



T.C

**MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI**

**BİYOKİMYA LABORATUVARINDA ALKALEN FOSFATAZ DÜŞÜKLÜĞÜ
TESPİT EDİLEN HASTALARIN
HİPOFOSFATAZYA AÇISINDAN İNCELENMESİ**

**DR. RANA BAYRAMLI
UZMANLIK TEZİ**

İSTANBUL-2016



T.C

**MARMARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI**

**BİYOKİMYA LABORATUVARINDA ALKALEN FOSFATAZ DÜŞÜKLÜĞÜ
TESPİT EDİLEN HASTALARIN
HİPOFOSFATAZYA AÇISINDAN İNCELENMESİ**

DR. RANA BAYRAMLI

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANISMANI:

PROF.DR. SERAP TURAN

İSTANBUL-2016

BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar hiç bir aşamada etik dışı davranışta bulunmadığımı, bu tezdeki tüm bilgileri Akademik ve etik kurallar dâhilinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi, yine bu tezin çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarımı ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

DR. RANA BAYRAMLI

20.06.2016

ÖNSÖZ

Uzmanlık tezimin planlanmasında ve şekillenmesinde yoğun emekleri olan, çalışmamı bilimsel katkılarıyla zenginleştiren, kıymetli zamanını esirgemeyen, her konuda yardımını gördüğüm Sn. Prof. Dr. Serap Turan'a, bilgi ve deneyimlerinden uzmanlık eğitimim boyunca yararlandığım başta Ana Bilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Ayşe Gülnur Tokuç olmak üzere tüm değerli hocalarıma ve uzmanlarıma, asistanlığım boyunca birlikte çalıştığım tüm asistan doktor arkadaşlarıma, Biyokimya Ana Bilim Dalı başkanı Prof.Dr Goncagül Haklar ve Uzm. Dr.Tülay Çevik'e, hastanemizin tüm sağlık çalışanlarına, çalışmamın yürütülmesinde gerekli ortamı sağlayan Çocuk Endokrinoloji ana bilim dalı çalışanlarına, çalışmaya katılım onayı veren tüm çocuklara ve ailelerine sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın her anında yanımda olan, azmin gücüne beni inandıran, verdiğim kararlarımda hep arkamda duran ve bana destek olan canım annem, babam, abim ve kardeşime, tanıdığım ilk günden her zorlukta yanımda olan, bir an bile beni yalnız bırakmayan sevgili eşime çok teşekkür ederim...

DR. RANA BAYRAMLI

20.06.2016

İÇİNDEKİLER

BEYAN -----	iii
ÖNSÖZ -----	iii
İÇİNDEKİLER -----	iii-iii
ŞEKİLLER LİSTESİ -----	iii
TABLO LİSTESİ -----	iii
KISALTMALAR -----	iii
ÖZET -----	1-2
ABSTRACT -----	3-4
1.GİRİŞ VE AMAÇ -----	5-6
2.GENEL BİLGİLER -----	7-17
2.1 HİPOFOSFATAZYANIN TANIMI-----	7-8
2.2 PREVALANS VE EPİDEMİYOLOJİSİ-----	8-9
2.3 ETİYOLOJİ VE PATOFİZYOLOJİSİ-----	9-15
2.3.1 Alkalen Fosfataz-----	9-11
2.3.2 Patofizyoloji-----	12-15
2.4 KLİNİK PREZENTASYON-----	16-25
2.4.1 Perinatal letal form-----	18-20
2.4.2 Perinatal benign form-----	20
2.4.3 İnfantil formu-----	20-21
2.4.4 Çocukluk çağı formu-----	21-23
2.4.5 Yetişkin formu-----	23-24
2.4.6 Odontohipofosfazya formu-----	24-25
2.5 KALITIM-----	25-26
2.6 GENETİK DEFEKT-----	26
2.7 TANI VE AYIRICI TANI-----	26-30

2.8 TEDAVİ-----	30-33
3.GEREÇ VE YÖNTEM-----	34-38
4.SONUÇLAR-----	39-55
5.TARTIŞMA-----	56-63
6. KAYNAKLAR-----	64-73
7. EK 1-Etik Kurul Onayı-----	74

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: ALP'in üç boyutlu yapısı

Şekil 2: Kemik mineralizasyonunun başlanması ve ilerlemesi

Şekil 3: Hipofosfatazyalı hastanın lateral kafa grafisinde belirgin hipomineralizasyon

Şekil 4: Hipofosfatazyalı hastanın alt ekstremitte grafisinde raşitik değişiklikler

Şekil 5: İnfantil Hipofosfatazyada diz grafisinde raşitik değişiklikler

Şekil 6: Çocukluk çağı Hipofosfatazyası, sağ dizin AP grafisinde paradoksal osteosklerosis

Şekil 7: 5 yaşında kız hastanın lateral kafa grafisi

Şekil 8: Yetişkin HPP. Proksimal sağ femur AP

Şekil 9: 1 numaralı hastanın grafileri

Şekil 10: 2 numaralı hastanın grafileri

Şekil 11: 3 numaralı hastanın grafileri

Şekil 12: 4 numaralı hastanın grafileri

Şekil 13: 5 numaralı hastanın grafileri

Şekil 14: Çalışmanın karakteri ve hasta seleksiyonu.

Şekil 15: ALP aktivitesi düşük olan hastalarda tanı algoritması

TABLO LİSTESİ

Tablo-1: Hipofosfatazya formlarının özellikleri.

Tablo-2: Hipofosfatazeminin nedenleri

Tablo-3: Hasta takip formu 1

Tablo-4: Hasta takip formu 2

Tablo-5: Hasta takip formu 3

Tablo-6: Kızlarda ALP referans aralıkları

Tablo-7: Erkeklerde ALP referans aralıkları

Tablo-8: ALP düşüklüğünün görüldüğü zaman hastaneye başvuru nedeni

Tablo-9: Çalışmanın algoritması

Tablo-10: Çalışmada tanımlanan mutasyonlar

Tablo 11: Çalışmanın karakteri ve hasta seçimi.

Tablo 12: Höglerin ve bizim çalışmamızın karşılaştırılma tablosu

KISALTMALAR

ALP : Alkalen Fosfataz

ALPL: Alkalen fosfataz hepatik tip

ALPI : Alkalen fosfataz intestinal

ALPP: Alkalen fosfataz plasental

ALPPL2 : Alkalen fosfataz plasenta benzeri

PLAP: Plasenta Benzeri Alkalen fosfataz

TNAP: Doku non-spesifik Alkalen Fosfataz

PEA : Fosfoetanolamin

PLP: Piridoksal-5 fosfat

PPi : İnorganik Pirofosfat

PDE : Fosfodiesteraz

HPP : Hipofosfatazya

Pi: İnorganik Fosfat

PPi :İnorganik Pirofosfat

GPI: GlicozidilFosfatidilİnozitol

MV: Matriks Vezikülü

ECM: Ekstraselüler Matriks

HP: Hidroksiapatit

OPN: Osteopontin

PHOSPHO1: Fosfataz Orphan-1

NPP1: Nukleozid Pirofosfohidrolaz -1

ÖZET

‘Biyokimya laboratuvarında Alkalen fosfataz düşüklüğü tespit edilen hastaların Hipofosfatazya açısından incelenmesi’

Giriş ve amaç:

Hipofosfatazya (HPP) nadir görülen multisistemik, genetik geçişli, kemik ve dişlerde mineralizasyon bozukluğuna neden olan metabolik bir hastalıktır. *ALPL* geninde inaktive edici mutasyonlar sonucu gelişen hastalıkta; Alkalen fosfataz (ALP) enzim aktivitesinin düşük olması, enzim substratları olan İnorganik Pirofosfat (PPi), Piridoksal-5 fosfat (PLP) ve Fosfoethanolamin (PEA)’nın artışı ile sonuçlanır. PPi kemik mineralizasyonunu engelleyerek raşitizm, osteomalazi, kırık ve sistemik komplikasyonların gelişmesine öncülük ediyor. Klinik bulguların başlama yaşı ve bulguların ağırlığına göre HPP perinatal letal, prenatal benign, infantil, çocukluk çağı, yetişkin ve sadece diş bulguları ile sınırlı odontohipofosfatasia olarak sınıflandırılır.

HPP’nın ağır formlarının prenatal veya yaşamının ilk günlerinde ölüme sonuçlanması, hafif formlarının non-spesifik klinik tablolar oluşturması tanı konulmasını zorlaştıran nedenlerdendir. Bu sebepler HPP vakalarının tamamının tanı alamadığını, aslında hastalığın toplumda bilinenden çok daha sık bulunduğunu düşündürmektedir. Biz de çalışmamızda; bu düşünceden yola çıkarak, laboratuvarında ALP düşüklüğü saptanan hastaların klinik, laboratuvar ve radyolojik olarak yeniden incelenerek, HPP açısından değerlendirilmesini amaçladık.

Gereç ve yöntem:

Marmara Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesine 2014 Eylül ile 2016 Ocak ayına kadar başvuran 18 yaş altında çocuklardan bakılan tüm serum ALP sonuçlarını taradık. ALP düzeyleri hastaların cinsiyet ve yaşlarına göre sınıflandırılarak; yaş gruplarına göre laboratuvarımızda hazırlamış olduğumuz referans aralıklarına göre değerlendirildi. ALP düzeyi düşüklüğü sebat eden hastalar geri çağrılarak; ALP, kalsiyum, fosfor, magnezyum, vitamin D düzeyi bakmak için kan örneği alındı. ALP

düzeıı bu örnekleıde de düşük gelen hastalardan plazma PLP düzeııne ve idrarda PEA alışıldı.

Kanda ALP düzeıı düşük, serumda PLP düzeıı ve/veya idrarda PEA düzeıı yüksek gelen hastalardan radyografi çekildi ve *ALPL* gen analizi gönderildi.

Sonuç

93 162 hastadan alınmış 130 340 ALP sonucu tarandı. Tüm sonuçlardan 867 hastaya ait 1404 numunede ALP değeri yaşa göre belirlenmiş referans aralığının altında saptandı.

ALP değeri düşük gelen 867 hastandan 745'nin kontrol bakılan ALP değerleri referans aralığına göre normal sınırlarda olduğu için HPP tanısı ekarte edildi.

122 hastaya ait 347 örnekte ALP düşüklüğü sebat ettiği görüldü ve bunlarda 8 hastanın exitus olduğu öğrenildi. Ulaşılabilen ve çalışmaya katılmaya kabul eden 75 hasta çalışmaya dâhil edildi. Alınan örnekleıde 37 hastanın ALP seviyeleri düşük geldi ve plazmada PLP, idrarda PEA alıştırıldı. PEA ve PLP düzeııleri 4 hastada yüksek bulundu, bu hastalardan bir tanesi bilinen homozigot mutasyon taşıyan HPP idi (p.V128M) ve genetik analizler sonucunda 1 hastada birleşik heterozigot mutasyon (p.A377V; p.R184G), diğer 2 hastada heterozigot mutasyon (p.V459M; p.Y263H) saptandı. İdrarda PEA düzeıı yüksek olup, plazma PLP düzeıı normal olan 3 hasta tespit edildi ve bu hastalardan birinde genetik analizde birleşik heterozigot mutasyon (p. His79Glnfs30- p.R152H) saptandı.

ALP düşüklüğü persiste eden hastalarda *ALPL* geninde mutasyon bulma olasılığı %13,5 olmakla birlikte, bu mutasyonların hastalığa işaret edip etmediği tartışmalıdır. Bu konuda takip çalışmalarına ihtiyaç vardır.

Anahtar kelimeler: Hipofosfatazya, kemik, Alkalen fosfataz.

ABSTRACT

‘Patients with low Alkaline phosphatase activities in biochemistry laboratory research for Hypophosphatasia’

Background

Hypophosphatasia is a rare, inherited, metabolic disease with defective mineralization of bone and teeth. Disease caused by inactivating mutations in the *ALPL* gene resulting in low ALP activity and accumulation of the enzyme substrates PPi, PLP, PEA. PPi inhibits bone mineralization leading to skeletal abnormalities such as rickets, osteomalacia, fractures and systemic complications. Based on age at presentation and severity of symptoms, hypophosphatasia is classified into perinatal lethal, prenatal benign, infantile, childhood, adult, and odontohypophosphatasia, which is limited to dental manifestations (no skeletal involvement)

The severe forms of HPP cause stillbirth or death within days/weeks after birth and the diagnosis of mild HPP forms, particularly in adults, can be more difficult due to less marked clinical features. So far, we suggest that most of the HPP cases could not get correct diagnosis due to early death or nonspecific clinical findings, and, disease prevalence is much more higher than the known prevalence. In this study, we aimed to find missed cases with HPP based on the retrospective analysis of serum ALP values in laboratory by searching all laboratory ALP values below age and gender specific ALP reference ranges.

Materials and Methods:

We assessed all analyzed serum ALP measurements under 18 years old children between September 2014 and January 2016 at the Department of Clinical Chemistry, Marmara University Hospital. First, pediatric ALP reference ranges were constructed according to age groups and gender in our hospital. Patients with low ALP concentration according to age and gender specific reference ranges were determined and screened for all hospital record and their other ALP values in hospital records. Patients with persistently low ALP levels were recalled for reanalyzed serum ALP and analyzed for, Ca, P, Mg, vit D. Plasma PLP and Urine PEA was performed in

recalled patients with low ALP. Those with low ALP and elevated PEA and PLP had radiographs and genetic testing of the *ALPL* gene performed.

Results

The 130 340 serum ALP values from 93 162 patients were included in the study. Low ALP concentrations according to reference range were detected in 1404 sample from 867 patients, and, when we screened the patient's records for whole ALP values in hospital, 122 patients had persistently low ALP values and 745 patients had normal subsequent ALP levels.

122 patient with persistently low ALP levels were included in final analysis and, we found that 8 patients were died, 19 patients rejected to attend the study and 20 patients could not be reached due to uncorrectt contact information, and final test were performed on 75 patients.

Plazma PLP and Urine PEA was performed in 35 patients with low ALP level on repeat sampling. Urine PEA and plazma PLP was elevated in 4 patients from them and subsequent genetic testing was performed that identified 2 heterozygous and 1 ccompoun heterozygous mutations in the *ALPL* gene (p.V459M; p.Y263H and, p.A377V;p.R184G respectively) including one known case with homozygous mutation (p.V128M-p.V522A). Elevated PEA with normal PLP levels were detected in 3 patients, and 1 of them has compound heterozygous mutation (p. His79Glnfs30-p.R152H).

Mutations in *ALPL* gene were detected in 13,5% of patients with persistently low ALP. It should be evaluated whether these mutations are really disease causing mutations or not on follow-ups.

Key words: Hypophosphatasia, Bone, Alkaline phosphatase.

1-GİRİŞ VE AMAÇ

Hipofosfatazya, nadir görülen multisistemik, genetik geçişli, kemik ve dişlerde mineralizasyon bozukluğuna neden olan metabolik bir hastalıktır.

Hipofosfatazya, TNSALP-Tissue Non-Specific Alkaline Phosphatase kodlayan gende oluşan mutasyonlar nedeni ile Alkalen fosfataz eksikliği sonucu gelişir. *ALPL* geni 1. kromozomun kısa kolunda 1p36.1-p34 kromozom bandında yer alır ve 12 ekzonludur. ALP 507 aminoasidin oluşturduğu fosfomonoesterazdır. Gen yüksek allelik heterojeniteye sahiptir ve şimdiye kadar 300'den fazla mutasyon tespit edilmiştir ve bunların %79'u missense mutasyondur. Mutasyonlar intrauterin ölüme sonuçlanan fatal formdan, erişkin yaşlarda sadece diş kaybıyla sonuçlanan hafif formuna kadar çok farklı spektrumda klinik tablolara neden olabilir. Hipofosfatazya, otozomal dominant ve resesif olarak kalıtılabilir.(1-3)

TNAP osteoblast ve kondrosit hücre membranının diş yüzeyine bağlı bir ekto-enzimdir. Alkalen fosfatazın ayrı genlerde kodlanan üç doku spesifik (intestinal, plasental ve germ hücreli) ve bir doku non-spesifik 4 izoenzimi vardır.

TNAP özellikle kemik, karaciğer, böbrek ve beyinde zengindir. Bu enzim inorganik pirofosfat (PPi), B6 vitamininin ana formu olan piridoksal 5-fosfat (PLP), Fosfoetanolamin (PEA) gibi bazı maddeleri hidrolize ediyor. ALP düzeyi düşük hastalarda PPi ekstraselüler olarak artarak kemiklerde hidroksiapatit oluşumunu bozar. Kemik mineralizasyonunun bozulması çocuklarda raşitizm bulgularının gelişmesine, erişkinlerde osteomalaziye neden oluyor. PLP, B6 vitamininin ana formudur ve hücre membranını geçmesi için ALP tarafından defosforilize edilmesi gerekmektedir. ALP eksikliği olan hastalarda B6 vitamini hücre membranını geçemediği için B6 vitamin eksikliğine bağlı bulgular ortaya çıkabilir. Beyinde vitamin B6 eksikliği neurotransmitterlerin sentezinin bozulmasına ve epilepsiye neden olabilir. Ayrıca, kalsiyum pirofosfat-dehidrat kristallerinin eklemlerde toplanması psödoguta yol açabilir.(4, 5)

HPP'nın ölümlü sonuçlanan infantil form gibi çok ağırdan, klinik bulgu vermeyen erişkin form gibi hafife geniş spektrumlu klinik tablo olması nedeni ile pratikte ayrııcı tanısının yapılması olarak zordur. Hastalığın ağır formunun prevalansı Kanada'da 1/100.000, Avrupa'da 1/300.000'dir. Ancak, hafif formlarının prevalansını tanı almayan vakaların fazla olması nedeniyle değerlendirmek zordur.

HPP'nın ağır formlarının prenatal veya yaşamının ilk günlerinde ölümlü sonuçlanması, hafif formlarının non-spesifik klinik tablolar oluşturması nedeni ile tanı konulmasını zordur ve hastalar ya tanı almadan kaybedilmiş veya farklı tanıları ile izleniyor olabilir. Biz HPP vakalarının tanı alamadığını, aslında hastalığın toplumda bilinen oranlardan çok daha fazla olduğu hipotezini kurduk. Çalışmamızda laboratuvar olarak ALP düşüklüğü saptanan hastaları HPP açısından tekrar değerlendirmeyi amaçladık.(6, 7)

2-GENEL BİLGİLER

2.1 Hipofosfatazının Tanımı:

Hipofosfatazya nadir ve bazen fatal seyreden metabolik kemik hastalığıdır. Klinik semptomlar iskelet sisteminde ağır mineralizasyon kaybı sonucu solunum yetmezliği ile seyreden fatal perinatal variantdan, hayatın gec dönemlerinde ortaya çıkan daha hafif, progressif osteomalaziye kadar heterojen değişkenlik gösteriyor.

HPP'nın ilk kez Rathbun tarafından tanımlanmış, osteogenesis imperfekta ve akondroplazi gibi kliniği iyi bilinen hastalıklardan serum ALP düzeyinin belirgin düşüklüğü ve epilepsi gibi farklı klinik bulgularının olması ile differensasyonu yapılmıştır.(8)

HPP *ALPL* gen mutasyonu sonucu ALP'nin doku spesifik olmayan izoenziminin (karaciğer, kemik ve böbrek) aktivitesinin azalması sonucu ortaya çıkar. Hastalığın letal veya hafif formda olması mutasyonun türüne, kalıtsal mekanizmasına ve semptomların başlangıç yaşına bağlıdır.

Alkalen fosfataz enzimi 1923 de Amerikanın New York Üniversitesinde Robert Robison tarafından keşfedilmiştir.

Robison bu enzimin inorganik pirifosfatı hidrolize ederek hidroksiapatit kristallarının oluşmasına ve kemik mineralizasyona etki ettiğini gösterdi ve enzimi alkalen fosfataz değil, kemik fosfataz olarak adlandırdı. 1930'lu yıllarda serumda ALP ölçülmesi konusunda önemli araştırmalar yapıldı. Robinson'un tanımlamasından kısa süre sonra hipotezi değiştirildi ve alkalen fosfatazın sadece kemik değil, karaciğer, bağırsak, plasenta gibi nonkalsifiye dokularda da yüksek miktarda bulunduğu ve ekstrasellüler sıvının PPI ile sature olduğu öğrenildi.

HPP'yı ilk kez Kanada Toronto hastanesi Çocuk hastalıkları bölümünde çalışan J.S.Rathbun tarafından tanımlanmıştır. Dr Rathbun 1948 yılında ilk defa hipofosfatazya terminini kullandığı zaman, tarif ettiği durumun aslında bir metabolik hastalık olduğunu düşünmemiştir.(9-11) Sonrasında yapılan çalışmalar ile bu durumun metabolik ve kalıtsal bir hastalık olduğu gösterildi. Şimdi hipofosfatazının spesifik genetik olarak tanımlanmış metabolik bir hastalık olduğu bilinmektedir. Bu hastalık 3 esas özellikte karakterizedir;

1-Kemiğin anormal mineralizasyonu

2-ALP aktivliğinin azalması

3-Fosfobileşiklerin kan ve idrarda artması

Bu hastalığın biyokimyasal doğası sadece enzim eksikliği ile değil, beraberinde bazı doğal metabolitlerin artması ile belirlenir. Dual manifestasyonu nedeniyle bu kategoriden olan hastalıklar içinde nadirdir.

Rathbun'un raporuna kadar hipofosfatazyanın genel özellikleri birçok araştırmacı tarafından tanımlanmış, ama Rathbun öncekilerden farklı olarak bu sendromu hasta örnekleri üzerinden tanımlamıştır. Rikets ve epilepsi nedeniyle kaybedilen çocuk hastada; kan, kemik ve başka dokularında ALP düzeyi paradoksal düşük olan hastada, hipofosfatazya tanısını düşünmüştür.(9-11)

TNAP'ın fizyolojik rolünün anlaşılması hastalarda fosfobileşik düzeylerin yükseldiğinin anlaşılmasından sonra mümkün oldu. 1955 yılında idrarda Fosfoetanolaminin artması hipofosfatazyanın ikinci biyokimyasal markeri olarak tanımlandı. 1965 yılında idrarda ve 1971 de kanda inorganik pirofosfatın arttığı görüldüğü ile rikets ve osteomalazinin gelişme mekanizması anlaşıldı. 1985 yılında PLP-piridoksal 5-fosfat düzeyinin kanda yükselmesi TNAP'ın ektoenzim fonksiyonunun olduğunu ve fosfor içerikli maddelerin ekstraselüler alanda birikme mekanizmasını açıkladı.(3, 12)

1988 yılında hipofosfatazyada *ALPL* geninde mutasyon nedeniyle TNAP'ın fonksiyonunu kaybettiği tanımlandı ve böylece Robinson'un hipotezi kanıtlanmış oldu.

2.2 Prevalans ve Epidemiyolojisi

HPP bir-birinden farklı prevalanslarda, ancak, dünyanın tüm ülkelerinde ve tüm ırklarda görülmektedir. Ağır formlarının prevalansı Kanadada 1/100.000, Avrupa'da 1/300.000 olarak bildirilmiştir. Kanadada özellikle Mennonite popülasyonunda 1/25 oranda taşıyıcılık olduğu için 1/2500 gibi yüksek prevalansta görülmektedir.(6, 7, 13) Japonyada sadece Japonlarda bulunan C1559delT mutasyon taşıyıcılığı 1/480 gibi yüksek olması nedeni ile Japon popülasyonunda homozigot perinatal letal formunun 1/900.000 gibi yüksek prevalanstadır. Afrikalı Amerikalılarda HPP özellikle nadir

görülmektedir. Ancak, HPP'nın daha hafif formlarının prevalansını tespit etmek bulguların farklı olması ve tanı alamayan vakaların çok olması nedeniyle oldukça zordur. Mornet'in çalışmasına göre Avrupa popülasyonunda dominant hafif HPP'nın prevalansı 1/6370 dir. (14-16)

2.3 Etiyoloji ve Patofizyolojisi

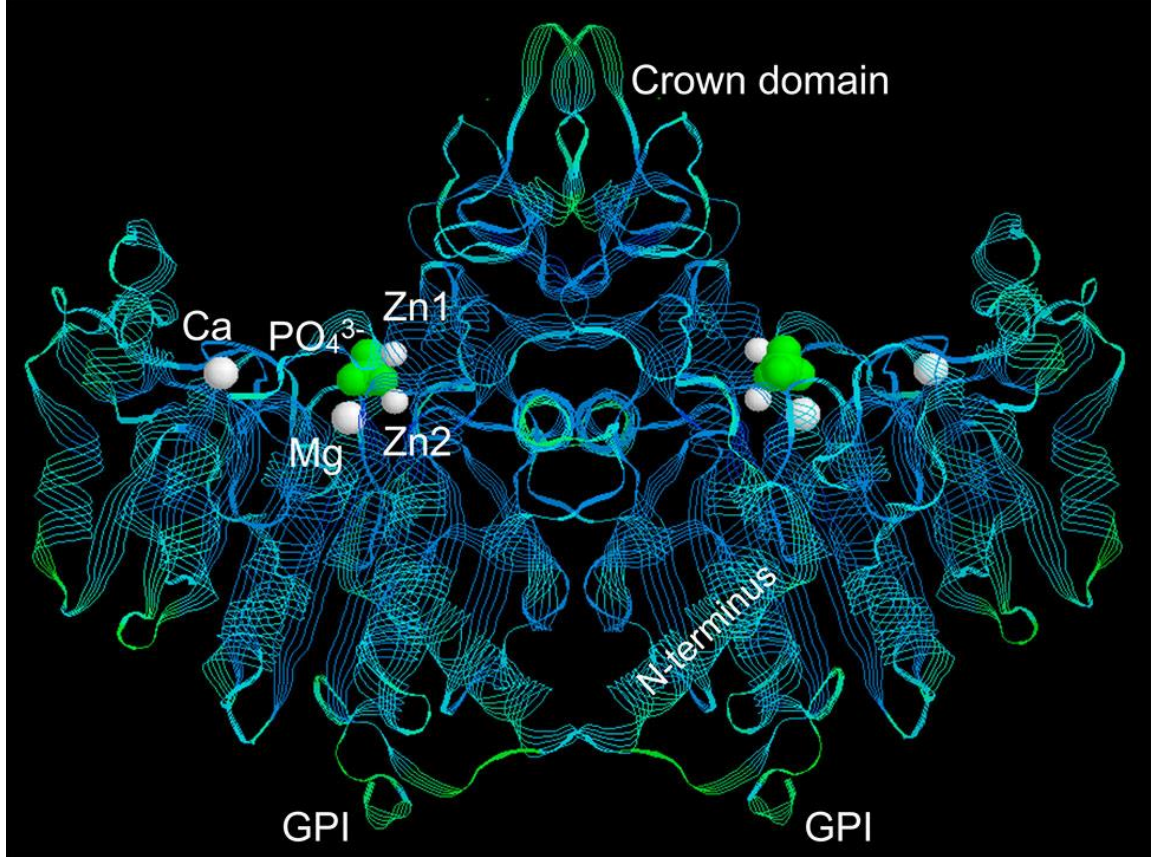
2.3.1. Alkalen fosfataz

ALP (Ortofosforik monoester fosfohidrolaz) bitki ve hayvanların hepsinde mevcut olan bir enzimdir. İnsanda dört farklı gende dört ALP izoenzimi kodlanır. Bunlardan üçü doku spesifik olup; barsak (ALPİ-intestine), plasenta (ALPP-placenta) ve germ hücrelerinden (ALPPL2-placenta like 2) üretilir. Bu ALP izoenzimlerinin eksiklikleri HPP'ya neden olmaz.

ALP'in dördüncü izoenzimi tüm dokularda olduğu için doku spesifik olmayan alkalen fosfataz (TNSALP, TNAP) olarak adlandırılır. Karaciğer, kemik ve böbrek özellikle TNAP ile zengin olduğu için genetik haritada *ALPL* (ALP-liver) olarak sembolize edilir. (14, 17)

ALPL geni 1. kromozomun (1 p36.1-p34) kısa kolunun distal kısmında ve diğer *ALPL* genleri 2. kromozomun (2p34-q37) uzun kolunun distal kısmında bulunur. *ALPL* geni 50 kb aşkın boyutta olup 12 ekzondan oluşur; İlk egzon hariç 11 ekzondan ALP translasyonu ile 507 aminoasitden oluşan protein sentezi gerçekleşir. TATA ve Sp1 sequenci regülatör elemanlardır.(18, 19)

TNAP'ın DNA zincirinde 5 potensiyel N-bağlantılı glikozilasyon alanı (N-linked glycosylation site) mevcuttur. N-bağlantılı glikolizasyon katalitik aktivite için önemlidir. O-glikolizasyon karaciğer ve diğer izoformlara değil sadece kemiğe özgüdür(19, 20)



Şekil 1; ALP'ın 3D yapısı. (20)

2000 yılında plasental ALP'nın kristal yapısı tanımlanmıştır.

Dokularda ALP hücre yüzeyine homotetramer gibi bağlanır, ama dolaşımında ALP homodimeriktir. İki monomer kristalografik aksis üzere iki kat bağlantı kurar. Bu özellik monomer–monomer bağlantısını stabilite ve fonksiyon açısından çok önemli hale getirir ve bu nedenle ALP'nin homodimer olması zorunludur.

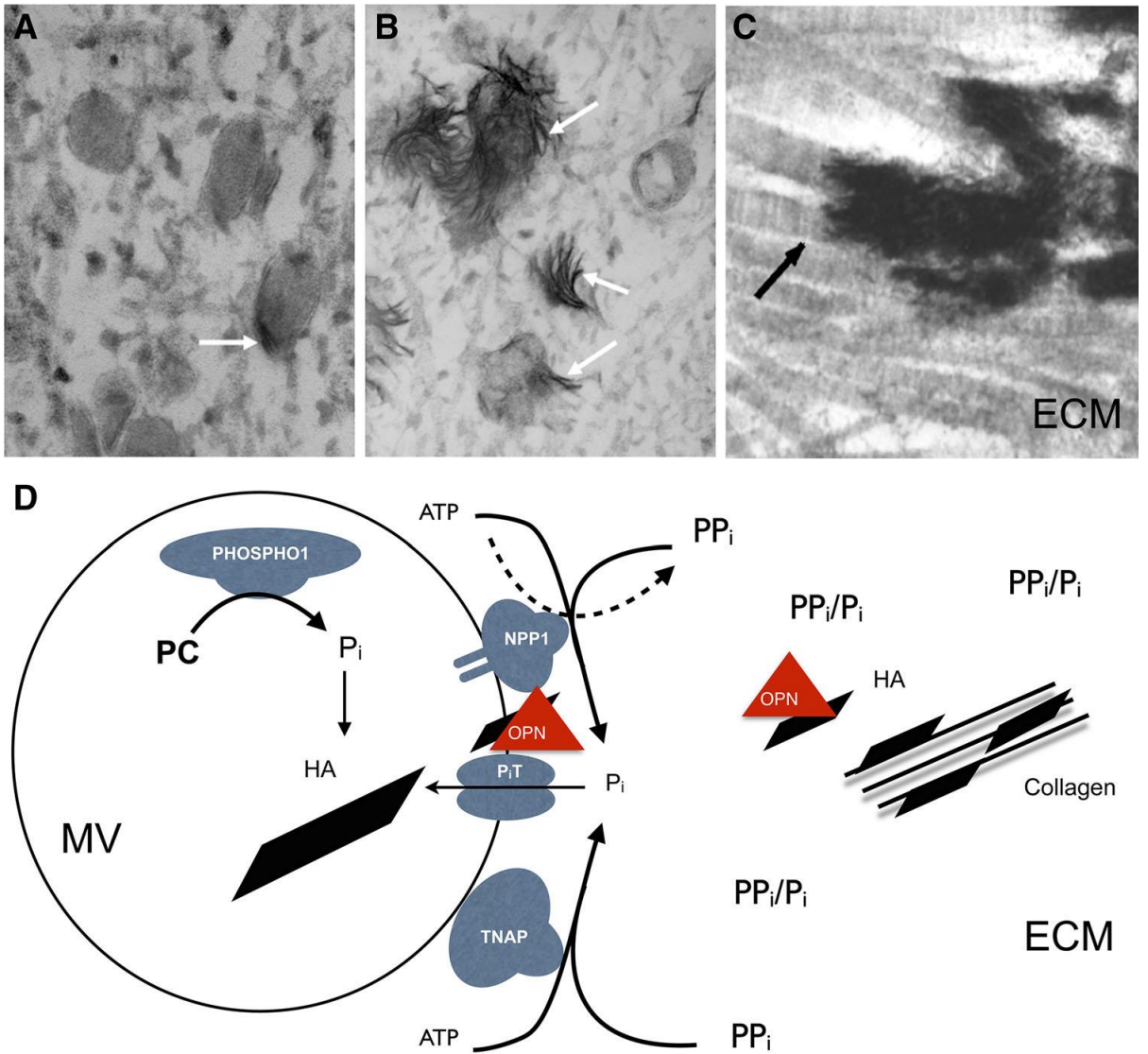
ALPL gen mutasyonları monomer-monomer bağlantısının, taç bölgesinin, divalent bağlantıların ve metal katyon bağlanma alanının değişimine neden olarak hipofosfatazyaya gelişiminde rol oynar.

TNAP'ın posttranslasyonel modifikasyonu da çok önemlidir. TNAP plazma membran yüzeyine Glikozidilfosfatidilinozitol (GPI) yardımı ile bağlanır. Bu artmış membran akıcılığı sonucu enzimin hareket etmesine engel olur. GPI plazma membranında bulunan fosfoliyazın enzimatik aktivasyonu sonucu membrandan ayrılıyor. Bu

TNAP'ın dolaşımında ve diğer vücut sıvılarında nasıl bulunduğunu açıklamaktadır.(20)

TNAP'ın 5 adet N-bağlantılı glikozilasyon alanı (N-linked glycozylasyon sites) olup, bunlar; N123, N213, N254, N286 ve N413'dür. Ve katalitik aktivasyonu için karbohidrat zinciri gereklidir. TNAP'da karbohidratın türü kemik, karaciğer, böbrek ve vasküler hücrelerde salınan izoformun farklı biyofiziksel ve kinetik özelliklerini açıklamaktadır.(20-22)

2.3.2. Patofizyoloji



Şekil 2: Kemik mineralizasyonunun başlanması ve yayılması :(20)

Elektron mikroskopisinde görüntü:

(A) Matriks veziküllerinin (MV) ön kısmında mineral sınırı.

(B) MV membranı boyunca mineralin yayılımı.

(C) Kollajen içine mineral depolanması

(D) Matriks veziküllerinde başlayan 3 adımda oluşan biomineralizasyonun diyagramı

Kemik gelişimi kompleks bir olay olup, buna kemik büyümesi, modeling (formasyon) ve remodeling (formasyon ve rezorpsiyon) dâhildir. Puberte öncesine kadar kemik gelişimi ekstremitelerde ve aksiyel alanlarda endokondral kemik formasyonu sonucu oluşur. Sağlıklı büyüme plaklarında (epifizde) kondrositlerin proliferasyonu, hipertrofisi, dejenerasyonu, ardından kırkırdak matriksin mineralizasyonu (primer spongiöz) görülür. Osteoblastlar kemik matriksi (osteoid) sentezler ve minealizasyon başlar. 1960 yılında elektron mikroskopisinde endokondral kemik formasyonu zamanı mineral depolanmanın erken evresinin ekstraselüler olarak membran-bağlı yapı olan matriks veziküllerinde başladığı gösterilmiştir.(23)

Matriks vezikülleri ile kemik mineralizasyonunda önemli olan PHOSPHO1, NPP1 ve TNAP olmak üzere 3 enzim vardır.

Kemik mineralizasyonunun **1. Fazında(primer faz)** MV'de Ca ve Pi toplanır.

Bu faz iki bağımsız biyokimyasal yolun birlikte çalışması sonucu oluşuyor.

1. yol: PHOSPHO1'in enzimatik aktivasyonu sonucu Pi'nin oluşması

2.y ol: TNAP ve NPP1'in enzimatik aktivasyonu ile perivesiküler alanda oluşan Pi'nin Pi transporter tarafından MV içine geçirilmesi(24)

2. Fazda(sekonder faz) vezikül membranları parçalanır, HA kristalleri ECF'de yayılır ve kollagen matriksde depolanır. Bu olay tetikleyici ve inhibe edici faktörlerin karşılıklı düzenlenmesi sonucu meydana gelir. Her üç fosfataz -PHOSPHO1, NPP1 ve TNAP ile Pi/PPi oranının regülasyonunda önemli role sahiptir.(25)

PHOSPHO1 MV'de HA kristallarının oluşumunda çok önemlidir, olmaması iskelet mineralizasyonunun bozulmasına ve embriyonik dönemde ölüme neden olur.

PHOSPHO1 fosfokolinden (PC) intraveziküler Pi oluşturarak HA mineral depolaşmasını başlatır.(26)

TNAP ekstraselüler HA oluşumunda önemli yere sahiptir. PPI'ı hidrolize ederek ekstraselüler ATP fosforilaz gibi periveziküler alanda Pi yapımında rol alır.

NPPI hücre yüzeyinde PPI oluşturan enzim olarak görev yapıyor, ama TNAP eksikliği zamanı fosfataz aktivitesi kazanır. Bu enzim aynı zamanda potent ATP'azdır.

NPPI aktivitesi HPP fenotipi için modifiye edici olabilir.(27, 28)

B6'nın majör dolaşım formu olan piridoksal 5-fosfat TNAP'ın doğal substratıdır. Vitamin B6'nın farklı formları vardır ve en az 110 enzimin kofaktörü olarak görev yapmaktadır. Piridoksal, Piridoksamin, Piridoksin gibi B6 vitamini piridoksal kinaz tarafından fosforilize edilerek 5' türevleri olan Piridoksal 5-fosfat (PLP), Piridoksamin 5-fosfat (PMP), Piridoksin 5-fosfat(PNP)'a dönüştürülür

PLP birçok aminoasitin katabolizminden sorumlu olan enzimlerin ve dopamin, serotonin, histamin, taurin ve gamma-amino butirik asit (GABA) gibi bazı önemli nörotransmitterlerin dekarboksilasyondan sorumlu olan enzimlerin kofaktörüdür. PLP ve PMP oksidaz ve ya aminotransferaz yardımıyla bir-birine dönüşür. PLP'den Pi'ü ayırarak PL oluşturulması TNAP'ın önemli görevlerindedir.(29, 30)

B6 vitaminlerinin yalnız defosforilize formları hücre içine girebilir, hücre içinde yeniden fosforilize olarak PLP'ye dönüşür ve farklı enzimatik yollarda koenzim görevi yaparlar.(31, 32) Bu nedenle TNAP eksikliğinde PLP PL'ye dönüşemez ve hücre içine geçemediği için koenzim görevini yapamaz ve sonuçta birçok reaksiyon gerçekleşemez ve HPP kliniği ortaya çıkar. HPP hastalarında bu nedenle kanda PLP düzeyleri yüksek bulunuyor. Ağır kliniğe sahip çocuk hastalarda beraberinde kanda PL düzeyi de düşüktür. İnfantil HPP formunda hastada B6 bağımlı ağır nöbetler görülür ve hastalığın bu formu %100 letaldır. Fareler üzerinde yapılan deneylerde; Knockout(KO) farelerde TNAP olmaması sonucu hipomiyelinizasyon, spinal sinirlerde incelme, miyelinize aksonların kaybı, immatür kortikal sinapslarda artma görülmüştür. Bu farelere PL enjeksiyonu nöbetleri azaltmıştır. (33-35)

HPP da kanda ve idrada PEA düzeyi yükselir, ancak bunun endogen orijini tam belli değildir. PEA TNAP dâhil tüm proteinler için mevcut olan hücre yüzeyi glikofosfatidilinozitol linkinin komponentidir. Hepatik O-fosforiletanoamin fosfoliyaz (PEA-P-Lyase) enzimi PEA'yı hidrolize eder ve bu enzimin kofaktörü PLP'dir. TNAP eksikliği zamanı karaciğer hücrelerinde oluşan PLP eksikliği bu enzimin fonksiyonunun bozulmasına, kanda ve idrarda PEA'nın artmasına neden olur. Tam bilinmemekle beraber OPN (osteopontin) poli-aspartat aminoasit dizisiyle osteoklastlarda hidroksiapatit oluşumuna, RGD dizisi ile CD44 ve $\alpha_v\beta_3$ integrine bağlanarak, hücre sinyal ve migrasyonuna yardım eder.(36, 37)

OPN 36 serin/treonin fosforillenme alanı ile yüksek miktarda fosfor içeren bir glikoproteindir. Bu fosforilasyon çok önemlidir, çünkü kovalent bağlantılı fosforların %84 ayrılması halinde, OPN'nin kemik mineral depolanması üzerinde inhibitör etkisi azalır. Fosforlanmış OPN vasküler düz kas hücrelerinin kalsifikasyonunu ve kemikte HA formasyonunu inhibe ediyor.(38, 39) Ekstraselüler PPI düzeyi osteoblastlarda OPN ekspresyonunu düzenler. KO farelerde fosforlanmış OPN kemik mineralizasyonunu bozar. TNAP eksikliği sonucu OPN defosforilasyonu bozuluyor, sonuç olarak fosforlanmış OPN'nin artması kemik mineralizasyonunun bozulmasına neden olur. Bu da göstermektedir ki, OPN TNAP'in başka bir doğal substratıdır ve HPP'nin patofizyolojisinde OPN'nin fosforilleşmesi önemli bir biyokimyasal yoldur. (26)

TNAP'in başka biyolojik rolü de bakteriyel endotoksinlerin, özellikle LPS'in (di-fosforil-lipopolisakkarid) ve pro-inflamatuvar ATP'nin detoksifikasyonunu yaparak bağırsak mukozasında mikrobiyota regulasyonunu sağlamaktır. LPS detoksifikasyonu hamilelikte bakteriyel enfeksiyona karşı koruma sağlar, uterusu implantasyon ve desidualizasyonu kolaylaştırır.(40, 41)

Yenidoğan bebekte dolaşımda yüksek miktarda mevcut olan TNAP pro-inflamatuvar ATP'nin defosforilasyonuna neden olarak anti-inflamatuvar adenosinin plazma seviyesini yükseltir. (42, 43)

TNAP purin metabolizmasına katılan 3 enzimden biridir, farelerde somatosensör dorsal root ganglion nöronlarında ve dorsal spinal kordda anti-nociceptif (ağrı önleyici) adenosinin oluşmasına neden olur. KO farelerde TNAP eksikliği sonucu ATP/adenosin oranı artar, bu da farenin nöbet geçirmesine, hiperalgi ve allodyniye

(normalde ağrıya neden olmayan stimulatörün aşırı ağrı oluşturması) neden olur. HPP'nin ağır formları olan hastalarda da aynı mekanizma ve klinik söz konusudur.(44, 45)

2.4 Klinik Prezantasyon

Hipofosfatazının klinik presentasyonu çok farklılık göstermektedir, ölümlü sonuçlanan infantil form gibi çok ağır veya hayati tehlike oluşturmayan erişkin formu gibi hafif seyirli klinik görülebilir. HPP'nin sınıflandırması 1957 yılında ilk kez yapılmış ve o zamandan bu yana çok az değiştirilerek sadece 6. formu eklenmiştir.

HPP'nin bazı klinik formları özelliklerine göre çok benzerlik gösterir ve infantil form ile çocukluk formunu ayırtmak bazen zor olabilir.

Ağrı, gerginlik, alt ekstremitte kas güçsüzlüğü muhtemelen kemiklerin hipomineralizasyonu sonucu oluşan mikrofraktürler sonucu hem çocukluk, hem de yetişkin formlarında görülebilir. Diş problemleri de yine bu iki formda çok sık görülür. Ama kural olarak, hastada oluşan kemik komplikasyonları ve prognozun kötülüğü kliniğin daha erken yaşlarda ortaya çıkması ile ilişkilidir.(46)

HPP 6 klinik formu var:

1. Perinatal letal form
2. Perinatal benign form
3. İnfantil formu
4. Çocukluk formu
5. Yetişkin formu
6. Odontohipofosfatazya

Tablo 1:Hipofosfatazya formlarının özellikleri.

OD: otosomal dominant, OR: otosomal resesif, BMD: bone mineral density, GFR: glomerular filtration rate

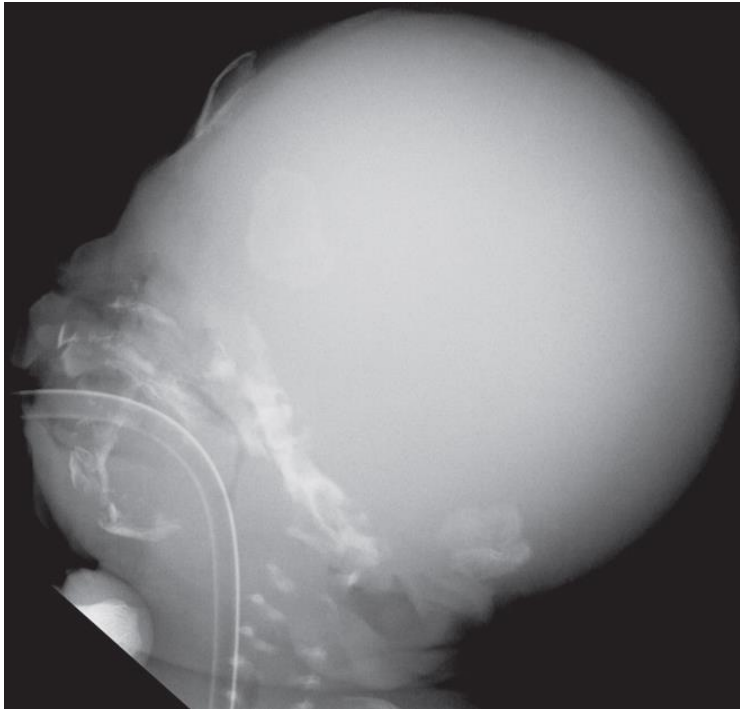
Form	Kalıtım	Klinik bulgular	Diş bulguları	Tanı
Perinatal letal	OR	En ağır formu. Ölü doğum ve ya doğumdan sonra birkaç gün/hafta içinde ölüm görülür. Ağır hipomineralizasyon. Kalsiyum/fosfat metabolizmasında bozukluk. Kolda ve bacakta Osteokondral spurlar, Ağır akciğer hypoplazisi (göğüs kafesi deformiteleri, kaburga fraktürleri) Nöbetler	–	Radiografi ve Ultrasonografi Laboratuvar: düşük ALP (umbilical kord kanı)
Prenatal (or perinatal) benign	OR/OD	Benign seyir. Kısa ekstremiteler ve prenatal uzun kemiklerin eğiklik Doğumdan sonra kemik defektleri spontan iyileşir.	–	Ultrasonografi Klinik değerlendirme. Laboratuvar: düşük ALP (umbilical kord kanı)
Infantil	OR	İlk semptomlar yaşamın ilk 6 ayında görülür. Hayatın ilk yılında ölüm oranı yüksektir. Prognozu kötüdür. Ağır hipomineralizasyon (raşitik kaburgalar) Prematür kraniosinostoz (Chiari I malformasyonu hidrostatik hidrocefali, hidrosiringomyeli), Yutma disfonksiyonu, huzursuzluk, nöbet. Ağır kas hipotonisi. Hiperkalsiuri, nefrokalsinoz.	Süt dişlerinin prematür kaybı	Radiografi Klinik değerlendirme. Laboratuvar: düşük ALP Yüksek PLP, PEA, PPI
Childhood - Çocukluk çağı	OR/OD	İlk bulgular yaşamın ilk 6 ayında görülüyor. Hipomineralizasyonun rikets benzeri bulguları. Kısa boy, büyüme gelişme geriliği. Yürüme bozukluğu. Tekrarlayan fraktürler. Kemik deformasyonu sonucu oluşan yürüme bozukluğu. . Kronik kemik ağrısı(alt ekstremitede)	Süt dişlerinin prematür kaybı, karies	Radiografi: kemik spurları, uzun kemiklerin kısalması. Klinik evaluasyon. Laboratuvar: düşük ALP Yüksek

		Kemik hipotonisi. İştahsızlık, kusma, gastrointestinal problemler.		PLP, PEA, PPi Kemik densitometri: Düşük BMD
Adult- Erişkin	OR/OD	Metatarsal ve tibianın stres fraktürü. Femurpseudofraktürü. Frajil kemikler. Osteomalazi, osteoporoz Çocukluk çağında geç iyileşen fraktür hikâyesi. Sık kullanılan diş braketleri. Kondrokalsinoz, osteoartrit. Miyopati, kas gücsüzlüğü Renal bnormallikler, azalmış GFR. Nefrokalsinoz and böbrek taşları. Psikiatrik bulgular. (insomnia, huzursuzluk, ankisyete, depresyon)	40–60 yaşlarında yirmi yaş dişlerinin kaybı	Radiografi. Klinik değerlendirme. Laboratovar: düşük ALP Yüksek PLP, PEA, PPi Kemik densitometri: Düşük BMD
Odonto HPP	OR/OD	Kemik, eklem, kas sorunları görülmez.	Süt ve yirmi yaş dişlerinin prematür dökülmesi. (özellikle incisor) Ağır diş çürükleei Dentin kalınlığında azalma. Pulpa boşluğunun genişlemesi. Alveolar kemik kaybı.	Klinik ve dental değerlendirme. Laboratovar: düşük ALP Yüksek PLP, PEA.

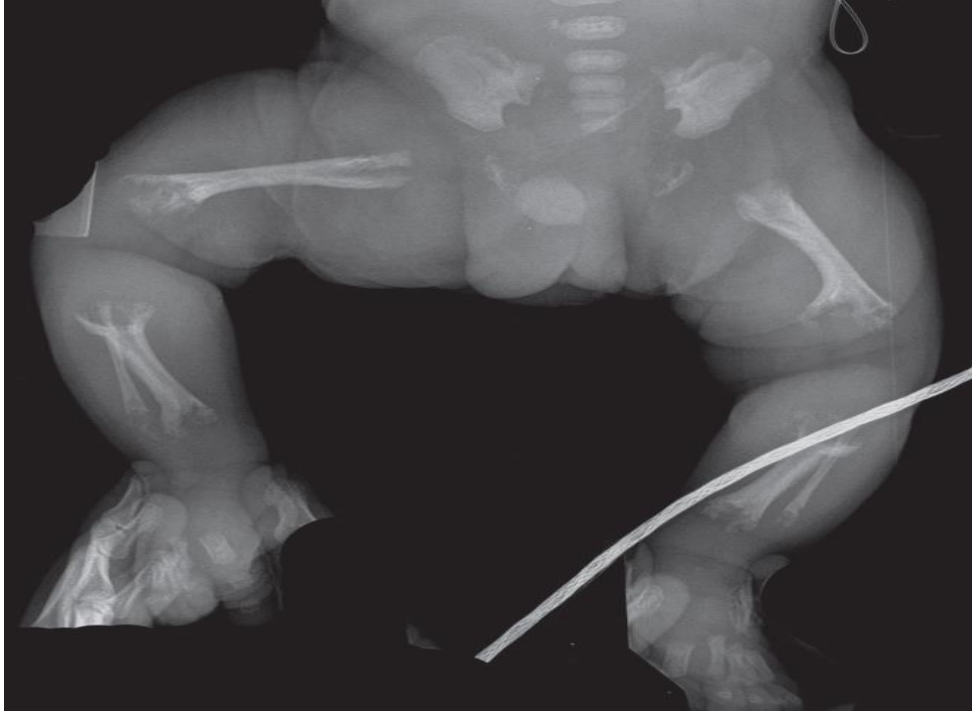
2.4.1 Perinatal letal formda in utero mineralizasyon belirgin bozulmuştur. Ootosomal resesif geçişlidir. Ağır kemik deformitesi sonucu genelde ölü doğumla sonuçlanır. Perinatal ölüm pulmoner hipoplazi sonucu gelişir. Hamilelik polihidroamniyozla komplike olabilir. Doğumda derin kemik hipomineralizasyonu sonucu bebekte caput membranaceum ve kısa ekstremiteler ile dünyaya gelirler. Bazen kemiklerde tam mineralizasyon kaybı görülür. Kolun orta kısmında ve

bacaklarda ciltten kabarmış spurlar görülebilir. Yaşayan bebeklerde göğüs kafeslerinin dar olması nedeni ile hipoplastik akciğer ve solunum sıkıntısı gelişir. Uzun kemiklerde (ekstremiteler, diz ve dirsekte) kemik değişiklikleri ve ekstremitte kısalığı görülür. Ayrıca, hiperkalsemi nedeniyle irritabilite, iştahsızlık, anoreksi, kusma, hipotoni, polidipsi, poliüri, dehidratasyon, kabızlık, epilepsi gelişebilir. Bradikardi, nedeni bilinmeyen ateş, siyanozun eşlik ettiği periyodik apne, kemik iliğinde fazla osteoid dokusu depolanması sonucu miyelofizik anemi ortaya çıkar. Bu hastalarda kraniosinostoz ve intrakraniyal kanamalar da sık görülür.(47, 48)

Kemik grafisinde patognomonik bulgular vardır. Perinatal hipofosfatazya osteogenesis imperfektanın ağır formları ve konjenital öücelik sendromları ile ayırdedilmelidir. Hastalarda hafif varsa ağır raşitik değişiklikler oluşabilir. Bozulmuş ossifikasyonu olan epifiz ve metafizde düzensiz radyolüsent alanlar görülürken, kranial membranöz kemiklerde sadece santral kalsifikasyon oluşmuştur; kranial sütürler geniş ve ayrı görünümündedir. Diş gelişimi bozuktur ve bu hastalarda kırıklar sık görülüyor.(49-51)



Şekil 3: Hipofosfatazyalı hastanın lateral kafa grafisinde belirgin hipomineralizasyon



Sekil 4: Hipofosfatazyalı hastanın alt ekstremite grafisinde raşitik değişiklikler

2.4.2 Perinatal benign form otosomal dominant ve resessif olabilir. İn utero oluşan kemik deformiteleri doğumdan önce spontan iyileşir. İn-utero ekstremite kısalığı ve eğrilikleri gibi iskelet bulguları olan fetusun, ALP düzeyi düşüktür. Bu bebeklerde doğumda ve sonrasında klinik bulgular görünmez.(52, 53)

2.4.3 İnfantil formunda hasta doğumda normal olabilir ve klinik bulgular ilk 6 ay içinde ortaya çıkar. Beslenme bozukluğu, büyüme gelişme geriliği, yetersiz kilo alımı, hipotoni ve rikets bulguları gelişinceye kadar bazen bebek normal gibi görülebilir. Bazı hastalarda klinik bulgulardan önce vitamin B6 bağımlı epilepsi gelişebilir. Göğüs kafesinde raşitik deformite sonucu respiratuar komplikasyonlar, solunum sıkıntısı, kaburgalarda kırık, tekrarlayan pnömoniler oluşabilir. Bu hastalarda kraniosinostoz sonucu intrakraniyal basıncı artışı, papilloödem, proptoz, hipertelorizm, brakisefali ortaya çıkabilir. Artan renal kalsiyum atılımı böbrek hasarına neden olabilir. Bazı hastalarda klinik olarak spontan iyileşme görülebilir,

ancak kraniosinostozis ve buna bağlı gelişen komplikasyonların geri dönüşümlü değildir. İleri yaşlarda boy kısalığı ve süt dişlerin erken kaybı görülebilir. (54, 55)

Kemik radyografisinde bulgular patognomonik olup, perinatal formu anımsatmakla birlikte daha hafiftir. Grafilerde normal görünen diyafizden kötü kalsifiye metafize ani geçişler görülebilir. Hastalarda deformiteler progresif olup, kırıklar oluşur.

İnfanıl HPP'da hastaya çekilen kemik sintigrafisinde kraniyel sütürler tarafından radyoizotop madde alımı azalmış olması sutürlerin kapanmış olduğunu gösterirken, konvensiyonel radyografide kemiklerin demineralizasyonu nedeni ile sütürler geniş ve açık görülür. Geniş açık fontaneler rağmen fonksiyonel kraniosinostoz oluşması kalvarumda hipomineralizasyonun illuzyonu olarak değerlendirilir.(56-60)

Vitamin B6 bağımlı nöbetler önemli prognostik bulgudur.(61)



Şekil 5: İnfantil Hipofosfatazyada diz grafisinde raşitik değişiklikler.

2.4.4 Çocukluk çağı formunun seyri ağırlığına göre belirgin varyasyon gösterir, Hastalar 6. aydan sonra tanı alırlar. Süt dişleri kök rezorpsiyonu olmadan, aplazisi, hipoplazisi ve diş semetumunun displazisi sonucu 5 yaşından önce prematür olarak kaybedilir. İlk kaybedilen dişler ön alt kesici dişlerdir. Bu HPP'nın diğer diş kaybına neden olan hastalıklardan ayırıcı tanısında önemlidir. Diş sementumu periodontal infeksiyon nedeniyle de dağılabilir. Dişler, kanamasız ve ağrısız olarak önce alt sonra üst kesici dişler olmak üzere dökülür.(62, 63) Diş radyografisinde pulpa boşluğunun

ve kök kanallarının genişlemesi önemli bulgudur. Yirmi yaş dişlerinin prognozu daha iyidir.

Çocukluk HPP'da raşittizm kısa boy ve yürümenin gecikmesine neden olur. Raşitik deformitelere kostokondral bileşkede oluşan raşitik rozeriler, eğri bacaklar, bilek, diz ve topukta çan benzeri genişleme, brakisefali de eşlik eder. Hasta kemik ağrıları, kas gerginliği, eklemlerde şişlik ve hassasiyet tarif eder. Tekrarlayan kemik ağrıları kronik multifokal osteomyeliti düşündürür. Hastalarda yürüme bozukluğuna progresif olmayan miyopatiye bağlı olur. Bu çocuklarda infantil formdan farklı olarak vitamin B6 bağımlı nöbet görülmez (64-66).

Radyografide epifizden metafize uzanan osteosklerozis sonucu oluşan radyolusens 'dil(tongue)' şeklinde kemik defekti tespit edilir. Hastada kraniyel sütürlerin prematür füzyonu intrakraniyal basınç artışına, proptoze ve beyin hasarına yol açabilir (67-69).

Hastalığın bu formunda da spontan iyileşme görülebilir, ancak genellikle orta veya ileri yaşlarda yeniden hastalık bulguları ortaya çıkar.



Şekil 6: Çocukluk çağı Hipofosfatazyası; Sağ dizin AP grafisinde paradoksal osteosklerozis sonucu oluşan epifizden metafize doğru uzanan karakteristik radyolusens dil şeklinde kemik defekti. Fibula başı özellikle dâhil olabilir



Şekil 7: Çocukluk çağı hipofosfatazyası; 5 yaşında kız hastanın lateral kafa grafisi: 'dövmüş bakır' manzarasına neden olan pansüter kapanması. Kraniektomi defekti mevcut.

2.4.5 Yetişkin formunda orta yaşlarda ilk bulgular ortaya çıkar. Sık olmasa da bazı hastaların çocukluk çağında raşitizm tanısı alma ve süt dişlerinin erken dökülme hikâyesi tanımlanabilir. Gençlik dönemini sağlıklı geçiren hastaların ilerleyen yaşlarda gelişen osteomalazi, tekrarlayan, kötü iyileşen metatarsal stres fraktürleri ve subtrokanterik kalça psödofraktürleri sonucu şiddetli bacak ağrıları görülür. Hastalar ayak ağrısı, metatarsal stres kırıkları, femur psödofraktürü ile başvururlar. Bu hastalarda ileri yaşlarda kondrokalsinozis ve osteoartropati gelişebilir.(70-72)

Yirmi yaş dişlerinin erken kaybı karakteristik değil, 40-60 yaşlarında diş kaybı daha sık görülüyor.(73, 74)

Hastalarda kalsiyum pirofosfat dihidrat (CPPD) depolaşması sonucu PPI artropatisi ve psödogut atakları gelişebilir. Romatolojik komplikasyonlar endogen PPI'nin artması nedeniyle oluşur. PPI'nin artması bazı hastalarda primer hiperparatiroidiye yol açabilir.

Kanda ALP düzeyine bakılarak semptomatik ve asemptomatik aile üyeleri tespit edilebilir. Bazı hastalarda çocukluk yaşında hipofosfatazemi, periartikular kalsiyum fosfat depolanması sonucu 'kalsifik periartrit' ve spinal hiperostozisi (Forrestier disease) anımsatan ligamanların ossifikasyonu (sindesmofit) gelişir.(75-77)

Yetişkin formunda radyografide osteomalaziye spesifik kortikal bölgede kemik defekt i(Loose zon- pseudofraktür) görülür. Osteomalazide femur boynunda medialde oluşan psödofraktürlerden farklı olarak erişkin HPP'da femur proksimalinde lateral kortekste oluşur.

HPP'da radyografide osteopeni, kondrokalsinoz, PPi artropatisi ve kalsifik periartrit bulguları da görülür.(78-80)



Sekil 8: Yetişkin Hipofosfataziası: Proksimal sağ femur AP radyografisinde lateral diyafiz kortekste subtrokanterik 'stres' fraktürü görülmektedir. Bu, HPP'da osteomalaziye karakteristik olan 'Looser zone, Milkman fraktürü' olarak adlandırılan psödofraktürdür.

2.4.6 Odontohipofosfatazya formunda kemik anormallikleri genelde görülmez, HPP'nın en hafif formudur. Süt dişlerinin erken dökülmesi ve ağır diş çürükleri gelişebilir. Bu hastalarda ön kesici dişler daha erken dökülür.

Diş röntgen filminde alveolda kemikte azalma, kök kanalları ve diş pulpa boşluğunda genişleme bulguları hipofosfatazyaya özgüdür.(81, 82)

Psödohipofosfatazya çok nadir olup, şimdiye kadar 2 infantta tam olarak dökümente edilmiştir. Klinik ve radyografik olarak infantil forma benzese de, laboratuvar olarak ALP normal veya hafif artmıştır. Bu mutant ALP'ın endogen katalitik aktivitesinin azalması sonucu HPP bulgularını ortaya çıkması ve hastalarda ALP doğal metabolitleri olan PEA, PLP ve PPi ekstrasellüler artışı görülür. ALP'ın rutin laboratuvar çalışılması sırasında mutant ALP'ın fizyolojik olmayan şartlarda katalitik aktivitesinin artması sonucu ALP kanda normal ve ya yüksek olarak ölçülebilir(31, 83-85)

2.5 Kalıtım

1950 yılında ilk öğrenilen HPP vakası ikiz kardeşler olarak bildirilmiş olup, hastalığın kalıtsal bir hastalık olduğu düşünülmüştür. Ağır hipofosfatazya tanısı almış infant ve çocukların aileleri incelendiğinde kalıtım paterninin otosomal resesif olduğu görüldü. Ayrıca, bu hastaların ebeveynlerinde de serum ALP aktivitesi düşük ve idrarda PEA düzeyi yüksek bulundu.(50, 86-88)

ALPL mutasyon analizlerinden hipofosfatazyanın en ağır ve fatal seyirli formları olan infantil ve perinatal formlarının otosomal resesif kalıtım gösterdiği görülmüştür. Hipofosfatazyanın hafif formlarının kalıtımı ise daha komplikedir. İlk tanımlanan vakalarda çocukluk çağı, yetişkin ve odontoHPP gibi hafif formların otosomal resesif kalıtım gösterdiği bildirilmişti. Sonrasında; hipofosfatazyanın klinik ve biyokimyasal özelliklerinin ve genetik mutasyonların daha iyi tanımlanmasıyla hastalığın hafif formlarının otosomal dominant olarak da kalıtıldığı gösterildi. Bazı aile çalışmalarında hafif etkilenmiş üyelerden daha ağır hastalığı olan çocukların doğduğu da görülmüştür.(89-91)

Hipofosfatazya taşıyıcılarının tanımlanması için bazı biyokimyasal markerlerin, özellikle idrar PPi bakılması gerekmektedir. Kanada'da Mennonite popülasyonunda yapılan çalışmalarda heterozigot üyelerin taramasında kanda PLP düzeyine bakılması özellikle yardımcı olmaktadır. (3, 92, 93)

Sonuç olarak; *ALPL* mutasyonlarının analizleri sonucu hipofosfatazyanın ağır formları olan perinatal ve infantil formunun otosomal resesif, daha hafif formları

olan çocukluk, yetişkin ve odontoHPP formalarının otosomal dominant ve resesif kalıtım gösterdiği gösterilmiştir.

2.6. Genetik Bozukluklar

ALPL geni 1.kromozomun (1 p36-1p34) kısa kolunun uç kısmında bulunur ve 65 kb olup 12 exondan oluşur. Şimdiye kadar *ALPL* geninin 300'e yakın mutasyon bildirilmiştir. Bu mutasyonların büyük çoğunluğu missens (%74) mutasyonu-dur. Daha az oranda delesyon (%11), splicing mutasyon (%6), nonsense mutasyon (%4), küçük insersiyonlar (%2), kompleks delesyon+insersiyon ve major transkripsiyon alanını etkileyen nukleotid yerdeğişimleri görülebilir. Beraberinde şimdiye kadar 2 gros delesyon, 2 de novo mutasyon ve 1. kromozomun paternal isodisomisi sonucu oluşan homozigot mutasyon bildirilmiştir.(59, 91, 94, 95)

Nadir görülen yeni tanımlanan mutasyonlar özellikle bazı populasyonlarda sık görülebilir. Mesela, Japon populasyonunda c.1559delT mutasyonu %40,9, p.F327L mutasyonu %13,6 oranında görülmektedir. Avrupada hipofosfatazyanın hafif formlarının yarısında c.571>A (p.G334D) mutasyonu bulunmuştur.

Siyah Afrikanlılarda şimdiye kadar 1 vakadan başka HPP vakası görülmemiştir.

ALPL geninde birleşik heretozigot genotipler çok farklı klinik tabloların ortaya çıkmasına neden olur. Bu durum, hastalığın ağırlık derecesinin mutasyonla ilişkisinin tespitini zorlaştırır. Mutant ALP proteininin in vitro enzimatik aktivitesi ile hastalığın ağırlığı arasında genotip-fenotip ilişkisi vardır. En az 1 mutasyon taşıyan hipofosfatazyanın resesif hafif formunda ALP'ın yeterince enzimatik aktivitesi görülürken, ağır formlarında enzimatik aktivite olmadığı gösterilmiştir. (42, 96, 97)

Nöbet geçiren missense mutasyonu olan hastalarda ALP proteininin özellikle aktif alanı ve kalsiyum birleşen alanının mutasyonlar görülmüştür.

2.7 Tanı ve Ayırıcı Tanı

Hipofosfatazya klinik özelliklerinin başka hastalıklara benzerlik göstermesi, bazı formlarının klinik bulgularının hafif olması nedeniyle ayırıcı tanısı zor olan bir hastalıktır. HPP şüphesi olan hastaların öz ve soygeçmişlerinin ayrıntılı

sorgulanması, fizik muayenelerinin yapılması, radyografi bulgular açısından filmlerinin çekilmesi, laboratuvar ver genetik tetkiklerinin yapılması gerekmektedir. Azalmış serum ALP aktivitesi (hipofosfatazemi) HPP için karakteristiktir, ama tanı için yeterli değil. (29, 98)Çünkü ALP anemi, malnutrisyon, çölyak hastalığı, hipotiroidizm, Wilson gibi hastalıklarda da düşük saptanmaktadır. Hipofosfatazemi ağır osteogenesis imperfekta, kleidokraniyal displazi ve osteokondrodiziplazilerde de görülebilir.(92, 99, 100)

Tablo 2: Hipofosfatazeminin nedenleri

Hipofosfatazya
Familyal benign
Pernisiyoz anemi
Hipotiroidizm
C Vitamini eksikliği
Osteogenesis imperfekta tip 2
Wilson hastalığı
Vitamin D intoksikasyonu
Klofibrat tedavisi
Açlık
Zn ve Mg eksikliği
Cushing sendromu
Çölyak hastalığı
Masif transfüzyon
Kleidokraniyal displazi
Kardiyak bypass ameliyatı
Radiyoaktif ağır metaller
Multiple miyelom

Hipofosfatazyanın diğer kemik hastalıklarından ayırıcı tanısının yapılması da önemlidir. Aşağıdaki tabloda hipofosfatazyanın, osteogenesis imperfekta ve raşitizm gibi önemli kemik hastalıkları ile ayırıcı tanısı yapılmıştır.(101-103)

Tablo 3. Hipofosfatazının ayırıcı tanısında yer alan diğer hastalıklar

	Hastalık			
	HPP	Nutritsyonel Raşitizm	X-LHR	OI
ALP	↓	↑	↑	Normal
PLP	↑	--	↓	--
Kalsiyum	↑ or normal	↓	Normal	Normal
Fosfat	↑ or normal	↓	↓	Normal
PTH	↓ or normal	↑	↑ / normal	Normal
Vitamin D	Normal	↓	↓ / normal	Normal

Hipofosfatazının farklı yaşlarda farklı klinik bulgularının olmasından dolayı ayırıcı tanıda hastanın yaşına göre farklı hastalıklar göz önünde bulundurulmalıdır. Hipofosfatazının tanınmasında prenatal ve postnatal dönemde kemik hipomineralizasyonu, ALP düşüklüğü ve serum Ca, P düzeyinin yükselmesi yardımcıdır.

İn utero ve doğumda ve de erken prenatal ultrasonlarda hipofosfatazının ayırıcı tanısında kemik mineralizasyon defekti nedeni ile osteogenesis imperfekta (OI) tip 2, kampomelik displazi ve kondrodisplazi düşünülmelidir. Fetal röntgende kemik mineralizasyonunun olmaması hipofosfatazya lehine bir bulgudur. Ayırıcı tanısı için serum ALP, PLP ve idrar PEA düzeyine bakılır ve molekular genetik analiz yapılır.(104-106)

İnfant ve çocukluk çağı hipofosfatazyada büyüme-gelişme geriliği, beslenme bozukluğu, huzursuzluk, hipotoni, nöbet gibi non-spesifik bulguların olması geniş ayırıcı tanı yapılmasını gerektirir. Bu hastaların enerji metabolizması ile ilişkili metabolik hastalıklar, organik asidemiler, primer ve sekonder raşitizm gibi hastalıklarla ayırıcı tanısı yapılmalıdır.

Rařitizm, fizik muayene bulguları ve radyolojik bulgularına göre Hipofosfatazya ile sık ayırıcı tanısı yapılması gereken bir hastalıktır. D vitamini eksikliği, D vitamini direnci, renal osteodistrofi sonucu raşitizm gelişebilir. Rařitizmde serum ALP düzeyi HPP'nın tam tersi olarak artar, serum Ca, P, vit D düzeyi dūřer, parathormon yükselir.(42, 107-109)

Büyük çocuklarda boy kısalığı, kemik ağrısı ve motor fonksiyonlarda azalma nedeniyle osteogenesis imperfekta, nutrisyonel raşitizm, miyopati, kronik multifokal osteomyelit, fibroz displazi, inflamatuvar artrit gibi hastalıklar ayırıcı tanıda dūřünülmelidir.

Yetiřkin hipofosfatazyalı hastalarda osteoporoz ve osteoartrit dūřünülererek uzun süre yanlıř tedavi verilen birçok vaka bilinmektedir.

HPP'in ayırıcı tanısında laboratuvar olarak en önemli fark ALP düzeyinin düşük seyretmesi ve ALP'in doğal substratlarının kan ve idrarda düzeyinin artmasıdır.(110, 111)

Biyokimyasal tahliller:

Serumda ALP düzeyinin yaşa ve cinsiyete göre düşük olması HPP açısından şüphe uyandırır. Hipofosfatazyanın ağrılığı serum ALP aktivitesi ile ters orantılıdır.

ALP eksikliği ALP'nin doğal substratlarının toplanmasına, kanda ve idrarda metabolitlerin artmasına neden olur. Serumda PLP, idrarda PEA ve PPI düzeyinin yüksek saptanması HPP açısından önemlidir.

Kanda PPI düzeyinin bakılması ekonomik olarak uygun olmadığı için sadece araştırma maçı ile kullanılır. İdrarda PEA düzeyi tanı için önemlidir, ama patognomomik değil. En hassas belirteç kanda PLP düzeyidir ve değeri çocukta hastalığın şiddeti ile ilişkilidir(92, 112, 113)

İnfantil formunda bozulmuş kemik mineralizasyonu sonucu kanda fosfor ve kalsiyum düzeyleri artar, bu da parathormonun supresyonuna neden oluyor. Çocukluk çağı HPP'da hiperkalsemi ve hiperkalsiuri olsa da PTH ve 25 OH vit D düzeyleri normaldir. Yetişkin formunda vit D eksikliği sık görülür.

Prenatal tanı:

Teknik olarak mümkündür, ama prenatal letal ve benign formunun ayırıcı tanısında yeri yoktur. Bu nedenle bu yöntemin kullanılması tartışılmaktadır.

Radyoloji tetkikler

Röntgen filmleri ile hastada hipomineralizasyon derecesi ve hipofosfatazının formuna uygun rikets bulguları görülebilir.

Bu hastalarda kemik yoğunluğuna bakılması da tanı açısından önemlidir.

Genetik analiz:

Hastalığın kesin tanısı için ALPL gen analizi yapılıyor

2.7 Tedavi

2.7.1. Beslenme ve fizik aktivite

Fosfor ALP'nin aktivitesini inhibe ettiği için HPP tanılı hastaların dietinde fosfor kısıtlanmalı, hiperfosfatemik hastalarda besinlerdeki fosforu bağlayan farmakolojik ilaçlar kullanılabilir.

Çocuklarda, özellikle büyüme geriliği olanlarda ek beslenme önerilerinde bulunulur. D vitamini yetersizliği sık görülür ve birçok klavuzda takviyesi önerilir. Yüksek dozda verilmesi infantil HPP'da hiperkalsemi ve hiperkalsiuriiyi artırabilir. İntestinal fosfor absorpsiyonunu artırdığı için vitamin D'nin aktif metabolitlerini vermekten kaçınılmalıdır. Hiperkalsemi ve böbrek taşı oluşma riski olduğu için Ca tedavisi de verilmemelidir. Erişkin hastalarda uygun kalsiyum ve vitamin D takviyesi verilerek sekonder hiperparatiroidi için önlem alınabilir. (114-116)

Hipofosfatazya tanılı hastalarda kemik ve kas fonksiyonların korunması çok önemlidir. Kas aktivitesinin korunması kemik mineral kitlesi ve gücünün oluşturulmasına yardım ettiği için her yaşta düzenli hafif egzersizlerin yapılması önerilir. Bazı vakalarda fizik tedavi gerekebilir. Ama hipofosfatazının çok ağır

formalarında fizik aktivite travma, geç iyileşen fragil kırıklara neden olabileceği için kaçınılmalıdır.(117-119)

2.7.2. Osteoporoz ve kırıklar

Bisfosfonatlar PPI'a benzer etki ederek ALP aktivitesini inhibe ettiği için hipofosfatazyada teorik olarak kontraendikedir. HPP'da klasik osteoporozdan farklı olarak aşırı kemik rezorpsiyonu değil kemik mineralizasyonu bozuluyor. Tanı alamamış HPP'nın hafif formu olan hastalar osteoporoz tanısıyla uzun süre bisfosfonat tedavisi aldığı için birçok vakada atipik femur kırıkları (lateral subtrokanterik) görülmüştür. Bu atipik kırıklardan sonra hastalar hipofosfatazya tanısı almıştır.(118)

Bazı olgu sunumlarında yetişkinlerde stress kırıkları teriparatidle tedavi edilmiştir. Teriparatid rekombinant insan paratiroid hormonu olup çocuklarda osteosarkom oluşma riskini artırdığı için önerilmez. Parathormon osteoblastlardan ALP sentezini uyarır. Whyte ve ekibi yaptığı çalışmalarda 75 ve 53 yaşında HPP tanılı iyileşmeyen psödofraktürleri olan 2 kadını 6 ay teriparatid ile tedavi etmiş, takiplerinde hastaların fraktürleri tamamen iyileşmiş, kemik ağırları gerilemiş ve hareketliliği düzelmiştir. Doshi ve ekibi HPP tanısı almadan önce bisfosfonat tedavisi verilen bilateral femoral fraktürü olan hastalara teriparatid tedavisi vererek takip etmiş ve bu hastaların kırıklarının tamamen iyileştiğini göstermiştir. (120-122)

2.7.3. Nörolojik ve nöroşirurjik sorunlar

Ağır neonatal hipofosfatazyada PLP metabolizmasının bozulması sonucu nöbetler gelişir. Bazı vakalarda B6 vitamin tedavisi ile nöbetler önlenir.

HPP'nın infantil ve çocukluk çağı formlarında kranial suturelerin prematur füzyonu cerebellar tonsillerin ikincili ektopisine (Chiari 1 malformasyonu) veya hidrosiringomiyelinin oluşmasına neden olur. Adolösan yaşına kadar bu hastalarda kraniosinostoz oluşma ihtimali olduğu için radyolojik, nörolojik ve oftalmolojik

muayeneleri yapılarak takip edilmelidir. İntrakraniyel basıncın artması devamlı başağrısı, nöbet geçirme, paraliz, papilloödem, ekstremitelerde uyuşma gibi nörolojik bulgulara neden olabilir ve acil nöroşirurjik müdahale yapılması gereken bir durumdur.(118, 119)

2.7.4. Enzim replasman tedavisi

İnfant ve çocuklarda ağır Hipofosfatazyanın tedavisinde önceleri normal plazma, Paget kemik hastalığı olan hastaların kanından hazırlanan ALP zenginleştirilmiş plazma, insan karaciğer ALP ve insan plasental ALP'nin intravenöz verilmesi denenmiş, ama bu tedaviler etkisiz bulunmuştur.

2008 yılında kemik hedefli rekombinant ALP üretildi ve ilk kez fareler üzerinde, sonrasında infantil HPP tanılı hastalarda denendi.

Rekombinant ALP ilk olarak ENB 0040 sonrasında Alfotaz alfa olarak adlandırıldı. Alfotaz alfanın faz 3 çalışmaları hala devam etmektedir.(123)

İlk yapılan çalışmalarda farelere yüksek dozda (8,2 mg/kg/gün) alfotaz alfa subkutan olarak enjekte edildi ve normal büyüme, kemik ve dişlerde düzelme, nöbetlerin bittiği gözlemlendi. Sonrasında Alfotaz alfanın daha düşük dozlarda verilerek etkisi öğrenildi. Çalışmalarda 2,8-3,2 mg/kg/gün dozunda subkutan yapılan enjeksiyon %80 farede klinik iyileşme sağladı.(124, 125)

Farelerde alınan pozitif sonuçlardan sonra Alfotaz alfa hipofosfatazyanın çok ağır neonatal formu olan bazı çocuklara da verildi. Rodriguez ve ekibi 3 haftalık infantil hipofosfatazya tanılı ağır göğüs duvarı deformasyonu nedeniyle solunum sıkıntısı olan ve mekanik ventilatörde takip edilen bebeğe 12 hafta ENB 0040 tedavisi vermiş, hastanın kliniğinde düzelme olmuş ve oksijen konsantratörü ile eve taburcu edilmiştir. Ama 2 hafta sonra ateş, hipoksemi, pnömoni nedeniyle interne edilmiş ve 5 gün sonra damar içi pıhtılaşma, septik şok, multiorgan yetmezliği nedeniyle hasta vefat etmişti.(123, 126)

2008 yılında Whyte ve ekibi hayati tehdit eden HPP tanılı infant ve çocuklarda ENB 0040 tedavisinin faz 2, multinational çalışmasını yaptı. 7 kız 4 erkek olmakla 11 hasta çalışmaya alınmış, hastalardan biri tedaviyi red etmiş,10 hastanın tedavisi 6 ay, 9 hastanın 1 yıla tamamlamıştır. Tüm hastalarda büyüme geriliüü, ağır

hipomineralizasyon, kırıklar, motor gerilik gibi benzer klinik bulgular vardı. Tedavide Alfotaz alfa tek doz 2mg/kg intravenöz verildikten sonra, haftada 3 defa 1-3 mg/kg subkutan verilmekte devam edilmiştir. Tedavinin 24. Haftasında hastalarda endokondral ve membranöz kemik formasyonu düzelmiş, kırıklar iyileşmiş, deformite azalmış, skleroz gerilemiştir. 6 ay sonra 9 hastada akciğer fonksiyonlarında düzelme, büyüme hızında artma, rikets bulgularında gerileme, kanda PPI ve PLP düzeylerinde azalma görülmüştür. Tedavinin kraniosinostoz üzerinde etkisi olmamasından dolayı 2 hasta için beyin cerrahisi ameliyatı gerekmiştir. Tedavinin en sık yan etkisi enjeksiyon alanında hafif, lokalize, kendiliğinden gerileyen eritemin gelişmesidir. Nefrokalsinoz ilk 6 ay içinde artmamış, tam tersi bazı hastalarda gerilemiştir. Hiçbir hastada hipersensitivite, anafilaksi, takiflaksi gibi durumlar olmamış, sadece 4 hastada az titrede Alfotaz alfaya karşı antikorlar oluşmuş, 48. haftanın sonunda bile bu, otoimmün olayın gelişmesine neden olmamıştır. 2014 de takibinin 3. yılında hastalardan biri ilaçla ilişkisi olmadan sepsis nedeniyle vefat etmiştir. Çalışmaya alınan hastaların hepsinde tedavi öncesi solunum sıkıntısı varken tedavinin 3. yılında sadece 1 hastanın oksijen ihtiyacı devam etmiştir. Sürvi 3 yıl içinde %90 olmuştur. (124, 125)

Whyte'dan sonra buna benzer başka faz 2 çalışmalar da yapılmış ve yapılmaya devam edilmektedir. Bu çalışmalar Alfotaz alfanın hipofosfatazının tedavisinde yeni dönem açtığını ve ciddi yan etkilerinin olmadığını göstermektedir.(5)

GEREÇ VE YÖNTEM

Marmara Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesine Eylül 2014 Ocak 2016 tarihleri arasında başvuran 18 yaş altında çocuklardan bakılan tüm serum ALP sonuçları tarandı. ALP referans aralıkları bu dönemde laboratuvarımızda çalışılan ALP değerlerinin yaş gruplarına göre %90 CI oluşturularak, değerlendirme bu referanslara göre yapıldı. ALP referans aralıkları yaşa ve cinsiyete göre değişiklik gösterdiği için hastalar hem cinsiyetine, hem de yaşına göre sınıflandırıldı. Hastaların değerlendirildiği yaş grupları şu şekilde idi:

0-14 gün,

15 gün-1 yaş,

1yaş-10 yaş,

10-13 yaş,

13-15 yaş,

15-17 yaş,

17-19 yaş.

ALP düzeyi düşük saptanan hastaların tüm hastane başvuruları sırasında bakılan ALP sonuçları tarandı. ALP düşüklüğü sebat eden hastalar ile telefon teması sağlandı ve geri çağrıldı. Geri çağrılan hastalardan ALP, kalsiyum, fosfor, magnezyum, vitamin D düzeyi bakmak için kan örneği alındı. Bu hastaların öz ve soygeçmişini hipofosfatazya açısından ayrıntılı sorgulandı, hasta takip formları dolduruldu.

ALP düzeyi bu örneklerde de düşük gelen hastalardan plazma PLP düzeyine bakmak plazma örneği ve idrarda PEA, kalsiyum/kreatinin örneğine bakmak için idrar örneği alındı. İdrarlar -80 derece dolapta saklandı. Kanlar santrafuj edilerek, plazma kısmı eppendorf tüplerine aktarıldı ve -80 dolapta muhafaza edildi.

Kanda ALP düzeyi düşük, serumda PLP düzeyi ve idrarda PEA düzeyi yüksek gelen hastalardan radyografi çekildi ve *ALPL* gen analizi gönderildi.

Kullanılan veri formu ve değerlendirilen kriterler tablolarda verilmiştir:

Tablo 3: Hasta Takip Formu-1

Hastanın bilgileri	
Adı ve Soyadı	
Cinsiyeti	
Doğum tarihi	
Başvuru tarihi	
Boy/Tartı	
Bilinen hastalık / Kullandığı ilaç	
Osteoporoz	
Mavi sklera	
Diş kaybı	
Böbrek taşı	
O-bain ve x-bain deformitesi	
Skolyoz	
Kemik kırığı	
Kemik ağrısı	
Hiperkalsemi hikâyesi ve/veya bulguları	
ALP düşüklüğü saptandığı zaman başvuru şikâyeti/hastalığı	

Tablo 4: Hasta Takip Formu-2

Laboratuvar	Tarih	Sonuç	Referans aralık
Alkalenfosfataz-ilk değer			
Alkalenfosfataz– kontrol			
Kalsiyum			
Fosfor			
Magnezyum			
Parathormon			
İdrar Ca/cre			
25OHvitD			
Kanda PLP			
İdrarda PEA			
Kemik Yoğunluğu			

Tablo 5: Hasta Takip Formu-3

Aile öyküsü	
Akrabalık	
Boy kısalığı	
Osteoporoz	
Bilinen kemik hastalığı	
Diş kaybı	
Böbrek taşı	
O-bain ve x-bain deformitesi	
Skolyoz	
Kemik kırığı	
Kemik ağrısı	

Laboratuvar Yöntemler

Serum ALP düzeyleri kinetik renk reaksiyonuna dayanan yöntemle biyokimya otoanaliz cihazında (Beckman Coulter, AU 5800, USA) ölçülmüştür. ALP aktivitesine p-nitrofenilfosfatın Magnezyum, Çinko ve 2-Amino 2-Metil 1-Propanol varlığında p-nitrofenola dönüşüm hızının monitorizasyonu yöntemi ile HEDTA tamponu kullanılarak bakıldı. Oluşan p-nitrofenol 410/480 nm'de kromatik olarak ölçüldü ve ALP aktivitesi ile doğru orantılıdır.

İdrarda PEA düzeyine Biokrom 30+ aminoasit analizöründe yüksek performanslı sıvı kromatografi (HPLC-High Performanced liquid chromatography) yöntemi ile iyon değişimi yöntemi ile aminoasit miktarı ölçülerek bakıldı.

Plazma PLP düzeyi laboratuvarında HPLC yöntemi ile kit (Chromosystem, Munich, Germany) kullanarak florometrik tespit yöntemi ile ölçüldü.

2. SONUÇLAR

18 yaş altında 93.162 hastadan alınmış 130.340 ALP sonucu tarandı. Tüm sonuçlardan 867 hastaya ait 1404 numunede ALP değeri yaşa göre uygun referans aralığın altında saptandı. ALP referans aralıkları Tablo 6 ve 7’de verilmiştir. Bu referans aralıkları; Temmuz 2014-Ocak 2015 tarihleri arasında Marmara Üniversitesi Pendik EAH biyokimya laboratuvarında bakılmış 19.231 hastaya ait ALP sonuçlarının CALİPER’e göre değiştirilmiş %90 Cİ (confidence interval) kullanılarak oluşturulmuştur.

Tablo 6: Kızlarda ALP referans aralıkları

Yaş	Alt Limit (U/L)	Üst Limit (U/L)	Ortalama (U/L)
0-14 gün	73	228	153
15 gün - <1 yaş	55	377	194
1-<10 yaş	89	362	206
10-<13 yaş	98	418	222
13-<15 yaş	59	275	138
15-<17 yaş	49	154	87
17-<19 yaş	44	88	192

Tablo 7: Erkeklerde ALP referans aralıkları

Yaş	Alt Limit (U/L)	Üst Limit (U/L)	Ortalama (U/L)
0-14 gün	73	228	153
15 gün - <1 yaş	55	377	194
1-<10 yaş	89	362	206
10-<13 yaş	98	418	222
13-<15 yaş	90	432	240
15- <17 yaş	64	339	162
17- < 19 yaş	58	213	114

ALP deęeri dūřuk gelen 867 hastandan 745'inin tūm hastane kayıtları tarandıęında referans aralıęına gōre normal ALP deęerleri olduęu gōrūlūp bu hastalarda HPP ekarte edildi. Ayrıca, bu hastaların ALP dūřuklūęu tespit edilen hastane bařvuruları gōzden geęirildi ve hastanede hangi tanıyı aldıkları arařtırıldı. ALP dūřuklūęu periste eden ve etmeyen hastaların tanılarının karřılatırıldıęı tablo ařaęıda verilmiřtir. .

Tablo 8: ALP dūřuklūęünün gōrūldūęu zaman hastaneye bařvuru nedeni

	Hastalıklar	745 ALP dūřuklūęu persiste etmeyen hasta	122 ALP dūřuklūęu persiste eden hasta	P ve Z score
1	ÜSYE*	98 (%13,1)	4 (%3,2)	Z= 3,023; P = 0,003
2	ASYE*	19 (%2,5)	5 (%4,0)	Z= 0,645; P = 0,519
3	Demir eksik anemisi	32 (%4,2)	5 (%4,0)	Z= -0,144; P = 0,885
4	B12 eksikliği anemisi	28 (%3,7)	3 (%2,4)	Z= 0,457; P = 0,647
5	Anemi, diğer	38 (%5,1)	9 (%7,3)	Z= 0,780; P = 0,435
6	İTP*	7 (%0,9)	2 (%1,6)	Z= 0,230; P = 0,818
7	MS*	3 (%0,4)	2 (%1,6)	Z= 0,984; P = 0,325
8	İYE*	25 (%3,3)	-	Z= 1,741; P = 0,082
9	Nefrotik sendrom	6 (%0,8)	5 (%4,0)	Z= 2,509; P = 0,012
10	HSP*	5 (%0,67)	2 (%1,6)	Z= 0,520; P = 0,603
11	Bōbrek taşı	20 (%2,6)	2 (%1,6)	Z= 0,346; P = 0,730
12	Epilepsi	19 (%2,5)	-	Z= 1,429; P = 0,153
13	Hipopit	-	3 (%2,4)	Z= 3,394; P = <0,001
14	Gastroenterit, diğer	30 (%4,0)	5 (%4,0)	Z= -0,249; P = 0,803
15	KAH*	-	2 (%1,6)	Z= 2,426; P = 0,015
16	Madde kullanımı/suisid	12 (%1,6)	4 (%3,2)	Z= 0,859; P = 0,390

17	Kist hidatik	5 (%0,67)	4 (%3,2)	Z= 2,086; P = 0,037
18	Malignansi	83 (%11,1)	8 (%6,4)	Z= 1,524; P = 0,128
19	Gastrit/Reflu	13 (%1,7)	5 (%4,0)	Z= 1,326; P = 0,185
20	Hepatit	9 (%1,2)	-	Z= 0,733; P = 0,464
21	Kardiyak	4 (%0,5)	2 (%1,6)	Z= 0,791; P = 0,429
22	Kırıklar	35 (%4,6)	5 (%4,0)	Z= 0,0607; P = 0,952
23	Trafik kazası/iş kazası	21 (%2,8)	4 (%3,2)	Z= -0,0473; P = 0,962
24	Akut appendisit	6 (%0,8)	3 (%2,4)	Z= 1,142; P = 0,254
25	Boy kısalığı	19 (%2,5)	2 (%1,6)	Z= 0,285; P = 0,776
26	Hipertansiyon	11 (%1,47)	-	Z= 0,910; P = 0,363
27	Hİperlipidemi	2 (%0,26)	-	Z= -0,470; P = 0,638
28	Sepsis	6 (%0,8)	2 (%1,6)	Z= 0,348; P = 0,728
29	Menanjit	7 (%0,9)	1 (%0,8)	Z= -0,412; P = 0,680
30	Hidrocefali	11 (%1,47)	3 (%2,4)	Z= 0,435; P = 0,664
31	Kronik böbrek hasarı	12 (%1,6)	6 (%4,9)	Z= 2,033; P = 0,042
32	Baş ağrısı	23 (%3,0)	-	Z= 1,630; P = 0,103
33	Malnutrisyon	17 (%2,2)	2 (%1,6)	Z= -0,0571; P = 0,954
34	Döküntü	3 (%0,4)	-	Z= -0,135; P = 0,893
35	İmmun yetmezlik	6 (%0,8)	2 (%1,6)	Z= 0,348; P = 0,728
36	Eklem ve bacak ağrısı	12 (%1,6)	7 (%5,7)	Z= 2,542; P = 0,011
37	Adet düzensizliği/PCOS	9 (%1,2)	4 (%3,2)	Z= 1,291; P = 0,197
38	Serebral palsy	15 (%2,0)	4 (%3,2)	Z= 0,508; P = 0,611
39	Alerjik	7 (%0,9)	-	Z= 0,494; P = 0,621
40	Kistik fibrosis	14 (%1,8)	1 (%0,8)	Z= 0,419; P = 0,675
41	Kabızlık	15 (%2,0)	-	Z= 1,200; P = 0,230
42	Genel muayene ve diğer	50 (%6,7)	4 (%3,2)	Z= 1,283; P = 0,200

*ÜSYE-üst solunum yolu infeksiyonu; ASYE-alt solunum yolu infeksiyonu; İYE-idrar yolu infeksiyonu; MS-multipl sklerosis; KAH-konjenital adrenal hiperplazi; HSP-henoch schonlein purpurası; İTP-idiopatik trombositopenik purpura;

ALP düşüklüğü persiste etmeyen 745 hasta ile persiste eden 122 hastayı kıyaslarsak ÜSYE, Nefrotik sendrom, hipopituitarizm, KAH, kist hidatik, eklem ve bacak ağrısı olan hastalar arasında anlamlı fark bulunmuştur. ÜSYE sıklığı transient hipofosfazemi olan hastalarda daha sık iken, nefrotik sendrom, KAH, hipopituitariz, kist hidatik, eklem ve bacak ağrısı olan hastalarda persistant hipofosfazemisi olan hastalarda daha sık idi ($p<0,05$).

	Hastalık grupları	745 ALP düşüklüğü persiste etmeyen hasta	122 ALP düşüklüğü persiste eden hasta	P ve Z score
1	İnflamatuvar	261 (%35,03)	34 (%27,8)	Z= 1,258; P = 0,209
2	Malnutrisyonel	130 (%17,4)	24 (%19,6)	Z= 0,462; P = 0,644
3	Kronik	104 (%13,9)	32 (%26,2)	Z= 3,333; P = <0,001
4	HPP ayırıcı tanısına giren	105 (%14,09)	16 (%13,1)	Z= 0,125; P = 0,900
5	Malignansi	83 (%11,14)	8 (%6,55)	Z= 1,363; P = 0,173
6	Diğer	62 (%8,32)	8 (%6,55)	Z= 0,498; P = 0,618

Hipofosfazemi tespit edilen hastaların tanıları etiyopatogeneze göre veya HPP düşündürülen bulgulara göre sınıflandırılıp tekrar değerlendirildi. Bu hastalıklar 6 grupta sınıflandırıldı. İnflamatuvar hastalık grubuna ÜSYE, ASYE, İTP, İYE, HSP, gastroenterit, kist hidatik, kazalar, akut appendisit, sepsis, menanjit, immun

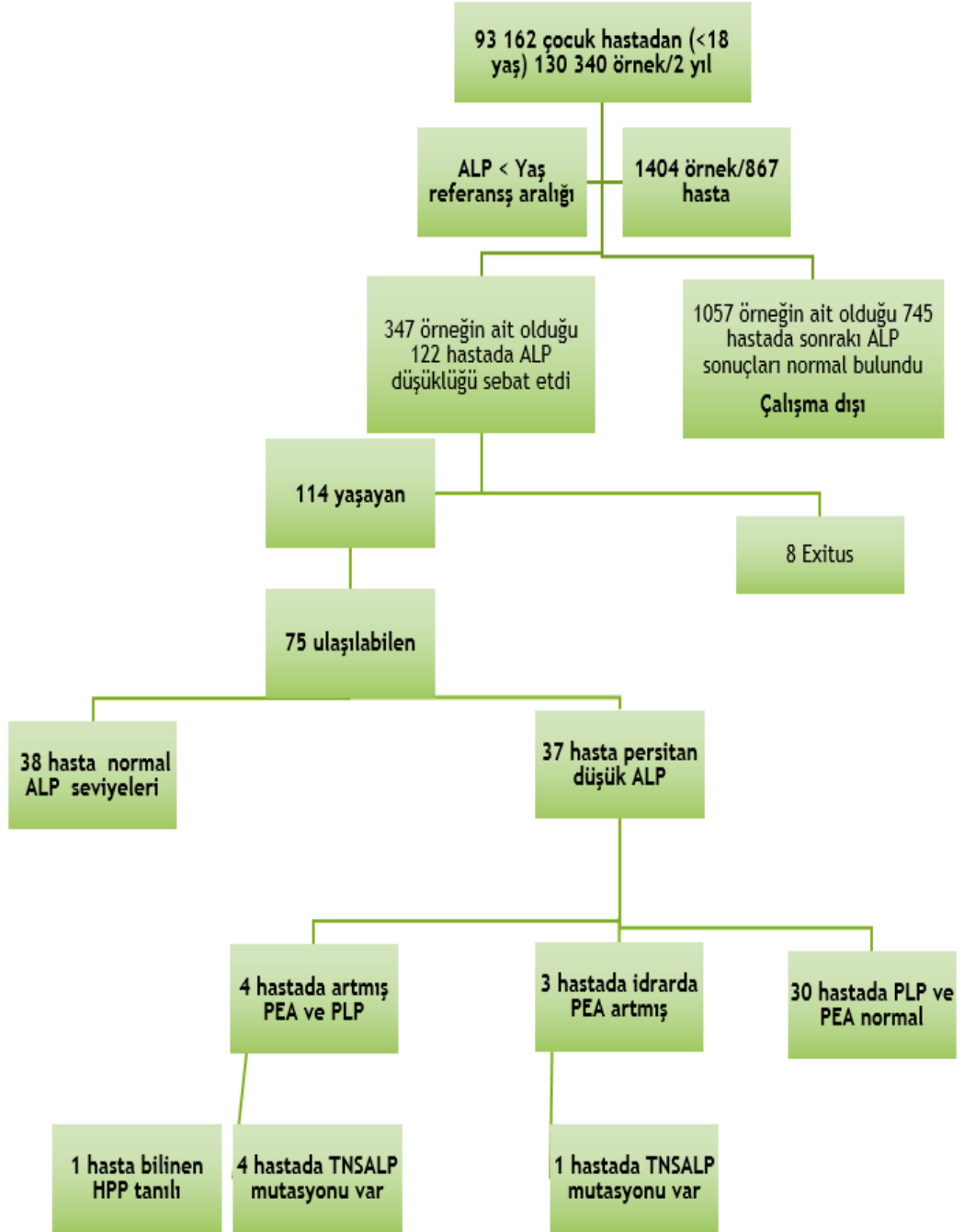
yetmezlik, döküntü, kistik fibrozis tanılı hastalar; malnutrisyonel hastalıklar grubuna demir ve B12 eksikliği anemisi, serebral palsi, malnutrisyon tanılı hastalar; kronik hastalık grubuna MS, nefrotik sendrom, hipopituitarizm, gastrit, kabızlık, kardiyak patolojiler, alerjik, hiperlipidemi, hidrosefali, KBY, baş ağrısı, adet düzensizliği, hipertansiyon tanılı hastalar dahil edildi. Epilepsi, kırık, böbrek taşı, boy kısalığı, kas ve eklem ağrısı tanısı olan hastalar HPP ayırıcı tanısına giren hastalık grubu olarak sınıflandırıldı. ALP düşüklüğü sebat eden ve etmeyen hastaları bu gruplara göre kıyaslarsak sadece kronik hastalık grubunda persistent hipofosfatezeminin daha sık olduğu görüldü. Kronik hastalıklarda devam eden hastalığın ALP düzeyinin düşük sebat etmesine neden olduğu düşünüldü.

122 hastaya ait 347 örnekte ALP düşüklüğü sebat ettiği için bu hastalar hipofosfatazya açısından araştırıldı. 122 Hastadan 8 hastanın exitus olduğu öğrenildi. Down sendromu tanılı multiple kardiyak anomalileri olan 2 hasta sepsis, kardiyak arrest nedeniyle, MPS tanılı 1 hasta solunum yetmezliği, yeni ALL tanısı almış 2 hasta KT'nin ilk küründen sonra multiorgan yetmezliği, pons gliomu tanılı 1 hasta ve serebral palsi tanılı 2 hasta solunum arresti nedeniyle exitus olduğu öğrenildi.

ALP düşüklüğü sebat eden 9 hasta İstanbul dışında uzak illerde yaşadığı için ve 10 hasta farklı nedenlerden çalışmaya katılmayı reddetti. 20 hastaya iletişim bilgileri yetersiz olduğu için ulaşılamadı. Çalışma 75 hasta üzerinde yapıldı.

Hastalar polikliniğe çağrıldı, anamnez alınıp fizik muayene yapıldıkta sonra biyokimyasal tahliller için örnekler alındı.

Hastaların serum örneklerinden ALP, Ca, P, Mg, 25 OH vit D ve parathormon çalışıldı. ALP değerleri yeniden düşük gelen 35 hastadan plazmada PLP ve idrar PEA çalışıldı. 4 hastanın hem PLP ve hem PEA düzeyleri, 3 hastanın sadece idrarda PEA düzeyi yüksek geldi. Bu hastalar tekrar hastaneye çağrıldı, hipofosfatazya *ALPL* gen analizi için kan alındı ve hastalardan kemik dansitometrisi, kafa ön-yan, diz ön-yan ve vertebra yan grafileri çekildi. Hastalardan 19 yaşında ve hamile olan bir kişide görüntüleme yapılamadı.



Tablo 9: Çalışmanın algoritması ve sonuçlar

Genetik Olarak Mutasyon Tespit Edilen Hastların Klinik ve Laboratuvar Bulguları Aşağıda Verilmiştir:

Hasta No.1-F.Ç

10 aylık erkek hasta

Akrabalığı olmayan anne babadan ikinci yaşayan bebek olarak normal spontan doğum ile doğan hastanın ilk defa 2 aylıkken solunum sıkıntısı ve hışıltı şikâyeti başlamış. Bronşiolit nedeni ile 3 defa hastane yatışı olan hasta Çocuk Göğüs hastalıklarından takibe alınmış ve ihale steroid tedavisi önerilmiş.

Fizik muayene bulguları doğal ve aktif şikâyeti olmayan hastanın, tartısı 10.1kg (90 p), boyu 75 cm (75 p) ve baş çevresi: 47,5 cm (50 p) idi.

Laboratuvar'da ALP; 41 U/L, Ca; 10,7mg/dl P; 5,5 mg/dl, Mg; 2,2 mg/dl ve parathormon; 42,5 pg/ml ve 25 OH vit D; 22 ng/ml idi. Hastanın PLP ve PEA düzeyleri aşağıda verildiği üzere yüksek tespit edildi.

Plazmada PLP: 76,9mg/l (5-50 mg/l)

İdrarda PEA: 412,4 mmol/l (0-48 mmol/l)

Aile fertlerinin PLP ve PEA düzeyleri aşağıda verilmiş olup, asemptomatik baba ve kadeşin idrar PEA düzeylerince hafif artış tespit edildi.

Anne:

PLP- 18,1 mg/L (5-50 mg/l) PEA 13,8 mmol/L (0-48 mmol/l)

Baba:

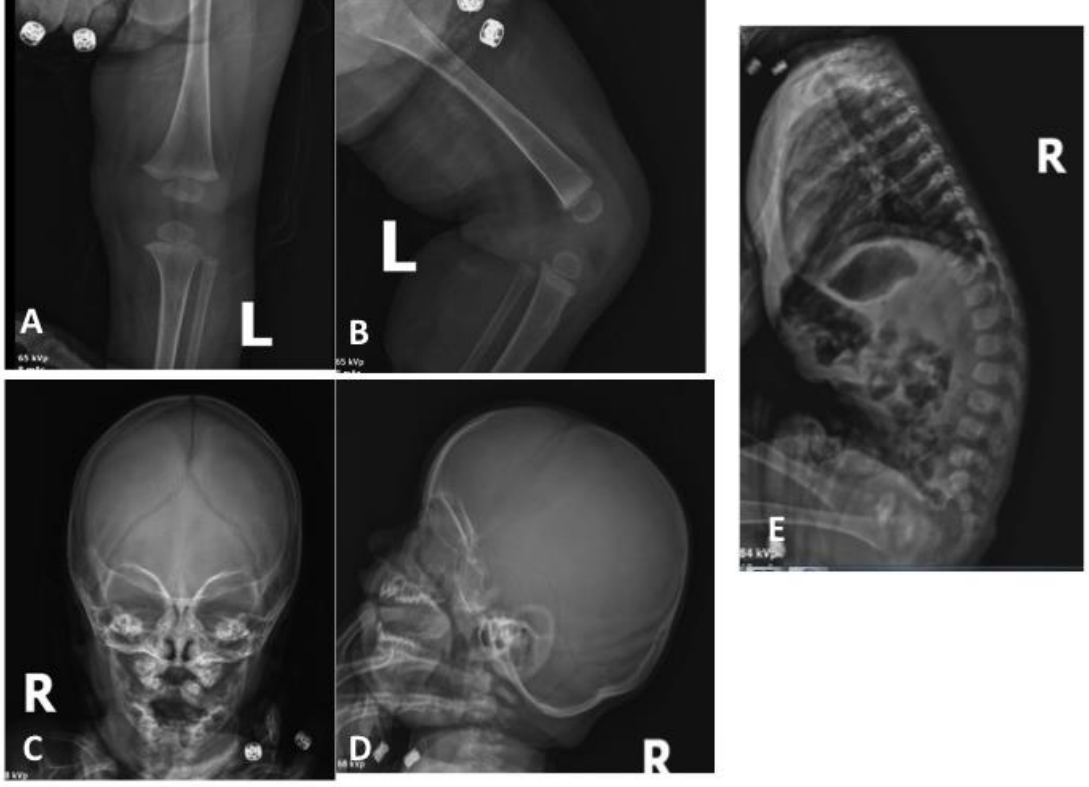
PLP- 51 mg/L (5-50 mg/l) PEA 128,6 mmol/L (0-48 mmol/l)

Kardeş:

PLP- 23,7 mg/L (5-50 mg/l) PEA 53,4 mmol/L (0-48 mmol/l)

Hastanın DEXA ile kemik yoğunluğu ölçümlerinde: L2-L4: 0.205 gr/cm² olarak tespit edildi.

Şekil 9: 1 numaralı hastanın grafileri: Üst panel AP lateral diz grafisi (A-B), alt panel AP lateral kaafa grafisi (C-D) ve orta panel lateral vertebra grafisi (E): Hipofosfatazyaya özgü herhangi bir bulgu içermemekte.



Hastanın genetik analiz sonucu *ALPL* geninde heterozigot olarak p.V459M mutasyonu tespit edildi. Aynı mutasyonun literatürde homozigot olarak hastalığa sebep olduğu gösterilmiştir. Hastanın babasında da p.V459M mutasyonu pozitif saptandı, anne ve kardeşinde *ALPL* gen mutasyonu saptanmadı.

Hasta No.2-B.M.B

13 yaşında erkek hasta

Akrabalığı olmayan anne babadan normal spontan yolla ikinci yaşayan bebek olarak doğan hasta, boy kısalığı ve ayakta ağrı nedeni ile 10 yaşında hastaneye başvurmuş, takip ve tedavi için Çocuk Endokrinoloji bölümüne yönlendirilmiştir. Klonidin testi normal gelen hastanın kemik yaşına göre nihayi boyu 174 cm hesaplanmış ve hasta Çocuk Endokrinoloji polikliniğine takibe alınmıştır.

Fizik muayene bulguları doğal ve aktif şikâyeti olmayan hastanın, tartısı 32 kg (<3p), boyu 134 cm (<3p) idi.

Laboratuvar'da ALP: 72 U/L Ca: 10,4mg/dl P: 4,9 mg/dl Mg: 2,0 mg/dl ve Parathormon: 32 pg/ml ve 25 OH vit D: 22,6 ng/ml idi. Hastanın PLP ve PEA düzeyleri aşağıda verildiği üzere yüksek tespit edildi.

Plazmada PLP: 67,7mg/l (5-50 mg/l)

İdrarda PEA: 314 mmol/l (0-48 mmol/l)

Aile fertlerinin PLP ve PEA düzeyleri aşağıda verilmiş olup, annenin sonuçları normal ve asemptomatik babanın idrar PEA düzeyinde hafif artış tespit edildi.

Anne:

PLP- 19,4 mg/L (5-50 mg/l)

PEA 11,0 mmol/L (0-48 mmol/l)

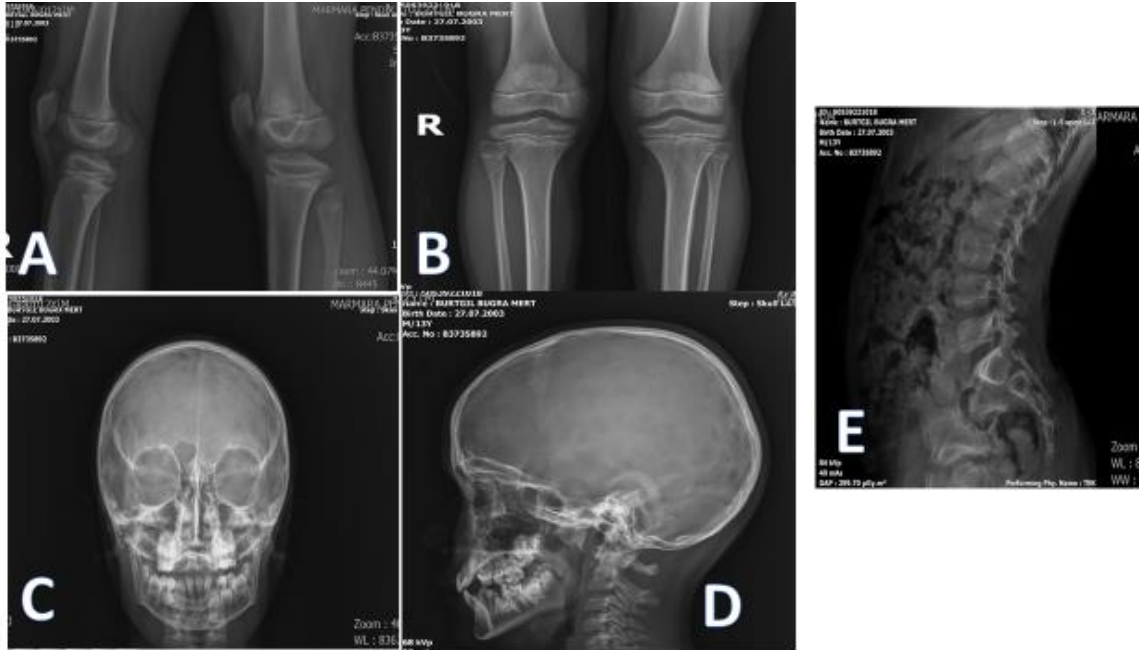
Baba:

PLP- 36,4 mg/L (5-50 mg/l)

PEA 75,4 mmol/L (0-48 mmol/l)

Hastanın DEXA ile kemik yoğunluğu ölçümlerinde: L2-L4: 0.59 gr/cm² z-score: -2,3- boya göre -1,5 olarak tespit edildi.

Şekil 10: 2 numaralı hastanın grafileri: Üst panel AP lateral diz grafisi (A-B), alt panel AP lateral kafa grafisi (C-D) ve orta panel lateral vertebra grafisi (E): Hafif osteopen dışında hipofosfatazyaya özgü herhangi bir bulgu içermemekte.



Hastanın genetik analizinde *ALPL* geninde bileşik heterozigot p.Y263H ve p.A377V mutasyonu tespit edildi. Aynı mutasyonun literatürde homozigot ve bileşik heterozigot olarak hastalığa sebep olduğu gösterilmiştir. Hastanın babasında heterozigot p.A377V mutasyonu, annesinde heterozigot p.Y263H mutasyonu saptandı.

Hasta No.3-E.T.

11 yaşında erkek hasta

Akrabalığı olmayan anne ve babadan normal spontan yolla birinci yaşayan bebek olarak doğan hasta hipofiz adenomu nedeniyle 7 yaşından bu yana Çocuk Endokrinoloji polikliniğinden, proteinuri ve hipertansiyon nedeniyle Çocuk Nefroloji polikliniğinden takipe alınmış. Hasta Amlodipin ve enalapril kullanan tedavisi alıyor.

Fizik muayene bulguları doğal olan hastanın bazen bel ağrısı şikâyeti oluyormuş. Tartısı: 56,8 kg (90-97p), boy: 149 cm (50-75p) idi.

Laboratuvar'da ALP: 70 U/L Ca:10,1mg/dl P:5,7 mg/dl Mg:2,2 mg/dl ve Parathormon: 27pg/ml; 25 OH vit D:16,4 ng/ml idi. Hastanın PLP ve PEA düzeyleri aşağıda verildiği üzere yüksek tespit edildi.

Plazmada PLP: 64,7mg/l (5-50 mg/l)

İdrarda PEA: 260 mmol/l (0-48 mmol/l)

Aile fertlerinin PLP ve PEA düzeyleri aşağıda verilmiş olup, annenin tahlil sonuçları normal, asemptomatik babanın plazmada PLP düzeyi yüksek idi.

Baba

PLP- 188,10 mg/L (5-50 mg/l)

PEA 23.90 µmol/L (0-48 mmol/l)

Anne

PLP- 3,7 mg/L (5-50 mg/l)

PEA 3,7 µmol/L (0-48 mmol/l)

Hastanın DEXA ile kemik yoğunluğu ölçümlerinde: DEXA: L2-L4: 0.85 gr/cm² z-

score: 0,7 olarak tespit edildi.

Hastanın genetik analizinde *ALPL* geninde heterozigot p.R184G mutasyonu tespit edildi. Aynı mutasyonun literatürde homozigot olarak hastalığa sebep olduğu gösterilmiştir. Hastanın babasında heterozigot p.R184G ve p.T263H mutasyonu saptandı. Annesinde mutasyon saptanmadı.

Şekil 11: 3 numaralı hastanın grafileri: Üst panel AP lateral diz grafisi (A-B), alt panel AP lateral kaafa grafisi (C-D) ve orta panel lateral vertebra garfisi (E): Hipofosfatazyaya özgü herhangi bir bulgu içermemekte.



Hasta No.4-E.A.

18 yaşında kız hasta

Akrabalığı olmayan anne ve babadan normal spontan yolla üçüncü yaşayan bebek olarak dünyaya gelen hasta, üşüme ve adet düzensizliği nedeniyle hastaneye başvurmuş. Yapılan tahlillerde anemisi saptanan hastaya ferrosanol tedavisi başlanmış. Hipofosfatazya ile uyumlu hiçbir klinik bulgusu olmayan hastanın fizik muayene bulguları doğal.

Tartısı 62kg (50 p), boyu 165 cm (50 p) idi.

Laboratuvar'da ALP: 27 U/L Ca: 10,0mg/dl P: 4,4 mg/dl Mg: 1,9 mg/dl ve Parathormon: 43,2 pg/ml; 25 OH vit D:11,2 ng/ml idi. Hastanın PLP düzeyi normal ve PEA düzeyi aşağıda verildiği üzere yüksek tespit edildi.

Plazmada PLP: 32,6 mg/l (5-50 mg/l)

İdrarda PEA: 118,5 mmol/l (0-48 mmol/l)

Hastanın DEXA ile kemik yoğunluğu ölçümlerinde: L2-L4: 1,29 gr/cm² z-score: 0,5 olarak tespit edildi.

Aile fertlerinin PLP ve PEA düzeyleri aşağıda verilmiş olup, baba ve annenin tahlil sonuçları normal idi.

Anne

PLP: 7 mg/L (5-50 mg/l),

PEA 5,1 mmol/L (0-48 mmol/l)

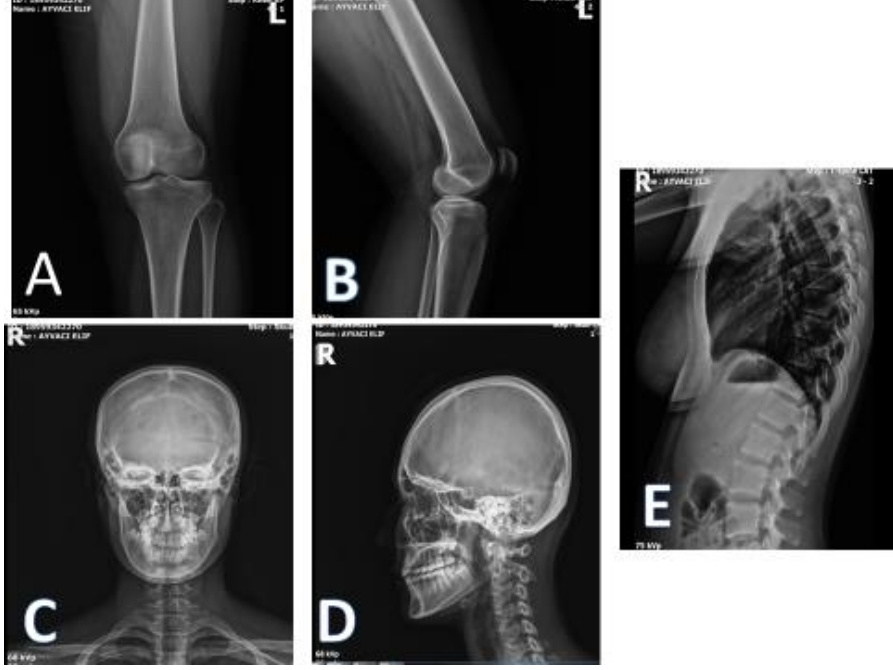
Baba

PLP: 43,1mg/L (5-50 mg/l),

PEA 2,6 mmol/L (0-48 mmol/l)

Hastanın genetik analizinde ALPL geninde bileşik heterozigot p. His79Glnfs 30-p.R152H mutasyonu tespit edildi. Aynı mutasyonun literatürde homozigot ve bileşik heterozigot olarak hastalığa sebep olduğu gösterilmiştir. Hastanın babasında p. His79Glnfs30 mutasyonu heterozigot olarak, annesinde p.R152H mutasyonu heterozigot olarak saptanmıştır.

Şekil 12: 4 numaralı hastanın grafileri: Üst panel AP lateral diz grafisi (A-B), alt panel AP lateral kaafa grafisi (C-D) ve orta panel lateral vertebra garfisi (E): Hipofosfatazyaya özgü herhangi bir bulgu içermemekte.



Hasta No.5-E.Ö.

10 yaşında kız hasta

Hasta ikinci derece akrabalığı olan anne ve babadan normal spontan yolla düşük doğum ağırlıklı olarak term doğmuş. Çocuk Endokrinoloji polikliniğinde 4 yaşında saç ve diş dökülmesiyle araştırılan hasta hipopit ve hipofosfatazya tanısı almış, L-tiroksin ve büyüme hormonu tedavisi başlanmıştır. Hasta HPP nedeniyle Çocuk Endokrinolojiden takip edilmektedir.

Hastanın tartısı 21 kg (<3p); boyu 115 cm (<3p) idi.

Laboratuvar'da ALP: 38 U/L Ca: 10,0mg/dl P: 7,3 mg/dl Mg: 1,9 mg/dl ve Parathormon: 23,0 pg/ml; 25 OH vit D: 21,8 ng/ml idi. Hastanın PLP ve PEA düzeyleri aşağıda verildiği üzere yüksek tespit edildi.

Plazmada PLP: 486,8 mg/l (5-50 mg/l)

İdrarda PEA: 155,3 mmol/l (0-48 mmol/l)

Hastanın DEXA ile kemik yoğunluğu ölçümlerinde: L2-L4: 0.44 gr/cm² z-score: -3,0 olarak tespit edildi.

Aile fertlerinin PLP ve PEA düzeyleri aşağıda verilmiş olup, asemptomatik baba ve annenin tahlil sonuçları normal idi.

Annesi

PLP- 24,4 mg/L (5-50 mg/l)

PEA 17,06 mmol/L (0-48 mmol/l)

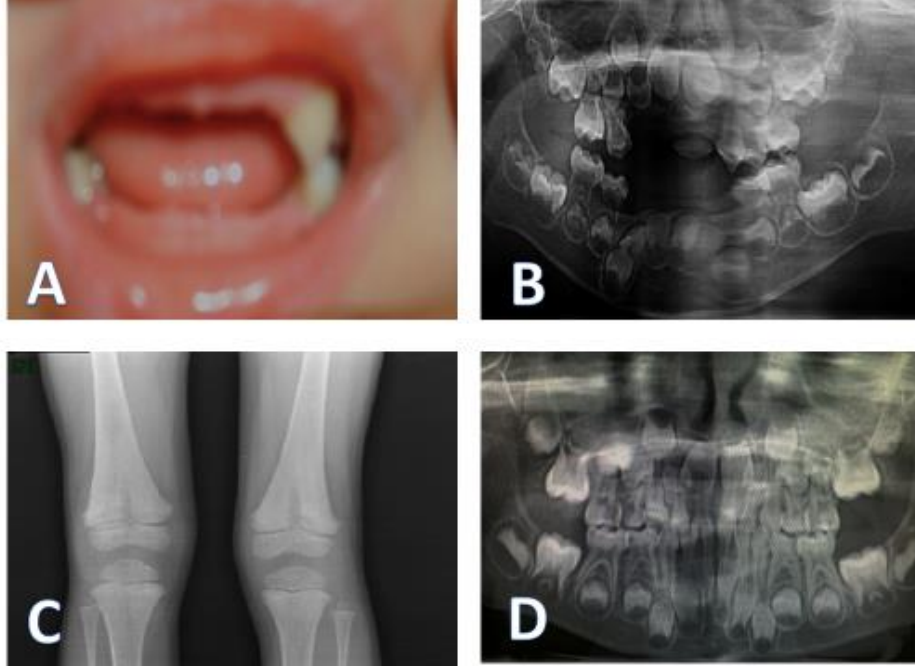
Babası

PLP- 23,3 mg/L 23,8 (5-50 mg/l)

PEA 44,9 mmol/L (0-48 mmol/l)

Hastanın genetik analizinde *ALPL* geninde p.V128M-p.V522A mutasyonları homozigot olarak tespit edildi. Aynı mutasyonun literatürde homozigot olarak hastalığa sebep olduğu gösterilmiştir. Hastanın babasında **p.V128M** mutasyonu heterozigot olarak, annesinde **p.V128M-p.R152H** mutasyonu heterozigot olarak saptanmıştır.

Şekil 13: 5 numaralı hastanın grafileri: Ön kesici dilerde dökülme (A); Ağız-diş grafisi (B), aynı yaşta normal bir çocuk ile karşılaştırıldığında alveolar genişleme (D). Diz grafisinde HPP'a özgü dil şeklinde kemik defekti (D)



Mutasyon saptanan hastaların biyokimya ve aile taraması sonuçları tabloda verilmiştir;

Tablo 10: Çalışmada tanımlanan mutasyonlar

Hastalar -Şikâyet	Sonuç	Anne	Baba	Literatür
Hasta No.1FÇ Bronşiolit	p.V459M heterozigot	Yok	p.V459M heterozigot	Birleşik heterozigot tanımlanmış
	PLP ↑; PEA ↑	PEA; PLP-N	PEA↑ PLP-N	
Hasta No.2-BMB Boy kısalığı, ayakta ağrı	p.Y263H ve p.A377V Birleşik heterozigot	p.Y263H	p.A377V	Birleşik heterozigot tanımlanmış
	PLP ↑; PEA ↑	PEA; PLP-N	PEA↑ PLP-N	
Hasta No.3ET Hipofiz adenomu	p.R184G Heterozigot	Yok	p.R184G ve p.T263H heterozigot	Homozigot tanımlanmış
	PLP ↑; PEA ↑	PEA; PLP-N	PEA- N; PLP ↑	
Hasta No.4EA Üşüme ve adet düzensizliği	p.His79Glnfs30- p.R152H Heterozigot	p.R152H heterozigot	p.His79Glnfs30 heterozigot	homozigot tanımlanmış
	PEA↑ PLP-N	PEA; PLP-N	PEA; PLP-N	
Hasta No.5EÖ Diş ve saç dökülmesi	p.V128M homozigot	p.V128M- heterozigot	p.V128M heterozigot	homozigot tanımlanmış
	PLP ↑; PEA ↑	PEA; PLP-N	PEA; PLP-N	

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda 93.162 çocuk hastadan bakılan serum ALP düzeylerinden yaş grubu referans alınarak değerlendirildiğinde 867 hastada ALP düzeyleri düşük tespit edilmiştir (9.3/1000 hasta). Hastaların tüm laboratuvar testleri tekrar bakıldığında ALP düşüklüğü tespit edilen 867 hastadan 745'inin en az bir ALP sonucunun normal sınırlarda olduğu görüldü (%85,9) ve bu hastalar transient hipofosfazatemi olarak kabul edildi. Bu hastaların aldığı tanılara bakıldığında ise; üst ve alt solunum yolu enfeksiyonlarından anemilere, malignitelere ve boy kısalığı, hipetansiyon gibi kronik hastalıklara kadar heterojen grup pek çok hastalık olduğu görüldü. ALP düşüklüğü persiste eden ve etmeyen gruplar karşılaştırıldığında üst solunum yolu enfeksiyonu olan transient grupta fazla iken, nefrotik sendrom, kronik böbrek hastalığı, hipopitüitarizm, kist hidatik ve eklem-kas ağrısı tanıları persitan ALP düşüklüğü olan grupta daha fazla idi ($p<0.05$). Bu da, malnütrisyon, inflamasyon ve benzeri sistemik hastalıklar sırasında kemik metabolizmasının etkilenerek alkalin fosfatazın düştüğünü göstermektedir. Ayrıca üst solunum yolu enfeksiyonu gibi akut hastalıklarda ALP düşüklüğünün transient olduğu, ancak kronik veya uzun hastalık süreci olan durumlarda hastalığın devam ediyor olması nedeni ile hipofosfazateminin devam ettiği görülmektedir.

ALP düşüklüğü devam eden 122 hastadan 8 hastanın primer Down Sendromu, malinite, MPS ve serebral palsi tanılı hastaların sepsis kardiyak ve solunum arresti gibi nedenlerle exitus olduğu öğrenildi. Bu da persiste eden ALP düşüklüğünün sistemik hastalık için kötü prognostik kriter olabileceğini düşündürmektedir.

ALP düşüklüğü persite eden hastalardan ulaşılabilen 75 kişiye testler tekrarlandığında 37'sinin (%49,3) ALP seviyelerinin düşük olduğu görüldü ve PLP ve PEA düzeylerine bakıldı. Test sonuçlarına göre %81 hastanın serum ALP'leri düşük olmasına rağmen, hipofosfazatya için spesifik olan substrat düzeyleri normal olduğu bulundu.

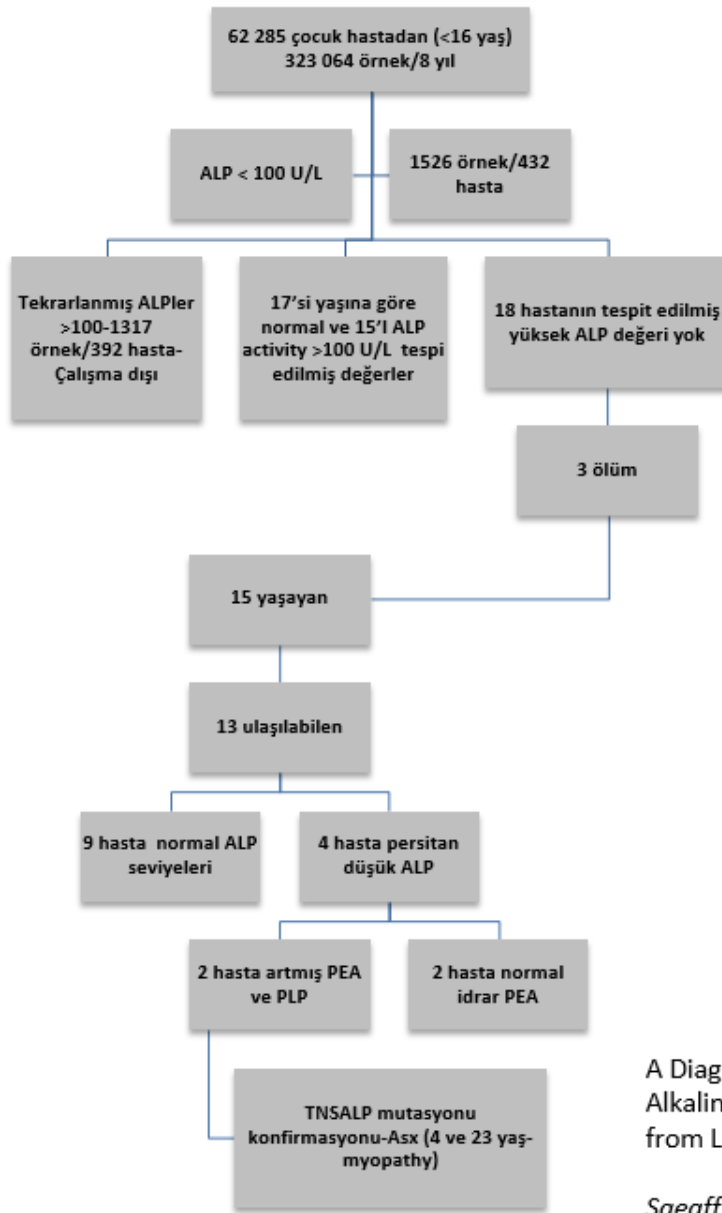
Bizim çalışmada persitan ALP düşüklüğü 37 hastanın %18,9'sında (7 hastada) substrat düzeyleri yüksek bulundu; 4 hastada idrar PEA ve plazma PLP düzeyleri yüksekken, bunlardan biri bilinen hasta olmak üzere 4'ünde de genetik olarak mutasyon saptandı; 3 hastada ise sadece idrarda PEA düzeyi yüksekliği vardı ve bu

hastalardan 1'inde mutasyon tespit edildi ve, 2 hastanın promotor ve intronik için mutasyon bölgenin mutasyon analizleri devam etmektedir.

Ayrıca, çalışmamız kör olarak planlanmış olup, bilinen homozigot mutasyon taşıyan (p.V128M) hipofosfatazya tanılı bir hastamız da çalışma sırasında yakalanmıştır ve bu hasta bölümümüzde bu tarihlerde takip edilen tek hipofosfatazyalı hasta olup, kullandığımız yöntemin hipofosfazemiye yakalamada etkin bir yöntem olduğunu göstermiş olduk. Ayrıca genetik olarak mutasyon saptanan 4 (%0,69) yeni birey tanımlandı ve bunlardan ikisi birleşik heterozigot mutasyon taşımakta iken (p.Y263H ve p.A377V ile His79Glnfs30 ve p.R152H), ikisinde heterozigot mutasyon (p.V459M, p.R184G) saptandı. Hastaların kliniklerine bakıldığında; bilinen homozigot hasta dışında diğer hastalarda, çocukluk HPP'na özgü herhangi bir radyolojik bulgu yok iken; boy kısalığı ve ayak ağrısı ile başvuran birleşik heterozigot (p.Y263H ve p.A377V) mutasyonu taşıyan hastada osteopeni tespit edildi ve ileri yaşlarda kemik bulgularının gelişebileceği ve erişkin HHP tanısı alabileceğini düşünüldü. Diğer birleşik heterozigot mutasyonu olan hastada HPP'ye ait herhangi bulgu bulunmamakta idi. P.V459M mutasyonu olan ve bronşiolit tanılı hastanın radyolojik bulguları infantil hipofosfatazya ile uyumlu olamasa da, hastanın yaşının küçük olması nedeni ile takipte bulgularının çıkma ihtimali olduğunu düşünmekteyiz. Ayrıca heterozigot mutasyon taşıyan 3 ebeveynde de subtratlarda artış olduğu görüldü ve bu da, p.V459M, p.A377V ve p.R184G mutasyonlarının heterozigot formlarının da HPP'ye neden olabileceğini düşündürmekte idi. Ayrıca, p.V459M ve p.R184G indeks vakalarda da heterozigot olarak bulunmakta idi.

Literatürde çalışmamıza benzer tek bir çalışma bulunmakta olup; 2016 yılında çalışmamız devam etmekte iken Saraff ve ark tarafından 'Düşük alkalin fosfataz aktivitesi olan çocuklarda tanı algoritması: hipofosfatazyanın laboratuvar taraması' başlığı ile yayımlanmıştır. Çalışmamıza benzer metodoloji ile laboratuvar da ALP düşüklüğü saptama hastalarda hipofosfatazya sıklığını araştıran çalışmada, otörler ALP alt sınırını 100 U/L olarak almışlar ve 8 yıllık döneme (2004 ağustos ve 2012 ekim) ait 62.285 hasta örneğini incelemişlerdir. Saraff ve ark'ın çalışmasında 62.285 hastaya ait 323.064 serum örneğinde ALP aktivitesi değerlendirilmiş, 1526 örnekte ALP<100 saptanmıştır. Bunlardan 4 hastanın bilinen hipofosfatazya tanısı varken

392 hastaya ait 1317 örnekte en az bir kez normal ALP seviyesi bulunduğu için hipofosfatazya tanısı ekarte edilmiş, 50 hastaya ait 193 örnekte ALP düşüklüğü persiste etmiştir. 32 hastanın takibinde bakılan ALP >100 olduğu için ekarte edilmiş, kalan 18 hastadan 3 hastanın kaybedildiği öğrenilmiştir. 15 hastadan kontrol ALP gönderilmiş ve sadece 4 hastada ALP düşüklüğünün sebat ettiği görülmüştür. Bu hastalardan idrarda PEA ve plazmada PLP bakılmış, 2 hastada sonuçlar yüksek bulunmuş, diğer 2 hastada sadece plazmada PLP düzeyi yüksek saptanmıştır. Hem idrar, hem kan sonucu pozitif olan hastalarda *ALPL* gen mutasyon analizi sonucu pozitif gelmiştir. Hastalara bakıldığında ise; *ALPL* geninde 7. ekzonda c.715G T,p.(Asp239Tyr) homozigot novel missense mutasyon tespit edilen 4 yaşında kız hasta ve, 6.ekzonda c.484.G heterozigot mutasyon tespit edilen 23 yaşında kız olup, her iki hastanın da hipofosfatazyaya özgü klinik bulgusunun olmadığı görülmüştür. Çalışmanın algoritması şekilde verilmiştir.



A Diagnostic Algorithm for Children with Low Alkaline Phosphatase Activities: Lessons Learned from Laboratory Screening for Hypophosphatasia

Saeaff V, et al. J Pediatr 2016

Şekil 11: Çalışmamıza benzer şekilde tasarlanmış ve 2016 yılında yayınlanmış çalışmanın algoritması.

İki çalışmanın farklarına bakılacak olursa; Saraff ve ark çalışmasında ALP alt sınırını 100 U/L olarak almışken, biz çalışmamızda ALP düzeyi yaşa ve cinsiyete göre referans aralığının altında olan hastaları dahil ettik. (195)

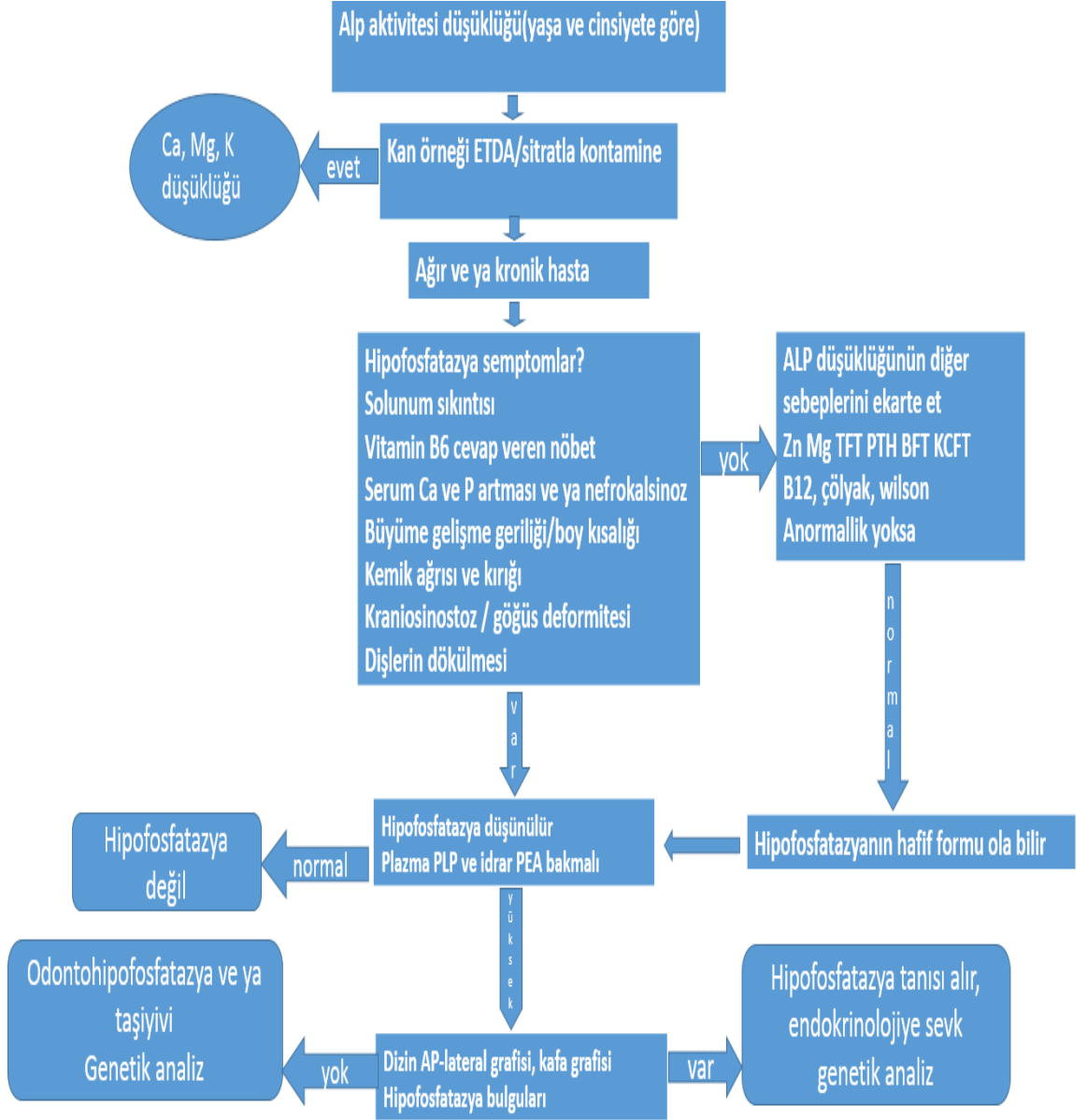
Saraff ve ark çalışmamızdan farklı olarak 6.9/1000 hastada ALP düzeylerini düşük bulmuş ve sadece hastaların %4,1'inde ALP seviyelerinin persitan olarak düşük olduğu görülmüştür. Bizim çalışmamızda ise %14,1 oranında ALP düşüklüğünün persiste ettiği görülmüştür. Saraff ve ark çalışmasında ALP düşüklüğü tespit edilen 446 hastadan 4 hastada bilinen hipofosfatazya tanısı varken, 2 (%0,48) yeni vaka genetik ve biyokimyasal olarak konfirme edilmiştir. Bizim çalışmada 92 162 taranan hastadan 4 yeni tanı mutasyon pozitif hasta bulunmuş ve ALP düşüklüğü olan hastalar içinde %0.69'unda mutasyonla konfirme edilmiştir. Ulaşılabilen ALP düşüklüğü sebat eden hastalarda mutasyon bulma oranı bizim çalışmamızda %5,3 iken, Saraff ve ark'ın çalışmasında bu oran %15,4 idi. (195)

Her iki çalışmanın karşılaştırılması tablo 12'de verilmiş ve çalışmamızda ALP düşüklüğü persiste etme oranının Saraff ve ark'ının çalışmasından daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu da bizim daha fazla kronik hasta takip etmemiz nedeni ile hipofosfatezemiye daha sık gördüğümüz anlamına gelebilir. Ancak, Saraff ve ark çalışmalarında hastane başvuru etiyolojik analizleri yapmadıkları için, şu anda bu karşılaştırmayı yapmak mümkün değildir. Ancak genetik mutasyon saptanan hastaların benzer oranlarda olması bu tezimizi desteklemektedir. (195)

Tablo 12: Saraff ve ark çalışması ve bu çalışmanın karşılaştırma tablosu

Hasta grupları	Bayramlı ve ark ALP< referansı yaş	Saraff ve ark ALP<100 u/l	Z ve P score
Toplam hasta sayısı	93 162	62 285	
ALP düşük olan hasta	867 (%0,93)	446 (%0,71)	<u>Z= 4,256; P = <0,001</u>
Eski HPP tanılı hasta	1(%0,11)	4(%0,89)	<u>Z= 1,713; P = 0,087</u>
Sürekli ALP düşüklüğü olan	122 (%14)	50 (%11)	Z= 1,445; P = 0,148
Ölen hasta sayısı	8 (%6,5)	3 (%6)	Z= -0,222; P = 0,824
Kontrol ALP normal gelen	38 (%31,1)	41 (%82)	<u>Z= 5,927; P = <0,001</u>
ALP düşüklüğü persiste eden	37 (%30,3)	4 (%8)	<u>Z= 2,888; P = 0,004</u>
PLP ve PEA yüksek	4(%3,2)	2(%4)	Z= -0,199; P = 0,842
Sadece PEA yüksek	3(%2,4)	0	Z= 0,456; P = 0,649
Genetik pozitif	4 (%3,2)	2(%4)	Z= -0,199; P = 0,842

Saraff ve ark yaptığı çalışma sonucu düşük ALP aktivitesi olan çocuklarda tanı algoritması hazırlamıştır ve bu algoritma. (195) Şekil 15’ de verilmiştir.



Şekil 15: ALP aktivitesi düşük olan hastalarda tanı algoritması (127)

Bu algoritma özellikle hipofosfatazyanın ağır formlara göre daha sık görülen hafif formlarının tanı almasında değerlidir. ALP değerinin düşük olması klinik bulguların

olmaması halinde tek başına HPP tanısı için yeterli değildir, ileri takip ve tahlillerin yapılması gerekmektedir. Öncelikle kan örneklerinin alınma ve saklama koşulları önemlidir. Alınan plazma örneğinin EDTA ile teması ALP, Ca, Mg ve fosfor düzeylerinin düşüklüğü ile sonuçlanır. Kan alınması ve saklanması ile ilgili sorun yok iken, düşük ALP aktivitesine hiperfosfatemi, hiperkalsemi ve tipik klinik bulguların eşlik etmesi hipofosfatazya tanısını düşündürür. Hipofosfatazyaya özgü klinik bulgular yok ise ayırıcı tanı için ileri laboratuvar araştırmaların yapılması gerekmektedir. ALP düzeyi düşük saptanan hastada plazmada PLP ve idrarda PEA düzeyi yüksek gelirse diz AP-lateral, kafa AP-lateral ve vertebra lateral filmlerinin çekilmesi gerekmektedir. Klinik heterojenite nedeniyle hafif hipofosfatazya formlarının tanısı prezente olduğu yaşa göre ve klinik bulgulara göre konulur, ancak kesin tanı genetik analiz ile mümkündür.

Ancak bu çalışmada da gösterildiği üzere; hafif HPP vakaların gözden kaçtığı bilinmektedir ve bu vakaların tanı alması için bazı adımların atılması gerekmektedir. Klinisyen ve biyokimya uzmanlarına düşük ALP aktivitesinin gözden kaçmaması için eğitimler verilmelidir. Laboratuvarlarda yanlış tanıyı önlemek için yaşa ve cinsiyete özgü referans aralıklar kullanılmalıdır, ALP düzeyi düşüklüğü de laboratuvar sonuçlarında işaretlenmelidir. Biyokimya uzmanları, pediatristler ve diğer sağlık çalışanlarının hipofosfatazya ile ilgili farkındalıklarının artırılması sadece erken tanı açısından değil, hipofosfatazyanın ağır formlarının tedavi edilebilir olması nedeni ile hayat kurtarıcıdır.

Biz de çalışmamızda tanı almamış 4 hasta tanımladık, ve bu hastaların takiplerinde tedavi ihtiyaçlarına karar verilecektir. Ancak, bu çalışmada gözden kaçmış lethal formda hipofosfatazya vakasına rastlanmamıştır.

Hipofosfatazyada enzim replasman tedavisi yaşam kalitesi, morbidite ve mortalite, komplikasyonların azalması üzerine etkilidir. Bu nedenle hipofosfatazyanın erken ve doğru tanı alması hastalığın prognozu açısından önemlidir. Her ne kadar biz çalışmamızda acil tedavi gerektiren hipofosfatazya vakasına rastlamamış olsak da, hastalığın erken tanı ve tedavisi için laboratuvar monitorizasyonun etkin bir yöntem olduğunu göstermiş olduk. Ayrıca toplumda bilinen infantil formlarının aksine hafif formlarının çok daha sık ve tanı almamış olduğunu da kanıtlamış olduk.

6. KAYNAKLAR

1. Liu H, Li J, Lei H, Zhu T, Gan Y, Ge L. Genetic etiology and dental pulp cell deficiency of hypophosphatasia. *J Dent Res.* 2010;89(12):1373-7.
2. Mornet E. Molecular Genetics of Hypophosphatasia and Phenotype-Genotype Correlations. *Subcell Biochem.* 2015;76:25-43.
3. Mornet E, Simon-Bouy B. [Genetics of hypophosphatasia]. *Arch Pediatr.* 2004;11(5):444-8.
4. Machtei EE, Ben-Yehouda A, Zubery Y, Sela BA. Lack of evidence for hypophosphatasia as a factor in the pathogenesis of early-onset periodontitis. *J West Soc Periodontol Periodontal Abstr.* 1994;42(4):113-7.
5. Whyte MP. Hypophosphatasia - aetiology, nosology, pathogenesis, diagnosis and treatment. *Nat Rev Endocrinol.* 2016;12(4):233-46.
6. Ozono K, Michigami T. Hypophosphatasia now draws more attention of both clinicians and researchers: a commentary on Prevalence of c. 1559delT in ALPL, a common mutation resulting in the perinatal (lethal) form of hypophosphatasias in Japanese and effects of the mutation on heterozygous carriers. *J Hum Genet.* 2011;56(3):174-6.
7. Watanabe A, Karasugi T, Sawai H, Naing BT, Ikegawa S, Orimo H, et al. Prevalence of c.1559delT in ALPL, a common mutation resulting in the perinatal (lethal) form of hypophosphatasia in Japanese and effects of the mutation on heterozygous carriers. *J Hum Genet.* 2011;56(2):166-8.
8. Dickson W, Horrocks RH. Hypophosphatasia. *J Bone Joint Surg Br.* 1958;40-B(1):64-74.
9. Rathbun JC. Hypophosphatasia; a new developmental anomaly. *Am J Dis Child.* 1948;75(6):822-31.
10. Rathbun JC. Hypophosphatasia. *Helv Paediatr Acta.* 1959;14:548-53.
11. Rathbun JC, Macdonald JW, Robinson HM, Wanklin JM. Hypophosphatasia: a genetic study. *Arch Dis Child.* 1961;36:540-2.
12. Mornet E, Nunes ME. Hypophosphatasia. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, Wallace SE, Amemiya A, Bean LJH, et al., editors. *GeneReviews(R)*. Seattle (WA)1993.
13. Ozono K, Cai G. [Hypophosphatasia]. *Ryoikibetsu Shokogun Shirizu.* 1998(19 Pt 2):669-72.
14. Whyte MP, Landt M, Ryan LM, Mulivor RA, Henthorn PS, Fedde KN, et al. Alkaline phosphatase: placental and tissue-nonspecific isoenzymes hydrolyze phosphoethanolamine, inorganic pyrophosphate, and pyridoxal 5'-phosphate. Substrate accumulation in carriers of hypophosphatasia corrects during pregnancy. *J Clin Invest.* 1995;95(4):1440-5.
15. Whyte MP, Vrabel LA, Schwartz TD. Alkaline phosphatase deficiency in cultured skin fibroblasts from patients with hypophosphatasia: comparison of the infantile, childhood, and adult forms. *J Clin Endocrinol Metab.* 1983;57(4):831-7.
16. Whyte MP, Walkenhorst DA, Fedde KN, Henthorn PS, Hill CS. Hypophosphatasia: levels of bone alkaline phosphatase immunoreactivity in serum reflect disease severity. *J Clin Endocrinol Metab.* 1996;81(6):2142-8.
17. Iqbal SJ, Davies T, Holland S, Manning T, Whittaker P. Alkaline phosphatase isoenzymes and clinical features in hypophosphatasia. *Ann Clin Biochem.* 2000;37 (Pt 6):775-80.
18. Rosenthal IM, Bonting SL, Hogan W, Pirani CL. Tissue alkaline phosphatase in hypophosphatasia. *AMA J Dis Child.* 1960;99:185-92.

19. Mueller HD, Stinson RA, Mohyuddin F, Milne JK. Isoenzymes of alkaline phosphatase in infantile hypophosphatasia. *J Lab Clin Med.* 1983;102(1):24-30.
20. Millan JL, Whyte MP. Alkaline Phosphatase and Hypophosphatasia. *Calcif Tissue Int.* 2016;98(4):398-416.
21. Bloch-Zupan A, Mornet E, Millan JL, Ustrung S. Abstracts of the 6th International Alkaline Phosphatase and Hypophosphatasia Symposium, May 16-19, 2012, Huningue, France. *Bull Group Int Rech Sci Stomatol Odontol.* 2012;51(1):e1-e42.
22. Oda K, Kinjoh NN, Sohda M, Komaru K, Amizuka N. [Tissue-nonspecific alkaline phosphatase and hypophosphatasia]. *Clin Calcium.* 2014;24(2):233-9.
23. Meberg A, Torstenson T. [Hypophosphatasia]. *Tidsskr Nor Laegeforen.* 1974;94(10):641-3.
24. McKee MD, Hoac B, Addison WN, Barros NM, Millan JL, Chaussain C. Extracellular matrix mineralization in periodontal tissues: Noncollagenous matrix proteins, enzymes, and relationship to hypophosphatasia and X-linked hypophosphatemia. *Periodontol* 2000. 2013;63(1):102-22.
25. Yamamoto S, Orimo H, Matsumoto T, Iijima O, Narisawa S, Maeda T, et al. Prolonged survival and phenotypic correction of Akp2(-/-) hypophosphatasia mice by lentiviral gene therapy. *J Bone Miner Res.* 2011;26(1):135-42.
26. Harmey D, Johnson KA, Zelken J, Camacho NP, Hoylaerts MF, Noda M, et al. Elevated skeletal osteopontin levels contribute to the hypophosphatasia phenotype in Akp2(-/-) mice. *J Bone Miner Res.* 2006;21(9):1377-86.
27. Liu J, Nam HK, Campbell C, Gasque KC, Millan JL, Hatch NE. Tissue-nonspecific alkaline phosphatase deficiency causes abnormal craniofacial bone development in the Alpl(-/-) mouse model of infantile hypophosphatasia. *Bone.* 2014;67:81-94.
28. Matsumoto T, Miyake K, Yamamoto S, Orimo H, Miyake N, Odagaki Y, et al. Rescue of severe infantile hypophosphatasia mice by AAV-mediated sustained expression of soluble alkaline phosphatase. *Hum Gene Ther.* 2011;22(11):1355-64.
29. Benzie R, Doran TA, Escoffery W, Gardner HA, Hoar DI, Hunter A, et al. Prenatal diagnosis of hypophosphatasia. *Birth Defects Orig Artic Ser.* 1976;12(6):271-82.
30. Hough TA, Polewski M, Johnson K, Cheeseman M, Nolan PM, Vizor L, et al. Novel mouse model of autosomal semidominant adult hypophosphatasia has a splice site mutation in the tissue nonspecific alkaline phosphatase gene Akp2. *J Bone Miner Res.* 2007;22(9):1397-407.
31. Demirbilek H, Alanay Y, Alikasifoglu A, Topcu M, Mornet E, Gonc N, et al. Hypophosphatasia presenting with pyridoxine-responsive seizures, hypercalcemia, and pseudotumor cerebri: case report. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2012;4(1):34-8.
32. Nunes ML, Mugnol F, Bica I, Fiori RM. Pyridoxine-dependent seizures associated with hypophosphatasia in a newborn. *J Child Neurol.* 2002;17(3):222-4.
33. Baumgartner-Sigl S, Haberlandt E, Mumm S, Scholl-Burgi S, Sergi C, Ryan L, et al. Pyridoxine-responsive seizures as the first symptom of infantile hypophosphatasia caused by two novel missense mutations (c.677T>C, p.M226T; c.1112C>T, p.T371I) of the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene. *Bone.* 2007;40(6):1655-61.
34. Belachew D, Kazmerski T, Libman I, Goldstein AC, Stevens ST, Deward S, et al. Infantile hypophosphatasia secondary to a novel compound heterozygous mutation presenting with pyridoxine-responsive seizures. *JIMD Rep.* 2013;11:17-24.
35. de Roo MG, Abeling NG, Majoie CB, Bosch AM, Koelman JH, Cobben JM, et al. Infantile hypophosphatasia without bone deformities presenting with severe pyridoxine-resistant seizures. *Mol Genet Metab.* 2014;111(3):404-7.
36. Nakamura-Takahashi A, Miyake K, Watanabe A, Hirai Y, Iijima O, Miyake N, et al. Treatment of hypophosphatasia by muscle-directed expression of bone-targeted alkaline

phosphatase via self-complementary AAV8 vector. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2016;3:15059.

37. Narisawa S, Frohlander N, Millan JL. Inactivation of two mouse alkaline phosphatase genes and establishment of a model of infantile hypophosphatasia. *Dev Dyn.* 1997;208(3):432-46.

38. Grossmann I, Grossmann P. [Hypophosphatasia and vitamin D-resistant rickets]. *Radiol Diagn (Berl).* 1967;8(1):91-101.

39. Macfarlane JD, Frolich M, Papapoulos SE. Serum osteocalcin levels before and after 1,25 dihydroxy-vitamin D stimulation in a family with hypophosphatasia. *Bone.* 1991;12(4):261-3.

40. Di Mauro S, Manes T, Hessle L, Kozlenkov A, Pizauro JM, Hoylaerts MF, et al. Kinetic characterization of hypophosphatasia mutations with physiological substrates. *J Bone Miner Res.* 2002;17(8):1383-91.

41. Fedde KN, Blair L, Silverstein J, Coburn SP, Ryan LM, Weinstein RS, et al. Alkaline phosphatase knock-out mice recapitulate the metabolic and skeletal defects of infantile hypophosphatasia. *J Bone Miner Res.* 1999;14(12):2015-26.

42. Taillandier A, Domingues C, De Cazanove C, Porquet-Bordes V, Monnot S, Kiffer-Moreira T, et al. Molecular diagnosis of hypophosphatasia and differential diagnosis by targeted Next Generation Sequencing. *Mol Genet Metab.* 2015;116(3):215-20.

43. Millan JL, Plotkin H. Hypophosphatasia - pathophysiology and treatment. *Actual osteol.* 2012;8(3):164-82.

44. Fedde KN, Whyte MP. Alkaline phosphatase (tissue-nonspecific isoenzyme) is a phosphoethanolamine and pyridoxal-5'-phosphate ectophosphatase: normal and hypophosphatasia fibroblast study. *Am J Hum Genet.* 1990;47(5):767-75.

45. Fraser D, Yendt ER, Christie FH. Metabolic abnormalities in hypophosphatasia. *Lancet.* 1955;268(6858):286.

46. Bloch-Zupan A. Hypophosphatasia: diagnosis and clinical signs - a dental surgeon perspective. *Int J Paediatr Dent.* 2016.

47. Kritsaneepaiboon S, Jaruratanasirikul S, Dissaneevate S. Clinics in diagnostic imaging (112). Perinatal lethal hypophosphatasia (PLH). *Singapore Med J.* 2006;47(11):987-92; quiz 93.

48. Berkseth KE, Tebben PJ, Drake MT, Hefferan TE, Jewison DE, Wermers RA. Clinical spectrum of hypophosphatasia diagnosed in adults. *Bone.* 2013;54(1):21-7.

49. Salles JP. Clinical Forms and Animal Models of Hypophosphatasia. *Subcell Biochem.* 2015;76:3-24.

50. Taketani T, Onigata K, Kobayashi H, Mushimoto Y, Fukuda S, Yamaguchi S. Clinical and genetic aspects of hypophosphatasia in Japanese patients. *Arch Dis Child.* 2014;99(3):211-5.

51. Whyte MP, Zhang F, Wenkert D, McAlister WH, Mack KE, Benigno MC, et al. Hypophosphatasia: validation and expansion of the clinical nosology for children from 25 years experience with 173 pediatric patients. *Bone.* 2015;75:229-39.

52. Mishra OP, Sharma OP, Bhatia BD, Kumar M, Das BK, Prakash A, et al. Perinatal hypophosphatasia. *Indian Pediatr.* 1992;29(8):1030-3.

53. Watanabe A, Satoh S, Fujita A, Naing BT, Orimo H, Shimada T. Perinatal hypophosphatasia caused by uniparental isodisomy. *Bone.* 2014;60:93-7.

54. Chodirker BN, Evans JA, Lewis M, Coghlan G, Belcher E, Philipps S, et al. Infantile hypophosphatasia--linkage with the RH locus. *Genomics.* 1987;1(3):280-2.

55. Chodirker BN, Evans JA, Seargeant LE, Cheang MS, Greenberg CR. Hyperphosphatemia in infantile hypophosphatasia: implications for carrier diagnosis and screening. *Am J Hum Genet.* 1990;46(2):280-5.

56. Greenberg CR, Evans JA, McKendry-Smith S, Redekopp S, Haworth JC, Mulivor R, et al. Infantile hypophosphatasia: localization within chromosome region 1p36.1-34 and prenatal diagnosis using linked DNA markers. *Am J Hum Genet.* 1990;46(2):286-92.
57. Haliloglu B, Guran T, Atay Z, Abali S, Mornet E, Bereket A, et al. Infantile loss of teeth: odontohypophosphatasia or childhood hypophosphatasia. *Eur J Pediatr.* 2013;172(6):851-3.
58. Henthorn PS, Whyte MP. Infantile hypophosphatasia: successful prenatal assessment by testing for tissue-non-specific alkaline phosphatase isoenzyme gene mutations. *Prenat Diagn.* 1995;15(11):1001-6.
59. Kishi F. [Molecular cloning of liver/bone/kidney-type alkaline phosphatase complementary and genomic DNA: analyses of its deficiency, infantile hypophosphatasia]. *Nihon Rinsho.* 1993;51(2):488-94.
60. Kishi F, Matsuura S, Murano I, Akita A, Kajii T. Prenatal diagnosis of infantile hypophosphatasia. *Prenat Diagn.* 1991;11(5):305-9.
61. Nur BG, Celmeli G, Manguoglu E, Soyucen E, Bircan I, Mihci E. Pyridoxine Responsive Seizures in Infantile Hypophosphatasia and a Novel Homozygous Mutation in ALPL gene. *J Clin Res Pediatr Endocrinol.* 2016.
62. Beck C, Morbach H, Wirth C, Beer M, Girschick HJ. Whole-body MRI in the childhood form of hypophosphatasia. *Rheumatol Int.* 2011;31(10):1315-20.
63. Beumer J, 3rd, Trowbridge HO, Silverman S, Jr., Eisenberg E. Childhood hypophosphatasia and the premature loss of teeth. A clinical and laboratory study of seven cases. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1973;35(5):631-40.
64. Pourfar M, Borusu IB, Schneck L. Childhood hypophosphatasia. Clinical and cytogenetic studies. *N Y State J Med.* 1972;72(18):2341-4.
65. Ramer M, Basta R, Fisher K. Childhood hypophosphatasia. A case report. *N Y State Dent J.* 1997;63(5):36-9.
66. Silva I, Castelao W, Mateus M, Branco JC. Childhood hypophosphatasia with myopathy: clinical report with recent update. *Acta Reumatol Port.* 2012;37(1):92-6.
67. Jedrychowski JR, Duperon D. Childhood hypophosphatasia with oral manifestations. *J Oral Med.* 1979;34(1):18-22.
68. Meurman JH, Hakala PE. Cranial manifestations of hypophosphatasia in childhood nephrotic syndrome. *Int J Oral Surg.* 1984;13(3):249-55.
69. Mulder AL, van den Bos SN, Gerrits GP, Theunissen PM. [Childhood hypophosphatasia]. *Ned Tijdschr Geneesk.* 1997;141(27):1345-8.
70. Sorensen E, Flodgaard H. Adult hypophosphatasia. *Acta Med Scand.* 1975;197(5):357-60.
71. Sutton RA, Mumm S, Coburn SP, Ericson KL, Whyte MP. "Atypical femoral fractures" during bisphosphonate exposure in adult hypophosphatasia. *J Bone Miner Res.* 2012;27(5):987-94.
72. Watanabe H, Hashimoto-Uoshima M, Goseki-Sone M, Orimo H, Ishikawa I. A novel point mutation (C571T) in the tissue-non-specific alkaline phosphatase gene in a case of adult-type hypophosphatasia. *Oral Dis.* 2001;7(6):331-5.
73. Coto H, Douglas JE. Adult hypophosphatasia. *South Med J.* 1983;76(12):1570-2.
74. Cutrin Prieto C, Casal Iglesias L, Batalla Eiras A. [Hypophosphatasia in the adult: description of a case]. *An Med Interna.* 1991;8(7):363-4.
75. Iida K, Fukushi J, Fujiwara T, Oda Y, Iwamoto Y. Adult hypophosphatasia with painful periarticular calcification treated with surgical resection. *J Bone Miner Metab.* 2012;30(6):722-5.

76. Iqbal SJ, Plaha DS, Linforth GH, Dalglish R. Hypophosphatasia: diagnostic application of linked DNA markers in the dominantly inherited adult form. *Clin Sci (Lond)*. 1999;97(1):73-8.
77. Jardon OM, Burney DW, Fink RL. Hypophosphatasia in an adult. *J Bone Joint Surg Am*. 1970;52(7):1477-84.
78. Luong KV, Nguyen LT. Adult hypophosphatasia and a low level of red blood cell thiamine pyrophosphate. *Ann Nutr Metab*. 2005;49(2):107-9.
79. Millan JL, Whyte MP, Avioli LV, Fishman WH. Hypophosphatasia (adult form): quantitation of serum alkaline phosphatase isoenzyme activity in a large kindred. *Clin Chem*. 1980;26(7):840-5.
80. Nangaku M, Sato N, Sugano K, Takaku F. Hypophosphatasia in an adult: a case report. *Jpn J Med*. 1991;30(1):47-52.
81. Laplane R, Bureau P, Lasfargues G, Deffez JP, Mougenot JF, Plante P, et al. [Congenital hypophosphatasia and odontogenesis]. *Acta Stomatol Belg*. 1973;70(1):23-43.
82. Russell K, Yacobi R. Generalized odontodysplasia concomitant with mild hypophosphatasia--a case report. *J Can Dent Assoc*. 1993;59(2):187-90.
83. Coe JD, Murphy WA, Whyte MP. Management of femoral fractures and pseudofractures in adult hypophosphatasia. *J Bone Joint Surg Am*. 1986;68(7):981-90.
84. Kapoor KG. Comment on "Hypophosphatasia associated with pseudotumor cerebri and respiratory insufficiency". *Indian J Pediatr*. 2009;76(7):761; author reply
85. Teber S, Sezer T, Kafali M, Kendirli T, Siklar Z, Berberoglu M, et al. Hypophosphatasia associated with pseudotumor cerebri and respiratory insufficiency. *Indian J Pediatr*. 2008;75(2):186-8.
86. Watanabe A, Yamamasu S, Shinagawa T, Suzuki Y, Miyake H, Takeshita T, et al. Prenatal genetic diagnosis of severe perinatal (lethal) hypophosphatasia. *J Nippon Med Sch*. 2007;74(1):65-9.
87. Wei KW, Xuan K, Liu YL, Fang J, Ji K, Wang X, et al. Clinical, pathological and genetic evaluations of Chinese patients with autosomal-dominant hypophosphatasia. *Arch Oral Biol*. 2010;55(12):1017-23.
88. Whyte MP, Teitelbaum SL, Murphy WA, Bergfeld MA, Avioli LV. Adult hypophosphatasia. Clinical, laboratory, and genetic investigation of a large kindred with review of the literature. *Medicine (Baltimore)*. 1979;58(5):329-47.
89. Barrett AM, Fairweather DV, McCance RA, Morrison AB. Genetic, clinical, biochemical, and pathological features of hypophosphatasia; based on the study of a family. *Q J Med*. 1956;25(100):523-37.
90. Blau K, Rattenbury JM, Pryse-Davies J, Clark P, Sandler M. Prenatal detection of hypophosphatasia: cytological and genetic considerations. *J Inher Metab Dis*. 1978;1(1):37-9.
91. Chandoga I, Futas J, Petrovic R, Chandoga J. [Hypophosphatasia--biochemical and clinical manifestations, molecular genetic principles]. *Cas Lek Cesk*. 2011;150(10):541-5.
92. Mulivor RA, Mennuti M, Zackai EH, Harris H. Prenatal diagnosis of hypophosphatasia; genetic, biochemical, and clinical studies. *Am J Hum Genet*. 1978;30(3):271-82.
93. Ozono K. [Genetic basis for skeletal disease. Clinical characteristics of hypophosphatasia and its treatment]. *Clin Calcium*. 2010;20(8):1220-7.
94. Iqbal SJ. Persistently raised serum acid phosphatase activity in a patient with hypophosphatasia: electrophoretic and molecular weight characterisation as type 5. *Clin Chim Acta*. 1998;271(2):213-20.

95. Ishida Y, Komaru K, Oda K. Molecular characterization of tissue-nonspecific alkaline phosphatase with an Ala to Thr substitution at position 116 associated with dominantly inherited hypophosphatasia. *Biochim Biophys Acta*. 2011;1812(3):326-32.
96. Simon-Bouy B, Taillandier A, Fauvert D, Brun-Heath I, Serre JL, Armengod CG, et al. Hypophosphatasia: molecular testing of 19 prenatal cases and discussion about genetic counseling. *Prenat Diagn*. 2008;28(11):993-8.
97. Watanabe H, Goseki-Sone M, Imura T, Oida S, Orimo H, Ishikawa I. Molecular diagnosis of hypophosphatasia with severe periodontitis. *J Periodontol*. 1999;70(6):688-91.
98. Blau K, Hoar DI, Rattenbury JM, Rudd NL. Prenatal diagnosis of hypophosphatasia. *Lancet*. 1977;2(8048):1139.
99. Muller F, Oury JF, Bussiere P, Lewin F, Boue J. First-trimester diagnosis of hypophosphatasia. Importance of gestational age and purity of CV samples. *Prenat Diagn*. 1991;11(9):725-30.
100. Mumm S, Jones J, Finnegan P, Whyte MP. Hypophosphatasia: molecular diagnosis of Rathbun's original case. *J Bone Miner Res*. 2001;16(9):1724-7.
101. Nolte K, Schiebe G. [Radiological diagnosis (and differential diagnosis) of lethal type (congenital type) of hypophosphatasia (author's transl)]. *Radiologe*. 1976;16(7):283-5.
102. Orimo H, Nakajima E, Hayashi Z, Kijima K, Watanabe A, Tenjin H, et al. First-trimester prenatal molecular diagnosis of infantile hypophosphatasia in a Japanese family. *Prenat Diagn*. 1996;16(6):559-63.
103. Rattenbury JM, Blau K, Sandler M, Pryse-Davies J, Clark P, Pooley SS. Letter: Prenatal diagnosis of hypophosphatasia. *Lancet*. 1976;1(7954):306.
104. Rudd NL, Miskin M, Hoar DI, Benzie R, Doran TA. Prenatal diagnosis of hypophosphatasia. *N Engl J Med*. 1976;295(3):146-8.
105. Salvador-Tarrason R, Finestres-Zubeldia F, Usandizaga-Calparsoro M. [Hypophosphatasia. Early radiologic diagnosis]. *Acta Obstet Gynecol Hisp Lusit*. 1977;25(8):479-89.
106. Suzumori N, Mornet E, Mizutani E, Obayashi S, Ozaki Y, Sugiura-Ogasawara M. Prenatal diagnosis of familial lethal hypophosphatasia using imaging, blood enzyme levels, chorionic villus sampling and archived fetal tissue. *J Obstet Gynaecol Res*. 2011;37(10):1470-3.
107. Svejcar J, Walther A. The diagnosis of the early infantile form of hypophosphatasia tarda. *Humangenetik*. 1975;28(1):49-56.
108. Tongsong T, Pongsatha S. Early prenatal sonographic diagnosis of congenital hypophosphatasia. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2000;15(3):252-5.
109. Tongsong T, Sirichotiyakul S, Siriengkul S. Prenatal diagnosis of congenital hypophosphatasia. *J Clin Ultrasound*. 1995;23(1):52-5.
110. Wladimiroff JW, Niermeijer MF, Van der Harten JJ, Stewart PA, Versteegh FG, Blom W, et al. Early prenatal diagnosis of congenital hypophosphatasia: case report. *Prenat Diagn*. 1985;5(1):47-52.
111. Wohlschlagger H, Salomonowitz E, Cejna M, Sauer R. [Hypophosphatasia congenitalis: value of radiological diagnosis]. *Rontgenpraxis*. 1999;52(7):224-6.
112. Mornet E, Muller F, Ngo S, Taillandier A, Simon-Bouy B, Maire I, et al. Correlation of alkaline phosphatase (ALP) determination and analysis of the tissue non-specific ALP gene in prenatal diagnosis of severe hypophosphatasia. *Prenat Diagn*. 1999;19(8):755-7.
113. Muhlbach R, Lindenhayn K, Kruger E. [Clinical aspects and biochemical diagnosis of hypophosphatasia]. *Beitr Orthop Traumatol*. 1970;17(1):74-6.
114. Barcia JP, Strife CF, Langman CB. Infantile hypophosphatasia: treatment options to control hypercalcemia, hypercalciuria, and chronic bone demineralization. *J Pediatr*. 1997;130(5):825-8.

115. Bianchi ML. Hypophosphatasia: an overview of the disease and its treatment. *Osteoporos Int*. 2015;26(12):2743-57.
116. Camacho PM, Painter S, Kadanoff R. Treatment of adult hypophosphatasia with teriparatide. *Endocr Pract*. 2008;14(2):204-8.
117. Cole DE. Hypophosphatasia update: recent advances in diagnosis and treatment. *Clin Genet*. 2008;73(3):232-5.
118. Cundy T, Michigami T, Tachikawa K, Dray M, Collins JF, Paschalis EP, et al. Reversible Deterioration in Hypophosphatasia Caused by Renal Failure With Bisphosphonate Treatment. *J Bone Miner Res*. 2015;30(9):1726-37.
119. Deeb AA, Bruce SN, Morris AA, Cheetham TD. Infantile hypophosphatasia: disappointing results of treatment. *Acta Paediatr*. 2000;89(6):730-3.
120. Doshi KB, Hamrahian AH, Licata AA. Teriparatide treatment in adult hypophosphatasia in a patient exposed to bisphosphonate: a case report. *Clin Cases Miner Bone Metab*. 2009;6(3):266-9.
121. Fraser D, Laidlaw JC. Treatment of hypophosphatasia with cortisone. *Lancet*. 1956;270(6922):553.
122. Girschick HJ, Schneider P, Haubitze I, Hiort O, Collmann H, Beer M, et al. Effective NSAID treatment indicates that hyperprostaglandinism is affecting the clinical severity of childhood hypophosphatasia. *Orphanet J Rare Dis*. 2006;1:24.
123. Kosnik-Infinger L, Gendron C, Gordon CB, Pan BS, van Aalst JA, Vogel TW. Enzyme replacement therapy for congenital hypophosphatasia allows for surgical treatment of related complex craniosynostosis: a case series. *Neurosurg Focus*. 2015;38(5):E10.
124. Whyte MP, Rockman-Greenberg C, Ozono K, Riese R, Moseley S, Melian A, et al. Asfotase Alfa Treatment Improves Survival for Perinatal and Infantile Hypophosphatasia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2016;101(1):334-42.
125. Yamamoto H, Sasamoto Y, Miyamoto Y, Murakami H, Kamiyama N. A successful treatment with pyridoxal phosphate for West syndrome in hypophosphatasia. *Pediatr Neurol*. 2004;30(3):216-8.
126. Girschick HJ, Seyberth HW, Huppertz HI. Treatment of childhood hypophosphatasia with nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Bone*. 1999;25(5):603-7.
128. Watanabe H, Umeda M, Seki T, Ishikawa I. 1993. Clinical and laboratory studies of severe periodontal disease in an adolescent associated with hypophosphatasia. A case report. *J Periodontol* 64:174-80
129. Wei KW, Xuan K, Liu YL, Fang J, Ji K, et al. 2010. Clinical, pathological and genetic evaluations of Chinese patients with autosomal-dominant hypophosphatasia. *Arch Oral Biol* 55:1017-23

130. Whyte MP, Teitelbaum SL, Murphy WA, Bergfeld MA, Avioli LV. 1979. Adult hypophosphatasia. Clinical, laboratory, and genetic investigation of a large kindred with review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 58:329-47
131. Whyte MP, Zhang F, Wenkert D, McAlister WH, Mack KE, et al. 2015. Hypophosphatasia: validation and expansion of the clinical nosology for children from 25 years experience with 173 pediatric patients. *Bone* 75:229-39
132. Pourfar M, Borusu IB, Schneck L. 1972. Childhood hypophosphatasia. Clinical and cytogenetic studies. *N Y State J Med* 72:2341-4
133. Salles JP. 2015. Clinical Forms and Animal Models of Hypophosphatasia. *Subcell Biochem* 76:3-24
134. Shohat M, Rimoin DL, Gruber HE, Lachman RS. 1991. Perinatal lethal hypophosphatasia; clinical, radiologic and morphologic findings. *Pediatr Radiol* 21:421-7
135. Silva I, Castelao W, Mateus M, Branco JC. 2012. Childhood hypophosphatasia with myopathy: clinical report with recent update. *Acta Reumatol Port* 37:92-6
136. Taketani T, Onigata K, Kobayashi H, Mushimoto Y, Fukuda S, Yamaguchi S. 2014. Clinical and genetic aspects of hypophosphatasia in Japanese patients. *Arch Dis Child* 99:211-5
137. Burmeister W, Mayser P. 1967. [Hypophosphatasia. A clinical contribution from 9 cases]. *Arch Kinderheilkd* 175:242-62
138. Eberle F, Hartenfels S, Pralle H, Kabisch A. 1984. Adult hypophosphatasia without apparent skeletal disease: "odontohypophosphatasia" in four heterozygote members of a family. *Klin Wochenschr* 62:371-6
139. Haliloglu B, Guran T, Atay Z, Abali S, Mornet E, et al. 2013. Infantile loss of teeth: odontohypophosphatasia or childhood hypophosphatasia. *Eur J Pediatr* 172:851-3
140. Russell K, Yacobi R. 1993. Generalized odontodysplasia concomitant with mild hypophosphatasia--a case report. *J Can Dent Assoc* 59:187-90
141. Coe JD, Murphy WA, Whyte MP. 1986. Management of femoral fractures and pseudofractures in adult hypophosphatasia. *J Bone Joint Surg Am* 68:981-90
142. Demirbilek H, Alanay Y, Alikasifoglu A, Topcu M, Mornet E, et al. 2012. Hypophosphatasia presenting with pyridoxine-responsive seizures, hypercalcemia, and pseudotumor cerebri: case report. *J Clin Res Pediatr Endocrinol* 4:34-8
143. Kapoor KG. 2009. Comment on "Hypophosphatasia associated with pseudotumor cerebri and respiratory insufficiency". *Indian J Pediatr* 76:761; author reply
144. Teber S, Sezer T, Kafali M, Kendirli T, Siklar Z, et al. 2008. Hypophosphatasia associated with pseudotumor cerebri and respiratory insufficiency. *Indian J Pediatr* 75:186-8
145. Harraway JR, Sheard JM, Soule SJ, Florkowski CM, George PM. 2005. Autosomal recessive adult-onset hypophosphatasia. *Pathology* 37:563-5
146. Moore CA, Curry CJ, Henthorn PS, Smith JA, Smith JC, et al. 1999. Mild autosomal dominant hypophosphatasia: in utero presentation in two families. *Am J Med Genet* 86:410-5
147. Moore CA, Ward JC, Rivas ML, Magill HL, Whyte MP. 1990. Infantile hypophosphatasia: autosomal recessive transmission to two related sibships. *Am J Med Genet* 36:15-22
148. Stevenson DA, Carey JC, Coburn SP, Ericson KL, Byrne JL, et al. 2008. Autosomal recessive hypophosphatasia manifesting in utero with long bone deformity but showing spontaneous postnatal improvement. *J Clin Endocrinol Metab* 93:3443-8
149. Sato S, Matsuo N. 1997. Genetic analysis of hypophosphatasia. *Acta Paediatr Jpn* 39:528-32

150. Simon-Bouy B, Taillandier A, Fauvert D, Brun-Heath I, Serre JL, et al. 2008. Hypophosphatasia: molecular testing of 19 prenatal cases and discussion about genetic counseling. *Prenat Diagn* 28:993-8
151. Watanabe A, Yamamasu S, Shinagawa T, Suzuki Y, Miyake H, et al. 2007. Prenatal genetic diagnosis of severe perinatal (lethal) hypophosphatasia. *J Nippon Med Sch* 74:65-9
152. Ajacques JC. 1976. [Hypophosphatasia with periodontal manifestations]. *Pedod Fr* 10:49-57
153. Watanabe H, Goseki-Sone M, Iimura T, Oida S, Orimo H, Ishikawa I. 1999. Molecular diagnosis of hypophosphatasia with severe periodontitis. *J Periodontol* 70:688-91
154. Whyte MP. 2016. Hypophosphatasia - aetiology, nosology, pathogenesis, diagnosis and treatment. *Nat Rev Endocrinol* 12:233-46
155. Wladimiroff JW, Niermeijer MF, Van der Harten JJ, Stewart PA, Versteegh FG, et al. 1985. Early prenatal diagnosis of congenital hypophosphatasia: case report. *Prenat Diagn* 5:47-52
156. Wohlschlager H, Salomonowitz E, Cejna M, Sauer R. 1999. [Hypophosphatasia congenitalis: value of radiological diagnosis]. *Rontgenpraxis* 52:224-6
157. Mohn A, De Leonibus C, de Giorgis T, Mornet E, Chiarelli F. 2011. Hypophosphatasia in a child with widened anterior fontanelle: lessons learned from late diagnosis and incorrect treatment. *Acta Paediatr* 100:e43-6
158. Mornet E, Muller F, Ngo S, Taillandier A, Simon-Bouy B, et al. 1999. Correlation of alkaline phosphatase (ALP) determination and analysis of the tissue non-specific ALP gene in prenatal diagnosis of severe hypophosphatasia. *Prenat Diagn* 19:755-7
159. Muhlbach R, Lindenhayn K, Kruger E. 1970. [Clinical aspects and biochemical diagnosis of hypophosphatasia]. *Beitr Orthop Traumatol* 17:74-6
160. Muller F, Oury JF, Bussiere P, Lewin F, Boue J. 1991. First-trimester diagnosis of hypophosphatasia. Importance of gestational age and purity of CV samples. *Prenat Diagn* 11:725-30
161. Mumm S, Jones J, Finnegan P, Whyte MP. 2001. Hypophosphatasia: molecular diagnosis of Rathbun's original case. *J Bone Miner Res* 16:1724-7
162. Nolte K, Schiebe G. 1976. [Radiological diagnosis (and differential diagnosis) of lethal type (congenital type) of hypophosphatasia (author's transl)]. *Radiologe* 16:283-5
163. Orimo H, Nakajima E, Hayashi Z, Kijima K, Watanabe A, et al. 1996. First-trimester prenatal molecular diagnosis of infantile hypophosphatasia in a Japanese family. *Prenat Diagn* 16:559-63
164. Rattenbury JM, Blau K, Sandler M, Pryse-Davies J, Clark P, Pooley SS. 1976. Letter: Prenatal diagnosis of hypophosphatasia. *Lancet* 1:306
165. Rudd NL, Miskin M, Hoar DI, Benzie R, Doran TA. 1976. Prenatal diagnosis of hypophosphatasia. *N Engl J Med* 295:146-8
166. Tongsong T, Sirichotiyakul S, Siriengkul S. 1995. Prenatal diagnosis of congenital hypophosphatasia. *J Clin Ultrasound* 23:52-5
167. Vanneuville FJ, Leroy JG. 1979. Hypophosphatasia: biochemical diagnosis in post-mortem organs, plasma and diploid skin fibroblasts [proceedings]. *Arch Int Physiol Biochim* 87:854-5
168. DeLange M, Rouse GA. 1990. Prenatal diagnosis of hypophosphatasia. *J Ultrasound Med* 9:115-7
169. Gehring B, Mornet E, Plath H, Hansmann M, Bartmann P, Brenner RE. 1999. Perinatal hypophosphatasia: diagnosis and detection of heterozygote carriers within the family. *Clin Genet* 56:313-7

170. Gortzak-Uzan L, Sheiner E, Gohar J. 2000. Prenatal diagnosis of congenital hypophosphatasia in a consanguineous Bedouin couple. A case report. *J Reprod Med* 45:588-90
171. Greenberg CR, Evans JA, McKendry-Smith S, Redekopp S, Haworth JC, et al. 1990. Infantile hypophosphatasia: localization within chromosome region 1p36.1-34 and prenatal diagnosis using linked DNA markers. *Am J Hum Genet* 46:286-92
172. Guguloth A, Aswani Y, Anandpara KM. 2016. Prenatal diagnosis of hypophosphatasia congenita using ultrasonography. *Ultrasonography* 35:83-6
173. Hoar DI, Rudd NL. 1976. Letter: Prenatal diagnosis of hypophosphatasia. *Lancet* 1:1194
174. Harris H, Robson EB. 1959. A genetical study of ethanolamine phosphate excretion in hypophosphatasia. *Ann Hum Genet* 23:421-41
175. Mornet E. 2015. Molecular Genetics of Hypophosphatasia and Phenotype-Genotype Correlations. *Subcell Biochem* 76:25-43
176. Camacho PM, Painter S, Kadanoff R. 2008. Treatment of adult hypophosphatasia with teriparatide. *Endocr Pract* 14:204-8
177. Cole DE. 2008. Hypophosphatasia update: recent advances in diagnosis and treatment. *Clin Genet* 73:232-5
178. Nakamura-Takahashi A, Miyake K, Watanabe A, Hirai Y, Iijima O, et al. 2016. Treatment of hypophosphatasia by muscle-directed expression of bone-targeted alkaline phosphatase via self-complementary AAV8 vector. *Mol Ther Methods Clin*
179. Chodirker BN, Evans JA, Lewis M, Coghlan G, Belcher E, et al. 1987. Infantile hypophosphatasia--linkage with the RH locus. *Genomics* 1:280-2
180. Chodirker BN, Evans JA, Seargeant LE, Cheang MS, Greenberg CR. 1990. Hyperphosphatemia in infantile hypophosphatasia: implications for carrier diagnosis and screening. *Am J Hum Genet* 46:280-5
181. Chodirker BN, Roy D, Greenberg CR, Cheang M, Evans JA, Reed MH. 1991. Computer assisted analysis of hand radiographs in infantile hypophosphatasia carriers. *Pediatr Radiol* 21:216-9
182. Chou YY, Ou HY, Wu TJ, Tsai SC, Lin SJ, Yu EH. 2005. Hypophosphatasia in Taiwan: report of two cases. *Kaohsiung J Med Sci* 21:134-7
183. Nomura Y, Mori W. 1968. Hypophosphatasia. Histopathology of human temporal bones. *J Laryngol Otol* 82:1129-36
184. Nunes ML, Mugnol F, Bica I, Fiori RM. 2002. Pyridoxine-dependent seizures associated with hypophosphatasia in a newborn. *J Child Neurol* 17:222-4
185. Nur BG, Celmeli G, Manguoglu E, Soyucen E, Bircan I, Mihci E. 2016. Pyridoxine Responsive Seizures in Infantile Hypophosphatasia and a Novel Homozygous Mutation in ALPL gene. *J Clin Res Pediatr Endocrinol*
186. Oda K. 2008. [Molecular basis of hypophosphatasia]. *Seikagaku* 80:1112-5
187. Fedde KN, Whyte MP. 1990. Alkaline phosphatase (tissue-nonspecific isoenzyme) is a phosphoethanolamine and pyridoxal-5'-phosphate ectophosphatase: normal and hypophosphatasia fibroblast study. *Am J Hum Genet* 47:767-75
188. Fukushi M, Amizuka N, Hoshi K, Ozawa H, Kumagai H, et al. 1998. Intracellular retention and degradation of tissue-nonspecific alkaline phosphatase with a Gly317-->Asp substitution associated with lethal hypophosphatasia. *Biochem Biophys Res Commun* 246:613-8
189. Fukushi-Irie M, Ito M, Amaya Y, Amizuka N, Ozawa H, et al. 2000. Possible interference between tissue-non-specific alkaline phosphatase with an Arg54-->Cys substitution and a counterpart with an Asp277-->Ala substitution found in a

- compound heterozygote associated with severe hypophosphatasia. *Biochem J* 348 Pt 3:633-42
190. Justus J, Rupprecht E, Recknagel R, Justus B. 1974. [Morphological and clinical contribution to lethal congenital hypophosphatasia]. *Kinderarztl Prax* 42:148-55
 191. Nakamura-Utsunomiya A, Okada S, Hara K, Miyagawa S, Takeda K, et al. 2010. Clinical characteristics of perinatal lethal hypophosphatasia: a report of 6 cases. *Clin Pediatr Endocrinol* 19:7-13
 192. Ozono K, Michigami T. 2011. Hypophosphatasia now draws more attention of both clinicians and researchers: a commentary on Prevalence of c. 1559delT in ALPL, a common mutation resulting in the perinatal (lethal) form of hypophosphatasias in Japanese and effects of the mutation on heterozygous carriers. *J Hum Genet* 56:174-6
 193. Paolaggi JB, Job C, Durigon M, Alterescu R, Auquier L. 1978. [Hypophosphatasia in an adult, with late clinical manifestations (author's transl)]. *Nouv Presse Med* 7:4285-9
 194. Tereee TM, Klein LR. 1968. Hypophosphatasia: clinical and metabolic studies. *J Pediatr* 72:41-50
 195. Vrinda Saraff, MRCPCH, Vidya K. Narayanan, MRCPCH, Alexander J. Lawson, PhD, Nicholas J. Shaw, Mary Anne Preece, and Wolfgang Hogler: A Diagnostic Algorithm for Children with Low Alkaline Phosphatase Activities.

EK 1-Etik Kurul Onayı



Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi
Klinik Araştırmalar Etik Kurulu

BAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	09.2015.330	70737436-050.06.04-
	PROJE ADI	Biyokimya laboratuvarında Alkalin Fosfataz düşüklüğü tespit edilen hastaların Hipofosfatazyaya açısından incelenmesi	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI/ADI	Prof. Dr. Serap TURAN	

KARAR BİLGİLERİ	Tarih : 04 / 12 / 2015
Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gereke, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığı için Kurulumuzca onaylanmasına oy birliği ile karar verilmiştir. Onay sonrasında yapılacak her türlü proje değişiklikleri (katılımlar, başlık vb.) veya protokol değişikliklerinin Etik Kurula bildirilerek proje onayının yenilenmesi gerekmektedir.	

ÜYELER						
Unvanı / Adı / Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu / EK Üyeligi	Onaylanan Proje ile İlişkisi		Toplantıya katılım	İmza
Prof.Dr. Haner DİRESKENELİ	Romatoloji	M.Ü Tıp Fakültesi/ Başkan	Var	Yok	<input type="checkbox"/> Evet <input checked="" type="checkbox"/> Hayır	
Prof.Dr. Tülin ERGUN	Dermatoloji	M.Ü Tıp Fakültesi/Başkan Yrd.	Var	Yok	<input type="checkbox"/> Evet <input checked="" type="checkbox"/> Hayır	
Prof.Dr. Handan KAYA	Patoloji	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	<input type="checkbox"/> Evet <input checked="" type="checkbox"/> Hayır	
Prof.Dr. M.Bahadır GÜLLÜOĞLU	Genel Cerrahi	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	<input type="checkbox"/> Evet <input checked="" type="checkbox"/> Hayır	
Prof.Dr. Atilla KARAALP	Farmakoloji	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	<input type="checkbox"/> Evet <input checked="" type="checkbox"/> Hayır	
Prof.Dr. Semra SARDAŞ	Eczacı	M.Ü Eczacılık Fak./Üye	Var	Yok	<input type="checkbox"/> Evet <input checked="" type="checkbox"/> Hayır	
Prof.Dr. Başak DOĞAN	Diş Hekimi	M.Ü Diş Hekimliği Fak./Üye	Var	Yok	<input type="checkbox"/> Evet <input checked="" type="checkbox"/> Hayır	
Doç.Dr. Elif KARAKOÇ AYDINER	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	<input type="checkbox"/> Evet <input checked="" type="checkbox"/> Hayır	
Doç.Dr. Beste Melek ATASOY	Radyasyon Onkolojisi	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	<input type="checkbox"/> Evet <input checked="" type="checkbox"/> Hayır	
Doç.Dr. Meltem KORAY	Diş Hekimi	İstanbul Üniv. Diş Hekimliği Fak./Üye	Var	Yok	<input type="checkbox"/> Evet <input checked="" type="checkbox"/> Hayır	
Doç.Dr. Tolga GÜVEN	Tıp Tarihi ve Etik	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	<input type="checkbox"/> Evet <input checked="" type="checkbox"/> Hayır	
Doç. Dr. Gürkan SERT	Hukukçu	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	<input type="checkbox"/> Evet <input checked="" type="checkbox"/> Hayır	
Yrd.Doç.Dr: Figen DEMİR	Halk Sağlığı	Acıbadem Üniv. Tıp Fak.	Var	Yok	<input type="checkbox"/> Evet <input checked="" type="checkbox"/> Hayır	
Yrd.Doç.Dr. Pinar Mega TİBER	Biyofizik	M.Ü Tıp Fakültesi/Üye	Var	Yok	<input type="checkbox"/> Evet <input checked="" type="checkbox"/> Hayır	
Av.Ümit ERDEM	Sağlık Mensubu olmayan kişi	Serbest	Var	Yok	<input type="checkbox"/> Evet <input checked="" type="checkbox"/> Hayır	