



**T.C.  
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ**

**ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**PROF. DR. KAAN KAVAKLI**

**ALKALEN FOSFATAZ DÜZEYİ DÜŞÜK OLAN VE KLİNİK OLARAK  
HIPOFOSFATAZYA DÜŞÜNÜLEN HASTALARDA ALKALEN  
FOSFATAZ GENİ DİZİ ANALİZİ İLE MOLEKÜLER TANININ  
ARAŞTIRILMASI**

**UZMANLIK TEZİ**

**DR. MEHMET BİLAL ARACI**

**İZMİR – 2018**

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Çocuk hekimi olma yolculuğumda, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşarak eğitimime katkıda bulunan, kendimi bu büyük ailenin bir parçası gibi hissetmemi sağlayan başta Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. Kaan KAVAKLI olmak üzere tüm saygıdeğer hocalarıma ve uzmanlarıma,

Birlikte çalışma fırsatı bulduğum için kendimi şanslı hissettiğim saygıdeğer tez danışmanım, sayın hocam Prof. Dr. Ferda ÖZKINAY'a,

Takıldığım her noktada yardımlarını esirgemeyen sayın Doç. Dr. Tahir ATİK ve Dr. Esra IŞIK'a, tez boyunca bıkmadan yardımına koşan sevgili Dr. Bilçaç AKGÜN'e,

Tezimin laboratuvar çalışmalarının yapıldığı Tıbbi Genetik laboratuvarında emek veren tüm çalışanlara,

Hasta seçimimde yardımcı olan Biyokimya Bilim Dalı Öğretim Üyeleri'nden değerli Prof. Dr. Dilek ÖZMEN'e, Doç.Dr. Burcu BARUTÇUOĞLU'na ve Doç. Dr. Güneş BAŞOL'a,

Asistanlık süreci boyunca birlikte çalıştığım büyük bir aile olarak gördüğüm tüm asistan arkadaşlarıma,

Zorlu günlerimde yanımda olan ve her zaman yanımda olacağını bildiğim, bana enerji ve ümit aşıl原因, Dr. Gülsenem SARI'ya,

Dört yıllık asistanlık hayatımda hastaneye girdiğim günden itibaren çok güzel vakitler geçirdiğim, 'iyi ki varsınız' dediğim eş kıdemlerime,

Bu süreçte aramızda uzak mesafeler olsa da beni her zaman düşündüklerini bildiğim, hissettiğim, hayatım boyunca sevgilerini benden esirgemeyen, canım annem Aygül ARACI', canım babam Hüseyin ARACI, canım kardeşlerim Kamile ÖKTEN ve Pelin DÖVME'ye,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Mehmet Bilal ARACI

ARALIK 2018, İZMİR

## ÖZET

**AMAÇ:** Bu çalışmada, serum alkalin fosfataz (ALP) değeri düşük olan ve klinik olarak hipofosfatazya düşünülen olgularda moleküler tanının araştırılması amaçlanmıştır.

**GEREÇ VE YÖNTEM:** Ege Üniversitesi Hastanesi'nde Ocak 2104 – Eylül 2018 yılları arasında, serum alkalin fosfataz seviyeleri 40 U/L ve altında olan, 0-20 yaş arasındaki olgular kaydedildi. Bu olguların hastanemizin elektronik hasta dosyasında kayıtlı tüm ALP değerlerine bakıldı ve hastane kayıtları retrospektif olarak incelendi. Daha önceki tetkiklerinde ALP değerleri normal ve yüksek olan hastalar dışlandı. Kayıtlar değerlendirildiğinde hipofosfatazya dışında ALP düşüklüğüne neden olabilecek klinik tablosu, ilaç kullanımı gibi öyküsü olan olgular çalışma listesinden çıkarıldı. Bu kriterlere göre dışlandıktan sonrası 273 kişi listeye alındı. İkinci kez bu seçilen olgular değerlendirildi. Bu değerlendirme sonrası 147 olgu çalışma listesinden çıkarıldı. Geriye kalan 126 olgu, hastane sistemimizdeki kayıtlı telefon numaraları ile arandı. ALP düşüklüğüne neden olabilecek nedenler detaylı olarak anlatıldı ve kontrol muayeneye çağrıldı. Çalışmaya 30 hasta alındı. Olguların kontrol bakılarında detaylı anamnezleri not edildi, soy geçmişleri incelendi, fizik bakıları yapıldı. Kontrolde serum ALP değerleri, serum kalsiyum, fosfor, idrar kalsiyum/kreatinin tetkükleri çalışıldı. Hipofosfatazya kesin tanısı açısından ALPL geni dizi analizi incelendi.

**BULGULAR:** Çalışmaya alınan olan 30 olgunun ortanca yaş 20.35'ti (minimum:6.1, maksimum 22.5). Çalışma grubundaki hastaların 3'ü erkek, 27'si kızdı. Beş olgunun dizi analizinde 4 olguda heterozigot patojenik özellikte mutasyon ve 1 olguda tek allelinde delesyon saptandı. Bu mutasyonlar; *heterozigot missense c.657G>T (p.Met219Ile) mutasyonu, heterozigot c.648+1G>A mutasyonu, heterozigot missense c.542C>T (p.Ser181Leu) mutasyonu, heterozigot c.862+1G>C mutasyonu*ydü. Mutasyon/delesyon saptanan grup ile dizi analizi normal olan grup anamnez, klinik özellikler ve laboratuvar bulguları açısından karşılaştırıldı. Kontrolde bakılan ALP düzeyleri, mutasyon/delesyon saptanan grupta daha düşüktü. Kontrol ALP değerleri mutasyon/delesyon grubunda 30 U/L (minimum:23U/L; maksimum 45U/L), dizi analizi normal sonuçlanan grupta ise 41U/L'ydi (minimum:26U/L; maksimum:194U/L). Mutasyon/delesyon saptananlarda ALP ortalamasının ortanca değeri 27 U/L (minimum 22.5 U/L; maksimum:39 U/L), diğer grupta ise 37.6 U/L'ydi (minimum:22,5 U/L; maksimum:113,5 U/L). Her iki grubun ALP düzeyleri ve ALP ortalamaları arasındaki fark anlamlıydı(p:0.036;p.0.028). ACMG (American College of Medicine Genetics and Genomics) 2015 kriterlerine göre patojenik mutasyon saptadığımız olguların birinde infantil dönemde

travmaya bağlı sağ kolda kırık öyküsü mevcuttu. Diğer olgumuzda (olgu 2) göğüs deformitesinin varlığı göze çarpmaktaydı. Olgu 3'te ise çocukluk çağı döneminde başlamış olan, fizik bakısında belirgin skolyozu farkedildi. Bu hastamızın kemik dansitometrisinde kemik yoğunluğu azalmıştı. Olgu 5'te klinik bulgu olarak hipofosfatazya açısından anlamlı olabilecek, infantil dönemde ortaya çıkan nöbetler, fizik bakısında boy kısalığı, genu valgus, kemik yoğunluğunda belirgin azalma mevcuttu. Delesyon saptanan olgumuzda çocukluk çağında 2 kez travmaya bağlı fraktür geliştiği öğrenildi. Fizik bakısında ise boy kısalığı dışında patolojik bulgu yoktu.

**SONUÇ:** Çalışmamızda dizi analizinde mutasyon ve delesyon saptadığımız olgularda ALP değerlerinin dizi analizi normal olarak sonuçlanan olgulara kıyasla daha düşük olduğu görölmektedir. ALP sınır değerini daha düşük belirlememiz, diğer çalışmalara göre daha yüksek sayıda dizi analizinde patojenik değişimleri olan olguları yakalamamızı sağlamıştır. Hipofosfatazya ağır formundan hafif formuna kadar çeşitli klinik bulgu verebilir. İskelet sistemi bulguları (kemik deformiteleri, boy kısalığı, sık fraktürler vb...) başta olmak üzere diğer bulguları ile birlikte ALP düşüklüğü olan olgularda hipofosfatazya olabileceği aklımızdan çıkarılmamalıdır.

**ANAHTAR KELİMELELER:** Alkalen fosfataz; hipofosfatazya; ALPL geni

## SUMMARY

**OBJECTIVE:** In this study, we aimed to investigate the molecular diagnosis of patients with low alkaline phosphatase levels and who were thought to have hypophosphatasia clinically.

**MATERIAL AND METHODS:** During a period from January 2104 to October 2018 at Ege University Hospital, patients with serum alkaline phosphatase levels less than 40 U / L and aged 0-20 years were recorded.. We searched all ALP values recorded in the electronic patient file of our hospital and hospital records. Patients who had normal and high ALP values with previous tests were excluded. When the records were evaluated, cases with a history of clinical situation and drug use, which could lead to decrease ALP levels other than hypophosphatasia, were excluded from the study list. Following this exclusion, 273 people were included in the study. The selected cases were evaluated for the second time. After this evaluation, 147 cases were excluded. The remaining 126 cases were called with the registered phone numbers in our hospital system. The causes of low ALP levels were explained in details and they were called for control examination. Thirty patients were included in the study. Detailed anamnesis of the cases, the family histories were noted, and we performed their physical examinations. The family tree was drawn. Serum ALP levels were re-studied, and serum calcium, phosphorus, urine calcium / creatinine levels were examined. For definite diagnosis of hypophosphatasia, we performed ALPL gene sequence analysis from the blood samples.

**RESULTS:** The median age of the 30 patients included in the study was 20.35 (minimum: 6.1, maximum 22.5). In the study group, 3 patients were male and 27 were female. In five patients, heterozygous pathogenic mutations were detected in 4 cases and the single allele deletion was detected in one case. These mutations were the heterozygous missense c.657G>T (p.Met219Ile) mutation, heterozygous c.648 + 1G> A mutation, heterozygous missense c.542C> T (p.Ser181Leu) mutation, heterozygous c.862 + 1G> C mutation. The group with mutation / deletion group and the normal group analysis were compared with anamnesis, clinical features and laboratory findings. Control ALP levels and mean ALP levels were lower in the mutation / deletion group. Control ALP values were 30 U / L (minimum: 23U / L; maximum 45 U / L) in the mutation / deletion group, and 41U / L (minimum: 26U / L; maximum: 194U / L) in the group with normal sequence analysis. There was a significant difference between ALP levels of both groups (p: 0.036). When the ALP mean values of the

cases were compared, the difference between the two groups was also significant (p: 0.028). The median value of ALP was 27 U / L (minimum 22.5 U / L; maximum: 39 U / L) in the mutation / deletion group and 37.6 U / L (minimum: 22.5 U / L; maximum: 113,5 U / L) in the other group. In one of the cases with pathogenic mutation detected according to ACMG 2015 criteria, we found right arm fracture due to trauma in infantile period. In our other case (case 2), the presence of chest deformity was prominent. In case 3, significant scoliosis was detected in childhood. In this patient, Z score was decreased in the bone densitometry. In case 5, there were seizures occurring in infantile period, which could be significant for hypophosphatasia and in the physical examination there were short stature, genu valgus, a significant decrease of bone density. In our case, we learned the history fracture due to trauma for 2 times in childhood. In the physical examination we noted short stature.

**CONCLUSION:** In our study, compared with normal sequence analysed group, mutation \ deletion detected group had lower ALP values. Compared to other studies ;our lower ALP limit value helped us to detect more cases with pathogenic changes in sequence analyse. Hypophosphatase may present a variety of clinical signs ranging from severe to mild. It should be kept in mind that hypophosphatasia may be present in cases with skeletal system findings (bone deformities, short stature, frequent fractures, etc.) and other symptoms as well as low ALP.

**KEYWORDS:** Alkaline phosphatase; hypophosphatasia; ALPL gene

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR .....	ii
ÖZET .....	iii
SUMMARY .....	v
TABLO LİSTESİ.....	ix
ŞEKİL LİSTESİ .....	x
KISALTMALAR.....	xi
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER.....</b>	<b>3</b>
2.1. Hipofosfatazının Tanımı .....	3
2.2. Prevalans ve Epidemiyoloji.....	3
2.3. Etiyoloji ve Patofizyoloji .....	4
2.3.1. Alkalen Fosfataz .....	4
2.3.2. Patofizyoloji .....	5
2.4. Klinik Prezantasyon .....	8
2.4.1. Odontohipofosfatazya.....	10
2.4.1. Erişkin Hipofosfatazya .....	10
2.4.3. Çocukluk Çağı Hipofosfatazyası.....	11
2.4.4. İnfantil Hipofosfatazya.....	12
2.4.5. Perinatal Hipofosfatazya .....	14
2.4.6. Psödohipofosfatazya.....	15
2.4.7. Benign Prenatal Hipofosfatazya .....	15
2.5. ALPL Geni ve Mutasyonlar .....	16
2.5.1 ALPL geni .....	16
2.5.1 ALPL gen mutasyonları .....	16
2.6.Tanı ve Ayırıcı Tanı.....	18
2.7.Tedavi .....	21
2.7.1 Osteoporoz ve kırıklar .....	21
2.7.2 Nörolojik sorunlar .....	22
2.7.1 Enzim ve replasman tedavisi .....	22

<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM .....</b>	<b>23</b>
3.1. Hasta Seçimi.....	23
3.2. Hasta değerlendirilmesi.....	24
3.3. ALPL geni dizi analizi .....	24
3.4. Dizi Analizi Çalışması.....	25
3.4.1. PCR Reaksiyon Karışımı.....	25
3.4.2. Agaroz Jel Elektroforezi.....	25
3.4.3. PCR Ürünlerinin 1. Saflaştırılma İşlemi .....	28
3.4.4. Nested PCR ile amplifikasyon .....	28
3.4.5. İkinci Saflaştırma İşlemi (Zymo DNA Sequencing Clean-Up Kit) .	29
3.4.6. Örneklerin Cihaza Yükleme Aşaması .....	30
3.4.7. Sonuçların Değerlendirilmesi .....	30
<b>4. BULGULAR .....</b>	<b>30</b>
4.1. Olgu 1 .....	35
4.2. Olgu 2 .....	39
4.2. Olgu 3 .....	43
4.2. Olgu 4 .....	46
4.2. Olgu 4 .....	48
<b>5. TARTIŞMA.....</b>	<b>52</b>
<b>6. SONUÇLAR.....</b>	<b>56</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>70</b>
<b>EKLER .....</b>	<b>71</b>
Ek 1: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu .....	71
Ek 2: Olgu Rapor Formu .....	75
EK 3: Etik Kurul Onayı .....	82
Ek 4: Özgeçmiş Formu .....	84
Ek 4: Tez Orjinallik Raporu.....	85



## TABLO LİSTESİ

<b>Tablo 1.</b>	Hipofosfatazının klinik formları ve özellikleri .....	8
<b>Tablo 2.</b>	Hipofosfatazemi nedenleri .....	19
<b>Tablo 3.</b>	Hipofosfatazının ayırıcı tanısı .....	19
<b>Tablo 4.</b>	ALPL geninin ekzonlarını ve ekzon-intron bileşiklerini çoğaltmada kullanılan primerler .....	27
<b>Tablo 5.</b>	ALPL dizi analizinde mutasyon/delesyon saptanan ve dizi analizi normal sonuçlanan olguların bulguları .....	34
<b>Tablo 6.</b>	Olgu 1'nin aile ağacı .....	38
<b>Tablo 7.</b>	Olgu 2'nin aile ağacı .....	42
<b>Tablo 8.</b>	Olgu 3'ün aile ağacı .....	45
<b>Tablo 9.</b>	Olgu 4'ün aile ağacı .....	48
<b>Tablo 10.</b>	Olgu 5'in aile ağacı .....	51



## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	ALP'nin 3D yapısı. ....	17
Şekil 2.	Kemik mineralizasyonunun başlangıcı ve yayılımı .....	19
Şekil 3.	Erişkin hipofosfatazyada görülen psödofraktür .....	
Şekil 4.	Çocukluk çağı hipofosfatazyasındaki grafi bulguları.....	25
Şekil 5.	İnfantil hipofosfatazyadaki grafi bulguları.....	26
Şekil 6.	İnfantil hipofosfatazya ait görüntüler.....	27
Şekil 7.	Perinatal hipofosfatazyalı olgu.....	
Şekil 8.	ALPL geninin lokasyonu .....	29
Şekil 9.	Farklı bölgelerde taşıyıcı ve hasta formlarının sıklıkları ve en sık görülen mutasyonlar .....	31
Şekil 10.	Agaroz jel görüntüsü .....	26
Şekil 11.	Heterozigot c.657G>T (p.Met218Ile) mutasyonu.....	36
Şekil 12.	Olgu 1'e ait grafi görüntüleri.....	37
Şekil 13.	Olgu 1'in anne ve baba DNA örneklerinin segregasyon analizi sonucu .....	37
Şekil 14.	Heterozigot c.648G>A ve ekzon 11'de yer alan heterozigot N400S mutasyonlu olgunun görüntüleri .....	42
Şekil 15.	Heterozigot c.648+1G>A mutasyonu .....	43
Şekil 16.	Olgu 2'nin grafi görüntüleri .....	43
Şekil 17.	Olgu 2'nin anne ve baba DNA örneklerinin segregasyon analizi sonucu .....	45
Şekil 18.	Olgu 3'nin grafi görüntüleri .....	46
Şekil 19.	Missense c.542C>T (p.Ser181Ile) mutasyonu .....	46
Şekil 20.	Olgu 3'nin anne ve baba DNA örneklerinin segregasyon analizi sonucu .....	48
Şekil 21.	Olgu 4'nin grafi görüntüleri .....	49
Şekil 22.	Heterozigot c.862+1G>C mutasyonu .....	49
Şekil 23.	Olgu 5'nin grafi görüntüleri .....	50
Şekil 23.	Olgu 3'nin anne ve baba DNA örneklerinin segregasyon analizi sonucu .....	51

## **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

**TNSALP**: Doku non-spesifik Alkalen Fosfataz

**PEA** : Fosfoetanolamin

**PPi** : İnorganik Pirofosfat

**Pi**: İnorganik Fosfat

**PLP**: Piridoksal-5 fosfat

**PHOSPHO1**: Fosfataz Orphan-1

**NPP1**: Nukleozid Pirofosfohidrolaz -1

**HPP** : Hipofosfatazya

**GPI**: GlicozidilFosfatidilİnozitol

**HP**: Hidroksiapatit

**MV**: Matriks Vezikülü

**ECM**: Ekstraselüler Matriks

**OPN**: Osteopontin

## 1.GİRİŞ

Hipofosfatazya (HPP) nadir görülen bir hastalıktır. İlk kez 1948 yılında, Kanada'da Dr. John C. Rathbun tarafından serum alkalin fosfataz düşüklüğü, rickets bulguları, nöbet gibi bulguları olan 2 aylık bir hastada tanımlanmıştır. HPP, intrauterin dönemde ağır kemik deformiteleri, kemik fraktürleri ve ölümlerden erişkinlerde dental hipoplaziye kadar değişen çeşitli klinik bulgular ile karşımıza çıkmaktadır. Ağır hipofosfatazya kliniğine sahip hastalar 3.3/1.000.000 canlı doğumda görülmektedir. Orta ağırlıktaki formların ise insidansının 1/6000-7000 olduğu düşünülmektedir. İntrauterin dönemde ultrasonda asimetrik kemik anomalileri ve polihidroamniyoz, dwarfizm, dismorfik kemikler, hipoplastik akciğer, mineralizasyon defektleri, rickets, hipotoni, nöbet, kas gücü kaybı, süt dişlerinin ve kalıcı dişlerin erken kaybı, nefrolitiazis, böbrek yetmezliği gibi geniş skalada bulgu vermektedir. Hipofosfatazya 1.Kromozomda lokalize olan *doku spesifik olmayan alkalin fosfatazı (TNSALP)* kodlayan *ALPL* genindeki mutasyonlar ile ilişkilidir. Bu gende 370 kadar mutasyon ( missens, nonsens, çerçeve kayması mutasyonu, insersiyon) tanımlanmıştır. TNSALP temelde diş, kemik, karaciğer, böbrek ve beyinde salgılanmaktadır. Çocuklarda, özellikle infantlarda ve adolesanlarda, serumda ölçülen TNSALP düzeylerinde kemiğe ait izoformlar daha baskındır, yetişkinlerde ise karaciğer ve kemiğe ait izoformlar yaklaşık olarak eşit miktarda serum düzeyine katkı sağlamaktadır. Kemiğe ait alkalin fosfataz ekstrasellüler matrix mineralizasyonunda görev almaktadır. TNSALP enziminin üç sübstratı vardır. Bunlar; inorganik pirofosfat(PPi), piridoksal-5-fosfat(PLP) ve fosfoetanolamin(PEA)'dir. ALP mineralizasyonun güçlü inhibitörü olan PPi'yi parçalayarak, ekstrasellüler matriks mineralizasyonunun başlatılmasında rol oynar. Ayrıca TNSALP, osteopontini defosforile hale getirerek, osteopontinin mineralizasyonu inhibe edici etkisini azaltır. PLP ise B6 vitaminin aktif formu olup önemli enzimlerin kofaktörüdür, nörotransmitter metabolizmasında ve transaminasyonda etkilidir. TNSALP, PLP'yi pridoksala hidrolize ederek etkisini gösterir. TNSALP eksikliğinde PLP metaboliti artmakta ve bu bazı hipofosfatazyalı olgularda epileptik nöbetlere neden olmaktadır.

Hipofosfatazya her yaşta ve çok çeşitli bulgularla karşımıza çıkmaktadır. Ağır formların çoğu intrauterin dönem, yenidoğan ve infantil dönemde daha sık olarak bulgu

verirken, ileri yaşlarda orta ve hafif formları görülmektedir. Bu nedenle 1957 yılında Donald Fraser tarafından klinik olarak HPP sınıflandırıldı. İlerleyen zamanlarda bu sınıflandırma genişletildi. Perinatal-letal formu, benign perinatal/prenatal formu, infantil formu, çocukluk çağı formu, erişkin formu, odonto hipofosfatazya olarak 6 sınıfa ayrıldı. Ağır formları yaşamın ilk dönemlerinde daha sık görülür. Erişkin ve odonto hipofosfatazya ise daha hafif formu olarak bulgu verir. Hipofosfatazyalı olgularda ALP düşüklüğüne bağlı olarak hiperkalsemi, hiperfosfatemi ve ALP substratlarının ve metabolitlerin artışı mevcuttur. Serum ALP düşüklüğü hipofosfatazyalı tüm olgularda görülmektedir. ALP düşüklüğü hipofosfatazya tanısı için önemlidir fakat kesin tanı koydurmaz. Kesin tanı ALPL geninin patojenik varyasyonların saptanması ile konur. Serum ALP değeri hipofosfatazya için tarama olarak kullanılabilir.

Sarraf ve arkadaşları 2016 yılında, İngiltere’de Birmingham Çocuk Hastanesi’nde ALP düşüklüğü olan olgularda hipofosfatazyayı araştırdılar. ALP değerinin alt sınırını 100U/L olarak belirlediler. Sekiz yıllık süredeki 0-16 yaş arasındaki olguları araştırdılar. Aralıklı kontrollerde ALP düzeyleri sürekli düşük olan olguları değerlendirdiler. Diğer olgular dışlandıktan sonra geriye kalan toplam 4 olguyu hipofosfatazya açısından analiz ettiler. İkisinde ALPL geni incelemelerinde mutasyon saptandığı görüldü. Diğer bir çalışmada ise (*F.E.McKiernen ve arkadaşları*) ALP’nin sınır değerini 30 U/L olarak belirlendi ve %84 oranında ALPL geninde mutasyon saptandı.

ALP düşüklüğü hipofosfatazya açısından anlamlı bir bulgudur. Ağır HPP formları daha düşük seviyelerde ALP düzeyleri ve ağır klinik tablo ile karşımıza çıkar. Orta ve hafif formların ise tanısı atlanmakta veya tanısı geç konulmaktadır. ALP düşüklüğü ile beraber hastanın geçmiş bilgileri ve klinik bulguları birlikte değerlendirildiğinde hipofosfatazyayı atlanma olasılığını azaltacaktır.

Çalışmamızda 2014-2018 yılları arasında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Laboratuvarında tetkik edilen 0 ile 20 yaş aralığındaki tüm olguların ALP düzeyleri retrospektif olarak incelenmesi, klinik açıdan hipofosfatazya düşünülen olgularda ALP gen dizi analizi yapılarak hipofosfatazya olgularının tanınması amaçlanmıştır. Bu sayede hem ağır olguların ve/veya ailelerinin belirlenerek uygun genetik danışma verilmesi ve tedavi konusunda değerlendirilmesi, hem de hafif olguların klinik spektrumunun ortaya çıkarılarak, bu olgularda genotip- fenotip korelasyonunun araştırılmasını amaçladık.

## 2-GENEL BİLGİLER

### 2.1.Hipofosfatazya Tanımı

Hipofosfatazya(HPP) nadir görülen, esas olarak kemik ve dişleri etkileyen genetik geçişli bir hastalıktır. Geniş bir spektrumda klinik bulgu verir.

İlk olarak 1948 yılında, Kanada’da Dr. John C. Rathbun, 2 aylık iken nöbet ve rikets bulguları olan beraberinde serum ALP düşüklüğü olan hastası için ‘hipofosfatazya (HPP)’ ismini kullandı [1]. Kısa bir süre sonra HPP’nin kalıtsal olduğu ve süt dişlerinin erken kaybının asıl bulgu olduğu farkedildi [2],[3]. Daha sonraki süreçte ise ALP’nin kemik mineralizasyonda görev aldığı ve HPP’li hastalarda ALP serum düzeyinin doğuştan eksik olduğu saptandı.

Rathbun’un raporuna kadar hipofosfatazyanın genel özellikleri birçok araştırmacı tarafından tariflenmişse de Rathbun diğerlerinden farklı olarak bu sendromu hasta örnekleri üzerinden tanımladı. Rikets ve epilepsi nedeniyle kaybedilen ve kan, kemik ve diğer dokularında ALP düzeyi paradoksal düşük olan hastalarda, hipofosfatazya tanısını düşündü [1], [4], [5].

Doku spesifik olmayan alkalin fosfataz (TNSALP)’ın fizyolojik rolünün anlaşılması, hastalarda fosforlu bileşiklerin düzeylerin yükseldiğinin farkedilmesinden sonra mümkün oldu. İdrarda fosfoetanolaminin(PEA) artması, 1955 yılında, hipofosfatazyanın ikinci biyokimyasal göstergesi olarak tanımlandı. Bundan 10 yıl sonra, 1965 yılında ise idrarda ve 1971’de ise dolaşımda inorganik pirofosfatın arttığına görülmesi ile rikets ve osteomalazinin gelişme mekanizması aydınlandı. Daha sonra PLP-piridoksal 5-fosfat düzeyinin kanda yükselmesi, TNSALP’ın ektoenzim fonksiyonu ve fosfor içerikli maddelerin ekstrasellüler alanda birikme mekanizması bildirildi[6]. ALPL geninde mutasyon nedeniyle TNSALP’ın fonksiyonunu kaybettiği 1988 yılında tanımlandı ve böylece Robinson’un hipotezi kanıtlanmış oldu.

### 2.2 Prevalans ve Epidemiyoloji

HPP’nin prevalansı toplumlara göre değişkendir. Özellikle Kanada’da sık görülür, ağır formunun prevalansı 1/100.000’dir[2]. Kanada’da Mennotie bölgesinde ise bu oran daha fazladır (1/2500). Bu bölgedeki taşıyıcılık oranı 1/25 olarak bildirildi<sup>[7],[8]</sup>. Avrupa’da HPP’nin ağır formunun prevalansı 1/300.000 civarında olduğu gösterildi[9]. Japonya’da ise sıklığı 1/900.000 olduğu tahmin edilmektedir. Sıklıkla *homozigot ALPL c.1559delT mutasyonu* görülmektedir. Bu mutasyon sadece Japonlarda raporlanmıştır ve taşıyıcılığı yaklaşık 1/480’dir<sup>[6]</sup>. Afrikalı Amerikalılar’da daha nadir görülmektedir.

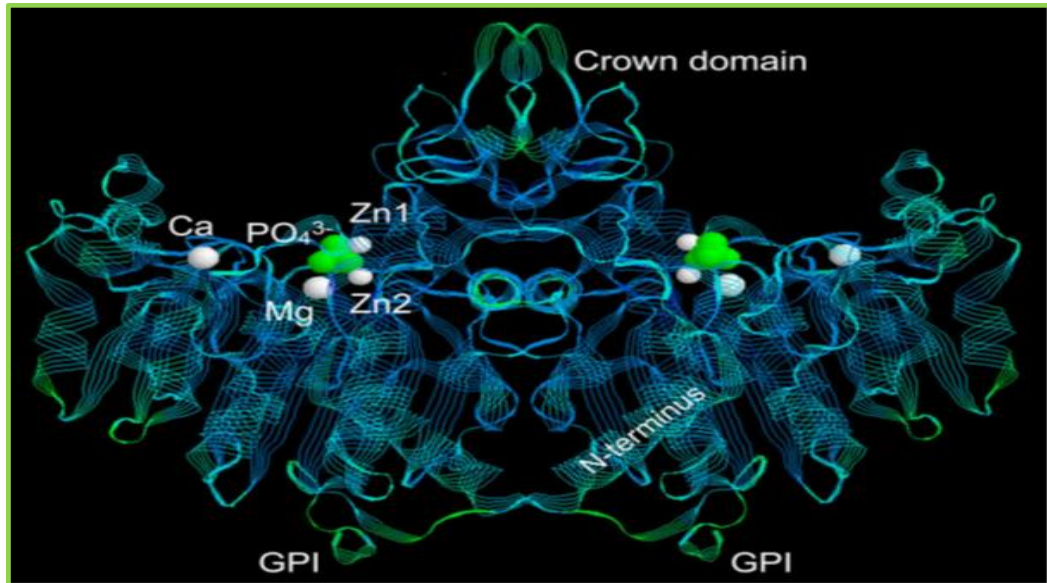
HPP'nin orta formlarının sıklığını hesaplamak, çok çeşitli bulguların olması ve tanı olmayan olguların sıklığı nedeni ile oldukça zordur. Mornet ve arkadaşları ciddi olgulardaki dominant mutasyon oranını ve heterozigot dominant mutasyon taşıyan olguları baz alarak bir genetik model oluşturdular. Bu modele göre Avrupa'da '*dominant orta form*' sıklığı 1/6370 kadardır[9].

## 2.3. Etiyoloji ve Patofizyoloji

### 2.3.1. Alkalen Fosfataz

İnsanlarda ALPL'nin yanı sıra izoenzimlerini (*ALPI*, *ALPP*, *ALPPL2*) kodlayan üç gen vardır. Bu izoenzimler (intestinal, plasenta, germ hücresi) dokularda kısıtlı ekspres edilmektedir ve bunlar HPP ile ilişkili değildir[11]. Alkalen fosfataz yapı modellemesi, kristalografik koordinatların belirlendiği plasental izoenzime (PLAY) ilişkin dizi benzerliğine dayanır[12].

Alkalen fosfataz, fizyolojik olarak homodimer şeklinde fonksiyon gösterir [13] (Resim 1). İki monomer, enzimin iki katlı kristalografik aksis nedeni ile birbiri ile etkileşir ve bu monomer-monomer arayüz güçlü hidrofobik karakter kazanmasına neden olur [14].



Resim 1. ALP'nin 3D yapısı (Ribbon)

Bu özellik stabilite ve enzimatik fonksiyon sağlar ve bu nedenle ALP genellikle zorunlu homodimerdir. Flexible yüzeyi olan '*taç bölgesi*', içerdikleri E429 ve Y367 gibi

kalıntılar sayesinde ALP inhibitörleri ile yarışmasız bağ kurar ve bu, önemli stabilizasyon sağlar [15],[16]. Ayrıca bu bölge düşük afinite ile kollajene bağlanan bölgeleri içerir. 'N-terminal bölgesi' ve 'taç bölgesi' dimerik yapının stabilizasyonunu ve allosterik özelliklerin belirlenmesini sağlar[17]. Böylece yapısal ve fonksiyonel özellikler, bazı hipomorfik ALPL allellerinin tüm dimerin kinetik özelliklerini bozarak nasıl ALP eksikliğine neden olduğunu ve HPP'nin nesilden nesile kalıtsal aktarıldığını açıklar [18].

ALP'de kataliz görevi gören üç bölge vardır, bu bölgeler; M1 ve M2 (ikisi de Zn içerir) ve M3 (Mg bulunur) [11-14]. M4 (Ca bulunur) bölgesi katalitik etki göstermez [19]. Kemik mineralizasyonu ekstrasellüler matrikste artan kalsiyum gradiyenti ile Mg ve Ca, M3'te yer değiştirerek ALP aktive olur, kalsiyumun yüksek olduğu durumda ise Ca ve Zn M1-M2 metal bölgelerinde yarışır ve ALP deaktive olur [16].

ALPL genindeki mutasyonlar ALP enzim yapısını bozulmasına neden olur, bu da hipofosfatazyaya yol açar. Ayrıca post-translasyonel modifikasyonlar önemlidir. ALP, glikosilfosfatidilinositol (GPI) ile plasma membranına bağlıdır. Fosfolipazlar tarafından GPI bağı koparılabilir, bu durum dolaşımında ve diğer doku sıvılarında TNSALP'nin bulunmasının nedeni olabilir. Ayrıca ALP, beş adet katalitik aktivitede rol oynayan bölge (N123, N231, N254, N286, N413) içerir[20]. N-bağlı glikolizasyon bölgesinin tipleri, ALP'nin farklı dokularda izoenzimlerin biyofiziksel, kinetik özelliklerinin neden farklı olduğuna açıklık getirir [21].

### 2.3.2. Patofizyoloji

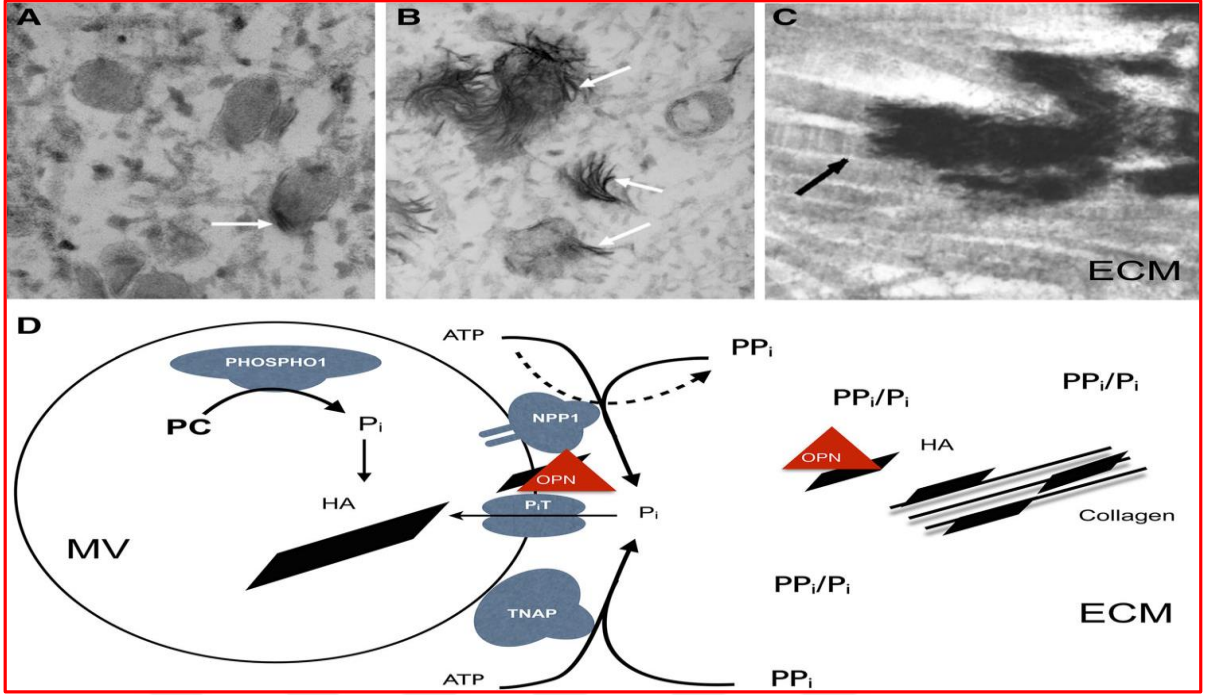
İskelet sisteminde, ALP, matriks vezüküllerin dışarıya döküldüğü osteoblast ve kondrositlerin yüzeyinde bulunmaktadır [22], [23]. Bu veziküller ALP'den zengindir [24]. HPP'li insanlarda ve farelerde, elektron mikroskobu incelemelerinde, ALP'den fakir matriks veziküller hidroksiapatit kristalleri içerdiği, fakat ekstrasellüler inorganik pirofosfat (PPi) birikimi bloke olduğu için ekstrasellüler kristal birikimi duraksar (resim2) [25]–[27].

*PHOSPO1*, intraveziküler fosfokolinden Pi üretilmesini sağlar. Ayrıca ALP ve NPP1 aktivitesi ile oluşturulan ektraveziküler pirofosfat (Pi), PiT(pirofosfat transferaz) aracılığı ile vezikül içine alınır. Vezikül içinde Pi birikimi ise hidroksiapatit kristallerinin atılımını başlatır.

*NPP1*, hücre yüzeyinde bulunan, PPi üretimini sağlayan, güçlü ATPaz aktivitesi gösteren bir enzimdir. ALP yokluğunda fosfataz olarak çalışmaktadır[28],[29]. Bu yüzden NPP1, HPP fenotipi için modifiye edici olabilir.

Vitamin B6'nın farklı formları vardır ve en az 110 enzimin kofaktörü olarak görev yapmaktadır. B6'nın majör dolaşım formu olan piridoksal 5-fosfat TNSALP'in doğal substratıdır.





**Şekil 2: Kemik Mineralizasyonunun başlangıcı ve yayılımı.**

- A:Elektron mikroskobunda, matris vesikülünde minerallerin görüntüsü,
- B:MV membranlarından minerallerin salınması,
- C:Minerallerin kollajen üzerine yayılımı,
- D:MV aracılı biyomineralizasyonun 3 basamağının detaylı şeması.

*Piridoksal (PL), Piridoksamin(PM), Piridoksin(PN)* gibi B6 vitaminleri *piridoksal kinaz* tarafından fosforilize edilir ve 5' türevleri olan *Piridoksal 5-fosfat (PLP), Piridoksamin 5-fosfat (PMP), Piridoksin 5-fosfat (PNP)*'a dönüştürülür.

PLP birçok aminoasitin katabolizmasından 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 ya da aminotransferaz yardımıyla birbirlerine dönüşür. PLP'den  $P_i$ 'i ayırarak PL oluşturulması ALP'nin önemli görevlerindedir [30], [31].

B6 vitaminlerinin yalnız defosforilize formları hücre içine girebilir, hücre içinde yeniden fosforilize olarak PLP'ye dönüşür ve çeşitli enzimatik yollarda koenzim olarak çalışır [32],[33]. ALP eksikliğinde PLP, PL'ye dönüşemez ve hücre içine giremediği için koenzim görevini yapamaz ve birçok reaksiyon gerçekleşemez, sonrasında HPP kliniği ortaya çıkar. Bu nedenle HPP hastalarında kanda PLP düzeyleri yüksektir. Ağır kliniğe sahip olgularda beraberinde serumda PL düzeyi düşüktür. İnfantil HPP formunda hastada B6 bağımlı ağır

nöbetler görülür ve hastalığın bu formu %100 fataldir. Fareler üzerinde yapılan deneylerde; ALP eksikliği sonucu hipomiyelinizasyon, spinal sinirlerde incelme, miyelinize aksonların kaybı, immatür kortikal sinapslarda artma görülmüştür. Farelerde, hidrofobik B6 vitamin formu olan PL enjeksiyonu ve takviyesi ile nöbetler baskılanmıştır [34]–[36].

HPP’de kanda ve idrarda *fosfoetanolamin (PEA)* düzeyi yükselir, ancak bunun endojen orijini tam belli değildir[37]–[39]. PEA, olan hücre yüzeyinde ALP dâhil tüm proteinler için bağlantıyı sağlayan glikofosfatidilinozittir. Ek olarak ve alternatif PEA kaynağı, azalmış *hepatik O-fosforiletanoamin fosfoliyaz (PEA-P-Liyaz)* enzim aktivitesi gösterebilir, PEA liyaz PEA’yı hidrolize eder ve bu enzimin kofaktörü PLP’dir[40]. ALP ekstrasellüler PLP’yi hidrolize eder PL oluşur, PL hücre içine taşınır. PL hücre içindeki koenzim olarak kullanılan PLP’ nin bir formudur. PLP’nin hepatik hücrede azalmış olması PEA’nın artışına neden olur [41].

Tam bilinmemekle beraber *osteopontin (OPN)* poli-aspartat aminoasit dizisiyle osteoklastlarda hidroksiapatit oluşumuna, RGD dizisi ile CD44 ve  $\alpha\beta 3$  integrine bağlanarak, hücre sinyali ve migrasyonuna yardım eder[42].

OPN, fosfor içeriği yüksek olan glikoproteindir[43]. Otuz altı serin/treonin fosforillenme alanı içerir. Kovalent bağlı olan fosforların %84’ünün ayrılması, OPN’nin mineral depolanması üstündeki inhibitör etkisi azalmasına neden olur, bu sebeple yüksek fosfor bağı önemlidir. Fosforile olan OPN vasküler yapılarıdaki düz kas hücrelerinin kalsifikasyonunu ve kemikte hidroksiapatit(HA) oluşumunu inhibe eder[44]. Hücre dışındaki PPi seviyesi osteoblastlarda OPN ekspresyonunu düzenlemektedir. ALP eksikliği sonucu fosforile OPN miktarının artması ise kemik dokularında mineralizasyonunun azalmasına neden olur. OPN, ALP’in substratlarından biridir ve HPP’nin patofizyolojisinde OPN’nin fosforilleşmesi önemli rol oynar[45].

ALP’in bir diğer görevi bakteriyel endotoksinlerin, lipopolisakkaritin ve pro-inflamatuvar ATP’nin detoksifikasyonudur, böylece intestinal mukozada mikrobiyatanın düzenlenmesini sağlar. Lipopolisakkarit detoksifikasyonu ile gebelikte bakteriyel enfeksiyona karşı korumada, uterusu implantasyon ve desidualizasyona yardımcı olur[46]–[48].

Yenidoğanlarda ALP düzeyi yüksek seviyededir, pro-inflamatuvar ATP’nin defosforilasyon etkisi ile dolaşımda adenosinin seviyesinin artmasına neden olur, bu durum da antiinflamatuvar etkinin artmasını sağlar [49].

ALP purin metabolizmasına rol alan enzimlerden biridir, farelerde somatosensör dorsal ganglion nöronlarında ve dorsal spinal kordta anti-nosiseptif (ağrı önleyici) adenosinin oluşmasına neden olduğu görülmüştür. Knock out farelerde ALP eksikliği ATP/adenosin oranı

arttırdığı ve bu durumun da nöbete, hiperalji ve allodoniye (ağrı eşliğinin düşmesi) neden olur. HPP'nin ağır formlarında da aynı tablo söz konusudur[50].

## 2.4. KLİNİK PREZENTASYON

Hipofosfatazya, heterojen bir hastalıktır, her yaşta ve çok çeşitli semptomlarla karşımıza çıkabilir. Tanı bazen antenatal dönemde, çocukluk çağı boyunca, yetişkinlik döneminde veya postmenepozal atipik fraktür ile konulabilir. Ağır formlarının çoğu erken bulgu verir ve erken tanı alır. Orta formlar ise yaşamın genellikle geç döneminde tanı almaktadır.

Klinik olarak HPP'nin sınıflandırılması ilk olarak 1957 yılında, Donal Fraser tarafından yapıldı ve bu sınıflandırma ilerleyen zamanlarda genişletildi [51], [52]. İlerleyen dönemde 'erişkin', 'çocukluk çağı', 'infantil' ve 'perinatal' hipofosfatazya olarak sınıflara ayrıldı [2], [51]. *Prenatal Hipofosfatazya*'da intrauterin dönemde kemik deformiteleri görülebilir veya doğumda spontan intrauterin exitus da gelişebilir [53]. HPP tanısı olan 173 çocukta, 2015 yılında yapılan çalışma sonrasında çocukluk çağı hipofosfatazyası 'orta' ve 'ağır' form olarak ayrıldı. Psödohipofosfatazya nadir görülmekte ve infantil hipofosfatazyaya benzemektedir, serum ALP değeri normal veya artmıştır [54]. ALPL geni allellerinden birinde defekt olan (bazılarında HPP'nin biyokimyasal özellikleri mevcut) ve henüz diş, kemik ve artrit bulguları olmayan hastalar taşıyıcıdır[51]. Bu taşıyıcılarda ileri dönemde komplikasyonlar gelişebilir ve aile bireyleri araştırıldığında ise hipofosfatazya tanısı alacak olan birey çıkabilir [55], [56]. Bu nedenle genişletilmiş sınıflandırma kullanılmaktadır. Aşağıda bu sınıflandırma daha detaylı anlatılmaktadır.

<b>Tablo 1 – HİPOFOSFATAZYANIN KLİNİK FORMLARI ve ÖZELLİKLERİ</b>				
<b>HPP Formu</b>	<b>KALITİM ŞEKLİ</b>	<b>KLİNİK BULGULAR VE ÖZELLİKLER</b>	<b>DİŞ YAPISI</b>	<b>TANI-TETKİK</b>
<b>PERİNATAL-LETAL FORMU</b>	OR	-En ağır formu -Ölü doğum ya da doğumdan sonra birkaç gün/hafta içinde exitus görülür. -Ağır hipomineralizasyonu -Ca/P metabolizmasında bozukluk -Alt ve üst ekstremitede metafizyal spurlar , -Ağır akciğer hipoplazisi (Göğüs kafesi deformiteleri, kosta fraktürleri)	-	<b>Radyografi</b> ve <b>Ultrasonografi</b>  <b>Laboratuvar:</b> düşük ALP, (umbilikal kord kanı)

BENİGN PRENATAL (YA DA PERİNATAL) FORMU	OR/OD	<p>-Benign seyirlidir.</p> <p>-Kısa ekstremiteler ve prenatal uzun kemiklerde eğrilik</p> <p><i>NOT:Doğumdan sonra kemiklerdeki defektler spontan iyileşir.</i></p>	-	<p>Ultrasonografi ve Klinik değerlendirme</p> <p>Laboratuvar: Düşük ALP, (umbilikal kord kanı)</p>
İNFAÑTİL FORMU	OR	<p>-İlk bulgular yaşamın ilk 6 ayında görülür.</p> <p>-Hayatın ilk yılında ölüm oranı yüksektir. Prognozu kötüdür.</p> <p>-Ağır hipomineralizasyon (raşitizm bulguları) görülür.</p> <p>-Prematür kaniyosinostoz (Chiari tip 1 malformasyonu, hidrosefali, hidrosiringomyeli)</p> <p>-Yutma disfonksiyonu, huzursuzluk,</p> <p>-Nöbet,</p> <p>-Ağır kas hipotonisitesi,</p> <p>-Hiperkalsüri, nefrokalsinozis, Görülmektedir.</p>	-Süt dişlerinin prematür kaybı görülür.	<p>Radyografi ve klinik değerlendirme</p> <p>Laboratuvar: Düşük ALP, Yüksek PLP,PPi,PEA</p>
ÇOCUKLUK ÇAĞI FORMU	OR/OD	<p>-İlk bulgular yaşamın 6 ayından sonra başlar.</p> <p>-Hipomineralizasyonun rikets benzeri bulguları.</p> <p>-Kısa boy, büyüme gelişme geriliği,</p> <p>-Tekrarlayan fraktürler, kemik deformasyonlarına bağlı yürüme bozuklukları,</p> <p>-Kronik kemik ağrısı</p> <p>-Hipotonisite, kusma, GİS problemleri, Görülür.</p>	-Süt dişlerinin prematür Kaybı görülür.	<p>Radyografi: Uzun kemiklerde kısalma, kemiklerde metafizyal spurlar,</p> <p>Klinik bulgular</p> <p>Laboratuvar: Düşük ALP, Yüksek PLP,PEA,PPi</p>
ERİŞKİN FORMU	OR/OD	<p>-Metatarsal ve tibianın stres fraktürü,</p> <p>-Femurda psödofraktür,</p> <p>-Osteomalazi, osteoporoz,</p> <p>-Çocukluk çağında geç iyileşen fraktür öyküsü,</p> <p>-Sık kullanılan ortodontik tedavi,</p> <p>-Kondrokalsinozis, osteoartrit, miyopati, kas güçsüzlüğü,</p> <p>-Renal anormallikler, azalmış GFR,</p> <p>-Nefrokalsinozis ve nefrolitiazis,</p> <p>-Psikiyatrik bozukluklar (insomnia, huzursuzluk gibi)</p> <p>Bulgular görülmektedir.</p>	-40-60 yaşlarda yirmilik dişlerin kaybı	<p>Radyografi ve Klinik değerlendirme,</p> <p>Laboratuvar: Düşük ALP, Yüksek PLP,PEA,PPi</p> <p>Kemik dansitometri'de azalmış kemik yoğunluğu</p>
ODONTO FORMU	OR/OD	-Kemik, kas, eklem ve diğer sorunlar görülmez.	-Süt dişlerinin ve kalıcı dişlerin erken dökülmesi (özellikle incisor)	<p>Klinik ve dental değerlendirilme yapılmalı.</p> <p>Laboratuvar: Düşük ALP Yüksek PLP, PEA</p>

			dentin kalınlığında azalma, pulpa boşluğunun genişlemesi	
--	--	--	--	--

#### 2.4.1. Odontohipofosfatazya

Odontohipofosfatazya, en hafif ve belki de en sık görülen hipofosfatazya formudur. Her yaşta görülebilmekte olup bu formdaki olgularda rickets ve osteomalazi olmaksızın sadece diş komplikasyonları görülür. Erken yaşta (5 yaş öncesinde ) bir ya da daha fazla süt dişlerinin ağrısız, kanamasız bir şekilde kaybı meydana gelir. Sementumdaki mineralizasyon defekti diş kökü ile periodontal ligamen arasındaki bağı zayıflatır [57]. İlk olarak aşağıdaki ve yukarıdaki incisor dişler dökülür. Bunun dışında odonto-hipofosfatazyalı olgular sağlıklıdır.

#### 2.4.2 Erişkin Hipofosfatazya

Erişkin hipofosfatazya tipik olarak orta yaşlılarda ortaya çıkar. Etkilenen olguların bazılarında süt dişlerinin erken kaybı veya rikets öyküsü mevcuttur. Hastalarda sıklıkla tekrarlayan metatars stres kırıkları görülür. Diş kaybı sıklıkla görülen bulgudur [55], [56],[58]. İlerleyen dönemlerde ise kalça ve femurun disfonksiyonu ve psödofraktürün (Looser's zones: osteomalazinin bulgusudur) işaretçisi olabilir[59], [60]. Femoral psödofraktür genellikle femoralde subtorakanterik bölgede proksimal ve lateral kısımda ortaya çıkar [56], [60]. Diğer osteomalazi tiplerinden farklı olarak bu bölgede gelişir.

Ekstasellüler inorganik kalsiyum pirofosfat birikimi kalsiyum pirofosfat dihidrat oluşumuna neden olabilir. Pirofosfat artropatisi oluşabilir. Eklem etrafında biriken hidroksiapatit kristalleri, kalsifik periartrit tablosu olarak karşımıza çıkar [61],[62], [63]. Ligamentlerin ossifikasyonu (sindezmozit) spinal hiperostosis ile giden 'Forestier' hastalığını hatırlatabilir[64]. Erişkin hipofosfatazyalı olguların yaşam standartları, tekrarlayan kırıklar, eklem ve kemik ağrıları ve kas güçsüzlüğü ile azalabilir.

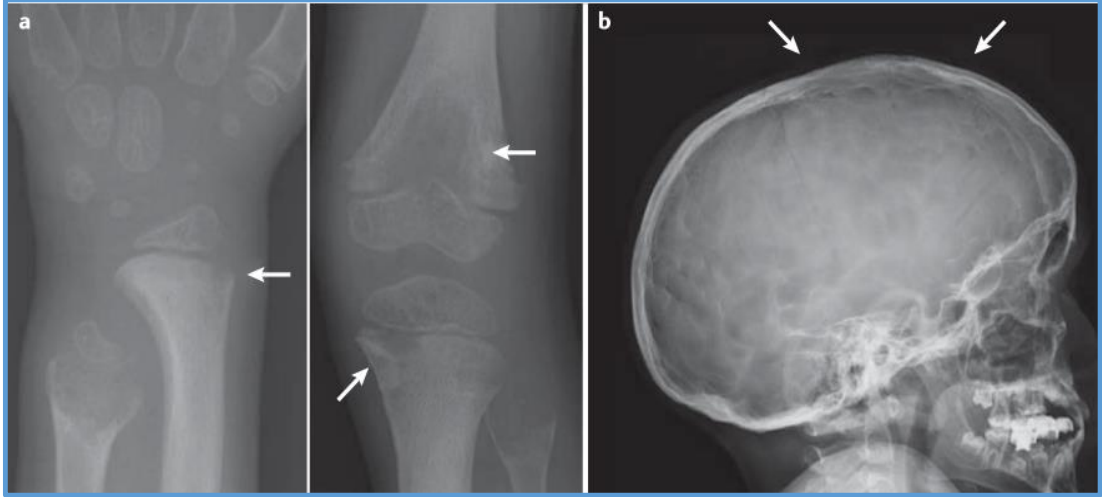


**Şekil 3: Erişkin hipofosfatazyada görülen psödofraktür:**57 yaşında kadın hastanın osteopenik sağ femur ve karakteristik psödofraktür. *Hypophosphatasia — aetiology, nosology, pathogenesis, diagnosis and treatment. Michael P. Whyte, Feb 2016*

#### 2.4.3. Çocukluk Çağı Hipofosfatazyası

Çocukluk çağı hipofosfatazyası 6 aylık dönemden sonra başlar ve geniş aralıkta ekspresivitesi mevcuttur, orta veya ağır formlar görülebilir [2], [52],[65]. Bazı geçici dişlerin kaybı hemen her zaman görülür[52]. Ağır formda olan çocukluk çağı hipofosfatazyalarında tüm süt dişler erken dönemde kaybedilir[52]. Biçimsiz kafa yapısı, raşitik rozealar, alt ekstremitelerde eğrilik, çarpık bacak, metafizyal genişlemeye bağlı genişlemiş eklem aralıkları gibi raşitizm bulguları ortaya çıkabilir. İskelet ağırları önemlidir. Her zaman olmasa da bazı olgularda boy kısalığı bulgusu verir [52]. Kas güçsüzlüğü yürümede gecikmeye yürüyüş bozukluklarına neden olabilir [66]. Nadiren eklem büyümesi, ağırlar ve radyolojik bulgular kronik rekküren multifokal osteomyeliti taklit eder [67].

Uzun kemiklerin grafisinde, metafizdeki büyüme plaklarında ortaya çıkan radyolüsen karakteristik ‘uzantılar(dil şeklinde)’ görülür(Resim 4a) [68], [69]. Epifizde bulunan kalsifikasyon zonlarında yaygın düzensizlik görülebilir ve metafizde yamalı osteopeni ve osteoskleroz görünümleri oluşabilir. Kraniosinostozis, propitozis, intrakranial basınç artışına ve beyin hasarına yol açabilir [70]. Kafa kemiklerinde sıklıkla ‘dövülmüş bakır’ görüntüsü ortaya çıkar (Resim 4b).



#### Şekil 4. Çocukluk çağı hipofosfatazadaki grafi bulguları

a) 3 yaşındaki çocukluk çağı hipofosfatazya tanısı kız olgunun sol el bilek ve sol diz grafisi. Oklarla gösterilen bu bölgelerde epifizden metafizi doğru uzanım gösteren ‘tongues’ olarak adlandırılan radyolüsen bölgeler,

b) 9 yaşında erkek olgunun kafa grafisi. Karakteristik dövülmüş bakır görünümü. Dişlerde genişlemiş pulpa bölgesi,

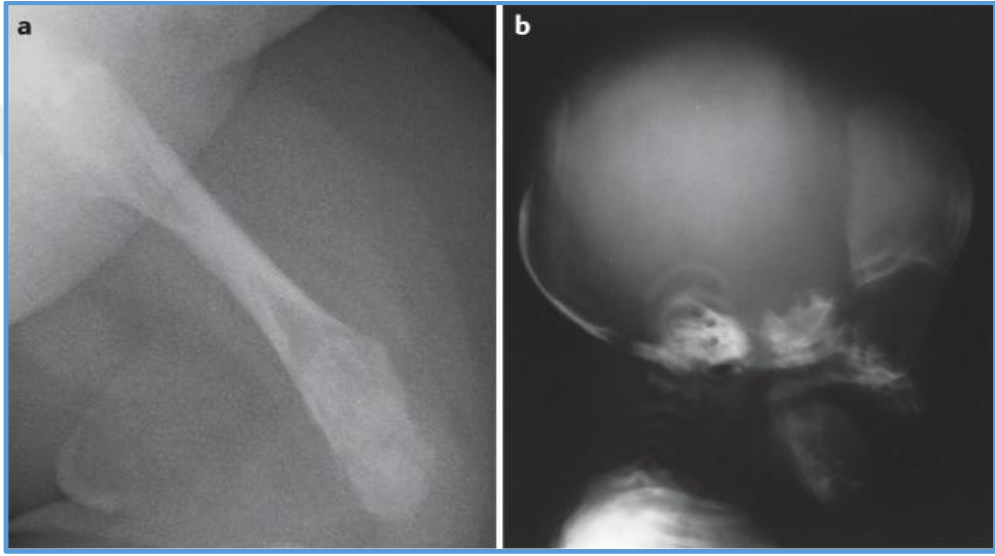
*Hypophosphatasia — aetiology, nosology, pathogenesis, diagnosis and treatment. Michael P. Whyte, Feb 2016*

Çocukluk çağı hipofosfatazya bulguları tipik olarak büyüme çağına ortaya çıkmaktadır. Fakat bazen genç erişkin dönemde de bulgular gelişebilir. Bunun nedeni belki de büyüme plaklarının füzyonudur. Erken dönemde kalıcı dişlerde sorun yok iken ileri dönemde diş problemleri ve osteomalazi gibi kemik bulguları görülebilir.

#### 2.4.4 İnfantil Hipofosfatazya

İnfantil hipofosfatazya ilk 6 ayda görülen hipofosfatazyadır [2] [51]. Raşitizmin eşlik ettiği emmede zayıflık, gelişim geriliği, güçsüzlük veya motor gelişim geriliği bulguları başlayana kadar postnatal gelişim normal görünebilir [71]. Fontaneler genişlemiş olabilir. Propitozis, hipertelorizm ve brakiosefali gelişebilir [70] (Resim 5). İntrakraniyal basınç artışı ve papil ödem olabilir. Kemiklerde mineral depolanması azaldığı için hiperkalsemi ve

hiperkalsiüri görülebilmektedir ve bu da bulantı ve kusmaya, nefrokalsinozis ve renal etkilenmeye neden olabilir [2], [71],[72]. Progresif ilerleyen toraks duvarında deformiteler, kosta kırıkları ve trakeomalazi pnömoniye yatkınlık oluşturur[51], [68]. İnfantil hipofosfatazalı olguların yaklaşık %50'si ilk bir yıl içinde kaybedilmektedir. Radyografik değişiklikler patognomoniktir. Hızlı bir şekilde normal bir diafizden kalsifikasyondan, fakirleşmiş metafize geçiş vardır [71], [72] (Şekil 6). Fraktür ve kemik deformiteleri azalmış kemik mineralizasyonuna eşlik edebilir. Erken süturların kapanması görülebilir.



**Şekil 5: İnfantil Hipofosfatazadaki grafi bulguları**

a)3 yaşında kız hastanın sol femur grafi görüntüsü

Piridoksin bağımlı nöbetlerin olması (kemiklerdeki değişiklikten önce görülebilir) ve ilerleyen kemiğe ait sorunların solunumsal komplikasyon geliştirmesi fatal sonuçlar doğurabilmektedir [71], [73].



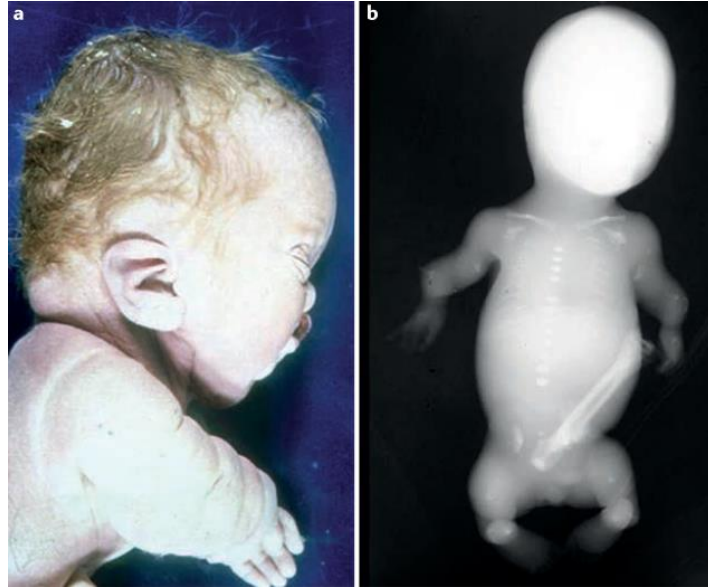


**Şekil 6: İnfantil Hipofosfatazyaya ait görüntü** 4 aylık kız hastada kalıcı ön fontanel, propitotik gözler, skafoid biçimde göğüs yapısı ve raşitik rozealar.

#### 2.4.5 Perinatal Hipofosfatazya

Perinatal hipofosfatazya formu, bu hastalığın en ağır formudur, uterin dönemde ve doğumda bulgular görülmektedir. Doğumdan sonra olguların hemen hemen hepsi kısa bir süre sonra fatal seyreder[71], [73]. Kemik hipomineralizasyonun gösteren kaput membraneseum, ekstremitte kısalığı ve deformitesi Şekil 7'de görülmektedir. Piridoksin bağımlı nöbet, siyanozun ve bradikardinin eşlik ettiği periyodik apne, nedeni bilinmeyen ateş, huzursuzluk, ağlama, miyeloplastik anemi ve intrakraniyal hemoraji ek olarak görülen bulgulardır. Bazı olgularda hipoplastik akciğerler mevcuttur [74], [75].

Ciddi osteogenesis imperfekta ve iskelet displazileri dışında radyografik bulgular patognomiktir [75], [71], [72]. Hastadan hastaya farklılıklar gösterebilir. Bazen kemiklerin tüm kemikler, tamamiyle unmineralizedir veya ileri derecede rickets bulguları ortaya çıkar epifizdeki kalsifiye alanlar azalmış ve metafizde büyük, dil şeklinde radyolüsen alanlar görülmektedir (Şekil 7-b). Kafa kemiklerinin sadece merkez kısmında mineralizasyon olabilir, bu durum hastalarda süturların fonksiyonel kapanması yerine geniş süturların oluşmasına neden olur[69].



**Şekil 7: Perinatal Hipofosfatazya olgu**

- a) Doğumdan sonra çekilen perinatal hipofosfatazyalı olguda görülen kollardaki deri kıvrımları, bu kıvrımlar kemik mineralizasyon defekti ve yapısal bozukluk gelişimi olduğunu göstermektedir.
- b) Radyografide neredeyse hiçbir kemikte mineralizasyonun olmadığı görülmektedir.

#### **2.4.6. Psödohipofosfatazya**

Psödohipofosfatazya, klinik olarak infantil hipofosfatazyayı hatırlatır fakat serum ALP değerleri normal veya yüksektir [75][76]. Bu mutant ALP'in endogen katalitik aktivitesinin azalması sonucu HPP bulgularını ortaya çıkması ve hastalarda ALP doğal metabolitleri olan PEA, PLP ve PPI ekstrasellüler artışı görülür. ALP'nin rutin laboratuvar incelemelerinde yapısı değişmiş olan ALP'nin fizyolojik olmayan şartlarda katalitik aktivitesinin artması sonucu ALP kanda normal ya da yüksek olarak ölçülebilir.

#### **2.4.7 Benign Prenatal Hipofosfatazya**

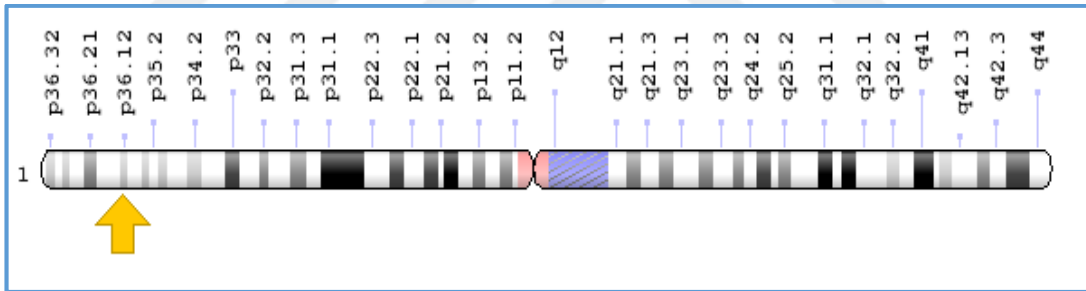
İntrauterin dönemde kemik deformiteleri olan 17 benign prenatal hipofosfatazyalı hastalarda (kemik deformitesi var fakat kırık yok) 2011'de yapılan çalışmada, prenatal

bulguların gelişme endişesi yerine infantil hiofosfatazyadan odontohipofosfatazyaya kadar değişik aralıkta klinik tablolar geliştiği görüldü [53].

## 2.5 ALPL Geni ve Mutasyonlar

### 2.5.1. ALPL Geni

ALPL geni 1. Kromozomun p36.12 bölgesinde bulunmaktadır ve 69 kb üzerinde 12 adet ekzon içerir. İlk ekzon mRNA'nın 5' translyasyon olmayan (UTR) bölgesinin bir kısmını kodlar [77]. 5' UTR bölgesi alternatif başlatma bölgeleri olan ekzon 1A ve 1B 'yi içermektedir. İnsanlarda, beyin hücreleri ve osteoblastlarda ekzon 1A'ya yakın bölgeden transkripsiyon başlar, buna karşın karaciğer ve böbreklerde ise ekzon 1B'ye yakın bölgelerdedir[78]–[80]. Bu yüzden karaciğer ve kemiğe ait TNSALP isoformları aynı aminoasit sekanslarına sahiptir fakat m RNA'ları farklılık gösterir.



**Şekil 8: ALPL geninin lokasyonu (1. Kromozomda p36.12 bölgesinde)**

[-https://ghr.nlm.nih.gov/gene/ALPL#resources](https://ghr.nlm.nih.gov/gene/ALPL#resources)

### 2.5.2 ALPL Gen Mutasyonları ve Kalıtım

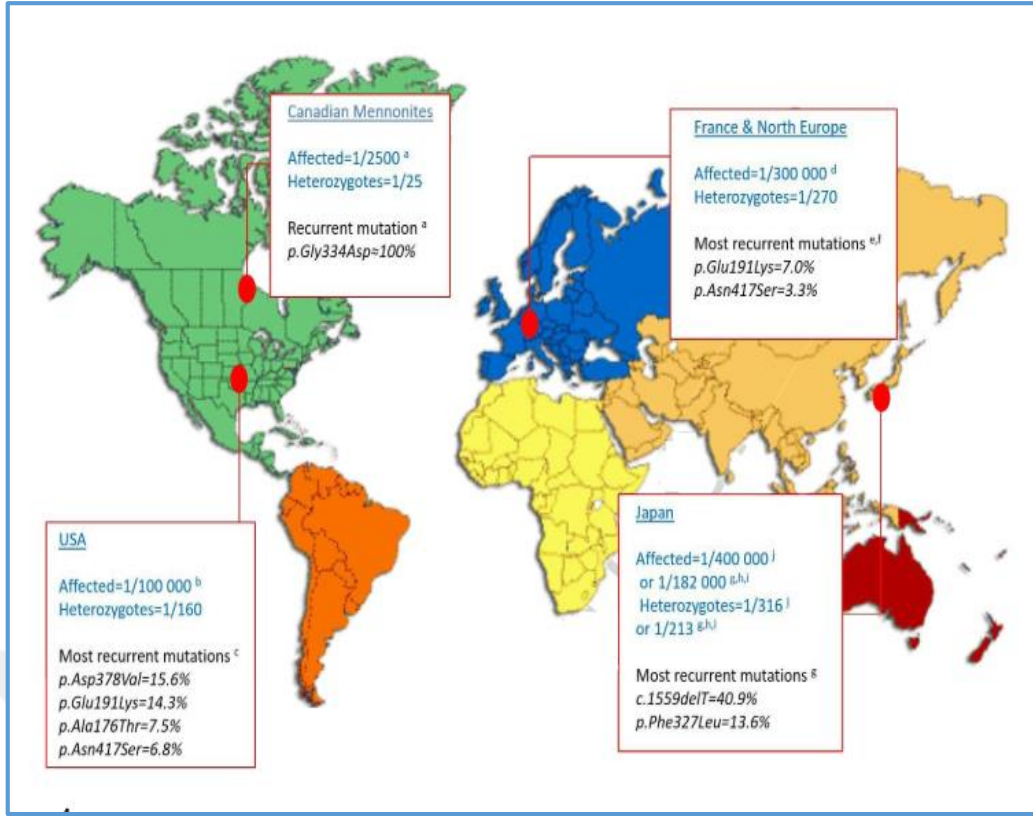
HPP'de klinik olarak geniş heterojenite olması ALPL genindeki hetojeniteye bağlıdır. İlk mutasyon Weiss ve arkadaşları tarafından tanımlanmıştır [81]. Toplam 370 kadar üzerinde mutasyon raporlanmıştır. Bunların yaklaşık %72'si missens mutasyondur, bu da fenotip olarak çeşitliliği açıklayabilir, ayrıca bu mutasyonların ürünlerinin daha fazla ya da daha az enzimatik aktivite göstermesine bağlı hastalığın ağırlığının değişikliğine neden olabilir [82], [83]. Diğer mutasyonlar ise küçük delesyonlar (%11.1), splice bölge mutasyonu (%6), nonsens mutasyon

(%4.8), insersiyonlar (%3), büyük delesyonlar (%2.7) kompleks delesyon/insersiyon ve transkripsiyon bölgesini etkileyen yerine koyma mutasyonlarıdır. Sadece iki olguda de novo mutasyon raporlanmıştır, de novo mutasyonlar hem resesif hem de dominant kalıtım modelinde olabilir [84], [85]. Ek olarak iki olguda da uniparental dizomiye bağlı homozigot durumu saptanmıştır [86][87].

ALPL mutasyonu tüm coğrafi bölgelerde ve tüm topluluklarda tanımlanmıştır, bölgesel olarak frekansı ve hastalığın çeşitliliği bölgeye göre değişiklik gösterir. Az sayıda mutasyonlar tekrar eder. Belirli bölgelerde bazı mutasyonlar daha sık görülür. Örneğin Japonyadaki olguların %40,9'unda c.1559delT mutasyonu ve %13.6'sında p.Phe327Leu mutasyonu görülmektedir [88], [89]. Kanada'da Mennonite topluluğunda p.Gly334Asp mutasyonu daha sık görülmektedir[90]. Avrupalılarda, p.Glu191Lys mutasyonu %7-14 oranında görülmekte, orta klinik formlu HPP'li olgularda bu oran %21.3-27.6'dır[91], [92]. Amerika'da missens mutasyon olan p.Asp378Val en sık görülen mutasyondur (%15.6). Çin'deki çeşitli formlardaki HPP'li hastalarda tekrarlamayan farklı ağırlıktaki mutasyonlar saptanmıştır.

ALPL geni mutasyon analizlerinden hipofosfatazyanın en ağır seyirli formları olan infantil ve perinatal formlarının otozomal resesif kalıtım gösterdiği görülmüştür. Hipofosfatazyanın hafif formlarının kalıtımı ise daha komplikedir. İlk tanımlanan vakalarda çocukluk çağı, yetişkin ve odonto HPP gibi hafif formların otosomal resesif kalıtım gösterdiği bildirilmişti. Sonrasında; hipofosfatazyanın klinik ve biyokimyasal özelliklerinin ve genetik mutasyonların daha iyi tanımlanmasıyla birlikte hastalığın hafif formlarının otozomal dominant kalıtımın da özelliklerini gösterdiği saptanmıştır. Bazı aile çalışmalarında hafif etkilenmiş aile bireylerinin çocuklarında daha ağır formların ortaya çıktığı da görülmüştür [93][94].

Sonuç olarak; ALPL geni mutasyonlarının analizleri sonucu hipofosfatazyanın ağır formları olan perinatal ve infantil formunun otozomal resesif, daha hafif formları olan çocukluk, yetişkin ve odonto HPP formlarının otozomal dominant ve resesif kalıtım gösterdiği gösterilmiştir.



**Şekil 9 : Farklı Bölgelerde taşıyıcı ve hasta formlarının sıklıkları ve en sık görülen mutasyonlar**

## 2.6 Tanı ve Ayırıcı Tanı

Hipofosfatazya çeşitli klinik bulgular göstermesi ve diğer hastalıklarla benzer bulgularının olması nedeni ile ayırıcı tanısı zor bir hastalıktır. Hipofosfatazya şüphesi olan olguların öykülerinin detaylı sorgulanması, fizik bakılarının yapılması, kemiğe ait görüntülemelerin incelenmesi, laboratuvar ve genetik tetkiklerinin yapılması gerekmektedir.

Azalmış serum ALP düzeyi hipofosfatazya için karakteristik bulgu olmasına rağmen kesin tanı koydurmaz[95]. Çünkü ALP düşüklüğüne yol açan birçok hastalık ve durumlar mevcuttur. ALP düşüklüğü ağır osteogenesis imperfekta, kleidokraniyal displazi ve osteokondrodisplaziler gibi iskelet sistemini etkileyen hastalıklarda da görülebilir [96], [53], [96],

**Tablo 2. Hipofosfatazemi nedenleri**

<i>Hipofosfatazya</i>	<i>Zn ve Mg eksikliği</i>
<i>Pernisiyöz anemi</i>	<i>Cushing sendromu</i>
<i>Hipotiroidizm</i>	<i>Çölyak hastalığı</i>
<i>C vitamin eksikliği</i>	<i>Masif transfüzyon</i>
<i>Osteogenesis imperfekta</i>	<i>Kleidokraniyal displazi</i>
<i>Wilson hastalığı</i>	<i>Radyoaktif ağır metaller</i>
<i>Vitamin D intoksikasyonu</i>	<i>Pernisiyöz ve derin anemi</i>
<i>Klofibrat tedavisi</i>	<i>Yanlış tüpe örnek alımı (EDTA'lı tüp gibi)</i>
<i>Açlık</i>	<i>Multiple myelom</i>

Aşağıdaki tabloda hipofosfatazının, osteogenesis imperfekta ve raşitizm gibi kemiği etkileyen hastalıklarla ile ayırıcı tanısı yapılmıştır.

**Tablo 3- Hipofosfatazya ayırıcı tanısı**

<b>HASTALIKLAR</b>	<b>BULGULAR</b>					
	ALP	PLP	Ca	P	PTH	D vit.
<b>HPP</b>	↓	↑	↑/N	↑/N	↓/N	N
<b>RAŞİTİZM</b>	↑	---	↓	↓	↑	↓
<b>OSTEOGENEZİS İMPERFEKTA</b>	N	---	N	N	N	N
<b>X-LHR</b>	↑	↓	N	↓	↑/N	↓ /N

Hipofosfatazya farklı yaşlarda değişik bulgularla karşımıza çıktığından hastanın yaş grubuna göre değerlendirilmesi gerekmektedir.

Hipofosfatazyanın tanınmasında prenatal ve postnatal dönemde kemik hipomineralizasyonu, kemik deformiteleri, ALP düşüklüğü ve hiperkalsemi, hiperfosfatemi yol göstericidir.

Uterin dönemde ve doğumda, erken prenatal ultrason görüntülerinde kemik mineralizasyon bozukluğu saptanır, bu dönemde hipofosfatazyanın ayırıcı tanısında benzer bulgular ile karşımıza çıkan *osteogenesis imperfecta tip 2*, *kampomelik displazi* ve *kondrodizplazi* düşünülmelidir. Fetal dönemdeki grafilerde kemik mineralizasyonunun olmaması hipofosfatazya düşündürür. Ayırıcı tanılar için serum ALP, PLP ve idrar PEA düzeyine bakılır, moleküler genetik analizler yapılmalıdır[98], [99].

İnfantil dönem ve çocukluk çağı hipofosfatazyasında büyüme-gelişme geriliği, beslenme bozukluğu, huzursuzluk, hipotoni, nöbet gibi HPP'ye spesifik bulgular verebilir. Bu nedenle geniş ayırıcı tanı yapılmalıdır. Bu dönemdeki ayırıcı tanılarda enerji metabolizması ile ilişkili metabolik hastalıklar, organik asidemiler, primer ve sekonder raşitizm gibi hastalıklar yer almaktadır.

Raşitizm bulguları ile HPP ile sıkça karışabilir, bu nedenle Raşitizm ayırıcı tanısının mutlaka yapılması gerekmektedir. Raşitizmde serum ALP düzeyi HPP'nin aksine artar, serum kalsiyum ,fosfor ve vitamin D düzeyleri düşer, parathormon yükselir [100][101]–[103]. Büyük çocuklarda ise boy kısalığı, kemik ağrısı ve motor fonksiyonlarda azalma nedeniyle osteogenesis imperfecta, raşitizm, miyopati, fibroz displazi, kronik inflamatuvar artrit gibi hastalıklar ayırıcı tanıda ele alınmalıdır.

HPP'nin ayırıcı tanısında laboratuvar olarak en önemli fark ALP düzeyinin düşük seyretmesi ve ALP'in doğal substratlarının kan ve idrarda düzeyinin artmasıdır[104].

Biyokimyasal tetkiklerinde serumda ALP düzeyinin düşük olması hipofosfatazyayı aklımıza getirir. ALP düzeyi hastalığın ağırlığı arttıkça daha düşük gözlenmektedir. ALP'nin azalması, ALP'nin substratlarının birikmesi, kanda ve idrarda metabolitlerin artmasına neden olur. Serumda PLP, idrarda PEA ve PPi düzeyinin yükselir. Kanda PPi düzeyinin bakılması ekonomik açıdan uygun olmadı için sık kullanılmaz, sadece araştırma amacı ile kullanılır. İdrarda PEA miktarının artmış olması HPP tanısını destekler fakat kesin tanı koydurmaz. En önemli bulgulardan biri kanda PLP yüksekliğidir, bu değer yüksekliği ile hastalığın şiddeti arasında ilişki olduğu gösterilmiştir[96], [105], [106].

İnfantil dönemde karşımıza çıkan HPP'de bozulmuş kemik mineralizasyonu sonucu hiperkalsemi ve hiperfosfatemi görülür. Bu tablo PTH baskılanmasına neden olmaktadır.

Çocukluk çağı hipofosfatazyasında ise *hiperkalsemi* ve *hiperkalsiuri* olsa da PTH ve 25 OH vit D düzeyleri normal saptanır. Kemik grafilerinde hastada hipomineralizasyon derecesi artar ve rikets bulguları görülebilir. HPP açısından şüphelendiğimiz olgularda kemik yoğunluğuna bakılması, hipomineralizasyonun araştırılması açısından önemlidir.

Prenatal tanı, prenatal letal ve benign formunun ayırıcı tanısında yardımcı olmaz. Ağır formlar için uygulanabilir. Bu nedenle bu yöntemin kullanılması tartışılmaktadır.

Hipofosfatazyanın kesin tanısı için ALPL geni dizi analizi incelemesi ile konur.

## 2.7. Tedavi

Fosfor ALP'nin aktivitesini inhibe ettiği için hipofosfatazyalı hastaların diyetinde fosfor kısıtlanmalıdır. Hiperfosfatemi olan olgularda fosfor bağlayıcı ajanlar kullanılabilir. D vitamini eksikliği sık görüldüğü için D vitamininin takviyesi de sık kullanılmaktadır. İnfantil dönemde ve çocukluk çağı döneminde HPP'li olgularda yüksek doz D vitamini kullanmak hiperkalsemiye ve hiper kalsiüriye neden olabilir. Ayrıca aktif D vitamini fosforun gastrointestinal sisteminden emilimini de arttırmaktadır.

Kalsiyum takviyesi hiperkalsemiye ve hiperkalsiüriye neden olabilir. Bu nedenle kalsiyum preparatları dikkatli klanılmalıdır. Erişkin hastalarda uygun dozlarda kullanılan kalsiyum ve D vitamini desteği sekonder hiperparatiroidi açısından kullanılabilir[107]–[109] HPP'li olgularda kemik ve kas fonksiyonların korunması çok önemlidir. Kemik mineralizasyonunu artırma özelliği nedeni ile ağır olmayan fiziksel aktivite kemik ve kas dayanıklılığını arttırdığından önerilebilir. Ağır hipofosfatazyalı olgularda fiziksel aktivite patolojik kırıklara yol açabileceğinden kemik ve kasları zorlayabilecek fiziksel egzersizlerden kaçınılmalıdır.[110]–[112]

### 2.7.1. Osteoporoz ve kırıklar

Bisfosfonatlar PPI'a benzer etki etki gösterir ve ALP aktivitesini inhibe eder bu nedenle hipofosfatazyada kullanılmamalıdır. HPP'da klasik osteoporozdan farklı olarak kemik mineralizasyonunda azalma mevcuttur. Tanı alamamış HPP'nin hafif formu olan bazı olgularda osteoporoz tanısı aldıktan sonra bisfosfonat tedavisi başlandığı ve bu nedenle atipik femur kırıkları geliştiği görülmüştür[111]

HPP'li bazı olgularda stress kırıkları rekombinant insan paratiroid hormonu olan '*teriparatid*' ile tedavi edilmiştir. *Teriparatid* osteosarkom oluşma riskini artırdığı için kullanılması önerilmemektedir. Doshi ve ekibi bilateral femoral fraktürü olan hastalara teripatid



tedavisi vererek takip etmiş ve bu olgularda kırıkların tamamen iyileştiğini göstermiştir. Whyte ve ekibi ise yaptığı çalışmalarda iki erişkin HPP tanısı olan ve psödofraktürü saptanan olgularda 6 ay boyunca *teriparatid* ile psödofraktürlerinin tamamen iyileştiğini gözlemlemiştir [113]– [115]

### 2.7.2. Nörolojik Sorunlar

Perinatal hipofosfatasyada PLP metabolizmasının bozulması sonucu nöbetler gelişebilmektedir. Bazı nöbet ile bulgu veren olgularda B6 vitamini tedavisi ile nöbetleri tedavi edilebilmektedir. İnfantil ve çocukluk çağı hipofosfatasyasında kraniyel sütürlerin prematur füzyonu serebellar tonsillerin ektopisine (Chiari 1 malformasyonu) ve hidrosiringomiyelinin oluşmasına neden olur. Kraniosinostoz oluşma ihtimali nedeni ile bu olgular radyolojik, nörolojik ve oftalmolojik muayenelerle yakından takip edilmelidir. İntrakraniyal basıncın artması sonrası baş ağrısı, nöbet, papilödem ve nörolojik bulgulara neden olabilir ve acil cerrahisi girişim yapılması gerekebilir[111][112].

### 2.7.3. Enzim replasman tedavisi

Ağır formda HPP'li olgularda önceleri normal plazma, Paget kemik hastalığı olan hastaların kanından hazırlanan yüksek ALP içerikli plazma, karaciğer ALP'si ve plasental ALP'nin intravenöz uygulanmış, fakat bu tedavilerin etkisiz olduğu görülmüştür. 2008 yılında kemik hedefli '*rekombinant ALP*' üretilmiştir ve önce fareler üzerinde, sonrasında ağır formdaki infantil HPP tanılı hastalarda denenmiştir. *Rekombinant ALP* ilk olarak ENB 0040 sonrasında 'Asfotaz alfa' olarak adlandırılmıştır. [116]

Çalışmalarda farelere yüksek dozda (8,2 mg/kg/gün ) asfotaz alfa subkutan olarak enjekte edildi. Tedavi uygulanan farelerde bulguların gerilediği görüldü. Sonrasında *asfotaz alfa*nın daha düşük dozlarda uygulandığında da etkisi olduğu raporlandı. Çalışmalarda 2,8-3,2 mg/kg/gün dozunda subkutan uygulanan %80 farede klinik iyileşme sağladığı saptandı[73], [117]Elde edilen olumlu sonuçlardan sonra asfotaz alfa hipofosfatazyanın çok ağır formunda olan hastalara uygulandı. Rodriguez ve ekibi 3 haftalık infantil hipofosfatazyaya tanılı, ağır göğüs duvarı deformasyonu nedeniyle solunum sıkıntısı olan ve mekanik ventilatörde izlenen bebeğe 12 hafta süresince ENB 0040 tedavisini uyguladılar. Bu olgunun kliniğinde iyileşme gözlemlendi

ve oksijen konsantratörü ile taburcu oldu. Taburculuktan 2 hafta sonra ise sepsis ve multi organ yetmezliği ile kaybedildi [116], [118].

*Whyte ve ekibi*, 2008 yılında ağır formda olan HPP tanılı infant ve çocuklarda bir çok ülkede yürütülen *ENB 0040 tedavisinin faz 2* çalışmasını yaptı. On bir hasta çalışmaya alındı ve bunların 7'si kız 4'ü erkekti. Bir olgunun yakınları tedaviyi kabul etmedi. Tedavide asfotaz alfa tek doz 2mg/kg intravenöz verildikten sonra, haftada 3 defa 1-3 mg/kg subkutan verilmeye devam edildi. Olguların 9'una 1 yıllık tedavi, diğerine ise 6 aylık tedavi uygulandı. Tedavinin 24. haftasında tüm olgularda endokondral ve membranöz kemik formasyonunda düzelme, kırıklarda iyileşme, deformitelerde azalma, sklerozda gerileme saptandı. Altı ay sonra 9 hastada büyüme hızında artış, rikets bulgularında gerileme, kanda PPi ve PLP düzeylerinde düşme akciğer fonksiyonlarında düzelme görüldü.

Tedavinin en sık yan etkisi uygulama bölgesindeki eritemdi. Anafilaksi, alerjik reaksiyonlar hiçbir olguda görülmedi. Olguların izleminin 3. yılında bir olgu sepsis nedeniyle ex oldu. Olguların hepsinde solunum sıkıntısı mevcuttu, tedavinin 3. yılında sadece 1 hastanın oksijen ihtiyacı devam ettiği görüldü. Üç yılın sonundaki değerlendirmede sağ kalım %90'dı. [117], [119].

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1 Hasta Seçimi**

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi'nde Ocak 2013- Ekim 2018 tarihleri arasında Biyokimya Laboratuvarı'nda çalışılan ve serum ALP değeri 40 U/L ve altında olan 0-20 yaş arasındaki tüm hastalar retrospektif olarak incelenmesi planlandı. Bu çalışma için Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Araştırmalar ve Etik Kurulu'ndan 11.04.2007 tarihinde, 17-1.1/5 karar no'lu onay alındı. ALP değeri 40 U/L ve altında değerleri olan hastaların laboratuvarımızda çalışılan tüm geçmiş ALP değerleri incelendi. Tüm ALP düzeyleri değerlendirildiğinde daha önceki ALP değeri yüksek olan olgular çalışma grubuna dahil edilmedi. Serum ALP düzeylerine göre eleme sonrası listeye alınan olguların, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Elektronik Hasta Dosyası Sistemi'ndeki tüm başvurularına ait hastane kayıtları değerlendirildi. Kayıtlarda, klinik bulguları, anamnezi, özgeçmişi ve soy geçmişi hipofosfatazıyı düşündürecek olan olgular ile hipofosfatazya dışındaki ALP düşüklüğüne

neden olacak diğere sebeplerin dışlandığı olgular çalışma listesine alındı. Bakılan birden fazla ALP değeri 40 U/L ve altında olan, ayrıca yukarıda belirtilen kriterlere uyan 30 hasta çalışmaya alındı. Oluşturulan listedeki hastalar Elektronik Hasta Dosyası'ndaki kayıtlı telefon numaraları ile arandı. Detaylı anamnez ve fizik bakı tekrarı için kontrol muayeneye çağrıldı. Çalışmaya katılan tüm ailelerden gönüllü oluru elde edildi.

### 3.2. Hasta değerlendirilmesi

Çalışmaya katılmayı kabul eden hastaların yaşı, cinsiyeti, doğum tarihleri not edildi. *Perinatal-İnfantil HPP*, *ocukluk ağı HPP*, *Erişkin HPP* için hazırlanan sorularla anamnezleri derinleştirildi. ALP düzeylerinin düşük saptandığı dönemlerdeki hastalık öyküsü, başvuru yakınması, tanısı, mevcut tanıları tedavi süreci ve kullandığı ilaçlar sorgulandı. Olguların boyu, kilosu, anne boyu, baba boyu, hedef boyu ve fizik bakıları kaydedildi. Her bir olgu için en az 3 nesli içeren soyağacı çizildi. Ayrıca hipofosfatazya bulgularına yönelik soygeçmişi sorgulandı. Anamneze ait detaylı sorular olgu formlarında yer almaktadır.

### 3.3. ALPL geni moleküler dizi analizi

Olguların *ALPL* geni moleküler analizi Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi ocuk Sağlığı ve Hastalıkları ocuk Genetik Hastalıkları Bilim Dalı Laboratuvarı'nda yapıldı. DNA izolasyonu için tüm olgulardan EDTA'lı tüpe 2 cc periferik kan örnekleri alındı. Alınan periferik kandan standart yöntemle DNA izolasyonu yapıldı. Elde edilen DNA rneklerinde *ALPL* *geninin* tüm ekzonik bölgeleri ve intron-ekzon yapışma bölgelerini kapsayacak şekilde primer dizaynı yapılarak, PCR amplifikasyonu ve jel elektroforezi sonrası, dizi analizi çalışıldı. *ALPL* geninde patojenik değişiklikler saptanan olgularda ise segregasyonu belirlemek amacıyla ebeveynlerde Sanger dizi analizi gerçekleştirildi.

### 3.4. Dizi Analizi Çalışması

#### 3.4.1. PCR Reaksiyon Karışımı

Her bir örnek için hazırlanan total PCR reaksiyon karışımı 25 mikrolitreden oluşmaktadır. H<sub>2</sub>O, 10X buffer, MgCl<sub>2</sub> (25Mm), dNTP, primerler ve Taq Polimerazdan oluşan karışım her bir reaksiyon tüpüne dağıtıldı ve en son DNA örnekleri eklendi. PCR reaksiyonu için dizayn edilen primerler Tablo 1’de gösterilmiştir.

PCR miks hazırlanışı:

H <sub>2</sub> O	:	12.5 mikrolitre
10X buffer	:	2.5 mikrolitre
MgCl <sub>2</sub> (25Mm)	:	2.5 mikrolitre
dNTP (10 mM)	:	1 mikrolitre
Primerler	:	F: 1 mikrolitre R: 1 mikrolitre
Taq Polimeraz	:	0.5 mikrolitre
DNA	:	100 nanogram
Toplam	:	25 µl

İzlenecek PCR Programı:

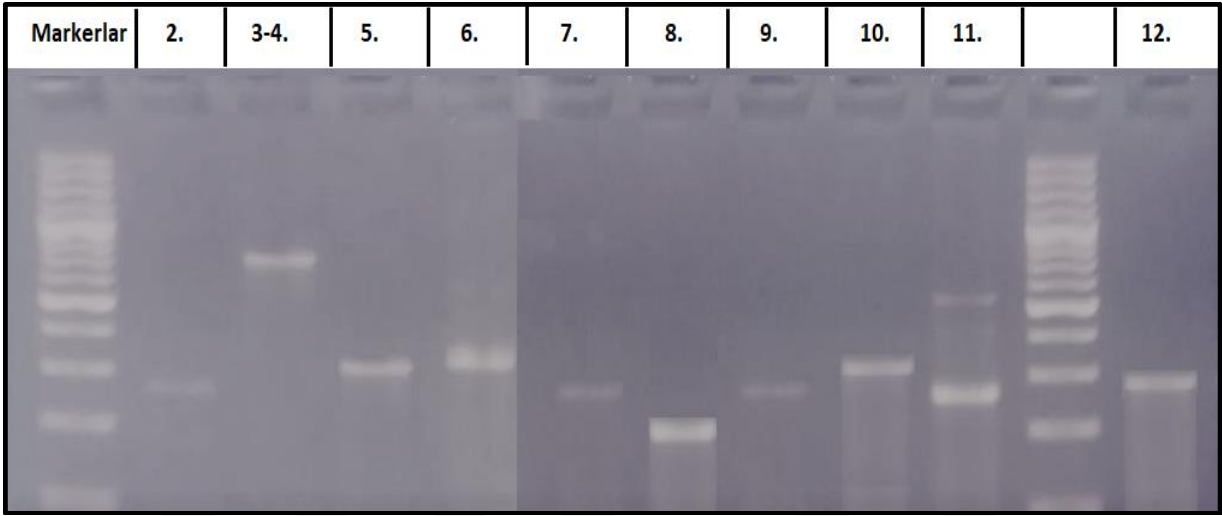
Denatürasyon	94 °C	10 dakika	} 35 döngü
Denatürasyon	94 °C	30 saniye	
Bağlanma	34 °C	1 dakika	
Uzama	72°C	1 dakika	
Final Uzama	72°C	7 dakika	
Bekleme	4 °C	∞	

Amplifikasyon ürünleri PCR programı bittikten sonra +4 0 C’ de saklandı.

#### 3.4.2. Agaroz Jel Elektroforezi

PCR ürününde amplifikasyon olup olmadığının kontrolü için, %2’lik agaroz jelde PCR ürünleri yürütüldü. 100 ml’lik erlen içine, 2 gr agaroz ve 100 ml 0.5XTBE konulup mikrodalga

fırında ısıtılarak eritildi. Berrak görünüm sağlanınca, 16 mikrolitre etidyum bromür eklenip karıştırılıp hazırlanan tabağa döküldü. Jel donması için beklendi. Jel donduktan sonra örnekler jele yüklenirken, bir parça parafilm üzerine 5 mikrolitre orange G ve 5 mikrolitre PCR ürünü karıştırılıp, jeldeki kuyucuklara yüklendi. Elde edilen PCR ürünlerinin doğru amplifiye olup olmadığını kontrol etmek için, her jele marker yüklendi. 120 volt akımda yürüdüktan sonra jel görüntüleme sistemi ile incelendi. Jel görüntüleme sistemi ile elde edilen görüntü şekil 1’de görülmektedir.



**Şekil 10:** Agoroz jel görüntüsü

Ekzonların amplikon boyutları;

2. Ekzon:239 Baz çifti,
- 3.-4.Ekzon:701 Baz çifti,
5. Ekzon:293 Baz çifti,
6. Ekzon:317 Baz çifti,
7. Ekzon:239 Baz çifti,
8. Ekzon: 187 Baz çifti,
9. Ekzon:261 Baz çifti,
10. Ekzon:292 Baz çifti,
11. Ekzon:240 Baz çifti,
12. Ekzon:384 Baz çifti,

**Tablo 4. ALPL geninin ekzonlarını ve ekzon-intron bileşiklerini çoğaltmada kullanılan primerler**

<b>EXON</b>	<b>FORWARD PRİMER</b>	<b>REVERSE PRİMER</b>	<b>ANNEALİNG TEMP.</b>
<b>1</b>	AAGCCAGATATGTTGACAGA	GCCATTAAAGTTCAACCA	<b>54</b>
<b>2</b>	ATTGCATCTCTGGGCTCCAGGGA	CAGCTTTTAAATACTTTGG	<b>47</b>
<b>3</b>	CTGGAGATAGGAGGCTATCCT	GGTCTCCTAGCTAGTGTCCTG	<b>55</b>
<b>4</b>	AGGAGCACGAGAGACTGAGG	CTGGCTGCTGTTCATGTTTCAG	<b>51</b>
<b>5</b>	CCTCACGCCCCAGTCCCCAT	GCTGGCCCCTGCTCCCCACT	<b>58</b>
<b>6</b>	GCCAAACCCGCCCTCCTGC	AATTCATGCCAGCCTGGCCTGAGCCTC	<b>58</b>
<b>7</b>	CAGGAGTCCAGGTTCCAAGC	AGGCCACCTATGCAGCCACAT	<b>55</b>
<b>8</b>	AGGCCTCAGATTTTGATAGC	GGCTTTGTCCCCAGGTGTTGG	<b>51</b>
<b>9</b>	ATTCCCTGAGACACCCAGC	CAGGGCCGTGTTTCCAGCAG	<b>55</b>
<b>10</b>	TCCCCTCCTCCCTCACCGAGG	TTGCTGGCTCTCCCACCCAC	<b>58</b>
<b>11</b>	TGGGGGGTGGGGACTGTACT	CCCTGTCCCCTCCCAGCCCT	<b>58</b>
<b>12</b>	GGGCATGTGACTCCATCTTTCTCTG	GCTGCCGTGTGGGAAGTTGGCATC	<b>58</b>

### 3.4.3. PCR Ürünlerinin 1. Saflaştırılma İşlemi

Bu işlem PCR sonrasında PCR ürününün içerisindeki fazla PCR bileşenlerinden ayrılmasını sağlamak amacı ile yapıldı. Purifikasyon için Thermo Scientific GeneJET PCR Purification Kit: #K0701, #K0702 kullanıldı. Pürifikasyon işlemi kit protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi.

### 3.4.4 Nested PCR ile amplifikasyon (BigDye)

En çok kullanılan yöntem dideoksi metodudur. Buna zincir sonlandırma metodu da denir. PCR işlemi sonrasında elde edilen ürünler birinci saflaştırma işlemi sonrasında aşağıdaki maddeler ile karıştırılarak cyle sequencing miksi hazırlanır.

1. Primer: DNA tek zincirine bağlanan kısa dizidir.
2. Normal (deoksi) nükleotidler: dNTP; dATP, dCTP, dGTP, dTTP
3. Dideoksi nükleotidler: ddNTP; ddATP, ddCTP, ddGTP, ddTTP
4. DNA Polimeraz (enzim)

DNA 4 deoksiribonükleotid trifosfat ( dATP, dCTP, dGTP, dTTP) molekülünün birbirine bağlanmasıyla oluşan dev bir polimerdir. Her yeni nükleotid bir önceki nükleotidin 3' OH ucuna eklenir. Dideoksinükleotid trifosfat (ddNTP) ise 3' OH ucu içermez. Dolayısıyla böyle bir molekül zincir uzamasını durdurur ve zincirin son nükleotidini oluşturur. Dizisi saptanacak DNA tek dizi halinde hazırlanır. Bu kalıp DNA yanına 4 deoksiribonükleotidden de (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) bol miktarda içeren bir karışım; her biri ayrı floresan molekülle işaretlenmiş ve dolayısıyla ayrı renkler veren 4 dideoksiribonükleotid trifosfat (ddATP, ddGTP, ddCTP, ddTTP) içeren bir karışım ve DNA Polimeraz eklenir. Deoksiribonükleotidler bağlandıkça zincir uzamaya devam eder. Rastlantısal olarak dideoksiribonükleotid bağlandığında zincir uzaması durur. Bu yolla farklı boyutlarda birçok DNA parçası elde edilir. Sonraki aşamada karışım, molekülleri boylarına göre ayıran jel elektroforezi ile birbirlerinden ayrılır. Jel üzerindeki değişik floresan renkler veren bantlar izlenerek dizi analizi gerçekleştirilir. Daha sonraki aşama ise analiz edilen dizilerin okunması aşamasıdır.

Uzun dizi bilgisi elde edebilmek için, kısa okumaların birbiriyle birleştirilmelerinde bilgisayara gereksinim duyulur. Bu işlem bir kit yardımı ile yapılmaktadır ve bu kit içerisinde sonlandırıcı nükleotitler içermektedir.

Ör; ABI Prism V1.1 BIG-DYE TERMINATÖR KİT

Bu aşamada;

- 8 µl Big Dye PCR tüplerine dağıtılır
- Her tüp için 7,5 µl ultra saf su
- 0.5 µl Forward veya Reverse primer kullanılır (Dizide taranacak bölgeye uygun olarak tasarlanabilir)
- 4 µl purifiye PCR ürünü kullanılır
- Total volume 20 µl dir.
- Bu PCR miksi ABI PRİSM 9700 PCR cihazının perkin elmer (&lt;pe&gt;) Big Dye Terminator programı ile başlatılır.

İzlenen PCR programı;

Denatürasyon 96 C 10 saniye

Bağlanma 50 C 5 saniye

Uzama 60 C 4 dakika

Bekleme 4 C

25 döngü

### 3.4.5. İkinci Saflaştırma İşlemi (Zymo DNA Sequencing Clean-Up Kit)

Bu işlem cycle sequencing aşamasından sonra yapılmaktadır. Ortaya çıkan PCR ürününün içerisindeki florasan işaretli ddNTP'leri ve diğer PCR bileşenlerini ortamdan uzaklaştırmak amacı ile yapılmaktadır. Herhangi bir ticari purifikasyon kiti kullanılabilir. Bu işlem için ZR DNA Sequencing Clean-up Kit kullanıldı. Purifikasyon işlemi kit protokolüne uygun olarak gerçekleştirildi.



### 3.4.6. Örneklerin Cihaza Yükleme Aşaması

Dizi analizi örneklerinin yürütülmesi için ABI 310 cihazı kullanıldı. 10 mikrolitre pürifiye olmuş ürün kullanıldı. Cihaza yüklemeye önce 5 dakika denaturasyon işlemi uygulandı ve 2 dakika buzda bekletilen örnekler alete yüklendi.

### 3.4.7. Sonuçların Değerlendirilmesi

CLC Bio programı ve IGV kullanılarak sonuçlar analiz edildi. Bulunan mutasyonlar ve polimorfizmler referans genom ile karşılaştırılarak değerlendirildi. Elde edilen varyasyonların patojenitesi ACMG 2015 kriterlerine göre tespit edildi.

## 4. BULGULAR

Çalışmaya alınan 30 hastanın 3'ü erkek 27'si kızdı. Olguların yaşlarının ortanca değeri 20.35'ti (minimum 6,1 yaş, maximum 22,5 yaş). Otuz hastada da ALP geni dizi analizi çalışıldı. Yirmi beş hastanın ALPL geni dizi analizi normal olarak sonuçlandı. Bir hastada bakılan ALPL genindeki tüm polimorfizmler homozigot olduğu için delesyon düşünüldü, diğer 4 olguda ise patojenik mutasyonlar saptandı. Bunlar heterozigot *c.657G>T(p.Met219Ile)*, *c.648+1G>A*, *c.542C>T(p.Ser181Leu)*, *c.862+1G>C* mutasyonlarıydı. (ALP dizi analizinde patojenik mutasyon ve delesyon saptanan olgular aşağıda detaylı olarak anlatılmıştır)

Hastalarımızdan kontrol görüşmede çalıştığımız kontrol serum ALP düzeylerinin ortanca değeri 40.5 U/L'ydı (minimum:23 U/L, maximum:194 u/L). Genetik dizi analizi normal olan gruptaki ortanca değeri 41U/L'ydı (minimum:21U/L; maximum:194U/L), mutasyon/delesyon saptanan grupta ise ortanca 30U/L'ydı (minimum:23U/L; maximum45U/L). Her iki grup karşılaştırıldığında aralarında anlamlı fark saptandı (p:0.036). Olgularımızın ALP değerlerinin ortalaması hesaplandı. ALP ortalamalarının toplam ortanca 37.6 U/L'ydı (minimum 22.5 U/L; maximum 113,5 U/L). Ortalama ALP değerleri mutasyon/delesyon saptanan grupta ortanca değeri 27 iken genetik incelemesi normal olan grupta 38.3 U/L'ydı. Bu iki grubun ALP ortalama değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark olduğu görüldü (p:0.028). Serum kalsiyum değerlerinin üst sınırı 10.2 mg/dl olarak kabul edildi. Üç olguda hiperkalsemi görüldü. Bunlardan 2'sinin dizi analizi normaldi. Diğerleri ise *heterozigot*

*c.542C>T(p.Ser181Leu)* mutasyon'a sahip 3 no'lu olguydu. Hipofosfatazının diğer laboratuvar bulgusu olan, hiperfosfatemi hiçbir olguda saptanmadı. Hiperkalsiüri açısından bakılan idrar kalsiyum/kreatinin değerinin üst sınırı 0.2 olarak kabul edildi. Bu değer üzerinde 4 olgu mevcuttu. Bunlardan 1'i delesyon saptanan 4 no'lu olgumuzdu. Fakat bu değer çok yüksek değildi, 0.21 olarak sonuçlandı.

Anamneze yönelik hazırlanan soruların cevabı ayrı ayrı değerlendirildi. Bu sorular perinatal-infantil hipofosfatazya, çocukluk çağı hipofosfatazyası ve erişkin çağı hipofosfatazyası olarak ana 3 gruba ayrıldı.

**Perinatal-İnfantil Hipofosfatazya:** Otuz olgunun tamamında doğumda saptanan ekstremitte deformitesi ve intrauterin dönemde saptanan fraktür öyküsü yoktu. Bir hastada sol ekstremitede kısalık saptanmış, fakat ekstremitede ek deformite bulguları görülmemişti. Bu olgunun ALPL geni normaldi. Sadece 1 hastamızda infantil dönemde fraktür öyküsü vardı. Sağ humerusta 10 aylık iken yükseklikten düşme sonrası kırık gelişmiş, sadece mobilizasyon uygulanmıştı. Fraktüre bağlı operasyon öyküsü yoktu. Bu hastamızın ALP geninde heterozigot *c.657G>T c.657G>T(p.Met219Ile)* mutasyonu saptandı (Olgu 1). ALPL geni normal olan grup ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık görülmedi (p:0.167).

Yenidoğan ve infantil dönemde solunum sıkıntısı ve/veya apne öyküsü 3 olguda mevcuttu. Bu olguların dizi analizi sonuçları normaldi. 3 olgununda solunum sıkıntısı yenidoğan döneminde yaşanmış olup 1'i boğmaca, 1'i mekonyum aspirasyonu diğeri ise prematürite ve IUGR nedeni ile yenidoğan yoğun bakım ünitesine yatırılmış, bu dönemde solunum sıkıntısı yaşamış ve mekanik ventilatöre bağlı izlenmişti (p:1.0).

Heterozigot *c.648+1G>A* mutasyonu saptanan 2 nolu olgunun çocukluk çağı döneminde göğüs deformitesinin (pectus excavatum) olduğu öğrenildi. Bu hastamızın solunum sıkıntısı ve solunum yolu enfeksiyonu öyküsü yoktu. Diğer hastalarda göğüs deformitesi yoktu. İki grup karşılaştırıldığında göğüs deformitesi açısından anlamlı sonuç bulunmadı (p:0.167). İki hastada nöbet öyküsü mevcuttu, bunların 1'inde dizi analizinde mutasyon saptandı (Olgu 5), diğeri dizi analizi incelemesi normaldi. İki hasta da bir dönem antiepileptik kullanmıştı. Hastalarla görüşme esnasında antiepileptik tedavilerinin kesilmiş olduğu öğrenildi. Hiçbir olguda ön fontanelde açıklık ve kraniosinostoz öyküsü yoktu.

**Çocukluk Çağı Hipofosfatazyası:** Toplam 5 hastada fraktür öyküsü vardı. İkisinde tekrarlayan travmaya bağlı fraktür mevcuttu. Dördünde de fraktüre bağlı operasyon öyküsü

yoktu. Tekrarlayan fraktür öyküsü olanların 1'inde dizi analizi incelemesinde delesyon saptandı (Olgu 4). Diğerinin ise genetik incelemesi normaldi. ALPL dizi analizi normal olan grup ile, mutasyon/delesyon saptanan grup arasında fraktür öyküsü açısından karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmadı (p:0.125).

Çocukluk çağı döneminde, sadece dizi analizi normal olan gruptaki 1 hastada kemik dansitometrisi tetkik edilmiş ve kemik dansitometrisinde L1-L4 total yoğunluğunun Z skoru -2.02 SDS olarak sonuçlanmıştı. Ayrıca bu hastada yukarıda bahsettiğimiz sol alt ekstremitte kısalığı vardı.

Çocukluk çağı dönemine ait hiperkalsemi, hiperkalsiüri, nefrolitiazis, solunum yetmezliği, hipotonisite, beslenme zorluğu, pulmoner kapakta anomali öyküsü hiçbirinde yoktu. İki hastada dişlerde çürüklük nedeni ile 5 yaşında önce erken diş kaybı mevcuttu. İkisi de dizi analizi normal sonuçlanan gruptaydı.

Üç hastada epileptik nöbet öyküsü mevcuttu, bunlardan 1'i infantil dönemde de nöbeti olan ve anti epileptik kullanan 5. olguydu, diğerleri ise dizi analizi normal sonuçlanan grupta yer almaktaydı, iki grup arasında nöbet açısından anlamlı fark yoktu (p:0.414). Hiçbir olguda rickets bulguları görülmemişti. Kemik ağrısı yakınması olan 2 olgu mevcuttu. Bunların anamnezleri derinleştirildiğinde 8-10 yaşları arasında geçici kemik ağrılarının özellikle alt ekstremitede uzun kemiklerde olması büyüme ağrısını düşündürdü. Kemik ve eklem ağrısının olduğu dönemde eklemde şişlik, kızarıklık, ısı artışının olmadığı ve hareket kısıtlılığına neden olmadığı öğrenildi. Olguların annesine ve/veya babasına kalıcı ön fontanel hakkında sorular yöneltildi. Hiçbirinde çocukluk çağı döneminde kalıcı ön fontanel bulgusu yoktu.

Toplam 3 olguda çocukluk çağı dönemindeki muayenede boy kısalığı saptanmıştı. Bu nedenlerle tetkik edilmiş fakat ailesel olduğu belirtilmişti. Bunlardan 2'si dizi analizleri normal sonuçlananlar arasındaydı. Bu olgulardan 1'i 16 yaşında kız olgu olup fizik bakıdaki boyu 147 cm , -2,38 SDS'di, hedef boyu ise 159 cm olup SDS'si -1,55'ti. Diğer hastamız ise 18 yaşında kız hasta, fizik bakısındaki boyu 149 cm, -2.4 SDS'deydi, hedef boyu 153.5 cm, SDS'si -1,48'di. ALP dizi analizinde delesyon saptadığımız olgumuzda (olgu 4) da fizik bakısında ve değerlendirilmesinde boy kısalığı saptandı.

**Erişkin Dönem Hipofosfatazyası:** Erişkin dönemde olgular sorgulandığında olgu 4 (delesyon) ve olgu 5(heterozigot *c.862+IG>C mutasyon*) 'te boy kısalığı mevcuttu. 21 yaşında kız hastanın (olgu 4) fizik bakısında orantısız boy kısalığı yoktu. Boyu 155 cm olup -1,38 SDS'deydi. Anne ve baba boyuna göre hesapladığımızda hedef boyu 158 cm, -0,79 SDS'ydi.

Olgu 5 ise heterozigot *c.862+1G>C mutasyon* saptanan 18.8 yaşında kız hastamızdı. Fizik bakışında boyu 151,9 cm, -1,91 SDS'ydi. Hedef boyu ise 155 cm (-1,59 SDS) olarak hesaplandı. Diğer erişkin dönemde boy kısalığı saptanmış olan hastaların ALP geni dizi analizi normaldi.

Genetik incelemesi normal olan bireyler içinde 1 hastada miyalji öyküsü mevcuttu. Otuz hastada da yetişkin dönemde gelişen fraktür yoktu. Odonto HPP açısından değerlendirdiğimizde 4 olguda dişlerde yapısal bozukluk olduğu öğrenildi. Olgu 2'de dişlerde seyreklik ve eğrilik nedeni ile çocukluk çağında diş teli kullanmış olduğu öğrenildi. Fizik bakışında dişlerde herhangi patoloji görülmedi. Diğer mutasyon saptanmış olan olgu 5'in fizik bakışında sağ üst lateral dişte eğrilik olduğu görüldü. Dişlerde yapısal bozukluk olan diğer hastaların genetik analizleri normal olarak sonuçlandı. Ayrıca nefrokalsinozis, nefrolitiazis, hiperkalsemi, hiperkalsiüri bulgusu hiçbirinde yoktu.

Soy-geçmişleri incelersek olgu 1'in kuzeninde göğüs deformitesinin olduğu öğrenildi. Ama bu aile bireyinde solunumsal yakınmalar, operasyon gibi ağır kliniği düşündürecek yapısal bozukluk olmadığı öğrenildi. HPP olmayan gruptaki 2 hastanın yakınlarında yürümede gecikmesi olan aile bireylerinin olduğu kaydedildi. Toplam 4 hastanın yakınlarında fraktür ve bunların 2'sinde sık fraktür öyküsünün olduğu görüldü. Bu hastaların tümünün dizi analizi normaldi. Akrabalarında nöbet öyküsü olan 7 hasta mevcuttu, bunlardan sadece 1'i, dizi analizi pozitif saptanan gruptaydı. Dizi analizi pozitif saptanan 5 olgumuzun 3'ünün (%60) soygeçmişinde nefrolitiazis öyküsü mevcuttu. Diğer HPP olmayan grubun ise 6'sında (%24) mevcuttu.

Fizik muayenede ekstremitelerde kısalık ve/veya deformite görülen toplam 5 olgu vardı. Bunlardan biri dizi analizi normal sonuçlanan ve sol alt ekstremitede kısalığı olan olguydu. Onun dışındaki 3 olguda mutasyon/delesyon saptanan gruptaki 5 olgudaydı. Bunlardan 1'inde pektus ekskavatum, 1'ine genu valgus, diğerinde ise skolyoz mevcuttu. Her iki grup iskelet sistemi anormallikleri açısından karşılaştırıldığında anlamlı fark olduğu görüldü (p:0.009).

**Tablo 5: ALPL dizi analizinde mutasyon/delesyon saptanan ve dizi analizi normal sonuçlanan gruplardaki bulgular,**

BULGULAR	Mutasyon/delesyon grubu (n=5)	ALPL dizi analizi normal sonuçlananlar (n=25)	SPSS sonuçları
<b>PERİNATAL-İNFAÑTİL HPP</b>			
Fraktür	1	0	p:0.167
Ekstremitede anormallik	0	1	p:0.649
Göğüs deformitesi	1	0	p:0.167
Yenidoğan döneminde apne	0	3	p:1.0
Solunum yetmezliği	0	2	p:0.513
Nöbet	1	1	p:0.19
<b>ÇOCUKLUK ÇAğI HPP'si</b>			
Fraktür	2	3	p:0.125
Tekrarlayan fraktür	1	1	p:0.31
Demineralizasyon	0	1	p:0,649
Erken diş kaybı	0	2	p:0.513
Nefrolitiazis	0	1	p:0.649
Nöbet	1	2	p:0.414
Boy kısalığı	1	2	p:0.433
Kemik ağrısı/miyalji	0	3	p:0.414
<b>ERİşKİN HPP'si</b>			
Dişlerde yapısal bozukluk	2	2	p:0.135
Erken diş kaybı	0	1	p:0.635
Boy kısalığı	2	3	p:0.154
Miyalji	0	1	p:0.635

SOYGEÇMİŞ			
Nöbet	1	6	p:0.847
Nefrolitiazis	3	10	p:0.418
Göğüs deformitesi	1	1	p:0.19
Fraktür	0	5	p:0.273
Sık fraktür (2 ve daha fazla)	0	3	p:0.414
FİZİK BAKI			
Kas-iskelet sisteminde patolojik bulgu	3 (1 pektus ekskavatum, 1 skolyoz, 1 genu valgus)	0	*p:0.009

**\*p<0.05 anlamlı olarak değerlendirilmiştir.**

Mutasyon ve delesyon saptanan 5 olgunun ayrıntılı bulguları aşağıda verilmiştir.

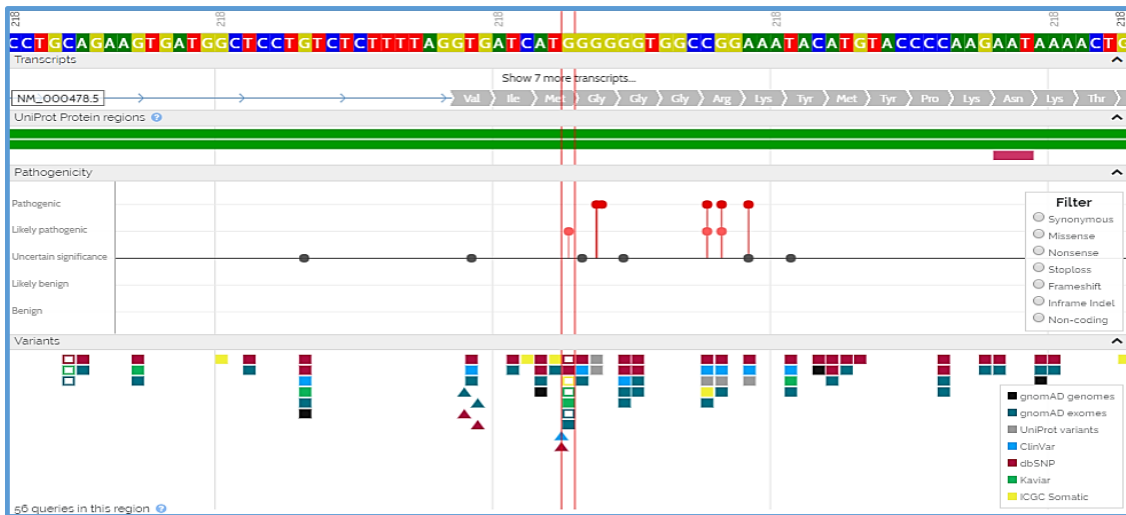
### **Olgu No: 1**

20 yaşında kız olgu 12 Mayıs 2017 yılında Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Acil Servisi'ne presenkop bulguları nedeni ile başvurmuş. Burada bakılan ALP değeri 29 U/L olarak sonuçlanmıştı. Bakılan hemogram, kanama profili, biyokimya tetkiklerinde hemoglobin (9 g/dl) düşüklüğü dışında patolojik değer yoktu. ALP düşüklüğünün olması, bu düşüklüğe hipofosfatazyanın da neden olabileceği için olgu çalışmamıza alındı. Antenatal dönemde rutin kadın doğum hastalıkları uzmanına kontrolleri yapıldığı bu dönemdeki USG bulgularının normal olduğu öğrenildi. İnfantil dönemde (yaklaşık 10 aylık iken) sağ humerusta yataktan düşme sonrası fraktür öyküsü bize HPP açısından şüphe uyandırdı. Bu dönemde sağ kol alçıya alınmış, operasyon gereksinimi olmamış. Tekrarlayan fraktür öyküsü yoktu. Soygeçmişini incelediğimizde anne - baba arasında akrabalık yoktu. HPP açısından anlamlı bulgu olarak amcasının oğlunda 'pectus ekskavatum' mevcut. Babasında da 1 kez nefrolitiazis öyküsü mevcut. Teyzesinin oğlunda polidaktili olduğu, ek hastalığının ve ek bulgunun olmadığı belirtildi. Diğer iki teyzesinin oğullarında siyanotik kalp hastalığının olduğu öğrenildi. Fizik

bakıda vücut ağırlığı 56 kg (25-50p), boyu 180 cm(>97p)'di. Alt 2. ve 3. Molar dişlerinde çürüklük olduğu görüldü. Diş çürüklerinin 18 yaşından sonra gelişmişti. Diş hekimi tarafından değerlendirilmiş ve ağız hijyeninin kötü olması nedeni ile diş çürüklerinin gelişmiş olduğu belirtilmişti.

Hastanın alınan kontrol ALP değeri 25 U/L olarak sonuçlandı. Kan kalsiyum değeri 9.5 mg/dl, fosfor değeri 3.4 mg/dl'ydi. İdrar kalsiyum/kreatinin değeri 0.06'ydı. ALP dizi analizinde 'Heterozigot *c.657G>T (p.Met219Ile)* mutasyon' saptandı. HPP bulguları açısından kemik surveyi ve DEXA ile kemik dansitometrisi çekildi. Kemik grafileri normal olarak yorumlandı. Kemik dansitometrisinde L1-L4 total kemik yoğunluğu:0.979 g/cm<sup>2</sup>, Z skoru -0.4, femur total kemik yoğunluğu:0.737 g/cm<sup>2</sup>, Z skoru -1.3'tü.

ALPL geninin 7. ekzonunda heterozigot missense *c.657G>T* mutasyonu literatüre bakıldığında daha önce saptanmamış bir mutasyon olduğu farkedildi. Bu baz değişimi splice bölgesine 9 baz uzaklıkta olan bir mutasyondur. ACMG sınıflamasına göre 'olası patojenite' sınıfındadır. HPP açısından bakıldığında serum ALP düzeyi düşüklüğü, kemik dansitometrisinde sınıra yakın düşüklüğün olması, soygeçmişinde göğüs deformitesi ve babasında nefrolitiazis olması bize bu mutasyonun HPP'ye neden olabileceğini destekliyordu. Anne ve baba DNA örnekleri sanger yöntemi ile segregasyon yapıldı. Anne ve babada da *c.657G>T* mutasyonu saptandı. Hastanın klinik tablosunda kemik yoğunluğunun hafif azalması dışında patolojik bulgu yoktu. Bunun resesif kalıtılmış olabileceği düşünülebilir. Bu kalıtım şeklini belirlemek için ileri incelemelerin yapılması gerekmektedir.



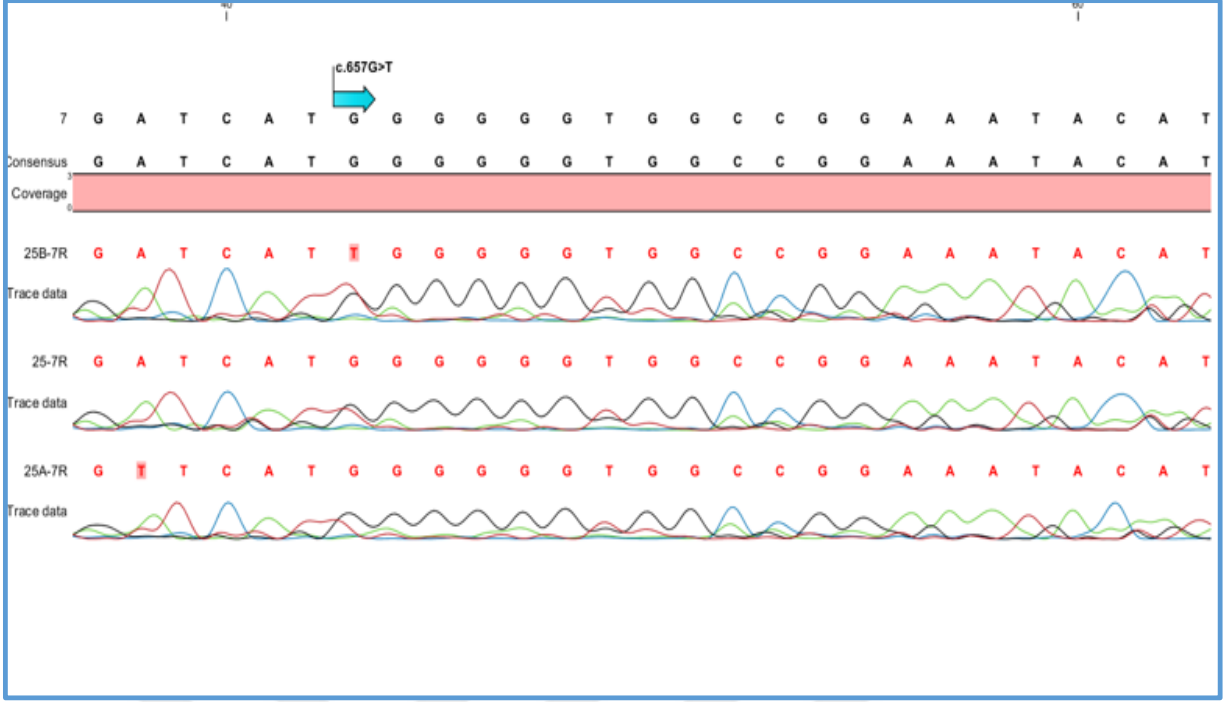
**Şekil 11 : Heterozigot *c.657G>T (p.Met219Ile)* mutasyonu**

(<https://varsome.com/>)



Şekil 12: Olgu 1'e ait grafi görüntüleri

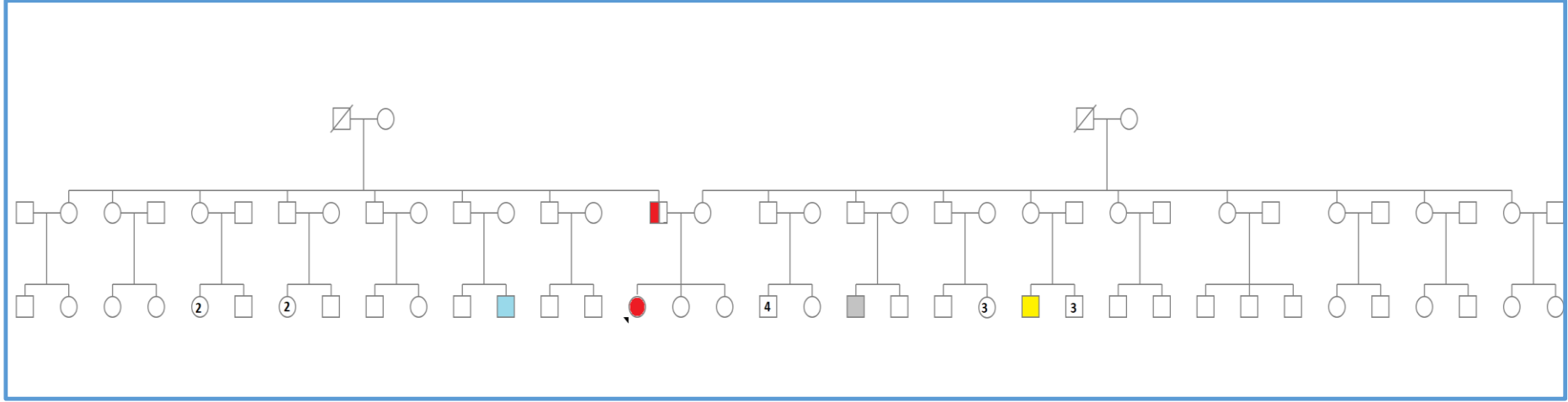





**Şekil 13: Olgu 1'in Anne ve Baba DNA örneklerinin segregasyon analizi sonucu**

Olgumuzun anne ve babasının DNA'sının korelasyon açısından segregasyon analizleri yapıldı. Babada da heterozigot c.657G>T mutasyonu olduğu görüldü. Fakat babada hipofosfatayza kliniği açısından şüphelendirecek öyküsü yoktu.

**Tablo6:OLGU 1'in aile ağacı**



 : ALP düşüklüğü, Heterozigot c.657 G>T (p.Met219Ile) mutasyonu,

 : Göğüs deformitesi (pektus ekskavatum)

 : Nefrolitiazis, Heterozigot c.657 G>T (p.Met219Ile) mutasyonu

 : Polidaktili

 :Siyanotik kalp hastalığı

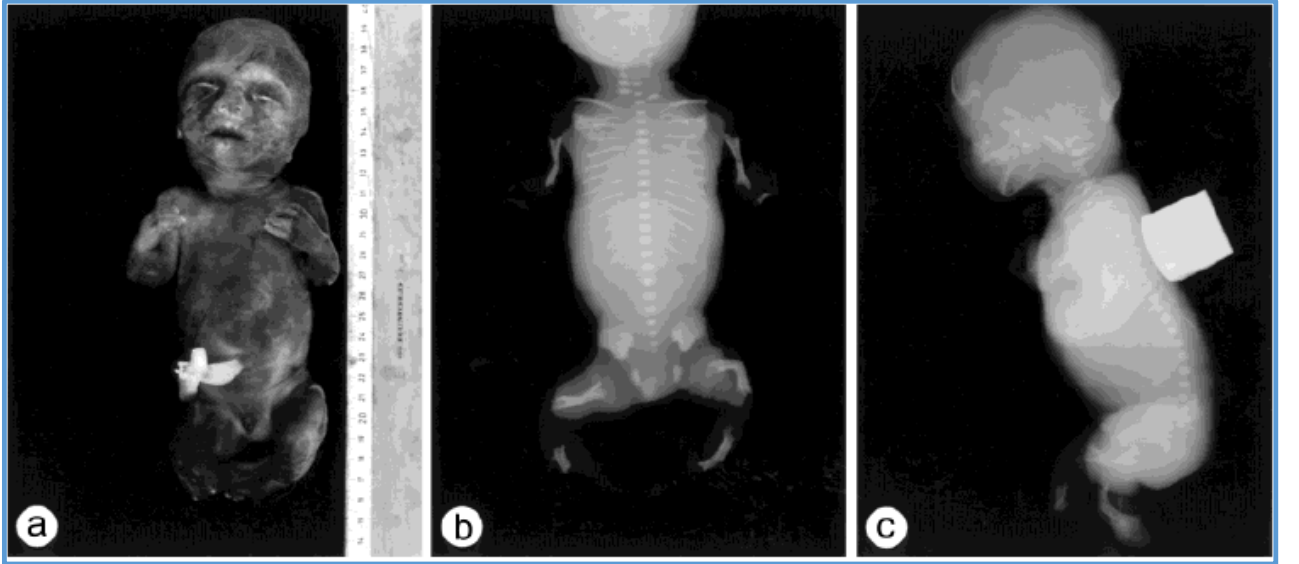


## Olgu No 2:

Yirmi iki yaşında kız olgu, 6 Nisan 2016 yılında karın ağrısı yakınması ile Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Polikliniği'ne başvurmuştu. Hastanın elektronik hasta dosyası incelendiğinde ön planda irritabl bağırsak sendromu (İBS) düşünüldüğü öğrenildi. Bu dönemde rutin hemogram ve biyokimya tetkikleri incelendiği, ALP değeri 22 U/L saptandığı görüldü. Hemogram ve diğer biyokimya parametreleri normal bulunmuştu. Antenatal dönemi sorguladığımızda, kontrollerinde USG bulguları normal olduğu doğumda ve yenidoğan dönemde herhangi bir sorunla karşılaşılmadığı öğrenildi. İnfantil dönemde ise toraksta pektus ekskavatum deformitesi farkedilmişti. Hiç solunum sıkıntısı yaşamadığı öğrenildi. On iki yaşında iken sol dirseğinin üzerine düşmüş ve eklem bölgesine yakın kemikte (hangisi olduğunu hatırlamıyor) kırık saptanmış ve alçıyla alınarak tedavi edilmişti. Kırık nedeni ile operasyon öyküsü yoktu. Anne ve baba arasında akrabalık yoktu. Bir erkek kardeşinde pnömotoraks öyküsünün olduğu öğrenildi. Ayrıca 1. derece kuzenin (teyzesinin kızı) oğlunun kas güçsüzlüğü nedeni ile tetkik edilmiş olup kas hastalığı tanısı almış olduğu öğrendi. Fizik bakışında vücut ağırlığı 56 kg(25-50p), boyu 171 cm(90-97p)'di. Dişlerinde eksiklik yoktu, alt dişlerde ortodontik tedavi uygulanmış olduğu görülmekteydi. Göğüs deformitesi (pektus ekskavatum) görüldü. Göğüs deformitesinin olması HPP'nin bir bulgusu olabileceği açısından önem arz etmekteydi. Muayene sonrasında bakılan kontrol ALP değeri 23 U/L, kan kalsiyum değeri 9.9 mg/dl, kan fosfor değeri 4.2 mg/dl olarak sonuçlandı. Hiperkalsemi ve hiperfosfatemisi saptanmadı. Hiperkalsiüri açısından bakılan idrar kalsiyum/kreatinin oranı normaldi. ALPL dizi analizi çalışıldı. *Ekzon 6'da patojenik heterozigot c.648+1G>A* mutasyonu saptandı. DEXA ile kemik yoğunluğu incelendi, HPP'nin grafi bulgularının ( epifiz-metafiz bileşkesinde litik lezyonlar, psödofraktür, dövülmüş bakır görünümü, uzun kemiklerde osteopeni, kemiklerde deformite vs..) varlığını araştırmak amacıyla da kemik grafileri çekildi. Patolojik bulgu yoktu. DEXA ile bakılan kemik yoğunluğunda Z skoru normaldi. (L1-L4 total kemik yoğunluğu: 1.160 g/cm<sup>2</sup>, Z skoru: 1.2, Femur total kemik yoğunluğu: 1.020 g/cm<sup>2</sup>, Z skoru: 1.5 ).

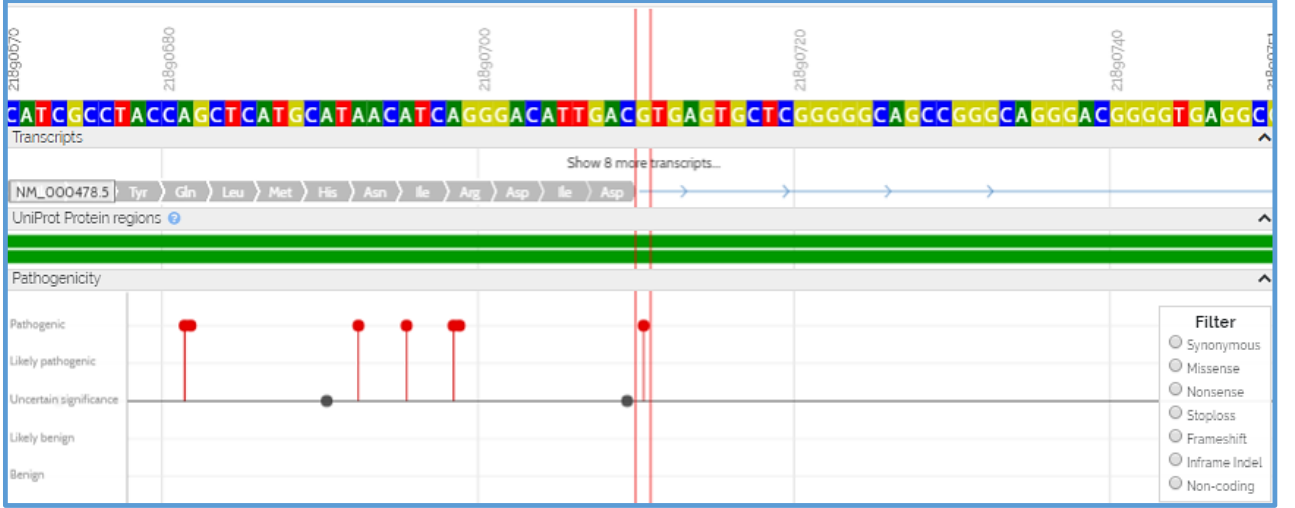
2. olgumuzda saptanan heterozigot c.648+1G>A mutasyonu, 6. intronda yer almaktaydı, splice bölgesinde olan bu değişimin ACMG sınıflamasına göre patojenik mutasyon sınıfında yer aldığı görülmektedir. Bu mutasyon daha önce 2001 yılında *Consalato Sergi ve arkadaşları tarafından*, perinatal HPP'li olan olguda rapor edildi. Alman bir anne ve Güney Amerikalı bir babanın, ağır iskelet deformitesi nedeni ile 22+4 haftalık iken terminasyon ile sonuçlanan

çocuklarında saptandı. Antenatal dönemde alt ve üst ekstremitelerde orantısız olarak kısalık mevcuttu. Terminasyon sonrası incelemede üst kol 4.5 cm, ön kol 2 cm, el uzunluğu ise 2.5 cm'di. Benzer şekilde alt ekstremitelerde uyluk 5 cm, bacak 4.5 cm, ayak 3.5 cm uzunluğundaydı. Kaput membraneseum bulgusu mevcuttu. Her iki alt ekstremitelerde tibia ve fibulanın eğriliği nedeni ile deri üzerinde gamze mevcuttu. Radyografileride genel olarak mineralizasyon defekt bulguları mevcuttu. Bu fetusun ALPL geni mutasyon analizinde heterozigot c.648+1G>A ve ekzon 11'de yer alan heterozigot N400S mutasyonu olduğu görüldü. Bu olgu raporundan önce 3 olguda da bu birleşik heterozigot mutasyon saptandığı ve bunların ikisi exitus ile sonuçlandığı, diğeri ise erişkin HPP olarak klinik bulgu verdiği (*E. Mornet*) görülmekteydi.

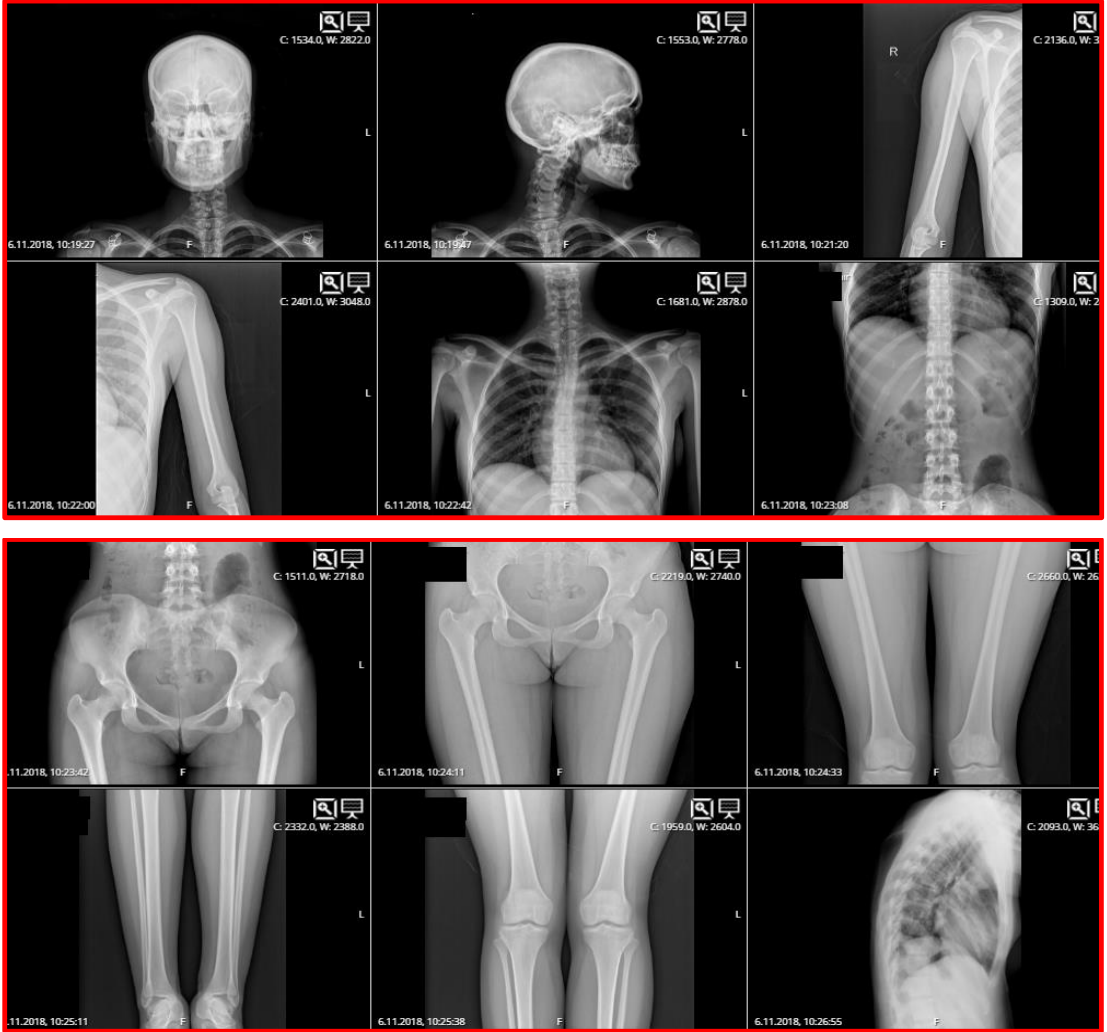


**Şekil 14:** heterozigot c.648+1G>A ve ekzon 11'de yer alan heterozigot N400S mutasyonu saptanan olgunun görüntüleri

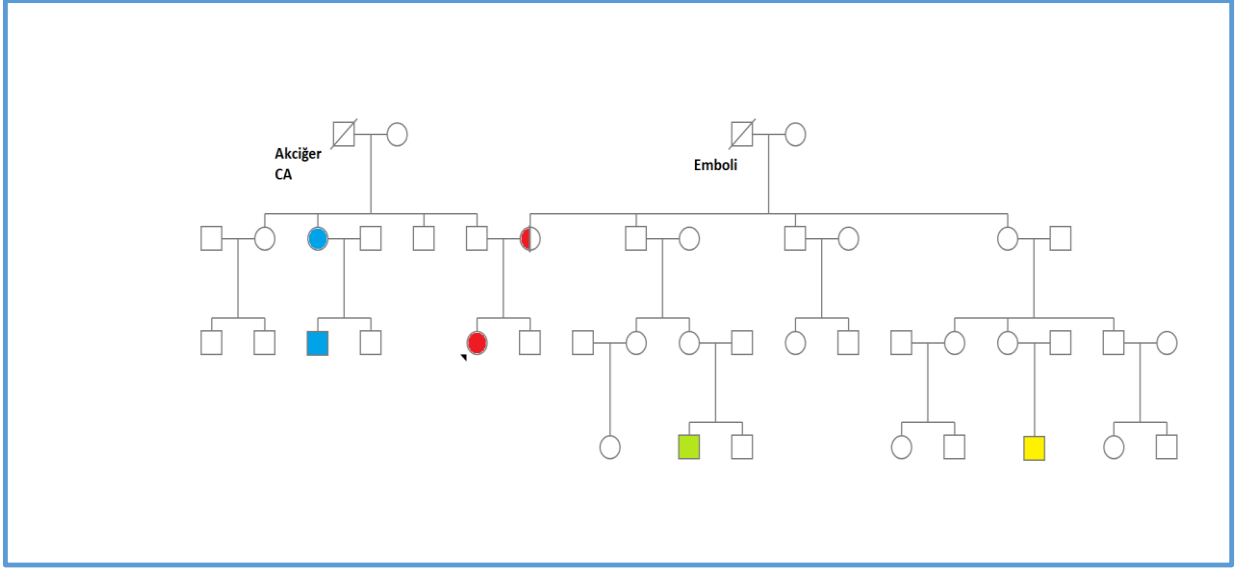
*(Perinatal hypophosphatasia: radiology, pathology and molecular biology studies in a family harboring a splicing mutation (648+1A) and a novel missense mutation (N400S) in the tissue-nonspecific alkaline phosphatase (TNSALP) gene. Sergi C - 2001 , DOI 10.1002/ajmg.1541)*







**Şekil 15: heterozigot c.648+1G>A mutasyonu**  
(<http://varsome.com>)



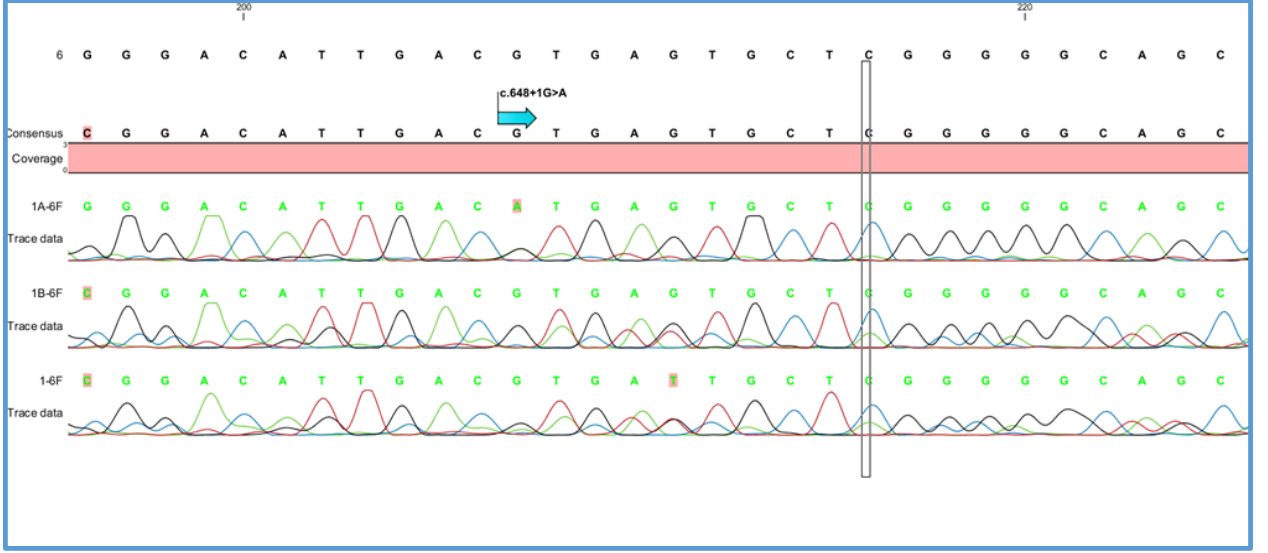
**Şekil 16: Olgu 2'nin grafi görüntüleri**



-  : ALP düşüklüğü, Heterozigot c.648+1G>A mutasyonu,
-  : Disleksi
-  : Kas hastalığı
-  : Astım

**Tablo 7 : Olgu 2'nin aile ağacı**

Olğumuzun anne ve babasından kan örnekleri alındı. Sanger yöntemi ile segregasyon yapıldı. Annesinde de heterozigot c.648+1G>A mutasyonunun olduğu görüldü. Soygeçmişini değerlendirildiğinde bu mutasyonun otozomal resesif kalıtım şeklinde görülmüş olabileceği düşünebiliriz fakat bunu kesin olarak söyleyebilmemiz için ileri inceleme ve araştırma gerekmektedir.



**Şekil 17:** Olgu 2'nin anne ve baba DNA örneklerinin segregasyon analizi sonucu

### **Olgu No: 3**

18 yaşında kız olgu daha önce hastanemizin ortopedi kliniğine başvurusunda rutin biyokimya ve hemogram tetkikleri alınmış ve bu değerlerin iki kez 40 U/L'nin altında (35U/L ve 36 U/L) bulundu. O dönemdeki elektronik hasta dosyası sistemindeki kayıtlarına ulaşılamadı, fakat skolyoz nedeni ile tetkik edildiği öğrenildi. ALP düşüklüğü ve skolyoz nedeni ile olgu çalışmamıza alındı. Antenatal, perinatal, infantil dönem sorgulandığında HPP açısından anlamlı olabilecek öyküsü yoktu. Çocukluk çağına skolyoz nedeni ile tetkik edilmişti. Anne ve babası arasında akrabalık yoktu. Annesinde osteopeni tanısının olduğu öğrenildi. Annesinde fraktür öyküsü yoktu. Ek olarak ablasında 1 kez nefrolitiazis öyküsü mevcuttu. Babannesinde menopoz sonrası osteoporoz geliştiği öğrenildi. Olgumuzun fizik bakışında vücut ağırlığı 46 kg(<3p) ve boyu 170 cm(75-90p) 'di, hedef boyu ile kıyaslandığında olgumuzda boy kısalığı yoktu. Fizik bakışında torakal ve torako-lomber bölgede, inspeksiyonla farkedilen skolyozu gözlemlendi. Hastanemizde çekilen grafisinde ise torakal ve torako lomber bölgede belirgin skolyozu olduğu görüldü. Radyoloji uzmanları tarafından grafisi 'orta torakal düzeyde açıklığı sola bakan ve torakolomber bölgede ise açıklığı sola bakan belirgin skolyoz' şeklinde yorumlanmıştı.

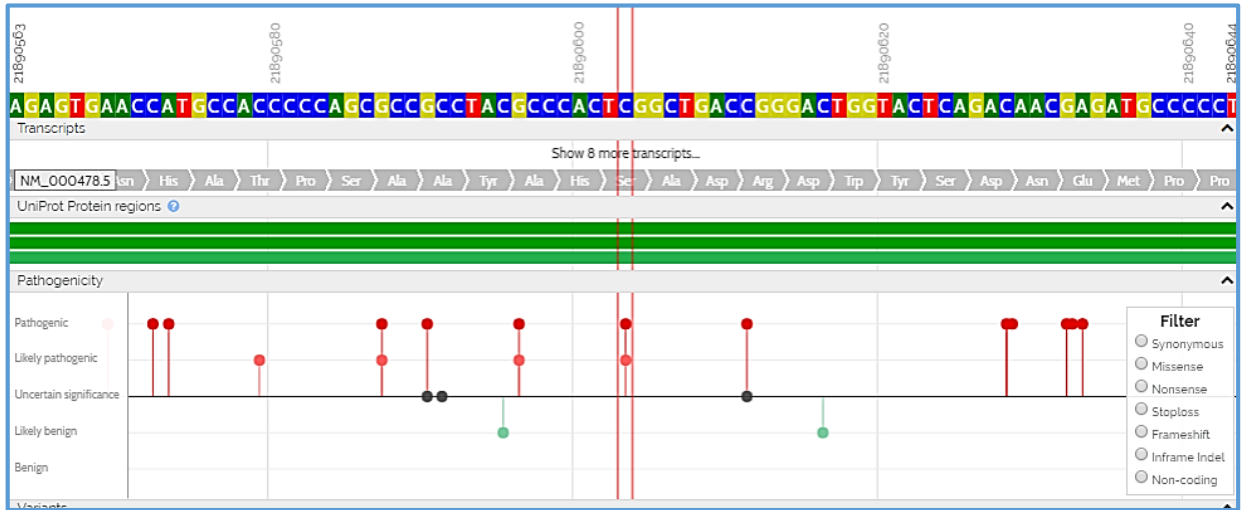
Kontrol ALP düzeyi 35 U/L'ti. Kan kalsiyum değeri 10.6 mg/dl, fosfor ise 4.26 mg/dl düzeyindeydi. Hiperkalsemisi mevcut fakat hiperkalsiürisi yoktu ( idrar kalsiyum/kreatinin oranı:0.06 ).





Şekil 18: Olgu 3'ün grafi görüntüleri

ALP dizi analizi incelendiğinde ekzon 6'da görülen patojenik/muhtemel patojenik olabilecek, missens heterozigot c.542C>T (p.Ser181Leu) mutasyonu saptandı.



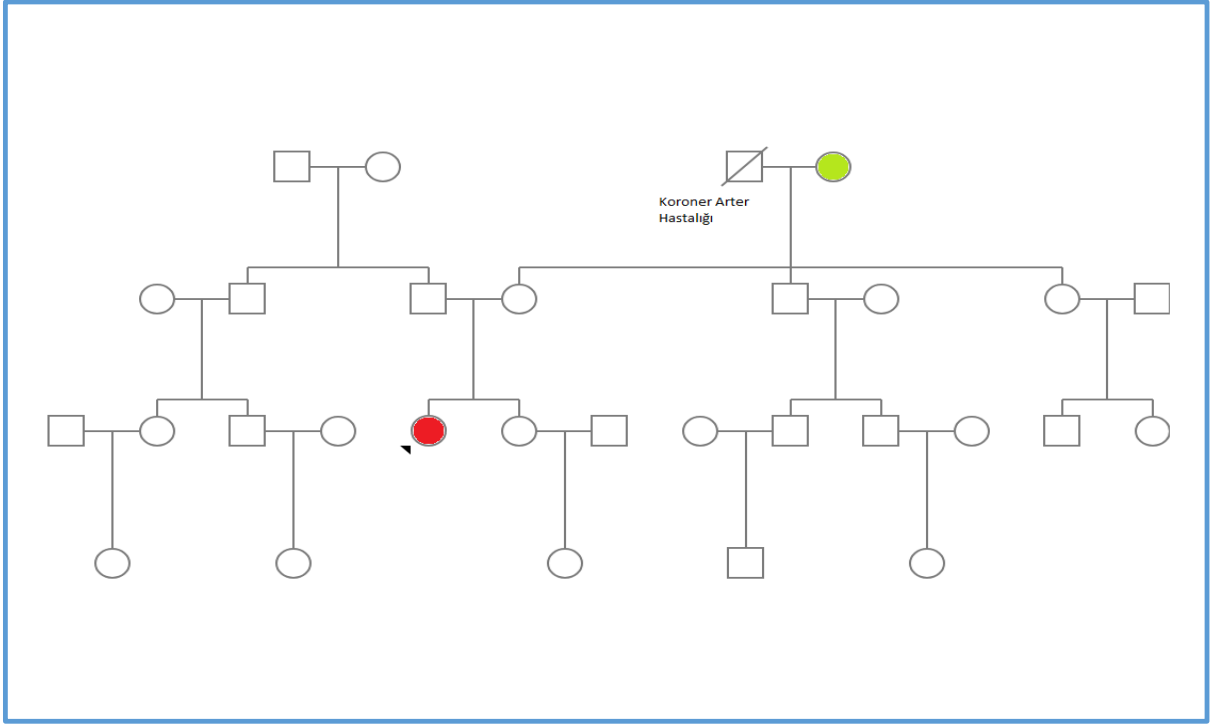
Şekil 19: Missense heterozigot c.542C>T(p.Ser181Leu) mutasyonu

(<https://varsome.com/variant/hg19/ALPL%3Ac.542C%3ET>)

HPP mutasyonu saptanan olgunun anne ve babanın DNA örnekleri alındı sanger yöntemi ile segregasyon yapıldı.

DEXA sonucunda ise kemik yoğunluğunda azalma mevcuttu. L1-L4 total kemik yoğunluğu 0.828 g/cm<sup>2</sup>, Z skoru ise -2.0, femur boynu 0.879 g/cm<sup>2</sup>, Z skoru ise 0.3 idi.

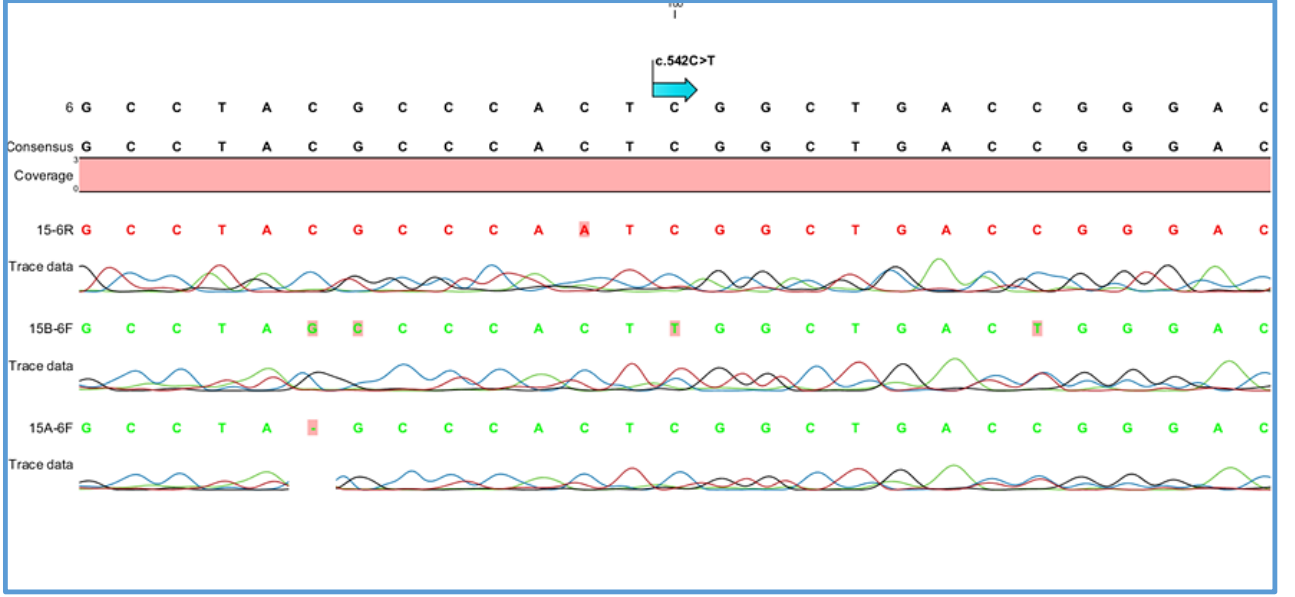
**Tablo 8: Olgu 3'ün aile ağacı**



- :ALP düşüklüğü, Skolyoz, Heterozigot c.542C>T (p.Ser181Leu) mutasyonu,
- : Menopoz sonrası farkedilen osteoporoz,

Babada da c.542C>T mutasyonu görülmektedir.

3. olgumuzdaki mutasyon skolyoza neden olmuş olabilir ya da skolyoz tablosunun ağırlaştırmış olabilir. Bakılan kemik dansitometrisinde L1-L4 total Z skorunun -2.0 olması bu mutasyona bağlı kemik dokusundaki ossifikasyonun azalmış olabileceğini desteklemektedir. Basbasında mutasyon saptandı fakat babasında HPP klinik tablosu yoktu.



**Şekil 20: Olgu 3'ün anne ve babasının DNA örneklerinin segreasyon analizi sonuçları**

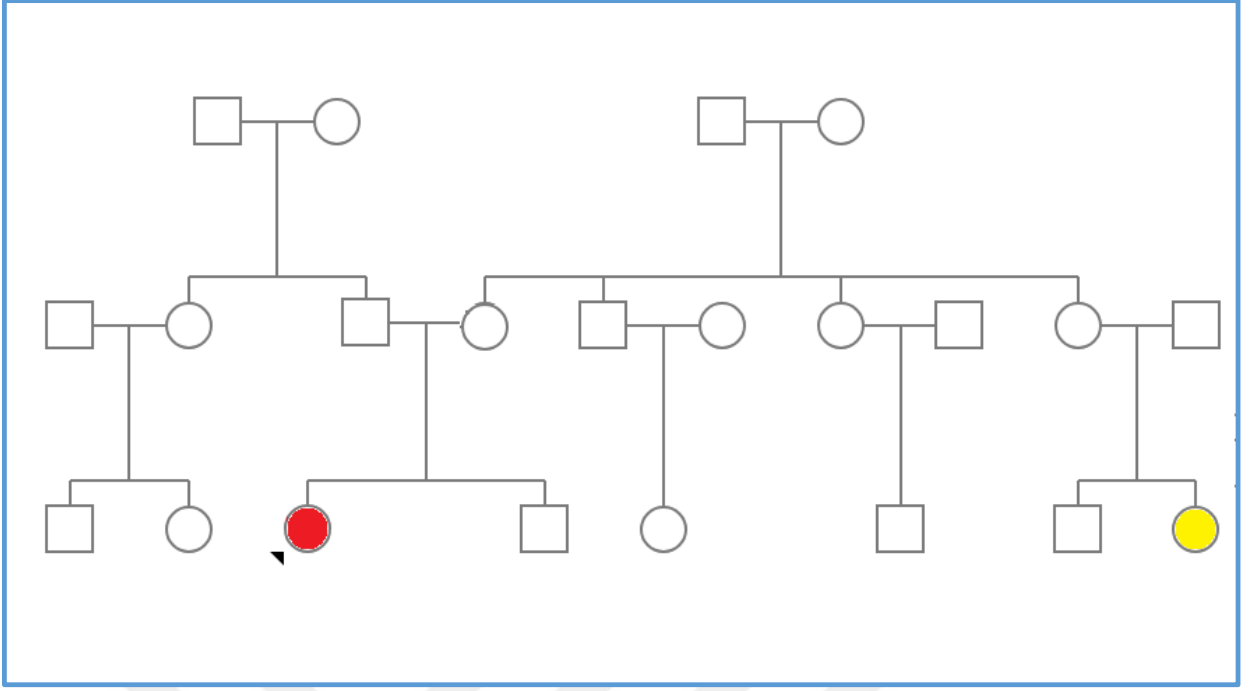
#### **Olgu No 4:**

22 yaşında kız hasta, Aralık 2015'te kontrol muayene için İç Hastalıkları Polikliniği'ne başvurduğu görüldü. Hemogram ve biyokimya örneklerinde 10 Aralık 2015 ve 15 Aralık 2015'te bakılan ALP değerleri 39 U/L ve 33 U/L gelmesi üzerine çalışmaya alındı. Prenatal, infantil döneme ait HPP düşündürülecek anamnez özelliği yoktu. Çocukluk çağı döneminde uzun kemiklerde travma sonrası meydana gelen 2 kez kırık öyküsü mevcuttu. Bu kırıklar sonrası sadece mobilizasyon için alçı uygulandığı ve operasyon gereksinimi olmadığı öğrenildi. Soy geçmişi irdelendiğinde 1. Derece kuzeninde (teyzesinin kızında) sistemik lupus eritematozus olduğu, buna bağlı uzun süre steroid kullanımına osteoporoz gelişmiş olduğu öğrenildi. Olgumuzun vücut ağırlığı 54 kg(25p) ve boyu 155 cm(10-25p)'di. Anne ve baba boyu incelendiğinde hedef boyunun (158 cm) altında kalmış olduğu görüldü. Sistem bakılarında HPP lehine olarak değerlendirebileceğimiz başka bir patolojik bulgu yoktu. Tekrar çalıştığımız ALP düzeyi 45 U/L olarak sonuçlandı. Kan kalsiyum seviyesi 9.6 mg/dl ve fosfor düzeyi 4 mg/dl, hiperkalsiüri açısından baktığımız idrar kalsiyum/kreatinin değeri 0.21 olarak sonuçlandı. ALP dizi analizi incelemesinde tüm polimorfizmlerin homozigot olması bize delesyon olduğunu düşündürdü. Üst sınıra yakın bir hiperkalsiürisi mevcuttu. Tüm kemik grafileri radyoloji

uzmanları tarafından normal olarak yorumlandı. DEXA ile kemik dansitometrisi incelemesinde L1-L4 total yoğunluk  $0.951 \text{ g/cm}^2$ , Z skoru  $-0.7$ , femur boynu kemik yoğunluğu  $0.776 \text{ g/cm}^2$ , Z skoru ise  $0.1$  olarak sonuçlandı. Anne ve babada delesyon varlığı araştırmak için sanger yöntemi ile, anne ve baba DNA örnekleri incelendi.



**Şekil 21: Olgu 4'ün grafi görüntüleri**



● :ALP düşüklüğü ve heterozigot delesyon,

● : Sistemik lupus eritematozus tanısı ve steroid kullanımına bağlı osteoporoz,

**Tablo 9: Olgu 4'ün aile ağacı**

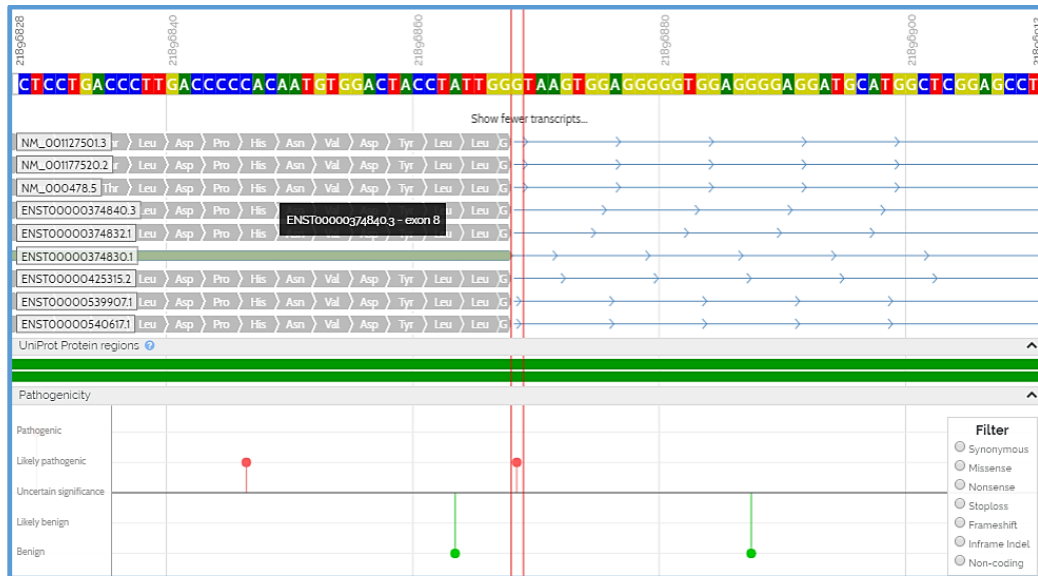
### **Olgu No 5**

Ondokuz yaşında kız olgumuz, infantil dönemde toplam 6 kez nöbet öyküsü olan bu nedenle Çocuk Nöroloji hekimleri nedeni ile takip edilmekteydi. Çocukluk dönemi boyunca antiepileptik kullanımı olduğu öğrenildi. Çekilen elektroensefalografi (EEG) incelemelerinin bu dönem boyunca normal olduğu görüldü. Hastanemizin Çocuk Nöroloji Polikliniği'nde 23 Mart 2017 tarihindeki kontrolünde gönderilen biyokimya örneğinde ALP düzeyi 24 U/L saptandı. Nöbet öyküsünün olması ve ALP düzeyinin düşük olması üzerine çalışma grubuna dahil edildi. Perinatal, antenatal, infantil dönemde tekrarlayan nöbet dışında ek HPP açısından önem teşkil eden anamnez bilgisi yoktu. Kontrole çağrıldı, görüşmede olguda sınırda mental retardasyonunun olduğu öğrenildi. Anne ve babası arasında akrabalık yoktu. Ayrıca soygeçmişini sorgulandığında, 1.derece kuzeninde (halasının oğlu) nöbet öyküsünün, diğer 1.derece kuzeninde (amcasının oğlu) birden fazla nefrolitiazis bulgularının olduğu öğrenildi. Erkek kardeşinin oğlunda da tortikolis mevcuttu. Özgeçmişinde nöbet, soygeçmişinde nefrolitiazis ve nöbet

öyküsünün olması HPP açısından şüphe uyandırmaktaydı. Fizik bakısında ise boy kısalığı mevcuttu. Olgumuzun boyu 151.9 cm'di, bu değer hedef boyunun (155 cm) altındaydı. Ayrıca sağ üst lateral incisor dişinde mediale doğru eğrilik göze çarpılmaktaydı. İskelet sistemi incelendiğinde ise genu valgus vardı. Bunun dışında uzun kemiklerde belirgin bir deformite yoktu. ALP değeri tekrar çalışıldı ve düzeyi 30 U/L olarak sonuçlandı. Hiperkaslemi, hiperfosfatemi ve hiperkalsiüri gibi HPP açısından bizi destekleyen patolojik bulgular saptanmadı. Kemik grafileri çekildi ve radyoloji hekimleri grafilerini normal olarak değerlendirdi. DEXA incelemesi ile bakılan L1-L4 total kemik dansimetrisi 0.696 g/cm<sup>2</sup>, Z skoru -2.4'tü. ALP geni dizi analizi incelemesinde ise 8. intronda, splice bölgesinde yer alan heterozigot c.862+1G>C mutasyonu bulundu. Annenin ve babanın DNA örnekleri sanger yöntemi ile incelendi. Anne ve babasında bu mutasyonun olmadığı görüldü.

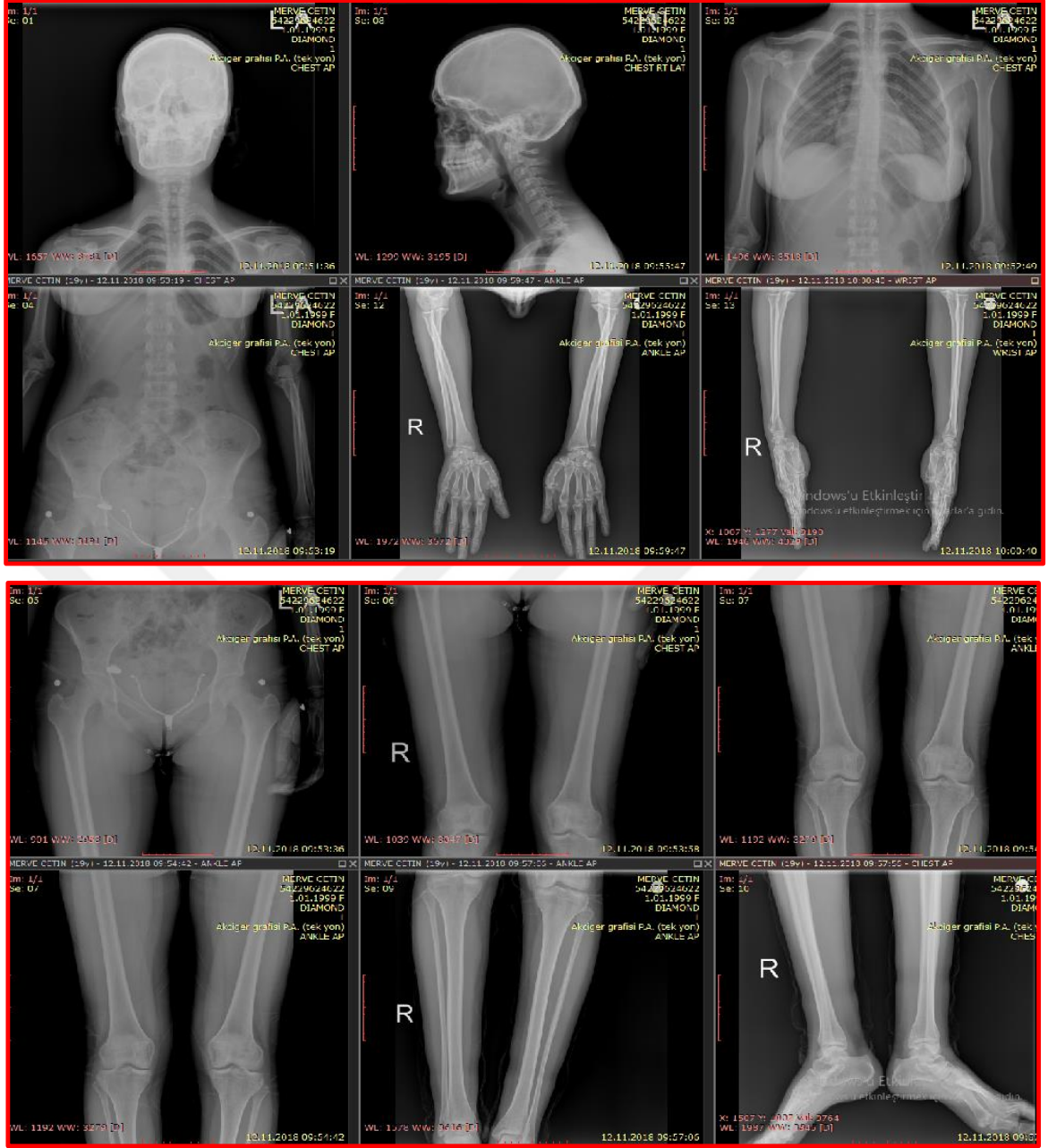
Fizik bakısında üst dişinde yapısal bozukluğu, genu valgusu ve boy kısalığı (boyu:151,9 cm , hedef boy:155 cm ) HPP açısından önem taşımaktaydı. Saptanan mutasyon 8. intronda ve splice bölgesinde yer almaktadır. ACMG kriterlerine göre bu mutasyon patojenik özelliğindedir. Bu bölgede olması traslasyonu büyük ölçüde etkilediği tahmin edilmektedir.

Literatürde araştırıldığında bu mutasyonun daha önce tanımlanmamış olduğu görüldü. Nitekim çekilen kemik dansitometrisinde Z skoru -2.4'tü. Bu mutasyonun kemik dokusunun ossifikasyonunu önemli ölçüde azalttığını desteklemektedir.



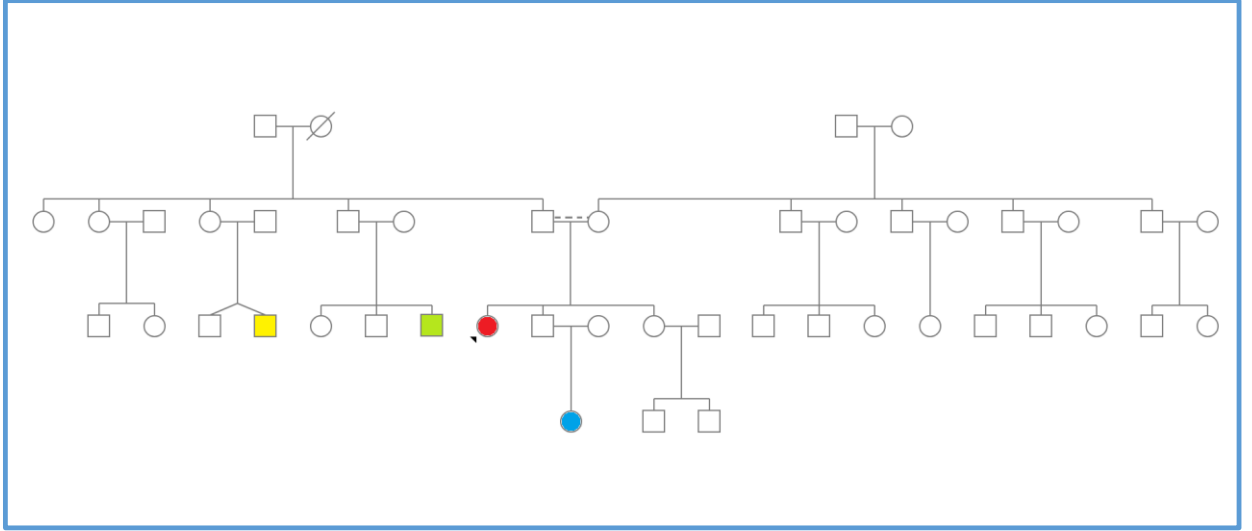
**Şekil 22: Heterozigot c.862+1G>C mutasyonu**





(<https://varsome.com/variant/hg19/ALPL%3Ac.862%2B1G%3EC>)



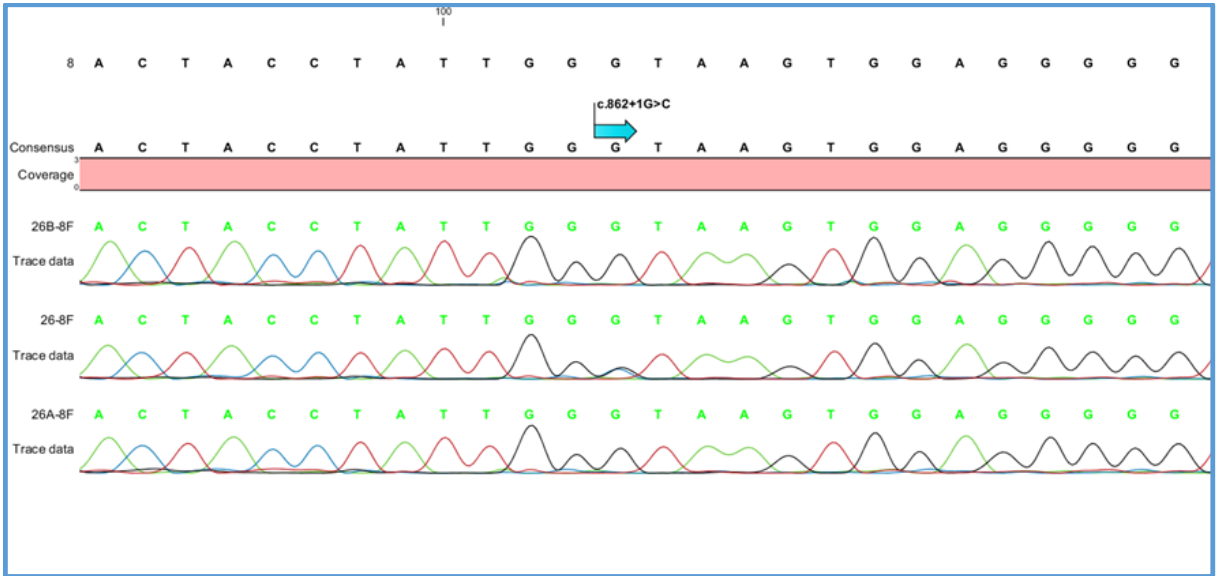
**Şekil 23: Olgu 5'in grafi görüntüleri**

Olgumuzun annesi ve babasının kan örneklerinde mutasyonun olmadığı görüldü. De novo mutasyon olarak karşımıza çıktı. Olgumuzda nöbet öyküsünün varlığı, genu valgus bulgusu ve kemik yoğunluğunun azalmış olması infantil HPP veya çocukluk çağı HPP'si olabileceğini düşündürmektedir. Bu mutasyonun ALP fonksiyonu üzerindeki etkisi ve klinik tabloyla ilişkisini ortaya koymak için ileri araştırma gerekmektedir.



-  : ALP düşüklüğü, nöbet, heterozigot c.862+1G>C mutasyon,
-  : Epilepsi,
-  : Nefrolitiazis,
-  : Tortikolis,

**Tablo 10: Olgu5'in aile ağacı**



**Şekil 24: Olgu 5'in anne ve babasının DNA örneklerinin segregasyon analizi**

**sonucu**



## 5.TARTIŞMA

Çalışmamızda Ocak 2014 - Eylül 2018 arasında, 0-20 yaş arasında olan, ALP düzeyi 40 U/L ve altında değerlere sahip olan 1806 hasta vardı. Bunlar arasında nefrotik sendrom, lösemi, malignite (bu nedenle kemoterapi alanlar), kronik artrit, lupus, polikistik over sendromu, epileptik nöbet, multiple organ yetmezliği, sepsis gibi çeşitli tanıları olanlarla hiçbir tanısı olmayan rutin kontrol amacıyla başvuran çeşitli klinik özelliklere sahip olgular mevcuttu. Olguların geçmiş kayıtları incelendi. Tüm bakılmış olan ALP değerlerine bakıldı. Geçici ALP düşüklüğü olan ve hasta kayıtlarında ALP düşüklüğüne neden olabilecek tedaviler uygulanan ve düşüklüğe neden olabilecek hastalığı olanlar çalışma dışı bırakıldı. Toplam 273 hasta çalışma için uygun görüldü. Bu 273 olgunun tümünün hastane kayıtları ve laboratuvar sonuçları tekrar değerlendirildi. İkinci kez değerlendirme sonrası 147 kişi listeden çıkarıldı. Geriye kalan 126 kişiye telefon ile ulaşılmaya çalışıldı. Görüşme sonrası ulaşılabilen ve kontrol muayeneye gelmeyi kabul eden 30 kişi çalışmaya alındı. Hastaların fizik bakıları tekrarlandı ve anamnez bilgileri sorgulandı.

Otuz olgunun 3'ü erkek 27'si kızdı. Çalışmaya alınan 30 hastanın 3'ü erkek 27'si kızdı. Olguların yaşlarının ortanca değeri 20.35'ti (minimum 6,1 yaş, maximum 22,5 yaş). Otuz hastada da ALP geni dizi analizlerini çalıştık. Yirmi beş hastanın ALPL geni dizi analizi normaldi. Mutasyon saptanan olguların 4'ünde patojenik heterozigot mutasyon: heterozigot *c.657G>T (p.Met219Ile)*, *c.648+1G>A*, *c.542C>T (p.Ser181Leu)*, *c.862+1G>C* ve 1 olguda delesyon saptandı.

Hastalarımızdan, görüşmede çalıştığımız kontrol serum ALP düzeylerinin ortanca değeri 40.5 U/L'ydi (minimum:23 U/L,maximum:194 u/L). Genetik dizi analizi normal olan gruptaki ortanca değeri 41U/L'ydi (minimum:21U/L;maximum:194U/L), mutasyon/delesyon saptanan grupta ise ortanca 30U/L'ydi (minimum:23U/L; maximum45U/L). ALPL gen analizinde mutasyon/delesyon saptanan grupta ALP değerlerini daha düşük bulduk. Her iki grubu kıyasladığımızda bu değer anlamlı olduğunu saptadık (p:0.036). Bazı olgularda üç ALP değeri bazı olgularda toplam bakılmış 2 ALP değeri mevcuttu. Bu nedenle her olgunun ALP ortalama değerini hesapladık. Ortalama ALP değerleri mutasyon/delesyon saptanan grupta ortanca değeri 27 iken genetik incelemesi normal olan grupta 38.3 U/L'ydi. Bu iki grubun ALP ortalama değerleri karşılaştırıldığında anlamlı fark olduğunu gördük(p:0.028).

*Saraff ve arkadaşları* tarafından 2016 yılında, İngiltere’de Birmingham Çocuk Hastanesi’ndeki ALP düşüklüğü olan olgularda hipofosfatazya araştırmıştı[120]. Bu çalışmada daha önceki ağır hipofosfatazya olgular baz alınarak ALP’nin üst sınır değeri 100U/L olarak kararlaştırılmıştı. Çalışmaya 0-16 yaş arası olgular dahil edilmişti. 16 yaşın üzerindeki olguları almama nedenleri 16 yaşın üzerindeki bireylerde ALP’nin alt sınırını 100 U/L’ün altında kabul etmişlerdi. Bu olgular tekrar örnek alınması amacıyla çağrılmıştı. Tekrar düşüklük saptanan olgulardan idrar PEA ve plazma PLP değerleri çalışılmıştı. Kontrol ALP düzeyleri düşük ve yüksek PLP ve PEA değerleri olan olguların radyolojik ve ALP genetik incelemesi yapılmıştı. 8 yıllık süredeki toplam 62.285 hastaya ait örnekler incelenmişti. Çalışılmış olan tüm örnekleri sadece %0.47’sinde ALP düşüklüğü görülmüştü. Bu grubun içerisinde HPP tanısı olan 4 hasta çalışma dışı bırakılmıştı. Kontrol ALP değerleri yüksek olan, daha önceden ALP değeri normal sınırlarda ve 100 U/L’nin üstünde olan olgular dışlanmıştı. Kalan 18 olgunun 3’ünün sepsis, akut böbrek yetmezliği ve travma nedeni ile exitus olduğu öğrenilmişti. Aralıklı kontrollerde 4 olguda ALP düzeylerinin düşük olduğu görülmüştü. Bu olguları 2’sinde idrar PEA ve plazma PLP değerlerinin yüksek olduğu görülmüştü. Bu 2 olgunun 1’inde homozigot diğerinde heterozigot mutasyon saptanmıştı.

*Sarraf ve arkadaşları* ALP’nin sınır değeri 100U/L belirlemişlerdi, *F.E.McKiernan ve arkadaşlarının* 2017’deki persistan hipofosfatazemi olan 2002-2015 yılları arasındaki erişkin olgularda yaptığı çalışmada ALP üst sınır değerini 30 U/L olarak belirlemişler ve 50 kişilik çalışma grubunda %84 oranda ALPL geninde mutasyon saptamışlardı[121]. Biz ise çalışmamızda 40U/L olarak belirledik, amacımız sınır değeri daha düşük tuttuğumuzda seçtiğimiz olgular arasından daha fazla oranda HPP’li olguyu saptama şansımızı arttırmaktır. Hipofosfatazyanın orta ağırlıkta formları ve hafif formlarında ALP düzeyleri daha yüksek seyretmektedir. Ağır hipofosfatazyalı olguları saptamada cutt off değerini düşük tutmak daha akılcı olabilir. Bu sınır değerinin düşük olmasının dezavantajı, hafif formla giden ve ALP düzeyleri daha yüksek seyreden olguları kaçırmamıza yol açabilmesidir.

Sarraf ve arkadaşlarının çalışmasında ilk olarak 18 hastada ALP düşüklüğü nedeni ile çalışma grubuna dahil edilmişti, bunlar arasında 2 hipofosfatazyalı olgu saptandı (%12). Bizim çalışmamızda ise bu oranın daha yüksek olduğu görülmektedir (n=5, %17). Bunun nedeni ALP düzeylerini düşük tutmamız olabilir. Bir diğer nedeni ise Sarraf ve arkadaşları ALP düzeylerinin düşük olan tüm olguları kontrol muayene ve tetkik için çağırılmıştı, hem ALP düşüklüğü hem de klinik olarak HPP düşündüğümüz olguları öncelikle kontrol muayeneye çağırılmış olmamız olabilir. Ayrıca olguların geçmiş kayıtlarını incelememiz, hipofosfatazemi yapacak diğer

nedenleri dışlamamıza yardımcı oldu.

*Sarraf ve arkadaşları* bizden farklı olarak idrar PEA ve plazma PLP değerlerini incelendi. Çalışmalarında mutasyon saptanmış olgularda bu değerlerin yükselmiş olduğu görüldü. Bizim çalışmamızın dezavantajlarından biri de PEA ve PLP çalışmamamız olabilir. Fakat bu değerler destekleyici laboratuvar bulgularıdır. Çalışmaya aldığımız tüm olgulardan kesin tanı açısından ALP dizi analizi çalışıldığı için bu değerler sadece tanısal açıdan desteklemiş olurdu[120].

*Jair Tenorio ve arkadaşlarının* 2017'de yayınlanmış olan hipofosfatazya şüphesi olan hastalarda ALPL'nin moleküler ve klinik analizinin kohort çalışması' adlı makalesinde, 6 ülke (İspanya, İtalya, Rusya, Mısır, Birleşik Arap Emirlikleri, Danimarka) ve 11 farklı hastanede izlenen 83 hasta ve bu hastaların akrabalarından oluşan 28 olgu çalışma grubuna alındı. Tüm olguların klinik, biyokimyasal ve moleküler incelemeleri ele alındı. Klinik formları klinisyenler tarafından bulgularına göre hastaların ağırlık dereceleri sınıflandırıldı. 83 olgunun %43.3'ünde (n=36) mutasyon saptanmış ve bunların 30'nda farklı mutasyon bulundu. Yedi farklı ailenin üyelerinden oluşan 23 hastanın 8'inde mutasyon gösterildi. 83 klinik ve/veya biyokimyasal incelemelerde HPP şüphesi olan olgunun tamamı klinik ve moleküler olarak değerlendirildi. 36 olgunun 6'sı klinik olarak ağır form (perinatal-infantil form), 6'sı çocukluk çağı ve 24'ü erişkin form HPP'li olarak değerlendirildi. Daha önceki çalışmalarda kız ve erkeklerde benzer oranda görüldüğü ileri sürülmüştü, bunun aksine bu çalışmada kızlarda mutasyon oranı daha yüksek saptandı (%69.4). Otuz altı mutasyon içerisinde 11 yeni mutasyon bulundu. Daha önce yapılan çalışmalarda infantil HPP genellikle otozomal resesif kalıtıldığı belirtilmişse de bu çalışmada 1 olguda infantil HPP'nin, hiperkalsemi, kas güçsüzlüğü ve kemik ağrısı, ALP düşüklüğü olan ve otozomal dominant kalıtım gösterdiği görüldü. Bu çalışmada odonto HPP, erişkin HPP ve çocukluk çağı HPP'si olan olgularda otozomal resesif ve otozomal dominant kalıtım arasında fark olmadığı gösterildi. Çocukluk çağı HPP'sinin en az %50'sinde boy kısalığı, kas güçsüzlüğü, kemik ağrısı, uzun kemiklerde fraktür bulguların saptandı. Bu olguların sadece %17'sinde ALP düşüklüğü görüldü. Bu yüzden çocukluk çağı HPP'sini klinik özellikler ışığında tanımlanması gerektiği vurgulandı. Erişkin çağı HPP olarak kabul edilen olguların çoğunda çocukluk çağında bulgularının olduğu bu nedenle atlanmış olabileceği belirtildi [122].

Çalışmamızda *Jair Tenorio ve arkadaşlarının* çalışmasından farklı olarak HPP şüphesi olan olguların ALP düşüklüğünden yola çıkılarak belirledik. *Jair Tenorio ve arkadaşlarının* çalışmasında HPP tanısı olan aile bireylerinin bazıları ve HPP şüphesi klinik ve moleküler açıdan saptanan olgular çalışmaya alınmıştı. Bu nedenle ALP düşüklüğü ön planda

olmayan fakat ALPL geninde mutasyon saptanan bireyleri de değerlendirme fırsatları olduğu görülmektedir. Bu bizim çalışmamızla kıyasla daha yüksek oranda HPP tanısı alan olguların görülmesinin nedeni olabilir.

Diğer çalışmalardan farklı olarak dizi analizleri normal olan grupla mutasyon/delesyon saptadığımız olgular arasında anamnez bilgilerini, ALP düşüklüğünü, fizik bakı bulgularını karşılaştırdık. İki grup arasında anamnez açısından anlamlı fark saptamadık. *Ekzon 6'da patojenik heterozigot c.648+1G>A* mutasyon saptadığımız 2. olgumuzda fizik bakısında pektus ekskavatum bulgusu saptandı. Bu mutasyon daha önce 2001 yılında *Consalato Sergi ve arkadaşları tarafından*, perinatal HPP'li olan olguda rapor edildi. Alman bir anne ve Güney Amerikalı bir babanın, ağır iskelet deformitesi nedeni ile 22+4 haftalık iken terminasyon ile sonuçlanan çocuklarında saptandı. Bu fetusun ALPL geni mutasyon analizinde heterozigot c.648+1G>A ve ekzon 11'de yer alan heterozigot N400S mutasyonu olduğu görüldü. İntrauterin dönemde ekstremitelerde kısalık olduğu, ağır kemik mineralizasyonda azalma olduğu saptandı. Bu olgu raporundan önce 3 olguda da bu birleşik heterozigot mutasyon saptandığı ve bunların ikisi exitus ile sonuçlandığı, diğeri ise erişkin HPP olarak klinik bulgu verdiği (*E. Mornet*) öğrenildi.

Olgu 3'te *ekzon 6'da görülen patojenik/muhtemel patojenik olabilecek, missens heterozigot c.542C>T (p.Ser181Leu) mutasyonu* saptandı. Literatür incelendiğinde 2001 yılında *Lia-baldini ve arkadaşları tarafından* 15 yaşında bir kızda aynı heterozigot mutasyonu saptandı. Bu hastanın doğumda alt ve üst ekstremitelerde eğiklik ve dwarfizm bulgularının mevcuttu. Radyolojik olarak ciddi patolojik grafi bulgusu yoktu, alınan kemik biopsisinde kemik mineralizasyonun bozuktu. Olgu 3'te de çocukluk çağında başlayan ve devam eden skolyozu görüldü. Bu olgumuzda kemik yoğunluğunda belirgin azalma olduğunu gördük.

Olgu 4'ün fizik bakısından boy kısalığı mevcuttu (boyu 155 cm hedef boyu 158 cm). Çocukluk çağında ise 2 kez travmaya bağlı kırık olduğunu öğrendik. Kemik dansitometrisinde Z skoru -0,7'ydi, hafif bir azalmanın olduğunu söyleyebiliriz. ALPL geni dizi analizinde delesyon saptandı. Anne ve baba kan örneklerinin dizi analizi çalışması devam etmektedir.

Olgu 5'te heterozigot c.862+1G>C mutasyonu 8. İntron bölgesinde ve splice bölgesindeydi. ACMG kriterlerine göre bu mutasyon patojenik özellikteydi, splice bölgesinde olması translasyonu önemli derecede etkileyeceğinden HPP açısından patojenitesi yüksek mutasyon olabileceği düşündük. Anne ve babasının esregasyonu incelendiğinde bu mutasyonun de novo mutasyon olduğu görüldü. Literatür incelendiğinde daha önce saptanmamıştı, infantil dönemde epileptik nöbetlerinin başlamış olduğu ve çocukluk çağında antiepileptik kullanmış

olduğu öğrenildi. Soygeçmişinde ise nefrolitiazis ve nöbet öyküsü olan bireyler vardı. Fizik bakısında üst dişinde yapısal bozukluğu, genu valgusu ve boy kısalığı ( boyu:151,9 cm, hedef boy:155 cm). Kemik dansitometrisinde Z skoru oldukça düşüktü (Z skoru :-2.4).

## 6.SONUÇ

1)Hipofosfatazya nadir görülen çeşitli bulgularla karşımıza çıkabilen bir hastalık olması nedeni ile kolay atlanabilen bir hastalıktır. Ağır formlarında tanı koymak çok gecikmese de hafif formları uzun bir süre tanı almadıkları görülmektedir.

2)Tüm hipofosfatazyalı olgularda serum ALP düşüklüğü görülür. ALP düşüklüğüne neden olabilecek birçok hastalık, tedavi bulunmaktadır. ALP düşüklüğü kesin tanı değildir. Kesin tanı ALPL dizi analizi ile konulur.

3)Daha önceki çalışmalarda ALP düzeyleri düşük olan olgularda ALP sınır değeri yaşa göre normal ya da 100 U/L olarak alındığı görüldü. Diğer bir çalışmada ise ALP sınır değeri 30 U/L alınınca hipofosfatazyalı olguların daha yüksek oranda saptandığı fakedildi. Biz de çalışmamızda bu sınır değeri daha düşük tuttuk (40U/L).

4) Ege Üniversitesi Hastanesi'nde Ocak 2014-Eylül 2018 tarihleri arasında, ALP değerleri 40U/L'nin altında olan, 0-20 yaş arasındaki olguları çalışmaya aldık. Bu şartları sağlayan 1806 hasta mevcuttu. Hastaların hastane kayıtları incelendi, daha önceki öneklerinde ALP yüksekliği ve/veya normal ALP değerleri olan olgular çalışmadan dışladık. Hastane kayıtlarında bulgu olarak hipofosfatazya düşündürecek olan olguları seçtik. Çalışma listemizde 273 olgu mevcuttu. Bu olguların tekrar hastane kayıtları incelemeyi geçirdik. ALP düşüklüğü ve hipofosfatazya olabilecek toplam 126 hasta listemize alındı. Bu hastalara hastanemizde kayıtlı olan telefon numaraları ile kontrol muayene için gelmeleri gerektiği anlatıldı.

5) Ulaşabildiğimiz ve görüşmeyi kabul eden otuz olgumuzu çalışmaya aldık. Hipofosfatazya ile ilgili anamnezlerini, soygeçmişlerini sorguladık, fizik bakılarını not ettik.

6) Toplam yirmi beş hastada ALPL dizi analizi normal sonuçlandı, 4 olgumuzda ise mutasyon 1 olgumuzda da delesyon saptandı.

7) Otuz olgunun 3'ü erkeği 27'si kızdı. Mutasyon/delesyon saptanan gruptaki hastaların tamamı kızdı.

8) Ortanca yaş 20,35'ti, en küçük hastamız 6,1 yaşında, en büyük hastamız 22.5 yaşındaydı.

9) Mutasyon/delesyon saptanan olgularla normal saptanan grup karşılaştırıldığında,

kontrol ALP değerleri arasında anlamı fark olduğu görüldü. Mutasyon/delesyon grubunda ortanca değer 30U/L iken, normal grupta bu değer 41 U/L 'ydi (p=0.036). ALP ortalamaları kıyaslanınca da anlamlı farklılık olduğunu görüldü.

**10)**Saptadığımız 2 mutasyon daha önce literatürde belirtilmişti. *Ekzon 6'da patojenik heterozigot c.648+1G>A* mutasyon saptadığımız 2. olgumuzda fizik bakısında pektus ekskavatum bulgusu mevcuttu. Bu mutasyon daha önce 2001 yılında *Consalato Sergi ve arkadaşları tarafından*, perinatal HPP'li olan olguda rapor edildi. Alman bir anne ve Güney Amerikalı bir babanın, ağır iskelet deformitesi nedeni ile 22+4 haftalık iken terminasyon ile sonuçlanan çocuklarında saptandı. Bu fetusun ALPL geni mutasyon analizinde heterozigot c.648+1G>A ve ekzon 11'de yer alan heterozigot N400S mutasyonu olduğu görüldü.

**11)** Olgu 3'te *ekzon 6'da görülen patojenik/muhtemel patojenik olabilecek, missens heterozigot c.542C>T (p.Ser181Leu) mutasyonu* saptandı. Literatür incelendiğinde 2001 yılında *Lia-baldini ve arkadaşları tarafından* 15 yaşında bir kızda aynı heterozigot mutasyonu saptandı. Bu hastanın doğumda alt ve üst ekstremitelerde eğiklik ve dwarfizm bulgularının mevcuttu. Radyolojik olarak ciddi patolojik grafi bulgusu yoktu, alınan kemik biopsisinde kemik mineralizasyonun bozuktu. Bizim olgumuzda ise çocukluk çağında başlayan ve devam eden skolyozu görüldü ve incelemelerde kemik yoğunluğu azaldığını gördük.

**12)** Diğer olgularımızda yeni mutasyonlar saptadık. Olgu 5'te splice bölgesinde saptanan bu mutasyonun ALP'de belirgin disfonksiyon oluşturduğunu gördük. Fizik bakısında ise boy kısalığı, kemik yoğunluğunda belirgin azalma, genu valgus görüldü. Ayrıca infantil dönemde başlayan nöbetlerinin olduğunu öğrendik. Anne ve baba DNA örneklerini incelediğimizde ise bu mutasyonun olmadığını de novo olarak karşımaza çıktığını gördük.

**13)** Sağlıklı grupta mutasyon/delesyon grubunun fizik bakılarında patolojik bulgularını kıyasladığımızda ekstremitte kemik deformitelerinin mutasyon/delesyon grubunda anlamlı artış mevcuttu (p=0.009).

**14)** Sarraf ve arkadaşlarının yaptığı çalışmayla kıyasladığımızda ALP sınır değerini daha düşük tuttuğumuz ve hasta kayıtlarını retrospektif incelediğimizde daha yüksek oranda hipofosfatazyalı olguları saptayabildik.

**15)** Hipofosfatazyanın klinik bulgularının çeşitliliği olduğunu ve hafif formda hipofosfatazya olgularının olabileceğini aklımızdan çıkarmamalıyız. ALP düşüklüğü olan olgularda hipofosfatazya kliniği açısından tekrar bir değerlendirilme yapılmalıdır. Klinik ve ALP düşüklüğü birlikte değerlendirmemiz hipofosfatazya olgularına tanı koyma başarımızı arttıracaktır.

### KAYNAKLAR:

- [1] J. C. RATHBUN, "Hypophosphatasia; a new developmental anomaly.," *Am. J. Dis. Child.*, vol. 75, no. 6, pp. 822–31, Jun. 1948.
- [2] D. FRASER, "Hypophosphatasia.," *Am. J. Med.*, vol. 22, no. 5, pp. 730–46, May 1957.
- [3] E. H. SOBEL, L. C. CLARK, R. P. FOX, and M. ROBINOW, "Rickets, deficiency of alkaline phosphatase activity and premature loss of teeth in childhood.," *Pediatrics*, vol. 11, no. 4, pp. 309–22, Apr. 1953.
- [4] J. C. RATHBUN, "Hypophosphatasia.," *Helv. Paediatr. Acta*, vol. 14, pp. 548–53, Dec. 1959.
- [5] J. C. RATHBUN, J. W. MACDONALD, H. M. ROBINSON, and J. M. WANKLIN, "Hypophosphatasia: a genetic study.," *Arch. Dis. Child.*, vol. 36, pp. 540–2, Oct. 1961.
- [6] E. Mornet and B. Simon-Bouy, "Génétique de l'hypophosphatasie," *Arch. Pédiatrie*, vol. 11, no. 5, pp. 444–448, May 2004.
- [7] N. C. Orton, A. M. Innes, A. E. Chudley, and N. T. Bech-Hansen, "Unique disease heritage of the Dutch-German Mennonite population," *Am. J. Med. Genet. Part A*, vol. 146A, no. 8, pp. 1072–1087, Apr. 2008.
- [8] C. R. Greenberg *et al.*, "Infantile hypophosphatasia: localization within chromosome region 1p36.1-34 and prenatal diagnosis using linked DNA markers.," *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 46, no. 2, pp. 286–92, Feb. 1990.
- [9] E. Mornet, A. Yvard, A. Taillandier, D. Fauvert, and B. Simon-Bouy, "A molecular-based estimation of the prevalence of hypophosphatasia in the European population.," *Ann. Hum. Genet.*, vol. 75, no. 3, pp. 439–45, May 2011.
- [10] A. Watanabe *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.*, vol. 56, no. 2, pp. 166–168, Feb. 2011.
- [11] J. L. Millán and John Wiley & Sons., *Mammalian alkaline phosphatases : from biology to applications in medicine and biotechnology*. Wiley-VCH, 2006.
- [12] M. H. Le Du, T. Stigbrand, M. J. Taussig, A. Ménez, and E. A. Stura, "Crystal Structure of Alkaline Phosphatase from Human Placenta at 1.8 Å Resolution," *J. Biol. Chem.*, vol.

- 276, no. 12, pp. 9158–9165, Mar. 2001.
- [13] M.-H. Le Du and J. L. Millán, “Structural Evidence of Functional Divergence in Human Alkaline Phosphatases,” *J. Biol. Chem.*, vol. 277, no. 51, pp. 49808–49814, Dec. 2002.
- [14] C. Hummer and J. L. Millán, “Gly429 is the major determinant of uncompetitive inhibition of human germ cell alkaline phosphatase by L-leucine.,” *Biochem. J.*, vol. 274 ( Pt 1), pp. 91–5, Feb. 1991.
- [15] M. F. Hoylaerts, T. Manes, and J. L. Millán, “Molecular mechanism of uncompetitive inhibition of human placental and germ-cell alkaline phosphatase.,” *Biochem. J.*, vol. 286 ( Pt 1), no. Pt 1, pp. 23–30, Aug. 1992.
- [16] A. Kozlenkov, T. Manes, M. F. Hoylaerts, and J. L. Millán, “Function Assignment to Conserved Residues in Mammalian Alkaline Phosphatases,” *J. Biol. Chem.*, vol. 277, no. 25, pp. 22992–22999, Jun. 2002.
- [17] M. F. Hoylaerts, T. Manes, and J. L. Millán, “Mammalian alkaline phosphatases are allosteric enzymes.,” *J. Biol. Chem.*, vol. 272, no. 36, pp. 22781–7, Sep. 1997.
- [18] D. Fauvert *et al.*, “Mild forms of hypophosphatasia mostly result from dominant negative effect of severe alleles or from compound heterozygosity for severe and moderate alleles,” *BMC Med. Genet.*, vol. 10, no. 1, p. 51, Dec. 2009.
- [19] M. F. Hoylaerts, S. Van kerckhoven, T. Kiffer-Moreira, C. Sheen, S. Narisawa, and J. L. Millán, “Functional Significance of Calcium Binding to Tissue-Nonspecific Alkaline Phosphatase,” *PLoS One*, vol. 10, no. 3, p. e0119874, Mar. 2015.
- [20] M. J. Weiss, P. S. Henthorn, M. A. Lafferty, C. Slaughter, M. Raducha, and H. Harris, “Isolation and characterization of a cDNA encoding a human liver/bone/kidney-type alkaline phosphatase.,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 83, no. 19, pp. 7182–6, Oct. 1986.
- [21] C. Halling Linder, S. Narisawa, J. L. Millán, and P. Magnusson, “Glycosylation differences contribute to distinct catalytic properties among bone alkaline phosphatase isoforms.,” *Bone*, vol. 45, no. 5, pp. 987–93, Nov. 2009.
- [22] S. Y. Ali, S. W. Sajdera, and H. C. Anderson, “Isolation and characterization of calcifying matrix vesicles from epiphyseal cartilage.,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 67, no. 3, pp. 1513–20, Nov. 1970.
- [23] G. W. Bernard, “Ultrastructural localization of alkaline phosphatase in initial intramembranous osteogenesis.,” *Clin. Orthop. Relat. Res.*, no. 135, pp. 218–25, Sep. 1978.



- [24] D. C. Morris, K. Masuhara, K. Takaoka, K. Ono, and H. C. Anderson, "Immunolocalization of alkaline phosphatase in osteoblasts and matrix vesicles of human fetal bone.," *Bone Miner.*, vol. 19, no. 3, pp. 287–98, Dec. 1992.
- [25] H. C. Anderson *et al.*, "Sustained Osteomalacia of Long Bones Despite Major Improvement in Other Hypophosphatasia-Related Mineral Deficits in Tissue Nonspecific Alkaline Phosphatase/Nucleotide Pyrophosphatase Phosphodiesterase 1 Double-Deficient Mice," *Am. J. Pathol.*, vol. 166, no. 6, pp. 1711–1720, Jun. 2005.
- [26] H. C. Anderson, H. H. Hsu, D. C. Morris, K. N. Fedde, and M. P. Whyte, "Matrix vesicles in osteomalacic hypophosphatasia bone contain apatite-like mineral crystals.," *Am. J. Pathol.*, vol. 151, no. 6, pp. 1555–61, Dec. 1997.
- [27] H. C. Anderson *et al.*, "Impaired calcification around matrix vesicles of growth plate and bone in alkaline phosphatase-deficient mice.," *Am. J. Pathol.*, vol. 164, no. 3, pp. 841–7, Mar. 2004.
- [28] A. M. S. Simão *et al.*, "Proteoliposomes Harboring Alkaline Phosphatase and Nucleotide Pyrophosphatase as Matrix Vesicle Biomimetics," *J. Biol. Chem.*, vol. 285, no. 10, pp. 7598–7609, Mar. 2010.
- [29] M. C. Yadav *et al.*, "Loss of skeletal mineralization by the simultaneous ablation of PHOSPHO1 and alkaline phosphatase function: A unified model of the mechanisms of initiation of skeletal calcification," *J. Bone Miner. Res.*, vol. 26, no. 2, pp. 286–297, Feb. 2011.
- [30] S. P. Coburn, A. Slominski, J. Dennis Mahuren, J. Wortsman, L. Hesse, and J. L. Millan, "Cutaneous Metabolism of Vitamin B-6," *J. Invest. Dermatol.*, vol. 120, no. 2, pp. 292–300, Feb. 2003.
- [31] J. N. Jansonius, "Structure, evolution and action of vitamin B6-dependent enzymes.," *Curr. Opin. Struct. Biol.*, vol. 8, no. 6, pp. 759–69, Dec. 1998.
- [32] M. P. Whyte *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.*, vol. 95, no. 4, pp. 1440–1445, Apr. 1995.
- [33] B. N. Chodirker, S. P. Coburn, L. E. Seargeant, M. P. Whyte, and C. R. Greenberg, "Increased plasma pyridoxal-5'-phosphate levels before and after pyridoxine loading in carriers of perinatal/infantile hypophosphatasia.," *J. Inherit. Metab. Dis.*, vol. 13, no. 6, pp. 891–6, 1990.

- [34] K. G. Waymire, J. D. Mahuren, J. M. Jaje, T. R. Guilarte, S. P. Coburn, and G. R. MacGregor, "Mice lacking tissue non-specific alkaline phosphatase die from seizures due to defective metabolism of vitamin B-6," *Nat. Genet.*, vol. 11, no. 1, pp. 45–51, Sep. 1995.
- [35] S. Narisawa, N. Fröhlander, and J. L. Millán, "Inactivation of two mouse alkaline phosphatase genes and establishment of a model of infantile hypophosphatasia," *Dev. Dyn.*, vol. 208, no. 3, pp. 432–446, Mar. 1997.
- [36] S. Narisawa, C. Wennberg, and J. Luis Millán, "Abnormal vitamin B6 metabolism in alkaline phosphatase knock-out mice causes multiple abnormalities, but not the impaired bone mineralization," *J. Pathol.*, vol. 193, no. 1, pp. 125–133, Jan. 2001.
- [37] K. N. Fedde *et al.*, "Alkaline Phosphatase Knock-Out Mice Recapitulate the Metabolic and Skeletal Defects of Infantile Hypophosphatasia," *J. Bone Miner. Res.*, vol. 14, no. 12, pp. 2015–2026, Dec. 1999.
- [38] K. N. Fedde and M. P. Whyte, "Alkaline phosphatase (tissue-nonspecific isoenzyme) is a phosphoethanolamine and pyridoxal-5'-phosphate ectophosphatase: normal and hypophosphatasia fibroblast study," *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 47, no. 5, pp. 767–75, Nov. 1990.
- [39] M. P. Whyte, J. D. Mahuren, L. A. Vrabel, and S. P. Coburn, "Markedly increased circulating pyridoxal-5'-phosphate levels in hypophosphatasia. Alkaline phosphatase acts in vitamin B6 metabolism," *J. Clin. Invest.*, vol. 76, no. 2, pp. 752–756, Aug. 1985.
- [40] H. L. Fleshood and H. C. Pitot, "The metabolism of O-phosphorylethanolamine in animal tissues. II. Metabolic regulation of O-phosphorylethanolamine phospho-lyase in vivo," *Arch. Biochem. Biophys.*, vol. 141, no. 2, pp. 423–9, Dec. 1970.
- [41] J. L. Millán, M. P. Whyte, L. V. Avioli, and W. H. Fishman, "Hypophosphatasia (adult form): quantitation of serum alkaline phosphatase isoenzyme activity in a large kindred," *Clin. Chem.*, vol. 26, no. 7, pp. 840–5, Jun. 1980.
- [42] H. A. Goldberg, K. J. Warner, M. C. Li, and G. K. Hunter, "Binding of bone sialoprotein, osteopontin and synthetic polypeptides to hydroxyapatite," *Connect. Tissue Res.*, vol. 42, no. 1, pp. 25–37, 2001.
- [43] B. Christensen, M. S. Nielsen, K. F. Haselmann, T. E. Petersen, and E. S. Sørensen, "Post-translationally modified residues of native human osteopontin are located in clusters: identification of 36 phosphorylation and five O-glycosylation sites and their biological implications," *Biochem. J.*, vol. 390, no. 1, pp. 285–292, Aug. 2005.

- [44] G. K. Hunter, C. L. Kyle, and H. A. Goldberg, "Modulation of crystal formation by bone phosphoproteins: structural specificity of the osteopontin-mediated inhibition of hydroxyapatite formation.," *Biochem. J.*, vol. 300 ( Pt 3), no. Pt 3, pp. 723–8, Jun. 1994.
- [45] S. Narisawa, M. C. Yadav, and J. L. Millán, "In vivo overexpression of tissue-nonspecific alkaline phosphatase increases skeletal mineralization and affects the phosphorylation status of osteopontin.," *J. Bone Miner. Res.*, vol. 28, no. 7, pp. 1587–98, Jul. 2013.
- [46] R. F. Goldberg *et al.*, "Intestinal alkaline phosphatase is a gut mucosal defense factor maintained by enteral nutrition.," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 105, no. 9, pp. 3551–6, Mar. 2008.
- [47] M. S. Malo *et al.*, "Intestinal alkaline phosphatase preserves the normal homeostasis of gut microbiota," *Gut*, vol. 59, no. 11, pp. 1476–1484, Nov. 2010.
- [48] M. S. Malo *et al.*, "Intestinal alkaline phosphatase promotes gut bacterial growth by reducing the concentration of luminal nucleotide triphosphates," *Am. J. Physiol. Liver Physiol.*, vol. 306, no. 10, pp. G826–G838, May 2014.
- [49] M. Pettengill *et al.*, "Soluble ecto-5'-nucleotidase (5'-NT), alkaline phosphatase, and adenosine deaminase (ADA1) activities in neonatal blood favor elevated extracellular adenosine.," *J. Biol. Chem.*, vol. 288, no. 38, pp. 27315–26, Sep. 2013.
- [50] S. E. Street *et al.*, "Tissue-Nonspecific Alkaline Phosphatase Acts Redundantly with PAP and NT5E to Generate Adenosine in the Dorsal Spinal Cord," *J. Neurosci.*, vol. 33, no. 27, pp. 11314–11322, Jul. 2013.
- [51] R. V. Thakker, *Genetics of bone biology and skeletal disease*. Academic Press, 2013.
- [52] M. P. Whyte *et al.*, "Hypophosphatasia: Validation and expansion of the clinical nosology for children from 25years experience with 173 pediatric patients," *Bone*, vol. 75, pp. 229–239, Jun. 2015.
- [53] D. Wenkert *et al.*, "Hypophosphatasia: Nonlethal disease despite skeletal presentation in utero (17 new cases and literature review)," *J. Bone Miner. Res.*, vol. 26, no. 10, pp. 2389–2398, Oct. 2011.
- [54] C. R. Scriver and D. Cameron, "Pseudohypophosphatasia," *N. Engl. J. Med.*, vol. 281, no. 11, pp. 604–606, Sep. 1969.
- [55] M. P. Whyte, S. L. Teitelbaum, W. A. Murphy, M. A. Bergfeld, and L. V. Avioli, "Adult hypophosphatasia. Clinical, laboratory, and genetic investigation of a large kindred with review of the literature.," *Medicine (Baltimore)*, vol. 58, no. 5, pp. 329–47, Sep. 1979.

- [56] R. AL Sutton, S. Mumm, S. P. Coburn, K. L. Ericson, and M. P. Whyte, “Atypical femoral fractures’ during bisphosphonate exposure in adult hypophosphatasia,” *J. Bone Miner. Res.*, vol. 27, no. 5, pp. 987–994, May 2012.
- [57] T. Lundgren, O. Westphal, P. Bolme, T. Modéer, and J. G. Norén, “Retrospective study of children with hypophosphatasia with reference to dental changes.,” *Scand. J. Dent. Res.*, vol. 99, no. 5, pp. 357–64, Oct. 1991.
- [58] H. Khandwala, S. Mumm, and M. Whyte, “Low Serum Alkaline Phosphatase Activity and Pathologic Fracture: Case Report and Brief Review of Hypophosphatasia Diagnosed in Adulthood,” *Endocr. Pract.*, vol. 12, no. 6, pp. 676–681, Nov. 2006.
- [59] J. D. Coe, W. A. Murphy, and M. P. Whyte, “Management of femoral fractures and pseudofractures in adult hypophosphatasia.,” *J. Bone Joint Surg. Am.*, vol. 68, no. 7, pp. 981–90, Sep. 1986.
- [60] M. P. Whyte, “Atypical Femoral Fractures, Bisphosphonates, and Adult Hypophosphatasia,” *J. Bone Miner. Res.*, vol. 24, no. 6, pp. 1132–1134, Jun. 2009.
- [61] A. J. Chuck, M. G. Pattrick, E. Hamilton, R. Wilson, and M. Doherty, “Crystal deposition in hypophosphatasia: a reappraisal.,” *Ann. Rheum. Dis.*, vol. 48, no. 7, pp. 571–6, Jul. 1989.
- [62] M. P. Whyte, W. A. Murphy, and M. D. Fallon, “Adult hypophosphatasia with chondrocalcinosis and arthropathy. Variable penetrance of hypophosphatasemia in a large Oklahoma kindred.,” *Am. J. Med.*, vol. 72, no. 4, pp. 631–41, Apr. 1982.
- [63] N. Guañabens *et al.*, “Calcific Periarthritis as the Only Clinical Manifestation of Hypophosphatasia in Middle-Aged Sisters,” *J. Bone Miner. Res.*, vol. 29, no. 4, pp. 929–934, Apr. 2014.
- [64] M. N. Lassere and J. G. Jones, “Recurrent calcific periarthritis, erosive osteoarthritis and hypophosphatasia: a family study.,” *J. Rheumatol.*, vol. 17, no. 9, pp. 1244–8, Sep. 1990.
- [65] M. Fallon, S. Teitelbaum, R. Weinstein, S. G.- Medicine, and undefined 1984, “Hypophosphatasia: clinicopathologic comparison of the infantile, childhood, and adult forms.,” *europemc.org*.
- [66] S. S. Seshia, G. Derbyshire, J. C. Haworth, and J. Hoogstraten, “Myopathy with hypophosphatasia.,” *Arch. Dis. Child.*, vol. 65, no. 1, pp. 130–1, Jan. 1990.
- [67] M. P. Whyte *et al.*, “Chronic Recurrent Multifocal Osteomyelitis Mimicked in Childhood Hypophosphatasia\*,” *J. Bone Miner. Res.*, vol. 24, no. 8, pp. 1493–1505, Aug. 2009.

- [68] J. P. Bilezikian, L. G. (Lawrence G. Raisz, and T. J. Martin, *Principles of bone biology*. Elsevier, 2008.
- [69] K. Kozlowski *et al.*, “Hypophosphatasia,” *Pediatr. Radiol.*, vol. 5, no. 2, pp. 103–117, 1976.
- [70] H. Collmann, E. Mornet, S. Gattenlöhner, ... C. B.-C. N., and undefined 2009, “Neurosurgical aspects of childhood hypophosphatasia,” *Springer*.
- [71] M. P. Whyte *et al.*, “Enzyme-Replacement Therapy in Life-Threatening Hypophosphatasia,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 366, no. 10, pp. 904–913, Mar. 2012.
- [72] M. P. Whyte, R. Valdes, L. M. Ryan, and W. H. McAlister, “Infantile hypophosphatasia: enzyme replacement therapy by intravenous infusion of alkaline phosphatase-rich plasma from patients with Paget bone disease.,” *J. Pediatr.*, vol. 101, no. 3, pp. 379–86, Sep. 1982.
- [73] M. Whyte, ... C. R.-G.-T. J. of, and undefined 2016, “Asfotase alfa treatment improves survival for perinatal and infantile hypophosphatasia,” *academic.oup.com*.
- [74] M. M. Silver, G. A. Vilos, and K. J. Milne, “Pulmonary hypoplasia in neonatal hypophosphatasia.,” *Pediatr. Pathol.*, vol. 8, no. 5, pp. 483–93, 1988.
- [75] M. Shohat, D. L. Rimoin, H. E. Gruber, and R. S. Lachman, “Perinatal lethal hypophosphatasia; clinical, radiologic and morphologic findings.,” *Pediatr. Radiol.*, vol. 21, no. 6, pp. 421–7, 1991.
- [76] M. P. Whyte, J. Dennis Mahuren, K. N. Fedde, F. Sessions Cole, E. R. B. McCabe, and S. P. Coburn, “Perinatal Hypophosphatasia: Tissue Levels of Vitamin B6 Are Unremarkable Despite Markedly Increased Circulating Concentrations of Pyridoxal-5'-Phosphate Evidence for an Ectoenzyme Role for Tissue-nonspecific Alkaline Phosphatase.”
- [77] M. J. Weiss, K. Ray, P. S. Henthorn, B. Lamb, T. Kadesch, and H. Harris, “Structure of the human liver/bone/kidney alkaline phosphatase gene.,” *J. Biol. Chem.*, vol. 263, no. 24, pp. 12002–10, Aug. 1988.
- [78] M. Studer, M. Terao, M. Gianni, and E. Garattini, “Characterization of a second promoter for the mouse liver/bone/kidney-type alkaline phosphatase gene: cell and tissue specific expression.,” *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 179, no. 3, pp. 1352–60, Sep. 1991.
- [79] S. Matsuura, F. Kishi, and T. Kajii, “Characterization of a 5'-flanking region of the human liver/bone/kidney alkaline phosphatase gene: Two kinds of mRNA from a single

- gene,” *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 168, no. 3, pp. 993–1000, May 1990.
- [80] I. Brun-Heath *et al.*, “Differential expression of the bone and the liver tissue non-specific alkaline phosphatase isoforms in brain tissues,” *Cell Tissue Res.*, vol. 343, no. 3, pp. 521–536, Mar. 2011.
- [81] M. J. Weiss *et al.*, “A missense mutation in the human liver/bone/kidney alkaline phosphatase gene causing a lethal form of hypophosphatasia,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 85, no. 20, pp. 7666–9, Oct. 1988.
- [82] E. Mornet, “Hypophosphatasia: The mutations in the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene,” *Hum. Mutat.*, vol. 15, no. 4, pp. 309–315, Apr. 2000.
- [83] E. Mornet, “Molecular Genetics of Hypophosphatasia and Phenotype-Genotype Correlations,” in *Sub-cellular biochemistry*, vol. 76, 2015, pp. 25–43.
- [84] A. Taillandier, S.-L. Sallinen, I. Brun-Heath, P. De Mazancourt, J.-L. Serre, and E. Mornet, “Childhood hypophosphatasia due to a de novo missense mutation in the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 90, no. 4, pp. 2436–9, Apr. 2005.
- [85] H. Zhang *et al.*, “Identification of the Mutations in the Tissue-nonspecific Alkaline Phosphatase Gene in Two Chinese Families with Hypophosphatasia,” *Arch. Med. Res.*, vol. 43, no. 1, pp. 21–30, Jan. 2012.
- [86] M. Hancarova *et al.*, “Hypophosphatasia due to uniparental disomy,” *Bone*, vol. 81, pp. 765–766, Dec. 2015.
- [87] A. Watanabe, S. Satoh, A. Fujita, B. T. Naing, H. Orimo, and T. Shimada, “Perinatal hypophosphatasia caused by uniparental isodisomy,” *Bone*, vol. 60, pp. 93–97, Mar. 2014.
- [88] T. Michigami, T. Uchihashi, A. Suzuki, K. Tachikawa, S. Nakajima, and K. Ozono, “Common mutations F310L and T1559del in the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene are related to distinct phenotypes in Japanese patients with hypophosphatasia,” *Eur. J. Pediatr.*, vol. 164, no. 5, pp. 277–282, May 2005.
- [89] H. Orimo, M. Goseki-Sone, M. Inoue, Y. Tsubakio, T. Sakiyama, and T. Shimada, “Importance of deletion of T at nucleotide 1559 in the tissue-nonspecific alkaline phosphatase gene in Japanese patients with hypophosphatasia,” *J. Bone Miner. Metab.*, vol. 20, no. 1, pp. 28–33, 2002.
- [90] C. R. Greenberg *et al.*, “A Homoallelic Gly317 → Asp Mutation in ALPL Causes the Perinatal (Lethal) Form of Hypophosphatasia in Canadian Mennonites,” *Genomics*, vol.

- 17, no. 1, pp. 215–217, Jul. 1993.
- [91] M. P. Whyte, “Hypophosphatasia-aetiology, nosology, pathogenesis, diagnosis and treatment,” *Nat. Rev. Endocrinol.*, vol. 12, no. 4, pp. 233–246, 2016.
- [92] M. Hérasse, M. Spentchian, A. Taillandier, and E. Mornet, “Evidence of a founder effect for the tissue-nonspecific alkaline phosphatase (TNSALP) gene E174K mutation in hypophosphatasia patients,” *Eur. J. Hum. Genet.*, vol. 10, no. 10, pp. 666–668, Oct. 2002.
- [93] A. M. BARRETT, D. V FAIRWEATHER, R. A. MCCANCE, and A. B. MORRISON, “Genetic, clinical, biochemical, and pathological features of hypophosphatasia; based on the study of a family.,” *Q. J. Med.*, vol. 25, no. 100, pp. 523–37, Oct. 1956.
- [94] K. Blau, J. M. Rattenbury, J. Pryse-Davies, P. Clark, and M. Sandler, “Prenatal detection of hypophosphatasia: cytological and genetic considerations.,” *J. Inherit. Metab. Dis.*, vol. 1, no. 1, pp. 37–9, 1978.
- [95] H. Watanabe, M. Goseki-Sone, T. Iimura, S. Oida, H. Orimo, and I. Ishikawa, “Molecular Diagnosis of Hypophosphatasia With Severe Periodontitis,” *J. Periodontol.*, vol. 70, no. 6, pp. 688–691, Jun. 1999.
- [96] R. A. Mulivor, M. Mennuti, E. H. Zackai, and H. Harris, “Prenatal diagnosis of hypophosphatasia; genetic, biochemical, and clinical studies.,” *Am. J. Hum. Genet.*, vol. 30, no. 3, pp. 271–82, May 1978.
- [97] F. Muller, J. F. Oury, P. Bussière, F. Lewin, and J. Boué, “First-trimester diagnosis of hypophosphatasia. Importance of gestational age and purity of CV samples.,” *Prenat. Diagn.*, vol. 11, no. 9, pp. 725–30, Sep. 1991.
- [98] N. Suzumori, E. Mornet, E. Mizutani, S. Obayashi, Y. Ozaki, and M. Sugiura-Ogasawara, “Prenatal diagnosis of familial lethal hypophosphatasia using imaging, blood enzyme levels, chorionic villus sampling and archived fetal tissue,” *J. Obstet. Gynaecol. Res.*, vol. 37, no. 10, pp. 1470–1473, Oct. 2011.
- [99] N. L. Rudd, M. Miskin, D. I. Hoar, R. Benzie, and T. A. Doran, “Prenatal Diagnosis of Hypophosphatasia,” *N. Engl. J. Med.*, vol. 295, no. 3, pp. 146–148, Jul. 1976.
- [100] A. Taillandier *et al.*, “Molecular diagnosis of hypophosphatasia and differential diagnosis by targeted Next Generation Sequencing.,” *Mol. Genet. Metab.*, vol. 116, no. 3, pp. 215–20, Nov. 2015.
- [101] J. Svejcar and A. Walther, “The diagnosis of the early infantile form of hypophosphatasia tarda.,” *Humangenetik*, vol. 28, no. 1, pp. 49–56, May 1975.

- [102] T. Tongsong, S. Sirichotiyakul, and S. Sirianguk, "Prenatal diagnosis of congenital hypophosphatasia.," *J. Clin. Ultrasound*, vol. 23, no. 1, pp. 52–5, Jan. 1995.
- [103] T. Tongsong and S. Pongsatha, "Early prenatal sonographic diagnosis of congenital hypophosphatasia.," *Ultrasound Obstet. Gynecol.*, vol. 15, no. 3, pp. 252–255, Mar. 2000.
- [104] J. W. Wladimiroff *et al.*, "Early prenatal diagnosis of congenital hypophosphatasia: Case report," *Prenat. Diagn.*, vol. 5, no. 1, pp. 47–52, Jan. 1985.
- [105] E. Mornet *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.*, vol. 19, no. 8, pp. 755–7, Aug. 1999.
- [106] R. Mühlbach, K. Lindenhayn, and E. Krüger, "[Clinical aspects and biochemical diagnosis of hypophosphatasia].," *Beitr. Orthop. Traumatol.*, vol. 17, no. 1, pp. 74–6, Jan. 1970.
- [107] J. P. Barcia, C. F. Strife, and C. B. Langman, "Infantile hypophosphatasia: treatment options to control hypercalcemia, hypercalciuria, and chronic bone demineralization.," *J. Pediatr.*, vol. 130, no. 5, pp. 825–8, May 1997.
- [108] M. L. Bianchi, "Hypophosphatasia: an overview of the disease and its treatment," *Osteoporos. Int.*, vol. 26, no. 12, pp. 2743–2757, 2015.
- [109] P. Camacho, S. Painter, and R. Kadanoff, "Treatment of Adult Hypophosphatasia with Teriparatide," *Endocr. Pract.*, vol. 14, no. 2, pp. 204–208, Mar. 2008.
- [110] D. Cole, "Hypophosphatasia update: recent advances in diagnosis and treatment," *Clin. Genet.*, vol. 73, no. 3, pp. 232–235, Jan. 2008.
- [111] T. Cundy *et al.*, "Reversible Deterioration in Hypophosphatasia Caused by Renal Failure With Bisphosphonate Treatment," *J. Bone Miner. Res.*, vol. 30, no. 9, pp. 1726–1737, Sep. 2015.
- [112] A. A. Deeb, S. N. Bruce, A. A. Morris, and T. D. Cheetham, "Infantile hypophosphatasia: disappointing results of treatment.," *Acta Paediatr.*, vol. 89, no. 6, pp. 730–3, Jun. 2000.
- [113] K. B. Doshi *et al.*, "Teriparatide treatment in adult hypophosphatasia in a patient exposed to bisphosphonate: a case report.," *Clin. Cases Miner. Bone Metab.*, vol. 6, no. 3, pp. 266–9, Sep. 2009.
- [114] D. FRASER and J. C. LAIDLAW, "Treatment of hypophosphatasia with cortisone.," *Lancet (London, England)*, vol. 270, no. 6922, p. 553, Apr. 1956.



- [115] H. J. Girschick *et al.*, “Effective NSAID treatment indicates that hyperprostaglandinism is affecting the clinical severity of childhood hypophosphatasia.,” *Orphanet J. Rare Dis.*, vol. 1, p. 24, Jun. 2006.
- [116] L. Kosnik-Infinger, C. Gendron, C. B. Gordon, B. S. Pan, J. A. van Aalst, and T. W. Vogel, “Enzyme replacement therapy for congenital hypophosphatasia allows for surgical treatment of related complex craniosynostosis: a case series,” *Neurosurg. Focus*, vol. 38, no. 5, p. E10, May 2015.
- [117] H. Yamamoto, Y. Sasamoto, Y. Miyamoto, H. Murakami, and N. Kamiyama, “A successful treatment with pyridoxal phosphate for West syndrome in hypophosphatasia,” *Pediatr. Neurol.*, vol. 30, no. 3, pp. 216–218, Mar. 2004.
- [118] H. J. Girschick, H. W. Seyberth, and H. I. Huppertz, “Treatment of childhood hypophosphatasia with nonsteroidal antiinflammatory drugs.,” *Bone*, vol. 25, no. 5, pp. 603–7, Nov. 1999.
- [119] M. P. Whyte *et al.*, “Asfotase Alfa Treatment Improves Survival for Perinatal and Infantile Hypophosphatasia,” *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, vol. 101, no. 1, pp. 334–342, Jan. 2016.
- [120] V. Saraff, V. K. Narayanan, A. J. Lawson, N. J. Shaw, M. A. Preece, and W. Högler, “A diagnostic algorithm for children with low alkaline phosphatase activities: Lessons learned from laboratory screening for hypophosphatasia,” *J. Pediatr.*, vol. 172, p. 181–186e1, 2016.
- [121] F. E. Mckiernan *et al.*, “Mutational and biochemical findings in adults with persistent hypophosphatasemia.”
- [122] J. Tenorio *et al.*, “Molecular and clinical analysis of *ALPL* in a cohort of patients with suspicion of Hypophosphatasia,” *Am. J. Med. Genet. Part A*, vol. 173, no. 3, pp. 601–610, Mar. 2017.

.....

## EK1: Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu

### BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (FORM 17)

#### LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz

#### ÇALIŞMANIN AMACI NEDİR?

Bu çalışmada; kanda 'alkalen fosfataz enzimi' eksikliği ile ortaya çıkan, kemik gelişim bozuklarından diş eksikliğine ve erken yaşta diş kaybına, böbrek hasarından nöbet geçirmeye kadar geniş bir skalada bulgu veren 'Hipofosfatazya' hastalığının genetik araştırılması amaçlanmıştır.

#### KATILMA KOŞULLARI NEDİR?

Bu çalışmaya dahil edilebilmeniz için Ege Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı'nda çalışılan kan örneklerinde alkalen fosfataz enzim düzeyinin düşük olması gerekmektedir.

#### NASIL BİR UYGULAMA YAPILACAKTIR?

Kanda alkalen fosfataz enzim düzeyi düşük olan ve hipofosfatazya hastalığının bulguları görülen hastalarda, alkalen fosfataz enzim eksikliğine neden olan gen değişikliğinin varlığının araştırılması Ege ÜTF Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Çocuk Genetik Bilim Dalı laboratuvarında yapılacaktır. Bu çalışma, katılan gönüllüler için herhangi bir risk içermemektedir. Sadece 2cc kan örneği alma işlemine bağlı olarak ciltte morluklar görülebilir. Bu da hastanın sağlığı için herhangi bir risk oluşturmamaktadır. Araştırma ile ilgili detaylı bilgi hastalara verilecektir.

#### SORUMLULUKLARIM NEDİR?

Araştırma ile ilgili olarak..... sizin sorumluluklarınızdır (örn. uygulama süresi boyunca hiçbir ilaç kullanmama ancak zorunlu olarak ilaç almak durumunda kalındığında mutlaka sorumlu araştırmacıyı bilgilendirme, uygulanan araştırma şemasına

*özen gösterme, araştırıcının önerilerine uyma vb.*). Bu koşullara uymadığınız durumlarda araştırıcı sizi uygulamaya dışı bırakabilme yetkisine sahiptir.

### **KATILIMCI SAYISI NEDİR?**

Araştırmada yer alacak gönüllülerin sayısı 30'dur

### **KATILIMIM NE KADAR SÜRECEKTİR?**

Bu araştırmada yer almanız için öngörülen süre 1yıl.

### **ÇALIşMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI YARAR NEDİR?**

Bu araştırma sonucunda elde edilen veriler başka insanların yararına kullanılabilir. Ailesel bir yatkınlığın belirlenmesi, erken tanı ve tedavide katkısı olacaktır.

### **ÇALIşMAYA KATILMA İLE BEKLENEN OLASI RİSKLER NEDİR?**

Bu çalışma, katılan gönüllüler için herhangi bir risk içermemektedir. Sadece 2cc kan örneği alma işlemine bağlı olarak ciltte morluklar görülebilir. Bu da hastanın sağlığı için herhangi bir risk oluşturmamaktadır.

Kan alma işlemi ile ilgili riskler arasında bayılma, ağrı ve/veya morarma sayılabilir. Ender durumlarda iğne deliğinin yerinde enfeksiyon ya da küçük bir kan pıhtısı olabilir. Olası bir soruna karşı gerekli tedbirler tarafımızdan alınacaktır.

### **ARAşTIRMA SÜRECİNDE BİRLİKTE KULLANILMASININ SAKINCALI OLDUĞU BİLİNEN İLAÇLAR/BESİNLER NELERDİR?**

Çalışma süresince birlikte kullanımının sakıncalı olduğu ilaç ve besin yoktur

### **HANGİ KOşULLARDA ARAşTIRMA DIşI BIRAKILABİLİRİM?**

*Ailenin veya çocuğunun onamını geri çekmesi durumunda*

### **DİĞER TEDAVİLER NELERDİR?**

Bu tanının tedavisinde uygulanabilecek, ancak şimdilik uygulanmayacak olan ..... gibi diğer tedaviler ya da işlemler de bulunmaktadır; bunların olası yararları ....., riskleri ise .....'dir.

### **HERHANGİ BİR ZARARLANMA DURUMUNDA YÜKÜMLÜLÜK/SORUMLULUK KİMDEDİR VE NE YAPILACAKTIR?**

Sorumlu araştırmacıdır.

### **ARAŞTIRMA SÜRESİNCE ÇIKABİLECEK SORUNLAR İÇİN KİMİ ARAMALIYIM?**

Uygulama süresi boyunca, zorunlu olarak araştırma dışı ilaç almak durumunda kaldığınızda Sorumlu Araştırıcıyı önceden bilgilendirmek için, araştırma hakkında ek bilgiler almak için ya da çalışma ile ilgili herhangi bir sorun, istenmeyen etki ya da diğer rahatsızlıklarınız için 05397444286 no.lu telefondan Dr. Mehmet Bilal ARACI'ya baŐvurabilirsiniz.

### **ÇALIŞMA KAPSAMINDAKİ GİDERLER KARŐILANACAK MIDIR?**

Yapılacak her tür tetkik, fizik muayene ve diğer araştırma masrafları size veya güvencesi altında bulunduğunuz resmi ya da özel hiçbir kurum veya kuruluŐa ödetilmeyecektir.

### **ÇALIŐMAYI DESTEKLEYEN KURUM VAR MIDIR ?**

ÇalıŐmayı destekleyen kurum Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Őube Müdürlüğüdür.

### **ÇALIŞMAYA KATILMAM NEDENİYLE HERHANGİ BİR ÖDEME YAPILACAK MIDIR?**

Bu araştırmada yer almanız nedeniyle size hiçbir ödeme yapılmayacaktır.

### **ARAŞTIRMAYA KATILMAYI KABUL ETMEMEM VEYA ARAŐTIRMADAN AYRILMAM DURUMUNDA NE YAPMAM GEREKİR?**

Bu araştırmada yer almak tamamen sizin isteğinize bağlıdır. Araştırmada yer almayı reddedebilirsiniz ya da herhangi bir aşamada araştırmadan ayrılabilirsiniz; reddetme veya vazgeçme durumunda bile sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır. Araştırıcı, uygulanan tedavi Őemasının gereklerini yerine getirmemeniz, çalışma programını aksatmanız veya tedavinin etkinliğini artırmak vb. nedenlerle isteğiniz dışında ancak bilginiz dahilinde sizi araştırmadan çıkarabilir. Bu durumda da sonraki bakımınız garanti altına alınacaktır.

Araştırmanın sonuçları bilimsel amaçla kullanılacaktır; çalışmadan çekilmeniz ya da araştırıcı tarafından çıkarılmanız durumunda, sizle ilgili tıbbi veriler de gerekirse bilimsel amaçla kullanılabilir.

### **KATILMAMA İLİŞKİN BİLGİLER KONUSUNDA GİZLİLİK SAĞLANABİLECEK MİDİR?**

Size ait tüm tıbbi ve kimlik bilgileriniz gizli tutulacaktır ve araştırma yayınlansa bile kimlik bilgileriniz verilmeyecektir, ancak araştırmanın izleyicileri, yoklama yapanlar, etik kurullar ve resmi makamlar gerektiğinde tıbbi bilgilerinize ulaşabilir. Siz de istediğinizde kendinize ait tıbbi bilgilere ulaşabilirsiniz

### **Çalışmaya Katılma Onayı:**

Yukarıda yer alan ve araştırmaya baŐlanmadan önce gönüllüye verilmesi gereken bilgileri gösteren ..... sayfalık metni okudum ve sözlü olarak dinledim. Aklıma gelen tüm soruları araştırıcıya sordum, yazılı ve sözlü olarak bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamıŐ bulunmaktayım. Çalışmaya katılmayı isteyip istemediğime karar vermem için bana yeterli zaman tanındı. Bu koŐullar altında, bana ait tıbbi bilgilerin gözden geçirilmesi, transfer edilmesi ve iŐlenmesi konusunda araştırma

yürütücüsüne yetki veriyor ve söz konusu araştırmaya ilişkin bana yapılan katılım davetini hiçbir zorlama ve baskı olmaksızın büyük bir gönüllülük içerisinde kabul ediyorum. Bu formu imzalamakla yerel yasaların bana sağladığı hakları kaybetmeyeceğimi biliyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
<i>ADI &amp; SOYADI</i>		
<b>ADRESİ</b>		
<b>TEL. &amp; FAKS</b>		
<b>TARİH</b>		

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
<i>ADI &amp; SOYADI</i>		
<b>ADRESİ</b>		
<b>TEL. &amp; FAKS</b>		
<b>TARİH</b>		

ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ		İMZASI
<i>ADI &amp; SOYADI</i>		
<i>TARİH</i>		

GEREKTİĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
<i>ADI &amp; SOYADI</i>		
<i>GÖREVİ</i>		
<i>TARİH</i>		

## EK2: Olgu Rapor Formu

OLGU NO:

ADI:

1.ALP:

SOYADI:

2.ALP:

PROTOKOL NO:

3.ALP:

TEL.:

D.T.:

ALPL dizi analizi sonuç:

YAŞI:

### PERİNATAL- İNFANTİL HİPOFOSFATAZYA

- Antenatal dönemde USG bulguları? (ekstremitte kısalığı / deformitesi var mı?)
- Doğumda saptanan ekstremitte kısalığı/deformitesi var mı? Kraniumda yapısal bozukluk var mı?
- Kemik kırılmalarına bağlı kemik deformiteleri var mı?
- Yenidoğan döneminde solunum durması(apne) var mı?
- Kemik demineralizasyonu var mı? (BMI ya da grafiler?)
- Uzun kemiklerde anormallikler var mı, varsa bulgular nelerdir?
- Metafizyal çıkıntı (methapysal spur) var mı?

- Üst ekstremite kemiklerinde metafizyal litik lezyon var mı?
- Göğüs deformitesi var mı ? (pectus carinatum/pectus excavatum)
- Epileptik nöbet var mı?
- Ön fontanel ne zaman kapandı? (ön fontanel kapanmasında gecikme var mı?)
- Alkalen fosfataz düşüklüğü var mı? Kemik orjinli ALP düşüklüğü var mı?
- Solunum yetmezliği yaşadı mı? Solunum desteği aldı mı?

### **ÇOCUKLUK ÇAĞI HİPOFOSFATAZYA**

- Kraniosinostoz var mı?
- Bebeklikte gelişme geriliği var mı?
- Uzun kemiklerde kırık öyküsü var mı?
- Tekrarlayan kırık öyküsü var mı?
- Kemik kırıklarına yatkınlık artmış mı?
- Kemik kırıklarına bağlı operasyon öyküsü var mı?
- Genel kemik mineralizasyonunda azalma ?

- Uzun kemiklerde yapısal bozukluk var mı?
- İnfantil dönemde hiperkalsemi var mı?
- Hiperkalsiüri var mı?
- Kemik mineral yoğunluğuna azalma var mı? (BMD ve Grafi bulguları?)
- Solunum yetmezliği var mı?
- Hipotonisite var mı?
- Beslenme zorluğu var mı?
- Pulmoner kapakta anormallik var mı?
- Erken dönemde diş kaybı?
- Kilo kaybı?
- Kaşeksi var mı?
- Nefrokalsinozis var mı?
- Nöbet var mı?
- Rickets bulguları var mı?
- ALP düşüklüğü var mı? Kemiğe ait ALP düşüklüğü var mı?
- Boy kısalığı var mı? Orantısız boy kısalığı var mı?
- Gelişme geriliği var mı?
- Kas gücü kaybı var mı?
- Miyalji, kemik ağrıları var mı?



- Kalıcı açık ön fontanel?

## **YETİŞKİN HİPOFOSFATAZYA**

- Boy kısalığı var mı? Orantısız boy kısalığı var mı?
- Kas gücü kaybı var mı?
- Miyalji, kemik ağrıları var mı?
- Uzun kemiklerde kırık öyküsü var mı?
- Tekrarlayan kırık öyküsü var mı?
- Genel kemik mineralizasyonunda azalma ?
- Kemik kırıklarına yatkınlık artmış mı?
- Nefrokalsinozis var mı?
- Hiperkalsiüri var mı?
- Jeneralize hipotoni var mı?
- Dişlerde yapısal bozukluk var mı?
- Erken diş kaybı var mı?
- Kondrokalsinozis bulguları var mı?
- Osteomalazi var mı?
- Psödofraktür var mı?
- ALP düşüklüğü var mı? Kemiğe ait ALP düşüklüğü var mı?

- Mobilizasyon için alet kullanım öyküsü var mı?
- Kemik kırıklarına ait operasyon öyküsü var mı?

### SOY GEÇMİŞ:

- Akrabalarında ;antenatal dönemde ekstremitte kısalığı / deformitesi gibi USG bulguları olan var mı?
- Akrabalarında; doğumda saptanan ekstremitte kısalığı/deformitesi olan var mı? Kraniumda yapısal bozukluk olan var mı?
- Akrabalarında; Doğum sonrası saptanan göğüs deformitesi olan var mı? Solunum sıkıntısı yaşayan var mı?
- Akrabalarında; Kraniosinostoz var mı? Fontanellelerde erken kapanma, kafa şekil bozuklukları ve KİBAS öyküsü olan var mı?
- Akrabalarında; Yürümede gecikmesi olan var mı?
- Akrabalarında; sık ve travmasız kemik kırılması öyküsü olan var mı?
- Akrabalarında; Farkedilmiş kas güçsüzlüğü olan var mı?

- Akrabalarında; çocukluk döneminde diş eksikliği veya erken yaşta diş kaybı olan var mı?
- Akrabalarında; nöbet öyküsü olan var mı?
- Akrabalarında; nefrolitiazis öyküsü olan var mı? Böbrek yetmezliği öyküsü olan var mı?
- Böbrek taşı öyküsü olanlarda batın USG'si var mı? (Renal taş açısından )

HASTALIK ÖYKÜSÜ:

KULLANDIĞI İLAÇLAR:

OLGUNUN FİZİK BAKISI:

VA:           kg                           BOY:           cm

(ANNE BOY:           cm    BABA BOY:           cm )

Hedef Boy:           cm

BAŞ-BOYUN:

SS:

KVS:

GİS:



EKSTREMİTE:

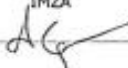
NÖROLOJİK BAKI:

PEDİGRİ:



### EK3: Etik Kurulu Onay Belgesi

 <b>EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU</b> Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı, K.Kat. - Ege Erişim Arayıcı Cad. 35100 Bornova / İZMİR Tel: 232 399 4219 - 373 78 81 Fax: 232 399 21 34 e-mail: etik@eup.edu.tr www.etik.med.tup.edu.tr					
<b>ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ</b>					
<b>BAŞVURU BİLGİLERİ</b>	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Alkalin Fosfataz Düzeyi Düşük Olan Ve Klinik Olarak Hipofosfatemya Uygurları Hastalarında Alkalin Fosfataz (ALP) Geni Dış Analizi İle Metabolik Tanıyı Araştırılması			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Ferda ÖZKINAY			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI	Pediyatrik Genetik ve Teratoloji			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Pediyatrik Genetik ve Teratoloji Bilim Dalı			
	VARSA İDARİ SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI	-			
	DESTEKLEYİCİ	Bilimsel Araştırma Proje Fonu			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. kaynaklardan destek alanlar için)	-			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1 <input type="checkbox"/>	FAZ 2 <input type="checkbox"/>	FAZ 3 <input type="checkbox"/>	FAZ 4 <input type="checkbox"/>
	Gözetimsel İlaç Çalışması <input type="checkbox"/>	Tıbbi Cihaz Klinik Araştırması <input type="checkbox"/>			
	In Vitro Tıbbi Tanı Cihazları İle Yapılan Performans Değerlendirme Çalışmaları <input type="checkbox"/>	İlaç Dışı Klinik Araştırma <input checked="" type="checkbox"/>			
	Diğer ise belirtiniz				
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input checked="" type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	
<b>DEĞERLENDİRİLEN BELGELER</b>	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ	-	-	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (6-19) ve (12-16) yaş grubu için düzenlenmiştir	-	-	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
	OLGU RAPOR FORMU	-	-	Türkçe <input checked="" type="checkbox"/> İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>	
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/> imza tarihi: 29.03.2017			
DiĞER	<input type="checkbox"/>				
<b>KARAR BİLGİLERİ</b>	Karar Nu: 17-1.1/5	Tarih: 11.04.2017			
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak Kurulumuzca incelenmiş, araştırma giderlerinin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödetilmediği koşullarda araştırmaya başlanmasının etik açıdan uygun bulunduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.				
<b>EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU</b>					
ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği				
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof. Dr. Ayşenur OKTAY				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*) Kablim (**)	
Prof. Dr. Ayşenur OKTAY Başkan	Radyodiagnostik	E.Ü. Tıp Fakültesi Radyoloji AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Aytül ÖNAL Başkan Yardımcısı	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Suna TOKSAVUL Üye	Protetik Diş Tedavisi	E.Ü. Diş Hek. Fakültesi Protetik Diş Tedavisi AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
TOPLANTIYA KATILMADI					

Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ayşenur OKTAY	İMZA 	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu 22	Rev. Tarihi / No.su: 28.09.2011/05	Sayfa 1/2
---	---	----------------------------------	------------------	---------------------------------------	--------------



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

KARAR BİLGİLERİ		Karar Nu : 17-1.1/5				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlgili (*)	Kabılm (**)	İmza
Prof. Dr. Sarenur GÖKBEN Üye	Çocuk Nörolojisi	EÜ, Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Abdullah SAYINER Üye	Göğüs Hastalıkları	EÜ, Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Bülent SEMERCİ Üye	Üroloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Üroloji AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Süheyla ALTUĞ ÖZSOY Üye	Halk Sağlığı Hemşireliği	EÜ, Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	TOPLANTIYA KATILMADI
Prof. Dr. Murat PEHLİVAN Üye	Biyofizik	E.Ü. Tıp Fakültesi Biyofizik AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Prof. Dr. Çağatay ÜSTÜN Üye	Tıp Tarihi ve Etik	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Etik AD.	E	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	TOPLANTIYA KATILMADI
Prof. Dr. Şafak TANER Üye	Halk Sağlığı	E.Ü. Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Doç. Dr. Ayşe EROL Üye	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Yardı. Doç. Dr. Gülsün AYGÖRMEZ UĞURLUBAY Üye	Ceza Hukuku	Serbest	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	TOPLANTIYA KATILMADI
Uzm. Ecz. Ebru BEDİR Üye	Eczacılık	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	
Uzm. Dr. Özlem EKER Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	Serbest	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	TOPLANTIYA KATILMADI
Fatma BÜYÜKAKKUŞ Üye	Ziraat Mühendisi	Emeklilik	K	<input type="checkbox"/> E <input checked="" type="checkbox"/> H	<input checked="" type="checkbox"/> E <input type="checkbox"/> H	

- \* Araştırma ile İlgili  
\*\* Toplantıda Bulunma

#### EK 4- Özgeçmiş.

 TC Sağlık Bakanlığı Türkiye Sağlık ve Tıp Bilimleri Bakanlığı	<b>ÖZGEÇMİŞ FORMU</b>	Doküman Adı: KADB-F.22-R.00
		Yayın Tarihi: 01.12.2016
		Sayfa No: 1/1
		Onaylayan: Daire Başkanı

#### A. KİŞİSEL BİLGİLER

A.1.	Adı soyadı: MEHMET BİLAL ARACI
A.2.	Doğum tarihi ve yeri: 07.05.1987 Antakya /HATAY
A.3.	Yabancı dil bilgisi: İngilizce
A.4.	Görev yeri: Ege Üniversitesi Çocuk Hastanesi
A.5.	İletişim bilgileri (e-posta adresi / telefon): <a href="mailto:m.b.araci@gmail.com">m.b.araci@gmail.com</a> 05397444286

#### B. EĞİTİM BİLGİLERİ

B.1.	Mezun olduğu üniversite / fakülteyi lütfen belirtiniz: Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
B.2.	Mezuniyet tarihini lütfen belirtiniz (yıl olarak): 2013
B.3.	Varsa, akademik ünvanları lütfen belirtiniz: Araştırma Görevlisi

#### C. İŞ TECRÜBESİNE AİT BİLGİLER

C.1.	Bugüne kadar çalıştığı kurum / kuruluşları lütfen belirtiniz: HATAY Yayladağı Toplum Sağlığı Merkezi, Pratisyen Hekim Ege Üniversitesi Çocuk Hastanesi, Araştırma Görevlisi, Halen
------	--

#### D. KLİNİK ARAŞTIRMALARLA İLGİLİ GENEL BİLGİLER

D.1.	İyi Klinik Uygulamalar (IKU) konusunda eğitim alınmışsa lütfen tarihi ve alınan kurum / kuruluşun adı ile belirtiniz: Yok
D.2.	Varsa, araştırmacı olarak katılan klinik araştırmaları lütfen belirtiniz: Yok
D.3.	Varsa, izleyici (monitör) olarak katılan klinik araştırmaları lütfen belirtiniz: Yok
D.4.	Varsa, saha görevlisi olarak katılan klinik araştırmaları lütfen belirtiniz: Yok
D.5.	Varsa, araştırma eczacısı olarak katılan klinik araştırmaları lütfen belirtiniz: Yok

#### E. ÖZGEÇMİŞ SAHİBİNİN İMZASI

E.2.	Özgeçmiş Sahibi
E.2.1.	El yazısıyla adı soyadı: [ ]
E.2.2.	Tarih (gün/ay/yıl olarak): [ ]
E.2.3.	İmza: [ ]

## Ek 5: Tez Orjinallik Raporu

# ALKALEN FOSFATAZ DÜZEYİ DÜŞÜK OLAN VE KLİNİK OLARAK HİPOFOSFATAZYA DÜŞÜNÜLEN HASTALARDA ALKALEN FOSFATAZ GENİ DİZİ ANALİZİ İLE MOLEKÜLER TANININ ARAŞTIRILMASI

### ORJİNALLİK RAPORU

% <b>3</b>	% <b>2</b>	% <b>1</b>	% <b>2</b>
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

### BİRİNCİL KAYNAKLAR

<b>1</b>	<a href="http://acikarsiv.ankara.edu.tr">acikarsiv.ankara.edu.tr</a> İnternet Kaynağı	% <b>1</b>
<b>2</b>	<a href="http://journals.istanbul.edu.tr">journals.istanbul.edu.tr</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>3</b>	Submitted to Ondokuz Mayıs Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<% <b>1</b>
<b>4</b>	"Pediatrics", The American Journal of Gastroenterology, 9/2006 Yayın	<% <b>1</b>
<b>5</b>	<a href="http://polen.itu.edu.tr">polen.itu.edu.tr</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>6</b>	<a href="http://dspace.baskent.edu.tr:8080">dspace.baskent.edu.tr:8080</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>
<b>7</b>	<a href="http://istanbulsaglik.gov.tr">istanbulsaglik.gov.tr</a> İnternet Kaynağı	<% <b>1</b>



8	<b>Submitted to Erciyes Üniversitesi</b> Öğrenci Ödevi	<% 1
9	<b>Submitted to Adnan Menderes Üniversitesi</b> Öğrenci Ödevi	<% 1
10	<b>www.researchgate.net</b> İnternet Kaynağı	<% 1
11	<b>Submitted to Hacettepe University</b> Öğrenci Ödevi	<% 1
12	<b>Submitted to Balıkesir Üniversitesi</b> Öğrenci Ödevi	<% 1
13	<b>www.iku-dergisi.com</b> İnternet Kaynağı	<% 1
14	<b>drnogay.com</b> İnternet Kaynağı	<% 1
15	<b>raeddergisi.org</b> İnternet Kaynağı	<% 1
16	<b>dergipark.ulakbim.gov.tr</b> İnternet Kaynağı	<% 1
17	<b>acikerisim.deu.edu.tr</b> İnternet Kaynağı	<% 1