



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

SURİYEDEN GÖÇ EDEN TALASEMİLİ HASTALARDA
BETA GLOBİN GEN MUTASYONLARININ
ARAŞTIRILMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Hatice Çevirici

KAHRAMANMARAŞ

2018



T.C.
KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

SURİYEDEN GÖÇ EDEN TALASEMİLİ HASTALARDA
BETA GLOBİN GEN MUTASYONLARININ
ARAŞTIRILMASI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Hatice Çevirici

DANIŞMAN

Doç. Dr. Can Acıpayam

**Bu araştırma, 2015/2-43D kodlu proje olarak Kahramanmaraş Sütçü İmam
Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından
desteklenmiştir.**

KAHRAMANMARAŞ

2018

ONAY SAYFASI



TEŞEKKÜR

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları uzmanlık eğitimim boyunca, desteklerini esirgemeyip bana bilgi ve tecrübelerini aktaran kıymetli hocalarım, Prof. Dr. Cengiz Dilber, Prof. Dr. Şeref Olgar, Prof. Dr. Mehmet Davutoğlu, Doç. Dr. Can Acıpayam, Doç. Dr. Fatih Temiz, Doç. Dr. Sadık Yurttutan, Doç. Dr. Tevfik Demir, Doç. Dr. Ekrem Güler, Yrd. Doç. Dr. Ahmet Çetinkaya, Yrd. Doç. Dr. Mehmet Yaşar Özkars, Yrd. Doç. Dr. Hatice Güneş, Yrd. Doç. Dr. Sevcan İpek, Uzm. Dr. Tahir Dalkıran, Uzm. Dr. Yöntem Yaman, Uzm. Dr. Olcay Güngör, Uzm. Dr. Yasemin Çoban, Uzm. Dr. Serkan Kırık'a teşekkür ederim.

Bu tezin oluşumunda bana yol gösteren, bilgi ve deneyimlerini benimle paylaşan ve emeğini esirgemeyip her zaman yanımda olan tez danışman hocam Doç. Dr. Can Acıpayam'a çok teşekkür ederim.

Mutasyon çalışmalarına verdikleri desteklerden dolayı Çukurova Üniversitesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Abdullah Tuli, Uzm. Dr. Ebru Dündar Yenilmez ve teknisyen Halil Gülsev'e teşekkür ederim.

Ankara Başkent Üniversitesi Çocuk Hematolojisi ve Onkolojisi Bilim Dalı'ndan Doç.Dr. Fatma Burcu Belen ve Gaziantep Üniversitesi Çocuk Hematolojisi ve Onkolojisi Bilim Dalı'ndan Yrd. Doç. Dr. Esra Pekpak'a tezime verdikleri katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Tezimin hazırlanma aşamasında bilgi ve becerileri ile bana yardım edip dostluklarını hissettiren değerli çalışma arkadaşlarım Uzm. Dr. Mahmut Cesur ve Dr. Tuğba Kandemir Gülmez'e çok teşekkür ederim.

Uzmanlık eğitim süresince destek ve dostluklarını hep yanımda hissettiğim ve birlikte çalışmaktan çok mutlu olduğum tüm asistan arkadaşlarıma, tezimin verileri için gereken kan tetkiklerinin alınmasında yardımcı olan Çocuk Hematoloji ve Onkoloji servis hemşirelerine, yorucu ve stresli hastane ortamında birlikte çalıştığım, nöbetlerimi renklendiren tüm hemşire, tıbbi sekreter ve diğer çalışma arkadaşlarıma,

Bu zorlu ve uzun süreçte beni bir an olsun yalnız bırakmayan sevgili annem, babam ve kardeşlerime, sevgisi, sabrı ve özverisiyle her zaman yanımda olan sevgili eşim İbrahim'e, hayatımı anlamlandıran canım oğlum Emre ve canım kızım Ela'ya

Yürekten teşekkür ederim.

Dr. Hatice Çevirici

**SURİYEDEN GÖÇ EDEN TALASEMİLİ HASTALARDA BETA GLOBİN GEN
MUTASYONLARININ ARAŞTIRILMASI**

(Tıpta Uzmanlık Tezi)

Dr. Hatice ÇEVİRİCİ

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

NİSAN - 2018

ÖZET

Talasemiler, otozomal resesif geçiş gösteren, hemoglobin (Hb) zincirlerinden birinin veya birkaçının hasarlı sentezi sonucu gelişen hipokrom mikrositer anemi ile karakterize heterojen bir grup hastalıktır. Beta (β) talasemi, beta globin zincir sentezinin azalması veya yokluğu ile karakterizedir. Bu hastalığın şiddeti mutasyonların türüne ve kombinasyonlarına bağlıdır. Günümüzde beta globin geninde 200'den fazla mutasyon tanımlanmıştır. En sık görülen mutasyonlar nokta mutasyonlarıdır. Suriye'de iç savaş Temmuz 2011 tarihinde başlamış ve günümüze kadar devam etmektedir. Bu zaman zarfında ülkemize mülteci göçü olmuştur. Bu süreçte birçok hemoglobinopatili hasta ülkemizde tedavi edilmektedir. Özellikle Hatay, Kahramanmaraş, Gaziantep ve Adana illeri açısından toplumsal bir konu olmuştur. Suriye'den göç eden beta talasemi majorlu hastaların hiçbirinin beta talasemi gen mutasyonu sonucu yoktu. Bu çalışmada Kahramanmaraş ve yöresinde Suriye'den göç eden beta talasemi majörlü hastaların beta globin gen mutasyonlarının tespit edilmesi planlanmıştır.

Çalışmaya 35 Suriye uyruklu beta talasemi majorlu hasta dahil edildi. Hastalardan tam kandan hemogram ve mutasyon çalışması için EDTA'lı tüplere kan alındı. Alınan kan örneklerinden ARMS (Amplification Refractory Mutation System) yöntemi, RFLP (Restriction Fragment Length Polimorfizm) yöntemi ve DNA (Deoksiribo Nükleik Asit) dizi analizi ile beta globin gen mutasyonları saptandı. Çalışmamızda diğer yöntemlerle saptayamadığımız Kodon 15, Kodon 9/10, Kodon 5 ve Kodon 8 mutasyonları sekans yöntemi ile saptandı.

Çalışmaya dahil edilen 35 hastanın 19'u (%54,3) erkek, 16'sı (%45,7) kız idi. Tüm hastaların yaşları ortalaması $9,48 \pm 4,51$ yıl (2 yaş-17 yaş) idi. Beta talasemi

majörlü hastalarda en yaygın IVS-I-110 (%22,9) olmak üzere 16 çeşit mutasyon tespit edilmiştir. Diğer mutasyonlar sıklık sırasına göre şöyledir; IVS-II-745 (%8,6), kodon 44 (%8,6), kodon 15 (%8,6), IVS-I-110/IVS-I-1 (%8,6), kodon 5 (%5,7), IVS-I-1 (%5,7), kodon 8/IVS-II-1 (%5,7), kodon 44/kodon 15 (%5,7), IVS-II-1 (%2,9), kodon 39 (%2,9), IVS-I-6/kodon 5 (%2,9), kodon 9/10 (%2,9), IVS-I-110/kodon 39 (%2,9), IVS-I-5/IVS-II-1 (%2,9), kodon 39/IVS-II-745 (%2,9).

Çalışmamızın sonuçlarına göre Suriye uyruklu göçmenlerde beta talasemi mutasyonları heterojenite göstermekte ve mutasyon çeşitleri Türkiye mutasyon haritasına benzemektedir. Bu çalışma ile ilk kez, ülkemizin bir gerçeği olan Suriye’li göçmen hastalarda beta globin gen mutasyonlarının tespit edilmesine olanak sağlanmıştır. Sonuçlar ile amaçlanan ailelere genetik danışmanlık verilerek ikinci bir hasta çocuk sahibi olmalarının önüne geçilmesidir.

Anahtar kelimeler: Beta globin gen mutasyonu, beta talasemi, Suriye’li göçmenler

**INVESTIGATION OF BETA GLOBIN GENE MUTATIONS IN
THALASSEMIC PATIENTS MIGRATED FROM SYRIA**

(Specialization Thesis)

MD. Hatice ÇEVİRİCİ

KAHRAMANMARAS SUTCU IMAM UNIVERSITY MEDICAL SCHOOL

ABSTRACT

Thalassemia is a heterogeneous group of diseases characterized by hypochromic microcytic anemia that has autosomal recessive inheritance, resulting in damaged synthesis of one or several of the hemoglobin (Hb) chains. Beta thalassemia is characterized by decreased or absent beta globin chain synthesis. The severity of this disease depends on the type and combination of mutations. More than 200 mutations have been identified in the beta globin gene nowadays. The most common mutations are point mutations. The civil war in Syria began in July 2011 and continues until today. During this time, refugee migration has occurred to our country. In this process, many hemoglobinopathies are treated in our country. Particularly in Hatay, Kahramanmaraş, Gaziantep and Adana that have become a social issue. None of the patients with beta-thalassemia major who migrated from Syria had a beta thalassemia gene mutation result. In this study, detection of beta globin gene mutations in thalassemia major patients who migrated from Syria to Kahramanmaraş region were planned.

The study included 35 Syrian national beta thalassemia major patients. Blood was collected to EDTA tubes for hemogram and mutation studies. Beta globin gene mutations were detected by ARMS (Amplification Refractory Mutation System) method, RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) method and DNA sequence analysis. Codon 15, Codon 9/10, Codon 5 and Codon 8 mutations, which we could not detect with other methods in our study, were detected by sequence analysis.

Of the 35 patients included in the study, 19 (54.3%) were male and 16 (45.7%) were female. The mean age of all patients was 9.48 ± 4.51 years (2-17 years). In Beta thalassemia major patients, 16 types of mutations were detected, the most common being IVS-I-110 (22.9%). Other mutations are according to frequency order; IVS-II-745 (8.6%), codon 44 (8.6%), codon 15 (8.6%), IVS-I-110 / IVS-I-1 (8.6%), codon 5

(5.7%), IVS-I-1 (5.7%), codon 8 / IVS-II-1 (5.7%), codon 44 / codon 15 (5.7%), IVS-II-1 (2.9%), codon 39 (2.9%), IVS-I-6 / codon 5 (2.9%), codon 9/10 (2.9%), IVS-I-110 / codon 39 (2.9%), IVS-I-5/IVS-II-1 (%2.9), codon 39/IVS-II-745 (%2,9).

According to the results of our study beta-thalassemia mutations in Syrian immigrant groups show heterogeneity and mutation types of mutation map is similar to Turkey. For the first time, this study has enabled the detection of beta globin gene mutations in migratory patients from Syria, a fact of our country. The conclusion is to prevent families to have a second patient child by genetic counseling.

Key words: Beta thalassemia, beta globin gene mutation, Syrian immigrants



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa No</u>
ONAY SAYFASI	i
TEŞEKKÜR.....	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Talasemiler ve Epidemiyolojisi.....	3
2.2. Hemoglobinin Yapısı ve Özellikleri	4
2.3. Beta Talaseminin Patofizyolojisi	6
2.4. Beta Talasemi Sınıflandırılması	8
2.4.1. Sessiz beta talasemi taşıyıcılığı	9
2.4.2. Beta talasemi taşıyıcılığı.....	9
2.4.3. Beta talasemi intermedia	9
2.4.4. Beta talasemi majör	11
2.5. Beta Talasemi Tanısı.....	13
2.6. Beta Talasemi Tedavisi	14
2.6.1. Transfüzyon tedavisi	14
2.6.2. Demir şelasyon tedavisi.....	15
2.6.2.1. Desferoksamin (DFO).....	15
2.6.2.2. Deferipron (DFP)	16
2.6.2.3. Deferasiroks (DFX)	16
2.6.2.4. Kombinasyon tedavisi.....	16
2.6.3. Splenektomi	17
2.6.4. Komplikasyonların İzlem ve Tedavisi.....	17
2.6.4.1. Kardiyak komplikasyonlar	17
2.6.4.2. Endokrin Komplikasyonlar	17
2.6.4.3. Enfeksiyöz Komplikasyonlar	18
2.6.4.4. Hepatik Komplikasyonlar	18
2.6.5. Kök hücre transplantasyonu	18
2.7. Korunma.....	19
2.8. Türkiye’de Görülen Beta Talasemi Mutasyonları.....	19
2.9. Dünyada Görülen Beta Talasemi Mutasyonları	20
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. Çalışmanın Tasarımı	22
3.2. Kan Örneklerinin Toplanması.....	22
3.3. Beta talasemi gen mutasyonu çalışması:	22

3.3.1. ARMS (Amplification Refractory Mutation System) Yöntemiyle Beta Talasemi ve Hb S Mutasyonlarının Tanımlanması	22
3.3.1.1. Ayıraçlar	23
3.3.1.2. Yöntem.....	24
3.3.1.3. PCR programı	25
3.3.2. RFLP (Restriction Fragment Length Polimorfizm) ile Beta Talasemi, Hb S ve Hb D Mutasyonlarının Tanımlanması	25
3.3.2.1. Ayıraçlar	25
3.3.2.2. Yöntem.....	26
3.3.2.3. PCR programı	26
3.3.3. Dizi Analizi ile DNA Mutasyonu Saptanması	27
3.3.3.1. Prensipte	27
3.3.3.2. Ayıraçlar	27
3.3.3.3. Yöntem.....	27
3.3.3.4. Sekans Protokolü	28
3.4. İstatiksel Değerlendirme	28
4. BULGULAR.....	29
5. TARTIŞMA	36
6. SONUÇLAR.....	41
KAYNAKLAR	42
EKLER.....	48

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1. Talasemi için endemik bölgeler .	4
Şekil 2. Hemoglobin molekülü	5
Şekil 3. Beta talaseminin patofizyolojisi	8
Şekil 4. Beta talasemi intermedialı 11 yaşında kız hasta.....	11
Şekil 5. Beta talasemi majörlü 17 yaşında kız hasta.....	12
Şekil 6. a) normal periferik yayma b) talasemi majör periferik yayması	13
Şekil 7: Akdeniz çevresinde beta talasemi mutasyonlarının dağılımı.....	21
Şekil 8: Asya bölgesinde beta talasemi mutasyonlarının dağılımı.....	21
Şekil 9. ARMS yöntemi ile IVS-I-110 mutasyonu.....	32
Şekil 10. ARMS ile kodon 8 (Cd 8) mutasyonu.....	32
Şekil 11. ARMS ile IVS-II-745 mutasyonu	32
Şekil 12. ARMS ile IVS-I-1 mutasyonu.....	33
Şekil 13. ARMS ile IVS-I-5 ve kodon 39 (Cd39) mutasyonları	33
Şekil 14. RFLP yöntemi ile Kodon 5 (Fsc5) mutasyonu.....	33
Şekil 15. Sekans görüntüsü Kodon 9-10 (+T) homozigot.....	34
Şekil 16. Kodon 15 (G-A) heterozigot	34

TABLULAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 1. Ülkemizde En Sık Görülen Mutasyonlar	20
Tablo 2: Hastaların cinsiyet dağılımı.	29
Tablo 3: Hastaların demir şelasyon tedavileri dağılımı.	29
Tablo 4: Hastaların tam kan sayımı değerleri.	30
Tablo 5. Hastaların ayrıntılı beta talasemi gen mutasyonu sonuçları.	31
Tablo 6: Hastaların beta talasemi mutasyon sonucu dağılımı.	35



SİMGELER VE KISALTMALAR

α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gama
δ	: Delta
δ	: Zeta
ϵ	: Epsilon
μ l	: Mikrolitre
A γ	: Gama Alanin
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
EKG	: Elektrokardiyografi
G γ	: Gama Glisin
Hb	: Hemoglobin
Hct	: Hematokrit
IVS	: İtron
Kb	: Kilo baz
MCH	: Ortalama eritrosit hemoglobini
MCHC	: Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu
MCV	: Ortalama eritrosit hacmi
MRI	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
mRNA	: Mesajcı Ribo Nükleik Asit
PLT	: Trombosit sayısı
RBC	: Eritrosit sayısı
RDW	: Eritrosit dağılım genişliği
SD	: Standart sapma
WBC	: Lökosit sayısı

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Talasemiler, dünyada en sık görülen genetik bozukluklardır (1,2). Yaklaşık 200 gen mutasyonunun neden olduğu, kalıtımla geçen prenatal tanısı ve taraması olan beta talaseminin, Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre, dünyadaki taşıyıcılık oranı %5,1'dir. İtalya'nın kuzeyi ve orta kesimlerinde bu oran %0,5-2 iken Güney Sardunya'da %30'lara ulaşmaktadır. Taşıyıcılık, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti (KKTC) 'nde %15'lerde, Azerbaycan'da %6,3, Bulgaristan'ın kuzeydoğu bölgesinde %30'dur (3). Türkiye'nin de içinde bulunduğu özellikle Akdeniz'e kıyısı olan ülkelerde yaygındır. Türkiye'nin özellikle güney illeri ve Çukurova bölgesi yüksek beta talasemi oranlarına sahiptir. Ülkemizde hastalığın sık görüldüğü illerde beta talasemi sıklığının yaklaşık %4,3 olduğu, bazı kentlerde bu oranın %10-13'lere çıktığı bildirilmektedir (4,5).

Beta talasemide, beta geni üstünde veya etrafında meydana gelen mutasyonlar, beta globin zincir yapımının azalmasına ya da hiç sentez edilmemesine neden olur. Beta zincir yapımına göre beta⁰ (β^0) ve beta⁺ (β^+) olmak üzere iki tipi bulunmaktadır. Beta⁰ talasemide hiç beta zinciri yapılmamaktadır. Beta⁺ talasemide ise az miktarda beta zinciri yapımı vardır (6,7).

Beta talasemi majör genellikle iki yaştan küçük bebeklerde şiddetli mikrositik anemi, hafif sarılık ve hepatosplenomegali ile seyreder. Taşıyıcılar bazen hafif anemik olabilseler de genellikle asemptomatiktir (8).

Klinik ve laboratuvar verileri ile beta talasemi hastaları tespit edilmektedir. Tam kan sayımı ve Hb elektroforezi rutin yapılan testlerdir. DNA dizi analizi bugün altın standart olarak mutasyon analizi için kullanılmaktadır (8).

Türkiye'de en sıklıkla rastlanan Beta talasemi mutasyonu IVS- I-110'dur (9). Suriye'de yapılan bir çalışmada en sık rastlanan mutasyonlar sırasıyla IVS-I-110 (G>A) (%17), IVS-I-1 (G>A) (%14,7), kodon 39 (C>T) (%14,4), IVS-II-1 (G>A) (%9,8), kodon 8 (-AA) (%6,2), IVS-I-6 (T>C) (%5,2), IVS-I-5 (G>C) (%4,9), kodon 5 (-C) (%3,2), IVS-I-5 (G>A) (%3,2) ve kodon 37 (G>A) (%2,2) saptanmıştır (10).

Kahramanmaraş ve çevresine Suriye'den göç eden ve takibimizde olan hiçbir beta talasemi majorlu hastanın beta talasemi gen mutasyonu sonucu yoktu. Bu çalışma ile Kahramanmaraş ve yöresinde yaşayan Suriye'li göçmen hastalarda mutasyonların tipini ve dağılımını belirlemek suretiyle, tekrar çocuk sahibi olmak isteyen ailelere genetik danışmanlık verilmesi ve elde edilen verilerin bilimsel yayında kullanılması amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Talasemiler ve Epidemiyolojisi

Talasemi; hemoglobin yapısında bulunan globin zincirlerinden birinin ya da daha fazlasının az miktarda yapılması ya da hiç yapılmaması ile oluşan kalıtsal hastalıklar grubudur (11).

Talasemi ilk kez 1925’de Thomas Cooley ve Pearl Lee tarafından ciddi anemisi ve splenomegalisi olan çocuklarda klinik olarak tanımlanmış ve ‘‘Cooley Anemisi’’ olarak adlandırılmıştır. Akdeniz Bölgesi ve çevresinde sık görüldüğünden 1932’de George Whipple ve Lesley Bradford tarafından eski Yunanca’da deniz anlamına gelen ‘‘thalassa’’ sözcüğünden ‘‘thalassemia’’ adı verildi. Daha sonra bu hastalığın yalnız Akdeniz Bölgesi ve çevresindeki toplumlarda değil başka toplumlarda da olduğu görülmüştür (12,13).

Talasemiler, dünya çapında en sık görülen tek gen bozukluklarıdır. Talasemi ülkemizin de içinde bulunduğu Akdeniz Havzası’nda, Orta Doğu’da, Afrika’nın tropik ve subtropik bölgelerinde ve Güney Asya’da oldukça yaygın görülmektedir (%2,5-%25). Talasemi, sporadik olarak da neredeyse tüm toplumlarda ve coğrafik bölgelerde görülmektedir (14,15). En yüksek insidans Kıbrıs (%14), Sardunya (%10,3) ve Güneydoğu Asya’da gözlenmiştir (8) (Şekil 1).

Türkiye’nin genelinde beta talasemi taşıyıcılık oranı %2,1 olmakla birlikte, bölgeler arasında farklılıklar göstermektedir (16). Özellikle Akdeniz kıyı şeridinde olan illerimizde beta talasemi taşıyıcılığı diğer illere nazaran fazla görülür (17). En yüksek insidans Antalya’da (%13,1) bulunmuştur (16).

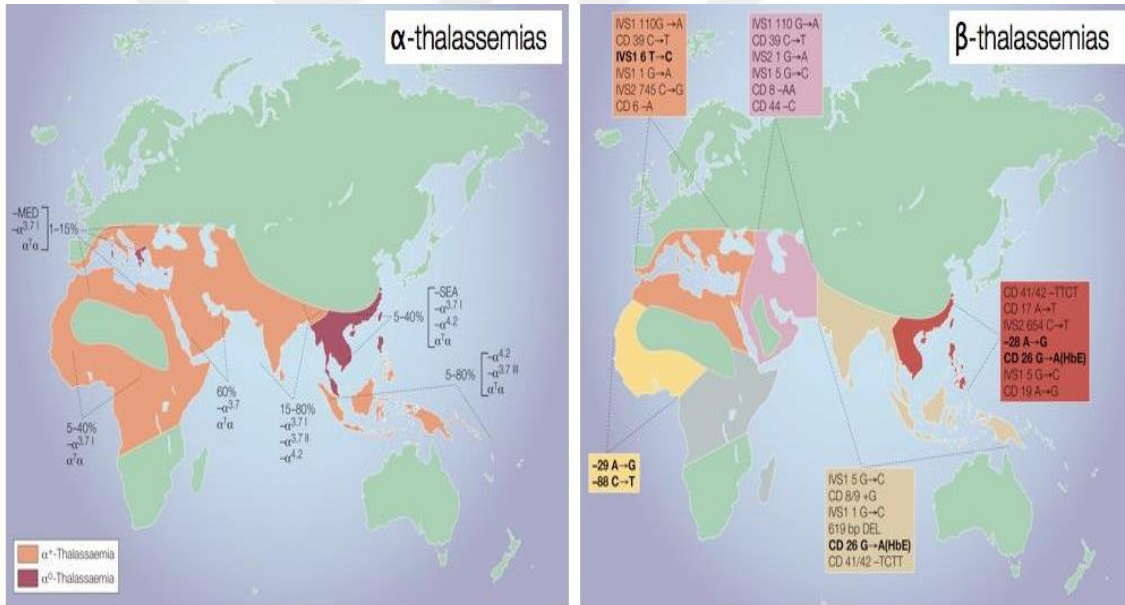
Ülkemizde 4.500 civarı talasemi hastası ve 1.300.000 kadar talasemi taşıyıcısı vardır. Bir talasemi hastasının yıllık tedavi maliyeti 10.000 dolar civarındadır (18).

Talasemiler etkilenen globin zincir ya da zincirlerine göre sınıflandırılırlar. Majör tipleri alfa (α) ve beta talasemidir. Alfa talasemi yaygın olarak Uzak Doğu’da görülürken, beta talasemi Akdeniz ülkelerinde siktir (11,19). Bu iki grup da, globin zinciri sentezinin yapılamaması (α^0 ve β^0) veya az yapılmasına göre (α^+ ve β^+) tekrar sınıflandırılır (20,21).

α -globin geni 16. kromozomun kısa kolunda yer alır ve her bir kromozomda iki tane olmak üzere dört kopyası bulunur (22). Alfa talasemiye en sık gen delesyonları neden olur, nokta mutasyonlar daha nadirdir. Alfa genlerinde parsiyel veya tama yakın

delesyon veya fonksiyonel bozukluk vardır. Etkilenen gen sayısına göre değişik klinik formları vardır. Dört alfa geninden bir tanesi etkilendiğinde sessiz talasemi, iki alfa geni etkilendiğinde alfa talasemi taşıyıcılığı, üç geni etkilendiğinde Hb H hastalığı, dört alfa geni de etkilendiğinde Hb Bart's hidrops fetalis hastalığı ortaya çıkar. Alfa genindeki delesyon tek gene aitse 5 kb den daha küçük bir delesyon vardır. En sık 3.7 ve 4.2 kb delesyonları görülür. Ülkemizde de 3.7 daha yaygın olmak üzere her iki delesyon da görülmektedir (23,24).

β -globin geni ise 11. kromozomun kısa kolunda yer alır ve her bir homolog kromozom üzerinde birer tane olmak üzere iki tanedir. Günümüzde β -globin geninde 200'den fazla mutasyon tanımlanmıştır. En sık görülen mutasyonlar nokta mutasyonlarıdır. Beta talasemide klinik değişkenlikten, alfa talasemilerin aksine fonksiyonel genlerin sayısı değil, mutasyonların çeşitliliği sorumludur (2).

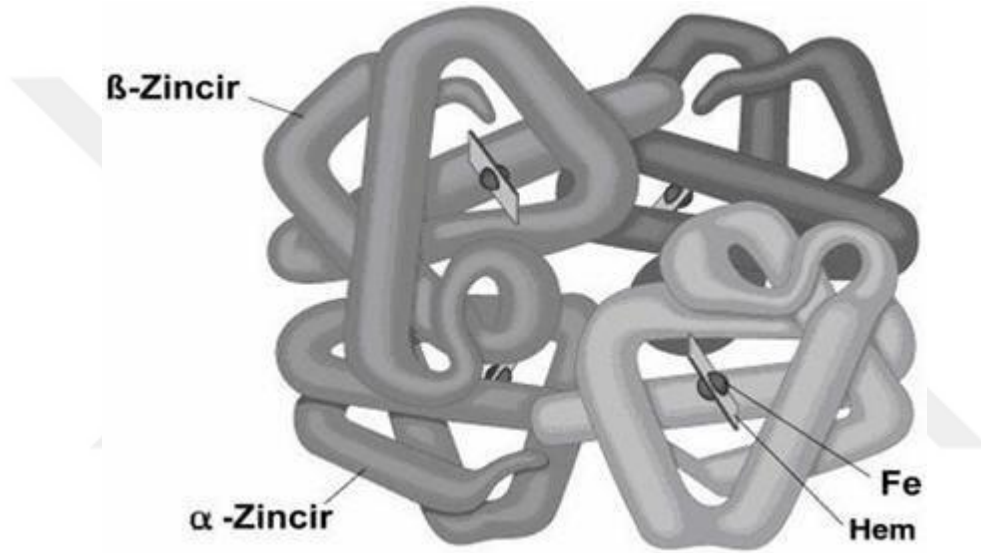


Şekil 1. Talasemi için endemik bölgeler (25).

2.2. Hemoglobinin Yapısı ve Özellikleri

Hemoglobin asıl olarak oksijenin akciğerden dokulara taşınmasını sağlasa da, karbon dioksit (CO₂), karbon monoksit (CO) ve nitrik oksit (NO) ile de özel etkileşimleri bulunmaktadır (26). İki çift farklı polipeptid zincirinden oluşan globin ile dört molekül hemden oluşan tetramer yapıdaki hemoglobin 64.400 dalton ağırlığındadır (27). Polipeptid zincir çiftleri hem simetrik hem de tamamlayıcıdır (28). Bütün hemoglobinlerdeki hem halkası aynıdır ve globin zincirinin kendi üzerine katlanması

sonucu non-polar aminoasitler tarafından oluşturulan hidrofobik hem cepleri içerisinde yerleşmiştir. Buna karşılık globin zincirleri, özgül aminoasitlerden oluşur (29,30). Aminoasitlerin dizilimi birincil yapıyı, aminoasitlerin aralarında hidrojen bağları oluşturarak heliksler şeklinde düzenlenmesi ikincil yapıyı, polipeptid zincirlerin katlanarak üç boyutlu bir forma geçmesiyle üçüncül yapıyı ve dört polipeptid zincirinin birleşmesiyle oluşan molekül ise dördüncül yapıyı oluşturur (27). Hem protoporfirin IX halkasından ve oksijene bağlanıp taşınmasını sağlayan Fe^{+2} (ferröz demir) atomundan oluşur (31) (Şekil 2).



Şekil 2. Hemoglobin molekülü (32).

Hemoglobinlerin farklı globin zincirlerinden oluşması sonucu embriyo, fetüs ve erişkin hemoglobinleri ayırır. Fetal ve erişkin Hb'ler alfa zincirlerinin beta, delta (δ) ve gama (γ) zincirleri ile birleşmesi sonucu oluşur. HbA $\alpha_2\beta_2$, HbA2 $\alpha_2\delta_2$ ve fetal Hb HbF $\alpha_2\gamma_2$ yapısındadır (33,27). Sağlıklı yetişkinlerde yaklaşık %97 oranında HbA, %3,5'tan daha az bir oranda ise O_2 taşıyamayan HbA2 bulunur. İnsan embriyosunda O_2 transportu zeta (ζ), gama (γ) ve epsilon (ϵ) zincirleri içeren Hb Portland ($\zeta_2\gamma_2$), Hb Gower I ($\zeta_2\epsilon_2$) ve Hb Gower II ($\alpha_2\epsilon_2$) hemoglobinleri ile yapılır.

Doğumdan sonra sentezi azalarak yerini yavaş yavaş HbA'ya bırakan HbF gebeliğin 6. haftasından sonra majör komponentdir. 2 yaş civarında yaklaşık %1 oranında HbF vardır (19). γ zincirinin 136. aminoasit pozisyonunda glisin (G1) ve alanin

(Al) içermesine göre iki ayrı fetal Hb mevcuttur. γ glisin (Gly) ve γ alanin (Al γ) zincirlerinin gen lokusları da farklıdır (34).

2.3. Beta Talaseminin Patofizyolojisi

Talasemi oluşumundaki temel neden globulin sentezlenmesinde kısmi ya da tam eksiklidir. Normal hemoglobin fizyolojisinde alfa ve beta zincirlerinin eşit miktarda üretilmesi ve bir denge halinde olması gerekmektedir (35).

Kalıtsal hemoglobin bozukluklarından olan beta talasemiler, β -globin zincirinin azalmış sentezi (β^+ -talasemi) veya tamamen yokluğu (β^0 -talasemi) ile karakterizedir. Beta talasemi hastalığının şiddetini belirleyen majör faktör α /non- α -globin sentez oranının dengesizliğidir (36). Homozigot veya heterozigot beta talasemi hastalarında, β -globin gen mutasyonuna ek olarak α -globin geni mutasyonu da mevcut ise bu iki zincir arası dengesizlik azalır ve daha hafif klinik bulgular görülebilir (37).

β^0 -talasemilerin moleküler mekanizmasında üç durum tanımlanmıştır; β -globin mRNA (messenger Ribo Nükleik Asit)'sının hiç üretilmediği durumlar, işlevselliğini kaybeden mRNA'nın üretildiği durumlar, işlevsel β -globin mRNA'sının translasyon basamağındaki bozukluktan dolayı kullanılmadığı durumlar. β^+ - talasemilerde ise β -globin mRNA sentezinin azalmasından dolayı β -globin zincir sentezi de değişik oranlarda azalmıştır (34).

β -globin geninde oluşan mutasyonlar beta zincir sentezini etkilemesine rağmen, alfa zincir sentezi normal hızda devam eder. Sonuçta alfa zincirleri lehine bir dengesizlik gelişmekte ve fazla alfa zincirleri eritrositlerin içerisinde birikmektedir (34). Dolaşımdaki alfa zincir inklüzyonlarını içeren eritrositlerin yıkımına bağlı gelişen hemolitik komponent de beta talasemideki anemiye neden olur (7).

Beta talasemide klinik bulgu ve semptomların bir çoğunun nedeni alfa zincirlerinin eritrosit öncülleri içinde birikmesidir (19). Serbest alfa zincirleri kemik iliğindeki eritroid öncülleri içinde presipitat oluşturarak bu hücrelerin olgunlaşmadan parçalanmasına, dolayısıyla da etkisiz eritropoeze sebep olmaktadır (8). Dolaşıma geçen alfa zincir inklüzyonlarını içeren olgunlaşmış eritrositler yaşam sürelerini tamamlamadan, özellikle dalağın mikrosirkülasyonundan geçerken parçalanırlar. Buna bağlı olarak oluşan anemi, böbreklerden eritropoetin yapımının artışı için bir uyarıdır. Talasemi majorlü vakalarda hemoglobinin büyük bölümünü oluşturan HbF'in oksijene

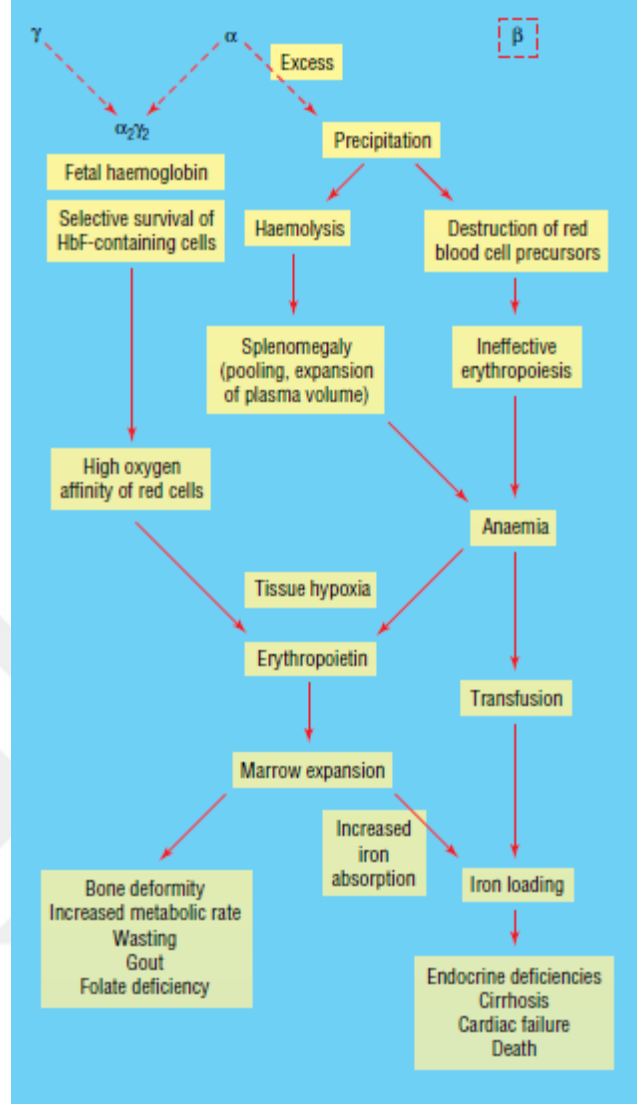
ilgisi fazla olması nedeni ile doku anoksisine katkıda bulunarak eritropoetin artışına neden olur (34).

Eritropoetin etkisiyle kemik iliği aktivitesi artar, buna bağlı olarak kafatası ve ekstremite kemiklerinde masif bir genişleme ile ciddi iskeletsel deformiteler oluşur. Anormal kırmızı seri hücreleri dalak tarafından dolaşımdan kaldırıldığı için dalak hipertrofiye uğrar. Dalak boyutunun artışı, anemiye katkısı olan plazma volümünün artışına ve hipersplenizme sebep olur (34).

γ -globin zincir sentezi doğumdan sonra bir miktar devam etse de alfa zincirleri ile eşleşecek kadar yeterli değildir. HbF'i oluşturmak için gama zincirleri ve alfa zincirleri eşleşirler bundan dolayı beta talasemililerin kemik iliğinde rölatif olarak fazla gama zincir sentezi yapan hücreler alfa zincir presipitasyonunun zararlı etkisine karşı kısmen korunmuş olur. γ -globin zincir sentezi yapan hücreler selektif yaşama kazanımına sahip oldukları için periferal kanda da bulunurlar (8,19). Bu nedenle yüksek HbF seviyesi ve delta zincir sentezi bozulmadığı için HbA₂'deki göreceli veya mutlak artış beta talaseminin karakteristik bulgularını oluşturur (34).

Beta talasemi hastalarında etkisiz eritropoezin tetiklenmesi intestinal demir absorpsiyonunun artmasına ve demir birikimine neden olur. Kan transfüzyonları da demir birikimine neden olur (8). Eritrosit transfüzyonları ile aneminin düzeltilmesi, eritropoez uyarısını durdurarak, kemik deformitelerinin oluşmasını önler, büyüme ve gelişme normal olur. Ancak her bir ünite eritrosit süspansiyonu 200 mg kadar demir içerir. Düzenli eritrosit transfüzyonları ile miyokard, karaciğer ve endokrin bezlerde demir birikir (34).

Gelişmiş şelasyon tedavisi hastalığın seyrini büyük ölçüde düzeltebilse de, günümüzde demirin aşırı birikimi beta talasemide hala en önemli morbidite ve mortalite sebebidir (19). İntestinal emilim ya da transfüzyonlar ile demir birikimi sürdükçe, demir transportundan sorumlu transferrinin demir bağlama kapasitesi aşılar ve sonuçta transferrine bağlı olmayan serbest demir fraksiyonları oluşur (37). Demir süperoksit anyonları hidrojen peroksit ve hidroksil radikalleri gibi reaktif oksijen türlerinin oluşmasına yol açar. Bu maddeler protein hasarı yapabilmekte ve hücre membranı, lizozom, mitokondri gibi organellerde lipit peroksidasyonuna neden olabilmektedir. Neticede demir toksisitesi için hassas olan organlarda kardiyak problemler, siroz ve endokrin bozukluklar gibi bazı semptomlar görülebilmektedir (19).



Şekil 3. Beta talaseminin patofizyolojisi (38).

2.4. Beta Talasemi Sınıflandırılması

Beta talasemi, otozomal resesif geçiş gösteren, β -globin zincirindeki sentez bozukluğu sonucu gelişen hipokrom mikrositer anemi ile karakterize bir hastalıktır. Beta zincir yapımı hiç yoksa β^0 , beta zincir yapımı az da olsa yapıyorsa β^+ talasemi adı verilmektedir (39).

Beta talasemide klinik sınıflama;

1. Sessiz taşıyıcı: Hematolojik olarak normal
2. Talasemi minör (taşıyıcı, heterozigot): Hafif hipokrom mikrositer anemi
3. Talasemi intermedia (hasta, homozigot): Transfüzyon ihtiyacı fazla olmayan
4. Talasemi major (hasta, homozigot): Transfüzyona bağımlı

2.4.1. Sessiz beta talasemi taşıyıcılığı

β -globin sentezinde orta derecede azalma vardır. Sessiz taşıyıcılığa neden olan mutasyonlar arasında en sık -101 promotor mutasyonu gösterilebilir. HbA2 düzeyi normaldir (%2-3,5). Periferik kan yaymaları normal, MCV (ortalama eritrosit hacmi) hafif düşük olabilir. Her iki ebeveynin sessiz taşıyıcı olduğu homozigot çocukta orta derecede bir anemi (Hb 6-7 g/dl, nadiren transfüzyon gereksinimi) ve hepatosplenomegali görülür (39).

2.4.2. Beta talasemi taşıyıcılığı

β -globin geninin bir alelinin mutasyona uğradığı bu kişiler, klinik olarak hafif anemi dışında asemptomatiktir. Tam kan sayımında hafif eritrositoz (>5 milyon/mm³), mikrositoz (MCV <80 fl) ve hafif bir anemi (9-12 g/dl) vardır. Periferik kan yaymasında hipokromi, mikrositoz, target hücreleri görülür. Hemoglobin elektroforezinde HbA2, HbF veya her ikisi birden artmıştır (23,37).

Beta talasemi taşıyıcılığı tanısı konulur iken demir eksikliği anemisi, alfa talasemi taşıyıcılığı ve kronik hastalık anemisinden ayırıcı tanısının yapılması gerekmektedir. Beta talasemi taşıyıcılığında; eritrositoz ve mikrositozun olması, RDW (eritrosit dağılım genişliği)'nin normal olması ayırıcı tanıda önemlidir (39). Demir eksikliği anemisi bir yapım eksikliği anemisi olduğundan eritrosit sayısı düşüktür, RDW ise artmıştır (31).

Beta talasemi taşıyıcılığında tedavi vermeye gerek yoktur. Fakat kesinlikle genetik danışmanlık verilmeli ve hastanın anne, baba ve kardeşleri taşıyıcılık yönünden taranmalıdır (39).

2.4.3. Beta talasemi intermedia

Homozigot talasemidir, ancak klinik bulgular beta talasemi major kadar ağır değildir. Enfeksiyon, cerrahi ve bazı özel stres durumları dışında Hb'leri 6-10 g/dl düzeyindedir. Hematokrit (Hct), eritrosit sayısı ve eritrosit indekslerinde (MCV, MCH, MCHC) azalma, RDW'de artış mevcuttur. Hemoglobin elektroforezinde; HbA düşükken (%10-20), HbF yüksektir (%70-80). Periferik yaymada; eritrositlerde ağır hipokromi, mikrositoz, anizositoz, poikilositoz, target hücreleri, polikromazi, basofilik noktalanma ve normoblastlar görülür. İlerleyen yaşla kemik iliği genişlemesine bağlı kemik

değişiklikleri, artmış demir emilimi sonucu demir birikim bulguları görülebilir. Ekstramedüller hematopoez kitleleri saptanabilir (39).

Talasemi intermedia hastalarında klinik değişkendir. Erişkin döneme kadar tamamen asemptomatik olabileceği gibi çoğunlukla transfüzyon ihtiyacı olmaksızın orta şiddette anemi görülür (40). Daha ağır klinik tabloda ise hastalar 2-6 yaş arasında tanı alırlar ve aralıklı kan transfüzyonu gereksinimi olabilir. Bazı hastalarda ağır anemi, büyüme gelişme geriliği, hipersplenizm ve düzenli kan transfüzyonu ihtiyacı görülebilir (41) (Şekil 4).

Beta talasemi intermedialı hastalarda aşığıdaki bulguların varlığında kan transfüzyonu düşünölmelidir;

- Egzersize tahammölsüzlük
- Büyöme ve gelişmede duraklama
- Yüzde tipik kemik değişikliği
- Splenomegali, hipersplenizm
- Ekstramedüller hematopoez
- Bacak ülserleri
- Patolojik kırıklar
- Kardiyak komplikasyonlar, pulmoner hipertansiyon
- Enfeksiyon ve gebelik dönemleri

Klinik, hematolojik, genetik ve moleköler teknikler kullanılarak talasemi intermedia kliniğinin erken dönemde belirlenmesi talasemi major tanısı olarak gereksiz erken tranfüzyon ve transfüzyon komplikasyonlarını önleyecektir. Uygun tedavi yapılabilmesi için talasemi major ile talasemi intermedia ayırt edilmelidirler (42).



Şekil 4. Beta talasemi intermedialı 11 yaşında kız hasta (KSÜ Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji ve Onkoloji Anabilim Dalı arşivi).

2.4.4. Beta talasemi majör

Her iki genin de etkilendiği beta talasemi sendromudur. Hastalarda homozigot veya bileşik-çift (compaund) heterozigot talasemi mutasyonu görülür (23). Nadiren de olsa otozomal dominant kalıtım görülebilir (43).

Klinik bulgular genellikle 6 ay–2 yaş arasında ortaya çıkar. Anemi ve eritrosit morfoloji bozuklukları en erken 6. haftada, splenomegali ise en erken 8. haftada görülür. Hasta soluktur, büyüme geriliği, ve karında şişlik mevcuttur. Hafif sarılık, hepatosplenomegali tespit edilir. Kısa boy, büyük baş, belirginleşmiş abdomen inspeksiyonda göze çarpar. Maksiller hipertrofi ve hiperplazi, dental deformite, frontal ve zigomatik kemiklerde hipertrofi, uzun kemiklerde patolojik kırıklar hastalarda görülen iskelet kusurları arasındadır (39). İlerleyen yaşlarda büyüme gelişme geriliği, maksiller bölge kemiklerinde belirginleşme, frontal kemiklerde çıkıntı ile karakterize “talasemik yüz” görünümü oluşur. Femur ve humerus gibi uzun kemiklerin epifizlerinin kapanması sonucu kemikler kısa kalır (44) (Şekil 5). Beta talasemi majör hastalarında Hb konsantrasyonunu 9.5-10.5 g/dl olacak şekilde sağlayan düzenli transfüzyon tedavisi ile büyüme ve gelişme 10-12 yaşına kadar normal eğiliminde seyreder. Transfüzyon alan hastalarda aşırı demir birikimi nedeniyle komplikasyonlar gelişebilir. Çocuklarda

büyüme-gelişme geriliği veya pubertede gecikme oluşur. Aşırı demir birikmesi sonucunda kalp (dilate myokardiyopati veya nadiren aritmi), karaciğer (fibrozis ve siroz) sorunları ile endokrin bezlerle (diyabet mellitus, hipogonadizm ve paratiroid, tiroid, hipofiz, adrenal bezlerin yetersizliği) ilişkili komplikasyonlar gelişir (8). Diğer komplikasyonlar içinde splenomegali, kronik hepatit B ve/veya C, HIV enfeksiyonu, venöz tromboz ve osteoporoz sayılabilir. Düzenli transfüzyon tedavisi almayan hastalar genellikle 20- 30 yıl içinde ölmektedir, buna rağmen düzenli transfüzyon ve uygun şelasyon tedavisi alan hastaların yaşam süresi ise 40'lı yaşlara kadar uzayabilmektedir. Beta talasemi majörlü hastalarda mortalite en sık kardiyak komplikasyonlara bağlıdır (%70'den fazla) (45).

Beta talasemi majörlü hastalarda şiddetli hipokrom, mikrositer anemi görülür. Periferik kan yaymasında hipokrom, mikrositoz, anizositoz, poikilositoz ve normoblastlar görülür. Hb oranları beta talasemi çeşidine göre değişiklik gösterir. β^0 -talasemide, HbF % 95-98 ve HbA2 % 2-5 seviyesinde görülürken, HbA yoktur. β^+ -talasemi homozigot veya β^0/β^+ bileşik heterozigotlarda ise HbA %10-30, HbF %70-90 ve HbA2 %2-5 seviyesindedir (46).



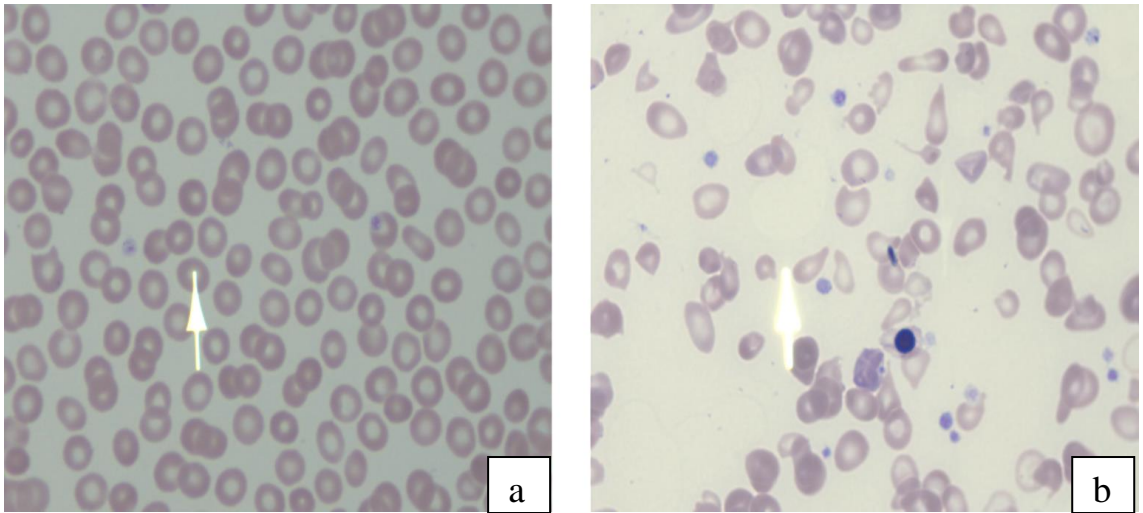
Şekil 5. Beta talasemi majörlü 17 yaşında kız hasta (KSÜ Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji ve Onkoloji Anabilim Dalı arşivi).

2.5. Beta Talasemi Tanısı

Beta talasemi majör kliniğinde 2 yaşından küçük çocuklarda şiddetli mikrositik anemi, hafif sarılık ve hepatosplenomegali yer alır. Beta talasemi intermediada ise talasemi majördeki klinik bulgulara benzer ancak daha hafif bulgular gözlenir. Bu hastaların transfüzyon ihtiyacı değişkenlik gösterir (47). Talasemi minör ise hafif, mikrositik hipokromik anemi görülmesi dışında klinik olarak asemptomatiktir (23,37).

Mikrositik anemi tanısında eritrosit indeksleri önemlidir. Talasemi majörde, Hb (<7 g/dl), MCV (50-70 fl) ve MCH (12-20 pg) seviyelerinde düşüklük gözlenir iken, talasemi intermediada Hb 7-10 g/dl, MCV 50-80 fl ve MCH 16-24 pg seviyelerindedir. Talasemi minörde ise artmış HbA2 ve düşük MCV, MCH seviyeleri gözlenir (8).

Periferik kan yaymasında eritrositlerde morfolojik değişiklikler (mikrositoz, hipokrom, anizositoz, poikilositoz ve target hücreleri) çok belirgindir, ayrıca çok sayıda çekirdekli eritrositler (normoblastlar) görülür (48) (Şekil 6). Eritroblastların sayısı aneminin derecesi ile ilişkilidir ve splenektomi sonrası büyük ölçüde artış gösterir. Beta talasemi taşıyıcılarının eritrositlerinde görülen morfolojik değişiklikler daha hafiftir. Taşıyıcılarda eritroblastlar görülmez (8). Beta talasemi majörlü hastalarda serum demiri yüksek, demir bağlama kapasitesi azalmıştır. Hemoliz dolayısıyla indirekt bilirubin ve etkisiz eritropoez sonucu LDH (laktat dehidrogenaz) yüksektir (48).



Şekil 6. a) normal periferik yayma b) talasemi majör periferik yayması (KSÜ Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji ve Onkoloji Anabilim Dalı arşivi).

Beta talasemide Hb oranları beta talaseminin tipine göre değişmektedir. β^0 -talasemi homozigotta; HbA görülmez iken, % 92-95 oranında HbF görülür. β^+ -talasemi homozigot ve β^+/β^0 birleşik heterozigotta; %10-30 oranında HbA ve % 70-90 oranında HbF düzeyi görülür. Homozigot beta talasemi hastalarında HbA2 düzeyi değişkenlik göstermekte olup beta talasemi taşıyıcılarında artmaktadır (8). Beta talasemi taşıyıcılarının %90'ından fazlasında Hb elektroforezi HbA2 oranının %3,4'ten %7'ye kadar arttığını gösterir ki bu bulgu tanı koydurucudur. Vakaların yarısında HbF'de %2-6 arasında hafif bir artış görülür. Az sayıda taşıyıcıda ise HbA2 düzeyi normal, fakat HbF düzeyi %5-15 oranlarında artmıştır (48).

Beta talasemide moleküler genetik testlerin uygulanabilirliğinin artmasının nedeni değişik popülasyonlarda hastalığın sınırlı sayıda mutasyon sıklığının olmasıdır. β -globin gen mutasyonları çoğunlukla PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) tabanlı yöntemlerle analiz edilebilmektedir. Sıklıkla reverse (ters) dot blot analizi veya primer spesifik amplifikasyon testleri kullanılmaktadır. Bu yöntemlerle tespit edilemeyen β -globin gen mutasyonları, gen dizi analizi kullanılarak yapılabilmektedir (8).

2.6. Beta Talasemi Tedavisi

Beta talasemi major hastalarında tedavi genel olarak eritrosit transfüzyonu, demir şelasyon tedavisi, splenektomi, komplikasyonların izlem ve tedavisi, ve kök hücre transplantasyonundan oluşmaktadır (39).

2.6.1. Transfüzyon tedavisi

Büyüme ve gelişme geriliği ve/veya talasemik yüz değişikliği ve/veya ilerleyici splenomegali gibi şiddetli anemi ile ilişkili klinik bulguları olan hastalarda transfüzyona başlanmalıdır. Beta talasemi majörlü hastalarda önerilen hipertransfüzyon tedavisidir. Hipertransfüzyon tedavisinde; pretransfüzyonel hemoglobin seviyesinin 9-10 g/dl'nin altına düşürülmeden, ortalama 12 g/dl civarında tutulması ve mümkünse genç eritrosit (7 günden kısa) verilmesi ve postransfüzyonel hemoglobin seviyesinin ise 16 g/dl'yi geçmemesi önerilmektedir (39). Hipertransfüzyon tedavisi alan hastalarda kemik deformiteleri ve hepatosplenomegali daha az görülür, intestinal demir emilimi azalır, ayrıca anemiyle birlikte kardiyak yüklenme önlenmiş olur. Yaşamın ilk dekadında normal büyümenin sağlanması transfüzyon rejiminin yeterli olduğunu gösterir (37).

2.6.2. Demir şelasyon tedavisi

İntestinal demir emiliminin artması ve düzenli eritrosit transfüzyonu yapılması ile hastalarda demir birikimi olmaktadır (31). Her bir ünite eritrosit süspansiyonu 200 mg kadar demir içerir. Hastalarda demir yüklenmesi en çok karaciğer, kalp ve endokrin organlarda olmaktadır. Bu dokularda biriken demir reaktif oksijen türlerinin oluşmasına yol açarak doku hasarlanması ve organ yetmezliklerine neden olur (37). Demir şelasyon tedavisinin amacı, dokularda oluşan demir birikimini önlemek, mevcut demir birikimini azaltmak ve demir birikimine bağlı oluşan komplikasyonları önlemektir. Hasta düzenli transfüzyonun birinci yılını doldurduğunda ve/veya 12-15 transfüzyon sonrası, ve/veya serum ferritin düzeyi 1000 ng/ml olduğunda demir şelasyon tedavisi başlama kararı alınır (39). Demir şelasyon tedavisine başlama kararında karaciğer demir yoğunluğunun belirlenmesi şartı aranmaz. Demir birikiminin neden olduğu komplikasyonları önlemek için serum ferritin düzeylerinin 500-1000 ng/ml düzeylerinde tutulması hedeflenmelidir (37,31). Demir şelasyon tedavisiyle amaçlanan; serum ferritini 500–1000 ng/ml seviyesinde, karaciğer demirini 3-5 mg Fe/g kuru karaciğer ağırlığı oranında ve kardiyak MRI (magnetic resonance imaging) (T2*) düzeyini >20 ms üzerinde tutmaktır. Düzenli transfüzyon alan hastalarda serum ferritin düzeyi 500'ün altına düşse bile şelatör toksisite bulguları gelişmedikçe tedavi kesilmemeli fakat şelatör dozu düşürülmelidir (39).

2.6.2.1.Desferoksamin (DFO)

1970'li yıllarda kullanılmaya başlanan DFO beta talasemi majör hastalarının yaşam sürelerini ve kalitelerini iyileştiren, demire afinitesi yüksek 6 değerlikli bir hidroksilamindir (49,50).

Plazma klirensi çok hızlı olan desferoksaminin yarılanma ömrü 8-10 dakikadır, bu nedenle subkutan veya uzun süreli infüzyon şeklinde uygulanabilmektedir (31). Genellikle haftanın 5-7 günü kullanılması önerilir (37). İlacın dozu, verilmiş yolu, demir moleküllerinin boyutu, vücuttaki C vitamini düzeyi ve hastanın şelatör tedavisine uyumu DFO tedavisinin etkinliğini değiştiren faktörlerdir (31). Serum ferritin düzeyi tedavinin etkinliğini değerlendirmede yaygın olarak kullanılmaktadır (12).

DFO uygulamasında sıklıkla infüzyon bölgesinde lokal eritem ve subkutan nodüller oluşur. Yüksek dozlarda kullanılan DFO nörosensöriyel tipte işitme kaybına

neden olabilir (51). Gece körlüğü, renk körlüğü ve progresif görme kaybı gelişebilir. Bu sebeple, hastaların 6 ayda bir düzenli olarak işitme ve görme değerlendirmelerinin yapılması gereklidir. Bunların dışında iskelet toksisiteleri, *Yersinia enterocolitica* sepsisi, anafilaksi ve pulmoner fibrozis gelişen vakalar bildirilmiştir. Bu yan etkiler daha çok düşük ferritin düzeyine sahip, yüksek dozda DFO kullanan hastalarda görülür (52). Yan etkilerinden ziyade, tedavideki en ciddi sorun kullanım zorluğu sebebiyle yaşanan hasta uyum problemleridir (37).

2.6.2.2. Deferipron (DFP)

İki dişli (bidentate) demir şelatörü olan DFP'nin lipofilik özelliği doku penetrasyonunun oldukça iyi olmasını sağlar. Oral yolla alınabilmesi, en büyük avantajıdır. Tedavide, DFO ile kombine edilebilir (53). Nötropeni, agranülositoz, eklemlerde özellikle diz, dirsek, ayak, el bileklerinde ağrı, şişme, sertlik, hareketlerde arasında sayılabilir. En ciddi yan etkisi agranülositozdur (54). DFP'nin kardiyak demiri uzaklaştırmada DFO'dan daha etkili olduğu öne sürülmüştür (53).

2.6.2.3. Deferasiroks (DFX)

Üç dişli (tridentate) demir şelatörü olan DFX, karaciğerdeki, retiküloendotelial sistemdeki ve kardiyak demiri mobilize eder. Günde tek doz oral olarak kullanımı ile 24 saat şelasyon etkinliğini devam ettirebilir. Serum kreatinin düzeyinde artış, mide barsak sistemi yakınmaları, karaciğer fonksiyon testlerinde bozulma ve ciltte döküntü gibi yan etkileri vardır (55). Nadir vakada lens opasitesi ve işitme kaybı görüldüğü için, tedavinin başlangıcında ve daha sonra yılda bir kez katarakt gelişimi ve işitme açısından değerlendirilmelerinin yapılması önerilir (54).

2.6.2.4. Kombinasyon tedavisi

Haftada 7 gün DFP (80-120 mg/kg/gün, 3 dozda) ve 3 gece DFO (40-60 mg/kg/gün) ile yapılan kombinasyon tedavisi, Uluslararası Oral Şelatörler Komitesi tarafından önerilmektedir. Bu kombinasyon tedavisinin kalp ve diğer organlardan demirin temizlenmesinde hızlı, etkin ve güvenilir olduğu gözlenmiştir. Bilhassa DFO'ya uyum sağlayamayan, DFP'nin tek başına etkisiz olduğu, demir birikiminin hızla azaltılması

gereken hastalarda (ağır kardiyak demir y¼k¼ olanlarda ya da k¼k h¼cre transplantasyonu öncesi) nerilmektedir (56).

2.6.3. Splenektomi

Yetersiz transf¼zyon alan, s¼rekli orta derecede anemisi olan hastalarda ekstramed¼ler eritropoez nedeniyle dalak hipertrofiye uğrar ve ilerleyen zamanlarda hipersplenizm gelişir (37).

Transf¼zyon öncesi hemoglobin değerini 9-9.5 g/dl arasında tutmak için gerekli yıllık kan t¼ketimi 250 ml/kg eritrosit s¼spansiyonu üzerine çıkan ve hipersplenizm bulguları olan hastalarda splenektomi önerilmektedir. Splenektomi sonrası fatal enfeksiyon riski nedeni ile bu işlem genellikle beş yaşından sonraya bırakılmalıdır. Pn¼mokok, hemofilus influenza, meningokok aşıları splenektomiden 3-6 hafta önce yapılmalı, splenektomi sonrasında ise oral ya da parenteral penisilin profilaksisi devam ettirilmelidir (39). Splenektomi sonrası hastalarda l¼kositoz ve trombositoz g¼r¼lebilir. Pulmoner hipertansiyon, splenektomi sonrası g¼r¼lebilen ciddi ve hayatı tehdit eden diğer bir komplikasyondur. Bunlardan dolayı splenektomi kararı verilir iken dikkatli davranılmalıdır (57).

2.6.4. Komplikasyonların İzlem ve Tedavisi

2.6.4.1. Kardiyak komplikasyonlar

Hastalarda en sık l¼m nedeni, kalpteki demir y¼k¼ nedeniyle gelişen kardiyak komplikasyonlardır. G¼đ¼s ağrısı, dispne, çarpıntı, aritmi gibi klinik bulgular g¼r¼lebilir. Hastalar ilk dekattan sonra yılda bir kez, EKG (elektrokardiografi), konvansiyonel ve doku doppler ekokardiyografi ve kardiyak MRI T2* ile takip edilmelidir. MRI T2* da >20 ms normal, 20-10 ms orta, >10ms ağır kardiyak demir birikimi olarak değerlendirilir (39).

2.6.4.2. Endokrin Komplikasyonlar

Anemi, tedaviye bağlı demir birikimi ve n¼trisyonel eksiklikler nedeni ile b¼y¼me geriliği, pubertede gecikme, hipogonadizm, kemik yapısında zayıflık ve kolay kırılma,

diabetes mellitus, hipotiroidi, hipoparatiroidi ve üreme fonksiyonlarında bozukluk görülebilir (39).

Tanıdan itibaren her hasta 3'er ay aralarla boy ve ağırlık ve pubertal gelişim açısından değerlendirilmeli, ilk dekattan sonra ise yıllık oral glukoz tolerans testi, tiroid fonksiyon testleri ve kemik yoğunluğu ölçümü yapılmalı herhangi bir bozukluk tespit edilmesi durumunda ileri tetkik ve tedaviler önerilmelidir (39).

2.6.4.3. Enfeksiyöz Komplikasyonlar

Kan transfüzyonları, splenektomi, demir birikimi ve demir şelasyon (DFO) tedavisi enfeksiyonlara neden olabilir. Beta talasemi majörlü hastalarda çocukluk dönemi rutin aşı programının uygulanması enfeksiyöz komplikasyonları önlemek için gereklidir. Düzenli eritrosit transfüzyonu alan hastalarda Hepatik virüsler ve HIV (*Human Immunodeficiency Virus*) açısından yılda bir kez tarama yapılmalıdır (39).

2.6.4.4. Hepatik Komplikasyonlar

Her 3 ayda bir karaciğer fonksiyon testlerinin (ALT, AST, GGT, ALP, Direk/indirek bilirubin) görülmesi hepatik komplikasyonların izlemi için gereklidir. Hepatik virüsler ve karaciğerde demir birikimi ilerleyici karaciğer hasarı ve hepatosellüler karsinoma neden olabilmektedir. Karaciğer demir birikimi tespiti için mümkünse karaciğer MRI (R2 ya da T2*) yapılmalıdır. Hepatit C enfeksiyonu olan hastalarda antiviral tedavinin başlanması önerilir (39).

2.6.5. Kök hücre transplantasyonu

Günümüzde beta talasemi majörün küratif tedavisi kök hücre nakli ile yapılmaktadır. Tüm beta talasemi majör hastalarının tanı sonrası sağlıklı kardeşi var ise doku grupları (HLA: human leukocyte antigen) saptanmalı ve donörü olma olasılığı değerlendirilmelidir. % 25 oranında HLA uygun kardeş donör bulunabilir. Kök hücre (kemik iliği, periferik kan, umbilikal kord kanı) transplantasyonu yapılır. En sık HLA uygun kardeşten alınan kök hücre transplantasyonu yapılır. Hepatomegali, karaciğer biyopsisinde fibrozis varlığı, şelasyon tedavisine uyuma göre hastalar Sınıf I, II ve III olarak sınıflandırılmıştır. Hastalığın erken döneminde yani henüz organ hasarı

oluşmayan hastalarda iyi sonuçlar alınmaktadır. Bu sebeple HLA uyumlu kardeşi olan beta talasemi majörlü hastalara kök hücre transplantasyonu mümkün olan en erken dönemde uygulanmalıdır (39).

2.7. Korunma

Beta talasemi önlenme programında eğitim, tarama programları, genetik danışmanlık, prenatal tanı ve preimplantasyon genetik tanı yer alır. Prenatal tanı, gebeliğin 19-20. haftalarında fetal kanda globin zincir sentezi analizi ile gebeliğin 15. haftasından sonra elde edilen amniyotik sıvıdan alınan fetal hücrelerden veya gebeliğin 10-11. haftalarında koryonik villus örneklerinden elde edilen DNA'nın moleküler analiziyle yapılmaktadır (39).

2.8. Türkiye'de Görülen Beta Talasemi Mutasyonları

Beta talasemi hastalığının önlenmesinde ve tedavisinde mutasyon çeşitliliğinin tespiti önemlidir. Beta talasemi mutasyonlarının moleküler düzeyde incelenmesi ile şimdiye kadar dünyada 200'den fazla çeşit mutasyon belirlenmiştir (46). IVS-I-110 Türkiye'de en sıklıkla rastlanan beta talasemi mutasyonudur (%40). Bunu IVS-I-6, FSC-8, IVS-I-1, IVS-II-745, IVS-II-1, kodon 39, -30 ve FSC-5 mutasyonları takip etmektedir. IVS-I-110'un Türkiye genelinde %40 olan sıklığı, Orta Anadolu'da %50'yi aşmakta, buna karşılık Doğu ve Güney Doğu Anadolu'da %25'lere düşmektedir (58). Kuzey, Güney ve Doğu Anadolu bölgelerinin mutasyon çeşitliliği yönünden daha az heterojen olduğu ve bu bölgelere özgü mutasyonlar (-30, -87, FSC 8/9, IVS-II-745 gibi) tespit edildiği görülmektedir. Ülke nüfusunun %50'sini barındıran Batı Anadolu ve Akdeniz bölgelerinin ise mutasyon çeşitliliği yönünden Türkiye genelindeki dağılımla uyumlu olduğu görülmüştür (9).

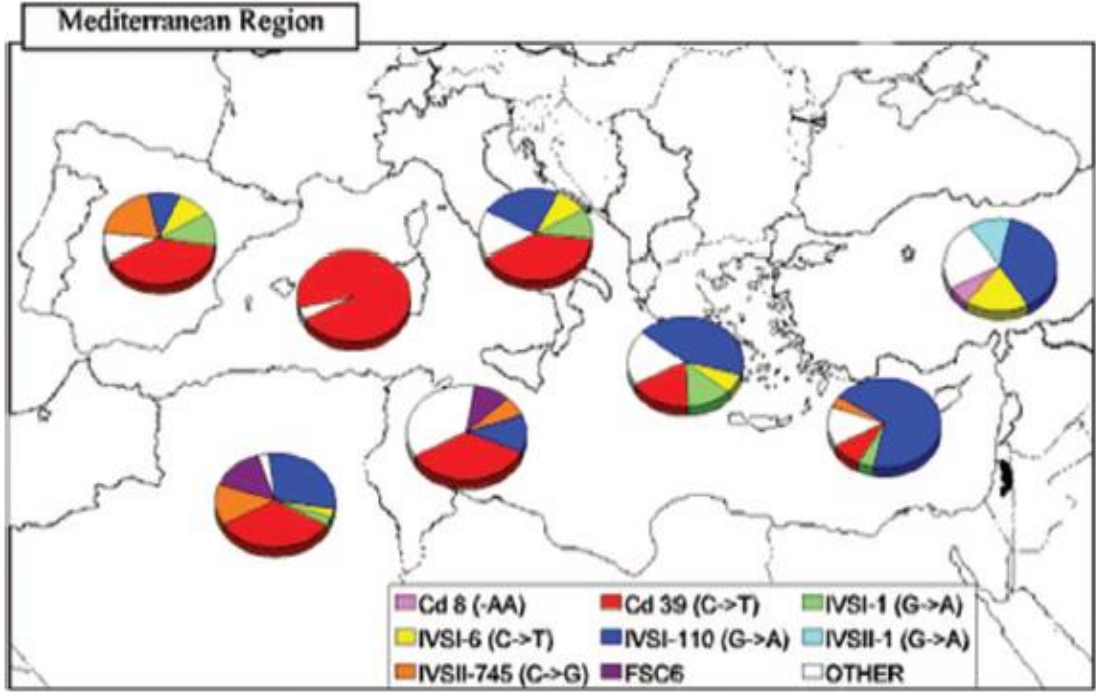
Tablo 1. Ülkemizde En Sık Görülen Mutasyonlar (59).

Mutasyon	Total (%)	Frekans (%)
IVS-I-110 (G→A)		39,2
IVS-I-6 (T→C)		9,5
Kodon 8 (-AA)		6,1
IVS-I-1 (G→A)	%70.3	5,5
IVS-II-1 (G→A)		5,4
IVS-II-745 (C→G)		4,6
"-30 (T→A)"		3,8
Kodon 39 (C→T)		3,1
Kodon 5 (-CT)		2,2
Kodon 8/9 (+G)	%13.0	1,5
Kodon 44 (-C)		1,3
IVS-I-5 (G→C)		1,1
Total	%83.3	83.3

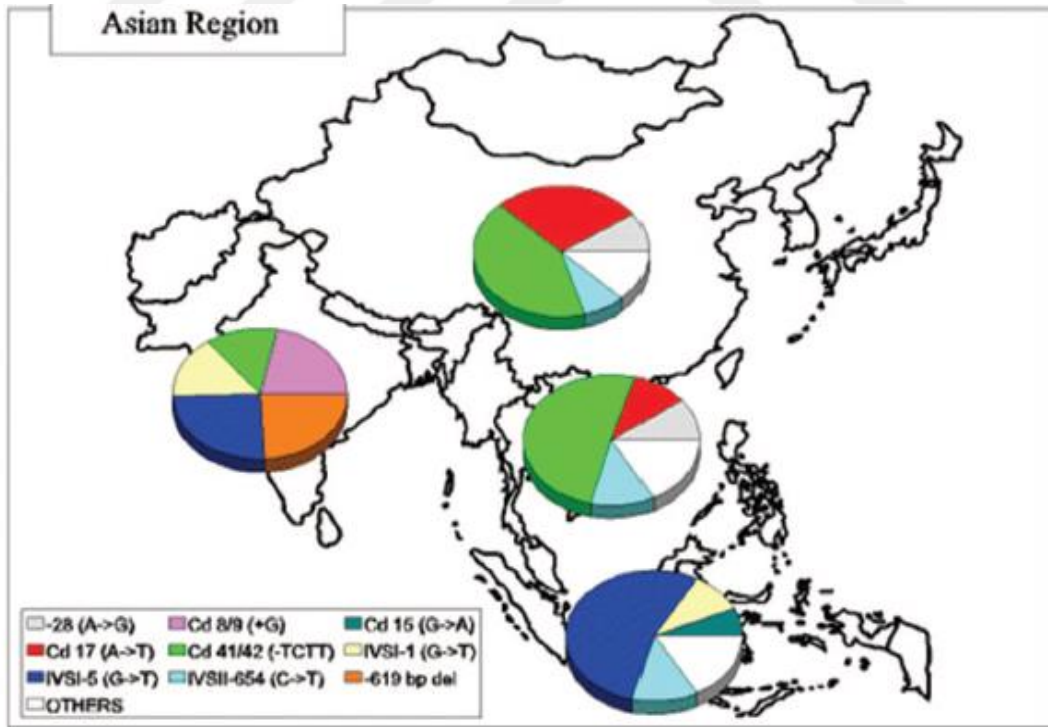
2.9. Dünyada Görülen Beta Talasemi Mutasyonları

Beta talasemi sık görülen ülkeler dışında göç ve farklı etnik gruplar arası evliliklerin olması ile, daha önce talasemi bulunmayan Kuzey Avrupa ülkeleri dahil dünyanın neredeyse her ülkesine yayılmıştır. Uluslararası Talasemi Federasyonu verilerine göre dünya genelinde yaklaşık 200.000 talasemi hastasının olduğu bildirilse de talasemi hastalarının gerçek sayısı bilinmemektedir (60).

Beta talasemi mutasyon tiplerinin dağılımı bölgesel olarak değişebilmektedir. Beta talaseminin sık görüldüğü ülkelerden olan İtalya'nın güneyinde en sık olarak IVS-I-110 (%34,5) ve kodon 39 (% 34,5) mutasyonları görülür iken, Yunanistan ve Cezayir'de IVS-I-110 (G>A) mutasyonu en sık mutasyon olarak bildirilmiştir (61,62,63). Oranlarında farklılıklar olsa da Makedonya, Bulgaristan ve Suriye'de de Türkiye'de olduğu gibi en sık rastlanılan mutasyon IVS-I-110'dur. Bulgaristan'da kodon 39, IVS-I-110'a çok yakın oranda görülmektedir. İran ve Azerbaycan'da en yaygın mutasyon IVS-II-1'dir. Fakat Azerbaycan'da IVS-I-110 oranı da buna yakındır (4).



Şekil 7: Akdeniz çevresinde beta talasemi mutasyonlarının dağılımı (46).



Şekil 8: Asya bölgesinde beta talasemi mutasyonlarının dağılımı (46).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışmanın Tasarımı

Bu çalışmaya Suriye'den Kahramanmaraş ve çevresine göç eden ve düzenli kan transfüzyonu alan 35 beta talasemi majorlu çocuk hasta alınmıştır. Bu çalışmaya Mart 2015'de başlanıp, Şubat 2017'de tamamlanmıştır. Çalışma için KSÜ Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulundan onay alındı (Ek 1). Bu çalışma, 2015/2-43D kodlu proje olarak Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi tarafından desteklendi. Çalışmaya dahil olan tüm hastaların ebeveynleri çalışma öncesi tercüman aracılığı ile bilgilendirildi ve hasta ebeveynlerinin yazılı onamları alındı. Çalışmaya alınan bireyler arasında cinsiyet ayrımı yapılmadı. Hastaların yaş, cins, splenektomi, şelasyon tedavisi alma, ferritin değerleri, viral seroloji tekikleri, antiviral tedavi alma durumları ile kardiyak ve endokrin komplikasyonları dosyalarından faydalanılarak incelendi.

3.2. Kan Örneklerinin Toplanması

Hastalardan tam kan sayımı (EDTA'lı tüpe 2 cc) ve mutasyon analizi (EDTA'lı tüpe 3 cc) için venöz kan örneği alındı. Tam kan sayımı KSÜ Tıp Fakültesi Laboratuvarında, SYSMEX XN 3000 (Japonya) cihazı ile aynı günde çalışıldı.

3.3. Beta talasemi gen mutasyonu çalışması:

Tam kandan (EDTA'lı) ilk önce Vivantis GF-1 Blood DNA Ekstraksiyon Protokolü ile DNA izolasyonu gerçekleştirildi, elde edilen DNA ile PCR aşamaları aşağıdaki şekilde uygulanmıştır.

3.3.1. ARMS (Amplification Refractory Mutation System) Yöntemiyle Beta Talasemi ve Hb S Mutasyonlarının Tanımlanması

Nokta mutasyonlarını veya küçük delesyonları tanımlamak için ARMS yöntemi geliştirilmiştir. Klasik PCR'dan farklı olarak mutasyona özgü çoğaltma (amplifikasyon) işlemi yapılarak mutant β -globin alelleri saptanmaya çalışılır. Mutant β -globin alelline özgü primer sadece mutasyonun olduğu bölgeyi tanırken, mutasyonun olmadığı bölgeye yapışmayacak ve çoğaltma işlemi sonuçsuz kalacaktır. Böylece bir tane mutant allele

özgü primer, bir tane bunun zıt bölgesini karşılayan primer ve iki tane de genin mutasyon içermeyen herhangi bir bölgesini çoğaltarak koşulların doğruluğunu kontrol etmeye yarayacak toplam dört primerin tek bir tüpte kullanılmasıyla beta geninin bilinen mutasyonları saptanabilir (64,65,66,67,68).

3.3.1.1. Ayıracılar

1. 10X Cetus Tamponu:

- 2M KCl 1,25 ml
- 1M Tris.HCl 0,5 ml
- 1M MgCl₂ 75 µl
- Jelatin 5 mg
- Steril dH₂O 3,2 ml karıştırılıp jelatinin erimesi için 37 °C'de bekletilir.

2. 1 M Spermidin

3. 1,25 mM dNTP

4. PCR Karışımı:

- 10X Cetus tamponu 500 µl
- Steril distile su 2700 µl
- 1,25mM dNTP 800 µl
- 1M Spermidin 4 µl alınıp karıştırılır.

5. Primerler (5 pmol/µl):

- Ortak primer 1: 5' ACC TCA CCC TGT GGA GCC AC 3'
- Ortak primer 2: 5' CCC CTT CCT ATG ACA TGA ACT TAA 3'
- 5'sabit primer: 5' CAA TGT ATC ATG CCT CTT TGC ACC 3'
- 3'sabit primer: 5' GAG TCA AGG CTG AGA GAT GCA GGA 3'
- ARMS Primerleri

IVSI-110 (G-A)1: 5' ACC AGC AGC CTA AGG GTG GGA AAA TAC ACT 3'

IVSI-110 (G-A)2: 5' ACC AGC AGC CTA AGG GTG GGA AAA TAC ACC 3'

IVSII-1 (G-A)1: 5' AAG AAA ACA TCA AGG GTC CCA TAG ACT GAT 3'

IVSII-1 (G-A)2: 5' AAG AAA ACA TCA AGG GTC CCA TAG ACT GAC 3'

Cd 39 (C-T)1 : 5' CAG ATC CCC AAA GGA CTC AAA GAA CCT CTG 3'

Cd 39 (C-T)2 : 5' TTA GGC TGC TGG TGG TCT ACC CTT GGT CCC 3'

Cd 44 (-C)1 : 5' ACA GCA TCA GGA GTG GAC AGA TCC CCT AAG 3'

Cd 44 (-C)2 : 5' CAG CAT CAG CAG TGG ACA GAT CCC CAT AGG 3'

IVSII-745 (C-G)1 : 5' TCA TAT TGC TAA TAG CAG CTA CAA TCG AGG 3'

IVSII-745 (C-G)2 : 5' TCA TAT TGC TAA TAG CAG CTA CAA TCG AGC 3'

Hb S (A→T)1 : 5' CCC ACA GGG CAG TAA CGG CAG ACT TCT GCA 3'

Hb S (A→T)2 : 5' CCC ACA GGG CAG TAA CGG CAG ACT TCT GCT 3'

IVSI-6 (T-C)1 : 5' TCT CCT TAA ACC TGT CTT GTA ACC TTC ATG 3'

IVSI-6 (T-C)2 : 5' TCT CCT TAA ACC TGT CTT GTA ACC TTC ATA 3'

(1: Mutant primeri, 2: Normal primeri)

6. Taq polimeraz (5 Ü/µl)

3.3.1.2. Yöntem

Çoğaltma ısıya dayanıklı mikrotüpler içinde ısısal döngüleyici cihaz (Thermal Cycler) ile yapılır. Mikrotüplerin yerleştirildiği bir ısı bloğu ve ısı değişimlerini kısa sürede gerçekleştiren bir mikroişlemciden oluşan bu alette ısısal döngü programları önceden belirlenerek uygulanır. Her bir örnek için aşağıdaki şekilde işaretlenmiş mikrotüpler hazırlanıp ısısal döngüleyici cihaza yerleştirilerek uygun PCR programı başlatılır.

3.3.1.3. PCR programı

- Denatürasyon 94°C 1 dakika
- Yapışma 65°C 1 dakika
- Uzama 72°C 1.30 dakika
- 25 döngü
- Son döngü 72°C 3 dakika

Elde edilen çoğaltılmış gen ürünleri %2'lik agaroz jel elektroforezinde yürütülüp oluşan bantlar görüntülenerek mutasyonlar saptanır.

3.3.2. RFLP (Restriction Fragment Length Polimorfizm) ile Beta Talasemi, Hb S ve Hb D Mutasyonlarının Tanımlanması

Uygun restriksiyon enzimi ile yapılan işlem sonucu çoğaltılmış gen ürünü kesilerek farklı uzunluktaki gen parçalarına ayrılır. İlgili gen bölgesinde bir mutasyon bulunması oluşacak gen parçalarının uzunluklarının değişmesine neden olur. Enzimle kesim sonucu elde edilen ürünlerin elektroforezinde oluşan bantların incelenmesi ile mutasyon olup olmadığı gözlenir (69).

3.3.2.1. Ayıraçlar

1. 10X Cetus Tamponu:

- 2M KCl 1,25 ml
- 1M Tris.HCl 0,5 ml
- 1M MgCl₂ 75 µl
- Jelatin 5 mg
- Steril dH₂O 3,2 ml karıştırılıp jelatinin erimesi için 37°C'de bekletilir.

2. 1 M Spermidin

3. 1,25 mM dNTP

4. PCR Karışımı:

- 10X Cetus tamponu 500 µl
- Steril distile su 2700 µl
- 1,25mM dNTP 800 µl
- 1M Spermidin 4 µl

5. Primerler (10 pmol/µl):

- Primer 11: 5' GGC CAA TCT ACT CCC AGG AG 3'

- Primer 12: 5' ACA TCA AGG GTC CCA TAG AC 3'
- Primer 23: 5' ATA CAA TGT ATC ATG CCT CTT TGC ACC 3'
- Primer 24: 5' GTA TTT TCC CAA GGT TTG AAC TAG CTC 3'
- Primer 109: 5' CCC TTC CTA TGA CAT GAA CTT AAC CAT 3'
- Primer 662: 5' AGA TCC ATC TAC ATA TCC CAA AGC 3'

6. Dde I, Eco R1, Hae III restriksiyon enzimi

7. Taq polimeraz (5 Ü/ul)

3.3.2.2. Yöntem

RFLP yöntemi ile mutasyonların belirlenmesinde ilgili gen bölgesi uygun primerler ile önceden belirlenmiş programla ısısal döngüleyici cihazda çoğaltılıp uygun restriksiyon enzimi ile kesildikten sonra oluşan gen parçaları elektroforezle ayrıştırılıp değerlendirilir. Her bir örnek için aşağıdaki şekilde işaretlenmiş mikrotüpler hazırlanıp ısısal döngüleyici cihaza yerleştirilerek uygun PCR programı başlatılır.

RFLP çoğaltma karışımı:

- PCR karışımı 20 µl
- Primerler 2+2 µl (Hb S, Cd 5 ve IVS I-130 için 11,12 ; Hb D için 23/24; Cd 74/75 için 109,662)
- Taq polimeraz 0,1 µl
- gDNA (0.5-1 µg/ml) 1 µl
- Toplam hacim 25 µl

3.3.2.3. PCR programı

- Denatürasyon 95⁰C 1 dakika
- Yapıçma 62⁰C 1 dakika
- Uzama 72⁰C 1.30 dakika
- 30 döngü
- Son döngü 72⁰C
- 3 dakika
- Çoğaltma işleminden sonra 15 µl çoğaltılmış gen ürününün üzerine 1 µl Hb S ve Cd 5 için Dde I, IVS I-130 ve Hb D için Eco R1, Cd 74/75 için Hae III enzimi eklenerek 37⁰C'de bir gece inkübe edilir. Enzimle kesim işleminden sonra %3'lük agaroz jel elektroforezi uygulanarak oluşan bantlar kontrol edilir.

3.3.3. Dizi Analizi ile DNA Mutasyonu Saptanması

3.3.3.1. Prensi

Otomatik DNA dizi analizde Sanger'in enzimatik DNA sentezine dayanan zincir sonlanma yöntemi kullanılmaktadır. DNA örneğindeki nükleotitlerin tam dizisinin belirlendiği bir yöntemdir. DNA, dört çeşit deoksinükleotit trifosfatla sentezlenir. Her bir nükleotit 3'-OH ucundan bir sonraki nükleotide bağlanır. Dideoksi yöntemiyle sentetik oligonükleotit sentezinde 3'-OH molekülü kritik rol oynar. Sentez sırasında zincire bir dideoksinükleotit eklenmesi zincir uzamasını sonlandırır. Çünkü 3. karbon atomundaki 3'-OH molekülünün oksijen atomu bulundurmaması zincirin uzamasına izin vermez.

3.3.3.2. Ayrıçlar

PCR tepkimesi için;

- Primerler
- "Master miks" (Applied Biosystem)

"Cycle Sequencing" tepkimesi için;

- "ReadyReaction Mix V3.1" (Applied Biosystem)
- 5 x Sekans Tampon (Applied Biosystem)
- Saf Su
- Primer (F veya R)

Primer Forward 5'-aga tcc atc tac ata tcc caa agc-3'

Primer Reverse 5'-ccc ttc cta tga cat gaa ctt aac cat-3'

3.3.3.3. Yöntem

β -globin geni dizi analizi için ilk aşama PCR tepkimesidir. İlk aşama sonrasında sefadeks ile saflaştırma işlemi yapıldıktan sonra cycle sequencing tepkimesi uygulanır.

Kullanılan protokoller aşağıdaki gibi izlenir;

PCR tepkimesi protokol:

- Primer F (5 pmol/ μ l) 5 μ l
- Primer R (5 pmol/ μ l) 5 μ l
- "Taqman Gold Master miks" 12,5 μ l

“Cycle sequencing” ürünlerinin Sefadeks kolonları ile temizlenmesi;

1. Hazır olan Sefadeks kolonlarının içerisine 600 µl saf su konur vortekslenip 30 dakika bekletilir.
2. 2000 g, 5400 rpm’de 2 dakika santrifüj edilir.
3. Santrifüj sonrası Sefadeksli kolonların alt kısmı çıkarılır ve süzüntüler dökülür, diplerine 5 er µl distile su konur.
4. 10 µl “Cycle Sequencing” ürünü Sephadex üzerine (kolona temas etmeden) bırakılır.
5. 2000 g, 5400 rpm’de 1 dakika santrifüj edilir.

3.3.3.4. Sekans Protokolü

• Saf su	5 µl
• “BigDye ReadyReaction Mix”	2 µl
• 5x Sekans tamponu	1 µl
• F Primer (veya R) (5 pmol/ µl)	1 µl
• PCR Ürünü*	1 µl
• Toplam	10 µl

PCR Koşulları;

• 96°C	1 dakika denatürasyon	
• 96°C	10 dakika	
• 50°C	5 saniye	x30 döngü
• 60°C	4 dakika	
• +4°C	Bekleme	

Sekans protokolü ardından örnekler otomatik dizi analizi cihazı tabağına konularak yürütme başlatılır. Yürütme sonrası okuma işlemi sekans yazılım programı ile yapılır.

Sekans yöntemi ile diğer yöntemlerle saptayamadığımız kodon 15, kodon 9/10, kodon 5, kodon 8 mutasyonları saptanmıştır.

3.4. İstatiksel Değerlendirme

Çalışmadan elde edilen sonuçlar “SPSS 16.0 for Windows” istatistik paket programı kullanılarak analiz edildi. Sayısal veriler ortalama±standart sapma, kategorik veriler ise sayı ve yüzde olarak ifade edilmiştir.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 35 hastanın 19'u (%54,3) erkek, 16'sı (%45,7) kız idi.

Tablo 2: Hastaların cinsiyet dağılımı.

Cins	n	%
Erkek	19	54,3
Kız	16	45,7

Tüm hastaların yaşları ortalaması $9,48 \pm 4,51$ yıl (2 yaş -17 yaş) idi. 35 hastanın 10'unda (%28,6) splenektomi öyküsü vardı. Hastaların ferritin ortalaması 5030 ± 2919 ng/ml (dağılım 1414-12595 ng/ml) idi. Demir şelasyon tedavisi dağılımı 16 (%45,7) hasta deferasiroks, 4 (%11,4) hasta deferipron ve 15 (%42,9) hasta deferipron ve deferoksamin metansulfonat kullanmakta idi.

Tablo 3: Hastaların demir şelasyon tedavileri dağılımı.

İlaç	n	%
Deferasiroks	16	45,7
Deferipron	4	11,4
Deferipron ve deferoksamin metansulfonat	15	42,9

Otuz beş hastanın 12'sinde (%34,3) HCV pozitif iken, HBsAg ve HIV tüm hastalarda negatif saptandı. HCV pozitif 12 hastanın sadece 5'i (%41,7) düzensiz şekilde antiviral tedavi almakta idi.

Hastaların kardiyak komplikasyonları: 3'ünde (%8,6) var, 2'sinde (%5,7) bilinmiyor ve 30'unda (%85,7) yok idi. Endokrin komplikasyonlar 1'inde (%2,9) var

olup, 2'sinde (%5,7) bilinmiyor ve 32'inde (%91,4) yok idi. Endokrin komplikasyon olan hastada diyabet, osteoporoz ve hipotiroidi birlikteliği vardı.

Beta talasemi gen mutasyonu tetkiki öncesinde bakılan hemogram sonuçlarına göre ortalama±standart sapma değerleri WBC 14421±13759/mm³, RBC 3,24±0,58 x10⁶, HGB 8,6±1,66 g/dl, HCT %25,65±6,08, MCV 80,95±5,11 fl, PLT 478057±318186/mm³ bulundu.

Tablo 4: Hastaların tam kan sayımı değerleri.

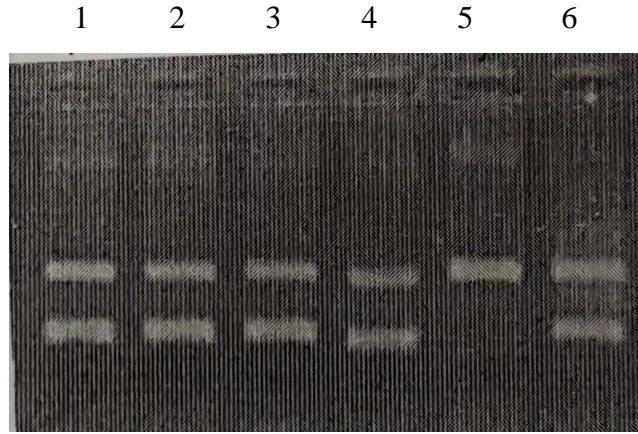
	Birim	n	Minimum	Maksimum	Ortalama± SD
WBC	/mm ³	35	3870	82310	14421±13759
RBC	x10 ⁶ /mm ³	35	1,91	4,19	3,24±0,58
HGB	g/dl	35	5,10	11,30	8,64±1,66
HCT	%	35	5,40	34,70	25,65±6,08
MCV	fl	35	68,50	90,50	80,95±5,10
PLT	/mm ³	35	96000	1207000	478057±318186

WBC: White Blood Cell (lökosit sayısı), RBC: Red Blood Cell (eritrosit sayısı), HGB: Hemoglobin, HCT: Hematokrit, MCV: Mean Corpuscular Volume (Ortalama eritrosit hacmi), PLT: Trombosit sayısı.

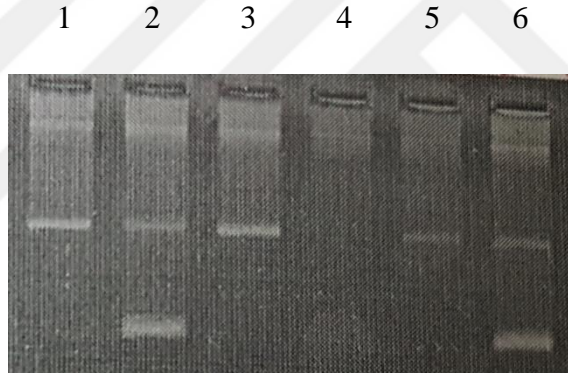
Tablo 5. Hastaların ayrıntılı beta talasemi gen mutasyonu sonuçları.

No	İsim	Mutasyon tipi	No	İsim	Mutasyon tipi	No	İsim	Mutasyon tipi
1	D.Ş.	kodon 15/kodon 15	14	M.M.	kodon 9/10/kodon 9/10	27	E.Z.	IVS-I-5/IVS-II-1
2	A.K.Ş.	kodon 15/kodon 15	15	M.D.	IVS-II-1/IVS-II-1	28	H.E.	IVS-I-110/IVS-I-1
3	A.Ş.	kodon 15/kodon 15	16	E.M.	IVS-II-745/IVS-II-745	29	H.E.	IVS-I-110/IVS-I-1
4	R.N.	IVS-I-110/IVS-I-110	17	Z.M.	IVS-II-745/IVS-II-745	30	N.E.	IVS-I-110/IVS-I-1
5	S.A.	IVS-I-6/kodon 5	18	İ.M.	IVS-II-745/IVS-II-745	31	R.H.	IVS-I-1/IVS-I-1
6	D.H.	kodon 44/kodon 44	19	H.A.	IVS-I-110/IVS-I-110	32	A.H.	IVS-I-1/IVS-I-1
7	F.H.	kodon 44/kodon 44	20	C.A.	IVS-I-110/IVS-I-110	33	M.F.C.	IVS-I-110/IVS-I-110
8	M.H.	kodon 44/kodon 44	21	E.B.	IVS-I-110/IVS-I-110	34	A.F.C.	IVS-I-110/IVS-I-110
9	E.C.	kodon 39/kodon 39	22	Z.B.	IVS-I-110/IVS-I-110	35	M.S.	kodon 39/IVS-II-745
10	İ.H.	kodon 44/kodon 15	23	A.B.	IVS-I-110/IVS-I-110			
11	F.H.	kodon 44/kodon 15	24	V.A.	kodon 8/IVS-II-1			
12	H.A.	kodon 5/kodon 5	25	A.A.	kodon 8/IVS-II-1			
13	M.A.A.	kodon 5/kodon 5	26	S.R.	IVS-I-110/kodon 39			

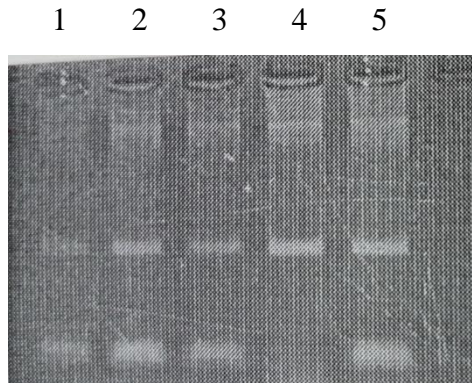
Çalışmamızda elde edilen ARMS-RFLP mutasyonlar jel görüntüleri ve sekans görüntüleri;



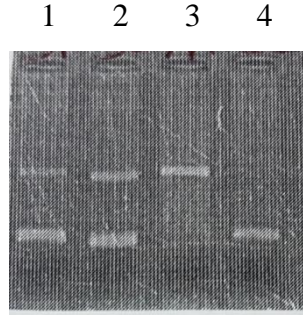
Şekil 9. ARMS yöntemi ile IVS-I-110 mutasyonu (1-4; IVS-I-110 hasta örnekleri, 5; Normal (A/A) kontrol, 6; IVS-I-110 homozigot kontrol).



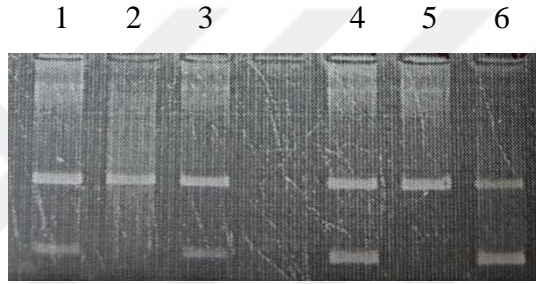
Şekil 10. ARMS ile kodon 8 (Cd 8) mutasyonu (2; Cd8 homozigot hasta, 1 ve 3 ; normal hasta (A/A), 5; normal (A/A) kontrol, 6; Cd8 homozigot kontrol örneği).



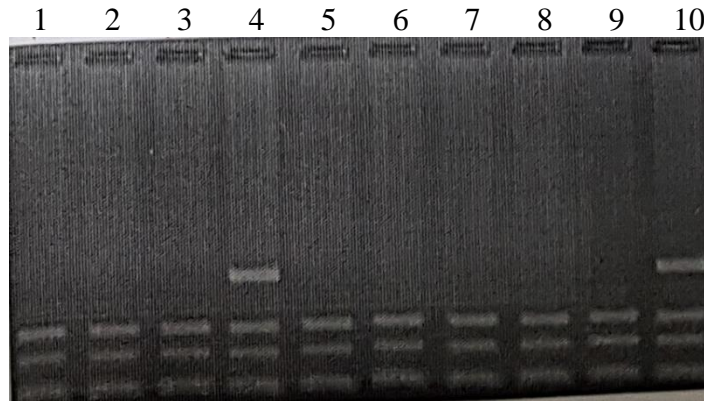
Şekil 11. ARMS ile IVS-II-745 mutasyonu (1-3; IVSII-745 homozigot hastalar, 4; Normal kontrol (A/A), 5; IVS-II-745 homozigot kontrol).



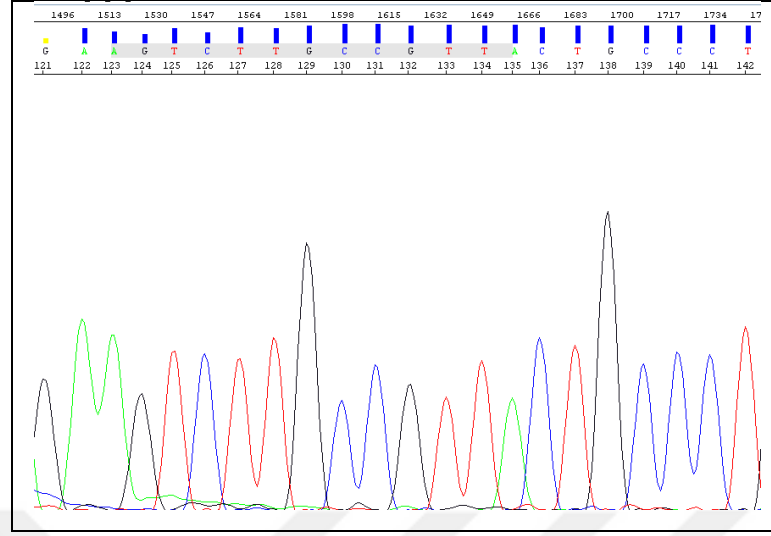
Şekil 12. ARMS ile IVS-I-1 mutasyonu (1,2; IVS-I-1 homozigot hasta, 3; normal kontrol, 4; homozigot kontrol).



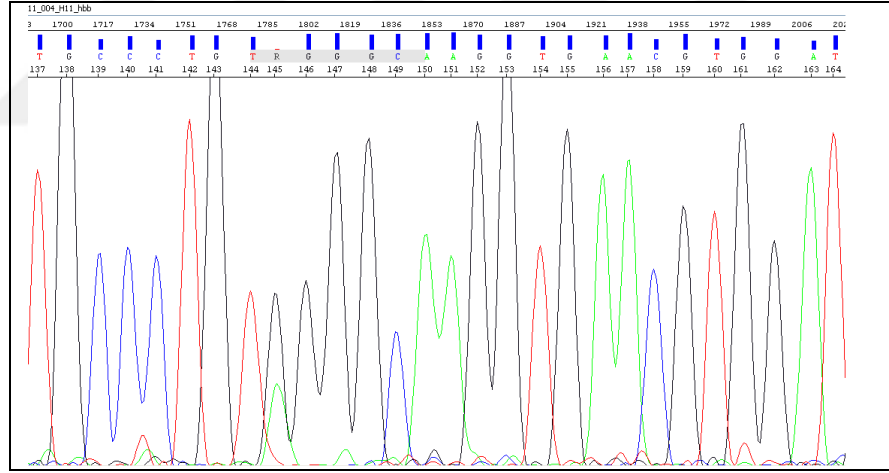
Şekil 13. ARMS ile IVS-I-5 ve kodon 39 (Cd39) mutasyonları (1; IVS-I-5 homozigot hasta, 2; normal kontrol, 3; IVS-I-5 homozigot kontrol, 4; Cd39 homozigot hasta, 5; normal kontrol, 6; Cd39 homozigot kontrol).



Şekil 14. RFLP yöntemi ile Kodon 5 (Fsc5) mutasyonu (4; kodon 5 homozigot hasta, 9; normal (A/A) kontrol, 10; kodon 5 homozigot kontrol).



Şekil 15. Sekans görüntüsü Kodon 9-10 (+T) homozigot.



Şekil 16. Kodon 15 (G-A) heterozigot (hastanın diğer alleli kodon 44 olduğu için heterozigot görünüyor).

Beta talasemi majörlü hastalarda en yaygın IVS-I-110 (%22,9) olmak üzere 16 çeşit mutasyon tespit edilmiştir. Diğer mutasyonlar sıklık sırasına göre şöyledir; IVS-II-745 (%8,6), kodon 44 (%8,6), kodon 15 (%8,6), IVS-I-110/IVS-I-1 (%8,6), kodon 5 (%5,7), IVS-I-1 (%5,7), kodon 8/IVS-II-1 (%5,7), kodon 44/kodon 15 (%5,7), IVS-II-1 (%2,9), kodon 39 (%2,9), IVS-I-6/kodon 5 (%2,9), kodon 9/10 (%2,9), IVS-I-110/kodon 39 (%2,9), IVS-I-5/IVS-II-1 (%2,9), kodon 39/IVS-II-745 (%2,9).

Tablo 6: Hastaların beta talasemi mutasyon sonucu dağılımı.

Mutasyon Tipi	n	%
IVS-I-110/IVS-I-110	8	22,9
IVS-II-745/IVS-II-745	3	8,6
kodon 44/kodon 44	3	8,6
kodon 15/kodon 15	3	8,6
IVS-I-110/IVS-I-1	3	8,6
kodon 5/kodon 5	2	5,7
IVS-I-1/IVS-I-1	2	5,7
kodon 8/IVS-II-1	2	5,7
kodon 44/kodon 15	2	5,7
IVS-II-1/IVS-II-1	1	2,9
kodon 39/kodon 39	1	2,9
IVS-I-6/Cd5	1	2,9
kodon 9/10/kodon 9/10	1	2,9
IVS-I-110/kodon 39	1	2,9
IVS-I-5/IVS-II-1	1	2,9
kodon 39/IVS-II-745	1	2,9

5. TARTIŞMA

Türkiye’de beklenenin üzerinde talasemili çocuk dünyaya gelmektedir, bu durum akraba evliliklerinin sıklığı ve doğum hızının yüksekliği ile ilişkilendirilir (9,70). Talasemilerin yaygın olarak görüldüğü Suriye’de 2011 yılından beri devam eden iç savaş sebebiyle ülkemize çok sayıda mülteci göç etmiştir. Bu süreçte bir çok talasemi hastası ülkemizde tedavi görmektedir. Kök hücre transplantasyonu dışında küratif tedavisi olmayan beta talasemide prenatal tanı, evlilik öncesi tarama, genetik danışmanlık, hastalık hakkında bilgilendirme gibi koruyucu sağlık hizmetleri önemlidir.

Büyük delesyonlardansa daha çok nokta mutasyonlarının beta talasemide hastalığın ağır klinik formlarıyla ilişkili olduğu bilinmektedir. Son zamanlarda hastalıkla ilgili çok sayıda mutasyon tanımlanmıştır. Bunun nedeni özellikle PCR ve moleküler tabanlı yöntemlerin kullanıma girmesidir. Dünya genelinde 200’ün üzerinde mutasyon tanımlanmıştır (33). Yapılan bölgesel çalışmaların önemli bir kısmında, bir coğrafik ya da etnik alandaki vakaların % 90’dan fazlası 5–6 mutasyonla sınırlı olduğu görülmektedir (71). Beta talasemi mutasyonlarının sıklığı ve çeşitliliği üzerine dünyada ve Türkiye’de birçok çalışma yapılmıştır.

Hamamy ve Al-Allawi (72) tarafından Suriye’nin de dahil olduğu Arap ülkelerinde yaygın hemoglobinopatilerin epidemiyolojik profiline yönelik yaptıkları çalışmada IVS-I-110 (G> A) Lübnan, Mısır, Suriye, Ürdün, Tunus ve Cezayir’deki en yaygın mutasyon olarak bulunmuştur. Doğu Arap Yarımadası’nda, Asyalı Hint mutasyonları (IVS-I-5 (G>C), kodon 8/9 (+G) ve IVS-I (-25 bp del) daha yaygın bulunmuştur.

Jarjour ve ark. (10) tarafından Suriye’li 189 beta talasemi hasta ve taşıyıcısında yapılan araştırmada toplam 31 mutasyon bulunmuştur. En sık görülen ilk 10 mutasyon sıklık sırasına göre şöyledir; IVS-I-110 (G>A) (%17,0), IVS-I-1 (G>A) (%14,7), kodon 39 (C>T) (%14,4), IVS-II-1 (G>A) (%9,8), kodon 8 (-AA) (%6,2), IVS-I-6 (T>C) (%5,2), IVS-I-5 (G>C) (%4,9), kodon 5 (-C) (%3,2), IVS-I-5 (G>A) (%3,2) ve kodon 37 (G>A) (%2,2). En sık görülen mutasyonların tüm β -globin gen mutasyonlarının % 77,5’ini oluşturduğu bulunmuştur.

Murad ve ark. (73) tarafından Suriye nüfusunda beta talasemi ve orak hücreli aneminin prenatal moleküler tanısına yönelik yapılan araştırmada 55 amniyotik sıvıdan toplanan örnekler ile yapılan DNA dizi analizinde fetüslerde on üç farklı bilinen β -

globin gen mutasyonu tespit edilmiştir. En yaygın mutasyonlar sıklık sırasına göre IVS-I-1 (G>A) (%9,77), kodon 39 (C>T) (%8,05), IVS-I-5 (G>C) (%6,32), IVS-II-1 (G>A) (%5,75) ve IVS-I-110 (G>A) (%5,75) olarak bulunmuştur.

Kyriacou ve ark. (74) tarafından Suriye'de beta talaseminin moleküler karakterizasyonuna yönelik yapılan ve 82 Suriye'li hastanın dahil edildiği çalışmada 17 farklı beta talasemi mutasyonu tanımlanmıştır. En yaygın sekiz beta talasemi mutasyonları şöyledir; IVS-I-110 (G>A), IVS-I-1 (G>A), kodon 5 (-CT), -30 (T>A), kodon 39 (C>T), IVS-I-6 (T>C), IVS-II-1 (G>A) ve kodon 15 (TGG>TAG).

El-Hazmi ve ark. (75) tarafından yapılan bir çalışmada Ürdün, Mısır, Suriye, Lübnan, Yemen ve Suudi Arabistan'ı içerisine alan sekiz Arap ülkesinde 14 beta talasemi mutasyonunun sıklığı araştırılmıştır. Çalışmaya 253 beta talasemi hastası alınmıştır. İncelen mutasyonlara şunlar dahil edilmiştir; IVS-I-110 (G>A), IVS-II-1 (G>A), IVS-I-5 (G>C), kodon 39 (C>T), IVS-I-1 (G>A), kodon 8/9 (+G), kodon 41/42 (-TTCT), kodon 15 (TGG>TAG), IVS-I-6 (T>C), kodon 16 (-C), IVS-II-745 (C>G), kodon 6 (-A), IVS-I, 3' ucu (-25 bp) ve Cap +1 (A>C). Her bir Arap ülkesinin nüfusunda en sık IVS-I-110 ve IVS-II-1 mutasyonları tespit edilmiştir. Ürdün'lüler, Mısır'lılar ve Suriye'lilerde IVS-I-1 ve IVS-II-745 mutasyonları görülmüştür. IVS-I-5, kodon 39, kodon 6, IVS-I, 3' ucu (-25 bp) ve Cap +1 mutasyonları sadece Suudilerde görülmüş olup Suriye'liler ve Lübnan'lılarda bulunan kodon 39 hariç, diğer Arap'larda görülmemiştir.

Abuzenadah ve ark. (76) tarafından Suudi Arabistan'ın batısındaki beta talasemi mutasyon spektrumunun tanımlanması için yapılan çalışmaya 172 hasta dahil edilmiştir. Batı bölgesinde hastalığa neden olan toplam 23 mutasyon tespit edilmiştir. ARMS tekniği ile tespit edilen yedi ortak mutasyon hastaların %78'inde sorumlu bulunmuştur. Bu mutasyonlar şöyledir; IVS-II-1 (G>A), IVS-I-110 (G>A), IVS-I-5 (G>C), kodon 39 (C>T), kodon 26 (G>A) [Hb E or β 26(B8)Glu→Lys, GAG>AAG], kodon 8/9 (+G) ve IVS-I-1 (G>A). Bu çalışmada genetik heterojenite gözlenmiştir, on mutasyon Asya veya Asya / Hint kökenli, ikisi Kürt, biri Çin, biri Türk, biri Suudi, ve Kalanlar Akdeniz kökenli bulunmuştur. Bu çalışmada, moleküler düzeyde büyük heterojenlikten ve farklılıktan, batı eyaletindeki büyük bir göçmen nüfusun varlığı sorumlu tutulmuştur. Bu çalışmayla tespit edilen beta talasemi mutasyonları Suudi Arabistan'ın doğu bölgelerindeki rapor edilen mutasyonlardan farklı bulunmuştur.

Bizim çalışmamızda Suriye'den bölgemize göç eden beta talasemi hastalarında β -globin gen mutasyonlarının tespit edilmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya cinsiyet ayrımı yapılmaksızın düzenli kan transfüzyonu yapılan 35 Suriye'li beta talasemi majör hastası alınmıştır. Hastaların ferritin ortalaması ve HCV pozitifliği (%34,3) çok yüksek olarak bulunmuştur. Bu durum kontrolsüz kan transfüzyonu ve düzensiz demir şelasyon tedavisi almalarına bağlı olarak yorumlanmıştır. Hastaların düzenli kontrole gelmemesi nedeniyle kan transfüzyonu öncesi Hb değerleri olması gereken Hb değerlerinin altında bulunmuştur. Yaşanan hasta uyum probleminin ortak lisan kullanılmadığından kaynaklandığı düşünülmüştür.

Çalışmaya dahil edilen 35 beta talasemi majörlü hastada en yaygın IVS-I-110 (%22,9) olmak üzere 16 çeşit mutasyon tespit edilmiştir. Diğer mutasyonlar sıklık sırasına göre; IVS-II-745 (%8,6), kodon 44 (%8,6), kodon 15 (%8,6), IVS-I-110/IVS-I-1 (%8,6), kodon 5 (%5,7), IVS-I-1 (%5,7), kodon 8/IVS-II-1 (%5,7), kodon 44/kodon 15 (%5,7), IVS-II-1 (%2,9), kodon 39 (%2,9), IVS-I-6/kodon 5 (%2,9), kodon 9/10 (%2,9), IVS-I-110/kodon 39 (%2,9), IVS-I-5/IVS-II-1 (%2,9), kodon 39/IVS-II-745 (%2,9) olarak bulunmuştur.

Çalışmamız Suriye'lilerde yapılan diğer çalışmalarla karşılaştırıldığında benzer şekilde en sık β -globin gen mutasyonu IVS-I-110 bulunmuştur. Sekiz Arap ülkesinde El-Hazmi ve ark. (75) tarafından yapılan çalışmada IVS-I-1 ve IVS-II-745 mutasyonları sadece Mısır, Ürdün ve Suriye'lilerde görülmüştür. IVS-I-1 mutasyonu Murad ve ark. (73) tarafından yapılan çalışmada en sık ve Jarjour ve ark. (10) tarafından yapılan çalışmada ikinci sık görülen mutasyon olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da IVS-II-745 mutasyonu ikinci sıklıkta, IVS-I-1 mutasyonu ise üçüncü sıklıkta görülmüştür.

Çalışmamız sonucunda Suriye kökenli beta talasemi hastalarında bulunan beta globin gen mutasyonlarının heterojenite gösterdiği, en sık görülen mutasyonlar açısından Türkiye ile benzerlik gösterdiği ve ilk 6-7 mutasyonun tüm mutasyonların yaklaşık olarak %70'ine tekabül ettiği bulunmuştur. Çalışmamızda literatürden farklı bir mutasyon tespit edilmemiştir.

Mendilcioğlu ve ark. (77) tarafından Güneydoğu Türkiye'de beta talasemi ve diğer hemoglobinopatilerin prenatal tanısına yönelik yapılan çalışmaya 407 fetüs alınmıştır. β -globin mutasyon analizleri ve sitogenetik analizler yapıldı ve en sık mutasyon IVS-I-110 (G>A), diğer yaygın mutasyonlar IVS-II-1 (G>A), IVS-I-6 (T>C)

ve IVS-II-745 (C>G) olarak bulunmuştur. Bizim çalışmamızda da bu çalışmaya benzer şekilde en sık IVS-I-110 mutasyonu bulunmuş olup IVS-II-745 mutasyonu da yaygın olarak bulunmuştur.

Ulaşlı ve ark. (78) tarafından Gaziantep'te 2 ay - 16 yaş arası her tipte beta talasemisi olan 89 hastada β -globin mutasyonlarına yönelik yapılan çalışmada 16 mutasyon tipi tespit edilmiştir. En sık görülen mutasyon IVS I-110 (G>A), ardından IVS I-1 (G>A), IVS I-6 (T>C), IVS II-1 (G>A) olarak bulunmuştur. Bu çalışma ile en sık görülen ve diğer mutasyonlar açısından bizim çalışmamızla benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Ayçiçek ve ark. (79) tarafından Şanlıurfa ve bölgesinde 2–17 yaş arası 115 beta talasemi majör hastasında β -globin gen mutasyonlarına yönelik yapılan çalışmada 16 farklı mutasyon saptanmıştır. IVS-1-110 (G>A) (%29,1), IVS-1-1 (G>A) (%13,9), kodon 39 (C>T) (%10,4), kodon 8 (-AA) (%9,1) en sık olarak belirlendi ve bunların vakaların %62,5'ini oluşturduğu görülmüştür. Bizim çalışmamıza benzer şekilde IVS-I-110 (G>A) en sık saptanan mutasyon olmuştur.

Fettah ve ark. (80) tarafından Ankara'da Türkiye'nin her yerinden hasta kabul eden üçüncü basamak bir merkezde yaptıkları β -globin mutasyonlarına yönelik retrospektif çalışmaya 84 beta talasemi majör ve 22 beta talasemi intermedi hastası olmak üzere toplamda 106 hasta dahil edilmiştir. Bu çalışmada 18 farklı mutasyon tespit edilmiştir. En sık karşılaşılan mutasyon IVS-I-110 (G> A) (% 35,3) olmakla birlikte diğer yaygın mutasyonlar, kodon 8 (-AA) (% 10,4), IVS-II-1 (G> A) (% 8), IVS-I-1 (G> A) (% 7,5), kodon 39 (C> T) (% 7,1) ve kodon 5 (-CT) (% 6,6) olarak bulunmuştur. Sık görülen bu mutasyonlar gözlemlenen mutasyonların % 79,4'ünü oluşturduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada en sık ve yaygın mutasyonlar açısından bizim çalışmamızla benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Gülbay ve ark. (81) tarafından Malatya'da β -globin gen mutasyonlarına yönelik yapılan çalışmaya 6 beta talasemi majör ve 32 beta talasemi minör hastası dahil edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçlarına göre; IVS-1-110 (G>A) (%47,4) mutasyonu, Türkiye'nin diğer bölgelerinde olduğu gibi en yaygın mutasyon olarak belirlenmiştir. Diğer yaygın mutasyonlar IVS-I-1 (G>A) (%15,8), IVS-II-1 (G>A) (%7,9), kodon 8 (-AA) (%7,9) ve kodon 8/9 (+G) (%7,9) olarak bulunmuştur.

Suriye’li göçmen hastalarda yaptığımız çalışmada beta talasemi gen mutasyon analizleri Türkiye gen haritasına benzemektedir. β -globin gen analizleri ile hastalara genetik danışmanlık verilerek hasta çocuk doğumlarının önlenmesi amaçlanmıştır.



6. SONUÇLAR

1. Beta talasemi prenatal tanısı ve taraması mümkün olan kalıtsal geçiş gsteren bir hastalıktır.
2. Kk hcre transplantasyonu hariç kuratif tedavisi olmayan beta talasemi majr hastalarının tedavi masrafları sağlık hizmetlerinde hiç de azımsanmayacak bir maliyet oluşturmaktadır. Bu nedenle hastaların β -globin gen mutasyon analizlerinin yapılıp ailelere genetik danışmanlık verilmesi önemlidir.
3. Çalışmaya dahil edilen Suriye’li beta talasemi majrlu hastalarda en yaygın IVS-I-110 (%22,9) olmak üzere 16 çeşit mutasyon tespit edilmiştir. Bu sonuçlarla ailelere ikinci bir hasta ocuk doğmasını önlemek için genetik danışmanlık verilmesi amaçlanmıştır.

KAYNAKLAR

1. Loukopoulos D. Thalassemia: Genotypes and phenotypes. *Ann Hematol* 1991; 62(4): 85-94.
2. Kazazian HH Jr. The thalassemia syndromes: molecular basis and prenatal diagnosis in 1990. *Semin Hematol* 1990; 27: 209-28.
3. Yaprak I. *Sted* 2004; 13(2): 58-9.
4. Altay Ç. The Frequency and Distribution Pattern of β -thalassemia Mutations in Turkey. *Turk J Haematol* 2002; 19 (2): 309-15.
5. Acemoğlu H, Beyhun NE, Vançelik S, Polat H, Güraksın A. Thalassaemia screening in a non-prevalent region of a prevalent country (Turkey): is it necessary? *Public Health* 2008; 122: 620-4.
6. Kazazian HH Jr, Boehm CD. Molecular basis and prenatal diagnosis of β -thalassemia. *Blood* 1998; 72(4): 1107-16.
7. Tuzmen S, Schechter AN. Genetic diseases of hemoglobin: diagnostic methods for elucidating β -talasemia mutations. *Blood Reviews* 2001; 15: 19-29.
8. Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia. *Orphanet J Rare Dis* 2010; 5: 11.
9. Basak AN. Talasemi Moleküler Genetigi, s. 99-106. Türk Hematoloji Derneği Temel Moleküler Hematoloji Kursu, Mersin, 2005.
10. Jarjour RA, Murad H, Moasses F, Al-Achkar W. Molecular update of β -thalassemia mutations in the Syrian population: identification of rare β -thalassemia mutations. *Hemoglobin* 2014; 38(4): 272-6.
11. Thein SL. Genetic modifiers of beta-thalassemia. *Haematologica* 2005; 90(5): 649-60.
12. Oliviere NF. The β -Thalasseмииs. *Medical Progress* 1999; 341: 99-109.
13. Weatherall D. The inherited disorders of haemoglobin: an increasingly neglected global health burden. *Indian J Med Res* 2011;134: 493-7.
14. Weatherall DJ. Genetic variation and susceptibility to infection: the red cell and malaria. *Br J Haematol* 2008; 141(3) :276-86.
15. Weatherall DJ. The inherited diseases of hemoglobin are an emerging global health burden. *Blood* 2010; 115(22): 4331-6.
16. Canatan D, Köse MR, Üstündağ M, Haznedaroğlu M, Özbaş S. Hemoglobinopathy

- Control Program in Turkey. *Community Genet* 2006; 9: 124-6.
17. Kocak R, Alparlan ZN, Agridag G, Baslamisli F, Aksungur PD, Koltas S. The frequency of anemia, iron deficiency, hemoglobin S and beta thalassemia in the south of Turkey. *Eur J Epidemiol* 1995; 11: 181-84.
 18. Canatan D, Aydınok Y. Talasemi ve hemoglobinopatilerde tanı ve tedavi el kitabı, s. 129-43, Talasemi federasyonu, Antalya, 2007.
 19. Birgens H, Ljung R. The thalassaemia syndromes. *Scand J Clin Lab Invest* 2007; 67(1): 11-25.
 20. Nathan DG, Oski FA. The thalassemia. In: *Hematology of Infancy and Childhood*. Vol 1, pp. 783-886, Pa: WB Saunders Co, Philadelphia, USA 1998.
 21. Giardina P, Forget B. Thalassaemia syndromes. Ed: Hoffman R, Benz E, Shattil S, et al, *Hematology: Basic Principles and Practice*. 5th edition, pp. 535-63, PA: Churchill Livingstone, Philadelphia, USA, 2008.
 22. Harvey RA, Champe PC. Talesemiler. (Çev: Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E), s.37, Tayf Ofset, İstanbul, 1997.
 23. Weatherall DJ, Clegg JB. *The Thalassaemia Syndromes*. 4th edition, pp. 1-55, Oxford; Blackwell Scientific Publications, UK, 2001.
 24. Oner C, Gurgey A, Oner R, Balkan H, Gumruk F, Baysal E , et al. The molecular basis of Hb H disease in Turkey. *Hemoglobin* 1997; 21: 41-51.
 25. Weatherall DJ. Phenotype-genotype relationships in monogenic disease: lessons from the thalassemiyas. *Nat Rev Genetics* 2001; 2: 245-55.
 26. Schechter NA. Hemoglobin research and origins of molecular medicine. *Blood* 2008; 112: 3927-8.
 27. Higgs DR. Gene Regulation in Hematopoiesis: New Lessons from Thalassaemia. *Hematol* 2004; 1: 1-13.
 28. Karol S, Ayvalı C, Suludere Z. *Hücre Biyolojisi*. 4. Basım, s. 27-86, Ankara, 2000.
 29. Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR. Ed: Ulukaya E, Lippincott's *Illustrated Reviews*. 3. basım, s. 25-42, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, Türkiye, 2007.
 30. Huisman TH. The structure and function of normal and abnormal haemoglobins. *Baillières Clin Haematol* 1993; 6(1): 1-30.
 31. Cappellini MD, Cohen A, Eleftheriou A, Piga A, Porter J, Taher A. *Guidelines for the Clinical Management of Thalassaemia*. 2nd Revised edition. Nicosia (CY): Thalassaemia International Federation, 2008.

32. Olgun A. Proteinlerde yapı-işlev ilişkileri. Mark's Temel Tıbbi Biyokimyası, (Çev: İnal ME, Atik U, Aksoy N, Hasimi A), 2. Basım, s. 102, Günes Kitabevi, Ankara, 2007.
33. Weatherall D. The Thalassemias: The Role of Molecular Genetics in an Evolving Global Health Problem. *Am J Hum Genet* 2004; 74: 385–92.
34. Günçag D. Hemolitik Anemiler. Klinik Hematoloji. Dinçol G, Pekçelen Y, Atamer T, Sargın D, Nalçacı M, Aktan M, Besiç SK (editör) İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi 2003; s: 87-152.
35. Rieder RF, James GW 3rd. Imbalance in alpha and beta globin synthesis associated with a hemoglobinopathy. *J Clin Invest* 1974; 54: 948-56.
36. May C, Sadelain MA. Promising Genetic Approach to the Treatment of β -Thalassemia. *Trends Cardiovasc Med* 2001; 11: 276-80.
37. Cunningham MJ, Sankaran VG, Nathan DG, Orkin SH. The Thalassemias. Ed: Orkin SH, Nahan DG, Ginsburg D, Look AT, Fisher DE, Lux SE, Nathan and Oski's hamatology of infacy and childhood. 7th edition, pp. 1015-106, Saunders-Elsevier, Philadelphia,USA, 2009.
38. Weatherall DJ. The thalassaemias. *BMJ* 1997; 314(7095): 1675-78.
39. Beta Talasemi Tanı ve Tedavi Klavuzu. Ulusal Tanı ve Tedavi Klavuzu, Türk Hematoloji Derneği 2011; s: 81-97.
40. Musallam KM, Cappellini MD, Taher AT. Iron overload in β -thalassemia intermedia: an emerging concern. *Curr Opin Hematol* 2013; 20: 187-92.
41. Weatherall DJ. The definition and epidemiology of non-transfusion-dependent thalassemia. *Blood Rev* 2012; 1: S3-6.
42. McDonagh KT, Nienhuis AW. The thalassemias. Ed: Nathan DG, Oski FA, Haematology of infancy and childhood. 4th edition, pp. 783-879, WB Saunders company, Philadelphia, USA, 1993.
43. Kazazian HH Jr, Dowling CE, Hurwitz RL, Coleman M, Stopeck A, Adams JG 3rd. Dominant thalassemia-like phenotypes associated with mutations in exon 3 of the beta-globin gene. *Blood* 1992; 79: 3014-8.
44. Lanskowsky P. Hemoglobinopathies. In: Manual of Pediatric Hematology and Oncology. 5th edition, pp. 200-47, Academic Press, California, USA, 2011.
45. Borgna- Pignatti C, Cappellini MD, De Stefano P, Del Vecchio GC, Forni GL, Gamberini MR, et al. Survival and complications in thalassemia. *Ann N Y Acad Sci* 2005; 1054: 40-7.

46. Cao A, Galanello R. Beta-thalassemia. *Genet Med* 2010; 12(2): 61–76.
47. Kohne E. Hemoglobinopathies: clinical manifestations, diagnosis, and treatment. *Dtsch Arztebl Int* 2011; 108(31-32): 532-40.
48. Neyzi O, Ertuğrul T. Talasemiler. 3. Basım, Cilt 2, s. 1059-61, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2002.
49. Marcus RE, Davies SC, Bantock HM, Underwood SR, Walton S, Huehns ER. Desferrioxamine to improve cardiac function in iron-overloaded patients with thalassemia major. *Lancet* 1984; 1: 392-3.
50. Ehlers KH, Giardina PJ, Lesser ML, Engle MA, Hilgartner MW. Prolonged survival in patients with beta-thalassemia major treated with deferoxamine. *J Pediatr* 1991; 118: 540-5.
51. Albera R, Pia F, Morra B, Lacilla M, Bianco L, Gabutti V, et al. Hearing loss and desferrioxamine in homozygous beta-thalassemia. *Audiology* 1988; 27: 207-14.
52. De Virgiliis S, Congia M, Turco MP, Frau F, Dessi C, Argiolu F, et al. Depletion of trace elements and acute ocular toxicity induced by desferrioxamine in patients with thalassaemia. *Arch Dis Child* 1988; 63: 250-5.
53. Anderson LJ, Wonke B, Prescott E, Holden S, Walker JM, Pennell DJ. Comparison of effects of oral deferiprone and subcutaneous desferrioxamine on myocardial iron concentrations and ventricular function in beta-thalassemia. *Lancet* 2002; 360: 516–20.
54. Maggio A, Filosa A, Vitrano A, Aloj G, Kattamis A, Ceci A, et al. Iron chelation therapy in thalassemia major: a systematic review with meta-analyses of 1520 patients included on randomized clinical trials. *Blood Cells Mol Dis* 2011; 47(3): 166-75.
55. Aydınok Y. Talasemide demir yükü ve selasyon. *Talasemi ve Hemoglobinopatiler Tanı ve Tedavi El Kitabı*, s. 159-73, Talasemi federasyonu, Antalya, 2007.
56. Cappellini MD, Cohen A, Piga A, Porter J, Taher A. Guidelines for the clinical management of thalassemia 2nd edition. Published by Thalassaemia International Federation, Cyprus: Team up Creations, 2007.
57. Saad GS, Musallam KM, Taher AT. The surgeon and the patient with β -thalassaemia intermedia. *Br J Surg* 2011; 98: 751-60.
58. Tadmouri GO, Başak AN. Beta-thalassemia in Turkey: a review of the clinical, epidemiological, molecular, and evolutionary aspects. *Hemoglobin* 2001; 25(2): 227-39.
59. S Pehlivan, V Okan, E Guler, M Yilmaz, T Sever, E Dikensoy, et al. Thalassaemia

- mutations in Gaziantep, Turkey. *Afr. J. Biotechnol* 2010; 9(8): 1255-8.
60. Higgs DR, Engel JD, Stamatoyannopoulos G. Thalassaemia. *Lancet* 2012; 379: 373-83.
 61. Rigoli L, Meo A, Miceli MR, Alessio K, Caruso RA, La Rosa MA. Molecular analysis of beta-thalassaemia patients in a high incidence area of southern Italy. *Clin Lab Haematol* 2001; 23(6): 373-8.
 62. Boudrahem-Addour N, Zidani N, Carion N, Labie D, Belhani M, Beldjord C. Molecular heterogeneity of beta-thalassaemia in Algeria: how to face up to a major health problem. *Hemoglobin* 2009; 33(1): 24-36.
 63. Georgiou I, Makis A, Chaidos A, Bouba I, Hatzi E, Kranas V, et al. Distribution and frequency of β -thalassaemia mutations in northwestern and central Greece. *Eur J Haematol* 2003; 70(2): 75-8.
 64. Altunkılıç S. Anamur yöresinin β -talasemi mutasyon tiplendirilmesi. ÇÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, Adana, 2004.
 65. Atalay EÖ, Çırakoğlu B, Dinçol G, Atalay A, Kılınc Y, Aytekin H, et al. Regional distributions of β -thalassaemia mutations in Turkey. *Int J Hematol* 1993; 57: 207-11.
 66. Arcasoy MO, Gallagher PG. Molecular diagnosis of hemoglobinopathies and other red blood cell disorders. *Semi Hematol* 1999; 36(4): 328-39.
 67. Tanrıverdi K. β -talasemi mutasyon tiplerinin moleküler düzeyde incelenmesi. Ç.Ü.Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilim Uzmanlığı Tezi, Adana, 1993.
 68. Bain BJ, Amos RJ, Chapman B, Davies SC, Old JM, Wild BJ. The laboratory diagnosis of hemoglobinopathies. *Br J Haematol* 1998; 101: 783-92.
 69. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular cloning: A Laboratory Manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory, 1989.
 70. Cai SP, Wall J, Kan YW, Chehab FF. Reverse dot blot probes for the screening of beta-thalassaemia mutations in Asians and American blacks. *Hum Mutat* 1994; 3(1): 59-63.
 71. Chakrabarti P, Gupta R, Mishra A, Rai M, Singh VP, Dash D. Spectrum of β -thalassaemia mutations in North Indian states: A β -thalassaemia trait with two mutations in cis. *Clin Biochem* 2005; 38: 576-578.
 72. Hamamy HA, Al-Allawi NA. Epidemiological profile of common haemoglobinopathies in Arab countries. *J Community Genet* 2013; 4(2): 147-67.
 73. Murad H, Moassas F, Jarjour R, Mukhalalaty Y, Al-Achkar W. Prenatal molecular diagnosis of β -thalassaemia and sickle cell anemia in the Syrian population.

Hemoglobin 2014; 38(6): 390-3.

74. Kyriacou K, Al Quobaili F, Pavlou E, Christopoulos G, Ioannou P, Kleanthous M. Molecular characterization of beta-thalassemia in Syria. *Hemoglobin* 2000; 24(1): 1-13.
75. el-Hazmi MA, Warsy AS, al-Swailem AR. The frequency of 14 beta-thalassemia mutations in the Arab populations. *Hemoglobin* 1995; 19(6): 353-60.
76. Abuzenadah AM, Hussein IM, Damanhour GA, A-Sayes FM, Gari MA, Chaudhary AG. Molecular basis of β -thalassemia in the western province of Saudi Arabia: identification of rare β -thalassemia mutations. *Hemoglobin* 2011; 35(4): 346-57.
77. Mendilcioglu I, Yakut S, Keser I, Simsek M, Yesilipek A, Bagci G, et al. Prenatal diagnosis of β -thalassemia and other hemoglobinopathies in southwestern Turkey. *Hemoglobin* 2011; 35(1): 47-55.
78. Ulasli M, Oztuzcu S, Kirkbes S, Bay A, Igci YZ, Bayraktar R, et al. Novel Beta (β)-Thalassemia Mutation in Turkish Children. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2015; 31(2): 218-22.
79. Ayçiçek A, Koç A, Özdemir ZC, Bilinç H, Koçyiğit A, Dilmeç F. Beta-globin gene mutations in children with beta-thalassemia major from Şanlıurfa province, Turkey. *Turk J Haematol* 2011; 28(4): 264-8.
80. Fettah A, Bayram C, Yarali N, Isik P, Kara A, Culha V. Beta-globin Gene Mutations in Turkish Children with Beta-Thalassemia: Results from a Single Center Study. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2013; 5(1).
81. Gülbay G, Yeşilada E, Aydoğdu İ, Özgen Ü, Otlu G. Malatya'da Beta-Talasemi Mutasyonları. *İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi* 2009; 1(4): 209-12.

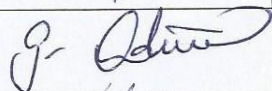
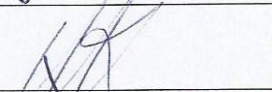
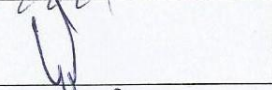
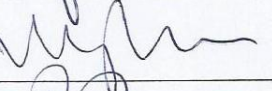
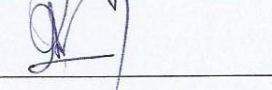
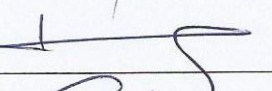
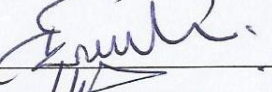
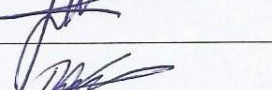
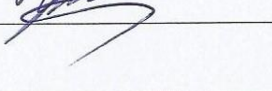
**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU**

BAŞVURU BİLGİLERİ	Araştırmanın Başlığı	Suriyeden Göç Eden Talesemili Hastalarda Beta Globin Gen Mutasyonlarının Araştırılması		
	Sorumlu Araştırmacı	Yrd. Doç. Dr. Can ACIPAYAM		
	Başvuru Tarihi	09.02.2015		
	Protokol No	27		
ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Gen tedavisi klinik araştırmaları dışında kalan ve tanımlamaya yönelik olarak genetik materyalle yapılacak araştırmalar			
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>
KARAR BİLGİLERİ	Oturum No: 2015/03	Karar No: 10	Tarih: 23.02.2015	
	Yukarıda başvuru bilgileri verilen araştırma dosyası; araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve araştırmanın gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel yönden sakınca bulunmadığı toplantıya katılan üyelerin oy birliği ile KABUL EDİLMİŞTİR.			

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI

Prof. Dr. Gökhan ÖZDEMİR

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Araştırma ile ilişki		Katılım		İmza
			E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Gökhan ÖZDEMİR Başkan	Göz Hastalıkları	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Metin KILINÇ Üye	Tıbbi Biyokimya	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Ertan BÜLBÜLOĞLU Üye	Genel Cerrahi	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Mustafa GÖKÇE Üye	Nöroloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Perihan ÖZTÜRK Üye	Dermatoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Kamile GÜL Üye	Endokrinoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Ekrem KİREÇÇİ Üye	Tıbbi Mikrobiyoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Hamide SAYAR Üye	Patoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. B. Nurten SERİNGEÇ Üye	Fizyoloji	KSÜ Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
ŞERH (VARSA)							