

# Kalıtsal Metabolik Hastalıklara Bağlı Ani ve Beklenmeyen Bebek Ölümünde Postmortem Tanı

## POSTMORTEM DIAGNOSIS IN SUDDEN AND UNEXPECTED NEONATAL DEATH DUE TO INHERITED METABOLIC DISORDERS

Dr. Leyla TÜMER,<sup>a</sup> Dr. Ali Rıza TÜMER<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Metabolizma Hastalıkları BD, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi,

<sup>b</sup>Adli Tıp AD, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi, ANKARA

### Özet

Adli tıp uzmanı açısından özellikle ani bebek ölümleri tanı açısından büyük sıkıntı verir. Ani bebek ölümlerinin nedenlerinin saptanması hem yasal hem de tıbbi açıdan çok önemlidir. Ani bebek ölümü sendromu (ABÖS) nedenlerinden biri de nadir görülmesine rağmen çok önemli bir grubu oluşturan kalıtsal metabolik hastalıklardır. Kalıtsal metabolik hastalıkların tanısında postmortem inceleme özellikle daha sonra doğacak kardeşlerin korunması ve şüpheli kriminal durumların ortadan kaldırılabilmesi açısından son şans olabilir. Son yıllarda gelişen teknoloji ve laboratuvar teknikleri alınacak çok küçük örneklerle metabolik hastalıkların postmortem incelemelerde tanınmasını kolaylaştırmıştır. Bu yazıda ABÖS'na neden olan kalıtsal metabolik hastalıklar, postmortem alınması gerekli örnekler ve inceleme metodları gözden geçirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Ani bebek ölümü sendromu, kalıtsal metabolik hastalıklar, postmortem inceleme

### Abstract

Sudden infant deaths are the case group which causes significant difficulties in diagnosis for forensic medicine specialists. Distinguishing the cause of death is essential for both legal and medical systems. Inherited metabolic disorders account for a small but significant number of sudden unexplained deaths in infants. Postmortem investigations offer the final opportunity to establish a diagnosis. Current advances in technology have revolutionized the postmortem investigation of metabolic disease in tiny samples. A brief description of the more frequently encountered inherited disorders, collection of appropriate samples and available investigations are described in this review.

**Key Words:** Sudden infant death syndrome, inherited metabolic disorders, postmortem investigations

Türkiye Klinikleri J Foren Med 2006, 3:31-38

**A**ni bebek ölümü sendromu (ABÖS) kavramı 1970'li yılların başlarında ani ve beklenmedik şekilde ölen ve yapılan postmortem incelemelerde ölüm nedeni anlaşılmıyan olguları sınıflandırmak amacı ile ortaya atılmış bir kavramdır.<sup>1</sup> İnsidansı yaklaşık 1000 canlı doğumda birdir.<sup>1</sup> Bir yaşın altındaki ani ve beklenmedik bebek ölüm vakalarının yaklaşık %80'inde bir neden bulunamamaktadır.<sup>2</sup> Bilinen nedenler içerisinde en sık nedenin enfeksiyon (%7.1) olduğu ve bunu kardiyovasküler anomalile-

rin (%2.7), istismar (%2.6) ve metabolik/genetik hastalıkların (%2.1) izlediği bildirilmiştir.<sup>3</sup> Nekropside kardiyovasküler defektlerin ve ağır enfeksiyonların tanısını koymak, birçok kalıtsal metabolik hastalığa göre daha kolaydır. Her ani ve beklenmedik bebek ölüm vakasında ABÖS tanısını koymadan önce bu nedenlerin yanında kalıtsal metabolik hastalıkların da ölüm nedeni olarak araştırılması gereklidir. Bu durum şüpheli kriminal durumların ortadan kaldırılması için de önemlidir.

Bu yazıda ani ve beklenmedik bebek ölümüne neden olan kalıtsal metabolik hastalıklar, postmortem alınması gerekli örnekler ve inceleme metodlarının gözden geçirilmesi amaçlanmıştır.

ABÖS vakalarının bir kısmının metabolik bir bozukluğu olabileceğine dair ilk ip uçları Prof. John Emery'in öncülük ettiği otopsi çalışması ile ortaya konulmuştur.<sup>4</sup> Çalışma sonucunda, daha

Geliş Tarihi/Received: 05.05.2005 Kabul Tarihi/Accepted: 26.01.2006

**Yazışma Adresi/Correspondence:** Dr. Leyla TÜMER  
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi,  
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD,  
Metabolizma Hastalıkları BD, ANKARA  
leylat@gazi.edu.tr

Copyright © 2006 by Türkiye Klinikleri

Türkiye Klinikleri J Foren Med 2006, 3

önce ABÖS tanısı almış 200 bebeğin %5'inde karaciğerde diffüz yağlanma olduğu saptanmış ve bu çocukların metabolik bir zehirlenme veya Reye sendromunda gözlenen akut bir metabolik dekompanzasyon sonucunda öldükleri düşünülmüştür. Daha önce ABÖS tanısı almış bir bebekte kalıtsal metabolik hastalık tanısı ise, ilk olarak 1984 yılında konmuş<sup>5</sup> ve olgu orta zincirli Açıl koenzim A dehidrogenaz (MCAD) eksikliği tanısı almıştır. Bundan sonra benzer bir çok vakada MCAD tanısı konulmuştur. Bu gözlemlerden sonra çok sayıda kalıtsal metabolik hastalık tanısı alan ABÖS olguları yayınlanmıştır. Bugün için en az 31 metabolik hastalık, ABÖS nedeni olarak bildirilmektedir.<sup>6</sup>

### **ABÖS Nedeni Olarak En Sık Bildirilen Metabolik Hastalıklar (Tablo 1)<sup>6</sup>** **Yağ asidi oksidasyon (YAO) defektleri**

İnfant döneminde ani ve açıklanamayan ölümlerle gelen metabolik hastalıkların en sık görüleni yağ asidi oksidasyon defektleridir. ABÖS vakalarının yaklaşık %3-6'sının nedeni bu grup hastalıklardır.<sup>7</sup>

Orta zincirli açıl Koenzim A dehidrogenaz, karnitin palmitoyl transferez tip II, karnitin-açilkarnitin translokaz, uzun zincirli 3- hidroksi açıl koenzim A dehidrogenaz, mitokondrial trifonksiyonel protein, çok uzun zincirli açıl koenzim A dehidrogenaz ve multipl açıl koenzim A dehidrogenaz defektlerinin hepsi ani açıklanamayan bebek ölümü nedeni olarak bildirilmektedir.<sup>8</sup> Ancak bunlar içerisinde en sık ABÖS nedeni olarak bildirilen defekt MCAD eksikliğidir.<sup>9</sup>

#### **MCAD eksikliği**

MCAD eksikliği ilk olarak 1980'lerin başında tanımlanmıştır. Hastalıkta ilk kriz genellikle %25 oranında ölümlerle sonuçlanır ve hastalarda klasik bulgu hipoketotik hipoglisemidir.<sup>9</sup> Hastaların önemli bir yüzdesi ise hayat boyu aseptomatik kalır.<sup>9</sup> Klinik olarak hastalar letarji, bulantı, kusma, ensefalopati, respiratuar arrest, hepatomegali, nöbet, apne ve kardiak arrest ile gelebilir.<sup>10</sup> Daha önce ABÖS tanısı almış pek çok bebeğe biyokimyasal incelemelerde MCAD eksikliği tanısı konmuştur.<sup>10</sup> Bebekler hayatın ilk birkaç gününde ani ölümlerle gelebilir.<sup>4</sup> Hastalığın ortalama ortaya çıkış

### **Tablo 1. ABÖS nedeni olarak en sık bildirilen metabolik hastalıklar.**

- Kalıtsal yağ asiti oksidasyonu (YAO) ve ketogenezis defektleri,
- Üre siklus defektleri, en sık olarak ornitin transkarbamilaz (OTC) eksikliği,
- Organik asidüriler: Örneğin metil malonik asidüri, propiyonik asidüri ve izovalerik asidüri,
- Konjenital laktik asidoz (Pürivat dehidrogenaz eksikliği gibi), solunum zinciri hastalıkları, biotinidaz eksikliği,
- Karbonhidrat metabolizması bozuklukları: örneğin galaktozemi, glikojen depo hastalığı tip I, herediter fruktoz intoleransı, fruktoz 1-6 bifosfat eksikliği.

yaşı 12 aydır. Bazı ülkelerde, yenidoğan tarama programları MCAD eksikliğini de kapsamaktadır. Şu anda ülkemizde pilot çalışmalar dışında MCAD eksikliğinin ulusal tanısı yapılmamaktadır.

#### **Diğer YAO defektleri**

Bu grup hastalıklar yeni doğan döneminde akut metabolik bozulma ve ani ölümlerin önemli bir nedenidir.<sup>10-14</sup> İki ana klinik tablo ile hastalar başvurabilir. Birincisinde uzun süreli açlık sonrası görülen hipoketotik hipoglosemi tipiktir. Daha önce hiçbir şikayeti olmayan hastalarda hızla seyreden enfeksiyonlar, cerrahi, veya diğer metabolik stresler sonrası hızla koma ve ölüm gelişebilir. Ek olarak Reye benzeri hastalık tablosu hiperamonyemi, hepatik yetmezlik tablosu gözlenebilir. Uzun zincirli açıl karnitinlerin birikmesine bağlı olarak kardiak aritmiler ve akut kardiomyopati gözlenebilir. İkinci klinik tablo ise myopati ve/veya kardiomyopati ile giden kas fonksiyonlarındaki kronik bozukluktur. Daha önce iyi olduğu bilinen hastalarda ağır kardiomyopati sonucu ani ölümler bildirilmiştir.<sup>4</sup>

#### **Keton yapım ve utilizasyon defektleri**

3- hidroksi-3 metil glutaril-koenzim A liyaz ketogenez için gerekli bir enzimdir ve aynı zamanda lözin oksidasyonunda son basamakta görevlidir. Bu enzim eksikliği saptanan hastalar süt çocukluğu veya erken çocukluk döneminde hayatı tehdit eden Reye sendromu benzeri krizlerle gelebilir. İdrarda organik asit analizi, bazı spesifik anormal metabolitlerin atılımını gösterir.<sup>6,15</sup>

3-Ketotiolaz hem ketolizde hem de izolosin metabolizmasında görev alan bir enzimdir. Bu enzim eksikliği saptanan hastalar genellikle 6-24 aylar arasında araya giren bir enfeksiyon veya aşırı protein alımı sonucu kusma epizodları, hayatı tehdit eden akut ketoasidotik krizle başvurabilirler. Hastalığın tanısı için idrarda organik asit ve kanda açılıkarnitin analizi gereklidir.<sup>6,15</sup>

### Üre siklus defektleri

Üre siklus defektleri yenidoğan, süt çocukluğu ve çocukluk veya adolosan döneminde ortaya çıkabilir ve kümülatif insidansı 1/20000'dir. Bu hastalarda amonyak yüksekliği serebral ödem nedenidir. Değişik yaş gruplarında farklı klinik bulgular olmakla birlikte yenidoğan ve süt çocukluğu döneminde, genellikle ani gelişen koma ve ani ölüm karakteristiktir. Hastalarda belirgin hiperamonyemi gelişir. Hastalar sıklıkla hatalı olarak sepsis tanısı alırlar.

Tanı enzimatik defekte bağlı olarak, plazma ve idrarda aminoasit analizi ile, argininosüksinat liyaz eksikliğinde idrarda artmış argininosüksinik asitin gösterilmesi ile, ornitin transkarbamilaz eksikliğinde idrarda artmış orotik asitin gösterilmesi, daha sonra da enzim çalışmaları ve/veya mutasyon analizleri ile konulur.<sup>16</sup>

### Organik asidüriler

Geniş bir hastalık grubu olan organik asidürilerde hastalar, genellikle yenidoğan döneminde metabolik entoksikasyon sonucu gelişen letarji, beslenme problemi, dehidratasyon, koma ile karakterize metabolik ensefalopati tablosu ile gelirler. İdrarda karakteristik olarak karboksilik asitlerin birikimi vardır.<sup>6</sup>

### Mitokondrial solunum zinciri hastalıkları

Mitokondriopatiler oksidatif fosforilasyon yolu ile kimyasal enerji oluşumunda görev alan enzim veya enzim komplekslerinin hastalıklarıdır. Çok geniş bir klinik spektruma sahiptirler. Tüm organ ve sistemler etkilenebilir. Solunum zincir hastalığı olan bazı infantlar erken neonatal dönemde ölürlere ve bunların bir çoğunda tam bir inceleme yapılmaz.<sup>6,15</sup>

### Karbonhidrat metabolizması bozuklukları;

Klasik galaktozemi ve herediter fruktoz intoleransı olan hastalarda laktoz (süt ve süt ürünleri) veya fruktoz/sükroz alımı sonrası klinik semptomlar gelişir. Galaktoz 1-fosfat ve frukoz 1-fosfat metabolitleri özellikle karaciğer, böbrek ve beyinde organ hasarına yol açacak şekilde birikirler.<sup>5,6</sup>

Galaktozemi sıklıkla yeni doğan döneminde süt alımını takiben gelişir ve erken dönemde tanı almaz ise ölüme sonuçlanır. Hipoglisemi, sarılık, karaciğer fonksiyon testlerinde bozukluk ve böbrek yetmezliği klasik bulgulardır ve genellikle tabloya sepsis de eşlik eder. Hastalar genellikle galaktozemi tanısı almadan hatalı olarak sepsis tanısı ile kaybedilir. Tanı için kanda enzim analizi ve eritrositlerde galaktoz 1-fosfat tayini veya mutasyon analizi gereklidir.<sup>6</sup> Herediter fruktoz intoleransında galaktozemiye benzer klinikle, özellikle ek gıdaların başlandığı dönemde ilk fruktoz içeren gıdaların verilmesi ile ortaya çıkar. Tanı için enzimatik analiz veya mutasyon analizi gereklidir.<sup>6</sup> Her iki hastalık da benzer patolojik özellikler gösterirler. Karaciğerde yağlanma, dev hücre transformasyonu, hepatositlerde psödoasini oluşumu ve siroz saptanır.<sup>15</sup>

Fruktoz 1-6-bifosfataz eksikliği ağır glikoneogenez defektlerinden biridir ve yeni doğan, süt çocukluğu döneminde hipoglisemi, hiperventilasyon, ketozis, laktik asidoz, apne ve nöbetler ile karakterizedir. Tanı için karaciğerdeki enzim analizi veya aldolaz A geninde mutasyon analizi gereklidir.<sup>6</sup>

Glikojen depo hastalıklarından Pompe hastalığı (Tip II) erken dönemde ağır hipotoni ve kardiyomyopati ile, Von Gierke hastalığı (Tip I) süt çocukluğu döneminde hipoglisemik nöbetler, asidoz, hepatomegali, nefromegali ile gelebilir. Tanı biopsi ve enzim/mutasyon çalışmaları ile konur.<sup>6</sup>

### Postmortem Bulgular

Ani ve beklenmedik bebek ölümlerinde kalıtsal metabolik hastalık tanısını koymak için ayrıntılı bir inceleme planı oluşturulması şarttır. Olgularda ayrıntılı bir klinik ve aile öyküsü alınması gerekli-

dir. Özellikle olgunun etnik kökeni, akrabalık olup olmadığı, annenin önceki doğum öyküsü sorgulanmalı, fizik muayene ile ön post-mortem bilgiler elde edilmelidir. Bu bilgiler ölüm öncesi yapılabilmiş biyokimyasal ve hematolojik testler ile birlikte postmortem uygun laboratuvar analizinin seçilmesinde yol gösterici ipuçlarıdır. Ani ölen bir bebek veya çocukta birçok metabolik olmayan neden de örneğin enfeksiyon ölüm sebebi olabilir ve öncelikle bunların dışlanması gereklidir.<sup>15</sup>

Metabolik bir neden olabileceğini düşündüren bulgulardan biri olgudaki dismorfik özelliklerdir (örneğin; mikrosefali, mikrognati, antevert burun delikleri, 2. ve 3. ayak parmaklarında sindaktili saptanması kuvvetle Smith-Lemli-Opitz sendromunu akla getirir).<sup>6</sup> Ancak dismorfoloji özellikle çok belirgin değilse en iyi, bir klinik genetikçi tarafından saptanabilir. Bu nedenle ayrıntılı bir dış muayene çok önemlidir. Gerektiği durumlarda postmortem uygulanacak MRI gibi teknikler bazı iç değişiklikleri saptamak için gereklidir (örneğin serebral disgenezis, korpus kollosum agenezisi, konjenital kalp anomalisi gibi). Erken neonatal dönemdeki ölümlerde plasentanın incelenmesi önemli ipuçları verebilir (örneğin sinsityotrofoblastlardaki vakuolazisyon bir depo hastalığını düşündürülebilir).<sup>17</sup>

Doku örneklerinde yağ birikiminin gösterilmesi de ayrıntılı bir inceleme yapma endikasyonudur. Örneğin böbrek tübül epitelinde vakualizasyon ve proksimal renal tübüllerde yağ depolanması mutlaka yağ oksidasyon defektlerini akla getirmektedir.

Değişik organ ve/veya dokulardaki diğer depolanmalar da tanıya götürücü ipuçlarındandır.<sup>15,17</sup>

### Alınacak Örnekler

Metabolik hastalıkların incelenmesinde postmortem uygun örneklerin alınması çok önemlidir. Eğer çok az miktarda vücut sıvısı veya doku örneği alınabiliyorsa ise örneğin gereksiz yere harcanmaması için metabolizma uzmanları ile olgunun tartışılması gerekebilir. Ölümü beklenen bir olgunun mümkün olabiliyor ise, kan ve doku örnekleri ölüm öncesi alınmalıdır. Bu durum özellikle mitokondrial solunum zinciri hastalığı düşünülen

olgular için geçerlidir. Çünkü ölüm sonrası toplanan örnekler post-mortem bozulmaya çok duyarlıdır. Karaciğer ve diğer iç organlarda ölüm sonrası proteoliz çok hızlı gelişir. Mitokondrideki değişiklikler ilk 2 saat içinde belirgindir ve solunum zinciri enzim aktiviteleri hızla bozulur. Doğru sonuç alınması bekleniyorsa birçok biyokimyasal analiz için karaciğer, kalp ve iskelet kası biyopsileri ölümden mümkün olan en kısa sürede alınmalıdır. Otopsi acil olarak yapılmayacaksa enzimatik analizler için, özellikle solunum zinciri için hemen ölüm sonrası doku biyopsileri alınmalıdır. Karaciğer ve kas biyopsileri çok kolay ve hızla alınabilir.<sup>17</sup>

Ara metabolizmanın bazı enzimleri daha stabildir ve ölümden sonra bir veya 2 gün sonra bile yapılan rutin otopsi sonrasında elde edilen karaciğer, kas, kalp, böbrek ve hatta beyin biyopsileri tam için uygun olabilir.

Fibroblast kültürü içinde biyopsi yapılması çok önemlidir, çünkü kalıtsal metabolik hastalarda eksik olduğu bilinen enzimlerin çoğu fibroblastlarda eksprese olur ve sıklıkla şüphelenilen tanının kesinleştirilmesinde enzim analizinin yapılabilmesi için elde edilebilecek tek doku fibroblastlardır.<sup>15</sup>

Biyokimyasal ve moleküler analizler için alınması gerekli örnekler ve saklama koşulları Tablo 2'de özetlenmiştir.

### İdrar

İdrar kateterizasyon yolu ile veya suprapubik ponksiyonla alınmalıdır. 100 µl kadar az örneklerle bile gaz kromatografi kütle spektroskopisi (GCMS) ile organik asit analizi yapmak mümkündür. Eğer örnek kanla kontamine oldu ise -20°C'de dondurmada önce santrifüj edilip hücrelerin ayrılması gereklidir. Mesanenin çok az miktarda steril serum fizyolojik ile yıkanması da organik asit analizi için yeterli örnek alınması için uygundur.<sup>15,17</sup>

### Kan

Ölümden birkaç gün sonrasına kadar kardiyak ponksiyonla sıvı kan örneği almak mümkündür. Postmortem değişikliklere bağlı olarak yorumlama problemleri olmasına rağmen tam kanda yapılan açıl karnitin analizi bazı durumlarda yapılabilecek tek ve en önemli bilgi verici test olabilir. Bu amaç-

**Tablo 2.** Biyokimyasal/moleküler incelemeler için alınacak örnekler.

| Örnek            | Saklama yeri         | Saklama sıcaklığı         | Analiz tipi  | Saptanan defektlere örnekler   |
|------------------|----------------------|---------------------------|--|--|
| Tam kan          | Guthrie kartı        | Kuru olarak oda sıcaklığı | Açıl karnitin, amino asit  | Yağ asidi oksidasyon (YAO) defektleri ve organik asidemi, üre siklus defektleri, aminoasidopatiler                       |
| Tam kan          | Heparinli tüp        | Plazma + 4° C             | Açıl Karnitin, aminoasit çok uzun zincirli yağ asitleri, steroller | YAO, aminoasidopatiler, peroksizomal defektler, Smith-Lemni–Opitz sendromu   |
| Tam kan          | EDTA lı tüp          | - 20° C                   | DNA  | YAO defektleri vs.   |
| Safra            | Guthrie kartı        | Kuru olarak oda sıcaklığı | Açıl karnitin  | YAO defektleri ve organik asidemiler.  |
| İdrar            | Steril tüp           | - 20° C veya + 4° C       | Organik asit   | YAO defektleri ve organik asidemiler.  |
| Cilt biyopsisi   | Steril kültür ortamı | + 4° C veya oda sıcaklığı | Enzim analizi, DNA, RNA  | YAO defektleri, solunum zinciri defektleri, organik asidemi, Niemann Pick tip C vb.                                      |
| Karaciğer (taze) | Sıvı nitrojen        | - 80° C                   | Enzim analizi, solunum zincir kompleksi I - IV                     | Ornitin transkarbamilaz eksikliği, karbamyl fosfat sentetaz I, NKH, GSD I, IV, 0, Mitokondrial solunum zincir defektleri |
| Kas (Taze)       | Sıvı nitrojen        | - 80° C                   | Enzim analizi, solunum zincir kompleksi I-IV                       | GSD II, GSD IV, Solunum zincir defektleri.   |

la filtre kağıdına (Guthrie kartı) alınacak birkaç damla tam kan yeterlidir. Eğer daha fazla kan almak mümkünse (Guthrie kartına ek olarak) 10 ml heparinli kan almak uygundur. Ayrılan plazma -20°C'de, hücreler +4°C'de saklanmalıdır. Eğer DNA analizi de düşünülüyorsa EDTA'lı tüpe 5 ml tam kan alınmalı ve hemen en az -20°C'de DNA analizi için kullanılabilecek kadar dondurulmalıdır.<sup>15</sup>

#### Beyin omurilik sıvısı (BOS) örneği

BOS bazı durumlarda (örneğin organik asit ve açıl karnitin analizi gibi) kullanışlı olabilir ancak bazı aminositlerin analizi gibi durumlarda güvenilir olması için ölüm öncesi alınması gereklidir. 2 ayrı tüpe (biri düz diğeri florid okzalatlı) 1 er mililitre örnek alınmalı ve hemen -80°C'de saklanmalıdır.<sup>17</sup>

#### Vitreus sıvısı

İğne aspirasyonu ile floridli tüpe alınıp -20° C'de saklanabilir.<sup>17</sup>

#### Safra

Ölümlü postmortem inceleme arasındaki sürenin uzun olduğu durumlarda safra tek uygun analiz edilebilir sıvıdır. Alta yatan bir metabolik

hastalık olasılığı olan her vakada safra örneği alınmalıdır. Açıl karnitin analizi için Guthrie kartına örnek damlatılmalıdır. Eğer Guthrie kartı bulunmazsa düz tüpe örnek alınıp -20°C'de saklanabilir.<sup>18</sup>

#### Fibroblast kültürü için cilt veya diğer örneklerin alınması

Bilinmeyen bir nedenle ölen her çocukta cilt biyopsisi postmortem incelenmenin rutin parçası olmalıdır. Cilt biyopsisi alınırken en çok dikkat edilecek konu sterilite olmalıdır. İdeal olarak 2 punch biyopsi farklı bölgelerden alınmalı ve farklı steril kültür ortamlarına konulmalıdır. Punch biyopsi alınmadığı durumlarda 2 adet 3x3 mm'lik tüm katmanları içeren biyopsi alınmalıdır. Daha büyük alınan cilt ve doku örneklerinde enfeksiyon gelişme şansı yüksektir. Kontaminasyon riskini önlemek amacı ile cilt biyopsileri postmortem incelenmenin başında alınmalıdır. Cilt fibroblastları ölümden 2-3 gün sonrasına kadar canlı kalabilirler ancak yinede mümkün olan en kısa sürede biyopsinin alınması kültürün başarılı olma şansını artırır. Eğer enfeksiyonun problem olacağı düşünülüyorsa postmortem birkaç günden fazla geçti ise ve canlılığı az olacağı düşünülüyorsa farklı bölgelerden çok

sayıda küçük biyopsi alınması daha uygundur (örneğin perikard, fasia ve/veya kıkırdak). Biyopsiler alındıktan sonra hemen hücre kültür laboratuvarına gönderilmelidir, ancak gerekli olduğu durumlarda bir gece +4° C’de saklanabilir (dondurulursa hücreler canlılığını kaybeder). Acil durumlarda kültür ortamı yerine steril serum fizyolojik kullanılabilir.<sup>19</sup>

#### **Biyokimyasal analiz için doku örnekleri**

Organ biyopsilerinin seçimi klinik tabloya bağlıdır ve bir metabolizma uzmanı ile tartışılması uygun olur. Karaciğer, kalp kası, iskelet kası ve böbrekten yapılacak biyokimyasal analizler, ancak dokular ölüm sonrası 2-4 saat içinde alınmışsa mümkündür. Açık biyopsi yapılması tercih edilmelidir, ancak mümkün olmuyorsa 2 veya 3 iğne biyopsisi yapılmalıdır. Alınan örnekler alüminyum kağıda sarılıp sıvı nitrojende veya katı CO<sub>2</sub>’de dondurulmalıdır, daha sonra -80° C’de saklanmalıdır.<sup>15</sup>

#### **Histolojik inceleme için doku örnekleri**

**Karaciğer:** Işık mikroskopi için formalin içine, elektron mikroskopi için glutaraldehit içine örnek alınmalıdır.

**Böbrek:** Yağ biyopsi için bir örnek alınmalıdır.

**Kas biyopsisi:** Küçük bir parça formalin içine alınmalı bir parça elektron mikroskopi için %2’lik glutaraldehid içine alınmalıdır.<sup>17</sup>

#### **Analiz ve İncelemeler**

**Açıl karnitin analizi:** Guthrie kartlarına alınan birkaç damla kanla “Tandem mass” spektrometri ile çalışılabilen açıl karnitin analizi metabolik hastalıkların tanısında yeni bir devrim oluşturmuştur ve özellikle bu hastalıkların postmortem analizinde çok avantajlıdır. Açıl karnitin analizi ile bir çok kalıtsal metabolik defekte, çoğu yağ asiti oksidasyon bozukluklarına, birçok organik asidemiye tanı koymak mümkündür. Postmortem değişikliklerin bazı orta ve kısa zincirli açıl karnitinlerde değişikliğe yol açması nedeni ile sonuçların oran olarak ifade edilmesi daha güvenilirdir. Elde edilen sonuçların fibroblast çalışmaları ile desteklenmesi gerekir.<sup>14,18</sup>

**Kan damlası örneklerinde aminoasit analizi;** “Tandem mass” spektrometri ile guthrie kartına alınan kan örneklerinde aminoasit profillerinin de çalışılması mümkündür. Bu analiz ile aminoasit metabolizmasını, üre siklusunu etkileyen belirli bazı defektlere tanı koymak mümkündür (örneğin akçaağaç idrar hastalığı, sitrülünemi, arginino süksinik asidüri vb.).<sup>17</sup>

**Plazma ara metabolitleri;** Ölüm öncesi veya hemen ölüm sonrası okzalattı tüpe alınan kan örnekleri glukoz, laktat, non esansiyel yağ asitleri, 3 hidroksi bütirat gibi ara metabolitleri çalışmak için kullanılabilir.<sup>15</sup>

**Plazma, BOS ve idrarda aminoasit analizleri;** Postmortem alınan materyallerde aminoasit analizi her zaman problemlidir. Bazı aminoasitlerde anormal artışlar spesifik bir hastalığın göstergesi olabilir, ancak sonuçlar yorumlanırken ölüm ile örnek alınması arasında geçen süre dikkate alınmalıdır. Hastalıktan şüphelenilen durumlarda enzimatik analiz veya mutasyon analizi ile tanının kesinleştirilmesi gereklidir.<sup>15</sup>

**İdrarda organik asit analizi;** Organik asidüriler, yağ asidi oksidasyon defektlerinin çoğu ve ara metabolizmanın bir çok defekti anormal organik asit atılımına yol açar. Metilmalonik asidemi, izovalerik asidemi, glutarik asidemi tip I gibi bazı hastalıklarda organik asit profili tanı koydurucudur, bazı hastalıklarda ise bulgular çok tipik değildir ve ileri inceleme gerektirir.<sup>15</sup>

**Safra;** Çok az alınan postmortem safra örneklerinde açıl karnitin ve safra asit profillerinin çalışılması mümkün olmaktadır ancak yorumlamasının dikkatli yapılması ve kesin tanı için ileri tetkiklerin yapılması gereklidir.<sup>18</sup>

**Plazma çok uzun zincirli yağ asitleri ve steroller;** Çok uzun zincirli yağ asitleri, fitanik asit, pristonik asit ve safra asitleri peroksizomal hastalık düşünülen durumlarda plazma veya serumda GC-MS ile ölçülebilir. Plazma sterol analizi Smith - Lemni - Opitz sendromu gibi sterol metabolizması defekti düşünülen durumlarda uygulanabilir.<sup>15</sup>

**Vitreus sıvısı;** İdrar alınmadığı durumlarda vitreus sıvısı organik asit analizi için kullanılabilir.<sup>17</sup>

**BOS;** MCAD düşünülen vakalarda BOS'da "Tandem-mass" ile açılıkarnitin ölçümü yapılabilir.<sup>15</sup>

**Moleküler çalışmalar;** Enzimatik analiz mümkün olmadığı durumlarda tanıyı kesinleştirmek için mutasyon analizi kullanılabilir. Moleküler analiz için DNA en kolay yolla EDTA'lı tam kandan elde edilir. Guthrie kartlarındaki kan örnekleri, dondurulmuş doku örnekleri ve fibroblastlar da DNA elde etmek için kullanılabilir.<sup>15</sup>

**Histolojik incelemeler;** Birçok dokunun histolojik görünümü tanı için yönlendirici olabilir, ancak çok spesifik değildir. Postmortem erken dönemde alınan kas, kalp, karaciğer ve böbrekteki mikro ve makroveziküler yağ ve/veya glikojen birikimi ileri tetkikler için yol gösterici olabilir. Lipid inklüzyonları yağ asidi oksidasyon bozukluğunu veya bozulmuş mitokondrial fonksiyonları düşündürür. Glikojen birikimi glikojen metabolizmasındaki defektlerin işaretidir. Lizozomal glikojen birikimi Pompe hastalığı için tipiktir. Mitokondriopatilerde elektron mikroskopide sayısı veya çapı artmış mitokondriler gibi anormallikler saptanabilir. Anormal veya dağılmış kristalli dev mitokondriler çok tipiktir. Mitokondrial matriks şişmiştir veya büyük sferik cisimcikler, vakuoller, kristaller içerir.<sup>15,17</sup>

### Doku Çalışmaları;

**Fibroblast kültürü;** Bazı glikojen depo enzimleri ve bazı üre siklus enzimleri gibi belirli bazı enzimlerin dışında kalıtsal metabolik defektlerde eksiklik olduğu bilinen pek çok enzim cilt fibroblastlarında eksprese olurlar. Bu nedenle cilt biopsisi postmortem incelemenin rutin bir parçası olmalıdır. Yine canlı fibroblastlarda bazı substratların hücre içine alımını veya bazı metabolitlerin giriş-çıkışını saptamak amacı ile kinetik çalışma yapmak mümkündür. Fibroblastlar mutasyon analizi için de kullanılabilir.<sup>20-22</sup>

**Diğer dokular;** Taze dondurulmuş kas örnekleri mitokondrial solunum zinciri defekti düşünülen durumlarda tercih edilen doku örneğidir. Ölüm sonrası ilk 2 saat içerisinde alınan örnekte solunum zincirinde görevli kompleks I, II, III ve IV'leri ölçmek mümkündür. Özellikle karaciğer ve kalp

tutulumu düşünülüyor ise karaciğer ve kalp kası örnekleri alınmalıdır.<sup>20,21</sup>

### Sonuç

Adli tıp uzmanı açısından özellikle yeni doğan ölümleri tanı açısından büyük sıkıntı verir. Bu dönem içerisinde ani bebek ölümü sendromu tanısının bulunması, ölüme neden olan hastalıkların belirlenmesinde ne yazık ki negatif yönde sonuçlar çıkmasına neden olur. Birçok ani ve beklenmedik bebek ölümü ABÖS olarak değerlendirilir. Bu durum ne yazık ki ölüm nedenlerinin gerçekçi olarak konulmasını engeller. Bu durumdan en çok etkilenen hastalık grubu metabolik hastalıklardır. Tüm pediatrik otopsilerde metabolik incelemelerin kabul görebileceği uygulanmasında en önemli engellerden biri uygulanan işlemlerin karmaşık olmasıdır (örnek toplanması, analitik gereksinimler, fibroblast kültürü için cilt biyopsisi, alınan vücut sıvılarının ve dokuların hızla saklanması gerekliliği gibi). Ayrıca, bu tip uygulamaların yapılabileceği laboratuvar sayısı da kısıtlıdır. Ancak, özellikle daha sonra doğacak kardeşlerin korunması ve şüpheli kriminal durumların ortadan kaldırılabilmesi amacı ile adli tıp uzmanları infant döneminde ölüme neden olan metabolik hastalıkları mutlaka tanımalı, gerekli laboratuvar tetkikleri isteyecek materyali alabilmeli ve ölüm nedeni olarak gösterebilmelidir.

### KAYNAKLAR

1. Hunt CE. Sudden infant death syndrome and other causes of infant mortality. *Am J Respir Crit Care Med* 2001;164:346-57.
2. Cote A, Russo P, Michaud J. Sudden unexpected deaths in infancy: What are the causes? *J Pediatr* 1999;135:437-43.
3. Loughrey CM, Preece MA, Green A. Sudden unexpected death in infancy (SUDI). *J Clin Pathol* 2005;58:20-1.
4. Sinclair-Smith C, Dindlase F, Emery J. Evidence of duration and type of illness in children found unexpectedly dead. *Arch Dis Child* 1976;51:424-8.
5. Howat AJ, Bennett MJ, Shaw L, et al. Medium-chain acylcoenzim A dehydrogenase deficiency presenting as sudden infant death. *Br Med J* 1984;290:1771-3.
6. Saudubray JM, Charpentier C. Clinical phenotypes: Diagnosis/algorithm. *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*, 8<sup>th</sup> ed. New York: McGraw Hill; 2000. p.1327-403.
7. Howat AJ, Bennett MJ, Variend S, Shaw L, Engel PC. Defects in the metabolism of fatty acid acids in sudden infant death syndrome. *BMJ* 1985;290:1771-3.

8. Benett MJ, Rinolda P. The meabolic autopsy comes of age. *Clin Chem* 2001;47:1145-6.
9. Lafolla AK, Thompson RJ Jr, Roe CR. Medium- chain acyl-CoA dehydrogenase deficiency: Clinical course in 120 affected children. *J Pediatr* 1994;124:409-15.
10. Bennett MJ, Allison FA, Pollitt RJ, Variend S. Fatty acid oxidation defects as a cause of sudden death in infancy. *Prog Clin Biol Res* 1990;321:349-64.
11. Saudubray JM, Martin D, de Lonlay P, et al. Recognition and management of fatty acid oxidation defects: A series of 107 patients. *J Inherit Metab Dis* 1999;22:448-502.
12. Arens R, Gozel D, Jain K, et al. Prevalence of medium-chain dehydrogenase deficiency in sudden infanth syndrome. *J Pediatr* 1993;122:715-8.
13. Boles RG, Buck EA, Blitzer MG, et al. Retrospective biochemical screening of fatty acid oxidation disorders in post morte livers of 418 cases of sudden death in the first year of life. *J Pediatr* 1998;132:924-33.
14. Pollitt RJ, Olpin SE, Bonham JR, Cahalane SF, Naughten E. Late presenting carnitine transport defect. *Enzyme Protein* 1993;47:175.
15. Olpin ES. The metabolic investigation of sudden infanth death. *Ann Clin Biochem* 2004;41:282-93.
16. Hudak ML, Jones MD, Brusilow SW. Differentiation of transient hyperammonaemia of the newborn and urea cycle enzyme defects by clinical presentation. *J Pediatr* 1985;107:712-9.
17. Olpin SE, Evans MJ. The investigation of inherited metabolic disease after death. *Essentials of autopsy practice: Recent advances, topics and developments*, 1<sup>st</sup> ed. London: Springer-Verlag; 17-44.
18. Chace DH, Di Perna JC, Mitchell BL, Sgroi B, Hofman LF, Naylor EW. Elecspray tandem mass spectrometry for acylcarnitines in dried post mortem blood specimens collected at autopsy from infants with unexplained cause of death. *Clin Chem* 2001;47:1166-82.
19. Leonard JV, Morris AAM. Inborn errors of metabolism around the time of birth. *Lancet* 2000;356:583-7.
20. Roe CR, Roe DS. Recent developments in the investigation of inherited metabolic disorders using cultured human cells. *Mol Genet Metab* 1999;68:243-57.
21. Munnich A, Rotig A, Cormier-DaireV, Rustin P. Clinical presentation of respiratory chain deficiency. *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*, 8<sup>th</sup> ed. New York: McGraw Hill; 2000. p.2261-74.
22. Robinson BH, Gleum DM, Chow W, Petrova-Benedict R, Lightowers R, Capaldi R. The use of skin fibroblast cultures in the detection of respiratory chain defects in patients with lactic acidemia. *Pediatr Res* 1990;28:549-55.