



BETA TALASEMİ MUTASYONLARI VE BETA GLOBİN GEN AİLESİ HAPLOTİP İLİŞKİLERİ

Anzel BAHADIR

**Kasım 2009
DENİZLİ**

BETA TALASEMİ MUTASYONLARI VE BETA GLOBİN GEN AİLESİ HAPLOTİP İLİŞKİLERİ

**Pamukkale Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Doktora Tezi
Biyofizik Anabilim Dalı**

Anzel BAHADIR

Danışman: Prof. Dr. Erol Ömer ATALAY

Bu tez, Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından
2008SBE001 proje numarası ile desteklenmiştir.

**Kasım 2009
DENİZLİ**

DOKTORA TEZİ ONAY FORMU

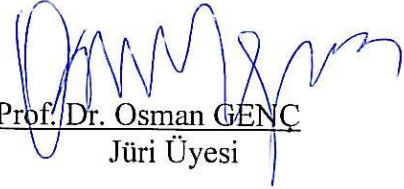
Anzel BAHADIR tarafından, Prof. Dr. Erol Ömer ATALAY yönetiminde hazırlanan “**Beta Talasemi Mutasyonları ve Beta Globin Gen Ailesi Haplotip İlişkileri**” başlıklı doktora tezi tarafımızdan okunmuş kapsamı ve niteliği açısından bir Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.



Prof. Dr. Erol Ömer ATALAY
Jüri Başkanı(Danışman)



Prof. Dr. Kıymet AKSOY
Jüri Üyesi



Prof. Dr. Osman GENÇ
Jüri Üyesi



Doç. Dr. Dinçer BİLGİN
Jüri Üyesi



Yrd. Doç. Dr. Ayfer ATALAY
Jüri Üyesi

Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ve 09.11.2009 sayılı kararıyla onaylanmıştır.

19.11.09 tarih



Doç. Dr. A. Çevik TUFAN
Müdür

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanması, yürütülmesi ve sonuçlanmasında çok değerli destek ve katkıları gördüğüm ‘‘Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı’’ başkanı ve tez danışmanım Sn. Prof. Dr. Erol Ömer Atalay’a, bilimsel bilgi ve deneyimleri ile beni yönlendiren ‘‘Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı’’ başkanı Sn. Prof. Dr. Osman Genç’e, yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen ‘‘Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı’’ öğretim üyelerinden Sn. Yrd. Doç. Dr. Ayfer Atalay’a ve bölüm içerisindeki tüm çalışma arkadaşlarıma sonsuz şükranlarımı sunarım.

Tez çalışması için gerekli olan maddi kaynağı 2008SBE001 numaralı proje ile sağlayan ‘‘Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (PAÜBAP)’ne’’ de teşekkürlerimi belirtirim.

Ayrıca hayatımın her aşamasında sevgi ve destekleri ile ilerlediğim, sonsuz sabır sahibi olan başta babam Salih Bahadır olmak üzere, tüm aileme en içten şükranlarımı sunarım.

Saygılarımla
Kasım- 2009
Anzel BAHADIR

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırılmasının yapılması ve bulguların analizinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

İmza

Öğrenci Adı Soyadı

: 

: Anzel BAHADIR

ÖZET

BETA TALASEMİ MUTASYONLARI VE BETA GLOBİN GEN AİLESİ HAPLOTİP İLİŞKİLERİ

Bahadır, Anzel
Doktora Tezi, Biyofizik ABD
Tez Danışmanı: Prof. Dr. Erol Ömer ATALAY

Kasım 2009, 135 sayfa

Kalıtsal kan hastalıkları içerisinde yer alan talasemiler, hemoglobin molekülünün üretimi süresince, alfa (α) ve beta (β) globin zincir sentezlerindeki düzenlenme dengesizliklerine dayalı, globin zincir sentez bozukluğudur. Beta talasemi mutasyonları moleküsel ve fenotipik açıdan büyük çeşitlilik göstermektedir. Denizli ülkemizde hemoglobinopati kontrol programı uygulanan illerden bir tanesidir. Tezin amacını, Denizli’de gözlenen beta talasemi mutasyonları ile ilişkili beta globin gen ailesi haplotipleri ve Xmn I polimorfizm sıklığının belirlenmesi oluşturmaktadır.

Çalışmamızda, beta talasemi majörlü 28, beta talasemi minörlü 210 ve Xmn I polimorfizmi açısından kontrol grubu olarak 100 sağlıklı DNA örneği incelenmiştir. Bu bireylere ait beta globin gen ailesi haplotip yapılarının belirlenmesinde PCR-RFLP yöntemi kullanılmıştır. Bu yöntemde, beta globin gen ailesi içerisinde yer alan, 5’ ϵ - Hinc II, G γ - Xmn I, G γ , A γ - Hind III, $\psi\beta$ - Hinc II, 3’ $\psi\beta$ - Hinc II, 5’ β - Ava II, 3’ β - Hinf I olmak üzere, toplam sekiz polimorfik bölge çalışılmıştır. Elde edilen polimorfizm sonuçları, istatistiksel olarak “*Arlequin 3.1 Software*” programı kullanılarak değerlendirilmiştir.

Elde edilen veriler doğrultusunda, yöremizde gözlenen beta talasemi mutasyonları ile ilişkili beta globin haplotip sonuçlarına göre, ilimiz beta globin gen ailesi haplotiplerinin Akdeniz türü karakter ortaya koyduğu belirlenmiştir. Bu sonuçlarda, IVS I- 110 (G>A) mutasyonunun haplotip VII (+ - - - - +), IVS I- 5 (G>C) mutasyonunun haplotip IV (- + - + + - +), Kodon 8/9 (+G) mutasyonunun haplotip I (+ - - - + +) ile ilişkileri Türkiye’de ilk kez bildirilmektedir. Diğer taraftan; IVS I- 1 (G>A) mutasyonu için ise haplotip VIIa (+ - - - - -) ile bağlantısı literatürde ilk kez gösterilmektedir. Ayrıca ilimizde Xmn I polimorfizminin düşük oranda saptanması nedeni ile yöremizdeki beta talasemili olgularda uygulanabilecek hidroksiüre tedavisinin, eğer etki Xmn I polimorfizmi üzerinden ise, anlamlı olmayacağı görülmüştür.

Anahtar Kelimeler: Beta talasemi, haplotip, Xmn I, polimorfizm, Denizli

ABSTRACT

BETA THALASSEMIA MUTATIONS AND ASSOCIATIONS WITH BETA GLOBIN GENE CLUSTER HAPLOTYPES

Bahadır, Anzel

Ph. D. Thesis in Biophysics

Thesis Adviser: Prof. Dr. Erol Ömer ATALAY

November 2009, 135 pages

Thalassemias are hereditary blood diseases due to unbalanced globin chain synthesis. Unbalanced globin chain synthesis is the major cause of low level hemoglobin production leading to anemia. Main cause of the beta thalassemias is the lower amount of beta globin chain synthesis. Denizli province of Turkey is one of the regions in which hemoglobinopathy control program is applied. The aim of this thesis is to identify the beta globin gene cluster haplotypes linked with the beta thalassemia mutations in our province. On the other hand; the Xmn I polymorphism was also determined to be able to understand the place of this polymorphism in between beta thalassemia mutations and also in normal population.

In this study, 28 with β -thalassemia major, 210 β -thalassemia minor and as a control group 100 healthy DNA sample for the Xmn I polymorphism have been studied. In the determination of the haplotype structures of beta globin gene cluster belonging to these individuals, the PCR-RFLP method has been used. Hinc II 5' to ϵ , Xmn I 5' to G γ , Hind III in the G γ and A γ , Hinc II in pseudo β , Hinc II 3' to pseudo β , Ava II in β , Hinf I 3' to β taking place in the beta globin gene cluster in total eight polymorphic site has been investigated. The results of the polymorphic loci have been evaluated statistically with "*Arlequin 3.1 Software*".

According to our results, our region presents Mediterranean character as far as beta globin gene cluster haplotypes are concerned. We determined that IVS I- 110 (G>A) mutation linked with haplotype VII (+ - - - - +), IVS I- 5 (G>C) mutation with haplotype IV (- + - + + - +), codon 8/9 (+G) linked with haplotype I (+ - - - - + +) for the first time in the Turkish population. On the other hand; linkage of haplotype VIIa (+ - - - - -) with the IVS I- 1 (G>A) mutation was observed for the first time in the published literature. We also observed that, if Xmn I polymorphism is the major *cis*-acting element in the hydroxyurea therapy, our region is not suitable locus for such an approach due to the low existence of the effective Xmn I polymorphism both in beta thalassemia mutations and normal population.

Keywords: Beta thalassemia, haplotype, Xmn I, polymorphism, Denizli

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
Teşekkür	i
Bilimsel Etik Sayfası	ii
Özet	iii
Abstract	iv
İçindekiler Dizini	v
Şekiller Dizini	vii
Tablolar Dizini	viii
Simgeler ve Kısaltmalar Dizini	x
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMASI	3
2.1. Hemoglobin Yapı ve İşlevi	3
2.2. İnsan Globin Gen Aileleri	4
2.3. Beta Globin Gen Ailesi	6
2.4. Beta Talasemi	7
2.5. Haplotip Yapı ve Haplotip Çeşitliliği	10
2.6. Beta Globin Gen Ailesi Haplotip Yapısı	12
2.7. PCR-RFLP Haplotip Analizi	13
2.8. Haplotip Analiz Sonuçlarının İstatistiksel Değerlendirilmesi	17
2.9. Xmn I Polimorfizmi-Beta Talasemi İlişkisi	19
2.10. Beta Talasemi Tedavisine Yönelik Yaklaşımlar	22
3. MATERYAL VE METOT	25
3.1. Haplotip Analizi	26
3.1.1. 5' ε Beta Globin Gen Bölgesinin PCR Yöntemi ile Çoğaltımı	26
3.1.2. 5' ε Beta Globin Gen Bölgesinin Hinc II Restriksiyon Enzim Kesimi	27
3.1.3. 5' Gγ Beta Globin Gen Bölgesinin PCR Yöntemi ile Çoğaltımı	28
3.1.4. 5' Gγ Beta Globin Gen Bölgesinin Xmn I Restriksiyon Enzim Kesimi	28
3.1.5. Gγ Beta Globin Gen Bölgesinin PCR Yöntemi ile Çoğaltımı	29
3.1.6. Gγ Beta Globin Gen Bölgesinin Hind III Restriksiyon Enzim Kesimi	30
3.1.7. Aγ Beta Globin Gen Bölgesinin PCR Yöntemi ile Çoğaltımı	30
3.1.8. Aγ Beta Globin Gen Bölgesinin Hind III Restriksiyon Enzim Kesimi	31
3.1.9. 5' ψβ Beta Globin Gen Bölgesinin PCR Yöntemi ile Çoğaltımı	32
3.1.10. 5' ψβ Beta Globin Gen Bölgesinin Hinc II Restriksiyon Enzim Kesimi	32
3.1.11. 3' ψβ Beta Globin Gen Bölgesinin PCR Yöntemi ile Çoğaltımı	33
3.1.12. 3' ψβ Beta Globin Gen Bölgesinin Hinc II Restriksiyon Enzim Kesimi	34
3.1.13. 5' β Beta Globin Gen Bölgesinin PCR Yöntemi ile Çoğaltımı	34

İÇİNDEKİLER (DEVAMI)

3.1.14. 5'β Beta Globin Gen Bölgesinin Ava II Restriksiyon Enzim Kesimi.....	35
3.1.15. 3'β Beta Globin Gen Bölgesinin PCR Yöntemi ile Çoğaltımı.....	36
3.1.16. 3'β Beta Globin Gen Bölgesinin Hinf I Restriksiyon Enzim Kesimi.....	36
3.2. Arlequin 3.1 İstatistiksel Analiz Programı	37
4. BULGULAR	38
4.1. Restriksiyon Enzim Kesim Bulguları.....	38
4.2. Beta Talasemi Majörlü Olgulara Ait RFLP Sonuçları.....	43
4.2.1. β ⁺ IVS I-110 (G>A) Talasemi-Haplotip Analiz Sonuçları.....	44
4.2.2. Diğer Homozigot Olgulara Ait Haplotip Analiz Sonuçları.....	44
4.3. Beta Talasemi Minörlü Olgulara Ait RFLP Sonuçları.....	46
4.4. Xmn I Polimorfizm Sonuçları.....	58
5. TARTIŞMA.....	63
5.1. β ⁺ IVS I-110 (G>A) Talasemi-Haplotip İlişkisi.....	63
5.2. β ⁰ IVS I-1 (G>A) Talasemi-Haplotip İlişkisi.....	66
5.3. β ⁺ IVS I-6 (T>C) Talasemi-Haplotip İlişkisi.....	69
5.4. β ⁰ IVS II-1 (G>A) Talasemi-Haplotip İlişkisi.....	72
5.5. β ⁺ IVS I-5 (G>C) Talasemi-Haplotip İlişkisi.....	74
5.6. β ⁰ FSC 8/9 (+G) Talasemi-Haplotip İlişkisi.....	78
5.7. β ⁰ FSC 8 (-AA) Talasemi-Haplotip İlişkisi.....	80
5.8. β ⁰ Kodon 6 (-A) Talasemi-Haplotip İlişkisi.....	82
5.9. β ⁰ Kodon 39 (C>T) Talasemi-Haplotip İlişkisi.....	84
5.10. β ⁰ Kodon 44 (-C) Talasemi-Haplotip İlişkisi.....	87
5.11. β ⁺ IVS II-745 (C>G) Talasemi-Haplotip İlişkisi.....	89
5.12. β ⁰ IVS I-130 (G>C) Talasemi-Haplotip İlişkisi.....	90
5.13. β ⁰ IVS I-116 (T>G) Talasemi-Haplotip İlişkisi.....	91
5.14. β ⁺ - 87 (C>G) Talasemi-Haplotip İlişkisi.....	92
5.15. Xmn I Polimorfizmi.....	97
6. SONUÇ.....	103
7. KAYNAKLAR.....	107
8. ÖZGEÇMİŞ.....	135

ŞEKİLLER DİZİNİ

	SAYFA
Şekil 2.1 Alfa ve beta globin gen aile yapıları ve globin genlerinin zamansal gelişim süreci.....	6
Şekil 2.2 İnsan beta globin gen ailesi yapısı	7
Şekil 2.3 Beta globin gen ailesi haplotip analizinde kullanılan yedi polimorfik restriksiyon bölgesinin konumu, 5' ve 3' alt bölgeleri, sıcak nokta.....	13
Şekil 3.1 Haplotip analizi için kullanılan restriksiyon enzim kesim odakları...	26
Şekil 4.1 Restriksiyon enzim kesim odaklarının beta globin gen ailesi üzerindeki konumları	39
Şekil 4.2 5'- ε bölgesi, Hinc II restriksiyon enzimi kesim sonuçları.....	39
Şekil 4.3 5'- Gγ bölgesi, Xmn I restriksiyon enzim kesim sonuçları.....	40
Şekil 4.4 Gγ bölgesi, Hind III restriksiyon enzimi kesim sonuçları.....	40
Şekil 4.5 Aγ bölgesi, Hind III restriksiyon enzimi kesim sonuçları.....	41
Şekil 4.6 5'- ψβ bölgesi, Hinc II restriksiyon enzimi kesim sonuçları.....	41
Şekil 4.7 3'- ψβ bölgesi, Hinc II restriksiyon enzimi kesim sonuçları.....	42
Şekil 4.8 5'- β bölgesi, Ava II restriksiyon enzimi kesim sonuçları.....	42
Şekil 4.9 3'- β bölgesi, Hinf I restriksiyon enzimi kesim sonuçları.....	43

TABLOLAR DİZİNİ

	SAYFA
Tablo 2.1 Beta globin gen ailesi için tanımlanmış RFLP haplotipler.....	15
Tablo 3.1 5'ε gen bölgesi için hazırlanan PCR karışımı, çoğaltım koşulları...	27
Tablo 3.2 5'ε- Hinc II enzim kesimine ilişkin bilgiler.....	27
Tablo 3.3 5'Gγ gen bölgesi için hazırlanan PCR karışımı, çoğaltım koşulları.	28
Tablo 3.4 5' Gγ - Xmn I enzim kesimine ilişkin bilgiler.....	29
Tablo 3.5 Gγ gen bölgesi için PCR karışımı, çoğaltım koşulları.....	29
Tablo 3.6 Gγ-Hind III enzim kesimine ilişkin bilgiler.....	30
Tablo 3.7 Aγ gen bölgesi için PCR karışımı, çoğaltım koşulları.....	31
Tablo 3.8 Aγ-Hind III enzim kesimine ilişkin bilgiler.....	31
Tablo 3.9 5' ψβ gen bölgesi için PCR karışımı, çoğaltım koşulları.....	32
Tablo 3.10 5' ψβ - Hinc II enzim kesimine ilişkin bilgiler.....	33
Tablo 3.11 3' ψβ gen bölgesi için PCR karışımı, çoğaltım koşulları.....	33
Tablo 3.12 3' ψβ- Hinc II enzim kesimine ilişkin bilgiler.....	34
Tablo 3.13 5' β gen bölgesi için PCR karışımı, çoğaltım koşulları.....	35
Tablo 3.14 5' β- Ava II enzim kesimine ilişkin bilgiler.....	35
Tablo 3.15 3' β gen bölgesi için PCR karışımı, çoğaltım koşulları.....	36
Tablo 3.16 3' β - Hinf I enzim kesimine ilişkin bilgiler.....	37
Tablo 3.17 Kullanılan Arlequin 3.1 yazılım parametreleri.....	37
Tablo 4.1 β ⁺ IVS I- 110 (G>A) homozigot olgulara ait enzim kesim sonuçları	44
Tablo 4.2 Diğer homozigot olgulara ait enzim kesim sonuçları.....	44
Tablo 4.3 Homozigot olgulardaki 5'-β globin gen ailesi haplotipleri.....	45
Tablo 4.4 β ⁺ IVS I-6 / β ⁰ IVS I-130 (G>C) çift heterozigot olguya ait aile çalışması.....	45
Tablo 4.5 β ⁺ IVS I- 110 (G>A) heterozigot olgulara ait enzim kesim sonuçları.....	47
Tablo 4.6 β ⁺ IVS I- 110 (G>A) heterozigot olgulara ait haplotip analizi sonuçları.....	48
Tablo 4.7 β ⁰ IVS I- 1 (G>A) heterozigot olgulara ait enzim kesim sonuçları...	49
Tablo 4.8 β ⁰ IVS I- 1 (G>A) heterozigot olgulara ait haplotip analizi sonuçları.....	49
Tablo 4.9 β ⁺ IVS I- 6 (T >C) heterozigot olgulara ait enzim kesim sonuçları.	50
Tablo 4.10 β ⁺ IVS I- 6 (T >C) heterozigot olgulara ait haplotip analizi sonuçları.....	50
Tablo 4.11 β ⁰ IVS II- 1 (G>A) heterozigot olgulara ait enzim kesim sonuçları	51
Tablo 4.12 β ⁰ IVS II- 1 (G>A) heterozigot olgulara ait haplotip analizi sonuçları.....	51
Tablo 4.13 β ⁰ FSC 8 (-AA) heterozigot olgulara ait enzim kesim sonuçları...	51

TABLOLAR DİZİNİ (DEVAMI)

Tablo 4.14 β^0 FSC 8 (-AA) heterozigot olgulara ait haplotip analizi sonuçları	52
Tablo 4.15 β^0 Kodon 39 (C>T) heterozigot olgulara ait enzim kesim sonuçları.....	52
Tablo 4.16 β^0 Kodon 39 (C>T) heterozigot olgulara ait haplotip analizi sonuçları.....	53
Tablo 4.17 Diğer heterozigot olgulara ait enzim kesim sonuçları	54
Tablo 4.18 β^+ IVS I- 110 (G>A) heterozigot olgulardaki 5'- β globin gen ailesi haplotipleri.....	55
Tablo 4.19 β^0 IVS I- 1 (G>A) heterozigot olgulardaki 5'- β globin gen ailesi haplotipleri	55
Tablo 4.20 β^+ IVS I- 6 (T>C) heterozigot olgulardaki 5'- β globin gen ailesi haplotipleri.....	56
Tablo 4.21 β^0 IVS II- 1 (G>A) heterozigot olgulardaki 5'- β globin gen ailesi haplotipleri.....	56
Tablo 4.22 β^0 FSC 8 (-AA) heterozigot olgulardaki 5'- β globin gen ailesi haplotipleri	57
Tablo 4.23 β^0 Kodon 39 (C>T) heterozigot olgulardaki 5'- β globin gen ailesi haplotipleri.....	57
Tablo 4.24 Xmn I sonuçları (normal olgular, n=100)	59
Tablo 4.25 Xmn I sonuçları (homozigot beta talasemi hasta, n=27)	60
Tablo 4.26 Xmn I sonuçları (IVS I- 110 beta talasemi heterozigot, n=89)	60
Tablo 4.27 Xmn I sonuçları (Diğer beta talasemi heterozigot, n=121)	61
Tablo 4.28 Normal ve mutasyon taşıyan kromozomlardaki Xmn I polimorfizm sıklıkları.....	62
Tablo 5.1 Farklı toplumlarda gözlenen haplotip ve mutasyon ilişkilerinin elde edilen veriler ile karşılaştırılması.....	94
Tablo 5.2 Elde edilen verilere göre tanımlanamayan haplotiplerin karşılaştırmalı ilişkisi	95
Tablo 5.3 Denizli ili beta talasemi mutasyonları, çalışılan toplam kromozom sayısı, mutasyon-Xmn I polimorfizm ilişkileri.....	102
Tablo 6.1 Beta talasemi mutasyonları ve beta globin gen ailesi haplotip ilişkileri.....	104
Tablo 6.2 Beta globin mutasyonları taşıyan ve sağlıklı bireylerde ilişkili olarak saptanan 5'-haplotip dağılımı.....	105

SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ

α	Alfa
β	Beta
δ	Delta
ϵ	Epsilon
γ	Gama
G γ	G gama
A γ	A gama
ϕ	Teta
ψ	<i>Pseudo</i> , sözde
ξ	Zeta
β^0	<i>Beta zero</i> , Beta sıfır
β^+	<i>Beta plus</i> , Beta artı
A	<i>Adenine</i> , Adenin
bp	<i>Base pair</i> , Baz çifti
C	<i>Cytosine</i> , Sitozin
CVS	<i>Chronic Villus Samples</i> , Koryonik Villus Örneği
DNA	Deoksiribonükleik asit
dNTP	Deoksiribonükleotid trifosfat
Ekzon	<i>Exon</i> , Kodlanan DNA bölgeleri
EM	<i>Expectation Maximization</i> , Beklenen maksimum
FSC	<i>Frame Shift Codon</i>
G	<i>Guanine</i> , Guanin
Hb	<i>Haemoglobin</i> , Hemoglobin
Hb A	<i>Major Adult Hemoglobin</i> , Erişkin hemoglobin
Hb A ₂	<i>Minor Adult Hemoglobin</i> , Minör hemoglobin
Hb F	<i>Fetal Hemoglobin</i> , Fötal hemoglobin
HPFH	<i>Hereditary Persistence Fetal Hemoglobin</i> , Fötal Hemoglobinin Kalıtsal Devamlılığı
HS	<i>Hypersensitive Site</i> , Hipersensitif bölge
HÜ	<i>Hydroxyurea</i> , Hidroksiüre
IVS	<i>Intervening Sequence</i> , intron dizileri
IVS-II	<i>Intervening Sequence-II</i> , intron-II
LCR	<i>Locus Control Region</i> , Beta geni kontrol bölgesi
LD	<i>Linkage Disequilibrium</i> , Bağlantı eşitsizliği
ML	<i>Maximum Likelihood</i> , Maksimum olasılık
n	Olgu Sayısı
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> , Polimeraz zincir reaksiyonu
RFLP	<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i> , Restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi
RNA	Ribonükleik asit
SNP	<i>Single Nucleotide Polymorphism</i> , Tek nükleotit polimorfizmi
STR	<i>Short Tandem Repeats</i> , Kısa tekrar bölgeleri
T	<i>Thymine</i> , Timin
VNTR	<i>Variable Number Tandem Repeats</i> , Değişen çok sayıda tekrar bölgeleri

1. GİRİŞ

Bir genin farklı alellerde bulunması ve bu alellerin toplum içerisinde farklı sıklıklarda dağılımı nedeniyle, bir türe ait grup içinde morfolojik, fizyolojik ve davranış özellikleri bakımından farklı bireyler yer almaktadır. Her bir bireye özgü olan gensel çeşitlilikler, insan genomunu meydana getiren yaklaşık 3.2×10^9 bp'lik DNA dizisinde görülen farklılıklardan kaynaklanmaktadır (Kwok 2003). DNA dizisinde gözlenen bu farklılıkların, % 90.0' inini tek nükleotid polimorfizmleri (*SNP*'ler) oluşturmaktadır. *SNP*'lerin çoğu bilinen işlevsel etkilere neden olmamakla beraber, bazı *SNP*'ler gen ekspresyonunu, kromozom düzeyindeki yapılanmayı veya protein işlevlerini etkileyebilmektedir (Collins 1998, Venter 2001). Yapılan çalışmalarda gözlenen *SNP*'ler ve alleller, insan genomu boyunca rastgele dağılmamıştır. Araştırmacılar insan genomunda rastgele dağılıma sahip olmayan ve gensel hastalıklara neden olan, polimorfizm olarak ifade edilen DNA dizi değişikliklerini inceleyerek, insan sağlığında önemli bir yer tutacak olan özgün yaklaşım, yöntem ve uygulamaları geliştirmeye devam etmektedir (Gusella 1986, Botstein 2003, Kwok 2003, Crawford 2005a).

İnsan genomundaki bu gensel değişiklikleri oluşturan bölgeler; restriksiyon parça uzunluk polimorfizmleri (*RFLP*'ler), değişen çok sayıda tekrar bölgeleri (*VNTR*' lar), kısa tekrar bölgeleri (*STR*'ler) gibi insan genomundaki çeşitli tekrar bölgelerinden oluşmaktadır (Hoehe 2003). İnsan genomu boyunca belirlenen polimorfizmlerin bir kısmı gen ürünlerinde yapısal ve işlevsel bozukluklara neden olarak fenotipi etkilemekte, diğer bir kısım polimorfizmler ise, sessiz kalarak gen düzeyinde çeşitliliğe neden olup, fenotip üzerinde herhangi bir belirgin sonuç ortaya koymamaktadır. Genom boyunca gözlenen polimorfik bölgeler arasındaki ilişkiler, çeşitli gensel ve evrimsel etkenler (*crossing-over*; karşılıklı parça değişimi, *mutation*; mutasyon, *gene conversion*; karşılıklı olmayan parça değişimi) arasındaki tarihsel ilişkiler ve toplumdaki biyolojik süreçlerden (*genetic drift*; genetik sürüklenme, *gene flow*; gen akışı ve *natural selection*; doğal seçim v.b.) etkilenmektedir. Nüfus hareketleri ve toplumsal biyolojik süreçleri etkileyen faktörler incelendiğinde, bu verilerden elde edilen bilgiler ışığında, çalışılan genom bölgesine özgü istatistiksel ve molekül sonuçlar elde edilmektedir (Maxwell 2006). Bu doğrultuda, araştırmacılar en yoğun olarak insan β globin gen ailesini çalışmışlar ve bu bölge boyunca çok sayıda *SNP* ve

RFLP kısımları tanımlamışlardır (Gusella 1986). Farklı toplumlarda gözlenen beta talasemi mutasyonlarına sahip olgularda, istatistiksel testlerle değerlendirilen çeşitli molekülse yöntemler (RFLP, SNP, DNA dizi analizi v.b) kullanılarak, beta globin gen mutasyonlarının ilişkili olduğu haplotip (*haplotype*) odakları ve bu mutasyonların yayılımı ile ilgili farklı hipotezlere dayalı görüşler ortaya konulmuştur. Bu çalışmalardan elde edilen verilere göre, beta globin gen ailesi içinde ayrılan 5' bölgesinin SNP'ler açısından daha kararlı bir yapıda olduğu gösterilmiştir. Diğer taraftan 3' bölgesinin ise, daha fazla rekombinasyona açık olduğu ortaya konulmuştur (Smith 1998). Beta globin gen ailesi içerisinde yer alan 5' ve 3' haplotipleri arasında ise, yaklaşık 9.1 kb uzunluğundaki bölge rekombinasyon açısından sıcak bölge (*recombination hot-spot region*) olarak tanımlanmıştır. Bu bölgenin, beta globin geni içerisinde yeniden düzenlenerek, yapılanmanın en yoğun olarak gözleendiği ve genom boyunca rastgele olmayan ilişkilere (*non-random associations*) sahip olduğu belirlenmiştir (Chakravarti 1984). Sıcak bölgede gözlenen yüksek derecedeki yeniden yapılanma, 5' ve 3' haplotipleri arasındaki ilişkiyi bozmaktadır (Antonarakis 1982, Chakravarti 1984, Treco 1985).

Akdeniz kuşağı üzerinde yer alan ülkemizde hemoglobino patiler, belirgin bir kalıtsal sağlık sorunu oluşturma potansiyeli taşımaktadır. Denizli yöresi, ülkemizde "Hemoglobinopati Kontrol Programı" uygulanan illerden bir tanesidir. Hemoglobinopati Kontrol Programı çerçevesinde, "İl Sağlık Müdürlüğü Hemoglobinopati Merkezi" bünyesinde yapılan evlilik öncesi (*premarital*) tanımlama çalışmalarında saptanan olgular, "Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi (PAÜTF) Biyofizik Anabilim Dalı'na" yönlendirilmekte ve molekülse düzeydeki sorun belirlenmektedir. Prenatal tanı gerektiren gebeliklerde ise, "PAÜTF Biyofizik Anabilim Dalı" laboratuvarlarında, "PAÜTF İç Hastalıkları" ile "Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Daları" işbirliğinde CVS ve/veya amniyosenteze dayalı prenatal tanı yapılmaktadır.

Çalışmanın iki temel amacı bulunmaktadır. Bu amaçlardan birincisi, Denizli yöresindeki beta talasemi mutasyonlarının ilişkili olduğu beta globin gen ailesi haplotiplerinin belirlenmesidir. Bu çerçevede tez çalışmasında, beta talasemi mutasyonları ile ilişkili β -globin haplotiplerinin belirlenmesi için, PCR - RFLP yöntemi kullanılmıştır. Beta talasemi majörlü olgulara ait RFLP sonuçları, direkt olarak

değerlendirilerek, beta talasemi mutasyon türleri ile ilişkili özgün haplotiplerin tanımlanması gerçekleştirilmiştir. Beta talasemi minörlü olgulara ait RFLP sonuçlarının değerlendirilmesinde ve özgün mutasyonla ilişkili en yaygın haplotip türlerinin belirlenmesinde, bilgisayar programına dayalı “*Arlequin 3.1*” istatistiksel yazılımdan yararlanılmıştır. Çalışmanın ikinci amacı ise, yöremizdeki beta talasemi mutasyonları ile γ -promotor bölgesinde yer alan Xmn I polimorfizmi arasındaki olası ilişkinin ortaya konulmasıdır. Yapılan bu araştırmanın, Xmn I polimorfizmin varlığı ve beta talasemi hastalığı arasındaki ilişkiyi ifade eden tartışmalara ışık tutması hedeflenmiştir.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMALARI

2.1. Hemoglobin Yapı ve İşlevi

Hemoglobin (Hb), oksijen bağlayıcı bir grup olan hem molekülüne kovalent olarak bağlı olan, iki α -benzeri ve iki β -benzeri globin zincirlerinden oluşan tetramerik yapıya sahip, hücre ve dokulara oksijen taşımada işlev gören bir proteindir. Hemoglobin molekülünün tetramerik ve allosterik özellik taşıyan yapısı, fizyolojik işlevinin gerçekleşmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Hemoglobin molekülünün % 96.0’sını oluşturan globinlerin üç boyutlu yapılarında, Van der Waals bağları bulunup, yapıdaki polar amino asit grupları dış yüzeyde, non-polar yan gruplar ise iç yüzeyde yer almaktadır. Bu molekül sel düzenlenme, hemoglobin molekülünün oksijen ile allosterik etkileşimini sağlamaktadır. Hemoglobin molekülünün üç boyutlu yapısı, uzun süren çalışmalar sonucu, 1960 yıllarının başlarında Perutz ve arkadaşları tarafından X ışını kristalografisi yöntemi ile açıklanmıştır (Antonini 1970, Marengo-Rowe 2006, Schechter 2008). Hemoglobinin, oksihemoglobin ve deoksihemoglobin durumu için birer tane olmak üzere iki farklı dördüncül (*quaterner*) yapısı bulunmaktadır. Hemoglobin molekülü bir yapıdan diğer yapıya, çoğunlukla farklı hemoglobin altbirimleri arasındaki etkileşimlerin katıldığı bazı amino asit rezidülerinin hareketleri ile geçmektedir. Dolayısıyla, globin zincirleri arasındaki bağlantılarda, α_1 - α_2 ya da β_1 - β_2 arasında olanlar sayıca az olup önemsiz iken, en önemli bağ α_1 - β_2 arasında olan bağıdır. Ayrıca farklı globin zincirleri arasındaki bağlantı uzaklığı, benzer globin zincirlerinden daha büyük olduğu için farklı globin zincirleri arasındaki bağlar daha güçlüdür (Schroeder 1963, Huehns 1970).

Hemoglobin molekülünün üç boyutlu yapısı, “oksijenizasyon” ve “deoksijenizasyon” durumu tarafından etkilenmektedir. Hemoglobin molekülü oksijen bağladığı zaman üç boyutlu yapısında gevşeme (*relaxed*) oluşmakta ve alt birimler birbirleri üzerinden hareket ederek dönme hareketleri meydana gelmektedir. Oksihemoglobin durumunda, demir atomunun pozisyonu dolayısıyla, $\alpha_1\text{-}\beta_2$ 'de 1 Å° yaklaşma, 7 Å° dönme hareketi oluşmaktadır. Oksijenizasyon durumunda, iki α -globin zincirinin hem gruplarının demir atomları arasındaki mesafe önemli derecede değişmez iken, β globin zincirleri arasındaki mesafe azalır (Schroeder 1963). Globin zincirleri arasındaki bu tür etkileşimler ve bu etkileşimler sonucu gerçekleşen konformasyonel değişim, hemoglobin molekülünün oksijene olan ilginliğinde değişime neden olmaktadır (Huehns 1970, Stamatoyannopoulos 1972, Bettati 1998, Xu 2003).

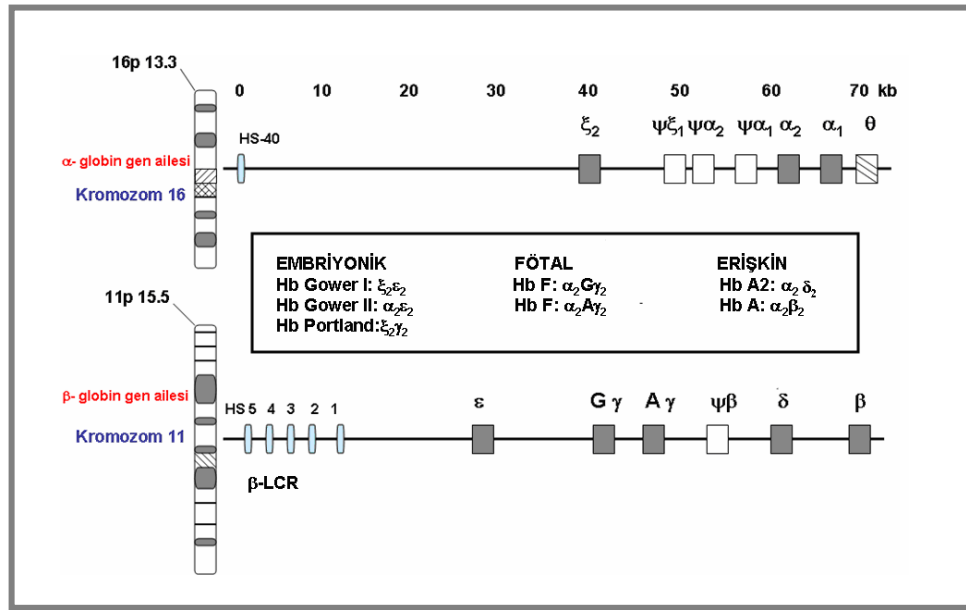
2.2. İnsan Globin Gen Aileleri

Organizmada, embriyonik, fetal ve yetişkin yaşam boyunca her bir gelişimsel adımda, değişen oksijen ihtiyacına göre α ve β - benzeri globin genlerinin eş güdümlü biçimde ekspresyonu ile sonuçlanan, yaşam evrelerine özgün farklı hemoglobin tipleri sentez edilmektedir (Patrinos 2005). Hemoglobin yapımı ile ilgili genler, yaşamın farklı evrelerinde etkinleşmekte ya da baskılanarak etkinliklerini kaybetmektedirler. Bu bağlamda, yetişkin ve fetal yaşamda α -globin zincirleri; β (Hb A, $\alpha_2\beta_2$), δ (Hb A₂, $\alpha_2\delta_2$), γ (Hb F, $\alpha_2\gamma_2$) globin zincirleri ile bütünleşik biçimde bulunmaktadır. Embriyonik yaşamda ise, α -globin benzeri zincirler olan ξ globin zincirleri ile γ (Hb Portland, $\xi_2\gamma_2$) ve ε (Hb Gower I, $\xi_2\varepsilon_2$) globin zincirleri, ayrıca α - globin zincirleri ile ε -globin zincirleri (Hb Gower II, $\alpha_2\varepsilon_2$) bir arada bulunmaktadır. Bu genler, bireylerin gelişimsel aşamalarına bağımlı olarak farklı şekilde ifade edilmektedir (Şekil 2.1) (Orkin 1995, Levings 2002).

Alfa (α) ve beta (β) globin gen aileleri, iki farklı kromozomda yer almaktadır. İnsan α -gen ailesi, yaklaşık 30 kb uzunluğunda olup, 16. kromozomun kısa kolunda (16p 13.3) bulunmakta ve 141 amino asit kodlamaktadır. İnsan α -gen ailesi dört işlevsel gen (ζ , α_2 , α_1 , θ), üç etkin olmaya gen (*pseudogene*, $\psi\zeta$, $\psi\alpha_1$, $\psi\alpha_2$) içermektedir. İnsan β -gen ailesi ise, yaklaşık 70 kb uzunluğunda 11. kromozomun kısa kolunda (11p 15.5) yer almakta, 146 amino asit kodlamaktadır. Bu gen ailesi ise, beş etkin gen (ε , $G\gamma$, $A\gamma$,

δ , β) ve bir etkin olmayan genden (*pseudogene*, $\psi\beta$) oluşmaktadır. Fötal hemoglobin, heterojen bir yapıya sahip olup iki farklı γ -globin zincirinden meydana gelmektedir. Gama (γ) globin zincirinin 136. pozisyonunda, glisin amino asit bileşimi (GGA) yer alıyorsa $G\gamma$, alanin (GCA) yer alıyorsa $A\gamma$ globin zinciri oluşmaktadır (Şekil 2.1).

Gelişimsel süreç boyunca, zamana bağlı olarak farklı hemoglobin türlerinin ifade edilmesi, “*hemoglobin swicthing*” olarak ifade edilen olayla gerçekleşmektedir. (Wood 1983, Cao 2002). Alfa (α) ve β globin gen ailesi, eritroid dokuya özgü gen ekspresyonunun başlaması için özgün promotor bölgeler ile etkileşebilen ve her bir genin gelişimsel düzenlenmesini kontrol eden düzenleyici (*regulators*) elementler içermektedir. Bu elementler, globin genlerinin transkripsiyonunun gelişimsel süreçlerine bağlı olarak düzenlenmesinde, dokuya özgün kararlı bir yapıya sahip olan, DNase-HS (*hypersensitive*) bölgelerinde yer almaktadır. Bu bölgeler α -globin gen ailesi için, bir α -HS 40 (veya α -MRE) dizisi, β globin gen ailesi için ise beta geni kontrol bölgesi (LCR; *locus control region*) içinde yer alan beş HS (HS1, HS2, HS3, HS4, HS5) diziden oluşmaktadır (Ho 2000). Bu dizilerin her biri, transkripsiyonu etkinleştirici (*activators*) veya engelleyici (*repressors*) moleküller için bağlanma bölgesi olarak yer alan kısa motifler olarak düzenlenmişlerdir. Farklı hemoglobin türlerinin zamana bağlı ekspresyonunun molekül mekanizması, her bir globin gen ailesi içinde yer alan globin genlerinin birbirinden bağımsız olarak düzenlenmesini sağlayan, globin genlerinin düzenleyici bölgelerde bulunan elementlerle farklı derecelerde etkileşimleri ile gerçekleşmektedir (Forrester 1987, Hanscombe 1991, Grosveld 1993, Orkin 1995, Ho 1999, Stamatoyannopoulos 2005) (Şekil 2.2). Yapılan çeşitli araştırmalar ile fötal ve erişkin beta benzeri globin genlerinin gelişimsel aşamalara özgün farklı ekspresyonunun, LCR bölgesinin üst kısmında yer alan dizilerde, ilgili genlerin proksimal promotorları arasındaki yarışmalı etkileşim ürünleri ile oluşabileceği düşünülmektedir (Karlsson 1985, Behringer 1990, Stamatoyannopoulos 1992, Ho 2000).

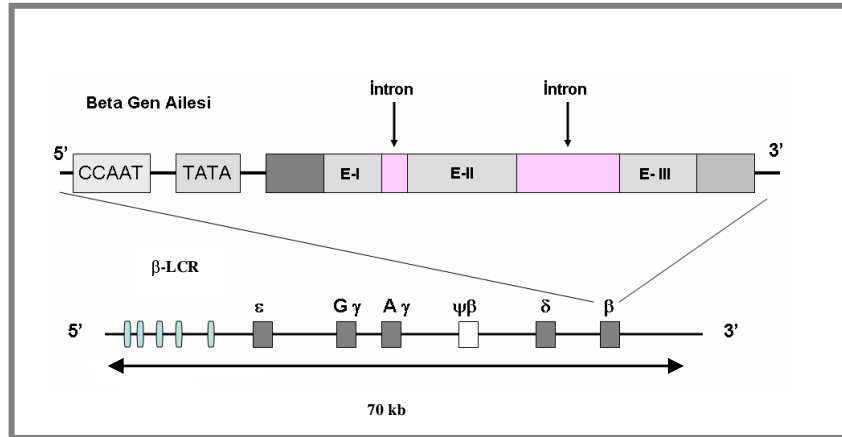


Şekil 2.1 Alfa ve beta globin gen aile yapıları ve globin genlerinin zamansal gelişim süreci

2.3. Beta Globin Gen Ailesi

İnsan β globin gen ailesi yaklaşık 70 kb uzunluğunda bulunan ve 11. kromozomda yer alan (11p 15.5), bütün insan lokusları arasında en yoğun olarak çalışılan gen grubudur. Beta globin gen ailesi, embriyonik yaşamda eksprese edilen ε globin geni, fetal yaşamda eksprese edilen $G\gamma$ ve $A\gamma$ globin genleri, erişkin yaşamda eksprese edilen δ ve β globin genleri olmak üzere beş aktif gen ve $\psi\beta$ olarak ifade edilen bir etkin olmayan genden oluşmaktadır. Beta globin gen ailesinin bir ürünü olan β -globin, erişkin hemoglobin yapısında (HbA, $\alpha_2\beta_2$) bulunur iken, diğer beta globin gen ailesi ürünleri ε ve γ - globin olarak embriyonik ve fetal hemoglobin türlerinin bir üyesi olarak gelişim boyunca eksprese edilmektedir (Maniatis 1980, Orkin 1984b, 1995).

Beta globin gen ailesi yapısı içerisinde yer alan her bir beta-benzeri gen; üç ekzon ve iki intron bölgesinden oluşmaktadır (Şekil 2.2). Beta globin gen ailesi içerisinde yer alan β -benzeri globin genlerinin gelişimini ve yetişkin yaşam boyunca dokuya özgün ekspresyonunu kontrol eden beta geni kontrol bölgesi (LCR), yaklaşık 20 kb uzunluğunda olup, ε geninin 6-18 kb önünde yer almaktadır (Stamatoyannopoulos 2005).



Şekil 2.2 İnsan beta globin gen ailesi yapısı

2.4. Beta Talasemi

Kalıtsal kan hastalıkları grubu içerisinde yer alan talasemiler, hemoglobin molekülünün üretimi süresince, alfa (α) ve beta (β) globin zincir sentezlerinde meydana gelen düzenlenme dengesizliklerine dayalı, globin zincir sentez bozukluğu olarak ifade edilmektedir (Ho 2000). İlk talasemi olgusu, majör formda 1925 yılında Dr. Thomas B. Cooley ve Dr. Pearl Lee tarafından, İtalyan orjinli çocuklarda splenomegali, belirgin kemik değişiklikleri ile ilişkili olarak gözlenmiştir (Penberthy 1935). Daha sonra ilk talasemi olgularının Yunanistan, İtalya ve Suriye gibi Akdeniz ülkelerinde bildirilmesi nedeni ile bu vakalara “Akdeniz Anemisi” tanımı verilmiştir (Chernoff 1959). Ancak ilerleyen zamanlarda bu tanım bırakılarak bu olgular, Yunanca deniz anlamına gelen “*thalassa*” ve anemi (kansızlık) anlamına gelen “*emia*” kelimesinden kaynak alan “*thalassemia*” olarak ifade edilmiştir (Weatherall 1997, 2004, Marengo-Rowe 2007). Fakat sonraki yıllarda, Cooley ve Lee tarafından tanımlanmış olan bu tür olguların Akdeniz ülkeleri ile sınırlandırılmaması gerektiği, diğer çeşitli toplumlarda da oldukça yaygın ve geniş ölçüde gözlemlenebilen genetik hastalıklardan biri olduğu bildirilmiştir (Weatherall 1998).

Talasemiler, etkilenen globin zincir(ler)ine göre ifade edilmektedir. Başlıca gözlenen formları α ve β -talasemi olmakla birlikte γ , $\delta\beta$, $\gamma\delta\beta$, δ ve $\epsilon\gamma\delta\beta$ talasemiler olarak ifade edilen farklı türleri de belirlenmiştir (Weatherall 1998, Birgens 2007).

Talasemiler içinde beta talasemi, dünyada en yaygın olarak görülen otozomal resesif geçişli kalıtsal kan hastalıklardan biridir. Beta talasemilerde β -globin zincir sentezindeki azalma, α/β türü globin sentezinde dengesizliğe neden olmakta ve böylece bu oran, β talasemi'nin ciddiyetini belirleyen önemli faktörlerden birini oluşturmaktadır (Weatherall 1998, 2004, Thein 2004). Beta globin üretimindeki yetersizlik ile sonuçlanan β talasemi'ye neden olan mutasyonlar, normalden az β globin zinciri sentezlenmesi ile oluşan " β^+ talasemi" mutasyonlarından, hiç β globin zinciri sentezlenmemesi ile oluşan " β^0 talasemi" mutasyonları arasında değişmektedir. Nadir de olsa bazı farklılıklar görülmekle birlikte, β talasemi heterozigotlar hafif hemotolojik anormalliklere sahip olup, klinik olarak herhangi bir belirti göstermemekte ve "talasemi minör" olarak tanımlanmaktadır. Beta talasemi homozigot veya çift heterozigotlar ise, transfüzyon bağımlı, klinik ve hematolojik olarak ciddi hastalık tablosuna sahip olmakta, "talasemi major (TM)" ve "talasemi intermedia (TI)" olarak ifade edilmektedirler. TI hastaları hafif ve değişken bir tablo sergilemekle birlikte, düzenli kan transfüzyonu gerektirmemekte, fakat hepatosplenomegali ve hücre iskeleti anormalliklerine sahip olabilmektedirler (Kazazian 1988, Camaschella 1995, Shah 1999, Taher 2006).

Ayrıca yapılan araştırmalar sonucunda, heterozigot β talasemili olgular sıtmaya karşı direnç sağladığı için bu mutasyonların, sıtmanın yaygın olarak görüldüğü Akdeniz ülkeleri, Orta Doğu, Afrika ve Güney Doğu Asya gibi toplumlarda, doğal seçim (*natural selection*) ile görülme olasılığının daha yüksek olması beklenmiştir. Böylece heterozigot beta talaseminin, bireyleri sıtmaya karşı gensel olarak koruduğu düşünülmektedir. Dolayısıyla bir sağlık problemi olan β talasemilere neden olan gelişim süreçlerinin sıtma evrimi ile yakından ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Fakat daha sonraları yapılan incelemeler sonucunda beta talasemi mutasyonunun, aynı zamanda sıtma salgını olmayan bölgelerde de görülmesi, bu öngörüye kuşku ile yaklaşılması sonucunu doğurmuştur (Haldane 1949, Ramsay 1987, Nagel 1989, Weatherall 1998, Tadmouri 2001a, Birgens 2007).

Beta talasemi olgularının, hem klinik hem de molekülse düzeyde yüksek oranda çeşitlilik gösterdiği bilinmektedir. Bu nedenle gerek mutasyonlar ve gerekse de beta globin gen ailesi içerisinde yer alan gen bölgeleri ve etkileşen protein faktörleri birçok çalışmanın temel amacı olmuştur. Bu bağlamda her bir mutasyonun etkisi, etki işlergesi

ve fenotip-genotip ilişkileri, bilimsel çevrelerde özel önem kazanmıştır (Bank 1978, Benz 1982, Metherall 1986, Weatherall 1997). Nokta mutasyonları formundaki beta talasemiler; RNA transkripsiyonun başlaması, RNA işlenmesi (*RNA processing*) ve RNA kararlılığını bozarak normal RNA globin zincir sentezini önler iken, çerçeve kayması (*frameshift*) ve erken zincir sonlanması (*nonsense*) gibi beta talasemi mutasyon formları ise, translasyonu bloke etmektedir (Weatherall 1976, Spritz 1983, Nienhuis 1984, Lanclos 1986). Günümüzde, beta globin genlerinde beta talasemiye neden olan dünyada yaklaşık 300 ve üzeri farklı mutasyon saptanmıştır (Huisman 1998, Olivieri 1999, Weatherall 2001a). Bu mutasyonların yaklaşık 50 tanesi, Akdeniz ülkelerinde belirlenmiştir (Falchi 2005). Akdeniz ülkelerinde, doğu ve batı kısımlarda, β talasemi mutasyonları farklı sıklıklara sahiptir. Akdeniz ülkelerinde batıya doğru gidildikçe talasemi sıklığı düşmektedir. Bu mutasyonların tanımlandığı toplumlardaki kesin mutasyon dağılımlarının belirlenmesi, genetik danışma, premarital tarama ve prenatal tanılar için gerekli stratejilerin yorumlanmasında önem kazanmıştır (Clark 2004a). Farklı toplumlarda, beta talasemiye neden olan beta globin genleri arasındaki gensel ilişkilerin ortaya konulabilmesi, birçok çalışmanın ana konusu olmuştur. Bu çalışmalar arasında, mt-DNA (*maternal*, anneye ait), Y-kromozom (*paternal*, babaya ait) incelemeleri ve beta globin gen ailesi haplotiplerin tanımlanması gibi gensel yaklaşımlar önem taşımaktadır (Rosatelli 1988, Atalay 1993, Tadmouri 2001a, Altay 2002, Wilson 2003, Fattoum 2004, Nagel 2004, Yıldız 2005, Makhoul 2005, Hussein 2007, Öztürk 2007a, 2007b).

Türkiye’de beta talasemi ile ilgili ilk çalışmalar Prof Dr. M. Aksoy tarafından 1941 yılında başlamış, 1950’li yılların sonunda ise bu rahatsızlık, tıp araştırmacılarının dikkatini çeken önemli bir konu olarak görülmüştür (Aksoy 1970). Türkiye’de 40’den fazla sayıda beta talasemi mutasyonları belirlenmiş olup, çeşitli moleküler yöntemlerle bu mutasyonların, hem gösterdikleri klinik tablolar hem de mutasyon türleri olarak oldukça heterojen bir yapıya sahip oldukları belirlenmiştir (Atalay 1993, Tadmouri 1999, Altay 2002). Diğer Akdeniz ülkelerinden farklı olarak, Türkiye’nin Asya ve Avrupa arasında köprü görevi gören coğrafik yerleşimi nedeni ile tarih boyunca birçok nüfus hareketleri ile karşı karşıya kalmasının gen havuzundaki çeşitliliği oluşturduğu düşünülmektedir (Bilenoğlu 2002). Farklı araştırmacılar tarafından Türkiye’nin farklı bölgelerindeki β talasemi mutasyon sıklıkları karşılaştırılmış, bölgesel farklılıklar gözlenmekle birlikte, genel olarak Türkiye’de tüm beta talasemi sıklığı % 2.0 olarak

tanımlanmıştır (Altay 2002). Türkiye’de β talasemi mutasyonlarının coğrafik dağılımı incelendiğinde, Doğu Anadolu’dan Batı Anadolu’ya doğru gidildikçe mutasyon sayısındaki değişimde azalma görülmüştür (Diaz-Chico 1988, Başak 1992, Atalay 1993, Tadmouri 1998, 1999, Altay 2002). Denizli yöresinde ise β talasemi sıklığı, farklı araştırmacılar tarafından % 2.6 - 3.7 arasında belirlenmiştir (Keskin 2000, Yıldız 2005).

2.5. Haplotip Yapı ve Haplotip Çeşitliliği

Haplotipler, fiziksel olarak birbirine yakın gensel belirleyiciler (SNPs; *single nucleotide polymorphisms*, RFLP; *restriction fragment length polymorphisms*, *insertion/deletion polymorphisms* vb) arasındaki güçlü ilişkiyi belirten, sınırlandırılmış DNA dizi değişiklikleri olup, herhangi bir bireye ait belirli bir kromozom üzerindeki özgün allel bileşimleri olarak tanımlanmaktadır (Hoehe 2003, Crawford 2005b, Xu 2006). İnsan genomundaki tüm haplotip yapıların genel özellikleri tam olarak bilinmemektedir. (Rioux 2001, Hugot 2001, Ogura 2001).

Her bir mutant allel ve bu allel ile ilişkili haplotip arasındaki bağlantı, yalnızca sonraki nesillerde oluşan mutasyon veya rekombinasyon yolu ile bozulmaktadır. Bu ilişkilerin ortaya konulabilmesi, mutasyon-haplotip ilişkilerinin ayrıntılı incelenmesi ile olanaklıdır. Haplotiplerin belirlenmesinde geliştirilen ve kullanılan gensel yöntemler, Mendeliyen olarak kalıtılan hastalıklardan sorumlu genlerin belirlenmesinde de yarar sağlamıştır (Kanavakis 1995, Amiel 1996, La-Chapelle 1998).

İnsan genomunda beta globin haplotiplerinin evrimi incelendiğinde, ilk olarak 1990 yılında Long ve arkadaşları tarafından ifade edilen temel atasal haplotip 1 (- - - -)’in tek başına yaygın olarak görülmemesine rağmen, bu haplotip yapının toplumlarda yüksek sıklıkta gözlenen 2 (+ - - - -), 6 (- + + - +) ve 5 (- + - + +) haplotipleri ile ilişki içerisinde bulunduğu ifade edilmiştir. Daha sonra 1 (- - - - -) ve 2 (+ - - - -) olarak tanımlanan her iki haplotip türünün de, temel atasal haplotipler olabileceği görüşü ileri sürülmüştür (Chen 1990, Long 1990). Haplotip evrimi, ilk temel atasal haplotipin, daha sonraki nesillerde meydana gelen mutasyon (*mutation*) veya gen dönüşümü (*gene conversion*) yolu ile oluşabileceği, gelecek nesillerde gözlenen haplotip yapıların ise, var olan haplotip türleri üzerinde oluşan

rekombinasyon olayları ile ortaya çıkmış olabileceği yönünde düşünülmüştür (Long 1990, Papadakis 1999).

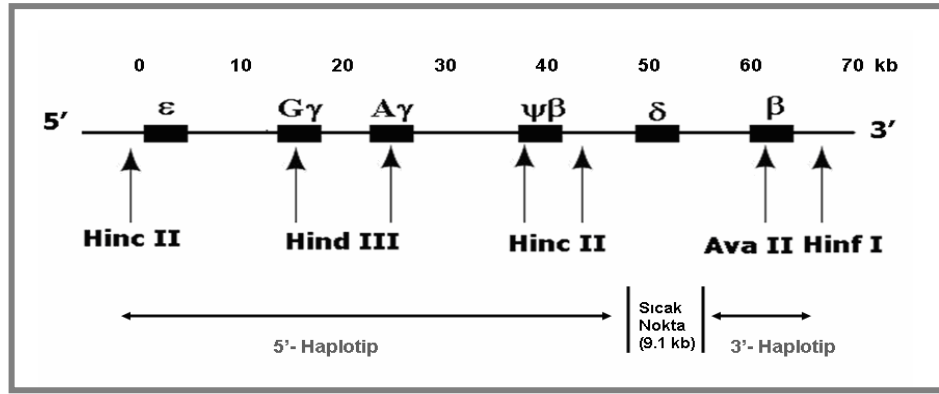
Çeşitli toplumlarda yapılan haplotip çalışmalarının farklılıklar ortaya koyması nedeni ile araştırmacılar ilk olarak farklı toplumlardaki haplotip sıklıklarının değişen dağılım göstermesinin nedeninin, göçler olduğunu ileri sürmüşlerdir (Richards 1996). Bu görüşe göre, her bir mutasyon tek bir odakta gelişmekte ve bu mutasyon göçler yolu ile yayılmaktadır. Daha sonra diğer bir kısım araştırmacı ise, bu hipotezi kabul etmekle birlikte, bazı beta talasemi mutasyonlarının (β^+ IVS I- 110 (G>A), β^0 Kodon 39 (C>T), β^+ IVS I- 6 (T>C) ve β^- 30 (T>A) v.b) ilişkili olduğu farklı haplotip yapıların varlığını, mutasyonlardan bağımsız biçimde gelişen rekombinasyon olayları ile açıklamaya çalışmışlardır (Antonarakis 1982, Old 1986).

İnsan globin genlerinde gözlenen haplotip çeşitliliğinin, büyük olasılıkla δ ve β globin genleri ile beta geni kontrol bölgesi (LCR) ve yapısal globin genleri arasında yer alan belirli sıcak noktalardaki rekombinasyon olayları sonucu meydana geldiği düşünülmüştür. Belirgin bir şekilde yüksek rekombinasyon oranına sahip bu bölgeler, rekombinasyon açısından sıcak noktalar (*recombination hot spots*) olarak tanımlanmaktadır. Rekombinasyon açısından sıcak noktalar, Mendel kalıtılımının temel kurallarını bozabilen bir kanıt niteliği taşımaktadır. Diğer taraftan ise bu noktalar, insanlarda genlerin karşılıklı parça değişimi (*crossing over*) veya karşılıklı olmayan parça değişimi (*gene conversion*) süreçleri hakkında da temel bilgiler vermektedir (Holloman 1976, Gerhard 1984, Jeffreys 2004, 2005, Nishant 2005). Yeniden düzenlenmiş yapılanma (*recombination*), mutasyon- haplotip ilişkilerinde heterojenliğe neden olan faktörlerden biridir. Yapılan araştırmalar, haplotip çeşitliliğinin oluşumunu etkileyen olası faktörler arasında; gensel kayma (*genetic drift*), doğal seçim (*natural selection*), nüfus hareketleri ile gelişen gen akışı (*gene flow*) nedeniyle toplumlar arası gensel karışım (*admixture*) gibi toplumsal süreçlerin etkin rol oynadığını göstermektedir. Buna ek olarak, orjinal β talasemi kromozomları ve normal sağlıklı toplumda bulunan diğer kromozomal yapılar arasında meydana gelmiş olan yeniden düzenlenmiş yapılanma (*recombination*), mutasyon ve gen dönüşümü (*gene conversion*) olaylarını içeren çeşitli gensel işlemlerin de bu heterojenliğe önemli katkılar yapabileceği gösterilmiştir (Papadakis 1999, Wang 2002, Zhang 2003).

2.6. Beta Globin Gen Ailesi Haplotip Yapısı

İnsan β globin gen ailesi boyunca uzanan DNA dizileri oldukça polimorfiktir. Yapılan araştırmalar sonucu, beta globin gen ailesi boyunca birçok RFLP ve SNP bölgeleri tanımlanmıştır. Elde edilen verilere göre, β -globin gen ailesinde, yaklaşık 60 kb uzunluğundaki bölgede, 20'nin üzerinde polimorfik restriksiyon endonükleaz bölgeleri belirlenmiştir. Bu gen ailesinde yer alan DNA polimorfizmleri, insanın evrimsel tarihini incelemede yaygın olarak kullanılmıştır (Kan 1978, Gusella 1986, Ramsay 1987, Flint 1993a, Fullerton 1994, Harding 1997).

Beta globin gen ailesi içerisinde polimorfizm gösteren bu değişken bölgeler, 34.6 kb uzunluğunda 5' ailesi (5' β - haplotip) ve 19.4 kb uzunluğunda 3' ailesi (3' β - haplotip) olarak iki alt bölgeye ayrılmıştır (Şekil 2.3). 5' ve 3' β alt bölgeler arasında güçlü bir bağlantı eşitsizliği (*LD: linkage disequilibrium*) bulunmaktadır (Antonarakis 1982). Beta globin gen ailesi içerisinde, 5' ve 3' aileleri arasında bulunan 9.1 kb uzunluğundaki bölgede, yeniden düzenlenmiş yapılanma (*recombination*) yüksek oranda gözleendiğinden, bu bölge rekombinasyon için “sıcak nokta (*hot spot*)” olarak tanımlanmıştır. Beta globin gen ailesi içerisindeki rekombinasyonun % 75.0' inin bu bölgede meydana geldiği tahmin edilmiştir. Çünkü bu uzunluktaki DNA dizisi için, beklenen rekombinasyon oranı 3-30 kattır. 5' ailesindeki rekombinasyon oranı % 0.0017- 0.0002, 3' ailesindeki rekombinasyon oranı % 0.0931- 0.0093 ve bu iki bölge arasında yer alan 9.1 kb uzunluğundaki DNA bölgesinde ise, rekombinasyon oranı % 0.2912 - 0.0219 olarak belirlenmiştir (Chakravarti 1984). Bu bölgede gözlenen yüksek derecedeki yeniden yapılanma, 5' ve 3' haplotipleri arasındaki ilişkiyi bozmaktadır (Antonarakis 1982, Chakravarti 1984, Treco 1985).



Şekil 2.3 Beta globin gen ailesi haplotip analizinde kullanılan yedi polimorfik restriksiyon bölgesinin konumu, 5' ve 3' alt bölgeleri, sıcak nokta (Chakravarti 1984)

Beta globin gen ailesi içinde yer alan polimorfik restriksiyon bölgeleri, gensel belirleyiciler olarak oldukça faydalı olmakla beraber, bu polimorfik restriksiyon bölgelerinin varlığı veya yokluğunun tanımlanması için yapılan analizler sonucu haplotip yapılar ortaya çıkmaktadır (Antonarakis 1982). Haplotip yapılar ise, önceleri çeşitli talasemi bozuklukları ve β talaseminin prenatal tanımlanmasında kullanılmak istenmiştir (Chan 1984, Orkin 1984b, Weatherall 1985, Camaschella 1988, Pirastu 1988, 1989, Kazazian 1988). Buna karşın daha sonra yapılan çalışmalarda, bu yaklaşımın sakıncalı olabileceği ve yardımcı veri olarak kullanımının daha doğru olacağı anlaşılmıştır. Ayrıca polimorfik restriksiyon bölgeleri, mutant genlerin kökeninin belirlenmesi ve bu genlere ait göçün izlenmesinde de yararlı olmuştur. Başka bir deyişle 5' ve 3' bölgelerine özgü RFLP haplotipleri, β talasemi mutasyonları ve anormal hemoglobinin bozukluklarının tek veya çok odaklı kökene sahip olup olmadıklarını izlemede kullanılmıştır (Antonarakis 1982, 1984, Orkin 1984b).

2.7. PCR-RFLP Haplotip Analizi

İnsan genomunun nükleotid dizisindeki her 200 bp'de bir meydana gelen değişiklikler, genom boyunca oldukça yaygın olarak görülmektedir. DNA nükleotid dizilerindeki bu tek baz çifti farklılıkları, Mendeliyen olarak kalıtılır ve genellikle kodlanmayan DNA bölgeleri (intron, IVS: *intervening sequences*) arasında meydana geldikleri için fenotip etkilere sahip değildirler. Haplotipleri belirlemek için, insan genomundaki bu gensel değişiklikleri oluşturan bölgeler, restriksiyon parça uzunluk

polimorfizmleri (*RFLPs*), değişen çok sayıda tekrar bölgeleri (*VNTRs*) ve kısa tekrar bölgeleri (*STRs*) gibi çeşitli tekrar bölgelerinden meydana gelmektedir (Hoehe 2003).

Bazı mutasyonlar veya polimorfizmler, gen bölgesi içinde ya restriksiyon enzim tanıma bölgeleri yaratır ya da bu tanıma bölgelerini ortadan kaldırabilirler. Bu durumda oluşan nükleotid değişikliği, restriksiyon enzimi ile uyumlu hedef DNA bölgesinin çoğaltılması ile oluşan PCR ürünlerinin özgün restriksiyon enzim kesim sonuçları ile belirlenebilir. Eğer DNA dizisindeki farklılıklar, restriksiyon enzim tanıma dizileri içinde meydana gelirse, restriksiyon enzimleri tarafından, farklı uzunluklarda DNA dizileri elde edilmektedir. Bu DNA dizileri, jel elektroforezi üzerinde restriksiyon parçalarının (fragmentlerin) değişen hareketliliğine göre tanımlanabilir ve bu işleme; “restriksiyon parça uzunluk polimorfizmi (*RFLP*; *restriction fragment length polymorphism*)” denir (Francomano 1986, Mueller 1998, Clark 2004a, Gupta 2008).

İlk *RFLP* yöntemi, 1978 yılında Kan ve Dozy tarafından daha çok Afrika soyunda gözlenmiş olan Hb S (orak hücre anemisi) allelini belirlemede kullanılmıştır (Kan & Dozy 1978). Orak hücre anemisi ve belirli talasemi olgularında, hasta allelin üretiminden sorumlu dizi değişiklikleri restriksiyon enzim kesim bölgelerini de etkilemiştir ve bu durum *RFLP*’lerin oluşumlarına neden olmuştur (Orkin 1984a, 1984b). Daha sonra beta globin gen ailesi *RFLP* analizlerinden elde edilen veriler ile β talasemi mutasyonları ve özgün haplotipler arasındaki bağlantı saptanmıştır (Summers 1987, Hall 1993). *RFLP* haplotip analizleri, gözlenen gensel çeşitliliğin, hem yeni mutasyonel olayların etkisi ile hem de nüfus hareketlerinden kaynaklanan gensel akış nedeniyle oluştuğunu göstermiştir (Makhoul 2005, Pace 2006).

Beta talasemi mutasyonlarının moleküsel temelini anlamak için Orkin ve arkadaşları 1982 yılında, Şekil 2.3’ de görüldüğü üzere β globin gen ailesi içinde yer alan yedi polimorfik restriksiyon bölgelerini kullanarak, bu bölgelere özgü restriksiyon enzimleri yardımı ile β globin gen ailesi *RFLP* haplotiplerini belirlemeye çalışmışlardır (Orkin 1984b). Beta globin gen ailesi haplotipleri, polimorfik restriksiyon bölgelerinin varlığı (+) veya yokluğu (-) olarak tanımlanan, işaretlerin birleşimi ile ifade edilmiştir (Ramsay 1987, Shimizu 2004). Bir kromozomda bir polimorfizm tanımlanmış ise, n polimorfik bölgelerin varlığı veya yokluğu durumunda, $(2)^n$ sayıda haplotip türünün olması beklenmektedir. Fakat henüz pratikte, insan genomu boyunca tanımlanabilen

haplotip sayısı daha azdır. (Das 2001). İlk çalışmalarda Orkin ve arkadaşları, yedi RFLP bölgesi kullanarak, insan beta globin gen ailesi için Akdeniz ülkelerinde belirlenmiş olan Tablo 2.1’ de gösterildiği üzere, I’den IX’a kadar numaralandırılan, en az dokuz RFLP haplotip tanımlamışlardır (Orkin 1984b). Fakat ilerleyen araştırmalarda, RFLP bölgeleri artırılarak, bu DNA bölgeleri farklı primer dizi setleri kullanılarak çoğaltılmış ve daha sonra bu bölgeler uygun restriksiyon enzimleri ile kesilerek analiz edilmiş ve haplotip X’da dâhil olmak üzere yeni bir haplotip türleri belirlenmiştir (Atweh 1986, Semenza 1989, Qatanani 2000).

Tablo 2.1 Beta globin gen ailesi için tanımlanmış RFLP haplotipler (Orkin 1984b)

Haplotipler	Beta Globin Gen Ailesi						
	5'-ε Hinc II	Gγ Hind III	Aγ Hind III	5'-ψβ Hinc II	3'-ψβ Hinc II	β-IVS II Ava II	3'- β Hinf I
I	+	-	-	-	-	+	+
II	-	+	+	-	+	+	+
III	-	+	-	+	+	+	-
IV	-	+	-	+	+	-	*
V	+	-	-	-	-	+	-
VI	-	+	+	-	-	-	+
VII	+	-	-	-	-	-	+
VIII	-	+	-	+	-	+	*
IX	-	+	-	+	+	+	+
X	-	+	-	-	-	-	*

RFLP yaklaşımı kullanılarak, “haplotip (*haplotype*)” olarak isimlendirilen restriksiyon bölge polimorfizm modelleri ile β talasemi mutasyonları ve β globin gen ailesi haplotiplerine karşılık gelen polimorfik bölgeler arasında, rastgele olmayan, fakat kesin sınırları da bulunmayan “bağlantı eşitsizliği (*LD; Linkage disequilibrium*)” gösterilmiştir (Antonarakis 1982, Orkin 1984b, Kazazian 1986, Atweh 1986). Bu ilişki, β talasemi mutasyon kökenlerinin belirlenmesinde ve aynı zamanda fenotip-genotip ilişkilerinin irdelenmesinde, özgün β talasemi mutasyonlarının tanımlamalarında yarar sağlamıştır (Thein 1988, Tadmouri 2001b, Bibi 2006).

Mutasyon- haplotip ilişkisinde, özgün mutasyonla daha az ilişkili haplotip(ler)in, yüksek sıklıklarda gözlenen haplotiplerde meydana gelen mayotik rekombinasyonların sonucu olduğu ifade edilmektedir. Örneğin, İtalya’da β⁰ Kodon 39 (C>T) mutasyonunu taşıyan alellerde, haplotip II sıklığının haplotip VII’den daha yüksek

bulunması, haplotip VII'in haplotip I üzerinde meydana gelen mayotik rekombinasyon sonucu oluştuğu biçiminde yorumlanmaktadır (Falchi 2005). Bu örneğe benzer şekilde, haplotip I'in, β globin gen ailesi içinde farklı bir polimorfik belirleyici iken, III ve V haplotip türlerinin rekombinasyon, tekrarlanan mutasyon (*recurrent mutation*) veya gen dönüşümü (*gen conversion*) gibi gensel değişimler ile bir diğerinden türeyebildiği belirtilmiştir (Orkin 1984b). Bu sonuçlar doğrultusunda, insan DNA çeşitliliğinin genellikle, mayozdaki rekombinasyon ile yeniden karıştırılabilen ve böylece yeni haplotipler oluşturabilen, cinsiyet (*germline*) kromozomları ile geçen oluşumlara neden olduğu gösterilmiştir (Jeffreys 2002, 2004). Dolayısıyla yaygın olarak gözlenen mutasyonların farklı haplotip tabanları ile ilişkili olması, rekombinasyon (*recombination*) ve gen dönüşümü (*gene conversion*) olaylarının çeşitli biçimleri ile açıklanabilmektedir.

İnsan β globin gen ailesi haplotip analizi çalışmaları ile farklı toplumlarda yoğun bir şekilde gözlenen gensel çeşitliliğin ortaya çıkarılmasının yanında, evrim boyunca toplumlar arasındaki ilişkilerde incelenmiştir (Kulozik 1986, Chen 1990, Long 1990, De-Lugo 2003). Türk toplumlarında β globin mutasyon sıklıklarının dağılımı ile birlikte, β globin gen ailesi haplotiplerinin tanımlanmasına yönelik yapılan çalışmalardan elde edilen veriler, Türkiye'de beta talasemi dağılımının belirlenmesini sağlamanın yanında, beta talasemi mutasyon kökenleri ve tarihine ışık tutmuştur (Tadmouri 2001b). Ayrıca son yıllarda, β globin geninin 5' ucunda -540 bp'de yer alan (AT)_xT_y dizi tekrarları ve birkaç nükleotid polimorfizmlerinin analizleri oldukça dikkat çekmektedir. Bu ileri analizler yoluyla da, β talasemi mutasyonlarının kökenleri ve bu mutasyon mekanizmalarının altında yatan nedenler araştırılmaya devam edilmektedir (Lapoumeroulie 1992, Tadmouri 2001b, Currat 2002, Lemsaddek 2003).

Tadmouri ve arkadaşlarının çalışmalarına göre, Anadolu'nun merkezi yüksek dağlık bölgeleri ile doğu, kuzey ve güney sınırları boyunca çevrilmiş bir plato konumunda olduğu, ayrıca Türkiye'nin kıyı bölgelerinde oluşan nüfus hareketlerinin etkisinde kaldığından, göreceli olarak daha çeşitli haplotip özellikleri göstermektedir. Ayrıca bu çalışma grubu, sıtmaya karşı seçici bir avantaj olan Anadolu'daki en eski β talasemi allelinin (örneğin β^+ IVS I- 110 (G>A) mutasyonu) M.Ö. 2000- 6500 yılları arasında meydana gelmiş olabileceğini ileri sürmüştür (Tadmouri 2001b). Yapılan

araştırmalardan elde edilen verilere göre, beta globin gen ailesi haplotiplerinden haplotip I'in, doğudan batıya doğru azalır iken, haplotip II'nin aynı yönde arttığı görülmekle birlikte, β talasemi mutasyonunu taşıyan haplotiplerin farklı toplumlarda aynı olmadığı da saptandığından, böyle bir genellemenin yapılamayacağı belirlenmiştir (Flint 1993a, Piras 2005).

Beta talasemiler, hemoglobinopatiler içerisinde yer almaktadır. Hemoglobinopati Kontrol Programları'nda önemli bir yer tutan beta talasemilerin yanı sıra, beta globin geni içerisindeki ekzon bölgelerindeki mutasyonların amino asit değişikliklerine neden olmaları durumunda, anormal hemoglobinler ortaya çıkmaktadır. Anormal hemoglobinler içerisinde en önemli sağlık sorunu oluşturan, orak hücre anemisine neden olan Hb S'dir. Diğer taraftan önleme programlarında prenatal tanıdaki risklerin önceden belirlenmesi, anormal hemoglobinlerin gen düzeyinde doğru biçimde tanımlanmasına bağlıdır. Denizli yöresinde yapılan çalışmalarda, yöremizin anormal hemoglobin yapısı açık biçimde ortaya konulmuştur (Atalay 2005, 2007a, 2007b, 2008, Köşeler 2006, 2008, 2009). Bu bağlamda, yöremizde rastlanan anormal hemoglobine özgü beta globin gen ailesi haplotipleri ayrıntılı biçimde tanımlanmıştır (Atalay 2005, 2007a, 2007b, 2008, Öztürk 2007a, 2007b, Bahadır 2009a).

Denizli yöresinde rastlanan beta talasemi majörlü olgulara ait ön çalışmalardan elde edilen sonuçlar ile ilimizdeki bir kısım beta talasemi mutasyonuna ait beta globin gen ailesi haplotipleri belirlenmiştir. Bu çalışma içerisinde ek olarak, anabilim dalımızda yapılan başka bir çalışma ile belirlenmiş olan sağlıklı normal bireylerde gözlenen beta globin gen ailesi haplotip verileri ile karşılaştırmalı biçimde tez çalışma verileri sunulmuştur. Bu çalışmanın dışında, yöremizde yer alan beta talasemili olgulardaki beta globin gen ailesi haplotiplerine ilişkin veri bulunmamaktadır (Bahadır 2009b). Tez çalışması ile Denizli'de gözlenen tüm beta talasemi mutasyon-haplotip ilişkisi ayrıntılı bir biçimde incelenmiştir.

2.8. Haplotip Analiz Sonuçlarının İstatistiksel Değerlendirilmesi

Mutasyon (*mutation*), yeniden düzenlenmiş yapılanma (*recombination*) ve karşılıklı olmayan parça değişimi (*gene conversion*) ile oluşan haplotip yapıların

evrimsel gelişimini anlamak, karmaşık ve çok odaklı hastalıkların kalıtsal temelleri ve insanın gensel yapısındaki özgünlüğü anlamada önemli bir yer tutmuştur (Wang 2002, El-Mabrouk 2004, Lajoie 2005, Morrell 2006). Bu çerçevede geliştirilen haplotip analizleri, gensel çeşitliliği ve evrim bakış açısından hareketle toplumlar arasındaki ilişkileri çalışmada geniş ölçüde kullanılmıştır (Wilson 2003). Chen ve arkadaşlarına göre, yeniden düzenlenmiş yapılanma, mutasyon ve karşılıklı olmayan parça değişim süreçleri yolu ile yerel düzeyde yeni haplotipler oluşabilmekte, toplumlar arasındaki gensel kaymalar (*genetic draft*) yolu ile bazı haplotipler ise kaybolabilmektedir (Chen 1990, Long 1990).

Haplotip analizleri, bilgisayar programlarına dayalı istatistiksel analizler ve gen düzeyindeki moleküler deneye dayalı metotların birleşimi olarak yapılmaktadır. Haplotip dayalı testler de, çalışılan gen bölgesine ait önemli istatistiksel veriler sunulmaktadır. Tanımlanan polimorfik bölgeler ikili (0 veya 1 olarak) veriler şeklinde kodlanmaktadır. Haplotip verilerini değerlendirmek ve yorumlamak için günümüze kadar bir takım algoritmalar geliştirilmiştir. Geliştirilen ilk algoritma, 1990 yılında Clark tarafından ortaya atılan ve “Clark algoritması” olarak ifade edilen istatistiksel analizdir (Clark 1990, 2004b). Daha sonra 1995 yılında Excoffier ve Slatkin, haplotip verilerin yorumlanmasında bu algoritmadaki eksiklikleri gideren ve maksimum olasılıkla haplotip sıklıklarını tahmin etmede, “beklenen maksimum (EM; *expectation-maximization*)” algoritması kullanımını önermişlerdir (Excoffier 1995, 2003). Aslında EM algoritma, ilk kez 1977 yılında Dempster ve arkadaşları tarafından ortaya konulmuş olup, bu algoritma gensel verilerin “maksimum olasılık (ML; *maximum likelihood*)” öngörülerini hesaplamaya dayanmaktadır (Dempster 1977). Daha sonra 2000 yılında Fallin ve Schork tarafından, EM algoritmanın çeşitli toplumlardaki haplotip sıklıklarının belirlenmesinde daha yaygın olarak kullanılabilir olduğu gösterilmiştir (Fallin & Schork 2000). Her iki algoritmada, 1908 yılında G.H. Hardy ve W. Weinberg tarafından önerilen “Hardy-Weinberg eşitsizliği’ne (HWE; *Hardy-Weinberg Equilibrium*)” uymaktadır. Bu eşitsizlik, diploid organizmalarda gen sıklıklarını tahmin etmek için kullanılan basit bir cebirsel yaklaşımdır (Hardy 2003).

EM algoritma ile bir olguya ait bütün örneklerin haplotip listesinin belirlenebileceği, verilerin sırasına bağlı olmaksızın en yaygın gözlenen haplotipin ortaya konularak, maksimum olasılıkla haplotip sıklıklarının tanımlanabileceği, lokuslar

arası bağlantı eşitsizliği katsayısının (LD; *linkage disequilibrium*) en iyi şekilde hesaplanabileceği gösterilmiştir (Fallin & Schork 2000, Schneider 2000). Ayrıca EM algoritma, haplotip odakları arasındaki rekombinasyon oranlarını dikkate almaksızın, çok sayıdaki örnek analizleri için oldukça uygun bir algoritma olarak tanımlanmıştır (Excoffier 1995, Long 1995).

Bu temel prensiplere dayalı olan EM algoritmayı esas alan, en son gelişmiş formdaki “*Arlequin Version 3.1*” olarak ifade edilen yazılım programı, birçok çalışmada kullanılmıştır (Excoffier 2005, Öztürk 2007b, Atalay 2007b, Bahadır 2009b). Bu program, farklı gruplar arası (*interpopulation*) ve/veya bir grup içerisindeki (*intrapopulation*) genetik çeşitlilik modellerini analiz etmeye yardımcı olmaktadır. Arlequin 3.1 programı; RFLP, DNA dizileri, mikrosatellite verileri, allel sıklıkları veya standart çok odaklı genotipleme gibi bazı verileri kullanabilmekte ve program kullanıcıları için, kullanılan veri türlerini dikkate almaksızın aynı analiz yöntemlerini yapabilmeyi sağlamaktadır (Excoffier 2005, 2006). Bu istatistiksel program, yararlandığı EM algoritma ile haplotip sıklıklarının belirlenmesinde, başlıca iki adım kullanmaktadır. Bu adımlardan ilki, her bir birey için haplotip çiftlerinin dağılım hesaplamasına dayalı, “değerlendirme adım (*estimation step*)”dır. İkinci adım ise, belirlenen haplotip sıklık dağılımının günümüze kadar tanımlanmış haplotip türleri ile karşılaştırılmasından oluşan “maksimum olasılık tahminlerini hesaplama adımı (*maximization step*)” olarak ifade edilmektedir (Zhao 2003). Ayrıca bu yazılım programından elde edilen beta globin gen ailesi 5’ RFLP haplotip verileri, toplum genetiği çalışmalarında yaygın olarak kullanılmakla birlikte, hemoglobinopatiler arasındaki ilişkilendirme çalışmaları, toplumlar arasındaki karşılaştırmalar ve nüfus hareketleri hakkında da bilgi edinmemize yardımcı olmaktadır (Magana 2007).

2.9. Xmn I Polimorfizmi - Beta Talasemi İlişkisi

İnsan yaşamını oluşturan gelişimsel süreçlerin her bir aşamasında, globin genlerinin ekspresyonundaki düzenlenmeler yolu ile farklı hemoglobin türleri ifade edilmektedir. Son hemoglobin türü olan erişkin hemoglobine, yaşamın ilk altı ayından sonra ulaşılmakta ve bu durumdaki bireyde, ~ % 97.0 erişkin hemoglobin (Hb A), ~ % 2.0 minör hemoglobin (Hb A₂) ve ~ % 1.0 fetal hemoglobin (Hb F) bulunmaktadır. Doğumun ilk yıllarında, fetal hemoglobin (Hb F), toplam hemoglobinin yaklaşık

% 70.0' ini oluşturmaktadır. Normal yeni doğan bireyde Hb F'deki G γ /A γ oranı, 70: 30 olarak belirlenmesine rağmen, yetişkin yaşamda çok az miktarda bulunan Hb F'de, γ globin geninden β globin gen ekspresyonuna geçiş nedeniyle bu oran 40: 60'a dönüşür. Farklı G γ /A γ oranları, Hb F sentezindeki molekül sel bozuklukların belirtisidir (Manca 2008). Yapılan çalışmalarda araştırmacılar, yetişkinlerde G γ ve A γ globin genlerinin göreceli ekspresyonunun, beta globin gen ailesi ile ilgili gensel faktör (ler) ile kontrol edilebildiğini ifade etmişlerdir (Harano 1985, Labie 1985a, Lanclos 1991). Gama globin genlerinin ekspresyonundaki farklılıklar, yalnızca ilgili DNA segmentinde meydana gelen nokta mutasyonlar ve kromozomlar arası gen değişim süreçleri ile meydana gelmektedir (Karlsson 1985).

Erişkin yaşamda β globin zincir sentezine ek olarak, fetal hemoglobin (HbF) artışına neden olan gensel koşulların birlikte kalıtımı, beta talasemili hastaların fenotipinde iyileştirici etkenlerden biri olarak rol oynamaktadır (Weatherall 2001b, Ferrara 2003, Perrine 2005). Beta talaseminin klinik ciddiyeti, her bir hastada bulunan β globin genindeki özgün mutasyon(lar) ile ilişkili olmakla birlikte, bu hastalık şiddeti üzerinde α ve/veya γ globin ekspresyonunu etkileyen diğer faktörlerin de etkili olduğu belirtilmiştir (Gringras 1994, Rund 1997). Bu nedenle, halen günümüzde globin gen ekspresyonu değişikliklerinin molekül sel işlemlerini geniş kapsamlı olarak anlamak ve yetişkin yaşamdaki Hb F sentezinin artışına neden olabilen globin gen ekspresyonunun kontrolünü başarabilmek için büyük çaba gösterilmektedir (Ho 1999, Grosso 2008).

Hb F artışına neden olan çok sayıda gensel etken bulunmaktadır. Bu etkenler arasında yaş, cinsiyet, γ - globin geninin yeniden düzenlenmesi, γ - globin gen triplikasyonu, G γ ve A γ globin gen dizilerindeki polimorfizmler, β ve α - talaseminin birlikte kalıtımı, β globin geninin -540 bp bölgesinde yer alan (AT) $_x$ T $_y$ gibi dizi değişiklikleri ve /veya fetal hemoglobinin erişkin yaşam boyunca da kalıtsal devamlılığı (HPFH; *Hereditary Persistence Fetal Hemoglobin*) ile ilişkili gensel etkenler yer almaktadır (Gilman 1985, Huisman 1991, Öner 1992, Chang 1995, Ratip 1997, Gonçalves 1998, Ho 1998, Miyoshi 1998, Lapoumeroulie 1999, Garner 2000, Winichagoon 2000, Panigrahi 2005a, 2005b, Grosso 2008). Ayrıca β globin gen kompleksi ile ilişkili olmayan faktörlerin de, bu etkiye sahip olabileceği ileri sürülmüştür (Dover 1992). Yapılan tüm bu molekül sel çalışmalara karşın, Hb F sentez

artışı üzerine etki eden temel etken ve işlgeler tam olarak aydınlatılabilmiş değildir (Thein 1994, Dedoussis 2005).

Beta talasemi ve orak hücre anemisi (Hb S)'ndeki fenotip koşullar ve Hb F seviyeleri arasındaki ilişkilerin β globin gen ailesi içerisindeki birkaç polimorfizmin tek başına veya kombine halde bulunması ile ilişkili olduğu hipotezi geçerliliğini korumaktadır. Gama globin üretimini sağlayarak Hb F sentezinin uyarılması, bu gensel sorunlarda katkı sağlayıcı bir potansiyel olarak görülmektedir (De-Angioletti 2004, Manca 2008).

Hb F artışının altında yatan molekül sel mekanizmalar tartışılmakla birlikte, Hb F artışında rol oynayan gensel faktörlerden biri olarak, γ globin geninin promoter bölgesinin -158. pozisyonunda C>T dizi değişiminin olduğu düşünülmektedir (Thein 2005b). Bu gensel değişiklik, Xmn I restriksiyon enzim tanıma bölgesinde değişime neden olduğu için "Xmn I- γ polimorfizmi" olarak ifade edilmektedir (Gilman 1985, 1988, Labie 1985b, Thein 1987). Xmn I restriksiyon endonükleaz enzimi, γ globin geninin 5' ucu -158 konumunu da içine alan GAACGGTTC dizisini görerek kesmektedir. Bu konumda, timin (T) yerine sitozin (C) geçtiğinde, enzim bu bölgeyi tanıyamadığı için restriksiyon enzimi, kesim işlemini yapamamaktadır. Bu polimorfizmin, yaygın olarak β talasemi ve orak hücre anemisi taşıyan bireylerde görüldüğü ve bu bireylerde yetişkin yaşamda, özellikle eritropoietik stres koşulları altında, γ globin gen ekspresyonunu etkileyerek, Hb F miktarında artış gösterdiği bildirilmiştir (Gilman 1985, 1988, Peri 1997, Thein 2004, Grosso 2008). Beta talasemili veya Hb S'li olgular kadar normal bireylerde de, artan γ -zincir üretimi, Xmn I- γ polimorfizmi ve/veya özel *microsatellite* dizilerin varlığı, beta globin haplotip türleri ile kısmen ilişkilendirilmiştir (Zertal-Zidani 2002).

Yapılan bazı çalışmalarda, Akdeniz ülkelerinde Xmn I polimorfizm varlığının, III, IV ve IX haplotip türleri ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (Gilman 1988, Gonçalves 1998, 2002, Lemsaddek 2003, 2004). Beta globin gen ailesi haplotiplerininin, yüksek Hb F üretimi ile ilişkili olduğu, bu ilişkinin ise beta talasemi ve orak hücre anemili olgularda, hastalığın ciddiyeti üzerinde etki gösterdiği belirtilmiştir (Labie 1985a, Miller 1986, Kulozik 1987, Diaz-Chico 1988, Gilman 1988, Chang 1995, Dedoussis 1999, 2000a, 2000b, 2005). Diğer taraftan, Xmn I polimorfizmi ile ilişkili olan III, IV ve IX

haplotiplerinin, sırayla β^0 IVS II- 1 (G>A), β^0 FSC 8 (-AA) ve β^0 FSC 6 (-A) beta talasemi mutasyonları ile bağlantı eşitsizliği (LD) gösterdiği belirlenmiştir (Orkin 1984b, Dedodussis 2000b).

Xmn I polimorfizmin, γ -globin gen ekspresyonu üzerindeki etkisi geniş şekilde bildirilmiş olmasına rağmen, gen ekspresyonundaki artış ile ilgili moleküler mekanizma tam olarak açıklanamamıştır. Yapılan çalışmalarda, $G\gamma$ -promoter bölgeye bağlanan özgün bir transkripsiyon faktörü tanımlanamamıştır. Fakat bu bölgenin büyük olasılıkla $G\gamma$ ekspresyonunu düzenlemede etkili protein-protein veya DNA-protein etkileşim kompleksleri ile ilişkili olabileceği tartışılan konulardan biridir (Pace 2006, Moorchung 2006, Grosso 2008). Dolayısıyla Yavarian ve arkadaşları, - 158 (C>T) Xmn I polimorfizminin varlığı ve beta talasemi hastalığı arasındaki ilişkinin ikincil derecede önemli olabileceğini ifade etmişlerdir (Yavarian 2004). Bu polimorfizmi taşıyan β talasemili hastalarda görülebilen fenotipik çeşitlilik tam olarak anlaşılammış olmakla birlikte, bu polimorfizm varlığının, hastalığın fenotipini değiştirmede modifiye edici gen olduğunu doğrulamak için daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (Ho 1998, Moorchung 2006).

Beta talasemili hastalarda, Xmn I polimorfizm bölgesinin pozitif varlığı, yüksek Hb F ekspresyonuna sebep olmasına karşın, bu polimorfizmin tek başına Hb F artışından sorumlu olmadığı bilinmektedir (Ho 1998, Thein 2005a). Bu nedenle, olası nükleotid değişikliklerini veya β globin genlerinin transkripsiyonel düzenlenmesi ile ilgili olan globin gen ailelerindeki motifler ve/veya $(AT)_xT_y$ kısa tekrar dizilerindeki değişiklikleri belirlemek için detaylı genetik çalışmalar yapılmaya devam edilmektedir (Papachatzopoulou 2006).

2.10. Beta Talasemi Tedavisine Yönelik Yaklaşımlar

Gama globin zincirlerinin sentezini yeniden aktive ederek Hb F sentezini artırma amacı ile birçok çalışmada bazı ilaçlar kullanılmıştır. Bu farmakolojik ürünlerin farklı işlevleri üzerinden etki ederek, hemoglobinopatilerin klinik tablolarını iyileştirici etkileri olduğu ileri sürülmüş ve bu hastalıklar için olası tedavi yöntemleri gündeme getirilmiştir (Swank 1998, Yang 2001, Quek 2006, Patrinos 2008). Bu ilaçlar ile hücre döngüsü uyarılmakta, Hb F sentezinin artmasına koşut biçimde toplam hemoglobin

artışı sağlanmaya çalışılmaktadır. Hidroksiüre (HÜ), bütirat, 5-azasitidin gibi ilaçların, beta talasemili hastalarda Hb F seviyesini düzenleyerek, hastalığın kliniğinde iyileştirici etkilere sahip olduğu ileri sürülmüş, fakat bu olayı oluşturan molekül işlerge tam olarak çözümlenememiştir (Ley 1985, Olivieri 1998a, Saxon 1998, Hoppe 1999, Alebouyeh 2004). Bu tür ilaçların iyileştirici etkilere sahip olduğu ileri sürülmekle birlikte, hiçbiri için düzenli klinik kullanımlarının yararları kesin olarak kanıtlanamamıştır (Schrier 2005).

5- Azasitidin, DNA hipometilasyonu ile sonuçlanan metil-transferaz'ın inhibitörü olarak gama globin sentezinin üretimini sağladığı, beta talasemi ve orak hücre anemili hastalara verildiğinde, fetal hemoglobin (Hb F), dolayısıyla toplam hemoglobin seviyelerinde değişen miktarlarda artış gösterdiği belirlenmiştir (Karlsson 1985, Ley 1985, Steinberg 2001, Schrier 2005). 5- Azasitidin hücre döngüsüne özgün bir bileşendir ve bu bileşenin Hb F sentezini artırma nedeninin, eritroid hücrelerinin olgunlaşma kinetiği üzerindeki etkiler yoluyla gerçekleştiği ifade edilmektedir. Fakat bu ilacın karsinojen özelliği nedeni ile kullanımına sadece son basamağa gelmiş beta talasemili hastalarda izin verilmektedir (Stamatoyannopoulos 1992).

Hidroksiüre (HÜ) ve bütirik asit bileşenleri ile yapılan tedavinin bazı beta talasemili hastalarda, transfüzyon ihtiyaçlarını azalttığı veya tamamen ortadan kaldırdığı gözlenmiştir (Perrine 1993, Fucharoen 1996, Koren 2008). HÜ tedavisi, 1994'den beri talasemi majorlü ve talasemi intermedia'lı hastalarda kullanılmış olup, farklı merkezlerde HÜ tedavisinde belli bir dereceye kadar başarı sağlanmıştır (Ansari 2007, Choudhy 1997, Panigrahi 2005a, Koren 2008, Kosaryan 2009). TM'li bireylerde HÜ'nin, ekstramedüller hematopoiezisin gerilemesinde yararlı bir etkiye sahip olduğu birçok araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Saxon 1998, Cairo 2002, Castelli 2004, Vicari 2006). Fakat talasemili hastalarda HÜ'nin etkinliği hala tam olarak açıklanamamıştır (Yavarian 2004, Panigrahi 2005a). Ayrıca hidroksiüre'nin orak hücre anemili bireylerde, Hb F miktarını arttırdığı ve damar tıkanması sonucu oluşan krizleri azalttığı görülmüştür (Platt 1984, 2008, Charache 1995, Loukopoulos 1998, Steinberg 2005, Little 2006, Italia 2009). Gama globin ekspresyonu üzerinde HÜ etkisinin, talasemik mutasyon türü veya Xmn I polimorfizmi ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Bradai 2003, Dixit 2005). Bradai ve arkadaşları Cezayir'de, Xmn I polimorfizmini

heterozigot formda taşıyan TM (% 44.5) ve TI (% 90.0)'lı bireylerin, HÜ tedavisine daha iyi yanıt verdiğini göstermişlerdir (Bradai 2007). Fakat HÜ'nin, genotip çeşitliliğe bağlı olarak eritroit öncül hücreleri (*erythroid precursors*) üzerinde etkili olduğu ve bütün hastalarda aynı şekilde iyi bir yanıt oluşturmadığı da bildirilmiştir (Charache 1995, Fibach 1998). Bu bağlamda, HÜ'nin γ -globin zincir sentezlerindeki mRNA kararlılığını sağlayarak, etkin olmayan eritropoiezisi azalttığı ileri sürülmüş olmasına rağmen, Hb F üretiminde tam mekanizması açıklığa kavuşmamıştır (Loukopoulos 1998, Olivieri 1998a, Saxon 1998, Cairo 2002, Perrine 2005, Premawardhena 2005, Vicari 2006, Eshghi 2007, Koren 2008). Orak hücre anemili hastalarda HÜ tedavisinin yararlı olabileceği gösterilmesine rağmen, beta talasemi majörlü hastalarda, HÜ ile indüklenen Hb F artışının transfüzyon gereksinimlerini ortadan kaldırmaya yeterli olmadığı bildirilmiştir (Rodgers 1993, 1995).

Bir başka grup araştırmacı ise, sodyum bütirat (NaB) ve α -amino-bütirik asit gibi bütirat bileşikleri üzerine yoğunlaşmışlardır (Dover 1994). Bütiratlar yolu ile gerçekleşen γ globin ekspresyonunu artıran işlengenin bilinmemesine rağmen, bütirat etkisinin fötal gene özgü ve γ -globin gen promoter bölgesindeki transkripsiyon başlama kısımlarında yer alan dizilerde rol oynayarak Hb F düzeyini arttırdığı ileri sürülmüştür (Burns 1988, Constantoulakis 1989, Olivieri 1998b). Orak hücre anemili ve şiddetli β talasemili hastalara, sürekli intravenöz olarak arjinin bütirat verilerek yapılan klinik uygulamalarda, Hb F üretiminde artış gözlenmekle birlikte, toplam Hb düzeyindeki yükselmeye bir kararsızlık ortaya çıkmaktadır (Perrine 1993, Sher 1995, Hoppe 1999, Steinberg 2001, Witt 2003). Bu ilaçların bazı hastalarda etkili olduğu belirlenmekle birlikte, sitotoksik etkiye de sahip oldukları gözlenmiştir. Düşük toksisiteye sahip veya hiç toksik olmayan yeni ve güçlü fötal hemoglobin indükleyicilerin belirlenerek, bu ilaçların oral yoldan verilebilmesi gerekmektedir. Fakat Hb F artışının toksik bir yan etki olmaksızın farmakolojik olarak elde edilememesi, en önemli problemlerden biri olarak değerlendirilmektedir (Stamatoyannopoulos 1992, Sher 1995, Buller 1999).

3. MATERYAL VE METOT

Tez çalışmamızda ‘‘Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi (PAÜTF) Biyofizik Anabilim Dalı’’ DNA Bankasının’dan alınan, önceden tanımlanmış sağlıklı 100, beta talasemi majörlü 28, beta talasemi minörlü 210 bireye ait olmak üzere toplam 338 DNA örneği kullanılmıştır. Bu bireylerden kan alınırken, erişkin bireylere veya ebeveynlerine bilgilendirilmiş onay formu verilerek açıklama yapılmakta, yazılı onayları alınarak hazırlanan DNA örnekleri, Biyofizik Anabilim Dalı DNA arşivine anonim olarak konulmaktadır. Ayrıca tez çalışmamızda kullanılan DNA örneklerinin tümü Denizli yöresine aittir. Denizli yöresine ait sağlıklı bireylere ilişkin haplotipler, önceki çalışmalarda ‘‘PAÜTF Biyofizik Anabilim Dalı’’ laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Bu bağlamda tez çalışması içerisinde normal örneklere ilişkin haplotipleme deneyleri yapılmamıştır. Tez çalışması kapsamında, beta talasemi majörlü olgulara ait veriler, normal veriler ile birleştirilerek yayına hazırlanmıştır. Bu çalışma, Ocak 2009 tarihinden itibaren *SCI-Expanded* içerisinde yer alan ‘‘*Turkish Journal of Hematology*’’ dergisinde yayınlanmıştır (Bahadır 2009b).

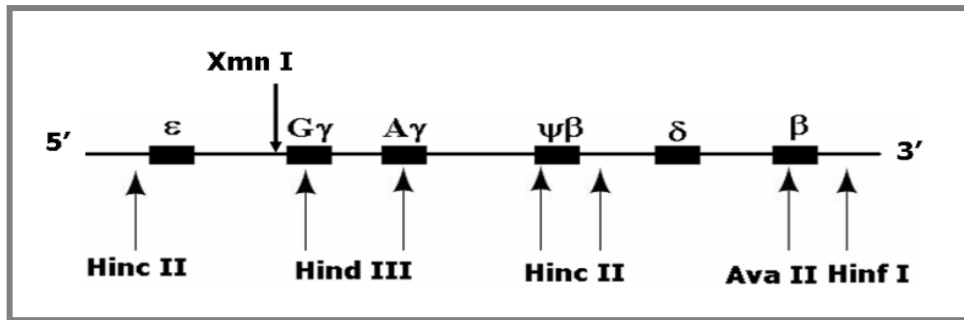
Haplotip analizi için, sağlıklı, beta talasemi majörlü, beta talasemi minörlü bireylere ait beta globin gen bölgeleri, uygun primerler kullanılarak PCR yöntemi ile çoğaltıldı. Beta globin gen ailesi içerisinde yer alan polimorfik odaklar, 5’ε- Hinc II, Gγ- Xmn I, Gγ ve Aγ- Hind III, ψβ- Hinc II, 3’ψβ- Hinc II, 5’β- Ava II, 3’β- Hinf I olmak üzere, toplam sekiz restriksiyon enzim kesim bölgesi için altı adet restriksiyon enzimi kullanılarak belirlendi. Haplotip analizleri için kullanılan restriksiyon endonükleaz enzimleri ve tamponları (*MBI Fermentas Lithuania, Sigma Germany, New England Biolabs Ipswich, MA*), PCR bileşenleri (*Buffer, dNTPmix, Taq DNA Polymerase, Mg⁺²*) (*Bioron, Ludwischafen, Germany ve Sigma*) ilgili firmalardan satın alındı. Beta globin gen ailesi haplotip analizinde kullanılan oligonükleotit primer dizileri, önceden yayınlanmış çalışmalar dikkate alınarak hazırlandı (Falchi 2005).

Haplotip analizinin sonuçları, istatistiksel olarak EM algoritma tabanlı “*Arlequin 3.1 Software*” programı kullanılarak değerlendirildi. Tüm örneklerdeki Xmn I polimorfizmi, G γ - Xmn I polimorfik bölge analizi yapılarak saptandı.

3.1. Haplotip Analizi

Beta globin gen ailesinde, restriksiyon enzim kesim bölgeleri ile ifade edilen birçok polimorfizmin (haplotip), özgün β talasemi mutasyonları ile ilişkili olduğu bilinmektedir. Genel olarak β globin gen ailesi içerisinde bulunan yedi polimorfik restriksiyon bölgesi için farklı kombinasyonlarla gözlenen β globin gen haplotipleri tanımlandı.

Çalışmada, beta globin gen ailesine özgü haplotip analizi için, Şekil 3.1’ de verildiği gibi toplam sekiz odak kullanıldı. Beta talasemili bireylere ait beta globin gen bölgesi içindeki her bir odak ayrı ayrı, bu bölgelere özgün primerler ile sıcaklık döngü (*Techne TC- 312 Thermocycler*) cihazı kullanılarak çoğaltıldı. Elde edilen PCR ürünleri % 1.0-1.5’luk agaroz jelde yürütülerek, jel görüntüleme cihazı ile görüntülendi. Beta globin gen ailesine özgü, 5’ ϵ - Hinc II, G γ - Xmn I, G γ ve A γ - Hind III, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3’ $\psi\beta$, 5’ β - Ava II, 3’ β - Hinf I polimorfik odaklar kullanılarak restriksiyon enzim kesim sonuçları değerlendirildi (Şekil 3.1).



Şekil 3.1 Haplotip analizi için kullanılan restriksiyon enzim kesim odakları

3.1.1. 5' ϵ Beta Globin Gen Bölgesinin PCR yöntemi ile Çoğaltımı

Beta globin geninin 750 bp uzunluğundaki 5’ ϵ bölgesi, PCR yöntemi ile çoğaltıldı. Hazırlanan 50 μ l’lik PCR karışımı, sıcaklık döngü cihazında

(*Techne TC- 312 Thermocycler*) toplam 30 döngü olarak hazırlanan programa konuldu (Tablo 3.1).

Tablo 3.1 5'ε gen bölgesi için hazırlanan PCR karışımı, çoğaltım koşulları

PCR Bileşenleri	Miktar	Derişimler	Adımlar	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
DNA (25 -100 ng/μl)	2 μl	50- 200 ng				
Tampon (<i>Buffer BIORON,10X</i>)	5 μl	1 X				
dNTP _{Mix} (<i>BIORON, 2 mM</i>)(*)	5 μl	0,02 mM				
Mg ⁺⁺ (<i>BIORON, 16 mM</i>)	5 μl	1,6 mM	Kapak ısıtması	100 °C	-	30
PRE105 (10 pmol/μl) (**)	2 μl	20 pmol	Denatürasyon	94 °C	30 san	
PRE106 (10 pmol/μl) (**)	2 μl	20 pmol	Primer Eşleşmesi	50 °C	15 san	
Taq DNA pol. (<i>SIGMA, 1U/μl</i>)	5 μl	0,2 U	Primer uzaması	72 °C	30 san	
Steril Saf Su	23 μl	-	Son uzama	72 °C	5 dak	-
Toplam Hacim	50 μl	50 μl	Saklama	+4 °C	-	-
(*) 2mM her bir dNTP için						
(**)	PRE105	5'- TTC CTG TTT GAT GAC AAA TTC- 3'				
	PRE106	5'- AGT CAT TGG TCA AGG CTG ACC- 3'				

3.1.2. 5' ε Beta Globin Gen Bölgesinin Hinc II Restriksiyon Enzim Kesimi

Beta globin gen ailesi içerisindeki 750 bp uzunluğundaki 5'ε PCR ürünü ve bu bölgeye özgün Hinc II restriksiyon enzimi kullanılarak Tablo 3.2' de verilen miktarlarda hazırlanmış olan enzim reaksiyon karışımı, en az iki saat 37 °C' de bekletildi. İlgili odak için elde edilen restriksiyon enzim kesim ürünleri % 1.2' lik agaroz jele yüklenerek, görüntüleme cihazında (*UVItec*) gözlenerek kaydedildi. Restriksiyon enziminin özellikleri ve kesim ürünlerinin değerlendirilmesi Tablo 3.2' de verilmektedir.

Tablo 3.2 5'ε Hinc II enzim kesimine ilişkin bilgiler

Hinc II Enzim Dizisi	5'- GTP <u>Py</u> PuAC-3' 3'- CA <u>Pu</u> PyTG-5'	
Kesim Bileşenleri	Miktar	Kesim Ürünü (bp)
PCR ürünü	10.0 μl	(-/-): 750
Tampon (<i>Buffer Tango, Fermentas, 10 X</i>)	2.0 μl	(+/+): 436, 314
Hinc II enzimi (<i>Fermentas</i>) (*)	0.1 μl	(+/-): 750, 436, 314
Steril Saf Su	7.9 μl	PCR ürünü: 750 bp
Toplam karışım	20.0 μl	
(*) Derişimi: 10 U/μl Py: pirimidin Pu: purin		

3.1.3. 5' G γ Beta Globin Gen Bölgesinin PCR yöntemi ile Çoğaltımı

Beta globin geninin 650 bp uzunluğundaki 5'G γ bölgesi, PCR yöntemi ile çoğaltıldı. Hazırlanan 50 μ l'lik PCR karışımı, sıcaklık döngü cihazında (*Techne TC- 312 Thermocycler*) toplam 30 döngü olarak hazırlanan programa konuldu (Tablo 3.3).

Tablo 3.3 5'G γ gen bölgesi için hazırlanan PCR karışımı, çoğaltım koşulları

PCR Bileşenleri	Miktar	Derişimler	Adımlar	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
DNA (25 -100 ng/ μ l)	2 μ l	50- 200 ng				
Tampon (<i>Buffer BIORON,10X</i>)	5 μ l	1 X				
dNTP _{Mix} (<i>BIORON, 2 mM</i>)(*)	5 μ l	0,02 mM				
Mg ⁺⁺ (<i>BIORON, 16 mM</i>)	5 μ l	1,6 mM	Kapak ısıtması	100 °C	-	30
BFH 003 (10 pmol/ μ l) (**)	2 μ l	20 pmol	Denatürasyon	94 °C	30 san	
BFH 004 (10 pmol/ μ l) (**)	2 μ l	20 pmol	Primer Eşleşmesi	55 °C	15 san	
Taq DNA pol. (<i>SIGMA, 1U/μl</i>)	5 μ l	0,2 U	Primer uzaması	72 °C	30 san	
Steril Saf Su	23 μ l	-	Son uzama	72 °C	5 dak	-
Toplam Hacim	50 μ l	50 μ l	Saklama	+4 °C	-	-
(*) 2mM her bir dNTP için						
(**)	BFH 003	5' - AAC TGT TGC TTT ATA GGA TTT T - 3'				
	BFH 004	5' - AGG AGC TTA TTG ATA ACC TCA GAC - 3'				

3.1.4. 5' G γ Beta Globin Gen Bölgesinin XmnI Restriksiyon Enzim Kesimi

G γ promoter bölgede yer alan -158 G γ (C>T) polimorfizmi içeren 650 bp uzunluğundaki bölge, PCR yöntemi ile çoğaltıldı ve PCR ürünleri Xmn I restriksiyon enzimi ile kesilerek, elde edilen sonuçlar değerlendirildi.

Xmn I restriksiyon enzimi kullanılarak hazırlanan enzim reaksiyon karışımı, Tablo 3. 4' de verilen miktarlarda hazırlanıp, bu enzim reaksiyon karışımı en az iki saat 37° C'de bekletildi. İlgili odak için elde edilen restriksiyon enzim kesim ürünleri, % 1.2' lik agaroz jele yüklenerek, görüntüleme cihazında (*UVitec*) gözlenerek kaydedildi. Restriksiyon enziminin özellikleri ve kesim ürünlerinin değerlendirilmesi Tablo 3.4' de verilmektedir.

Tablo 3.4 5' G γ - Xmn I enzim kesimine ilişkin bilgiler

Xmn I (Pdm I) Enzim Dizisi	5'-GAANN \underline{N} NTTC-3' 3'-CTTN \underline{N} NAAG-5'	
	Miktar	Kesim Ürünü (bp)
PCR ürünü	10.0 μ l	(-/-): 650
Tampon (<i>Buffer Tango, Fermentas</i> , 10 X)	2.0 μ l	(+/+): 450, 200
Xmn I enzimi (<i>Fermentas</i>) (*)	1.0 μ l	(+/-): 650, 450, 200
Steril dH ₂ O	17.0 μ l	PCR ürünü: 650 bp
Toplam karışım	30.0 μ l	
(*) Derişimi: 10 U/ μ l		

3.1.5. G γ Beta Globin Gen Bölgesinin PCR yöntemi ile Çoğaltımı

Beta globin geninin 781 bp uzunluğundaki G γ bölgesi, PCR yöntemi ile çoğaltıldı. Hazırlanan 50 μ l'lik PCR karışımı, sıcaklık döngü cihazında (*Techne TC- 312 Thermocycler*) toplam 30 döngü olarak hazırlanan programa konuldu (Tablo 3.5).

Tablo 3.5 G γ gen bölgesi için PCR karışımı, çoğaltım koşulları

PCR Bileşenleri	Miktar	Derişimler	Adımlar	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
DNA (25 -100 ng/ μ l)	2 μ l	50- 200 ng				
Tampon (<i>Buffer BIORON,10X</i>)	5 μ l	1 X				
dNTP _{Mix} (<i>BIORON, 2 mM</i>) (*)	5 μ l	0,02 mM				
Mg ⁺⁺ (<i>BIORON, 16 mM</i>)	5 μ l	1,6 mM	Kapak ısıtması	100 °C	-	30
PRE102 (10 pmol/ μ l) (**)	2 μ l	20 pmol	Denatürasyon	94 °C	30 san	
PRE103 (10 pmol/ μ l) (**)	2 μ l	20 pmol	Primer Eşleşmesi	55 °C	15 san	
Taq DNA pol. (<i>SIGMA, 1 U/μl</i>)	5 μ l	0,2 U	Primer uzaması	72 °C	30 san	
Steril Saf Su	23 μ l	-	Son uzama	72 °C	5 dak	-
Toplam Hacim	50 μ l	50 μ l	Saklama	+4 °C	-	-
(*) 2mM her bir dNTP için						
(**)	PRE 102	5'- AAG TGT GGA GTG TGT ACA TGA- 3'				
	PRE 103	5'- TGC TGC TAA TGC TTC ATT ACA A- 3'				

3.1.6. G γ Beta Globin Gen Bölgesinin Hind III Restriksiyon Enzim Kesimi

Beta globin gen ailesi içerisindeki 781 bp uzunluğundaki G γ bölgesi PCR ürünü ve bu bölgeye özgün Hind III restriksiyon enzimi kullanılarak Tablo 3.6’ da verilen miktarlarda hazırlanmış olan enzim reaksiyon karışımı, en az iki saat 37°C’ de bekletildi. İlgili odak için elde edilen restriksiyon enzim kesim ürünleri % 1.2’ lik agaroz jele yüklenerek, görüntüleme cihazında (*UVItec*) gözlenerek kaydedildi. Restriksiyon enziminin özellikleri ve kesim ürünlerinin değerlendirilmesi Tablo 3.6’ da verilmektedir.

Tablo 3.6 G γ - Hind III enzim kesimine ilişkin bilgiler

Hind III Enzim Dizisi	5’- <u>A</u> AGCTT -3’ 3’- TTCGAA <u>A</u> -5’	
Kesim Bileşenleri	Miktar	Kesim Ürünü (bp)
PCR ürünü	10.0 μ l	(-/-): 781
Tampon (<i>Buffer Tango, Fermentas</i> , 10 X)	2.0 μ l	(+/+): 436, 345
Hind III enzimi (<i>Fermentas</i>) (*)	1.0 μ l	(+/-): 781, 436, 345
Steril dH ₂ O	17.0 μ l	PCR ürünü: 781 bp
Toplam karışım	30.0 μ l	
(*) Derişimi: 10 U/ μ l		

3.1.7. A γ Beta Globin Gen Bölgesinin PCR yöntemi ile Çoğaltımı

Beta globin geninin 766 bp uzunluğundaki A γ bölgesi, PCR yöntemi ile çoğaltıldı. Hazırlanan 50 μ l’lik PCR karışımı, sıcaklık döngü cihazında (*Techne TC- 312 Thermocycler*) toplam 30 döngü olarak hazırlanan programa konuldu (Tablo 3.7).

Tablo 3.7 A γ gen bölgesi için PCR karışımı, çoğaltım koşulları

PCR Bileşenleri	Miktar	Derişimler	Adımlar	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
DNA (25 -100 ng/ μ l)	2 μ l	50- 200 ng				
Tampon (<i>Buffer BIORON,10X</i>)	5 μ l	1 X				
dNTP _{Mix} (<i>BIORON, 2 mM</i>)(*)	5 μ l	0,02 mM				
Mg ⁺⁺ (<i>BIORON, 16 mM</i>)	5 μ l	1,6 mM	Kapak ısıtması	100 °C	-	30
PRE103 (10 pmol/ μ l) (**)	2 μ l	20 pmol	Denatürasyon	94 °C	30 san	
PRE104 (10 pmol/ μ l) (**)	2 μ l	20 pmol	Primer Eşleşmesi	55 °C	15 san	
Taq DNA pol. (<i>SIGMA, 1U/μl</i>)	5 μ l	0,2 U	Primer uzaması	72 °C	30 san	
Steril Saf Su	23 μ l	-	Son uzama	72 °C	5 dak	-
Toplam Hacim	50 μ l	50 μ l	Saklama	+4 °C	-	-
(*) 2mM her bir dNTP için						
(**)	PRE 103	5'- TGC TGC TAA TGC TTC ATT ACA A - 3'				
	PRE 104	5'- TAA ATG AGG AGC ATG CAC ACA C - 3'				

3.1.8. A γ Beta Globin Gen Bölgesinin Hind III Restriksiyon Enzim Kesimi

Beta globin gen ailesi içerisindeki 766 bp uzunluğundaki A γ PCR ürünü ve bu bölgeye özgün Hind III restriksiyon enzimi kullanılarak Tablo 3.8' de verilen miktarlarda hazırlanmış olan enzim reaksiyon karışımı, en az iki saat 37°C' de bekletildi. İlgili odak için elde edilen restriksiyon enzim kesim ürünleri % 1.2' lik agaroz jele yüklenerek, görüntüleme cihazında (*UVItec*) gözlenerek kaydedildi. Restriksiyon enziminin özellikleri ve kesim ürünlerinin değerlendirilmesi Tablo 3.8' de verilmektedir.

Tablo 3.8 A γ - Hind III enzim kesimine ilişkin bilgiler

Hind III Enzim Dizisi	5'- <u>A</u> AGCTT -3' 3'- TTCGAA -5'	
Kesim Bileşenleri	Miktar	Kesim Ürünü (bp)
PCR ürünü	10.0 μ l	(-/-): 766
Tampon (<i>Buffer Tango, Fermentas, 10 X</i>)	2.0 μ l	(+/+): 406, 360
Hind III enzimi (<i>Fermentas</i>) (*)	1.0 μ l	(+/-): 781, 406, 360
Steril dH ₂ O	17.0 μ l	PCR ürünü: 766 bp
Toplam karışım	30.0 μ l	
(*) Derişimi: 10 U/ μ l		

3.1.9. 5' $\psi\beta$ Beta Globin Gen Bölgesinin PCR yöntemi ile Çoğaltımı

Beta globin geninin 701 bp uzunluğundaki 5' $\psi\beta$ bölgesi, PCR yöntemi ile çoğaltıldı. Hazırlanan 50 μ l'lik PCR karışımı, sıcaklık döngü cihazında (*Techne TC- 312 Thermocycler*) toplam 30 döngü olarak hazırlanan programa konuldu (Tablo 3.9).

Tablo 3.9 5' $\psi\beta$ gen bölgesi için PCR karışımı, çoğaltım koşulları

PCR Bileşenleri	Miktar	Derişimler	Adımlar	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
DNA (25 -100 ng/ μ l)	2 μ l	50- 200 ng				
Tampon (<i>Buffer BIORON,10X</i>)	5 μ l	1 X				
dNTP _{Mix} (<i>BIORON, 2 mM</i>)(*)	5 μ l	0,02 mM				
Mg ⁺⁺ (<i>BIORON, 22 mM</i>)	5 μ l	2,2 mM	Kapak ısıtması	100 °C	-	30
PRE107 (10 pmol/ μ l) (**)	2 μ l	20 pmol	Denatürasyon	94 °C	30 san	
PRE108 (10 pmol/ μ l) (**)	2 μ l	20 pmol	Primer Eşleşmesi	53 °C	15 san	
Taq DNA pol. (<i>SIGMA, 1U/μl</i>)	5 μ l	0,2 U	Primer uzaması	72 °C	30 san	
Steril Saf Su	23 μ l	-	Son uzama	72 °C	5 dak	-
Toplam Hacim	50 μ l	50 μ l	Saklama	+4 °C	-	-
(*) 2mM her bir dNTP için						
(**)	PRE 107	5'- GAA CAG AAG TTG AGA TAG AGA - 3'				
	PRE 108	5'- ACT CAG TGG TCT TGT GGG CT - 3'				

3.1.10. 5' $\psi\beta$ Beta Globin Gen Bölgesinin Hinc II Restriksiyon Enzim Kesimi

Beta globin gen ailesi içerisindeki 701 bp uzunluğundaki 5' $\psi\beta$ PCR ürünü ve bu bölgeye özgün Hinc II restriksiyon enzimi kullanılarak Tablo 3.10'da verilen miktarlarda hazırlanmış olan enzim reaksiyon karışımı, en az iki saat 37°C' de bekletildi. İlgili odak için elde edilen restriksiyon enzim kesim ürünleri % 1.2' lik agaroz jele yüklenerek, görüntüleme cihazında (*UVItec*) gözlenerek kaydedildi. Restriksiyon enziminin özellikleri ve kesim ürünlerinin değerlendirilmesi Tablo 3.10'da verilmektedir.

Tablo 3.10 5' $\psi\beta$ Hinc II enzim kesimine ilişkin bilgiler

Hinc II Enzim Dizisi	5'- GTP <u>Py</u> PuAC-3' 3'- CA <u>Pu</u> PyTG-5'	
Kesim Bileşenleri	Miktar	Kesim Ürünü (bp)
PCR ürünü	10.0 μ l	(-/-): 701
Tampon (<i>Buffer Tango, Fermentas</i> , 10 X)	2.0 μ l	(+/+): 361, 340
Hinc II enzimi (<i>Fermentas</i>) (*)	0.1 μ l	(+/-): 701, 361, 340
Steril Saf Su	7.9 μ l	PCR ürünü: 701 bp
Toplam karışım	20.0 μ l	
(*) Derişimi: 10 U/ μ l Py: pirimidin Pu: purin		

3.1.11. 3' $\psi\beta$ Beta Globin Gen Bölgesinin PCR yöntemi ile Çoğaltımı

Beta globin geninin 592 bp uzunluğundaki 3' $\psi\beta$ bölgesi, PCR yöntemi ile çoğaltıldı. Hazırlanan 50 μ l'lik PCR karışımı, sıcaklık döngü cihazında (*Techne TC- 312 Thermocycler*) toplam 30 döngü olarak hazırlanan programa konuldu (Tablo 3.11).

Tablo 3. 11 3' $\psi\beta$ gen bölgesi için PCR karışımı, çoğaltım koşulları

PCR Bileşenleri	Miktar	Derişimler	Adımlar	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
DNA (25 -100 ng/ μ l)	2 μ l	50- 200 ng				
Tampon (<i>Buffer BIORON,10X</i>)	5 μ l	1 X				
dNTP _{Mix} (<i>BIORON, 2 mM</i>) (*)	5 μ l	0,02 mM				
Mg ⁺⁺ (<i>BIORON, 16 mM</i>)	5 μ l	1,6 mM	Kapak ısıtması	100 °C	-	30
PRE109 (10 pmol/ μ l) (**)	2 μ l	20 pmol	Denatürasyon	94 °C	30 san	
PRE110 (10 pmol/ μ l) (**)	2 μ l	20 pmol	Primer Eşleşmesi	50 °C	15 san	
Taq DNA pol. (<i>SIGMA, 1U/μl</i>)	5 μ l	0,2 U	Primer uzaması	72 °C	30 san	
Steril Saf Su	23 μ l	-	Son uzama	72 °C	5 dak	-
Toplam Hacim	50 μ l	50 μ l	Saklama	+4 °C	-	-
(*) 2mM her bir dNTP için						
(**)	PRE 109	5'- TCT GAC TTT GAC TCT GTT AGC - 3'				
	PRE 110	5'- GGA CCC TAA CTG ATA TAA CTA - 3'				

3.1.12. 3' $\psi\beta$ Beta Globin Gen Bölgesinin HincII Restriksiyon Enzim Kesimi

Beta globin gen ailesi içerisindeki 592 bp uzunluğundaki 3' $\psi\beta$ PCR ürünü ve bu bölgeye özgün Hinc II restriksiyon enzimi kullanılarak, Tablo 3.12'de verilen miktarlarda hazırlanmış olan enzim reaksiyon karışımı, en az iki saat 37°C' de bekletildi. İlgili odak için elde edilen restriksiyon enzim kesim ürünleri % 1.2' lik agaroz jele yüklenerek, görüntüleme cihazında (*UVItec*) gözlenerek kaydedildi. Restriksiyon enziminin özellikleri ve kesim ürünlerinin değerlendirilmesi Tablo 3.12'de verilmektedir.

Tablo 3.12 3' $\psi\beta$ Hinc II enzim kesimine ilişkin bilgiler

Hinc II Enzim Dizisi	5'- GTP <u>Py</u> PuAC-3' 3'- CAP <u>Pu</u> PyTG-5'	
Kesim Bileşenleri	Miktar	Kesim Ürünü (bp)
PCR ürünü	10.0 μ l	(-/-): 592
Tampon (<i>Buffer Tango, Fermentas</i> , 10 X)	2.0 μ l	(+/+): 470,120
Hinc II enzimi (<i>Fermentas</i>) (*)	0.1 μ l	(+/-): 592, 470, 120
Steril Saf Su	7.9 μ l	PCR ürünü: 592 bp
Toplam karışım	20.0 μ l	
(*) Derişimi: 10 U/ μ l Py: pirimidin Pu: purin		

3.1.13. 5' β Beta Globin Gen Bölgesinin PCR yöntemi ile Çoğaltımı

Beta globin geninin 328 bp uzunluğundaki 5' β bölgesi, PCR yöntemi ile çoğaltıldı. Hazırlanan 50 μ l'lik PCR karışımı, sıcaklık döngü cihazında (*Techne TC- 312 Thermocycler*) toplam 30 döngü olarak hazırlanan programa konuldu (Tablo 3.13).

Tablo 3.13 5' β gen bölgesi için PCR karışımı, çoğaltım koşulları

PCR Bileşenleri	Miktar	Derişimler	Adımlar	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
DNA (25 -100 ng/ μ l)	2 μ l	50- 200 ng				
Tampon (Buffer BIORON,10X)	5 μ l	1 X				
dNTP _{Mix} (BIORON, 2 mM)(*)	5 μ l	0,02 mM				
Mg ⁺⁺ (BIORON, 16 mM)	5 μ l	1,6 mM	Kapak ısıtması	100 °C	-	30
PRE111 (10 pmol/ μ l) (**)	2 μ l	20 pmol	Denatürasyon	94 °C	30 san	
PRE112 (10 pmol/ μ l) (**)	2 μ l	20 pmol	Primer Eşleşmesi	55 °C	15 san	
Taq DNA pol. (SIGMA, 1U/ μ l)	5 μ l	0,2 U	Primer uzaması	72 °C	30 san	
Steril Saf Su	23 μ l	-	Son uzama	72 °C	5 dak	-
Toplam Hacim	50 μ l	50 μ l	Saklama	+4 °C	-	-
(*) 2mM her bir dNTP için						
(**)	PRE 111	5'- GTG GTC TAC CCT TGG ACC CAG AG - 3'				
	PRE 112	5'- TTC GTC TGT TTC CCA TTC TAA ACT - 3'				

3.1.14. 5' β Beta Globin Gen Bölgesinin Ava II Restriksiyon Enzim Kesimi

Beta globin gen ailesi içerisindeki 328 bp uzunluğundaki 5' β PCR ürünü ve bu bölgeye özgün Ava II restriksiyon enzimi kullanılarak Tablo 3.14'de verilen miktarlarda hazırlanmış olan enzim reaksiyon karışımı, en az iki saat 37°C'de bekletildi. İlgili odak için elde edilen restriksiyon enzim kesim ürünleri % 1.2' lik agaroz jele yüklenerek, görüntüleme cihazında (UVitec) gözlenerek kaydedildi. Restriksiyon enziminin özellikleri ve kesim ürünlerinin değerlendirilmesi Tablo 3.14'de verilmektedir.

Tablo 3.14 5' β Ava II enzim kesimine ilişkin bilgiler

Ava II (Eco 47 I) Enzim Dizisi	5'- <u>G</u> GACC -3' 3'- CCTG <u>G</u> -5'	
Kesim Bileşenleri	Miktar	Kesim Ürünü (bp)
PCR ürünü	10.0 μ l	(-/-): 328
Tampon (Buffer Tango, Fermentas, 10 X)	2.0 μ l	(+/+): 228, 100
Ava II enzimi (Fermentas) (*)	0.5 μ l	(+/-): 328, 228, 100
Steril dH ₂ O	7.5 μ l	PCR ürünü: 328 bp
Toplam karışım	20.0 μ l	
(*) Derişimi: 10 U/ μ l		

3.1.15. 3' β Beta Globin Gen Bölgesinin PCR yöntemi ile Çoğaltımı

Beta globin geninin 638 bp uzunluğundaki 3' β bölgesi, PCR yöntemi ile çoğaltıldı. Hazırlanan 50 μ l'lik PCR karışımı, sıcaklık döngü cihazında (*Techne TC- 312 Thermocycler*) toplam 30 döngü olarak hazırlanan programa konuldu (Tablo 3.15).

Tablo 3.15 3' β gen bölgesi için PCR karışımı, çoğaltım koşulları

PCR Bileşenleri	Miktar	Derişimler	Adımlar	Sıcaklık	Süre	Döngü Sayısı
DNA (25 -100 ng/ μ l)	2 μ l	50- 200 ng				
Tampon (<i>Buffer BIORON,10X</i>)	5 μ l	1 X				
dNTP _{Mix} (<i>BIORON, 2 mM</i>)(*)	5 μ l	0,02 mM				
Mg ⁺⁺ (<i>BIORON, 16 mM</i>)	5 μ l	1,6 mM	Kapak ısıtması	100 °C	-	30
PRE113 (10 pmol/ μ l) (**)	2 μ l	20 pmol	Denatürasyon	94 °C	30 san	
PRE114 (10 pmol/ μ l) (**)	2 μ l	20 pmol	Primer Eşleşmesi	55 °C	15 san	
Taq DNA pol. (<i>SIGMA, 1U/μl</i>)	5 μ l	0,2 U	Primer uzaması	72 °C	30 san	
Steril Saf Su	23 μ l	-	Son uzama	72 °C	5 dak	-
Toplam Hacim	50 μ l	50 μ l	Saklama	+4 °C	-	-
(*) 2mM her bir dNTP için						
(**)	PRE 113	5'- AGT TAG AGG CTT GAT TTG GAG G - 3'				
	PRE 114	5'- GTT AAG GTG GTT GAT GGT ACC - 3'				

3.1.16. 3' β Beta Globin Gen Bölgesinin Hinf I Restriksiyon Enzim Kesimi

Beta globin gen ailesi içerisindeki 638 bp uzunluğundaki 3' β PCR ürünü ve bu bölgeye özgü Hinf I restriksiyon enzimi kullanılarak, Tablo 3.16'da verilen miktarlarda hazırlanmış olan enzim reaksiyon karışımı, en az iki saat 37°C' de bekletildi. İlgili odak için elde edilen restriksiyon enzim kesim ürünleri % 1.2' lik agaroz jele yüklenerek, görüntüleme cihazında (*UVItect*) gözlenerek kaydedildi. Restriksiyon enziminin özellikleri ve kesim ürünlerinin değerlendirilmesi Tablo 3.16'da verilmektedir.

Tablo 3.16 3' β Hinf I enzim kesimine ilişkin bilgiler

Hinf I Enzim Dizisi	5'- <u>G</u> ANTC -3' 3'- CTNAG -5'	
Kesim Bileşenleri	Miktar	Kesim Ürünü (bp)
PCR ürünü	10.0 µl	(-/-): 336,302
Tampon (<i>Buffer Tango, Fermentas, 10 X</i>)	2.0 µl	(+/+): 302, 213, 123
Hinf I enzimi (<i>Fermentas</i>) (*)	0.5 µl	(+/-): 336, 302, 213, 123
Steril dH ₂ O	7.5 µl	PCR ürünü: 638 bp
Toplam karışım	20.0 µl	
(*) Derişimi: 10 U/µl		

3.2. Arlequin 3.1 İstatistiksel Analiz Programı

Çalışmada incelenen Denizli yöresi beta talasemili bireylere ilişkin elde edilen verilerin değerlendirilmesinde, örnek sayısı 10 ve üzeri olan beta talasemi mutasyonları ile ilişkili haplotipleri belirlemek için, EM algoritma (EM; *expectation-maximization*) tabanlı maksimum olasılıkla haplotip sıklıklarının dağılımını belirleyen “*Arlequin 3.1*” istatistiksel analiz programı kullanıldı. Programda istatistiksel veriler değerlendirilir iken, Tablo 3.17’de belirtilen parametreler sabit tutularak elde edilen sonuçlar listelenmiş ve olası haplotiplerin sıklıkları toplamı bir olarak elde edilinceye kadar analize devam edilmiştir. Analiz sonucu çalışılan restriksiyon enzim kesim verilerine dayalı olarak, her bir mutasyon için allel sayısı, toplam olası haplotip sayısı ve toplam listelenmiş haplotip sayısı hakkında bilgi edinilmekle birlikte, mutasyon-haplotip ilişkisinde haplotip sıklıkları ve standart sapmaları da hesaplanmıştır.

Tablo 3.17 Kullanılan Arlequin 3.1 yazılım parametreleri

Yazılım Parametreleri	Değeri
EM algoritma tekrar sayısı:	50
Epsilon değerini kontrol için tekrarlama sayısı	1e-7
SS (*) değerlendirmesi için tekrar sayısı:	1000
SS (*) karşılaştırma sayısı	50
En fazla tekrar sayısı	1000
(*) : <i>Standart Sapma</i>	

4. BULGULAR

Tez çalışmasında sağlıklı 100, beta talasemi majörlü 28 ve beta talasemi minörlü 210 bireye ait olmak üzere toplam 338 DNA örneği incelenmiştir. Çalışmaya alınan DNA örnekleri arasında herhangi bir akrabalık ilişkisi bulunmamaktadır. Sadece bir ailede, beta talasemi mutasyonlarına ilişkin haplotiplerin belirlenebilmesi amacı ile aile çalışması yapılmıştır. Bu ailede bir homozigot, üç heterozigot DNA örneği kullanılmıştır. Çalışılan DNA örnekleri, mutasyonları tanımlanmış biçimde ‘‘Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi (PAÜTF) Temel Tıp Bilimleri Bölümü Biyofizik Anabilim Dalı’’ Hemoglobinopati DNA arşivinde saklanmaktadır. Biyofizik Anabilim Dalı DNA arşivinde yer alan örnekler için, gerek erişkin bireylerden ve gerekse de ebeveynlerden yazılı bilgilendirilmiş onay formu alınmıştır. Bilgilendirilmiş onay formuna dayalı biçimde hazırlanan DNA’lar, Biyofizik Anabilim Dalı Hemoglobinopati DNA arşivine anonim olarak konulmaktadır. Çalışmada kullanılan tüm DNA örnekleri Denizli yöresine aittir.

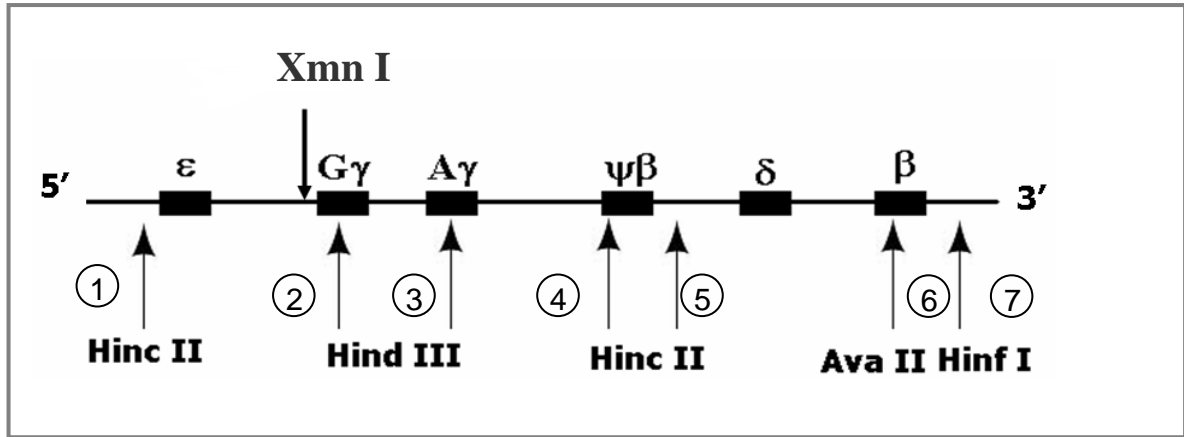
Tez çalışmasının iki temel amacı bulunmaktadır. İlk amaç, Denizli yöresindeki beta talasemi mutasyonlarının ilişkili olduğu beta globin gen ailesi haplotiplerinin belirlenmesidir. İkinci amaç ise, ilimizdeki beta talasemi mutasyonları ile G γ -promoter bölgesinde yer alan Xmn I polimorfizmi arasındaki olası ilişkinin ortaya konulmasıdır. Bu amaçlar doğrultusunda elde edilen sonuçlar, alt başlıklar halinde sunulmaktadır.

Bu tez çalışması Pamukkale Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi 2008SBE001 nolu proje tarafından desteklenmiştir.

4.1. Restriksiyon Enzim Kesim Bulguları

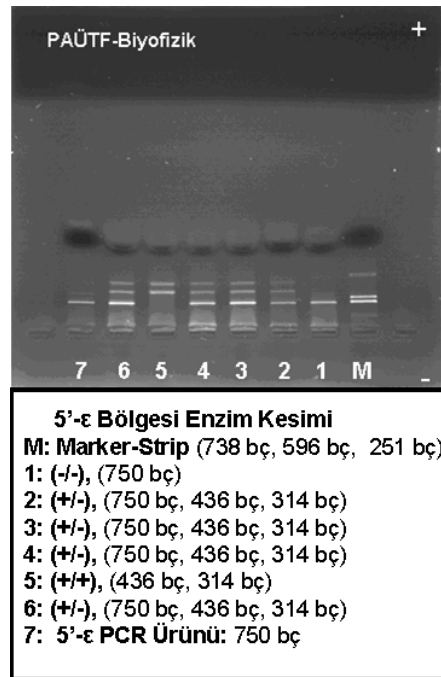
Tez çalışmasının amaçları doğrultusunda, beta globin gen ailesi haplotiplerinin ve Xmn I polimorfizminin belirlenmesinde özgün restriksiyon enzim kesimlerinden yararlanılmıştır. Bu bağlamda, ilgili odaklar özgün primerler ile çoğaltılmış ve bu bölgelere özgün restriksiyon enzimleri ile kesildikten sonra agaroz jelde görüntülenmiştir. Bu yaklaşıma ilişkin ayrıntılı bilgiler materyal ve metot bölümünde yer almaktadır.

Tez çalışmasının birincil amacı olan beta globin gen ailesi haplotiplerinin belirlenmesinde, ϵ - Hinc II, $G\gamma$ - Hind III, $A\gamma$ - Hind III, $5'\psi\beta$ - Hinc II, $3'\psi\beta$ - Hinc II, $5'\beta$ - Ava II ve $3'\beta$ - Hinf I olmak üzere toplam yedi odak kullanılmıştır. İkincil amaç doğrultusunda ise, $G\gamma$ -promoter bölgesindeki Xmn I polimorfik odağın çalışılması hedeflenmiştir (Şekil 4.1).

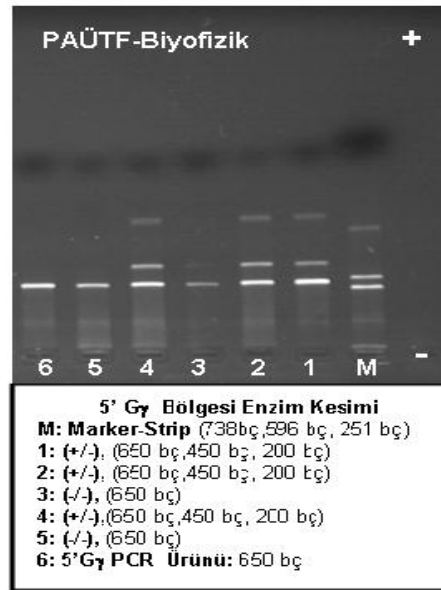


Şekil 4.1 Restriksiyon enzim kesim odaklarının beta globin gen ailesi üzerindeki konumları

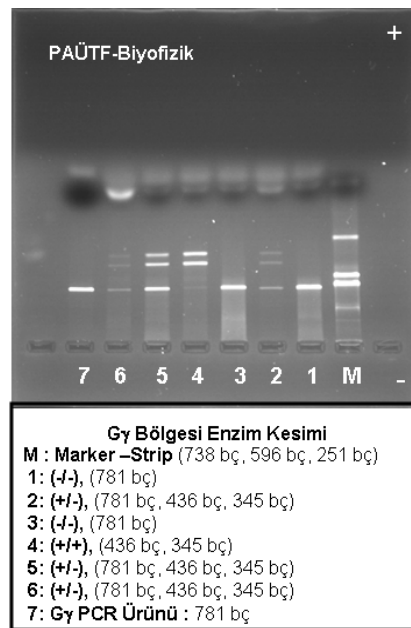
Beta globin gen ailesi haplotipleri ve Xmn I polimorfizmine ilişkin enzim kesimleri ve sonrasındaki agaroz jel örnek görüntüleri Şekil 4.2- 4.9'da verilmektedir.



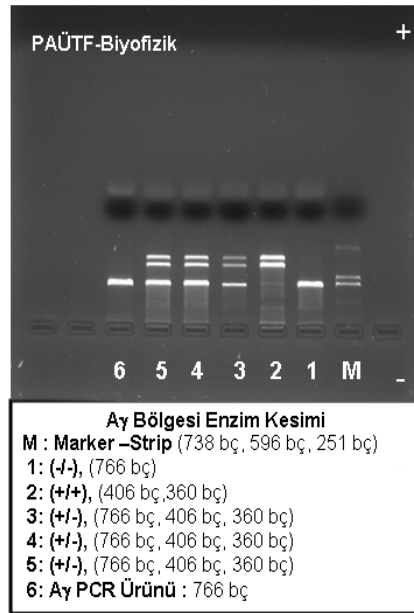
Şekil 4.2 5'- ϵ bölgesi, Hinc II restriksiyon enzimi kesim sonuçları



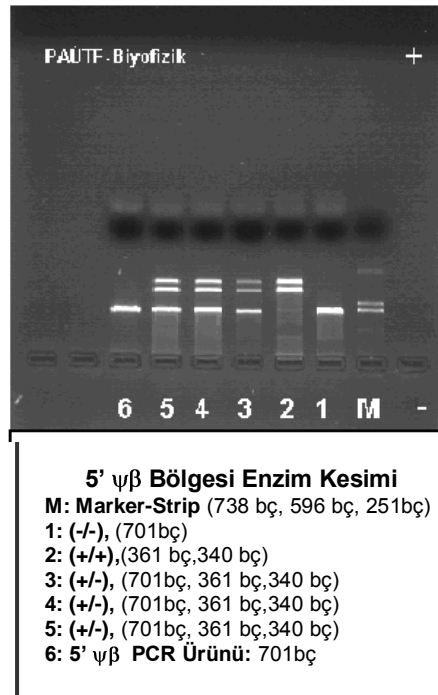
Şekil 4.3 5'- G γ bölgesi, Xmn I restriksiyon enzimi kesim sonuçları



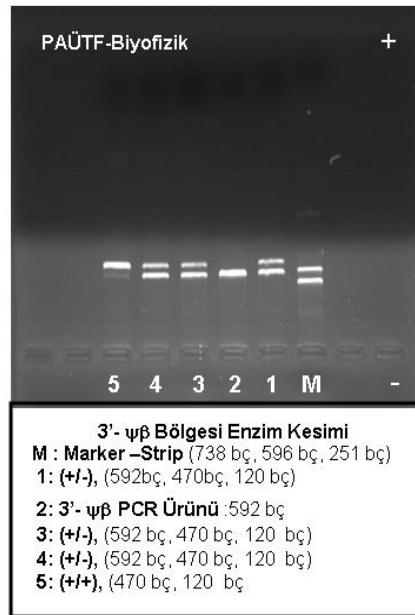
Şekil 4.4 G γ bölgesi, Hind III restriksiyon enzimi kesim sonuçları



Şekil 4.5 Aγ bölgesi, Hind III restriksiyon enzimi kesim sonuçları



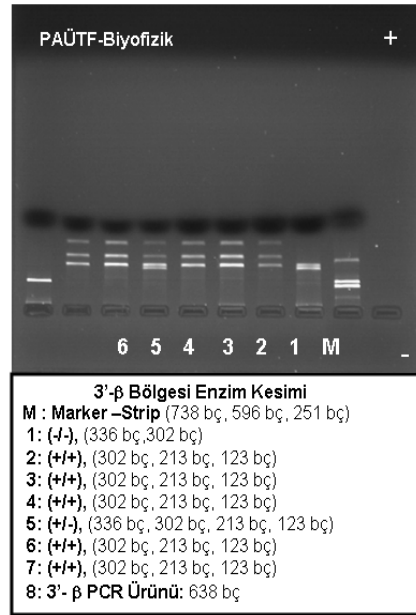
Şekil 4.6 5'- ψβ bölgesi, Hinc II restriksiyon enzimi kesim sonuçları



Şekil 4.7 3'- $\psi\beta$ bölgesi, Hinc II restriksiyon enzimi kesim sonuçları



Şekil 4.8 5'- β bölgesi, Ava II restriksiyon enzimi kesim sonuçları



Şekil 4.9 3'- β bölgesi, Hinf I restriksiyon enzimi kesim sonuçları

4.2. Beta Talasemi Majörlü Olgulara Ait RFLP Sonuçları

Tez çalışmasında toplam 28 beta talasemi majörlü olgu bulunmaktadır. Bu olgulardan 27 tanesi homozigot beta talasemi mutasyonu taşımakta, bir tanesi ise çift heterozigot gensel yapılanma göstermektedir. Yöremizde beta talasemi majörlü hasta sayısı “Denizli İl Sağlık Müdürlüğü” verilerine göre, yaklaşık 100 tanedir. “Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi (PAÜTF) Temel Tıp Bilimleri Bölümü Biyofizik Anabilim Dalı” eşgüdümünde, “Denizli İl Sağlık Müdürlüğü” ve “PAÜTF Kadın Hastalıkları - Doğum Anabilim Dalı” işbirliğinde yürütülen “Hemoglobinopati Kontrol Programı” çerçevesinde, Denizli ilinde beta talasemi majörlü olgu doğmamaktadır. Çalışılan homozigot 27 örnek içerisinde, β^+ IVS I- 110 (G>A) [n=16], β^0 IVS I- 1 (G>A) [n=1], β^+ IVS I- 5 (G>C) [n=2], β^+ IVS I- 6 (T>C) [n=3], β^0 IVS II- 1 (G>A) [n=1], β^0 FSC 8 (-AA) [n=2], β^0 FSC 8/9 (+G) [n=1], β^0 Kodon 6 (-A) [n=1] mutasyonları yer almaktadır.

Elde edilen sonuçlara göre; β^+ IVS I- 110 (G>A) mutasyonun + - - - - + + ve + - - - - +, β^0 IVS I- 1 (G>A) mutasyonun + - - - - + - ve + - - - - -, β^+ IVS I- 5 (G>C) mutasyonunun - + - + + + ve - + - + + +, β^+ IVS I- 6 (T>C) mutasyonunun + - - - - + ve - + + - - +, β^0 IVS II- 1 (G>A) mutasyonunun - + - + + -, β^0 FSC 8 (-AA)

mutasyonunun + - - - - +, β^0 FSC 8/9 (+G) mutasyonunun + - - - - + +, β^0 Kodon 6 (-A) mutasyonunun - + - + + + haplotipleri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Homozigot beta talasemi mutasyonu taşıyan DNA'lara ilişkin elde edilen tüm veriler Tablo 4.1- 4.2'de verilmektedir.

4.2.1. β^+ IVS I- 110 (G>A) Talasemi- Haplotip Analiz Sonuçları

Tablo 4.1 β^+ IVS I- 110 (G>A) homozigot olgulara ait enzim kesim sonuçları

NO	HAPLOTİP ^(a)							NO	HAPLOTİP ^(a)						
	1	2	3	4	5	6	7		1	2	3	4	5	6	7
01	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/+	09	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
02	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/+	10	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
03	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/+	11	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
04	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/+	12	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
05	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/+	13	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
06	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	14	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
07	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/+	15	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
08	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	16	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+

^(a) (1) ϵ -Hinc II, (2) G γ -Hind III, (3) A γ -Hind III, (4) 5' ψ β -Hinc II, (5) 3' ψ β -Hinc II, (6) β -Ava II (7) 3' β -Hinf I

4.2.2. Diğer Homozigot Olgulara Ait Haplotip Analiz Sonuçları

Tablo 4.2 Diğer homozigot olgulara ait enzim kesim sonuçları

NO	HAPLOTİP ^(a)						
	1	2	3	4	5	6	7
β^0 IVS I- 1 (G>A)							
01	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	-/-
β^+ IVS I- 6 (T>C)							
02	+/-	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	+/+
03	-/-	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	+/+
04	-/-	+/+	+/+	-/-	-/-	-/-	+/+
β^0 IVS II- 1 (G>A)							
05	-/-	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	-/-
β^+ IVS I- 5 (G>C)							
06	-/-	+/+	-/-	+/+	+/+	-/-	+/+
07	-/-	+/+	-/-	+/+	+/+	+/-	+/+
β^0 FSC 8 (-AA)							
08	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
09	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+
β^0 FSC 8/9 (+G)							
10	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
β^0 Kodon 6 (-A)							
11	-/-	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+

^(a) (1) ϵ -Hinc II, (2) G γ -Hind III, (3) A γ -Hind III, (4) 5' ψ β -Hinc II, (5) 3' ψ β -Hinc II, (6) β -Ava II, (7) 3' β -Hinf I

Elde edilen veriler (Tablo 4.1-4.2), 5' haplotipleri olarak yeniden değerlendirildiğinde; Tablo 4.3'deki sonuçlara ulaşılmaktadır. Buna göre, 27 homozigot olguya ait toplam 54 kromozomun içerisinde + - - - - , - + - + + ve - + + - - 5' haplotiplerinin, sırası ile 41 (% 76.0), 8 (% 15.0) ve 5 (% 9.0) allel'de görüldüğü anlaşılmaktadır (Tablo 4.3).

Tablo 4.3 Homozigot olgulardaki 5'- β globin gen ailesi haplotipleri

No	5'- ϵ Hinc II	G γ Hind III	A γ Hind III	5'- $\psi\beta$ Hinc II	3'- $\psi\beta$ Hinc II	Allel	(%)
01	+	-	-	-	-	41	76.0
02	-	+	-	+	+	8	15.0
03	-	+	+	-	-	5	9.0

Örneklerimiz içerisinde yer alan beta talasemi majörlü tek olgu molekül sel açıdan çift heterozigot karakter ortaya koymaktadır. Bu olgu, β^+ IVS I-6 (T>C) ve β^0 IVS I-130 (G>C) mutasyonlarını taşımaktadır. Yapılan aile çalışmasına anne, baba, kız kardeş ve erkek kardeş olmak üzere dört birey alınabilm iştir (Tablo 4.4).

Tablo 4.4 β^+ IVS I- 6 / β^0 IVS I- 130 (G>C) çift heterozigot olguya ait aile çalışması

NO	MUTASYON	BİLGİ	HAPLOTİP ^(a)						
			1	2	3	4	5	6	7
01	β^+ IVS I- 6 (T>C) / β^0 IVS I- 130 (G>C)	Kız Kardeş	+/-	+/+	+/+	-/-	+/-	-/-	+/+
02	β^0 IVS I- 130 (G>C) heterozigot	Erkek Kardeş	+/-	+/+	+/-	+/-	+/+	-/-	+/+
03	β^+ IVS I- 6 (T>C) heterozigot	Anne	-/-	+/+	+/-	+/-	+/-	-/-	+/+
04	β^0 IVS I- 130 (G>C) heterozigot	Baba	+/-	+/+	+/-	+/-	+/+	+/-	+/+

^(a) (1) ϵ -Hinc II, (2)G γ -Hind III, (3)A γ -Hind III, (4)5' $\psi\beta$ -Hinc II, (5)3' $\psi\beta$ -Hinc II, (6) β -Ava II, (7)3' β -Hinf I

4.3. Beta Talasemi Minörlü Olgulara Ait RFLP Sonuçları

Tez çalışmasında toplam 210 beta talasemi taşıyıcı olgu bulunmaktadır. Bu olgular içerisinde; β^+ IVS I- 110 (G>A) [n=89], β^0 IVS I- 1 (G>A) [n=40], β^+ IVS I- 6 (T>C) [n=17], β^0 IVS II- 1 (G>A) [n=17], β^0 Kodon 39 (C>T) [n=13], β^0 FSC 8 (-AA) [n=11], β^+ IVS II- 745 (C>G) [n=7], β^0 Kodon 44 (-C) [n=4], β^0 FSC 8/9 (+G) [n=3], β^+ -87 (C>G) [n=3], β^+ IVS I- 5(G>C) [n=2], β^0 IVS I- 116 (T>G) [n=2], β^0 IVS I- 130 (G>C) [n=2] mutasyonları yer almaktadır. Beta talasemi taşıyıcı olgular, gensel açıdan heterozigot allel yapısına sahip olduklarından, mutasyon ile ilişkili haplotip türlerinin belirlenmesinde “*Arlequin 3.1*” yazılımından yararlanılmıştır. Örnek sayısı 10 ve üzerinde olan mutasyonlar için bu yaklaşım kullanılarak ilişkili haplotip (ler) belirlenmiştir.

Elde edilen sonuçlara göre, β^+ IVS I- 110 (G>A) mutasyonunun + - - - - + + (% 57.6), β^0 IVS I- 1 (G>A) mutasyonunun + - - - - + - (% 55.6), β^+ IVS I- 6 (T>C) mutasyonunun, + - - - - + (% 34.5), β^0 IVS II- 1 (G>A) mutasyonunun - + - + + + + (% 47.1), β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonunun - + + - + + + (% 30.1), β^0 FSC 8 (-AA) mutasyonunun - + - + + + + ve + - - - - + (% 29.0) haplotileri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. Elde edilen tüm veriler, Tablo 4.5- 4. 23’de verilmektedir.

Tablo 4.5 β^+ IVS I- 110 (G>A) heterozigot olgulara ait enzim kesim sonuçları

NO	HAPLOTİP ^(a)							NO	HAPLOTİP ^(a)						
	1	2	3	4	5	6	7		1	2	3	4	5	6	7
01	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	46	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
02	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	47	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
03	+/+	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	48	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+
04	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	49	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+
05	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	50	+/+	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+
06	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	51	+/+	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+
07	+/+	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	52	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
08	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	53	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
09	+/+	+/+	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	54	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
10	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	55	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
11	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	56	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+
12	+/+	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	57	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
13	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	58	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+
14	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	59	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
15	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	60	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
16	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	61	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
17	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	62	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
18	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	63	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	+/+	+/+
19	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	64	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
20	+/+	+/+	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	65	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
21	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	66	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+
22	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	67	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
23	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	68	+/+	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+
24	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	69	+/+	+/+	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+
25	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	70	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
26	+/+	+/+	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	71	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	+/+	+/+
27	+/+	-/-	+/+	-/-	-/-	+/+	+/+	72	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
28	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	73	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
29	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	74	+/+	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+
30	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	75	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
31	-/-	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	76	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
32	+/+	+/+	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	77	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	+/+	+/+
33	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	78	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+
34	+/+	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	79	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+
35	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	80	+/+	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+
36	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	81	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
37	+/+	+/+	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	82	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
38	+/+	+/+	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	83	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
39	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	84	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
40	+/+	+/+	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	85	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	+/+
41	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	86	+/+	+/+	+/+	-/-	-/-	+/+	+/+
42	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+	87	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
43	+/+	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	88	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+
44	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	89	+/+	-/-	-/-	+/+	+/+	+/+	+/+
45	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	(a) (1) ϵ -Hinc II, (2) $G\gamma$ -Hind III, (3) $A\gamma$ -Hind III, (4) $5'\psi\beta$ -Hinc II, (5) $3'\psi\beta$ -Hinc II, (6) β -Ava II, (7) $3'\beta$ -Hinf I							

Tablo 4.6 β^+ IVS I- 110 (G>A) heterozigot olgulara ait haplotip analizi sonuçları

No	Haplotip		5'- ϵ Hinc II	G γ Hind III	A γ Hind III	5'- $\psi\beta$ Hinc II	3'- $\psi\beta$ Hinc II	5'- β Ava II	3'- β Hinf I
	Sıklık	SS*							
01	0.576266	0.038235	+	-	-	-	-	+	+
02	0.096631	0.024331	+	-	-	-	-	-	+
03	0.062551	0.019899	+	-	-	-	-	+	-
04	0.058656	0.021683	-	+	-	+	+	+	+
05	0.039588	0.016961	-	+	-	+	+	+	-
06	0.031048	0.015256	-	+	-	-	+	+	+
07	0.024867	0.013552	-	+	+	-	+	+	+
08	0.013739	0.009195	+	+	+	-	+	+	+
09	0.011581	0.007787	-	-	-	-	-	+	+
10	0.008497	0.008919	-	+	-	+	+	-	+
11	0.008479	0.007322	-	+	+	-	+	+	-
12	0.007866	0.008107	-	+	-	-	+	+	-
13	0.006750	0.006566	-	+	+	+	-	+	+
14	0.006558	0.006381	-	+	+	-	-	+	+
15	0.005821	0.005397	+	+	+	-	-	+	+
16	0.005723	0.005360	+	-	-	-	+	+	+
17	0.005675	0.005671	-	-	-	-	+	+	-
18	0.005618	0.004910	+	-	+	-	-	-	+
19	0.005618	0.005316	-	-	-	+	+	+	+
20	0.005202	0.005856	-	+	+	-	-	-	+
21	0.005053	0.005488	-	+	+	-	-	-	-
22	0.004486	0.005518	-	+	+	+	-	-	+
23	0.003314	0.004796	+	+	+	-	+	-	+
24	0.000412	0.003181	-	+	-	-	+	-	+
*: Standart Sapma									
Arlequin Yazılımı Değişkenleri									
Epsilon değerini kontrol için tekrarlama: 1e-7					Toplam olası haplotip sayısı: 98				
EM algoritması tekrar sayısı: 50					Olası haplotiplerin sıklıkları toplamı: 1				
Allel sayısı: 178					Toplam listelenmiş haplotip sayısı: 24				
En fazla tekrar sayısı: 1000					Listelenmiş haplotiplerin sıklıkları toplamı: 1				
SS değerlendirmesi için tekrar sayısı: 1000					SS karşılaştırma sayısı: 50				

Tablo 4.7 β^0 IVS I- 1 (G>A) heterozigot olgulara ait enzim kesim sonuçları

NO	HAPLOTİP ^(a)							NO	HAPLOTİP ^(a)						
	1	2	3	4	5	6	7		1	2	3	4	5	6	7
01	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-		+/-	21	+/-	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/-
02	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/+	+/-	22	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/-
03	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	-/-	23	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
04	+/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/-	24	+/-	+/-	+/-	-/-	+/-	+/+	+/+
05	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	-/-	25	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/-
06	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	-/-	26	+/-	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/-
07	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/-	27	+/-	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/-
08	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/-	28	+/-	+/-	+/-	-/-	+/-	+/+	+/-
09	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/-	29	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/+	+/-
10	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/+	-/-	30	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/-
11	-/-	+/+	-/-	+/-	+/+	+/-	+/-	31	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/-
12	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/-	32	+/-	-/-	-/-	+/-	+/-	+/+	+/-
13	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/+	+/-	33	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	-/-
14	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/-	34	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/-
15	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/-	35	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/-
16	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	-/-	36	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/-
17	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	-/-	37	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/-
18	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/+	+/-	38	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/-
19	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	-/-	39	+/-	-/-	-/-	+/-	+/-	+/+	+/-
20	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/-	40	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/-

^(a) (1) ϵ -Hinc II, (2) $G\gamma$ -Hind III, (3) $A\gamma$ -Hind III, (4) $5'\psi\beta$ -Hinc II, (5) $3'\psi\beta$ -Hinc II, (6) β -Ava II, (7) $3'\beta$ -Hinf I

Tablo 4.8 β^0 IVS I- 1 (G>A) heterozigot olgulara ait haplotip analizi sonuçları

No	Haplotip		5'- ϵ Hinc II	G γ Hind III	A γ Hind III	5'- $\psi\beta$ Hinc II	3'- $\psi\beta$ Hinc II	5'- β Ava II	3'- β Hinf I
	Sıklık	SS*							
01	0.556562	0.057272	+	-	-	-	-	+	-
02	0.152940	0.043068	+	-	-	-	-	+	+
03	0.090498	0.032809	+	-	-	-	-	-	+
04	0.059560	0.029023	-	+	-	+	+	+	+
05	0.037500	0.022121	-	+	+	-	+	-	+
06	0.025000	0.017743	-	-	-	+	+	+	+
07	0.025000	0.018844	-	+	+	-	+	+	+
08	0.018438	0.017902	-	+	-	+	+	+	-
09	0.012500	0.011560	-	+	-	-	+	-	-
10	0.012500	0.012406	-	-	-	-	-	+	+
11	0.009502	0.012033	-	+	-	+	+	-	+

*: Standart Sapma

Arlequin Yazılımı Değişkenleri

Epsilon değerini kontrol için tekrarlama: 1e-7	Toplam olası haplotip sayısı: 96
EM algoritması tekrar sayısı: 50	Olası haplotiplerin sıklıkları toplamı: 1
Allel sayısı: 80	Toplam listelenmiş haplotip sayısı: 11
En fazla tekrar sayısı: 1000	Listelenmiş haplotiplerin sıklıkları toplamı: 1
SS değerlendirmesi için tekrar sayısı: 1000	SS karşılaştırma sayısı: 50

Tablo 4.9 β^+ IVS I- 6 (T >C) heterozigot olgulara ait enzim kesim sonuçları

NO	HAPLOTİP ^(a)							NO	HAPLOTİP ^(a)						
	1	2	3	4	5	6	7		1	2	3	4	5	6	7
01	+/-	-/-	+/-	-/-	-/-	-/-	+/+	10	+/-	+/+	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-
02	+/-	-/-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/+	11	+/-	+/-	+/-	-/-	-/-	+/-	+/+
03	+/-	+/-	+/-	-/-	-/-	+/-	+/-	12	+/-	+/-	+/-	-/-	-/-	+/-	+/+
04	+/-	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	+/+	13	+/+	-/-	-/-	-/-	+/-	-/-	+/+
05	+/-	+/-	+/-	-/-	-/-	+/-	+/-	14	-/-	+/+	+/-	+/-	+/-	+/-	+/+
06	+/-	+/-	+/-	-/-	-/-	+/-	+/+	15	-/-	+/+	+/+	-/-	-/-	+/-	+/+
07	-/-	+/+	+/-	+/-	+/-	-/-	+/+	16	+/-	+/-	+/-	-/-	-/-	-/-	+/+
08	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/+	17	+/-	+/-	+/-	-/-	-/-	+/-	+/+
09	-/-	+/+	-/-	+/-	+/-	+/-	+/+								

^(a) (1) ϵ -Hinc II, (2) $G\gamma$ -Hind III, (3) $A\gamma$ -Hind III, (4) $5'\psi\beta$ -Hinc II, (5) $3'\psi\beta$ -Hinc II, (6) β -Ava II, (7) $3'\beta$ -Hinf I

Tablo 4.10 β^+ IVS I- 6 (T >C) heterozigot olgulara ait haplotip analizi sonuçları

No	Haplotip		5'- ϵ Hinc II	$G\gamma$ Hind III	$A\gamma$ Hind III	5'- $\psi\beta$ Hinc II	3'- $\psi\beta$ Hinc II	5'- β Ava II	3'- β Hinf I
	Sıklık	SS*							
01	0.345542	0.089161	+	-	-	-	-	-	+
02	0.198483	0.082066	-	+	+	-	-	+	+
03	0.125046	0.071761	-	+	+	-	-	-	+
04	0.088235	0.052616	-	+	-	+	+	-	+
05	0.058824	0.043250	-	+	+	-	-	+	-
06	0.036811	0.036763	+	-	-	-	-	+	+
07	0.029412	0.026096	+	-	-	-	+	-	+
08	0.029412	0.026470	-	-	+	-	-	-	+
09	0.029412	0.028180	-	+	-	-	-	+	+
10	0.029412	0.029582	-	-	-	+	+	+	+
11	0.029412	0.030630	+	+	-	+	+	-	-

*: Standart Sapma

Arlequin Yazılımı Değişkenleri	
Epsilon değerini kontrol için tekrarlama: 1e-7	Toplam olası haplotip sayısı: 92
EM algoritması tekrar sayısı: 50	Olası haplotiplerin sıklıkları toplamı: 1
Allel sayısı: 34	Toplam listelenmiş haplotip sayısı: 11
En fazla tekrar sayısı: 1000	Listelenmiş haplotiplerin sıklıkları toplamı: 1
SS değerlendirmesi için tekrar sayısı: 1000	SS karşılaştırma sayısı: 60

Tablo 4.11 β^0 IVS II- 1 (G>A) heterozigot olgulara ait enzim kesim sonuçları

NO	HAPLOTİP ^(a)							NO	HAPLOTİP ^(a)						
	1	2	3	4	5	6	7		1	2	3	4	5	6	7
01	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/+	+/-	10	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/+	+/-
02	-/-	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/-	11	-/-	+/+	-/-	+/-	+/+	+/+	+/-
03	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/+	-/-	12	-/-	+/+	+/-	+/-	+/+	+/-	+/-
04	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	+/-	13	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/-
05	-/-	+/-	-/-	+/+	+/+	+/+	+/-	14	-/-	+/+	+/-	+/-	+/+	+/-	+/-
06	-/-	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/-	15	-/-	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/-
07	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/+	+/-	16	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/+	+/-
08	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/+	+/-	17	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/-
09	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/+	+/-								

^(a) (1) ϵ -Hinc II, (2) $\text{G}\gamma$ -Hind III, (3) $\text{A}\gamma$ -Hind III, (4) $5'\psi\beta$ -Hinc II, (5) $3'\psi\beta$ -Hinc II, (6) β -Ava II, (7) $3'\beta$ -Hinf I

Tablo 4.12 β^0 IVS II-1 (G>A) heterozigot olgulara ait haplotip analizi sonuçları

No	Haplotip		5'- ϵ Hinc II	$\text{G}\gamma$ Hind III	$\text{A}\gamma$ Hind III	5'- $\psi\beta$ Hinc II	3'- $\psi\beta$ Hinc II	5'- β Ava II	3'- β Hinf I
	Sıklık	SS*							
01	0.470588	0.088853	-	+	-	+	+	+	+
02	0.205882	0.076412	+	-	-	-	-	+	-
03	0.117647	0.058819	-	+	-	+	+	+	-
04	0.058824	0.040143	-	+	+	-	+	-	-
05	0.058824	0.042814	+	-	-	-	-	-	-
06	0.029412	0.027622	-	-	-	+	+	+	-
07	0.029412	0.028548	+	-	+	-	-	-	-
08	0.029412	0.030298	-	+	-	-	+	+	-

*: Standart Sapma

Arlequin Yazılımı Değişkenleri

Epsilon değerini kontrol için tekrarlama: 1e-7	Toplam olası haplotip sayısı: 128
EM algoritması tekrar sayısı: 50	Olası haplotiplerin sıklıkları toplamı: 1
Allel sayısı: 34	Toplam listelenmiş haplotip sayısı: 8
En fazla tekrar sayısı: 1000	Listelenmiş haplotiplerin sıklıkları toplamı: 1
SS değerlendirmesi için tekrar sayısı: 1000	SS karşılaştırma sayısı: 50

Tablo 4.13 β^0 FSC 8 (-AA) heterozigot olgulara ait enzim kesim sonuçları

NO	HAPLOTİP ^(a)							NO	HAPLOTİP ^(a)						
	1	2	3	4	5	6	7		1	2	3	4	5	6	7
01	+/-	+/+	-/-	+/-	+/-	+/-	+/+	07	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/-
02	-/-	+/+	-/-	+/+	+/+	+/-	+/+	08	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/+
03	-/-	+/-	+/-	+/+	+/+	+/-	+/+	09	+/-	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/-
04	+/-	-/-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/+	10	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/+
05	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/-	-/-	11	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/+
06	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/+								

^(a) (1) ϵ -Hinc II, (2) $\text{G}\gamma$ -Hind III, (3) $\text{A}\gamma$ -Hind III, (4) $5'\psi\beta$ -Hinc II, (5) $3'\psi\beta$ -Hinc II, (6) β -Ava II, (7) $3'\beta$ -Hinf I

Tablo 4.14 β^0 FSC 8 (-AA) heterozigot olgulara ait haplotip analizi sonuçları

No	Haplotip		5'- ϵ Hinc II	G γ Hind III	A γ Hind III	5'- $\psi\beta$ Hinc II	3'- $\psi\beta$ Hinc II	5'- β Ava II	3'- β Hinf I
	Sıklık	SS*							
01	0.290366	0.109035	-	+	-	+	+	+	+
02	0.290366	0.113155	+	-	-	-	-	-	+
03	0.066910	0.060744	+	-	-	-	-	-	-
04	0.066910	0.063661	-	+	-	+	+	+	-
05	0.049271	0.051885	-	-	-	+	+	+	+
06	0.049271	0.053483	+	+	-	-	-	-	+
07	0.047999	0.049358	+	-	-	-	-	+	-
08	0.047999	0.050824	-	+	-	+	+	-	+
09	0.045455	0.041453	-	-	+	+	+	-	+
10	0.045455	0.043082	-	+	+	-	+	+	-

*: Standart Sapma

Arlequin Yazılımı Değişkenleri

Epsilon değerini kontrol için tekrarlama: 1e-7	Toplam olası haplotip sayısı: 100
EM algoritması tekrar sayısı: 50	Olası haplotiplerin sıklıkları toplamı: 1
Allel sayısı: 22	Toplam listelenmiş haplotip sayısı: 10
En fazla tekrar sayısı: 1000	Listelenmiş haplotiplerin sıklıkları toplamı: 1
SS değerlendirmesi için tekrar sayısı: 1000	SS karşılaştırma sayısı: 50

Tablo 4.15 β^0 Kodon 39 (C>T) heterozigot olgulara ait enzim kesim sonuçları

NO	HAPLOTİP ^(a)							NO	HAPLOTİP ^(a)						
	1	2	3	4	5	6	7		1	2	3	4	5	6	7
01	+/-	+/-	+/-	-/-	+/-	+/+	+/+	08	-/-	+/+	-/-	+/-	+/+	+/+	-/-
02	-/-	+/+	+/-	+/-	+/+	+/-	+/-	09	+/-	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/+
03	-/-	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/-	10	+/-	+/-	-/-	+/-	-/-	+/+	+/+
04	-/-	+/+	+/-	+/-	+/+	+/+	+/+	11	+/-	+/-	-/-	-/-	+/-	+/+	+/-
05	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+	12	+/-	-/-	+/-	-/-	+/-	+/+	+/+
06	-/-	+/+	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	13	+/-	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/+
07	-/-	+/-	+/-	+/-	+/+	+/+	+/-								

^(a) (1) ϵ -Hinc II, (2)G γ -Hind III, (3)A γ -Hind III, (4)5'- $\psi\beta$ -Hinc II, (5)3'- $\psi\beta$ -Hinc II, (6) β -Ava II (7)3'- β -Hinf I

Tablo 4.16 β^0 Kodon 39 (C>T) heterozigot olgulara ait haplotip analizi sonuçları

No	Haplotip		5'- ϵ Hinc II	G γ Hind III	A γ Hind III	5'- $\psi\beta$ Hinc II	3'- $\psi\beta$ Hinc II	5'- β Ava II	3'- β Hinf I
	Sıklık	SS*							
01	0.300880	0.109593	-	+	+	-	+	+	+
02	0.230769	0.103357	+	-	-	-	-	+	+
03	0.076923	0.056488	-	+	-	-	+	+	-
04	0.076923	0.056942	+	-	-	-	-	-	+
05	0.045274	0.042666	-	-	+	-	+	+	+
06	0.045274	0.053871	-	+	-	+	+	+	-
07	0.038462	0.038214	-	+	+	-	+	+	-
08	0.038462	0.038252	-	+	-	+	+	-	-
09	0.038462	0.038357	-	-	-	-	-	-	+
10	0.038462	0.042275	-	+	-	+	-	+	+
11	0.038462	0.043208	-	+	-	+	+	+	+
12	0.031649	0.035404	-	-	-	+	+	+	-

*: Standart Sapma

Arlequin Yazılımı Değişkenleri	
Epsilon değerini kontrol için tekrarlama: 1e-7	Toplam olası haplotip sayısı: 60
EM algoritması tekrar sayısı: 50	Olası haplotiplerin sıklıkları toplamı: 1
Allel sayısı: 26	Toplam listelenmiş haplotip sayısı: 12
En fazla tekrar sayısı: 1000	Listelenmiş haplotiplerin sıklıkları toplamı: 1
SS değerlendirmesi için tekrar sayısı: 1000	SS karşılaştırma sayısı: 50

Tablo 4.17 Diğer heterozigot olgulara ait enzim kesim sonuçları

NO	HAPLOTİP ^(a)						
	1	2	3	4	5	6	7
β^+ IVS II- 745 (C>G)							
01	+/-	+/-	-/-	+/-	-/-	+/-	+/+
02	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/-
03	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/-
04	+/-	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/+
05	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	-/-	+/+
06	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/-
07	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/+
β^+ IVS I- 5(G>C)							
08	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/-
09	+/-	+/-	-/-	-/-	+/-	+/-	+/-
β^0 FSC 8/9 (+G)							
10	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
11	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
12	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/-
β^0 Kodon 44 (-C)							
13	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/+	+/+
14	+/-	+/-	-/-	+/-	+/-	+/-	+/+
15	-/-	+/+	-/-	+/+	+/+	+/+	+/-
16	-/-	+/+	-/-	+/+	+/-	+/+	+/-
β^+ - 87 (C>G)							
17	-/-	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	-/-
18	-/-	+/+	-/-	+/+	+/-	+/-	+/-
19	+/-	+/-	-/-	+/-	-/-	+/+	+/-
β^0 IVS I- 116 (T>G)							
20	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/+	+/+
21	+/+	-/-	-/-	-/-	-/-	+/-	+/+
β^0 IVS I- 130 (G>C)							
22	+/-	+/+	+/-	+/-	+/+	-/-	-/-
23	+/-	+/+	+/-	+/-	+/+	+/-	+/+
(a) (1) ϵ -Hinc II, (2)G γ -Hind III, (3)A γ -Hind III, (4)5' ψ β -Hinc II, (5)3' ψ β -Hinc II, (6) β - Ava II, (7)3' β -Hinf I							

Beta talasemi minörlü olgularda, elde edilen (Tablo 4.6, 4.8, 4.10, 4.12, 4.14, 4.16) haplotip ilişkileri, 5' haplotipleri açısından değerlendirildiğinde varılan sonuçlar Tablo 4.18- 4.23'de verilmektedir. Bu verilere göre; β^+ IVS I- 110 (G>A), β^0 IVS I- 1 (G>A), β^+ IVS I- 6 (T>C), β^0 IVS II- 1 (G>A), β^0 FSC8 (-AA), β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonlarının sırası ile + - - - - (% 73.6), + - - - - (% 79.9), + - - - - (% 38.3), - + - + + (% 58.9), - + - + + (% 40.5) ve + - - - - (% 40.5), - + + - + (% 33.9) 5' haplotipleri ile yüksek oranda ilişkili olduğu görülmektedir.

Tablo 4.18 β^+ IVS I- 110 (G>A) heterozigot olgulardaki 5'- β globin gen ailesi haplotipleri

Haplotip		5'- ϵ Hinc II	G γ Hind III	A γ Hind III	5'- $\psi\beta$ Hinc II	3'- $\psi\beta$ Hinc II	5'- β Ava II	3'- β Hinf I
Sıklık	SS*	5'-haplotipler					3'-haplotipler	
0.576266	0.038235	+	-	-	-	-	+	+
0.096631	0.024331	+	-	-	-	-	-	+
0.062551	0.019899	+	-	-	-	-	+	-
% 73.6	-							
0.058656	0.021683	-	+	-	+	+	+	+
0.039588	0.016961	-	+	-	+	+	+	-
0.008497	0.008919	-	+	-	+	+	-	+
% 10.7	-							
0.031048	0.015256	-	+	-	-	+	+	+
0.007866	0.008107	-	+	-	-	+	+	-
0.000412	0.003181	-	+	-	-	+	-	+
% 3.9	-							
0.024867	0.013552	-	+	+	-	+	+	+
0.008479	0.007322	-	+	+	-	+	+	-
% 3.3	-							
0.013739	0.009195	+	+	+	-	+	+	+
0.003314	0.004796	+	+	+	-	+	-	+
% 1.7	-							
% 6.8	-	DİĞERLERİ						
% 100.0		TOPLAM						

Tablo 4.19 β^0 IVS I- 1 (G>A) heterozigot olgulardaki 5'- β globin gen ailesi haplotipleri

Haplotip		5'- ϵ Hinc II	G γ Hind III	A γ Hind III	5'- $\psi\beta$ Hinc II	3'- $\psi\beta$ Hinc II	5'- β Ava II	3'- β Hinf I
Sıklık	SS*	5'-haplotipler					3'-haplotipler	
0.556562	0.057272	+	-	-	-	-	+	-
0.152940	0.043068	+	-	-	-	-	+	+
0.090498	0.032809	+	-	-	-	-	-	+
% 79.9	-							
0.059560	0.029023	-	+	-	+	+	+	+
0.018438	0.017902	-	+	-	+	+	+	-
0.009502	0.012033	-	+	-	+	+	-	+
% 8.7	-							
0.037500	0.022121	-	+	+	-	+	-	+
0.025000	0.018844	-	+	+	-	+	+	+
% 6.3								
% 5.1	-	DİĞERLERİ						
% 100.0		TOPLAM						

Tablo 4.20 β^+ IVS I- 6 (T >C) heterozigot olgulardaki 5'- β globin gen ailesi haplotipleri

Haplotip		5'- ϵ Hinc II	G γ Hind III	A γ Hind III	5'- $\psi\beta$ Hinc II	3'- $\psi\beta$ Hinc II	5'- β Ava II	3'- β Hinf I
Sıklık	SS*	5'-haplotipler					3'-haplotipler	
0.345542	0.089161	+	-	-	-	-	-	+
0.036811	0.036763	+	-	-	-	-	+	+
% 38.3	-							
0.198483	0.082066	-	+	+	-	-	+	+
0.125046	0.071761	-	+	+	-	-	-	+
0.058824	0.043250	-	+	+	-	-	+	-
% 38.2	-							
0.088235	0.052616	-	+	-	+	+	-	+
% 8.9								
0.029412	0.026096	+	-	-	-	+	-	+
% 2.9								
% 11.7	-	DİĞERLERİ						
% 100.0		TOPLAM						

Tablo 4.21 β^0 IVS II- 1 (G >A) heterozigot olgulardaki 5'- β globin gen ailesi haplotipleri

Haplotip		5'- ϵ Hinc II	G γ Hind III	A γ Hind III	5'- $\psi\beta$ Hinc II	3'- $\psi\beta$ Hinc II	5'- β Ava II	3'- β Hinf I
Sıklık	SS*	5'-haplotipler					3'-haplotipler	
0.470588	0.088853	-	+	-	+	+	+	+
0.117647	0.058819	-	+	-	+	+	+	-
% 58.9	-							
0.205882	0.076412	+	-	-	-	-	+	-
0.058824	0.042814	+	-	-	-	-	-	-
% 26.5	-							
0.058824	0.040143	-	+	+	-	+	-	-
% 5.9	-							
% 8.7	-	DİĞERLERİ						
% 100.0		TOPLAM						

Tablo 4.22 β^0 FSC 8 (-AA) heterozigot olgulardaki 5'- β globin gen ailesi haplotipleri

Haplotip		5'- ϵ Hinc II	G γ Hind III	A γ Hind III	5'- $\psi\beta$ Hinc II	3'- $\psi\beta$ Hinc II	5'- β Ava II	3'- β Hinf I
Sıklık	SS*	5'-haplotipler					3'-haplotipler	
0.290366	0.109035	-	+	-	+	+	+	+
0.066910	0.063661	-	+	-	+	+	+	-
0.047999	0.050824	-	+	-	+	+	-	+
% 40.5	-							
0.290366	0.113155	+	-	-	-	-	-	+
0.066910	0.060744	+	-	-	-	-	-	-
0.047999	0.049358	+	-	-	-	-	+	-
% 40.5	-							
% 19.0	-	DİĞERLERİ						
% 100.0		TOPLAM						

Tablo 4.23 β^0 Kodon 39 (C>T) heterozigot olgulardaki 5'- β globin gen ailesi haplotipleri

Haplotip		5'- ϵ Hinc II	G γ Hind III	A γ Hind III	5'- $\psi\beta$ Hinc II	3'- $\psi\beta$ Hinc II	5'- β Ava II	3'- β Hinf I
Sıklık	SS*	5'-haplotipler					3'-haplotipler	
0.300880	0.109593	-	+	+	-	+	+	+
0.038462	0.038214	-	+	+	-	+	+	-
% 33.9	-							
0.230769	0.103357	+	-	-	-	-	+	+
0.076923	0.056942	+	-	-	-	-	-	+
% 30.8	-							
0.045274	0.053871	-	+	-	+	+	+	-
0.038462	0.038252	-	+	-	+	+	-	-
0.038462	0.043208	-	+	-	+	+	+	+
% 12.1								
0.076923	0.056488	-	+	-	-	+	+	-
% 7.7	-							
0.045274	0.042666	-	-	+	-	+	+	+
% 4.5	-							
% 11.0	-	DİĞERLERİ						
% 100.0		TOPLAM						

4.4. Xmn I Polimorfizm Sonuçları

Hemoglobinopatilerde, özellikle beta talasemi majörlü ve orak hücre anemili olguların klinik uygulamalarında, G γ geni promoter bölgesinde yer alan Xmn I polimorfizminin özel bir yeri olduğu bilinmektedir. Bu bakış açısı altında, çalışmamızda Xmn I polimorfizmine ilişkin verilerin de elde edilmesi amaçlanmıştır. Tez çalışmasında bu amaca dönük biçimde, sağlıklı 100, beta talasemi majörlü 27 ve beta talasemi minörlü 210 olgu kullanılmıştır. Bu olgulardan elde edilen Xmn I polimorfizmi sonuçları, Tablo 4.24 - 4.27'de verilmektedir.

Xmn I polimorfizmine ilişkin sonuçlarda, polimorfizmin bulunduğu alleller dikkate alındığında elde edilen veriler kromozom düzeyinde değerlendirilmiştir. Kromozom düzeyinde yapılan değerlendirmede elde edilen sonuçlar Tablo 4. 28'de verilmektedir. Bu sonuçlara göre, kromozom düzeyindeki allel sıklıkları, normal bireylerde % 78.5 Xmn I (-), % 21.5 Xmn I (+) olarak gözlenmiştir. Homozigot olgularda, % 92.6 oranında Xmn I (-), % 7.4 oranında ise Xmn I (+) şeklinde belirlenmiştir. Diğer taraftan heterozigot olgularda ise, % 82.1 oranında Xmn I (-), % 17.9 oranında Xmn I (+) olarak saptanmıştır.

Tablo 4.24 Xmn I sonuçları (normal olgular, n=100)

No.	Kodu	Xmn I	No.	Kodu	Xmn I	No.	Kodu	Xmn I
01	101427	-/-	37	101527	-/-	73	102130	+/-
02	101435	-/-	38	101433	-/-	74	102142	-/-
03	101424	+/-	39	101460	-/-	75	102154	-/-
04	101876	-/-	40	101454	+/-	76	102185	-/-
05	101277	-/-	41	101375	-/-	77	102161	-/-
06	101297	+/+	42	101345	-/-	78	102162	-/-
07	101310	-/-	43	101446	+/+	79	102164	-/-
08	101366	+/-	44	101377	-/-	80	102168	-/-
09	101124	+/-	45	101282	+/-	81	102174	-/-
10	101148	+/+	46	101301	-/-	82	102178	+/-
11	101170	-/-	47	101640	-/-	83	102179	-/-
12	101628	+/-	48	101323	-/-	84	102186	+/-
13	101426	+/-	49	101126	-/-	85	102188	+/-
14	101635	-/-	50	101324	-/-	86	102192	-/-
15	101051	+/-	51	101305	-/-	87	102193	-/-
16	101176	+/-	52	101276	+/-	88	102195	+/-
17	101897	+/-	53	101319	+/-	89	102199	+/-
18	101506	-/-	54	101910	-/-	90	102207	+/-
19	101367	-/-	55	101891	-/-	91	102230	-/-
20	101265	-/-	56	101000	+/-	92	102241	+/-
21	101901	-/-	57	101285	-/-	93	102243	+/-
22	101639	+/-	58	101471	-/-	94	102252	-/-
23	101355	-/-	59	101006	+/-	95	102260	+/-
24	101343	+/-	60	101311	-/-	96	102274	-/-
25	101147	-/-	61	101906	-/-	97	102275	-/-
26	101907	-/-	62	101322	-/-	98	102278	-/-
27	101905	-/-	63	101330	+/-	99	102246	-/-
28	101130	+/-	64	101372	+/-	100	102253	-/-
29	101132	-/-	65	101066	-/-			
30	101613	+/-	66	101349	+/-			
31	101621	+/-	67	101904	-/-			
32	101180	+/-	68	101902	-/-			
33	100985	-/-	69	101306	+/-			
34	101283	+/-	70	101340	-/-			
35	101626	-/-	71	101365	+/-			
36	101299	-/-	72	102129	+/-			

Tablo 4.25 Xmn I sonuçları (homozigot beta talasemi hasta, n=27)

NO	Xmn I	NO	Xmn I
β^+ IVS I- 110 (G>A)		β^+ IVS I- 6 (T>C)	
01	-/-	17	-/-
02	-/-	18	-/-
03	-/-	19	-/-
04	-/-	β^+ IVS I- 5 (G>C)	
05	-/-	20	+/-
06	-/-	21	+/+
07	-/-	β^0 IVS I- 1 (G>A)	
08	-/-	22	-/-
09	-/-	β^0 Kodon 8 (-AA)	
10	-/-	23	-/-
11	-/-	24	-/-
12	-/-	β^0 Kodon 8/9 (+G)	
13	-/-	25	-/-
14	-/-	β^0 IVS II- 1 (G>A)	
15	-/-	26	+/-
16	-/-	β^0 Kodon 6 (-A)	
		27	-/-

Tablo 4.26 Xmn I sonuçları (IVS I- 110 beta talasemi heterozigot, n=89)

NO	Xmn I	NO	Xmn I	NO	Xmn I	NO	Xmn I	NO	Xmn I
01	-/-	19	-/-	37	-/-	55	-/-	73	-/-
02	-/-	20	-/-	38	-/-	56	+/+	74	-/-
03	+/-	21	-/-	39	-/-	57	-/-	75	+/-
04	-/-	22	-/-	40	-/-	58	-/-	76	-/-
05	-/-	23	-/-	41	-/-	59	+/-	77	+/-
06	-/-	24	-/-	42	-/-	60	+/-	78	+/-
07	-/-	25	-/-	43	-/-	61	-/-	79	-/-
08	-/-	26	-/-	44	-/-	62	+/-	80	-/-
09	-/-	27	-/-	45	+/-	63	-/-	81	+/-
10	-/-	28	-/-	46	+/-	64	-/-	82	-/-
11	-/-	29	-/-	47	+/-	65	+/-	83	-/-
12	-/-	30	-/-	48	+/-	66	+/-	84	-/-
13	-/-	31	-/-	49	+/-	67	-/-	85	-/-
14	-/-	32	-/-	50	+/-	68	+/-	86	-/-
15	-/-	33	-/-	51	+/-	69	-/-	87	+/-
16	-/-	34	-/-	52	+/-	70	-/-	88	-/-
17	-/-	35	-/-	53	+/-	71	+/-	89	-/-
18	-/-	36	-/-	54	+/-	72	-/-		

Tablo 4.27 Xmn I sonuçları (Diğer beta talasemi heterozigot, n=121)

NO	Xmn I	NO	Xmn I	NO	Xmn I
β^0 IVS I- 1 (G>A)		β^+ IVS I- 6 (T>C)		β^0 Kodon 39 (C>T)	
01	-/-	43	-/-	84	-/-
02	-/-	44	-/-	85	-/-
03	-/-	45	-/-	86	-/-
04	-/-	46	-/-	87	-/-
05	-/-	47	-/-	88	-/-
06	-/-	48	-/-	89	-/-
07	-/-	49	+/-	90	+/-
08	-/-	50	+/-	91	+/-
09	-/-	51	+/-	92	+/-
10	-/-	52	-/-	93	+/-
11	-/-	53	+/-	94	-/-
12	-/-	54	-/-	95	-/-
13	-/-	55	-/-	96	-/-
14	-/-	56	-/-	β^0 Kodon 8 (-AA)	
15	-/-	57	-/-	97	-/-
16	-/-	58	-/-	98	-/-
17	-/-	59	-/-	99	-/-
18	-/-	β^0 IVS II- 1 (G>A)		100	+/-
19	-/-	60	+/-	101	+/-
20	-/-	61	+/-	102	+/-
21	+/-	62	+/-	103	-/-
22	+/-	63	+/-	104	+/-
23	+/-	64	+/-	105	+/-
24	+/-	65	+/-	106	+/-
25	-/-	66	+/-	107	-/-
26	-/-	67	+/-	β^0 Kodon 8/9 (+G)	
27	-/-	68	+/-	108	-/-
28	-/-	69	+/-	109	-/-
29	-/-	70	+/-	110	-/-
30	-/-	71	+/-	β^0 Kodon 44 (-C)	
31	-/-	72	+/-	111	+/-
32	+/-	73	+/-	112	+/+
33	-/-	74	+/-	113	+/-
34	-/-	75	+/-	114	+/-
35	-/-	76	-/-	β^+- 87 (C>G)	
36	-/-	β^+ IVS II- 745 (C>G)		115	+/-
37	+/-	77	-/-	116	+/+
38	-/-	78	+/-	117	-/-
39	-/-	79	+/-	β^0 IVS I- 130 (G>C)	
40	-/-	80	-/-	118	-/-
β^+ IVS I- 5 (G>C)		81	-/-	119	+/-
41	-/-	82	+/-	β^0 IVS I- 116 (T>G)	
42	+/-	83	-/-	120	-/-
				121	+/-

Tablo 4.28 Normal ve mutasyon taşıyan kromozomlardaki Xmn I polimorfizm sıklıkları

Genotip	Mutasyonlar	Xmn I allel sıklığı	
		(-)	(+)
Normal (200)		157 (% 78.5)	43 (% 21.5)
Homozigotlar (54)		50 (% 92.6)	4 (% 7.4)
	β^+ IVS I- 110 (G>A) (32)	32	0
	β^+ IVS I- 6 (T>C) (6)	6	0
	β^+ IVS I- 5 (G>C) (4)	1	3
	β^0 IVS I- 1 (G>A) (2)	2	0
	β^0 Kodon 8 (-AA) (4)	4	0
	β^0 Kodon 8/9 (+G) (2)	2	0
	β^0 IVS II- 1 (G>A) (2)	1	1
	β^0 Kodon 6 (-A) (2)	2	0
Heterozigotlar (420)		345 (% 82.1)	75 (% 17.9)
	β^+ IVS I- 110 (G>A) (178)	153	25
	β^+ IVS I- 6 (T>C) (34)	30	4
	β^+ IVS I- 5 (G>C) (4)	3	1
	β^0 IVS I- 1(G>A) (80)	74	6
	β^0 Kodon 8 (-AA) (22)	16	6
	β^0 Kodon 8/9 (+G) (6)	6	0
	β^0 IVS II- 1 (G>A) (34)	18	16
	β^0 IVS I- 130 (G>C) (4)	3	1
	β^+ IVS II- 745 (C>G) (14)	11	3
	β^0 IVS I- 116 (T>G) (4)	4	0
	β^0 Kodon 39 (C>T) (26)	22	4
	β^0 Kodon 44 (-C) (8)	2	6
	β^+ -87 (C>G) (6)	3	3

5. TARTIŞMA

Çalışmamızda yer alan mutasyonlar; β^+ IVS I- 110 (G>A), β^0 IVS I- 1 (G>A), β^+ IVS I- 6 (T>C), β^0 IVS II- 1 (G>A), β^0 FSC 8 (-AA), β^0 Kodon 39 (C>T), β^+ IVS II- 745 (C>G), β^+ IVS I- 5 (G>C), β^0 FSC 8/9 (+G), β^0 Kodon 44 (-C), β^+ - 87 (C>G), β^0 Kodon 6 (-A), β^0 IVS I- 116 (T>G), β^0 IVS I- 130 (G>C) olmak üzere 14 farklı beta talasemi mutasyon türünden oluşmaktadır.

Tez çalışmasının iki temel amacı bulunmaktadır. İlk amaç doğrultusunda, Denizli’de gözlenen her bir beta talasemi mutasyonu ile ilişkili haplotip türleri belirlenerek, yöremizde incelenen mutasyon-haplotip ilişkileri, çeşitli toplumlarda bildirilmiş beta talasemi mutasyon-haplotip ilişkileri ile karşılaştırılarak irdelenmiştir. Çalışmanın ikinci hedefine yönelik ise, yöremizde bulunan normal (200 kromozom), β talasemi homozigot (54 kromozom) ve β talasemi heterozigot (420 kromozomda) alellerdeki Xmn I polimorfizm (-158 G γ [C>T]) sıklığı incelenmiştir. Mutasyon-haplotip ilişkileri ile mutasyon-Xmn I polimorfizm ilişkileri alt başlıklar halinde tartışılmaktadır.

5.1. β^+ IVS I- 110 (G>A) Talasemi- Haplotip İlişkisi

Akdeniz ülkelerinde en yaygın olarak bulunan β^+ IVS I- 110 (G>A), ülkemizde ve yöremizde de en sık (% 44.5) gözlenen mutasyondur (Akar 1987, Diaz-Chico 1988, Cao 1989, Aulehla-Scholz 1990, Başak 1992, Zahed 2002, Chouk 2004, Yıldız 2005). β^+ IVS I- 110 (G>A) mutasyonunun Orta Doğu bölgesinden kaynaklandığı, Doğu Akdeniz ülkelerinde daha yüksek sıklıkta görüldüğü ve diğer ülkelere nüfus hareketleri ile yayıldığı düşünülmektedir (Falchi 2005). Bu mutasyonun atasal 5’ haplotip (+ - - -) ile yakın ilişkili olması nedeniyle, β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonu ile birlikte, beta talasemi mutasyonları arasında en eski beta talasemi mutasyonu olduğu konusunda görüşler bulunmaktadır (Chen 1990, Long 1990). Tadmouri ve arkadaşlarına göre, sıtmaya karşı seçici bir avantaj olan Anadolu’daki en eski β talasemi allelinin β^+ IVS I- 110 (G>A) mutasyonu olduğu ve bu mutasyonun M.Ö. 2000- 6500 yılları arasında ortaya çıkmış olabileceği ileri sürülmüştür (Tadmouri 2001b).

Akdeniz ülkelerinde, β^+ IVS I- 110 (G>A) mutasyonunun ilişkili olduğu haplotip türlerinin belirlenmesinde, kullanılan Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- $3'\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- $3'\beta$ restriksiyon endonükleaz bölgeleri değerlendirilmiş, bu mutasyonun genellikle I, II ve IX haplotip türleri üzerinde görüldüğü bildirilmiştir (Cao 1989). Yapılan araştırmalara göre; İsrail, İran ve Filistin toplumlarında, bu mutasyon haplotip I ile ilişkili olarak saptanmıştır (Rund 1991, Filon 1994, El-Latif 2002, Rahimi 2005, 2009) (Tablo 5.1). Cezayir'de yapılan çalışmalarda ise, bu mutasyonun yalnızca haplotip I tabanı üzerinde görüldüğü tanımlanmıştır (Rouabhi 1988). Daha sonra Cezayir'de β^+ IVS I- 110 (G>A) mutasyonunun, haplotip I (% 92.0)'in yanı sıra haplotip II (% 8.0) ile de ilişkili olduğu bulunmuştur (Zahed 2002) (Tablo 5.1). Fas toplumunda da, β^+ IVS I- 110 (G>A) mutasyonunun, tez çalışmamızda incelenen aynı RFLP bölgeleri kullanılarak, I ve II haplotip türleri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Lemsaddek 2003, 2004, Agouti 2008) (Tablo 5.1). Tunus'da ise bu mutasyon, Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- $3'\psi\beta$, Hinf I- $3'\delta$, Hgi A1- β , Ava II- β , Bam HI- $3'\beta$ olmak üzere dokuz restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak incelendiğinde, haplotip I (+ - - - + + +) ile ilişkili olarak gözlenmiştir (Chibani 1988). Mısır toplumunda ise bu mutasyonun, Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Ava II- $5'\psi\beta$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- $3'\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- $3'\beta$ restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak I (+ - - + - - + +) ve II (- + + + - + +) haplotip türleri yanında, I* (+ - - - - + +) haplotipi ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Novelletto 1990, Flint 1993b) (Tablo 5.1, 5.2).

Diğer ülkelerden Lübnan'da yapılan çalışmalarda, Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- $3'\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- $3'\beta$ restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak β^+ IVS I- 110 (G>A) mutasyonu, I ve II haplotip türleri üzerinde bulunmuştur (Chehab 1987). Daha sonra Lübnan'da, β^+ IVS I- 110 (G>A) mutasyonunun, tez çalışmamızda incelenen aynı RFLP bölgelerinden yararlanarak, I (% 93.2) ve II (% 1.0) haplotipleri yanında, (- - - + + +) (% 5.4) haplotip türü ile ilişkili olduğu da bildirilmiştir (Zahed 2000) (Tablo 5.1, 5.2). İran toplumunda ise β^+ IVS I- 110 (G>A) mutasyonunu taşıyan olgular incelendiğinde, bu mutasyonun % 50.0 sıklıkta haplotip I ile ilişkili olduğu belirlenmekle birlikte, diğer

% 50.0 sıklıkta ise IX ve A (- - - - + +) haplotip türleri üzerinde gözleendiği saptanmıştır (Rahimi 2009) (Tablo 5.1, 5.2).

Avrupa ülkelerinde de, β^+ IVS I- 110 (G>A) mutasyonu taşıyan olgulara ilişkin haplotip analiz verileri elde edilmiştir. Elde edilen verilere göre, bu mutasyona ait allellerde, Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- 3' β restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak haplotip analiz sonuçları değerlendirildiğinde, β^+ IVS I- 110 (G>A) mutasyonu, İspanya, Portekiz, Yunanistan, İrlanda ve eski Fransa'nın farklı bölgelerinden Kanada'ya göç etmiş gruplarda haplotip I, İtalya ve Sicilya'da I, II, IX, Bulgaristan'da ise I ve VII haplotip türleri üzerinde tanımlanmıştır (Rosatelli 1987, Amselem 1988, Coutinho-Gomes 1988, Di-Marzo 1988, Pirastu 1988, Kalaydjieva 1989, Kaplan 1990, Faustino 1992, Dedoussis 2000a, Knott 2006) (Tablo 5.1). Fakat Yunanistan'da yapılan incelemede, bu mutasyonu taşıyan olgularda çalışılan RFLP bölgeleri, Hinc II- ϵ , Xmn I- $G\gamma$, Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Hinf I- 5' β , Ava II- β , Rsa I- 3' β olarak belirlenen dokuz restriksiyon endonükleaz bölgesinden oluşmaktadır (Dedoussis 2000a). Flint ve arkadaşları tarafından Yugoslavya'da ise bu mutasyonun, I (% 94.4) ve IX (% 5.6) haplotip türleri ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Flint 1993b) (Tablo 5.1). Eski Yugoslav Cumhuriyeti olan Makedonya'daki veriler ile karşılaştırmada çeşitli güçlükler bulunmaktadır. Bu nedenle ilişkili veriler, tablolarda Yugoslavya olarak değerlendirmeye alınmıştır. Ayrıca Güney Amerika kıtasında yer alan Brezilya'da ise bu mutasyon; I, V ve VII haplotip türleri ile ilişkili olarak saptanmıştır (Martins 2005) (Tablo 5.1).

Türkiye'de gözlenen β^+ IVS I-110 (G>A) mutasyonlarının yüksek haplotip çeşitliliği gösterdiği ifade edilmekle birlikte, Hinc II- ϵ , Xmn I- 5' $G\gamma$, Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- 3' β restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak bu mutasyonun, haplotip I (% 93.1) dışında, II (% 4.1), IV (% 1.4) ve IX (%1.4) haplotipleri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Diaz-Chico 1988, Aulehla-Scholz 1990, Zahed 2002) (Tablo 5.1). Kıbrıs toplumunda ise, bu mutasyonun yalnızca haplotip I ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (Flint 1993b) (Tablo 5.1).

Denizli yöresinde yer alan homozigot β^+ IVS I- 110 (G>A) olguya ait 24 kromozomda, bu mutasyonun haplotip I (+ - - - - +) dışında, haplotip VII (+ - - - - +) ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur (Bahadır 2009b). Tez çalışması süresince, bu mutasyona ait sekiz kromozom da 24 kromozoma dâhil edilerek, ilimizde gözlenen homozigot β^+ IVS I- 110 (G>A) allel yapısına sahip toplam 32 kromozoma dayalı olarak elde edilen sonuçlar, bu mutasyonun I ve VII haplotip türleri ile ilişkili olduğunu doğrulamıştır (Bkz. Tablo 4.1). Dünya’da bu mutasyonun haplotip VII ile ilişkisi, yalnızca Brezilya’lı vakalarda tanımlanmış olmakla birlikte, Türkiye’de bu mutasyonun haplotip VII ile ilişkisi ilk kez yöremizde bildirilmiştir (Bkz. Tablo 4.1). Fakat Brezilya ve Türk örnekleri arasındaki gensel ilişki bilinmemektedir (Martins 2005, Bahadır 2009b). Tez çalışmasında β^+ IVS I- 110 (G>A) beta talasemi heterozigot olgulara ait elde edilen “*Arlequin 3.1*” sonuçları, bu mutasyonun % 57.6 sıklıkla haplotip I ile ilişkili olduğunu göstermekle birlikte, azalan allel sıklıklarında da VII (% 9.7), V (% 6.2) ve IX (% 5.9) haplotip türleri ile de ilişkisini ortaya koymaktadır (Bkz. Tablo 4.6).

5.2. β^0 IVS I- 1 (G>A) Talasemi- Haplotip İlişkisi

Başlıca Avrupa’nın orta kısımları ve Batı Akdeniz’de gözlenen beta talasemi mutasyonlarından biri olan β^0 IVS I- 1 (G>A) mutasyonu, Afrika ve Asya toplumlarında düşük sıklıkta saptanmıştır. Tadmouri ve arkadaşları, bu dağılım modeline dayalı olarak, β^0 IVS I- 1 (G>A) mutasyonunu taşıyan alellerin, Balkanlar’dan Türkiye’ye gerçekleşen nüfus hareketleri nedeni ile Türkiye’nin batı ve güney bölgelerinde gözlendiğini ifade etmişlerdir (Tadmouri 1999). Çeşitli araştırmacılar tarafından Türkiye’nin farklı bölgelerinde çeşitli sıklıklarda tanımlanmış olan bu mutasyon, yöremizde β^+ IVS I- 110 (G>A) mutasyonundan sonra, ikinci sırada (% 17.2) yer alan beta talasemi mutasyonudur (Diaz-Chico 1988, Atalay 1993, Tadmouri 1999, Yıldız 2005). β^0 IVS I- 1 (G>A) mutasyonu, Asya Hint ve Endonezya toplumlarında nadir olarak gözlenmekle birlikte, Orta Doğu ülkelerinde oldukça yaygındır (Lie-Injo 1989, Varawalla 1992, Altay 2002). Ayrıca Doğu Avrupa ülkelerinden Macaristan (% 29.4) ve Çekoslavakya’da (% 45.2) da en sık gözlenen mutasyon olması nedeni ile β^0 IVS I- 1 (G>A) mutasyonunun Doğu Avrupa gen havuzundan yayıldığı konusunda bir görüş bulunmaktadır. Buna karşın, Macaristan’da bu mutasyon örneklerine ait

β globin gen ailesi haplotip verisi bildirilmemiştir (Indrak 1992, Ringelhann 1993, Makhoul 2005).

Literatür verilerine göre Akdeniz ülkelerinde, Hinc II- ϵ , Xmn I- 5'G γ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- 3' β restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak β^0 IVS I- 1 (G>A) mutasyonunun, genel olarak haplotip V, nadir olarak ise IV ve IX haplotip türleri ile ilişkili olduğu ifade edilmektedir (Cao 1989, Filon 1994, Perrin 1998, Lemsaddek 2004). Bu veriler doğrultusunda, Kuzey Afrika ülkelerinden Cezayir'de, β^0 IVS I- 1 (G>A) mutasyonunun; I, III, V, IX, A (- - - - + +) haplotip türleri ile ilişkili olduğu tanımlanmıştır (Rouabhi 1988, Perrin 1998) (Tablo 5.1, 5.2). Fas toplumunda ise, tez çalışmamızda kullanılan RFLP bölgeleri incelenmiş ve bu mutasyonun; IV, V ve IX haplotip türleri üzerinde görüldüğü bildirilmiştir (Lemsaddek 2003, Agouti 2007, 2008) (Tablo 5.1).

Lübnan'da, % 15.0 sıklıkla ikinci en yaygın beta talasemi mutasyonu olan β^0 IVS I- 1 (G>A) mutasyonunu taşıyan allellerin, tez çalışmamızda incelenen aynı RFLP bölgeleri kullanılarak, Müslüman ve Hristiyanlara ait bütün bölgesel gruplarda, yalnızca haplotip V üzerinde görüldüğü ortaya konulmuştur (Makhoul 2005) (Tablo 5.1). Mutasyon- haplotip ilişkisinde, Lübnan'da bu mutasyonun haplotip V ilişkisi yanında, Zahed ve arkadaşları, bir kromozomda haplotip IX ile de ilişkili olduğunu bildirmişlerdir (Zahed 2000) (Tablo 5.1). Ayrıca β^0 IVS I- 1 (G>A) mutasyonunun, İran toplumunda haplotip I ile ilişkili olduğu belirtilmektedir (Rahimi 2009) (Tablo 5.1). Asya- Hint toplumunda, tez çalışması ile aynı restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak, β^0 IVS I- 1 (G>A) mutasyonunu taşıyan bir olguda bu mutasyonun haplotip I ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (Varawalla 1992) (Tablo 5.1).

Batı Avrupa'da yer alan İspanya, Kuzey Afrika'da bulunan Tunus'da ise bu mutasyon, Hinc II- ϵ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Hinf I- 3' δ , Hgi A1- β , Ava II- β , Bam HI- 3' β olmak üzere dokuz restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak incelendiğinde, haplotip V (+ - - - + + -) üzerinde görülmüştür (Amselem 1988, Chibani 1988). Mısır'da da, Hinc II- ϵ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Ava II- 5' $\psi\beta$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- 3' β RFLP

bölgeleri incelenerek bu mutasyonun haplotip V ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Novelletto 1990). (Tablo 5.1). β^0 IVS I- 1 (G>A) mutasyonunun Portekiz toplumunda ise, III, V ve IX haplotip tabanları ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Coutinho-Gomes 1988, Faustino 1992) (Tablo 5.1).

Diğer ülkelerden Çekoslovakya, İsrail’de yer alan Arap gruplarında, Bulgaristan, Yunanistan, Filistin toplumlarında ve Türkiye’de ise, Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- $3'\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- $3'\beta$ restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak, bu mutasyonun haplotip V ile ilişkili olduğu tanımlanmıştır (Diaz-Chico 1988, Kalaydjieva 1989, Aulehla-Scholz 1990, Indrak 1992, Flint 1993b, Filon 1994, El-Latif 2002, Papachatzopoulou 2006) (Tablo 5.1). Ayrıca bu mutasyonun aynı polimorfik bölgeler incelenerek, İtalya’da II, III ve V, Sicilya’da II ve V, Sri Lanka’da haplotip VII, Brezilya’da ise V haplotipleri üzerinde görüldüğü saptanmıştır (Di-Marzo 1988, Pirastu 1988, Ferrara 2003, Fisher 2003, Lemsaddek 2004, Martins 2005) (Tablo 5.1). Tez çalışmamızda incelenen RFLP bölgeleri ile aynı bölgeler kullanılarak Meksika toplumunda yapılan çalışmada, bu mutasyonun yalnızca haplotip V ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Villalobos-Arambula 1997) (Tablo 5.1).

Tez çalışması süresince, Denizli ilinde gözlenen homozigot β^0 IVS I- 1 (G>A) mutasyonunun, V (+ - - - + -) ve VIIa (+ - - - - -) haplotipleri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir. β^0 IVS I-1 (G>A) mutasyonu ile haplotip V ilişkisi (Bam HI- $3'\beta$ bölgesi kullanılarak) Türkiye’de daha önce tanımlanmış olmasına karşın, bu mutasyonun haplotip VIIa (+ - - - - -) ile ilişkisi literatürde ilk kez yöremizde bildirilmiştir (Diaz-Chico 1988, Aulehla-Scholz 1990, Bahadır 2009b) (Bkz Tablo 4.2). İlimizde yer alan β^0 IVS I- 1 (G>A) mutasyonunun normal bireylerde ilk sırada yer alan (+ - - - -) haplotip yapısı ile ilişkili olduğu gözlemlendiğinden, bu mutasyonun yöremiz normal gen havuzu içerisinde baskın olarak belirlenmiş olan Akdeniz tipi haplotip türleri üzerinde yer aldığı ortaya konulmuştur (Bahadır 2009b).

Tez çalışması verilerine göre, β^0 IVS I- 1 (G>A) beta talasemi mutasyonunu heterozigot formda taşıyan olgularda, bu mutasyonun haplotip V ile ilişkisi % 55.6 sıklıkla görülür iken, sırası ile % 15.3, % 9.0 ve % 6.0 allel sıklıklarında I, VII

ve IX haplotipleri ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Bkz. Tablo 4.8). Sri Lanka'da bu mutasyonun diğer toplumlardan farklı olarak, Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- $3'\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- $3'\beta$ restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak haplotip VII ile ilişkili bulunması, araştırmacıların β^0 IVS I- 1 (G>A) mutasyonunun bu bölgede “*de novo*” olarak gerçekleşen durumlar veya gen dönüşüm olayları sonucu oluşabileceği, ayrıca birden fazla oluşum odağına sahip bir mutasyon olabileceği görüşüne sahip olmalarına neden olmuştur (Fisher 2003) (Tablo 5.1).

5.3. β^+ IVS I- 6 (T>C) Talasemi- Haplotip İlişkisi

İlk kez Portekiz'de tanımlanmış, Akdeniz ülkelerinde β^+ IVS I- 110 (G>A) ve β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonlarından sonra gözlenen en yaygın beta talasemi mutasyonlarından biri olan β^+ IVS I- 6 (T>C), yöremizde üçüncü sırada (% 8.4) gözlenmiştir (Tamagnini 1983, Diaz-Chico 1988, Yıldız 2005). Akdeniz ülkelerinde bu mutasyonunun hemen hemen aynı sıklıkta bulunduğu belirtilmektedir (Tadmouri 1999). Arnavutluk, İtalya, Yugoslavya ve Portekiz'de β^+ IVS I- 6 (T>C) mutasyonunu yüksek sıklıkta taşıyan birden fazla allel saptanmıştır (Faustino 1992, 1999, Rosatelli 1992b, Boletini 1994, Tadmouri 1999, Efremov 2008). Bu mutasyonun; Filistin (% 48.5), Fas (% 14.8), Mısır (% 17.6), Lübnan (% 14.4) ve Eski Yugoslavya Cumhuriyetinin yer aldığı Makedonya Cumhuriyeti (% 18.1) dışında diğer Akdeniz havzası boyunca % 10.0'dan düşük sıklıkta görüldüğü bildirilmiştir (El-Latif 2002, Fattoum 2004, Makhoul 2005, Efremov 2007, Hussein 2007). Fakat β^+ IVS I- 6 (T>C) mutasyonu Kıbrıs ve Türk toplumlarında da oldukça yüksek oranlarda gözlenmektedir (Akar 1987, Diaz-Chico 1988, Sozuoz 1988, Aulehla- Scholz 1990, Başak 1992, Atalay 1993, Tadmouri 1998, Altay 2002).

Akdeniz ülkelerinde Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- $3'\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- $3'\beta$ restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak, β^+ IVS I- 6 (T>C) mutasyonu incelendiğinde, bu mutasyonun çoğunlukla haplotip VI olmak üzere, altı RFLP haplotip türü ile ilişkili olduğu gözlenmektedir. Bu haplotip yapılarından beşi Lübnan ve Türk örneklerinde bildirilmiştir (Atweh 1986, Cao 1989, Flint 1993b). Doğu Akdeniz ülkelerinde aynı RFLP bölgeleri çalışılarak, bu mutasyon genellikle haplotip I tabanında tanımlanmıştır. Bu mutasyonun haplotip VI ve VII

dışında, haplotip I ile de ilişkili olması, daha çok Doğu Akdeniz kökenli olabileceği tartışmasını doğurmuştur (El-Latif 2002, Makhoul 2005).

β^+ IVS I- 6 (T>C) mutasyonunun Filistin ve İsrail toplumlarında VI ve VII haplotip türleri, Irak, Cezayir ve Mısır'da haplotip VI ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Rouabhi 1988, Novelletto 1990, Rund 1991, Flint 1993b, Filon 1994, El-Latif 2002) (Tablo 5.1). Cezayir'de Flint ve arkadaşlarına göre, bu mutasyon yalnızca haplotip IX ile ilişkili olarak gözlenmiştir (Flint 1993b) (Tablo 5.1). Tunus'da ise β^+ IVS I- 6 (T>C) mutasyonu, Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Hinc I- 3' δ , Hgi A1- β , Ava II- β , Bam HI- 3' β olmak üzere dokuz restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak incelendiğinde, haplotip VI (- + + - - + - - +) ile ilişkili olarak gözlenmiştir (Chibani 1988). Fas toplumunda, tez çalışmamızda kullanılan aynı RFLP bölgeleri incelenerek, bu mutasyonun VI ve VII haplotip türleri üzerinde görüldüğü bildirilmiştir (Lemsaddek 2003, 2004, Agouti 2007, 2008) (Tablo 5.1).

Diğer ülkelerden Lübnan'da Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- 3' β restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak yapılan çalışmalarda, β^+ IVS I- 6 (T>C) mutasyonu I ve II haplotip türleri üzerinde bulunmuştur (Chehab 1987). Flint ve arkadaşlarına göre, bu mutasyonu I (% 20.0), II (% 20.0) haplotip türleri ile ilişkili gözlenmekle birlikte, en yoğun sıklıkta (% 60.0) haplotip VI ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Flint 1993b). Daha sonra Lübnan'da, tez çalışmamızda kullanılan aynı RFLP bölgeleri incelendiğinde, β^+ IVS I- 6 (T>C) mutasyonunun bölgesel gruplara göre farklılıklar göstermiş olduğu belirlenmekle birlikte, Hristiyan (Maronite, Ortodoks, Katolik) ve Müslüman (Sunni, Şii, Dürzü) gruplarda, genelde haplotip VI ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur. Lübnan'da bu mutasyonun yüksek sıklıkta gözlendiği haplotip VI (% 88.2) ile ilişkisinin yanında, daha az sıklıklarda Sünni ve Şii gruplarda haplotip VII (% 7.8), Sünni ve Katolik gruplarda haplotip I (% 3.9) ile de ilişkili bulunduğu da belirlenmiştir (Zahed 2000, Makhoul 2005) (Tablo 5.1).

Avrupa ülkelerinde elde edilen verilere göre bu mutasyona ait aleller incelendiğinde, İspanya'da VI, X, Portekiz ve Makedonya'da VI ve VII ve İtalya'da

ise IV, VI, VII ve X haplotip türleri üzerinde tanımlanmıştır (Amselem 1988, Pirastu 1988, Rosatelli 1989, Faustino 1992, Ferrara 2003) (Tablo 5.1). Daha sonra Efremov ve arkadaşları tarafından Portekiz’de β^+ IVS I- 6 (T>C) mutasyonunun, Hinc II- ϵ , Xmn I- 5’G γ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- 3’ $\psi\beta$, Ava II- 5’ β , Bam HI- 3’ β restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak VI ve VII haplotip yapıları yanında, haplotip IV ile de ilişkili olduğu gözlenmiştir (Efremov 1994a) (Tablo 5.1). Ayrıca İspanya’da Flint ve arkadaşlarına göre, bu mutasyon çoğunlukla haplotip VI (% 71.4) olmak üzere daha az sıklıkta (% 28.6) (- + + - + - +) haplotip türü ile de ilişkili görülmüştür (Flint 1993b) (Tablo 5.1, 5.2). Güney İtalya’da Flint ve arkadaşlarına göre bu mutasyon, VI (% 78.3) ve VII (% 21.7) haplotip türleri ile ilişkili olarak belirlenmiştir (Flint 1993b). İtalya’da elde edilen mutasyon-haplotip ilişkilerine dayalı verilerden önce aynı polimorfik bölgeler kullanılarak, β^+ IVS I- 6 (T>C) mutasyonunun Sicilya’da, VI, VII ve X haplotip türleri ile ilişkili olduğunun ifade edilmesi nedeni ile bu mutasyonun İtalya’ya Sicilya’dan gelmiş olabileceği ileri sürülmüştür (Di-Marzo 1988, Ferrara 2003) (Tablo 5.1). Yunanistan toplumunda ise, homozigot β^+ IVS I- 6 (T>C) mutasyonunun taşıyan iki olgudan biri haplotip VII, diğer olgu ise haplotip IX ile ilişkili bulunur iken, heterozigot dört olguda bu mutasyon haplotip VI üzerinde gözlenmiştir (Papachatzopoulou 2006) (Tablo 5.1). Bu mutasyon, Belçika’da haplotip IX, Bulgaristan’da VI ve VIa (- + + - - + +) haplotip türleri ile bağlantılı olarak ifade edilmiştir (Kalaydjieva 1989, Heusterspreute 1996) Flint ve arkadaşlarına göre bu mutasyon Bulgaristan’da yalnızca haplotip VI, Yugoslavya’da ise, VI (% 50.0) ve VII (% 50.0) haplotip türleri ile ilişkili gözlenmiştir (Flint 1993b) (Tablo 5.1). Güney Amerika’da yer alan Brezilya’da ise, bu mutasyon yalnızca haplotip VI ile ilişkili olarak saptanmıştır (Martins 2005) (Tablo 5.1).

Türkiye’de Hinc II- ϵ , Xmn I- 5’G γ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3’ $\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- 3’ β restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak incelenen β^+ IVS I- 6 (T>C) mutasyonu taşıyan allellerin, genellikle haplotip VI tabanında gözlenmekte iken, bir olguda haplotip VII ile de ilişkili olduğu bildirilmiştir (Diaz-Chico 1988, Aulehla-Scholz 1990, Efremov 1994a) (Tablo 5.1). Ayrıca Türkiye’de Flint ve arkadaşları, aynı restriksiyon endonükleaz bölgelerine dayalı olarak yapılan incelemelerde, bu mutasyonun VI (% 75.0), VII (% 8.3) haplotipleri yanında % 16.7 sıklıkta (- + + - + - +) haplotip türü ile de ilişkili olduğunu belirtmişlerdir

(Flint 1993b) (Tablo 5.2). Yöremizde ise, bu mutasyonu taşıyan homozigot olguların, ülkemizde daha önce gözlenen mutasyon-haplotip ilişkilendirme verilerine uygun olarak, VI (- + + - - - +) ve VII (+ - - - - +) haplotipleri üzerinde bulunduğu saptanmıştır (Bahadır 2009b) (Bkz. Tablo 4.2).

Tez çalışmasından elde edilen sonuçlara göre, β^+ IVS I- 6 (T>C) heterozigot allel yapısına sahip olgularda bu mutasyonun, haplotip VII (+ - - - - +) ile yüksek oranda (% 34.5) ilişkili olduğu gözlenmiştir. Bu mutasyonun, azalan oranlarda % 19.8, % 12.5 ve % 8.8 allel sıklıklarında VIa (- + + - - +), VI (- + + - - - +), IV (- + - + + - +) haplotipleri ile ilişkisi belirlenmiştir (Bkz. Tablo 4.10).

5.4. β^0 IVS II- 1 (G>A) Talasemi- Haplotip İlişkisi

Akdeniz ülkelerinde gözlenen diğer beta talasemi mutasyonlarından biri olan β^0 IVS II- 1 (G>A)'in, kromozomal olarak Afrika tabanlı olduğu bildirilmiştir (Wong 1986, Cao 1989, Huisman 1998). Tunus ve Cezayir'de nadir olarak gözlenmekle birlikte, bütün Arap ülkelerinde belirlenmiş olan bu mutasyon, Kuzey Ürdün (% 20.0) ve Küveyt'de (% 29.0) en yaygın beta talasemi mutasyonudur (Quaife 1994, El-Hazmi 1995, Zahed 2001, Fattoum 2004, Chouk 2004, Boudrahem-Addour 2009). İran'da da β^0 IVS II- 1 (G>A) mutasyonunun yüksek sıklıkta (% 33.0) gözlendiği belirtilmiştir (Rahimi 2009). Ayrıca bu mutasyonun Ürdün'de β^+ IVS I- 110 (G>A) mutasyonundan sonra ikinci yaygın, Yunanistan'da ise altıncı sırada gözlenen beta talasemi mutasyonu olduğu saptanmıştır (Dedoussis 2000b, Sadiq 2001). β^0 IVS II- 1 (G>A) mutasyonunun diğer Akdeniz ülkelerinde olduğu gibi, Türkiye'de de oldukça sık görüldüğü belirlenmiştir (Diaz-Chico 1988, Atalay 1993). Türkiyenin bütün bölgelerinde gözlenen bu mutasyon, güney kıyı bölgelerinde hafifçe artan bir sıklıkta bulunmakta olup, yöremizde de gözlenmektedir (Atalay 1993, Tadmouri 1999, Yıldız 2005).

β^0 IVS II- 1 (G>A) mutasyon-haplotip ilişkileri Akdeniz ülkelerinde, Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- 3' β restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak incelendiğinde, bu mutasyonun çoğunlukla III ve V haplotip türleri ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Cao 1989, Rahimi

2005). Bu mutasyon aynı polimorfik odaklar kullanılarak incelendiğinde, İtalya ve Kıbrıs toplumlarında çoğunlukla haplotip III tabanında gözlenmiştir (Pirastu 1988, Diaz-Chico 1988, Flint 1993b, Ferrara 2003) (Tablo 5.1). Fakat daha sonra Ragusa ve arkadaşları, Hinc II- ϵ , Xmn I- 5' G γ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Hinf I- 5' β , Rsa I - 5' β , Ava II- β , Rsa I- 3' β restriksiyon endonükleaz bölgelerini kullanarak bu mutasyonun İtalya'da haplotip III yanında, I ve IX haplotip türleri ile de ilişkili olduğu belirlemiştir (Ragusa 2003) (Tablo 5.1). Ayrıca Cezayir toplumu ve Lübnan'daki farklı gruplarda gözlenen β^0 IVS II- 1 (G>A) mutasyonunun, tez çalışmamızda kullanılan aynı RFLP bölgeleri incelendiğinde, haplotip III ile ilişkili olduğu bildirilmektedir (Zahed 2000, Makhoul 2005, Boudrahem-Addour 2009) (Tablo 5.1). Fakat Lübnan'da Zahed ve arkadaşlarına göre, bu mutasyon haplotip III ile ilişkili olması yanında, iki kromozomda haplotip B (- + + - + + -) tabanı üzerinde de görülmüştür (Zahed 2000) (Tablo 5.2). Fas toplumunda ise, tez çalışmamızda kullanmış olduğumuz RFLP bölgelerinden yararlanılarak yapılan araştırmalarda, bu mutasyon yalnızca haplotip III ile ilişkili olarak tanımlanmıştır (Lemsaddek 2003, Agouti 2007, 2008) (Tablo 5.1).

Türkiye'de ise, Hinc II- ϵ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- 3' β restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak bu mutasyonla ilişkili haplotip türleri, III (% 71.4) ve V (% 28.6) olarak saptanmıştır (Diaz-Chico 1988, Flint 1993b) (Tablo 5.1). Türkiye ve Kuzey Kıbrıs'ta da bu mutasyonun aynı haplotip tabanı üzerinde bulunması, Lübnan'a bu mutasyonun Osmanlı İmparatorluğu döneminde (M.S. 1560- 1920 yıllarında) nüfus hareketleri ile taşındığını düşündürmektedir (Diaz-Chico 1988, Makhoul 2005). İsrail'de ise, β^0 IVS II- 1 (G>A) mutasyonunun, dört farklı etnik grupta üç farklı haplotip türü ile ilişkili olduğu belirtilmiştir. Bu haplotip türleri, Kürt Yahudi grupta haplotip V, Araplar'da haplotip III, Dürzü ve Yemen Yahudi gruplarında ise haplotip I'dir (Rund 1991, Filon 1994) (Tablo 5.1).

β^0 IVS II- 1 (G>A) mutasyonu, İran'da çoğunlukla haplotip III (% 66.1) olmak üzere I, II, V, VIII, IX, X, II* (- + + - - + +) ve (- - - - + +) olarak belirlenen toplam dokuz farklı haplotip türü, Filistin toplumunda haplotip I, Bulgaristan'da haplotip V ve Mısır'da haplotip III ile ilişkili olarak saptanmıştır (Kalaydjieva 1989, Novelletto 1990,

Flint 1993b, El- Latif 2002, Rahimi 2005, 2009) (Tablo 5.1, 5.2). Yunanistan'da ise, Hinc II- ϵ , Xmn I- $G\gamma$, Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- $3'\psi\beta$, Hinf I- $5'\psi\beta$, Ava II- β , Rsa I- $3'\beta$ restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak, β^0 IVS II- 1 (G>A) mutasyonunun IIIa (- + + - + + - + +), IIIb (- + + - + + + + +) ve IX (- + + - + + + -), *Hellas I* (+ - - + + + - + +) haplotip türleri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Dedoussis 2000b) (Tablo 5.1, 5.2). Asya- Hint toplumunda, tez çalışması ile aynı restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak, β^0 IVS II- 1 (G>A) mutasyonunu taşıyan bir olguda bu mutasyonun haplotip III ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (Varawalla 1992) (Tablo 5.1).

Tez çalışması süresince, ilimizde yer alan homozigot β^0 IVS II- 1(G>A) mutasyonunu taşıyan allellerin, yalnızca Akdeniz ülkelerinde yaygın olarak gözlenen haplotiplerden biri olan haplotip III ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Bahadır 2009b) (Bkz. Tablo 4.2). Çalışmada yer alan Denizli ili β^0 IVS II- 1 (G>A) heterozigot olgulardan elde edilen veriler “*Arlequin 3.1*” sonuçlarına göre değerlendirildiğinde, bu mutasyonun en yoğun olarak % 47.1 sıklıkla haplotip IX (- + - + + + +) ile % 20.6 sıklıkta haplotip V (+ - - - - + -) ve azalan sıklıklarda ise III (% 11.8) ve (- + + - + - -) (% 5.9) haplotip türleri ile ilişkili olduğu görülmüştür (Bkz. Tablo 4.12).

5.5. β^+ IVS I- 5 (G>C) Talasemi- Haplotip İlişkisi

β^+ IVS I- 5 (G>C) mutasyonu ilk olarak Çin, özellikle Güney ve Doğu Hindistan olmak üzere Asyalı Hint toplumlarında bildirilmiş olan, Akdeniz ülkelerinde nadir olarak gözlenen beta talasemi mutasyonlarından birisidir (Cheng 1984, Kazazian 1984, Thein 1988, Varawalla 1992, Verma 1997, Das 2000, Gupta 2008). Türkiye'nin doğusunda gözlenen bu gibi bazı mutasyonların (β^0 FSC 8/9 (+G), β^+ IVS I- 5 (G>C), β^0 Kodon 15 (G>A) ve diğerleri), Asya- Hindistan kökenli olabileceği düşünülmüştür (Diaz-Chico 1988, Varawalla 1992, Verma 1997, Öner 2001, Tadmouri 2001b). Daha sonra β^+ IVS I- 5 (G>C) mutasyonunun Arap ülkelerine de yayılmış olduğu gözlenmiştir (Quaife 1994). Fakat Arap toplumunda bu mutasyonla ilişkili olan RFLP haplotipleri, Asyalı Hint gruplarda β^+ IVS I- 5 (G>C) mutasyonuna özgün haplotiplerden farklı olarak belirlendiğinden, bu mutasyonun birbirinden bağımsız gelişim odaklarına sahip olduğu düşünülmüştür (El-Kalla 1993, Zahed 2001). Asyalı

Hint toplumlarında β^+ IVS I- 5 (G>C) mutasyonunun, tez çalışmamızda kullandığımız aynı restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak, çoğunlukla haplotip VII ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Varawalla 1992) (Tablo 5.1). Fakat Birleşik Arap Emirlikleri'nde (UAE), Xmn I- 5'G γ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Ava II- β , Hinf I- 3' β restriksiyon endonükleaz bölgeleri çalışarak bu mutasyon-haplotip ilişkisi incelendiğinde, β^+ IVS I- 5 (G>C) mutasyonunun haplotip I ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Phil 2000). Birleşik Arap Emirlikleri'nde β^+ IVS I- 5 (G>C) mutasyonu, tüm β -talasemi kromozomlarının % 60. 2' sini içeren ve en sık gözlenen beta talasemi mutasyonudur. Bu mutasyonun Birleşik Arap Emirlikleri'ne, Pakistan ve Hindistan gibi bölgelerden nüfus hareketleri ile taşınmış olduğu düşünülmese rağmen, bu yaklaşımı doğrulayacak haplotip verileri henüz bildirilmemiştir (Baysal 2001).

Güney Asya'nın en sık gözlenen mutasyonlarından biri olan β^+ IVS I- 5 (G>C) mutasyonu, çeşitli toplumlarda farklı RFLP haplotip türleri ile ilişkili bulunmuştur. Bu nedenle, β^+ IVS I- 5 (G>C) mutasyonunu taşıyan alellerin oldukça uzun ve karmaşık bir gelişim sürecine sahip olduğu öngörülmektedir (Hill 1988, Varawalla 1992, Tadmouri 1999). Asya- Hint toplumlarındaki mutasyon- haplotip çeşitliliğine dayalı olarak yapılan araştırmalara göre bu mutasyonun, Uzak Doğu Asya ülkelerinden, Malezya'da, I (% 33.3) ve VII (% 66.7) haplotipleri, Endonezya'da ise Hinc II- ϵ , Xmn I- 5' G γ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Ava II- β , Hpa I- β , Hind III- β , Bam HI- 3' β restriksiyon endonükleaz bölgeleri incelenerek, % 59.4 sıklıkla VII (+ - - - - + + +), % 34.4 sıklıkla I (+ - - - - + + +) ve % 3.0 sıklıklarla ise IX (- + + - + + + + +), (+ - - - + + + + +) haplotip yapıları üzerinde gözlemlendiği bildirilmiştir (Hill 1988, Lie-Injo 1989) (Tablo 5.1, 5.2). Ayrıca Kazazian ve arkadaşları Asya-Hint toplumunda, Hinc II- ϵ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, HgiA I- β , Ava II- β , Hind III- β , Bam HI- 3' β RFLP bölgelerini kullanarak, bu mutasyonun I ve VII haplotipleri yanında, nadir'de olsa H (- + + - + - - - +), I (- + - - + - - - +) haplotip türleri ile de ilişkili olduğunu göstermişlerdir (Kazazian 1984) (Tablo 5.2). Daha sonra Doğu Hindistan için β^+ IVS I- 5 (G>C) mutasyonunu taşıyan olgularda, tez çalışmamızda kullandığımız RFLP bölgeleri ile aynı olan (Ava II bölgesi hariç) restriksiyon endonükleaz bölgeleri incelenmiş, bu mutasyon % 82.0 sıklıkla haplotip (+ - - - +) tabanı üzerinde gözlemlendiği belirlenmiştir. Ayrıca bu çalışma ile β^+ IVS I- 5 (G>C) mutasyonunun yalnızca bir

olguda (+ - + - - +) haplotip türü ile de ilişkili olduğu saptanmıştır (Bandyopadhyay 1999) (Tablo 5.2). Varawalla ve arkadaşlarına göre, tez çalışmamızda kullandığımız aynı restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak, bu mutasyonun haplotip VII (% 79.0) ile ilişkili olmasının yanı sıra, sırası ile % 12.8 sıklıkla (- + + - + - +), % 2.7 sıklıkla haplotip I, % 2.0 sıklıkla haplotip IV, % 1.4 sıklıkla (- + - - + - +) ve her biri % 0.7 sıklıklarla (- + - + + + +), (+ - + - - + -), (- - - - - +) haplotip türleri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Varawalla 1992) (Tablo 5.1, 5.2). Asya- Hindistan toplumunda yapılan başka bir çalışmada ise bu mutasyon, Hinc II- ϵ , Xmn I- 5'G γ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- 5' $\psi\beta$, Hinf I- β , Ava II- β RFLP bölgeleri kullanılarak, yüksek sıklıkta gözlenen (+ - - - - + -) haplotip tabanına ek olarak, daha düşük sıklıklarda (- - + + - + -), (- - - - - + -), (+ - - - - -), (+ - - - - +), (+ - - - - + +), (- - + - - + +) ve (- + - - - + +) haplotipleri olmak üzere, toplam sekiz farklı haplotip türü ile ilişkilendirilmiştir (Gupta 2008) (Tablo 5.2). Italia ve arkadaşları, Hinc II- ϵ , Xmn I- G γ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Rsa I- β , Ava II- β , Hinf I- β RFLP bölgelerini inceleyerek, Hindistan'da yer alan β^+ IVS I- 5 (G>C) mutasyonunun, IV (- + + - + + - +), VII (+ - - - - - +), (- - - - - - +) ve (- - + + - + - +) olarak ifade edilen toplam dört farklı haplotip türü ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir (Italia 2009) (Tablo 5.1, 5.2). Hindistanın “*Indo-Mauritian*” da yer alan çoğu Asya-Hint kökenli olmak üzere, Afrika, Çin ve Avrupa soyundan grupların da bulunduğu toplumda, β^+ IVS I- 5 (G>C) mutasyonu için, Xmn I- 5'G γ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Ava II- β , Hinf I- β polimorfik odaklar incelendiğinde, üç farklı haplotip türü belirlenmiştir. Belirlenen haplotipler; 26 allel A (- - - - - +), bir allel B (+ + - + + - +) ve bir allel de C (- + + - + - +) olarak ifade edilmiştir (Kotea 2000) (Tablo 5.2).

Bu mutasyon Hinc II- ϵ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- 3' β restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak, Orta Doğu ülkelerinden İran'da I ve II haplotipleri, İsrail'deki Kürt gruplarda haplotip VII, Arap gruplarda ise haplotip I ile ilişkili bulunmuştur (Rund 1991, Filon 1994, Rahimi 2005, 2009) (Tablo 5.1). Türkiye'de ise, Hinc II- ϵ , Xmn I- 5'G γ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- 3' β olarak belirlenen RFLP bölgeleri kullanılarak, β^+ IVS I-5 (G>C) mutasyonunun, haplotip IX ile ilişkili olduğu tanımlanmıştır (Diaz-Chico 1988, Cao 1989) (Tablo 5.1).

Lübnan'da β^+ IVS I- 5 (G>C) mutasyonunu taşıyan olgularda, Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- $3'\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- $3'\beta$ restriksiyon endonükleaz bölgelerini kullanarak, bu mutasyonun yalnızca haplotip IX ile ilişkili olduğunu tanımlanmışlardır (Chehab 1987). Lübnan'da daha sonra bu mutasyonu taşıyan alellerde, tez çalışmamızda kullanılan polimorfik restriksiyon endonükleaz bölgeleri incelenmiş ve bu mutasyonun haplotip IX yanında, VII haplotip türü ile de ilişkili bulunduğu saptanmıştır (Zahed 2000, Mahhoul 2005) (Tablo 5.1). β^+ IVS I- 5 (G>C) mutasyonunun Lübnan'da IX ve VII haplotip türleri üzerinde bulunması nedeni ile bu mutasyonun birden fazla farklı haplotip odağına sahip olduğu ifade edilmiştir. Makhoul ve arkadaşlarının β^+ IVS I- 5 (G>C) mutasyonun Lübnan'da haplotip VII ile ilişkili olduğunu göstermeleri, bu mutasyonunun β^0 Kodon 8/9 (+G) mutasyonu ile birlikte Güney Doğu Asya ve Arap Yarımadası'ndan gerçekleşen nüfus hareketleri yolu ile Lübnan'a girmiş olabileceğini düşüncelerine neden olmuştur (Mahhoul 2005).

Güney Amerika'da yer alan Brezilya'da ise, β^+ IVS I- 5 (G>C) mutasyonu, Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- $3'\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- $3'\beta$ restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak incelenmiş ve bu mutasyonun I ve V haplotip türleri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (Martins 2005) (Tablo 5.1). Sri Lanka'da bu mutasyonu taşıyan aleller, VII (139 kromozom), X (16 kromozom), IV (12 kromozom) ve I (bir kromozom) olmak üzere dört farklı haplotip türü ile ilişkili olarak belirlenmiştir (Fisher 2003) (Tablo 5.1). Meksika toplumunda ise, tez çalışmamızda kullanılan restriksiyon endonükleaz bölgeleri incelenerek bu mutasyon farklı bir (+ - - + - + +) haplotip türü ile ilişkili olarak belirlenmiştir (Villalobos-Arambula 1997) (Tablo 5.2).

İlimizde ise, homozigot β^+ IVS I- 5 (G>C) mutasyonuna sahip olan dört kromozomun; bir kromozomu haplotip IX (- + - + + +), diğer üç kromozomu ise haplotip IV (- + - + + - +) ile ilişkili olarak belirlenmiştir (Bahadır 2009b) (Bkz. Tablo 4.2). Dünya'da bu mutasyonun haplotip IV ile ilişkisi iki ülkede tanımlanmıştır. Bu ülkelerden biri Hindistan olup, bu bölgede, tez çalışmasında kullanılan RFLP bölgeleri ile aynı polimorfik bölgelere, Rsa I- β restriksiyon

endonükleaz bölgeleri de dâhil edilerek yapılan çalışmada, β^+ IVS I- 5 (G>C) mutasyonunun haplotip IV ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Italia 2009) (Tablo 5.1). Bu mutasyonun çeşitli toplumlarda haplotip IV ile ilişkisi bildirilmiş olmakla birlikte, Türkiye’de RFLP haplotip IV ile ilişkisi, ilk kez yöremizde gösterilmektedir (Bkz. Tablo 4.2). Ayrıca ilimizde β^+ IVS I- 5 (G>C) heterozigot olguların sayısı az olduğu ve bu mutasyon için aile çalışması yapılamadığından heterozigot olgularda, bu mutasyon ile ilişkili geçerli haplotip veri sonucu elde edilememiştir.

5.6. β^0 FCS 8/9 (+G) Talasemi- Haplotip İlişkisi

β^0 FCS 8/9 (+G), ilk kez Asyalı Hint toplumlarında gösterilmiş olup, Hindistan ve Pakistan’ın kuzeybatı bölgelerinde oldukça yaygın bulunmaktadır (Kazazian 1984, Wong 1986, Bandyopadhyay 1999). Araştırmacılara göre, β^0 FCS 8/9 (+G) mutasyonunun çeşitli toplumlardaki dağılımının, Çin’den İran’a genişleyen ticari yollardan, “Büyük İpek Yolu” ile gerçekleştiği düşünülmektedir. Yoğun ticari yolların gelişimi ile bu mutasyonun Güney Asya’dan Türkiye’deki gen havuzuna katılmış olabileceği ifade edilmektedir (Tadmouri 1998, 1999, Öner 2001). İspanya’da da yüksek sıklıkta (% 8.6) gözlenen β^0 FCS 8/9 (+G) mutasyonunun Türkiye’de nadir (% 1.8) olarak bulunduğu belirlenmiştir (Villegas 1998, Tadmouri 2001a, Altay 2002, Yıldız 2005).

Beta globin gen ailesi haplotiplerine göre; Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3’ $\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- 3’ β restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanarak bu mutasyonun Filistin, Sri Lanka ve Kore’de haplotip I ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (El-Latif 2002, Lee 2002, Park 2002, Fisher 2003) (Tablo 5.1). Ayrıca Lübnan’daki Şii gruplarda ise, tez çalışmamızda kullanılan aynı RFLP bölgeleri incelenerek, β^0 FCS 8/9 (+G) mutasyonunun haplotip I üzerinde görüldüğü saptanmıştır (Zahed 2000, Makhoul 2005) (Tablo 5.1). Doğu Hindistan’da ise, tez çalışması ile aynı restriksiyon endonükleaz bölgeleri (Ava II- dışında) kullanılarak, bu mutasyonun (+ - - - +) haplotip türü ile ilişkisi belirlenmiştir (Bandyopadhyay 1999) (Tablo 5.2). İlk çalışmalar ile Kazazian ve arkadaşları, Asya-Hint toplumunda bu mutasyonun, Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3’ $\psi\beta$, HgiA I- β , Ava II- β , Hind III- β , Bam HI- 3’ β RFLP bölgelerini kullanarak, I (+ - - - + + - +)

haplotip türü ile ilişkili olduğunu belirlemişlerdir (Kazazian 1984) (Tablo 5.1). Daha sonra Asya- Hint toplumlarında, Hinc II- ϵ , Xmn I- 5'G γ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- 5' $\psi\beta$, Ava II- β , Hinf I- β olarak tanımlanmış yedi RFLP bölgesinden yararlanarak, bu mutasyonla ilişkili üç farklı haplotip türü tanımlanmıştır. Bu haplotipler, eşit sıklıklarla gözlenen (+ + + - - + -), (- + + - + + +) ve (- + + + + +) haplotip türleridir (Gupta 2008) (Tablo 5.2). Varawalla ve arkadaşları tarafından Asya- Hint toplumunda yapılan başka bir çalışmada, tez çalışması ile aynı restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak, β^0 FCS 8/9 (+G) mutasyonunun çoğunlukla haplotip I (% 88.0) ile ilişkili bulunmasının yanı sıra, VII (% 2.2) ve % 9.8 sıklıkla (- + - + + +) haplotip türleri ile de ilişkili olduğu saptanmıştır (Varawalla 1992) (Tablo 5.1, 5.2). Ayrıca, Hindistan'ın "*Indo-Mauritian*" adasında yer alan, çoğu Asya- Hint kökenli olmak üzere, Afrika, Çin ve Avrupa soyundan grupların bulunduğu toplumda, bu mutasyona ait iki allel de, Xmn I- 5'G γ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Ava II- β , Hinf I- β polimorfik odaklar incelendiğinde, bu mutasyonun F (- - - - + +) haplotip türü ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Kotea 2000) (Tablo 5.2).

İranda ise, Hinc II- ϵ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Ava II- β , Bam III- 3' β restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak, β^0 FCS 8/9 (+G) mutasyonu yüksek oranda haplotip I (% 96.4) tabanında gözlenmekle birlikte, daha düşük sıklıkta (% 3.6) haplotip V ile de ilişkili bulunmuştur (Rahimi 2009) (Tablo 5.1). Fakat İspanya'da bu mutasyonla ilişkili yayınlanmış haplotip verisi bulunmamaktadır (Villegas 1998). Ülkemizde ise, Flint ve arkadaşlarına göre bu mutasyonun haplotip I ile ilişkili olduğu ifade edilmesine rağmen, daha sonraki çalışmalarda bu ilişkiyi doğrulayacak haplotip verisi tanımlanmamıştır (Flint 1993b). Dolayısıyla Türkiye'de de bu mutasyona ilişkin kesin haplotip veri bulunmamaktadır.

Tez çalışması süresince Anabilim Dalımız'da yapılan çalışmalarda, yöremizdeki homozigot β^0 FCS 8/9 (+G) mutasyonunun, diğer toplumlarda görüldüğü gibi, haplotip I ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Bahadır 2009b) (Bkz Tablo 4.2). İlimizde heterozigot β^0 FCS 8/9 (+G) mutasyonu taşıyan olguların sayısı az olduğundan ve bu mutasyonu taşıyan aileye ulaşılamadığı için aile çalışması yapılamamıştır. Bu nedenle, β^0 FCS 8/9 (+G) mutasyonu ile ilişkili haplotip türü kesin olarak belirlenememiştir.

Fakat az sayıdaki heterozigot olgulardan elde edilen veriler ışığında, bu mutasyonun büyük olasılıkla haplotip I ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (Bkz. Tablo 4.17).

5.7. β^0 FSC 8 (-AA) Talasemi- Haplotip İlişkisi

β^0 FSC 8 (-AA) mutasyonu ilk kez 1981 yılında Türk kökenli bir hastada belirlenmiş, daha sonra İsrail’de yapılan arkeolojik kazılardan elde edilen veriler sonucu, bu mutasyonun 16. ve 19. yüzyıllardaki Osmanlı İmparatorluğu ile ilişkili olduğu düşünülmüştür (Orkin 1981, Filon 1995). Bu mutasyonun Türkiye’de oldukça sık gözlenen mutasyonlardan biri olduğu farklı araştırmacılar tarafından belirlenmiştir (Aulehla-Scholz 1990, Atalay 1993, Tadmouri 1998, 2001a, Yıldız 2005). Orta Doğu ülkelerinde yaygın olarak gözlenmiş olan β^0 FSC 8 (-AA) mutasyonu, Akdeniz ülkelerinde de (% 22.8) gözlenmektedir (Tadmouri 1998, Agouti 2007). β^0 FSC 8 (-AA) mutasyonu, Fas’da gözlenen en yaygın beta talasemi alleli olmasına rağmen, Cezayir ve Tunus’da nadir olarak bulunan ve şimdiye kadar Filistin’de ise hiç rastlanmamış beta talasemi mutasyonudur (Fattoum 1991, 2004, El-Latif 2002).

Mutasyon- haplotip ilişkileri açısından değerlendirildiğinde, tez çalışmasında kullanılan yedi RFLP bölgesine dayalı olarak yapılan incelemelerde, Fas toplumu da dâhil olmak üzere, Akdeniz ülkelerinde yer alan β^0 FSC 8 (-AA) mutasyonunun, IV (- + - + + - +), VI (- + + - - - +) ve VII (+ - - - - - +) olarak ifade edilen üç farklı haplotip türü ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Zahed 2000, Lemsaddek 2003, 2004, Agouti 2008). Lemsaddek ve arkadaşlarına göre; Fas’ta β^0 FSC 8 (-AA) mutasyonunun üç farklı haplotip türü (IV, VI, VII) ile ilişkili bulunması ve Fas’ın Osmanlı İmparatorluğu’nun sınırları içinde yer almamış olması nedeni ile bu mutasyonun Türkiye kaynaklı olmadığı gibi kesin olmayan bir sonuca varmalarına neden olmuştur (Lemsaddek 2003, 2004, Agouti 2007, 2008) (Tablo 5.1). Cezayir’de nadir olarak gözlenen β^0 FSC 8 (-AA) mutasyonu, Boudrahem-Addour ve arkadaşları tarafından bu toplumda, yalnızca haplotip IX ile ilişkili bulunmuştur (Boudrahem-Addour 2009) (Tablo 5.1).

Lübnan’da β^0 FSC 8 (-AA) mutasyonunu taşıyan olgulara ait yapılan çalışmalarda, Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- $3'\psi\beta$,

Ava II- β , Bam HI- 3' β restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanarak bu mutasyonun, her biri % 50.0 sıklıklarla, haplotip IV ve Asya H (- + - - + - +) olarak tanımlanan farklı bir haplotip türü ile ilişkili olduğu belirtilmiştir (Chehab 1987, Flint 1993b) (Tablo 5.1, 5.2). Lübnan'da daha sonra bu mutasyonu taşıyan alellerde, tez çalışmamızda kullanılan yedi polimorfik restriksiyon endonükleaz bölgeleri incelenmiş ve bu toplumda yer alan farklı etnik gruplar içerisinde, bu mutasyon Sünni grupta görülmüş olup, bu grupta β^0 FSC 8 (-AA) mutasyonun IV (% 88.9) ve VII (% 11.1) haplotip türleri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Zahed 2000, Makhoul 2005) (Tablo 5.1). İran'da ise, bu mutasyonun II, IV, VIII, IX ve A3 (- + + - + - +) haplotipleri üzerinde gözleendiği ifade edilmektedir (Rahimi 2005, 2009) (Tablo 5.1,5.2). Belçika'da gözlenen β^0 FSC 8 (-AA) mutasyonunun da haplotip VII ile ilişkili olduğu saptanmıştır (Heusterspreute 1996) (Tablo 5.1).

Çoğu β^0 FSC 8 (-AA) mutasyonlarının, Hinc II- ϵ , Xmn I- 5' $G\gamma$, Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- 3' β olarak belirlenen RFLP bölgeleri incelendiğinde; Türkiye, İsrail, Tunus, Yunanistan ve İtalya'da haplotip IV ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Diaz-Chico 1988, Aulehla-Scholz 1990, Cao 1989, Filon 1994, Kehlil 2004, Lemsaddek 2004) (Tablo 5.1). Türkiye'de bu mutasyon çoğunlukla haplotip IV (% 94.4) ile ilişkili görülmesinin yanında, bir olguda haplotip VII (% 5.6) ile de ilişkili olarak saptanmıştır (Diaz-Chico 1988, Flint 1993b) (Tablo 5.1). Türkiye'de gözlenen β^0 FSC 8 (-AA) mutasyonunun haplotip IV ile ilişkili bulunması, bu mutasyonun Türkiye kökenli olduğunu düşündürmüştür (Diaz-Chico 1988, Aulehla-Scholz 1990).

Tez çalışması süresince, Anabilim Dalımız bünyesinde yapılan çalışmalarda, yöremizde gözlenen homozigot β^0 FSC 8 (-AA) mutasyonunu taşıyan allellerde, bu mutasyonun haplotip VII ile ilişkili olduğu tanımlanmıştır (Bahadır 2009b) (Bkz Tablo 4.2). Ayrıca tez çalışması verilerine göre, yöremizde heterozigot β^0 FSC 8 (-AA) mutasyonunu taşıyan olgularda, “*Arlequin 3.1*” programı sonuçları çerçevesinde, bu mutasyonun eşit sıklıklarda (% 29.0) IVa (- + - + + + +) ve VII (+ - - - - +) haplotip türleri ile yüksek oranda, her biri % 6.7 olan allel sıklıklarında VIIa (+ - - - - -) ve III (- + - + + -) haplotipleri ile de düşük oranda ilişkili olduğu belirlenmiştir (Bkz. Tablo 4.14).

5.8. β^0 Kodon 6 (-A) Talasemi- Haplotip İlişkisi

Kuzey Afrika kökenli olduğu düşünülen β^0 FSC 6 (-A) beta talasemi mutasyonu, Siyah Amerikalılar'da, Bulgaristan, Yunanistan ve İtalya'nın Sardinya adasında oldukça yaygın olarak belirlenmiştir (Kazazian 1983, Kalaydjieva 1989, Gonzalez-Redondo 1988, Rosatelli 1992b, Georgiou 2003, Lemsaddek 2004, Efremov 2008). Bu mutasyonun daha çok Kuzey Afrika Arap ülkelerinde görülmesine rağmen, Suudi Arabistan ve Gazze'de de düşük sıklıkta bulunduğu saptanmıştır (Quaife 1994, El-Hazmi 1995, Zahed 2001).

Siyah Amerikalılar'da gözlenen β^0 FSC 6 (-A) mutasyonunun, Hinc II- ϵ , Xmn I- 5' G γ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Ava II- β , Hpa I- 3' β , Bam HI- 3' β restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak IX (- + + - + + + +) haplotip türü ile ilişkili olduğu tanımlanmıştır (Gonzalez-Redondo 1988). Akdeniz ülkelerinde ise β^0 FSC 6 (-A) mutasyonunun ilişkili olduğu haplotip türleri, Hinc II- ϵ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- 3' β restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak incelendiğinde, bu mutasyonun çoğunlukla I (+ - - - + +), IX (- + - + + + +) ve V (+ - - - + -) haplotip türleri ile ilişkili oldukları belirlenmiştir (Rosatelli 1987, Chibani 1988, Diaz-Chico 1988, Cao 1989, Galanello 1989). Bu mutasyon, Cezayir'de I (% 7.7), IX (% 84.6) ve % 7.7 sıklıkta ise A (- - - - + +) haplotip yapıları, Mısır'da ise yalnızca haplotip V ile ilişkili olarak tanımlanmıştır (Rouhabhi 1988, Noveletto 1990, Bennani 1993, Flint 1993a, 1993b) (Tablo 5.1, 5.2). Tunus'da ise, Hinc II- ϵ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Hinf I- 3' δ , Hgi A1- β , Ava II- β , Bam HI- 3' β olmak üzere dokuz restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak incelendiğinde, bu mutasyon sırası ile % 72.7, % 18.2 ve % 9.1 sıklıklarla, IX (- + - + + + +), V (+ - - - + + -) ve A (- - - - + + + +) haplotip türleri ile ilişkili gözlenmiştir (Chibani 1988, Flint 1993b) (Tablo 5.1, 5.2). Ayrıca Cezayir'de Rouabhi ve arkadaşları, Hinc II- ϵ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Bam HI- 3' β restriksiyon endonükleaz bölgelerine dayalı olarak, yeni bir haplotip türü olan haplotip E (- - - + + +)' yi tanımlamış olmalarına rağmen, haplotip E'nin bu mutasyonla ilişkisi Cezayir toplumunda gözlenmemiştir (Rouabhi 1988). Fakat Tunus, Cezayir ve diğer

Avrupa ülkelerinden farklı olarak, Kuzey Portekiz’de, önceden Cezayir’de tanımlanmış olan haplotip E’nin bu mutasyonla ilişkisi ilk kez belirlenmiştir (Tablo 5.2). β^0 FSC 6 (-A) mutasyonunun Kuzey Portekiz’de, farklı haplotipler ile ilişkileri Cabeda ve arkadaşları tarafından iki yaklaşım ile açıklanmaya çalışılmıştır. Bu yaklaşımlardan birincisi, Portekiz, Afrika ve Avrupa’da bu mutasyonun bağımsız oluşum odaklarına sahip olduğu yönündedir. β^0 FSC 6 (-A) mutasyonunun haplotip E yapısı ile ilişkisini açıklayan diğer yaklaşım ise, bu mutasyonun Akdeniz ülkelerinde yüksek sıklıkta gözlenen haplotip IX yapısınının $G\gamma$ ve $A\gamma$ lokusları arasında gerçekleşen rekombinasyon olayları sonucu bu kromozomal haplotip türü üzerinde görüldüğünün düşünülmesidir (Cabeda 1999). Fas toplumunda ise, tez çalışmamızda kullanılan aynı restriksiyon endonükleaz bölgeleri incelenerek, bu mutasyonun III, IX ve A haplotip türleri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Tablo 5.1,5.2) (Lemsaddek 2003, 2004, Agouti 2007, 2008).

Ayrıca, β^0 FSC 6 (-A) mutasyonunu taşıyan olgular, Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- $3'\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- $3'\beta$ restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak incelendiğinde, Avrupa ülkelerinden İspanya’da I (% 33.3), V (% 66.7) haplotip türleri, Bulgaristan’da ise, % 60.0 sıklıkla haplotip V (+ - - - + -) ve % 40.0 sıklıkta ise haplotip 11 (- + + - + + -) üzerinde görülmüştür (Amselem 1988, Kalaydjieva 1989, Flint 1993b) (Tablo 5.1, 5.2). Aynı RFLP bölgeleri kullanılarak, bu mutasyonun İtalya’da I, IX, Türkiye’de ise V, VIII ve IX haplotip türleri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Rosatelli 1987, Aulehla-Scholz 1990, Birben 2001, Ferrara 2003) (Tablo 5. 1). Flint ve arkadaşları Sardinya adasında bu mutasyonun IX (% 90.9) ve I (% 9.1) haplotip türleri ile ilişkili olduğunu ifade etmişlerdir (Flint 1993b). Tez çalışması verilerine göre, yöremizde gözlenen β^0 FSC 6 (-A) mutasyonunun da, diğer Akdeniz ülkelerinde gözlenen haplotiplerle uyumlu olarak, yalnızca haplotip IX ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Bkz. Tablo 4.2).

5.9. β^0 Kodon 39 (C>T) Talasemi- Haplotip İlişkisi

Batı Akdeniz ülkelerinde yaygın olarak gözlenmekte olan β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonunun sıklığı, β^+ IVS I- 110 (G>A) mutasyonundan farklı biçimde bir dağılım göstermektedir. β^+ IVS I- 110 (G>A) mutasyonu, Doğu Akdeniz’de yaygın bulunmaktadır. Bu nedenle, β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyon yayılımının, Roma İmparatorluğu dönemi ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (Boletini 1994). β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonu, Tunus ve İtalya’da % 40.0, İspanya’da % 64.0, Sardinya’da ise % 96.0 sıklıkta görülmektedir (Amselem 1988, Fattoum 1991, Rosatelli 1992a, 1992b). Bu mutasyon Korsika ve Sardinya adalarında yüksek sıklıkta, Akdeniz ülkelerinin doğu kısmında ise düşük sıklıkta (% 1.0 Mısır, % 3.0 Lübnan, % 4.0 Türkiye) belirlenmiştir (Trecartin 1981, Chehab 1987, Pirastu 1987, Başak 1992, El-Hazmi 1995, Falchi 2005, Piras 2005). β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonu, Yunanistan, Bulgaristan, Romanya, Eski Yugoslavya ve Arnavutluğu içeren Balkan ülkelerinde, ayrıca Marmara Bölgesi’nde yüksek sıklıkta gözlenmiştir. Fakat Balkan ülkelerine göre, Türkiye’de bu mutasyonun sıklığı daha azdır (Diaz-Chico 1988, Cao 1989, Tadmouri 1999, Georgiou 2003). Atalay ve arkadaşları tarafından, bu mutasyonun Türkiye’de sıklığı % 7.2 olarak saptanmıştır (Atalay 1993). Yöremizde ise, homozigot β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonu gözlenmez iken, bu mutasyonun az sayıda (% 9.1) heterozigot formu belirlenmiştir (Yıldız 2005).

Akdeniz ülkelerinde oldukça fazla allelik çeşitlilik gösteren β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonu, Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3’ $\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- 3’ β restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak incelendiğinde, I, II, VII ve IX haplotip türleri ile ilişkili bulunmuştur (Cao 1989). Bu mutasyon, Cezayir, Fas, Tunus ve Porkekiz’de RFLP haplotip heterojenliği ortaya koymaktadır (Bennani 1993). Buna karşın Türkiye’deki örneklerde ise, göreceli olarak haplotip homojenliği göstermektedir (Rouabhi 1988, Faustino 1992, Cabeda 1999, Lemsaddek 2003). β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonuna ait allellerde belirlenen RFLP haplotiplerin altısı Tunus’ta tanımlanmış olmak üzere, bu mutasyonun toplam 14 farklı haplotip türü ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Flint 1993b). Tunus’ta bu mutasyon, çoğunlukla II (% 42.9) ve I (% 14.3) haplotipleri olmak üzere, sırası ile her biri % 14.3 sıklıkta Nd (- - - - + + +), 5a (- + + - - + +) ve her biri % 7.1 sıklıklarla A (- - - - + +), Nc (+ + + - - + +)

haplotip türleri ile ilişkilendirilmiştir (Chibani 1988, Flint 1993b, Khelil 2004, Bibi 2006) (Tablo 5.1, 5.2). β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonu ile ilişkili haplotip türlerinin belirlenmesine yönelik, Tunus toplumunda yapılan bu çalışmalardan Chibani ve arkadaşları tarafından yapılan araştırmada, diğer çalışmalarda kullanılan yedi polimorfik odağa (Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- 3' β) ek olarak, Hinf I- 3' δ , HgiA1- β restriksiyon endonükleaz bölgeleri de dâhil olmak üzere dokuz RFLP bölgesi incelenmiştir (Chibani 1988). Cezayir'de β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonu, II (% 63.9), I (% 33.7), IX (% 1.2) ve B (- + + - + + -) (% 1.2) haplotip yapıları ile ilişkili gözlenir iken, Mısır toplumunda bu mutasyonun, yalnızca haplotip II üzerinde görüldüğü belirlenmiştir (Rouabhi 1988, Novelletto 1990, Flint 1993a, 1993b, Zahed 2002) (Tablo 5.1, 5.2). Fas toplumunda ise, tez çalışmamızda kullanılan aynı restriksiyon endonükleaz bölgeleri incelenerek, β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonunun I, II ve Nd (- - - + + +) haplotipleri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (Lemsaddek 2003, 2004, Agouti 2007, 2008) (Tablo 5.1, 5.2).

Lübnan'da β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonunu taşıyan olgularda yapılan çalışmalarda, Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- 3' β restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak, bu mutasyonun yalnızca haplotip II ile ilişkili olduğu tanımlanmıştır (Chehab 1987, Flint 1993b). Lübnan'da daha sonra bu mutasyonun haplotip II (% 66.7)'nin yanı sıra, haplotip I (% 33.3) ile de ilişkili olduğu gözlenmiştir (Zahed 2002, Mahhoul 2005) (Tablo 5.1).

β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyon- haplotip ilişkisi incelemelerinde, diğer toplumlardan İsrail'de yer alan, Kürt Yahudiler'de haplotip VII, Yahudiler'de haplotip I, Araplar'da ise haplotip II olmak üzere üç farklı haplotip türü ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Rund 1991, Filon 1994) (Tablo 5.1). Bu mutasyonun Filistin'de yalnızca haplotip II, İran toplumunda ise, çoğunlukla haplotip VII (% 62. 5) ve daha az sıklıkta ise, II* (- + + - - + +), D (- + + + + -) haplotip türleri ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (Rund 1991, El- Latif 2002, Rahimi 2009) (Tablo 5.1, 5.2).

Batı Avrupa ülkelerinden Portekiz, İspanya ve Bulgaristan'da, Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- 3' β restriksiyon endonükleaz bölgeleri incelenerek, β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonunun

ilişkili olduğu haplotip türleri I ve II olarak belirlenmiştir (Amselem 1988, Kalaydjieva 1989, Faustino 1992) (Tablo 5.1). Portekiz’de yapılan başka bir çalışmada bu mutasyon, I (beş kromozom) ve II (10 kromozom) haplotiplerinin yanında, daha az sıklıkta haplotip VI (bir kromozom) ile de ilişkili bulunmuştur (Coutinho-Gomes 1988) (Tablo 5.1). Ayrıca İspanya’da Flint ve arkadaşlarına göre, bu mutasyonun II (% 60.0) ve I (% 34.3) haplotip türleri ile ilişkili olmasının yanı sıra % 5.7 sıklıkla (- + + - + - +) haplotip türü ile de ilişkili olduğu gözlenmiştir (Flint 1993b) (Tablo 5.2). Belçika’da ise, β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonunu taşıyan iki olgunun da, haplotip II ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (Heusterspreute 1996) (Tablo 5.1). Ayrıca bu mutasyon, eski Fransa’nın farklı bölgelerinden Kanada’ya göç etmiş gruplarda haplotip II, Kuzey İrlanda’da ise, yalnızca haplotip I ile ilişkili bulunmuştur (Kaplan 1990, Knott 2006). Güney Amerika’da yer alan Brezilya’da β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonu; I, II ve V haplotip türleri ile ilişkili gözlenir iken, Meksika toplumunda ise, tez çalışmamızda kullanılan restriksiyon endonükleaz bölgeleri ile yapılan çalışmada, bu mutasyonun haplotip II (- + + - + +) yanında (- - - + + -) olarak bulunan farklı bir haplotip türü üzerinde görüldüğü saptanmıştır (Villalobos-Arambula 1997, Martins 2005) (Tablo 5.1, 5.2).

Yüksek sıklıkta gözleendiği İtalya’nın Sardinya adasında, β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonunu heterozigot formda taşıyan bireylerde, tez çalışması ile aynı restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak, bu mutasyon dokuz farklı kromozomal haplotip tabanı üzerinde görülmüştür. Sardinya adasında β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonu, başlıca II (% 52.4), I (% 28.5) ve VII (% 9.5) haplotipleri olmak üzere, % 4.8 sıklıklarla III, IX haplotip türlerini içeren toplam beş haplotip yapısı ile ilişkili olarak tanımlanmıştır (Piras 2005) (Tablo 5.1). Buna karşın Sardinya’daki normal bireylerde, haplotip I sıklığı haplotip II’den daha yoğun olarak bulunmuştur (Rosatelli 1987, Pirastu 1988, Latini 2003, Piras 2005). Sardinya’da β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonu ile ilişkili en yaygın haplotip, önceki çalışmalar ile Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- $3'\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- $3'\beta$ restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak, haplotip II olarak belirlenmiştir (Pirastu 1987, 1988). Fransa’nın Korsika adasında ise, β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyon-haplotip ilişkisine dayalı olarak yapılan çalışmalarda, bu mutasyon, Sardinya adasında yaşayan toplumla oldukça benzer şekilde görülmüş olmakla birlikte, β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonunun tez çalışmamızda kullanılan RFLP bölgeleri kullanılarak, en yüksek sıklıkta (% 18.7) haplotip II, daha sonra azalan

oranlarda I (% 2.3) ve VII (% 2.1) haplotip türleri ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Latini 2003, Falchi 2005). β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonunun düşük sıklıkta haplotip VII üzerinde görülmesi, bu mutasyonla ilişkili haplotip VII'nin, rekombinasyon sonucu haplotip I'den meydana gelmiş olabileceği yönünde bir yorum getirmiştir (Falchi 2005). Sicilya'da ise, Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- $3'\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- $3'\beta$ restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak, bu mutasyon I, II, VII ve IX haplotip türleri ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Di-Marzo 1988). Bu sonuçlara göre, β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonun, Batı Akdeniz orjinli olabileceği hipotezi ileri sürülmüştür (Falchi 2005).

Türkiye'de gözlenen β^0 Kodon 39 (C>T) mutasyonunu taşıyan alellerde, Hinc II- ϵ , Xmn I- $5'G\gamma$, Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- $3'\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- $3'\beta$ olarak belirlenen restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak, bu mutasyonun genelde II (% 50.0) ve IV (% 50.0) haplotipleri üzerinde tanımlandığı gösterilmiştir (Diaz-Chico 1988, Aulehla-Scholz 1990, Flint 1993a, 1993b, Tadmouri 2001a, 2001b, Zahed 2002) (Tablo 5.1).

Tez çalışmasından elde edilen sonuçlara göre, ilimizde β^0 Kodon 39 (C>T) heterozigot olgularda, bu mutasyon en yoğun olarak % 30.1 sıklıkla haplotip II (- + + - + +), daha düşük sıklıkta (% 23.1) ise haplotip I (+ - - - + +) ve % 7.7 sıklıklarda ise VII (+ - - - - +) ve (- + - - + + -) haplotipleri ile ilişkili olarak belirlenmiştir (Bkz. Tablo 4.16, 5.2). Böylece Akdeniz ülkelerinde bu mutasyonla ilişkili en yaygın haplotip II'nin yöremizde de % 30.1 sıklıkla gözlendiği ve ilimizin bu mutasyon açısından Akdeniz karakteri taşıdığı ortaya konulmuştur.

5.10. β^0 Kodon 44 (-C) Talasemi- Haplotip İlişkisi

β^0 Kodon 44 (-C) mutasyonu, ilk olarak 1982 yılında Güney İran'lı bir hastada homozigot formda görülmüş, daha sonra bu mutasyona İsrail, Tunus, Arnavutluk ve Çekoslovakya'da da rastlanmıştır (Kinniburgh 1982, Rund 1991, 1997, Boletini 1994, Kiani 2007). Ayrıca β^0 Kodon 44 (-C) beta talasemi mutasyonu, Arap yarımadasındaki ülkelerde de belirlenmiştir (Rund 1991, El-Kalla 1993, Quaife 1994, Zahed 2001).

Türkiye’de ise bu mutasyonun sıklığı, % 1.3 olarak ifade edilmektedir (Tadmouri 1998).

Lübnan’da, β^0 Kodon 44 (-C) mutasyonu Sünni ve Şii gruplarda görülmüş olup, tez çalışmamızda kullanılan RFLP bölgeleri incelenmiş, IX (% 75.0) ve I (% 25.0) haplotip türleri ile ilişkili bulunmuştur (Makhoul 2005) (Tablo 5.1). Başka bir çalışmada, Zahed ve arkadaşları Lübnan’da, aynı restriksiyon endonükleaz bölgelerini inceleyerek, β^0 Kodon 44 (-C) mutasyonun haplotip I yanında, 10 (+ + - + + +) haplotipi türü ile de ilişkili olduğunu göstermişlerdir (Zahed 2000). Diğer toplumdaki β^0 Kodon 44 (-C) mutasyonu-haplotip ilişkilerine dayalı olarak yapılan çalışmalarda, Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- $3'\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- $3'\beta$ restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak, bu mutasyonun İsrail’de bulunan Kürt Yahudi grubunda haplotip I, İran’da ise çoğunlukla haplotip I yapısı ile tanımlanmış olmakla birlikte, düşük sıklıkta haplotip VII ile de ilişkili olduğu belirlenmiştir (Rund 1991, Rahimi 2009) (Tablo 5.1).

Türkiye ve Tunus’ta ise, β^0 Kodon 44 (-C) mutasyonu ile ilişkili haplotip verisi bulunmamaktadır (Fattoum 1991, Başak 1992). Khan ve arkadaşları, Pakistan’da bulunan β^0 Kodon 44 (-C) olgusu ile ilişkili haplotip verisini kesin olarak tanımlayamamalarına rağmen, β^0 Kodon 44 (-C) mutasyonunun daha çok haplotip I üzerinde gelişmiş olma olasılığının daha fazla olduğunu düşünmüşlerdir (Khan 2000). Bu düşünceye sahip olmalarının nedeni, daha önce Asyalı Hint toplumunda bildirilmiş olan IVS I- 1 (G>T) mutasyonun, tez çalışması ile aynı restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak, IX (% 97,1), VII (% 5,5) ve I (% 2,8) haplotip türleri ile ilişkili olduğunun bulunmasıdır (Varawalla 1992, Khan 2000).

Yöremizde ise, β^0 Kodon 44 (-C) heterozigot olguların sayısı az olduğu ve bu mutasyon için aile çalışması yapılamadığından, diğer toplumlarda gözlenen sonuçlarla uyumlu olarak, β^0 Kodon 44 (-C) mutasyonu ile ilişkili olası haplotipler, I ve IX olarak düşünülmektedir (Bkz. Tablo 4.17, 5.2).

5.11. β^+ IVS II- 745 (C>G) Talasemi- Haplotip İlişkisi

Akdeniz kökenli olarak tanımlanmış olan diğer beta talasemi mutasyonu ise, β^+ IVS II- 745 (C>G)'dir. Bu mutasyon başlıca; Karadeniz, Marmara Denizi, Ege Denizi ve Akdeniz boyunca Türkiye'nin kıyı bölgelerinde gözlenmektedir (Tadmouri 1999). β^+ IVS II- 745 (C>G) mutasyonunu taşıyan alellerin Bulgaristan, İran, Suriye ve Ürdün'de görülmesi, çeşitli dönemlerdeki nüfus hareketleri ile β^+ IVS II- 745 (C>G) mutasyonunun, Türkiye'nin kıyı bölgelerine taşındığı yönünde görüşlerin ileri sürülmesine neden olmaktadır (Quaife 1994, El-Hazmi 1995, Tadmouri 1998, Yavarian 2001).

Akdeniz ülkelerinde ve diğer toplumlarda bu mutasyona ait haplotip türleri, Hinc II- ϵ , Xmn I- 5'G γ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- 3' β restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak incelendiğinde, β^+ IVS II- 745 (C>G) mutasyonunun genelde haplotip VII (+ - - - - +) ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (Orkin 1984b, Pirastu 1988, Cao 1989). Diğer toplumlara ait, mutasyon-haplotip ilişkisine dayalı olarak yapılan çalışmalarda β^+ IVS II- 745 (C>G) mutasyonunun, Mısır, Türkiye, Kıbrıs, İtalya, Sicilya ve Bulgaristan'da haplotip VII üzerinde gözlendiği saptanmıştır. (Rosatelli 1987, 1992b, Diaz-Chico 1988, Di-Marzo 1988, Sozuoz 1988, Kalaydjieva 1989, Aulehla-Scholz 1990, Novelletto 1990, Massa 1994, Ferrara 2003) (Tablo 5.1). Yunanistan'da da, β^+ IVS II- 745 (C>G) mutasyonunu taşıyan alellerde, Hinc II- ϵ , Xmn I- G γ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Hinf I- 5' β , Ava II- β , Rsa I- 3' β olarak belirlenen dokuz restriksiyon endonükleaz bölgesi incelenerek, bu mutasyonun haplotip VII (+ - - - - + + -) ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Dedoussis 1999) (Tablo 5.1).

Ayrıca Fas'da ve Lübnan'daki Sünni ve Şii gruplarda da, tez çalışmamızda kullanılan RFLP bölgeleri kullanılarak, β^+ IVS II- 745 (C>G) mutasyonun haplotip VII üzerinde görüldüğü saptanmıştır (Zahed 2000, Lemsaddek 2003, Makhoul 2005, Agouti 2007, 2008) (Tablo 5.1). Tunus'da, Hinc II- ϵ , Hind III- G γ , Hind III- A γ , Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3' $\psi\beta$, Hinf I- 3' δ , Hgi A1- β , Ava II- β , Bam HI- 3' β restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak, β^+ IVS II-745 (C>G) mutasyonunun ilişkili olduğu

haplotip türü, haplotip VII (+ - - - - + - - +) olarak tanımlanmıştır (Chibani 1988) (Tablo 5.1).

Diğer araştırmalarda ise, Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- $3'\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- $3'\beta$ restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak, β^+ IVS II- 745 (C>G) mutasyonu, Kürt Yahudi grubunda, İsrail ve Cezayir'de de haplotip VII, İran'da ise, I/IV haplotip kombinasyonu ile haplotip VI ve A3 (- + + - + - +) haplotip türü üzerinde belirlenmiştir (Rund 1991, Rahimi 2005, 2009) (Tablo 5.1, 5.2).

Yöremizde ise, β^+ IVS II- 745 (C>G) mutasyon sayısı az olduğu ve bu mutasyona ait aile çalışması yapılamadığından, kesin mutasyon- haplotip ilişkisi tanımlanamamakla birlikte, β^+ IVS II- 745 (C>G) mutasyonu ile ilişkili olası haplotiplerin I, IV ve VII haplotip türleri olabileceği düşünülmektedir (Bkz. Tablo 4.17, 5.2).

5.12. β^0 IVS I- 130 (G>C) Talasemi- Haplotip İlişkisi

Yapılan araştırmalarda, IVS I- 130 beta talasemi mutasyonunun iki farklı formu belirlenmiştir. Bu formlardan biri, β^+ fenotipine neden olan, G>A baz değişimi sonucu meydana gelen β^+ IVS I- 130 (G>A) ile, diğeri ise β^0 fenotipine yol açan G>C baz değişimi sonucu oluşan β^0 IVS I- 130 (G>C) mutasyonudur. Tez çalışmasında incelenen IVS I- 130 mutasyonu, yöremizde gözlediğimiz β^0 IVS I- 130 (G>C) formundadır.

İlk kez Japon bir hastada belirlenmiş olan β^0 IVS I- 130 (G>C) mutasyonu, daha sonra Sri Lanka ve Hindistan'da da gözlenmiştir. Japonya'da bu mutasyona ait haplotip verileri elde edilememesine rağmen, Hindistan'da tez çalışmamızda kullanılan RFLP bölgeleri kullanılarak, β^0 IVS I- 130 (G>C) mutasyonunun haplotip VII (+ - - - - +) ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Edison 2008) (Tablo 5.1, 5.2). Sri Lanka'da da Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- $3'\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- $3'\beta$ restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak, bu mutasyonun haplotip VII ile ilişkili olduğu gözlenmiştir (Fisher 2003) (Tablo 5.1, 5.2). Bu mutasyonun çeşitli toplumlarda

olduğu gibi, Türkiye’de de nadir olarak görüldüğü ifade edilmekte ve ülkemizde bu mutasyon ile ilişkili haplotip veri bulunmamaktadır (Altay 2002, Nal 2005).

Tez çalışmasında ilimizde belirlenmiş β^0 IVS I- 130 (G>C) mutasyonu taşıyan aile incelenmiş, elde edilen veriler doğrultusunda bu mutasyonun ilişkili olduğu haplotip(ler) kesin olarak tanımlanamamıştır (Bkz. Tablo 4.4). İlimizde gözlenen β^0 IVS I- 130 (G>C) mutasyonu ile ilişkili kesin haplotipin belirlenebilmesi için, bu aileye ilişkin, özellikle mutasyon taşımayan daha fazla olguya ihtiyaç duyulmaktadır.

Çeşitli toplumlarda gözlenen diğer formdaki β^+ IVS I- 130 (G>A) mutasyonunu taşıyan olgu, ilk kez Mısır’lı bir hastada tanımlanmış olup, bu mutasyonun Kuzey Afrika kökenli olabileceği düşünülmüştür. Türkiye’de ise β^+ IVS I- 130 (G>A) mutasyonu, Tadmouri ve arkadaşları tarafından 2000 yılında, bu mutasyonu homozigot formda taşıyan bir olguda belirlenmiştir (Tadmouri 2000). Mısır’da ve Türkiye’de gözlenen olguların her ikisinin de β^+ IVS I- 130 (G>A) / β^+ IVS I- 6 (T>C) çift heterozigot yapıda olduğu bildirilmektedir. β^+ IVS I- 130 (G>A) mutasyonu, Türkiye, Mısır ve Sri Lanka’da I (+ - - - + +) ve V (+ - - - + -) haplotip türleri, Hindistan toplumunda ise yalnızca haplotip V ile ilişkili bulunmuştur (Fisher 2003, Edison 2008). Kore’de ise her iki formda belirlenen β^+ IVS I- 130 beta talasemi mutasyonu gözlenmiş olmasına rağmen, bu mutasyonlarla ilişkili haplotip veriler tanımlanamamıştır (Park 2002). İlimizde ise, β^+ IVS I- 130 (G>A) formundaki beta talasemi mutasyonuna rastlanmamıştır.

5.13. β^0 IVS I- 116 (T>G) Talasemi- Haplotip İlişkisi

İlk kez Metherall ve arkadaşları tarafından 1986 yılında tanımlanmış olan β^0 IVS I- 116 (T>G) beta talasemi mutasyonu, diğer mutasyonlara göre Akdeniz toplumlarında nadir olarak gözlenmektedir (Metherall 1986, Başak 1992, Yıldız 2005). Bu mutasyon, Türkiye, Yunanistan ve Sicilya’da yer alan bazı ailelerde belirlenmiş, düşük sıklıkta görülen bir beta talasemi allelidir (Başak 1992, Huisman 1998).

Akdeniz toplumlarında Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- $3'\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- $3'\beta$ restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak

incelenen haplotip analiz sonuçlarına göre, β^0 IVS I- 116 (T>G) mutasyonlarının yalnızca haplotip I ile ilişkili olduğu belirlenmiştir (Cao 1989). Türkiye’de bu mutasyon ile ilişkili haplotip verisi bulunmamakta olup, yapılan tez çalışması verileri doğrultusunda, yöremizde β^0 IVS I- 116 (T>G) mutasyonu ile ilişkili olası haplotipler belirlenmeye çalışılmıştır. Fakat bu mutasyonu içeren örnek sayısının az olması ve bu mutasyon ile ilgili aile çalışması yapılamaması nedeni ile bu mutasyon için yöremizde olası haplotiplerin, I (+ - - - - + +) / VII (+ - - - - - +) yapıları taşıyabileceği düşünülmektedir (Bkz Tablo 4.17, Tablo 5.2). Bu mutasyon ile ilişkili kesin haplotip (ler)’in elde edilebilmesi için daha fazla örnek sayısına ihtiyaç duyulmaktadır.

5.14. β^+ - 87 (C>G) Talasemi- Haplotip İlişkisi

Akdeniz ülkelerinde dolayısıyla, Türkiye’de de nadir olarak gözlenen bir diğer beta talasemi türü ise, β^+ - 87(C>G) promotor bölge mutasyonudur (Diaz-Chico 1988, Cao 1989, Huisman 1998). Özellikle Bulgaristan olmak üzere, Kuzey Akdeniz ülkelerinde beta talasemi kromozomlarının yalnızca % 4.0’ nün β^+ - 87(C>G) mutasyonu taşıdığı belirlenmiştir (Tadmouri 1999). Çeşitli araştırmacılar tarafından farklı toplumlardaki β^+ - 87(C>G) mutasyonunun sıklığı incelendiğinde, bu mutasyonun daha çok Karadeniz yöresindeki toplumlarda görüldüğü konusunda bir görüş ortaya atılmıştır (Kalaydjieva 1989, Huisman 1998, Tadmouri 1998, Efremov 2008).

Akdeniz kuşağında β^+ - 87 (C>G) promotor bölge mutasyonu, Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$, Hinc II- 3’ $\psi\beta$, Ava II- β , Bam HI- 3’ β restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak incelendiğinde, çoğunlukla V ve VIII haplotip türleri ile ilişkili bulunmuştur (Diaz-Chico 1988, Cao 1989, Rosatelli 1989, Camaschella 1990, Ferrara 2003, Dedoussis 2005). Rosatelli ve arkadaşlarına göre, İtalya’da β^+ - 87 (C>G) mutasyonunun, çoğunlukla haplotip VIII ile ilişkili olduğu saptanmakla birlikte, bir olguda bu mutasyonun haplotip V tabanı üzerinde de gözlemlendiği belirlenmiştir (Rosatelli 1989) (Tablo 5.1).

Akdeniz ülkelerinde β^+ - 87 (C>G) mutasyonun iki haplotip yapı ile ilişkili dağılımı, bu mutasyon için iki farklı gen akışı bulunabileceğini düşündürmektedir. De-Angioletti ve arkadaşlarının Hinc II- ϵ , Hind III- $G\gamma$, Hind III- $A\gamma$, Hinc II- $\psi\beta$,

Hinc II- 3'ψβ, Ava II- β, Bam HI- 3'β restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanarak yapmış oldukları çalışmaya göre β⁺- 87 (C>G) mutasyonu, İtalya'nın güney batısında haplotip VIII (- + - + - /+ -) ve Doğu Sicilya'da haplotip V (+ - - - - /+ -) olmak üzere iki farklı haplotip türü ile ilişkili olarak belirlenmiştir (De-Angioletti 2004) (Tablo 5.1, 5.2). Yapılan araştırmalar sonucu elde edilen verilere göre, haplotip V (+ - - - - + -) Sicilya, Yunanistan ve Lübnan'da daha sık olarak dağılmış olmakla birlikte, haplotip VIII (- + - + - + -) Kuzey Sardinya, Yugoslavya ve Kamboçya'da bildirilmiştir (Di-Marzo 1988, Zahed 2000, De-Angioletti 2004, Dedoussis 2005, Makhoul 2005) (Tablo 5.1, 5.2). Fakat bu çalışmalardan Lübnan'da β⁺- 87 (C>G) mutasyonun haplotip V ile ilişkisinin belirlendiği araştırmalarda, tez çalışmamızda kullanılan RFLP bölgeleri (Hinc II- ε, Hind III- Gγ, Hind III- Aγ, Hinc II- ψβ, Hinc II- 3'ψβ, Ava II- β, Hinf I- 3'β) çalışılmıştır (Zahed 2000, Makhoul 2005). Ayrıca bu mutasyon, Meksika'da tez çalışmamızda kullanılan RFLP bölgeleri incelenerek, haplotip IX, Güney Amerika'da bulunan Brezilya'da ise, Hinc II- ε, Hind III- Gγ, Hind III- Aγ, Hinc II- ψβ, Hinc II- 3'ψβ, Ava II- β, Bam HI- 3'β restriksiyon endonükleaz bölgeleri çalışılarak haplotip V ile ilişkili olarak tanımlanmıştır (Villalobos-Arambula 1997, Martins 2005) (Tablo 5.1). Son yıllarda Hindistan toplumunda, tez çalışmamızda kullanılan restriksiyon endonükleaz bölgeleri incelenmiş ve burada β⁺- 87 (C>G) mutasyonunun haplotip VII ile ilişkili olduğu ilk kez gösterilmiştir (Edison 2008) (Tablo 5.1, 5.2).

Türkiye'de ise β⁺- 87 (C>G) mutasyonunun, her iki haplotip türü (V ve VIII) ile ilişkili olduğu Hinc II- ε, Xmn I- 5'Gγ, Hind III- Gγ, Hind III- Aγ, Hinc II- ψβ, Hinc II- 3'ψβ, Ava II- β, Bam HI- 3'β restriksiyon endonükleaz bölgeleri kullanılarak belirlenmiştir (Diaz-Chico 1988, Aulehla-Scholz 1990) (Tablo 5.1, 5.2). İlimizde çalışılan β⁺- 87 (C>G) sayısı az olduğu ve bu mutasyon için aile çalışması yapılamadığından, bu mutasyon ile ilişkili olası haplotiplerin; V, VIII ve (- - - - - + -) olduğu düşünülmektedir (Bkz Tablo 4.17, 5.2).

Tablo 5.1 Farklı toplumlarda gözlenen haplotip ve mutasyon ilişkilerinin elde edilen veriler ile karşılaştırılması

MUTASYON TÜRLERİ	ÜLKELER- HAPLOTİP İLİŞKİLERİ																										
	Fas	Tunus	Cezayir	İsrail	Lübnan	İran	Porekiz	İspanya	İrlanda	Yunanistan	İtalya- Sicilya	Çekoslovakya	Makedonya, Yugoslavya	Bulgaristan	Mısır	Brezilya	Meksika	Filistin	Kıbrıs	Endonezya- Malezya	Hindistan	Sri Lanka	Kore	Beytika	Türkiye	Denizli	
IVS I- 110 (G>A)	I,II	I	I,II	I	I,II	I,IX	I	I	I	I	I,II,IX	-	I,IX	I, VII	I,II	I,V, VII	-	I	I	-	-	-	-	-	-	I,II, IV, IX	I,VII
IVS I- 1 (G>A)	IV, V, IX	V	I,III, V, IX	V	V,IX	I	III, V, IX	V	-	V	II, III, V	V	-	V	V	V	V	V	-	-	I	VII	-	-	V	V,VIIa	
IVS I- 6 (T>C)	VI, VII	VI	VI, IX	VI, VII	I, II, VI, VII	-	IV, VI, VII	VI, X	-	VI, VII, IX	VI, VII, X	-	VI, VII	VI, VIa	VI	VI	-	VI, VII	-	-	-	-	-	IX	VI, VII	VI, VIa, VII	
IVS II- 1 (G>A)	III	-	III	I, III, V	III	I, II, III, V, VIII, IX, X	-	-	-	IX	I, III, IX	-	-	V	III	-	-	I	III, V	-	III	-	-	-	III, V	III, V	
IVS I- 5 (G>C)	-	-	-	I, VII	VII, IX	I, II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	I, V	-	-	-	I, IX, VII	I, IV, VII	IV, I, VII, X	-	-	IX	IV, IX	
FSC 8/9 (+G)	-	-	-	-	I	I, V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	I	-	-	I, VII	I	I	-	-	I	
FSC 8 (-AA)	IV, VI, VII	IV	IX	IV	IV, VII	II, IV, VIII, IX	-	-	-	IV	IV	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	VII	IV, VII	IVa, VII	
FSC 6 (-A)	III, IX	V, IX	I, IX	-	-	-	-	I, V	-	-	I, IX	-	-	V	V	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	V, VIII, IX	IX
Kodon39 (C>T)	I, II	I, II	I, II, IX	I, II, VII	I, II	VII	I, II, VI	I, II	I	-	I, II, III, VII, IX	-	-	I, II	II	I, II, V	II	II	-	-	-	-	-	II	II, IV	I, II, VII	
Kodon 44 (-C)	-	-	-	I	I, IX	I, VII	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
IVS II- 745 (C>G)	VII	VII	VII	VII	VII	I, IV, VI	-	-	-	VII	VII	-	-	VII	VII	-	-	-	VII	-	-	-	-	-	VII	-	
- 87 (C>G)	-	-	-	-	V	-	-	-	-	V	V, VIII	-	VIII	-	-	V	IX	-	-	-	VII	-	-	-	V, VIII	-	
IVS I- 116 (T>G)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
IVS I- 130 (G>C)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	VII	VII	-	-	-	-	

Tablo 5.2 Devamı

ÜLKELER	MUTASYON TÜRLERİ				
	β^0 FSC 8/9 (+G)	β^0 FSC 8 (-AA)	β^0 Kodon 6 (-A)	β^0 Kodon 39 (C>T)	β^0 Kodon 44 (-C)
Lübnan		Asya H (- + - + - +)			10 (+ + - + + +)
İran		A3 (- + + - - +)		D (- + + + + -) II* (- + + - - +)	
Hindistan	+ - - - - + + + + - - - - + + - + + - + + + + + - + + + + +				
Indo-Mauritians	F (- - - - - +)				
Cezayir			A (- - - - - +)	B (- + + - - -)	
Fas			IX (- + - + + +) III (- + - + + +) A (- - - - - +)	Nd (- - - - - +)	
Tunus			A (- - - - - +)	A (- - - - - +) 5a (- + + - - +) Nc (+ + + - - +) Nd (- - - - - +)	
Meksika				- - - - - +	
Portekiz			E (- - - - - +)		
İspanya				(- + + - - +)	
Denizli	I (+ - - - - +)	IVa (- + - + + +) VII (+ - - - - +) III (- + - + + -)	IX (- + - + + +)	- + - + + - I (+ - - - - +) II (- + - + + +) VII (+ - - - - +) IX (- + - + + +)	I (+ - - - - +) IX (- + - + + +)
ÜLKELER	MUTASYON TÜRLERİ				
	β^* - 87 (C>G)	β^0 IVS I- 130 (G>C)	β^0 IVS I- 116 (T>G)	β^* IVS II- 745 (C>G)	
Lübnan	V (+ - - - - +)				
İran				A3 (- + + - - +) I/IV (+ - - - - +/ - + - + - +)	
Sri Lanka		VII (+ - - - - +)			
Hindistan	VII (- + - + + -)	VII (+ - - - - +)			
Yunanistan	V (+ - - - - +)				
Denizli	V (+ - - - - +) VII (- + - + + -) (- - - - - +)	(+/- + + / - + / - + + +)	I/VII (+ - - - - + / + - - - - +)	I (+ - - - - +) IV (- + - + + +) VII (+ - - - - +)	

5.15. XmnI Polimorfizmi

Bazı beta talasemi mutasyonlarında (β^+ IVS I- 5 (G>C), β^0 IVS II- 1 (G>A), β^+ - 87 (C>G), β^0 FSC 6 (-A) v.b.) talaseminin kliniğini hafifletici faktörlerden biri olarak kabul edilen Hb F üretimindeki artışın, γ -globin genlerinin LCR bölgesinde yer alan β -promotor bölgesi ile rekabete girerek ekspresyonunu arttırması veya γ -globin gen transkripsiyonunun baskılanmasının ortadan kaldırılması sonucu olduğu düşünülmektedir. Beta talasemili hastaların kliniğini hafifleten diğer önemli bir etkenin ise, $G\gamma$ promotörü üzerinde -158. konumdaki C>T nükleotid değişimi olduğu, bu değişimin hematopoyetik stres koşullarında, $G\gamma$ globin ekspresyonunun artması ile ilişkili olarak Hb F üretimini yükselttiği ifade edilmektedir (Gilman 1985, Dedoussis 2005, Agouti 2007). Hb F seviyelerinin dolayısıyla, $G\gamma$ globin gen ekspresyonunun düzenlenmesinde etkili olduğu düşünülen işlgelerin anlaşılmasının, hemoglobinopatilerin tedavisinde önemli katkılar sağlayabileceği önerilmektedir (Stroboulis 1992, Dedoussis 2005). Bu doğrultuda, beta talasemiye neden olan gen bölgeleri ile etkileşen bazı gensele belirleyicilerin moleküsel doğası tanımlanmaya çalışılmaktadır (Rund 1997). Hb F artışı yoluyla, hastalığın klinik şiddetini hafifletici ve hastalığı iyileştirici farmakolojik tedavi yöntemlerinin seçimi için, tedavinin uygulanacağı hedef hastalarda, bu tür moleküsel temellerin irdelenerek, her bir olgunun genotip olarak tanımlanması özel önem taşımaktadır (Kohli-Kumar 2002).

Bu amaçla birçok araştırmacı, hematolojik açıdan normal, beta talasemili ve anormal hemoglobine sahip bireylerdeki Xmn I polimorfizm sıklığını incelemektedir. Normal olgulara ait alleleler ve Xmn I polimorfizm ilişkisine yönelik yapılan çalışmalardan biri olarak, Amerika Birleşik Devletleri'nde incelenen 200 normal bireyin, % 25.0' inde yüksek Hb F düzeyleri ile birlikte homozigot formda Xmn I polimorfizmi (Xmn I [+/+]) gözlenmiştir. Bu sonuç, -158 $G\gamma$ (C>T) Xmn I polimorfizminin normal yetişkin bireylerde, artan Hb F üretim yetkinliğinde önemli bir faktör olabileceğini düşündürmüştür. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan başka bir çalışmada ise, normal bireylerde Xmn I polimorfizmi ve F hücre sayısı incelenmiştir. Yüksek F hücreye sahip grupta yer alan 15 bireyin 13'ünde Xmn I polimorfizmi gözlenmekle birlikte, düşük F hücreye sahip grupta yer alan 16 bireyin beşinde Xmn I

polimorfizmi belirlenmiş, çok düşük F-hücreye sahip grupta bulunan sekiz bireyin yalnızca birinde Xmn I polimorfizmi tanımlanmıştır. Bu araştırmanın sonucu, normal bireylerde F hücre sayısındaki değişiklik ile Xmn I polimorfizmi arasında direkt bir ilişki olmadığını göstermekle beraber, Xmn I polimorfizminin Hb F yüzdesi ile ilişkisinin bulunmadığını belirtmektedir (Sampietro 1992). Diğer taraftan, Patrinos ve arkadaşları, Akdeniz ülkelerinde diğer etnik gruplara göre Xmn I polimorfizminin daha sık olarak gözlemlendiğini ifade etmişlerdir (Patrinos 1995).

Beta talasemili olgulara ait aleller ile Xmn I polimorfizmi arasındaki ilişkiye dayalı yapılan araştırma sonuçları incelendiğinde, Çin'de yer alan 58 beta talasemili olguda, % 89.7 Xmn I (-/-), % 10.3 sıklıkla Xmn I (+/-) olarak belirlenmiştir. Önceden Çin'in Hong Kong bölgesinde çalışılan 12 beta talasemili olguda da, % 97.1 Xmn I (-/-), % 8.3 sıklıkla Xmn I (+/-) olarak gösterilmiştir (Antonarakis 1988). Tayland'da incelenen Hb E- β talasemi kombinasyonuna sahip, klinik olarak beta talasemi majör tablosu gösteren hastalarda, düşük sıklıkta (% 8.9) Xmn I polimorfizmi belirlenmiştir (Winichagoon 1993). Malay'da incelenen 49 beta talasemili olguda ise, % 63.3 Xmn I (+/-), % 28.6 Xmn I (-/-) ve % 8.2 Xmn I (+/+) olarak saptanmıştır (Wong 2006). Hindistan'da yapılan bir çalışmada, talasemi minörlü grupta Xmn I polimorfizminin, talasemi majörlü gruba göre daha çok gözlemlendiği, Xmn I polimorfizm varlığının Hindistan toplumunda hastalığın hafif klinik seyirde gözlenmesinde önemli faktörlerden biri olduğu, fakat bu farklılığın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirtilmiştir (Nadkarni 2001). Doğu Hindistan'da çalışılan 64 beta talasemili olguda ise, % 76.5 Xmn I (+/-), % 14.1 Xmn I (-/-) ve % 9.4 sıklıkla Xmn I (+/+) gözlenmiştir. Bu çalışmada belirlenen % 9.4 sıklıktaki Xmn I varlığının, hafif beta talasemi fenotipi ile ilişkili olduğu ortaya konulmuştur (Bandyopadhyay 2005). Knott ve arkadaşları Kuzey İrlanda toplumunda yer alan bütün beta talasemi taşıyıcı bireylerde, Hb F seviyeleri ile Xmn I polimorfizmini karşılaştırmışlar ve Hb F seviyeleri ile bu polimorfizm arasında bir ilişki bulamamışlardır (Knott 2006). Aynı ülkenin farklı bölgelerinde bile Xmn I polimorfizm sıklıklarında gözlenen bu farklılıklar sonucu, talasemik bireylerde gama globin zincir sentezi artışından sorumlu olan -158 G γ (C>T) polimorfizminin yanı sıra, beta globin gen ailesi ile ilişkili olan veya olmayan diğer genetik faktörlerin de etkili olabileceği düşünülmektedir (Efremov 1994b).

Yapılan çalışmalar sonucu, Xmn I polimorfizmi ile ilişkili olduğu görülen bazı beta talasemi mutasyonları da ifade edilmektedir. Genel olarak Xmn I polimorfizmi taşıyan bu mutasyonlar, β^0 FSC 8 (-AA) ve β^0 IVS II-1 (G>A) olarak tanımlanmıştır (Tadmouri 1999, Alebouyeh 2004, Grosso 2008). Farklı araştırmacılar tarafından İran'da çalışılan beta talasemi intermedia'lı olgularda, Xmn I polimorfizmi incelendiğinde, bu bireylerin yaklaşık % 76.0'sında Xmn I (+/-) ve Xmn I (+/+) gözlenmiş olmakla birlikte, bu polimorfizm varlığının çoğunlukla haplotip I ile ilişkili β^0 IVS II-1 (G>A) beta talasemi mutasyonlarında ortaya çıktığı belirlenmiştir (Karimi 2002, Yavarian 2004). Ayrıca Rahimi ve arkadaşları, İran'da III ve IX haplotipleri ile ilişkili beta talasemi mutasyonlarında da, Xmn I polimorfizminin bulunduğunu ifade etmişlerdir (Rahimi 2009). Fas'ta ise, Xmn I polimorfizminin gözlendiği beta talasemi mutasyonları; β^0 FSC 8 (17 kromozom), β^0 FSC 6 (yedi kromozom), β^0 IVS I- 1 (bir kromozom), β^0 Kodon 24 (iki kromozom), β^0 IVS II- 1 (bir kromozom) olarak belirlenmiştir. Fakat bu çalışmada, β^0 Kodon 39 (C>T), β^+ - IVS II- 745 (C>G), β^+ - 29 (A>G), β^+ - IVS I- 6 (T>C), IVS I- 2 (A>C) gibi beta talasemi mutasyonları ve Hb S (orak hücre anemisi) olgularında ise, Xmn I polimorfizmi gözlenmemiştir. Ayrıca bu araştırma içinde incelenen 41 β talasemi homozigot olguya ait 82 β talasemi kromozomun, 29'unda (% 36.25) Xmn I polimorfizmi (Xmn I [+]) gözlenmiştir. Xmn I polimorfizminin belirlendiği olguların, sekizinde bu polimorfizm homozigot formda (Xmn I [+/+]), 13 olgu da ise Xmn I polimorfizmi heterozigot (Xmn I [+/-]) formda belirlenmiştir (Agouti 2007). Lübnan'da bu polimorfizm ile pozitif bir ilişki gösteren beta talasemi mutasyonları; β^0 FSC 8 (-AA), β^0 IVS II- 1 (G>A) ve β^0 Kodon 30 (G>C) olarak tanımlanmıştır (Qatanani 2000). Küveyt'de ise Xmn I polimorfizmi, β^0 IVS II- 1 (G>A), β^+ IVS I- 6 (T>C) ve β^0 FSC 8 (-AA) mutasyonlarını taşıyan bütün kromozomlarda gözlenmiştir (Adekile 2005).

İtalya'da beta talasemi fenotipinde etkili olduğu düşünülen Xmn I polimorfizmi ile ilişkili beta talasemi mutasyonları; β^0 FSC 6 (-A), β^0 FSC 8 (-AA), β^0 IVS II- 1 (G>A) ve β^0 Kodon 39 (C>T) olarak belirtilmiştir (Galanello 1998). İtalya'da yapılan başka bir çalışmada ise, haplotip VIII ile ilişkili β^+ - 87 (C>G) mutasyonu taşıyan olgularda Xmn I polimorfizmi gözlenmekle birlikte, G γ :A γ oranı 70: 30 olarak belirlenmiş, böylece yüksek Hb F değerleri ile birlikte bu gruptaki olgularda hafif bir klinik tablo ortaya çıktığı ifade edilmiştir (De-Angioletti 2004). Galanello ve arkadaşları, Sardinya adasında yer alan haplotip IX ile ilişkili

β^0 FSC 6 (-A) mutasyonunu taşıyan olgularda, Xmn I polimorfizmi ile birlikte hafif bir klinik tablo gözlemlenmiştir (Galanello 1989). Ragusa ve arkadaşlarına göre, İtalya'da I, III ve IX gibi çeşitli haplotipler ile ilişkili olarak belirlenen β^0 IVS II- 1 (G>A) mutasyonunda, haplotip III ile ilişkili bu mutasyona sahip olgularda Xmn I polimorfizminin varlığı ile birlikte, hastalık tablosunda hafif bir fenotip gözlenmektedir (Ragusa 2003). Yunanistan'da ise haplotip IIIa ile ilişkili β^0 IVS II- 1 (G>A) mutasyonuna sahip olgularda Xmn I polimorfizmi ve yüksek Hb F varlığı saptanmıştır (Dedoussis 2000b). Portekiz'de Efremov ve arkadaşlarının yapmış oldukları çalışmada, yalnızca haplotip IV ile ilişkili β^+ IVS I- 6 (T>C) mutasyonunu taşıyan olguda Xmn I polimorfizmi gözlenmiştir (Efremov 1994a).

Türkiye'de Xmn I polimorfizmi- beta talasemi mutasyonları arasındaki ilişkilere dayalı olarak yapılan çalışmalara göre, sırası ile VIII, IV, III ve IX haplotip türlerinin ilişkili olduğu β^+ - 87 (C>G), β^0 FSC 8 (-AA), β^0 IVS II- 1 (G>A) ve β^+ IVS I- 5 (G>C) beta talasemi mutasyonlarında, Xmn I polimorfizmi ile birlikte hafif bir klinik tablo gözlenmiştir (Diaz- Chico 1988). Daha sonra ülkemizde, β^0 FSC 6 (-A) alleleline sahip iki aile incelenmiştir. Çalışılan ilk ailede, bu mutasyonu taşıyan haplotip IX ile ilişkili olguda, Xmn I polimorfizmi gözlenmekte ve hafif bir klinik tablo ortaya çıkmaktadır. Diğer aileye ait haplotip VIII ile ilişkili β^0 FSC 6 (-A) allelline sahip olguda ise, Xmn I polimorfizmi bulunmamakta ve hem hematolojik hem de klinik olarak daha ciddi bir hastalık tablosu belirlenmektedir. Ayrıca bu çalışmada, ilk aileye ait bireylerden haplotip III ile ilişkili β^0 IVS II- 1 (G>A) mutasyonu taşıyan olguda da Xmn I polimorfizminin varlığı gösterilmiştir (Birben 2001). Panigrahi ve arkadaşları, Hindistan'da yer alan β^+ IVS I- 5 (G>C) mutasyonu taşıyan olgularda, bu polimorfizmin tek başına varlığının etkili olmadığını belirlemekle beraber, Xmn I polimorfizminin α -talasemi ile birlikte kalıtıldığında, hastalığın fenotipinde hafifletici bir faktör oluşturduğunu ifade etmişlerdir (Panigrahi 2005b).

Ayrıca yapılan diğer çalışmalara göre, beta talaseminin klinik tablosunda iyileştirici bir faktör olarak değerlendirilen, Xmn I polimorfizmi ile ilişkili haplotipler de incelenmiştir. Bu araştırmalardan elde edilen verilere göre, (- + - + +) haplotip türü ile ilişkili beta talasemili olgularda Xmn I polimorfizmi gözlenmiş ve bu hastaların klinik tablosunun hafif olduğu belirlenmiştir (Labie 1985a, Thein 1987). İlerleyen çalışmalar sonucu, orak hücre anemili olgularda Arap-Hindistan β^S haplotip türü, beta

talasemili bireylerde ise III, IV ve IX haplotiplerine sahip olgularda, Xmn I polimorfizminin varlığı ile birlikte Gy sentezinde artış görülmesine karşın, Hb F seviyelerinde tutarsızlık gözlenmiştir (Labie 1985a, Efremov 1994a, Ferrara 2003, Lemsaddek 2003, Grosso 2008). Beta talasemili olgularda, Xmn I polimorfizmi ile ilişkili olduğu belirlenen haplotipler (III, IV ve IX) 5'β haplotip tabanları açısından incelendiğinde, bütün haplotip türlerinin aynı haplotip yapısını (- + - + +) paylaşması, -158 (C>T) Xmn I polimorfizminin genellikle bu haplotip yapı üzerinden benzer gensel tabanda bulunduğunu düşündürmüştür (Gonçalves 1998, 2002, Grosso 2008). İlimizde ise, Xmn I polimorfizm sıklığı çok düşük olduğundan, bu polimorfizm ile ilişkili haplotiplerin ifade edilmesinin bir anlam taşımayacağını görmekteyiz. Ayrıca ilimizde yer alan beta talasemili hastaların Hb F seviyeleri incelenemediği için, bu polimorfizmin Hb F seviyeleri üzerindeki etkisi bilinmemektedir.

Tez çalışmasında Denizli iline ait, 474 beta talasemili ve 200 normal kromozomda Xmn I polimorfizmi incelenerek elde edilen veriler, Xmn I (+) ve Xmn I (-) olarak iki kategoriye ayrılarak irdelenmiştir. İlimizde yer alan 200 normal kromozomda (100 normal olgu); % 78.5 Xmn I (-), % 21.5 Xmn I (+), 54 homozigot kromozomda (27 β talasemi homozigot olgu); % 92.6 Xmn I (-), % 7.4 Xmn I (+), 420 heterozigot kromozomda (210 β-talasemi heterozigot olgu) ise; % 82.1 Xmn I (-), % 17.9 oranında Xmn I (+) olarak saptanmıştır (Bkz. Tablo 4.28). İlimizde yer alan 14 farklı mutasyondan, Xmn I polimorfizmini diğer beta talasemi mutasyonlarına göre, göreceli olarak daha yüksek sıklıkta taşıyan mutasyonlar ise, β⁰ IVS II- 1 (17 kromozom), β⁰ FSC 8 (altı kromozom), β⁰ Kodon 44 (altı kromozom), β⁺ IVS I- 5 (dört kromozom), ve β⁺ - 87 (üç kromozom) olarak belirlenmiştir (Tablo 5.3). Özet olarak, ilimizde çalışılan toplam 474 β talasemik kromozomun, yalnızca 79'unda (% 16.6) Xmn I polimorfizmi belirlenmiş olduğundan, yöremizde beta talasemili bireylerde Xmn I polimorfizminin düşük sıklıkta bulunduğu gösterilmiştir (Tablo 5.3).

Tablo 5.3 Denizli ili beta talasemi mutasyonları, çalışılan toplam kromozom sayısı, mutasyon- Xmn I polimorfizm ilişkileri

No	Mutasyon	Türü	Toplam Kromozom Sayısı	Kromozom Sayısı [Xmn I (+)]
1	IVS I- 110 (G>A)	β^+	210	25
2	IVS I- 1 (G>A)	β^0	82	6
3	IVS I- 6 (T>C)	β^+	40	4
4	IVS II- 1 (G>A)	β^0	36	17
5	FSC 8 (-AA)	β^0	26	6
6	Kodon 39 (C>T)	β^0	26	4
7	IVS II- 745 (C>G)	β^+	14	3
8	IVS I- 5 (G>C)	β^+	8	4
9	FSC 8/9 (+G)	β^0	8	0
10	Kodon 44 (-C)	β^0	8	6
11	-87 (C>G)	β^+	6	3
12	Kodon 6 (-A)	β^0	2	0
13	IVS I- 116 (T>G)	β^0	4	0
14	IVS I- 130 (G>C)	β^0	4	1
TOPLAM			474	79

6. SONUÇ

Tez çalışmasında, yöremizde gözlenen beta talasemi mutasyonları ile ilişkili beta globin gen ailesi haplotipleri ve Xmn I polimorfizmi incelenmiştir. Bu tür bir ayrıntılı çalışma, ülkemizde yöresel temelde ilk kez yapılmaktadır. Elde edilen veriler iki ana alt başlık altında değerlendirilmiştir.

İlk alt başlık olarak, yöremizde rastlanan beta talasemi mutasyonları ile ilişkili beta globin gen ailesi haplotip türleri diğer çalışmalar ile karşılaştırmalı biçimde incelendiğinde, Tablo 5.1 ve Tablo 5.2'deki verilere ulaşılmaktadır. Tablo 5.1' deki veriler, Tablo 2.1'de verilen haplotip tanımlamalarına göre değerlendirmeyi kapsamaktadır. Tanımlanmış haplotiplere göre yöremizde elde edilen sonuçlar, ilimizde gözlenen beta talasemi mutasyonlarının, genellikle Akdeniz türü olduğunu göstermektedir. İlimizde gözlenen beta talasemi mutasyonları ile ilişkili beta globin gen ailesi haplotip türleri, Tablo 6.1' de özetlenmiştir. Bu tabloya göre, β^+ IVS I- 110 (G>A) mutasyonunun haplotip VII (+ - - - - +), β^+ IVS I- 5 (G>C) mutasyonunun haplotip IV (- + - + + - +), β^0 Kodon 8/9 (+G) mutasyonunun haplotip I (+ - - - - +) ile ilişkileri Türkiye'de ilk kez, β^0 IVS I- 1 (G>A) mutasyonunun haplotip VIIa (+ - - - - -) ile ilişkisi ise literatürde ilk olarak bildirilmiştir. Ayrıca Türkiye'de olduğu gibi diğer Akdeniz ülkeleri ile uyumlu olarak, yöremizde gözlenen β^0 Kodon 6 (-A) mutasyonunun haplotip IX (- + - + + +), β^+ IVS I- 6 (T>C) mutasyonunun ise VI (- + + - - - +) ve VII (+ - - - - +) haplotip türleri ile ilişkili oldukları gösterilmiştir (Tablo 6.1).

Bilindiği gibi beta globin gen ailesi içerisinde yer alan 5'- haplotipler, bu gen ailesi içerisinde kararlı bölge olarak tanımlanmaktadır. Bu bölge ile 3'-haplotip bölgesini, rekombinasyon için sıcak bölge olarak tanımlanan gen bölgesi ayırmaktadır. Elde edilen veriler, beta globin gen ailesi 5'-haplotipi olarak yeniden değerlendirildiğinde, Tablo 6.2' deki verilere ulaşılmaktadır. Tablo 6.2' e göre, yöremizde belirlenen toplam 25 haplotip yapının, kendi içerisindeki 5'-haplotip dağılımları incelenmiş ve elde edilen veriler ilimiz sağlıklı grup ile karşılaştırılmıştır. Bu sonuçlarda, Denizli'de çalışılan beta talasemi mutasyonlarının sıra ile [+ - - - -] (% 44.0), [- + - + +] (% 36.0), [- + + - -] (% 8.0), [- + - - +] (% 4.0), [- + + - +] (% 4.0)

ve [- - - -] (% 4.0) haplotip türleri üzerinde geliştiği görülmektedir. İlimiz sağlıklı toplumdaki veriler ise, anabilim dalımızda yapılan başka bir çalışmada, [+ - - -] (% 54.1), [- + - +] (% 20.4), [- + + -] (% 2.4), [- + - -] (% 0.6), [- + + -] (% 11.3) ve [- - - -] (% 0.7) olarak belirlenmiştir (Bahadır 2009b) (Tablo 6.2). Karşılaştırmalı değerlendirmeye göre, yöremizdeki beta talasemi mutasyonlarının sağlıklı toplum ile örtüşen biçimde ve büyük oranda [+ - - -], [- + - +] ve [- + + -] 5'-haplotipleri üzerinde gelişmiş oldukları görülmektedir. Bu haplotiplerin oluşum ve dönüşümlerinin incelenmesi, bu veriler üzerine yapılacak diğer çalışmaların konusu olarak karşımıza çıkmaktadır. Diğer mutasyonların ise, nüfus hareketleri ile yöremiz gen havuzuna katılmış olabileceği düşünülmektedir.

Tablo 6. 1 Beta talasemi mutasyonları ve beta globin gen ailesi haplotip ilişkileri

Mutasyon Türleri	Haplotip Odakları ^(a)	1	2	3	4	5	6	7	Haplotip No
	Haplotip Bölgeleri	5'- Haplotipler				3'- Haplotipler			
β^+ IVS I- 110 (G>A)		+	-	-	-	-	+	+	I
		+	-	-	-	-	-	+	VII
β^0 IVS I- 1 (G>A)		+	-	-	-	-	+	-	V
		+	-	-	-	-	-	-	VIIA
β^+ IVS I- 6 (T>C)		+	-	-	-	-	-	+	VII
		-	+	+	-	-	-	+	VI
		-	+	+	-	-	+	+	VIA
β^0 IVS II- 1 (G>A)		-	+	-	+	+	+	-	III
		-	+	-	+	+	+	+	IX
		+	-	-	-	-	+	-	V
β^+ IVS I-5 (G>C)		-	+	-	+	+	+	+	IX
		-	+	-	+	+	-	+	IV
β^0 FSC 8 (-AA)		+	-	-	-	-	+	+	I
		+	-	-	-	-	-	+	VII
		-	+	-	+	+	+	+	IX
β^0 FSC 8/9 (+G)		+	-	-	-	-	+	+	I
β^0 FSC 6 (-A)		-	+	-	+	+	+	+	IX
^(a) (1) ϵ -Hinc II, (2) G γ -Hind III, (3) A γ -Hind III, (4) 5' ψ β -Hinc II, (5) 3' ψ β -Hinc II, (6) β - Ava II (7) 3' β -Hinf I									

Tablo 6. 2 Beta globin mutasyonları taşıyan ve sağlıklı bireylerde ilişkili olarak saptanan 5'- haplotip dağılımı

BETA TALASEMİ MUTASYONLARI TAŞIYAN BİREYLER							SAĞLIKLI BİREYLER ^(*)					
5'- Haplotipler ^(a)					Haplotip	Oranı	5'- Haplotipler ^(a)					Oranı
1	2	3	4	5	Sayısı	(%)	1	2	3	4	5	(%)
+	-	-	-	-	11	44.0	+	-	-	-	-	54.1
-	+	-	+	+	9	36.0	-	+	-	+	+	20.3
-	+	+	-	-	2	8.0	-	+	+	-	-	2.4
-	+	-	-	+	1	4.0	-	+	-	-	+	0.6
-	+	+	-	+	1	4.0	-	+	+	-	+	11.3
-	-	-	-	-	1	4.0	-	-	-	-	-	0.7
TOPLAM					25	100	Diğerleri					10.6
							TOPLAM					100

^(a) (1)ε-Hinc II, (2) Gγ-Hind III, (3) Aγ-Hind III, (4) 5'ψβ-Hinc II, (5) 3'ψβ-Hinc II
^(*) Bahadır ve arkadaşları, 2009b

Çalışmada ikinci alt başlık altında, yöremizdeki beta talasemi mutasyonları ile ilişkili Xmn I polimorfizmi, normal grup ile karşılaştırmalı olarak incelenmiştir. Xmn I polimorfizmi ile orak hücre anemili ve beta talasemili olgularda Hb F miktarını artırma amacı doğrultusunda kullanılan hidroksiüre etkisinin ilişkili olduğu yönünde birçok görüş bulunmaktadır. İleri sürülen görüşlere göre, bu tür hastalarda Gγ promotörü -158. konumunda homozigot T (TT) var ise, hidroksiüre tedavi uygulamasına yanıt daha yüksek olmaktadır. Moleküler açıdan bu durum, Xmn I (+/+) olarak tanımlanmaktadır. Tez çalışmasından elde edilen verilere göre, normal toplumdaki (-) allel oranı % 78.5, (+) allel oranı ise % 21.5 olarak bulunmuştur. Diğer taraftan, beta talasemili olgularda; (-) allel oranı % 92.6, (+) allel oranı % 7.4, beta talasemi taşıyıcılarında ise; (-) allel oranı % 82.1, (+) allel oranı % 17.9 olarak saptanmıştır (Bkz Tablo 4.28). Bu sonuçlara göre, her ne kadar moleküler işlergesi henüz bilinmemekle birlikte, yöremizdeki beta talasemili olgularda uygulanabilecek hidroksiüre tedavi yaklaşımının, eğer etki Xmn I polimorfizmi üzerinden ise, anlamlı olmayacağı görülmektedir.

Sonuç olarak, bu tez çalışması ile yöremizde gözlenen beta talasemi mutasyonları ile ilişkili beta globin gen ailesi haplotipleri ve Xmn I polimorfizm sıklığı

tanımlanmıştır. Yapılan çalışmalar genişledikçe, beta globin gen ailesi haplotipleri ile mutasyon ilişkileri daha karmaşık bir tablo ortaya koymaktadır. Liu ve arkadaşlarının yüksek yoğunluklu SNP tipleme (*high-density SNP genotyping*) çalışması, haplotip blokları arasındaki ilişkileri tartışılır biçime dönüştürmektedir. Bu çalışmada Liu ve arkadaşları, beta globin geni üzerinde 88 SNP' yi incelemiş ve orak hücre anemililerde ilişkili olduğu bilinen haplotipler ile karşılaştırmıştır. Elde ettikleri sonuçlar, beta globin gen ailesi haplotiplerinin farklı klinik fenotipler ile karşılaştırılabilmesi için, yüksek yoğunluklu SNP haritalamasının gerekli olabileceğini öne sürmektedirler (Liu 2009). Tez çalışmasında da elde edilen veriler göz önüne alındığında, insan globin gen yapı ve işlevlerinin daha iyi anlaşılabilmesi için beta globin gen ailesinin daha ayrıntılı incelenmesinin önem taşıdığı görülmektedir. Araştırmalarda, gerek mutasyonların oluşumu ve gerekse de globin genlerinin ekspresyonu açısından genin “*cis*” bölgesindeki etken faktörler incelenmektedir (Bank 2006). Beta globin gen ailesi içerisinde yer alan beta geni kontrol bölgesindeki (LCR) biyofiziksel analizler, bu ve/veya diğer gen sistemlerindeki mutasyon oluşumu ve genel transkripsiyonel kontrol işlemlerinin daha iyi anlaşılabilmesi ve olası gen tedavisi çalışmalarında değerli katkılar sağlayacaktır.

7. KAYNAKLAR

- Adekile A., Haider M., Kutlar F. (2005). Mutations Associated with Beta Thalassemia Intermedia in Kuwait. *Med. Princ. Pract.*, 14(1): 69-72.
- Agouti I., Badens C., Abouyoub A., Khattab M., Sayah F., Barakat A., Bennani M. (2007). Genotypic Correlation Between Six Common β Thalassemia Mutations and The Xmn I Polymorphism in The Moroccan Population. *Hemoglobin.*, 31(2): 141-149.
- Agouti I., Badens C., Abouyoub A., Levy N., Bennani M. (2008). Molecular Basis of β -Thalassemia in Morocco: Possible Origins of The Molecular Heterogeneity. *Mary Ann. Liebert, Inc.*, 12(4): 563-568.
- Akar N., Çavdar AO., Dessi E., Loi A., Pirastu M., Cao A. (1987). Beta Thalassemia Mutations in The Turkish Population. *J. Med. Genet.*, 24 (6): 378-379.
- Aksoy M. (1970). Thalassemia Intermedia: A Genetic Study in 11 Patients. *J. Med. Genet.*, 7(1): 47-51.
- Alebouyeh M., Moussavi F., Haddad-Deylami H., Vossough P. (2004). Hydroxyurea in The Treatment of Major β Thalassemia and Importance of Genetic Screening. *Ann. Hematol.*, 83 (7): 430-433.
- Altay Ç. (2002). The Frequency and Distribution Pattern of β Thalassemia Mutations in Turkey. *Turk. J. Haematol.*, 19(2): 309-315.
- Amiel J., Attie T., Jan D., Pelet A., Edery P., Bidaud C., Lacombe D., Tam P., Simeoni J., Flori E., Nihoul-Fekete C., Munnich A., Lyonnet S. (1996). Heterozygous Endothelin Receptor B (EDNRB) Mutations in Isolated Hirschsprung Disease. *Hum. Mol. Genet.*, 5(3): 355- 357.
- Amselem S., Nunes V., Vidaud M., Estivill X., Wong C., d'Auriol L., Vidaud D., Galibert F., Baiget M., Gossens M. (1988). Determination of The Spectrum of β -Thalassemia Genes in Spain by Use of Dot-Blot Analysis of Amplified β Globin DNA. *Am. J. Hum. Genet.*, 43 (1): 95-100.
- Ansari SH., Shamsi TS., Siddiqui FJ., Irfan M., Farzana T., Panjwani VK., Yousuf A., Mehboob T. (2007). Efficacy of Hydroxyurea (HU) In Reduction of Pack Red Cell (PRC) Transfusion Requirement Among Childiren Having Beta Thalassemia Major: Karachi Hu Trial (KHUT). *J. Pediatr. Hematol. Oncol.*, 29 (11): 743-746.
- Antonarakis SE., Boehm CD., Giardina PJ., Kazazian HH. (1982). Non Random Association of Polymorphic Restriction Sites in The β Globin Gene Cluster. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 79 (1): 137-141.
- Antonarakis SE., Boehm CD., Sergeant GR., Theisen CE., Dover GJ., Kazazian HH. (1984). Origin of The β^S Globin Gene in Blacks: The Contribution of Recurrent Mutation or Gene Conversion or Both. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 81 (3): 853-856.

- Antonarakis SE., Kang J., Lam MS., Tam JWO., Li AMC. (1988). Molecular Characterization of β -Globin Gene Mutations in Patients with β -Thalassemia Intermedia in South China. *Br. J. Haematol.* 70 (3): 357-361.
- Antonini E., Brunoria M. (1970). Hemoglobin. *Annu. Rev. Biochem.*, 39: 977-1042.
- Atalay EO., Çırakoğlu B., Dinçol G., Atalay A., Kılınç Y., Aytekin H., Yüregir GT., Arpacı A., Bermek E., Aksoy M. (1993). Regional Distributions of β Thalassemia Mutations in Turkey. *Int. J. Hematol.*, 57(3): 207-211.
- Atalay EÖ., Koyuncu H., Turgut B., Atalay A., Yıldız S., Bahadır A., Köseleler A. (2005). High Incidence of Hb D-Los Angeles [β 121(GH4) Glu>Gln] in Denizli Province, Aeagen Region of Turkey. *Hemoglobin.*, 29(4): 307-310.
- Atalay A., Koyuncu H., Köseleler A., Özkan A., Atalay EÖ. (2007a). Hb Beograd [β 121(GH4) Glu>Val, GAA>GTA] in The Turkish Population. *Hemoglobin.*, 31(4): 491- 493.
- Atalay EÖ, Atalay A, Üstel E, Yıldız S, Öztürk O, Köseleler A, Bahadır A. (2007b). Genetic Origin of Hb D-Los Angeles [β 121(GH4) Glu>Gln, GAA \rightarrow CAA] According to Beta Globin Gene Cluster Haplotypes. *Hemoglobin*, 31(3): 1- 5.
- Atalay EÖ, Atalay A., Koyuncu H., Öztürk O., Köseleler A., Özkan A., Demirtepe S. (2008). Rare Hemoglobin Variant Hb Yaizu Observed in Turkey. *Med. Princ. Pract.*, 17(4): 321- 324.
- Atweh GF., Forget BG. (1986). Identification of a β -Thalassemia Mutation Associated with A Novel Haplotype of RFLPs. *Am. J. Hum. Genet.*, 38 (3): 855-859.
- Aulehla-Scholz C., Başaran S., Ağaoğlu L., Arcasoy A., Holzgreve W., Miny P., Ridolfi F., Horst J. (1990). Molecular Basis of β -Thalassemia in Turkey: Detection of Rare Mutations by Direct Sequencing. *Hum. Genet.*, 84 (2): 195-197.
- Bahadır A., Köseleler A., Atalay A., Koyuncu H., Akar E., Akar N., Atalay E.Ö. (2009a). Hb D- Los Angeles [β 121(GH4)Glu>Gln] and Hb Beograd [β 121(GH4) Glu>Val]: Implications for Their Laboratory Diagnosis and Genetic Origins. *Turk. J. Hematol.*, 26(2): 17-20.
- Bahadır A. Öztürk O., Atalay A., Atalay EÖ. (2009b). Beta Globin Gene Cluster Haplotypes of The Beta Thalassemia Mutations Observed in Denizli Province of Turkey. *Turk. J. Hematol.*, 26 (3): 129-137.
- Bandyopadhyay A., Bandyopadhyay S., Chowdhury MD., Dasgupta UB. (1999). Major Beta-Globin Gene Mutations in Eastern India and Their Associated Haplotypes. *Hum. Hered.*, 49 (4): 232-235.
- Bandyopadhyay S., Mondal BC., Sarkar P., Chandra S., Das MK., Dasgupta UB. (2005). Two β -Globin Cluster Linked Polymorphic Loci in The Thalassemia Patients of Variable Levels of Fetal Hemoglobin. *Eur. J. Haematol.* ,75(1): 47- 53.

- Bank A. (1978). TheThalassemia Syndromes. *Blood.*, 51(3): 369-384.
- Bank A. (2006). Regulation of Human Fetal Hemoglobin: New Players, New Complexities. *Blood.*, 107(2): 435-443.
- Başak AN., Özçelik H., Özer A., Tolun A., Aksoy M., Ağaoğlu L., Ridolfi F., Ulukutlu L., Akar N., Gurgey A., Kırdar B. (1992). The Molecular Basis of β Thalassemia in Turkey. *Hum. Genet.*, 89 (3):315-318.
- Baysal E. (2001). Hemoglobinopathies in The Arab Emirates. *Hemoglobin.*, 25(2): 247-253.
- Behringer RR., Ryan TM., Palmiter RD., Brinster RL., Townes TM. (1990). Human Gama to Beta Globin Gene Switching in Transgenic Mice. *Genes. Dev.*, 4 (3): 380-389.
- Bennani C., Tamouza R., Rouabhi F., Benabadji M., Malou M., Elion J., Labie D., Beldjord C. (1993).The Spectrum of β - Thalassemia in Algeria: Possible Origins of The Molecular Heterogeneity and A Tentative Diagnostic Strategy. *Br. J. Haematol.*, 84(2): 335-337.
- Benz EJ., Forget BG. (1982). The Thalassemia Syndromes: Models for The Molecular Analysis of Human Disease. *Ann. Rev. Med.*, 33: 363-373.
- Bettati S., Mozzarelli A., Perutz MF. (1998). Allosteric Mechanism of Hemoglobin: Rupture of Salt- Bridges Raises The Oxygen Affinity of The T- Structure. *J. Mol. Biol.*, 281(4): 581- 585.
- Bibi A., Messaoud T., Fattoum S. (2006). Haplotypes Linked to Three Rare β Thalassemia Mutations, Originally Reported in Tunisia. *Hemoglobin.*, 30(2): 175-181.
- Bilenoğlu O. (2002). Beta Thalassemia In Turkey: Molecular Analysis of Beta Globin Gene and The Effect of The Beta - ∇ 13 Mutation on Gene Expression. Doktora Tezi, *Boğaziçi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü*, İstanbul, 31s.
- Birben E., Öner C., Öner R., Mergen H., Yeşilipek A., Gümrük F., Gürgey A., Altay Ç. (2001). Severe β -Thalassemia in Frameshift Codon 6 (-A) Homozygotes: Effects of Haplotype on Phenotype. *Hemoglobin.*, 25(4): 441- 445.
- Birgens H., Ljung R. (2007). The Thalassemia Syndromes. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 67(1): 11- 26.
- Bradai M., Abad M.T, Pissard S., Lamraoui L., Montalembert M. (2003). Hydroxyurea Can Eliminate Transfusion Requirements in Children with Severe β Thalassemia. *Blood.*, 102 (4): 1529 -1530.

- Bradai M., Pissard S., Abad MT., Dechartes A., Ribeil JA., Landais P., Montalembert M. (2007). Decreased Transfusion Needs Associated with Hydroxyurea Therapy in Algerian Patients with Thalassemia Major or Intermedia. *Transfusion.*, 47(10): 1830- 1836.
- Botstein D., Risch N.(2003). Discovering Genotypes Underlying Human Phenotypes: Past Successes for Mendelian Disease, Future Approaches for Complex Disease. *Nat. Genet.*, 33. Suppl., 228-237.
- Boudrahem-Addour N., Zidani N., Nathalie C., Labie D., Belhani M., Beldjord C. (2009). Molecular Heterogeneity of Thalassemia in Algeria: How to Face Up to a Major Health Problem. *Hemoglobin.*, 33(1): 24-36.
- Boletini E., Svobodova M., Divoky V., Baysal E., Curuk MA. Dimovski AJ., Liang R., Adekile A., Huisman TH. (1994). Sickle Cell Anemia, Sickle Cell Beta-Thalassemia and Thalassemia Major in Albania: Characterization of Mutations. *Hum. Genet.*, 93 (2):182- 187.
- Buller AM., Elford H., DuBois CC., Meyer J., Lylod JA. (1999). A Combination of Hydroxyurea and Isobutyramide to Induce Fetal Hemoglobin in Transgenic Mice is More Hematotoxic Than The Individual Agents. *Blood Cells, Mol. Dis.*, 25 (3-4): 255- 269.
- Burns LJ., Glauber JG., Ginder GD. (1988). Butyrate Induces Selective Transcriptional Activation of a Hypomethylated Embryonic Globin Gene in Adult Erythroid Cells. *Blood*, 72 (5): 1536 -1542.
- Cabeda JM., Correia C., Estevinho A. Simoes C., Amorim ML., Pinho L., Justiça B. (1999). Unexpected Pattern of β -Thalassemia Patients from Northern Portugal. *Br. J. Haematol.*, 105(1): 68- 74.
- Cairo H., Wegener M., Debatin KM., Kohne E. (2002). Treatment with Hydroxyurea in Thalassemia Intermediate with Paravertebral Pseudo Tumors of Extramedullary Hematopoiesis. *Ann. Hematol.*, 81(8): 478-482.
- Camaschella C., Serra A., Saglio G., Tiziana Bertero M., Mazza U., Terzoli S., Brambati B., Cremonesi L., Travi M., Ferrari M. (1988). Meiotic Recombination in The β - Globin Gene Cluster Causing an Error in Prenatal Diagnosis of β Thalassemia. *J. Med. Genet.*, 25 (5): 307- 309.
- Camaschella C., Alfarano A., Gottardi E., Serra A., Revello D., Saglio G. (1990). The Homozygous State for The- 87 C \rightarrow G β^+ Thalassemia. *Br. J. Haematol.*, 75(1): 132- 133.
- Camaschella C., Cappellini MD. (1995). Thalassemia Intermedia. *Haematologica.*, 80(1): 58- 68.
- Castelli R., Graziade G., Karimi M., Capellini MD. (2004). Intrathoracic Masses Due to Extramedullary Hematopoiesis. *Am. J. Med. Sci.*, 328(5): 299-303.

- Cao A., Gossens M., Pirastu M. (1989). β Thalassemia Mutations in The Mediterranean Populations. *Br.J. Haematol.*, 71(3): 309-312.
- Cao A., Moi P. (2002). Regulation of The Globin Genes. *Pediatr. Res.*, 51(4): 415-421.
- Chakravarti A. Buetow KH., Antonarakis SE., Waber PG., Boehm CD., Kazazian HH. (1984). Nonuniform Recombination within The Human β Globin Gene Cluster. *Am. J. Hum. Genet.*, 36 (6): 1239-1258.
- Chan V., Leung NK., Chan TK., Ghosh A., Kan YW., Todd D. (1984). Bam HI Polymorphism in The Chinese: It's Potential Usefulness in Prenatal Diagnosis of Beta Thalassemia. *Br. Med. J.*, 289(6450): 947-948.
- Chang YC., Smith KD., Moore RD. Serjeant GR., Dover GJ. (1995). An Analysis of Fetal Hemoglobin Variation in Sickle Cell Disease: The Relative Contributions of The X- Linked Factor, β -Globin Haplotypes, α -Globin Gene Number, Gender and Age. *Blood.*, 85(4): 1111 -1117.
- Charache S., Terin ML., Moore RD., Dover GJ., Barton FB., Eckert SV., McMohan RP., Bonds DR. (1995). Effect of Hydroxyurea on The Frequency of Painful Crises in Sickle Cell Anemia. Investigators of The Multicenter Study of Hydroxyurea in Sickle Cell Anemia. *N. Engl. J.Med.*, 332(20): 1317-1322.
- Chehab FF., Der Kaloustian V., Khouri FP., Deeb SS., Kan YW. (1987). The Molecular Basis of β -Thalassemia in Lebanon: Application to Prenatal Diagnosis. *Blood.*, 69 (4):1141 -1145.
- Chen L., Eastal S., Board PG. (1990). Evolution of β Globin Haplotypes in Human Populations. *Mol. Biol. Evol.*,7(5): 423-437.
- Cheng TC., Orkin SH., Antonarakis SE., Potter MJ., Sexton JP., Markham AF., Giardina PJ., Li A., Kazazian HH. (1984). β Thalassemia in Chinese: Use of *in vivo* RNA Analysis and Oligonucleotide Hybridization in Systematic Characterization of Molecular Defects. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*,81(9): 2821-2825.
- Chernoff AI. (1959). The Distribution of The Thalassemia Gene: A Historical Review. *Blood.*, 14 (8): 899-912.
- Chibani J., Vidaud M., Duquesnoy P., Berge-Lefranc JL., Pirastu M., Ellouze F., Rosa J., Gossens M.(1988). The Peculiar Spectrum of β -Thalassemia Genes in Tunisia. *Hum. Genet.*, 78 (2): 190-192.
- Choudhy VP., Lal A., Pati HP., Arya LS. (1997). Hematological Responses to Hydroxyurea Therapy in Multitransfused Thalassemic Children. *Indian J. Pediatr.*, 64(3): 395- 398.
- Chouk I., Daoud BB., Mellouli F., Bejaoui M., Gerard N., Dellagi K., Abes S. (2004). Contribution to The Description of The β -Thalassemia Spectrum in Tunisia and The Origin of Mutation Diversity. *Hemoglobin.*, 28(3):189-195.

- Clark AG. (1990). Inference of Haplotypes from PCR-Amplified Samples of Diploid Populations. *Mol. Biol. Evol.*, 7(2): 111-122.
- Clark BE., Thein SL. (2004a). Molecular Diagnosis of Haemoglobin Disorders. *Clin. Lab. Haem.*, 26 (3): 159-176.
- Clark AG. (2004b). The Role of Haplotypes in Candidate Gene Studies. *Genet. Epidemiol.*, 27 (4): 321-333.
- Collins FS., Brooks LD., Chakravarti A. (1998). A DNA Polymorphism Discovery Resource for Research on Human Genetic Variation. *Genom Res.*, 8(12): 1229-1231.
- Constantoulakis P., Knitter G., Papayannopoulou G. (1989). On The Induction of Fetal Hemoglobin By Butyrates: *in vivo* and *in vitro* Studies With Sodium Butyrate and Comparison of Combination Treatments with 5- AzaC and AraC. *Blood.*, 74(6): 1963- 1967.
- Countinho-Gomes MP., Gomes da Costa MG., Braga LB., Cordeiro- Ferreira NT., Loi A., Pirastu M., Cao A. (1988). β Thalassemia Mutations in The Portuguese Population. *Hum. Genet.*, 78(1): 13-15.
- Crawford DC., Akey DT., Nickerson DA. (2005a). The Patterns of Natural Variation in Human Genes. *Annu. Rev. Med.*, 6: 287-312.
- Crawford DC., Nickerson DA. (2005b). Definition and Clinical Importance of Haplotypes. *Annu. Rev. Med.*, 56: 303-320.
- Curat M., Trabuchet G., Rees D., Perrin P., Harding RM., Clegg JB., Langaney A., Excoffier L. (2002). Molecular Analysis of The β Globin Gene Cluster in The Niokholo Mandenka Population Reveals a Recent Origin of The β^S Senegal Mutation. *Am. J. Hum. Genet.*, 70 (1): 207- 223.
- Das SK., De M., Bhattacharya DK., Sengupta B., Das N., Talukder G. (2000). Interaction of Different Hemoglobinopathies in Eastern India with a View to Establish Genotype Phenotype Correlation. *Am. J. Hum. Biol.* 12(4): 454- 459.
- Das SK., Talukder G. (2001). A Review on The Origin and Spread of Deleterious Mutants of The β Globin Gene in Indian Populations. *Homo.*, 52(2): 93-109.
- De-Angioletti MD., Lacerra G., Pagano L., Alessi M., D' Avino R., Manca L., Carestia C. (2004). Beta Thalassemia -87 C \rightarrow G: Relationship of The Hb F Modulation and Polymorphisms in Compound Heterozygous Patient. *Br. J. Haematol.*, 126 (5): 743- 749.
- De -Lugo MV., Rodriguez Larralde A., De Guerra C. (2003). Beta Globin Gene Cluster Haplotypes as Evidence of African Gene Flow to The Northeastern Coast of Venezuela. *Am. J. Hum. Biol.*, 15 (1): 29-37.

- Dedoussis GVZ., Sinopoulou K., Gyparaki M., Loutradis A. (1999). Fetal Hemoglobin Expression in The Compound Heterozygous State for - 117 (G→A) A γ HPFH and IVS II- 745 (C→G) β^+ Thalassemia. *Am. J. Hematol.*, 61 (2): 139-143.
- Dedoussis GVZ., Sinopoulou K., Gyparaki M., Loutradis A. (2000a). Fetal Hemoglobin Expression in The Compound Heterozygous State for - 117 (G→A) A γ HPFH and IVS I nt 110 (G→A) β^+ Thalassemia: A Case Study. *Eur J. Haematol.*, 65(2): 93-96.
- Dedoussis GVZ. Mandilara GD., Boussiu M., Loutradis A. (2000b). Hb F Production in β Thalassemia Heterozygotes for The IVS II- 1 G→A β^0 Globin Mutation. Implication of The Haplotype and The G γ - 158 C→T Mutation on The Hb F Level. *Am. J. Haem.*, 64(3): 151-155.
- Dedoussis GVZ., Kyrtsolis MC., Gyparaki M., Sinopoulou K., Tsaftaridis P., Loutradis A. (2005). Fetal Hemoglobin Variations in Beta Thalassemia Heterozygotes in Greece. *Hellenic Society of Haematology.*, 8(1): 70-74.
- Dempster AP., Laird NM., Rubin DB. (1977). Maximum Likelihood from Incomplete Data via The EM Algorithm. *J. Roy. Statist. Soc. (Series B)*, 39(1): 1-38.
- Di-Marzo R., Dowling CE., Wong C., Maggio A., Kazazian HH. (1988). The Spectrum of β Thalassemia Mutations in Sicily. *Br. J. Haematol.*, 69(3): 393-397.
- Diaz-Chico JC., Yang KG., Stoming TA., Efremov DG., Kutlar A., Kutlar F., Aksoy M., Altay Ç., Gürgey A., Kiliç Y., Huisman THJ. (1988). Mild and Severe Beta Thalassemia among Homozygotes from Turkey: Identification of The Types by Hybridization of Amplified DNA with Synthetic Probes. *Blood.*, 71 (1): 248-251.
- Dixit A., Chatterjee TC., Mishra P., Choudhry DR., Mahapatra M., Tyagi S., Kabra M., Saxena R., Choudhry VP.(2005). Hydroxyurea in Thalassemia Intermedia- A Promising Therapy. *Ann. Hematol.*, 84(7): 441-446.
- Dover GJ., Smith KD., Chang YC., Purvis S., Mays A., Meyers DA., Sheils C., Serjeant G. (1992). Fetal Hemoglobin Levels in Sickle Disease and Normal Individuals Are Partially Controlled by an X-Linked Gene Located at Xp22.2. *Blood.*, 80(3): 816-824.
- Dover GJ., Brusilow S., Charache S. (1994). Induction of Fetal Hemoglobin Production in Subjects with Sickle Cell Anemia by Oral Sodium Phenylbutyrate. *Blood.*, 84 (1): 339- 342.
- Edison ES., Shaji RV., Devi SG, Moses A., Viswabanhya A., Matwhews V., George B., Srivastava A., Chandy M. (2008). Analysis of β Globin Mutations in The Indian Population: Presence of Rare and Novel Mutations and Region Wise Heterogeneity. *Clin. Genet.*, 73(4): 331-337.

- Efremov DG., Dimovsky AJ., Baysal E., Ye Z., Adekile AD., Ribeiro MLS., Schiliro G., Altay Ç., Gurgey A., Efremov GD., Huiman THJ. (1994a). Possible Factors Influencing The Haemoglobin and Fetal Hemoglobin Levels in Patients with β Thalassemia Due to a Homozygosity for The IVS I- 6 (T>C) Mutation. **Br. J. Haematol.**, 86 (4): 824-830.
- Efremov DG., Dimovski AJ., Sukarova E., Schiliro G., Zivoski N., Efremov GD., Burrone OR., Huisman TH. (1994b). Gama-mRNA and Hb F Levels in Beta Thalassemia. **Br. J. Haematol.**, 88(2): 311-317.
- Efremov GD. (2007). Thalassemias and Other Hemoglobinopathies in The Republic of Macedonia. **Hemoglobin.**, 31(1): 1-15.
- Efremov GD. (2008). Thalassemias and Other Hemoglobinopathies in Former Yugoslavia. **BJMG.**, 11(1): 11-26.
- El-Hazmi MAF., Warsy AS., Al-Swailem AR. (1995). The Frequency of 14 β Thalassemia Mutations in The Arab Population. **Hemoglobin.**, 19(6): 353-360.
- El-Kalla S., Mathews AR. (1993). Molecular Characterization of β Thalassemia in The United Arab Emirates. **Hemoglobin.**, 17(4): 355-362.
- El-Latif MA., Filon D., Rund D., Oppenheim A., Kanaan M. (2002). The β^+ IVS I- 6 (T>C) Mutation Accounts for Half of The Thalassemia Chromosomes in The Palestinian Populations of The Mountain Regions. **Hemoglobin.**, 26(1): 33-40.
- El-Mabrouk N., Labuda D. (2004). Haplotypes Histories as Pathways of Recombinations. **Bioinformatics.**, 20 (12): 1836-1841.
- Eshghi P., Alavai S., Ghavami S., Rashidi A. (2007). Growth Impairment in Beta-Thalassemia Major: The Role of Trace Element Deficiency and Other Potential Factors. **J. Pediatr. Hematol. Oncol.**, 29(1): 5-8.
- Excoffier L. Slatkin M. (1995). Maximum Likelihood Estimation of Molecular Haplotype Frequencies in a Diploid Population. **Mol. Biol. Evol.**, 12(5): 921-927.
- Excoffier L., Laval G., Balding D. (2003). Gametic Phase Estimation Over Large Genomic Regions Using an Adaptive Window Approach. **Human Genomics.**, 1(1): 7- 19.
- Excoffier L., Laval G., Schneider S. (2005). Arlequin Ver. 3.0: An Integrated Software Package for Population Genetics Data Analysis. **Evol. Bioinformatics Online**, 1: 47-50. Software Available at <http://cmpg.unibe.ch/software/arlequin3/>.
- Excoffier L., Heckel G.(2006). Computer Programs for Population Genetics Data Analysis: A Survival Guide. **Nat. Rev. Genet.**, 7(10): 745-758.
- Falchi A., Giovannoni L., Vacca L., Latini V., Vona G., Varesi L. (2005). β Globin Gene Cluster Haplotypes Associated with β Thalassemia on Corsica Island. **Am. J. Hematol.**, 78(1): 27-32.

- Fallin D., Schork N. (2000). Accuracy of Haplotype Frequency Estimation for Biallelic Loci, Via The Expectation-Maximization Algorithm for Unphased Diploid Genotype Data. *Am. J. Hum. Genet.*, 67(4): 947-959.
- Fattoum S., Guemira F., Öner C., Öner R., Li HW., Kutlar F., Huisman THJ. (1991). β Thalassemia, Hb S- β -Thalassemia and Sick Cell Anemia Among Tunisians. *Hemoglobin.*, 15(1-2): 11-21.
- Fattoum S., Messaoud T., Bibi A. (2004). Molecular Basis of β Thalassemia in The Population of Tunisia. *Hemoglobin.*, 28(3): 177-187.
- Faustino P., Osorio-Almeida L., Barbot J. Espirito-Santo D., Gonçalves J., Romao L., Martins MC., Marques MM., Lavinha J. (1992). Novel Promoter and Splice Junction Defects Add to The Genetic, Clinical or Geographic Heterogeneity of β Thalassemia in Portuguese Population. *Hum. Genet.*, 89 (5): 573-576.
- Faustino P., Pacheco P., Loureiro P., Nogueira PJ., Lavinha J. (1999). The Geographic Pattern of Beta Thalassemia Mutations in The Portuguese Population. *Br. J. Haematol.*, 107(4): 903-904.
- Ferrara M., Matarese SMR., Francese M., Borrelli B., Perrotta A., Meo A., La Rosa MA., Esposito L. (2003). Role of Polymorphic Sequences 5' to The γ Gene and 5' to The β Gene on The Homozygous β Thalassemic Phenotype. *Hemoglobin.*, 27(3): 167- 175.
- Fibach E. (1998). Techniques for Studying Stimulation of Fetal Hemoglobin Production in Human Erythroid Cultures. *Hemoglobin.*, 22(5-6): 445-458.
- Filon D., Oron V., Krichevski S., Shaag A., Shaag Y., Warran TC., Goldfarb A., Shneor Y., Koren A., Aker M. Abramov A., Rachmilewitz EA., Rund D., Kazazian HH., Oppenheim A. (1994). Diversity of Beta Globin Mutations in Israeli Ethnic Groups Reflects Recent Historic Events. *Am. J. Hum. Genet.*, 54 (5): 836-843.
- Filon D., Faerman M., Smith P., Oppenheim A. (1995). Sequence Analysis Reveals a β -Thalassemia Mutation in The DNA of Skeletal Remains from The Archaeological Site of Akhziv, Israel. *Nat. Genet.*, 9(4): 365-368.
- Fisher CA., Premawardhena A., Silva de S., Perera G., Rajapaksa S., Olivieri NA., Old JM., Weatherall DJ. and The Sri Lanka Thalassemia Group. (2003). The Molecular Basis for The Thalassemia in Sri Lanka. *Br. J. Haematol.*, 121 (4): 662- 671.
- Flint J., Harding RM., Boyce AJ., Clegg JB. (1993a). The Population Genetics of The Haemoglobinopathies. *Bailliere's Clin. Haematol.*, 6(1): 215-262.
- Flint J., Harding R.M., Boyce AJ., Clegg J.B. (1993b). Why Are Some Genetic Diseases Common? Distinguishing Selection from other Processes by Molecular Analysis of Globin Gene Variants. *Hum. Genet.*, 91(2): 91-117.

- Forrester WC., Takegawa S., Papanyanopoulou T., Stamatoyannopoulos G., Groudine M. (1987). Evidence for a Locus Activation Region: The Formation of Developmentally Stable Hypersensitive Sites in Globin Expressing Hybrids. *Nucleic Acids Res.*, 15(24): 10159- 10177.
- Francomano CA., Kazazian HH. (1986). DNA Analysis in Genetic Disorders. *Ann. Rev. Med.*, 37: 377-395.
- Fucharoen S., Siritanaratkul N., Winichagoon P., Chawtahoworn J., Siriboon W., Muangsup W., Chaicharoen S., Poolsup N., Chindavijak B., Pootrakul P., Piankijagum A., Schechter AN., Rodgers GP. (1996). Hydroxyurea Increases Hemoglobin F Levels and Improves The Effectiveness of Erythropoiesis in Beta Thalassemia/Hemoglobin E Disease. *Blood.*, 87 (3): 887- 892.
- Fullerton SM., Harding RM., Boyce AJ. Clegg JB. (1994). Molecular and Population Genetic Analysis of Allelic Sequence Diversity at The Human Beta Globin Locus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 91(5): 1805-1809.
- Galanello R., Dessi E., Melis MA., Addis M., Sanna MA., Rosatelli C., Argioli F., Giagu N.,Turco MP., Cacace E. (1989). Molecular Analysis of β^0 Thalassemia Intermedia in Sardinia. *Blood.*, 74(2): 823-827.
- Galanello R., Cao A. (1998). Relationship Between Genotype and Phenotype. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 850 (30): 325- 333.
- Garner C., Tatu T., Game L., Cardon LR., Spector TD., Farrall M., Thein SL. (2000). A Candidate Gene Study of F Cell Levels in Sibling Pairs Using a Joint Linkage and Association Analysis. *Gene Screen.*, 1 (1): 9-14.
- Gerhard DS., Kidd KK., Kidd JR., Egeland JA., Housman DE. (1984). Identification of a Recent Recombination Event within The Human β Globin Gene Cluster. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 81(24): 7875-7879.
- Georgiou I., Makis A., Chaidos A., Bouba I., Hatzi E., Kranas V., Zilidis C., Bourantas KL. (2003). Distribution and Frequency of β Thalassemia Mutations in Northwestern and Central Greece. *Eur. J. Haematol.*, 70(2): 75-78.
- Gilman JC., Huisman THJ. (1985). DNA Sequence Variation Associated with Elevated Fetal G γ Production. *Blood.*, 66(4): 783-787.
- Gilman JC. (1988). Expression of G and A Globin Genes in Human Adults. *Hemoglobin.*, 12(5-6): 707- 716.
- Gonçalves I., Ducrocq R., Lavinha J., Nogueira PJ., Peres MJ., Picanço I., Correia E., Reis AN., Silva C., Krishnamoorthy R., Almeida LO. (1998). Combined Effect of Two Different Polymorphic Sequences Within The β Globin Gene Cluster on The Level of Hb F. *Am. J. Hematol.*, 57 (4) : 269-276.

- Gonçalves I., Henriques A., Raimundo A., Picanco I., Reis A., Correia E., Snatos E. (2002). Fetal Hemoglobin Elevation in Hb Lepore Heterozygotes and Its Correlation With β Globin Cluster Linked Determinants. *Am. J. Hematol.*, 69(2): 95- 102.
- Gonzalez- Redondo JM., Stoming TA., Lanclos KD., Gu YC., Kutlar A., Kutlar F., Nakatsuji T., Deng B., Han IS., McKie VC., Huisman THJ. (1988). Clinical and Genetic Heterogeneity in Black Patients with Homozygous β Thalassemia From The Southeastern United States. *Blood.*, 72(3): 1007-1014.
- Gringras P., Wonke B., Old J., Fitches A., Valler D., Kuan AM., Hoffbrand V. (1994). Effect of α Thalassemia Trait and Enhanced γ Chain Production on Disease Severity in β Thalassemia Major and Intermedia. *Arch. Dis. Child.*, 70(1): 30-34.
- Grosso M., Amendolara M. Rescigno G., Danise P., Todisco N., Izzo P., Amendola G. (2008). Delayed Decline of γ Globin Expression in Infant Age Associated with The Presence of G γ -158 (C \rightarrow T) Polymorphism. *Int. J. Lab. Hem.*, 30(3): 191-195.
- Grosveld F., Antoniou M., Berry M., De Boer E., Dillon N., Ellis J., Fraser P., Hnascombe O., Hurst J., Imam A., Lindenbaum M., Philipsen S., Pruzina S., Strouboulis J., Raguz- Bolognesi S., Talbot D. (1993). The Regulation of Human Globin Gene Switching. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. (Biol.)*, 339(1288): 183-191.
- Gupta A., Sarwai S., Pathak N., Agarwal S. (2008). Beta Globin Gene Mutations in India and Their Linkage to β Haplotypes. *Int. J. Hum. Genet.*, 8(1-2): 237-241.
- Gusella JF. (1986). DNA Polymorphism and Human Disease. *Ann. Rev.*, 55: 831-854.
- Haldane JBS. (1949). The Rate of Mutations of Human Genes. *Proceedings of The 8th International congress on Genetics. Hereditas. Suppl.*, 35: 267-273.
- Hall GW., Sampietro M., Barnetson R., Fitzgerald J., McCann S., Thein SL. (1993). Meiotic Recombination in an Irish Family with Beta Thalassemia. *Hum. Genet.*, 92(1): 28- 32.
- Hanscombe O., Whyatt D., Fraser P., Yannoutsos N., Greaves D., Dillon N., Grosveld F. (1991). Importance of Globin Gene Order for Correct Developmental Expression. *Genes Dev.*, 5 (8): 1387-1394.
- Harano T., Reese AL., Ryan R., Abraham BL., Huisman THJ. (1985). Five Haplotypes In Black β Thalassemia Heterozygotes: There Are Associated with High and Two with Low G γ Values in Fetal Haemoglobin. *Br. J. Haematol.*, 59 (2): 333-342.
- Harding RM., Fullerton SM., Griffiths RC., Bond J., Cox MJ., Schneider JA., Moulin DS., Clegg JB. (1997). Archaic African and Asian Lineages in The Genetic Ancestry of Modern Humans. *Am. J. Hum. Genet.*, 60(4): 772-778.
- Hardy GH. (2003). Mendelian Proportions in A Mixed Population. *Yale J. Biol. Med.*, 76 (2): 79- 80.

- Heusterspreute M., Derclaye I., Gala JC., Van Geet C., Ferrant A., Malchaire Y., Thonnard J., Luc Vaerman JC., Philippe M. (1996). Beta Thalassaemia in Indigenous Belgian Families: Identification of a Novel Mutation. *Hum. Genet.* 98(1): 77- 79.
- Hill AV., Bowden DK., O'Shaughnessy DF., Weatherall DJ., Clegg JB. (1988). Beta Thalassaemia in Melanesia: Association with Malaria and Characterization of a Common Variant (IVS I- nt 5 G----C). *Blood*, 72 (1): 9- 14.
- Ho PJ., Hall GW., Luo LY., Weatherall DJ., Thein SL. (1998). Beta Thalassaemia Intermedia: Is It Possible Consistently to Predict Phenotype From Genotype? *Br. J. Haematol.*, 100(1): 70-78.
- Ho PJ. (1999). The Regulation of β Globin Gene Expression and β Thalassaemia. *Pathology.*, 31(4): 315- 324.
- Ho PJ., Thein SL.(2000). Gene Regulation and Deregulation: A Beta Globin Perspective. *Blood Rev.*, 14(2): 78-93.
- Hoehe MR. (2003). Haplotypes and The Systematic Analysis of Genetic Variation in Genes and Genomes. *Pharmacogenetics.*, 4(5): 547-570.
- Holloman WK., Radding CM (1976). Recombination Promoted by Superhelical DNA and RecA Gene of Escherichia Coli. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 73(11): 3910-3914.
- Hoppe C., Vichinsky E., Lewis B., Foote D., Styles L. (1999). Hydroxyurea and Sodium Phenylbutyrate Therapy in Thalassaemia Intermedia. *Am. J. Hematol.*, 62(4): 221- 227.
- Huehns ER. (1970). Diseases Due To Abnormalities of Hemoglobin Structure. *Annu. Rev. Med.*, 21: 157-178.
- Hugot JP., Chamailard M., Zouali H. Lesage S, Cézard JP, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Cortot A, Modigliani R, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Macry J, Colombel JF, Sahbatou M, Thomas G.(2001). Association of NOD2 Leucine Rich Repeat Variants with Susceptibility to Crohn's Disease. *Nature.*, 411(6837): 599- 603.
- Huisman THJ., Kutlar F., Gu-LH. (1991). γ Chain Abnormalities and γ Globin Gene Rearrangments in Newborn Babies of Various Populations. *Hemoglobin.*, 15 (5): 349- 379.
- Huisman THJ., Carver MFH. (1998). The β and δ Thalassaemia Repository, Ninth Edition, Part I. *Hemoglobin.*, 22(2): 169-195.
- Hussein G., Fawzy M., El Serafi T., Ismail EF., Metwally DE., Saber MA., Giansily M., Schved JF., Pissard S., Martinez PA. (2007). Rapid Detection of β Thalassaemia Alleles in Egypt Using Naturally or Amplified Created Restriction Sites and Direct Sequencing: A Step In Disease Control. *Hemoglobin.*, 31(1): 49-62.

- Indrak K., Barbec V., Indrakova J., Chrobak L., Sakalova A., Jarosova M., Cermak J., Fei YJ., Kutlar F., Gu YC., Baysal E., Huisman THJ. (1992). Molecular Characterization of Beta Thalassemia in Czechoslovakia. *Hum. Genet.*, 88(4): 399-404.
- Italia K., Jain D., Gattani S., Jijina F., Nadkarni A., Sawant P., Nair S., Mohanty D, Ghosh K., Colah R. (2009). Hydroxyurea in Sickle Cell Disease A Study of Clinico Pharmacological Efficacy in The Indian Haplotype. *Blood Cells Mol. Dis.*, 42(1): 25- 31.
- Jeffreys AJ., Neumann R. (2002). Reciprocal Crossover Asymmetry and Meiotic Drive in a Human Recombination Hot Spot. *Nat. Genet.*, 31(3): 267-271.
- Jeffreys AJ., Holloway JK., Kauppi L., May CA., Neumann R., Slingsby MT., Webb AJ. (2004). Meiotic Recombination Hot Spots and Human DNA Diversity. *Phil. Trans. R. Soc. Lond B.*, 359(1441): 141-152.
- Jeffreys AJ., Neumann R., Panayi M., Myers S., Donnelly P. (2005). Human Recombination Hot Spots Hidden in Regions of Strong Marker Association. *Nat. Genet.*, 37(6): 601- 606.
- Kalaydjieva L., Eigel A., Horst J. (1989). The Molecular Basis of Thalassemia in Bulgaria. *J. Med. Genet.*, 26 (10): 614- 618.
- Kan YW., Dozy AM. (1978). Polymorphism of DNA Sequence Adjacent to Human β Globin Structural Gene: Relationship to Sickle Mutation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 75(11): 5631-5635.
- Kanavakis E., Tzetis M., Antoniadis T., Traeger-Synodinos J., Doudounaki S., Adam G., Matsaniotis N., Kattamis C. (1995). Mutation Analysis of Ten Exons of The CTRF Gene in Greek Cystic Fibrosis Patients: Characterization of 74. 5 % of CF Allels Including One Novel Mutation., *Hum. Genet.*, 96 (3): 364-366.
- Kaplan F., Kokotsis G., DeBraekeleer M., Morgan K., Scriver CR. (1990). β -Thalassemia Genes in French Canadians: Haplotype and Mutation Analysis of Portneuf Chromosomes. *Am. J. Hum. Genet.*, 46(1): 126-132.
- Karimi M., Yarmohammadi H., Farjadian S., Zeinali S., Moghaddam Z., Cappellini MD., Giordano PC. (2002). β Thalassemia Intermedia from Southern Iran: IVS II-1 (G>A) Is The Prevalent Thalassemia Intermedia Allele. *Hemoglobin.*, 26(2): 147-154.
- Karlsson S., Nienhuis AW. (1985). Developmental Regulation of Human Globin Genes. *Ann. Rev Biochem.*, 54: 1071-1108.
- Kazazaian HH, Orkin SH., Boehm CD., Sexton JP., Antonarakis SE. (1983). β -Thalassemia Due to a Deletion of The Nucleotide Which is Substituted in The β^S -Globin Gene. *Am. J. Hum. Genet.*, 35(5): 1028-1033.

- Kazazian HH., Orkin SH., Antonarakis SE., Sexton JP., Boehm CD., Goff SC., Waber PG. (1984) Molecular Characterization of Seven β Thalassemia Mutations in Asian Indians. *EMBO J.*, 3(3): 593-596.
- Kazazian HH., Orkin SH., Boehm CD., Goff SC., Wong C., Dowling CE., Newburger PE., Knowlton RG., Brown V., Donis-Keller H. (1986). Characterization of a Spontaneous Mutation to a β Thalassemia Allele. *Am. J. Hum. Genet.*, 38 (6): 860-867.
- Kazazian HH., Boehm C (1988). Molecular Basis and Prenatal Diagnosis of β Thalassemia. *Blood.*, 72 (4): 1107-1116.
- Keskin A., Turk T., Polat A., Koyuncu H., Saracoğlu B. (2000). Premarital Screening of Beta Thalassemia Trait in Denizli, Turkey. *Acta Hematol.*, 104(1): 31-33.
- Khan SN., Riazuddin S., Galanello R. (2000). Identification of There Rare β Thalassemia Mutations in The Pakistani Population. *Hemoglobin.*, 24(1): 15-22.
- Khelil AH., Laradi S., Miled A., Tadmouri GO., Chibani JB., Perrin P. (2004). Clinical and Molecular Aspects of Haemoglobinopathies in Tunisia. *Clin. Chim. Acta.*, 340 (2004): 127- 137.
- Kiani AA., Mortazavi Y., Zeinali S., Shirkhani Y. (2007). The Molecular Analysis of β Thalassemia Mutations in Lorestan Province, Iran. *Hemoglobin.*, 31(3): 343-349.
- Kinniburgh AJ., Maquat LE., Schedl T., Rachmilewitz E., Ross J. (1982). mRNA Deficient β^0 Thalassemia Resulting from a Single Nucleotide Deletion. *Nucleic Acids Res.*, 10(18): 5421- 5427.
- Knott M., Ramadan KMA., Savage G., Jones FGC., El-Agnaf ME., McMullin MF., Percy MJ. (2006). Novel and Mediterranean β Thalassemia Mutations in The Indigenous Northern Ireland Population. *Blood Cells Mol. Dis.*, 36(2): 265-268.
- Kohli-Kumar M., Marandi H., Keller MA., Guertin K., Hvizdala E. (2002). Use Of Hydroxyurea And Recombinant Erythropoietin in Management of Homozygous β^0 Thalassemia. *J. Ped. Hematol. Oncology.*, 24 (9): 777-778.
- Koren A., Levin C., Dgany O., Kransnov T., Elhasid R., Zalman L., Palmor H., Tamary H. (2008). Response to Hydroxyurea Therapy in β Thalassemia. *Am. J. Hematol.*, 83 (5): 366- 370.
- Kosaryan M., Vahidshahi K., Karami H., Ehteshami S. (2009). Effect of Hydroxyurea on Thalassemia Major and Thalassemia Intermedia in Iranian Patients. *Park. J. Med. Sci.*, 25(1): 74- 78.
- Kotea N., Ramasawmy R., Lu YC., Fa NS., Gerard N., Beesoon S., Ducrocq R., Nagel RL., Krishnamoorthy R. (2000). Spectrum of β Thalassemia Mutations and Their Linkage to β Globin Gene Haplotypes in The Indo Mauritian. *Am. J. Hematol.*, 63 (1): 11- 15.

- Köseler A, Atalay A, Koyuncu H, Turgut B, Bahadır A, Atalay EÖ. (2006). Molecular Identification of a Rare Hemoglobin Variant, Hb J Iran [Beta77(EF1) His>Asp] in Denizli Province of Turkey, *Turk J Haematol*, 23(3): 164- 166.
- Köseler A, Bahadır A, Koyuncu H, Atalay A, Atalay EÖ. (2008). First Observation of Hb D Ouled Rabah [beta19(B1)Asn>Lys] in The Turkish Population. *Turk J Haematol*, 25(1): 51- 53.
- Köseler A., Koyuncu H., Öztürk O., Bahadır A., Demirtepe S., Atalay A., Atalay EÖ. (2009). First Observation of Hb Tunis [Beta 124 (H2) Pro>Ser] in Turkey. *Turk J. Haematol.*, (accepted for publication), THJ-57070
- Kulozik AE., Wainscoat JS., Serjeant GR., Kar BC., Al- Away B., Esson GJF., Falusi AG., Haque SK., Hilali AM., Kate S., Ranasinghe AEP., Weatherall DJ. (1986). Geographical Survey of β^S Globin Gene Haplotypes: Evidence for an Independent Asian Origin of The Sickle Cell Mutation. *Am. J. Hum. Genet.*, 39(2): 239-244.
- Kulozik AE., Kar BC., Satapathy RK., Serjeant BE., Serjeant GR., Weatherall DJ. (1987). Fetal Hemoglobin Levels and β^S Globin Haplotypes in an Indian Population with Sickle Cell Disease. *Blood.*, 69(6): 1742-1746.
- Kwok PY., Chen X. (2003). Detection of Single Nucleotide Polymorphisms. *Curr. Issues Mol. Biol.*, 5(2): 43-60.
- La-Chapelle A., Wright FA. (1998). Linkage Disequilibrium Mapping in Isolated Populations: The Example of Finland Revisited. *Proc. Natl. Sci.*, 95 (21): 12416-12423.
- Labie D., Pagnier J., Lapoumeroulie C., Rouabhi F., Dunda- Belkhodja O., Chardin P., Beldjord C., Wajcman H., Fabry ME., Nagel RL. (1985a) Common Haplotype Dependency of High G γ -Globin Gene Expression and High Hb F Levels in β Thalassemia and Sickle Cell Anemia Patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 82(7): 2111- 2114.
- Labie D., Dunda- Belkhodja O., Rouabhi F., Pagnier J., Ragusa A., Nagel RL. (1985b). The -158 Site to The G γ Gene and G γ Expression. *Blood.*, 66(6): 1463-1465.
- Lajoie M., El- Mabrouk N. (2005). Recovering Haplotypes Structure Through Recombination and Gene Conversion. *Bioinformatics.*, 21(2): 173-179.
- Lanclos KD., Kutlar A. (1986). The Thalassemia Repository. *Hemoglobin.*, 10(5): 533-558.
- Lanclos KD., Öner C., Dimovski AJ., Gu Y.C., Huisman THJ. (1991). Sequence Variations in The 5' Flanking and IVS II Regions of The G γ and A γ Globin Genes of β^S Chromosomes with Five Different Haplotypes. *Blood.*, 77(11): 2488- 2496.

- Lapoumeroulie C., Dunda O., Ducrocq R., Trabuchet G., Mony-Lobe M., Modo JM., Carnevale P., Labie D., Elion J., Krishamoorthy R. (1992). A Novel Sickle Cell Mutation of yet Another Origin in Africa: The Cameroon Type. *Hum. Genet.*, 89 (3): 333- 337.
- Lapoumeroulie C., Castiglia L., Ruberto C., Fichera M., Amata S., Labie D., Ragusa A. (1999). Genetic Variations in Human Fetal Globin Gene Microsatellites and Their Functional Relevance. *Hum. Genet.*, 104(4): 307- 314.
- Latini V., Vacca L., Ristaldi MS., Marongiu MF., Memmi M., Varesi L., Vona G., (2003). Beta Globin Gene Cluster Haplotypes in The Corsican and Sardinian Populations. *Hum. Biol.*, 75(6): 855-871.
- Lee YJ., Park SS., Kim YJ., Cho HI. (2002). RFLP Haplotypes of β Globin Gene Complex of β Thalassemic Chromosomes in Koreans. *J. Korean Med. Sci.*, 17(4): 475- 478.
- Lemsaddek W, Picanço I., Seuanes F., Mahmal L., Benchekroun S., Khattab M., Nogueira P., Osorio- Almeida L. (2003). Spectrum of β Thalassemia Mutations and Hb F Levels in The Heterozygous Moroccan Population. *Am. J. Hematol.*, 73(3): 161- 168.
- Lemsaddek W., Picanço I., Seuanes F., Nogueira P., Mahmal L., Benchekroun KM., Osorio- Almeida L. (2004). The β Thalassemia Mutation / Haplotype Distribution in The Moroccan population. *Hemoglobin.*, 28(1): 25-37.
- Levings PP., Bungert J.(2002). The Human Beta Globin Locus Control Region. *Eur. J. Biochem.*, 269(6): 1589-1599.
- Ley TJ., Nienhuis AW. (1985). Induction of Hemoglobin F Synthesis in Patients with β Thalassemia. *Ann. Rev. Med.*, 36: 485-498.
- Lie-Injo LE., Cai SP., Wahidijat I., Moeslichan S., Lim ML., Evangelista L., Doherty M., Kan YW. (1989). β Thalassemia Mutations in Indonesia and Their Linkage to β Haplotypes. *Am. J. Hum. Genet.*, 45(6): 971-975.
- Little JA., McGowan VR., Kato JG., Partovi KS.,Feld JJ., Maric I., Martyr S., Taylor JG., Machado RF., Heller T., Castro O., Gladwin MT. (2006). Combination Erythropoietin Hydroxyurea Therapy in Sickle Cell Disease: Experience From The National Institutes of Health and a Literature Review. *Haematologica.*, 91(8): 1076-1083.
- Liu L., Muralidhar S., Singh M., Sylvan C., Karla IS., Quinn CT., Onyekwere OC., Pace BS. (2009). High- Density SNP Genotyping to Define β -Globin Locus Haplotypes. *Blood Cells Mol. Dis.*, 42(1): 16-24.
- Long JC., Chakravarti A., Boehm CD., Antonarakis S., Kazazian HH. (1990). Phlogeny of Human β Globin Haplotypes and Its Implications for Recent Human Evolution. *Am. J. Phys. Anthropol.*, 81(1): 113-130.

- Long JC., Williams R., Urbanek M. (1995). An EM Algorithm and Testing Strategy for Multiple Locus Haplotypes. *Am. J. Hum. Genet.*, 56(3): 799-810.
- Loukopoulos D., Voskaridou E., Stamoulakatou A., Papassoiriou Y., Kalotycho V., Loutradi A., Cozma G., Tsiarta H., Pavlides N. (1998). Hydroxyurea Therapy in Thalassemia. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 850: 120-128.
- Magana MT., Perea FJ., Gonzalez JR., Ibarra B.(2007). Genetic Relationship of a Mexican Afromestizo Population Through The Analysis of The 3#8242 Haplotype of The #946 Globin Gene in #946A Chromosomes. *Blood Cells, Mol. Dis.*, 39(2): 169- 177.
- Makhoul NJ., Wells RS., Kaspar H., Shbaklo H., Taher A., Chakar N., Zalloua PA. (2005). Genetic Heterogeneity of Beta Thalassemia in Lebanon Reflects Historic and Recent Population Migration. *Ann. Hum. Genet.*, 69 (1): 55-66.
- Manca L., Masala B. (2008). Disorders of The Synthesis of Human Fetal Hemoglobin. *IUBMB. Life.*, 60(2): 94-111.
- Maniatis T., Fritsch EF., Lauer J., Lawn RM.(1980). The Molecular Genetics of Human Hemoglobins. *Annu. Rev. Genet.*, 14:145-178.
- Marengo-Rowe AJ. (2006). Structure Function Relations of Human Hemoglobins. *Proc(Bay. Univ. Med. Cent.)*, 19(3): 239- 245.
- Marengo-Rowe AJ. (2007). The Thalassemias and Related Disorders. *Proc(Bay. Univ. Med. Cent.)*, 20(2): 27-31.
- Martins JTN., Bordin S., Albuquerque DM., Saad STO., Costa FF. (2005). DNAase I Hypersensitive Site 3' To β -Globin Gene Cluster Containing Two TAA Insertions and a G \rightarrow A Polymorphism is Predominantly Associated with The β^+ Thalassemia IVS-I-6 (T>C) Mutation. *Hemoglobin.*, 29(1): 85-89.
- Massa A., Cianciulli P., Cianetti L., Iazzone R., Cenci A., Sorrentino F., Franco G., Pecci G., Papa G., Peschle C. (1994). β Thalassemia Mutations in Rome. A High Frequency of The IVS II- 745 Allele in Subjects of Latium Origin. *Haematologica.*, 79(3): 256- 258.
- Maxwell TJ. (2006). Applications of Evolutionary Theory To Genotype/Phenotype Association Studies. *Doctoral Thesis.*, Washington University., 107s-121s.
- Metherall JE. Collins FS., Pan J., Weissman SH., Forget BG. (1986). β^0 Thalassemia Caused By A Base Substitution That Creates An Alternative Splice Acceptor Site in An Intron. *EMBO J.*, 5 (10): 2251-2257.
- Miller BA., Salamed M., Ahmed M., Wainscoat J., Antognetti G., Orkin S., Weatherall D., Nathan DG. (1986). High Fetal Hemoglobin Production in Sickle Cell Anemia in The Eastern Province of Saudi Arabia Is Genetically Determined. *Blood.*, 67(5): 1404- 1410.

- Miyoshi K., Kaneto Y., Kawai H., et.al. (1998). X- Linked Dominant Control of F cells In Normal Adult Life: Characterization of The Swiss Type Hereditary Persistence of Fetal Hemoglobin Regulated Dominantly By Gene(s) on X Chromosomes. *Blood.*, 72(6): 1854- 1860.
- Moorchung N., Arya V., Agarwal S. (2006). Modifier Genes and Beta Thalassemia Intermedia. *Hellenic Society of Haematology.*, 9(4): 505-510.
- Morrell PL., Toleno DM., Lundy KA., Clegg MT. (2006). Estimating The Contribution of Mutation, Recombination and Gene Conversion in The Generation of Haplotypic Diversity. *Genetics.*, 173(3): 1705-1723.
- Mueller RF., Young ID. (1998). Emery's Elements of Medical Genetics, tenth edition, *Churchill Livingstone*, London, s 65- 70.
- Nadkarni A., Gorakshakar AC., Lu CY., Krishnamoorthy R., Ghosh K., Colah R., Mohanty D. (2001). Molecular Pathogenesis and Clinical Variability of β Thalassemia Syndromes Among Indians. *Am. J. Hematol.*, 68(2): 75-80.
- Nagel RL., Roth EF. (1989). Malaria and Red Cell Genetic Defects. *Blood.*, 74(4): 1213- 1221.
- Nagel RL. (2004). Beta Globin Gene Haplotypes, Mitochondrial DNA, The Y-Chromosomes: Their Impact on The Genetic Epidemiology of The Major Structural Hemoglobinopathies. *Cell. Mol. Biol.*, 50(1): 5- 21.
- Nal N., Manguoğlu AE., Sargın CF., Keser I., Küpesiz A., Yeşilipek A., Lüleci G. (2005). Two Rare Mutations in Turkey: IVS I- 130 (G>C) and IVS II- 848 (C>A). *Clin. Lab. Haem.*, 27(4): 274-277.
- Nienhuis AW., Anagnou NP., Ley TJ. (1984). Advances in Thalassemia Research. *Blood.*, 63(4): 738- 758.
- Nishant KT. Rao MRS. (2005). Molecular Features of Meiotic Recombination Hot Spots. *BioEssays.*, 28(1): 45-56.
- Novelletto A., Hafez M., Deidda G., Di Rienzo A., Felicetti L., El- Tahan H., El- Morsi Z., El- Ziny M., Al- Tonbary Y., Sittien A., Terrenato L. (1990). Molecular Characterization of β Thalassemia Mutations in Egypt. *Hum.Genet.*, 85(3): 272-274.
- Ogura Y., Bonen DK., Inohara N., Nicolae DL., Chen FF., Ramos R., Britton H., Moran T., Karaliuskas R., Duerrk RH., Achkar JP., Brant SR., Bayless TM., Kirschner BS., Hanauer SB., Nunez G., Cho JH. (2001). A Frameshift Mutation in NOD2 Associated with Susceptibility to Crohn's Disease. *Nature.*, 411(6837): 603-606.
- Old JM., Heath C., Fitches A., Thein SL., Jeffreys AJ., Petrou M., Modell B., Weatherall DJ. (1986). Meiotic Recombination Between Two Polymorphic Restriction Sites within The β Globin Gene Cluster. *J. Med. Genet.*, 23(1): 14-18.

- Olivieri NF., Weatherall DJ (1998a). The Therapeutic Reactivation of Fetal Hemoglobin. *Hum. Mol. Genet.*, 7 (10): 1655-1658.
- Olivieri NF., Rees DC., Ginder GD., Thein SL., Waye JS., Chang L., Brittenham GM., Weatherall DJ. (1998b). Elimination of Transfusion Through Induction of Fetal Hemoglobin Synthesis in Cooley's Anemia. *Ann NY. Acad. Sci.*, 850: 100-109.
- Olivieri NF. (1999). The β Thalassemias. *N. Engl. J. Med.*, 341(2): 99-109.
- Orkin SH., Goff SC. (1981). Nonsense and Frameshift Mutations in β Thalassemia Detected in Cloned β -Globin Genes. *J. Biol. Chem.*, 256(19): 9782-9784.
- Orkin S.H (1984a). Prenatal Diagnosis of Hemoglobin Disorders by DNA Analysis. *Blood.*, 63(2): 249-253.
- Orkin SH., Kazazian HH. (1984b). The Mutation and Polymorphism of The Human β Globin Gene and It's Surrounding DNA. *Ann. Rev. Genet.*, 18: 131-171.
- Orkin SH. (1995). Regulation of Globin Gene Expression in Erythroid Cells. *Eur. J. Biochem.*, 231(2): 271-281.
- Öner C., Dimoski AJ., Altay C., Gurgey A., Gu Y.C., Huisman TH., Lanclos KD. (1992). Sequence Variations In The 5' Hypersensitive Site II of The Locus Control Region of β^S Chromosomes Are Associated With Different Levels of Fetal Globin in Hemoglobin S Homozygotes. *Blood.*, 79 (3): 813-819.
- Öner AF., Özer R., Üner A., Arslan Ş., Gümrük F. (2001). Beta Thalassemia Mutations in The East of Turkey. *Turk. J. Haematol.*, 18(4): 239-242.
- Öztürk O., Atalay A., Kösel A., Özkan A., Koyuncu H., Bayram J., Demirtepe S., Aksoy K., Atalay EÖ. (2007a). Beta Globin Gen Cluster Haplotypes of Abnormal Hemoglobins Observed in Turkey. *Turk. J. Hematol.*, 24(4):146-154.
- Öztürk O. (2007b). Denizli Yöresinde Gözlenen Hb D Los Angeles Mutasyonunun Beta Globin Gen Ailesi Haplotip Analizi. Yüksek Lisans Tezi, *Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Denizli, 33s- 36s.
- Pace BS., Zein S. (2006). Understanding Mechanisms of γ Globin Gene Regulation to Develop Strategies for Pharmacological Fetal Hemoglobin Induction. *Dev. Dyn.*, 235(7): 1727- 1737.
- Panigrahi I., Dixit A., Arora S., Kabra M., Mahapatra M., Choudhry VP., Saxena R. (2005a). Do Alpha Deletions Influence Hydroxyurea Response in Thalassemia Intermedia? *Hematology.*, 10(1): 61-66.
- Panigrahi I., Agarwal S., Gupta T., Singhal P., Pradhan M. (2005b). Hemoglobin E-Beta Thalassemia: Factors Affecting Phenotype. *Indian Pediatr.*, 42(17): 357-361.

- Papachatzopoulou A., Kourakli A., Makropoulou P., Kakagianne T., Sgourou MP., Athanassiadou A. (2006). Genotypic Heterogeneity and Correlation to Intergenic Haplotype within High Hb F β Thalassemia Intermedia. *Eur. J. Haematol.*, 76(4): 322- 330.
- Papadakis MN., Patrinos GP.(1999). Contribution of Gene Conversion in The Evolution of The Human β Globin Gene Family. *Hum. Genet.*, 104 (2): 117-125.
- Park SS., Lee YJ., Kim YJ., Joo SI., Hattori Y., Ohba Y., Cho HI. (2002). β Thalassemia in The Korean Population. *Hemoglobin.*, 26(2): 135-145.
- Patrinos GP., Loutradi-Anagnostou A., Papadakis MN. (1995). A Novel DNA Polymorphism of The Human ($A\gamma$ -588, $A\rightarrow G$) Is Linked with The Xmn I Polymorphism ($G\gamma$ -158, $C\rightarrow T$). *Hemoglobin.*, 19 (6): 419- 423.
- Patrinos GP., Kollia P., Papadakis MN. (2005). Molecular Diagnosis of Inherited Disorders: Lessons From Hemoglobinopathies. *Hum. Mutat.*, 26(5): 399-412.
- Patrinos GP., Grosveld FG.(2008). Pharmacogenomics and Therapeutics of Hemoglobinopathies. *Hemoglobin.*, 32(1-2): 229-236.
- Pentberthy GC., Cooley TB. (1935). Results of Splenectomy in Childhood. *Ann. Surgery.*, 102(4): 645- 655.
- Peri KG., Gagnon J. Gagnon C., Bard H. (1997). Association of -158 ($C\rightarrow T$) (Xmn I) DNA Polymorphism in $G\gamma$ -Globin Promoter with Delayed Switchover from Fetal to Adult Hemoglobin Synthesis. *Pediatr. Res.*, 41(2): 214-217.
- Perrin P., Bouhassa R., Mselli L., Garguier N., Nigon VM., Bennani C., Labie D., Trabuchet G. (1998). Diversity of Sequence Haplotypes Associated with β Thalassemia Mutations in Algeria: Implications for Their Origin. *Gene.*, 213(1-2): 169- 177.
- Perrine SP., Ginder GD., Faller DV., Dover GH., Ikuta T., Witkowska HE., Cai SP., Vichinsky EP., Oliviera NF. (1993). A Short Term Trial of Butyrate to Stimulate Fetal Globin Gene Expression in The β Globin Disorders. *N. Eng. J. Med.*, 328(2): 81- 86.
- Perrine SP. (2005). Fetal Globin Induction Can It Cure A Thalassemia? *Hematology.*, 38- 44.
- Phil JN., Al- Arrayed S., Al-Mukharraq H., Merghoub T., Krishnamoorthy R. (2000). Spectrum of β Thalassemia Mutations in Bahrain. *Bahrain Medical Bulletin.*, 22(1): 1-8.
- Piras I., Vona G., Falchi A., Latini V., Ristaldi S., Vacca L., Varesi L., Calo CM. (2005). β Globin Cluster Haplotypes in Normal Individuals and β^0 39 Thalassemia Carriers From Sardinia, Italy. *Am. J. Hum. Biol.*, 17(6): 765-772.

- Pirastu M., Galanello R., Doherty MA., Tuveri T., Cao A., Kan YW. (1987). The Same β - Globin Gene Mutation Is Present on Nine Different β Thalassemia Chromosomes in A Sardinian Population. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 84(9): 2882-2885.
- Pirastu M., Saglio G., Camaschella C., Loi A., Serra A., Bertero T., Gabutti W., Cao A. (1988). Delineation of Specific Beta Thalassemia Mutations in High Risk Areas of Italy: A Prerequisite for Prenatal Diagnosis. *Blood.*, 71(4): 983-988.
- Pirastu M., Ristaldi MS., Cao O. (1989). Prenatal Diagnosis of β Thalassemia Based on Restriction Endonuclease Analysis of Amplified Fetal DNA. *J. Med. Genet.*, 26 (6): 363- 367.
- Platt OS., Orkin SH., Dover G., Beardsley GP., Miller B., Nathan DG. (1984). Hydroxyurea Enhances Fetal Hemoglobin Production in Sickle Cell Anemia. *J. Clin. Inves.*, 74(2): 652- 656.
- Platt OS., (2008). Hydroxyurea For The Teratment of Sickle Cell Anemia. *N. Engl. J. Med.*, 358(13): 1362 -1369.
- Premawardhena A., Fisher CA., Olivieri NF., Silva S., Sloane-Stanley J., Wood WG. Weatherall DJ. (2005). A Novel Molecular Basis for Thalassemia Intermedia Poses New Questions About It's Pathophysiology. *Blood.*, 106(9): 3251-3255.
- Qatanani M., Taher A., Koussa S., Naaman R., Fisher C., Rugless M., Old J., Zahed L. (2000). β Thalassemia Intermedia in Lebanon. *Eur. J. Haematol.*, 64 (4): 237- 244.
- Quaife R., Al- Ghazali L., Abbes S., Fitzgerald P., Fitches A., Valler D., Old JM. (1994). The Spectrum of β Thalassemia Mutations in The UAE National Population. *J. Med. Genet.*, 31(1): 59- 61.
- Quek L., Thein SL. (2006). Molecular Therapies in β Thalassemia. *Br. J. Haematol.*, 136(3): 353- 365.
- Ragusa A., Amata S., Lombardo T., Castiglia L., Maier- Redesperger M., Labie D., Bernini L. (2003). Asymptomatic and Mild β -Thalassemia in Homozygotes and Compound Heterozygotes for The IVS II-1 G>A Mutation: Role of The β - Globin Gene Haplotype. *Haematologica.*, 88(10): 1099- 1105.
- Rahimi Z., Merat A., Akhzari M., Hagshenass M., Nagel RL., Gerard N., Krishnamoorthy R. (2005). β Globin Gene Cluster Haplotypes in Iranian Patients with β Thalassemia. *IJHOBMT.*, 2(6): 30-34.
- Rahimi Z., Muniz A., Akramipour R., Tofieghzadeh F., Mozafari H., Vaisi-Raygani A., Parsian A. (2009). Haplotype Analysis of Beta Thalassemia Patients in Western Iran. *Blood Cells Mol. Dis.*, 42 (2): 140-143.
- Ramsay M., Jenkins T. (1987). Globin Gene Associated Restriction Fragment Length Polymorphisms in Southern African Peoples. *Am. J. Hum. Genet.*, 41 (6): 1132- 1144.

- Ratip S., Petrou M., Old JM., Wonke B., Porter JB., Modell B. (1997). Relationship Between The Severity of β Thalassemia Syndromes and The Number of Alleviating Mutations. *Eur. J. Haematol.*, 58(1): 14-21.
- Richards M., Corte-Real H., Forster P., Macaulay V., Wilkinson-Herorts H., Demaine A., Papiha S., Hedges R., Bandelt HJ., Sykes B. (1996). Paleolithic and Neolithic Lineages in The European Mitochondrial Gene Pool. *Am. J. Hum. Genet.*, 59(1): 185- 203.
- Ringelhann B., Szelenyi JG., Horanyi M., Svobodova M., Divoky V., Indrak K., Hollan S., Marosi A., Laub M., Huisman TH. (1993). Molecular Characterization of Beta Thalassemia in Hungary. *Hum. Genet.*, 92(4): 385-387.
- Rioux JD., Daly MJ., Silverberg MS., Lindblad K., Steinhart H., Cohen Z., Delmonte T., Kocher K., Miller K., Gushwan S., Kulbokas EJ., O'Leary S., Winchester E., Dewar k., Green T., Stone V., Chow C., Langelier D., Lapointe G., Gaudet D., Faith J., Branco N., Bull SB., McLeod RS., Griffiths AM., Bitton A., Greenberg GR., Lander ES., Siminovitch KA., Hudson TJ. (2001). Genetic Variation in The 5q31 Cytokine Gene Cluster Confers Susceptibility to Crohn Disease. *Nat. Genet.*, 29(2): 223- 228.
- Rodgers G., Dover GJ., Uyesaka N., Noguchi CT., Schechter AN., Nienhuis AW. (1993). Augmentation by Erythropoietin of The Fetal Hemoglobin Response to Hydroxyurea in Sickle Cell Disease. *N. Engl. J. Med.*, 328(2): 73-76.
- Rodgers GP., Rachmilewitz EA. (1995). Novel Treatment Options in The Severe β Globin Disorders. *Br. J. Haematol.*, 91(2): 263-268.
- Rosatelli C., Leoni GB., Tuveri T., Scalas MT., Di Tucci A., Cao A. (1987). β Thalassemia Mutations in Sardinians: Implications for Prenatal Diagnosis. *J. Med. Genet.*, 24(2): 97- 100.
- Rosatelli MC., Tuveri T., Scalas MT., Di Tucci A., Leoni GB., Furbetta M., Monni G., Cao A. (1988). Prenatal Diagnosis of β Thalassemia by Oligonucleotide Analysis in Mediterranean Populations. *J. Med. Genet.*, 25 (11): 762-765.
- Rosatelli MC., Oggiano L., Leoni GB., Tuveri T., Di Tucci A., Scalas MT., Dore F., Pistidda P., Massa A., Longinotti M. (1989). Thalassemia Intermedia Resulting From a Mild Beta Thalassemia Mutation. *Blood.*, 73(2): 601-605.
- Rosatelli MC., Dozy A., Faa V., Meloni A., Sardu R., Saba L., Kan YW. Cao A. (1992a). Molecular Characterization of β Thalassemia in Sardinian Population. *Am. J. Hum. Genet.*, 50 (2): 422-426.
- Rosatelli MC., Tuveri T., Scala MT., Leoni GB., Sardu R., Faa V., Meloni A., Pischeda MA., Demurtas M., Monni G., Cao A. (1992b). Molecular Screening and Fetal Diagnosis of Beta Thalassemia in The Italian Population. *Hum. Genet.*, 89(6): 585-589.

- Rouabhi F., Lapoumeroulie C., Amselem S., Krishnamoorthy R., Adjard L., Girot R., Chardin P., Benabdj M., Labie D., Beldjord C. (1988). DNA Haplotype Distribution of Algerian β Thalassemia Patients. *Hum. Genet.*, 79(4): 373-376.
- Rund D., Cohen T., Filon D., Dowling CE., Warren TC., Barak I., Rachmilewitz E., Kazazian HH., Oppenheim A. (1991). Evolution of a Genetic Disease in an Ethnic Isolate: Beta Thalassemia in The Jews of Kurdistan. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 88(1): 310- 314.
- Rund D., Oron-Karni V., Filon D., Goldfarb A., Rachmilewitz E., Oppenheim A. (1997). Genetic Analysis of β Thalassemia Intermedia in Israel: Diversity of Mechanisms and Unpredictability of Phenotype. *Am. J. Hematol.*, 54(1): 16-22.
- Sadiq MF., Eigel A., Horst J. (2001). Spectrum of Beta Thalassemia in Jordan: Identification of Two Novel Mutations. *Am. J. Hematol.*, 68(1): 16-22.
- Sampietro M., Thein SL., Conteras M., Pazmany L. (1992). Variation of Hb F and F Cell Number with The $\text{G}\gamma$ Xmn I (C \rightarrow T) Polymorphism in Normal Individuals. *Blood.*, 79(3): 832- 833.
- Saxon BR., Rees D., Olivieri NF. (1998). Regression of Extramedullary Haemopoiesis and Augmentation of Fetal Haemoglobin Concentration During Hydroxyurea Therapy in β Thalassemia. *Br. J. Haematol.*, 101(3): 416-419.
- Schechter AN. (2008). Hemoglobin Research and The Origins of Molecular Medicine. *Blood.*, 112(10): 3927- 3938.
- Schrier SL., Angelucci E. (2005). New Strategies in The Treatment of The Thalassemias. *Annu. Rev. Med.*, 56: 157-171.
- Schneider S., Roselli D., Excoffier L. (2000). A Software For Population Genetics Data Analysis (Manual Arlequin Ver. 2.000). *Genetics and Biometry Laboratory, Department of Anthropology University of Genava.*, Switzerland., 8s- 9s.
- Schroeder WA. (1963). The Hemoglobins. *Ann. Rev.*, 32: 301-320.
- Semenza GL., Dowling CE., Kazazian HH. (1989). Hinf I Polymorphism 3' to The Human β Globin Gene Detected by The Polymerase Chain Reaction (PCR). *Nucleic Acids Res.*, 17 (6): 2376.
- Shah D., Choudhury P., Dubey A.P. (1999). Current Trends in Management of The Beta Thalassemias. *Indian Pediatrics.*, 36 (12): 1229- 1242.
- Sher GD., Ginder GD., Little J., Yang S., Dover GJ., Olivieri NF. (1995). Extended Therapy with Intravenous Arginine Butyrate in Patients with β -Hemoglobinopathies. *N. Eng. J. Med.*, 332(24): 1606-1610.

- Shimizu K., Harihara S. (2004). Re - Evaluation of The Beta Globin Gene Cluster Haplotypes in Japanese, Koreans and Three Colombian Ameridans (Wayuu, Kamsa and Inga Tribes). *Antropol. Sci.*, 112 (2): 109-114.
- Smith RA., Ho PJ., Clegg JB., Kidd JR., Thein SL. (1998). Recombination Breakpoints in The Human β Globin Gene Cluster. *Blood.*, 92(11): 4415-4421.
- Sozuoz A., Berkalp A., Figus A., Loi A., Pirastu M., Cao A. (1988). β Thalassemia Mutations in Turkish Cypriots. *J. Med. Genet.*, 25 (11): 766-768.
- Spritz RA., Forget BG. (1983). The Thalassemias: Molecular Mechanisms of Human Genetic Disease. *Am. J. Hum. Genet.*, 35 (3): 333-361.
- Stamatoyannopoulos G. (1972). The Molecular Basis of Hemoglobin Disease. *Annu. Rev.*, 6: 47- 70.
- Stamatoyannopoulos JA. (1992). Future Prospects for Treatment of Hemoglobinopathies. *West. J. Med.*, 157(6): 631- 636.
- Stamatoyannopoulos G. (2005). Control of Globin Gene Expression During Development and Erythroid Differentiation. *Exp. Hematol.*, 33 (3): 259-271.
- Steinberg MH. (2001). Modulation of Fetal Hemoglobin in Sickle Cell Anemia. *Hemoglobin.*, 25(2): 195-211.
- Steinberg MH. (2005). Predicting Clinical Severity in Sickle Cell Anaemia. *Br. J. Haematol.*, 129 (4): 465- 481.
- Strouboulis J., Dillon N., Grosveld F. (1992). Developmental Regulation of a Complete 70 - kb Human β -Globin Locus in Transgenic Mice. *Genes & Development*, 6: 1857-1864.
- Summers KM. (1987). DNA Polymorphisms in Human Population Studies: A Review. *Ann. Hum. Biol.*, 14(3): 203-217.
- Swank RA., Stamatoyannopoulos G. (1998). Fetal Gene Reactivation. *Curr. Opin. Genet. Dev.*, 8(3): 366-370.
- Tadmouri GO., Tüzmen S., Özçelik H., Özer A., Baig SM., Senga EB., Başak AN. (1998). Molecular and Population Genetic Analyses of β Thalassemia in Turkey. *Am. J. Hematol.*, 57 (3): 215- 220.
- Tadmouri GO. (1999). β -thalassemia in Turkey: Distribution, Diversity, Evolution and Phenotype-Genotype Correlations. Ph. D. Dissertation, *Bogaziçi University*, İstanbul., 69s - 70s.
- Tadmouri GO., Bilenoğlu O., Kantarcı S., Kayserili H., Perrin P., Başak A.N. (2000). A Rare Mutation [IVS I- 130 (G>A)] in a Turkish β Thalassemia Major Patient. *Am. J. Hematol.*, 63(4): 223-225.

- Tadmouri GO., Başak AN. (2001a). β -Thalassemia in Turkey: A Review of The Clinical, Epidemiological, Molecular and Evolutionary Aspects. *Hemoglobin*, 25(2): 227- 239.
- Tadmouri GO., Garguier N., Demont J., Perrin P., Başak AN. (2001b). History and Origin of β -Thalassemia in Turkey: Sequence Haplotype Diversity of β Globin Genes. *Hum. Biol.*, 73(5): 661-674.
- Taher A., Isma'eel H., Cappellini MD. (2006). Thalassemia Intermedia: Revisited. *Blood Cells, Mol. Dis.*, 37(1): 12- 20.
- Tamagnini GP., Lopes MC., Castanheria ME., Wainscoat JS. (1983). β^+ Thalassemi-Portuguse Type: Clinical, Haematological and Molecular Studies of a Newly Defined Form of β Thalassemia. *Br. J. Haematol.*, 54(2): 189-200.
- Thein SL., Wainscoat JS., Sampietro M., Old JM., Cappellini D., Frorelli G., Modell B., Weatherall DJ. (1987). Association of Thalassemia Intermedia with a Beta Globin Gene Haplotype. *Br. J. Haematol.*, 65(3): 367-373.
- Thein SL., Hesketh C., Wallace RB., Weatherall DJ. (1988). The Molecular Basis of Thalassemia Major and Thalassemia Intermedia in Asian Indians: Applications to Prenatal Diagnosis. *Br. J. Haematol.*, 70(2): 225-231.
- Thein S., Sampietro M., Rohde K., Rochette J., Weatherall D., Lathrop G., Demenais F. (1994). Detection of a Major Gene for Heterocellular Hereditary Persistence of Fetal Hemoglobin After Accounting for Genetic Modifiers. *Am. J. Hum. Genet.*, 54(2): 214- 228.
- Thein SL. (2004). Genetic Insights into The Clinical Diversity of β Thalassemia. *Br. J. Haematol.*, 124(3): 264-274.
- Thein SL. (2005a). Genetic Modifiers of β Thalassemia. *Hematol./Hematol. J.*, 90(5): 649- 660.
- Thein SL. (2005b). Pathophysiology of β -Thalassemia- A Guide to Molecular Therapies. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.*, 31-32.
- Trecartin RF., Liebhaber SA., Chang JC., Lee KY., Kan YW. (1981). β^0 Thalassemia in Sardinia Is Caused by a Nonsense Mutation. *J. Clin. Invest.*, 68 (4): 1012-1017.
- Treco D., Thomas B., Arnheim N. (1985). Recombination Hot Spot in The Human β Globin Gene Cluster: Meiotic Recombination of Human DNA Fragments in *Saccharomyces Cerevisiae*. *Mol. Cell Biol.*, 5(8): 2029-2038.
- Varawalla NY., Fitches AC., Old JM. (1992). Analysis of β Globin Gene Haplotypes in Asian Indians: Origin and Spread of β -Thalassemia on The Indian Subcontinent. *Hum. Genet.*, 90(4): 443- 449.

- Venter JC., Adams MD., Myers EW. Li PW., Mural RJ., Sutton GG., Smith HO., Yandell M., Evans CA., Holt RA., Gocayne JD., Amanatides P., Ballew RM., Huson DH., Wortman JR., Zhang Q., Kodira CD., Zheng XH., Chen L., Skupski M., Subramanian G., Thomas PD., Zhang J., Gabor Miklos GL., Nelson C., Broder S., Clark AG., Nadeau J., McKusick VA., Zinder N., Levine AJ., Roberst RJ., Simon M., et.al. (2001). The Sequence of The Human Genome. *Science. Review*, 291(5507): 1304- 1351.
- Verma IC., Saxena R., Thomas E., Jain PK. (1997). Regional Distribution of β Thalassemia Mutations in India. *Hum. Genet.*, 100 (1): 109-113.
- Vicari P., Figueiredo MS. (2006). Regression of Extramedullary Hematopoiesis with Hydroxyurea Therapy in Beta Thalassemia Intermediate. *Rev. Bios. Hematol.*, 28(1): 71- 72.
- Villalobos-Arambula AR., Bustos R., Casas-Castaneda M., Gutierrez E., Perea FJ., Thein SL., Ibarra B. (1997). β Thalassemia and β^A Globin Gene Haplotypes in Mexican Mestizos. *Hum. Genet.* 99(4): 498- 500.
- Villegas A., Ropero P., Gonzalez FA., Marti E., Anguita E., De Blas HM.(1998). High Incidence of The CD 8/9 (+G) β^0 Thalassemia Mutation in Spain. *Haematologica.*, 83 (12): 1066- 1068.
- Wang N., Akey JM., Zhang K., Chakraborty R., Jin L. (2002). Distribution of Recombination Crossovers And The Origin of Haplotype Blocks: The Interplay of Population History, Recombination and Mutation. *Am. J. Hum. Genet.*, 71(5): 1227- 1234.
- Weatherall DJ., Clegg JB. (1976). Molecular Genetics of Human Hemoglobin. *Ann. Rev. Genet.*, 10: 157-178.
- Weatherall DJ., Old JM., Thein SL., Wainscoat JS., Clegg JB. (1985). Prenatal Diagnosis of The Common Haemoglobin Disorders. *J. Med. Genet.*, 22(6): 422-430.
- Weatherall DJ. (1997). The Thalassemias. *BMJ.*, 314 (7079): 492-496.
- Weatherall DJ. (1998). Pathophysiology of Thalassemia. *Baillieres Clin. Haematol.*, 11(1): 127- 146.
- Weatherall PH., Clegg JB. (2001a). Inherited Hemoglobin Disorders: An Increasing Global Health Problem. *Bull WHO*, 79(8): 704- 712.
- Weatherall DJ. (2001b). Phenotype Genotype Relationships in Monogenic Disease: Lessons From The Thalassemias. *Nature Review Genetics.*, 2(4): 245-255.
- Weatherall DJ. (2004). The Thalassemias: The Role of Molecular Genetics in an Evolving Global Health Problem. *Am. J. Hum. Genet.* 74 (3): 385- 392.

- Wilson IJ., Weale ME., Balding DJ.(2003). Inferences From DNA Data: Population Histories, Evolutionary Processes and Forensic Match Probabilities. *J. R. Statist. Soc. A.*, 166(2): 155-201.
- Winichagoon P., Thanglairoam V., Fucharoen S., Wilairat P., Fukumaki Y., Wasi P. (1993). Severity Differences in β -Thalassaemia / Hb E Syndromes: Implication of Genetic Factors. *Br. J. Haematol.*, 83(4): 633-639.
- Winichagoon P., Fucharoen S., Chen P., Wasi PW. (2000). Genetic Factors Affecting Clinical Severity in β Thalassemia Syndromes. *J. Pediatr. Hematol. Oncol.*, 22(6): 573- 580.
- Witt O., Monkemeyere S., Ronndahl G., Erdlenbruch B., Reinhardt D., Kanbach K., Pekrun A. (2003). Induction of Fetal Hemoglobin Expression by The Histone Deacetylase Inhibitor Apicidin. *Blood.*, 101(5): 2001-2007.
- Wong C., Antonarakis SE., Goff SC., Orkin SH., Boehm CD., Kazazian HH. (1986). On The Origin and Spread of β Thalassemia: Recurrent Observation of Four Mutations in Different Ethnic Groups. *PNAS.*, 83(17): 6529-6532.
- Wong YC., George E., Tan KL., Yap SF., Chan LL., Tan J.A.M.A. (2006). Molecular Characterization and Frequency of G γ X μ n I Polymorphism in Chinese and Malay β Thalassemia Patients in Malaysia. *Malays. J. Pathol.*, 28(1): 17-21.
- Wood WG., Weatherall DJ. (1983). Developmental Genetics of The Human Haemoglobins. *Biochem. J.*, 215 (1): 1-10.
- Xu C., Tobi D., Bahar I. (2003). Allosteric Changes in Protein Structure Computed by a Simple Mechanical Model: Hemoglobin T \leftrightarrow R2 Transition. *J. Mol. Biol.*, 333(1): 153- 168.
- Xu J. (2006). Extracting Haplotypes From Diploid Organisms. *Curr. Issues Mol. Biol.*, 8(2): 113- 122.
- Yang YM., Pace B. (2001). Pharmacologic Induction of Fetal Hemaoglobin Synthesis: Cellular and Molecular Mechanisms. *Pediatr. Pathol. Mol. Med.*, 20 (1): 87-106.
- Yavarian M., Harteved CL., Batelaan D., Bernini LF., Giardano PC. (2001). Molecular Spectrum of β Thalassemia in The Iranian Province of Hormozgan. *Hemoglobin.*, 25(1): 35- 43.
- Yavarian M., Karimi M., Bakker E., Harteveld CL., Giordano PC. (2004). Response to Hydroxyurea Treatment in Iranian Transfusion Dependent β Thalassemia Patients. *Haematologica.*, 89(10): 1172-1178.
- Yıldız S, Atalay A, Bağcı H, Atalay EÖ. (2005). Beta Thalassemia Mutations in Denizli Province of Turkey. *Turk J Hematol.*, 22(1): 19-23.

- Zahed L., Qatanani M., Nabulsi M., Taher A. (2000). β Thalassemia Mutations and Haplotype Analysis in Lebanon. *Hemoglobin.*, 24(4): 269-276.
- Zahed L. (2001). The Spectrum of β Thalassemia Mutations in The Arab Populations. *J. Biomed. Biotech.*, 1(3): 129-132.
- Zahed L., Demont J., Bouhass R., Trabuchet G., Hanni C., Zalouaa P., Perrin P. (2002). Origin and History of The IVS I- 110 and Codon 39 β Thalassemia Mutations in The Lebanese Population. *Hum. Biol.*, 74(6): 837-847.
- Zertal-Zidani S., Ducrocq R., Sahbatou M., Sata D., Krishnamoorthy R. (2002). Foetal Haemoglobin in Normal Healthy Adults: Relationship with Polymorphic Sequences *cis* to The β Globin Gene. *Eur. J. Hum. Genet.*, 10(5): 320-326.
- Zhang K., Akey JM., Wang N., Xiong M., Chakraborty R., Jin L.(2003). Randomly Distributed Crossovers May Generate Block Like Patterns of Linkage Disequilibrium: An Act of Genetic Drift. *Hum. Genet.*, 113(1): 51-59.
- Zhao H., Pfeiffer R., Gail MH. (2003). Haplotype Analysis in Population Genetics and Association Studies. *Pharmacogenomics.*, 4(2): 171-178.

8. ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında İzmir’de doğdum. İlk, orta ve lise eğitimimi Denizli’de tamamladım. “Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Fizik Bölümü” Lisans Programı’ndan 2000 yılında mezun oldum.

2001 yılında “Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyofizik Anabilim Dalı’nda” Araştırma Görevlisi olarak göreve başladım. Halen mevcut görevime devam etmekteyim. Aynı yıl içerisinde “Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı’nda” Yüksek Lisans eğitime başlayarak, 2004 yılında “Hb D Los Angeles’ın Ayırıcı Moleküler Tanısı” başlıklı yüksek lisans tezimi tamamladım.

2005 yılı güz döneminde ise, “Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Biyofizik Anabilim Dalı’nda” doktora öğrenimime başladım ve halen devam etmekteyim.