

49348

T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**TALASSEMİ MAJORLÜ ÇOCUKLARDA
KARACİĞER VE DEMİR METABOLİZMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr.H.İLGEN ŞAŞMAZ

TEZ DANIŞMANI
Prof.Dr.YURDANUR KILINÇ

ADANA-1996

KISALTMALAR

Hb : Hemoglobin

Hct: Hematokrit

MCV : Ortalama eritrosit hacmi

MCH : Ortalama eritrosit hemoglobin miktarı

MCHC: Ortalama eritrosit hemoglobin
konsantrasyonu

Ret: Retikülosit

SGOT: Serum glutamik oksalasetik transaminaz

SGPT: Serum glutamik pirüvik transaminaz

İÇİNDEKİLER

Kısaltmalar	I
Giriş	II
Genel Bilgiler	1
Olgular ve yöntem	25
Bulgular	26
Tartışma	56
Sonuçlar	62
Özet	64
Kaynaklar	65

GENEL BİLGİLER

TALASSEMİ SENDROMLARI

Talassemler hemoglobin zincirlerinden bir veya daha fazlasının sentezinin azalması ya da hiç yapılamaması sonucu ortaya çıkan heterojen bozukluklardır (41,46). İlk kez Detroitli bir çocuk hekimi olan Thomas Cooley 1925 yılında derin anemisi, masif hepatosplenomegalisi, büyüme geriliği ve kemik deformiteleri olan İtalyan ve Yunan kökenli dört çocuktaki benzer bulguları ayrı bir hastalık olarak tanımlamıştır (22,46).

Hastalığın genetik yapısı anlaşılmeden önce klinik durum dikkate alınarak sınıflandırma yapılmıştır. Major klinik bulguları ve derin anemisi olan hastalar *talassemi major*, regüler transfüzyon gerektirmeyecek düzeyde anemisi olanlar *talassemi intermedia* olarak adlandırılmıştır. Talassemlerin herediter karakterinin anlaşılmasından sonra, anormal eritrosit morfolojisi olmasa rağmen anemisi olmayan ya da çok hafif olan talassemi majorlülü hastaların anne ve babasındaki klinik tabloya ise *talassemi minör* denilmiştir. Talassemi geni taşımasa rağmen anemi ya da anormal eritrosit morfolojisi göstermeyenler de *talassemi minima* olarak kabul edilmiştir (41).

Bugün için talassemlerin sınıflandırılması teknolojik ilerlemeler sonucunda yetersiz sentezi olan globin zincir ya da zincirlerine göre yapılmaktadır. Örneğin α zincir sentezinin yokluğu ya da eksikliği *α -talassemi*, β zincir sentezinin yokluğu ya da eksikliği *β -talassemi* olarak adlandırılır (41,46,53).

Memelilerin oksijen transport proteini olan hemoglobin yaklaşık $50 \times 55 \times 64 \text{ \AA}$ olup 64.400 dalton molekül ağırlığında ve tetramerik yapıdadır. Demir içeren hem grupları ve protein yapısındaki globinden oluşan kompleks bir proteindir. α benzeri ve non- α olmak üzere iki çift polipeptid zinciri içerir (59).

Eritropoez embriyoda 19. günde yolk kesesinde intravasküler ve megaloblastik olarak başlar ve gestasyonun 11. haftasında yolk kesesinde mezoblastik eritropoez sonlanır. Karaciğerde eritropoetik aktivite 6. haftada başlar, 9-24. haftalar arasında eritrosit üretiminin ana kaynağı karaciğerdir. Kemik iliğinde eritropoez ilk olarak 10-11 haftalık embriyoda başlar ve aktivitesi giderek artar. Daha az olarak konnektif doku, böbrek, dalak, timus ve lenf nodlarında da görülür (65).

İnsanlarda hemoglobin heterojenitesi intrauterin yaşamda daha belirgindir. Embriyoda ilk sentez edilen globin zinciri zeta (ζ) ve α zincirine benzeyen epsilon (ϵ)dur. Beş ile altı haftalık gestasyondan önce görülen major hemoglobin Hb Gower

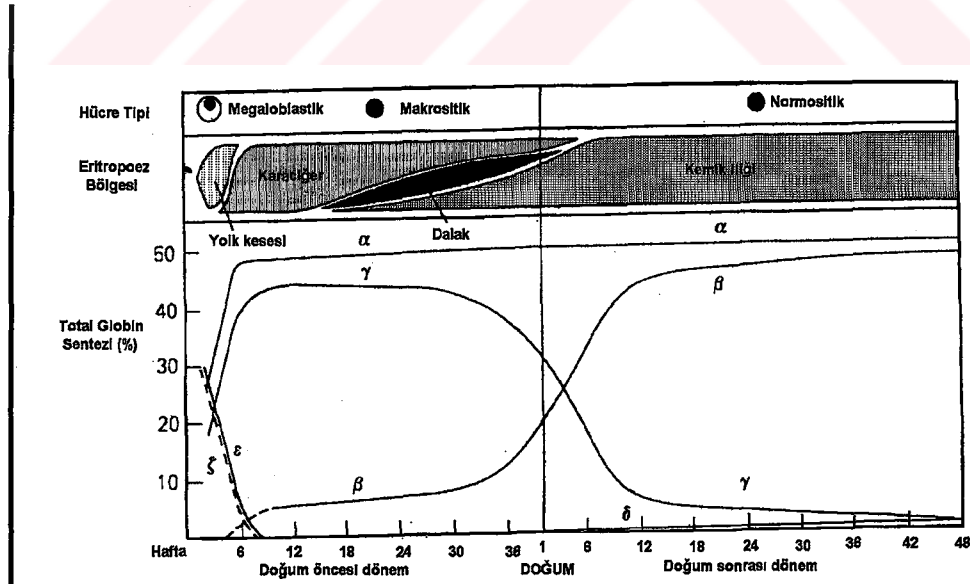
1 (ζ_2, ε_2) dir. Hb Gower 2 (α_2, ε_2) 4-13 haftalar arasındaki embriyoda görülür. Hb Portland (ζ_2, γ_2) erken dönemde bulunan diğer bir hemoglobindir (65).

ζ ve ε zincirlerinin sentezi azalırken α ve γ zincirlerinin sentezi artar. Bu değişiklikler major eritropoez yeri yolc kesesinden karaciğere geçtiği zaman oluşur. Hb F (α_2, γ_2) fetal hayatın major hemoglobindir. Tam zamanlı yenidoğanlarda total hemoglobinin %53-95'ini oluşturur ve doğumdan sonra giderek azalır. Hb F altı aylık bebekte total hemoglobinin %2-3'ünden azını oluşturur. Yetişkinlerde %1'in altındadır (65).

Normal erişkin hemoglobininde yaklaşık %97 oranında bulunan Hb A'nın sentezi ilk olarak 9 haftalık fetusta gösterilebilir. Dokuzuncu haftada %4 olan Hb A miktarı 21. haftada %13'e çıkar. Gestasyonun 34-36 haftasından sonra Hb A sentezi giderek artar, Hb F sentezi azalır. Hb A yenidoğanda total hemoglobinin %20'sini oluşturur (65).

Hb A₂ normal erişkin hemoglobininin %2.5 kadarmı oluşturur (65).

Gelişim sırasındaki eritropoez bölgeleri ve globin sentez paternleri şekil 1'de gösterilmiştir (46).



Şekil 1. Eritropoez bölgeleri ve globin sentez paternleri.

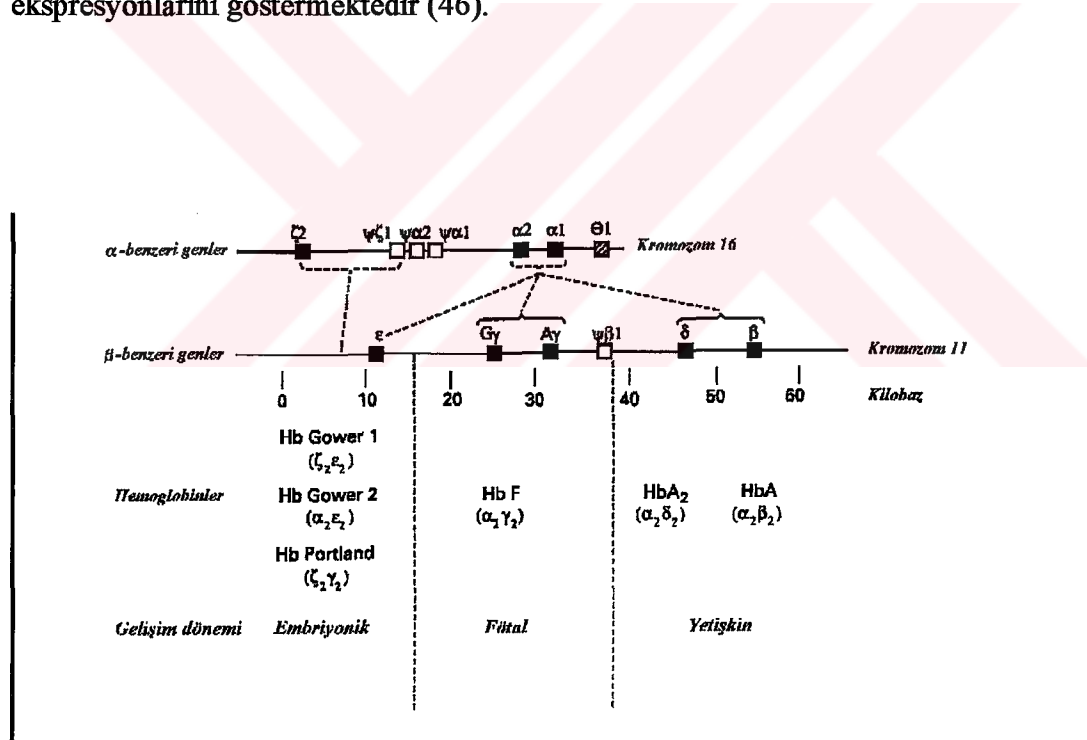
Globin Genlerinin Yapı ve Fonksiyonu

Gen, fonksiyonel bir ürünün yapımından sorumlu olan DNA parçasıdır. İnsan hemoglobinlerinin globin komponentlerini şifreleyen genler iki kümede organize olmuştur. α -benzeri genler 16.kromozomda ve β -benzeri genler 11. kromozomda yerleşmişlerdir (46).

α globulin gen kümesi üç fonksiyonel gen içerir. Bunlar ζ geni ve özdeş yapıda olan α_1 ve α_2 genidir. DNA dizi analizleri bu kümenin inaktif, psödogen olarak adlandırılan üç yapıyı da içerdiğini göstermiştir (46).

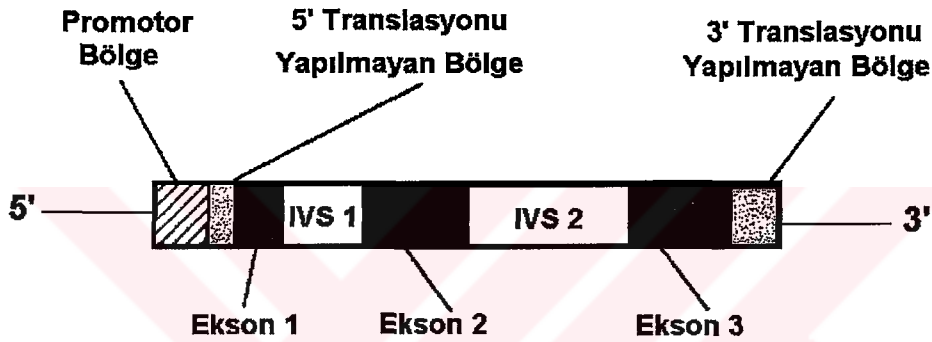
β globulin gen kümesi beş fonksiyonel gen içerir. Bunlar ϵ geni, γ geni, δ geni, β geni olup, γ geni çifttir. G_γ geni 136. pozisyonda glisin içeren proteini, A_γ geni aynı pozisyonda alanin içeren globin zincirini şifreler. Doğumda G_γ/A_γ geni oranı 3:1 iken, Hb F'in eser miktarda bulunduğu yetişkin çağda bu oran tersine döner (41,46).

Şekil 2 globin genlerinin kromozomal organizasyonunu ve gelişim sırasındaki ekspresyonlarını göstermektedir (46).



Şekil 2. Globin genlerinin kromozomal organizasyonu ve gelişim sırasındaki ekspresyonları

Genlerde kodlanan bölge ve kodlanmayan bölge olmak üzere iki bölge vardır. Bunlardan kodlanmayan bölge intervening sequence veya intron olarak adlandırılır, intronlar mRNA'nın transkripsiyonunun başlangıcında bulunmakla birlikte sitoplazmada olgun mRNA'da yoktur. Bu nedenle protein ürününü şifreleyemezler. Ekzonlar ise kodlanan bölgelerdir ve ürünün amino asit dizilerinin kodlarını içerirler. β globin geninin her biri 2 intron ve 3 ekzon içerir. Ekzon-1 30 kodon, Ekzon-2 74 kodon, Ekzon-3 42 kodondan oluşur. İtron-1 130 baz çifti, intron-2 850 baz çifti uzunluğundadır. Şekil 3 β globin gen yapısını göstermektedir (41,46).



Şekil 3. β globin gen yapısı.

5' ve 3' ucunda yer alan, kopyalanmamasına rağmen gen ekspresyonunda önemli olan DNA dizileri vardır. Transkripsiyonun başlama noktasının (CAP site:başlık bölgesi) hemen önünde yer alan promotor bölge yaklaşık 100 baz çifti içerir, mRNA sentezini katalize eden RNA polimeraz II enzimi bu bölgede yer alan üç kısa diziyeye bağlanır. TATA kutusu ve CAT kutusu olarak adlandırılan iki dizi, gen transkripsiyonunun başlatılmasında özellikle önem taşır ve bunlardaki mutasyonlar enzimin bağlanmasını, RNA'nın transkripsiyonunu kısıtlar (41). Enhancer dizileri promotor içerisinde ancak transkripsiyonun başlangıç yerinden uzakta bulunan ve mRNA transkripsiyonunu arttıran DNA dizileridir (46).

Primer mRNA transkriptleri genomik DNA'nın tamamını, ekzon ve intronları içerir. Pre mRNA sitoplazmaya taşınmadan önce yoğun değişikliklere uğrar. Transkriptin 5' ucundaki ilk ribonükleotidlere, nükleusta nükleotid başlık ilave olur. mRNA'nın 3' ucu bir endonükleazca koparılır ve ayrılmayı takiben poliadenilasyon gerçekleşir. Daha sonra transkriptte olmuş mRNA'dan intronlar çıkarılır. Bu olaya splicing denilir. Matür mRNA sitoplazmaya taşınır. Globin zincir sentezi amino asitler

aktive edici enzimler ve tRNA'ların varlığında poliribozomlarda yapılır. Bu olaya translasyon denir (41,46).

β-TALASSEMİ MUTASYONLARI

Gen klonlanması, DNA dizi analizi ve gen fonksiyonlarının değerlendirilmesi için geliştirilen teknikler moleküler patolojinin anlaşılmasını sağlamıştır. β-talassemler normal β globin zincir sentezinde ve mRNA üretiminde azalmaya yol açan, gen regülasyonunu ve ekspresyonunu etkileyen mutasyonlardan kaynaklanır (41,46).

Talassemiye yol açan mutasyonların insanlık tarihinde spontan olarak geliştiği bilinmektedir. 1949'da Haldane malaryanın endemik olduğu tropikal ve subtropikal bölgelerde talassemlerin sık görülmesinden dolayı, bu hastalık için heterozigot durumun malaryaya karşı avantaj sağladığını ileri sürmüştür. Bu hipotez mikroepidemiolojik çalışmalarla da desteklenmiştir (46). Homozigot β-talassemlerin β zincir sentezinin azaldığı β⁺-talassemi ve β zincirinin hiç yapılamadığı β^o-talassemi olmak üzere 2 major tipi vardır. β⁺-talassemlili hastalarda kemik iliğindeki normoblastlarda ve retiküositlerde β globin mRNA miktarı 3-10 kat azalmış olup, bu azalmaya paralel olarak β globin sentezi de azalmıştır (41).

Homozigot β^o-talassemlili hastalarda β globin sentezi yapılamayışı hastaların yarısında eritrosit prekürsörleri ve retiküositlerdeki β globin mRNA eksikliği ya da yokluğuna, diğer yarısında ise β globin sentezleyemeyen inaktif β globin mRNA'ya bağlıdır (41).

Yalnızca bir β-talassemi geni olan bireyler klinik olarak iyidir. İki allelik geni taşıyanlar homozigot olarak kabul edilir. Bu terminoloji fonksiyonel olup, genetik olarak doğru değildir. Bunun nedeni talassemlerin heterojenitesinin çok fazla olması, homozigot olarak adlandırılmış vakaların çoğunun β-talassemi için çift heterozigot gen taşımasıdır (41).

β-talassemi vakalarının çoğu tek nükleotid ya da küçük delesyonları içeren mutasyonlardan kaynaklanması nedeniyle restriksiyon endonükleaz enzimleri ve gen blotting yöntemleri ile ayrılamaz. Spesifik mutasyonların tanımlanması, etkilenen bireylerden izole edilen β globin genlerinin klonlanmasını ve dizilerinin çözümlenmesini gerektirir. Bu teknikler sonucunda 100'e yakın mutasyon belirlenmiştir. Bu mutasyonlar iki gruba ayrılır (41,46).

1. β globin mRNA transkripsiyonunu değiştirenler

- . Promotor bölge mutasyonları
- . Zincir sonlandıran mutasyonlar

2. mRNA processingini değiştirenler

- . Splice kavşağı mutasyonları
- . Consensus değişiklikleri oluşturan mutasyonlar
- . Yeni splice sinyalleri üreten mutasyonlar
- . Ayrılma defekti yapan mutasyonlar.

Promotor Bölge Mutasyonları

RNA polimerazın bağlanmasını azaltarak mRNA transkripsiyonunu %20-30 oranında azaltan promotor bölge mutasyonlarında, homozigotlarda ve çift heterozigotlarda bile β -talassemi majoru önlemeye yetecek düzeyde β globin sentezlenir. Promotor bölgede tek nükleotid yer değişikliği olan β -talassemi hastalardan 12 β globin geni izole edilmiştir (61).

Zincir Sonlanım Mutasyonları

β globin mRNA transkripsiyonunun erken sonlanması iki tip mutasyona bağlı gelişir. Anlamsız mutasyonlarda amino asidi şifreleyen kodondaki tek bir nükleotid değişikliğine bağlı olarak translasyon durur. ereve kayması mutasyonlarında ise bir nükleotidin delesyon ya da insersiyonu, kodonların gruplanmasını değiştirip, mutasyondan sonraki mesajın hatalı olmasına yol açar ve zinciri sonlandıran kodonlar yaratır (41).

Bu iki tip mutasyon sonucu oluşan mRNA globin zinciri yapamadığından dolayı β^0 -talassemi fenotipi gelişir. Mutant mRNA'nın nükleer metabolizmasındaki değişiklik ya da mutant mRNA'nın sitoplazmaya geçiş anormalliği nedeniyle defektif mRNA sitoplazmada az miktarda bulunur. En çok görülen anlamsız mutasyon kodon 39'daki (CAG \rightarrow TAG) değişikliğini içeren mutasyondur. Kodon 39 mutasyonu İtalya ve Yunanistan'daki β -talassemilerin yaklaşık %30'undan ve Sardinya'daki β -talassemilerin tamamından sorumludur (41,46).

Splice Kavşak Mutasyonları

Ekson intron kavşaklarının incelenmesi normal splicing oluşumu için verici uçta GT, alıcı uçta AG dinükleotidi olmasını gerektirir. Bu bölgelerdeki nokta mutasyonlarına bağlı anormal splice sonucunda oluşan mRNA β globin sentezi için kullanılamaz. Verici bölgede olan baz değişiklikleri mutasyon bölgesinde splice'm tamamen kaybına yol açar. Alıcı uçtaki delesyonlar ve nokta mutasyonları bu bölgeyi

görev yapamaz hale getirir. IVS-2 bölgesinin 3' ucunun mutasyonlarında (A → G) ikinci introndaki normal verici ile yine intron içindeki gizli bir reseptör arasında splice gelişir. Sonuçta oluşan mRNA'nın içinde anormal kopyalanmış bir baz dizisi kalır (41).

Consensus Değişiklikleri Oluşturan Mutasyonlar

Splice kavşağının yakınındaki consensus dizisindeki mutasyonlar splicingi etkiler. Consensus dizileri verici bölgeler için 5' tarafta 3 nükleotid ve 3' tarafta 4 nükleotid içerir. Consensus mutasyonlarında oluşan verici bölgeler mRNA transkripsiyonunda kullanılır. Mutasyonla oluşan bu kriptik verici bölgeler normal splice bölgelerine benzerler, fakat normal bölgeler değişmedikçe kullanılmaz. Consensus dizi mutasyonları splicing etkinliğini azaltır, fakat ortadan kaldırmaz. Sonuçta β^+ -talassemi fenotipine yol açarlar (41).

Yeni Splice Sinyalleri Üreten Mutasyonlar

Intronlardaki nükleotidlerin yer değişikliği normal splice bölgelerinden sadece çok az farklılık gösteren yeni diziler yaratır. Bu mutasyonlar kriptik splice bölgelerini geçerli hale dönüştürür ve oluşan bu yeni splice alanları normal splice dizileri ile yarışır. IVS 1- 110 (GG →AG) mutasyonu β^+ -talassemi, IVS 1- 116 (T →G) mutasyonu β^0 -talassemi, IVS 2-654 (C →T) mutasyonu β^0 -talassemi, IVS 2-705 (T →G) mutasyonu β^+ -talassemi ve IVS 2-745 (C → G) mutasyonu β^+ -talassemi oluşumuna neden olur (41,46).

Güçlendirilmiş Kriptik Splice Bölgeleri

Birinci ekzondaki kodon 24-27'de, ilk intronun 5' ucundaki normal verici nükleotid dizisine benzer bir dizi vardır. İntrinsik nükleotid değişikliği tarafından aktif hale getirilen kriptik verici bölgesi, verici splice kavşağındaki üç mutasyon tarafından kullanılır. Bu mutasyonlar sonucu oluşan yeni splice dizileri ve normal dizi arasında yarışma vardır (41).

RNA Ayrılma Defekti

RNA ayrılma ve poliadenilasyonunda 3' ayrılma bölgesinden 20 nükleotid yukarıda bulunan AAUAAA dizisi rol alır. Bu korunmuş dizide oluşan mutasyonlar ayrılma ve poliadenilasyonun etkinliğini azaltır ve normalden uzun bir mRNA oluşumuna yol açar. β globin mRNA düzeyinde orta derecede bir azalma ve β^+ -talassemi fenotipiyle karakterizedir (41,46).

CAP Bölgesi Mutasyonları

CAP bölgesi küçük ribozom subunitlerinin bağlanması için gereklidir ve CAP bölgesi çıkartılmış mRNA ürünlerinin invitro etkili translasyon yapmadığı gösterilmiştir. Birinci pozisyonda A → C değişikliği β-talassesemi Hindistan'lı bir ailede bildirilmiştir. Mutasyonun mekanizması açık olmamakla birlikte mRNA stabilitesinin azalması, capping ve translasyonun etkilenmesi ile bağlantılı olabilir. Bu mutasyon heterozigotlarda sessiz β-talassemi, homozigotlarda hafif talassemi fenotipi ile karakterizedir (41,46).

Delesyon Mutasyonları

β° fenotipi ile karakterizedir. Bu güne kadar beş farklı mutasyon tanımlanmıştır. Bu mutasyonlar Hindistan'daki β-talassemlerin yaklaşık %30'undan sorumludur (41,46).

DEMİR METABOLİZMASI

Total vücut demir içeriği normal bir erişkinde yaklaşık 4 g'dır. Bunun %10'u iskelet kaslarında miyoglobinde bulunurken, %60-65'i eritrositler içinde hemoglobinde bulunur. Hem içeren proteinler (katalaz, sitokromlar), demir-sülfür kompleksli enzimler (mitokondrial) ve demire bağlı enzimlerde (prolil ve lizil hidroksilaz, ribonükleotid redüktaz) vücut demirinin %5'i bulunur. Kalan %20-25'i ferritin veya hemosiderin şeklinde depolanır. Sadece eser miktarda demir plazmada demir proteini olan transferrine bağlı olarak dolaşır (33).

Demir dengesi normalde demir absorpsiyonu tarafından kontrol edilir, demir depoları ve demir absorpsiyonu resiprokal ilişkilidir, depolarda azalma olduğunda absorpsiyon artar, demir birikiminin fazla olduğu durumlarda absorpsiyon azalır. Eritropoetik aktivite artışı, demir absorpsiyonunun artışı ile sonlanır. Normal batı diyeti 10-20 mg/gün demir içerir ve bunun 1-2 mg'ı absorbe edilir. Normal erkeklerde ve menstruasyonu olmayan kadınlarda demir kaybı esas olarak barsak mukoza hücrelerinin deskuamasyonu, daha az olarak da cilt idrar ve safraya olan kayıpla sağlanır (6,33,67).

Demir absorpsiyonu jejunumun üst kısımları ve duodenumda gerçekleşir. Absorpsiyon işlemi aktif bir olaydır ve bir gradiente karşı demir transportu gerçekleşir. Ancak buradaki mekanizma tam olarak anlaşılammıştır (6,33,67).

Demir mukozal hücre içinde bulunan sitozolik havuza girer. Bir kısmı bu havuzu geçerek ferritin olarak depolanır ve daha sonra mobilize olur, ya da mukozal

hücre eksfoliasyonu ile atılır. Diğer dokulardaki hücresele metabolizma için gerekli kısım ise kandaki major transport proteini olan transferrine bağlanır (67).

Transferrin molekül ağırlığı 77.000 dalton olan ve büyük ölçüde karaciğerde sentezlenen bir glikoproteindir. İki ferrik demir molekülü bağlayabilir ve serumdaki total demir bağlama kapasitesinden sorumludur (250-370 µg/dl). Bu da 1/3'ünün demir ile satüre olduğunu gösterir. Retikülosit ve hepatositler içine demirin fizyolojik olarak girişi hücre yüzeyinde bulunan ve demir yüklü transferrini tercih eden transferrin reseptörlerine bağlıdır. Reseptör-demir kompleksi hücre içine alınır, daha sonra demir serbestleşir. Hücre demire doyduğu zaman transferrin reseptörleri inhibe olur. Transferrin tamamen satüre olduğunda demir transferrine bağlı olmaksızın dolaşır ve düşük molekül ağırlıklı şelatörlerle ilişkiye girer. Demir bu formda iken doymuşluk olmaksızın hücre içine serbestçe girebilir (6,67).

Demir hücrelerde molekül ağırlığı 480.000 dalton olan ferritin şeklinde depolanır. Ferritin protein olan apoferritin ve demirin kombinasyonundan oluşur. Elektron mikroskopide sitoplazmada serbestçe bulunan 50 Å çaplı partiküller şeklinde gözlenir. Tek bir ferritin molekülü 4.500 demir atomu depolayabilir. Yüksek demir konsantrasyonu apoferritin sentezini uyarır (6,33,67).

Ferritin moleküllerinin yıkılması sonucu oluşan agregatlar ferrisiyanit ile mavi granüller şeklinde boyanan hemosiderini oluşturur. Demirin yaklaşık 1/3'ü bu formda depolanır ve demir depo hastalıklarında artar (6,67).

Karaciğer Demir Metabolizması

Karaciğer demirin depolandığı ve demir transport proteini transferrinin sentezlendiği ana organ olması nedeniyle tüm vücut demir metabolizmasının kontrolünde önemli bir rol oynar. Vücut demir deposunun 1/3'ü karaciğerde olup bunun %98'i hepatositlerde, %1.5-2'si kupfer hücrelerinde, endotelial hücrelerde, safra duktusu hücrelerinde, liposit ve fibroblastlarda bulunur (6,33).

Hepatositlere demir alımı reseptör aracılığıyla, ferrik transferrin kompleksinin endositozu yoluyla olur. Daha sonra lizozomal olmayan endositik vezikül oluşur; vezikül içinde pH 5.5 ve altına düştüğünde transferrinden demir salınır. Bu olay hücre içinde 5-15 dakika içinde gerçekleşir. Apotransferrinin %95 kadarı yeniden dolaşıma katılır. Transferrin satürasyonunun normalin üzerinde olduğu durumlarda (%30'un üzeri) transferrine bağlı demirin nonspesifik bir alım mekanizması vardır. Transferrine bağlı olmayan demirin sıvı faz endositozu da tanımlanmıştır. Hepatositlerde hem-hemopeksin, hemoglobin-haptoglobulin ve dolaşan serum ferritininin alımı için spesifik reseptör bağlantılı mekanizmalar vardır. Buna ilaveten demir yüklü kupfer

hücrelerinden salınan ferritinin hepatositler tarafından alınma yeteneği olduğu gösterilmiştir (6,33).

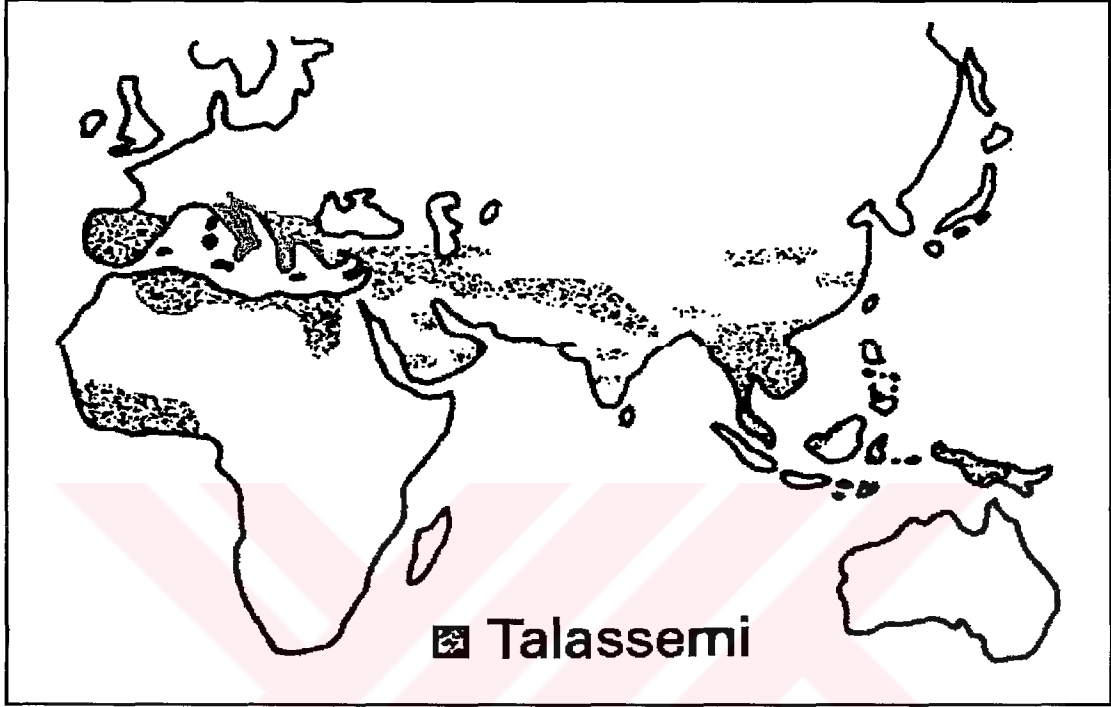
Hepatositlerde demir birkaç formda bulunabilir: ferritin, hemosiderin, hem ve intrasellüler transit havuzu (düşük molekül ağırlıklı şelat havuzu) şeklindedir. Normal karaciğerde yaklaşık olarak demirin %50-60'ı ferritin, %10-20'si hemosiderin, %15-25'i hem, kalan %5-10'u intrasellüler transit havuzu şeklindedir. İndirekt kanıtlarla demirin düşük molekül ağırlıklı şelat havuzunun periferik kan lökositlerinde, barsak epitel hücrelerinde, kemik iliği hücrelerinde ve alveolar makrofajlarda da bulunduğu saptanmıştır. Bu formun hepatositlerdeki ferröz ya da ferrik demirin transportuna veya şelasyona yardım edebileceği gösterilmiştir (6).

Demir hücre içine girdiğinde hücre içi olaylarda kullanılmak üzere labil transit havuzuna geçer. Bunlar, hem ve hemoglobin oluşumu, demire bağlı enzimler ve demir-sülfür proteinlerinin sentezi için mitokondriye alınması olaylarını içerir. Hücre içine giren demir gereksinim arttığında kullanılmak üzere major depo formu olan ferritin ve hemosiderin şeklinde birikir. Demir yüklü ferritin arttıkça, lizozomal enzimler içeren otofajik vakuoller tarafından alınır ve böylece sekonder lizozomlar oluşur. Sekonder lizozomlarda ferritin protein içeriği denatüre olur ve hemosiderin şekline dekompoze olur. Hemosiderin sekonder lizozomlarda kısmen inert olarak kalır. Hemosiderin suda erimemesine rağmen, flebotomi veya şelasyon tedavisiyle hemosiderindeki demir kolayca mobilize olmaktadır (6,67).

TALASSEMİLERİN COĞRAFİK DAĞILIMI

Talassemilerin hafif formları dünyada en sık görülen genetik bozukluk iken ağır şekilleri daha az görülmesine rağmen önemli mortalite ve morbidite nedenidir. α -talassemiler Afrika, Malezya, Çin ve Hindistan'da sık olarak görülmektedir. β -talassemi Afrika ve Akdeniz kıyılarında yüksek insidansla bulunmaktadır. Daha az ancak, önemli sayıda kişide Ortadoğu, Hindistan, Pakistan ve Çin'de görülmektedir (41,46). Dünya nüfusunun yaklaşık %3'ünün (150.000.000 insan) β -talassemi taşıyıcısı olduğu bilinmektedir. β -talassemi taşıyıcılığı Türkiye'de %1.5-2, bölgemizde ise %0.9-3.9 olarak bildirilmiştir (5,32).

Şekil 4 talassemilerin coğrafik dağılımını göstermektedir (41).



Şekil 4: Talassemilerin coğrafik dağılımı

PATOFİZYOLOJİ

Talassemili hastanın genetik durumu, genetik defektin ya da defektlerin yapısı globin sentez eksikliğinin derecesini belirler. Bir veya daha fazla polipeptid zincirinin eksikliği hemoglobin sentezinin azalmasına, α ve non- α zincir yapımı arasındaki dengenin bozulmasına yol açar. Hemoglobin sentez azlığı eritrositlerde hipokromiden ve mikrositozdan sorumludur. Tamamlayıcı globin zinciri yokluğunda sentez hızı normal olan zincirler, agregatlar ya da inklüzyonlar oluşturur. Bu inklüzyonlar hücre membranına bağlanıp deformabilitesini artırır, oksidan stres yaratır ve geri dönüşümsüz membran hasarına yol açar. Ayrıca eritrositlerin dalakta yıkımını artırır (41,46).

β -talassemide fazla olan α globin zincirleri suda erimeyen intrasellüler agregatlar oluşturur. Bu inklüzyonlar kemik iliğinde hücre bölünmesine engel olur;

sonuçta çok fazla miktarda eritroid hücre siklusun G₁ fazında kalır. İntrasitoplazmik inklüzyonlar hücre membranında harabiyete ve hücre içi iyonik çevrede değişikliğe yol açar. Bu olaylar eritroid hücrelerin intrameduller olarak ölümüyle sonlanır. Ayrıca α- zincir agregatlar mekanik olarak hücrenin deformabilitesini bozup kemik iliğinden çıkışını önler. Sonuçta inefektif eritropoez gelişir (41,46).

TALASSEMİ MAJOR

KLİNİK BULGULAR

β-talassemili hastalarda inutero γ globin sentezi yeterli olduğu için β globin sentezindeki defekt Hb A'nın Hb F ile yer değiştirmesi gereken dönemde görülmeye başlar. Klinik bulguların yaşamın ilk birkaç ayında görülmemesinin nedeni budur. Tanı genelde 6 ay ile 2 yaş arasında konulursa da nadiren 3-5 yaşına kadar gecikebilir. Tanı sırasında etkilenen hastalar genelde soluktur, büyüme gelişme geriliği ve karında şişkinlik vardır. Doğumdan sonra anemi ve eritrositlerdeki morfolojik bozukluklar en erken altıncı haftada, splenomegali de sekizinci haftada ortaya çıkar. Transfüzyon yapılmadığı takdirde hemoglobin 3-5 g/dl'ye düşer ve karakteristik klinik tablo kısa boy, rölatif olarak büyük bir baş ve karın şişkinliği gelişir. Maksiller hiperplazi, burun kökü çöküklüğü ve üst dişlerin öne fırlaması gibi kraniofasial değişiklikler talassemik yüzü oluşturur. Hastalarda hafif bir sarılıkla birlikte karaciğer, dalak ve kalp büyüklüğü bulunabilir (41,46,53).

İSKELET DEĞİŞİKLİKLERİ

Kemik değişikliklerinin Vitamin D metabolizma bozukluğu ya da demir yüklenmesi ile ilgisi yoktur, eritropoetik aktivite artışı ile yakın bir ilişkisi vardır. Kemik iliği kavitesinin genişlemesi ve kemik korteksinin incelmeye bağlı kemik değişiklikleri gelişir. Hemoglobin düzeylerini normale yakın tutmak için yapılan transfüzyonlar eritropoezisi suprese eder ve kemik anormalliklerini kısmen düzeltebilir, geciktirebilir ya da önleyebilir. Radyolojik değişiklikler yaşamın ilk altı ayında görülebilirse de genelde bir yaşa kadar belirgin değildir. En erken değişiklikler el ve ayaklarda görülür. Kemik iliğinin genişlemesine bağlı olarak metakarp, metatars ve falankslarda dikdörtgen veya konveks bir görüntü oluşur. Meduller mesafedeki trabekülasyon artışı kemiklerde mozaik bir görüntü oluşturur. En fazla dikkati çeken değişiklikler yüz kemikleri ve kafatasında izlenir. Başlangıçta kafa kemikleri granüler görünümlü olup, daha sonra kemik trabeküllerinin vertikal tarzda uzanması ve diploe mesafesinin genişlemesi fırça görünümünü verir. Maksiller hipertrofi dental deformite,

maloklüzyon, frontal ve zigomatik kemiklerin büyümesi, kaba yüz görünümünü oluşturur (41,46).

Uzun kemiklerde medullanın genişlemesi ve korteksin incilmesi patolojik fraktürlere eğilim yaratır. Humerus proksimal uç epifizi ve femur distal uç epifizinin erken kapanması da sık görülen bulgulardandır. Kaburgalarda çentiklenme ile birlikte genişleme görülür. Vertebralar kaba trabeküllü olup kare şeklindedir, kompresyon kırıkları gelişebilir (41).

ENDOKRİN ANORMALLİKLER

Endokrin anormalliklerin demir yüklenmesine bağlı olarak geliştiği düşünülmektedir. Patolojilerin çoğu uzun bir sürede yavaş olarak gelişir ve genelde yaşamın ikinci dekadına kadar bulgu vermez. Transfüzyon yapılmayan hastalarda da bu bozukluklar çok daha yavaş olarak gelişir (23,41).

Büyüme ve Gelişme

Erken takip ve tedavi programına alınmayan hastalarda büyüme geriliği talassemi major öyküsünde değişmez bir bulgudur ve orta derecede kemik yaş geriliği ile bağlantılıdır. Kronik ağır anemiye bağlı olarak görülebilir. Düzenli ve yoğun transfüzyon rejimleri sonucunda büyüme geriliği vakaların yarısından daha azında gelişir ve ikinci 10 yıla kadar görülmez. Yaşamın ilk 10 yılında kemik yaşın normal olduğu, 11-12 yaşında gerilemeye başladığı saptanmıştır (41,63).

Büyüme geriliği bir veya daha fazla hormon bozukluğu ile bağlantılı olabilir. Bazı hastalarda büyüme hormonu üretimi bozuktur. Normal büyüme hormonu üretilen hastaların bir kısmında ise hepatik hemosiderozise bağlı gelişen somatomedin sentez eksikliğinin büyüme geriliğine yol açtığı düşünülmektedir. Tiroid hormon eksiklikleri ve hastaların bir kısmında gösterilen adrenal androjen üretiminin yetersizliği de büyüme geriliğine katkıda bulunur (41,46,64).

Puberte

Seksüel gelişme geriliği, demir toksisitesinin ilk bulgusudur. Puberte gecikmiş olup çoğunlukla tamamlanmamıştır. Uygun kan transfüzyonu ve şelasyon tedavisi alan 250 adolesanda yapılan bir çalışmada 12-18 yaşlar arasındaki kızların %38'inin ve erkeklerin %67'sinin pubertesi tamamlanmamıştır. Kızların %19'unda menarş olmasına rağmen, bunların 1/3'ünde sekonder amenore gelişmiştir. Erkeklerde aktif spermatogenez olmasına rağmen libido kaybı saptanmıştır (11).

Seksüel gelişim geriliği genelde primer end organ cevapsızlığa bağlı değildir, provakasyon testlerine normal yanıt almır (41). Provokatif uyarıya pituitar cevabın

normal yada azalmış bulunması, hipotalamik olgunlaşma ya da pituiter fonksiyon yetersizliğini düşündürmektedir (23). Gecikmiş pubertesi olan hastalarda geleneksel yaklaşım 14-15 yaşından sonra hormon replasmanı yapılmasıdır (41).

Tiroid

Tiroid parankiminde çok fazla demir depolanması olsa bile fonksiyon bozukluğu subklinik hipotiroidi ile sınırlıdır. Yapılan bir çalışmada kontrole göre T₃ anlamlı olarak daha düşük, TSH anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur (41).

Adrenal Bezler

Adrenal bezde primer demir depolanma yeri zona glomerulozadır. Bazal glukokortikoid üretimi ve insulin provakasyon testine ve ACTH'ya cevap büyük hastalarda azalmama rağmen, daha genç hastalarda normaldir (41,46).

Pankreas

Diabetes mellitus talassemide sık görülen komplikasyonlardandır. İnsulin üretiminde azalma ve insulin rezistansına bağlıdır (41,46).

Paratiroid

Paratiroid hastalığı demir yüklenmesinin nadir bir komplikasyonudur. Tetani, hipokalsemi ve hiperfosfatemi vardır. Parathormon eksikliğine bağlı olarak kısmi aktif vitamin D eksikliği de gelişebilir (41).

KALP VE AKCİĞER KOMPLİKASYONLARI

Talassemi majörlü hastaların çoğu kardiyak komplikasyonlardan ölür. Göğüs ağrısı, ateş ve perikardial frotmanla karakterize olan perikardit atakları, miyokardiyal demir depolanmasının ilk bulgusu olabilir, nadiren perikardiektomi gerektirir (41,46).

Kardiyak hemosiderozis diğer dokularda belirgin demir birikimi olmadan gelişmez. Demir primer olarak ventrikül miyokardında daha sonra da iletim dokusunda depolanmaktadır. Atriumlarda ve ventriküllerde dilatasyon, kas dokusunda kalınlaşma, kronik refrakter kalp yetersizliği görülür. Ventriküler fibrilasyon ve taşikardi son derece fatal seyirlidir (41,46).

Solunum fonksiyon testleri küçük hava yollarında obstrüksiyonu ve hiperinflamasyonu ya da restriktif akciğer değişikliklerini gösterir. Akciğer bozukluğunun patofizyolojisi anlaşılmasına rağmen demir depolanmasına ve büyümüş dalak tarafından diafragmanın itilmesine bağlı olduğu düşünülmektedir (28).

KARACİĞER ve SAFRA YOLLARI PATOLOJİSİ

Karaciğer bal peteği görünümünde düzenlenmiş lobül olarak adlandırılan çok sayıda alt birimlerden oluşmuştur. Lobülün merkezinde hepatik ven dalı, periferinde de portal alanlar yer almaktadır. Portal alanda portal ven, hepatik arter ve safra kanalları bulunmaktadır. Herhangi bir komponentte artma veya azalma olması anormal olarak değerlendirilmektedir (36).

Rappoport'a göre lobül bölgelere ayrılmış olup zone 1 periportal bölgeyi, zone 3 perivenüler bölgeyi, zone 2 ise zone 1 ve 3 arasında kalan bölgeyi içermektedir. Zone 1 en iyi kan desteğini alırken, zone 2 ve 3'ün kan desteği daha azdır. Endotelial ve kupfer hücrelerinden oluşan ve hepatik plaklar arasında bulunan sinüzoidal hücre tabakası ışık mikroskopunda hepatositlere çok yakın olarak izlenmektedir. Ancak elektron mikroskopta disse aralığıyla, sinüzoidlerin hepatositlerden ayrıldığı daha iyi görülmektedir. Ekstramedüller hematopoezde eritroid hücre kümelerinin en belirgin olarak disse aralığında yerleştiği izlenmiştir (36).

Talassemik vakalarda karaciğer hastalığı eritropoetik hemokromatozisin iyi bir örneğidir. Aktif, fakat inefektif eritropoeze bağlı intestinal demir absorpsiyon artışı hepatosellüler siderozise yol açar. Anemiyi düzeltmek, büyümeyi hızlandırmak ve normal aktiviteyi sağlamak için uygulanan kan transfüzyonları demir yüklenmesini artırır ve kupfer hücresi siderozisi geliştirir. Kupfer hücre siderozisi relatif olarak zararsızdır ve hepatik hasar oluşturmaz. Ancak makrofajların depolama kapasitesi aşıldığında, demir hepatositlere yeniden dağılır. Sonuçta talassemilerde kombine tipte siderozis gelişir (37).

Karaciğerdeki demir birikimi histolojik olarak Perls'in Prussian Blue reaksiyonu ile gösterilir. Hemosiderin koyu mavi, kuvvetli prussian mavisini pozitif olarak görülür. Ferritini sitoplazmadaki diffüz dağılımından dolayı ayırt etmek güçtür, ancak çok fazla miktarlarda olduğunda açık mavi boyanır (37,67).

Hepatosellüler demir birikiminin derecelendirilmesinde kullanılan birçok yöntem olsa da Schuer'in sınıflaması en çok kullanılan yöntemdir.

Schuer'e göre:

- Grade 0 : Boyanabilen demir yoktur.
- Grade 1 : Her biyopsi spesmeninde 5-10 hepatositte demir birikimi vardır.
- Grade 2 : Hepatositlerin %5-10'unda birikim olup bu hepatositler zone 1'e lokalizedir.
- Grade 3 : Parankimal hücrelerin %40'unda birikim vardır. Ancak zone 3'de demir

birikimi yoktur.

- Grade 4 : Parankimal hücrelerin çoğunda zone 3'de dahil olmak üzere demir birikimi vardır (37).

Kupfer hücrelerindeki ve portal alandaki demir birikimi Muretto ve arkadaşları tarafından sınıflandırılmıştır. Buna göre;

- Grade 0: Hemosiderin granülleri izlenmez
- Grade 1: Portal alanda ve/veya Kupfer hücrelerinde küçük granüller
- Grade 2: Portal alanda ve/veya Kupfer hücrelerinde büyük granüller
- Grade 3: Portal alanda ve/veya Kupfer hücrelerinde yoğun odaklar şeklinde demir yüklenmesiyle birlikte büyük granüller şeklinde demir birikimi derecelendirilmiştir (48).

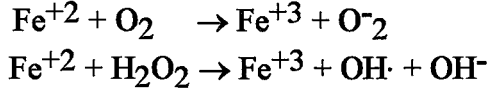
Atomik absorpsiyon spektrofotometrisi ya da kolorimetrik metodlarla karaciğer demirinin nicel olarak ölçümü en doğru yöntemdir. Bu yöntemle normal karaciğer demiri 1800 µg/g kuru karaciğer altındadır. 22.000 µg/g kuru karaciğer üzerindeki değerler fibrozisle bağlantılı bulunmuştur (37).

Histolojik sınıflandırma tam tamına biyokimyasal değerlendirme ile korele olmasa da, demir birikiminin derecesini yaklaşık olarak göstermektedir. Demir birikimi Grade 0 ve 1'de 100-2300 µg/g kuru karaciğer arasında, Grade 3 ve 4'de 7000 µg/g kuru karaciğer üzerinde olarak kabul edilmektedir. Grade 2 değer olarak daha zor yorumlanmakta, ancak hafif demir yüklenmesini göstermektedir (37).

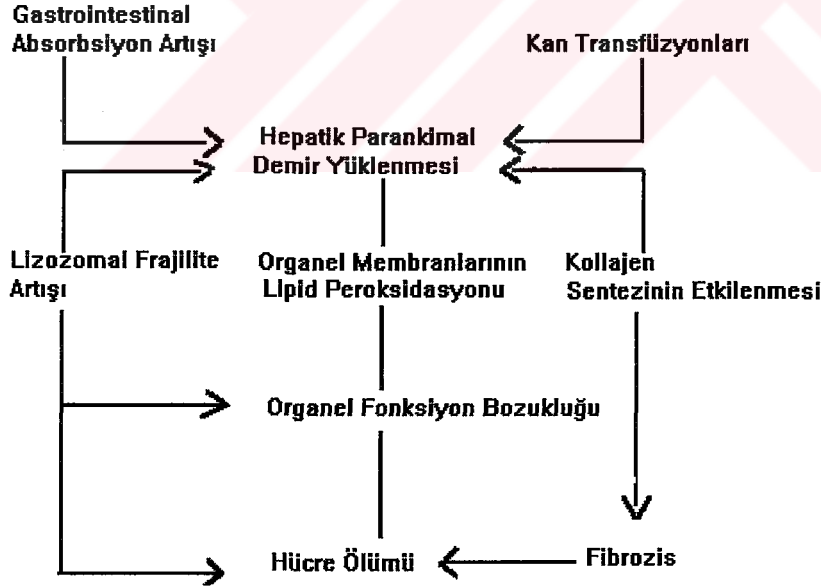
Transfüzyon sayısı ile karaciğer demir birikimi arasında Bhamarapravati ve arkadaşları (10), Risdon ve arkadaşları (24), Cazzola ve arkadaşları (17) ve O'Brien (49) pozitif bir ilişki bulmuşlarsa da, De Virgiliis ve arkadaşları (24) ile Brittenham ve arkadaşları (15) ise bağlantı saptamamışlardır. De Virgiliis bu farklılığın nedeninin uygulanan şelasyon tedavisi ve transfüzyon rejimlerindeki farklılığa bağlı olabileceğini düşünmüştür (24).

Serum ferritini demir yüklenmesinin gösterilmesinde kullanılan noninvazif, kolay ve faydalı bir yöntemdir. Ancak ferritinin bir akut faz reaktanı olduğu ve ateş, akut enfeksiyonlar, kronik inflamatuvar hastalıklar, akut ve kronik karaciğer hasarı, malignansilerde kemoterapi sonrasında ya da kemoterapiye bağlı olmaksızın artabileceği unutulmamalıdır. Askorbik asit eksikliği de demir depolarını azaltmadan serum ferritini azaltmaktadır (3,15).

Organ parankiminde artmış demir birikimi hücre zedelenmesi ve fonksiyonel yetersizliğe, fibrozis ve siroz gelişimine yol açar. Mekanizma tam olarak anlaşılammakla birlikte bu konuda çeşitli teoriler ileri sürülmüştür: Demir hücrede Fe^{+2} ve Fe^{+3} formunda bulunur. O_2 ve H_2O_2 'den serbest radikallerin oluştuğu reaksiyonlarda katalizörlük yapar.



Hidroksil radikali bu reaksiyonda en fazla toksik olan ürünlerden birisidir. İnvivo oldukça kısa ömürlü olmasına rağmen hücre organel membranlarındaki, poliansatüre lipidlerin peroksidasyonuna ve buna bağlı membranların fragilite ve geçirgenliğinin artışına yol açmaktadır. Sonuçta organel fonksiyonu bozulmakta ve hücre ölümü gerçekleşmektedir. Lipid peroksidasyonu yoluyla ya da direkt olarak demirin etkisiyle hepatik kollajen sentezi artmaktadır. Tüm bu olayların sonucunda fibrozis ve siroz gelişmektedir (6,29,33,67). Şekil 5'de bu mekanizma özetlenmiştir.



Şekil 5. Demir yüklenmesinde karaciğer hasarının mekanizması

Talasemik hastalarda elektron mikroskopla yapılan çalışmalar kollajen depolanmasının 3-13 aylık erken dönemde başlayabileceğini göstermiştir. Kollajen

depolanması ilk olarak disse aralığında görülür (31). Normalde disse aralığında kollajen lifler bulunmaz, ancak 10 lif kadar bulunması normal kabul edilebilir (56). Erken fibrojeniz ışık mikroskopunda görülmeyebilir. Üç-beş yaşta portal fibrozis gelişir ve fibrotik septaların oluşumuyla devam eder. Daha sonra porto-portal ve porto-sentral köprüleşmeler ve makronodüler siroz gelişir. Fibrozis ya retiküler çatının kollapsından ya da yeni sentezden kaynaklanır (31). Karaciğer harabiyeti araya giren transfüzyona bağlı viral hepatitlerle artabilir. Viral hepatitlerin demirin karaciğerdeki toksik etkisini arttırdığı düşünülmektedir (24,31,33).

Portal fibrozis, portal inflamasyon, periportal nekroz ve lobül içi nekrozun Knodell skor kategorisine göre değerlendirilmesi aşağıda verilmiştir (34):

Portal fibrozis;

Grade 0: Fibrozis yoktur.

Grade 1: Portal alanın genişlemesi

Grade 3: Portal-portal ya da portal-santral fibröz köprülerin oluşumu

Grade 4: Siroz

Portal İnflamasyon;

Grade 0: İnflamasyon yoktur

Grade 1: Portal alanın 1/3'ünden azını tutan az miktarda dağınık iltihabi hücre infiltrasyonu

Grade 3: Portal alanın 1/3-2/3'ünü tutan, orta derecede artmış iltihabi hücre infiltrasyonu

Grade 4: Portal alanın 2/3'ünden fazlasını tutan belirgin yoğunlaşmış ve kümeleşmiş iltihabi hücre infiltrasyonu

Periportal Nekroz

Grade 0 : Yoktur

Grade 1 : Az piece-meal nekroz

Grade 3 : Çoğu portal alanın çevresinde %50'den azını tutan, orta derecede piece-meal nekroz

Grade 4 : Çoğu portal alanın çevresinde %50'den fazlasını tutan, belirgin piece-meal nekroz

Grade 5 : Köprüleşme nekrozu ile birlikte orta derecede piece-meal nekroz

Grade 6 : Köprüleşme nekrozu ile birlikte belirgin piece-meal nekroz

Grade 10: Multilobüler nekroz

Lobül İçi Nekroz;

Grade 0: Yoktur

Grade 1: Hafif (lobül veya nodülün 1/3'ünden az bir alanında ferroasidofilik body, balonlaşma, ve/veya dağınık hepatosellüler nekroz odakları izlenmesi)

Grade 3: Orta derecede (lobül veya nodülün 1/3 - 2/3'ünün tutulması)

Grade 4: Belirgin (lobül veya nodülün 2/3'ünden fazlasının tutulması)

Viral hepatitlerde sık olarak görülen asidofilik bodylere ağır demir yüklenmesi olan vakalarda hepatit olmaksızın rastlanmaktadır. Ancak hematoksilen eozin boyamada, hepatitlerde olduğu gibi tipik pembe renkte değil, sarı-yeşil görünümde izlenmektedir. Bu nedenle ferroasidofilik body olarak adlandırılması daha doğru olacaktır (31,44,70).

Şelasyon tedavisinin belirgin karaciğer demirini azalttığı ve demirin indüklediği karaciğer hasarını geriletmediği anlaşılmıştır. Ancak tedaviye organ hasarı gelişmeden önce başlanması gerekmektedir. Yeterli şelasyon varlığında, karaciğer hastalığının ilerlemesinin viral hepatite bağlı olduğu düşünülmektedir. Demirin karaciğerdeki toksik etkisi de araya giren hepatitlerle artmaktadır. Sonuçta çok sayıda transfüzyon alan hastalarda demir yüklenmesi nedeniyle oluşan karaciğer hasarının büyüklüğünü ve transfüzyonel hepatitin şiddetini değerlendirmek güçtür (4,8,19,33, 43, 44,45).

Talassemi majörlü hastalardaki karaciğer biyopsisinin elektron mikroskopla incelenmesinde demir yüklenme bulguları, kollajen miktarında artış ve karaciğer hücre nekrozu gibi ışık mikroskopisi ile uyumlu bulgular saptanmıştır. Otofagositik evrede lizozomlar, ferritinle bağlantılı lameller yapıları içeren lizozomlar ve hemosiderin izlenmiştir. Hemosiderin dejeneratif mitokondriyonlarda dilate sinüzoidlerde ve hepatositler arasındaki kollajende görülmüştür (71).

Yaşamın erken döneminde ekstrapmeduller hematopoeze, daha sonra siroza bağlı olarak karaciğer büyür. Erken yaşlardan itibaren hipertransfüzyon rejimi uygulanan hastalarda karaciğer büyüklüğü yalnızca 10 yaşın üzerinde belirgindir. Siroz gelişse de hepatic yetmezliğe ait klinik bulgu vermez (41,46).

Kolelitiazis insidansı diğer hemolitik anemilerde olduğu gibi talassemi majörda da yüksektir. On beş yaşından sonra hastaların 1/3'ünde kolelitiazis gösterilebilir (41). Dewey ve arkadaşları postmortem ve operatif bir çalışmada %23 oranında kolelitiazis bildirmişlerdir. Chandrcharoensin-Wilde ve arkadaşları, talassemik hastaların tümünde yeterince uzun yaşadıkları takdirde kolelitiazis gelişeceğine inanmaktadırlar (18). Ağır transfüzyon alan hastalarda pıhtılaşma faktörlerinin sentez azlığına bağlı koagülopati gelişebilirse de kanama nadiren görülmektedir (41). Romcai ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada faktör I, II, V, VII, IX ve X düzeyleri düşük, faktör VIII düzeyi normal bulunmuştur (60).

Karaciğer fonksiyon testleri kronik karaciğer hastalığına gidiş ve fibroziste duyarlı olmasına rağmen hastaların yarısında transaminazlar normal bulunmuştur (6).

HEMATOLOJİK BULGULAR

Tanı sırasında ilk karşılaşılan bulgu anemidir. Transfüzyon öncesi hemoglobin konsantrasyonu 2.5-6.5 gr/dl arasındadır. Anemi mikrositik (MCV 48-72 fl) ve hipokromik (MCHC 23-32 g/dl) karakterdedir. Periferik yaymada eritrositlerin görünümü çarpıcı ve karakteristiktir. Anizositoz belirgin olup hücrelerin çapları 3-15 µm arasında değişir. Çok sayıda target hücresi görülebilir. Bazofilik noktalanma belirgindir. Retikülosit sayısı, inefektif eritropoeze bağlı olarak beklenenden düşüktür. Genellikle %1'in altındadır (41,46).

Eritrositlerin ozmotik fragilitesi belirgin olarak azalmıştır. Eritrokinetik çalışmalarla talassemik hücreler normal alıcılara verildiğinde, transfüze edilen hücrelerin %25-50'sinin dolaşımdan alındığını ve kalanların normal bir yaşam sürdüğünü göstermiştir. Otolog çalışmalarda da eritrosit ömrünün 7 ile 22 gün arasında değiştiği bulunmuştur. Kısa yaşayanlarda Hb A, daha uzun yaşayanlarda ise Hb F rölatif olarak daha fazladır (41,46).

Kemik iliğinde eritroid hiperplazi belirgindir. Eritroid miyeloid oranı 20/1 veya daha fazladır. Eritroid prekürsörlerindeki hemoglobin miktarı eksiktir. Kan yapımının artmasına bağlı olarak periferik kanda beyaz küre ve trombosit sayısı artar (41).

Kronik hemoliz ve inefektif eritropoeze bağlı olarak indirekt bilirubin yüksekliği ve diğer biyokimyasal hemoliz bulguları olabilir. İdrarda ürobilin ve ürobilinojen miktarı genellikle artmıştır ve dipiroller ve mezobilifuskin varlığında idrar koyu kahverengi olmaktadır. Amino asitlerin idrarla atılımı da artmıştır. Serum demiri, ferritini artmış olup demir bağlama kapasitesi hafif azalmıştır. Transferrin saturasyonu %80'in üzerindedir. Şelasyon yapılmayan transfüzyonel hemosiderozis vakalarında transferrin saturasyon yüksekliği daha belirgindir (41).

Transfüzyon almamış hastanın elektroforezinde Hb F %20-100, Hb A₂ %2-7, Hb A %0-80 arasında değişebilir (41,46).

Kemik iliği Prussian Blue ile boyandığında değerlendirilebilir miktarda demir birikimi vardır. Demir birikimi:

0 : Demir granülleri yoktur.

1+ : Yalnızca immersiyon yağıyla büyük objektifle makrofajlarda görülen küçük granüller

2+ : Küçük objektifle izlenebilen küçük az sayıda granüller

- 3+ : Kemik iliğinin tamamında bulunan çok sayıda küçük granüller
- 4+ : Küçük kümeler şeklinde büyük granüller
- 5+ : Yoğun, geniş granül birikimleri
- 6+ : Çok büyük birikimler

şeklinde derecelendirilir (35).

Kemik iliği elektron mikroskopla incelendiğinde erken polikromotofil eritroblastların %3'ünde ve geç polikromotofil eritroblastların %20'sinde intrasitoplazmik α zincir presipitatları gibi anormallikler saptanmıştır. Eritroblastların bir kısmında geniş elektron dens vakuoller, spiral membran oluşumları ve otofajik vakuoller bulunmuştur (27). Kemik iliğindeki makrofajlarda inefektif eritropoezisi gösteren α zincir presipitatları olan eritroblastların fagosite edildiği izlenmiştir. Makrofajlarda özellikle sekonder lizozomlarda ferritin ve hemosiderin formunda ağır demir birikimine rastlanmıştır. Çok sayıda ferritin molekülü sitoplazmada izlense de mitokondriyon, endoplazmik retikulum ve golgi cisimciğinde daha yoğun olarak bulunmuştur (73). Eritroblastlarda membrana bağlı partiküller içinde sitoplazmada ya da mitokondriyonda ferritin ve hemosiderin şeklinde demir birikimi izlenmiştir. Mitokondriyondaki demir birikimine bağlı olarak gelişen metabolizma ve fonksiyonlardaki değişikliklerin inefektif eritropoeze katkıda bulunduğu düşünülmektedir (54).

TEDAVİ

Talassemi majorltü ve transfüzyona bağımlı hastalarda tedavi 4 grupta incelenir.

1. Tranfüzyon tedavisi
2. Splenektomi
3. Demir şelasyonu
4. Kemik iliği transplantasyonu.

Talassemi sendromlarında demir toksisitesi beklenen bir bulgudur. Hastalara gereksiz yere demir tedavisi uygulanmasından kaçınılmalıdır. Eritropoezin megaloblastik duraklamasını önlemek için folat desteği yapılmalıdır. Enfeksiyöz hastalıklarda acil tedavi yaklaşımı çok önemlidir. Eritroid hiperplazi sonucu oluşan yüz deformiteleri cerrahi ve ortodontik düzeltme gerektirebilir (41,46,53).

1. Transfüzyon Tedavisi:

Şiddetli β -talassemilerin takibinde temel dayanak noktası kan transfüzyonudur. Kan transfüzyonu kanın hemoglobin içeriğini ve oksijen taşıma kapasitesini artırmakta ve doku hipoksisini azaltmaktadır. Eritropoietin düzeyinin

azalması anemi ile bağlantılı eritroid hiperplazinin önlenmesini sağlamaktadır. Sonuçta doku oksijenasyonunun düzeltilmesi ve hiperkatabolik durumun geriye döndürülmesi normal büyüme ve gelişmeyi kolaylaştıracaktır. Eritroid supresyon ve doku oksijenasyonunun düzeltilmesinin ilave bir faydası da gastrointestinal demir absorpsiyonunun azaltılmasıdır (41,46,53,63).

Geçmişte kan transfüzyonu; anemi semptomları ortaya çıktığında yapılmaktaydı ve bu hastalarda eritroid aktivite yeterli olarak baskılanmadığı için şiddetli iskelet ve yüz deformiteleri, osteoporoz ve splenomegali gelişimi kaçınılmazdı. Günümüzde ise hemoglobün konsantrasyonunu 10 gr/dl üzerinde tutan hipertransfüzyon rejimi ile eritroid aktivite etkili bir şekilde baskılanmakta ve talassemi majorda görülen iskelet patolojisini oluşturan kemik iliği hiperplazisi önlenmektedir (41,46,53,63).

Hipertransfüzyon yaşamın ilk yıllarında başlatılırsa normal büyüme ve gelişme sağlanır, hepatosplenomegali önlenir, kemik anormallikleri gelişmez, gastrointestinal demir absorpsiyonu ve kalp yükü azalır (41,46).

Kan transfüzyonunun uzun dönem komplikasyonu parankimal organlarda hasara yol açan demir yüklenmesidir. Kronik transfüze hastalarda lökosit antijenik determinantlarına karşı febril reaksiyon ile sık karşılaşılır. Plazma komponentlerine karşı allerjik reaksiyonlar görülebilir. Bu komplikasyonların önlenmesi için lökosit filtresi kullanılmakta ve eritrositler yıkanmaktadır. Minör kan grubu antijenleriyle alloimmunizasyon hastaların %20-30'unda görülebilir, hemolizin uzamasına yol açar. Üç yaşın altında transfüzyona başlanan hastalarda daha az oluşur (46).

Viral enfeksiyonların transfüzyonla geçişi kronik tranfüze hastalarda ciddi bir problemdir. Yapılan bir çalışmada transfüzyona bağımlı talassemilerde hepatit B rastlantısı %25, hepatit C %6 olarak bildirilmiştir (47). HIV enfeksiyonu ve semptomatik AIDS gelişimi nadiren görülür (46).

Tüm bu komplikasyonların azaltılması için çoğul donör kullanılmaması önerilmektedir (41,46,53,63).

Splenektomi

Hipertransfüzyon programı erken dönemden itibaren uygulanan hastalarda klinik olarak belirgin splenomegali olmamasına rağmen talassemi majorlu hastaların çoğunda splenomegali görülür. İlerleyen splenomegali kan volümünü, transfüzyon gereksinimini artırır ve demir yüklenmesinin artışına, eritrosit ömrünün kısaltmasına neden olur. Lökositlerin ve trombositlerin dalakta tutulması sonucu lökopeni ve trombositopeni oluşabilir (41,46,53).

En önemli splenektomi endikasyonu transfüzyon gereksiniminin artışıdır. Eğer transfüzyon gereksinimi önceki gereksinimi %50 oranında aşarsa, yıllık kan transfüzyon gereksinimini 200-250 ml/kg'ın üstünde ise ve mekanik basıncı fazlaysa splenektomi endikasyonu vardır (41,46).

Dalağın çıkarılması kapsüllü organizmalara karşı immün yanıtta yetersizliğe yol açtığı için splenektomi 4-5 yaşına kadar ertelenir. Splenektomiden önce pnömokok ve hemofilus influenza için immünizasyon gereklidir (41,46).

Demir Şelasyonu

İlerleyici demir yüklenmesi şelasyon tedavisi uygulanmadığı durumlarda düzenli transfüzyon tedavisinin hayat kısıtlayan komplikasyonudur. Her ünite kan transfüzyonu ile 200-250 mg demir vücuda alınmaktadır. Hastaların yaklaşık olarak yılda 25-30 ünite kan almalarından dolayı her yıl demir depolarına 4.5-5 gr demir ilave olur (53). Demir birikimi 0.4-0.5 gr/kg'a yükselmeden zararlı etkileri ortaya çıkmayabilir (42).

En etkili demir bağlayan ajan *Streptomyces pilosus*'tan elde edilen ve bir hidroksilamin olan Deferoxamine'dir. Deferoxamine (desferal) hücre içine girer, demir ile şelat yapar, serumda ve safrada demir şelat ürünü feroxamin olarak görülür (19,41,45). Dolaşan havuzdaki ferritinin çözülebilir formda tutulması için Vitamin C 30-100 mg/gün verilmelidir (46).

İnsanlarda artan demiri vücut dışına atmak için intrinsik bir mekanizma yoktur. Şelasyon yapılan demirin total vücut demir yüklenmesi ile orantılı olan labil demir havuzundan kaynaklandığı düşünülür. Transferrine bağlı olmayan plazma demiriyle ve eritrositlerden sağlanan retiküloendotelial demir ile de şelasyon yapılabilmektedir (41,46).

Deferoxamine oral absorbe edilemediği için parenteral kullanılır. İlaç plazmadan hızla temizlendiği için intramusküler enjeksiyonların etkinliği kısıtlıdır. Mekanik pompalar kullanılarak yavaş subkutan infüzyon yoluyla ilacın doku ve plazmadaki konsantrasyonlarının süresi uzatılmıştır. İntramusküler yolla karşılaştırılınca demir atılımı belirgin artmıştır (14,41,46,53,57,58).

Kullanılan standart rejim 30-40 mg/kg/gün 8-12 saatte geceleri verilmesidir. Haftada 5 gün tedavi önerilir. Bu tedavinin ana kısıtlayıcı nedeni uyumun az olmasıdır. Eldeki veriler 3-4 yaşında başlatıldığı durumlarda demir yüklenmesinden önemli olarak koruduğunu göstermektedir (14, 26,41,46, 53, 57, 58).

Endokrin bezlerdeki geri dönüşümsüz doku hasarı yaşamın ilk birkaç yılda çok düşük miktarlarda demirle geliştiği kanıtlanmıştır. Fakat Deferoxamine toksisitesi demir yüklenmesinin az olduğu durumlarda çok fazladır. Gerçekten de büyüme

geriliği ve ototoksisite üç yaşın altında ve yüksek dozda verilenlerde görüldüğü için üç yaş altında verilmesi önerilmemektedir (41,46,53).

Aşırı demir yüklenmesi olan hastalarda demirin atılım hızını arttırmak için intravenöz infüzyonla verilmesi önerilmektedir. Bu uygulama ile kardiyak disfonksiyonlar geriye döndürülebilir (46).

Subkutan deferoxamine rejimi uygulanmadan önce beklenen yaşam süresi 16-24 yıldır. Bugün ise yaşam süresi 40'lı yaşlara kadar uzamıştır. İyi şelasyon yapılan hastalarda kardiyak hastalıksız yaşam süresinin arttığı gösterilmiştir (14,41,46,53,74).

Erken dönemde tedaviye başlandığı takdirde hepatik demir birikimi azaltılır. Hepatik fibrozisin ilerlemesi önlenir ve büyüme hızlandırılabilir. İlk 10 yılın sonlarında belirgin demir birikiminden sonra tedavi başlatılanlarda endokrin bozukluklar ve büyüme geriliği devam eder (46,53).

İnfüzyon yerinde lokal eritem, infüzyonun yapıldığı bölgelerde subkutan nodüller oluşabilir de en çok korkulan yan tesir sensorinöral toksisitedir. Buna bağlı işitme kaybı ve oküler toksisite bildirilmiştir. Gece körlüğü, görme alanı kaybı ile birlikte ilerleyici görme yetersizliği karakteristik olup ilaç kesilmesini takiben düzelir. Bu komplikasyonlar dozla ilişkilidir ve vücut demir yükü ile ters orantı gösterir. Ağır yüklü hastalar tolerans gösterirken, az demir yükü olan hastalar yan tesirlere çok duyarlıdır (41,46,51,53). Deferoxamine şelasyon tedavisi olan hastaların 6 ayda bir işitme ve görme fonksiyonları kontrol edilmelidir. Solunum yetersizliği ve akut böbrek yetersizliği de bildirilmiştir (46).

Deferoxamine tedavisinin devamlı, uzun süren cilt altı infüzyon gerektirmesi ve yüksek maliyeti nedeniyle oral etkili demir şelatörlerine çok fazla ihtiyaç vardır. Oral şelatör olarak kullanılacak birkaç yüz madde olmasına rağmen bunlardan sadece birkaçı klinik kullanıma uygun bulunmuş olup en ümit verici olanı Deferiprone (1,2-dimetil-3-hidroksipiridin-4-1) ya da L₁ olarak bilinenidir. L₁'in serum ferritini üzerindeki etkisi değişken olmakla birlikte demir atılımında artışa yol açmaktadır. Ancak uzun süreli kullanımda nötropeni, artropati ve bulantı gibi komplikasyonlar gelişmektedir. Bu nedenle oral etkili demir şelatörlerinin bulunması için daha ileri çalışmalara gerek vardır (2).

Kemik İliği Transplantasyonu

HLA uygun donörü olan hastalara yapılan kemik iliği transplantasyonu küratif tedavi sağlamaktadır. Karaciğerde fibrozisin varlığı, hepatomegali ve şelasyon tedavisinin yetersiz uygulanmasının yaşam süresi üzerine olumsuz etkisi belirgindir. Portal fibrozis veya hepatomegalisi olmayan hastalarda üç yıllık hastalıksız yaşam süresi %90'm üzerinde bulunmuştur (4,40,46,48,53,72).

OLGULAR VE YÖNTEMLER

Bu çalışmada Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Hematoloji Kliniğinde takip ve tedavi edilen 19 homozigot β -talassemili hasta ve hemoglobin örneği Hb AA olan 15 sağlıklı çocuk ele alınmıştır.

Hemoglobin elektroforezleri pH 8.6'da sellüloz asetat kağıdı üzerinde yapıldı (13). Hb F Betke yöntemi ile (9), Hb A₂ mikrokolon kromatografisi (13) yöntemiyle ölçüldü. Tam kan sayımı elektronik sayaçla (Coulter Counter) yapıldı. Serum demiri, ferritin, SGOT, SGPT, total bilirubin, direkt bilirubin, alkalen fosfataz total protein, albumin çalışıldı. Kemik iliği değerlendirildi. Batın ultrasonografisi de yapıldı. Hepatit markerları çalışıldı.

Karaciğer biyopsilerinin 5 tanesi splenektomi, 1 tanesi kolesistektomi sırasında Wedge biyopsi, diğerleri perkutan iğne biyopsisi ile alındı. Tüm Karaciğer biyopsileri %10 formaldehid solüsyonunda tespit edilip, parafinle emdirildi. Bu örnekleri değerlendirmek için Hemotoksilen Eozin (68), Prussian Blue (69), Masson Trichrom (12), Gordon ve Sweet'in retikülin boyası (12), PAS (21) ve AntiHbs için Avidin Biotin Kompleks İmmünoperoksidaz yöntemi (52) kullanıldı.

Parankimal hemosiderosis Schuer'e göre (37); mesankimal hemosiderozis Muretto ve arkadaşlarına (48) göre sınıflandırıldı.

Knodell skor kategorisine göre portal fibrozis, portal inflamasyon, periportal nekroz ve lobül içi nekroz sınıflandırıldı (34).

Kemik iliği aspirasyonu materyali ve karaciğer biyopsi bulguları elektronmikroskopik olarak incelendi.

Bulunan verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde "Mann-Whitney U Testi" ve "Pearson'un bağıntı (korelasyon) Analizi" kullanıldı (30).

BULGULAR

Talasemi majorlü 19 hasta grubunun ve sağlıklı 15 kontrol grubunun yaş ortalamaları ve cinsiyet dağılımları Tablo 1'de gösterilmiştir.

TABLO 1. Hasta ve kontrol grubunun yaş ortalaması ve cinsiyet dağılımı

	<i>Hasta Grubu</i> <i>n=19</i>	<i>Kontrol Grubu</i> <i>n=15</i>
<i>Kız</i>	8	6
<i>(%)</i>	%42.11	%40
<i>Erkek</i>	11	9
<i>%</i>	%57.89	%60
<i>Yaş Ort. ± SD</i>	8.23 ± 3.76	8.72 ± 3.01
<i>Alt - Üst</i>	3-15	3 - 15

Hasta grubu ile kontrol grubu arasında yaş ortalamaları açısından istatistiki olarak anlamlı bir fark bulunamadı ($p>0.05$).

Hasta yaşları boy ve ağırlık persentil yüzdeleri de Tablo 2'de verilmiştir. Hastaların boy gelişimleri değerlendirildiğinde iki hasta normalin altında bulundu. Ağırlık gelişimi değerlendirildiğinde ise, üç hasta normalin altında saptandı. Boy ve ağırlık gelişim geriliğine ise iki hastada rastlandı. Karaciğer ve dalak büyüklükleri midklaviküler hattın ölçülerek değerlendirildi. Hastaların transfüzyona başlama yaşları minimum 4 ay, maksimum 11 yaş, ortalama 2 yaş 6 ay bulundu. Transfüzyon sayısı minimum total 10, maksimum total 250 ve ortalama 75 olup hastaların tamamı

hipertransfüzyon rejimi almaktaydı.. Hastaların 3'ü dışında tamamı Deferoxamine şelasyon tedavisi uyguluyordu. Deferoxamine başlama yaşı minimum 3 yaş, maksimum 14 yaş, ortalama 6yaş 6 aydı. Hastaların klinik verileri Tablo 2'de verilmiştir.

TABLO 2. Talassemi majorlü hastaların klinik bulguları

<i>Hasta No</i>	<i>Yaş (Yıl)</i>	<i>Boy (%)</i>	<i>Ağırlık (%)</i>	<i>HM (cm)</i>	<i>SM (cm)</i>	<i>Transf. Başlama Y.</i>	<i>Transf. Sayısı</i>	<i>Dfx'e Başlama Y.</i>	<i>Dfx Kullanımı</i>
1	4 2/12	75-90	25-50	3	5	1	30	3	Düzenli
2	8 9/12	50-75	10-25	3	NP	2	80	4 6/12	Düzenli
3	6	3-10	3-10	3	1	4 ay	26	4 6/12	Düzenli
4	7 3/12	25-50	10-25	4	10	7	10	7	Düzenli
5	5 3/12	3-10	3-10	7	14	15 ay	50	4	Düzenli
6	6	75-90	50-75	3	NP	2	92	3	Düzenli
7	3 2/12	97	50-75	3	NP	2	17	Kullanmıyor	Kullanmıyor
8	15 5/12	10-25	3↓	3	5	11	60	14	Düzenli
9	6 6/12	3-10	3-10	NP	NP	2 6/12	60	Kullanmıyor	Kullanmıyor
10	5 7/12	50-75	50-75	3	13	4 ay	83	4	Düzenli
11	5 8/12	75-90	50-75	3	5	8 ay	78	5	Düzenli
12	10	10-25	3-10	2	2	3	100	6	Düzenli
13	9 6/12	25-50	25-50	7	1	1 6/12	139	7	Düzenli
14	14 4/12	3↓	3↓	3	16	2 6/12	240	13	Düzensiz
15	9 6/12	25-50	10-25	10	15	4	130	8	Düzensiz
16	10 2/12	10-25	3-10	5	10	3	130	7	Düzenli
17	15	3↓	3↓	12	*	1	250	8	Düzenli
18	12	25-50	25-50	7	12	1	180	5	Düzenli
19	3	50-75	50-75	6	8	1 6/12	23	Kullanmıyor	Kullanmıyor

HM : Hepatomegali

SM : Splenomegali

* : Splenektomili Hasta

Dfx : Deferoxamin

Transf. : Transfüzyon

Hasta ve kontrol grubuna ait hematolojik parametreler sırasıyla Tablo 3 ve Tablo 4'de, hasta ve kontrol grubuna ait hematolojik parametrelerin ortalama ve standart sapma değerleri Tablo 4-A'da verilmiştir.

TABLO 3. Talassemi majorlü hastaların hematolojik bulguları

<i>Hasta No</i>	<i>Hb (g/dl)</i>	<i>Hct (%)</i>	<i>MCV (fl)</i>	<i>MCH (pg)</i>	<i>MCHC (g/dl)</i>	<i>Ret (%)</i>	<i>Demir (µg/dl)</i>	<i>Ferritin (ng/ml)</i>	<i>TS (%)</i>
1	8.6	26	75	25	33	0.8	90	948	33
2	8.1	23	79	27	24	0.1	104	2180	35
3	8.5	26	82	27	33	0.1	118	1022	53
4	7.4	23	68	21	31	0.8	187	1240	52
5	8.9	27	78	27	32	0.8	187	1340	55
6	6.4	20	80	28	35	0.1	98	1820	31
7	6.3	19	66	21	32	0.2	145	815	42
8	8.8	26	55	17	31	1.0	217	1110	62
9	8.8	26	82	27	33	0.1	207	1840	47
10	3.7	11	75	28	35	0.1	112	1923	31
11	6.4	20	82	28	31	0.1	164	1636	68
12	6.8	20	78	28	36	0.8	120	1780	60
13	8.3	25	81	28	34	0.1	174	2016	63
14	5.8	17	73	23	30	1.0	141	2100	32
15	8.1	25	78	24	31	0.1	154	1926	52
16	5.1	15	81	27	32	1.0	123	1888	49
17	9.0	26	79	26	34	1.0	126	2120	48
18	7.8	23	79	27	34	0.8	147	2273	47
19	5.6	18	76	23	31	0.1	129	1611	36

TS : Transferrin Satürasyonu

TABLO 4. Kontrol grubunun yaş ve hematolojik bulguları

<i>Hasta No</i>	<i>Hb (g/dl)</i>	<i>Hct (%)</i>	<i>MCV (fl)</i>	<i>MCH (pg)</i>	<i>MCHC (g/dl)</i>	<i>Ret (%)</i>	<i>Demir (µg/dl)</i>	<i>Ferritin (ng/ml)</i>	<i>TS (%)</i>	<i>Yaş (Yıl)</i>
1	14.3	42	87	29	33	0.1	108	56	26	12 3/12
2	13.5	41	85	27	32	0.2	93	62	32	7
3	13.9	41	80	27	33	0.1	63	40	26	9 6/12
4	11.0	36	81	24	30	0.1	57	78	18	8
5	12.3	36	80	28	35	0.2	82	36	20	6 4/12
6	12.1	36	80	28	28	0.1	52	36	14	6 2/12
7	13.1	39	80	28	33	0.1	115	15	39	8
8	13.5	39	80	25	31	0.2	66	23	13	7
9	12.7	38	85	28	32	0.1	93	16	19	12
10	13.2	41	82	26	32	0.2	84	18	21	8
11	12.0	37	84	27	32	0.2	82	46	23	9 2/12
12	12.1	38	82	26	31	0.1	92	60	26	14 6/12
13	12.1	35	84	28	34	0.1	71	25	17	8 3/12
14	12.0	37	76	24	32	0.1	66	19	18	3
15	13.1	39	80	28	32	0.1	60	42	18	4 2/12

TS : Transferrin Satürasyonu

Hasta grubundaki çocuklarda hemoglobin değerleri en düşük 3.7 g/dl, en yüksek 9.0 g/dl, ortalama 7.28 ± 1.51 g/dl bulundu. Kontrol grubundaki çocuklarda hemoglobin değerleri en düşük 11.0 g/dl, en yüksek 14.3 g/dl, ortalama 12.66 ± 0.85 g/dl saptandı. Hasta grubu ve kontrol grubu hemoglobin değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.0001$).

Hct değeri hasta grubundaki çocuklarda en düşük %11, en yüksek %27, ortalama 22.16 ± 4.54 bulundu. Kontrol grubundaki çocuklarda Hct değeri en düşük %35, en yüksek %42, ortalama 38.68 ± 2.17 saptandı. İki grup arasındaki Hct değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.0001$).

TABLO 4-A. Hasta ve kontrol grubuna ait hematolojik bulguların ortalama değerleri

Hematolojik Bulgular	Hasta Ort ± SD Alt-Üst	Kontrol Ort ± SD Alt-Üst
Hb (gr/dl)	7.28±1.51 3.7-9.0	12.66±0.85 11.0-14.3
Hct (%)	22.16±4.54 11-27	38.68±2.17 35-42
MCV (fl)	76.50±6.85 55-82	82.22±2.81 76-87
MCH (pg)	25.81±2.98 17-28	27.37±1.41 24-29
MCHC (g/dl)	32.65±2.47 24-36	32.12±2.91 28-35
Ret (%)	0.50±0.39 0.1-1.0	0.13±0.04 0.1-0.2
Serum demiri (µg/dl)	144.36±36.75 90-217	78.93±18.84 52-115
Ferritin (ng/ml)	1663.57±448.84 815-2273	38.39±19.31 15-78
Transferrin Satürasyonu (%)	47.14±11.70 31-68	22.00±6.91 13-39

Hasta grubundaki çocuklarda MCV değerleri en düşük 55 fl, en yüksek 82 fl, ortalama 76.50±6.85 fl idi. Kontrol grubundaki çocuklarda MCV değerleri en düşük 76 fl, en yüksek 87 fl, ortalama 82.22±2.81 fl bulundu. Hasta ve kontrol grubunun MCV değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.005$).

Hasta grubundaki çocuklarda MCH değerleri en düşük 17 pg, en yüksek 28 pg, ortalama 25.81±2.98 pg bulundu. Kontrol grubundaki çocuklarda MCH değerleri en düşük 24 pg, en yüksek 29 pg, ortalama 27.37±1.41 pg saptandı. Hasta ve kontrol grubu MCH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunamadı ($p > 0.05$).

MCHC değerleri hasta grubundaki çocuklarda en düşük 24 g/dl, en yüksek 36 g/dl, ortalama 32.65±2.47 g/dl saptandı. Kontrol grubundaki çocuklarda MCHC

değerleri en düşük 28 g/dl, en yüksek 35g/dl, ortalama 32.12 ± 2.91 g/dl bulundu. Hasta ve kontrol grupları MCHC değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ($p > 0.05$).

Hasta grubundaki çocuklarda retikülosit değerleri en düşük %0.1, en yüksek %1.0, ortalama 0.50 ± 0.39 bulundu. Kontrol grubundaki çocuklarda retikülosit değerleri en düşük %0.1, en yüksek %0.2, ortalama 0.13 ± 0.04 saptandı. İki grup retikülosit değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.025$).

Hasta grubundaki çocuklarda serum demir değerleri en düşük 90 $\mu\text{g/dl}$, en yüksek 217 $\mu\text{g/dl}$, ortalama 144.36 ± 36.75 $\mu\text{g/dl}$ bulundu. Kontrol grubundaki çocuklarda serum demir değerleri en düşük 52 $\mu\text{g/dl}$, en yüksek 115 $\mu\text{g/dl}$, ortalama 78.93 ± 18.84 $\mu\text{g/dl}$ saptandı. Hasta ve kontrol grubu demir değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.0001$).

Hasta grubundaki serum ferritin değerleri en düşük 815 ng/ml, en yüksek 2273 ng/ml, ortalama 1663.57 ± 448.84 ng/ml olarak bulundu. Kontrol grubundaki çocukların serum ferritin değerleri en düşük 15 ng/ml, en yüksek 78 ng/ml, ortalama 38.39 ± 19.31 ng/ml saptandı. İki grup serum ferritin değerleri arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı bulundu ($p < 0.0001$).

Transferrin satürasyonu değerleri hasta grubundaki çocuklarda en düşük %31, en yüksek %68, ortalama 47.14 ± 11.70 bulundu. Kontrol grubundaki çocuklarda transferrin satürasyonu değerleri en düşük %13, en yüksek %39, ortalama 22.00 ± 6.91 olarak saptandı. İki grup transferrin satürasyonu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.0001$).

Hasta ve kontrol grubuna ait karaciğer fonksiyon testleri sırasıyla Tablo 5 ve Tablo 6'da, bu değerlerin ortalama ve standart sapmaları Tablo 6-A'da verilmiştir.

Hasta grubundaki çocuklarda SGOT değerleri en düşük 28 ü/l, en yüksek 113 ü/l, ortalama 66.89 ± 22.48 ü/l bulundu. Kontrol grubundaki çocuklarda SGOT değerleri en düşük 25 ü/l, en yüksek 59 ü/l, ortalama 34.66 ± 8.47 ü/l olarak saptandı. İki grup SGOT değerleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark vardı ($p < 0.0001$).

Hasta grubundaki çocuklarda SGPT değerleri en düşük 11 ü/l, en yüksek 125 ü/l, ortalama 61.26 ± 34.87 ü/l olarak bulundu. Kontrol grubundaki çocuklarda SGPT değerleri en düşük 11 ü/l, en yüksek 28 ü/l, ortalama 18.00 ± 4.91 ü/l saptandı. Hasta ve kontrol grubu SGPT değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.001$).

TABLO 5. Talassemi majorltü hastaların karaciğer fonksiyon testleri

<i>Hasta No</i>	<i>SGOT (ü/l)</i>	<i>SGPT (ü/l)</i>	<i>Bilirubin</i>		<i>ALP (ü/l)</i>	<i>Fibrinogen (mg/dl)</i>	<i>Total Protein (g/dl)</i>	<i>Albumin (g/dl)</i>
			<i>Total (mg/dl)</i>	<i>Direkt (mg/dl)</i>				
1	48	28	1.5	0.59	299	240	7.2	3.6
2	53	47	1.1	0.56	316	260	7.1	4.2
3	85	64	0.7	0.29	667	180	6.2	3.8
4	50	11	2.8	0.40	225	240	8.4	4.4
5	55	39	0.3	0.20	228	320	5.9	3.1
6	28	18	0.6	0.30	120	280	6.0	3.0
7	45	43	1.5	0.40	538	270	8.5	4.6
8	54	69	5.1	1.03	538	340	7.2	4.8
9	64	53	2.1	0.92	180	190	7.1	4.4
10	82	65	3.1	0.83	166	220	7.6	3.6
11	113	125	3.1	0.60	339	160	7.3	4.7
12	53	39	1.5	0.59	367	140	8.3	4.7
13	76	121	1.4	0.67	483	300	7.6	3.2
14	84	123	1.2	0.68	275	290	8.8	3.7
15	89	98	1.9	0.37	255	190	7.3	2.6
16	51	59	1.2	0.32	162	240	6.9	3.6
17	105	66	1.2	0.50	417	220	8.4	4.3
18	84	76	1.9	0.57	350	290	7.7	3.9
19	52	23	0.7	0.30	250	284	7.7	3.8

ALP : Alkaleen fosfataz

Total bilirubin değerleri hasta grubundaki çocuklarda en düşük 0.3 mg/dl, en yüksek 5.1 mg/dl, ortalama 1.73 ± 1.14 mg/dl saptandı. Kontrol grubu çocuklarında total bilirubin değeri en düşük 0.3 mg/dl, en yüksek 0.8 mg/dl, ortalama 0.56 ± 0.14 mg/dl bulundu. İki grup total bilirubin değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ($p < 0.0001$).

TABLO 6. Kontrol grubunun karaciğer fonksiyon testleri

<i>Kontrol No</i>	<i>SGOT (ü/l)</i>	<i>SGPT (ü/l)</i>	<i>Bilirubin</i>		<i>ALP (ü/l)</i>	<i>Total Protein (g/dl)</i>	<i>Albumin (g/dl)</i>
			<i>Total (mg/dl)</i>	<i>Direkt (mg/dl)</i>			
1	29	14	0.5	0.15	381	7.2	4.6
2	27	17	0.8	0.20	382	8.7	4.6
3	41	25	0.4	0.20	387	7.7	4.9
4	33	18	0.3	0.20	304	7.3	4.0
5	40	28	0.6	0.25	431	7.6	5.0
6	35	16	0.6	0.20	435	7.8	4.6
7	59	20	0.5	0.20	348	7.9	4.5
8	38	19	0.5	0.20	476	7.9	4.8
9	31	11	0.5	0.29	373	7.1	4.6
10	31	18	0.7	0.32	552	7.8	4.7
11	27	14	0.7	0.20	378	6.8	4.4
12	29	15	0.6	0.15	380	7.1	4.8
13	25	15	0.6	0.20	297	5.5	3.9
14	35	14	0.5	0.20	379	8.0	4.9
15	40	26	0.3	0.10	547	7.4	4.7

ALP : Alkalen fosfataz

Direkt bilirubin değerleri hasta grubundaki çocuklarda en düşük 0.20 mg/dl, en yüksek 1.03 mg/dl, ortalama 0.52 ± 0.22 mg/dl bulundu. Kontrol grubundaki çocuklarda direkt bilirubin en düşük 0.10 mg/dl, en yüksek 0.32 mg/dl, ortalama 0.19 ± 0.04 mg/dl olarak saptandı. Hasta ve kontrol grupları direkt bilirubin değerleri arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark bulundu ($p < 0.0001$).

Hasta grubundaki çocuklarda alkalen fosfataz değerleri en düşük 120 ü/l, en yüksek 667 ü/l, ortalama 325.00 ± 147.53 ü/l bulundu. Kontrol grubundaki çocuklarda alkalen fosfataz değerleri en düşük 297 ü/l, en yüksek 552 ü/l, ortalama 404.50 ± 77.29 ü/l idi. İki grup alkalen fosfataz değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p < 0.025$).

TABLO 6-A. Hasta ve kontrol grubunun karaciğer fonksiyon testlerinin ortalama değerleri

Karaciğer Fonksiyonları	Hasta Ort±SD Alt-Üst	Kontrol Ort±SD Alt-Üst
SGOT (Ü/L)	66.89±22.48 28-113	34.66±8.47 25-59
SGPT (Ü/L)	61.26±34.87 11-125	18.00±4.91 11-28
Total Biluribin (mg/dl)	1.73±1.14 0.3-5.1	0.56±0.14 0.3-0.8
Direkt Biluribin(mg/dl)	0.52±0.22 0.20-1.03	0.19±0.04 0.10-0.32
Alkale fosfataz (Ü/L)	325.00±147.53 120-667	404.50±72.29 297-552
Total Protein (g/dl)	7.43±0.83 5.9-8.8	7.45±0.71 5.5-8.7
Albumin (g/dl)	3.89±0.63 2.6-4.8	4.60±0.30 3.9-5.0

Hasta grubundaki çocuklarda total protein değerleri en düşük 5.9 g/dl, en yüksek 8.8 g/dl, ortalama 7.43±0.83 g/dl bulundu. Kontrol grubundaki çocuklarda total protein değerleri en düşük 5.5 g/dl, en yüksek 8.7 g/dl, ortalama 7.45±0.71 g/dl idi. İki grup total protein değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamadı (p>0.05).

Albumin değerleri hasta grubundaki çocuklarda en düşük 2.6 g/dl, en yüksek 4.8 g/dl, ortalama 3.89±0.63 g/dl bulundu. Kontrol grubundaki çocuklarda albumin değerleri en düşük 3.9 g/dl, en yüksek 5.0 g/dl, ortalama 4.60±0.30 g/dl idi. Hasta ve kontrol grubu albumin değerleri arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlıydı (p < 0.001).

Talassemi majörülü hasta grubunda HbsAg %10, antiHbs %52, Anti HCV %15 olarak bulundu. Hepatit marker sonuçları Tablo 7'de verilmiştir.

TABLO 7. Talassemi majorlü hastaların hepatit markerları

<i>Hasta No</i>	<i>HbsAg</i>	<i>Anti Hbs</i>	<i>Anti HCV</i>
1	-	-	-
2	-	+	-
3	-	-	-
4	-	-	-
5	-	-	-
6	-	-	-
7	-	+	-
8	-	+	-
9	-	-	+
10	-	+	-
11	-	-	-
12	-	+	-
13	-	+	-
14	-	+	-
15	-	+	+
16	-	+	-
17	-	+	+
18	+	-	-
19	+	-	-

Talassemi majorlü hasta grubundaki çocuklarda yapılan batın ultrasonografisinde karaciğer ekojenitesi 11 hastada normal, 3 hastada hafif artmış, 5 hastada da artmış olarak bulundu. Bir hastada kolelitiazis, iki hastada da safra çamuru saptandı. Ultrasonografi bulguları Tablo 8'de verilmiştir.

TABLO 8. Talassemi majorlü hastaların ultrasonografi bulguları

<i>Hasta No</i>	<i>Karaciğer Ekojenitesi</i>	<i>Safra Kesesi</i>
1	Normal	Normal
2	Normal	Normal
3	Artmış	Normal
4	Normal	Normal
5	Normal	Normal
6	Hafif Artmış	Normal
7	Normal	Normal
8	Normal	Taş (+)
9	Hafif Artmış	Normal
10	Normal	Çamur (+)
11	Artmış	Normal
12	Normal	Normal
13	Hafif Artmış	Normal
14	Artmış	Normal
15	Artmış	Normal
16	Normal	Normal
17	Normal	Çamur (+)
18	Normal	Normal
19	Artmış	Normal

Talassemi majorlü hastaların kemik iliğinde tüm vakalarda eritroid hiperplazi saptandı.

Karaciğer ve kemik iliğinde demir birikimi Prussian Blue boyama ile değerlendirilmiş olup, sonuçları Tablo 9'da gösterilmiştir. Kemik iliğinde bir hastada +1, dokuz hastada +2, iki hastada +3, dört hastada +4, iki hastada +5, bir hastada +6 demir birikimi saptandı. Karaciğerde iki hastada Grade 1, sekiz hastada Grade 2, dokuz hastada Grade 3 mezankimal hemosiderozis vardı. Bir hastada Grade 1, bir hastada Grade 2, on hastada Grade 3, yedi hastada Grade 4 parankimal hemosiderozis bulundu.

TABLO 9. Prussian Blue boyama ile karaciğer ve kemik iliğinde demir birikimi

<i>Hasta No</i>	<i>Kemik İliği</i>	<i>Karaciğer</i>	
		<i>Mezankimal Hemosiderozis</i>	<i>Parankimal Hemosiderozis</i>
1	+2	1	2
2	+2	2	3
3	+2	2	3
4	+2	1	1
5	+3	3	3
6	+3	2	3
7	+2	2	3
8	+2	2	3
9	+1	2	3
10	+2	2	3
11	+2	3	4
12	+4	3	4
13	+4	3	3
14	+4	3	4
15	+5	3	4
16	+5	3	4
17	+6	3	4
18	+4	3	4
19	+2	2	3

Işık mikroskopunda incelenen karaciğer biyopsi bulguları Tablo 10'da verilmiştir.

Portal fibrozis dört hastada yoktu. Beş hastada Grade 1, altı hastada Grade 3, dört hastada Grade 4 portal fibrozis vardı.

TABLO 10. Talassemi majorlu hastaların karaciğer biyopsi bulguları

<i>Hasta No</i>	<i>Portal Fibrozis</i>	<i>Portal İnf.</i>	<i>Periportal Nekroz</i>	<i>Ret Kollapsı Kaba çift kontr</i>	<i>EMH</i>	<i>Safra Kanalikül Harabiyeti</i>	<i>LİN</i>	<i>HbsAg</i>
1	0	0	0	Fokal (+)	(-)	(-)	1	(-)
2	0	1	0	(-)	(-)	(-)	1	(-)
3	0	1	1	(-)	(-)	(-)	1	(-)
4	0	0	0	(-)	(-)	(-)	0	(-)
5	1	1	0	(+)	(+)	(-)	1	(-)
6	1	1	0	(+)	(-)	(+)	1	(-)
7	1	3	3	(+)	(+)	kollabe	1	(-)
8	1	3	1	(+)	(+)	(-)	4	(-)
9	1	3	1	(+)	(+)	kollabe	3	(-)
10	3	3	3	(+)	(+)	(-)	3	(-)
11	3	3	3	(+)	(+)	(+)	3	(+)
12	3	4	3	(+)	(+)	(+)	3	(-)
13	3	1	3	(+)	(+)	(+)	3	(-)
14	3	4	10	(+)	(+)	(+)	3	(-)
15	3	3	3	(+)	(+)	kollabe	3	(-)
16	4	4	6	(+)	(+)	(+)	4	(-)
17	4	3	3	(+)	(+)	Fokal H. prolifer(+)	4	(+)
18	4	3	10	(+)	(+)	kollabe	4	(+)
19	4	3	10	(+)	(+)	prolif(+)	3	(-)

EMH : Ekstramedullar hematopoez

Portal İnf : Portal İnflamasyon

Ret Kollapsı : Retikülün kollapsı

Prolif. : Proliferasyon

LİN : Lobül içi nekroz

Portal inflamasyon iki hastada yoktu. Beş hastada Grade 1, dokuz hastada Grade 3, üç hastada Grade 4 portal inflamasyon bulundu.

Periportal nekroz beş hasta hariç tüm vakalarda farklı derecelerde izlendi.

Retikülin kollapsı ve kaba çift kontr üç hasta dışında tüm hastalarda bulundu.

Ekstramedullar hematopoez beş hasta hariç tüm hastalarda saptandı.

Safra kanalikülü harabiyeti 7 hasta hariç tüm hastalarda görüldü.

Lobül içi nekroz bir hastada yoktu, altı hastada Grade 1, sekiz hastada Grade 3, dört hastada Grade 4 olarak bulundu.

Üç hastada karaciğer dokusunda **HbsAg** pozitifliği.

Elektron mikroskopla incelenen 9 hastanın karaciğer biyopsi bulguları Tablo 11'de verilmiştir.

Hemosiderin Birikimi: Tüm hastalarda hepatositler başta olmak üzere kupfer hücreleri ve endotelyal hücrelerde hemosiderin birikimi izlendi. Hemosiderin serbest, amorf kitleler halinde veya lizozomların hatta mitokondriyonların içinde saptandı.

Glikojen: Tüm hastalarda hepatositlerin glikojen içeriği normal veya hafif artmış olarak bulundu.

Mitokondrial Patoloji: Altı hastada mitokondriyonlarda hafif şişmeden membran ruptürüne kadar farklı derecelerde ultrastrüktürel değişiklikler saptandı.

Fibrozis: Dört hastada perisinüzoidal, iki hastada perisinüzoidal ve hepatosit komşuluk alanlarında, iki hastada yalnızca hepatositler arasında izlendi. Bir hastada fibrozis görülmedi.

Miyelin Figürler ve Lizozomlar İçinde Lamellöz Cisimcikler: Beş hastada saptandı.

İki hastada hepatositlerde **vakuoler dejenerasyon**, üç hastada **yağ vakuolleri**, üç hastada sinüzoidlerde ve portal alanda mast hücrelerini de içeren iltihabi hücre infiltrasyonu izlendi.

TABLO 11. Karaciğer biyopsi elektron mikroskopi bulguları.

Hasta No	Hemosiderin KupferH. Hepatosit	Glikojen	Mitokondrial Patoloji	Fibrozis	Miyelin Figürler	Diğerleri
1	+ + Lizozomlarda ve serbest	Bol	-	PS	-	
2	* + Lizozomlarda ve serbest	Bol	Şişme	HA	+	Hepatositlerde Lipid Vakuoller
3	* +	Bol	Şişme	PS	+	Hepatositlerde Vakuoler D.
5	* + Lizozomlarda	Bol	Şişme	HA+PS	-	Hepatositlerde Lipid Vakuoller
7	+ + Lizozomlarda, serbest ve mitokondriyonlarda	Bol	Şişme, membran ruptürü	PS	-	
9	+ + Lizozomlarda ve serbest	Bol	Hafif şişme	PS	+	
12	* + Çoğu serbest, lizozomlarda	Bol	-	PS+HA	+	
16	+ + Çoğu serbest, mitokondriyonda	Bol	-	HA	+	Hepatositlerde Vakuoler D.
18	* + Lizozomlarda ve serbest	Bol	Hafif şişme	İzlenmiyor	-	Hepatositlerde Lipid Vakuoller

* : Kupfer Hücresi izlenmedi

PS : Perisinüzoidal

H : Hücre

D : Dejenerasyon

HA: Hepatositler arasında

Kemik iliği aspirasyon materyalinin elektron mikroskopik incelenmesinde özellikle eritroid seri hücreleri değerlendirilmiştir. Eritroid seride erken dönem hücreleri ve olgun eritrositlerde hücre sel değişiklikler karakteristiktir. Özellikle polikromatofil eritroblastlarda sitoplazmanın dışı doğru yalancı ayak şeklinde çıkıntılar yaptığı izlendi. Çekirdekte normal heterokromatin artışına ilaveten intranükleer α zincir presipitatlarına sıklıkla rastlanıldı. Sitoplazmada α zincir presipitatları çok yoğun olarak görüldü ve bu hücrelerde α zincir presipitatlarının bulunduğu alana komşu çekirdek bölgesinde, çekirdek kılıfında yer yer kayıplar olduğu dikkati çekti. Ayrıca sitoplazmada muhtemelen hemosiderin içeren elektron dens yapılarla sahip dejeneratif mitokondriyonlar ile membranöz yapılarla sahip otofajik vakuoller de izlendi (Resim 14,15). Bununla beraber polikromatofil eritroblastların bazılarının ise çekirdek ve sitoplazmik yapıları normal olarak değerlendirildi. Erken dönem polikromatofil eritroblastların bir kısmında çekirdek kılıfında genişleme, sitoplazmada vakuolizasyon ve hücre şeklinde bozukluklar gözlemlendi (Resim 15). Normoblastların bazılarında hücre şeklinde anormallikler ile çekirdek kılıfında genişleme ve sitoplazmada α zincir presipitatlarına rastlandı (Resim 16). Retikülositlerde yaygın olarak hücre şeklinde bozulmalar, sitoplazmada bir veya daha fazla sayıda içlerinde elektron dens hemosiderin partikülleri içeren vakuoller izlendi (Resim 17).

Hasta grubunda değikenlerin ilişkileri Tablo 12’de verilmiştir.

TABLO 12. Talassemi majorlü hastalarda değişkenlerin birbirleri ile ilişkileri

Kemik iliği demir birikimi

Ferritin	r = 0.54	p<0.025
Mezankimal hemosiderozis	r = 0.68	p<0.001
Parankimal hemosiderozis	r = 0.62	p<0.005
Transfüzyon sayısı	r = 0.80	p<0.0001

Mezankimal Hemosiderozis

Transfüzyon sayısı	r = 0.72	p<0.0001
Ferritin	r = 0.61	p<0.01
Portal inflamasyon	r = 0.78	p<0.0001

Parankimal hemosiderozis

Transfüzyon sayısı	r = 0.69	p<0.001
Ferritin	r = 0.57	p<0.01
Portal inflamasyon	r = 0.75	p<0.0001

Portal fibrozis

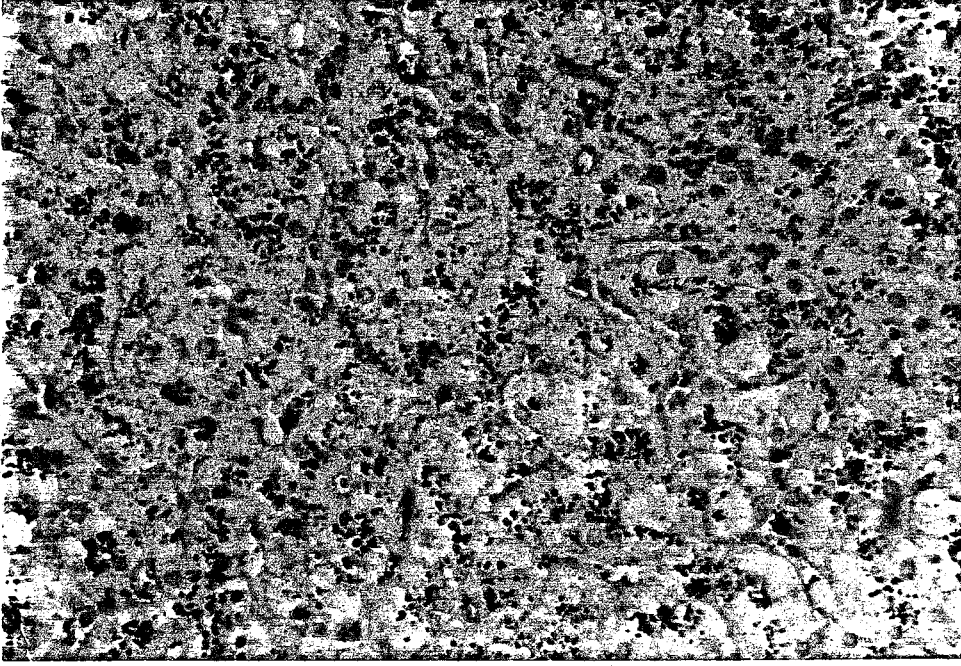
Ferritin	r = 0.63	p<0.005
Transfüzyon sayısı	r = 0.66	p<0.005
Mezankimal hemosiderozis	r = 0.77	p<0.0001
Parankimal hemosiderozis	r = 0.74	p<0.0001
Portal inflamasyon	r = 0.71	p<0.001
Hepatomegali	r = 0.51	p<0.025
Yaş	r = 0.46	p<0.05
şelasyona başlama yaşı	r = 0.52	p<0.05
SGOT	r = 0.46	p>0.05
SGPT	r = 0.45	p>0.05

Karaciğer ekojenitesi

Portal fibrozis	r = 0.22	p>0.05
Portal inflamasyon	r = 0.23	p>0.05
Parankimal hemosiderozis	r = 0.26	p>0.05
Mezankimal hemosiderozis	r = 0.24	p>0.05

Portal inflamasyon

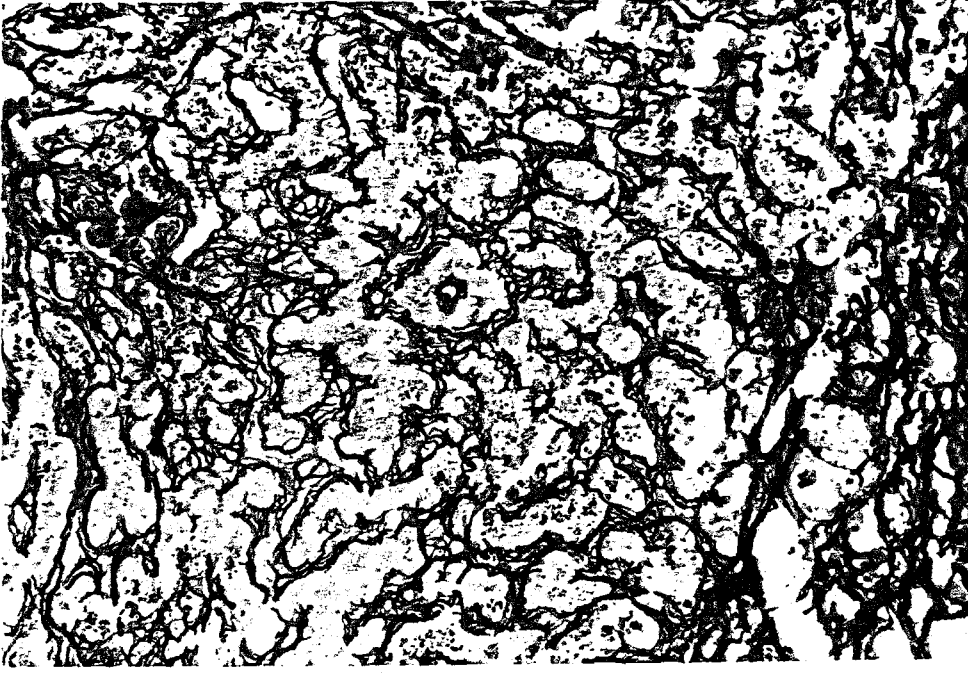
SGOT	r = 0.34	p>0.05
SGPT	r = 0.42	p>0.05
Mezankimal hemosiderozis	r = 0.78	p<0.0001
Parankimal hemosiderozis	r = 0.75	p<0.0001



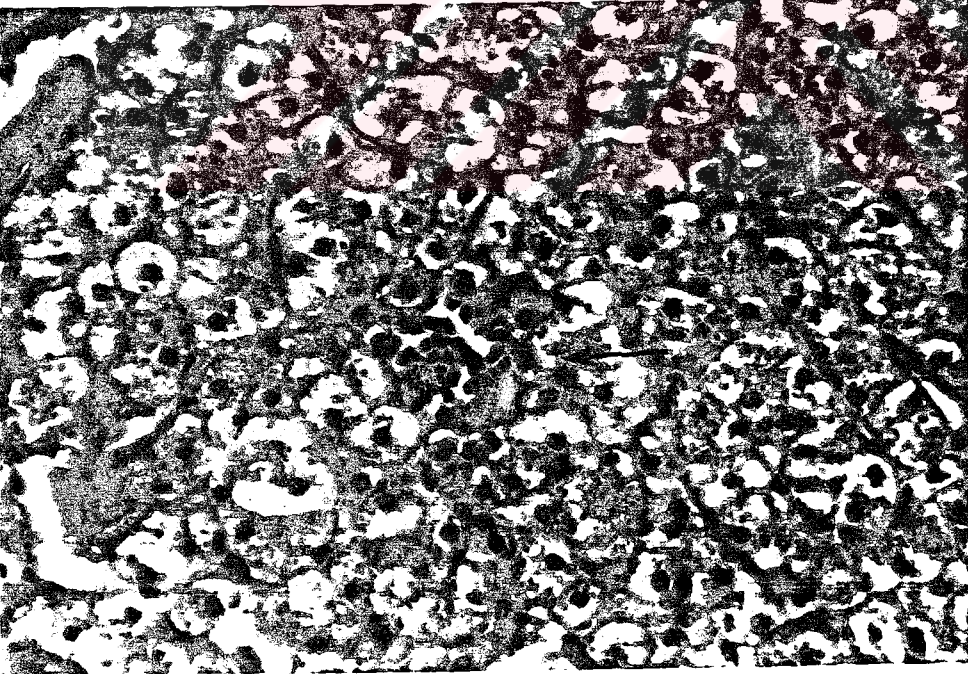
Resim 1: Parankimal Grade 2 hemosiderozis, Mezankimal Grade 1 hemosiderozis izlenmektedir (x600 Prussian Blue).



Resim 2: Parankimal Grade 4 hemosiderozis, Mezankimal Grade 3 hemosiderozis izlenmektedir (x150 Prussian Blue).



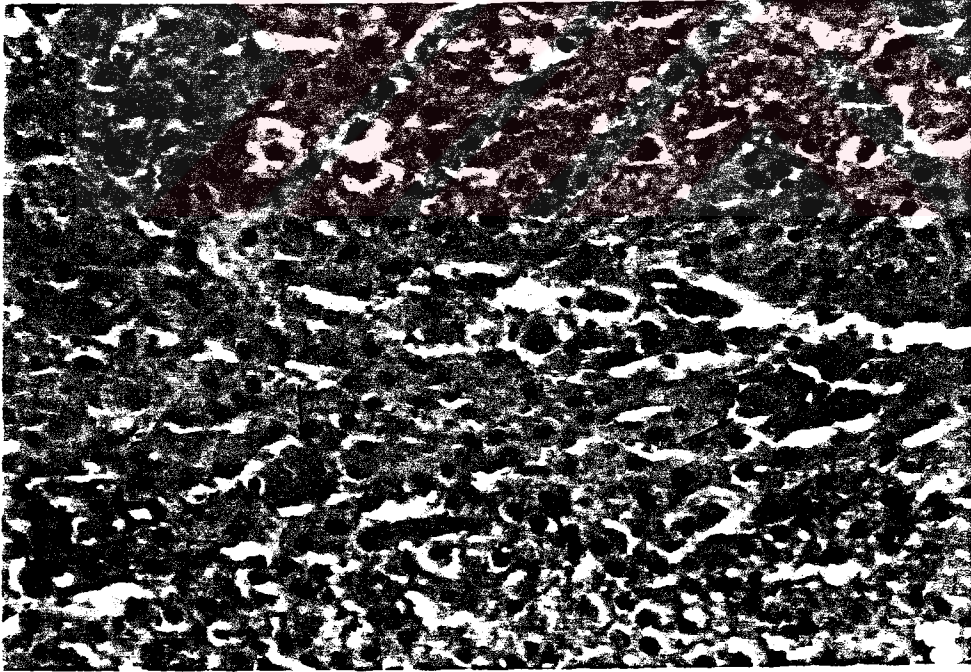
Resim 3: Retikülin liflerde kalılaşma ve çift kontr izlenmektedir (x 375 Hematoksilen Eozin).



Resim 4: Ekstramedullar hematopoez (ok) izlenmektedir (x 600 Hematoksilen Eozin).



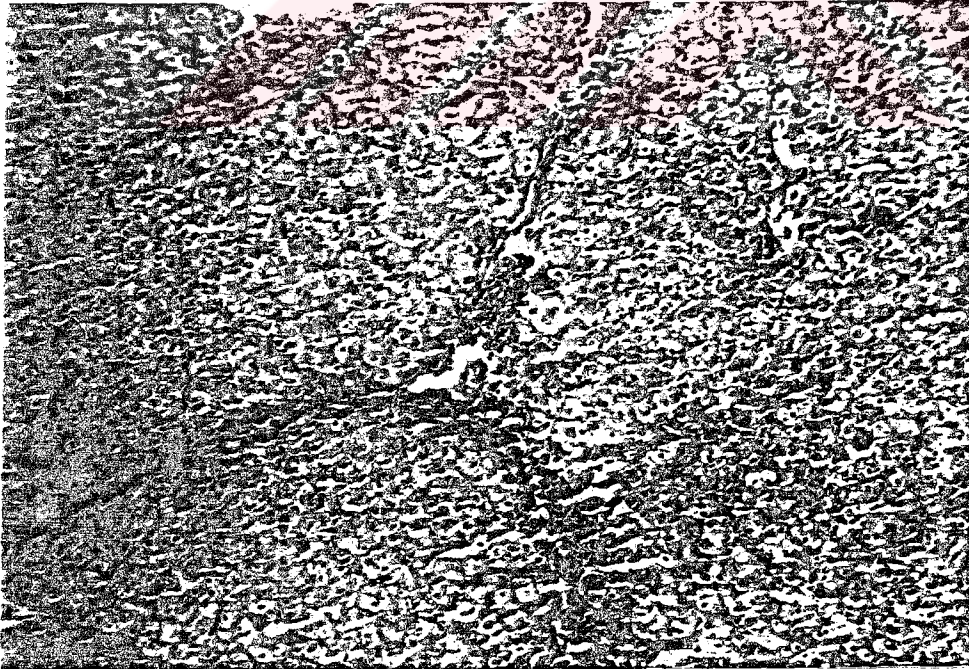
Resim 5: Piecemeal nekroz (oklar arasında) izlenmektedir (x 375 Hematoksilen Eozin).



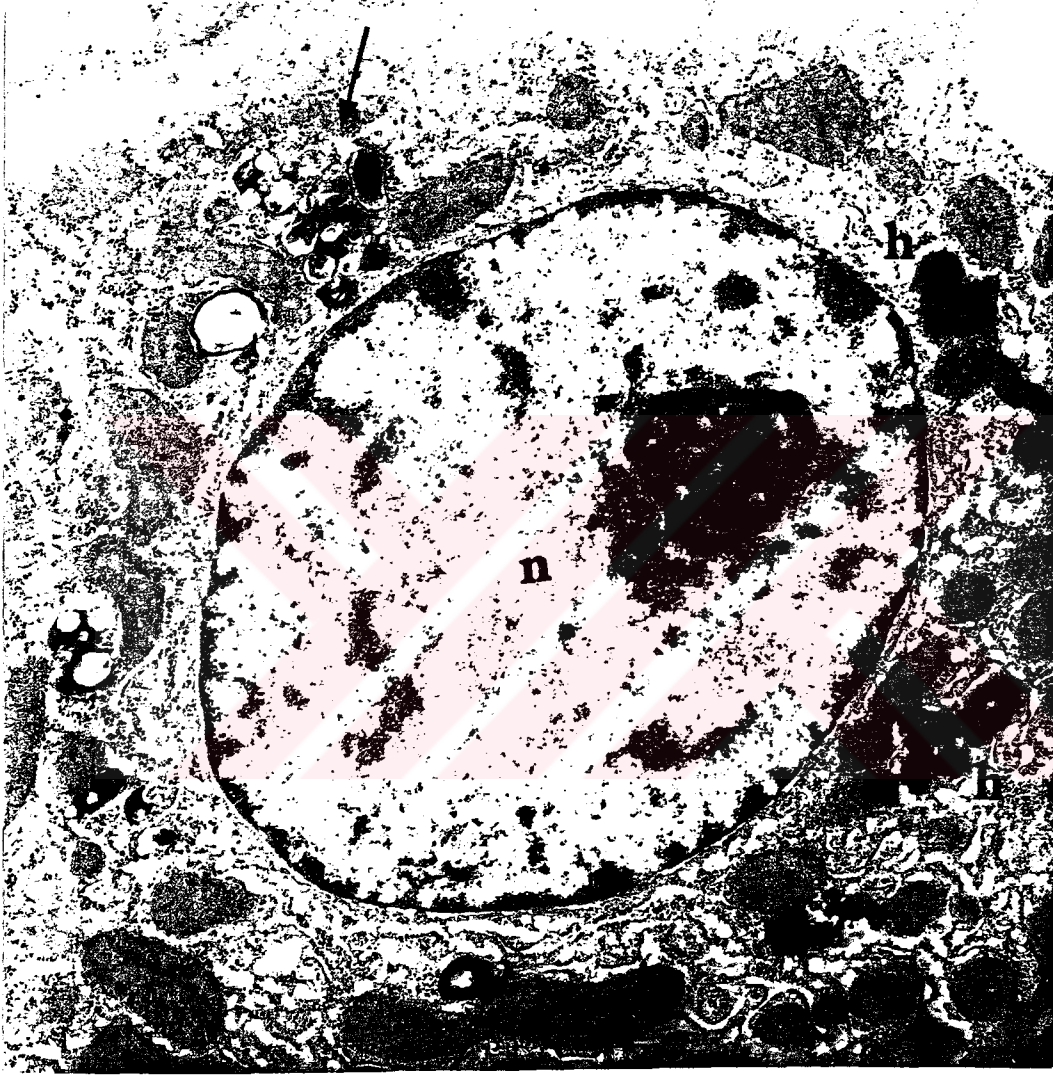
Resim 6: Hemosiderin pigment birikimine bağı ferroasidofilik body ve hepatosit kaybı izlenmektedir (Lobül içi nekroz, oklar) (x 375 Hematoksilen Eozin).



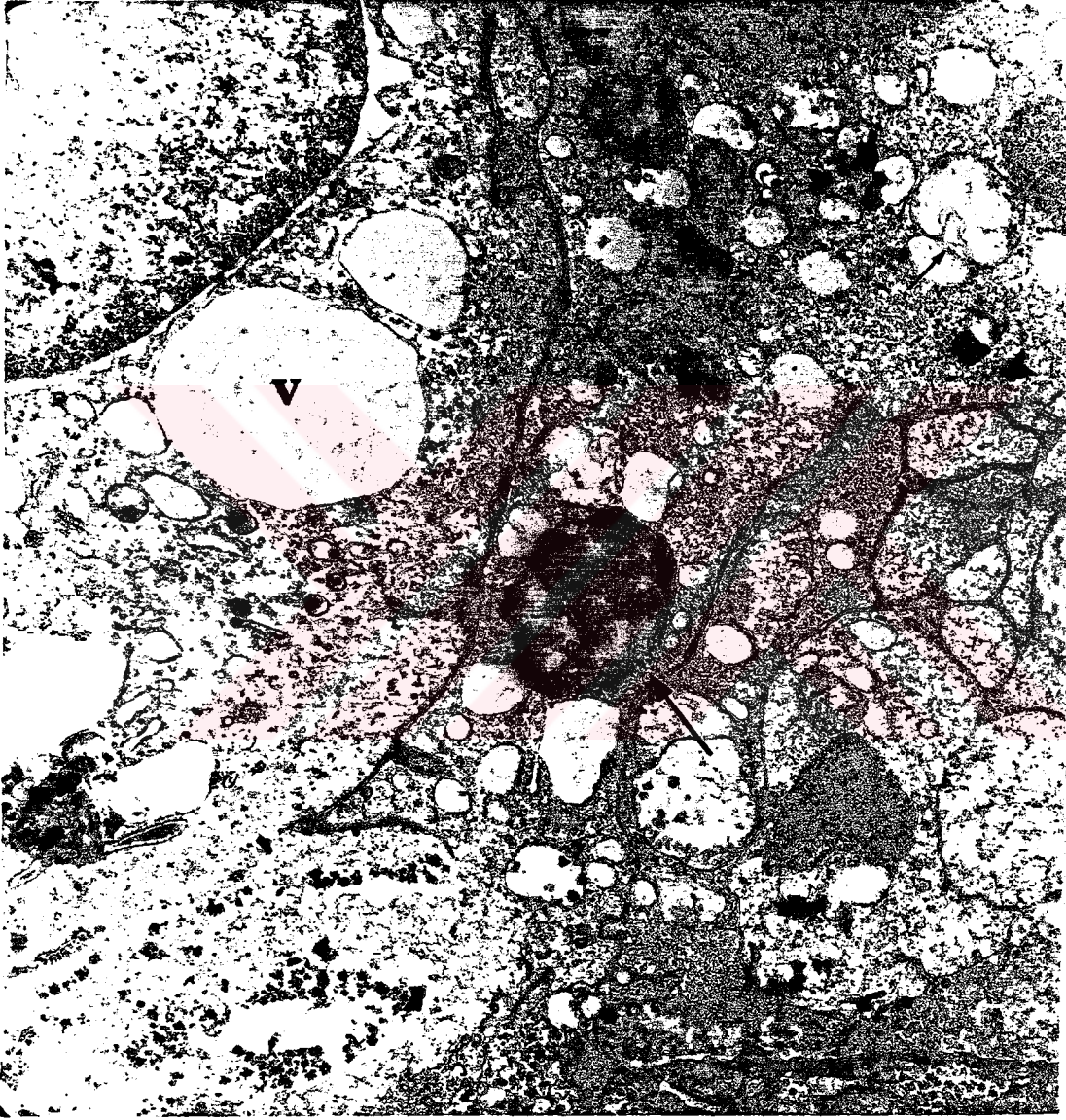
Resim 7: Portal inflamasyon Grade 3 (ok ucu) izlenmektedir (x 375 Hematoksilen Eozin).



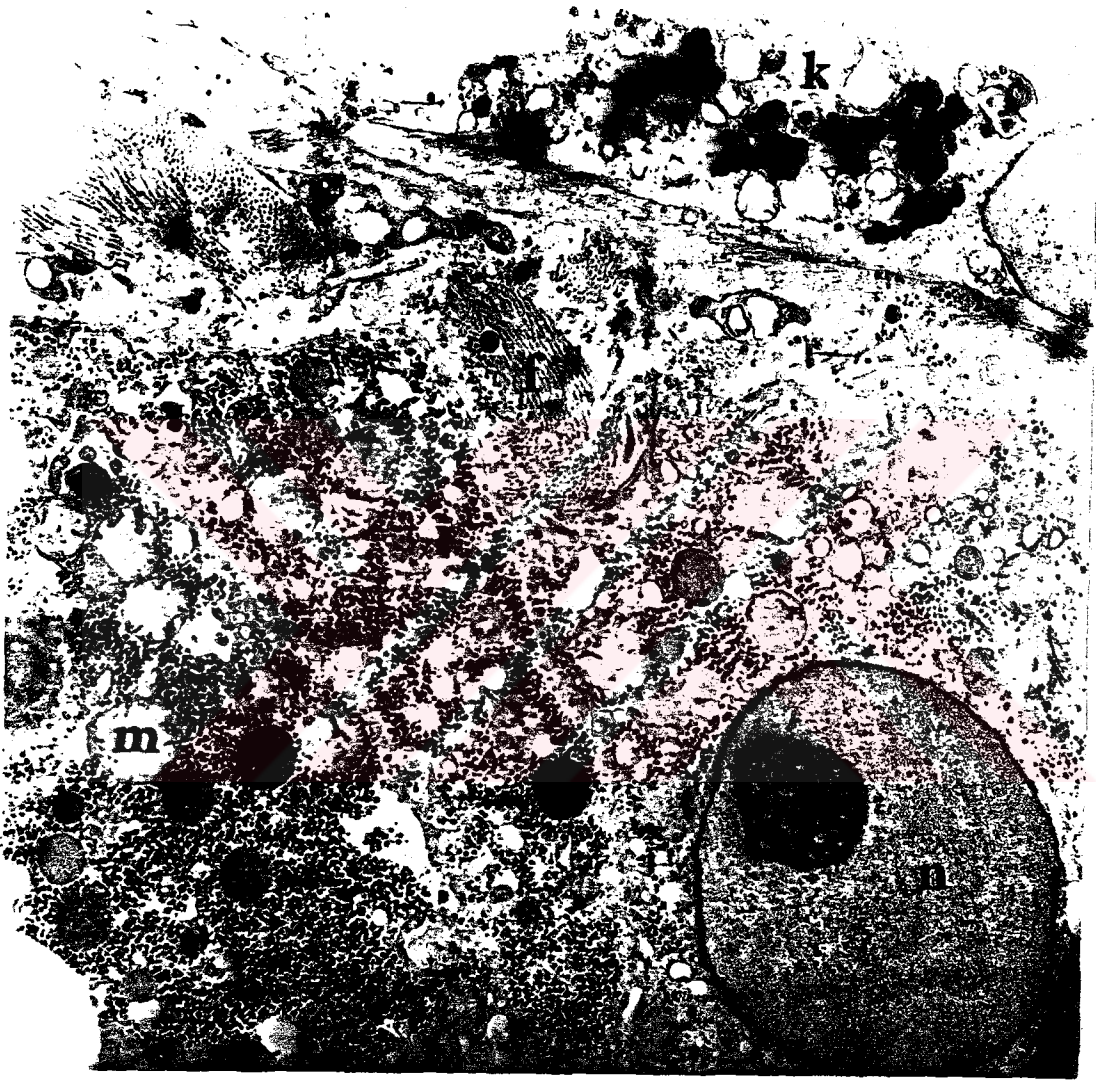
Resim 8: Presinrotik evre, portoportal ve portosantral köprüleşme izlenmektedir (x 150 Hematoksilen Eozin).



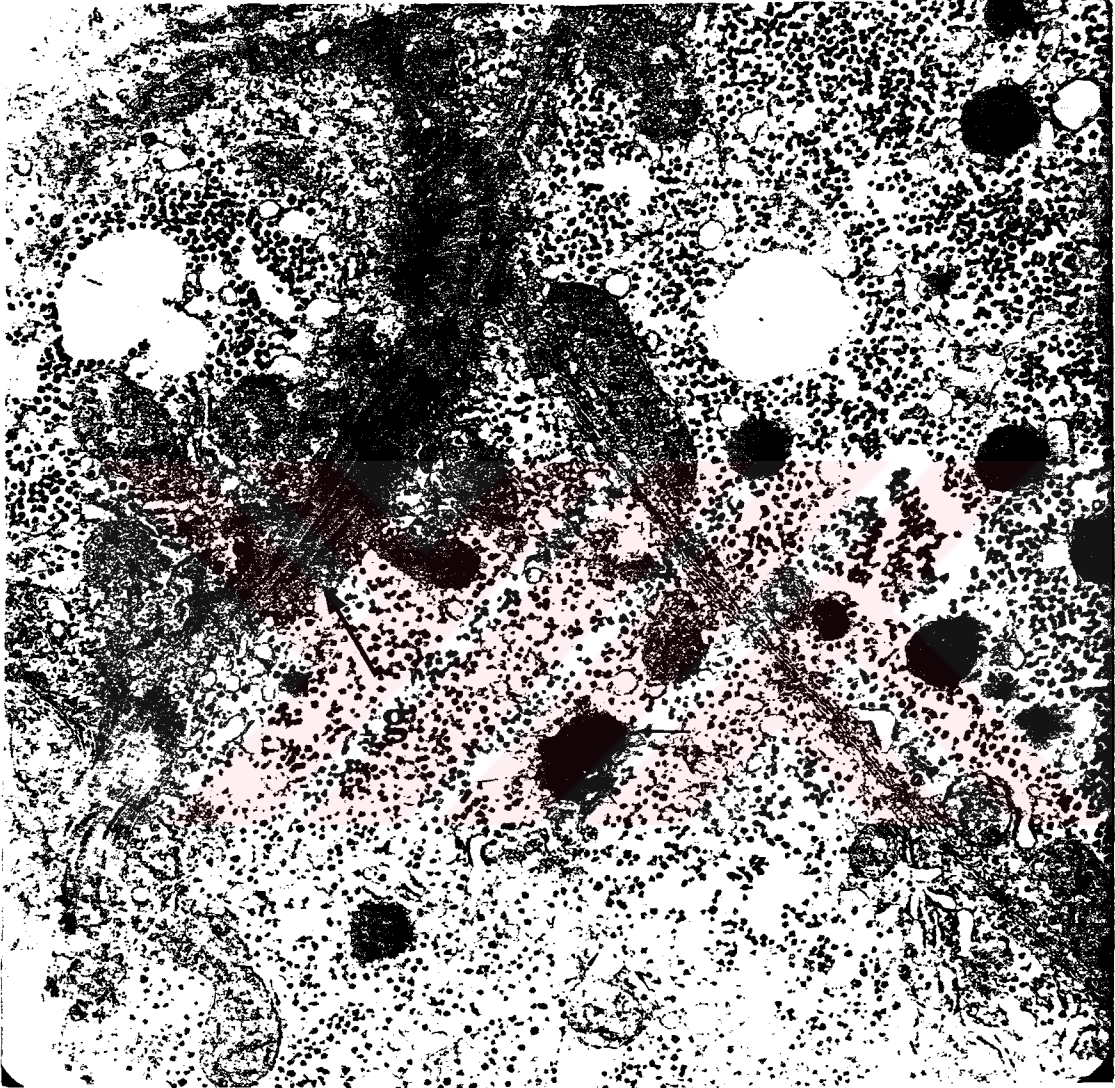
Resim 9: Amorf kitleler halinde hemosiderin birikimi (h), hepatosit nükleusu (n), lizozimler içinde lamellöz cisimcikler (ok) izlenmektedir (x 14.000).



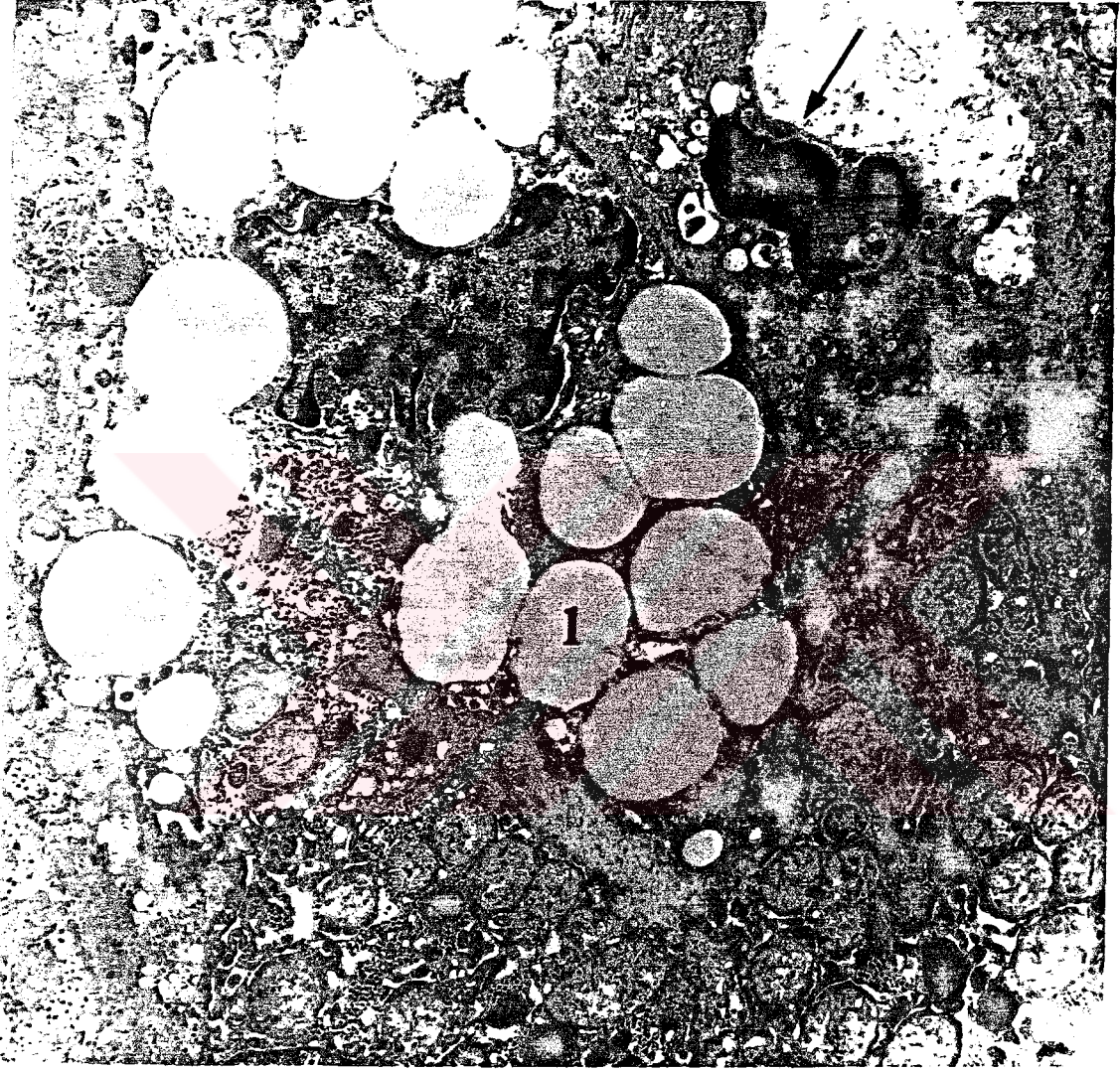
Resim 10: Mitokondriyon içinde izlenen hemosiderin partikülleri (büyük ok), vakuoler dejenerasyon (v), mitokondriyal şişme ve membran ruptürü (küçük ok) görülmektedir (x 14.000).



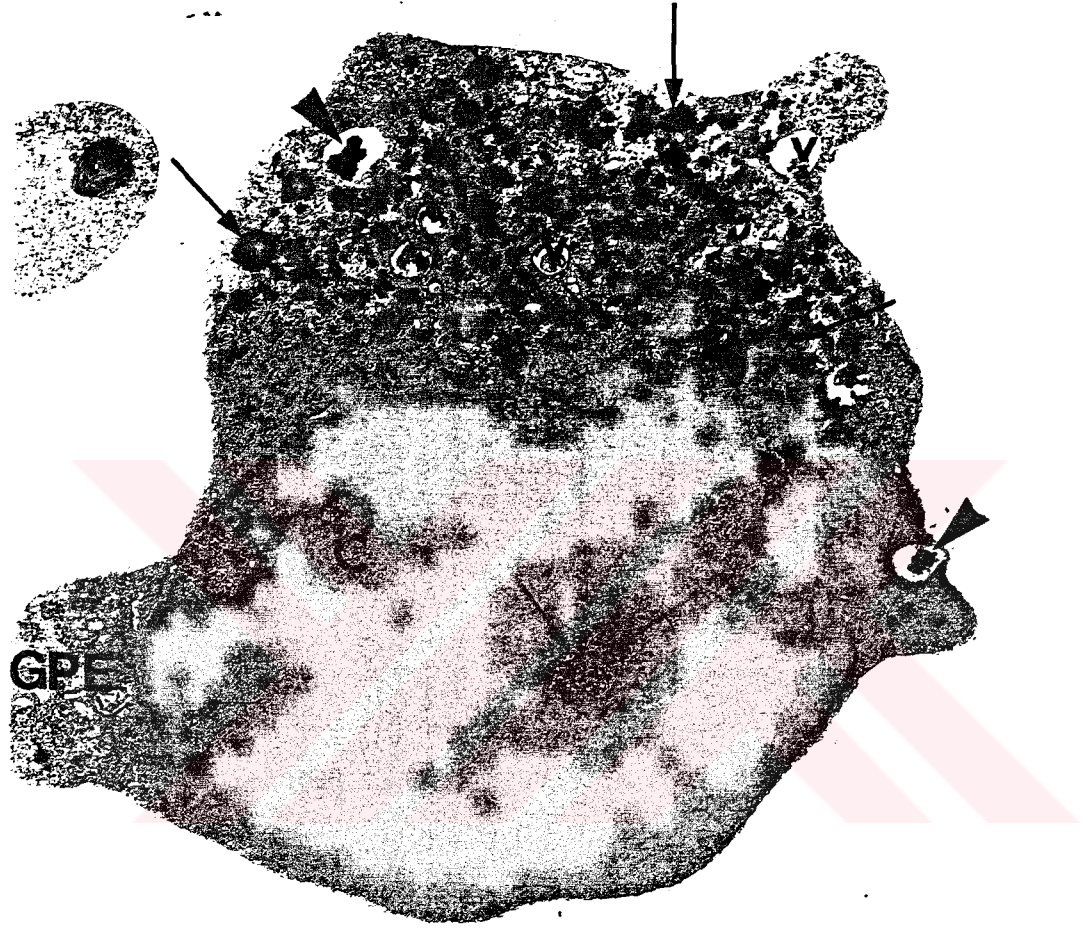
Resim 11: Fibrozis (f), perisinüzoidal alanda kollajen lifleri izlenmektedir, mitokondriyonda (m) şişme, sisternalarda harabiyet, düzensizleşme; Kupfer hücresi sitoplazmasında lizozomlar içinde hemosiderin birikimi görülmektedir (x 8.800).



Resim 12: Glikojen (g), hepatositlerin komşuluk alanlarında kollajen lifleri (fibrozis, büyük ok), lizozim içinde hemosiderin partikülleri (küçük ok) görülmektedir (x 14.000).



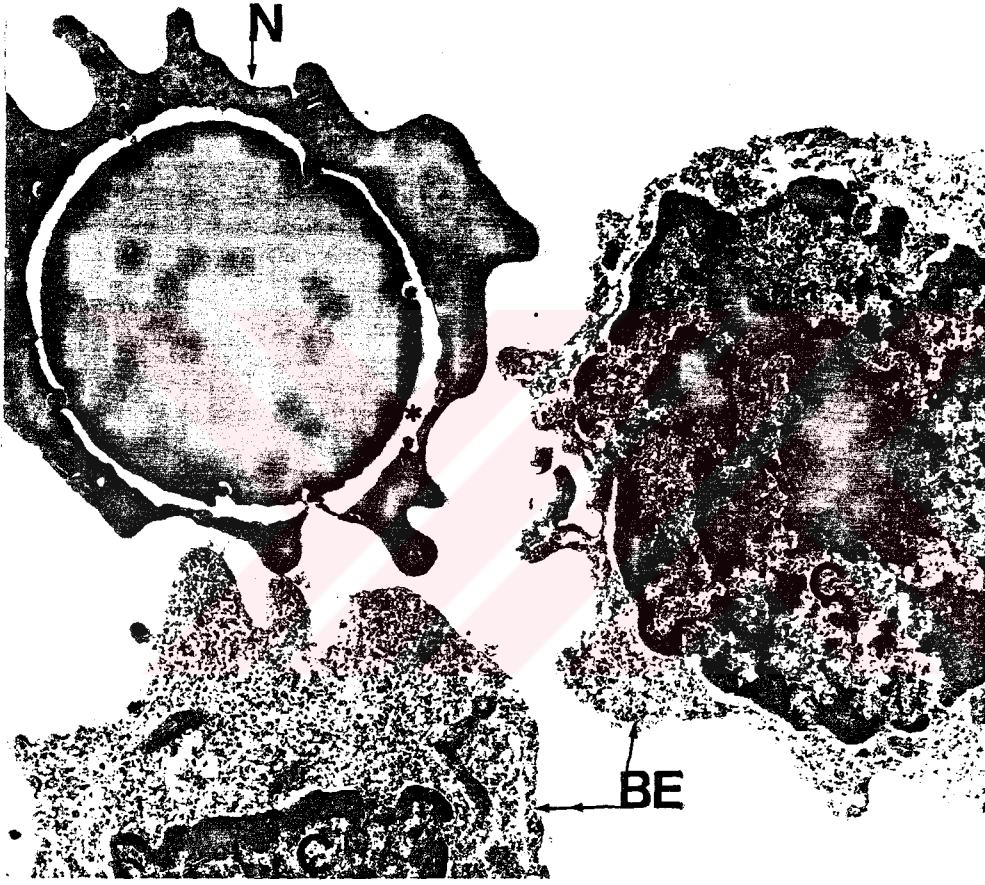
Resim 13: Hepatosit sitoplazmasında çok sayıda lipid vakuelleri (I) ve hemosiderin birikimi (ok) görülmektedir (x 8.800).



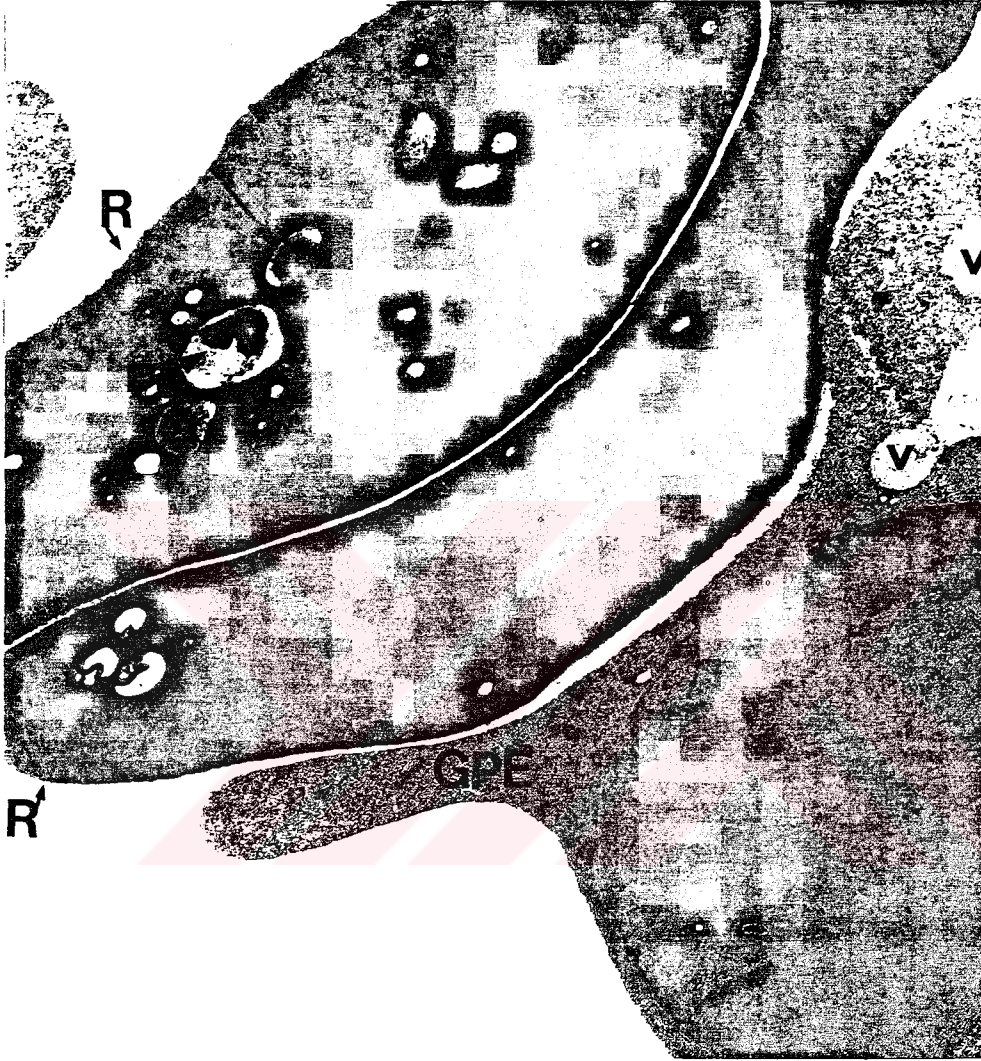
Resim 14: Geç polikromatofil bir eritroblast görülmektedir. Eritroblastın çekirdeğinde (Ç) ve sitoplazmasında çok miktarda hemosiderin içeren α zincir presipitatları izlenmektedir(oklar). Ayrıca elektron dens materyal içeren dejeneratif mitokondriyonlar (ok başları) ve membranöz yapılar içeren otofajik vakuoller(v) görülmektedir.(x 24.000).



Resim 15: Erken dönem polikromatofil eritroblastda (EPE) çekirdek kılıfında genişleme (*) ve sitoplazmada içleri boş vakuoller(v) izlenmektedir. Geç dönem polikromatofil eritroblast (GPE) sitoplazmasında hemosiderin partikülleri içeren α zincir presipitatları izlenmektedir (oklar) . Çekirdek (Ç)Retikülosit(R) (x 14.000).



Resim 16: Bazofilik eritroblastlarda(BE) çekirdek(Ç) ve sitoplazmanın normal yapıda olduğu görülmektedir. Ayrıca çekirdek kılıfı genişlemiş(*) ve sitoplazmasında yalancı ayaklar şeklinde çıkıntılar oluşmuş normoblast (N) da görülmektedir (× 14.000).



Resim 17:Geç polikromatofil eritroblastda sitoplazmik vakuolizasyon (v)ve sitoplazmik çıkıntı görülmektedir. Retikülositlerde(R) hemosiderin içeren ve olasılıkla mitokondriyonların dejenerasyonu sonucu oluşmuş vakuoller(oklar) görülmektedir (x 24.000).

TARTIŞMA

Talassemlerde demir metabolizması merkezi rol oynar. Demir metabolizmasındaki dalgalanmalar histopatolojik, klinik değişikliklere yol açar ve prognozu etkiler (41,46,53,55).

Whipple ve Bradford 1936 yılında ilk kez talassemili hastalarda demir yüklenmesi olduğunu göstermişlerdir (8). Talassemili hastalarda demir yüklenmesinin patogeneğinde aktif, fakat inefektif eritropoeze bağlı demir absorpsiyonu artışı ve transfüzyonel hemosideroz rol alır (33,41,42,46,55).

Karaciğer, demirin ana depolanma bölgesidir ve karaciğer hasarlanma bulguları demire bağlı parankimal hasarın güvenilir bir göstergesidir (6,41,46,48).

Talassemili hastalarda doku demir depolarını kesin olarak değerlendirmek için karaciğer biyopsi örnekleri alınmalıdır. Angelucci (3) ve De Wirgiliis'in (25) yaptıkları çalışmalarda histolojik sınıflandırma ve karaciğer demir miktarının nicel ölçümü arasında korelasyon saptanmıştır.

Çoğul transfüzyon uygulanan ve şelasyon tedavisi almayan tüm talassemili hastalarda 10 yaş veya daha erken dönemde demir toksik miktarlarda birikerek, adolesan dönemin başlarında potansiyel olarak letal miktarlara ulaşabilir. Günümüzde talassemi majorlüt hastalarda klinik kullanım için uygun olan tek demir şelatörü Deferoxamine'dir. Barry'nin intramuskuler (8), Propper'in intravenöz ve subkutan olarak yaptığı çalışmalarda (57,58), düzenli şelasyon tedavisinin karaciğer demirini azaltabileceği; kardiak, pankreatik ve diğer organ bozukluklarını iyileştirebileceği, seksüel gelişimi ve büyümeyi düzeltebileceği ve yaşam süresini arttırabileceği gösterilmiştir.

Talassemi majorlüt hastalarda transfüzyona başlama yaşı, genellikle 4 yaşın altındadır (63). Bizim çalışma grubumuzda transfüzyona başlama yaşı ortalama 2 yaş 6 ay bulunmuştur. İki vaka hariç tüm hastalara transfüzyon üç yaş ve altında başlanmıştır.

Hipertransfüzyon rejimi uygulanan hastalarda büyüme gelişme geriliği ikinci on yılda beklenen bir bulgudur (41,46,63). Hasta grubumuzda boy gelişimi normalin altında olan hastaların 14 yaş ve üzerinde olduğu saptanmıştır. Bu hastalarda Deferoxamine tedavisi 8 ve 13 yaşında, geç olarak başlanmıştır.

Jean ve arkadaşları Kuzey İtalya'da 86 talassemili hastada (31), Masera ve arkadaşları hipertransfüze talassemili 90 hastada (44), Aldouri ve arkadaşları 51 düzenli transfüzyon alan talassemili hastada (1), Thakerngpol ve arkadaşları 30 β -talassemi/Hb E ve β -talassemi majorlüt hastalarda(70) yaptıkları çalışmada orta ve ağır

derecede demir yüklenmesi, karaciğerde fibrozis, ekstramedüller hematopoez odakları, retikülin çatının kollapsı, ferroasidofilik body ve hepatit bulguları saptamışlardır. Transfüzyonel hepatitin karaciğer harabiyetine katkıda bulunduğunu ve düzenli şelasyon varlığında karaciğer harabiyeti artışının transfüzyonel hepatite bağlı olduğunu göstermişlerdir.

Çalışma grubumuzdaki 19 hastada karaciğerde ve kemik iliğinde demir birikimi değerlendirilmiştir. Kemik iliğinde bir hastada +1, dokuz hastada +2, iki hastada +3, dört hastada +4, iki hastada +5 ve bir hastada +6 demir birikimi bulunmuştur. Karaciğerde Muretto'ya göre mezankimal hemosiderozis iki hastada Grade 1, sekiz hastada Grade 2, dokuz hastada Grade 3 olarak, Schuer'e göre parankimal hemosiderozis bir hastada Grade 1, bir hastada Grade 2, on hastada Grade 3 ve yedi hastada Grade 4 olarak izlenmiştir.

Kemik iliği demir birikimi ile karaciğerde mezankimal hemosiderozis ve parankimal hemosiderozis arasında istatistiki olarak anlamlı ilişkiler bulunmuştur (sırasıyla $p < 0.001$ ve $p < 0.005$). Kemik iliği ve karaciğer demir birikimi arasında yakın ilişki olması nedeniyle vücut demir depolarının değerlendirilmesinde öncelikle kemik iliğinin kullanılması daha kolay, kullanışlı ve noninvazif bir yöntem olacaktır.

Cazzola ve arkadaşları sekiz talassemi majorlü ve 4 talassemi intermedialı hastada yaptıkları çalışmada transfüzyon sayısı ve karaciğer demir konsantrasyonu arasında lineer pozitif bir ilişki saptamışlardır (17). Bhamarapavati ve arkadaşları ise β -talassemi Hb E tanısı alan 20 otopsi vakasında transfüzyon sayısı ve doku demir birikimi arasında ilişki bulmuşlardır (10). Okon ve arkadaşları 12 β -talassemi majorlü çocukta yaptıkları çalışmada transfüzyon sayısı ve hemosiderozis arasında bağlantı bulmamışlardır (50).

Bu çalışmada β -talassemi majorlü hasta grubumuzda transfüzyon sayısı ile kemik iliği demir birikimi, mezankimal hemosiderozis ve parankimal hemosiderozis arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur (sırasıyla $p < 0.0001$, $p < 0.0001$ ve $p < 0.001$).

Çocukluk çağında serum demiri normalde 50-120 $\mu\text{g/dl}$ arasında bulunur (55). Hasta grubumuzda ortalama serum demiri yaşa göre normalin üstünde 144.36 $\mu\text{g/dl}$ saptanmıştır. Transferrin saturasyonu normalde %50'nin altında genelde %30 düzeyinde bulunur (62). Hasta grubumuzda ortalama transferrin saturasyonu %47.14 olarak üst sınıra yakın saptanmıştır. Sekiz hastada ise transferrin saturasyonu %50'nin üzerinde bulunmuş olup bu hastalar hemosiderozis ve hemokromatozis riskine açıktır. Bu nedenle transferrin saturasyonu takip edilmelidir.

Demir yüklenmesinin gösterilmesinde kullanılan kolay ve noninvazif bir yöntem olması nedeniyle çalıştığımız ortalama serum ferritin değeri 1663 ng/ml bulunmuştur. Ferritin normal değeri çocukluk yaş grubunda 7-200 ng/ml'dir. Tüm

hastalarda Ferritin değeri üst sınıırn çok üzerinde saptanmıştır. Ferritin ve karaciğer demir birikimi arasında pozitif bir ilişkinin saptandığı çalışmalar yapılmıştır (1,15,16,17,45). Buna karşın Angelucci ve arkadaşlarının kemik iliği transplantasyonuna hazırlanan 501 talassemili hastada (3) ve Brittenham ve arkadaşlarının 74 talassemi majorlü ve 37 sickle cell anemili hastada (15) yaptıkları çalışmada ise serum ferritini ve karaciğer demir birikimi arasında bağlantı bulunamamıştır. Çalışmalarda ferritin ve karaciğer demir birikimi arasındaki farklılıkların nedeni, ferritinin akut faz reaktanı olması ve demir birikimi dışındaki faktörlerden etkilenmesi olabilir. Hasta grubumuzda ferritin değerleri ile parankimal hemosiderozis, mezankimal hemosiderozis, kemik iliği demir birikimi ve transfüzyon sayısı arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki bulunmuştur (sırasıyla $p < 0.01$, $p < 0.01$, $p < 0.025$ ve $p < 0.0001$)

Masera ve arkadaşlarının 47 talassemili çocukta yaptıkları çalışmada klinik ve biyokimyasal bulgular olmadan karaciğer harabiyeti gelişebileceği ve siroza kadar ilerleyebileceği saptanmıştır. Karaciğer fonksiyon testleri ile karaciğer biyopsi bulguları arasında bağlantı bulunamamıştır (44). Angelucci ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada da kronik hepatit saptanan hastaların %30'unda transaminazlar normal bulunmuştur (3). Hasta grubumuzda ortalama SGOT düzeyleri 66 Ü/L, kontrol grubunda 34 Ü/L bulunmuştur. Hasta grubumuzda ortalama SGPT düzeyi 61 Ü/L, kontrol grubunda 18 Ü/L saptanmıştır. Ortalama total bilirubin düzeyi hasta grubumuzda 1.73 mg/dl, kontrol grubunda 0.56 mg/dl bulunmuştur. Hasta grubumuzda ortalama direkt bilirubin düzeyi 0.52 mg/dl, kontrol grubunda 0.19 mg/dl saptanmıştır. Ortalama alkalin fosfataz değeri hasta grubunda 325 Ü/L, kontrol grubunda 404 Ü/L bulunmuştur. Hasta grubumuzda ve kontrol grubunda total protein değerleri normal sınırlarda bulunmuştur. Albumin değerleri hasta grubunda kontrole göre düşük olarak izlenmiştir ($p < 0.001$). Albumin değerinin hasta grubunda düşük bulunması kronik karaciğer hastalığına bağlı olabileceği için çok önemli bir parametredir. Hasta grubumuzda SGOT değeri ile portal fibrozis arasında istatistiki olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır ($p > 0.05$). Aynı şekilde SGPT değeri ile portal fibrozis arasında da ilişki saptanmamıştır ($p > 0.05$). Hasta grubumuzda SGOT değeri ile portal inflamasyon ($p > 0.05$) ve SGPT değeri ile portal inflamasyon ($p > 0.05$) arasında anlamlı bir ilişki bulunmamıştır.

Talassemi majorlü hasta grubundaki çocuklara yaptığımız batın ultrasonografisinde karaciğer ekojenitesi 11 hastada normal, 3 hastada hafif artmış ve 5 hastada da artmış olarak bulunmuştur. Onbeş yaş üzerindeki talassemilerde kolelitiazis 1/3 oranında görüldüğü halde bu çalışmada 1 hastada kolelitiazis, 2 hastada safra çamuru olmak üzere 3 hastada (%16) kolesistopati saptanmıştır.

Karaciğer ekojenitesi ile portal fibrozis, portal inflamasyon, parankimal hemosiderozis ve mezankimal hemosiderozis arasında anlamlı bir ilişki bulunamamıştır ($p>0.05$). Bu da karaciğer harabiyeti ve demir yüklenmesinin tespiti için daha ileri görüntüleme çalışmalarına ihtiyaç olduğunu göstermektedir.

Talassemili hastalarda transfüzyonel hepatit demir yüklenmesinin yol açtığı karaciğer harabiyetini arttırmaktadır (1,33,43,44). AntiHCV pozitifliği talassemili hastalarda İtalya'da %48., Yunanistan'da %38 (37), Türkiye'de ise % 30. (66) bulunmuştur. Hasta grubumuzda AntiHCV pozitifliği %15 saptanmıştır.

Masera'nın yaptığı çalışmada HbsAg pozitifliği %10, AntiHbs pozitifliği %45 olarak bulunmuştur (44). Bizim çalışma grubumuzda da HbsAg pozitifliği %10, AntiHbs pozitifliği %52 olarak izlenmiştir.

Hasta grubumuza yaptığımız karaciğer biyopsisinde portal fibrozis, portal inflamasyon, periportal nekroz, retikülün kollapsı ve kaba çift kontr, ekstrameduller hematopoez, safra kanalikülü harabiyeti, lobül içi nekroz ve dokuda HbsAg değerlendirildiğinde; portal fibrozis dört hasta hariç tüm hastalarda, portal inflamasyon iki hasta hariç tüm hastalarda, periportal nekroz beş hasta hariç tüm hastalarda retikülün kollapsı ve kaba çift kontr üç hasta hariç tüm hastalarda, ekstrameduller hematopoez beş hasta hariç tüm hastalarda, safra kanalikülü harabiyeti yedi hasta hariç tüm hastalarda, lobül içi nekroz bir hasta hariç tüm hastalarda saptanmıştır. Dokuda HbsAg üç hasta dışında tüm hastalarda negatif bulunmuştur.

Aldouri ve arkadaşlarının 51 düzenli transfüzyon alan β -talassemili hastada yaptıkları çalışmada portal fibrozis ile karaciğer demir içeriği arasında yakın ilişki saptanmıştır. Grade 0-1 hemosiderozisi olan vakalarda fibrozis hafif, Grade 3-4 hemosiderozisi olanlarda fibrozis ağır olarak görülmüştür. Yaş ve fibrozis arasında da ilişki bulunmuştur. Portal inflamasyon ile portal fibrozis arasında da yakın bir ilişki saptanmıştır (1). O'Brien'da transfüzyon sayısı, yaş ve karaciğer demir konsantrasyonu ile karaciğerde fibrozis arasında yakın bir korelasyon olduğunu bildirmiştir (49). Buna karşın Bhamarapravati (10) ve Okon yaptıkları (50) çalışmada yaş, transfüzyon sayısı, hemosiderozis ve karaciğer harabiyeti arasında bağlantı bulunmamışlardır. Bu çalışmalardaki farklılıkların nedeni uygulanan şelasyon tedavisi ve transfüzyon rejimlerindeki farklılıklar olabilir.

Talassemi majorlü hasta grubunda yaptığımız çalışmada portal fibrozis ile ferritin, transfüzyon sayısı, mezankimal hemosiderozis, parankimal hemosiderozis ve portal inflamasyon arasında istatistiki olarak önemli ilişkiler saptanmıştır (sırasıyla $p < 0.005$, $p < 0.005$, $p < 0.0001$, $p < 0.0001$ ve $p < 0.001$). Portal fibrozis ile yaş ve hepatomegali arasında istatistiki olarak daha az önemli ilişkiler saptanmıştır (sırasıyla $p < 0.05$ ve $p < 0.025$).

Çalışma grubumuzda portal inflamasyon ile mezankimal hemosiderozis ve parankimal hemosiderozis arasında istatistiki olarak anlamlı ilişki saptanmıştır (sırasıyla $p<0.0001$ ve $p<0.0001$).

Bary ve arkadaşları talassemi majorlül hastalarda uzun süreli şelasyon tedavisinin karaciğer demir konsantrasyonu, karaciğer histolojisi ve klinik gidiş üzerine etkisini araştırmıştır. Şelasyon tedavisi alan dokuz hasta ve şelasyon tedavisi almayan dokuz kontrol karşılaştırılmıştır. Şelasyon tedavisi karaciğer demir konsantrasyonunu belirgin olarak azaltmış, hasta ve kontrol grupları arasında karaciğer demir içeriğinde belirgin farklılık saptanmıştır. Şelasyon tedavisi alan hastalarda karaciğer fibrozisinde çok az değişiklik olur veya hiç olmazken, şelasyon tedavisi almayan kontrol grubunda karaciğerde fibrozis belirgin olarak ilerlemiştir. Sonuç olarak bu çalışmada uzun süreli şelasyon tedavisinin karaciğer demir birikimini azalttığı ve karaciğer fibrozisinin ilerlemesini önlediği saptanmıştır (8).

Cohen ve arkadaşları talassemi majorlül dört çocukta karaciğer demiri ve histolojisini 52-83 aylık şelasyon tedavisinden sonra değerlendirip karaciğer fibrozisinde ilerleme olmadığını ve karaciğer demir içeriğinin azaldığını göstermişlerdir (19).

Angelucci ve arkadaşları tarafından kemik iliği transplantasyonuna hazırlanan 608 β -talassemili hastada yapılan çalışmada karaciğer biyopsisinde tüm vakalarda hemosiderin granülleri izlenmiştir. Yaşamın ilk yıllarından itibaren düzensiz şelasyon alan hastalarda orta ve ağır hemosiderozis saptanırken, düzenli şelasyon alanlarda hemosiderozis belirgin olarak az bulunmuştur. Karaciğer fibrozisi şelasyon tedavisini düzensiz alan ve geç başlananlarda daha fazla bulunmuştur (4).

Karaciğer fibrozisi regüler transfüzyon uygulanan talassemili hastalarda organ hasarının erken bulgusu olup, şelasyon tedavisinin organ hasarı gelişmeden erken dönemde başlaması gerekir. Maurer ve arkadaşları hipertransfüzyon rejimi uygulanan onaltı talassemili hastada yaptıkları çalışmada üç yaşındaki iki hasta hariç, daha büyük olan diğer hastalarda orta ve ağır derecede hepatik fibrozis bulunduğunu, şelasyon tedavisi ile karaciğer demir içeriğinin önemli ölçüde azaldığını, ancak fibrozisin yalnızca iki hastada düzeldiğini göstermişler ve bu nedenle şelasyon tedavisine üç yaşından itibaren organ hasarı gelişmeden başlaması gerektiğini belirtmişlerdir (45).

Hasta grubumuzda Deferoxamine başlama yaşı ortalama 6 yaş 6 aydır. Minimum başlama yaşı 3 yaştır. Şelasyon tedavisine başlama yaşı ve portal fibrozis arasında anlamlı bir ilişki bulunmuştur ($p<0.05$). Bu da şelasyon tedavisine erken başlanmasının, karaciğer fibrozisini azalttığı görüşünü desteklemiştir.

Çalışma grubumuzda retikülin kollapsı ve kaba çift konturun fibrozisin ağır olduğu vakalara belirgin olarak eşlik etmesi, fibrozisi olmayan dört hastanın üçünde görülmeyip, birinde fokal olarak görülmesi organ hasarının erken bulgusu olabileceğini göstermiştir.

Masera (44), Thakerngpol (70) ve Bhamarapravati (10) talassemili hastalarda hemosiderin birikimine bağlı hepatosit dejenerasyonu ve ferroasidofilik body saptamışlardır. Bizim çalışma grubumuzda da ferroasidofilik body bulunmuş ve lobül içi nekrozun derecelendirilmesinde kullanılmıştır.

Thakerngpol ve arkadaşlarının 30 talassemili hastada yaptıkları çalışmada karaciğer biyopsisinin elektron mikroskopla incelenmesinde demir yüklenmesi, kollajen miktarında artış, karaciğer hücre nekrozu, otofagositik evrede lizozomlar, ferritinle bağlantılı lameller yapıları içeren lizozomlar saptamışlardır. Hemosiderin dejeneratif mitokondriyonlarda, kupfer hücrelerinde ve dilate sinüzoidlerde izlenmiştir (71).

Talassemi majorlülü hasta grubumuzda elektron mikroskopla yaptığımız çalışmada, hepatositlerde ve kupfer hücrelerinde sitoplazmada serbest olarak, lizozomlarda ve mitokondriyonlarda demir birikimi saptanmıştır. Mitokondrial patoloji ve miyelin figürler izlenmiştir. Hepatositlerde yağ vakuolleri ve vakuoler dejenerasyon bulunmuştur. Kollajen artışı ve fibrozis saptanmıştır. Bu sonuçlar Thakerngpol'un çalışmasıyla uyumlu bulunmuştur (71).

Işık mikroskopunda fibrozis izlenmeyen üç hastada elektron mikroskopla fibrozis saptanmıştır. Bu da bize ışık mikroskobu bulguları gelişmeden organ hasarı başlayabileceğini göstermektedir.

Işık mikroskopunda 4+ portal fibrozis saptanan bir hastada, elektron mikroskopta fibrozis izlenmeyişi incelenen kesitin çok küçük olmasına bağlanmıştır.

Hasta grubumuzda saptanan ekstramedullar hematopoez Jean ve arkadaşları (31) ile Masera (44) ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarla uyumluluk göstermiştir.

Bizim çalışmamızda kemik iliğinin elektron mikroskopla incelenmesinde polikromatofil eritroblastlarda çekirdek ve sitoplazmada α zincir presipitatları, çekirdek kılıfında genişleme ve yer yer kayıplar, sitoplazmada membranöz yapılar içeren otofajik vakuoller ile hemosiderin içeren dejeneratif mitokondriyonlar saptanmıştır. Normoblastların bazısında hücre şeklinde anormallikler ile çekirdek kılıfında genişleme ve sitoplazmada α zincir presipitatları izlenmiştir. Retikülositlerde de hücre şeklinde bozulmalar, sitoplazmada elektron dens hemosiderin partikülleri içeren vakuoller saptanmıştır. Bu sonuçlar Fresco(27), Polliack(54) ve Vickramasinge'nin (73) yaptığı çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.

SONUÇLAR

Bu çalışmada β -talassemi major tanısı ile izlenen 19 olguluk hasta grubu ve 15 sağlıklı çocuktan oluşturulan kontrol grubunda hematolojik parametreler, karaciğer fonksiyon testleri ve demir metabolizması incelendi. Hasta grubunda klinik bulgular, hepatit markerları, batın ultrasonografisi, kemik iliği ve karaciğer biyopsi bulguları değerlendirildi.

1. Hasta grubunun boy gelişimleri değerlendirildiğinde normalin altında olan hastalar 14 yaş ve üzerinde bulundu. Bu hastalar şelasyon tedavisine geç başlanmış olanlardı.
2. Hasta grubunun transfüzyona başlama yaşı minimum 4 ay, maksimum 11 yaş, ortalama 2 yaş 6 ay bulundu. Transfüzyon sayısı total minimum 10, maksimum 250, ortalama 75 transfüzyon olarak bulundu.
3. Hasta grubunda üç hasta hariç, tamamı deferoxamine tedavisi alıyordu. Şelasyon tedavisine başlama yaşı minimum 3 yaş, maksimum 14 yaş ortalama 6 yaş 6 ay'dı.
4. Hasta grubu ve kontrol grubunun hematolojik parametreleri ortalama değerleri karşılaştırıldığında hemoglobin($p<0.0001$), hematokrit($p<0.0001$), retikülosit($p<0.025$), MCV($p<0.005$) değerleri arasında anlamlı bir farklılık saptanırken, MCH ve MCHC değerleri arasında ($p>0.05$) istatistiksel olarak farklılık bulunamadı.
5. Hasta grubu ve kontrol grubunun demir metabolizması ile ilgili testleri karşılaştırıldığında serum demiri($p<0.0001$), ferritini($p<0.0001$) ve transferrin saturasyon($p<0.0001$) değerleri ortalamaları arasında istatistiki olarak önemli farklılıklar saptandı.
6. Hasta grubu ve kontrol grubunun karaciğer fonksiyon testleri karşılaştırıldığında, iki grup arasında SGOT($p<0.0001$), SGPT($p<0.001$), total bilirubin($p<0.0001$), direkt bilirubin($p<0.0001$), alkalen fosfataz($p<0.025$) ve albumin($p<0.001$) ortalama değerleri açısından istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanırken total protein değerleri açısından ($p>0.05$) anlamlı bir farklılık saptanamadı.
7. Hasta grubunda HbsAg %10, AntiHbs %52, AntiHCV %15 olarak bulundu.
8. Batın ultrasonografisinde karaciğer ekojenitesi 11 hastada normal, 3 hastada hafif artmış ve 5 hastada da artmış olarak bulundu. Karaciğer ekojenitesi ile mezankimal hemosiderozis, parankimal hemosiderozis, portal fibrozis ve portal inflamasyon arasında ilişki saptanamadı ($p>0.05$).
9. Kemik iliğinde eritroid hiperplazi ve demir birikimi bulguları mevcuttu.
10. Karaciğer biyopsisinde parankimal ve mezankimal hemosiderozis değerlendirildi. Kemik iliği demir birikimi ile karaciğerde mezankimal hemosiderozis ($p<0.001$) ve parankimal hemosiderozis ($p<0.005$) arasında yakın bir korelasyon saptandı.

11. Hasta grubunda transfüzyon sayısı ile kemik iliği demir birikimi ($p < 0.0001$) mezankimal hemosiderozis ($p < 0.0001$) ve parankimal hemosiderozis ($p < 0.001$) arasında anlamlı ilişkiler bulundu.
12. Hasta grubunda serum demiri, ferritini yaşa göre normalin üzerinde, transferrin saturasyonu üst sınıra yakın saptandı.
13. Hasta grubunda serum ferritin değerleri ile parankimal hemosiderozis ($p < 0.01$), mezankimal hemosiderozis ($p < 0.01$), kemik iliği demir birikimi ($p < 0.025$) ve transfüzyon sayısı ($p < 0.0001$) arasında anlamlı ilişkiler bulundu.
14. Hasta grubunda SGOT ve SGPT değerleri ile portal fibrozis ve portal inflamasyon arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı ($p > 0.05$).
15. Karaciğer ekojenitesi ile portal fibrozis, portal inflamasyon ve karaciğer demir birikimi arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı ($p > 0.05$).
16. Hasta grubunda portal fibrozis ile ferritin ($p < 0.005$), transfüzyon sayısı ($p < 0.005$), mezankimal hemosiderozis ($p < 0.0001$), parankimal hemosiderozis ($p < 0.0001$) ve portal inflamasyon ($p < 0.001$) arasında önemli bir ilişki saptanırken, portal fibrozis ile yaş ($p < 0.05$) ve hepatomegali ($p < 0.025$) arasında daha az önemli ilişkiler saptandı.
17. Hasta grubunda şelasyon tedavisine başlama yaşı ile portal fibrozis arasında anlamlı bir ilişki bulunması ($p < 0.05$), şelasyon tedavisine erken başlanması gerektiğini göstermektedir.

Sonuçta talassemi majorlü hasta grubunda yaptığımız çalışmada karaciğer bulguları ve demir metabolizması ile ilgili testlerin sonuçları literatür ile uyumluluk gösterdi. Hepatitlerin demir yüklenmesi nedeniyle gelişen karaciğer hasarını artırması nedeniyle hastalar transfüzyon programına alınmadan önce aşılması gerektiği anlaşıldı. Şelasyon tedavisine organ hasarı gelişmeden, erken dönemde başlanması gerektiği saptandı.

Talassemi majorün küratif tedavisinin kemik iliği transplantasyonu olması nedeniyle; hastalara tanı konulur konulmaz, fazla transfüzyon almadan ve organ hasarı gelişmeden kemik iliği transplantasyonu yapılabilir. Talassemi majorlü hastanın ailesine mutlaka genetik danışma verilmeli ve prenatal tanı uygulanmalıdır. Hastaların tedavisi için uğraşmak yerine hastaların doğmasının önlenmesi kesin çözüm olacaktır.

ÖZET

Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Hematoloji Kliniğinde β -Talassemi major tanısıyla izlenen 19 hasta ve aynı yaş grubunda hemogloblin örneği Hb AA olan sağlıklı 15 çocuk çalışmaya alındı.

Hastalar ve kontrollerde hematolojik parametreler, demir metabolizması ve karaciğer fonksiyon testleri incelendi. Hastalarda ayrıca klinik bulgular,hepatit markerları, batın ultrasonografisi, kemik iliği ve karaciğer biyopsi bulguları değerlendirildi.

Hasta grubunda serum demiri ve ferritini yaşa göre normalin üzerinde, transferrin saturasyonu ise normalin üst sınıma yakın olarak bulundu.

Hasta grubu ve kontrol grubunun karaciğer fonksiyon testleri karşılaştırıldığında iki grup arasında SGOT ($p<0.0001$), SGPT($p <0.001$), total bilirubin ($p<0.0001$), direkt bilirubin ($p<0.0001$) ve albumin ($p<0.001$) ortalama değerleri açısından istatistiki olarak anlamlı bir farklılık saptanırken, total protein değerleri açısından ($p>0.05$) anlamlı bir farklılık saptanamadı.

Kemik iliğinde eritroid hiperplazi ve demir birikimi bulguları mevcuttu.

Hasta grubunda yapılan karaciğer biyopsisinde portal fibrozis, portal inflamasyon, periportal nekroz, lobül içi nekroz, safra kanalikülü harabiyeti, ekstra medullar hematopoez ve demir birikimi değerlendirildi.

Karaciğer fonksiyon testleri ile portal fibrozis ve portal inflamasyon arasında anlamlı bir ilişki saptanamadı($p>0.05$).

Kemik iliği demir birikimi ile mezankimal hemosiderozis ($p<0.001$) ve parankimal hemosiderozis ($p<0.005$) arasında anlamlı bir ilişki saptandı.Bu nedenle doku demir birikiminin değerlendirilmesinde öncelikle kemik iliğinin incelenmesinin daha kolay, kullanışlı ve noninvazif bir yöntem olacağı düşünüldü.

Karaciğer ekojenitesi ile demir birikimi,portal fibrozis ve inflamasyon arasında korelasyon saptanmadı ($p>0.05$). Bu nedenle karaciğer hasarının değerlendirilmesinde daha ileri görüntüleme yöntemlerine ihtiyaç olacağı anlaşıldı.

Hasta grubunda şelasyon tedavisine başlama yaşı ve portal fibrozis arasında anlamlı bir ilişki bulunması ($p<0.05$) tedaviye erken dönemde, organ hasarı gelişmeden başlanması gerektiğini gösterdi.

Hasta grubunda HbsAg %10, AntiHbs %52, AntiHCV %15 olarak bulunması transfüzyon rejimine başlamadan önce aşılama programına alınması gerektiğini gösterdi.

KAYNAKLAR

1. Aldouri MA, Wonke B, Hoffbrand AV: Iron state and hepatic diseases in patients with thalassemia major, treated with long-term subcutaneous desferrioxamine. *J Clin Pathol* 40:1351-1359, 1987.
2. Al-Refaie FN, Hershko C, Hoffbrand AV: Result of long-term deferiprone L₁) therapy: A report by the international study group on oral iron chelators. *Br J Haematol* 91:224-229, 1995.
3. Angelucci E, Baronciani D, Lucarelli G: Needle liver biopsy in thalassemia: analysis of diagnostic accuracy and safety in 1184 consecutive biopsies. *Br J Haematol* 89(4): 757-761, 1995.
4. Angelucci E, Baronciani D, Lucarelli G: Liver iron overload and liver fibrosis in thalassemia. *Bone Marrow Transplant.* 12 Suppl 1:29-31, 1993.
5. Arcasoy A, Çavdar A, Cin Ş: Türkiye talassemi ve anormal hemoglobin insidansı. TÜBİTAK Pediatrik Onkoloji ve Hematoloji Ünitesi Çalışmalarından; Ankara, 1987.
6. Bacon BR, Britton RS: Hepatic injury in chronic overload. Role of lipid peroxidation. *Chem Biol Interactions* 70: 183-226, 1989.
7. Bank A: The synthesis of globin. *General Hematology*. Williams SW, Beutler E, Erslev AJ, Lichtman AM, fourth edition 94-99, 1991.
8. Barry M, Flynn DM, Letsky EA: Long-term chelation therapy in thalassemia major: Effect on liver iron concentration, liver histology, and clinical progress. *Br Med J* 2:16-20, 1974.
9. Betke K, Marti H, Schlieht I: Estimation of small percentages of fetal hemoglobin. *Nature* 184: 1877, 1978.

10. Bhamarapravati N, Na-Nakorn S, Wasi P: Pathology of abnormal hemoglobin diseases seen in Thailand. *Am J Pathol* 47(6):745-758.
11. Borgna-Pignatti C, De Stepano P, Zontal L, et al: Growth and sexual maturation in thalassemia major. *J Pediatr* 106:150-155, 1985.
12. Bradbury P, Gordon KK: Connective tissues and stains. *Theory and Practice of Histological Techniques*. Bancroft JA, Stevens A (ed.), 95-120, Edinburgh 1977.
13. Briere RO, Golias T, Batsakis JG: Rapid qualitative and quantitative hemoglobin fractionation: Cellulose acetate electrophoresis. *Am J Pathol* 44:695-697, 1965.
14. Brittenham G: Development of iron-chelating agents for clinical use. *Blood* 80(3): 569-574, 1992.
15. Brittenham G, Cohen A, McLaren C: Hepatic iron stores and plasma ferritin concentration in patients with sickle cell anemia and thalassemic major. *Am J Hematol* 42:81-85, 1993.
16. Brittenham G, Griffith M, Nienhuis A: Efficacy of deferoxamine in preventing complications of iron overload in patient with thalassemia major. *N Engl J Med* 331(9):567-573, 1994.
17. Cazzola M, Borgna-Pignatti C, De Stefano P: Internal distribution of excess iron and sources of serum ferritin in patients with thalassemia. *Scand J Haematol* 30:289-296, 1983.
18. Chandrcharoensin-Wilde C, Chairongruangs, Jitnusun P: Gallstones in thalassemia. *Birth Defects*, 23(5B):263-267, 1988.
19. Cohen A, Martin M, Schwartz E: Depletion of excessive liver iron stores with desferrioxamine. *Br J Haematol* 58:369-373, 1984.
20. Cohen A, Witzleben C, Schwartz E: Treatment of iron overload. *Semin Liver Dis* 4(3):228-238, 1984.

21. Cook HC: Carbonhydrates. Theory and Practice of Histological Techniques. Bancroft JA, Stevens A (Ed.), 141-167, Edinburgh 1977.
22. Cooley TB, Lee P: Series of cases of splenomegaly in children with anemia and peculiar bone changes. Trans Am Pediatr Soc 37:29-34, 1925.
23. Costin G, Kogut MD, Hyman CB, et al: Endocrine abnormalities in thalassemia major. Am J Dis Child 133:497-502, 1979.
24. De Virgiliis S, Cornacchia G, Sanna G: Chronic liver disease in transfusion dependent thalassemia: Liver iron quantitation and distribution. Acta Heamatol 65:32-39, 1981.
25. De Virgiliis S, Sanna G, Cornacchia G: Serum ferritin, liver iron stores and liver histology in children with thalassemia. Arch Dis Child 55:43-45, 1980.
26. Fargion S, Taddei MT: Early iron overload in beta-thalassemia major. When to start chelation therapy. Arch Dis child 57:929, 1982.
27. Fresco R: Electron microscopy in the diagnosis of the bone marrow disorders of the erytroid series. Semin Hematol 18(4):279-292, 1981.
28. Fung KP, Chow OK, Yven PM: Pulmonary function in thalassemia major. J Pediatr 111:534, 1987.
29. Gordeuk VR, Bacon BR, Brittenham G: Iron overload: Causes and consequences. Ann Rev Nutr, 7:485-508, 1987.
30. Hayran M, Özdemir O: Bilgisayar istatistik ve tıp. Birinci baskı. Hekimler Yayın Birliği, Ankara 1995.
31. Jean G, Terzoli S, Mauri R: Cirrhosis associated with multiple transfusions in thalassemia. Arch Dis Child 59:67-70, 1984.

32. Kılınç Y: Tarsus ve yöresinde hemoglobinopati ve talassemi prevalansı. *Pediatric Hematology Uzmanlık Tezi*, Adana 1991.
33. Knisely AS: Iron and pediatric liver disease. *Semin Liver Dis* 14(3):229-235, 1994.
34. Knodell RG, Ishak KG, Black WC: Formulation and Application of a numerical scoring system for assessign histological activity in asymptomatic chronic active hepatitis. *Hepatology* 1(5):431-435, 1981.
35. Lee GR: Microcytosis and the anemias associated with impaired hemoglobin synthesis. *Wintrobe's Clinical Hematology*. Lee GR, Bithell TC, Foerster J, Athens JW and Lukens JN (Ed.), Ninth edition, Lea and Febiger, Philadelphia, 39; 791-807, 1993.
36. Lee GR: General principles. *Diagnostic Liver Pathology*, First edition, 1-21, 1994.
37. Lee GR: Storage and metabolik disorders. *Diagnostic Liver Pathology*, First edition, 237-280, 1994.
38. Locasciulli A, Monguzzi W, Tornotti G: Hepatitis C virus infection and liver disease in children with thalassemia. *Bone Marrow Transplant* 12 Suppl 1: 18-20, 1993.
39. Lucarelli G, Angelucci E, Giardini C: Fate of iron stores in thalassemia after bone-marrow transplantation. *Lancet* 342: 1388-1391, 1993.
40. Lucarelli G, Galimberti M, Polchi P, et al: Bone marrow transplantation in patients with thalassemia. *N Engl J Med* 322: 417-412, 1991.
41. Lukens JN: The thalassemias and related disorders: Quantitative disorders of hemoglobin synthesis. *Wintrobe's Clinical Hematology*. Lee GR, Bithell TC, Foerster J, Athens JV and Lukens JN (Ed.), Ninth edition, Lea and Febiger, Philadelphia, 39; 1102-1145, 1993.

42. Marcus RE, Huehns ER: Transfusional iron overload. *Clin Lab Haematol* 7: 195-212, 1985.
43. Masera G, Jean G, Conter V: Sequential study of liver biopsy in thalassemia. *Arch Dis Child* 55: 800-802, 1980.
44. Masera G, Jean G, Gazzola G: Role of chronic hepatitis in development of thalassemic liver disease. *Arch Dis Child* 51: 680-685, 1976.
45. Maurer HS, Lloyd-Still JD, Ingrisano C: A prospective evaluation of iron chelation therapy in children with severe β -thalassemia. *AJDC* 142: 287-292, 1988.
46. Mc Donagh Kevin T, Nienhuis A: The thalassemiias. *Hematology of Infancy and Childhood*. Nathan DG, Oski FA, WB Saunders Company, Philadelphia Fourth edition, 783-881, 1993.
47. Moroni GA, Piacentini G, Terzoli S, et al: Hepatitis B or non-A, non-B virus infection in multitransfused thalassemic patients. *Arch Dis Child* 59: 1127-1130, 1984.
48. Muretto P, Del Fiasco S, Angelucci E: Bone marrow transplantation in thalassemia: modifications of hepatic iron overload and associated lesions after long-term engrafting. *Liver* 14:14-24, 1994.
49. O'Brien RT: Iron overload: Clinical and pathologic aspects in pediatrics. *Semin Hematol* 14(1): 115-124, 1977.
50. Okon E; Levij IS, Rachmilewitz EA: Splenectomy, iron overload and liver cirrhosis in β -thalassemia major. *Acta Haematol* 56: 142-150, 1976.
51. Olivieri NF, Buncic JR, Chew E: Visual and auditory neurotoxicity in patients receiving subcutaneous deferoxamine infusions. *N Engl J Med* 314: 869, 873, 1986.

52. Omata M, Liew C, Ashcavai M: Nonimmunologic binding of horse radish peroxidase to hepatitis B surface antigen. *Am J Clin Pathol* 73: 626-632, 1980.
53. Piomelli S, Loew T: Management of thalassemia major (Cooley's Anemia). *Hematol Oncol Clin North Am* 5(3): 557-567, 1991.
54. Polliack A, Rachmilewitz EA: Ultrastructural studies in β -thalassemia major. *Br J Haematol* 24: 319-326, 1972.
55. Pootrakul P, Huebers HA, Finch CA: Iron metabolism in thalassemia. *Birth Defects*, 25(1B): 3-8, 1988.
56. Popper H, Paronetto F, Perez V: Studies on hepatic fibrosis. *Lab Invest* 10: 265-290, 1961.
57. Propper RD, Copper B, Rufo RR: Continuous subcutaneous administration of deferoxamine in patients with iron overload. *N Engl J Med* 297: 418-420, 1977.
58. Propper RD, Shurin SB, Nathan DG: Reassessment of the use of desferrioxamine in iron overload. *N Engl J Med* 294: 1421-1423, 1976.
59. Ranney HM, Sharma V: Structure and function of hemoglobin. *General Hematology Williams SW, Beutler E, Erslev AJ, Lichtman AM(Ed), Fourth edition* 377-388, 1991.
60. Romcai D, Tositarat T, Kulapongs P: Activities of liver cell-producing coagulation factors in thalassemic children. *Birth Defects*, 23(5B): 237-243, 1988.
61. Rosatelli MC: Thalassemia intermedia resulting from a mild β -thalassemia mutation. *Blood* 73: 601-605, 1989.8

62. Rouault TA: Hereditary hemochromatosis. *JAMA* 269(24): 3152-3154, 1993.
63. Rubella P, Modell B: Transfusion requirements and in patients with thalassemia major. *Lancet* 337(2): 277-280, 1991.
64. Saenger P, Schwartz E, Markenson AL, et al: Depressed serum somatomedin activity in β -thalassemia. *J Pediatr* 96: 214-218, 1980.
65. Segel GB, Oski FA: Hematology of the newborn. *General Hematology*. Williams SW, Beutler E, Erslev AJ, Lichtman AM (Ed). Fourth edition, 100-111, 1991.
66. Serbest M, Aksaray N, Alhan E, et al: Hepatitis C in childhood hemoglobinopathies in South of Turkey. First Clinical and Microbiological studies, Proceedings of the 18th International Congress of Chemotherapy, 628-629, 1993.
67. Sherlock S, Dooley J: Iron overload states. *Disease of the Liver and Biliary System*, Ninth edition, 1993.
68. Stevens A: The haematoxylin. *Theory and Practice of Histological Techniques*. Bancroft JD, Stevens A (Ed.), 85-94, Edinburgh 1977.
69. Stevens A: Pigments and minerals. *Theory and Practice of Histological Techniques*. Bancroft JD, Stevens A M(Ed.), 186-208, Edinburgh 1977.
70. Thakerngpol K, Sonakul D, Fucharven S: Histochemical study of liver tissue from thalassemic patients. *Birth Defects* 23(5B): 193-198, 1988.
71. Thakerngpol K, Sonakul D, Fucharven S: Electron microscopic study of liver tissue from 30 thalassemic patients. *Birth Defects*, 25(B): 199-206, 1988.
72. Walters MC, Thomas DE: Bone marrow transplantation for thalassemia. *Am J Pediatr Oncol* 16(1): 11-17, 1994.

73. Wickramasinghe SN, Hughes M: Some features of bone marrow macrophages in patients with homozygous β -thalassemia. *Br J Haematol* 38: 23-28, 1978.
74. Wolfe L, Olivieri N, Sallan D, et al: Prevention of cardiac disease by subcutaneous desferrioxamine in patients with thalassemia major. *N Engl J Med* 312:1600-1603, 1985.

