

DOĞUMSAL METABOLİK HASTALIKLARIN TANISINDA İDRARDA ORGANİK ASİT ANALİZİ

Tolunay BAYKAL, Gülden HÜNER, Gamze ŞARBAT, Mübeccel DEMİRKOL*

ÖZET

Organik asidemiler amino asit, lipid ve karbonhidrat metabolizma bozuklukları sonucu gelişen doğumsal metabolik hastalıklardır. Bu hastalıklara tanısız yaklaşım gaz kromatografi-kütle spektrometre yöntemiyle idrarda organik asit atılımının gösterilmesiyle sağlanır. Bilim Dalımıza Temmuz 1996- Mart 1998 döneminde doğumsal metabolik hastalık şüphesi ile başvuran ve organik asit değerlendirmesi indikasyonu alan 844 hastanın idrar örnekleri incelenmiş ve 186 hastada (%22) organik asidüri saptanmıştır. Bu değerlendirme ile 47 hasta (% 5,5) özgün metabolitlerin varlığı ile kesin organik asidemi tanısı almış, özgün olmayan metabolitlerin atılımı saptanan 139 organik asidürlü hasta (%16,5) doğumsal metabolik hastalık kesin tanısı için ileri değerlendirmeye alınmıştır.

Anahtar Kelimeler: Doğumsal metabolik hastalık, organik asidemi, gaz kromatografi kütle spektrometre.

SUMMARY

Urinary organic acid determination in inborn errors of metabolism. Organic acidemias are inborn errors of metabolism in the amino acid, lipid and carbohydrate metabolism. Urinary organic acid excretion analysis with gas chromatography-mass spectrometry is the diagnostic approach in organic acidemias. In our laboratory we have evaluated 844 patients during the period July 1996-March 1998 who had the indication for organic acid analysis. We have found organic aciduria in 186 patients (22%). The diagnosis of organic acidemia was established in 47 patients (5,5%) with the specific pattern of the metabolites. Organic aciduria in 139 patients (16,5%) was not diagnostic for an inborn error of metabolism and differential diagnosis is initiated.

Key Words: Inborn errors of metabolism, organic acidemias, gas chromatography-mass spectrometry.

GİRİŞ

Organik asidemiler (OA) amino asit, lipid ve karbonhidrat metabolizmalarındaki doğumsal bozukluklar sonucu gelişen bir grup hastalıktır (3). Çoğu otozomal resesif geçişli olan bu hastalıklar psikososyal motor gerilik, kusma, sık enfeksiyon geçirme, hipotoni, hipoglisemi, konvülsiyon, metabolik asidoz, ketozis, hiperamonyemi, ensefalopati, erken ve açıklanamayan ölüm gibi klinik ve laboratuvar bulgularıyla ortaya çıkabilirler (1).

Diğer doğumsal metabolik hastalıklar (DMH) gibi, organik asidemilerde de erken tanıyı izleyerek başlatılan acil uygun tedavi ile hastalığa bağlı kalıcı organ hasarları önlenilmekte ve ölüm riski azalmaktadır. OA'ın tanısı, gaz kromatografi-kütle spektrometresi (GC-MS) yöntemiyle idrarda hastalığa bağlı organik asitlerin atılımının gösterilmesiyle kesinleşir. Bu çalışmada ülkemizde ilk kez Bilim Dalımız Laboratuvarında Temmuz 1996'da başlatılan,

GC-MS yöntemi ile organik asit incelemesi sonuçlarının değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

MATERYAL VE METOD

İstanbul Üniversitesi İstanbul Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Beslenme ve Metabolizma Bilim Dalı Laboratuvarında, Temmuz 1996-Mart 1998 döneminde, DMH şüphesi nedeniyle başvuran, organik asidemi düşündüren, klinik bulguları, selektif tarama ve diğer laboratuvar sonuçları ve/veya aile öyküsü olan 844 hastanın idrar örneğinde organik asit analizi yapılmıştır.

Organik asitlerin GC-MS yöntemi ile incelenmesi: Hastalardan test için 24 saatlik idrar toplatılmış, akut bulguları olan hastaların bu dönemdeki idrar örnekleri çalışılmıştır. İdrarların Jaffe esasma dayanan yöntemle kreatinin ölçümleri yapılmıştır (2). Konsantrasyonları belirlenmiş olan idrarlara, bu değer ile doğru orantılı olarak internal standart (4-fenilbütirik asit) eklenmiştir. Atılan tüm organik asitlerin miktarlarının hesaplanmasında bu internal standart miktarından yararlanılmış ve birimler mmol/mol kreatinin olarak verilmiştir. Organik asit analizi için örneklerin ön hazırlığında; çözünürlüğü sağlamak için, etilasetat ile ekstraksiyon ve gaz kromatografi kolonunda tutulumu sağlayabilmek için de kloroform içinde N-metil-N-trisilil-trifloroasetamid ile türevlendirme uygulanmıştır (7). Hazırlanan ekstrattan 1µl, MD 800 model GC-MS cihazında (Fisions) çalışılmıştır. Gaz kromatografisi helyum gazı ve 30x0,25mm ID-5MS (0,25µ) tip, organik asit analizine uygun, özel dolgulu, kolon kullanılarak uygulanmıştır. 70oC'de başlayan kromatografik ayırıştırma 2oC/dakika ısıtma ile sürdürülmüş, 250 0C'de 15 dakika tutularak tamamlanmıştır. Gaz kromatografik olarak ayırıştırılan organik asitlerin tanımlanması için kütle spektrumları esas alınmış, bunlar daha

önceden kütle spektrumları tanımlanmış organik asitlerle karşılaştırılmak üzere alete bağlı bilgisayarda özel programda (San Diego Masslab Kütüphanesi) değerlendirilmiştir.

SONUÇLAR

OA şüphesiyle idrar örneği GC-MS yöntemi ile incelenen 844 hastanın (%58 erkek, %42 kız) başvuru yaşı $3,3 \pm 3,1$ yıl (ortalama±standart sapma) (median yaş: 1 yıl, dağılım: 1 gün-61 yıl) bulundu. Hastalarda idrarda organik asit incelemesi indikasyonu koyduran klinik ve laboratuvar bulgular Tablo 1'de özetlenmiştir.

Hastaların 186'sında organik asidüri saptandı (%22). Bu organik asit atılımları 47 hastada (%5,5) kesin bir doğumsal metabolizma hastalığı (organik asidemi) tanısına götürebilecek özellikteydi. Organik asidemi tanısı olan bu hastaların özellikleri ve tanı sırasındaki klinik ve laboratuvar bulguları tablo 2'de özetlenmiştir.

Bilinen bir organik asidemi tanısı alamayan, ama organik asidüri saptanan diğer 139 hastada (% 16,5) DMH açısından ileri değerlendirme başlatıldı. Bu değerlendirme sırasında laktik asidüri saptanan hastalarda (n=87) klinik ve laboratuvar bulguları sonucunda, laktik asidürinin yedi hastada solunum zinciri hastalığına, iki hastada glikoneogenez bozukluğuna bağlı olduğu düşünülerek ileri değerlendirmeler başlatıldı. Diğer hastalardaki laktik asidüri; anoksi, kardiyak yetmezlik, enfeksiyon gibi tablolara sekonder olarak değerlendirildi. Özgün metabolitlerin atılımı ile kesin organik asidemi tanısı konan hastalıklar ve laktik asidüriler dışında, 52 hastanın idrarında bilinen bir organik asidemi için özgün olmayan metabolitler belirlenerek DMH kesin tanısı için ileri değerlendirmeye alınmıştır. [etilmalonik asidüri (n=8), 2-okzoglutarik asidüri (n=12), dikarboksilik asidüri (n=22), homovanilikasidüri (n=2), sitrik asidüri (n=1) ve izovalerilglisinüri (n=7)].

Tablo 1. İdrarda organik asit analizi uygulanan hastaların (n=844) başvuru sırasındaki organik asidemi şüphesi uyandıran klinik ve laboratuvar bulguları.

Bulgular	n	%
Psikososyal motor gerilik	384	45
Konvülsiyon	160	19
Ataksi, atetoz	89	10
Hipoglisemi	80	9
Tekrarlayan koma atakları	80	9
Hipotoni, letarji	72	8
Kusma	59	7
Hiperamonyemi	51	6
Değişik vücut ve idrar kokusu	17	2
Sık, ağır enfeksiyonlar	12	1
Reye Sendromu	12	1
Serebral hareket bozukluğu	5	0.6
Karaciğer fonksiyon bozukluğu	5	0.6
Benzer tablo ile ölen kardeş öyküsü	68	8

TARTIŞMA

Organik asidemiler nadir görülen tablolardır. Ancak hastalıkların çeşitliliği ve diğer ülkelere oranla sık görülmeleri nedeniyle ülkemizde önemli bir grup hastayı ilgilendirmektedirler (4,5). Erken süt çocukluğu ve çocukluk döneminde sıklıkla ensefalopati, koma gibi tablolarla ortaya çıkan organik asidemiler, 61 yaşındaki metilmalonik asidürüli hasta örneğinde de görüldüğü gibi, yaşamın herhangi bir döneminde de bulgu verebilirler. Çoğu acil tanısal yaklaşım gerektiren bu tablolarda erken tanı ve tedavi ile prognoz anlamlı olarak düzelmekte ve birey sağlıklı olarak topluma kazandırılmaktadır. Ancak bu hastalıkların nadir görülmeleri nedeniyle ayırıcı tanıda son sırada düşünülmeleri tanılarını geciktirmekte ve hastalarda kalıcı

hasarların oluşumuna yol açmaktadır.

Organik asidemilere ilk yaklaşımda klinik bulguların yanında (Tablo 1) biyokimya laboratuvarlarında yapılabilen kan gazı analizi, elektrolitler, kan şekeri, amonyak, laktik asit, idrarda keton gibi testler yol gösterici olmaktadır. Hiperamonyemi varlığında anyon açığı yüksekliği ve ketozis organik asidemiye düşündürmektedir. Ancak OA'in kesin tanısı için idrarda organik asitlerin GC-MS yöntemi ile incelenmesi gereklidir. Klinik ve ipucu olabilecek laboratuvar bulgularının varlığında, özellikle hastalığın akut dönemde alınacak idrar örneklerinde GC-MS incelemesiyle 150'nin üstünde OA tanısı konabilir.

Organik asidemilerin değerlendirilmesinde, Bilim Dalımızda kurulan GC-MS yöntemi ile organik asit analizi sonuçları, ülkemizde

Tablo 2. Organik asidemi tanısı alan hastaların özellikleri ve tam sırasındaki klinik ve laboratuvar bulguları.

Hastalığın adı	Hastalarla ilgili bilgiler	Klinik ve laboratuvar bulguları
3-hidroksi-3 metilglutaril CoA liyaz eksikliği	n=7 (4 erkek, 3 kız) Tanı yaşı: 28,1±27,2 ay Yaş dağılımı: 2 ay-6,5 yıl	Kusma, koma, ağır hipoglisemi, metabolik asidoz, hiperamonyemi, hipoketozis
Metilmalonik asidüri (erken başlangıçlı)	n=9 (3 erkek, 6 kız) Tanı Yaşı: 10,9±9,8 ay Yaş dağılımı: 18 ay	Büyüme gelişme geriliği, inatçı kusma, letarji, koma, hipotoni, hiperamonyemi, metabolik asidoz
Metilmalonik asidüri (geç başlangıçlı)	n=1 (erkek) Tanı yaşı: 61 yıl	Ani kuadriparezi
Alkaptonüri	n=5 (3 erkek, 2 kız) Tanı yaşı: 24,8±24±1 ay Yaş dağılımı: 8 ay-60 yıl	İdrar renginde beklemekle koyulaşma
Biotinidaz eksikliği	n=7 (4 erkek, 3 kız) Tanı yaşı: 28,1±27,2 ay Yaş dağılımı: 2 ay -6.5 yıl	Ağır motor-mental gerilik, saç dökülmesi, ekzema, hipotoni, konvülsiyon, ketozis
Akçaağaç şurubu idrarı hastalığı	n=3 (1 erkek, 2 kız) Tanı yaşı: 2,6±2,6 yıl Yaş dağılımı: 25 gün-8 yıl	Motor-mental gerilik, sepsise benzer klinik tablo, hipotoni, konvülsiyon, ketozis
Propionik asidemi	n=5 (1 erkek, 4 kız) Tanı yaşı: 1,9±1,4 ay Yaş dağılımı: 6 gün-6 yıl	Kusma, hipotoni, metabolik asidoz, ketozis, hipoglisemi
Mitokondriyal 3-okzotiyolaz eksikliği	n=3 (2 erkek, 1 kız) Tanı yaşı: 3,8± 3,6 yıl Yaş dağılımı: 1,5-8 yıl	Kusma, hipotoni, metabolik asidoz, ketozis, hipoglisemi, hiperamonyemi
İzovalerik asidemi	n=1 (erkek) Tanı yaşı: 6 yaş	Kusma, hipotoni, metabolik asidoz, ketozis, hipoglisemi, hiperamonyemi
Tip 1 glutarik asidüri	n=1 (erkek) Tanı yaşı: 13 yaş	Kazanılm fonksiyonların kaybı, motor-mental gerilik, distoni, hipotoni, metabolik asidoz
Orta zincirli asil CoA dehidrogenaz eksikliği	n=1 (erkek) Tanı yaşı: 6 yıl	Kusma, Hipotoni, metabolik asidoz, ketozis, hipoglisemi, hiperamonyemi
Üre döngüsü bozukluğu	n=1 (kız) Tanı yaşı: 15 ay	Mental motor gerilik, inatçı kusma, dalgınlık atakları
Tirozinemi tip I	n=2 (1 erkek, 1 kız) Tanı yaşları: 7 ay, 3 yıl	Sarılık, büyüme gelişme geriliği, karaciğer fonksiyon bozukluğu
Omitin transkarbamilaz eksikliği	n=1 (erkek) Tanı yaşı: 15 ay	İnatçı kusma, uykuya eğilim, aile öyküsü

OA'in sıklığına işaret etmektedir (6). Diğer DMH gibi bu hastalıkların da sık görülmesi akraba evliliklerinin yüksekliği ile açıklanabilir (8). Bu hastalıklarda hastaların yaşamda sekelsiz olarak kalabilmeleri erken tanı ve doğru tedavi yaklaşımı ile

mümkündür. Hekimlerin bu hastalıklar konusunda bilgilendirilmeleri ve ülkemizde DMH laboratuvar yaklaşımı yapabilen bölgesel merkezlerin artırılması önemli bir gereksinimdir.

**DOĞUMSAL METABOLİK HASTALIKLARIN TANISINDA
İDRARDA ORGANİK ASİT ANALİZİ**

KAYNAKLAR

1. Brandt, N.J.: Symptoms and signs in organic acidurias. *J Inher Metab Dis*; 7 Suppl 1:23 (1984).
2. Butler, A.R.: The Jaffe reaction. Identification of the coloured species. *Clin Chim Acta*; 59:227 (1976).
3. Chalmers, R.A., Lawson, A.M.: *Organic Acids in Man*. Chapman and Hall, London 1982.
4. Demirkol, M., Baykal, T., Hüner, G., Yalvaç, S., Kurdođlu, G.: The problems of newborn screening in a developing country. *New Horizons in Neonatal Screening* (Derleyenler: Farriaux JP. and Dhondt JL.), Elsevier Science, Amsterdam (1994) s. 309-315.
5. Özalp, İ., Coşkun, T., Tokol, S., Demircin, G., Mönch, E.: Inherited metabolic disorders in Turkey. *J Inher Metab Dis*; 13:732 (1990).
6. Sperl, W., Lehnert, W.: Metabolic disorders of branched-chain amino acids: most common forms of organic aciduria in the neonatal period. *Klin Padiatr*; 202:334 (1990).
7. Sweetman, L.: *Organic acid analysis. Techniques in Diagnostic Human Biochemical Genetics* (Derleyen: Hommes FA.), Wiley-Liss, New York (1991), s. 143-176.
8. Tunçbilek, E., Ulusoy, M.: Consanguinity in Turkey in 1988. *Turk J Popul Studies*; 11:35 (1989).