında alınan besin tüketim kaydı ile fenilalanin toleransı değerlendirilecek ve buna paralel olarak katılımcıların bilinçli beslenme davranışına katkı sağlanması planlanmaktadır.

Bu araştırmaya katılım tamamen gönüllülük esasına dayanmaktadır. Gönüllü istediği zaman herhangi bir ceza ya da yaptırıma maruz kalmaksızın, hiçbir hakkını kaybetmeksizin araştırmaya katılmayı reddedebilir ya da araştırmadan çekilebilir. İzleyiciler, yoklama yapan kişiler, etik kurul, kurum ve diğer ilgili sağlık otoriteleri gönüllünün orijinal tıbbi kayıtlarına erişebilir. Yazılı bilgilendirilmiş gönüllü olur formuyla gönüllü söz konusu erişime onay vermektedir. Gönüllünün kimlik bilgileri istenmediğinden ilgili mevzuat gereğince gönüllünün kimlik bilgileri gizli kalacak, kamuoyuna açıklanmayacak, araştırma sonuçları açıklansa dahi gönüllülerin kimlik bilgileri gizli kalacaktır.

Gönüllü araştırma, kendi hakları ve araştırmayla ilgili herhangi bir advers olayla hakkında daha fazla bilgi temin edebilmesi için Gizem Uslu ile 00905052956849 numaralı telefonda temasa geçebilir.

Gönüllü katılımdan vazgeçmesi durumunda araştırmaya katılımı sona erdirilecektir. Araştırmaya katılması beklenen yaklaşık gönüllü 66 kişidir.

“Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formundaki tüm açıklamaları okudum. Bana, yukarıda konusu ve amacı belirtilen araştırma ile ilgili yazılı ve sözlü açıklama aşağıda adı belirtilen hekim tarafından yapıldı. Araştırmaya gönüllü olarak katıldığımı, istediğim zaman gerekçeli veya gerekçesiz olarak araştırmadan ayrılabilceğimi biliyorum.”

“Söz konusu araştırmaya hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın kendi rızamla katılmayı kabul ediyorum.”

Gönüllünün,

Adı-Soyadı:

İmzası:

Tarih:

Gönüllünün Velisinin

Adı-Soyadı:

İmzası:

Araştırmacının,

Adı-Soyadı:

İmzası: