

TC
TRAKYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TRAKYA BÖLGESİNDE, α - TALASEMİ ÖN TANILI HASTALARDA, α -
GLOBİN VARYASYONLARI SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI

NIHAN ALIŞYA ERMAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

TEZ DANIŞMANI: DOC. DR. HİLMİ TOZKIR

EDİRNE -2019

NİHAN ALIŞYA ERMAN'ın hazırladığı "TRAKYA BÖLGESİNDE, α - TALASEMİ ÖN TANILI HASTALARDA, α - GLOBİN VARYASYONLARI SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI" başlıklı bu tez, tarafımızca okunmuş, kapsam ve niteliği açısından Biyoteknoloji ve Genetik Anabilim Dalında bir Yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Doc. Dr. Hakan GÜRKAN

Doc. Dr. Çiğdem KEKİK ÇINAR

Doc. Dr. Hilmi TOZKIR

İmza



Tez Savunma Tarihi: 27/06/2019

Bu tezin Yüksek Lisans/~~Doktora tezi~~ olarak gerekli şartları sağladığımı onaylarım.

İmza

Doc. Dr. Hilmi TOZKIR

Tez Danışmanı

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı



Prof. Dr. Murat YURTCAN
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

T.Ü.FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOTEKNOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI YÜKSEK LİSANS
PROGRAMI DOĞRULUK BEYANI

Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında, tüm verilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edildiğini, kullanılan verilerde tahrifat yapılmadığını, tezin akademik ve etik kurallara uygun olarak yazıldığını, kullanılan tüm literatür bilgilerinin bilimsel normlara uygun bir şekilde kaynak gösterilerek ilgili tezde yer aldığını ve bu tezin tamamı ya da herhangi bir bölümünün daha önceden Trakya Üniversitesi ya da farklı bir üniversitede tez çalışması olarak sunulmadığını beyan ederim.

27/ 06/ 2019

Nihan Alişya ERMAN

İmza

Yüksek Lisans Tezi

Trakya Bölgesinde, Alfa Talasemi Ön Tanılı Hastalarda, Alfa Globin Geni Varyasyonları Sıklığının Araştırılması

T.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoteknoloji ve Genetik

ÖZET

Dünya’da en sık görülen kalıtsal kan hastalıkları Hemoglobinopatiler iki ana gruba ayrılır; Talasemiler ve anormal hemoglobinler. Talasemiler hemoglobinin yapısında yer alan globin zincirin olması gerekenden az sentezlenmesi ya da hiç sentezlenmemesi sonucu meydana gelen otozomal resesif hastalıklardır. Alfa globin zincirinde meydana gelen anomaliler sonucu Alfa Talasemi’ler ortaya çıkar. Türkiye’de α -globin *Strip Assay* yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen birçok çalışmada en sık olarak $\alpha^{3,7}$ ve $\alpha^{4,2}$ tek gen delesyonlarına rastlandığı bildirilmiştir. Çalışmalarda Alfa Talasemi taşıyıcı sıklıları ve varyasyonların frekansları belirlenmiş, literatürde yerini almıştır. Fakat literatürde, Trakya popülasyonunda Alfa Talasemi taşıyıcı sıklığı ya da varyasyon frekansı ile ilgili veriler bulunmamaktadır. Bu çalışmada Trakya popülasyonunda yaşayan, alfa talasemi ön tanısına sahip, birbirleri ile akrabalık bağı bulunmayan, demir eksikliği anemisi ve Beta Talasemi yönünden dışlanmış, daha önce *MLPA* yöntemi ile çalışılan ve herhangi bir Alfa Talasemi mutasyonu saptanmayan olguların *Strip Assay* yöntemi ile Alfa Talasemi varyasyonlarının belirlenmesi amaçlanmıştır. Çalışmada 59 olgunun 3’ünde MED çift gen delesyonu, 1’inde $\alpha\alpha^{\text{anti}3,7}$ gen triplikasyonu ve 1’inde $\alpha^{20,5}$ çift gen delesyonu tespit edilmiştir. Daha önce *MLPA* ile herhangi bir varyasyon saptanmayan 59 olgunun 5’inde, *Strip Assay* ile varyasyon saptanmıştır. Elde edilen veriler doğrultusunda, Alfa talasemi varyasyonlarının saptanmasında *Strip Assay* yöntemini, *MLPA* yöntemine %8,47 oranında katkıda bulunduğu tespit edilmiştir.

Yıl : 2019

Sayfa Sayısı : 98

Anahtar Kelimeler : α –Talasemi, Strip Assay, α -Globin, Trakya, Edirne

Master Thesis

Investigation of the Frequency of Alpha Globin Gene Variations in Thrace Region,
Patients with Preliminary Diagnosis of Alpha Thalassemia

TU Institute of Science and Technology

Biotechnology and Genetics

ABSTRACT

Hemoglobinopathies are the most common hereditary blood diseases in the world. Hemoglobinopathies are divided into two groups; Thalassemias and abnormal hemoglobin. Thalassemias are autosomal recessive diseases that occur as a result of less expression or no synthesis of the globin chain in the hemoglobin structure. Alpha-thalassemia occurs as a result of anomalies in the alpha globin chain. In many studies carried out using α -globin strip assay method in Turkey, it has been reported most frequently encountered $\alpha^{3,7}$ and $\alpha^{4,2}$ single gene deletions. In the previous studies, frequencies of Alpha thalassemia carriers and the frequencies of variations have been determined and have taken place in the literature. However, in the literature, there is no data on the frequency of alpha thalassemia carriers or the frequency of variation in the Thrace population. The aim of this study was to determine Alpha Thalassemia variations with Strip Assay method in Thracian patients, who had a diagnosis of alpha thalassemia, were not related to each other, excluded from anemia and Beta-thalassemia, also had previously been studied with *MLPA* method and did not have any Alpha Thalassemia mutation with this method. As a result 3 of the 59 cases had MED double gene deletion, 1 $\alpha\alpha^{\text{anti}3,7}$ gene triplication and 1 $\alpha^{20,5}$ double gene deletion. In 5 of 59 patients who could not be detected any variation with *MLPA*, variation was determined by *Strip Assay* method. In terms of the data obtained, the *Strip Assay* method contributes 8,47% to the *MLPA* method for the detection of Alpha thalassemia variations.

Year : 2019

Number of Pages : 98

Keywords : α – Thalassemia, Strip Assay, α -Globin, Thrace, Edirne

TEŞEKKÜR

Bu proje Trakya Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2018/289 numaralı bilimsel araştırma projesi olarak desteklenmiştir.

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım tez danışmanım, değerli hocam Doç. Dr. Hilmi TOZKIR'a,

Öęrencilięimden beri, her zaman benim eğitimime ve gelişimime katkıda bulunan Anabilim Dalı Başkanımız saygı değer hocam Doç. Dr. Hakan GÜRKAN'a,

Tez çalışmam ve yazımı sırasında destek ve ilgisini benden esirgemeyen Uzm. Bio. Damla EKER, Dr. Öğr. Gör. Yasemin ÖZEN, Uzm. Bio. Ebru GÖNCÜ ve Öğr. Gör. Engin ATLI'ya

Tüm çalışma arkadaşlarıma, sevgili aileme, Metin'e ve Fidel'e teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	IV
ABSTRACT	V
TEŞEKKÜR	VI
İÇİNDEKİLER	VII
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	X
ÇİZELGELER DİZİNİ	XI
BÖLÜM 1: GİRİŞ ve AMAÇ	1
BÖLÜM 2: GENEL BİLGİLER	3
2.1. Hemoglobin Molekülü.....	3
2.1.1. Hem Molekülü.....	4
2.1.2. Globin Zincirleri.....	4
2.1.2.1. Globin Zincir Gen Yapısı.....	5
2.1.2.1.1. Alfa Globin Gen Kümesi.....	6
2.1.2.1.2. Beta Globin Gen Kümesi.....	6
2.2. Hemoglobin Molekülünün Kalıtsal Bozuklukları.....	7
2.2.1. Anormal Hemoglobinler.....	8
2.2.1.1. En Sık Rastlanan Anormal Hemoglobin Varyantları.....	8
2.2.1.2. Türkiye’de Anormal Hemoglobin Çalışmaları.....	10
2.2.2. Talasemiler.....	13
2.2.2.1. Beta Talasemi.....	13
2.2.2.1.1. Beta Talasemi’nin Klinik Sınıflandırılması.....	14
2.2.2.1.2. Beta Talasemi’nin Epidemiyolojisi.....	15
2.2.2.2. Alfa Talasemi.....	16
2.2.2.2.1. Alfa Talasemi’nin Sınıflandırılması.....	17
2.2.2.2.1.1. Delesyonel Alfa Talasemiler.....	17

2.2.2.2.1.1.1. α^0 Alfa Talasemiler	17
2.2.2.2.1.1.2. α^+ Alfa Talasemiler	20
2.2.2.2.1.2. Nondelesyonel Alfa Talasemiler.....	23
2.2.2.2.2. Alfa Talasemilerin Klinik Durumlarına Göre Sınıflandırılması.....	30
2.2.2.2.2.1. Sessiz Taşıyıcı (α^+).....	32
2.2.2.2.2.2. Ağır Alfa Talasemi Taşıyıcılığı (Hemoglobin Trait)(α^0).....	32
2.2.2.2.2.3. Hemoglobin H Hastalığı.....	33
2.2.2.2.2.4. Hemoglobin Bart's (Hidrops fetalis) Sendromu.....	35
2.2.2.2.3. Alfa Talasemi'nin Epidemiyolojisi.....	36
2.2.2.2.4. Alfa Talasemi'lerin Hematolojik Tanısı.....	43
2.2.2.2.5. Alfa Talasemi'lerin Moleküler Tanısı.....	45
BÖLÜM 3: GEREÇ VE YÖNTEM.....	47
3.1. Gereçler.....	47
3.1.1. Cihazlar.....	47
3.1.2. Kimyasal Malzemeler.....	47
3.2. Yöntem.....	48
3.1.3. Örnek Seçimi.....	48
3.1.4. Vienna Lab Diagnostics Alfa Globin Strip Assay Yöntemi.....	48
3.1.5. Tez Çalışmasının Yöntemi.....	52
BÖLÜM 4: BULGULAR.....	55
BÖLÜM 5: TARTIŞMA.....	66
BÖLÜM 6: SONUÇ.....	74
KAYNAKLAR.....	76
EK.....	86
ÖZGEÇMİŞ.....	87

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

Hb	: Hemoglobin
RBC	: Eritrosit
MCV	: Ortalama eritrosit hacmi
MCH	: Ortalama eritrosit hemoglobini
RDW	: Eritrosit dağılım genişliği
α	: Alfa
β	: Beta
ψ	: Psi
ζ	: Zeta
γ	: Gama
θ	: Teta
δ	: Delta
ϵ	: Epsilon
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
$\alpha^{3,7}$: 3.7 kb tek gen delesyonu
$\alpha^{20,5}$: 20.5 kb çift gen delesyonu
MED	: MED çift gen delesyonu
α_2PolyA-1	: Alfa 2 poliadenil A-1 nokta mutasyonu
$\alpha^{4,2}$: Alfa 4.2 kb tek gen delesyonu
α_2IVS1^(-5nt)	: Alfa IVS-1 ^(-5nt) nokta mutasyonu
α_2PolyA-2	: Alfa 2 poliadenil A-2 nokta mutasyonu
$\alpha\alpha^{\text{anti}3.7}$: Alfa 3,7 gen triplikasyonu
HBA	: Alfa globin geni
HBB	: Beta globin geni

ŞEKİLLER DİZİNİ

- Şekil 2.1** : Hemoglobin Molekülünün Yapısı.
- Şekil 2.2** : Yaşamın Değişik Dönemlerinde (Embriyo-Fetus-Erişkin) Globin Zincirleri ve Genleri.
- Şekil 2.3** : Doğumdan Önce ve Doğumdan Sonra Sentezlenen Globin Zincirleri.
- Şekil 2.4** : Alfa Benzer Globin Genleri.
- Şekil 2.5** : Beta Benzer Globin Genleri
- Şekil 2.6** : Hemoglobinopatilerin Yeryüzündeki Dağılımları
- Şekil 2.7** : Alfa Talasemi Delesyonları
- Şekil 2.8** : α^0 Alfa Talasemi Delesyonları
- Şekil 2.9** : X,Y,Z Bölgeleri Arasındaki Crossover'lar
- Şekil 2.10** : α^+ Alfa Talasemi Delesyonları
- Şekil 2.11** : Alfa Talasemi'nin Klinik Formları
- Şekil 3.1** : Alfa Globin Strip Assay Kitindeki Strip A.
- Şekil 3.2** : Alfa Globin Strip Assay Kitindeki Strip B.
- Şekil 3.3** : Stripler Üzerinde Oluşan Bantların Değerlendirilmesi.
- Şekil 3.4** : Bantların Değerlendirilmesinde Örnek Strip Görüntüleri.
- Şekil 3.5** : Tecan ProfiBlot T48 Cihazı
- Şekil 4.1** : Çalışmaya Dâhil Edilen Olguların Dağılımı.
- Şekil 4.2** : Çalışmaya Dâhil Edilen Olguların Yaşa Göre Dağılımları.
- Şekil 4.3** : Test Kapsamındaki 21 Varyasyondan Tespit Edilen 3 Varyasyonun Pasta Grafik Dağılımı.
- Şekil 4.4** : Çalışma Sonunda Elde Edilen Bulguların Strip Görüntüleri.

ÇİZELGELER DİZİNİ

- Çizelge 2.1** : Yetişkin Bireyin Hemoglobin Elektroforezinde Anormal Hemoglobin Varlığı.
- Çizelge 2.2** : Türkiye’de 2002-2004 Yılları Arasında Rapor Edilen Anormal Hemoglobinler.
- Çizelge 2.3** : 2014 Yılına Kadar Türkiye’de Tespit Edilmiş Anormal Hemoglobinler.
- Çizelge 2.4** : Türkiye’de Gerçekleştirilen Beta Talasemi Taşıyıcılığı Çalışmaları.
- Çizelge 2.5** : Nondelesyonel Alfa Talasemiye Neden Olan Mutasyonlar.
- Çizelge 2.6** : Uzamış Polipeptid Zincirine Sahip Hemoglobinler.
- Çizelge 2.7** : Alfa Talasemi’de Genotip-Fenotip İlişkisi.
- Çizelge 2.8** : Türkiye’den Bildirilen Alfa Talasemi Mutasyonu Allel Sıklığı
- Çizelge 2.9** : Alfa Talasemi Türlerine Göre Eritrosit İndeksleri
- Çizelge 2.10** : 1 Yaşından Sonra Alfa Talasemi Çeşidine Göre Gözlenen Hemoglobin Tipleri ve Oranları
- Çizelge 3.1** : Vienna Lab Diagnostics α -globin Strip Assay Testinde İncelenen Varyasyonlar.
- Çizelge 3.2** : PCR Reaksiyonları.
- Çizelge 3.3** : PCR Programı
- Çizelge 3.4** : Örneklerin Tray’e Yüklenmesi
- Çizelge 3.5** : Tecan ProfiBlot T48 Cihaz Çalışma Programı
- Çizelge 4.1** : Tez Çalışmasına Dâhil Edilen Olguların Hematolojik Verileri.
- Çizelge 4.2** : Tez Çalışmasına Dahil Edilen Olguların Hemoglobin Elektroforez Sonuçları.
- Çizelge 4.3** : Tez Çalışmasına Dahil Edilen Olguların Hematolojik Verilerinin İstatistik Sonuçları.

- Çizelge 4.4** : Tez Çalışmasına Dahil Edilen Olguların Hemoglobin Elektroforez Verilerinin İstatistik Sonuçları.
- Çizelge 4.5** : Çalışma Sonunda Elde Edilen Veriler ve Eritrosit İndeksleri.
- Çizelge 4.6** : Çalışma Sonunda Elde Edilen Veriler ve Hemoglobin Elektroforezleri.
- Çizelge 4.7** : Çalışma Sonucunda MED Çift Gen Delesyonu Saptanan 3 Olgunun Eritrosit İndeksleri İçin Ortalama İstatiksel Verileri.
- Çizelge 4.8** : Çalışma Sonucunda MED Çift Gen Delesyonu Saptanan 3 Olgunun Hemoglobin Elektroforezi Değerleri İçin Ortalama İstatiksel Verileri.
- Çizelge 4.9** : Alfa Talasemi Varyasyonlarının Genotip Dağılımları ve Sıklıkları
- Çizelge 4.10** : Alfa Talasemi Mutasyon Genotipine Göre Ortalama Eritrosit İndeksleri.
- Çizelge 4.11** : Alfa Talasemi Mutasyon Genotipine Göre Ortalama Hemoglobin Elektroforezi Değerleri.
- Çizelge 5.1** : Türkiye'nin Çeşitli Yerlerinde Yapılan Çalışmalarda Alfa Talasemi Allel Frekansları

BÖLÜM 1

GİRİŞ ve AMAÇ

Hemoglobinopatiler Dünya’da en sık görülen kalıtsal kan hastalıklarıdır. Talasemiler ve anormal hemoglobinler olarak iki ana sınıfa ayrılmaktadırlar.

Talasemiler, hemoglobin molekülünün yapısında yer alan globin zincirlerinde meydana gelen yapısal bozukluklara bağlı olarak (bir ya da daha fazla globin zincirinin eksik ya da hatalı olması / az sentezlenmesi ya da hiç sentezlenmemiş olması) ortaya çıkan otozomal resesif kalıtılan hastalıklardır. Alfa globin zincir sentezinin eksik olması, ya da α (alfa) globin zincirinin hiç sentezlenememesiyle Alfa Talasemi hastalığı ortaya çıkar. Alfa Talasemi’de, 16. kromozomun kısa kolu (*16p13.3*) üzerinde bulunan α -globin geninde meydana gelen delesyon, duplikasyon, nokta mutasyonları gibi kromozom anomalileri ve bu anomalilerin birbirleri ile kombinasyonları, popülasyonlar arasında farklılık göstermekte ayrıca hastalığın hematolojik fenotipini ve klinik şiddetini de etkilemektedir.

Talasemilerin, daha önce, Akdeniz ülkeleri, Ortadoğu, Güney Çin, Hindistan, Güneydoğu Asya ve Afrika’da yaygın olduğu bilinmekteydi. Fakat Avrupa Amerika ve Avustralya’ya yapılan göçlerle nedeniyle Talasemiler günümüzde Dünya üzerinde yaygın bir dağılım göstermeye başlamıştır. Ülkemiz, yeryüzündeki konumu, Akdeniz kuşağında yer alması, farklı etnik kökenlerden oluşması ve göç alması/göç yolları üzerinde bulunması gibi nedenlerle çeşitli Alfa Talasemi genotiplerine ev sahipliği yapmaktadır.

Daha önce Adana, Isparta, Hatay, İstanbul, İzmir gibi Türkiye’nin çeşitli bölgelerinde α -globin *Strip Assay* yöntemi kullanılarak Alfa Talasemi çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarda Alfa Talasemi taşıyıcı sıklıkları ve varyasyonların

frekansları belirlenmiş, literatürde yerini almıştır. Fakat literatürde, Trakya popülasyonunda Alfa Talasemi taşıyıcı sıklığı ya da varyasyon frekansı ile ilgili veriler bulunmamaktadır.

Bu çalışmada Trakya popülasyonunda yaşayan, alfa talasemi ön tanısına sahip, birbirleri ile akrabalık bağı bulunmayan, demir eksikliği anemisi ve Sanger Dizileme yöntemiyle Beta Talasemi yönünden dışlanmış, daha önce *MLPA* yöntemi ile çalışılan ve herhangi bir Alfa Talasemi mutasyonu saptanmayan olguların *Strip Assay* yöntemi ile Alfa Talasemi varyasyonlarının belirlenmesi amaçlanmıştır.

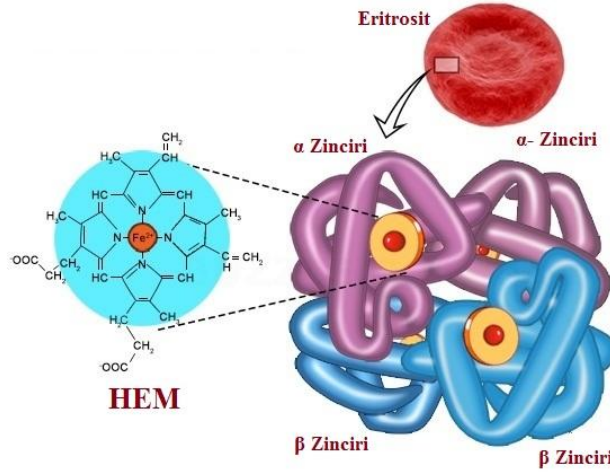


BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

2.1. Hemoglobin Molekülü

Vücutta oksijenin dokulara taşınması eritrosit adı verilen kan hücreleri sayesinde gerçekleşir. Eritrositler bu görevi yapılarındaki hemoglobin molekülü (Hb) sayesinde yerine getirirler (Schecher,2008; Higgs vd., 2012). Her eritrosit yaklaşık olarak 300 milyon hemoglobin içerir (Cappellini, 2016).



Şekil 2.1: Hemoglobin molekülünün yapısı.

Hemoglobin dört globin zinciri ve her bir zincire kovalent olarak bağlanmış hem halkalarından oluşan tetramerik bir proteindir. Her bir hemoglobindeki hem yapıları birbirleriyle aynıken, globin zincirlerinin, aminoasit dizileri ve sayıları birbirinden farklıdır (Polat, 1995; Güzelgöl, 2010).

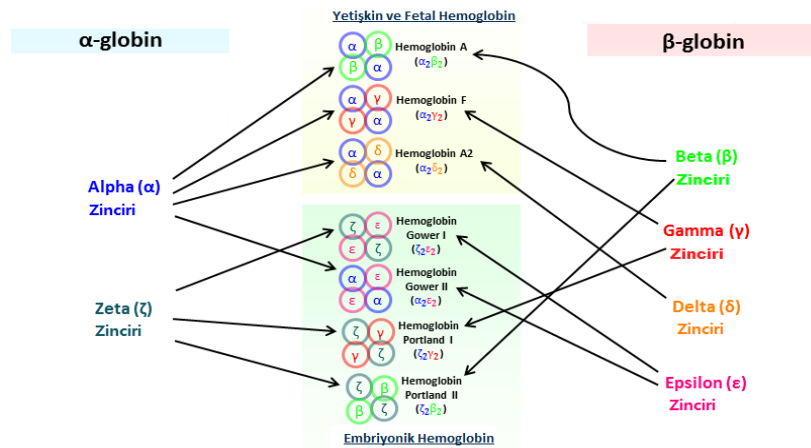
2.1.1.Hem Molekülü

Hem, oksijene bağlanma özelliğine sahip Fe^{+2} (ferröz demir) atomu ve 4 pirol halkasından meydana gelen *protoporfirin IX* halkasından oluşur (Cappellini, 2016). Eritrositlere kırmızı rengini veren Hem yapısıdır (Güzelgül, 2010).

2.1.2.Globin Zincirleri

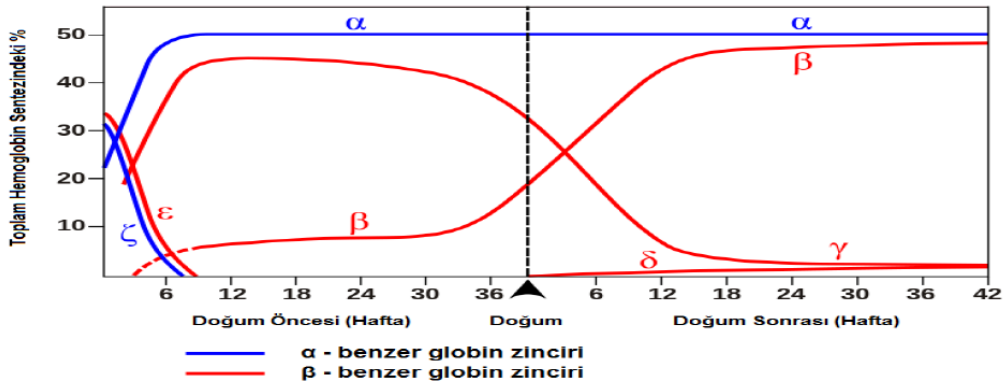
Hemoglobin elektroforezinde, yetişkin sağlıklı bireylerin hemoglobinlerinin yaklaşık %95-97'si Hb A, %2-3'ü Hb A2 ve %1'den daha azı Hb F'tir (Vergin, 2008). Hb A, iki alfa (α) globin ve iki beta (β) globin zincirlerinden (Hb A, $\alpha_2\beta_2$) oluşur. Hb A2, iki alfa (α) globin ve iki delta (δ) globin zincirlerinden (Hb A2, $\alpha_2\delta_2$) meydana gelir, Hb F ise, iki alfa (α) globin ve iki gama (γ) globin zincirlerinden (Hb F, $\alpha_2\gamma_2$) oluşmuştur (Polat, 1995;Güzelgül, 2010).

İnsan yaşamının değişik dönemlerinde (embriyo-fetus-erişkin) globin zincirlerinin yapıları gelişimsel farklılıklar gösterir (Salomon, 2013). Yaşamın değişik dönemlerinde farklılık gösteren globin zincirleri ve yapıları şekil 2.2'de gösterilmiştir (Bozkurt, 2016). Globin zincirlerinin yapılarının değişmesi üretilen hemoglobin çeşidini de değiştirir. Yaşamın belirli dönemlerinde farklı hemoglobin türlerinin üretilmesi ve durdurulması işlemi hemoglobin "switching" olarak adlandırılır (Cappellini, 2016).



Şekil 2.2:Yaşamın değişik dönemlerinde (embriyo-fetus-erişkin) globin zincirleri ve genleri.

Embriyonel hemoglobinler [Gower-1 ($\zeta_2\varepsilon_2$), Gower-2 ($\alpha_2\varepsilon_2$) ve Portland ($\zeta_2\gamma_2$)] gebeliğin 3-10. haftalarında yolk kesesinde sentezlenen hemoglobinlerdir (Salomonvd., 2013) Megaloblastların yapısında yer alarak dolaşıma katılırlar (Polat, 1995). Embriyonel hemoglobinler yenidoğan dönemi ve sonrasında sentezlenmezler (Karakaş, 2014). Gebeliğin dokuzuncu haftasından sonra hematopoez görevi yolk kesesinden karaciğere geçtiğinde embriyonel hemoglobinler yerine fetal hemoglobinler sentezlenmeye başlar (Polat, 1995;Schecher, 2008). Doğum yaklaştıkça Hb F miktarı giderek azalırken Hb A miktarı ise artar. HbF miktarı doğumdan önce %40-50 oranında, yeni doğmuş 6 aylık bebekte % 5'in altına bir yaşından sonra %2'nin altında 3-4 yaşında ise % 1'in altına düşerek yetişkinlerdeki düzeyine iner (Bozkurt, 2016). Hb A ($\alpha_2\beta_2$) gebeliğin dördüncü haftasından sonra sentezlenmeye başlar, doğumda toplam hemoglobinin %30'una ulaşır. Doğumdan sekiz hafta sonra toplam hemoglobinin %50'si, altı ay sonra ise toplam hemoglobinin %95 ini oluşturur. Hb A2 ($\alpha_2\delta_2$) ise doğumdan sonra sentezlenmeye başlar ve yaşam boyu toplam hemoglobinin %1,5-3,5'ini oluşturur (Schecher, 2008).Doğumdan önce ve doğumdan sonra sentezlenen globin zincirleri şekil 2.3.'de gösterilmiştir (Bozkurt, 2016).



Şekil 2.3: Doğumdan önce ve doğumdan sonra sentezlenen globin zincirleri

2.1.2.1. Globin Zincir Gen Yapısı

İnsan globin zincirlerinin sentezlenmesinde görevli genler alfa globin gen kümesi ve beta globin gen kümesi olarak başlıca iki grupta toplanırlar (Zhengvd., 2013). Globin genleri mendeliyen kalıtım gösterirler ve birbirleri ile kodominanttır (Bozkurt, 2016).

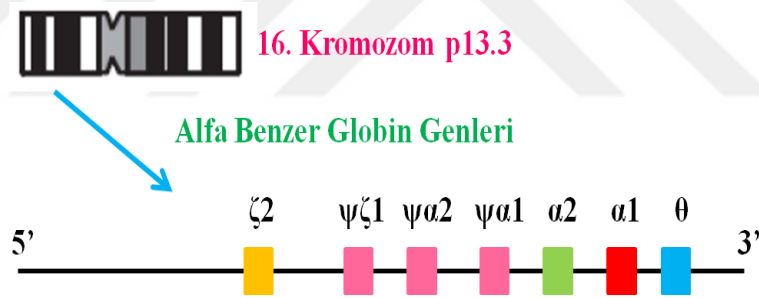
2.1.2.1.1. Alfa Globin Gen Kümesi

İnsanlardaki alfa globin gen kümesi 16. kromozomun 13.3 lokusundaki konumlanmıştır (Tang vd., 2006; Tang vd., 2008).

Alfa globin gen kümesinin iki intron ve üç ekzon bölgesi vardır. İlk ekzon 31, ikinci ekzon 68 ve üçüncü ekzon 42 toplamda 141 aminoasit kodlar (Güzelgöl, 2010; Barbour vd., 2000).

Alfa globin gen kümesi, üç psödogen ($-\psi\zeta_1$, $-\psi\alpha_1$, $-\psi\alpha_2$) ve dört işlevsel genden ($-\zeta_2$, $-\alpha_2$, $-\alpha_1$, $-\theta$) meydana gelir (Güzelgöl, 2010; Higgs vd., 1989).

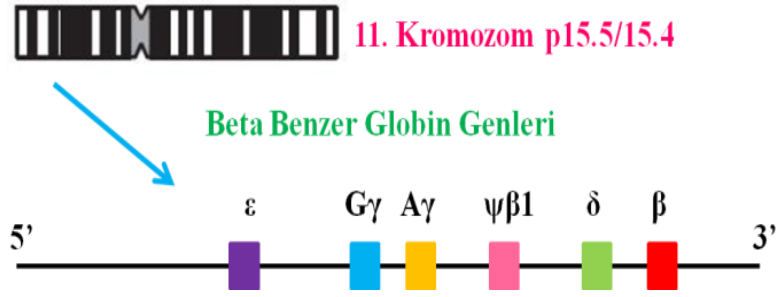
İşlevsel genler *HBZ* (OMIM 142310), *HBA2* (OMIM 141850), *HBA1* (OMIM 141800) ve *HBQ*'dur (OMIM 142240). Alfa globin gen kümesinin 5'→3' doğrultusunda *HBA2* genine α_2 , *HBA1* genine α_1 isimleri verilir. Bu genlerin kontrolü *HS-40* düzenleyici bölgesi tarafından yapılmaktadır (Schecher, 2008; Hartevelde vd., 2010; Karakaş, 2014).



Şekil 2.4: Alfa globin genleri (Güzelgöl, 2010).

2.1.2.1.2. Beta Globin Gen Kümesi

İnsanlardaki beta globin gen kümesi 11. kromozomun 15.5/15.4 lokusunda konumlanmıştır (Tang vd., 2008; Plant vd., 2001). Beta globin gen kümesi bir psödogen ($-\psi\beta_1$) ve beş işlevsel genden ($-\epsilon$, $-G\gamma$, $-A\gamma$, $-\delta$, $-\beta$) meydana gelir (Kutlar, 2014). Beta globin gen kümesinin de iki intron ve üç ekzon bölgesi vardır. İlk ekzon 30, ikinci ekzon 74 ve üçüncü ekzon 42 toplamda 146 aminoasit kodlar (Yüreğir'den aktaran Güzelgöl, 2010).



Şekil 2.5: Beta globin genleri (Güzelgöl,2010).

2.2.Hemoglobin Molekülünün Kalıtsal Bozuklukları (Hemoglobinopatiler)

Hemoglobin sentezinde görevli genlerde oluşan nokta mutasyonları, delesyonlar ve duplikasyonlar globin zincirinde değişikliklere neden olur ve hemoglobinopatiler meydana gelir (Dönbak 2005; Seydel, 2007). Hemoglobinopatiler, Dünya genelinde tek gen hastalıkları arasında en sık rastlananlardır (Sözen, 2000; Karakaş, 2014). Anormal hemoglobinler ve talasemiler hemoglobinopatilerin iki ana grubunu oluştururlar.



Şekil 2.6:Hemoglobinopatilerin yeryüzündeki dağılımları (Canatan, 2011).

Hemoglobinopatiler sıklıkla sıtmanın yaygın olduğu subtropik ve tropik bölgelerde görülür (Karakaş, 2014;Gökdoğan, 2015). Yapılan çalışmalarda, hemoglobinopatilerin sıtma etkeni *Plasmodium falciparum*'a karşı direnç geliştirmede etkili olduğu ve heterozigotları sıtmaya karşı koruduğu gösterilmiştir (Polat, 1995). Her ne kadar hemoglobinopatilerin kökeni tropik bölgeler olsa da, bu bölgelerden yapılan göçler, hemoglobinopatilerin yeryüzündeki dağılımı değiştirmiştir (Vergin, 2014).

2.2.1.Anormal Hemoglobinler

Anormal hemoglobinlerin büyük bir kısmı, globin genlerindeki nokta mutasyonlarından kaynaklanır. Globin genlerinde oluşan delesyonlar, globin zincirlerinin olması gerekenden daha kısa, insersiyonlar ise daha uzun olmasını neden olurlar. Bunların dışında, globin genleri arasında homolog olmayan “crossing over” sonucu anormal hibrid hemoglobinler de meydana gelir (Dönbak, 2005; Güzelgöl, 2010). Anormal hibrid hemoglobinler, anormal hemoglobinlerin sadece küçük bir grubunu oluştururlar (Huisman’dan aktaran Sözen, 2000).

2.2.1.1.En Sık Rastlanan Anormal Hemoglobin Varyantları

Günümüzde binden fazla anormal hemoglobin varyantı tanımlanmıştır (Bozkurt, 2016). Anormal hemoglobinler genel olarak etnik gruplara ve çeşitli iklimlere sahip yaşam alanlarına özgüdürler (Başak, 2001). Türkiye’de ve Dünya’da en sık rastlanan anormal hemoglobin varyantları genellikle beta globin zinciri ile ilişkili Hemoglobin C (Hb C), Hemoglobin D (Hb D), Hemoglobin E (Hb E), Hemoglobin S (Hb S) ve Hemoglobin O Arab (Hb O Arab)’tır (Altay ve Akar’dan aktaran Güzelgöl, 2010).

Hb C, beta globin zincirinin 6. pozisyonunda meydana gelen bir nokta mutasyonu sonucu, glutamik asit aminoasidi yerine lizin aminoasidinin kodlanmasıyla ortaya çıkar.

Hb D, beta globin zincirinin 121. pozisyonunda meydana gelen bir nokta mutasyonu sonucu, glutamik asit aminoasidi yerine glisin aminoasidinin kodlanmasıyla ortaya çıkar.

Hb E, beta globin zincirinin 26. pozisyonunda meydana gelen bir nokta mutasyonu sonucu, glutamik asit aminoasidi yerine lizin aminoasidinin kodlanmasıyla ortaya çıkar.

Hb S, diğer anormal hemoglobin varyantlarına kıyasla Türkiye’de en sık görülen anormal hemoglobin varyantıdır. Beta globin zincirinin 6. pozisyonunda meydana gelen bir nokta mutasyonu sonucu, glutamik asit aminoasidi yerine valin aminoasidinin kodlanmasıyla ortaya çıkar (Bozkurt, 2016). Beta globin zincirinin 6. pozisyonundaki aminoasit değişimi globin zincirinin yüzeyindeki bir bölgeye denk gelmektedir. Bu

durum hemoglobin tetramerlerinin oluşumunu zorlaştırır ve eritrositler orak şekli alır (Huisman'dan aktaran Sözen, 2000). Ebeveynlerinin her ikisinden de Hb S geni alan bireylerde orak hücre anemisi ("Sickle Cell Anemia", Orak Hücreli Anemi) görülür (Eleftheriou, 2015).

Hb O Arab, beta globin zincirinin 121. meydana gelen bir nokta mutasyonu sonucu, glutamik asit aminoasidi yerine lizin aminoasidinin kodlanmasıyla ortaya çıkar (Bozkurt, 2016).

Yetişkin olguların hemoglobin elektroforezinde anormal hemoglobinler ve talasemi türleri / demir eksikliği anemisi arasındaki ilişki Çizelge 2.1'de gösterilmiştir.

Çizelge 2.1: Yetişkin bireyin hemoglobin elektroforezinde anormal hemoglobin varlığı (Bozkurt, 2016).

HbA ve HbS birlikteliği	HbS %40-50	HbS > %50	HbS <%30 ve MCH <25 pg
	HbS β^+ talasemi?	HbS β^+ talasemi?	HbS'e eşlik eden alfa talasemi? Demir eksikliği anemisinin eşlik eden orak hücre anemisi taşıyıcısı?
HbA ve HbC birlikteliği	HbC %40-50	HbC>%50	HbC<%35
	HbC taşıyıcısı?	HbC β^+ ?	HbC'ye eşlik eden alfa talasemi? Demir eksikliği anemisi?
HbA ve HbD birlikteliği	HbD %40-50	HbD > %50	HbD <%30 ve MCH <25 pg
	HbD taşıyıcısı?	HbD β^+ ?	HbD'ye eşlik eden alfa talasemi? Demir eksikliği anemisi?
HbA ve HbE birlikteliği	HbE %35-50	HbE > %50	HbE <%25 ve MCH <25 pg
	HbE taşıyıcısı?	HbE β^+ ?	HbE'ye eşlik eden alfa talasemi? Demir eksikliği anemisi?
HbA ve HbOArab birlikteliği	HbOArab %40-50	HbOArab>%50	HbOArab<%30 ve MCH <25 pg
	HOArab?	HbOArab/ β^+ talasemi?	HbOArab'a Eşlik eden alfa talasemi? Demir eksikliği anemisi?

HbS oranı HbA oranından fazla olan olgularda HbA üretimi yüksek olan HbS β^+ -talasemiden şüphelenilebilir. Hb S oranı %50'den fazla olan olgularda ortalama eritrosit hemoglobini (MCH) değeri genellikle düşüktür. Bu olgularda HbS β^+ -talasemi göz önünde bulundurulmalıdır. Hb S oranı %30'un altında olan ve MCH değerinin 25 pg'dan düşük olduğu olgularda demir eksikliği anemisinin eşlik ettiği orak hücre anemisi taşıyıcılığı ya da HbS'e eşlik eden alfa talasemiden şüphelenilebilir. HbC değeri %40-50 oranında olan olguların HbC taşıyıcısı olmasından şüphelenilebilir. HbC oranı %50'den fazla olan olgularda MCH değeri genellikle 27 pg'dan azdır. Bu

olgularda HbC β^+ -talasemi göz önünde bulundurulmalıdır. HbC değeri %35'ten düşük olan olgularda demir eksikliği anemisi ya da HbC'ye eşlik eden alfa talasemiden şüphelenilebilir.HbD oranı %40-50 oranında olan olguların HbD taşıyıcısı olmasından şüphelenilebilir.HbD oranı %50'den fazla olan olgularda MCH değeri genellikle 27 pg'dan azdır. Bu olgularda HbD β^+ göz önünde bulundurulmalıdır. Hb D değeri %30'dan az olan ve MCH değeri 25 pg'dan düşük olan olgularda demir eksikliği anemisi ya da HbD'ye eşlik eden alfa talasemiden şüphelenilebilir.HbE oranı %35-50 oranında olan olguların HbE taşıyıcısı olmasından şüphelenilebilir.HbE oranı %50'den fazla olan olgularda HbE β^+ -talasemiden şüphelenilebilir.HbE taşıyıcılarında MCH değeri genellikle 27 pg'dan azdır. Bu olguların HbF düzeyi oranları % 4'ten fazladır ve hemoglobin düzeyleri azalmıştır.Hb E değeri %25'ten az olan ve MCH değeri 25 pg'dan düşük olan olgularda demir eksikliği anemisi ya da HbE'ye eşlik eden alfa talasemiden şüphelenilebilir.HbOArab değeri %40-50 olan olgularda HbOArab'dan şüphelenilebilir. HbOAraboranı %50'den fazla olan olgularda MCH değeri genellikle 27 pg'dan azdır. Bu olgularda HbOArab/ β^+ -talasemiden şüphelenilebilir.HbOArab değeri %30'dan az olan ve eritrosit hemoglobini MCH değeri 25 pg'dan düşük olan olgularda demir eksikliği anemisi ya da HbOArab'a eşlik eden alfa talasemiden şüphelenilebilir (Bozkurt, 2016).

2.2.1.2. Türkiye'de Anormal Hemoglobin Çalışmaları

Türkiye'de hemoglobinopati çalışmaları ilk kez 1950'li yıllarda Muzaffer Aksoy tarafından başlatılmıştır. 2002 yılında Çiğdem Altay, anormal hemoglobin çalışmalarını tarayarak Türkiye'de 42 çeşit anormal hemoglobin olduğunu ve en sık görülenlerinin Hb S, Hb D, Hb E, Hb O Arab olduğunu bildirmiştir (Altay, 2002a; Altay, 2002b). 1970'li yıllarda Arcasoy ve Çavdar çalışmalarında, Hb S sıklığının %0,26, Hb D sıklığının %0,12 ve Hb E sıklığının %0,03 olduğunu bildirmişlerdir. Arcasoy ve arkadaşları Türkiye'de Tespit Edilmiş Anormal Hemoglobinlerin dağılımlarını bildirmiştir (Çizelge 2.3). Vergin, Türkiye'de 2002 yılından itibaren tespit edilmiş anormal hemoglobinleri bildirmiştir (Çizelge 2.2) (Canatan, 2014).

Hb Çapa, Hb Ankara, Hb Antakya, Hb İstanbul ilk kez Türkiye'den bildirilen anormal hemoglobinlerdir (Altay, 2002a; Altay, 2002b). Keser ve arkadaşlarının 2001

yılında yaptıkları çalışmada Hb Antalya, Çelebiler ve arkadaşlarının 2012 yılında yaptıkları çalışmada Hb İzmir, Çürük ve arkadaşlarının 2010 yılında yaptıkları çalışmada Hb Sarrebourg, Dinçol ve arkadaşlarının 2003 yılında yaptıkları çalışmada Hb Setif anormal hemoglobin varyantları bildirilmiştir (Canatan, 2014). Adana’da Güvenç ve arkadaşlarının 2012 yılında yaptıkları çalışmada anormal hemoglobin sıklığı %6,8 (sırasıyla en sık Hb S, Hb D Los Angeles ve Hb E) olarak bildirilmiştir (Güvenç vd., 2011). Bircan ve arkadaşlarının 1993 yılında Antalya’da yaptıkları çalışmada Hb S sıklığı %0,8 olarak bildirilmiştir (Canatan, 2014). Kahramanmaraş’ta Yüreğir ve arkadaşlarının 2001 yılında yaptıkları çalışmada Hb D sıklığının %0,28, Hb O Arab sıklığının %0,013 olduğu bildirilmiştir (Yüreğir vd., 2001). İrken ve arkadaşlarının 2002 yılında Ege bölgesi’nde yaptıkları çalışmada, Hb Hasharon’un %0,03, Hb Lepore’un %0,06, Hb D İran’ın %0,06, Hb G Copenhagen’in %0,09, Hb O Arab’ın %0,12, Hb E’nin %0,18, Hb S’in %0,32 ve Hb D’nin % 0,37, sıklıkta olduğu bildirilmiştir (Canatan, 2014). Aksoy, Özsoylu, Altay, Dinçol ve arkadaşları tarafından Eti Türkleri’nde yapılan farklı çalışmada Hb S sıklığının %15,3-37,6 arasında değiştiği bildirilmiştir (Canatan, 2014).

Çizelge2.2: Türkiye’de 2002-2004 yılları arasında rapor edilen anormal hemoglobinler (Canatan, 2014).

Alfa Zincir Varyantları (Tek Baz Değişikliği)	
• Hb Setif	α94 (G1) Asp →Tyr
• Hb Q-Iran	α75 (EF4) Asp→His
• Hb Hasharon	α47 Asp →His
• Hb Bronovo	α103 His →Leu
Beta Zincir Varyantları (Tek Baz Değişikliği)	
• Hb C	B6 Glu→Lys
• Hb E Saskatoon	B22 Glu→Lys
• Hb Volga	β27 (B9) Ala→Asp
• Hb Siirt	β27 (B9) Ala→Gly
• Hb Hamadan	β56 (D7) Gly→Arg
• Hb Pyrgos	β83 (EF7) Gly→Asp
• Hb D Punjab	β121 Glu→Gln
• Hb Beograd	β121 Glu→Val
• Hb G-Coushatta	β22 (B4) Glu→Ala
• Hb J-Iran	β77 (EF1) His→Asp
• Hb Tyne	β5 Pro→Ser ve HbS β6 Glu→Val
• Hb G-Copenhagen	β47 Asp→Asn
• Hb D-Iran	β 22 Glu→Gln
Delta Zincir Varyantları (Tek Baz Değişikliği)	
• Hb A2 Yialousa	δ82 C→T Ala28Ser
Hibrid Hbs	

• Hb Lepore Boston	
Talasemi veya Orak Hücre Anemisi ile Bileşik Heterozigotluğu Rapor Edilen Anormal Hemoglobin Varyantları	
• Hb Hamadan	$\beta 56$ (D7) Gly→Arg Beta Talasemi
• Hb D Punjab	$\beta 121$ Glu→Gln/Hb S
• Hb G-Coushatta	$\beta 22$ (B4) Glu→Ala/ β Beta Talasemi
Homozigot Hb varyantları	
• Hb C	$\beta 6$ Glu→Lys
• Hb D Punjab	$\beta 121$ Glu→Gln
• Hb Hamadan	$\beta 56$ (D7) Gly→Arg
• Hb Q-Iran	$\alpha 75$ (EF4) Asp→His

Çizelge2.3: 2014 yılına kadar Türkiye’de tespit edilmiş anormal hemoglobinler (Canatan, 2014).

Anormal Hb Adı	Mutasyon	Bölge	Yazarlar
Hb Adana	α_2-59 Gly→Asp	Adana	Çürük ve ark.
Hb Ankara	$\beta-10$ Ala→Asp	Kastamonu	Arcasoy ve ark.
Hb J Antakya	$\beta-65$ Lys→Met	Antakya	Huisman ve ark.
Hb Beograd	$\beta-121$ Glu→Val	Göçmen	Arcasoy ve ark.
Hb Brockton	$\beta-138$ Ala→Pro	İstanbul	Ulukutlu ve ark.
Hb C	$\beta-6$ Glu→Lys	İzmir, Adana	Göksel/Kılınç/Özsoylu
Hb E Saskaton	$\beta-22$ Glu→Lys	Kayseri	Prozorova/Gürgey
Hb F-Başkent	$\gamma 128$ Ala→Thr	Ankara	Altay ve ark.
Hb Hakkari	$\beta-31$ Leu→Arg	Hakkari	Gürgey ve ark.
Hb Hamadan	$\beta-56$ Gly→Arg	Batı Trakya	Diñçol ve ark.
Hb İstanbul	$\beta-92$ His→Gln	Göçmen	Aksoy ve ark.
Hb J-İran	$\beta-77$ His→Asp	Ankara	Arcasoy ve ark.
Hb Knossos	$\beta-27$ Ala→ Ser		Kutlar ve ark.
Hb Köln	$\beta-95$ Val→ Met	Malatya	Gürgey ve ark.
Hb M-İwate	$\alpha-87$ His→ Try	Bursa	Özsoylu ve ark.
Hb Moabit	$\alpha-86$ Leu→ Arg	Denizli	Knuth ve ark.
Hb N-Baltimore	$\beta-95$ Lys→ Glu	Antalya	Bircan ve ark.
Hb O-Padova	$\alpha-30$ Glu→ Lys	Adana	Kılınç ve ark.
Hb P-Nilotic	$\alpha-$ ($\beta-d$)2	OrtaAnadolu	Altay ve ark.
Hb Ube-2	$\alpha-68$ Asn→ Asp	Kayseri	Bilgin ve ark.
Hb J-Anatolia	$\alpha-61$ Lys→ Thr		Giardano ve ark.
Hb Strumia	$\alpha-112$ His→ Arg	Bursa	Akar ve ark.
Hb Çapa*	$\alpha-94$ Asp→ Gly	Kars	Diñçol ve ark.
Hb J-Meerut	$\alpha-120$ Ala→ Glu	Adana	Yalçın ve ark.
Hb J-Paris I	$\alpha-12$ Ala→ Asp	Çukurova	Dikmen ve ark.
Hb İzmir	$\beta 86$ (F2)Ala→Val;HBB:c.260C>T	İzmir	Çelebiler A ark.
Hb Sarrebourg	$\beta 131$ (H9)Gln→Arg,CAG>CGG	Adana	Çürük ve ark.
Hb Setif	$\alpha 94$ (G1)Asp → Tyr(α_2)	İstanbul	Diñçol G ve ark.
Hb City of Hope	$\beta-69$ Gly→Ser		Kutlar ve ark.
Hb Summer Hill	$\beta-52$ Asp→ His	Kuzey Kıbrıs	Cin ve ark.
Hb E	$\beta-26$ Glu→Lys	Birden fazla bölge	Aksoy/Arcasoy/Altay
Hb Q-İran	$\alpha-75$ Asp→ His	Adana, Batı Trakya	Aksoy ve ark
Hb D Los Angeles	$\beta-121$ Glu→Gln	Birden fazla bölge	Diñçer/Çavdar/Özsoylu/Canatan
Hb G-Coushatta	$\beta-22$ Glu→Ala	Kastamonu-Denizli	Diñçol/Sözmen
HbLepore-	Fusion Hb	Diyarbakır, K.	Çavdar ve ark.

Boston		Kıbrıs	
Hb Antalya	codons 3-5 (Leu→Thr→Pro>Ser→Asp→Ser):	Antalya	Keser ve ark.
Hb O-Arab	β-121 Glu→Lys	Kütahya, Kıbrıs, Trakya	Altay/Cin/Aksoy

2.2.2.Talasemiler

Talasemiler, hemoglobin molekülündeki globin zincirlerinin bir ya da daha fazlasının sentezinin azalması ya da hiç sentezlenmemesi sonucu meydana gelen hemoglobinopatilerdir (Loukopoulos, 1991; Weatherall vd., 2001; Seydel, 2007). Talasemiler genellikle otozomal resesif nadiren otozomal dominant kalıtılırlar (Thein vd., 1990; Özyüncü vd., 2007). İnsanlarda en sık görülen genetik hastalıklardır. Sınıflandırılmaları sentezi bozulmuş globin zincirine göre yapılır (Loukopoulos, 1991; Weatherall vd., 2001).

Beta globin zincir sentezinin azlığı ya da hiç yapılamaması Beta Talasemi, alfa globin zincir sentezinin azlığı ya da hiç yapılamaması Alfa Talasemi olarak adlandırılır (Thein vd., 1990; Özyüncü vd., 2007).

Sağlıklı yetişkinlerin hemoglobinlerinin büyük bir kısmını (%95-97) Hb A ($\alpha_2\beta_2$) oluşturduğu için klinik açıdan asıl önemli olan talasemiler Alfa Talasemi ve Beta Talasemi'dir. Alfa ve Beta Talasemi dışında, delta ve beta globin genlerinin birlikte delesyona uğramalarıyla delta-beta ($\delta\beta$) talasemiler, gama, delta ve beta globin genlerinin birlikte delesyona uğramalarıyla gama-delta-beta ($\gamma\delta\beta$) talasemiler de meydana gelebilmektedir. (Sözen, 2000). Alfa Talasemi'lere daha çok Uzakdoğu ülkelerine rastlanırken Beta Talasemi'lere Akdeniz ülkelerinde rastlanmaktadır (Başak, 2001).

2.2.2.1.Beta Talasemi

Beta globin zincirinde meydana gelen anomaliler (çoğunlukla nokta mutasyonu) sonucu beta globin zincir sentezi azalır ya da hiç yapılamaz. Hemoglobin A ($\alpha_2\beta_2$) tetramerleri oluşumu sırasında alfa/beta globin zincir oranı dengelenemez ve Beta Talasemi ortaya çıkar. Beta Talasemilerin klinik etkisi beta globin genlerinde meydana gelen mutasyonların çeşitliliği ve alfa/beta globin zincirlerinin dengesiyle ilgiliyken, Alfa talasemilerin klinik etkileri alfa globin genlerinin fonksiyonel olup olmamasıyla

ilgilidir (Çürük'ten aktaran Güzelgöl, 2010). Beta Talasemi hastaları aynı zamanda alfa globin geni mutasyonlarına da sahipse alfa/beta globin zincirleri arasındaki oran dengelenir ve hastalığın klinik etkisi azalır (Galanello vd., 2010; Kazgan vd., 2017).

Beta Talasemi genellikle otozomal resesif kalıtılsada bazı nadir otozomal dominant kalıtılan Beta Talasemi'ler de bulunmaktadır (Gümrük, 2006). Beta Talasemi taşıyıcıları, sağlıklı insanlara oranla sıtmaya karşı daha dirençlidir, malarya ile enfekte olsalar bile klinik fenotipleri daha hafif seyreder (Sözen, 2000).

2.2.2.1.1. Beta Talasemi'nin Klinik Sınıflandırılması

Beta Talasemi klinik olarak üç ana sınıfa ayrılır. Beta Talasemi Minör (β^{TM}), Beta Talasemi İntermedia (β^+ , BTI) ve Beta Talasemi Majör (β^0) (Cappellini, 2016).

Beta Talasemi Minör; β Talasemi Taşıyıcılığı, β Talasemi Trait ve Heterozigot β Talasemi isimleriyle de anılır. β^{TM} iki beta globin geninin sadece birinde (heterozigot) mutasyon meydana gelmesi sonucu oluşur (Sözen, 2000). β^{TM} , de hafif anemi gözlemlenir, genellikle ortalama eritrosit hacmi (MCV) değeri 80 fl' den, ortalama eritrosit miktarı (MCH) değeri 27 pg' den azdır. Eritrosit dağılım genişliği (RDW) değeri normaldir. Periferik yaymada hipokromi ve mikrositoz gözlemlenebilir (Cappellini 2016).

Beta Talasemi İntermedia genellikle genlerin promotörlerinde, intronların iç kısımlarında ve poli-A kuyruğuna yakın bölgelerde meydana gelen mutasyonlar sonucu (Bozkurt, 2016) beta globin zinciri olması gerekenden daha az sentezlenir ve BTI ortaya çıkar (Çürük'ten aktaran Güzelgöl, 2010). BTI hastalarının klinik bulguları Beta Talasemi Majör'e göre daha hafiftir (Sütçü vd., 2011). Hemoglobün değerleri genellikle 6-10 gr/dl arasındadır. MCV, MCH ve ortalama eritrosit hemoglobün konsantrasyonu (MCHC) değerleri normalden düşüktür. RDW değerleri normalden yüksektir (Cappellini 2016). Periferik yaymada anizositoz, poikilositoz, mikrositoz, polikromazi ve ağır hipokromi görülür. Hemoglobün elektroforezinde Hb A'da %10-20 oranında azalma, Hb F'de %70-80 oranında artma ve Hb A2'de de artma gözlemlenir (Sütçü vd., 2011).

Beta Talasemi Majör; Cooley's Anemisi ve Akdeniz Anemisi isimleriyle de anılır. Genellikle ekzonlarda, ekzon-intron sınırındaki bölgelerde ve konsensüs dizilerde

meydana gelen mutasyonlar sonucu (Bozkurt, 2016) beta globin zinciri hiç sentezlenmez ve Beta Talasemi Majör ortaya çıkar (Çürük'ten aktaran Güzelgöl, 2010). Beta Talasemi Majör'ün klinik bulguları Beta Talasemi İntermedia ile aynıdır fakat hemoglobin elektroforezinde Hb A üretimi daha da az ve Hb F'teki artış %80'den de fazladır (Sütçü vd., 2011).

2.2.2.1.2. Beta Talasemi'nin Epidemiyolojisi

Akdeniz Ülkeleri ve Türkiye'de Beta Talasemi'ye sıklıkla rastlanmaktadır. Türkiye'de yapılan Beta Talasemi çalışmalarında Beta Talasemi sıklığının farklı bölgelerde %0,6-12 arasında değiştiği ve güneyde sıklığın daha fazla olduğu rapor edilmiştir. Türkiye genelinde Beta Talasemi taşıyıcısı sıklığının %2,1 olduğu ve bazı bölgelerde bu oranın %10'a kadar ulaştığı bildirilmiştir (Arcasoy ve Çavdar'dan aktaran Güzelgöl, 2010). Dünya genelinde Beta Talasemi taşıyıcı sıklığının % 5,1 olduğu (Koçak vd., 1995; Modell vd., 2008) ve en fazla Maldivler (%18), Kıbrıs (%14), İtalya Sardinya Adası (%10,3) ve Güney Asya'da (%3-5) rastlandığı rapor edilmiştir (Cappellini, 2016).

Dünya'da Beta Talasemi ile ilgili yapılan moleküler çalışmalarda 300'den fazla mutasyon tespit edilmiştir (Bozkurt, 2016). Türkiye'de Beta Talasemi ile ilgili yapılan moleküler çalışmalarda 30'dan fazla mutasyon tespit edilmiştir. Bulunma sıklığı açısından, Türkiye'de en sık IVS-I-110 (%40) mutasyonuna rastlanmıştır. IVS-I-110 mutasyonunu IVS-I-6, FSC-8, IVS-I-1, IVS-II-745, IVS-II-1, Cd39, -30 ve FSC 5 mutasyonları izlemektedir (Çürük vd., 2001; Başak, 2005; Bozkurt, 2016).

Çizelge 2.4: Türkiye'de gerçekleştirilen beta talasemi taşıyıcılığı çalışmaları (Canatan, 2014).

İl	Sıklık (%)	Yazarlar
Adana	3-13	Güvenç, Yüreğir
Adıyaman	1,06	Genç
Antakya	0,8-1,4	Aksoy, Altay, Özsoylu
Antalya	2-13,7	Aksoy, Bircan, Canatan
Bursa	2,6	Akar
Denizli	2,6-3,7	Keskin, Sözmén, Turan
Erzurum	0,68	Acemoğlu
Gaziantep	1,8	Gürbak
Isparta	2,5	Tunç

İzmir	2,1-4,9	Aydınok, İrken, Uysal
Kahramanmaraş	0,68-2,8	Canatan, Güler, Yüreğir
Kayseri	2,1	Karakükçü
Konya	2-3	Güler, Turan
Mersin	1,7-2,4	Aksoy, Altay, Tosun
Muğla	3,8	Arcasoy
Van	2,6	Aksoy
Batı Trakya	10,7	Aksoy
Doğu Anadolu	0,6	Kürkçüoğlu
Türkiye	2,1	Arcasoy

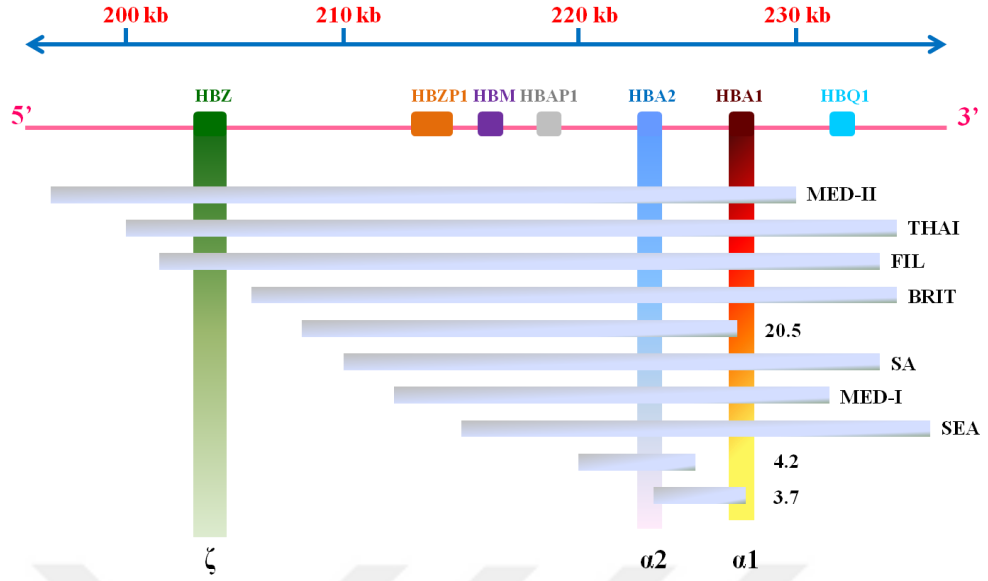
2.2.2.2. Alfa Talasemi

Alfa Talasemi, alfa globin zincir sentezinin yapılamaması ya da normalden daha az sentezlenmesi sonucu ortaya çıkar (Çürük'ten aktaran Güzelgöl, 2010). Alfa Talasemi sıklıkla delesyonel mutasyonlar sonucu meydana gelse de bazı nondelesyonel mutasyonların etkisi ile de ortaya çıkmaktadır (Çürük ve Yüreğir'den aktaran Güzelgöl, 2010). Nokta mutasyonları Alfa Talasemi'de nadirdir. Bunun yanında gen düzenleyici bölgelerde meydana gelen mutasyonlar, sağlam genlerin sentezini etkileyerek yine Alfa Talasemi'ye neden olabilmektedir (Karakaş, 2014; Galanello vd., 2011).

Sağlıklı bireylerde alfa globin zincirleri, her iki 16. kromozomda da bulunan *HBA1* (α_1) ve *HBA2* (α_2) genleri (toplam dört fonksiyonel gen) tarafından kodlanır (Kutlar, 2014).

Alfa Talasemi'de sağlıklı alfa globin genleri ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$), bir genin eksikliği ($-\alpha/\alpha\alpha$), iki genin eksikliği ($-\alpha/-\alpha$) veya ($--/\alpha\alpha$), üç genin eksikliği ($-\alpha/--$) (Hb H Hastalığı) ve tüm genlerin eksikliği ($--/--$) (*Hidrops fetalis*) ile ifade edilir (Yüreğir'den aktaran Güzelgöl, 2010).

Alfa Talasemi α^0 -talasemi ve α^+ -talasemi olarak iki gruba ayrılır (Polat, 1995; Polat'tan aktaran Güzelgöl, 2010).



Şekil 2.7: Alfa Talasemi delesyonları(Karakaş, 2014).

2.2.2.2.1. Alfa Talasemi'nin Sınıflandırılması

Alfa Talasemi çoğunlukla delesyonel mutasyonlar sonucu meydana gelse de bazı nondelesyonel mutasyonlar da Alfa Talasemi oluşumu ve klinik şiddetinde önemli olmaktadır. Alfa Talasemi Delesyonel ve Nondelesyonel Alfa Talasemiler olarak iki ana başlıkta sınıflandırılır.

2.2.2.2.1.1. Delesyonel Alfa Talasemiler

Delesyonel Alfa Talasemiler, meydana gelen delesyonun büyüklüğüne ve alfa globin gen kümesinde etkilenen genlere göre iki gruba (α^0 Alfa Talasemiler, α^+ Alfa Talasemiler) ayrılır.

2.2.2.2.1.1.1. α^0 Alfa Talasemiler

Her iki alfa globin geninin birden, büyük ($\alpha^{20.5}$) veya küçük ($\alpha^{5.2}$) delesyonlardan, tamamen ya da kısmi olarak etkilenmesi sonucu α^0 Talasemiler meydana gelmektedir (Yalın'dan aktaran Güzelgül, 2010). α^0 Talasemi'de alfa globin zinciri tamamen ortadan kalkar (Karakaş, 2014). THAI, FIL $\alpha^{-20.5}$, MED, gibi bazı daha büyük delesyonlar ise α^0 -talasemiye neden olur. Nondelesyonel mutasyonlar ise SNP, nükleotid delesyonu/insesiyonu gibi etkilerle ortaya çıkarlar (Harteveld vd., 2010; Sütçü

vd., 2011; Galanello vd., 2011; Berdasco vd., 2013). α^0 -talasemi'de hipokromi, polikromazi, poikilositoz, anizositoz görülebilir. MCV değeri normalden düşüktür. Hb Bart's oranı yenidoğan döneminde %5-10'dur. Hb A1 düzeyi normal ya da normalden daha düşüktür (Gürgey, Weatherall ve Lukens'ten aktaran Altay,1993).

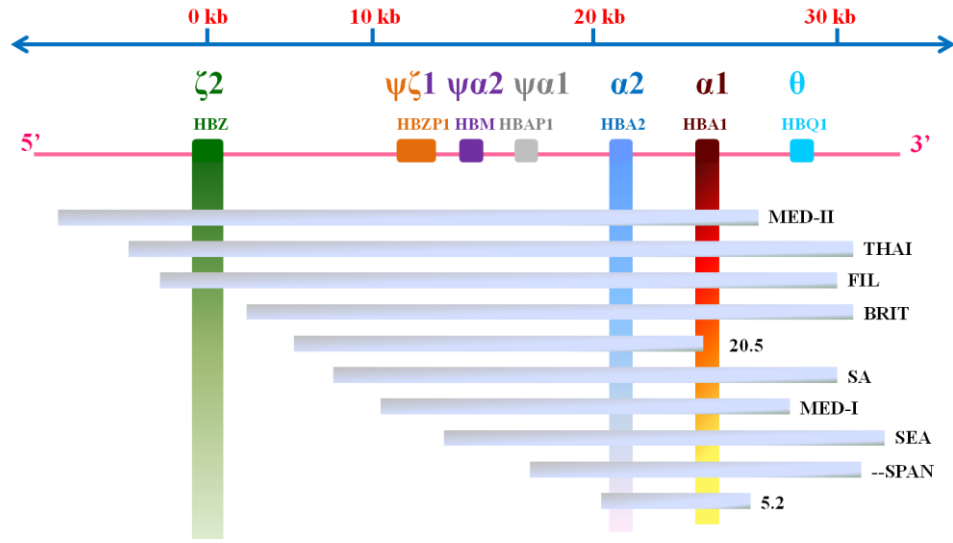
Bazı delesyonlar alfa globin genleri ile birlikte zeta globin genlerini de etkileyebilir. Heterozigotlar bu durumdan etkilemezken homozigotların fetal ve embriyonik hemogloblin üretimini engellenir ve fetus gebelik sırasında hayatını kaybeder (Yalın ve Polat'tan aktaran Güzelgöl, 2010).

Alfa Talasemi'nin sadece, alfa globin gen kümesi ekzonlarında meydana gelen mutasyonlar sonucu olduğu düşünülürken, yapılan çalışmalarla, alfa globin gen ifadesinde genin 5' ucunda yer alan *DNAaz I-hipersensitif* bölge'nin de etkili olduğu bildirilmiştir (Ren vd., 1993;Yalın ve Sharpe'den aktaran Güzelgöl, 2010).

Hotton ve arkadaşlarının alfa globin genleri normal olan bir olguda gerçekleştirdikleri çalışmada, hipersensitif ailesinden *HS-40*'ın 62 kb'lık bir delesyon içermesinden dolayı, olguda alfa talasemi fenotipinin ortaya çıktığı bildirilmiştir (Bernet vd., 1995;Yalın'dan aktaran Güzelgöl, 2010).

1994 yılında Bernet ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada *DNAaz I-hipersensitif* bölgede delesyon içeren olguların içermeyen olgulara göre %1 daha az alfa globin gen ifadesine sahip olduğu bildirilmiştir (Bernet vd., 1995;Yalın'dan aktaran Güzelgöl, 2010).

α^0 Alfa Talasemiler Asya'nın güneybatısı ve Akdeniz ülkelerinde yaygındır. En yaygın α^0 Alfa Talasemi tipleri $\alpha^{5.2}$,SPAN, MEDI, MEDII, $\alpha^{20.5}$ ve CANT' tır (Polat, 1995;Polat'tan aktaran Güzelgöl, 2010).



Şekil 2.8: α^0 Alfa Talasemi delesyonları (Polat, 1995).

α^0 Alfa Talasemilerde, regülatör element (*HS-40*) ya da alfa globin gen kümesinin ya tamamı ya da büyük bir kısmı delesyona uğrar (Sözen, 2000). Delesyona bağlı olarak α^0 Alfa Talasemi fenotipi ortaya çıkar. α^0 Alfa Talasemi fenotipini homozigot olarak taşıyan olgular Hb Bart's sendromuna sahip olurlar. α^0 Alfa Talasemi'ye neden olan delesyonlardan Asya'da en yaygın olanı SEA, Akdeniz'de ise MED ve $\alpha^{20,5}$ delesyonlarıdır. SEA delesyonu $\psi\alpha_2$, $\psi\alpha_1$, α_2 , α_1 ve θ_1 - globin genlerini ortadan kalkmasına neden olan 20 kilobazlık bir bölgeyi kapsamaktadır. $\alpha^{20,5}$ çift gen delesyonu ise $\psi\zeta$ -1 geninin 5' bölgesiyle α_1 geninin 51. kodonu arasındaki 20,5 kilobazlık bölgenin ifadesini ortadan kaldırır (Villegas'ten aktaran Sözen, 2000).

$(\alpha\alpha)^{RA}$ delesyonu hariç, her iki alfa globin geninde tamamen ya da kısmen meydana gelen delesyonlar sonucu α -Talasemi-1 ortaya çıkmaktadır. Alfa Talasemi 1'de her iki alfa globin geni de delesyona uğradığı için alfa globin zinciri üretilmemektedir. Alfa Talasemi 1'in homozigotluğu Hb Barts *Hidrops fetalis* sendromuna neden olmaktadır (Higgs vd., 1989; Loukopoulos, 1991).

Her iki alfa geni ve iki zeta globin geninde meydana gelen delesyonlar sonucu bu genlerin ekspresyonları yapılamamaktadır. Bu duruma sahip heterozigotlar yaşamlarını sürdürüp gelişimlerini normal olarak tamamlamaktadırlar. Fakat homozigotlar embriyonik ve fetal hemoglobinlerini sentezleyemedikleri için gebeliğin erken dönemlerinde hayatlarını kaybetmektedirler (Higgs vd., 1989; Liebhaber, 1989).

Yapılan çalışmalarda Akdeniz popülasyonunda MED I, MED II, $\alpha^{20.5}$, SPAN, CANT ve $\alpha^{5.2}$ delesyonlarının varlığı tespit edilmiştir (Lebo vd., 1990).

MED I delesyonu $-\psi\zeta$ geninin 5' ucundan her iki alfa globin genine etki edecek biçimde meydana gelmektedir. MED II delesyonu $-\zeta$, $-\psi\zeta$, $-\psi\alpha$, $-\alpha_2$ ve $-\alpha_1$ genlerine etki etmektedir ve 26.5 kb uzunluğundadır. $\alpha^{20.5}$ çift gen delesyonu $-\alpha_1$ geninin ilk 5 kodonuna ve $-\psi\zeta$, $-\psi\alpha$, $-\alpha_2$ genlerine etki edecek biçimde meydana gelmektedir. SPAN delesyonu $-\psi\alpha_1$ geninin 3' ucundan başlar, $-\alpha_1$ ve $-\theta$ genlerine etki edecek biçimde uzanır (Polat, 1995). CANT delesyonu $-\psi\alpha$, $-\alpha_2$, $-\alpha_1$ ve $-\theta$ genlerine etki edecek biçimde meydana gelmektedir ve 14-15.4 kb uzunluğundadır (Polat, 1995).

$\alpha^{5.2}$ tek gen delesyonu $-\alpha_1$ ve α_2 genlerinin 5' parçasını kapsayacak şekilde meydana gelmektedir (Higgs vd., 1989). YEM delesyonu $-\psi\zeta$, $-\psi\alpha$, $-\alpha_2$, $-\alpha_1$ ve $-\theta$ genlerine etki edecek biçimde meydana gelmektedir ve 39 kb uzunluğundadır (Polat, 1995). Gonzalez-Redondo ve arkadaşları tarafında İspanya'da yapılan bir çalışmada $-\psi\alpha$, $-\alpha_2$ ve $-\alpha_1$ genlerini kapsayan 22 kb uzunluğunda bir delesyon tespit edilmiştir. Ayrıca bu delesyonu taşıyan kromozomda ζ -globin triplikasyonunun varlığı da rapor edilmiştir (Polat, 1995).

2.2.2.2.1.1.2. α^+ Alfa Talasemiler

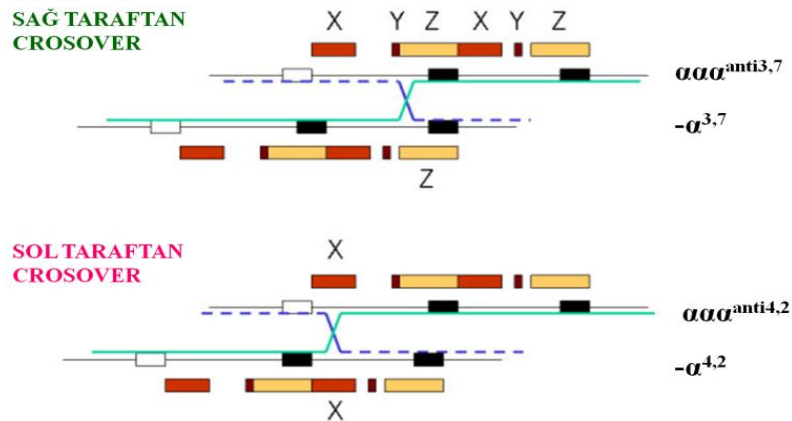
Alfa globin genlerinde meydana gelen küçük delesyonlar sonucu α^+ Alfa Talasemiler ortaya çıkmaktadır. Dünyada en sık $\alpha^{3.7}$ ve $\alpha^{4.2}$ tek gendelesyonlarına rastlanmaktadır (Polat, 1995; Foglietta vd., 1996; Salah vd., 1998), bunlar gibi küçük delesyonlar sonucu α^+ Alfa Talasemiler meydana gelmektedir (Harteveld vd., 2010; Sütçü vd., 2011; Galanello vd., 2011; Berdasco vd., 2013). α^+ -talasemi'de alfa globin zincir sentezi azalır (Karakas, 2014). α^+ -talasemi'de klinik ve hematolojik bulgular genellikle normaldir. Hb Bart's oranı yenidoğan döneminde %2-5'tir. (Gürgey, Weatherall ve Lukens'ten aktaran Altay, 1993).

Alfa globin kümesindeki homolog rekombinasyonlar (mayotik ya da mitotik) sonucu meydana gelen delesyonlar α^+ Alfa Talasemi'ye neden olur.

Alfa globin genleri birbirleri ile yüksek homoloji gösteren iki eşleşme bölgesi arasında konumlanmıştır. Evrim boyunca meydana gelen insersiyonlar, "crossing over"lar ve delesyonlar sayesinde eşleşme bölgeleri arasındaki homoloji korunmuştur.

Homolog bölgeler, birbirleri ile homolog olmayan elementlerle (I,II ve III) (Zhao'dan aktaran Sözen, 2000), X, Y ve Z ile isimlendirilen alt birimlere ayrılmıştır. Y bölgesine ait tanımlanan bir çaprazlama bulunmamaktadır (Güzelgöl, 2010).

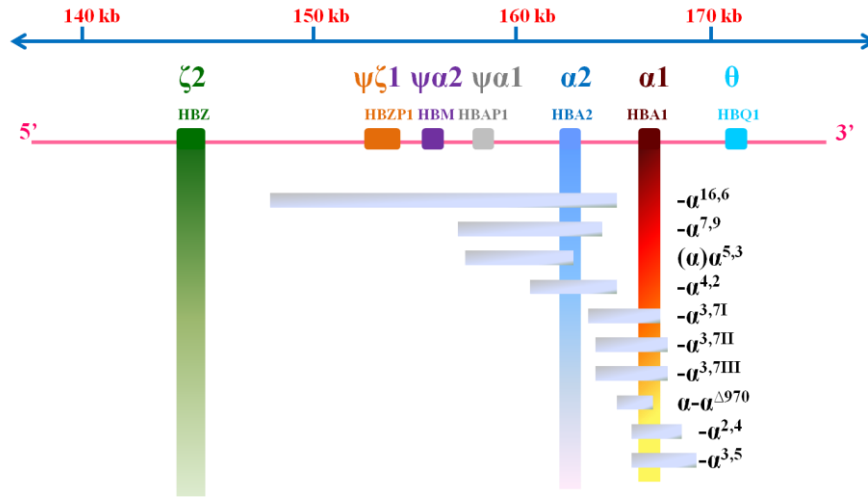
$\alpha^{3.7}$ ve $\alpha^{4.2}$ tek gen delesyonları sonucu iki Z ya da iki X alt birimleri arasında “crossing over” gerçekleşebilir (Higgs vd., 1989; Baysal'dan aktaran Polat 1995). “crossing over”ların oluşturduğu pozisyona göre $\alpha^{3.7}$ sağ taraftaki delesyonları ve $\alpha^{4.2}$ sol taraftaki delesyonları ifade eder. $\alpha^{3.7}$ delesyonu sonucu Z alt birimleri arasındaki resiprokal rekombinasyonla sadece bir fonksiyonel alfa globin genli kromozom ve üç alfa globin genli diğer bir kromozom ($\alpha\alpha\alpha^{anti3.7}$) meydana gelir. $\alpha^{4.2}$ delesyonu sonucu X alt birimleri arasındaki rekombinasyonla bir fonksiyonel alfa globin genli kromozom ve bir $\alpha\alpha\alpha^{anti4.2}$ kromozomu meydana gelir (Nakashima vd., 1990). Tip I $\alpha^{3.7}$ delesyon formu en sık görülen formdur, iki alfa globin geninin 5' ucundan ikinci intronun 7 baz insersiyon/delesyon bölgesi arasında geniş bir alanda meydana gelir. Tip II ve III $\alpha^{3.7}$ delesyon formları alfa globin gen kümesinin 2. intronun UTR bölgesi ile 3. ekzonun UTR bölgelerindeki poli A kuyruğu ile çevrili homolog segmentin diverjans segmentine kadar uzanan bölgesinde meydana gelir. $\alpha^{3.7}$ delesyonunun üç formu restriksiyon enzim haritalama yöntemi ile birbirinden ayırt edilebilmektedir (Dodé'tan aktaran Polat 1995; Higgs vd., 1989). $\alpha^{3.7}$ delesyonunun Tip I formu Akdeniz ülkelerinde, Tip II formu Dünya üzerinde rastgele dağılmış olarak ve Tip III formu ise Malezya ve Polinezya çevresinde görülmektedir (Novelietto'dan aktaran Polat, 1995).



Şekil 2.9: X, Y, Z bölgeleri arasındaki “crossing over”lar (Harteveld, 2010).

Dünya’da birçok yerde yapılan çalışmalarda, $\alpha^{3,7}$ ve $\alpha^{4,2}$ tek gen delesyonları dışında α^+ Alfa Talasemiye neden olan farklı büyüklüklerde yedi nadir mutasyonun varlığı rapor edilmiştir (Steinberg’ten aktaran Güzelgöl, 2010). Bunlardan bazıları $\alpha^{3,5}$ (Asya), $\alpha^{5,3}$ (İtalya) (Weatherall’dan aktaran Güzelgöl, 2010; Foglietta vd.,1996), $\alpha^{2,7}$ (Çin) (Yalin’dan aktaran Güzelgöl, 2010), $\alpha^{2,4}$ ’tür (Kanada ve Çin) (Steinberg’ten aktaran Güzelgöl, 2010).

α^+ Alfa Talasemiler α -Globin genlerinden birinin delesyona ya da nokta mutasyonuna uğraması sonucu ortaya çıkarlar. α^+ Alfa Talasemi’ye neden olan delesyonların neredeyse tamamına yakını homolog olmayan rekombinasyonlardan kaynaklanır. Dört alfa globin geninden birinin ortadan kalkmasına ve α^+ Alfa Talasemi’nin ortaya çıkmasına neden olan delesyonlardan en yaygın olanları $\alpha^{3,7}$ ve $\alpha^{4,2}$ tek gendelesyonlarıdır (Zhao’dan aktaran Sözen, 2000). Daha nadir olanlar ise $\alpha^{3,5}$, $\alpha^{5,3}$ ve $\alpha^{2,7}$ delesyonlardır. $\alpha^{3,5}$ delesyonu α_1 geninin tamamının ifadesini (Klozik vd.,1989), $\alpha^{5,3}$ delesyonu $\psi\alpha_1$ geni ile α_2 genlerinin kırılmanoktaları arasındaki bölgenin ifadesini (Lacerravd., 1991), $\alpha^{2,7}$ delesyonu ise α_1 geninin ifadesini (Zhao’dan aktaran Sözen, 2000) ortadan kaldırır.



Şekil 2.10: α^+ Alfa Talasemi Delesyonları (Harteveld vd., 2010).

α^+ Alfa Talasemiler, iki alfa globin geninden birini kapsayacak şekilde meydana gelen delesyonlar sonucu oluşurlar. En yaygın gözlenen iki tipi 3.7 kb’lık DNA kaybı ($\alpha^{3,7}$) ve 4.2 kb’lık ($\alpha^{4,2}$) DNA kaybıdır. $\alpha^{3,7}$ delesyonuna daha sık rastlansa her iki

delesyon aynı anda tek bir popülasyonda yaygın olarak görülebilir (Baysal'dan aktaran; Fairbanks'tan aktaran; Tan'dan aktaran Polat, 1995; Higgs vd., 1989; Liebhaber 1989, Loukopoulos, 1991).

$\alpha^{3.5}$ ve $\alpha^{2.7}$ delesyonları α^+ Alfa Talasemi'ye neden olan diğer delesyonlardır (Zhao'dan aktaran Polat, 1995). $\alpha^{3.5}$ delesyonu α_1 globin genini etkilemekte, α_2 genini etkilememektedir (Baysal'dan aktaran Polat, 1995).

2.2.2.2.1.2. Nondelesyonel Alfa Talasemiler

Alfa Talasemiler çoğunlukla delesyonel mutasyonlar sonucu meydana gelir. Nondelesyonel mutasyonlar oligonükleotid insersiyonu/delesyonu ve nokta mutasyonları sonucu oluşur. Delesyonel mutasyonların meydana geldiği alfa globin geni (αT) olarak gösterilir (Yalın'dan aktaran Güzelgöl, 2010). Nondelesyonel Alfa Talasemi mutasyonları genellikle *HBA2* (α_2) geninde, nadiren *HBA1* (α_1) geninde meydana gelir. *HBA2* geninde meydana gelen nondelesyonel mutasyonlar $\alpha T\alpha$ ile *HBA1* geninde meydana gelen nondelesyonel mutasyonlar $\alpha\alpha T$ ile ifade edilir (Yalın'dan aktaran Güzelgöl, 2010).

Dünya'da 2009 yılına kadar yapılan çalışmalarda 68 farklı nondelesyonel α^+ - talasemi bildirilmiştir. Bu nondelesyonel mutasyonlardan 46'sı *HBA2* geninde, 17 tanesi *HBA1* geninde ve 5 tanesi $-\alpha$ kromozomunda konumlanmıştır (Steinberg'ten aktaran Güzelgöl, 2010).

Nondelesyonel mutasyonların çoğu, daha fazla alfa globin ifadesi yapan *HBA2* geni üzerinde meydana geldiği için, delesyonel mutasyonlardan daha ciddi fenotipe neden olurlar. Ayrıca nokta mutasyonu sonucu genlerden biri inaktive olursa, diğer genlerin ifadesinde bu inaktivasyonu telefi edici etki gözlenmez (Weatherall vd., 2001; Yalın'dan aktaran Güzelgöl, 2010).

Poli A Kuyruğu sinyalini etkileyen mutasyonlar, "frameshift" mutasyonlar, zincir sonlanma mutasyonları, mRNA translasyonunun başlamasını etkileyen mutasyonlar, RNA "splicing"ini etkileyen mutasyonlar, nondelesyonel Alfa Talasemi'ye neden olmaktadır (Weatherall ve Steinberg'ten aktaran Güzelgöl, 2010).

RNA “splicing”ini etkileyen mutasyonlardan beşi *HBA2* (α_2) geni, üçü *HBA1* (α_1) geni üzerinde tanımlanmıştır. α IVS-I mutasyonu α_2 geninin IVSI 5’ bölgesinde 5 nükleotidin delesyonu sonucu medyana gelir. Heterozigot formda α IVS-I mutasyonuna sahip olgularda Alfa Talasemi Trait fenotipi, homozigot formda α IVS-I mutasyonuna sahip olgularda ise daha ciddi klinik etkiye sahip Alfa Talasemi gözlemlenir (Yalın, Weatherall ve Steinberg’ten aktaran Güzelgöl, 2010).

HBA2 geninin IVS-I akseptör bölgesinde meydana gelen α IVS-I-116(A→G) α mutasyonu (Yalın, Weatherall ve Steinberg’ten aktaran Güzelgöl, 2010), *HBA2* geninin 48. ve 49. kodonları arasında meydana gelen α Cd22 (C→T) α mutasyonu (K1-18) ve *HBA1* geninin IVS-I bölgesinin 117. kodonunda meydana gelen α IVSI-117(G→A) α mutasyonu (Yalın’dan ve Çürük’ten aktaran Güzelgöl 2010) RNA işlenmesini etkileyen mutasyonlardandır.

Yapılan çalışmalarda *HBA2* geninde Poli A Kuyruğu (AATAAA) sinyalini etkileyen dört mutasyon rapor edilmiştir. AATAAA→AATAAG, α PA6:A→G mutasyonu Arap toplumunda gözlenen Poli A Kuyruğu sinyalini etkileyen mutasyondur. Bu mutasyona sahip homozigot olgularda Hb H Hastalığı, heterozigot olgularda ise Alfa Talasemi Trait gözlenmektedir. AATAAA→AATAAG, α PA6:A→G mutasyonu dışında poli A kuyruğu sinyalini etkileyen diğer mutasyonlar her zaman Hb H Hastalığına neden olmazlar (Yalın ve Steinberg’ten aktaran Güzelgöl, 2010).

- α IN:ATG→GTG/- α mutasyonunun mRNA’nın translasyonunu yok ettiği bildirilmiştir. - α IN:ATG→GTG/- α mutasyonunun farklı bir alfa talasemi mutasyonu ile birlikte meydana geldiği bir olguda %2,4-7,2 oranında Hb H’nin tespit edildiği ve olgunun Hb H hastalığının hematolojik kliniğine sahip olduğu rapor edilmiştir.

- α IN:2bçdel α mutasyonu başlangıç dizisinden 2 baz çiftlik delesyona neden olan mutasyondur ve mRNA translasyonunu %30-50 oranında azaltır. Bu mutasyonu homozigot olarak taşıyan bir olguda Hb H varlığı ve hafif mikrositer anemi gözlemlenmiştir.

α IN:ATG→ACG/ α mutasyonunu homozigot formda taşıyan olgularda %8-24 oranında Hb H varlığı ve şiddetli kliniğe sahip alfa talasemi fenotipi gözlemlenmiştir.

$\alpha\alpha$ IN:ATG→GTG/ α mutasyonu sonucu *HBA19* gen ifadesinde görevli mRNA’nın translasyonunun yapılmadığı bildirilmiştir. Bu mutasyonu birleşik

heterozigot formda taşıyan olgularda %1,5-3 oranında Hb H varlığı bildirilmiştir (Yalın ve Steinberg'ten aktaran Güzelgöl, 2010).

Eng ve arkadaşları tarafından yeni doğanlar üzerinde yapılan bir çalışmada başlama kodonunda α IN:ATG \rightarrow -TG delesyonunun varlığı tespit edilmiştir. Yeni doğanlardan birinde α IN:ATG \rightarrow -TG delesyonuyla birlikte SEA mutasyonu saptanmış ve bu olgunun %25'ten fazla Hb Bart's içerdiği, ayrıca Hb H'ye de sahip olduğu bildirilmiştir (Steinberg'ten aktaran Güzelgöl, 2010).

“Frameshift” mutasyonlar sonucu kodonlarda tek bir bazın insersiyonu ya da delesyonu sonucu erken sonlanma kodonu meydana gelir. Alfa globin zincirinin translasyonu olması gerekenden önce biter. Alfa globin zinciri normalden daha kısa olur ve anormal hemoglobinler meydana gelir. α cd19;delG α mutasyonu Irak popülasyonunda sıklıkla gözlenen “frameshift” mutasyon tipidir (Steinberg'ten aktaran Güzelgöl, 2010).

1988'de Safaya ve Rieder'in yaptıkları çalışmada Hb H hastalığı ve Hb G *Philadelphia*'sına sahip olan bir olguda sadece α G zincirinin sentezlendiği α A zincirinin ise sentezlenemediği tespit edilmiştir. α cd30/31;del2bç tipi α^0 -talasemi olarak adlandırılan mutasyon 30 veya 31. kodonlarda iki nükleotidlik delesyon sonucu oluşur ve “frameshift”e neden olur. Bu “frameshift” mutasyonun 2. ekzonda 31. ve 54. kodonlar arasında yeni bir dizilime ve 55. kodonda yeni bir sonlanma dizisi oluşumuna neden olduğu rapor edilmiştir (Weatherall ve Steinberg'ten aktaran Güzelgöl, 2010).

Ayala ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, *HBA1* genindeki α acd51–55;13bçdel/ $\alpha\alpha$ delesyonu sonucu “frameshift” mutasyon gerçekleştiği, 62. Kodonda durma sinyalinin meydana geldiği ve Alfa Talasemi Trait fenotipinin ortaya çıktığı rapor edilmiştir (Weatherall ve Steinberg'ten aktaran Güzelgöl, 2010).

HBA2 geninde 113. ve 116. kodonlarda 12 nükleotidin delesyonu sonucu ortaya çıkan “frameshift” mutasyonun etkisiyle dört amino asit kaybının meydana geldiği, mutasyonu heterozigot forma taşıyan olgularda Alfa Talasemi Trait fenotipinin ortaya çıktığı rapor edilmiştir (Weatherall ve Steinberg'ten aktaran Güzelgöl, 2010).

“Frameshift” mutasyonlar ve bunlarla birlikte ortaya çıkan mutasyona göre Hb Trait ya da Hb H hastalığının meydana geldiği gözlenmektedir (Steinberg'ten aktaran Güzelgöl, 2010).

HBA2 geninin normal sonlanma kodonu olan TAA dizisinde 9 farklı tek nükleotid polimorfizmi (SNP) tespit edilmiştir. Bu SNP'lerden 2 tanesinin (TAG ve TGA) anlamsız sonlanma kodonu meydana getirdiği bildirilmiştir. Sonlanma kodonundaki değişiklikler nedeniyle mRNA translasyonunun bir sonraki poli A kuyruğunun sonlanma kodonuna kadar sürdüğü bildirilmiştir.

HBA2 geninde sonlanma kodonunda meydana gelen SNP'ler sonucu alfa globin zinciri normalden daha uzun olmaktadır. Uzun alfa globin zincirinin 142'nci aminoasidine göre Hb Koya Dora (α 142Ser), Hb Pakse (α 142 Tyr), Hb Icaria (α 142 Lys), Hb Constant Spring (α 142 Gly) ve Hb Seal Rock (α 142 Glu) şeklinde isimlendirilen hemoglobin türleri meydana gelmektedir.

Zincir sonlanma kodonlarında meydana gelen mutasyonlar, heterozigot olgularda MCV değerlerini yükseltmektedir. Homozigot formdaki Hb Constant Spring (CS)'e sahip olguların klinik şiddetlerinin yüksek olduğu bildirilmiştir. Ayrıca heterozigot formda Hb Constant Spring ile α^0 -talasemiye birlikte taşıyan Hb H'li olguların da klinik şiddetlerinin yüksek olduğu rapor edilmiştir (Steinberg'ten aktaran Güzelgöl, 2010).

Çizelge2.5: Nondelesyonel Alfa Talasem'ye neden olan mutasyonlar (Steinberg'ten aktaran Güzelgöl, 2010).

Etkilenen Dizi	Gen	Mutasyon	Ülke veya Irk	Fenotip
mRNA İşleme Mutasyonları				
Gizli splicing	α_2	Cd22 C→T	Surinam	α^+
IVS(donör)	α_2	IVS I del 5bç	Akdeniz	α^+
IVS(donör)	α_1	IVS I (G→A)	Tayland	α
IVS(donör)	α_2	IVS II 2(T→A)	Kuzey Avrupa	$\alpha^+ - \alpha^0$
IVS(akseptör)	α_2	IVSI 116 (A→G)	Hollanda	α^+
IVS(akseptör)	α_1	IVS I 117 (G→A)	Asya, Hindistan	α^+
IVS(akseptör)	α_2	IVSII 142 (G→A)	Arjantina	$\alpha^+ - \alpha^0$
IVS(akseptör)	α_1	IVSII 148 (A→G)	İran	α^+
Poli A kuyruğu	α_2	PA del 16bç	Arap	$\alpha^+ - \alpha^0$
Poli A kuyruğu	α_1	PA6A→G	Orta Doğu, Akdeniz	$\alpha^+ - \alpha^0$
Poli A kuyruğu	α_2	PA4A→G	Akdeniz, Çin	$\alpha^+ - \alpha^0$
Poli A kuyruğu	α_2	PA del 2bç	Asya, Hindistan, Tayland	$\alpha^+ - \alpha^0$
mRNA Translasyonu Mutasyonları				
Başlatma kodonu	$\alpha^{3,7}$	IN ATG→GTG	Afrika	α^0
Başlatma kodonu	$\alpha^{3,7II}$	IN del 2bç	Kuzey Afrika, Akdeniz	$\alpha^+ - \alpha^0$
Başlatma kodonu	α_2	IN ATG→ACG	Akdeniz	α^+

Başlatma kodonu	α_2	IN ATG→A-G	Vietnam	α^+
Başlatma kodonu	α_1	IN ATG→GTG	Akdeniz	α^+
Başlatma kodonu	α_2	IN ATG→-TG	Güneydoğu Asya	α^0
Ekzon I	α_1	Cd 14G→A	İran	α^+
Ekzon I	α_2	Cd 19del G	İran	
Ekzon I	α_2	Cd 22del C	Afrika	
Ekzon I	α_2	Cd 23G→T	Tunus	α^0
Ekzon I	$-\alpha$	Cd 30/31del 2bç	Afrika	α^0
Ekzon II	α_2	Cd 39/41del/ins	Yemenli Musevi	α^+
Ekzon II	α_1	Cd51-55del 13bç	İspanya	α^+
Ekzon II	α_1	Cd62del G	Afrika	
Ekzon II	α_1	Cd 78del C	Siyahlarda, Çinlilerde	
Ekzon II	α_2	Cd 90A→T	Ortadoğu	α^+
Ekzon III	α_1	Cd108delC	Musevi	$\alpha^+ - \alpha^0$
Ekzon III	α_2	Cd113/114delC	Bilinmiyor	
Ekzon III	α_2	Cd113/116del12bç	İspanya	$\alpha^+ - \alpha^0$
Ekzon III	α_2	Cd116G→T	Afrika	α^+
Ekzon III	α_1	Cd131 ins T	Tayland	α^0
Sonlama Kodonu	α_2	TER TAA→CAA (ConstantSpring)	Güneydoğu Asya	α^+
Sonlama Kodonu	α_2	TER TAA→AAA (Icaria)	Akdeniz	α^+
Sonlama Kodonu	α_2	TER TAA→TCA (Koya Dora)	Hindistan	α^+
Sonlama Kodonu	α_2	TER TAA→GAA (Seal Rock)	Afrika	α^+
Sonlama Kodonu	α_2	TER TAA→TAT (Pakse')	Loatian Tayland	α^+
Translasyon Sonrası Mutasyonlar				
Ekzon I	$-\alpha$	Cd14 T→G	Afrika	α^+
Ekzon I	α_2	Cd21 G→T	Hollandalı	α^+
Ekzon I	α_2	Cd29 T→C	Akdeniz	α^+
Ekzon I	α_2	Cd30 3bç(del Q)	Çin	α^+
Ekzon I	α_2	Cd31 G→A (R-L)	Çin	α^+
Ekzon II	α_2	Cd 32 G→A (Amsterdam, M-I)	Surinam	α^+
Ekzon II	α_2	Cd 35 T→C (Evora, S-P)	Filipin Portekiz	$\alpha^+ - \alpha^0$
Ekzon II	α_2	Cd 35 T→C (Chartres, F-S)	Fransa	α^+
Ekzon II	α_2	Cd 37 del3bç(Heraklion, del P)	Yunanistan	$\alpha^+ - \alpha^0$
Ekzon II	α_2	Cd 59 G→A (Adana, G-D)	Türkler	$\alpha^+ - \alpha^0$
Ekzon II	α_2	Cd 60/61 del3bç (Clinic, del K)	İspanya	$\alpha^+ - \alpha^0$
Ekzon II	α_2	Cd62 del3bç(AghiaSophia, del V)	Yunanistan	α^0
Ekzon II	α_2	Cd 64 -74 del 33bç	Yunanistan	α^0
Ekzon II	α_2	Cd 66 T→C (Dartmouth, L-P)	Kafkas	$\alpha^+ - \alpha^0$
Ekzon II	α_2	Cd 93 T→G (Bronte, V-G)	İtalya	α^+
Ekzon II	α_2	Cd 93 -99dupl 22bç	İran	$\alpha^+ - \alpha^0$
Ekzon III	α_2	Cd103 A→T (Hb Bronovo, H-L)	Türkler	$\alpha^+ - \alpha^0$
Ekzon III	α_2	Cd104 G→A (Sallanches, C-Y)	Fransa, Pakistan	α^+
Ekzon III	α_1	Cd104 T→A (Hb Oegstgeest, C-S)	Surinam	α^+
Ekzon III	α_2	Cd108 C→A (Hb Bleuland, T-N)	Surinam	α^+
Ekzon III	α_2	Cd109 T→G (Suan Dok, L-R)	Tayland	α^+

Ekzon III	α	Cd110 C→A (Petah Tikva, A-D)	Orta Doğu	α^+
Ekzon III	α_1	Cd119 C→T (Groene Hart)	Fas	α^+
Ekzon III	α_2	Cd 125 T→C (Quong Sze, L-P)	Çin	α^+
Ekzon III	$\alpha^{3,7}$	Cd125 T→A (L-G)	Musevi	α^0
Ekzon III	α_1	Cd129 T→C (Tunis-Bizerte, L- P)	Tunus	α^+
Ekzon III	α_2	Cd 129 T→C (Utrecht, L-P)	Hollanda	α
Ekzon III	α_2	Cd 130 G→C (Sun Prairie, A-P)	Asya, Hindistan	α^+
Ekzon III	α_2	Cd131 T→C (Questembert, S-W)	Fransa, Yugoslavya	α^+
Ekzon III	α_2	Cd132 T→G (Caen, V-G)	Kafkas	α^+
Ekzon III	α_2	Cd 136 T→C (Bibba, L-P)	Kafkas	α^+

Alfa Talasemi'ye yol açan nondelesyonel mutasyonları temelde *HBA2* geni üzerinde bulunduğu bildirilmiştir. Alfa Talasemi ile ilgili gerçekleştirilen mRNA çalışmaları ve olguların fenotipik özelliklerine bakılarak, *HBA2* geninde meydana gelen nondelesyonel mutasyonların klinik şiddetinin, *HBA1* geninde veya alfa allelinde meydana gelen nondelesyonel mutasyonların klinik şiddetinden fazla olduğu tespit edilmiştir. Nondelesyonel α -thal-2'nin delesyonel α -thal-2'den daha ağır fenotipe yol açtığı bildirilmiştir (Çürük'ten aktaran Sözen, 2000).

Alfa Talasemi'de mRNA'nın işlenmesini etkileyen beş mutasyon tespit edilmiştir. Bu mutasyonlardan biri *HBA1* geninin IVS-I akseptör "splice" bölgesinde, diğeri α_2 geninin IVS-II 5' donör bölgesinde ve son üç tanesi α_2 geninin poli A bölgesindedir. AATGAA → AATAAA mutasyonu bakımından bileşik heterozigot bir olgu, α -thal-1'de tek fonksiyonel α genine sahip olgudan ve *HBA2* geninde iki nükleotidlik delesyona (α_2 , AATGAA → AATA--) sahip bir olgudan daha şiddetli kliniğe sahiptir (Hartevelt'ten aktaran Sözen, 2000).

HBA2 geninin ekspresyonu, *HBA1* genin ekspresyonunua göre 2.6 kat daha fazla yapılmaktadır. Bu nedenle nondelesyonel mutasyonların çoğu *HBA2* geninin ekspresyonunda daha etkin olur. *HBA2* gende IVS-1 bölgesinin 5' "splice" bölgesinde meydana gelen 5nükleotidlik delesyon RNA işlenmesini etkilemektedir. Bu delesyon sonucu *HBA2* geni tamamen inaktive olmaz, ekspresyonunda azalma olur (Higgs vd., 1989; Liebhaber, 1989).

HBA2 geninin poli-a kuyruğu sinyal bölgesinde meydana gelen AATAAA → AATAAG mutasyonu Ortadoğu'da yaygındır (Higgs vd., 1989; Loukopoulos, 1991; Fei'den aktaran Polat, 1995). Alfa talasemiye neden olan poli-a kuyruğu

mutasyonlarından AATAAAA → AATGAA mutasyonu Türk kökenlilerde yaygındır (Yüreğir'den aktaran Polat, 1995). α^{PA-2} (AATAAAA → AATA--) mutasyonu ise Hint kökenlilerde yaygındır (Hall'dan aktaran Polat, 1995). IVS-1-117 (G → A) “splice” mutasyonu nondeleyonal alfa talasemi 2'ye neden olur. Alfa talasemi 2 ile IVS-1-117 (G → A) mutasyonun birlikte taşıyan olgularda homozigot alfa talasemi 2'ye benzer klinik gözlemlenmektedir (Higgs vd., 1989; Çürük'ten aktaran Polat, 1995). *HBA2* geninin codon 29'undaki bir baz substitüsyonu da alfa talasemiye neden olmaktadır. Kodon 29'da Timin nükleotidinin C nükleotidine değişmesi lösin aminoasidinin prolin aminoasidine değişmesine ($\alpha^{29Leu \rightarrow Pro}$ varyantını) neden olur. $\alpha^{29Leu \rightarrow Pro}$ varyantının kararsızlığı yüksektir, hızlı katabolize edilebilir. Bunun sonucunda alfa talasemi meydana gelir. *HBA2* geninin codon 29'undaki nondeleyonal mutasyon Alfa Talasemi 1 ile bileşik kalıtıldığında ciddi hipokromik mikrositer anemili Hb H hastalığı meydana gelir (Hall'dan aktaran Polat, 1995).

HBA2 geninde meydana gelen mutasyon sonucu (TAA → CAA) α -globin zinciri 141 aminoasit yerine 172 aminoasit içerir ve Hb Constant Spring hemoglobini oluşur. Hb Constant Spring'e sahip olgular Alfa Talasemi taşıyıcısı fenotipine sahip olurlar (Liebhaber, 1989; Makankawkeyoonvd., 1993; Hundrieser'den aktaran Polat, 1995).

Çizelge 2.6: Uzamış polipeptid zincirine sahip hemoglobinler (Huisman'dan aktaran Polat, 1995).

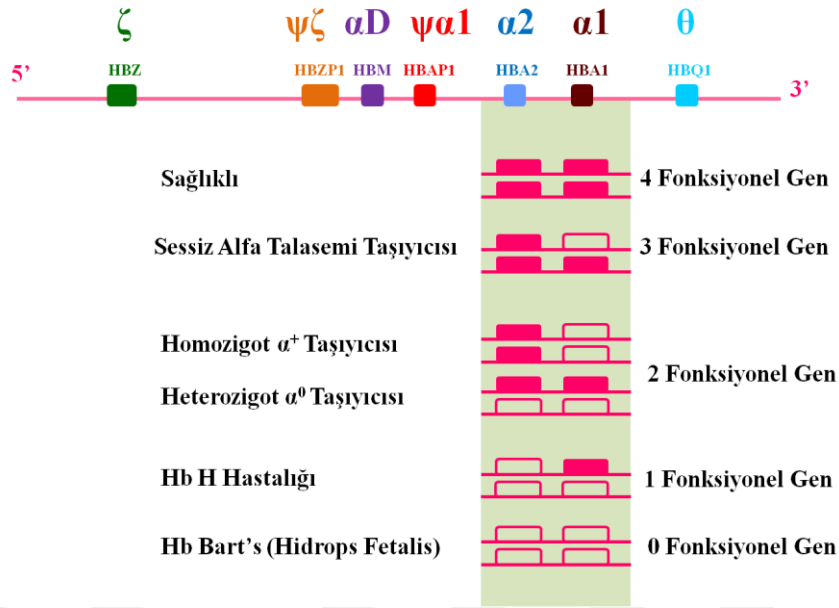
Hb İsmi	Rezidüler
$\alpha 141$ (H19) Constant Spring (31 ek rezidü)	141 142 143 144 145 146 147 148 149 150 151 152 153 154 155 156 157 158 Arg- GLN -Ala-Gly-Ala-Ser-Val-Ala-Val-Pro-Pro-Ala-Arg-Trp-Ala-Ser-Gln-Arg- 159 160 161 162 163 164 165 166 167 168 169 170 171 172 Ala-Leu-Leu-Pro-Ser-Leu-His-Arg-Pro-Phe-Leu-Val- Phe-Glu-COOH
$\alpha 141$ (H19) Icaria	141 142 143 144 145 146 147 148 149 150 151 152 153 154 155 156 157 158 Arg- LYS -Ala-Gly-Ala-Ser-Val-Ala-Val-Pro-Pro-Ala-Arg-Trp-Ala-Ser-Gln-Arg- 159 160 161 162 163 164 165 166 167 168 169 170 171 172 Ala-Leu-Leu-Pro-Ser-Leu-His-Arg-Pro-Phe-Leu-Val- Phe-Glu-COOH
$\alpha 141$ (H19) Koya Dora	141 142 143 144 145 146 147 148 149 150 151 152 153 154 155 156 157 158 Arg- SER -Ala-Gly-Ala-Ser-Val-Ala-Val-Pro-Pro-Ala-Arg-Trp-Ala-Ser-Gln-Arg- 159 160 161 162 163 164 165 166 167 168 169 170 171 172 Ala-Leu-Leu-Pro-Ser-Leu-His-Arg-Pro-Phe-Leu-Val- Phe-Glu-COOH

α141 (H19) Seal Rock	141 142 143 144 145 146 147 148 149 150 151 152 153 154 155 156 157 158 Arg- GLU -Ala-Gly-Ala-Ser-Val-Ala-Val-Pro-Pro-Ala-Arg-Trp-Ala-Ser-Gln-Arg- 159 160 161 162 163 164 165 166 167 168 169 170 171 172 Ala-Leu-Leu-Pro-Ser-Leu-His-Arg-Pro-Phe-Leu-Val- Phe-Glu-COOH
“Frameshift” α139 (HC1) Wayne	139 340 141 142 143 144 145 146 ASN -Thr-Val-Lys-Leu-Glu-Pro-Arg-COOH
Ekstensiyon α₁(NA1) Thionville	-1 +1 +2 MET-GLU -Leu-Ser

2.2.2.2.2. Alfa Talasemilerin Klinik Durumlarına Göre Sınıflandırılması

Alfa Talasemi’de dört klinik form bulunur. Sessiz taşıyıcılık, ağır alfa talasemi taşıyıcılığı, Hemoglobin H hastalığı ve Hemoglobin Bart’s *Hidrops fetalis* sendromu (Schecher, 2008; Harteveld vd., 2010; Sütçü vd., 2011; Higgs vd., 2012). Geçmişte Alfa Talasemi fenotipleri etkilenen alfa globin geni sayısı ile ilişkilendirilirken, günümüzde fenotipin sadece etkilenen alfa globin gen sayısı değil aynı zamanda meydana gelen mutasyon tipi ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Harteveld vd., 2010; Sütçü vd., 2011; Galanello vd., 2011; Berdasco vd., 2013). Büyük delesyonlar, nondelesyonel mutasyonlar, düzenleyici bölgede gerçekleşen mutasyonlar, stabil olmayan mutasyonlar ve epigenetik nedenler Alfa Talasemi’nin fenotipik şiddetini artırıcı etki yaparlar (Karakaş, 2014; Galanello vd., 2011).

HBA2 geni *HBA1* geninden 2-3 kat fazla alfa globin zinciri oluşturmaktadır. Bu nedenle Alfa Talasemi’nin klinik tablosu etkilenen alfa globin genine ve genin ne kadarlık bir kısmının etkilendiğine bağlıdır (Karakaş, 2014).



Şekil 2.11: Alfa Talasemi'nin klinik formları (Harteveld vd., 2010).

Çizelge 2.7: Alfa Talasemi'de genotip-fenotip ilişkisi (Galanello vd., 2011; Çürük, 2007).

Klinik Durum	Genotip	Fenotip
Sağlam	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$	Normal
Sessiz Taşıyıcı	$-\alpha/\alpha\alpha$	Normal
α -Talasemi Taşıyıcı	$-\alpha/-\alpha$	Hafif anemi, mikrositoz, hipokromi
	$--/\alpha\alpha$	Hafif anemi, mikrositoz, hipokromi
Hb H hastalığı	$--/-\alpha$	Orta-Ağır hipokrom mikrositer hemolitik anemi, hafif sarılık, hepatosplenomegali
HbBarts/Hidrops fetalis (Homozigot α -Talasemi)	$--/--$	Ciddi anemi, yaygın ödem, asit, belirgin HSM, iskelet ve kardiovasküler anomalilerin utero ölüm
Nondelesyonel Alfa Talasemi	$\alpha^T\alpha/\alpha\alpha$	Hafif anemi, mikrositoz, hipokromi
HbH	$\alpha^T\alpha/\alpha^T\alpha$	Orta-Ağır hipokrom mikrositer hemolitik anemi, hafif sarılık, hepatosplenomegali
HbH	$-/\alpha^T\alpha$	Ağır hipokrom mikrositer hemolitik anemi, sarılık, hepatosplenomegali
HbH	$--/\alpha\alpha^T$	Ağır hipokrom mikrositer hemolitik anemi, sarılık, hepatosplenomegali

2.2.2.2.2.1. Sessiz Taşıyıcı (α^+)

Alfa globin zincirlerinden sadece birinin kaybı kalan üç işlevsel zincirin varlığı ile ifade edilir (Polat, 1995; Steinberg'ten aktaran Güzelgöl, 2010). Sadece bir allel etkilendiği için α^+ -talasemi fenotipi meydana gelir (Karakaş, 2014).

Alfa globin gen kümesi içinde meydana gelen delesyonlar sadece tek bir alfa genine kapsıyorsa sessiz alfa talasemi taşıyıcılığı ortaya çıkar. Dünya genelinde $\alpha^{3,7}$ ve $\alpha^{4,2}$ delesyonları en sık karşılaşılan delesyonlardır. Tek başlarına ve tek gende meydana geldiklerinde sessiz Alfa Talasemi Taşıyıcılığı fenotipine neden olurlar. Sessiz Alfa Talasemi Taşıyıcılarını kan tahlili ile belirlemek zordur. Çünkü hematolojik bulguları normal ya da normale çok yakındır. Alfa- Beta zincirlerinin oranları normale yakındır (Polat, 1995; Liebhaber, 1989). Hafif mikrositoz ve hipokromi gözlemlenebilir. Hemoglobin elektroforezlerinde Hb A2 normal veya biraz düşük, Hb F normal olarak gözlemlenir (Karakaş, 2014).

2.2.2.2.2.2. Ağır Alfa Talasemi Taşıyıcılığı (Hemoglobin Trait) (α^0)

Alfa globin zincirlerinden ikisinin kaybı kalan iki işlevsel zincirin varlığı ile ifade edilir (Polat, 1995; Steinberg'ten aktaran Güzelgöl 2010). Hemoglobin Trait bazı mutasyonların homozigot formları bazılarının ise heterozigot formları sonucu meydana gelir (Steinberg'ten aktaran Güzelgöl 2010). Hemoglobin Trait'in en sık karşılaşılan nedeni $\alpha^{3,7}$ mutasyonunun homozigot formudur ($-\alpha^{3,7}/-\alpha^{3,7}$). $\alpha^{3,7}$ mutasyonunun dışında 5,2 kb ve 20,5 kb'lık delesyonlar da Hemoglobin Trait etkenidir. Hemoglobin Trait'in hematolojik bulgularında eritrosit sayısının arttığı gözlemlenir (Polat, 1995; Steinberg'ten aktaran Güzelgöl 2010; Liebhaber, 1989), MCV ve MCH değerlerinde azalma vardır (Higgs'ten aktaran Kazgan, 2017). Periferik yaymada hafif mikrositoz, hafif hipokrom ve Hb H inklüzyon cisimleri görülür. Alfa- Beta zincirleri arasındaki oranda azalma vardır. Hemoglobin Trait'li yenidoğanlarda %5-15 oranında Hb Bart's görülür, Hb Bart'sın yerini daha sonra Hb H alır (Liebhaber, 1989; Polat, 1995; Steinberg'ten aktaran Güzelgöl 2010). Homozigot $\alpha^{4,2}$ delesyonunun klinik etkisi, homozigot $\alpha^{3,7}$ delesyonunun klinik etkisinden daha belirgindir. $\alpha^{3,7} / \alpha^{4,2}$ bileşik heterozigotluğunun klinik etkisi ise arada bir şiddete sahiptir (Liebhaber, 1989).

2.2.2.2.3. Hemoglobin H Hastalığı

Alfa globin zincirlerinden üçünün kaybı ve bir işlevsel zincirin varlığı ile ifade edilir (Polat, 1995; Steinberg'ten aktaran Güzelgöl, 2010).

Hb H Hastalığı orta-ağır anemiye neden olur. Bazı hastalar kan transfüzyonuna ihtiyaç duyabilir. Hb H hastaları en sık üç alfa globin geninde delesyon meydana gelmesi sonucu ortaya çıkar. Bunun yanında özellikle α_2 geninde çok sayıda nokta mutasyonu gerçekleşmesi veya α_1 ya da α_2 geninde 2 gen delesyonu ve bir nokta mutasyonu birlikte meydana gelmesiyle de ortaya çıkmaktadır (Karakaş, 2014).

Tek bir fonksiyonel genin varlığı Hb H hastalığına en sık yol açan durumdur. Bunun dışında alfa talasemi 1 ve alfa talasemi 2'nin bir arada meydana gelmesi de Hb H hastalığına neden olur (Higgs vd., 1989; Liebhaber, 1989; Bowden'den aktaran Polat, 1995). Alfa talasemi 1 ve alfa talasemi 2'nin bir arada kalıtılması delesyonel ve nondelesyonel mutasyonların birlikte meydana gelmesi ($--/\alpha^T$) ve nondelesyonel mutasyonların homozigot olması ($\alpha\alpha^T/\alpha\alpha^T$ veya $\alpha^T\alpha/\alpha^T\alpha$) anlamındadır (Al-Saleh'ten; Fei'den; Galanello'dan aktaran Polat, 1995; Higgs vd., 1989; Liebhaber, 1989).

α^0 -talasemi ve α^+ -talasemi'nin birlikte görülmesiyle üç işlevsel alfa globin geni kaybı sonucu Hemoglobin H hastalığı meydana gelir (Chui vd., 2003). Hemoglobin H genellikle delesyonel mutasyonlar sonucunda gelişse de nadiren delesyonel-nondelesyonel mutasyonların birlikte meydana gelmesi ve nondelesyonel mutasyonların homozigotluğu gibi nedenlerle de oluşabilir (Polat, 1995; Öner vd., 1997; Chui vd., 2003; Çürük, 2007; Çürük ve Yüreğir'den aktaran Güzelgöl, 2010).

Hemoglobin H hastalarında alfa globin zincir üretimi azaldığı için alfa-beta globin zincir oranı da düşmektedir (Chui vd., 2003; Steinberg ve Zago'dan aktaran Güzelgöl, 2010).

Hb H Hastalığında alfa globin zincir sentezinin azalması sonucu beta tetramerleri oluşur (Chui vd., 2003). Bu tetramerler hem ile bağlanır ve stabil olmayan Hb H'yi meydana getirir. Hb H hastalarının periferik kanlarında Hb H miktarı yüksektir. Hb H dayanıksız olduğu için eritrositler iç kısımlarına doğru çökerler ve hemolitik anemi meydana gelir (Canatan, 2014).

Hemoglobin H Hastalığı Beta Talasemi İntermedia ile benzer klinik göstermektedir. Fakat kliniğin şiddeti mutasyon çeşitliliğine bağlıdır (Higgs vd., 1989; Steinberg ve Chan'dan aktaran Güzelgül, 2010). Hemoglobin H hastalarında hafif-orta şiddetli anemi, mikrositoz, hipokromi gözlenir (Polat, 1995). Hemoglobin H hastaları genellikle kan transfüzyonuna gerek duymadan yaşayabilirler (Çürük'ten aktaran Güzelgül, 2010). Hemoglobin H hastalığının sıklığı özellikle yüksek oranda SEA mutasyonu ve daha az orana FIL mutasyonunun görüldüğü Güneydoğu Asya'da fazladır (Chuid., 2003).

Yenidoğan Hb H hastalarında %20-40 oranında Hb Bart's görülür. Daha sonra Hb Bart'sın yerini %5-30 oranında Hb H alır. Hb H hastaları aynı zamanda Beta Talasemi mutasyonlarına da sahipse, alfa-beta zincir oranı dengelenmekte ve hastalığın klinik şiddeti azalmaktadır (Karakas, 2014).

$\alpha^{-3,7}$ tipi alfa talasemi 2 ile alfa talasemi 1'in birlikteliğiyle meydana gelen Hb H hastalığının kliniği $\alpha^{-4,2}$ tipi alfa talasemi 2 ve alfa talasemi 1'in birlikteliğiyle meydana gelen Hb H hastalığından daha ılımlıdır (Fei'den aktaran Polat, 1995).

Hb H hastalığına neden olan nondelesyonel mutasyonlar, delesyonel mutasyonlara göre daha yüksek MCV oranı, daha yüksek Hb H düzeyi ve daha düşük hemoglobin oranına sahiptir (Chang vd., 1994; Fei ve Liu'dan aktaran Polat, 1995).

Hb H hastalığında α_2 – globin geninde meydana gelen nondelesyonel mutasyonun klinik etkisi α_2 – globin geninde meydana gelen delesyonel mutasyonların klinik etkisinden ve α_1 – globin geninde meydana gelen nondelesyonel mutasyonların klinik etkisinden daha ağırdır. α_1 – globin genindeki nondelesyonel mutasyonunun klinik etkisi oldukça hafiftir (Galanelo'dan aktaran Polat, 1995).

Hb H hastalığının az rastlanan nedenlerinden biri $-\alpha/-\alpha^T$ genotipidir (Liebhaber, 1989). Hb H hastalığına sahip $\alpha^{4,2}\alpha/\alpha^T\alpha$ veya $\alpha^{4,2}\alpha/\alpha\alpha^T$ mutasyonları taşıyan olguların varlığı rapor edilmiştir. Klinik şiddet meydana gelen mutasyonun hangi globin geni üzerinde olduğuna bağlıdır. α_2 - globin daha fazla globin zinciri sentezlediği için burada oluşan mutasyonlar kliniğin daha ağır olmasına neden olur (Romao'dan aktaran Polat, 1995).

Hb H hastalığının hematolojik verilerinde mikrositoz, hipokromi ve anizopoikilositoz gözlenmektedir. Hemoglobin düzeyleri 9-12 gr/dl arasında

değişmektedir (Liebhaber, 1989). Hb A yetersizliği ve stabil olmayan Hb H tetramerlerinden kaynaklı, hafif şiddetten orta şiddete varan anemi gözlenir (Weatherall Romao'dan aktaran Polat, 1995).

α_2 - globin geni meydana gelen Hb Constant Spring, alfa talasemi 1 ile birlikte ciddi ve kan transfüzyonuna bağımlı Hb H fenotipini meydana getirir (Kropp vd., 1989; Ko vd., 1993; Makankawkeyoon vd., 1993; Liang ve Liu'dan aktaran Polat, 1995).

2.2.2.2.4. Hemoglobin Bart's (*Hidrops fetalis*)Sendromu

Tüm alfa globin zincirlerinin kaybı yani hiç işlevsel alfa globin zincirinin bulunmadığı durumdur (Polat, 1995; Steinberg'ten aktaran Güzelgül, 2010). Alfa Talasemi'nin en ciddi kliniğe sahip formudur (Karakaş, 2014).

Hemoglobin Bart's Sendromu daima büyük delesyonel mutasyonlar kaynaklıdır (Liebhaber, 1989; Polat, 1995).

Hemoglobin Bart's Sendromunda hiç alfa zinciri üretilmediği için dört gama (γ_4) zinciri tetramer oluşturur. Eğer alfa globin gen kümesinde zeta (ζ) geni delesyondan etkilenmemişse gama ve zeta globin zincirleri tetramer oluşturarak Hb Portland I ($\zeta_2\gamma_2$)' i meydana getirir. Hb Portland I fetusu gestasyonel dönemin ortalarından ileri haftalarına kadar taşır. Hb F ve Hb A üretimi için gereken alfa zinciri üretilemez ve sadece Hb Portland I fetusun oksijen ihtiyacına yetemediği için infantların yaklaşık yarısı ölü doğar ya da doğumdan birkaç saat sonra hayatını kaybeder. İnfantların MCV değerleri çok yüksektir. Alfa- beta zincir oranları sıfıra yakındır (Liebhaber, 1989; Polat, 1995).

Tüm *Hidrops fetalis* olgularının onda birinin nedeni Hb Bart's *Hydrops fetalis* sendromudur (Jauniaux'tan aktaran Polat, 1995).

Hb Bart's, fizyolojik bir hemoglobin değildir. ζ -globin geni Hemoglobin Bart's Sendromunda meydana gelen delesyonlardan korunmuşsa fetusun orta gestasyonel dönemden geç gestasyonel döneme kadar yaşayabilmesi için yeterli Hb Portland I ($\zeta_2\gamma_2$) üretimini sağlar (Liebhaber, 1989).

Asya'nın Güneydoğusundaki ülkelerde prenatal ölümlerin %26'sının nedeninin Hemoglobin Bart's Sendromu olduğu rapor edilmiştir (Lebo vd., 1990; Chang vd., 1991;

Ko ve Lam'dan aktaran Polat, 1995). Hemoglobin Bart's Sendromu Akdeniz ülkelerinde nadir görülmektedir (Bowden'dan aktaran Polat, 1995).

Hemoglobin Bart's Sendromu'nda MCV değeri çok yüksektir. Hemoglobin elektroforezinde yüksek oranda Hb Bart's, %10-29 oranında Hb Portland I ve sınır düzeyinde Hb Hg görülür (Green'den aktaran Polat, 1995).

2.2.2.2.3. Alfa Talasemi'nin Epidemiyolojisi

İtalya'da 1946 yılında Vezzoso ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada talasemi dağılımı ile malarya dağılımının paralel olduğu rapor edilmiştir (Canatan, 2007). Alfa Talasemi'nin, Dünyada Akdeniz, Hindistan, Çin, Güneydoğu Asya ve Ortadoğu da yaygın olduğu bildirilmiştir (Güzelgöl, 2010). α^0 -talasemi Asya ve Akdeniz ülkelerinde, Afrika ve Ortadoğu'ya göre daha sık görülmektedir. α^+ -Talasemi'nin delesyonel formları ise daha çok Güneydoğu Asya, Batı Afrika, Akdeniz ve Ortadoğu görülür. α^+ -Talasemi'nin nondelesyonel formlarına ise daha çok körfez ülkelerinde rastlanır (Yalın'dan aktaran Güzelgöl, 2010).

Dünya'da alfa talasemi sıklığının Batı Afrika'da %20-30, Akdeniz Ülkelerinde %5-10, Hindistan, Tayland, Papua Yeni Gine, Suudi Arabistan ve Malezya'da %60-80 olduğu Vergin tarafından 2014 yılında rapor edilmiştir (Vergin, 2014).

Dünya'da alfa talasemi sıklığı Yeni Zelanda'da %5-80, Orta Doğu'da %60, Afrika'da %5-40, Hindistan'da %15-80, Uzak Doğu'da %5-15, Akdeniz Ülkelerinde %5-15 olarak bildirilmiştir. $\alpha^{3,7}$ delesyonu Dünya'da en sık bildirilen alfa talasemi mutasyonudur. Kuzey Tayland'da %58,3, Sicilya'da %46,9, İspanya'da %52,4, Brezilya'da %10,7, Hollanda'da %58,2, Malezya'da %49,9 oranlarıdır. İran'da %60 oranla en sık $\alpha^{3,7}$ delesyonu ile $\alpha^{4,2}$ delesyonu, ayrıca 16 farklı delesyonel ve 70'ten fazla nondelesyonel alfa talasemi mutasyonu bildirilmiştir (Eisenberg vd., 2002; Rahimi, 2013).

Gerçekleştirilen çeşitli çalışmalarda $\alpha^{20,5}$ çift gendelesyonunun sıklığı, İran'da %1,8-4,8, Yunanistan'da %12, Hollanda'da %0,9, Sicilya'da %4,5, Kuzey Kıbrıs'ta %7,8 olarak bildirilmiştir (Baysal vd., 1995; Çelik vd., 2013; Bayatvd., 2013; Rahimi, 2013).

Karakaş'ın 2014 yılında Hematolog dergisindeki bir yazısında Alfa talasemi ile ilgili moleküler çalışmalarda alfa talasemi mutasyonlarının bölgeler arasında farklılık

gösterdiği bildirilmiştir. En sık $\alpha^{3,7}$ (%5,5-52,2) tek gen delesyonuna rastlanmakta ve sırasıyla $\alpha^{20,5}$ (%0,5-22), $\alpha^{4,2}$ (%0,5-12), MED (%9,5-27,7), FİL (%0,5-3,2) delesyonları izlenmektedir. Delesyonların yanında nondelesyonel mutasyonlara da rastlanmaktadır; poliA-2(%1,4-10), α_1^{-5nt} (%4-8), poliA-1 (%0,5-9), Hb Koya Dora (%1,8-5,5), Hb Adana (%1,9). $\alpha\alpha\alpha^{anti-3,7}$ triplikasyonuna ise nadir olarak rastlanmıştır (Karakas, 2014).

Özsoylu ve arkadaşlarının 1982 yılında Ankara’da yaptıkları çalışmada alfa talasemi sıklığının %4,1 olduğu bildirilmiştir (Özsoylu’dan aktaran Canatan, 2014).

1986’da Kılınç ve arkadaşlarının Adana’da doğan bebeklerin kordon kanından gerçekleştirdikleri çalışmada, Alfa Talasemi taşıyıcılığı sıklığının %3,3 olduğu bildirilmiştir (Kılınç’tan aktaran Güzelgöl, 2010).

Fei YJ ve arkadaşlarının 1989 yılında Ankara’da yaptıkları çalışmada alfa talasemi sıklığının %3,6 olduğu bildirilmiştir (Fei’den aktaran Canatan, 2014).

1990 yılında Yüreğir ve arkadaşları tarafından Adana-Karataş’ta gerçekleştirilen çalışmada $\alpha^{3,7}$ ve $\alpha\alpha\alpha^{anti3,7}$ varyasyonlarına sahip olguların olduğunu bildirilmiştir (Yüreğir’den aktaran Güzelgöl, 2010). 1992 yılında gerçekleştirdikleri bir çalışmada ise *HBA2* geninin PolyA kuyruğunda bir nokta mutasyonuna (AATAAA→AATGAA) sahip olgu rapor edilmiştir (Yüreğir’den aktaran Güzelgöl, 2010).

Arcasoy ve arkadaşlarının 1991 yılında yaptıkları çalışmada ülke genelinde alfa talasemi sıklığının %0,25 olduğu bildirilmiştir (Arcasoy’dan aktaran Canatan, 2014).

Çürük ve arkadaşlarının 1993 yılındaki çalışmasında iki Türk hastada Hb Adana ile kombine $\alpha^{20,5}$ çift gen delesyonunun varlığı rapor edilmiştir (Çürük’ten aktaran Güzelgöl, 2010).

Polat 1995 yılında Mersin’de gerçekleştirdiği uzmanlık tezinde, 8 olguda $\alpha^{3,7}$ tek gen delesyonu ve 1 olguda $\alpha^{20,5}$ çift gen delesyonu tespit etmiştir (Polat, 1995).

1997 yılında Öner ve arkadaşlarının 25 Hb H hastasında gerçekleştirdikleri çalışmada 10 farklı Alfa Talasemi varyasyonu tespit edilmiş ve en sık görülenlerin $\alpha^{3,7}$ tek gen delesyonu (%28,6) $\alpha^{20,5}$ çift gen delesyonu, $\alpha 2$ poliA-1 poliadenilasyonu ve MED I çift gen delesyonu olduğu bildirilmiştir (Öner vd., 1997).

2002 yılına Antalya’da, Canatan ve arkadaşlarının Hb H hastalarının moleküler temelini inceledikleri çalışmada $\alpha^{20,5}$, $\alpha^{3,7}$, MED-I ve $\alpha^{4,2}$ mutasyonlarını tespit etmişler ve Alfa Talasemi taşıyıcılığı sıklığının bu bölgede düşük olduğunu (%2,5-6,5) bildirmişlerdir (Canatan vd., 2002).

Yalın 2004 yılında Adana’da gerçekleştirdiği doktora tez çalışmasında, Alfa Talasemi varyasyonlarından $\alpha^{3,7}$ ’nin % 45, MED I’in % 28,3, $\alpha^{20,5}$ ’in % 1,7 sıklıkta olduğunu bildirmiştir. Çalışmasında $\alpha^{4,2}$ tek gen delesyonuna rastlamamıştır (Yalın’dan aktaran Güzelgül, 2010).

2007 yılında Çürük ve arkadaşlarının Çukurova’da Hb H hastası 32 olguda gerçekleştirdikleri çalışmalarında, 9 olguda $\alpha^{20,5}/\alpha^{3,7}$, 6 olguda MED I^(17,4)/ $\alpha^{3,7}$, 4 olguda MED II^(26,5)/ α PA 2 α , 3 olguda MED II^(26,5)/ $\alpha^{3,7}$, 2 olguda MED II^(26,5)/ α^{5nt} α , 2 olguda $\alpha^{20,5}/\alpha$ codon59, 2 olguda α PA 1 α / α PA 1 α , 1 olguda MED I^(17,4)/ $\alpha^{3,7}$ + Hb AS, 1 olguda MED I^(17,4)/ α^{5nt} α , 1 olguda MED I^(17,4)/ α PA1 α , 1 olguda $\alpha^{20,5}/\alpha^{4,2}$ ve 1 olguda MED II^(26,5)/ α PA 2 α + Hb AS tespit edilmiştir (Çürük, 2007).

Çelik ve arkadaşlarının 2008-2010 yıllarında *StripAssay* yöntemi ile gerçekleştirdikleri çalışmada olguların 97’sinde 9 farklı mutasyon ve 12 farklı genotip tespit edilmiştir. Bu çalışma Türkiye’de ilk kez FIL mutasyonunun tespit edildiği çalışmadır. Tespit edilen diğer mutasyonlar ve sıklıkları $\alpha^{3,7}$ (%43,81), α^{25nt} (%6,70), MED (%5,67), α_2 poliA-2 (%2,57)’dir (Çelik vd., 2013).

Güvenç ve arkadaşlarının 2010 tarihli yayımlarında, Adana’da beta talasemi taşıyıcılığı ve demir eksikliği anemisi dışlanan 3000 olguda 11 farklı Alfa Talasemi varyasyonu tespit edilmiş ve Alfa Talasemi sıklığı %7,5 olarak rapor edilmiştir. Alfa Talasemi varyasyonları arasında $\alpha^{3,7}$ tek gen delesyonunun %53,33 oranla en sık görüleni, bunu %15,11 oranla MED çift gen delesyonunun izlediği rapor edilmiştir. Çalışmada $\alpha^{3,7}$ tek gen delesyonunun allel frekansı %40,66 olarak hesaplanmıştır (Güvenç vd., 2010).

2011 yılında Sütçü ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen çalışmada 25 çocuk olguda Alfa Talasemi varyasyonu araştırılmış, 5 olguda heterozigot formda MED çift gen delesyonu, 2 olguda heterozigot formda $\alpha^{20,5}$ çift gen delesyonu, 1 olguda heterozigot formda α_2 IVS1^{5nt} delesyonu ve 1 olguda heterozigot formda $\alpha^{3,7}$ tek gen delesyonu ($\alpha^{3,7}$ allel frekansı %5,55) tespit edilmiştir (Sütçü vd., 2011).

Onay ve arkadaşlarının 2013 yılında Ege Bölgesi'nde yaptıkları çalışmada tespit edilen mutasyonlar ve sıklıkları $\alpha^{3.7}$ (%52,2), $\alpha^{20.5}$ (%14,2), MED (%11), α^{5nt} (%4), α_2 poliA-1 (%9), $\alpha\alpha^{anti3.7}$ (%3,2), α cd142 α (%1,8) ve FIL (%3,2)'dir (Onay'dan aktaran Karakaş, 2014).

Karakaş ve arkadaşlarının 2013 yılında *Strip Assay* yöntemiyle gerçekleştirdikleri çalışmada 132 olguda 11 farklı Alfa Talasemi varyasyonu tespit edilmiştir. En sık görülen varyasyonun %44 oranla $\alpha^{3.7}$ tek gen delesyonu olduğu bunu, $\alpha^{20.5}$ (%14,8), MED (%12,8) ve FIL (%1,8) çift gen delesyonlarının, α^{-25nt} , (%7,4), $\alpha\alpha^{anti3.7}$, Hb Kayo Dora ve α_2 poly A-1 (%5,5), $\alpha^{24.2}$, Hb Adana ve Hb Icaria varyasyonlarının izlediği bildirilmiştir (Karakaş'tan aktaran Gökdoğan, 2015).

Aldemir ve İzmirli'nin 2014 tarihli yayımlarında, Hatay'da 407 olguda gerçekleştirdikleri çalışmalarında $\alpha^{3.7}$ tek gen delesyonunun %29.48 oranda, MED çift gen delesyonunun %5.16 oranda, α COD8(-AA), α_2 IVS 1^{-5nt}, α_2 poli A1 mutasyonlarının %0.25'er oranlarda görüldüğü rapor edilmiştir (Aldemir vd., 2014).

Onay ve arkadaşlarının 2015 tarihli yayımlarında 231 olgudan beşinde delesyonel Alfa Talasemi mutasyonları ($\alpha^{3.7}$, $\alpha^{20.5}$, MED, FIL, SEA), yedisinde delesyonel olmayan Alfa Talasemi mutasyonları (α PA-1 α , α -5ntdel α , $\alpha\alpha^{anti-3.7}$, α cd142 α , α PA-2 α , α cd59 α , α IC α) ve 25 farklı Alfa Talasemi genotipi tespit edilmiştir. Çalışmada en sık $\alpha^{3.7}$ (%52.28) , $\alpha^{20.5}$ (%14.74) ve MED (%10.53) varyasyonlarının bulunduğu rapor edilmiştir (Onay'dan aktaran Gökdoğan, 2015).

Ünal ve Gümrük'ün 2015 tarihli yayımlarında Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde 1981-2014 yılları arasında 788 talasemi hastasından genotipleri bilinen 38 hastada en sık $\alpha^{3.7}$ (%62.8) , $\alpha^{20.5}$ (%51.4), MED-II (%25.7), MED-I (%17) allellere rastlandığı bildirilmiştir. Ayrıca çalışmada, Alfa Talasemi taşıyıcısı olduğu bilinen 78 çocukta 11 farklı genotip tespit edilmiş ve en sık rastladıkları genotiplerin $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ (%39.7), $-\alpha^{20.5}/\alpha\alpha$ (%26.9), MED-II/ $\alpha\alpha$ (%10.3) ve α (PA- 1)/ $\alpha\alpha$ (%6.4) olduğu rapor edilmiştir (Ünal vd., 2015).

Bozdoğan ve arkadaşlarının Adana'da 2015 yılında, 539 olguda Alfa Talasemi varyasyonlarını araştırdıkları çalışmada, 12 farklı Alfa Talasemi varyasyon ve 29 farklı genotip tespit edilmiştir. Çalışmada en sık $\alpha^{3.7}$ (%63.3), MED (%11.7), $\alpha^{20.5}$ (%10.7), α_2 IVS1^{-5nt} (%3.9) ve α_2 polyA-2 (%3.5) varyasyonlarına ve $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ (%35.8), $-\alpha^{3.7}/$

$\alpha^{3.7}$ (%18.9), $-\alpha^{320.5}/\alpha\alpha$ (%11.5) ve $-\text{MED}/\alpha\alpha$ (%10.4) genotiplerine rastlandığı rapor edilmiştir (Bozdoğan vd., 2015).

Gökdoğan'ın 2015 yılında Aydın'da gerçekleştirdiği uzmanlık tez çalışmasında, 12 farklı genotip ve 11 farklı Alfa Talasemi varyasyonu tespit etmiştir. Çalışmada en sık $\alpha^{3.7}$ tek gen delesyonuna (%33,65) rastlandığı bunu $\alpha^{20.5}$ çift gen delesyonu (%7,68), MED çift gen delesyonu (%4,8), α_2 PolyA1 mutasyonu (%3,84), $\alpha_2\text{IVS1}^{(-5\text{nt})}$ mutasyonu (%1,92), $\alpha^{4.2}$ tek gen delesyonu (%1,92), α_2 PolyA2 mutasyonu (%1,92), $\alpha\alpha\alpha^{\text{anti}3.7}$ triplikasyonunun (%0,91) izlediği rapor edilmiştir. Ayrıca çalışmada daha önce tanımlanmamış HBA2:c.93_95+2 del GAGGT mutasyonu ve ülkemizde daha önce tanımlanmamış HBA1: c328 del C (*HbVar ID: 2724;HGVS name: HBA1:c.328delC*) heterozigot mutasyonu tespit edildiği bildirilmiştir (Gökdoğan, 2015).

Jassim ve arkadaşlarının 2001 yılında Bahreyn'de gerçekleştirdikleri çalışmada, yaşları 14 gün ile 78 yaş arasında değişen 56 olguda en sık rastlanan Alfa Talasemi varyasyonunun %53 oranla αpolyA1 olduğunu bildirmişlerdir (Jassim vd., 2001).

Akhavan-Niaki ve arkadaşlarının 2003 yılında İran'da 722 erişkin Alfa Talasemi taşıyıcısında, gerçekleştirdikleri çalışmada 367 olguda $\alpha^{3.7}$, 54 olguda $\alpha^{4.2}$, 62 olguda --MED, 14 olguda, polyA1, 133 olguda polyA2, 48 olguda $\alpha^{-5\text{nt}}$, 32 olguda Hb Constant Spring, 50 olguda $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$, 6 olguda $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{4.2}$, 7 olguda $-\alpha^{3.7}/\alpha$ PA2 α , ve 5 olguda $-\alpha^{3.7}/\alpha\text{CSP}\alpha$ mutasyonları tespit edilmiştir (Akhavan-Niaki vd., 2012).

2003 yılında Al-Allawi ve arkadaşlarının Irak'ın Kuzeydoğusunda gerçekleştirdikleri çalışmada, beta talasemi taşıyıcılığı ve demir eksikliği anemisi dışlanan hipokrom mikrositer anemili 101 olgudan 4'ünde $\alpha^{3.7}$, MED-I, $\alpha^{20.5}$, $\alpha^{4.2}$ delesyonel mutasyonları, 5'inde α PolyA1 α , $\alpha\alpha$ Adana, $\alpha^{-5\text{nt}}\alpha$, $\alpha\text{CS}\alpha$, ve $\alpha\text{PolyA2}\alpha$ nondelesyonel mutasyonları tespit edilmiştir. Çalışmada $\alpha^{3.7}$ Alfa Talasemi varyasyonu frekansı en yüksek (%59,6) varyasyon olarak bildirilmiştir (Al-Allawi vd., 2013).

Sankar ve arkadaşlarının 2006 yılında yayımlanan çalışmasında, hipokrom mikrositer anemili 275 olguda Alfa Talasemi taşıyıcılığı sıklığının %12.7, $\alpha^{3.7}$ tek gen delesyonunun sıklığının %9, orak hücre anemisine sahip olgularda $\alpha^{3.7}$ tek gen delesyonu sıklığının %30.8 olduğu rapor edilmiştir (Sankar vd., 2006).

2009 yılında Hellani ve arkadaşlarının Suudi Arabistan’da hipokrom mikrositer anemili 41 olguda gerçekleştirdikleri çalışmada $\alpha^{3.7}$ tek gen delesyonunun oranı %64 olarak bildirilmiştir (Hellani’den aktaran Gökdoğan, 2015).

Lin ve arkadaşlarının Tayvan’da gerçekleştirdikleri 2010 tarihli yayımlarında en sık rastlanan Alfa Talasemi varyasyonunun SEA çift gen delesyonu ve daha sonra $\alpha^{3.7}$ tek gen delesyonu olduğu bildirilmiştir (Lin’den aktaran Gökdoğan, 2015).

Baysal’ın 2011 yılında Birleşik Arap Emirlikleri’nde doğan 419 bebeğin kordon kanında gerçekleştirdiği çalışmada Alfa Talasemi oranı %49 olarak bildirilmiştir. En sık rastlanan varyasyonlardan $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ varyasyonunun sıklığı %34, $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$ varyasyonunun sıklığı ise %11 olarak rapor edilmiştir (Baysal, 2011).

Çin’in farklı şehirlerinde, Zhang ve arkadaşlarının 2012 yılında (%59.2), Wu ve arkadaşlarının 2007 yılında (%75), Zheng ve arkadaşlarının 2011 yılında (%68.5), Xu ve arkadaşlarının 2004 yılında (%48.54) gerçekleştirdikleri birbirinden bağımsız çalışmalarda, en sık rastlanan Alfa Talasemi varyasyonunun SEA olduğu bildirilmiştir. Yao ve arkadaşlarının 2013 yılında, Çin’in Chongqin şehrinde gerçekleştirdikleri çalışmada ise en sık rastlanan Alfa Talasemi varyasyonunun %54.55 oranla $\alpha^{3.7}$ olduğu bildirilmiştir (Yao vd., 2013).

Rosnah ve arkadaşlarının 2012 yılında Malezya’nın kuzeydoğusunda yaptıkları çalışmada en sık rastlanan mutasyonun $\alpha^{3.7}$ (%9,25) olduğunu bunu SEA ve $\alpha^{4.2}$ mutasyonlarının izlediğini, FİL mutasyonunun özellikle Filipinler’de sıkça görüldüğünü rapor etmişlerdir (Rosnah vd., 2012).

Alibakhshi ve arkadaşlarının 2015 yılında yayımlanan çalışmalarında, İran’ın popülasyonundan 678 alfa talasemi minörlü erişkinde 21 farklı Alfa Talasemi varyasyonu tespit edildiği ve en sık rastlanan varyasyonların $\alpha^{3.7}$ (%60.9), α^{-5nt} (%10.6) ve α PolyA4 (%9.9) olduğunu rapor edilmiştir (Alibakhshi vd., 2015).

Kamal ve arkadaşlarının 2015 yılında Katar çocuk popülasyonunda gerçekleştirdikleri çalışmada, Beta Talasemi ve demir eksikliği anemisi dışlanmış, Alfa Talasemi şüphesi olan 127 çocuktan 50’sinde $\alpha^{3.7}$ tek gen delesyonu (%9.4 homozigot, %30, heterozigot), birinde heterozigot formda α^{-5nt} delesyonu (%0,8), ikisinde heterozigot formda α polyA1 mutasyonu ve birinde α polyA1/ $\alpha^{3.7}$ ile bileşik heterozigot mutasyonları tespit edilmiştir (Kamal vd., 2015).

2015 yılında Huang ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen çalışmada Çin'in Guizhou şehrinde yeni doğan 1219 bebekte %3,28 oranında Alfa Talasemi taşıyıcılığı tespit edilmiştir. Alfa Talasemi varyasyonları arasında en sık rastlananların %42,5 oranla SEA/ $\alpha\alpha$ ve %35 oranla $\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ olduğu bildirilmiştir. Yaşları 3 ay ile 60 yaş arasında 224 Alfa Talasemi hastası olgu kullanılarak yapılan aynı çalışmada 11 farklı genotip ve 5 farklı Alfa Talasemi varyasyonu tespit edilmiştir. En sık rastlanan mutasyonların yine SEA (%65.89) ve $\alpha^{3.7}$ (%22.8) olduğu bildirilmiştir (Huang vd., 2015).

Çizelge 2.8: Türkiye'den bildirilen Alfa Talasemi Mutasyonu allel sıklığı (%) (Karakas, 2014).

Mutasyon	Öner ve ark 1997 n:9	Çürük ve ark 2007 n:32	Güvenç ve ark 2010 n:225	Sütçü ve ark 2011 n:9	Çelik ve ark 2013 n:97	Karakas ve ark 2013 n:132	Onay ve ark 2013 n: 229
$-\alpha^{3.7}$	28	29,6	40,6	5,5	43,8	44	52,2
$--^{20.5}$	22	18,8	3,3	11,1	0,5	14,8	14,2
α^{PA-2}	10	7,8	2	-	2,5	-	1,4
α_1^{-5nt}	8	4,7	-	5,5	6,7	7,4	4
α^{PA-1}	-	4,7	0,7	-	0,5	3,7	9
$\alpha\alpha^{anti-3.7}$	-	-	1,1	-	1,5	5,5	3,2
$-\alpha^{4.2}$	12	1,6	0,6	-	5,6	1,8	-
MED	20	14,1	9,5	27,7	-	12,8	11
$-\alpha^{26.4}$	-	15,7	-	-	-	-	-
--FIL	-	-	-	-	0,5	1,8	3,2
α_1 codon 59	-	-	-	-	-	1,8	-
α_1 cd 14 [G>A]	-	-	-	-	-	3,7	-
α_2 cd 142 (A>C) Hb Koya Dora	-	-	-	-	-	5,5	1,8
α_2 cd 142 [T>A] (Hb Icaria)	-	-	-	-	-	1,8	-

2.2.2.2.4. Alfa Talasemi'lerin Hematolojik Tanısı

Alfa Talasemi'lerin tanısında moleküler analizlerden önce hematolojik parametreler ve Hb elektroforezi sonuçları değerlendirilmeli, moleküler tanıya uygulanacak yöntem bunlara göre seçilmelidir (Özkınay, 2014). Hematolojik parametrelerin referans aralıklarının yaş ve cinsiyete göre farklılık gösterdiği dikkate alınmalıdır (Çizelge 2.9) (Herklotz'tan aktaran, Irmak 2014).

Çizelge 2.9: Alfa Talasemi türlerine göre eritrosit indeksleri (Bozkurt, 2016).

Eritrosit İndeksleri	Normal		Etkilenmiş		Taşıyıcı	
	Erkek	Kadın	Hb Bart's	HbH Hastalığı	α -Talasemi Trait (--/ $\alpha\alpha$ veya - α - α)	α -Talasemi Sessiz Taşıyıcı
MCV (fL)	89.1±5.01	87.6±5.5	136±5.1	Çocuk: 56±5 Yetişkin: 61±4	71.6±4.1	81.2±6.9
MCH (pg)	30.9±1.9	30.2±2.1	31.9±9	18.4±1.2	22.9±1.3	26.2±2.3
Hb (g/dL)	15.9±1.0	14.0±0.9	3-8	E: 10.9±1.0 K: 9.5±0.8	E: 13.9±1.7 K: 12.0±1.0	E: 14.3±1.4 K: 12.6±1.2

Hematolojik parametreler değerlendirilirken öncelikle hemoglobin miktarı ardından ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu miktarı (MCHC), eritrosit sayısı (RBC) ve eritrosit dağılım genişliği (RDW) değerlerine bakılmalıdır (Albayrak vd., 2009). Bu değerler talasemi ile demir eksikliği anemisi ayırımında yardımcıdır (Ford, 2013). Talasemi taşıyıcılarında hemoglobin miktarları normal ya da normalden 1-2 g/dl daha azdır. Eritrosit dağılım genişliği (RDW) değerleri normal, eritrosit sayıları (RBC) genellikle normalden yüksek, ortalama eritrosit hacmi (MCV) ve ortalama eritrosit hemoglobini (MCH) değerleri düşüktür. Periferik yaymalarında hipokromi ve mikrositoza rastlanır. Demir eksikliği anemisinde ise eritrosit dağılım genişliği (RDW) değerinde artış, eritrosit sayısı (RBC), ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), ortalama hemoglobin yüzdesel miktarı (MCHC) değerlerinde düşüş görülür (Herklotz'tan aktaran Irmak, 2014).

Periferik yayma eritrositlerin morfolojik (büyüklük, şekil, renk) değişikliklerini değerlendirmede kullanılan bir yöntemdir. Eritrositlerin morfolojik değişimleri eritrosit

indekslerine de yansımaktadır (Bozkurt, 2016). Bu nedenle Hematolojik değerlendirme yapılırken tam kan sayımı değerlerinin yanında periferik yayma yapılmalı ve eritrositlerin morfolojileriyle eritrosit indeksleri beraber değerlendirilmelidir.

Talasemi taşıyıcısı bir olgularda yapılan periferik yaymada eritrositlerde mikrositoz ve hipokromi görülebilir (Albayrak vd., 2009) fakat eritroblastlar görülmez (Bozkurt, 2016). Hb Bart's sendromuna sahip olgularda ciddi anizopoikiliositoz ve büyük, hipokromik eritrositler, HbH Hastası olgularda anizositoz, hipokromi, mikrositoz ve nadiren eritroblastlar gözlemlenebilir (Bozkurt, 2016).

Klinik kimya testlerinden olan demir bağlama kapasitesi, demir, B12 vitamini, ferritin ve folik asit değerleri demir eksikliği anemisi ve talasemi için ayırıcı olabilen diğer parametrelerdir. Hastalığın türü ve klinik şiddetine bağlı olarak Talasemili bireylerde demir normal veya yüksek, demir bağlama kapasitesi normal veya düşüktür. Demir eksikliği anemisinde ise demir bağlama kapasitesi yüksek, demir değeri düşüktür. Serumdaki ferritin düzeyi demir eksikliği anemisinde düşüktür. Talasemide ise kan transfüzyonuna bağlı olarak değişiklik gösterir (Martin vd., 2013). Semptomatik olan Talasemilerde folik asit eksikliği nedeniyle megaloblastik anemi görülebilir. Ayrıca eritrositlerin intravasküler hemolize uğramaları sonucu hiperbilirubinemi ve hiperürisemide gelişebilir (Carson'dan aktaran Irmak, 2014).

Hematolojik parametreler ve periferik yayma ile demir eksikliği tanısı yapılabilsede de Talasemilerin tanısı için gerekli bir diğer test hemoglobin elektroforezidir. Hemoglobin elektroforezi hemoglobinleri ayırıştırarak tiplerini oranlarını ve anormal hemoglobinler belirlemede kullanılan bir yöntemdir (Bozkurt, 2016). Elektriksel bir alanda, elektrik akımını iletebilen bir çözelti içerisindeki yüklü partiküllerin göç ettirilerek moleküler ağırlıklarına göre ayrıştırılması prensibine dayanır. Elektroforezle hemoglobinlerin tiplerinin belirlenmesi talasemili ve hemoglobinopatili hastaların laboratuvar tanısı için gereklidir (Clarkev d.,2000; Aydınok, 2012).

Alfa talasemiye özgü hemoglobin tipleri Hb Bart's ve Hb H'dir. Alfa talasemi tanısında bu hemoglobin tipleri dışında yetişkin hemoglobini Hb A ve embriyonel hemoglobin Hb Portland'da dikkate alınır. Alfa talasemi çeşidine göre gözlenen hemoglobin tipleri ve oranları değişiklik göstermektedir (Çizelge 2.10) (Bozkurt, 2016).

Çizelge 2.10: 1 yaşından sonra Alfa Talasemi çeşidine göre gözlenen hemoglobin tipleri ve oranları

(>12 ay)	Normal	Etkilenmiş		Taşıyıcı	
		Hb Bart's (Hydrops fetalis) Sendromu	HbH Hastalığı	Alfa Talasemi Trait	Alfa Talasemi Sessiz Taşıyıcı
HbA	(%) 96-98	0	60-90	96-98	96-98
HbF	(%) <1	0	<1.0	<1.0	<1.0
Hb Bart's	(%) 0	85-90	2-5	0	0
HbH	(%) 0	0	0.8-40	0	0
Hb A2	(%) 2-3	0	<2.0	1.5-3.5	2-3.5

Hastaların hematolojik özelliklerinin belirlenmesi talasemi tanısında en çok kullanılan yöntemdir, bu yöntem protein düzeyindedir. Diğer bir yöntem ise hastalığa neden olan genetik bozuklukların DNA analiz yöntemleri ile belirlenmesidir (Sözen, 2000).

Tek gen mutasyonuna sahip olguların tanısı moleküler çalışmalar olmadan belirlenemez. Çünkü bu olguları klinik fenotipleri ve hematolojik parametreleri normal ya da normale çok yakındır (Altay, 2002; Galanello vd., 2011; Viprakasit'ten aktaran Karakaş, 2014).

Talasemi ön tanılı olgularda demir eksikliği (serum demir, demir bağlama kapasitesi, ferritin parametreleriyle), beta talasemi taşıyıcılığı (Hb elektroforezi ve DNA dizileme ile) ve kronik hastalık anemisi dışlandıktan sonra alfa talasemi ayırıcı tanısı yapılmalıdır (Altay, 2002; Galanello vd., 2011; Viprakasit'ten aktaran Karakaş, 2014).

2.2.2.2.5. Alfa Talasemi'lerin Moleküler Tanısı

Alfa Talasemi tanısında kullanılan moleküler yöntemlerin başında *Allel Spesifik Oligonükleotid Hibridizasyon (ASO)* yöntemi ve *Çoklu Ligasyona Bağlı Prob Amplifikasyonu (Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification- MLPA)* yöntemi gelmektedir.

Nokta mutasyonlarının sık görüldüğü Beta Talasemi için dizi analizi yeterli bir yöntem iken, delesyon ve duplikasyonların yol açtığı Alfa Talasemi için dizi analizinden önce gen değişikliği olan bölge belirlenmelidir. *MLPA* yöntemiyle belirli

gen ya da gen bölgesinde dizi değişikliği olup olmadığına bakılır ardından, DNA dizileme ile meydana gelen değişik belirlenir (Harteveld vd., 2010; Özkınay, 2014). *MLPA* yönteminde problar hastalıkla ilgili DNA parçaları ile hibridize olur. Reaksiyona eklenen Ligaz enzimleri DNA ile hibridize olmuş bitişik haldeki problemleri birbirleri ile kovalent olarak bağlar. Birbirlerine bağlanan problemler PCR ile amplifiye edilir. Amplikon miktarı hedef genin kopya sayısı ile doğru orantılıdır. Bu doğru orantı sayesinde delesyona uğrayan bölgelerle hibridize olan problemlerin sinyalinde azalma, duplikasyona uğrayan bölgelerin prob sinyallerinde ise bir artış gözlenir (Harteveld vd., 2005; Kipp vd., 2011). *MLPA*'da radyoaktif belirlemeye gerek kalmaz, yüksek hassasiyet ve güvenilirliktedir (Cappellini, 2016).

ASO yönteminde doğrudan talasemiye özgün mutasyon olup olmadığına bakılır (Gökdoğan, 2015). *StripAssay* yöntemi *Allel Spesifik Oligonükleotid Hibridizasyon* yöntemlerinden biridir. Yöntemde hastalığa özgü bölgelere göre tasarlanmış problemler striplere sabitlenmiş durumdadır. Strip üzerindeki her probun hangi mutasyona denk geldiği bilinmektedir. Yöntem temelde üç basamaktan oluşmaktadır. İlk basamakta ilgili gen bölgeleri, biotin ile işaretlenmiş primerler kullanılarak amplifiye edilir. İkinci basamakta amplikonlar strip üzerine sabitlenmiş problemlerle hibridize edilir. Üçüncü basamakta ise, eğer prob ve amplikon hibridize olmuşsa reaksiyona eklenen konjugat solüsyonu biotini yakalar ve renk değişimi (bant oluşumu) meydana gelir. Bant oluşumu (renk açığa çıkması) amplikonun ilgili bölgedeki mutasyona sahip olduğunu göstermektedir (ViennaLab Diagnostics).

BÖLÜM 3

GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Gereçler

3.1.1. Cihazlar

- Termal Döngü Cihazı: *Applied Biosystems 9700*
- NanoDrop
- Vortex: *Yellowline*
- Mikrosantrifüj: *Hettich-Mikro 20*
- DNA İzolasyon Cihazı: *Qiagen EZ1 Advanced XL*
- -20°C Derin Dondurucu: *Arçelik*
- +4°C Buzdolabı: *Indesit ve Beko*
- Saf Su Sistemi: *TKA Genpure*
- Strip Assay Cihazı: *Tecan ProfiBlot T48*

3.1.2. Kimyasal Malzemeler

ViennaLab Diagnostics StripAssay Kiti

- Amplifikasyon Karışımı A1
- Amplifikasyon Karışımı A2
- Amplifikasyon Karışımı B
- Taq Dilüsyon Solüsyonu
- Taq DNA Polimeraz (5 U/µl)
- DNAT(Yükleme Boyası)
- Hibridizasyon Solüsyonu

- Yıkama Solüsyonu A
- Konjugat Solüsyonu
- Yıkama Solüsyonu B
- Renk Geliştirici Solüsyon

3.2. Yöntem

3.2.1. Örnek Seçimi

Çalışma Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanmıştır. Onay belgesi Ek 1’de verilmiştir. Çalışmada kullanılacak kan örnekleri Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Genetik Hastalıklar Tanı Merkezine, Alfa Talasemi Ön Tanısı ile başvuran hastalardan alınmıştır. Hastalar Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar Etik Kurulu tarafından onaylanan gönüllü olur formunu doldurmuştur.

Çalışmada alfatalasemi klinik ön tanısına sahip olan, en az üç kuşaktır Trakya bölgesinde yaşayan, birbirleri ile akrabalık bağı bulunmayan olguların DNA’ları kullanılmıştır. Sanger Dizileme ile gerçekleştirilen Beta Talasemi mutasyon analizleri ve MLPA yöntemiyle gerçekleştirilen Alfa Talasemi mutasyon analizlerinde hiçbir varyasyona rastlanmayan olgular Strip Assay yöntemi ile değerlendirilmiştir.

3.2.2. Vienna Lab Diagnostics Alfa Globin Strip Assay Yöntemi

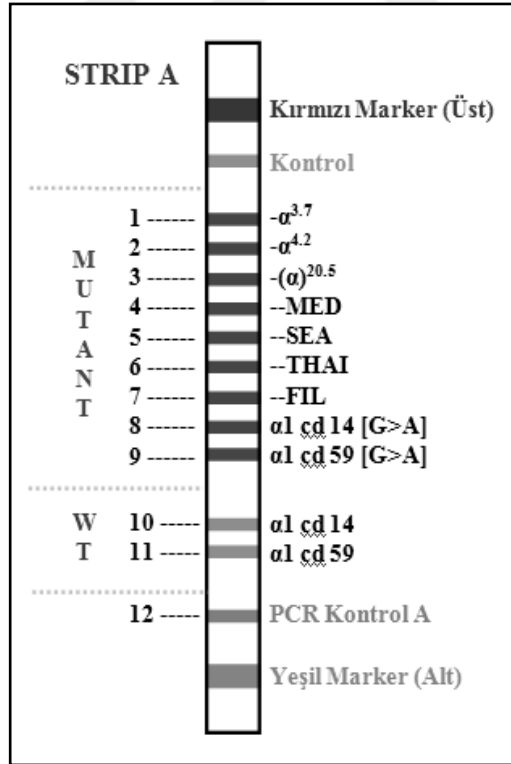
Vienna Lab Diagnostics α -globin Strip Assay Kiti’nde her hasta için iki strip (strip A, strip B) bulunmaktadır ve testte 21 ayrı varyasyon incelenmektedir. Strip Assay Testinde incelenen varyasyonlar Çizelge 3.1’de gösterilmiştir.

Çizelge 3.1: Vienna Lab Diagnostics α -globin Strip Assay testinde incelenen varyasyonlar.

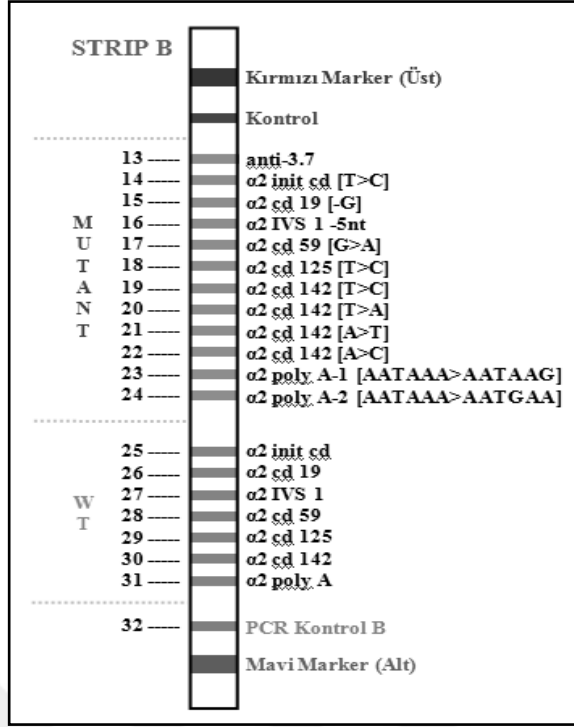
Strip A		Varyasyon Tipi
1.	$-\alpha^{3,7}$	Tek Gen Delesyonu
2.	$-\alpha^{4,2}$	Tek Gen Delesyonu
3.	$-(\alpha)^{20,5}$	Çift Gen Delesyonu

4.	--MED	Çift Gen Delesyonu
5.	--SEA	Çift Gen Delesyonu
6.	--THAI	Çift Gen Delesyonu
7.	--FIL	Çift Gen Delesyonu
8.	α_1 cd 14 [G>A]	HBA1:c.44G>A
9.	α_1 cd 59 [G>A]	HBA1:c.179G>A (Hb Adana)
Strip B		Varyasyon Tipi
10.	$\alpha\alpha$ anti3.7	Gen Triplikasyonu
11.	α_2 init.cd [T>C]	HBA2:c.2T>C
12.	α_2 cd 19 [-G]	HBA2:c.56delG
13.	α_2 IVS 1 -5nt	HBA2:c.95+2_95+6delTGAGG
14.	α_2 cd 59 [G>A]	HBA2:c.179G>A
15.	α_2 cd 125 [T>C]	HBA2:c.377T>C (Hb Quong Sze)
16.	α_2 cd 142 [T>C]	HBA2:c.427T>C (Hb Constant Spring)
17.	α_2 cd 142 [T>A]	HBA2:c.427T>A (Hb Icaria)
18.	α_2 cd 142 [A>T]	HBA2:c.429A>T (Hb Pakse)
19.	α_2 cd 142 [A>C]	HBA2:c.428A>C (Hb Koya Dora)
20.	α_2 poly A-1 [AATAAA>AATAAG]	HBA2:c.*+94A>G
21.	α_2 poly A-2 [AATAAA>AATGAA]	HBA2:c.*+92A>G

Alfa Talasemi *Strip Assay* Testindeki 21 varyasyonun strip A ve strip B üzerinde oluşturduğu bantlar Şekil 3.1’ve Şekil 3.2’de gösterilmiştir.



Şekil 3.1: Alfa Globin *Strip Assay* kitindeki strip A (ViennaLab Diagnostics).

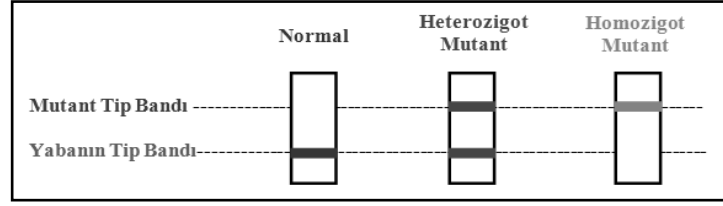


Şekil 3.2: Alfa Globin *Strip Assay* kitindeki strip B (*ViennaLab Diagnostics*).

Striplerin en üst kısmında bulunan kırmızı işaretli bantlar (marker) striplerin yükleme tepsisine (tray) doğru şekilde yerleştirilmesine yardımcı olur. Striplerdeki kontrol bantları hibridizasyonun kontrol edilmesi, Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) kontrol bantları ise amplifikasyonun kontrol edilmesi için kullanılır. Stripler üzerinde sadece kontrol bantlarında ve wild type (yabanıl tip, WT) bölgelerde bantların oluşması olgunun normal olduğunu göstermektedir. Kontrol bantları ve WT bölgeler dışında oluşan bantlar olgunun banda karşılık gelen varyasyonu taşıdığını göstermektedir.

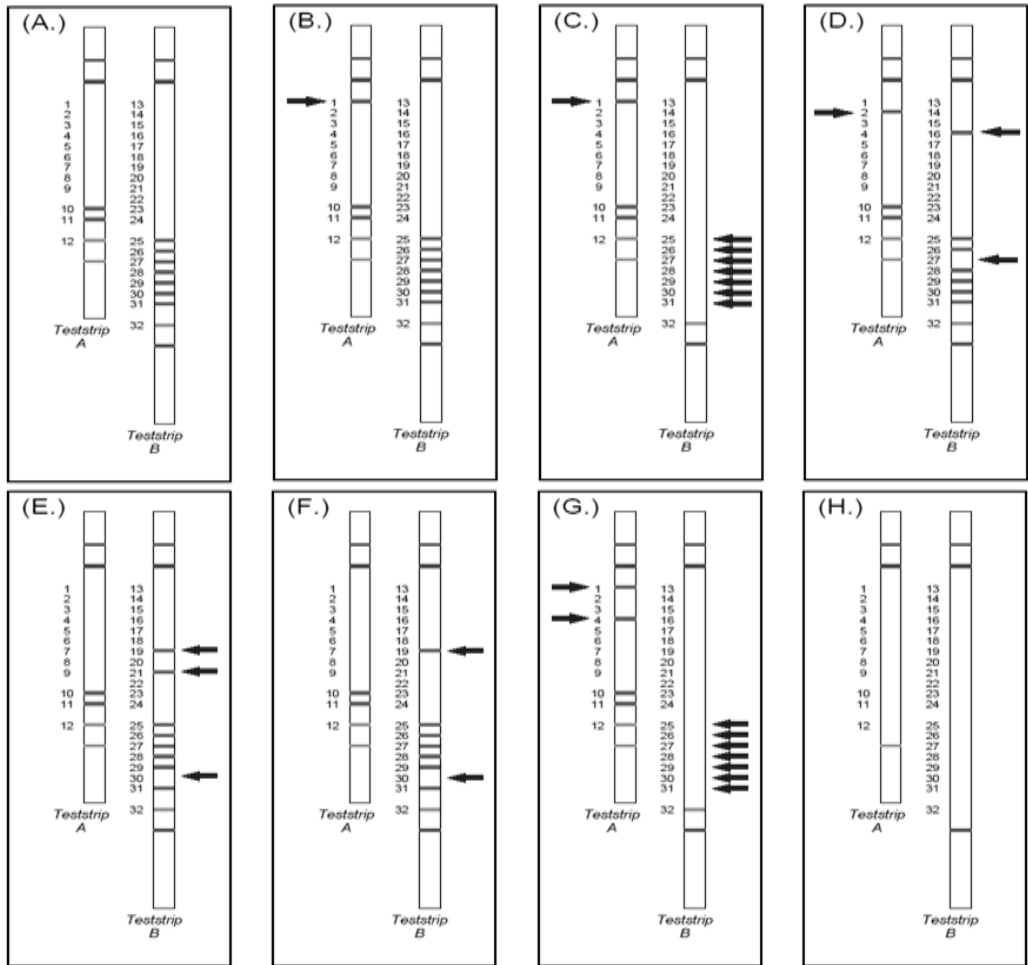
Vienna Lab Diagnostics Alfa Globin *Strip Assay* Testinin analizi kit içerisinde çıkan “*Collector Sheet*” ile karşılaştırmalı olarak yapılabildiği gibi *Strip Assay* “*Evaluator*” (<http://viennalab.sci-design.com/webevaluator/>) yazılımı kullanılarak da yapılabilir.

Stripler üzerinde sadece mutant tip bölgesinde bant görülmesi olgunun homozigot mutant, sadece WT bölgesinde bant görülmesi olgunun normal, hem mutant hem de yabanıl tip bölgelerinde bantların görülmesi ise heterozigot mutant olduğunu gösterir (Şekil 3.2).



Şekil 3.3: Stripler üzerinde oluşan bantların değerlendirilmesi.

Şekil 3.3 striplerde oluşan bantların değerlendirilmesine örnek olarak gösterilmiştir. (A) normal ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$) olguya ait, (B) $\alpha^{3.7}$ heterozigot ($-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$) olguya ait, (C) $\alpha^{3.7}$ ($\alpha^{3.7}/\alpha^{3.7}$) homozigot olguya ait, (D) $\alpha^{4.2}/IVS1^{-5nt}$ bileşik heterozigot olguya ait, (E) Hb Constant Spring / Hb Pakse bileşik heterozigot olguya ait, (F) Hb Constant Spring homozigot olguya ait ve (G) $\alpha^{3.7}/MED$ bileşik heterozigot olguya ait strip görüntülerini göstermektedir. (H) negatif kontrol veya PCR hatasını ifade etmektedir.



Şekil 3.4: Bantların değerlendirilmesinde örnek strip görüntüleri.

3.2.3. Tez Çalışmasının Yöntemi

Çalışmada, Eylül 2018-Nisan 2019 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, Genetik Hastalıklar Tanı Merkezine, Alfa Talasemi ön tanısıyla gelen, aralarında akrabalık bağı bulunmayan, en az üç kuşaktır Trakya popülasyonunda (Edirne, Kırklareli, Tekirdağ) yaşayan ve Sanger Dizileme ile herhangi bir Beta Talasemi varyasyonu, MLPA yöntemi ile herhangi bir Alfa Talasemi varyasyonu saptanmayan hastaların 59'unda *Vienna Lab Diagnostics, α -globin Strip Assay* kiti kullanılarak Alfa Talasemi varyasyonları incelendi.

A. Hazırlık

Qiagen EZ1 Advanced XL cihazı ile çalışmaya dahil edilen 59 olgunun periferik kanlarından DNA izolasyonu yapıldı. DNA konsantrasyonu 10 ng'a indirildi. 5U HS Taq DNA polimeraz, Taq Dilüsyon Tamponu kullanılarak 0.33 U/ μ l'ye dilüye edildi. Her olgu için 3 ayrı (A1, A2, B) PCR reaksiyon hazırlandı (Çizelge 3.2). Yıkama solüsyonu A, hibridizasyon solüsyonu ve Sıcak suyun 45°C'ye ısıtılması için cihazın çalışması başlatıldı.

Çizelge3.2: PCR reaksiyonları.

Reaktif	A1	A2	B
Amplifikasyon Karışımı A1	15 μ l	-	-
Amplifikasyon Karışımı A2	-	15 μ l	-
Amplifikasyon Karışımı B	-	-	15 μ l
HS Taq DNA Polimeraz (0.33 U/ μ l)	5 μ l	5 μ l	5 μ l
DNA (10 ng)	5 ul	5 ul	5 ul

B. PCR

Reaksiyon tüpleri termal döngü cihazına yerleştirildi ve program başlatıldı. PCR programı Çizelge 3.3'te gösterilmiştir.

Çizelge 3.3: PCR programı.

Isı	Süre	Döngü
95 °C	5 dakika	} 3 döngü
97 °C	40 saniye	
64 °C	40 saniye	

72 °C	90 saniye	} 37 döngü
97 °C	40 saniye	
58 °C	40 saniye	
72 °C	90 saniye	
72 °C	5 dakika	
4°C	∞	

C. Cihaza Yükleme



Şekil 3.5: Tecan ProfiBlot T48 cihazı.

ViennaLab Alfa Talasemi Stripassay kiti örnek başına 2 strip (teststrip A ve teststrip B) kullanılacak şekilde tasarlanmıştır. PCR programının ardından amplikonlar cihazın yükleme tepsisine (tray) eklendi. Tray üzerinde Strip A için belirlenen bölgeye 20 µl DNAT (yükleme boyası) eklendi. Üzerine 10 ul amplifikasyon ürünü A1 ve 10 ul amplifikasyon ürünü A2 ilave edildi. Yükleme tepsi üzerinde Strip B için belirlenen bölgeye ise 10 µl DNAT (yükleme boyası) eklendi ve üzerine 10 ul amplifikasyon ürünü B ilave edilerek pipetaj yapıldı (Çizelge 3.4).

Çizelge3.4: Örneklerin Tray'e yüklenmesi.

Teststrip A için	Teststrip B için
• 20 µl DNAT	• 10 µl DNAT
• 10 ul amplifikasyon ürünü A1	• 10 ul amplifikasyon ürünü B
• 10 ul amplifikasyon ürünü A2	

Yükleme tepsi *Tecan ProfiBlot T48* cihazına yerleştirildi. Cihaz “PAUSE” basamağına geldiğinde stripler kırmızı işaretli bantlar (marker) üstte kalacak şekilde yüklem tepsinde yerleştirildi ve program devam ettirildi. *Tecan ProfiBlot T48* cihazının görüntüsü Şekil 3.4’te ve cihazın çalışma programı Çizelge 3.5’te verilmiştir.

Çizelge3.5:Tecan ProfiBlot T48 cihaz çalışma programı.

Basamak	Reaksiyon	Süre	Kanal	Solüsyon	Miktar
*	Tray'in Cihaza Yerleştirilmesi				
1.	DISP		Kanal 1	Hibridizasyon Solüsyonu	1000 µl
2.	PAUSE				
*	Striplerin Tray'e Yerleştirilmesi				
3.	TEMP 45°C				
4.	INC	30 dk			
5.	WASH		Kanal 2	Yıkama Solüsyonu A	1000 µl
6.	WASH		Kanal 2	Yıkama Solüsyonu A	1000 µl
7.	INC	15 dk			
8.	WASH		Kanal 2	Yıkama Solüsyonu A	1000 µl
9.	INC	15 dk			
10.	COOL				
11.	WASH		Kanal 4	Konjugat Solüsyonu	1000 µl
12.	INC	15 dk			
13.	WASH		Kanal 3	Yıkama Solüsyonu B	1000 µl
14.	WASH		Kanal 3	Yıkama Solüsyonu B	1000 µl
15.	INC	5 dk			
16.	WASH		Kanal 3	Yıkama Solüsyonu B	1000 µl
17.	INC	5 dk			
18.	WASH		Kanal 6	Renk Geliştirici Solüsyon	1000 µl
19.	INC	15 dk			
20.	WASH		Kanal 5	dH ₂ O	2000 µl
21.	WASH		Kanal 5	dH ₂ O	2000 µl
22.	INC	5 dk			
23.	WASH		Kanal 5	dH ₂ O	2000 µl
24.	INC	5 dk			
25.	ASP				
26.	END				

WASH: Yıkama INC: İnkübasyon ASP: Aspirasyon

D. Analiz

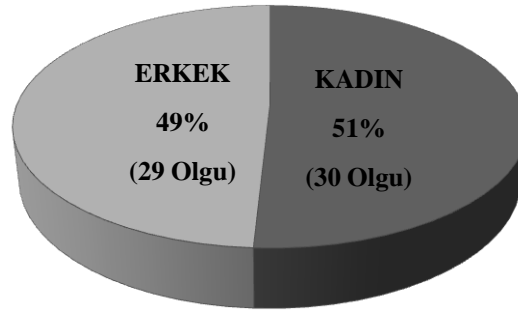
Cihazın çalışması bittikten sonra stripler karanlıkta kurumaya bırakıldı. Kuruyan stripler, “*Collector Sheet*”e yapıştırıldı ve üzerindeki strip şablonları ile karşılaştırmalı olarak analiz edildi.

BÖLÜM 4

BULGULAR

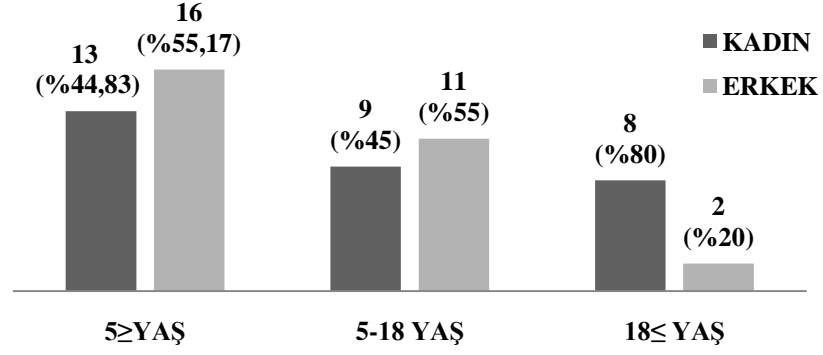
Bu tez çalışmasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı/ Hematoloji Bilim Dalı ve Çocuk Hastalıkları Anabilim Dalı/Çocuk Hematoloji Bilim Dalı'na başvuran ve hematolojik verileri/hemoglobinin elektroforezi değerlerine göre Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na Talasemi ön tanısı ile yönlendirilen olgular incelenmiştir. Eylül 2018 - Nisan 2019 tarihleri arasında Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'na Talasemi ön tanısıyla gelen Beta Talasemi ve/veya Alfa Talasemi mutasyonu taşımayan 59 olgu çalışmaya dahil edilmiştir.

Çalışmaya dahil edilen 59 olgunun 30'u kadın (%51) , 29'u erkektir (%49) (Şekil 4.1).



Şekil 4.1:Çalışmaya dahil edilen olguların dağılımı.

Çalışmaya dahil edilen olguların 29'u 5 yaşından küçük, 20'si 5-18 yaş aralığında ve 10 tanesi 18 yaşından büyüktür. Beş yaşından küçük 29 olgunun 13'ü kadın (%44,83), 16'sı erkek (%55,17), Beş- on sekiz yaş aralığında ki 20 olgunun 9'u kadın (%45), 11'i erkek (%55), On sekiz yaşından büyük 10 olgunun 8'i kadın (%80), 2'si erkek (%20) tir (Şekil 4.2.)



Şekil 4.2:Çalışmaya dahil edilen olguların yaşa göre dağılımları.

Tez çalışmasına dahil edilen 59 olgunun hematolojik verileri ve hemoglobinin elektroforez sonuçları Çizelge 4.1 ve Çizelge 4.2’de verilmiştir.

Çizelge 4.1:Tez çalışmasına dahil edilen olguların hematolojik verileri.

Olgu	Cinsiyet	Yaş	RBC 10 ¹² /L	Hbg/d l	MCV fl	MCH pg	MCHC g/dl	RDW CV	RDW SD
1	K	1	4,89	12,1	71,6	24,8	34,6	15,9	40,7
2	E	7	5,01	11	67,8	22,1	32,5	16,6	39,4
3	E	5	4,28	10	68,3	23,3	34,1	16,6	39,8
4	E	1	4,82	14,5	85,7	30,1	35,2	25,6	74,4
5	E	1	5,06	9,6	59,2	19	32,2	16,6	34,4
6	K	1	1,42	4,4	84,9	31,2	36,7	14,3	40,7
7	E	9	2,46	8,4	103,7	34,2	33	21,1	76,1
8	E	16	4,66	6,9	51,5	14,8	28,8	21,2	40,3
9	E	4	5,39	8,6	52,6	16	30,4	19,4	36,8
10	K	27	4,57	14,3	89,7	31,3	34,9	13,4	42,4
11	E	61	5,73	11	69,7	19,1	31,5	16,5	35,4
12	K	35	4,37	11,5	77,5	26,3	33,9	16,6	45,5
13	K	4	5,04	6,5	48,7	12,9	26,4	28,3	42,4
14	K	44	5,36	12,5	72,4	23,2	32,1	15,1	38,5
15	K	1	2,59	5,3	61,5	20,6	33,4	26,6	58,6
16	K	27	4	13	92,4	32,4	35,1	12,3	39,8
17	E	18	5,72	15,6	77	27,2	35,3	13,2	36,8
18	K	0	4,56	17,6	106,3	38,6	36,3	14,9	56
19	E	1	4,75	12,2	76,4	25,6	33,5	12,8	33,7
20	E	17	6,63	12,5	58,4	18,9	32,3	15,8	33,3
21	E	7	4,94	12,7	78,5	25,7	32,7	14,6	41,8
22	K	6	4,79	8,1	58,7	16,9	28,8	19,1	40,2

23	K	8	5,2	11,1	65,6	21,3	32,6	19,6	46,9
24	K	17	5,27	11,6	67,9	22	32,4	15,2	37,5
25	E	18	5,1	9	60,8	17,6	29	18	39,5
26	E	13	5,3	11,6	66,8	21,9	32,8	16,3	39,7
27	E	18	4,25	9,1	67,5	21,4	34,7	16,5	40,7
28	K	9	4,64	7,4	58	15,9	27,5	22,7	47,5
29	K	19	5,54	7,9	56,1	14,3	25,4	22,8	43,5
30	E	5	4,26	10,7	72,1	25,1	34,9	13,2	34,2
31	E	7	4,68	10,7	69,4	22,9	32,9	14,5	36,8
32	E	4	4,64	8,6	59,3	18,5	31,3	17,5	37,7
33	K	41	5,4	12,2	70,4	22,6	32,1	20,6	51,9
34	E	3	4,91	6,8	50,8	13,8	27,1	20,5	36,8
35	K	28	5,05	8,8	59,9	17,5	29,2	18,4	39,8
36	E	5	3,79	10,8	83,6	28,4	33,9	11,7	35
37	K	6	5,07	11,5	71,9	22,7	31,5	18	46,4
38	E	4	5,48	6,9	48,6	12,5	25,7	22,5	39,4
39	K	2	2,43	7,6	85,8	31,1	36,3	19,4	69
40	K	2	5,59	9,9	60,2	17,7	29,4	34,2	65,6
41	E	2	5,24	6,3	46,1	12	26,1	21,1	34,6
42	K	2	3,97	9,8	71,6	24,7	34,5	13,9	35,4
43	E	3	4,56	9,6	63,1	21	33,3	19,3	43,3
44	K	2	4,79	6,5	48	13,5	28,2	19,7	34,1
45	K	5	4,21	11,2	83,1	28,2	33,9	13,7	39,8
46	E	12	5,63	11,1	66	19,8	29,9	27	59,5
47	K	10	3,84	9	67,2	23,4	34,9	20,6	50,1
48	E	5	4,58	11,2	73,8	24,5	33,1	14,2	38,1
49	K	14	5,73	12,8	68,4	22,3	32,7	17,4	43,5
50	K	15	3,43	6,7	67,6	19,5	28,9	31,1	65,2
51	K	9	2,8	4,9	59,9	17,5	29,2	21,4	46,4
52	K	31	5,42	13,1	74,8	24,1	32,2	26,4	63,9
53	E	3	4,68	8,2	54,9	17,4	31,7	18,9	37,2
54	E	3	4,8	9,8	63,2	20,5	32,3	20,6	45,5
55	E	39	5,25	11,5	69,2	21,8	31,5	16,8	41,6
56	K	1	2,83	7,8	83,9	27,5	32,8	17,2	52,1
57	E	3	4,97	11,4	71,1	22,9	32,2	21,7	53,4
58	K	3	4,5	11,7	76,3	26	34	14,5	39,4
59	K	2	4,39	10,1	69,5	22,9	33	16,4	40,3

Referans Aralığında

Referans Aralığının Altında

Referans Aralığının Üzerinde

Çizelge 4.2: Tez çalışmasına dahil edilen olguların hemogloblin elektroforez sonuçları.

Olgu	Cinsiyet	Yaş	Hb A1	Hb A2	Hb F	Hb S
1	K	1	96,6	2,6	0,8	-
2	E	7	97,7	2,3	-	-
3	E	5	97,1	2,9	-	-
4	E	1	38,8	0,2	61	-
5	E	1	94,4	2,6	3	-
6	K	1	97	3	-	-
7	E	9	97,5	2,5	-	-
8	E	16	98,7	1,3	-	-
9	E	4	97,5	1,9	0,60	-
10	K	27	59	41	-	-
11	E	61	94,1	5,4	0,50	-
12	K	35	-	-	-	-
13	K	4	98,3	1,7	-	-
14	K	44	-	-	-	-
15	K	1	3	3,8	27,10	66,10
16	K	27	-	-	-	-
17	E	18	98	2	-	-
18	K	0	-	-	-	-
19	E	1	91,3	2,6	6,1	-
20	E	17	96,1	3,9	-	-
21	E	7	95,5	3,03	1,47	-
22	K	6	98,4	1,6	-	-
23	K	8	97,15	2,85	-	-
24	K	17	92,82	6,1	1,08	-
25	E	18	98,2	1,8	-	-
26	E	13	97,34	2,66	-	-
27	E	18	97,96	2,4	-	-
28	K	9	98,32	1,68	-	-
29	K	19	97,48	2,51	-	-
30	E	5	97,43	2,57	-	-
31	E	7	97,29	2,71	-	-
32	E	4	97,75	2,25	-	-
33	K	41	83,3	2,6	-	-
34	E	3	98,59	1,41	-	-
35	K	28	98,4	1,6	-	-
36	E	5	93,8	2,7	3,50	-
37	K	6	97,5	2,5	-	-
38	E	4	98	2	-	-
39	K	2	76,6	1,8	21,60	-
40	K	2	97,9	2,1	-	-
41	E	2	97,5	1,8	0,70	-

42	K	2	79,3	1,4	0,80	18,25
43	E	3	91,3	2,3	0,40	-
44	K	2	98,1	1,3	0,60	-
45	K	5	97,2	2,8	-	-
46	E	12	98,6	1,4	-	-
47	K	10	96,4	3,6	-	-
48	E	5	97,09	2,91	-	-
49	K	14	97,88	2,12	-	-
50	K	15	98,3	1,7	-	-
51	K	9	98,2	1,8	-	-
52	K	31	97,6	2,4	-	-
53	E	3	97,2	2,1	0,7	-
54	E	3	96,5	2,7	0,8	-
55	E	39	97,9	2,1	-	-
56	K	1	48,1	1	50,9	-
57	E	3	95,8	2,5	1,7	-
58	K	3	96,7	2,8	0,5	-
59	K	2	91,9	2,3	5,8	-
	Referans Aralığında		Referans Aralığının Altında		Referans Aralığının Üzerinde	

Tez çalışmasına dahil edilen olguların hematolojik verilerinin istatistik sonuçları Çizelge 4.3'te verilmiştir. Eritrosit ortalaması (RBC) $4,6310^{12}/L$ ($\pm 0,95$), Hemoglobin (Hb) ortalaması $10,05$ g/dl ($\pm 2,66$), Ortalama Eritrosit Hacmi (MCV) ortalaması $68,90$ fl ($\pm 12,82$), ortalama hemoglobin miktarı (MCH) ortalaması $31,98$ g/dl ($\pm 5,68$), eritrosit dağılım genişliği yüzdesi (RDW CV) ortalaması $19,64$ ($\pm 4,70$) ve eritrosit dağılım genişliği gerçek ölçümü (RDW SD) ortalaması $44,38$ ($\pm 10,39$) olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.3: Tez çalışmasına dahil edilen olguların hematolojik verilerinin istatistik sonuçları.

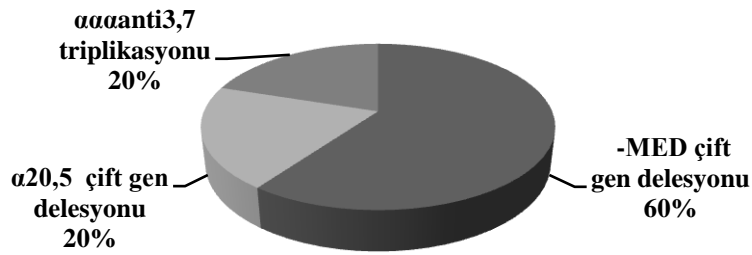
İstatiksel Veri	RBC $10^{12}/L$	Hb g/dl	MCV fl	MCH pg	MCHC g/dl	RDW CV	RDW SD
Dizi Ortalaması	4,63	10,05	68,90	22,22	31,98	18,64	44,38
Standart Sapma	0,95	2,66	12,82	5,68	2,77	4,70	10,39
Varyans	0,89	7,09	164,25	32,24	7,69	22,07	107922,00

Tez çalışmasına dahil edilen olguların hemoglobin elektroforezi verilerinin istatistik sonuçları Çizelge 4.4'te verilmiştir. Hb A1 ortalaması $91,750$ ($\pm 16,95$), Hb A2 ortalaması $3,08$ ($\pm 5,29$), Hb F ortalaması $9,03$ ($\pm 17,18$) ve Hb S ortalaması $42,18$ ($\pm 17,18$) olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.4:Tez çalışmasına dahil edilen olguların hemoglobin elektroforez verilerinin istatistik sonuçları.

İstatiksel Veri	Hb A1	Hb A2	Hb F	Hb S
Dizi Ortalaması	91,750	3,08	9,03	42,18
Standart Sapma	16,95	5,29	17,18	17,18
Varyans	287,47	28,01	295,13	1144,81

Alfa Globin *Strip Assay* testi ile yapılan çalışmada, test kapsamındaki 21 varyasyonun sadece 3 çeşidine rastlanmıştır. Bu varyasyonlardan MED çift gen delesyonu 3 olguda (%60), $\alpha^{20,5}$ çift gen delesyonu 1 olguda (%20) ve $\alpha\alpha\alpha^{anti3,7}$ triplikasyonu da 1 olguda (%20) tespit edilmiştir. Çalışmada, test kapsamındaki 21 varyasyondan tespit edilen 3 varyasyonun pasta grafik dağılımı Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3: Test kapsamındaki 21 varyasyondan tespit edilen 3 varyasyonun pasta grafik dağılımı.

59 olgunun Alfa Globin *Strip Assay* yöntemi kullanılarak yapılan çalışmasında, 1 olguda $\alpha\alpha\alpha^{anti3,7}$ triplikasyonu (%1,69 sıklıkta), 3 olguda MED çift gen delesyonu (%5,08 sıklıkta) ve 1 olguda $\alpha^{20,5}$ çift gen delesyonu (%1,69 sıklıkta) tespit edilmiştir. 54 olguda herhangi bir Alfa Talasemi Varyasyonu tespit edilmemiştir. Veriler eritrosit indeksleri ile birlikte Çizelge 4.5'te, hemoglobin elektroforezi sonuçlarıyla birlikte Çizelge 6'da verilmiştir.

Çizelge 4.5: Çalışma sonunda elde edilen veriler ve eritrosit indeksleri.

Olgu	Cinsiyet	Yaş	Sonuç	RBC $10^{12}/L$	Hb g/dl	MCV fl	MCH pg	MCHC g/dl	RDW CV	RDW SD
1	K	1	Normal	4,89	12,1	71,6	24,8	34,6	15,9	40,7
2	E	7	Normal	5,01	11	67,8	22,1	32,5	16,6	39,4
3	E	5	Normal	4,28	10	68,3	23,3	34,1	16,6	39,8

4	E	1	Normal	4,82	14,5	85,7	30,1	35,2	25,6	74,4
5	E	1	MEDçift gen delesyonu	5,06	9,6	59,2	19	32,2	16,6	34,4
6	K	1	Normal	1,42	4,4	84,9	31,2	36,7	14,3	40,7
7	E	9	$\alpha\alpha$^{anti 3,7} triplikasyonu	2,46	8,4	103,7	34,2	33	21,1	76,1
8	E	16	Normal	4,66	6,9	51,5	14,8	28,8	21,2	40,3
9	E	4	Normal	5,39	8,6	52,6	16	30,4	19,4	36,8
10	K	27	Normal	4,57	14,3	89,7	31,3	34,9	13,4	42,4
11	E	61	Normal	5,73	11	69,7	19,1	31,5	16,5	35,4
12	K	35	Normal	4,37	11,5	77,5	26,3	33,9	16,6	45,5
13	K	4	Normal	5,04	6,5	48,7	12,9	26,4	28,3	42,4
14	K	44	$\alpha^{20,5}$ çift gen delesyonu	5,36	12,5	72,4	23,2	32,1	15,1	38,5
15	K	1	Normal	2,59	5,3	61,5	20,6	33,4	26,6	58,6
16	K	27	Normal	4	13	92,4	32,4	35,1	12,3	39,8
17	E	18	Normal	5,72	15,6	77	27,2	35,3	13,2	36,8
18	K	0	Normal	4,56	17,6	106,3	38,6	36,3	14,9	56
19	E	1	Normal	4,75	12,2	76,4	25,6	33,5	12,8	33,7
20	E	17	Normal	6,63	12,5	58,4	18,9	32,3	15,8	33,3
21	E	7	Normal	4,94	12,7	78,5	25,7	32,7	14,6	41,8
22	K	6	Normal	4,79	8,1	58,7	16,9	28,8	19,1	40,2
23	K	8	Normal	5,2	11,1	65,6	21,3	32,6	19,6	46,9
24	K	17	Normal	5,27	11,6	67,9	22	32,4	15,2	37,5
25	E	18	Normal	5,1	9	60,8	17,6	29	18	39,5
26	E	13	Normal	5,3	11,6	66,8	21,9	32,8	16,3	39,7
27	E	18	Normal	4,25	9,1	67,5	21,4	34,7	16,5	40,7
28	K	9	Normal	4,64	7,4	58	15,9	27,5	22,7	47,5
29	K	19	Normal	5,54	7,9	56,1	14,3	25,4	22,8	43,5
30	E	5	Normal	4,26	10,7	72,1	25,1	34,9	13,2	34,2
31	E	7	Normal	4,68	10,7	69,4	22,9	32,9	14,5	36,8
32	E	4	Normal	4,64	8,6	59,3	18,5	31,3	17,5	37,7
33	K	41	Normal	5,4	12,2	70,4	22,6	32,1	20,6	51,9
34	E	3	Normal	4,91	6,8	50,8	13,8	27,1	20,5	36,8
35	K	28	Normal	5,05	8,8	59,9	17,5	29,2	18,4	39,8
36	E	5	Normal	3,79	10,8	83,6	28,4	33,9	11,7	35
37	K	6	Normal	5,07	11,5	71,9	22,7	31,5	18	46,4
38	E	4	Normal	5,48	6,9	48,6	12,5	25,7	22,5	39,4
39	K	2	Normal	2,43	7,6	85,8	31,1	36,3	19,4	69
40	K	2	Normal	5,59	9,9	60,2	17,7	29,4	34,2	65,6
41	E	2	Normal	5,24	6,3	46,1	12	26,1	21,1	34,6
42	K	2	Normal	3,97	9,8	71,6	24,7	34,5	13,9	35,4
43	E	3	Normal	4,56	9,6	63,1	21	33,3	19,3	43,3
44	K	2	Normal	4,79	6,5	48	13,5	28,2	19,7	34,1
45	K	5	Normal	4,21	11,2	83,1	28,2	33,9	13,7	39,8
46	E	12	Normal	5,63	11,1	66	19,8	29,9	27	59,5

47	K	10	Normal	3,84	9	67,2	23,4	34,9	20,6	50,1
48	E	5	Normal	4,58	11,2	73,8	24,5	33,1	14,2	38,1
49	K	14	MED çift gen delesyonu	5,73	12,8	68,4	22,3	32,7	17,4	43,5
50	K	15	MED çift gen delesyonu	3,43	6,7	67,6	19,5	28,9	31,1	65,2
51	K	9	Normal	2,8	4,9	59,9	17,5	29,2	21,4	46,4
52	K	31	Normal	5,42	13,1	74,8	24,1	32,2	26,4	63,9
53	E	3	Normal	4,68	8,2	54,9	17,4	31,7	18,9	37,2
54	E	3	Normal	4,8	9,8	63,2	20,5	32,3	20,6	45,5
55	E	39	Normal	5,25	11,5	69,2	21,8	31,5	16,8	41,6
56	K	1	Normal	2,83	7,8	83,9	27,5	32,8	17,2	52,1
57	E	3	Normal	4,97	11,4	71,1	22,9	32,2	21,7	53,4
58	K	3	Normal	4,5	11,7	76,3	26	34	14,5	39,4
59	K	2	Normal	4,39	10,1	69,5	22,9	33	16,4	40,3

Çizelge 4.6: Çalışma sonunda elde edilen veriler ve hemoglobin elektroforezleri.

Olgu	Cinsiyet	Yaş	Sonuç	Hb A1	Hb A2	Hb F	Hb S
1	K	1	Normal	96,6	2,6	0,8	-
2	E	7	Normal	97,7	2,3	-	-
3	E	5	Normal	97,1	2,9	-	-
4	E	1	Normal	38,8	0,2	61	-
5	E	1	MED	94,4	2,6	3	-
6	K	1	Normal	97	3	-	-
7	E	9	$\alpha\alpha^{anti\ 3,7}$ triplikasyonu	97,5	2,5	-	-
8	E	16	Normal	98,7	1,3	-	-
9	E	4	Normal	97,5	1,9	0,60	-
10	K	27	Normal	59	41	-	-
11	E	61	Normal	94,1	5,4	0,50	-
12	K	35	Normal	-	-	-	-
13	K	4	Normal	98,3	1,7	-	-
14	K	44	$\alpha^{20,5}$ çift gen delesyonu	-	-	-	-
15	K	1	Normal	3	3,8	27,10	66,10
16	K	27	Normal	-	-	-	-
17	E	18	Normal	98	2	-	-
18	K	0	Normal	-	-	-	-
19	E	1	Normal	91,3	2,6	6,1	-
20	E	17	Normal	96,1	3,9	-	-
21	E	7	Normal	95,5	3,03	1,47	-
22	K	6	Normal	98,4	1,6	-	-
23	K	8	Normal	97,15	2,85	-	-
24	K	17	Normal	92,82	6,1	1,08	-
25	E	18	Normal	98,2	1,8	-	-

26	E	13	Normal	97,34	2,66	-	-
27	E	18	Normal	97,96	2,4	-	-
28	K	9	Normal	98,32	1,68	-	-
29	K	19	Normal	97,48	2,51	-	-
30	E	5	Normal	97,43	2,57	-	-
31	E	7	Normal	97,29	2,71	-	-
32	E	4	Normal	97,75	2,25	-	-
33	K	41	Normal	83,3	2,6	-	-
34	E	3	Normal	98,59	1,41	-	-
35	K	28	Normal	98,4	1,6	-	-
36	E	5	Normal	93,8	2,7	3,50	-
37	K	6	Normal	97,5	2,5	-	-
38	E	4	Normal	98	2	-	-
39	K	2	Normal	76,6	1,8	21,60	-
40	K	2	Normal	97,9	2,1	-	-
41	E	2	Normal	97,5	1,8	0,70	-
42	K	2	Normal	79,3	1,4	0,80	18,25
43	E	3	Normal	91,3	2,3	0,40	-
44	K	2	Normal	98,1	1,3	0,60	-
45	K	5	Normal	97,2	2,8	-	-
46	E	12	Normal	98,6	1,4	-	-
47	K	10	Normal	96,4	3,6	-	-
48	E	5	Normal	97,09	2,91	-	-
49	K	14	MED çift gen delesyonu	97,88	2,12	-	-
50	K	15	MED çift gen delesyonu	98,3	1,7	-	-
51	K	9	Normal	98,2	1,8	-	-
52	K	31	Normal	97,6	2,4	-	-
53	E	3	Normal	97,2	2,1	0,7	-
54	E	3	Normal	96,5	2,7	0,8	-
55	E	39	Normal	97,9	2,1	-	-
56	K	1	Normal	48,1	1	50,9	-
57	E	3	Normal	95,8	2,5	1,7	-
58	K	3	Normal	96,7	2,8	0,5	-
59	K	2	Normal	91,9	2,3	5,8	-

Çalışma sonucunda MED çift gen delesyonu saptanan olguların istatistiksel verileri Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.8'de verilmiştir. Hematolojik verilerden, eritrosit ortalaması 4,74 ($\pm 1,18$) $10^{12}/L$, Hemoglobin ortalaması 9,70 ($\pm 3,05$) g/dl, MCV ortalaması 65,07 ($\pm 5,10$) fl, MCH ortalaması 20,27 ($\pm 1,78$) pg, MCHC ortalaması 31,27 ($\pm 2,06$) g/dl, RDW CV ortalaması 21,70 ($\pm 8,15$) ve RDW SD ortalaması 47,70 ($\pm 15,82$) olarak hesaplanmıştır. Hemoglobin elektroforezi verilerinden Hb A1 ortalaması 96,86 ($\pm 2,14$), Hb A2 ortalaması 2,14 ($\pm 0,45$), Hb F değeri 3,00 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.7: Çalışma sonucunda MED çift gen delesyonu saptanan 3 olgunun eritrosit indeksleri için ortalama istatiksels verileri.

İstatiksels Veri	RBC 10 ¹² /L	Hb g/dl	MCV fl	MCH pg	MCHC g/dl	RDW CV	RDW SD
Dizi Ortalaması	4,74	9,70	65,07	20,27	31,27	21,70	47,70
Standart Sapma	1,18	3,05	5,10	1,78	2,06	8,15	15,82
Varyans	1,40	9,31	25,97	3,16	4,26	66,43	250,39

Çizelge 4.8: Çalışma sonucunda MED çift gen delesyonu saptanan 3 olgunun hemoglobin elektroforezi değersleri için ortalama istatiksels verileri.

İstatiksels Veri	Hb A1	Hb A2	Hb F	Hb S
Dizi Ortalaması	96,86	2,14	3,00	-
Standart Sapma	2,14	0,45	-	-
Varyans	4,58	0,20	-	-

Alfa Globin *Strip Assay* Yöntemi ile saptanan Alfa Talasemi varyasyonlarının genotip dağılımları ve sıklıkları Çizelge4.9'da verilmiştir. $\alpha^{20,5}$ çift gen delesyonunun sıklığı %1,69, MED çift gen delesyonunun sıklığı % 5,08, $\alpha\alpha^{anti3,7}$ gen triplikasyonunun sıklığı % 1,69 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.9: Alfa Talasemi varyasyonlarının genotip dağılımları ve sıklıkları

Varyasyon	Varyasyon Saptanan Olgu Sayısı (n)	Sıklık (%)
$\alpha^{20,5}$ Çift Gen Delesyonu	1	1,69
MED Çift Gen Delesyonu	3	5,08
$\alpha\alpha^{anti3,7}$ Triplikasyonu	1	1,69

Alfa Globin *Strip Assay* Yöntemi ile saptanan varyasyonların genotiplere göre ortalama eritrosit indeksleri Çizelge 4.10'da, ortalama hemoglobin elektroforezi verileri Çizelge 4.11'de verilmiştir.

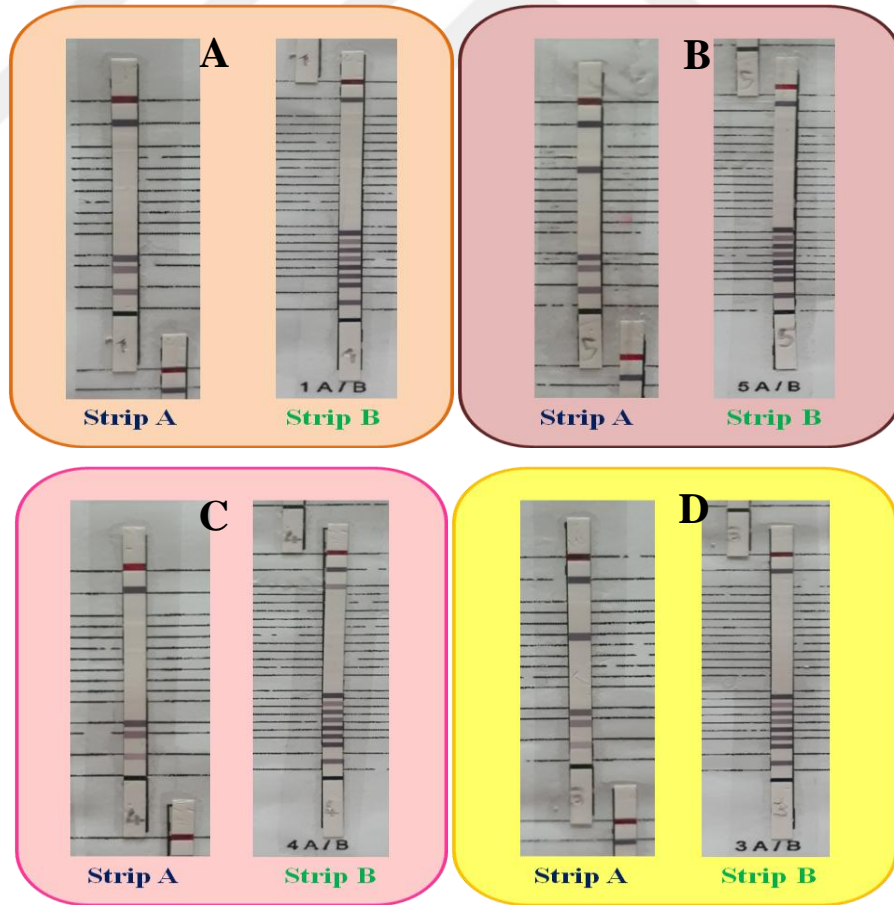
Çizelge 4.10: Alfa Talasemi mutasyon genotipine göre ortalama eritrosit indeksleri.

Varyasyon	RBC 10 ¹² /L	Hb g/dl	MCV fl	MCH pg	MCHC g/dl	RDW CV	RDW SD
$\alpha^{20,5}$	5,36	12,50	72,40	23,20	32,10	15,10	38,50
MED	4,74	9,70	65,07	20,27	31,27	21,70	47,70
$\alpha\alpha^{anti3,7}$	2,46	8,40	103,70	34,20	33,00	21,10	76,10

Çizelge 4.11: Alfa Talasemi mutasyon genotipine göre ortalama hemoglobin elektroforezi değerleri.

Varyasyon	Hb A1	Hb A2	Hb F	Hb S
$\alpha^{20,5}$ Çift Gen Delesyonu	-	-	-	-
MED Çift Gen Delesyonu	96,86	2,14	3,00	-
$\alpha\alpha\alpha^{anti3,7}$ Triplikasyonu	97,50	2,50	-	-

Çalışma sonunda elde edilen bulguların Strip Görüntüleri Şekil 4.4'te verilmiştir. Alfa Globin Strip Assay Testine göre varyasyon saptanmayan (normal genotipe sahip) 54 olgunun hepsi aynı Strip A ve Strip B görünümüne sahiptir (Şekil 4.4-A.). $\alpha^{20,5}$ kb çift gen delesyonuna sahip olgunun (14. Olgu) Strip A ve Strip B görüntüsü Şekil 4.4-B' de verilmiştir. $\alpha\alpha\alpha^{anti3,7}$ gen triplikasyonuna sahip olgunun (7. Olgu) Strip A ve Strip B görüntüleri Şekil 4.4-C'de verilmiştir. MED çift gen delesyonuna sahip olguların (49. Olgu, 5. Olgu, 50. Olgu) Strip A ve Strip B görüntüleri Şekil 4.4-D'de verilmiştir. Üç olgunun Strip görüntüleri aynıdır.



Şekil 4.4: Çalışma sonunda elde edilen bulguların strip görüntüleri.

BÖLÜM 5

TARTIŞMA

Hemoglobinopatiler, dünyada en yaygın gözlenen genetik hastalıklardır. Hemoglobin molekülünün yapısında bulunan globin zincirinde yapısal ya da işlevsel değişikliklerin meydana gelmesi sonucu anormal hemoglobinler ve talasemiler ortaya çıkar. Dünya Sağlık Örgütü hemoglobinopati taşıyıcı sıklığını %5,1 olarak bildirmiştir. Hemoglobinopatilere yaygın olarak Asya, Afrika, Ortadoğu ve Akdeniz ülkelerinde rastlansa da dünya genelinde meydana gelen göçlerle birlikte Avrupa, Amerika ve Avustralya'da da ortaya çıkmaktadır.

Hemoglobinopatiler, Subtropik iklim kuşağında bulunan Türkiye'de en sık görülen kalıtsal kan hastalıkları arasında yer alır, özellikle güney ve batı bölgelerde görülmektedir ve sağlık sorunu haline gelmiştir (Dönbak, 2005). Sağlık Bakanlığı'nın 2016 yılında yayımladığı Hemoglobinopati Tanı Rehberi'ndeki verilere göre, Türkiye'de Beta Talasemi taşıyıcı sıklığı %2,1'dir ve yaklaşık 1.300.000 Beta Talasemi taşıyıcısı ile 4500 civarında Beta Talasemi hastası bulunmaktadır (Bozkurt, 2016). Türkiye'de farklı bölgelerde Alfa Talasemi ile ilgili de çeşitli çalışmalar yapılmış olup en sık rastlanan Alfa Talasemi varyasyonlarının $\alpha^{3,7}$ ve $\alpha^{4,2}$ tek gen delesyonlarının olduğu bildirilmiştir (Karakas, 2014).

Halk sağlığı sorunu haline gelen hemoglobinopatilerin önlenmesinde, taşıyıcılara tanı konması, genotip ve fenotiplerinin belirlenmesi, prenatal tanı yöntemleri ile hemoglobinopatiye sahip bebek doğumlarının önlenmesi ya da tedavi stratejilerinin belirlenmesi, en etkili yöntemlerdir (Gümrük, 2006). Bu yöntemlerin yaygınlaştırılması için yapılan Alfa Talasemi çalışmalarında, son yıllarda, DNA dizi analizine göre daha uygun maliyetli ve hızlı yöntemlerin (Alfa globin *Strip Assay*, *MLPA*) tercih edildiği görülmektedir.

Beta Talasemi'ye göre Alfa Talasemi tanısını koymak daha zordur. Alfa Talasemi tanısında öncelikle hematolojik veriler değerlendirilir, fakat bu veriler tek başlarına yeterli değildir. Çünkü Alfa Talasemi'de eritrosit indeksleri normal bireylerinkiyle fazla farklılık göstermeyebilir (Polat, 1995). Eritrosit indeksleri ile birlikte Hb A2 ve Hb F düzeyleri de dikkate alınmalıdır. MCV değeri 80 fl, MCH değerleri 27 pg ve Hb A2 düzeyi % 3'ten düşük olan olgular, demir eksikliği anemisi dışlandıktan sonra Alfa Talasemi yönünden moleküler olarak araştırılmalıdırlar (Tahiroğlu, 2010).

Dünyada ve Türkiye'de Alfa Talasemi varyasyonlarının sıklığı ve dağılımları ile ilgili birden fazla çalışma bildirilmiştir (Çizelge 5.1).Alfa Talasemi varyasyonlarının görülme sıklıkları etnik köken ve coğrafi bölgelere göre farklılık göstermektedir. Farklı varyasyonlar aynı toplumda farklı coğrafi bölgelerde daha sık görülebileceği gibi farklı toplumlar arasında en sık görülen mutasyonlar da aynı olabilir (Jassim vd., 2001; Çürük, 2007).

Çizelge 5.1: Türkiye'nin farklı coğrafi bölgelerinde yapılan çalışmalarda Alfa Talasemi allel frekansları sıklığı (Karakaş vd., 2007).

Mutasyon	Bizim Çalışmamız 2019 n:59	Karakaş ve ark 2014 n:95	Onay ve ark 2013 n:229	Çelik ve ark 2013 n:97	Sütçü ve ark 2011 n:9	Güvenç ve ark 2010 n:225	Çürük ve ark 2007 n:32	Öner ve ark 1997 n:25	Baysal ve ark 1995 n:78
Yöntem	Strip Assay	Strip Assay	Strip Assay	Strip Assay	Strip Assay	Strip Assay	Gen Haritalama	DNA	DNA
- $\alpha^{3,7}$		23,1	52,2	43,8	5,5	40,6	29,6	28	30
-- $\alpha^{20,5}$	1,69	9,4	14,2	0,5	11,1	3,3	18,8	22	4
--MED	5,08	8,9	11	5,6	27,7	9,5	14,1	20	40
α^{-5nt}		6,3	4	6,7	5,5		4,7	8	10
$\alpha\alpha^{anti3,7}$	1,69	3,7	3,2	1,5		1,1			
HbKoyaDora		3,1	1,8						
$\alpha 2$ poly ^{A-1}		3,7	9	0,5		0,7	4,7		12
- $\alpha^{4,2}$		2,1		0,5		0,6	1,6	12	12
$\alpha 1$ cd 14		1							
--FIL		1	3,2	0,5					
$\alpha 2$ poly ^{A-2}		0,5	1,4	2,5		2	7,8	10	4
Hb Icaria		0,5							
$\alpha 2$ init.cd		0,5							
HbAdana		0,5					6,2		

En az üç kuşaktır Trakya Bölgesinde yaşayan hastaların dahil edildiği tez çalışmamızda varyasyon saptanan 5 olgudan 3 tanesi MED çift gen delesyonuna sahipti ve birinci sıklıkta bulunan varyasyon MED çift gen delesyonu olarak saptandı. Çalışmamızda MED çift gen delesyonunun görülme sıklığı %5,08'dir. Türkiye'de yapılan Alfa Talasemi çalışmalarında MED çift gen delesyonunun allel frekansı Baysal ve ark. tarafından Kıbrıs Türkleri'nde %40 (Baysal vd., 1995), Sütçü ve ark. tarafından Isparta'da %27.77 (Sütçü vd., 2011), Öner ve ark. tarafından %20 (Öner vd., 1997), Çürük ve ark. tarafından Çukurova'da %14.6 (Çürük, 2007), Karakaş ve ark. tarafından İstanbul'da %12.8 (Karakaş'tan aktaran Gökdoğan, 2015), Onay ve ark. tarafından Ege Bölgesi'nde %10.53 (Onay'dan aktaran Gökdoğan, 2015), Güvenç ve ark. tarafından Adana'da %9.55 (Güvenç vd., 2010), Çelik ve ark. tarafından Hatay'da %5.67(Çelik vd., 2013) olarak rapor edilmiştir.

Tez çalışmamızda varyasyon saptanan 5 olgudan 1 tanesi $\alpha^{20.5}$ çift gen delesyonuna sahipti ve ikinci sıklıkta bulunan varyasyon $\alpha^{20.5}$ çift gen delesyonu olarak saptandı. Çalışmamızda $\alpha^{20.5}$ çift gen delesyonunun görülme sıklığı %1,69 olarak saptandı. Türkiye'de yapılan Alfa Talasemi çalışmalarında $\alpha^{20.5}$ çift gen delesyonunun allel frekansı Öner ve ark. tarafından %22 (Öner vd., 1997), Çürük ve ark. tarafından Çukurova'da %18.75 (Çürük, 2007), Karakaş ve ark. tarafından İstanbul'da %14.8 (Karakaş'tan aktaran Gökdoğan, 2015), Onay ve ark. tarafından Ege Bölgesi'nde %14.74 (Onay'dan aktaran Gökdoğan, 2015), Sütçü ve ark. tarafından Isparta'da %11.1 (Sütçü vd., 2011), Baysal ve ark. tarafından Kıbrıs Türkleri'nde %4 (Baysal vd., 1995), Güvenç ve ark. tarafından Adana'da %3.33 (Güvenç vd., 2010), Çelik ve ark. tarafından Hatay'da %0.51 (Çelik vd., 2013) rapor edilmiştir.

Tez çalışmamızda varyasyon saptanan 5 olgudan 1 tanesi $\alpha\alpha\alpha^{anti3.7}$ triplikasyonuna sahipti ve ikinci sıklıkta bulunan bir diğer varyasyon $\alpha\alpha\alpha^{anti3.7}$ triplikasyonu olarak saptandı. Çalışmamızda $\alpha\alpha\alpha^{anti3.7}$ triplikasyonunun görülme sıklığı %1,69 olarak saptandı. Türkiye'de yapılan Alfa Talasemi çalışmalarında $\alpha\alpha\alpha^{anti3.7}$ triplikasyonunun allel frekansı Karakaş ve ark. tarafından İstanbul'da %5.5 (Karakaş'tan aktaran Gökdoğan, 2015), Onay ve ark. tarafından Ege Bölgesi'nde %3.16 (Onay'dan aktaran Gökdoğan, 2015), Çelik ve ark. tarafından Hatay'da %1.54 (Çelik vd., 2013), Güvenç ve ark. tarafından Adana'da %1.11 (Güvenç vd., 2010), olarak hesaplanmıştır. Baysal ve ark. (Baysal vd., 1995), Çürük (Çürük, 2007), Öner ve ark.

(Öner vd., 1997), Sütçü ve ark. (Sütçü vd., 2011), çalışmalarında $\alpha\alpha^{anti3.7}$ triplikasyonuna saptanmadığı bildirilmiştir.

Tez çalışmamızda $\alpha^{3.7}$ tek gen delesyonusaptanmamıştır. Türkiye’de yapılan Alfa Talasemi çalışmalarında $\alpha^{3.7}$ tek gen delesyonunun allel frekansı Onay ve ark. tarafından Ege Bölgesi’nde %52,2 (Onay’dan aktaran Karakaş 2015), Çelik ve ark. tarafından Hatay’da %43,8 (Çelik vd., 2013), Güvenç ve ark. tarafından Adana’da %40,6 (Güvenç vd., 2010), Baysal ve ark. tarafından Kıbrıs Türkleri’nde %30 (Baysal vd., 1995), Çürük ve ark. tarafından Çukurova’da %29,6 (Çürük, 2007), Öner ve ark. tarafından %28 (Öner vd., 1997), Karakaş ve ark. tarafından İstanbul’da %23,7 (Karakaş vd., 2015), Sütçü ve ark. tarafından Isparta’da %5,5 (Sütçü vd., 2011), olarak rapor edilmiştir.

Tez çalışmamızda $\alpha^{4.2}$ tek gen delesyonu, FIL ve SEA çift gen delesyonu, α_2 polyA-1 ve α_2 polyA-2 nondelesyonel mutasyonu, α_2 IVS 1^{-5nt} delesyonu, Hb Koya Dora, Hb Icaria, Hb Adana anormal hemoglobinleri ve α_2 init.cd [T>C] varyasyonları saptanmamıştır.

Türkiye’de yapılan Alfa Talasemi çalışmalarında $\alpha^{4.2}$ tek gen delesyonunun allel frekansı Öner ve ark. tarafından %12 (Öner vd., 1997), Karakaş ve ark. tarafından İstanbul’da %1.8 (Karakaş’tan aktaran Gökdoğan, 2015), Çürük ark. tarafından Çukurova’da %1.56 (Çürük, 2007), Güvenç ve ark. tarafından Adana’da %0.66 (Güvenç vd., 2010), Çelik ve ark. tarafından Hatay’da %0.51(Çelik vd., 2013) olarak rapor edilmiştir. Baysal ve ark. (Baysal vd., 1995), Sütçü ve ark. (Sütçü vd., 2011), Onay ve ark. (Onay’dan aktaran Gökdoğan, 2015), çalışmalarında $\alpha^{4.2}$ tek gen delesyonu saptamadıklarını bildirmişlerdir.

FIL çift gen delesyonu Türkiye’de ilk kez 2013 yılında Çelik ve ark.’ları tarafından rapor edilmiştir (Çelik vd., 2013). Türkiye’de yapılan Alfa Talasemi çalışmalarında FIL çift gen delesyonu allel frekansı, Çürük ve ark. tarafından Çukurova’da %40 (Çürük, 2007), Onay ve ark. tarafından Ege Bölgesi’nde %2.81 (Onay’dan aktaran Gökdoğan, 2015), Çelik ve ark. tarafından Hatay’da %0.51(Çelik vd., 2013) olarak rapor edilmiştir.

SEA çift gen delesyonu Türkiye’de ilk kez 2015 yılında Onay ve ark.’ları tarafından rapor edilmiştir. Onay ve ark.’ları çalışmalarında SEA çift gen delesyonu allel sıklığı %0,35 olarak bildirmiştir (Onay’dan aktaran Gökdoğan, 2015).

Türkiye’de yapılan Alfa Talasemi çalışmalarında, Hb Adana allel frekansı Çürük ve ark.’ları tarafından % 6,2 (Çürük, 2007), Karakaş ve ark.’ları tarafından %0,5 (Karakaş vd., 2015) olarak rapor edilmiştir. 2014 yılında Aksu ve ark.’ları tarafından Ankara’da yapılan çalışmada iki aylık bebek olguda Hb Adana (HBA1:c.179 G>A) rapor edilmiştir. Hb Adana’nın Hb H ya da Beta Talasemi İntermedia’ya benzeyen klinik gösterdiği bildirilmiştir (Aksu vd., 2014).

Türkiye’de yapılan farklı Alfa Talasemi çalışmalarında α_2 polyA-1 [AATAAA>AATAAG] mutasyonunun allel frekansı Baysal ve ark.’ları tarafından Kıbrıs Türkleri’nde %12 (Baysal vd., 1995), Onay ve ark.’ları tarafından Ege Bölgesi’nde %8.77 (Onay’dan aktaran Gökdoğan, 2015), Çürük ve ark.’ları tarafından Çukurova’da %4.68 (Çürük, 2007), Karakaş ve ark.’ları tarafından İstanbul’da %3.7 (Karakaş’tan aktaran Gökdoğan, 2015), Güvenç ve ark.’ları tarafından Adana’da %0.66 (Güvenç vd., 2010), Çelik ve ark.’ları tarafından Hatay’da %0.51 (Çelik vd., 2013) olarak bildirilmiştir. Sütçü ve ark.’ları (Sütçü vd., 2011) ile Öner ve ark.’ları (Öner vd., 1997) çalışmalarında α_2 polyA-1 [AATAAA>AATAAG] mutasyonu saptamamışlardır.

Türkiye’de yapılan farklı Alfa Talasemi çalışmalarında α_2 polyA-2 [AATAAA>AATGAA] mutasyonunun allel frekansı Öner ve ark.’ları tarafından %10 (Öner vd., 1997), Çürük ve ark.’ları tarafından Çukurova’da %7.8 (Çürük, 2007), Baysal ve ark.’ları tarafından Kıbrıs Türkleri’nde %4 (Baysal vd., 1995), Çelik ve ark.’ları tarafından Hatay’da %2.57 (Çelik vd., 2013), Güvenç ve ark.’ları tarafından Adana’da %2 (Güvenç vd., 2010), Onay ve ark.’ları tarafından Ege Bölgesi’nde %0.70 (Onay’dan aktaran Gökdoğan, 2015), olarak bildirilmiştir. Sütçü ve ark.’ları (Sütçü vd., 2011) ile Karakaş ve ark.’ları (Karakaş’tan aktaran Gökdoğan, 2015) çalışmalarında α_2 polyA-2 [AATAAA>AATGAA] mutasyonu saptamamışlardır.

Türkiye’de yapılan farklı Alfa Talasemi çalışmalarında α_2 IVS 1^{-5nt} mutasyonunun allel frekansı ark.’ları tarafından Kıbrıs Türkleri’nde %100 (Baysal vd., 1995), Öner ve ark.’ları tarafından %8 (Öner vd., 1997), Karakaş ve ark.’ları tarafından İstanbul’da %7.4 (Karakaş’tan aktaran Gökdoğan, 2015), Çelik ve ark.’ları tarafından Hatay’da %6.7 (Çelik vd., 2013), Sütçü ve ark.’ları tarafından Isparta’da %5.55 (Sütçü vd., 2011), Çürük ve ark.’ları tarafından Çukurova’da %4.68 (Çürük, 2007), Onay ve

ark.'ları tarafından Ege Bölgesi'nde %3,86 (Onay'dan aktaran Gökdoğan, 2015) olarak bildirilmiştir.

Karakaş ve ark.'ları 2014 yılında *Strip Assay* ile gerçekleştirdikleri Alfa Talasemi çalışmalarında α_2 cd 142 Hb Koya Dora varyasyonunun allel sıklığını %3.1, α_2 cd 142 Hb Icaria varyasyonunun allel sıklığını %0,5, α_2 init.cd [T>C] varyasyonunun allel sıklığını %0,5 olarak rapor etmişlerdir (Karakaş vd., 2015).

El-Kalla ve Baysal (1998) çalışmalarında, Alfa Talasemi'de, alfa globin zincirlerinin sayısındaki azalışın MCV değerinde de düşmeye neden olduğunu rapor etmiştir. Çalışmada en düşük MCV ve MCH değerine sahip olgunun $\alpha^{3.7}/MED$ genotipinde, en yüksek MCV ve MCH değerine sahip olgunun ise $\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ genotipinde olduğu rapor edilmiştir (El-Kalla vd., 1998).

Alibakhshi ve ark.(2015)'larının İran'da yaptıkları çalışmalarında, en yüksek MCV ve MCH değerlerini, $\alpha^{4.2}$ ve $\alpha^{3.7}$ heterozigot tek gen delesyonuna sahip iki olguda [78.8(\pm 2.8) fl- 24.8(\pm 1.6) pg ve 77.6(\pm 4.5) fl- 25.8(\pm 1.9) pg], en düşük MCV ve MCH değerlerini ise α^{5nt} homozigot mutasyona sahip olguda [65.2(\pm 1.1) fl- 19.3(\pm 0.4) pg] bildirmişlerdir (Alibakhshi ve ark. 2015).

En az üç kuşaktır Trakya Bölgesinde yaşayan hastaların dahil edildiği tez çalışmamızda en yüksek MCV ve MCH değeri $\alpha\alpha\alpha^{anti3,7}$ triplikasyonu olan olguda (7.olgu) (103,7 fl ve 34,2 pg), en düşük MCV ve MCH değeri ise MED çift gen delesyonu olan olguda (5.olgu) (59,2 fl ve 19 pg) saptanmıştır. MED çift gen delesyonu olan diğer iki olgunun (49. ve 50. olgu) MCV ve MCH değerleri ise sırasıyla 68,4 fl, 22,3 pg ve 67,6 fl, 19,5 pg'dır. $\alpha^{20.5}$ çift gen delesyonu saptanan olgunun (14. olgu) MCV ve MCH değerleri 72,40 fl ve 23,2 pg'dır.

Güvenç ve ark.(2010)'ları çalışmalarında, heterozigot formda Alfa Talasemi mutasyonu taşıyan olguların, eritrosit indekslerinde hafif artış ya da azalma olduğunu, MCV, MCH ve MCHC değerlerinin fonksiyonel alfa globin zincirlerinin sayısı ile bağlantılı olduğunu bildirmiştir. Çalışmada MCV ve MCH ortalamaları MED çift gen delesyonu tespit edilen 34 olguda, 63.45 (\pm 3.05) fl ve 20.20 (\pm 0.90) pg, $\alpha^{20.5}$ çift gen delesyonu tespit edilen 15 olguda, 70.05 (\pm 6.05) fl ve 23.30 (\pm 1.70) pg, $-\alpha^{3.7}/--MED$ bileşik mutasyonu tespit edilen 9 olguda, 62.10 (\pm 1.15) fl ve 18.95 (\pm 0.55) pg, α PA-2 α/α bileşik mutasyonu tespit edilen 9 olguda, 75.50 (\pm 2.85) fl ve 25.80 (\pm 1.90) pg,

$\alpha\alpha^{\text{anti}3.7}$ triplikasyonu tespit edilen 5 olguda 71.40 (± 8.10) fl ve 23.42 (± 3.95) pg olarak saptanmıştır (Güvenç vd., 2010).

Gökdoğan (2015)'in uzmanlık tez çalışmasında, $\alpha\text{PA-}2\alpha/\alpha\alpha$ genotipine sahip olgunun MCV değerinin 78,1 ve $\alpha\text{PA-}1\alpha/\alpha\alpha$ genotipine sahip 4 olgunun ortalama MCV değerinin 68.32(± 3.43) fl olduğu bildirilmiştir (Gökdoğan, 2015).

Onay ve ark.(2015)'leri çalışmalarında, Poli A kuyruğunda meydana gelen mutasyonlar ile MCV değerindeki düşüşün bağlantılığı olduğunu, $\alpha\text{PA-}1\alpha/\alpha\alpha$ genotipine sahip olgunun MCV değerinin 54,1(± 4.33) fl, $\alpha\text{PA-}2\alpha/\alpha\alpha$ genotipine sahip olgunun MCV değerinin ise 55.80(± 10.20) fl, olduğu bildirilmiştir (Onay'dan aktaran Gökdoğan, 2015)

Bu tez çalışmasında hem MED hem de $\alpha^{20.5}$ çift gen delesyonu saptanan tüm olguların MCV ve MCH değerleri referans aralığından düşük, $\alpha\alpha^{\text{anti}3.7}$ triplikasyonu saptanan olgunun MCV ve MCH değerleri ise referans aralığından yüksektir.

Çelik ve ark.(2013)'daşlarının çalışmasında, ortalama Hb, MCV, MCH ve RBC düzeyleri sırasıyla MED çift gen delesyonu tespit edilen 10 olguda, 11.25 (± 0.21) g/dl, 64.70 \pm (3.39) fl, 22.80 (± 3.39) pg, 5.01 (± 0.84) $10^{12}/\text{L}$; $\alpha\alpha^{\text{anti}3.7}$ triplikasyonu tespit edilen 3 olguda ortalama 14.96(± 0.95) g/dl, 78.16(± 0.35) fl, 27.63(± 0.70) pg, 5.40(± 0.20) $10^{12}/\text{L}$; Birer olguda tespit edilen genotiplerin Hb, MCV, MCH ve RBC düzeyleri sırasıyla $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{20.5}$ varyasyonunda 11.20 g/dl, 65.60 fl, 21.70 pg, 5.18 $10^{12}/\text{L}$; $-\alpha^{3.7}/--\text{MED}$ varyasyonunda 10.60 g/dl, 62.60 fl, 20.60 pg, 5.17 $10^{12}/\text{L}$; $\alpha\alpha/\alpha_2$ -Poli A₂ varyasyonunda 9.60 g/dl, 77.80 fl, 24.70 pg, 3.88 $10^{12}/\text{L}$; $\alpha\alpha/-\alpha^{4.2}$ varyasyonunda 12.30 g/dl, 76.20 fl, 25.90 pg, 4.86 $10^{12}/\text{L}$; $\alpha\alpha/--\text{FIL}$ varyasyonunda 9.80 g/dl, 73.60 fl, 24.3 pg, 4.8 $10^{12}/\text{L}$; $\alpha\alpha/\alpha_2$ Poly A₁ varyasyonunda 7.80 g/dl, 65.60 fl, 20.70 pg, 3.77 $10^{12}/\text{L}$ olarak bildirilmiştir (Çelik vd., 2013).

Tez çalışmamızda MED çift gen delesyonu tespit edilen 3 olguda ortalama Hb, MCV, MCH ve RBC düzeyleri sırasıyla, 9,7($\pm 3,05$) g/dl, 65.07 \pm (5,10) fl, 20.27(± 1.78) pg, 4,74 ($\pm 1,18$) $10^{12}/\text{L}$; $\alpha\alpha^{\text{anti}3.7}$ triplikasyonu tespit edilen 1 olguda sırasıyla, 8,4 g/dl, 103,7 fl, 34,2 pg, 2,46 $10^{12}/\text{L}$; $\alpha^{20.5}$ çift gen delesyonu tespit edilen 1 olguda sırasıyla 12,5 g/dl, 72,4 fl, 23,2 pg, 5,36 $10^{12}/\text{L}$ 'dir.

Bozdoğan ve ark. (2015)'leri çalışmalarında $-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$ genotipine sahip olgunun en yüksek MCV değerine [74.9(± 7.6) fl], $-\text{MED}/-\alpha^{3.7}$ genotipine sahip olgunun ise en

düşük MCV değerine [58.1(±5.0) fl] sahip olduğu, MCH ve MCHC değerlerinin MCV değerlerine paralel olduğu bildirilmiştir. Ayrıca çalışmada delesyonel Alfa Talasemi mutasyonu taşıyan olgular ile nondelesyonel Alfa Talasemi mutasyonu taşıyan olguların hematolojik parametreleri (Hb, RBC, MCV, MCH, MCHC) arasında istatistiksel olarak anlamlı olacak bir farklılık tespit edilmemiştir. Çalışmada en sık $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$, $-\alpha^{20.5}/\alpha\alpha$, $MED/\alpha\alpha$ genotiplerine rastlanmıştır. $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$ tespit edilen olguların ortalama Hb, RBC, MCV, MCH ve MCHC değerleri sırasıyla 10.8 (±1.8) g/dl, $5.3(\pm 0.7) 10^{12}/L$, 63.7(±7.4) fl, 20.5(±2.7)pg, 32.2(±1.3) g/dl, $-\alpha^{20.5}/\alpha\alpha$ tespit edilen olguların ortalama Hb, RBC, MCV, MCH ve MCHC değerleri sırasıyla 11.9(±1.1) g/dl, $5.8(\pm 0.5) 10^{12}/L$, 65.5(±3.5) fl, 20.8(±1.3) pg, 31.7(±1.1) g/dl, $--MED/\alpha\alpha$ tespit edilen olguların ortalama Hb, RBC, MCV, MCH ve MCHC değerleri sırasıyla 11.9(±1.2) g/dl, $5.7(\pm 0.58) 10^{12}/L$, 65.5(±2.9) fl, 21.1(±1.2) pg, 32.2(±1.1) g/dl, olarak bildirilmiştir. En sık rastlanan bu üç genotipin hematolojik verileri birbirleri ile karşılaştırıldığında, sadece MCHC değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmıştır (Bozdoğan vd., 2015).

Ahmad ve ark.(2013)'ları Malezya'da farklı etnik gruplarda gerçekleştirdikleri çalışmada eritrosit ortalamasının (RBC) α^0 - Trait fenotipli olgularda yüksek, sessiz Alfa Talasemi taşıyıcılarında ve α^+ -talasemi taşıyıcılarında ise normal olduğunu bildirmişlerdir. Ayrıca ortalama Hb, RBC, RDW, MCV, MCH, MCHC ve Hb F düzeylerinin sırasıyla sessiz Alfa Talasemi taşıyıcılarında, 21.0(±15.7) g/dl, $4.78(\pm 0.72) 10^{12}/L$, 17.9(±6.1), 75.8(±8.5) fl, 24.2(±3.6) pg, 31.89(±2.2) g/dl, 1.9(±4.5); α^+ taşıyıcılarda, 10.8(±1.7) g/dl, $4.97(\pm 0.81) 10^{12}/L$, 17.8(±5.4), 69.8(±8.1) fl, 21.8(±2.4) pg, 31.4(±2.2) g/dl, 2.9(±13.1) ve α^0 taşıyıcılarda, 11.3(±1.7) g/dl, $5.32(\pm 0.81) 10^{12}/L$, 18.0(±4.9), 67.8(±7.2) fl, 21.2(±2.1) pg, 31.5(±3.1) g/dl, 0.9(±2.6) olduğu rapor edilmiştir (Ahmad vd., 2013).

Lin ve ark. (2010)'ları Tayvan'da yaptıkları çalışmalarında α^0 talasemi genotipine sahip olgular ile normal olguların eritrosit indeksleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığını rapor etmişlerdir (Lin'den aktaran Gökdoğan, 2015).

BÖLÜM 6

SONUÇ

Tez çalışmasına Trakya Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Merkezi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Genetik Hastalıkları Tanı Merkezi'ne talasemi ön tanısı ile başvuran olgulardan, daha önce yapılan rutin tetkiklerinde, *Sanger Dizileme* ile *HBB* geninde patojenik, olası patojenik varyasyon saptanmayan olgular ile *Çoklu Ligasyona Bağlı Prob Amplifikasyonu (MLPA)* yöntemi ile *HBA* geninde patojenik, olası patojenik varyasyon saptanmayan olgular dahil edilmiştir. 59 olgunun (30 kadın, 29 erkek) *HBA* geni Alfa Globin *Strip Assay* yöntemi kullanılarak analiz edildi.

Hemoglobin düzeyi 59 olgunun 11'inde (%18,64) normal, 1'inde (%1,69) yüksek ve 47'sinde (%79,66) düşüktü. Hastaların 49'unda (%83,06) mikrositoz mevcuttu (MCV değeri normalden düşük). Hastaların 45'inde hipokromi (%76,27) mevcuttu (MCH değeri normalden düşük). RBC değeri 8 olguda yüksek (%13,55) , 14 olguda düşük (%23,73) ve 37 olguda normaldi (%62,72). RDW CV değeri 49 hastada (%83,06) yüksek, 10 hastada normaldi (%16,94).

Çalışmaya dahil edilen 59 olgunun ortalama Hb düzeyi 10,05 ($\pm 2,66$) gr/dl (dağılım, 4,40-17,6gr/dl), ortalama RBC düzeyi 4,63($\pm 0,95$) $10^{12}/L$ (dağılım, 1,42-6,63), ortalama MCV düzeyi 69,90 ($\pm 12,82$) fl (dağılım, 46,10-106,30), ortalama MCH düzeyi 22,22 ($\pm 5,68$) pg (dağılım, 12-38,60), ortalama RDW CV düzeyi 18,64($\pm 4,70$) (dağılım, 11,70-34,20), HbA2 düzeyi %3,08 ($\pm 5,29$) (dağılım, 0,20-41) olarak saptandı.

Tez çalışmasına dahil edilen 59 olgudan 5 tanesinde patojenik *HBA* varyasyonu saptadık. 54 olguda herhangi bir patojenik/olası patojenik *HBA* varyasyonu saptanmadı. 59 olgudan 5'inde tespit edilen patojenik / olası patojenik varyasyonların 4 tanesi (%80) delesyon, 1 tanesi (%20) ise triplikasyonu.

Çift gen Delesyonu tespit edilen 4 olgunun ortalama RBC, Hb, MCV, MCH ve RDW CV değerleri 4,89(±1,015) 10¹²/L, 10,4(±2,85) gr/dl, 66,9(±5,54) fl, 21 (±2,06) pg, 20,05(±7,42), triplikasyon tespit edilen 1 olgunun RBC, Hb, MCV, MCH ve RDW CV değerleri 2,46 10¹²/L, 8,4 gr/dl, 103,7 fl, 34,2 pg, 21,10 olarak rapor edilmiştir.

Tez çalışmamızda saptadığımız patojenik varyasyonlar: MED çift gen delesyonu (3 olgu %5,08), $\alpha^{20,5}$ çift gen delesyonu (1 olgu %1,69) ve $\alpha\alpha^{anti3,7}$ triplikasyonu (1 olgu %1,69)'dur.

Tez çalışmamızda en sık rastlanan patojenik varyasyon olan MED çift gen delesyonu saptanan 3 olgunun ortalama Hb düzeyi 9,70(±3,05) gr/dl (dağılım, 6,70-12,80), ortalama RBC düzeyi 4,74 (±1,18)10¹²/L (dağılım, 3,43-5,73), ortalama MCV düzeyi 65,07 (±5,10) fl (dağılım, 59,2-68,4), ortalama MCH düzeyi 20,27 (±1,78) pg (dağılım, 19-22,3), ortalama RDW CV düzeyi 21,70 (±8,15) (dağılım, 16,60-31,10), ortalama HbA2 düzeyi %2.14 (±0,45) (dağılım,1,70-2,60)'di.

$\alpha^{20,5}$ çift gen delesyonu saptanan 1 olgunun, Hb düzeyi 12,50 gr/dl, RBC düzeyi 5,36 10¹²/L, MCV düzeyi 72,40 fl, MCH düzeyi 23,20 pg, RDW CV düzeyi 15,10'di.

$\alpha\alpha^{anti3,7}$ triplikasyonu saptanan 1 olgunun, Hb düzeyi 8,40 gr/dl, RBC düzeyi 2,46 10¹²/L, MCV düzeyi 103,7 fl, MCH düzeyi 33,2 pg, RDW CV düzeyi 21,1'di.

Tez çalışmamızda Türkiye'de en sık görülen *HBA* patojenik varyasyonlarından, sadece MED ve $\alpha^{20,5}$ çift gen delesyonlarını saptadık, $\alpha^{3,7}$ ve $\alpha^{4,2}$ tek gen delesyonları olgularımızda saptanmadı.

Tez çalışmamızda en yüksek MCV ve MCH değeri $\alpha\alpha^{anti3,7}$ triplikasyonu olan olguda (103,7 fl ve 34,2 pg), en düşük MCV ve MCH değeri ise --MED çift gen delesyonu olan olguda (59,2 fl ve 19 pg) tespit edildi.

Daha önce *MLPA* ile herhangi bir varyasyon saptanmayan 59 olgunun 5'inde, *Strip Assay* ile varyasyon saptanmıştır. *Strip Assay* yöntemi *MLPA* yöntemine %8,47 oranında katkı sağlamaktadır.

Çalışma sonuçlarımızın literatüre, Trakya Bölgesinde görülen *HBA* varyasyonları ve sıklığı ile ilgili katkı sağlayacağı öngörülmektedir.

KAYNAKLAR

- Acemoğlu, H., Beyhun, NE., Vançelik, S., Polat, H. &Güraksın, A. (2008). Thalassaemia Screening In A Non-Prevalent Region Of A Prevalent Country (Turkey): Is It Necessary?.*Public Health*,122, 620-624.doi:10.1016/j.puhe.2007.09.007
- Ahmad, R., Saleem, M., Aloysious, NS., Yelumalai, P., Mohamed, N. &Hassan, S. (2013).Distribution Of Alpha Thalassaemia Gene Variants In Diverse Ethnic Populations In Malaysia: Data From The Institute For Medical Research. *Journal Molecular Science*, 14(9),18599-186614. doi:10.3390/ijms140918599
- Akar, E. & Akar, N. (2007).A Review Of Abnormal Hemoglobins In Turkey.*Turk Journal Hematol*, 24,143-145.
- Akhavan-Niaki, H., Youssefi Kamangari, R., Banihashemi, A., Kholghi Oskooei, V., Azizi, M., Tamaddoni, A., Sedaghat, S., Vakili, M., Mahmoudi Nesheli, H.& Shabani, S. (2012). Hematologic Features Of Alpha Thalassemia Carriers. *Journal Molecular Cell Medicine*,1(3),162-7.
- Aksoy, M., Kutlar, A., Kutlar, F., Dinçol, G., Erdem, Ş.& Baştēsbiğçi, S. (1985).Survey On Hemoglobin Variants Beta-Thalassemia, G6PD Deficiency And Haptoglobin Types In Turks From Western Thrace. *JournalMedicine Genet*,22, 288-290.
- Aksu, T., Yarali, N., Bayram, C., Fettah, A., Avci, Z.& Tunç, B. (2014). Homozygosity For HBA1: c.179G > A: Hb Adana In An Infant. *Hemoglobin*,38(6), 449-50. doi:10.3109/03630269.2014.969373
- Al-Allawi, NA., Jalal, SD., Rasheed, NS., Bayat, N., Imanian, H., Najmabadi, H.& Faraj, A. (2013). The Spectrum Of A-Thalassemia Mutations In The Kurdish Population Of Northeastern Iraq. *Hemoglobin*,37(1),56-64. doi:10.3109/03630269.2012.749490
- Albayrak, D.&Albayrak, C. (2009).Anemik Hastada İyi Öngörü. *Türk Pediatri Arşivi Dergisi*, 6, 1-5.
- Aldemir, Ö.& İzmirli, M. (2014).Hataydaki α -Talasemi Genotipleri Ve α -Talasemi Genotip Frekansı.*Abant JournalMedicine*,3,233-6. doi:10.5505/abantmedj.2014.49358
- Alibakhshi, R., Mehrabi, M., Omidniakan, L.& Shafieenia, S. (2015).The Spectrum Of α - Thalassemia Mutations In Kermanshah Province, West Iran.*Hemoglobin*,19,1-4. doi:10.3109/03630269.2015.1070732

Altay, Ç. (1993). Türkiye'de Hemoglobinopati Sorunu. *SSK Tepecik Hastanesi Dergisi*, 3, 1-2-3.

Altay, Ç. (2002a). Abnormal Hemoglobins In Turkey. *Turk Journal Haematol*, 19, 63-74.

Altay, Ç. (2002b). The Frequency And Distribution Pattern Of β -Thalassemia Mutations In Turkey. *Turk Journal Haematol*, 19, 309-315.

Aydınok, Y. (2012). Thalassemia. *Hematology*, 1, 28-31. doi:10.1179-102453312X13336169155295

Aydınok, Y., Öztop, S., Nişli, G. & Kavaklı, K. (1997). Prevalence Of Beta-Thalassaemia Trait In 1124 Students From Aegean Region Of Turkey. *Journal Trop Pediatr*, 43, 184-185.

Barbour, VM., Tufarelli, C., Sharpe, JA., Smith, ZE., Ayyub, H., Heinlein, CA., Stanley, JS., Indrak, K., Wood, WG. & Higgs, DR. (2000). α -Thalassemia Resulting From A Negative Chromosomal Position Effect. *Blood*, 96(3), 800-807.

Başak, A.N. (2001). Beta Talasemi'de Moleküler Tanı ve Yöntemleri. *Talasemi Ve Hemoglobinopatiler* s.49-60.

Başak, AN. (2005). Talaseminin Moleküler Genetiği. Temel Moleküler Hematoloji Kursu. Mersin-Türkiye, 12-13 Mart 2005 s.99-106.

Bayat, N., Farashi, S., Hafezi-Nejad, N., Faramarzi, N., Ashki, M., Vakili, S., Imanian, H., Khosravi, M., Azar-Keivan, A. & Najmabadi, H. (2013). Novel Mutations Responsible For α -Thalassemia In Iranian Families. *Hemoglobin*, 37, 148-159. doi:10.3109/03630269.2013.763821

Baysal, E. (2011). A-Thalassemia Syndromes In The United Arab Emirates. *Hemoglobin*, 35(5-6), 574-80. doi:10.3109/03630269.2011.634698

Baysal, E., Kleanthous, M., Bozkurt, G., Kyri, A., Kalogirou, E., Angastiniotis, M., Ioannou, P. & Huisman, TH. (1995). Alpha Thalassaemia In The Population Of Cyprus. *Br Journal Haematol*, 89, 496-499.

Berdasco, M. & Esteller, M. (2013). Genetic Syndromes Caused By Mutations In Epigenetic Genes. *Human Genet*, 132, 359-383. doi: 10.1007/s00439-013-1271-x

Bernet, A., Sabatier, S., Picketts, DJ., Ouazana, R., Morle, F., Higgs, DR. & Godet, J (1995). Targeted Inactivation Of The Major Positive Regulatory Elements (HS-40) Of The Human Alpha-Globin Gene Locus. *Blood*, 86, 1202-1211.

Bozdoğan, ST., Yüreğir, OO., Buyukurt, N., Aslan, H., Özdemir, ZC. & Gambin, T. (2015). Alpha Thalassemia Mutations In Adana Province, Southern Turkey: Genotype-Phenotype Correlation. *Indian Journal Hematol Blood Transfus*, 31(2), 223-8. doi: 10.1007/s12288-014-0406-0

Bozkurt, EB. (Ed.). (2016). Hemoglobinopati Tanı Rehberi. *Sağlık Bakanlığı Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Bakanlık Yayın No: 978-975-590-620-1*. Ankara.

Canatan, D. (2007). Dünya’da ve Türkiye’de Talasemi ve Anormal Hemoglobinler. Antalya. *Retma*, 11-19.

Canatan, D. (2011). Dünya’da ve Türkiye’de Talasemi ve Hemoglobinopatilerin Durumu. Türk Pediatrik Hematoloji Derneği Talasemi Okulu.

Canatan, D. (2013). The Thalassemia Center Of Antalya State Hospital: 15 Years Of Experience (1994 to 2008). *Journal Pediatr Hematol Oncology*,35,24-27.

Canatan, D. (2014). Türkiye’de Hemoglobinopatilerin Epidemiyolojisi. Türk Hematoloji Derneği, *Hematolog*,4,1

Canatan, D., Oğuz, N., Güvendik, I.& Yildirim, S. (2002). The Incidence Of Alpha Thalassemia In Antalya- Turkey. *Turk Journal Haematol*,19,433-434.

Cappellini, MD. (Ed.), Cohen, A. (Ed.), Porter, J. (Ed.), Taher, A. (Ed.)&Viprakasit, V.(Ed.). (2016). Talaseminin Klinik Yönetim Rehberi. Uluslararası Talasemi Federasyonu Yayınları No.21, 3. Baskı.

Chang, JG., Lee, LS., Lin, CP., Chen, PH.& Chen, CP. (1991). Rapid Diagnosis Of A-Thalassemiaa-1 Of Southeast Asia Type And Hydrops Fetalis By Polymerase Chain Reaction. *Blood*,78,853-854.

Chang, JG., Liu, TC., Peng, Li., Chiou, SS., Chen, PH.& Lin, CP. (1994). Rapid Molecular Characterization Of Hb H Disease In Chinese By Polymerase Chain Reaction. *Ann Hematol*,68,33-37.

Chui, DHK., Fucharoen, S.& Chan, V. (2003). Hemoglobin H Disease: Not Necessarily Abenign Disorder. *Blood*,103(3),791-800.doi:10.1182/blood-2002-07-1975

Clarke, GM.& Higgins, TN., (2000). Laboratory Investigation Of Hemoglobinopathies And Thalassemias. *Clinical Chemistry*,46,1284–90.

Çelebiler, A., Aksoy, D., Ocakcı, S.&Karaca, B. (2012). A new hemoglobin variant: Hb İzmir [β 86(F2)Ala \rightarrow Val, GCC>GTC; HBB: c.260C>T]. *Hemoglobin*,36,474-479. doi:10.3109/03630269.2012.717514

Çelik, MM., Güneşçar, R., Oktay, G., Duran, GG.& Kaya, H. (2013). Spectrum Of α -Thalassemia Mutations Including First Observation Of --FIL Deletion In Hatay Province, Turkey. *Blood Cells Molecular Disaeses*,51,27-30. doi://doi.org/10.1016/j.bcmed.2013.01.012

Çürük, MA. (2007). Hb H (β 4) Disease In Çukurova, Southern Turkey. *Hemoglobin*,31, 265-271. doi:10.1080/03630260701297279

Çürük, MA., Arpacı, A., Atilla, G., Tuli, A., Kılınç, Y., Aksoy, K.& Yüreğir, GT. (2001) Genetic Heterogenetiyy Of B-Thalassemia At Çukurova In Southern Turkey. *Hemoglobin*, 25, 241-245. doi:10.1081/HEM-100104032

Çürük, MA., Çavuşoğlu, AÇ., Arıcan, H., Uzuncan, N.& Karaca, B. (2010). Hb Sarrebourg [β 131(H9) Gln→Arg, CAG>CGG] In Turkey. *Hemoglobin*,34, 572-575. doi:10.3109/03630269.2010.526821

Dönbak, L. (2005). İnsan Hemoglobin Varyantları. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi*, 8,13–22.

Eisenberg, B.& Wapner, RJ. (2002). Clinical Proceduress In Prenatal Diagnosis. *Best Practice Res Clin Obstet Gynaecol*,16, 611-627. doi:10.1053/beog.2002.0328

Eleftheriou, A. (2015). Talasemi Hakkında Herşey. Canatan, D. (Çev.), Aydınok, Y. (Çev.). Dünya Talasemi Federasyonu Yayınları (4), Antalya.

El-Kalla, S.& Baysal, E. (1998). Alpha-Thalassemia In The United Arab Emirates. *Acta Haematol*,100,49-53.

Foglietta, E., Giancarlo, D., Graziani, B., Modiano, G.& Bianco, I. (1996). Detection Of α -Globin Gene Disorders By A Simple PCR Methodology. *Haematologica*, 81, 387-396.

Ford, J. (2013). Red Blood Cell Morphology. *Journal Lab Hamatol*,35(3), 351-7. doi:10.1111/ijlh.12082

Galanello, R.& Cao, A. (2011). Alpha Thalassemia. *Genetics In Medicine*,13(2),83-88. doi: 10.1097/GIM.0b013e3181fcb468

Galanello, R.& Origa, R. (2010). Beta Thalassemia. *Orphanet Journal Rare Diseses*,21,5-11. doi: 10.1186/1750-1172-5-11

Genç, A., Tastemir Korkmaz, D., Urhan Kucuk, M., Rencuzogullari, E., Atakur, S., Bayram, S., Onderci, M., Koc, T., Aslan, S., Mutalip, A., Faruk, M., Sevgiler, Y.& Tuncdemir A. (2012). Prevalence Of Beta-Thalassemia Trait And Abnormal Hemoglobins In The Province Of Adıyaman, Turkey. *Pediatr Hematol Oncology*,29, 620-623. doi:10.3109/08880018.2012.713085

Gökdoğan, D. (2015). Aydın İli Ve Çevresinde Yaşayan Alfa Talasemi Taşıyıcısı Çocuklarda Mutasyon Analizi. Uzmanlık Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi, Aydın.

Gümrük, F.. (2006). Hemoglobinopatilerin Tanı ve Tedavisinde Yenilikler. Türk Hematoloji Derneği 9. mezuniyet sonrası eğitim kursu; 62–64. Ankara.

Gürbak, M., Sivaslı, E., Çoskun, Y., Bozkurt, AI.& Ergin, A. (2006). Prevalence And Hematological Characteristics Of Beta Thalassemia Trait In Gaziantep Urban Area, Turkey. *Pediatr Hematol Oncology*,23,419-425. doi:10.1080/08880010600683400

Güvenç, B., Canataroglu, A., Unsal, C., Yildiz, SM., Turhan, FT., Bozdoğan, ST., Dincer, S. & Erkman, H. (2011). β -Thalassemia Mutations And Hemoglobinopathies In Adana, Turkey: Results From A Single Center Study. *Arch Medicine Science*,8,411-414. doi:10.5114/aoms.2012.28811

Güvenç, B., Yıldız, SM., Tekinturhan, F., Dinçer, S., Akyüzlür, I., Ökten, S. & Erkman, H. (2010). Molecular Characterization Of α -Thalassemia In Adana, Turkey: A Single Center Study. *Acta Haematol*, 124(4),197-200. doi:10.1159/000302203

Güzelgül, F. (2010). Alfa Talasemi Mutasyonlarının DNA Dizi Analizi İle Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü,Adana.

Harteveld, CL.& Higgs, DR. (2010). Alpha Thalassaemia. *Orphanet Journal of Rare Diseases*,5,13-32. doi:10.1186/1750-1172-5-13

Harteveld, CL., Voskamp, A.& Phylipsen, M., (2005). Nine Unknown Rearrangements In 16p13.3 And 11p15.4 Causing α - And β -Thalassaemia Characterised By High Resolution Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification. *Journal Medicine Genet*, 42, 922-931. doi:10.1136/jmg.2005.033597

Hatton, CS., Wilkie, AO., Drysdale, HC., Wood, WG., Vickers, MA., Sharpe, J., Ayyup, H., Pretorius, IM., Buckle, VJ.& Higgs, DR. (1990). Alpha Thalassemia Caused By A Large (62 Kb) Deletion Upstream Of The Human Alpha Globin Gene Cluster. *Blood*, 76, 221-227.

Higgs, DR. & Engel, JD., Stamatoyannopoulos, G. (2012). Thalassemia. *Lancet*,379, 373-383. doi:10.1016/S0140-6736(11)60283-3

Higgs, DR., Vickers, MA., Wilkie, AOM., Pretorius, IM., Jarman, AP.& Weatherall, DJ. (1989). A Review Of The Molecular Genetics Of The Human α -Globin Gene Cluster. *Blood*,73, 1081-1104.

Huang, SW., Xu, Y., Liu, XM., Zhou, M., Li, GF., An, BQ., Su, L., Wu, X.& Lin, J. (2015). The Prevalence And Spectrum Of α -Thalassemia In Guizhou Province Of South China. *Hemoglobin*, 39(4), 260-3. doi:10.3109/03630269.2015.1041037

Irmak, H., (Ed) 2014. Türk Hijyen ve Deneyel Biyoloji Dergisi, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Cilt 71, Sayı 4, Ankara- 2014 Erişim: http://journalagent.com/turkhijyen/pdfs/thdbd_69_1_0.pdf.

Jassim, N., Al-Arrayed, S.& Gerard, N. (2001). Molecular Basis Of α -Thalassemia In Bahrain. *Bahrain Medicine Bull*,23(1),3-7.

Kamal, M., Abu-Sirriya, S., Abu-Dayya, A., Al-Khatib, H., Abu-Ramadan, H., Petrou, M., Amer, A., Badii, R.& Kleanthous, M. (2015). The Molecular Basis Of α -Thalassemia In The Qatari Pediatric Population. *Hemoglobin*,13,1-5. doi:10.3109/03630269.2015.1060606

Karakaş, Z. (2014). Alfa Talasemi. Türk Hematoloji Derneği. *Hematolog*, 4, 117-33.

Karakaş, Z., Koç, B., Temurhan, S., Elgün, T., Karamanlı, S., Asker, G., Gençay, G., Timur, Ç., Yıldırım, Z.Y., Celkan, T., Devocioğlu, Ö. & Aydın, F. (2015). Evaluation Of Alpha-Thalassemia Mutations In Cases With Hypochromic Microcytic Anemia: The İstanbul Perspective. *Turk Journal Hematol*, 32, 344-350, DOI: 10.4274/tjh.2014.0204. doi:10.4274/tjh.2014.0204

Karakükçü, C., Koçer, D., Altuner Torun, Y., Karakükçü, M., Yokuş, O., Özdemir, MA. & Patiroğlu, T. (2012). Premarital Hemoglobinopathy Screening In Kayseri: A City In Middle Anatolia Region Of Turkey. *Journal Pediatr Hematol Oncology*, 34, 49-52.

Kazgan, T. & Yağcı-Küpeli, B. (2017). Talasemilerde Solunum Sistemi Bozuklukları. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 26(3), 352-377 doi:10.17827/Aktd.303592.

Keser, I., Kayışlı, OG., Yeşilipek, A., Özses, ON. & Lüleci, G. (2001). Hb Antalya [codons 3-5 (Leu- Thr-Pro→Ser-Asp-Ser)]: A New Unstable Variant Leading To Chronic Microcytic Anemia And High Hb A2. *Hemoglobin*, 25, 369-373. doi:10.1081/HEM-100107873

Kipp, BR., Roellinger, SE. & Lundquist, PA. (2011). Development And Clinical Implementation Of A Combination Deletion PCR And Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification Assay For Detecting Deletions Involving The Human α -Globin Gene Cluster. *Journal Molecular Diagnostic*, 13, 549-557. doi:10.1016/j.jmoldx.2011.04.001

Ko, TM., Tseng, LH., Hsieh, FJ. & Lee, TY. (1993). Prenatal Diagnosis Of Hb H Disease Due To Compound Heterozygosity For South-East Asian Deletion And Hb Constant Spring By Polymerase Chain Reaction. *Prenat Diagnostic*, 13, 143-146.

Koçak, R., Alparslan, ZN., Agrıdağ, G., Başlamışlı, F., Aksungur, PD. & Koltaş, S. (1995). The Frequency Of Anaemia, Iron Deficiency, Hemoglobin S And Beta Thalassemia In The South Of Turkey. *European Journal Epidemiol*, 11, 181-4.

Kropp, GL., Fucharoen, S. & Embury, SH. (1989). Selective Enzymatic Amplification Of α_2 - Globin DNA For Detection Of The Hemoglobin Constant Spring Mutation. *Blood*, 73, 1987-1992.

Kulozik, A., Kar, B.C., Serjeant, B.E. & Weatherall, D.J. (1988). α -Thalassemia In India: Its Interaction With Sickle Cell Disease. *Blood*, 71, 467.

Kutlar, F. (2014). Hemoglobinopatilerin Laboratuvar Tanısı. *Hematolog*, 4, 45-54.

Lacerra, G., Fioretti, G., De Angioletti, M., Pagano, L., Guarino, E., de Bonis, C., Viola, A., Maaglione, G., Scarallo, A., De Rosa, L. & Carestina, C. (1991). $(\alpha)\alpha^{5,3}$: A Novel α^+ -Thalassemia Deletion With The Brekpoint In The α_2 -Globin Gene And In Close Proximity To An Alu Repeat Between The $\psi\alpha_2$ - And $\psi\alpha_1$ -Globin Genes. *Blood*, 78, 2740.

Lebo, RV., Saiki, RK., Swanson, K., Montano, MA., Erlich, HA. & Golbus, MS. (1990). Prenatal Diagnosis Of α -Thalassemia By Polymerase Chain Reaction And Dual Restriction Enzyme Analysis. *Human Genet*,85,293-299.

Liebhaber, SA. (1989). Alpha Thalassemia. *Hemoglobin*, 13, 685-731.

Loukopoulos, D. (1991). Thalassemia: Genotypes And Phenotypes. *Ann Hematol*, 62, 85-94.

Makankawkeyoon, L., Sanguansersri, T., Asato, T., Nakashima, Y. & Takei, H. (1993). Rapid Detection Of Chain Termination Mutations In The α_2 Globin Gene. *Blood*,82, 3503-3512.

Martin, A. & Thompson, AA. (2013). Thalassemias. *Pediatr Clinical North Am*, 60, 1383-91. doi://dx.doi.org/10.1016/j.pcl.2013.08.008

Modell, B. & Darlison, M. (2008). Global Epidemiology Of Haemoglobin Disorders And Derived Service Indicators. *Bull World Health Organ*,86, 480-7. doi:10.2471/BLT.06.036673

Nakashima, H., Fujiyama, A., Kaglyama, S. & Imamura, T. (1990). Genetic Polymorphisms Of Gene Conversion Within The Duplicated Human α -Globin Loci. *Huma Genet*,84, 568-570.

Öner, C., Gürgey, A., Öner, R., Balkan, H., Gümrük, F., Baysal, E. & Altay, C. (1997). The Molecular Basis Of Hb H Disease In Turkey. *Hemoglobin*,21(1), 41-51. doi:10.3109/03630269708997509

Özbolat, G. (2017). Talasemi ve İlgili Hemoglobinopatilerin Moleküler Tanı Yöntemleri: Günümüz Ve Gelecek. doi:10.30569/adiyamansaglik.396211.

Özkınay, F. (2014). Hemoglobinopatilerde Genetik Patoloji Ve Moleküler Tanı Yöntemleri. *Hematolog*,4, 30-44.

Özyüncü, Ö. & Beksaç, M.S. (2007). Talasemi Ve Hemoglobinopatilerde Prenatal Tanı. Talasemi ve Hemoglobinopatiler: *Retma Matbaa Ltd*, 73-81. Antalya.

Plant, KE., Routledge, SJE. & Proudfoot, NJ. (2001). Intergenic Transcription In The Human β -Globin Gene Cluster. *Molecular Cell Biology*,19(21),6507-6514. doi:10.1128/MCB.21.19.6507-6514.2001

Polat, G., (1995). Alfa Talasemili Bir Ailenin Mutasyon Tiplerinin Moleküler Düzeyde İncelenmesi. Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana.

Rahimi, Z. (2013). Genetic Epidemiology, Hematological And Clinical Features Of Hemoglobinopathies In Iran. *Hindawi Publishing Corporation Biomed Res Int*,ID 803487,1-10. doi://dx.doi.org/10.1155/2013/803487

Ren, S., Luo, XN.& Atweh, GF. (1993). The Major Regulatory Elements Upstream Of The Alpha Globin Gene Has Classical And Inducible Enhancer Activity. *Blood*, 81, 1058-1066.

Rosnah, B., Rosline, H., Zaidah, AW., Noor Haslina, MN., Marini, R., Shafini, MY.&Nurul Ain, FA. (2012). Detection Of Common Deletional Alpha-Thalassemia Spectrum By Molecular Technique In Kelantan, Northeastern Malaysia ISRN. *Hematol*, 1-3. doi:10.5402/2012/462969

Salah, K.& Baysal, E. (1998). α -Thalassemia In The United Arab Emirates. *Acta Haematol*, 100, 49-53.

Salomon-Andonie, J., Miasnikova, G., Sergueeva, A., Polyakova, LA., Niu, X.& Nekhai, S. (2013). Effect Of Congenital Upregulation Of Hypoxia Inducible Factors On Percentage Of Fetal Hemoglobin In The Blood. *Blood*, 122,3088-3089.

Sankar, VH1., Arya, V., Tewari, D., Gupta, UR., Pradhan, M.& Agarwal, S. (2006). Genotyping Of Alpha-Thalassemia In Microcytic Hypochromic Anemia Patients From North India. *Journal Appl Genet*,47(4), 391-395.

Schecher, AN. (2008). Hemoglobin Research And The Origin Of Molecular Medicine. *Blood*,112(10), 3927-3938. doi:10.1182/blood- 2008-04-078188.

Seydel, S G. (2007). Hemoglobınopatilerin Mikroarray Yöntemiyle Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Sharpe, JA., Summerhill, RJ., Vyas, P., Gourdan, G., Higgs, DR.& Wood, WG. (1993) Role Of Upstream Dnaase I Hypersensitive Sites In The Regulation Of Human Alpha Globin Gene Expression. *Blood*, 82, 1666-1671.

Sözen, MM. (2000). Revers Transkriptaz PCR Tekniđi ile Talasemiye Neden Olan Mutasyonları Alfa ve Beta Gen Ekspresyonları Üzerine Etkilerinin İncelenmesi. Bilim Uzmanlığı Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü.

Sütçü, R., Aylak, F., Koçak, H., Sipahi, T., Vural, H.&Delibaş, N., (2011). The Investigation Of Distribution Of Hereditary Alpha Thalassemia Mutations In Isparta Reservoir. *European Journal Basic Medicine Science*,1(1), 28-32.

Tahiroğlu, M. (2010). Hatay-Samandađ Yöresindeki Liselerde Hemoglobınopati Tiplendirilmesi ve Bilgilendirilmesi Çalışması. Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, Adana.

Tang, Y., Huang, Y., Shen, W., Liu, G., Wang, Z., Tang, XB., Feng, DX., Liu, DP.&Liang, CC. (2008). Cluster Specific Regulation Pattern Of Upstream Regulatory Elements In Human Alpha And Beta Globin Gene Clusters. *Exp Cell Res*,314(1), 115-22.doi:10.1016/j.yexcr.2007.08.014

Tang, Y., Wang, Z., Huang, Y., Liu, DP., Liu, G., Shen, W., Tang, X., Feng, D.& Liang, CC. (2006). Gene Order In Human A-Globin Locus Is Required For

Theirtemporal Specific Expressions. *Genes to Cells*,11, 123–131. doi:10.1111/j.1365-2443.2006.00923.x

Thein, SL., Hesketh, C., Taylor, P., Temperley, IJ., Hutchinson, RM., Old, JM., Wood, WG., Clegg, JB.&Weatherall, DJ. (1990). Molecular Basis For Dominantly Inherited Inclusion Body Beta Thalassemia. *Proc Natl Acad Sci USA*,87, 3924-3928.

Ünal, Ş.& Gümrük, F. (2015). The Hematological And Molecular Spectrum Of α -Thalassemias In Turkey: The Hacettepe Experience. *Turk Journal Haematol*, 32(2),136-143.doi:10.4274/tjh.2014.0200

Vergin, C. (2014). Dünyada Hemoglobinopatilerin Epidemiyolojisi. *Hematolog*,4,1-10.

Vergin, C. (2008). Anormal Hemoglobinler. 5. Uluslararası Talasemi Yazokulu, Antalya-Türkiye, 20-24 Ekim 2008,47-54.

ViennaLab Diagnostics, α -Globin StripAssay Procedure. Erişim: <https://www.viennalab.com/filemanager/documents/get/0b3c253944a383d5fff2d22ca1c2701f.pdf>.

Weatherall, DJ.& Clegg, JB. (2001). The Thalassaemia Syndromes. 4th ed. London: *Blackwell Science*.

Yao, XY., Yu, J.& Chen, SP. (2013). Prevalence And Genetic Analysis Of α -Thalassemia And β -thalassemia In Chongqing Area Of China. *Gene*,532(1),120-4. doi://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2013.09.031

Yüreğir, GT., Kılınç, M., Ekerbiçer, H., Bilaloğlu, N.&Tekin, N. (2001). Screening Of Hemoglobinopathies In Kahramanmaraş, Turkey. *Journal Haematol*, 18,79-83.

Zheng, G., Schaefer, M.&Karplus, M. (2013). Hemoglobin Bohr Effects: Atomic Origin Of The Histidine Residue Contributions. *Biochemistry*, 52,8539-8555. doi:dx.doi.org/10.1021/bi4011

EK

TRAKYA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI BİLİMSEL ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU Edirne, Türkiye

ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAYIBAŞVURU BİLGİLERİ	PROTOKOL KODU	TÜTF-BAEK 2018/288	
	PROTOKOL ADI	Trakya Bölgesinde, α -Talasemi Ön Tanılı Hastalarda, α -Globin Varyasyonları Sıklığının Araştırılması	
	SORUMLU ARAŞTIRICI ÜNVANI / ADI	Doç. Dr. Hilmi TOZKIR	
	ARAŞTIRMA MERKEZİ		
	DESTEKLEYİCİ		
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	Tek Merkez Ulusal	Çok Merkez Uluslararası	
KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 14/06	Tarih: 03.09.2018	
	Fakültemiz Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Hilmi TOZKIR'ın sorumluluğunda yapılması planlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen çalışmasının araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş; araştırmaya ilişkin giderlerin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödenmediği koşullarda ve veri toplanacak yerlerden gerekli izinler alındıktan sonra gerçekleştirilmesinde etik bilimsel standartlar açısından sakınca bulunmadığına mevcudun oylar birliği ile karar verilmiştir.		
ETİK KURUL BİLGİLERİ			
ÇALIŞMA ESASI	Helsinki Bildirgesi, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu, TÜTF-BAEK Yönergesi		

Ünvan/Ad/ Soyadı	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki(*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Üfket VATANSEVER ÖZBEK Başkan	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D	K	E (H)	(E) H	
Doç. Dr. Rugül KÖSE ÇINAR Başkan Yardımcısı	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	T.Ü.T.F. Ruh Sağ. ve Has. A.D.	K	E (H)	(E) H	
Dr. Öğr. Üyesi Ruhana Deniz TOPUZ Üye	Tıbbi Farmakoloji.	T.Ü.T.F Tıbbi Farmakoloji A.D	K	E (H)	(E) H	
Dr. Öğr. Üyesi F. Nesrin TURAN Üye	Biyostatistik	T.Ü.T.F. Biyoistatistika.D.	K	E (H)	(E) H	
Doç. Dr. Hakan GÖRKAN Üye	Tıbbi Genetik	T.Ü.T.F. Tıbbi Genetik A.D.	E	(E) H	E (H)	
Prof. Dr. Hasan ÜMIT Üye	İç Hastalıkları	T.Ü.T.F. İç Hastalıkları A.D.	E	E (H)	(E) H	
Dr. Öğr. Üyesi Oktay KAYA Üye	Fizyoloji	T.Ü.T.F. Fizyoloji A.D.	E	E (H)	(E) H	
Doç. Dr. Cafer Sadık ZORKUN Üye	Kardiyoloji	T.Ü.T.F. Kardiyoloji A.D.	E	E (H)	(E) H	
Prof. Dr. Muzaffer ESKİOCAK Üye	Halk Sağlığı	T.Ü.T.F. Halk Sağlığı A.D.	E	E H	E H	
Prof. Dr. Niyazi Cenk SAYIN Üye	Kadın Hastalıkları ve Doğum	T.Ü.T.F. Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D.	E	E (H)	(E) H	
Prof. Dr. Sevtap HEKİMOĞLU ŞAHİN Üye	Anestezi ve Reanimasyon	T.Ü.T.F. Anestezi ve Reanimasyon A.D.	K	E H	E H	
Prof. Dr. Atakan SEZER Üye	Genel Cerrahi	T.Ü.T.F. Genel Cerrahi A.D.	E	E H	E H	
Avukat Özden İPÇİ Üye		T.Ü. Rektörlüğü	E	E H	E H	
Emekli Öğretmen Sinan SEÇKİN Üye		Serbest Üye	E	E H	E H	

*Araştırma ile ilişki
**Toplantıda Bulunma

Prof. Dr. Ahmet TEZEL
Dekan a.
Dekan Yard.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı Nihan Alişya ERMAN
Doğum Yeri ve Tarihi Lüleburgaz – 07.03.1994

Eğitim Durumu

Lisans Öğrenimi Bartın Üniversitesi – Moleküler Biyoloji ve Genetik
Yüksek Lisans Öğrenimi Trakya Üniversitesi – Biyoteknoloji ve Genetik

Yabancı Diller İngilizce

İş Deneyimi

Çalıştığı Kurum Trakya Üniversitesi Tıbbi Genetik Laboratuvarı
(2016-...)

Stajlar Sentegen Biyoteknoloji (2015)

E posta alisyanihanerman@gmail.com