

T.C
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

90954

MANİSA'NIN MERKEZ KÖYLERİNDE CİDDİ DÜZEYDEKİ GLUKOZ-6-FOSFAT
DEHİDROGENAZ (G6PD) ENZİMİ EKSİKLİĞİNİN POPULASYON DÜZEYİNDE SIKLIĞININ
ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Ersin MİNARECİ

Anabilim Dalı : Biyoloji
Programı : Moleküler Biyoloji

MANİSA 1999

T.C
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ*FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

MANİSA'NIN MERKEZ KÖYLERİNDE CİDDİ DÜZEYDEKİ GLUKOZ-6-FOSFAT
DEHİDROGENAZ (G6PD) ENZİMİ EKSİKLİĞİNİN POPULASYON DÜZEYİNDE SIKLIĞININ
ARAŞTIRILMASI

YÜKSEK LİSANS TEZİ
Ersin MİNARECİ

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih :
Tezin Savunulduğu Tarih : 18,02,2000

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Hüseyin GÜNER
Diğer Jüri Üyeleri : Prof. Dr. Avni GÜVEN
: Prof. Dr. Mehmet ÖZTÜRK

MANİSA 1999

İÇİNDEKİLER

1. GİRİŞ	3
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. G6PD ENZİMİNİN HÜCRESEL İŞLEVLERİ VE AKTİVİTESİNİN DÜZENLENMESİ	3
2.2. G6PD ENZİMİ EKSİKLİĞİNİN TANIMI VE SINIFLANDIRILMASI	6
2.3. G6PD ENZİMİ EKSİKLİĞİNİN YOL AÇTIĞI SAĞLIK SORUNLARI	7
2.3.1. AKUT HEMOLİTİK ANEMİ	9
2.3.1.1. BELİRLİ İLAÇLARIN VE KİMYASALLARIN VÜCUDA ALIMIYLA UYARILAN HEMOLİTİK ANEMİ	9
2.3.1.2. FAVİSM.....	10
2.3.1.3. ENFEKSİYONLARLA UYARILAN HEMOLİZ	11
2.3.2. CİDDİ YENİDOĞAN SARILIĞI VE PATOLOJİK BİLİRÜBİNEMİ (KERNİKTERUS).....	11
2.3.3. KALITSAL NON SFEROSİTİK HEMOLİTİK ANEMİ	12
2.4. G6PD ENZİMİ EKSİKLİĞİNİN BİYOKİMYASAL TEMELİ	12
2.5. G6PD ENZİMİNE AİT GENETİK BİLGİ	15
2.6. G6PD EKSİKLİĞİNİN GENEL OLARAK YERYÜZÜNDEKİ DAĞILIŞI	17
2.7. G6PD EKSİKLİĞİNİN TÜRKİYEDEKİ DAĞILIŞI	19
2.8. G6PD ENZİMİ EKSİKLİĞİNİN SAPTANMASINDA KULLANILAN YÖNTEMLER.....	20
2.8.1. G6PD EKSİKLİĞİNİ KALİTATİF OLARAK SAPTAMADA KULLANILAN TESTLER	21
2.9. G6PD ENZİMİ EKSİKLİĞİNİN YOL AÇTIĞI SAĞLIK SORUNLARININ TEDAVİSİ VE ÖNLENİMİ	23
2.10. ÇALIŞILAN BÖLGENİN TARİHİ, COĞRAFİK VE ETNİK YAPISI, DEMOGRAFİK VERİLERİ	24
3. MATERYAL VE METOD	28
3.1. MATERYAL	28
3.1.1. ARAŞTIRMA BÖLGESİNİN ÖZELLİKLERİ.....	28
3.1.2. FLORESANS SPOT TEST ÇÖZELTİSİNİN HAZIRLANMASI	30
3.1.3. DİĞER MALZEMELER.....	31
3.2. METOD	32
3.2.1. KAN ÖRNEKLERİNİN ALINMASI VE SAKLANMASI	32
3.2.2. FLORESANS SPOT TEST (FST) UYGULAMA PROTOKOLÜ	32
3.2.3. FLORESANS SPOT TESTİN DEĞERLENDİRİLMESİ.....	34
4. BULGULAR.....	35

4.1. FLORESANS SPOT TEST SONUÇLARI	36
5. TARTIŞMA.....	43
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	46
7. KAYNAKLAR	47



ŞEKİL LİSTESİ

ŞEKİL 2.1: PENTOZ FOSFAT YOLUNDA GLİKOZ-6-FOSFAT DEHİDROGENAZ TARAFINDAN KATALİZLENEN REAKSİYON.....	4
ŞEKİL 2.2: METABOLİZMADA GLUKOZUN TEMEL KULLANIM YOLLARI	5
ŞEKİL 2.3: ERİTROSİTLERDE G6PD'NİN ESAS METABOLİK ROLÜ	13
ŞEKİL 2.4: G6PD ENZİMİ EKSİKLİĞİNE BAĞLI ÖLÜMCÜL OLABİLEN AKUT HEMOLİTİK ANEMİNİN OLUŞ MEKANİZMASI	14
ŞEKİL 2.5: İNSAN G6PD ENZİMİNİN 515 AMİNO ASİDDEN OLUŞAN DİZİLİŞİ	15
ŞEKİL 2.6: G6PD GENİNİN SİTOGENİK VE MOLEKÜLER HARİTASI	16
ŞEKİL 2.7: G6PD ENZİM EKSİKLİĞİNİN DÜNYA GENELİNDEKİ GÖRÜLME SIKLIĞI HARİTASI	17
ŞEKİL 3.1: MANİSA MERKEZ İLÇEYE BAĞLI BELDE VE KÖYLERİN COĞRAFİK KONUMLARINI GÖSTEREN HARİTA.....	29
ŞEKİL 4.1: İNCELENEN ERKEK VE KADIN BİREYLERİN KÖYLERE GÖRE DAĞILIMI.	35
ŞEKİL 4.2: ÖRNEKLEMELERİNİN YAPILDIĞI BİREYLERİN YERLEŞİM BİRİMLERİNE GÖRE DAĞILIMI.	36
ŞEKİL 4.3: TARAMA YAPILAN BİREYLERDE CİNSİYETE BAĞLI CİDDİ DÜZEYDE G6PD ENZİMİ EKSİKLİĞİ GÖRÜLME SIKLIĞI.....	38
ŞEKİL 4.4: ERKEK VE KADIN OLGULARDA CİDDİ DÜZEYDE G6PD ENZİM EKSİKLİĞİ SIKLIĞI.....	39
ŞEKİL 4.5: CİDDİ DÜZEYDE ENZİM EKSİKLİĞİNE SAHİP 35 OLGUNUN CİNSİYETE GÖRE DAĞILIMLARI.....	40
ŞEKİL 4.6: CİDDİ DÜZEYDE G6PD ENZİMİ EKSİKLİĞİNE SAHİP BİREYLERİN YERLEŞİM BİRİMLERİNDE GÖRÜLME SIKLIĞI.....	41
ŞEKİL 4.7: CİDDİ DÜZEYDEKİ G6PD ENZİMİ EKSİKLİĞİ OLGUSU SAPTANAN VE YAKIN AKRABA OLMAYAN BİREYLERİN COĞRAFİK DAĞILIMI.....	42

TABLO LİSTESİ

TABLO 2.1: İNSANDAKİ G6PD ENZİMİNİN GENOTİPİK VE FENOTİPİK VARYASYONLARININ GENEL SINIFLANDIRMASI	7
TABLO 2.2: KLİNİK AÇIDAN HAFIF VE AĞIR SEYREDEBİLEN HEMOLİTİK ANEMİYE YOL AÇAN İLAÇLARIN, KİMYASALLARIN VE YİYECEKLERİN LİSTESİ	8
TABLO 2.3: DÜNYA GENELİNDE G6PD ENZİM EKSİKLİĞİNİN SIKLIĞI.	18
TABLO 3.1: MANİSA MERKEZ İLÇEDE, ÇALIŞMANIN GERÇEKLEŞTİRİLDİĞİ KÖYLER VE NÜFUSLARI.	28
TABLO 3.2: FLORESANS SPOT TESTİ ÇÖZELTİSİNDE KULLANILAN KİMYASALLAR VE KONSANTRASYONLARI	30
TABLO 3.3: ARAZI ÇALIŞMALARINDA KULLANILAN FORM ÖRNEĞİ.....	33
TABLO 4.1: TARAMA YAPILAN BİREYLERİN CİNSİYETE VE YERLEŞİM BİRİMLERİNE GÖRE DAĞILIMLARI.....	35
TABLO 4.2: CİDDİ DÜZEYDE ENZİM EKSİKLİĞİ SAPTANAN BİREYLERİN İSİMLERİ VE BULDUKLARI YERLEŞİM BİRİMLERİ.	37
TABLO 4.3: TARAMA YAPILAN BİREYLERDE CİDDİ DÜZEYDE G6PD ENZİMİ EKSİKLİĞİ GÖRÜLME SIKLIĞI.	38
TABLO 4.4: CİDDİ DÜZEYDE G6PD ENZİM EKSİKLİĞİ GÖSTEREN BİREYLERİN CİNSİYETE GÖRE DAĞILIMI.	38
TABLO 4.5: CİDDİ DÜZEYDE G6PD ENZİMİ EKSİKLİĞİ SAPTANAN VE YAKIN AKRABA OLMAYAN 35 OLGUNUN YERLEŞİM BİRİMLERİNE GÖRE DAĞILIMI.	39
TABLO 4.6: CİDDİ DÜZEYDE G6PD ENZİMİ EKSİKLİĞİNE SAHİP 35 OLGUNUN YERLEŞİM BİRİMLERİNDE GÖRÜLME SIKLIĞI.....	40

TEŐEKKÜR

- Yüksek Lisans dönemi boyunca, bilgi ve deneyimlerinden faydalandığım, bana bu çalışmayı öneren ve gerçekleşmesinde yardımlarını esirgemeyen, danışman hocam Sayın Yrd.Doç.Dr. Selim UZUNOĞLU'na,

- Tez çalışması sırasında katkıda bulunan ve Biyoloji Bölümü Anabilim Dalı imkanlarını kullanmama izin veren Sayın Prof.Dr. Mehmet ÖZTÜRK'e,

- Anlayışı ve güler yüzü ile elinden gelen her türlü fedakarlığı yapan, çalışmam sırasında maddi ve manevi her türlü desteği gösteren Sayın Orkide UZUNOĞLU'na,

- Örneklerin alınması ve incelenmesi sırasında çalışmalara katılarak, katkılarını esirgemeyen arkadaşlarım Arzu TAŐCAN ve Fatma KOŐBAŐ'A,

- Beni bu günlere getiren aileme,

Yukarıda ismi geçenler başta olmak üzere, bu çalışmaya katkıda bulunan ve destek veren herkese teşekkürlerimi sunarım.

Ersin MİNARECİ

ÖZET

MANİSA'NIN MERKEZ KÖYLERİNDE CİDDİ DÜZEYDEKİ GLUKOZ-6-FOSFAT DEHİDROGENAZ (G6PD) ENZİMİ EKSİKLİĞİNİN POPULASYON DÜZEYİNDE SIKLIĞININ ARAŞTIRILMASI

Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz (G6PD) enzimi bir çok canlı topluluğunda var olan, pentoz fosfat yolunun ilk ve en önemli enzimlerinden biridir. Pentoz fosfat yolunun sonunda NADPH ve Riboz-5-Fosfat üreten enzimdir.

Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz enziminin eksik olması halinde, G6PD aktivitesinde azalmalar olur. Bu enzim eksikliği kalıtsal metabolik hastalıklardan biri olup, çeşitli düzeylerde ortaya çıkmaktadır. Dünya üzerinde yaklaşık dört yüz milyon kişi bu hastalığa sahiptir.

Ciddi düzeyde Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz (G6PD) enzimi eksikliği bireylerde ölümcül olabilen akut hemolitik anemi, yenidoğanlarda ciddi düzeyde sarılık ile kalıtsal non-sferostik anemi gibi sağlık sorunlarına yol açmaktadır.

Bu araştırmada, Manisa'nın belirlenen merkez köylerinde oturan 1604 kişiden kan örnekleri alınmıştır. Ciddi düzeyde Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz (G6PD) enzimi eksikliğine sahip bireyler, Floresans Spot Testi uygulanarak populasyon düzeyinde saptanmıştır.

Örnek grubumuzu oluşturan 1604 kişinin 35'inde ciddi düzeyde G6PD enzimi eksikliği saptanmış ve enzim eksikliği görülme sıklığı erkeklerde % 3,2, kadınlarda % 1,14 ve toplam bireylerde % 2,2 olarak bulunmuştur.

Elde edilen değerler sonucu ciddi düzeyde G6PD enzimi eksikliği görülme sıklığının erkeklerde belirgin olarak yüksek olduğu görülmüştür. Buna karşın, örneklemelerin yapıldığı yerleşim birimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunamamıştır.

ABSTRACT

VERY SERIOUS RANGE FROM GLUCOSE-6- PHOSPHATE DEHYDROGENASE (G6PD) ENZYME DEFICIENCY IN POPULATION RANGE FREQUENCY INVESTIGATE IN MANISA CENTER VILLAGE

Very much living community have G6PD enzyme and it is one of from the first and the most important enzymes from the Pentoz Phosphate way. It produced NADPH and Riboz-5-phosphate of the end from pentoz phosphat way.

The deficiency from the G6PD enzyme, make in the activity from G6PD decreasing. This enzym deficiency is one from the hereditable illness, and come to light in very different ranges. In the world have 400 million people this illness.

Very serious range G6PD enzym deficiency give the human mortal acute hemolytic anemia, for newborns with very serious range anemia give them a hereditable nonspherocytic anemia, make healty problems.

From the 1604 people that residence of detrmind center village of Manisa is taken blood samples for this investigation. Fluorescent spot test apply and ascertain the population range from this people and we found a very serious range G6PD enzyme deficiency.

In this sample group from 1604 people have 35 serious range enzyme deficiency and we found the enzyme deficiency frequency by men % 3,2 and by women % 1,14 and total people % 2,2 .

This value results is a very serious range G6PD enzyme deficiency is by men frequency evident high. In despite of sample are not so much different between the settlement unit statistics.

1. GİRİŞ

İnsan vücudu biyolojik aktivitenin temel ünitesi olan hücrenin sistemli bir şekilde organizasyonundan meydana gelmiştir. Bu sistemin sağlıklı bir şekilde işlemesi dengenin ve etkileşimlerin bir sonucudur.

Sağlık, normal hücrelerde meydana gelen ve iç ortamın sabitliğini devam ettirmek için etki gösteren binlerce reaksiyon ve olayın düzenli ve uyum içerisinde işlerlik göstermelerine dayalıdır.

Biyolojik sistemin yapısal ve fonksiyonel özelliklerini belirleyen genetik bilginin hücreler tarafından kullanımı kalıtıma ve genetik bilginin düzenli bir şekilde işlerlik göstermesine bağlıdır. Bu düzende meydana gelecek sapmalar ve bozukluklar önemli değişimlerin (hastalık) meydana çıkmasını sağlar.

Hastalık, bazı moleküllerin yapılarında ve miktarlarındaki değişikliklerin veya önemli biyokimyasal reaksiyonların ve olaylarda ortaya çıkan düzensizliklerin bir sonucudur. Genellikle bir hastalığın tedavisinde, hastalıkta akılcı, etkili bir tedavinin sağlanmasında, bu hastalığın oluşumuna katkıda bulunan nedenlerin ve mekanizmaların bilinmesi zorunluluğu vardır.

Enzimleri şifreleyen genlerdeki mutasyonlar sonucu oluşan değişiklikler de, kalıtsal hastalıkların doğmasına neden olmaktadır. Bu tip hastalıklara kalıtsal metabolik hastalıklar veya doğumsal metabolizma kusurları denir. G6PD enzimi eksikliği de dünya genelinde çok sık rastlanan kalıtsal metabolik hastalıklardan biridir. G6PD enzimi eksikliği, G6PD genine ait genetik bilgidен sentezlenen G6PD proteininin katalitik fonksiyonunu azaltan yapısal ve işlevsel bozuklukların tümünü ifade etmektedir.

Kalıtsal metabolik hastalıklar, insan yaşamında doğrudan veya koşullara bağlı olarak değişik düzeylerde sağlık sorunlara yol açar. Ancak kalıtsal hastalıklarla ilişkili güncel bilimsel bilgi ve teknolojinin doğru kombinasyonu oluşturulup uygulandığında, bu sağlık sorunlarının ortaya çıkması önlenmektedir. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz (G6PD) eksikliği bu tür metabolik hastalıklardan biri olup çeşitli düzeylerde ortaya çıkmaktadır. Ancak Dünya Sağlık Örgütü sınıflaması içinde birinci derecede önemli olan ciddi düzeydeki (normal aktivitenin %15 ve altı) G6PD enzim eksikliğinin muhakkak belirlenmesi gerektiği ilgili literatürlerde ifade edilmektedir (Beutler, 1994).

Şimdiye kadar elde edilen tarama sonuçları, bölgedeki ciddi düzeydeki G6PD eksikliğinin, Dünya Sağlık Örgütü'nün, ciddi düzeyde çalışılması gerekli kalıtsal metabolik hastalıklar için koyduğu kriterlere de denk düşmektedir. Ciddi düzeyde G6PD eksikliği olan bazı kişiler, başta bakla olmak üzere bazı gıdaları ve önemli bir grup ilacı kullandıklarında, ani bir şekilde kırmızı kan hücreleri parçalanmaya başlamaktadır. Sarılıkla birlikte gelişen bu tablonun nedeni ilk 12 saatte saptanamadığında kişi, 18-72 saat arasında ölüm riskiyle karşı karşıya kalmaktadır. Çocuk ve yetişkinlerde görülen bu duruma ilaveten, ciddi düzeydeki G6PD

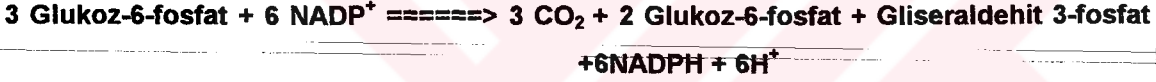
eksikliği yenidoğanların önemli bir grubunda ciddi yenidoğan sarılığına ve ilişkili sağlık sorunlarına da yol açmaktadır(Beutler, 1994).

Ancak tüm bu sağlık sorunları erken tanı ile hastalık saptandığında ve güncel yasak ilaç ve yiyecek listesi kendilerine verildiğinde kesin olarak önlenilmektedir. Diğer deyişle hastalığın belirti vermemesi fakat ölümcül olması buna karşın tamamen önlenilme imkanının bulunması dikkate alındığında bu çalışmanın önemi ortaya çıkmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. G6PD ENZİMİNİN HÜCRESEL İŞLEVLERİ VE AKTİVİTESİNİN DÜZENLENMESİ

Glukoz - 6 - fosfat dehidrogenaz (G6PD ; D - glucose - 6-phosphate; NADP + oxidoreductase, E.C.1.1.1.49),1931 yılında Otto Warburg ve Christian tarafından tanımlanarak "Zwischenferment" olarak adlandırılmıştır (Ulusu, 1997). Katalitik formdaki G6PD enzimi dimer yapıda olup herbiri 515 aminoasidden oluşan yaklaşık 59,256 dalton moleküler ağırlığa sahip monomerlerden oluşur (Beutler, 1994). Beş karbonlu şekerlerin ve NADPH molekülünün sentez edildiği pentoz fosfat yolunun ilk enzimidir. Pentoz fosfat yolu (heksoz monofosfat shunt'ı) glukoz oksidasyonu için alternatif bir yoldur. Bu yol, 3 molekül glukoz fosfat'ın, 3 molekül CO₂'i ve üç tane 5-C'lu şekerleri oluşturduğu çok döngülü bir işlemdir. 5 C'lu şekerler tekrar düzenlenerek iki molekül glukoz-6-fosfat ve 1 molekül glikolitik bir ara madde olan gliseraldehit 3-fosfat'ı oluştururlar. 2 molekül gliseraldehit 3-fosfat tekrar glukoz-6-fosfatı oluşturduğundan, glukoz bu yolla tamamen okside olabilir.

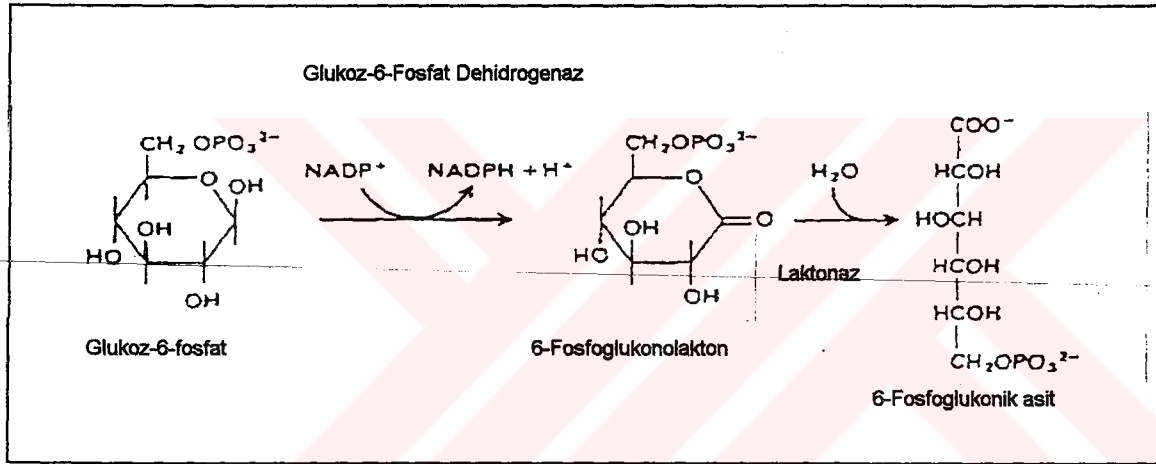


Pentoz fosfat yolunun enzimleri, glikolizde olduğu gibi sitozol'de bulunur. Yine glikolizde olduğu gibi, oksidasyon, dehidrojenasyon ile sağlanır; ancak pentoz fosfat yolunda, hidrojen akseptörü olarak NAD yerine NADP kullanılır (Mayes, 1993). Beş karbonlu şekerler, ATP, KoA, NAD, FAD, RNA ve DNA gibi biyomoleküllerin yapıtaşı olarak kullanılır. Bu yolla üretilen NADPH molekülleri ise metabolizmadaki indirgeyici reaksiyonlarda, hidrojen sağlayıcı kaynaktır (Kirkman, 1980).

Olgun alyuvarlarda anti-oksidan tamir sistemlerinin çalışması için gerekli olan NADPH'i üreten alternatifsiz tek yol olmasından dolayı, pentoz fosfat yolunun sağlıklı işleyişi, alyuvarların yaşamı açısından kritik öneme sahiptir (Scott, 1991). Eritrositler (alyuvarlar) içindeki pentoz fosfat yolu, okside olmuş glutatyonun (G-S-S-G) indirgenmiş glutatyon'a (2G-SH) indirgenmesi için gerekli olan NADPH'i sağlar. Bu indirgenme olayı, FAD içeren bir flavoprotein olan glutatyon redüktaz tarafından kataliz olunur. Bundan sonra, indirgenmiş glutatyon da iz elementlerden selenyum'u içeren bir enzim olan glutatyon peroksidaz tarafından katalize edilen bir reaksiyonda eritrosit içindeki H₂O₂ 'i ortamdan uzaklaştırır.

Bu reaksiyon önemlidir; çünkü H₂O₂ 'nin birikimi hemoglobin'in methemoglobin'e oksidasyon hızını arttırmak suretiyle, eritrosit'in yaşam süresini kısaltabilir (Mayes, 1993).

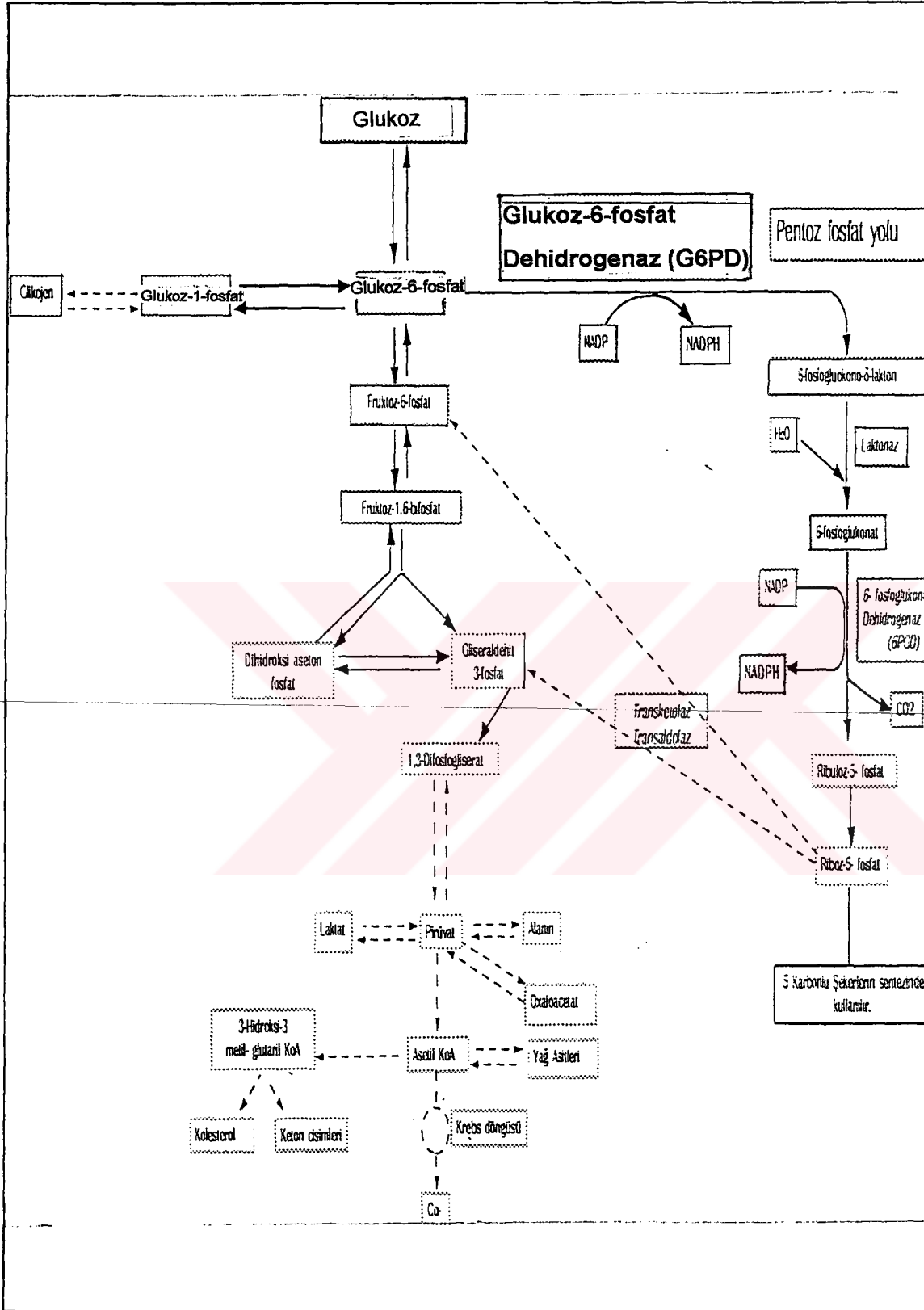
Sitoplazmada gerçekleşen pentoz fosfat yolunun ilk basamağında Glukoz-6-fosfat (G6P), Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz tarafından 6-fosfoglukono-d-laktona dönüştürülür. Reaksiyon sırasında Glukoz-6-fosfatın 1. karbon atomundaki hidrojen NADP'ye transfer edilerek NADPH oluşur. Reaksiyon ürünü 6-fosfoglukono-d-lakton, laktonaz tarafından 6-fosfoglukonata dönüştürülür. Sonra bu altı karbonlu şeker, oksidasyonla 6-fosfoglukonat dehidrogenaz (6PGD) tarafından dekarboksile edilirken bir tane daha NADPH üretilir. Dolayısıyla bu metabolik yolda 1 mol Glukoz-6-fosfattan üretilen iki mol NADPH'in bir tanesi Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD), diğeri de 6-fosfoglukonat dehidrogenaz (6PGD) tarafından üretilir. Ribuloz-5-fosfat (ketoz), fosfopentoz isomeraz tarafından Riboz-5-fosfata (aldoz) çevrilir. Şekerlerin moleküler seviyede yeniden düzenlenmelerinde rol oynayan transketolaz ve transaldolaz enzimleri, pentoz fosfat yolunu ve glikolizisi birbirine bağlar (Şekil 2.1 ve Şekil 2.2) (Piomelli, 1987).



Şekil 2.1: Pentoz fosfat yolunda Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz tarafından katalizlenen reaksiyon.

Aktif enzimin hem yapısal bileşeni hem de reaksiyon substratı olan NADP, enzim aktivitesinin düzenlenmesinde rol alır. G6PD enziminin aktivitesi, birinci derecede hücre içi NADPH/NADP oranı ve glukoz-6-fosfat düzeyi tarafından kontrol edilir (Scott, 1991 ve Kirkman, 1975).

NADPH molekülü enzim aktivitesini engelleyen önemli bir metabolik inhibitör, NADP molekülü de enzim aktivitesini uyarıcı işleve sahiptir. Enzimin aktivite düzeyi, sağlıklı koşullarda hücre içi NADPH/NADP oranı yüksek tutulacak şekilde düzenlenir. Bu oran sürekli yüksek tutulduğundan hücre içi G6PD aktivitesi, normal koşullarda enzimin teorik maksimum aktivite kapasitesinin % 0,1-1'i kadar düşük olabilmektedir (Yoppida, 1973).



Şekil 2.2: Metabolizmada glukozun temel kullanım yolları (Uzunoğlu, 1995).

2.2. G6PD ENZİMİ EKSİKLİĞİNİN TANIMI VE SINIFLANDIRILMASI

G6PD eksikliği, G6PD'ye ait genetik bilgidan sentezlenen G6PD proteinin katalitik fonksiyonunu azaltan, yapısal ve işlevsel bozuklukların tümünü ifade eder. G6PD enzimidaki aktivite kaybı, sağlık sorunlarına yol açabilecek veya açmayacak düzeyde olabilir (Luzatto, 1974).

G6PD enzimidaki aktivite kaybının birinci dereceden önemli klinik belirtileri, moleküllerini genetik bilgidan yeniden sentez etme imkanı olmayan, olgun alyuvarlarda ortaya çıkar. Çünkü yaşamları boyunca ortalama 17.000 defa vücudu dolaşan alyuvarlar, yaklaşık 280 km yolculukları esnasında iç ve dış çevrenin yaşamı kısıtlayıcı koşullarına (yüksek türbülans, dar kapillerden geçme, böbreğin peritübüler kapillerindeki yüksek osmatik değerler, alyuvar içindeki yüksek oksijen yükü, iç ve dış kaynaklı oksitleyici ajanların üretimi vb.) normal koşullarda 120 ± 6 gün dayanabilmektedirler. Ayrıca alyuvarlardaki enzimler, alyuvar ömrüne bağımlı enzimler olduğundan, alyuvarlar yaşlandıkça enzimlerin katalitik fonksiyonları da azalmaktadır. Alyuvarların normal yaşam sürelerinde membran yapılarının esnekliği ve sitoplazmadaki antioksidan enzimlerin sağlıklı işleyişi, bu koşulların zararlı etkilerini önlemektedir (Arese, 1990).

Yukarıda tanımlanan koşullarda oksijen bağlama ve taşıma işlevini yerine getiren alyuvarlarda G6PD enzimidaki aktivite kaybı, hücre içi antioksidan tamir sisteminin sağlıklı işleyişinde değişik düzeylerde aksamalarına neden olur. Dolayısıyla Tablo-2'de verilen ilaçların ve yiyeceklerin vücuda alımı sonrasında açığa çıkan, oksitleyici moleküllerin hemoglobin ve membran proteinleri üzerinde yapacağı zararlı değişikliklere engel olunamaz. Sonuçta G6PD eksikliği olan kişilerde alyuvarlar hemolize son derece duyarlı hale gelir ve değişik düzeylerde hemolitik anemi oluşabilir (Luzatto, 1974).

G6PD enzimidaki aktivite kaybının yol açtığı diğer bir klinik belirtisi, G6PD eksikliği olan bebeklerin bazılarında hemen doğum sonrası ortaya çıkan G6PD eksikliğiyle ilişkili yenidoğan sarılığıdır. G6PD eksikliğiyle yenidoğan sarılığı arasındaki ilişkinin varlığı, kesinleşmiş olmakla beraber, sarılığa yol açan moleküler olaylar tam olarak bilinmemektedir (WHO, 1989).

Farklı çeşit ve sayıda olan G6PD varyantları, Dünya Sağlık Örgütü - Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Eksikliği Çalışma (WHO - G6PD) grubu tarafından enzimin aktivite düzeyi, biyokimyasal özellikleri ve yol açtığı klinik tablolar dikkate alınarak 4 sınıf halinde gruplanmıştır (WHO, 1989).

Sınıf 1: Kalıtsal nonsferostik hemolitik anemiye yol açan G6PD varyantlarını içerir. Enzimin aktivite düzeyi genelde normalin % 2 - % 5'i civarında seyredir.

Sınıf 2: Ciddi düzeyde enzim eksikliğine yol açan (aktivite düzeyi normal değerinin %10'undan daha aşağıda olan) varyantların toplandığı bu sınıfta ölümcül olabilen akut

hemolitik kriz, ciddi yenidoğan sarılığı ve kernikterus (normal ve patolojik bilirubinemi), olası klinik tablolarıdır (WHO, 1989).

Sınıf 3: Orta ve hafif düzeyde enzim eksikliğine yol açan (normal aktivite düzeyinin %10 - % 65'i arasında aktiviteye sahip olan) G6PD varyantlarını içine alır. Bu sınıftaki G6PD varyantları nadiren sağlık sorunlarına yol açarlar.

Sınıf 4: G6PD eksikliği göstermeyen ve enzim aktivite düzeyi normalin % 65 ve yukarısında olan G6PD varyantlarını içine alır.

Tablo 2.1: İnsandaki G6PD enziminin genotipik ve fenotipik varyasyonlarının genel sınıflandırması (Vulliamy, 1992).

KNSHA : Kalıtsal non sferositik hemolitik anemi.

AHA : İlaçlarla, bakla yemeye ve enfeksiyonlara bağlı olarak oluşan Akut Hemolitik Anemi.

YDS : Yenidoğanlarda görülen ciddi sarılık ve Kernikterus.

SINIF	KLİNİK TABLO	ÖRNEK	AKTİVİTE %NORMAL	ELEKTROFORETİK MOBİLİTE	KmG6P μM/L	Populasyondaki Dağılımı
I	KNSHA	BARCELONA	2	HIZLI	40	SEYREK
I	KNSHA	Santiago de Cuba	2	YAVAŞ	45	SEYREK
II	AHA,YDS	AKDENİZ	3	NORMAL	25	POLİMORFİK
III	AHA,YDS	G6PDA	12	HIZLI	70	POLİMORFİK
III	ÇOK NADİR	SEATTLE	25	YAVAŞ	20	POLİMORFİK
IV	YOK	G6PDA	85	HIZLI	70	POLİMORFİK
IV	YOK	G6PDB	100	NORMAL	70	YAYGIN

2.3. G6PD ENZİMİ EKSİKLİĞİNİN YOL AÇTIĞI SAĞLIK SORUNLARI

G6PD enziminde değişik düzeylerdeki aktivite kaybının yol açtığı ölümcül olabilen sağlık sorunları, belirli koşulların varlığında (Tablo 2.2'deki belirli ilaçların ve besinlerin alımı ve enfeksiyonlar) değişik düzeylerde ortaya çıkmaktadır. G6PD eksikliğinin yol açtığı önemli sağlık sorunları şunlardır:

* Belirli ilaçların ve bakla gibi besinlerin vücuda alımı sonrasında açığa çıkan ekstra oksitleyici ajanlar tarafından uyarılan hızla ve aniden gelişen ölümcül olabilen akut hemolitik kriz.

* G6PD eksikliğine sahip yenidoğan bebeklerin bazılarında doğum sonrası ortaya çıkan ciddi yenidoğan sarılığı ve buna bağlı kernikterus.

* G6PD eksikliğine bağlı kalıtsal nonsferositik hemolitik anemi.

Tablo 2.2: Klinik açıdan hafif ve ağır seyredabilen hemolitik anemiye yol açan ilaçların, kimyasalların ve yiyeceklerin listesi (WHO, 1989 Beutler, 1994 ve Benson, 1985).

İLAÇ GRUBU	HAFİF ŞİDDETE HEMOLİZE YOL AÇABİLENLER (Tedavideki Dozlarının Üstünde Kullanıldığında) (Tedavideki dozları , hekim tavsiyesiyle ve kontrolünde kullanılabilir)	AĞIR SEYREDEN AKUT HEMOLİTİK ANEMİYE YOL AÇABİLENLER (Bu gruptaki ilaçlar ve yiyecekler kesinlikle kullanılmamalıdır) *Etken madde
ANALJEZİK VE ANTİPRETİKLER	* <u>Acetyl salicylic acid</u> * <u>Antiprin</u> * <u>Aminopyrine</u> * <u>Acetophenetidin</u>	* <u>Acetanilid</u>
SITMA İLAÇLARI	* <u>Chloroquine</u> * <u>Pyrimethamine</u> * <u>Quinine</u>	* <u>Primaquine</u> * <u>Pamaquine</u> * <u>Quinocide</u>
SULFONAMİDLER VE SÜLFONLAR	* <u>Sülfadiazine</u> * <u>Sulfamerazine</u> * <u>Sulfa methoxypridazine</u> * <u>Sulfisoxazole</u> * <u>Sulfaquanidine</u>	* <u>Sülfacetamide</u> * <u>Sülfamethoxazole</u> * <u>Sulfanilamide</u> * <u>Sulfapyridine</u> * <u>Thiazolesulfone</u>
DİĞER ANTİBAKTERİYEL AJANLAR	* <u>Chloramphenicol</u>	* <u>Furazolidone</u> * <u>Nitrofurantoin</u> * <u>Nitrofurazone</u> * <u>Nalidixic Acid</u>
ANTİHELMİNİTİK AJANLAR		* <u>Niridazole (Ambilhar)</u> * <u>Stibobhan</u> * <u>B-Naphtol</u>
DİĞER MADDELER	* <u>Probenecid</u> * <u>Vitamin K ve Analogları</u> * <u>Quinidine</u>	* <u>Naphthalene</u> * <u>Phenylhydrazine</u> * <u>Toluidin mavisi</u> * <u>Metilen mavisi</u> * <u>Phenezopyridine</u> * <u>Trinitrotoluene</u> * <u>Isobutyl nitrite</u> * <u>Urate oxidase</u>
YIYECEKLER		* Yaş ve kuru iç bakla (özellikle bakla taze ve çiğ yenildiğinde) akut hemolitik krize (çay rengi idrar, halsizlik, sararma) yol açar.
HASTALIKLAR		* Viral hepatit, * Üst solunum yolu enfeksiyonları, pnömoni, * Diyabetik asidosis gibi durumlar

Alyuvarlar ekstra oksitleyici koşullara maruz kalmadıkları sürece, G6PD eksikliği kişide yukarıdaki sağlık sorunlarına yol açmamaktadır.

G6PD eksikliğine sahip kişilerde bu sağlık sorunlarının sıklığı ve şiddeti; G6PD genindeki mutasyonun oluştuğu gen bölgesine ve tipine, enzimatik aktivite kaybının derecesine, hemolitik anemiye uyaran etkene, alınan miktarına ve genetik yatkınlığa bağlı olarak farklı düzeylerde olabilmektedirler (Beutler, 1994).

2.3.1. AKUT HEMOLİTİK ANEMİ

Ülkemizde (özellikle birinci dünya harbinde) olduğu gibi sıtma tedavisinde ilaç olarak **kinin** ("quine") kullanıldı. Fakat bu ilaç akut nöbetlerin tedavisinde başarılı sonuçlar verirken, nöbetlerin yeniden tekrarını önlemede yetersiz kaldı. Ancak 1926 yılında kininden daha iyi sonuç veren ve nöbetleri önleyen **primakin** (8-aminoquinoline) piyasaya sürüldü.

İkinci dünya savaşı sırasında, sıtma ilacı primakini kullanan zenci Amerikan askerlerinin bazılarında, ilaç alımıyla uyarılan akut hemolitik anemi gözlemlendi. Akut hemolitik anemiye yol açan faktörlerin tanımlanmasına yönelik 1950'li yıllarda sürdürölen çalışmalar, bunun G6PD eksikliğinin bir sonucu olduğunu ortaya çıkardı (Beutler, 1993).

1952'de Hockward ve arkadaşları primakin malarya ilacını alan bazı hastalarda akut bir hemoliz oluştuğunu, bu durumun zencilerde % 10 oranında bulunmasına karşılık beyazlarda pek görölmediğini saptadılar. 1954'de Dem ve arkadaşları primakin ile oluşan hemolizin eritrositte kaynaklanan bir bozukluktan ileri geldiğini gösterdiler. Beutler ve arkadaşları 1955'te eritrositlerin bu ilaca duyarlılığının eritrositlerin glutathione miktarına bağlı olduğunu gösterdiler. Carson ve arkadaşları 1956'da bu duyarlılığın eritrositlerdeki G6PD kapsamına bağlı olduğunu buldular. Daha sonra primakinin, ciddi düzeyde G6PD eksikliği olan kişilerde alyuvarların yaşam süresini kısaltan bir çok ilaçtan ve etkenden sadece biri olduğu anlaşıldı.

2.3.1.1. Belirli İlaçların ve Kimyasalların Vücuda Alımıyla Uyarılan Hemolitik Anemi

Tablo 2.2'deki ilaçlar ve kimyasallar alındığında, ciddi düzeyde G6PD eksikliği olan kişilerde 18-72 saat içinde ani ve hızlı gelişebilen akut hemolitik anemi ortaya çıkabilmektedir. Bu hemolitik anemi 3 evrede incelenebilir.

1. Akut Hemolitik Anemi Evresi: Hemoglobinde ani bir düşme olur (Hemoglobinemi). Genel olarak bir haftada 15 gramdan 10 grama düşer. Retükülositler % 8'in üzerindedir. İdrarda hemoglobin bulunur (Hemoglobinüri). İzotoplarla yapılan deneyler eritrositlerin % 50 sinin yıkıldığını gösterir. Akut bir hemolitik aneminin bütün bulguları ve semptomları görölür. Krizin başlangıç döneminde Heinz cisimciği oluşumu saptanırken, sonunda sarılık gelişir. Ağır

seyreden akut hemolitik krizlerde hemoglobin düzeyi 12-24 saatler arasında ölümcül düzeye ulaşacak kadar düşebilmektedir.

2. İyileşme evresi : Bu evrede hemoglobin yükselmeye başlar. Retikülosit değeri düşer. Bu evre 3-4 hafta sürer.

3. Dengeleşme evresi : Anemi tamamen geçtiğinden bu evrede çok hafif hemoliz bulguları vardır. Hemoglobin ve retikülosit değerleri normal sınırlar içindedir. Aşırı hemolizin tekrarlanması için 4 - 6 ay geçmesi gereklidir.

Oksitleyici koşulların oluşumuna yol açan ajanın vücuda alımı durdurulduktan sonra da hemolitik kriz, belli bir süre devam eder. Çoğu durumda hemolitik krize yakalanan kişiye ilk 12-24 saat içinde, G6PD eksikliği olmayan sağlam kan verilerek, hemolitik krize bağlı ölümler önlenmektedir (Beutler, 1990).

Akut hemolitik aneminin, henüz tam anlaşılabilen yönü; aynı etken maddenin, G6PD eksikliği olan bir kişide hemolitik krize yol açarken, diğerinde hiçbir etki yapmaması veya kişide, bir defasında hemolitik krize yol açarken, diğer zamanlarda aynı etken maddenin herhangi bir klinik tabloya yol açmamasıdır.

İlaçlarla uyarılan hemoliz derecesi, G6PD eksikliğinin farklı varyantlarında farklı olabilmekte ve bazı ilaçlar belirli varyantlarda ciddi sağlık sorunlarına yol açacak düzeyde hemolitik krize neden olurken, bazılarında hemoliz derecesi, ciddi sağlık sorunlarına yol açmayacak düzeyde oluşabilmektedir (Luzatto, 1974).

2.3.1.2. Favism

Ciddi düzeyde G6PD eksikliği olan kişilerin bazılarında yaş veya kuru bakla (*Vicia faba*) yemeleri sonrasında ortaya çıkan akut hemolitik anemi tablosu, favism olarak tanımlanır. İlk kez İtalya'da Montano tarafından tanımlanmıştır. Baklaya duyarlı kişiler, bakla yedikleri zaman veya çiçeklerini koklayınca, ağır bir hemolitik anemi tablosu oluşmaktadır. Ayrıca anne sütü ile geçme de bildirilmiştir. Genel olarak ilkbaharda görülür. Bakla yenildikten birkaç dakika veya 5-24 saat sonra hemoliz belirtileri çıkar. Hemoliz hastayı öldürebilecek kadar ağır olabilir. Hastada akut hemolitik aneminin bütün bulguları görülür (kusma, bulantı, mide bağırsak belirtileri, yorgunluk, ikter, şiddetli bel ve karın ağrısı, yüksek ateş, taşikardi, çocuklarda ishal) (Aksoy, 1975).

Akdeniz ülkelerinde, bakla sık tüketilen bir besin maddesi olduğundan, favism olguları bu bölgelerde daha sık görülmektedir. Özellikle Yunanistan'da çok sık gözükmektedir. Kattamis ve arkadaşları 12 sene içerisinde 506 vaka saptamışlardır. İtalya'da ve İsrail'de Sefaradik Yahudiler arasında gözükür. İtalya'da özellikle Calabria, Sardunya ve Scilya'da bulunmuştur. Çinlilerde de görüldüğü bildirilmiştir.

Türkiye'de favizm vakaları seyrek değildir. Özellikle Türkiye'nin batı kısmında, Ege'de, favizm vakaları görülmektedir. İstanbul, Ankara, Trakya ve Urfa bölgesinden de vakalar bildirilmiştir.

Favizm daha çok çocukluk yaşlarında (2-6 yaşları) görülmektedir. İleri yaşlarda daha seyrekdir. Erkeklerde daha sıktır. Oran 6,2 / 1'dir (Aksoy, 1975).

Favizm geçirmiş kişiler, kesin olarak G6PD eksikliğine sahiptirler. Ancak G6PD eksikliği olan herkes, bakla yediğinde, akut hemolitik krize yakalanmamaktadır (Uzunoğlu, 1995).

Favizm olgularında aileleri telaşa düşüren şey; kişinin aniden bitkinleşmesi, sararması ve kan renginde idrar yapmasıdır. Bakla yeme sonrasında, akut hemolitik krize yakalanmış kişilere, çoğu durumda sağlam kan verilerek, ölümleri engellenebilmektedir (Gök, 1962).

2.3.1.3. Enfeksiyonlarla Uyarılan Hemoliz

G6PD eksikliğine bağlı hemolizi, belirli enfeksiyonlar da uyarabilmektedir. G6PD eksikliği olan kişilerde, enfeksiyonların hemolizi nasıl başlattığına dair mekanizma tam olarak bilinmemektedir (Beutler, 1994). Ancak ileri sürülen bir hipoteze göre, fagositosiz sırasında akyuvarlar, aktif oksijen radikallerini dışarı bırakarak çevresindeki alyuvarları zarara uğrattırır. G6PD eksikliği olan kişilerde, bu oksijen radikallerinin oluşturduğu zarar, hızla yeterli sürede tamir edilmezse alyuvarlar, hemolize uğrayabilirler. NO (Azot oksit) de, oksitleyici ajan olarak bu mekanizmada rol alabilir (Beutler, 1994).

2.3.2. Ciddi Yenidoğan Sarılığı ve Patolojik Bilirubinemi (Kernikterus)

Bu durum, kanda serbest bilirubin artmasıyla meydana gelen hiperbilirubineminin en sık rastlanılan nedenidir. Yenidoğanlarda bu durum, hızlı bir hemoliz ile karaciğerin bilirubin'i tutma, konjuge etme (serbest bırakma) ve salgılama sisteminin gelişmemiş olması nedeni ile meydana gelir. Sadece UDP-glukuronil transferaz aktivitesi azalmış olmayıp, olasılıkla bu enzimin substratı olan UDP-gluluronik asid sentezinde de bir azalma vardır.

Artan bilirubin, serbest tür olduğundan, plazmadaki konsantrasyonu albuminin sıkıca bağlayabileceği kadarını aştığında kan-beyin engelini geçebilir. Bu da mental geriliğe yol açabilen toksik ansefalopati veya kernikterusa yol açabilir. Bilirubin metabolize edici bilinen indüklemesi nedeniyle, sarılıklı yenidoğanlara fenobarbital verilmiştir ve bu bozuklukta etkilidir. Ayrıca görünür ışığa maruz kalma (fototerapi), ankonjuge (serbest) bilirubin'in bir kısmının safrada atılan maleimid parçaları ve geometrik izomerler gibi başka türevlere çevirerek karaciğerden atılmasını artırabilir. Bu nedenle, yenidoğan sarılığının oluşturabileceği ciddi sağlık sorunları erken dönemde fototerapi uygulanarak önlenmektedir (WHO, 1989).

Akdeniz ülkeleri halkı ile Çinliler'de G6PD eksikliğinin yenidoğan sarılığının oluşmasında önemli rol oynadığı belirlenmiştir. Yahudilerde görülen yenidoğan sarılıklarında bu durum saptanmamıştır. G6PDA⁻ tipinde de çok seyrek olarak yenidoğan sarılığı görülmektedir.

2.3.3. Kalıtsal Non Sferositik Hemolitik Anemi

G6PD eksikliğinin diğer bir şeklidir. Non Sferositik hemolitik anemilerde otohemoliz deneylerinde glikoz ve ATP ile enkübasyonla gösterdiği sonuçlara göre Tip 1 ve Tip 2 diye ayrılırlar (Aksoy, 1975).

Sınıf 1 içinde gruplandırılan G6PD varyantlarının neden olduğu kronik hemoliz, genelde hafif veya orta şiddette ortaya çıkmaktadır. Sınıf 1'e dahil G6PD varyantlarına neden olan mutasyonlar, nadir rastlanılan mutasyonlardır. Sınıf-1 içindeki varyantlarda, enzimin fonksiyonel bütünlüğü tahrip edilir (Beutler, 1994).

Sınıf-1 içindeki G6PD varyantlarının en tutarlı özelliklerinden biri, bu varyantların oluşumuna yol açan mutasyonların G6PD genindeki yerleşimleridir. Kalıtsal nonsferositik hemolitik anemiye yol açan G6PD mutasyonlarının büyük bir kısmı, enzimin NADP'yi veya G6P'yi bağladığı bölgede kümelenmiştir (Beutler, 1991).

2.4. G6PD ENZİMİ EKSİKLİĞİNİN BİYOKİMYASAL TEMELİ

Tablo 2.2'deki ilaçlar, kimyasallar, yiyecekler ve enfeksiyonlar insan vücudunda doğrudan ve dolaylı olarak, oksitleyici özellikteki metabolitlerin üretilmesine neden olurlar. Alyuvarlarda hemoglobinin beta zinciri, membrandaki proteinler ve proteinlerin taşıdıkları SH grupları, oksitleyici ajanlar (süperoksitler [O₂⁻], hidrojen peroksitler [H₂O₂], reaktif serbest radikaller) tarafından oksitlenmeye oldukça duyarlıdırlar (Arese, 1990).

Alyuvarlarda hidrojen peroksidin (H₂O₂) zararsız hale dönüştürülmesinde ve buna bağlı olarak oksidasyona bağlı tahribatın önlenmesinde alternatif iki yol vardır.

Bunlardan birincisi; indirgenmiş glutatyonu (G-SH) hidrojen kaynağı olarak kullanan Glutatyon peroksidaz'ın hidrojen peroksidi suya ve oksijene dönüştürmesidir.



GLUTATİYON REDÜKTAZ

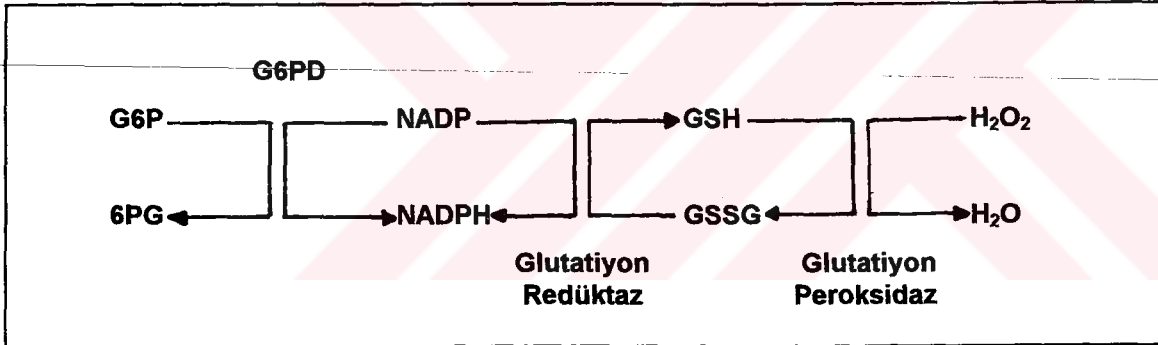


GLUTATİYON PEROKSİDAZ

Bu aşamada oksitlenmiş forma dönüşen glutatyon (GSSH), glutatyon redüktaz tarafından NADPH varlığında tekrar indirgenmiş glutatyonla dönüştürülür. İndirgenmiş glutatyon, ayrıca hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünü azaltmada ve sistein aminoasitlerindeki sülfidril (SH) gruplarının indirgenmiş formunun devam ettirilmesinde rol alır. İndirgenmiş glutatyonun hücrede yüksek düzeyde devam ettirilmesini sağlayan bu döngünün devamlılığı sağlandığı sürece, hücrede oluşan oksitleyici ajanlar tahribata yol açmadan zararsız hale dönüştürülür (Johnson, 1994).

Diğer yol ise; aynı reaksiyonu katalizleyen farklı bir enzim olan katalazdır. Katalazlar elektron vericisi ve alıcısı olarak hidrojen peroksidi kullanırlar. Katalaz, 4 "hem" grubu içeren bir hemoproteindir. Peroksidaz aktivitesine sahip oluşuna ek olarak, bu enzim bir molekül H_2O_2 'i elektron verici bir substrat olarak, diğerinde oksidan veya elektron alıcısı olarak kullanabilir (Mayes, 1993).

Katalazın aktif formu tetramerik yapıda olup, enzimin yapısında 4 tane NADPH molekülü bulunur. Katalazın inaktif formu, kendisine NADPH bağlandığında aktif hale geçerek, hidrojen peroksidi suya ve oksijene dönüştürür. Buna karşın, tek başına düşük düzeylerde oluşan hidrojen peroksidi uzaklaştırmada çok etkin olmadığı belirtilmektedir (Beutler, 1994).

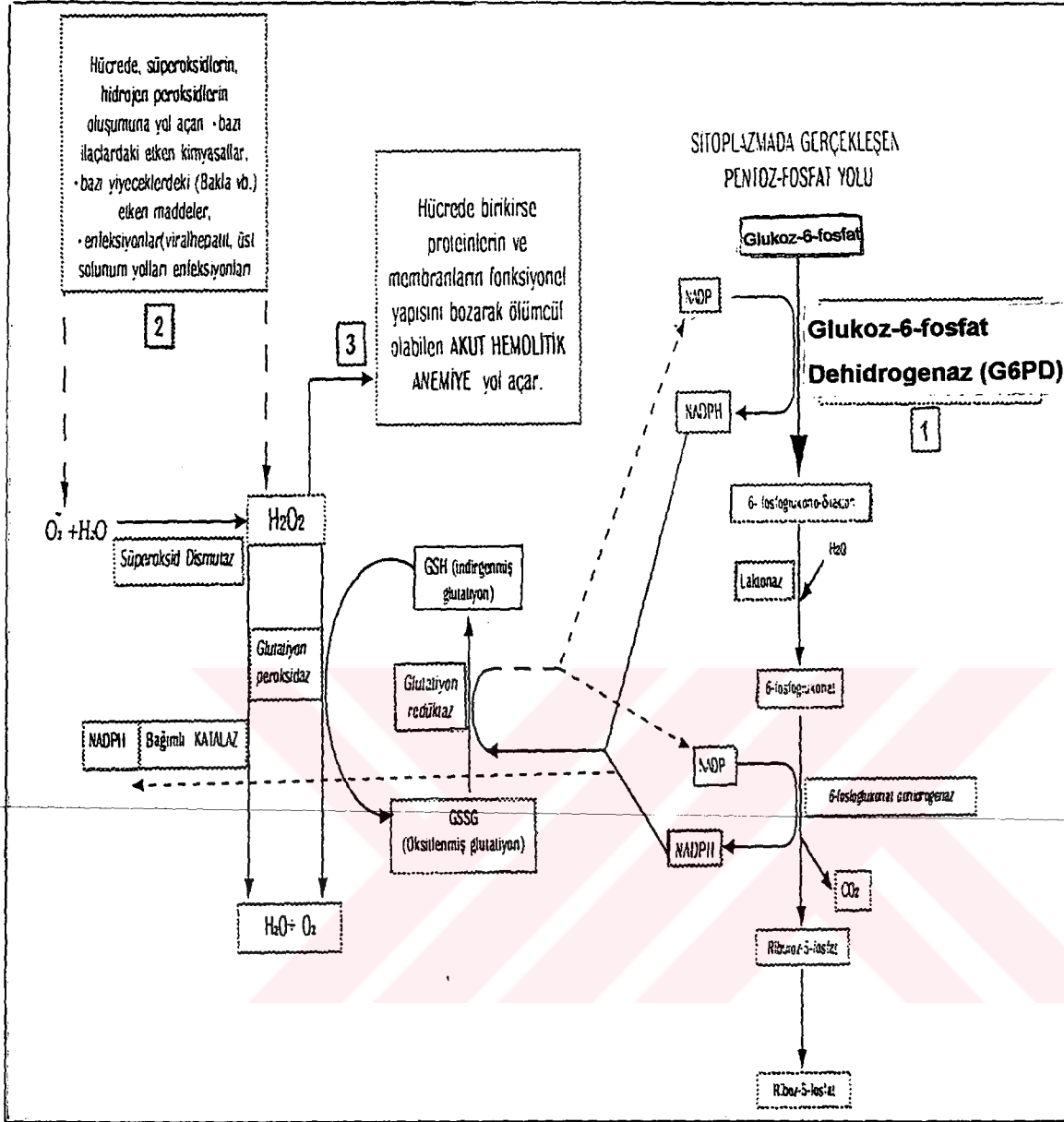


Şekil 2.3: Eritrositlerde G6PD'nin esas metabolik rolü (Elliot, 1997).

(G6P : glukoz-6-fosfat, 6PG : fosfoglukonat, GSH : indirgenmiş glutatyon, GSSH : yükseltgenmiş glutatyon)

G6PD aktivitesine bağlı olarak oluşan NADPH molekülünün yeterli miktarda üretilebilmesi, hidrojen peroksidin zararsız hale getirilmesinde rol alan her iki enzimatik sistemin çalışması için gereklidir. Bir başka ifadeyle, hücre içinde yüksek düzeyde tutulan NADPH, oksitleyici koşulların zararlı etkilerinden alyuvarları korumaktır (Johnson, 1994).

Alyuvarlardaki G6PD stoğu, normal koşullarda oksitleyici ajanların yapabileceği yüksek düzeydeki tahribatı önleyebilecek kapasiteye sahiptir. Oksitleyici ajanlara yüksek dozda maruz kalınmadığı takdirde, G6PD aktivitesindeki ciddi azalmalar (% 90-99 düzeyinde) normal koşullarda, klinik açıdan önemli sağlık sorunlarına yol açmaz. Önemli sağlık sorunları, ciddi



Şekil 2.4: G6PD enzimi eksikliğine bağlı ölümcül olabilen akut hemolitik aneminin oluş mekanizması (Uzunoğlu, 1995).

Pentoz fosfat yolundaki G6PD enzimidaki aktivite kaybı (1), hücre içi indirgenmiş glutatiyonun yeniden üretilmesini sağlayan glutatiyon redüktaz'ın çalışabilmesi için gerekli NADPH'in yeterli miktarda sentez edilememesine yol açar. Dışarıdan hidrojen peroksit oluşumunu arttıran etken maddeler alındığında veya vücutta oluştuğunda (2), hidrojen peroksit, glutatiyon peroksidaz tarafından yeterli hızda ve gereken sürede zararsız hale dönüştürülemez. Katalitik aktivitesi için NADPH'e gereksinim duyan katalaz enzimi de, bu olaylardan kısmen etkilenir. Sonuçta hücre içinde azalan NADPH stoğundan dolayı, alyuvarlar oksitlenmeye daha duyarlı hale gelir. Ekstra oksitleyici ajanların varlığında alyuvarlar hemolize uğrayarak, ölümcül olabilen akut hemolitik anemi tablosu ortaya çıkar (3).

düzye G6PD eksikliğine sahip alyuvarlar, ekstradan oksitleyici ajanların etkisinde kalırlarsa ortaya çıkar. Çünkü reaksiyonlarda hızla tüketilen NADPH molekülü alyuvarlarda aynı hızla yeniden üretilmemektedir. Dolayısıyla hidrojen peroksid uzaklaştırılmaz ve azalan NADPH'de alyuvarları oksitlemeye daha duyarlı hale getirir (Scott, 1991).

Sonuçta, hücrede biriken hidrojen peroksit, hemoglobin ile reaksiyona girerek hem grubunun ve demir iyonlarının serbest kalmasına neden olur. Denatüre olan hemoglobin, Heinz cisimcikleri olarak tanımlanan partiküller şeklinde çöker. Bu olaylar sırasında hücre içi iskelet proteinleri değişikliğe uğrar. Hücrede oksitleyici ajanların varlığında gelişen bu olaylar yağları peroksidasyona uğrattır. Sonuçta alyuvarların membranları hızla parçalanarak, akut hemolitik anemi tablosu ortaya çıkar (Arese, 1990 ve Scott, 1991).

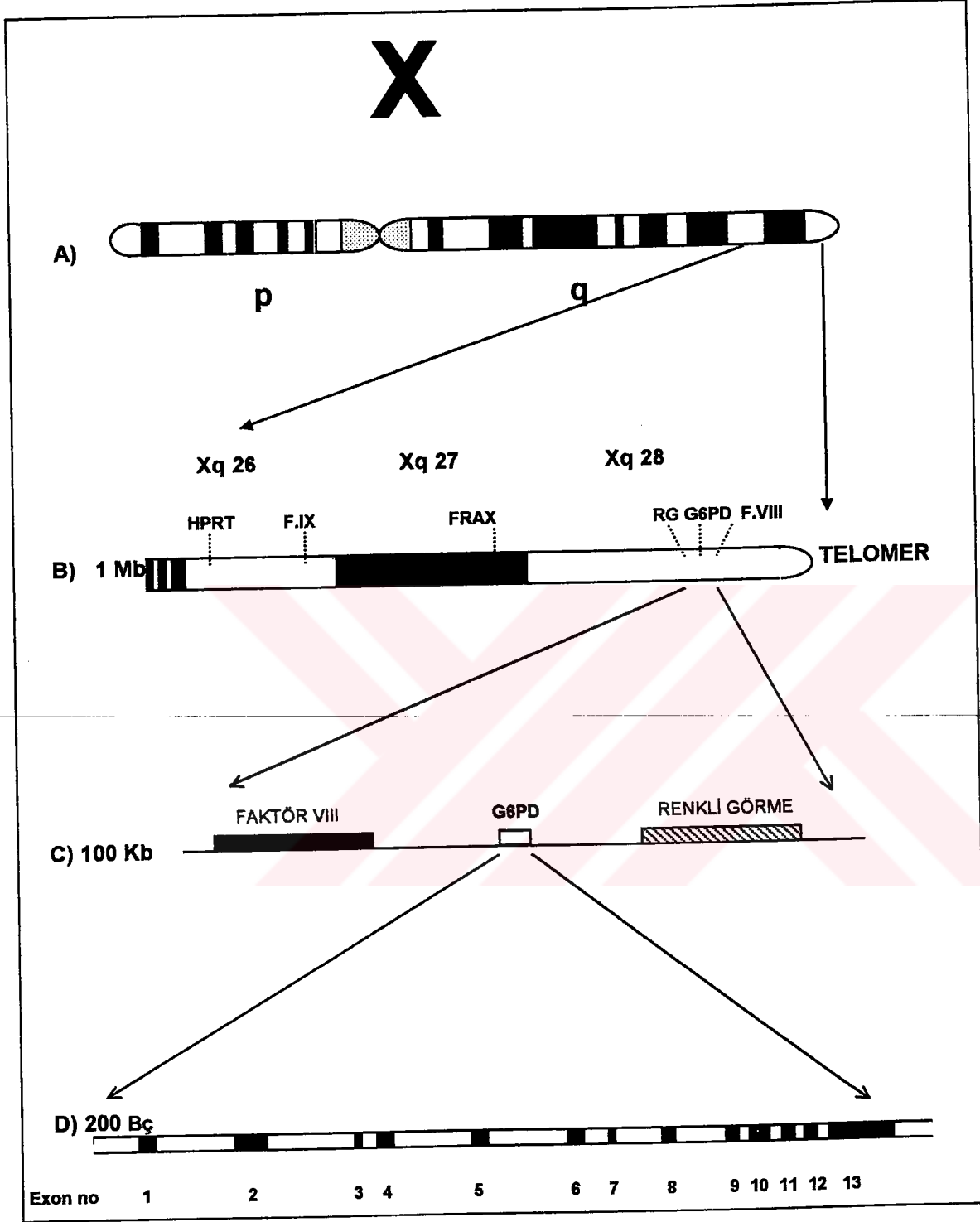
2.5. G6PD ENZİMİNE AİT GENETİK BİLGİ

G6PD geni insanda X kromozomunun uzun kolunun subtelometrik 28. band bölgesinde (Xq 28) yer alır. G6PD geninden başka hemofili (faktör 8 ve 9), renk körlülüğü, fragile X (FRAX) hastalıklarıyla bağlantılı genler de bu kromozomal bölgede yer alırlar (Şekil 2.5) (Vulluamy ve Luzatto, 1992).

1991 yılında Chen E.Y ve arkadaşları tarafından komplementer DNA üzerinden yapılan klonlama ve dizi analizleri ile genin tam sekans analizi yapıp tamamlanmıştır. G6PD geninin nükleotid sayısı 20114 baz çifti (bç) olup, 13 exon ve 12 intron içermektedir. Aminoasitlere karşılık gelen nükleotid dizilerinin toplam uzunluğu 1545 baz çifti olup, 515 aminoasidlik bir polipeptid zincirine karşılık gelmektedir.

MAEQEVALSRTHVCGILREELFQGDAFHQSDTHIFIIMGASGDLAKKKIYP	50
TIWWLFRDGLLPENTFIVGYARSLRTVADIRKQSEPFFKATPEEKLKLED	100
FFARNSYVAGQYDDAASYQRLNSHMNALHLGSQANRLFYLALPPTVYEAV	150
TKNIHESCMSQIGWNRRIIVEKPFGRDLQSSDRLSNHISSLFREDQIIYRID	200
HYG⓪KEMVQNLMLVRFANRIFGPIWNRDNIACVILTFKEPFGTEGRGGYF	250
DEFGIIRDVMQNHLLQMLCLVAMEKPASTNSDDVRDEKVKVLCISEVVQA	300
NNVVLGQYVGNPDGEGEATKGYLDDPTVPRGSTTATFAAVVLYVENERW	350
GVPPIILRCGKALNERKAEVRLQFHDVAGDIFHQCKRNELVIRVQPNEAL	400
YTKMMTKKPGMFFNPEESELDTYGNRYKNVKLPDAYERLILDVFCGSQM	450
HFVRSDELREAWRIFTPLHQIELEKPKPIPIYIYGSRGPTAEDELMKRVG	500
FQYEGTYKVVNPHKL	515

Şekil 2.5: İnsan G6PD enziminin 515 amino asidden oluşan amino asid dizilişi. 205. sırada yuvarlak içinde gösterilen lizin G6P bağlanma bölgesidir. (Elliot, 1997).



Şekil 2.6: G6PD geninin sitogenik ve moleküler haritası (Vulluamy, 1992).

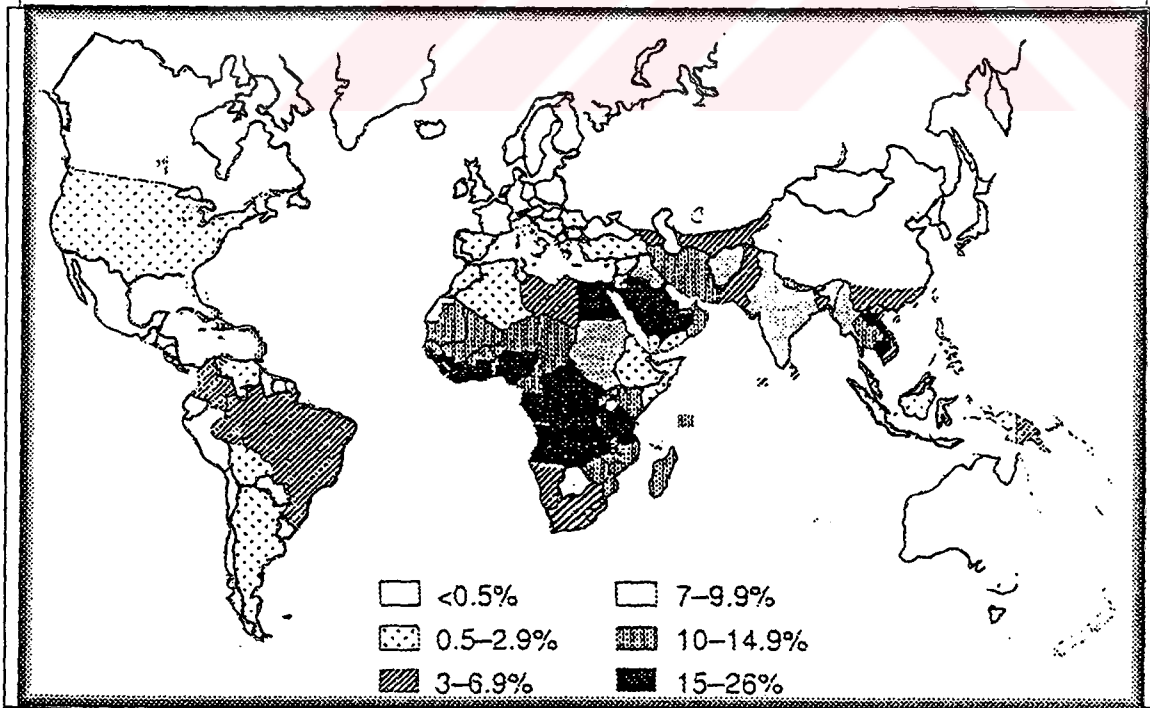
- A) X kromozomunun kısa (p) ve uzun (q) kollarıyla birlikte şematik gösterimi.
 B) X kromozomunun uzun kolunun uç kısmının büyütülmüş şekli üzerinde G6PD, renkli görme, Fragile X ve hemofili (faktör VIII ve IX), Hipoksantin Guanin Fosforibozil Transferaz (HPRT) genlerinin yerleşimleri.
 C) G6PD ve kendisine komşu olan genlerin birlikte gösterimi.
 D) G6PD geninin 13 exon ve 12 introndan oluşan yapısı.

G6PD enziminde NADP bağlayan bölgenin yeri, moleküler ve yapısal düzeyde henüz tanımlanamamıştır. Ancak yapılan deneysel çalışmalar ve G6PD mutantlarının analizinden 386 ve 387 no lu amino asitlerin (Arginin ve Lysine) NADP bağlayan bölgede yer alabileceği tahmin edilmektedir (Hirono, 1989). 205. amino asit lysine bağlanmada glukoz-6-fosfata (G6P) kıyasla daha yüksek afiniteye sahip olan pyridoxal fosfat, G6P varlığında bu bölgeye bağlanarak enzim aktivitesinde % 80 oranında kayba neden olmuştur. Bu deneysel veriden yola çıkılarak Glukoz-6-fosfatı bağlayan bölgenin merkezinde 205. Amino asidin (Lysine) bulunduğu belirtilmektedir (Şekil 2.5) (Vulluamy ve Luzatto, 1992).

G6PD mRNA'sı 2403 baz çifti uzunluğunda olup exon 1'in tamamı, exon 2'nin ilk 8 bazı ve exon 13'ün ilk 88 bazı dışındaki kısımlar proteine dönüştürülememektedir. Bunların dışındaki bölgeler ise kodlanan dizileri içerir (Bağcı, 1988).

2.6. G6PD EKSİKLİĞİNİN GENEL OLARAK YERYÜZÜNDEKİ DAĞILIŞI

X'e bağlı kalıtım gösteren G6PD eksikliğinin frekansı, genellikle hemizigot erkeklerin belirli bir populasyondaki oranının çıkarılmasıyla tahmini olarak saptanır. Bu oranın gen frekansına eşit olacağı kabullenilir (WHO, 1989). Ancak hastalığın görülme sıklığı yerleşim birimleri arasında önemli ölçüde değişebilmektedir. Bu noktadan G6PD eksikliği frekansının, geniş kapsamlı aile gruplarına ve yerleşim birimlerine bağlı olarak saptanıp ifade edilmesi, verilerin bilimsel geçerlilik ve güvenilirliğini artırıcı etkiye sahiptir.



Şekil 2.7: G6PD enzim eksikliğinin dünya genelindeki görülme sıklığı haritası (WHO, 1989).

Dünya nüfusunun yaklaşık % 7'si G6PD eksikliğine sahiptir. G6PD eksikliği olan kişilerin yarısı da, G6PD eksikliğinin yol açtığı ölümcül olabilen sağlık sorunlarına yakalanma riski taşımaktadır (WHO, 1989).

Küreselleşen dünyada göç hareketleri ve metropollerde coğrafik ve etnik yapıya bağlı yerleşimler dikkate alındığında, G6PD eksikliğinin belirli yerleşim birimlerinde ve populasyonlarda daha fazla görülme olasılığı artmaktadır. Bunu doğrulayan delil ise, enzim eksikliğinin görülme sıklığının, bazı Ege adalarında ve Kıbrıs'da % 15-26 arasında Sardinya'da % 30, bazı bölgelerde % 0,5 - 2,9 arasında değişebilmesidir (Beutler, 1991).

Belirli etnik gruplarda G6PD eksikliğinin rekansı oldukça yüksek bulunmuştur. Bunlara ait veriler Tablo 2.3'de verilmiştir.

Tablo 2.3: Dünya genelinde G6PD enzim eksikliğinin sıklığı (Demican, 1999).

Populasyon	Sıklık (%)
Türkiye	1 - 20
Suudi Arabistan	15 - 18
Libya	11
Irak	10,8
Ürdün	11
Birleşik Arap Emirlikleri	11
Kıbrıs	15 -26
Batı Afrika	21
Doğu Afrika	1,3
Zaire	6 - 3
Jamaika	14,7
USA	7,2
Çin	3,6
Tayland	7,5
Singapur	1,3
Malezya	3 - 4
Myanmar	16
Tayvan	2 - 4
Yunanistan	3
Sardunya	8,8
İtalya	2
İspanya	4 - 6

Epidemiyolojik veriler, G6PD eksikliğinin sıtmanın geçmişte ve günümüzde yaygın olduğu bölgelerde daha sık görüldüğünü göstermektedir. Ayrıca, talassemi ve orak hücre anemisinin bulunduğu bölgelerde, G6PD eksikliğine daha sık rastlanılması bu üç hastalığın birlikte seyrettiğini gösterir. Bundan dolayı populasyon çalışmalarında bu üç kalıtsal hastalık birlikte taranarak, aralarındaki ilişki saptanmaya çalışılmaktadır (WHO, 1985 ve Oppenheim, 1993).

2.7. G6PD EKSİKLİĞİNİN TÜRKİYEDEKİ DAĞILIŞI

Yapılan literatür taramasında Türkiye'nin coğrafik bölgelerinde G6PD eksikliği konusunda yapılan çalışmaların sınırlı sayıda olduğu grlmştr.

1965'te Say B. ve arkadaşlarının Türkiye genelini kapsadığını ifade ettikleri çalışmalarında G6PD eksikliği sıklığını Eti Türkleri'nde % 11.4, Kıbrıs Türkleri'nde % 3.5, yeni doğanlarda % 0.5, İzmir'de % 0.94, Ankara'da % 0.5, Diyarbakır'da kürtçe konuşan populasyonda % 1.9, İstanbul'da Yunan, Ermeni ve Yahudi asıllı topluluklarda % 0 ve Karadeniz'de % 0 olarak saptamışlardır (Demircan, 1999).

Sipahioğlu, methemoglobin indirgenme testi ile 1966'da Alanya yöresinde % 43, 1967'de yine Alanya'da kadınlar arasında % 31-37, erkekler arasında % 25 oranında yetmezlik saptamıştır. 1976 yılında aynı yörede % 20 oranında yetmezlik bulunduğu yayınlanmıştır (Demircan, 1999).

1968 yılında Aksoy M. Ve Erdem ř. Kordon kanında talassemik gruplarda G6PD enzimi ve diğer enzimlerin tayini üzerine bir araştırma yapmışlardır.

Kılınç Y. ve arkadaşları Adana'da 1982 ve 1986 yıllarında gerçekleştirdikleri çalışmalarda, birinde % 1, bir diğerinde % 20,2 oranında G6PD eksikliği saptamışlardır. Bu sonuçlar karşılaştırıldığında bazı tutarsızlıklar grlmştr. Yine 1986 yılında Akoğlu T. ve arkadaşları Adana civarında yaşayan Eti Türklerinde G6PD eksikliğinin % 11,2 ve % 4,9 arasında değiştiğini saptamışlardır. Ancak bu farklılığın, içindeki alt gruplardan mı kaynaklandığı hususu ile nedenleri belirtilmemiştir.

1968'de Aksoy ve arkadaşları Manavgat, Serik ve Boztepe yöresinde yaşayan 72 erkekte metilen mavisi testi ile % 5,4 oranında yetmezlik saptamıştır. Yine Aksoy ve arkadaşları yaptığı bir başka çalışmada ise G6PD enzimi eksikliği oranını % 0,6 bulmuştur (Demircan, 1999).

1987 yılında Aksoy K. ve arkadaşları Çukurova bölgesinde üç tane biyolimyasal varyantı (G6PD Samandağ, Adana, Balalı) tanımladıklarını rapor etmişlerdir. Ancak bu varyantların hepsinin tek bir mutasyondan mı yoksa ayrı ayrı mutasyonlardan mı köken aldıkları belirtilmemiştir.

1985 yılında Esen, Antalya doğumevi ve SSK hastanesindeki yenidoğanlardan alınan 500 kordon kanında G6PD enzim yetmezliğini erkeklerde % 2,65 kadınlarda % 2,12 ve tümünde % 2,4 bulmuştur (Demircan, 1999).

1990'da Aksu T. ve arkadaşları Antalya yöresinde eritrositlerde G6PD eksikliğinin epidemiyolojisi ve biyokimyası üzerine çalışmalar yapmışlardır. 1993'te Ünlükurt İ. ve arkadaşları G6PD enzimi ile eser element arasındaki ilişki üzerine çalışmalarda bulunmuşlardır. 1993 yılında Günay İ. yenidoğan sarılığında G6PD eksikliğinin rolü üzerine araştırma yapmıştır.

1995 yılında Uzunoğlu S. Ege bölgesindeki G6PD eksikliğine yol açan Akdeniz mutasyonunu DNA teknolojisi ile araştırmış; bölgedeki ciddi düzeyde G6PD eksikliğine yol açan hakim mutasyonun % 78,3 (29/37) oranıyla Akdeniz tipi olduğunu saptamıştır. Bu çalışma, Ege bölgesinde yaşayan isanlarda gözlenen ciddi düzeydeki G6PD eksikliğini, uluslararası standartlara uygun olarak saptayan ve bölgede moleküler düzeyde eksikliğin tanımlandığı ilk çalışmadır.

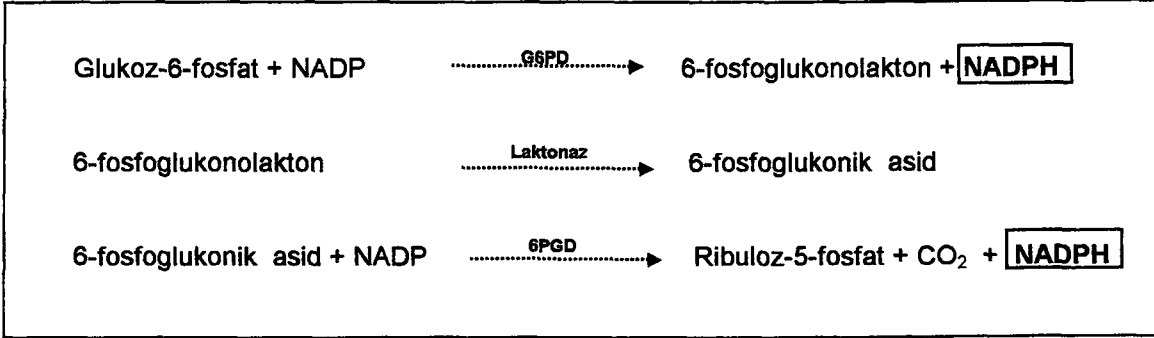
1999 yılında Demircan K., Manisa ve yöresinde gerçekleştirdiği yenidoğan ve erişkinlerde G6PD enzim aktivitesinin normal değerlerinin belirlenmesi adlı tez çalışmasında G6PD enzim yetmezliği görülme sıklığını % 5,15 olarak bulmuştur.

Bütü bu çalışmalara dayanarak Türkiye'de G6PD ezim yetmezliği prevalansı hakkında kesin bir yargıya varmak mümkün değildir. Yayınlanmış makalelerin sonuçları karşılaştırıldığında tutarsızlıklar görülmüştür. Bu çalışmalarda elde edilen sonuçların ne kadar gerçek ve geçerli olduğu ise, daha geniş kapsamlı örnek gruplarında, standardize edilmiş güncel tarama testleri ile tekrarlanarak doğrulanmayı beklemektedir.

2.8. G6PD ENZİMİ EKSİKLİĞİNİN SAPTANMASINDA KULLANILAN YÖNTEMLER

G6PD eksikliği bütün hücre ve dokular için söz konusudur. Ancak, G6PD eksikliğinin klinik belirtileri öncelikle kan dokusunda ortaya çıktığından, G6PD enzim aktivitesi, genellikle kan hemolizatında veya alyuvarlarda ölçülür. G6PD aktivitesi, glukoz-6-fosfat ve NADP varlığında, standart koşullarda enzimin aktivitesi sırasında oluşumuna yol açtığı NADPH miktarının ölçümüne dayanır. Enzimin aktivitesi sırasında NADP'nin indirgenmesiyle oluşan NADPH'nin 340 nm dalga boyundaki molar absorpsiyon katsayısı bilindiğinden, optik dansitedeki değişiklikler, NADPH konsantrasyonundaki değişiklikler ile ilişkilendirilir. Reaksiyon stokiyometrik olduğundan birim zamandaki optik dansite değişiminden yola çıkılarak enzim aktivitesi hesaplanır. Belirli sıcaklık, osmolarite ve pH koşullarında bir dakika içinde bir mikromol NADP'yi NADPH'e indirgeyen enzim miktarı, bir ünite (U) G6PD enzim aktivitesi olarak tanımlanır (Betke, 1967).

Alyuvarlarda veya kan hemolizatında yapılan aktivite ölçümleri, genellikle gram hemoglobin başına düşen aktivite miktarı olarak ifade edilir. Aktivite ölçümünde dikkat edilmesi gereken önemli bir nokta da, pentoz fosfat yolunda NADPH oluşumuna yol açan iki enzimin olmasıdır (Catalona, 1975).



Bundan dolayı G6PD aktivitesinin göstergesi olarak ölçülen NADPH, gerçekte G6PD ve 6PGD (6-fosfoglukonat dehidrogenaz) enzimlerinin aktivitelerinin toplamını yansıtır. İkinci enzimin oluşumuna yol açtığı NADPH miktarını, G6PD aktivitesinden ayrı olarak ölçen ve hesaplayan test sistemleri geliştirilmiştir. Ancak ikinci enzimle bağlantılı NADPH miktarının, ciddi düzeydeki G6PD eksikliği tanısını koymada, yanlış negatif sonuç verecek şekilde engelleyici bir katkısı yoktur. Çünkü G6PD eksikliği olan kan örneklerinde G6PD aktivitesi sonunda oluşan ürünü, 6PGD enzimi substrat olarak kullandığı için genelde reaksiyon hızını sınırlayıcı faktör olmamaktadır. Ancak oluşan toplam NADPH biraz fazla olduğundan G6PD enziminin normal değeri gerçek değerinden biraz yüksek olarak hesaplanabilir (Uzunoğlu, 1995).

2.8.1. G6PD Eksikliğini Kalitatif Olarak Saptamada Kullanılan Testler

1961 yılından itibaren G6PD eksikliğini kalitatif olarak saptamada kullanılan bazı testler yayınlanmıştır (Miller, 1968 ve Fairbanks, 1962).

- Parlak kretil mavisini renksizleştirme (Brillant Cresyl Blue Decolorization) Testi (1961, Motulsky ve Campbell-Kraut)
- Methemoglobin indirgenme testi (1962, Brewer ve ark.)
- Floresans spot testi (1962, Fairbanks ve Beutler, modifikasyon. 1966, 1976, 1979, 1985)
- Metilen mavisini indirgemeye dayalı test (1965, Oski ve Growney)
- Mikro-methemoglobin indirgenme testi (1968, D.R. Miller)
- Glutathion stabilite testi
- Heinz cisimciği testi

Floresans spot testi dışındaki diğer testlerin hepsi, reaksiyon ürünü NADPH'den elektronları alarak indirgenen ve renk değişimine uğrayan farklı kimyasalları içermektedir. Floresans spot testi ise oluşan NADPH'in ultraviyole ışık altında verdiği floresansın doğrudan gözlemine dayanır.

Bu testler, bazı laboratuvarlarda ve çalışmalarda hala kullanılmaktadırlar. G6PD eksikliği tanısı koymak için geliştirilen bu testler, tarihsel süreç içinde bir çok kez gözden geçirilmiştir. Bazılarının geçerliliği, zaman içinde oldukça azalırken bazıları daha da iyileştirilerek güncelliklerini korumuşlardır. Örneğin, G6PD eksikliğinin gerçek nedeninin bilinmediği dönemde, pirimagine duyarlı bireyleri saptamada kullanılan Heinz cisimciği testi ve glutatyon stabilite testi, G6PD eksikliği tanısının konmasında bugün geçerliliğini kaybetmişlerdir (Beutler, 1994). Spot testi, yanlış negatif ve pozitif sonuç vermesini azaltacak şekilde bir kaç defa modifiye edilerek kullanılabilirliği artırılmıştır (Uzunoğlu, 1995 ve Fairbanks,1962). Bunun yanında Uluslararası Hemotoloji Standardizasyon Komitesince standardize edilen ve WHO-G6PD grubunca önerilen geçerli test, floresans spot testi olmuştur.

1979 yılında standardize edilen floresans spot testi, ciddi düzeydeki G6PD eksikliğini, hemizigot erkekler ve homozigot dişilerde saptamada güvenilirliği ve geçerliliği yüksek olan bir test olarak tanımlanmıştır (Beutler, 1979). Ancak heterozigotlarda G6PD enzim eksikliğinin belirlenmesi için, eritrositlerde G6PD enzim aktivitesinin tam olarak tespit edilmesi gereklidir. Eğer tarama testleri kullanılırsa, defekt hücrelerle birlikte bulunan normal eritrosit popülasyonundan dolayı enzim eksikliği maskelenebilmektedir. Hatta bazen kantitatif analizlerde bile, heterozigot dişilerde, enzim aktivitesi normal değerler arasında olmaktadır. Bu durumlarda histokimyasal teknikler kullanılmalıdır. G6PD enzimi eksik kişilerde olan ilaca bağlı hemolitik anemi, diğer hastalıklarla oluşabilen hemolitik anemi tablosuyla karışabilmektedir. Glutasyon sentetaz eksikliği gibi diğer enzim defektleri, pentoz fosfat yolunu etkilemekte ve G6PD enzim eksikliğini taklit etmektedir. Böyle durumlarda hemoglobinopatiler hemoglobin elektroforezi yapılarak ortaya çıkarılmalıdır. Askorbat siyanid testi gibi bazı tarama testleri bazen yanlış pozitif sonuçlar vermektedir (Uzunoğlu, 1995 ve Mosca, 1990).

Çok sayıda laboratuvar yeni G6PD enzim testleri üzerinde çalışmaktadırlar. Son yıllarda yeni "G6PD enzimi kantitatif ölçüm testleri" total kanda yapılmaktadır. Hızlı ve WHO sonuçlarına uygunluk gösteren pH'a dayalı bu testlerde, prensip, G6P'nin oksidasyonu sırasında üretilen hidrojen iyonlarının, buffer ortamındaki pH'ı değiştirmesi esasına dayanır. Fosfoglukonat aktivitesinin inhibe edilmesi otomatik olarak gerçekleştirilir (Demircan, 1999).

Hemoliz geçiren kişilerde hemolize yol açan olayların G6PD eksikliğine bağlı olup olmadığını aktivite ölçümüne dayalı testler ile saptarken ayrıca dikkatli olunmalıdır. Özellikle sınıf 3 grubuna ait (G6PDA⁻ varyantı gibi) G6PD eksikliğinde yaşlı alyuvarlar öncelikle hemolize uğradığı için aktivite düzeyi normale yakın olan genç alyuvar sayısı hızla artmaktadır. Bu gruptaki kişilere hemoliz anında G6PD aktivite ölçümü yapılırsa, normale yakın değerler

elde edilmekte ve yanlışlıkla bu kişilere G6PD sağlam tanısı konabilmektedir. Aktivite ölçümünde yanlış negatif sonuç elde etmeyi azaltma açısından, ölçümler hemolitik krizden en az 3-4 hafta sonra yapılmalıdır. Bununla beraber, hemoliz geçiren kişilerde G6PD eksikliği tanısı konması gerekiyorsa, tüm aile bireylerinde G6PD aktivite düzeyleri ölçülerek yanlış negatif sonuç verme olasılığı azaltılmalıdır (Beutler, 1994).

2.9. G6PD ENZİMİ EKSİKLİĞİNİN YOL AÇTIĞI SAĞLIK SORUNLARININ TEDAVİSİ VE ÖNLENİMİ

G6PD eksikliğine bağlı hemolitik kriz geçirmekte olan kişilere yapılacak ilk tedavi, hemolize yol açan etken maddenin alınımının durdurulması veya vücuttan hızla uzaklaştırılmasının sağlanmasıdır. Hemolitik kriz şiddetli ise, kişilere uygun miktarda G6PD-B normal kan verilmelidir. Bakla yemeye bağlı olarak oluşan hemolitik krizin, şiddeti, desferrioxamine alınarak kısmen azaltılabilir (Beutler, 1994).

Kronik hemolize yol açan G6PD eksikliğinde, antioksidan vitamin E alınımının hemolizden koruduğuna dair bazı çalışmalar olmakla beraber, bağımsız çalışmalarla bu doğrulanmamıştır (Beutler, 1994).

Yenidoğan bebeklerde G6PD eksikliğine bağlı yenidoğan sarılığı ve buna bağlı kemikterus, erken dönemde fototerapi ile önlenmektedir. Bilirubin 20 mg/dL düzeyini aştığı olgularda kan değişimi gerekli olmaktadır. Bu durumda, bebeğe G6PD eksikliği olan kan verilmemesine dikkat edilmelidir (Beutler, 1994).

Ancak, ciddi düzeyde G6PD eksikliği ile ilgili ölümcül düzeye varabilen sağlık sorunlarının ortaya çıkması doğru stratejiler izlendiğinde, kesin olarak önlenmektedir. Bu koruyucu temelli önleminin gerçekleşebilmesi için:

- Öncelikle risk altındaki yerleşim birimleri aile düzeyinde güncel ve standardize edilmiş floresans spot testi ile taranmalıdır. G6PD eksikliğinin %1 veya daha fazla sıklıkta görüldüğü, favism olgularının sık rastlanıldığı ve sıtmanın geçmişte endemik olduğu coğrafik bölgelere öncelik verilmelidir.

- Yaşlarının ileriki dönemlerinde olası akut hemolitik krize yakalanmamaları için, hasta kişilere güncel hemolitik kriz önlenim tablosu verilmelidir.

- G6PD eksikliği saptanan kişiler, aileleri ve doktorları ile buldukları yerlerdeki sağlık personeli hastalık hakkında bilgilendirilmelidir (Uzunoğlu, 1995).

G6PD enzimi eksikliği taraması yaptırmak şu durumlarda gerekli ve yararlı olmaktadır:

1- Öncelikle, bulunulan yerleşim birimlerinde veya akrabalar arasında bu hastalığa sahip kişiler varsa,

2- Bakla zehirlenmesi (Favism) olguları yaşanan yerde görülmekte ise,

- Bakla yeme sonucunda ortaya çıkan halsizlik, sararma ve çay rengi idrar,

- Doğumun ilk yedi gününde geçirilen ciddi düzeyde yenidoğan sarılığı,
- Orak hücre anemisi,
- Akdeniz anemisi taşıyıcılığı,
- Renk körlüğü ve katarakt,
- Şeker hastalığına bağlı sağlık sorunu (diyabetik asidosis),
- Sıtma hastalığı,
- Anne bir kaç defa spontan düşük yapmışsa,

Yukarıdaki durumlardan biri kişide veya aile bireylerinde görülmüş veya şu anda var ise, G6PD eksikliği tarama testi yaptırılması erken teşhis için oldukça yararlıdır. Öncelikle bir hastaneye veya doktora başvurarak kesin teşhis için gerekli testler yaptırılmalıdır.

Eğer test sonucu pozitif ise hastalığın yol açtığı sağlık sorunlarının kesin önlenilebilir olduğu dikkate alınarak kullanılması gereken yiyecekler ve ilaçlar ile ilgili uzmanlardan öğrenilmeli ve hastalık hakkında sağlıklı ve doğru bilgiler edinilmelidir.

Tüm aile bireyleri bu tarama testinden geçirilerek, hastalığın ailede nasıl ve kimden kime geçtiğini gösteren soyağacının çizilmesi ve bu doğrultuda gerekli tedbirlerin alınması gerekmektedir (Uzunoğlu, 1995).

2.10. ÇALIŞILAN BÖLGENİN TARİHİ, COĞRAFİK VE ETNİK YAPISI, DEMOGRAFİK VERİLERİ

Karakılınçlı Köyü: Manisa merkeze bağlı ve Yuntdağı eteklerinde bir dağ köyüdür. Yaklaşık 600 yıl önce Horasan'dan gelen yedi kişi tarafından kurulduğu söylenmektedir.

Köy, aşağı ve yukarı olmak üzere iki mahalleden oluşmuştur ve köyde 160 hane vardır. Manisa İl Sağlık Müdürlüğü raporlarına göre Karakılınçlı Köyü'ne kayıtlı birey sayısı 477'dir. Davutlar Köyü, Sümbültepe Köyü, Çamlıca Köyü, Karaveliler Köyü, Mollasüleymanlı Köyü, Üçpınar ve Sarma Köyü köye komşu olan köyledir.

Köy halkı, genelde tütüncülükle uğraşır. Az da olsa buğday ve arpa ekilir. Ayrıca hayvancılık, özellikle de küçük baş hayvancılık yapılır. Köyde geçimin zorluğunu anlayanlar Manisa'ya göç etmeye başlamışlardır. Bu yüzden nüfus gün geçtikçe azalır.

Karakılınçlı Köyü'nde görülen en belirgin özellik, ailelerde bulunan çocuk sayısının çoğunlukla 2 ya da 3 olmasıdır. Çok çocuklu aile sayısı yok denecek kadar azdır.

Köy halkı yörüktür ve genelde birbirinin akrabasıdır. Dolayısıyla evlilikler akrabalar arasında yapılmaktadır. Tabii ki bu evliliklerin, çocuklar üzerinde olumsuz etkileri vardır. Özellikle çocuklarda kekemeliğin yaygın oluşu, akraba evliliklerinin olumsuz sonuçlarından biri olabilir.

Kayapınar Köyü: Manisa-İzmir karayolu üzerinde, merkezden 10 km uzaklıkta, 75 m rakıma sahip bir köydür. Yaklaşık yüz sene önce kurulduğu söylenmektedir.

Manisa İli Sağlık Müdürlüğü raporlarına göre, köye kayıtlı kişi sayısı 385'tir. Köy halkı genellikle Erzurum ve Muş'tan göçüp gelen kişilerden oluşmuştur. Hane sayısı 57'dir. Emlakdere Köyü, Yaylaköy ve Sarıkaya Köyü köye komşu olan köylerdir.

Köy halkı geçimini, yakın olması nedeniyle Manisa merkezde çalışarak sağlamaktadırlar.

Halk genelde birbirinin akrabasıdır. Evlilikler akrabalar arasında yapılmaktadır. Ayrıca köyün belediyeye ait su şebekesi bulunmadığından, kullandıkları suya bağlı olarak sarılık vakaları sıklıkla görülmektedir. 1960-65 yılları arasında sıtma hastalığının sıklıkla görülmesi dolayısıyla, sık sık sıtma taramaları yapılmaktadır.

Horozköy: Horozköy'ün ne zaman ve kimler tarafından kurulduğu hakkında kesin bir bilgi yoktur. Tarıma elverişli bölge olduğundan buraya yerleştikleri Manisa İli Yıllığı'nda belirtilmiştir. Köy'ün Fevzi Çakmak Mahallesi'nde Manisa İli Sağlık Müdürlüğü raporlarına göre, 2404 kayıtlı birey bulunmaktadır. Halk, Kars, Erzurum ve çoğunlukla Ağrı ve Muş illerinden gelip yerleşen bireylerden oluşmuştur. Çok çocuklu aile yapısı görülmektedir. Genelde erkekler çalışarak geçimlerini sağlarlar. Çoğunluğu inşaatlarda veya sanayi bölgesine yakın oldukları için sanayide işçi olarak çalışırlar.

Halk genelde gelenek ve göreneklerine çok bağlıdır. Köy dışından gelip yerleşenlerle evlenmezler. Aile içi evlilikler çoğunluktadır. Bu nedenle de çocuklarda zeka geriliği sıklıkla görülmektedir.

Yağcılar Köyü: Tarihi geçmişi bakımından Manisa'nın en eski köylerinden biridir. Merkezden yaklaşık 27 km uzaklıkta, ovalık bir arazide yer almaktadır.

Manisa İli Sağlık Müdürlüğü raporlarına göre kayıtlı birey sayısı 957'dir. Köy halkı genelde yörük olup, göçmen aileler de bulunmaktadır. Muradiye, Şamar ve Beydere komşu köyleridir.

Köy halkı geçimini genelde tarım ve hayvancılıktan sağlamaktadır. Son zamanlarda genç nüfusun Manisa'ya göç ettikleri rapor edilmektedir.

Halk, köyün yerleşik ve eski ailelerinden oluşmakta olup, genelde evlilikler köy sınırları içinde kalmaktadır. Köye dışından göçler görülmemektedir.

Yeniköy: Manisa-İstanbul yolu üzerinde, adından da anlaşılacağı gibi son dönemlerde kurulmuş ve hızlı gelişim gösteren bir köydür. Merkezden yaklaşık 10 km uzaklıktadır.

Manisa-İstanbul karayolu üzerinde, yolun her iki tarafındaki ovalık arazi üzerinde yerleşmiştir. Manisa İli Sağlık Müdürlüğü raporlarına göre kayıtlı birey sayısı 1320'dir. Köy halkının bütünü Balkanlardan gelen göçmenler oluşturmaktadır. Köy halkı geçimini pamuk tarımından sağlamaktadır. Evliliklerde herhangi bir genellenmenin olmadığı görülür. Köy içine ve köy dışına evlilikler mevcut olup, akraba evliliklerinin sık olmadığı belirtilmektedir.

Belen Yenice Köyü: Manisa İl Sağlık Müdürlüğü raporlarına göre kayıtlı birey sayısı 266'dır. Sarıalan, Kaleköy, Sarıbeyler ve Kalemli komşu köyleridir.

Köy iki dağ arası ovalık bir arazi üzerindedir. Köy halkı geçimini zeytin ve tütün tarımından sağlamaktadır.

Köy hane ve yerleşim alanı açısından küçük bir köydür. Köyden zaman içerisinde yoğun göçler olmuştur. Bu yüzden nüfusta azalmalar meydana gelmiştir. Köy halkının yaş ortalamasının yüksek olduğu görülmüştür. Evlilikler genelde çevre köyler arasında olmaktadır. Akraba evlilikleri görülmemiştir.

Tepecik Köyü : Manisa İl Sağlık Müdürlüğü raporlarına göre kayıtlı birey sayısı 363'tür. Komşu köyleri, Karayenice, Beydere, Paşaköy ve T.Süleymaniye'dir.

Manisa'nın Saruhanlı ilçesi sınırında küçük bir köydür. Köy 80 hane olup, ovalık bir arazi üzerindedir. Pamuk tarımı yapılmaktadır. Manisa'ya uzaklığı yaklaşık 19 km dir. Saruhanlı'ya yakın olmasından dolayı köy halkı ihtiyaçlarını ve iş imkanlarını bu ilçeden karşılamaktadır. Mevcut göçler de çoğunlukla bu ilçeye olmuştur (1970'de nüfus 983 kişidir).

Akgedik Köyü : Manisa İl Sağlık Müdürlüğü raporlarına göre kayıtlı birey sayısı 408 kişidir. Manisa-Menemen yolu üzerinde yer almaktadır. Manisa'ya uzaklığı yaklaşık 16 km dir. Ovalık bir arazi üzerine kurulmuştur. Komşu köyleri, Uzunburun, Evkaftেকে, Karaali ve Muradiye Beldesi'dir.

Köy nüfusu 1970'den beri belirgin bir azalma veya artma göstermemiştir (1970 nüfusu 347 kişidir). Bu da, köydeki nüfus artışıyla göçün aynı oranda olduğunu göstermektedir. Köy çiftçilikle uğraşmaktadır. Köy ovalık bir arazi üzerinde olduğu için daha çok pamuk yetiştirirler. Evlilikler tamamen köy içidir. Köy dışına evlilikler azdır. Akraba evlilikleri görülmemektedir.

Sancaklı Bozköy : Çevrenin en eski yerleşim birimlerinden biridir. Kuruluşunun, Osmanlı Devleti'nin ilk kurulduğu yıllara dayandığı söylenmektedir. 1500'lü yıllarda Turgutlu'nun yeni sancak bölgesi ilan edilmesinden sonra bu adı aldığı söylenmektedir.

Manisa İl Sağlık Müdürlüğü raporlarına göre kayıtlı birey sayısı 507'dir. Köy'ün merkeze olan uzaklığı yaklaşık 25 km dir.

Çevre köyleri, Sancaklı İğdecik, Tepe Köyü, Sancaklı Uzunpınar ve Karaoğlanlı'dır. Köy ihtiyaçlarını ve iş imkanlarını 3 km uzaklıktaki Karaoğlanlı beldesinden karşılamaktadır.

Köyden göç çok fazladır. Nüfus bundan önceki senelere göre önemli ölçüde azalma göstermiştir. 1970'de nüfusu 1747 olan bu köy bugün 507 kişidir. Evliliklerde herhangi bir genelleme yoktur. Evlilikler, köy içerisinde ve çevre köyler arasında yapılmaktadır .

Üçpınar Köyü: Yaklaşık beş yüz yıl önce göçebe Yörüklerinden Sıracalı'lar tarafından kurulmuştur. Sıracalı'lar ilk defa yedi hane olarak gelip yerleşmişlerdir. Depremler ve salgın hastalıklar, köyün nüfus artışını etkilemiştir. Bununla beraber çevrenin en büyük köyü olma özelliğini korumuştur.

Kurtuluş savaşından önce, Rumlar ile Türkler bir arada yaşamışlardır. Kurtuluş savaşıdan sonra köye muhacirler yerleştirilmiştir. Çevreden gelen göçmenlerle köyün nüfusu yine artmıştır. Manisa İli Sağlık Müdürlüğü raporlarına göre kayıtlı birey sayısı 1585'tir.

Manisa'nın 22 km kuzey-batısında, Yuntdağları'nın güney eteklerinde, Gediz ovasında kurulmuştur. Halk geçimini tarımın çeşitli kollarında çalışarak sağlar. Genellikle tütün, pamuk, buğday, arpa ve mısır yetiştirilir.

Köyden şehre göç vardır. Çevreden ve doğu bölgelerimizden gelip yerleşenler çoğunluktadır. Köy gelenek ve göreneklerine bağlıdır. Evliliklerde herhangi bir genellemenin olmadığı görülür.

Bu çalışmanın amacı; öncelikle Manisa'nın merkez köylerinde ciddi düzeydeki Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz (G6PD) eksikliğinin populasyon düzeyinde sıklığının belirlenmesidir. Çalışmada, akut hemolitik krize yol açabilecek düzeyde G6PD enzim eksikliğine sahip olduğu saptanan bireylerin ileriki yaşamlarında ölümcül olabilen hemolitik krizlerden korunması için kendilerine klinisyenlere danışılarak WHO-G6PD komitesinin raporları ışığında hazırlanan güncelleştirilmiş akut hemolitik kriz önlenim tablosu gönderilerek, yaşamlarının ileriki dönemlerinde hemolitik krize yakalanmamaları için uyarılmaları amaçlanmıştır.

3. MATERYAL VE METOD

3.1. MATERYAL

Bu araştırmada, ciddi düzeydeki G6PD enzimi eksikliğinin populasyon düzeyinde tespiti amacıyla, Manisa'nın belirlenen merkez köylerinde oturan 1604 bireyden alınan kan önekleri araştırma materyali olarak seğilmiştir.

meklemelerin yapıldığı merkez köylerin tespitinde, sıtmanın geğmişte endemik olduğu bölgeler ile ovalık, sulak yerlerde bulunan köyler dikkate alınmıştır. G6PD eksikliğinin sıtmanın geğmişte endemik olduğu bölgelerde daha sık gözlenmesi, ovalık ve sulak yerlerde yaşayanlarda G6PD eksikliği görülme sıklığıının deniz seviyesinden 1000 metre ve daha yükseklerde yaşayan populasyonlara kıyasla 4-5 misli daha fazla olması bu seğimin temel nedenlerini oluşturmuştur.

meklemeler Mayıs 1999 - Ekim 1999 tarihleri arasındaki altı aylık süre içerisinde yapılmıştır. Araştırmada köylere gidilmeden köy ilköğretim okulları müdürlükleri ve mevcut ise sağlık görevlileri ile irtibata geğilmiş, kan alınacak bireylerin önceden hazır bulunmaları sağlanmış, bu vesileyle, tarama yapılan birey sayısının daha fazla olması sağlanmıştir.

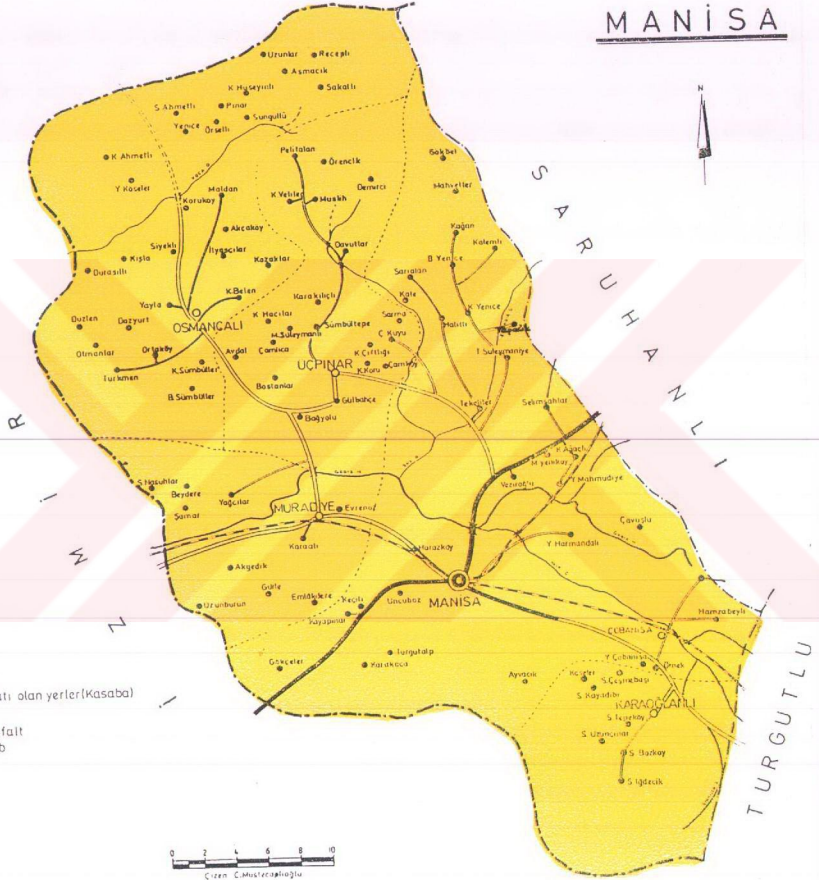
3.1.1. ARAşTIRMA BÖLGESİNİN ÖZELLİKLERİ

Manisa İl Sağlık Müdürlüğünün 1998 yılı raporlarında merkez ilęeye kayıtlı 258.559 birey bulunmaktadır. Merkeze bağlı 82 köy bulunmakta olup bunlara kayıtlı nüfus ise 31.752'dir. Manisa merkez illęeye bağlı belde ve köyler Şekil 3.1'de gösterilmiştir. Çalışma sırasında meklemelerin yapıldığı köyler ve 1998 yılı İl Sağlık Müdürlüğü raporlarına göre kayıtlı birey sayıları aşağıdaki gibidir.

Tablo 3.1: Manisa merkez ilęede, çalışmanın geręekleřtirildięi köyler ve nüfusları.

İL	İLE	Taramanın Geręekleřtirildięi Köyler	Toplam Nüfus	Taranan kişi sayısı
MANİSA	MERKEZ	pınar	1585	523
		Yeniköy	1320	268
		Yağcılar	957	126
		Horozköy	2404	477
		Sancaklı Bozköy	507	16
		Yukarı Kayapınar Köyü	385	103
		Belen Yenice	266	14
		Tepecik Köyü	363	15
		Akgedik Köyü	408	23
		Karakılınçlı Köyü	477	39
		TOPLAM		8672

MANİSA



Şekil 3.1: Manisa merkez ilçeye bağlı belde ve köylerin coğrafik konumlarını gösteren harita.

Tablo 3.1'de görüldüğü gibi Manisa merkeze bağlı köylerden 10'unda G6PD eksikliği taraması yapılmış olup, bu köylerin toplam nüfusu 8672 kişidir. Bunlardan 1604 birey üzerinde test uygulanırken kadın - erkek ayrımı gözetilmemiştir. Ayrıca belli bir enfeksiyona bağlı olarak hasta olan veya belirtilerini gösteren bireyler çalışmaya alınmamıştır. Çünkü, normal koşullar altında akyuvarlar, G6PD enzim aktivitesi miktarına çok az katkıda bulunurlar. Buna karşılık sayılarının arttığı dönemlerde ise bu katkı çok önemli olabilmektedir.

3.1.2. FLORESANS SPOT TEST ÇÖZELTİSİNİN HAZIRLANMASI

Bu araştırmada, Manisa'nın merkez köylerinde yaşayan bireylerin ciddi düzeyde G6PD enzimi eksikliğine (severe - full - deficient) sahip olup olmadıklarını saptamada, floresans spot testi tercih edilip kullanılmıştır.

Ciddi düzeyde (severe-full-deficient) G6PD eksikliğinin kalitatif olarak saptanmasında, Beutler'in Floresans Spot testinin ticari kiti yerine, Uzunoğlu S. (1995) tarafından hazırlanan ve standardize edilen Floresans Spot testi kullanılmıştır. Tercih edilen bu test, Uzunoğlu tarafından Uluslararası Hematoloji Standardizasyon Komitesinin belirlediği kompozisyona ve miktarlara uyularak modifiye edilmiş, SİGMA'nın Normal Kontrol (9-12 Ü gr/Hb) ve Kontrol Hasta (Deficient) (0.0- 0.4 Ü gr/Hb) standartları kullanılarak, standardize edilmiştir.

Tablo 3.2: Floresans spot testi çözeltisinde kullanılan kimyasallar ve konsantrasyonları

KİMYASALLAR	Stok Çözelti	Gerekli Miktar
Glukoz-6-Fosfat . (G6P) (Sodyum tuzu- Sigma G-7879)	10 mmol/L	10 ml
β -NADP.(Sodyum tuzu. Sigma - N0505)	7.5 mmol/L	5 ml
Saponin (%1) (SigmaS-2149)	10 gr/L	10 ml
Tris-HCl (pH:7.8) (Sigma MW:157.67) (pH'sı 1M NaOH ile 7.8'e ayarlanır).	750 mmol/L	15 ml
Oxidized Glutathione Sodyum.tuzu Sigma G-4626)	8 mmol/L	5 ml
Deiyonize Su - 17 megohm/cm(Tip-1)	-	5 ml
	Toplam	50 ml

Yukarıdaki kimyasalların, belirtilen konsantrasyonlarından, belirtilen miktarlarda alınarak reaktif karışımı, 500'lük deney setleri şeklinde hazırlanmış, birbuçuk ml'lik ependorf tüplerine dağıtılarak dipfirizde (-20 °C)'de saklanmıştır. Dipfirizde saklanan aliquotlar, tekrar tekrar çözünüp dondurulmadıkça 6 ay stabildir. Yukarıdaki kimyasallar moleküler grade olup, sigma firmasından satın alınmıştır.

Stok çözelti:

Floresans spot testi çözeltisinde, sigma moleküler grade kalitesinde kimyasallar ve tip-1 kalitesinde deiyonize su (17 megaohm/cm) kullanılmıştır.

G6P (10 mmol/L) :

28,21 miligram (mg) G6P tartılıp 17 megaohmluk 10 ml deiyonize suda çözününceye kadar karıştırıldı.

β -NADP (7,5 mmol/L) :

28,7 mg β -NADP tartılarak 5 ml deiyonize suda çözüldü.

Saponin (% 1) (10 gr/L) :

0,1 gram Saponin tartılarak 10 ml deiyonize suda çözünmesi sağlandı.

Oxidized Glutathione (8 mmol/L) :

26,24 mg Oxidized Glutathione tartılarak 5 ml deiyonize suda çözüldü.

Tris - HCl (750mmol/L) :

1,77 gram Tris-HCl tartıldı ve 15 ml deiyonize suda çözülmesi sağlandı. Daha sonra 1M NaOH ilave edilerek pH= 7,8 değerine ayarlandı.

3.1.3. DİĞER MALZEMELER

• G6PD Kontrol, Normal (Sigma G-6888) : 0,5 ml distile su, G6PD kontrol vialine eklenir. Beş dakika beklenir. Hassasça karıştırılır. -20 °C de 2 hafta stabildir.

• G6PD Kontrol, Defect (Sigma G-5888) : 0,5 ml distile su, G6PD defect şişesine eklenir. 5 dakika beklenir. Hassasça karıştırılır. -20 °C de 2 hafta saklanabilir.

• İki adet ayarlanabilir otomatik pipet

- Bir adet 10-100 μ l arası

- Bir adet 1-20 μ l arası

• Heparin (Liquemine, 25000 I.U /5 ml)

• Ependorf Tüp (1,5 ml)

• Whatman kağıdı (No:1 ve çap:12.5 cm)

• Sarı pipet ucu

• Lanset, alkol ve pamuk

• Microtiter plate

• Buzluk

• ULTRAVİYOLLE İLLÜMİNATÖR

- MULTİBAND UV-254/366

- UVGL-58 model

- UVP, Upland, USA.

3.2. METOD

Araştırma konumuzu oluşturan ciddi düzeydeki G6PD enzimi eksikliğinin tespiti için, merkez köylerde oturan bireylerden, kan örneklerinin alınması işlemi Mayıs 1999 - Ekim 1999 ayları arasında gerçekleştirilmiştir. Çalışma alanlarının, Fakültemiz laboratuvarlarına uzak olması nedeni ile alınan örnekler, soğutucu sistem yardımıyla, laboratuvara getirildikten sonra zaman geçirmeden analize hazırlama işlemlerine başlanmıştır.

Kan örneklerin alınması ve analize hazırlanması sırasında, herhangi bir bulaşmaya meydan vermemek için steril çalışılmıştır. Bireylerden kan alınırken ve örnekler incelenirken tek kullanımlı (single use) sarf malzemeler kullanılmıştır.

3.2.1. KAN ÖRNEKLERİNİN ALINMASI VE SAKLANMASI

Bu çalışma, Manisa'nın merkez köylerine kayıtlı ve halen orada yaşamakta olan bireylerden toplanan parmak ucu kan örneklerinde gerçekleştirilmiştir. Bireylerden kan örnekleri alınmadan önce, örneklerin alınacağı endorf tüpler numaralandırılıp, numaralanan bu tüplere 5 µl Heparin (Liquemine, 25000 I.U /5 ml) konulmuştur. Total kan EDTA'lı heparinli veya asid sitratlı tüplere alınabilmektedir. Bu çalışmada kanlar heparinli tüplere alınmıştır.

Kanlar, parmak ucundan heparinize endorf tüplerine alınıp soğuk kaplarda laboratuvara taşınarak, çalışılincaya kadar +4 °C de saklanmıştır. Arazi çalışmaları sırasında Tablo 3.3'deki form kullanılmış, gereken bilgiler ve notlar kaydedilmiştir.

3.2.2. FLORESANS SPOT TEST (FST) UYGULAMA PROTOKOLÜ

- Derin dondurucudan, donmuş stok test çözeltisinden gereği kadar çıkarılarak soğuk odada çözünmesi sağlandı.

- Çözünmüş reaktif, otomatik pipet ile daha önce numaralandırılmış microtiter plate kuyucuklarının herbirine 100 'er µl dağıtıldı.

- Heparinize endorf tüplere alınmış ve +4⁰C'de saklanmış kan örnekleri ve Sigma standartları homojenize edildikten sonra işaretli tüplere 5'er µl dağıtıldı. Her bir microtiter plate kuyucuğuna konan kan örneklerinin ve standartların reaktif içinde lizis olması sağlandı. Lizisi takiben enzimatik reaksiyon başlamaktadır.

- Tüpler oda sıcaklığında (25 ± 1⁰C) 10 dk. inkübe edildi.

- 10 dakikalık inkübasyon sonunda bireye göre numaralandırılan her bir kuyucuktan 10 µl alınarak uygun aralıklarla whatman 1 nolu kağıdı üzerine damlatıldı. Whatman kağıtları doğrudan güneş ışını almayan kapalı alanlarda oda sıcaklığında 5-10 dk kurumaya bırakıldı.

Tablo 3.3: Arazi çalışmalarında kullanılan form örneği.

Tarih:/...../1999

İl - İlçe : MANİSA / Merkez

Sıra	TÜP NO	Cinsiyeti	ADI SOYADI	Köy Adı	Not
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					
27					
28					
29					
30					

• Whatman üzerindeki kurumuş hemolizat + test çözültüsü karışımı spotlar, Ultraviyole lamba altında karanlıkta doğrudan incelemeye alındı. Örnekler kuruduktan sonra ilk 30 dakika içinde incelenip değerlendirildi. Her deney setinde kullanılan Sigma standartları (kontrol sağlam ve kontrol hasta) örneklerinde oluşan renklerle, örneklerin spotları karanlık odada ultraviyole ışık altında karşılaştırıldı (Uzunoğlu, 1995).

3.2.3. FLORESANS SPOT TESTİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Whatman kağıdı üzerine damlatılan ve kurutulan reaksiyon örneği spotları, ilk 30 dakika içerisinde değerlendirilmiştir. Karanlıkta, ultraviyole ışık altında doğrudan çıplak gözle incelendiğinde, G6PD enzim aktivitesi normal olan veya ciddi düzeyde G6PD eksikliği içermeyen kan örnekleri, reaksiyona konan kan örneğinin hemoglobin miktarına bağlı olarak açık - koyu yeşilimsi renk (floresans parlaklık) vermektedir. Bu durumda testin sonucu, ciddi düzeydeki G6PD eksikliği açısından negatif olarak değerlendirilmiştir.

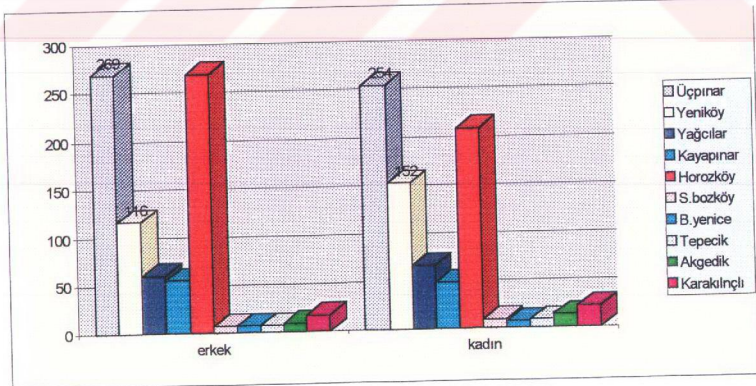
Kan örneklerine ait reaksiyon spotları ultraviyole ışık altında floresans parlaklık vermiyorsa (spotlar açık veya koyu kahverengimsi renkte görünüyorsa), bu renk ciddi düzeydeki enzim eksikliğinin (severe - full - deficient) göstergesi kabul edilir. Dolayısıyla test sonucu, ciddi düzeydeki G6PD eksikliği açısından pozitif olarak değerlendirilmiştir. Ciddi düzeyde G6PD eksikliği saptanan kan örneklerinin üçlü seyreltimleri, ikişer defa çalışılarak hemoglobin miktarına bağlı olarak oluşabilecek yanlış pozitifliklerden kaçınılmıştır.

4. BULGULAR

Ciddi düzeydeki G6PD enzimi eksikliğinin populasyon düzeyinde tespiti amacıyla Manisa'nın belirlenen merkez köylerinde oturan 1604 bireye floresans spot testi uygulanmıştır. Manisa'nın merkeze bağlı köylerinde oturan 1604 bireyin cinsiyete ve yerleşim yerlerine ait verileri Tablo 4.1'de gösterilmiştir.

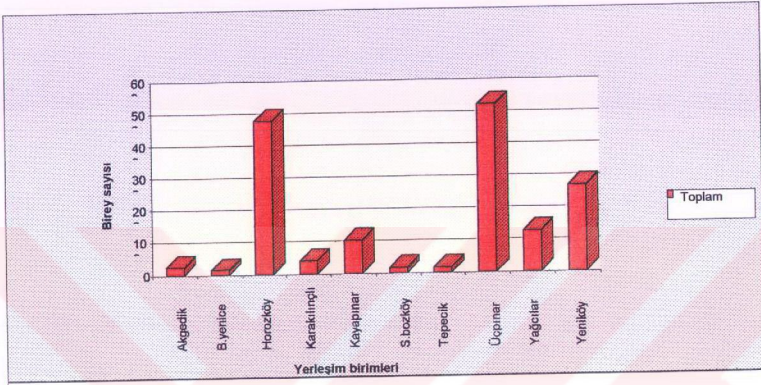
Tablo 4.1: Tarama yapılan bireylerin cinsiyete ve yerleşim birimlerine göre dağılımları.

Köyler	Erkek		Kadın		Toplam	
	Kişi sayısı	%	Kişi sayısı	%	Kişi sayısı	%
Üçpınar	269	51,43	254	48,57	523	32,6
Yeniköy	116	43,28	152	56,72	268	16,7
Yağcılar	60	47,62	66	52,38	126	7,85
Horozköy	269	56,4	208	43,6	477	29,74
Sancaklı Bozköy	7	43,75	9	56,25	16	1
Y. Kayapınar Köyü	55	53,4	48	46,6	103	6,42
Belen Yenice	7	50	7	50	14	0,87
Tepecik Köyü	7	46,66	8	53,34	15	0,94
Akgedik Köyü	9	39,13	14	60,87	23	1,43
Karakılınçlı Köyü	17	43,59	22	56,41	39	2,43
TOPLAM	816	50,87	788	49,13	1604	100



Şekil 4.1: İncelenen erkek ve kadın bireylerin köylere göre dağılımı.

İncelenen bireylerden % 50,87 (816)'si erkek, % 49,13 (788)'i kadındır. Bunlardan % 32,6'sı Üçpınar'da, % 29,74'ü Horozköy'de, % 16,7'si Yeniköy'de, % 7,85'i Yağcılar'da, % 6,42'si Yukarı Kayapınar Köyü'nde, % 2,43'ü Karakılınçlı'da, % 1,43'ü Akgedik Köyü'nde, % 1'i Sancaklı Bozköy'de, % 0,94'ü Tepecik Köyü'nde, % 0,87'si Belen Yenice'de bulunmaktadır.



Şekil 4.2: Örnekleme yapılan bireylerin yerleşim birimlerine göre dağılımı.

4.1. FLORESANS SPOT TEST SONUÇLARI

816 erkek ve 788 kadından oluşan 1604 bireyden alınan kan örneklerinin Floresans Spot Testi ile incelenmesi sonucunda 35 bireyde G6PD enzimi eksikliği saptanmıştır. Bireylerin isimleri ve buldukları yerleşim birimleri Tablo 4.2'de verilmiştir.

Ciddi düzeyde enzim eksikliği saptanan 35 olgu, Floresans Spot Testi ile ilk defa saptanmış olup, bireyler arasında yakın akrabalık bağının olmadığı belirlenmiştir.

Floresans Spot Testin ciddi düzeyde enzim eksikliğini ortaya çıkardığı konusunda yapılan laboratuvar çalışmalarında Sigma Diagnostics firmasının G5888 ve G6888 katalog numaralı kontrolleri kullanılmıştır. Tüm çalışmalarda, testin özgüllüğüne duyarlılığının % 100 olduğu gözlenmiştir.

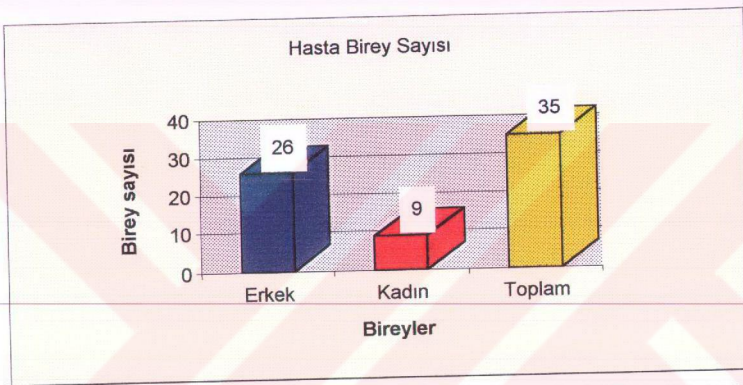
G6PD enzimi eksikliği gösteren olguların cinsiyete göre dağılımı Tablo 4.3 ve Şekil 4.3'de gösterilmiştir. Ciddi düzeyde G6PD enzimi eksikliği görülme sıklığı erkeklerde % 3,2 ; kadınlarda % 1,14 ve inceleme yapılan bireylerin tümünde % 2,2 olarak bulunmuştur.

Tablo 4.2: Ciddi düzeyde enzim eksikliği saptanan bireylerin isimleri ve buldukları yerleşim birimleri.

SIRA NO	ADI-SOYADI	CİNSİYETİ	YERLEŞİM BİRİMİ
1.	E. Açıkğöz	E	Üçpınar
2.	E. Bilgili	E	Üçpınar
3.	B. Karabaş	E	Üçpınar
4.	M. A. İkiz	E	Üçpınar
5.	V. Üzüm	E	Üçpınar
6.	D. Günlü	E	Üçpınar
7.	İ. Karaca	E	Üçpınar
8.	S. Gümüştekin	K	Üçpınar
9.	A. Gelir	E	Üçpınar
10.	E. Dağkılıç	E	Üçpınar
11.	İ. Çeliker	E	Yeniköy
12.	R. Ceylan	E	Yeniköy
13.	U. Akbaşlı	E	Yeniköy
14.	M. Buran	K	Yeniköy
15.	P. Evren	K	Yeniköy
16.	Ş. Eroğlu	E	Yeniköy
17.	A. Güleşçi	K	Yeniköy
18.	E. Bosdur	E	Yeniköy
19.	Ş. Eygi	E	Yeniköy
20.	M. Balaban	E	Yağcılar
21.	H. Uyanık	K	Yağcılar
22.	H. Atasızata	E	Yağcılar
23.	C. Yolcular	K	Horozköy
24.	E. Yorulmaz	E	Horozköy
25.	K. Boztaş	E	Horozköy
26.	Ö. Kalay	E	Horozköy
27.	Ö. Akboğa	E	Horozköy
28.	F. Boztaş	E	Horozköy
29.	S. Gündoğdu	K	Horozköy
30.	M. Uyaroğlu	E	Sancaklı Bozköy
31.	S. Kırmızııkaya	K	Yukarı Kayapınar
32.	S. Ekmekçi	E	Yukarı Kayapınar
33.	A. Kopal	E	Yukarı Kayapınar
34.	D. Öztürk	K	Belen Yenice
35.	M. Semiz	E	Tepecik

Tablo 4.3: Tarama yapılan bireylerde ciddi düzeyde G6PD enzimi eksikliği görülme sıklığı.

	Taranan Birey Sayısı	Normal Birey Sayısı	G6PD Enzimi Eksikliği Saptanan Birey Sayısı	
			SAYI	ORAN (%)
ERKEK	816	790	26	3,2
KADIN	788	779	9	1,14
TOPLAM	1604	1569	35	2,2

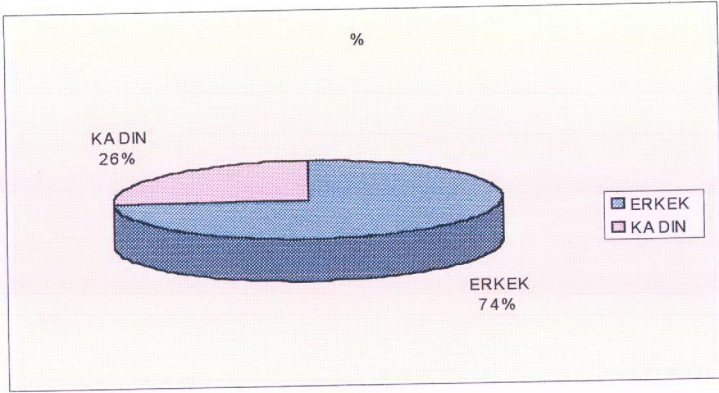


Şekil 4.3: Tarama yapılan bireylerde cinsiyete bağlı ciddi düzeyde G6PD enzimi eksikliği görülme sıklığı.

Ciddi düzeyde G6PD enzim eksikliğine sahip 35 bireyin 26'sı erkek (% 74,3) ve 9'u kadın (% 25,7) olup aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulunmuştur ($p < 0.001$).

Tablo 4.4: Ciddi düzeyde G6PD enzim eksikliği gösteren bireylerin cinsiyete göre dağılımı.

	Ciddi Düzeyde G6PD Enzimi Eksikliği Saptanan Birey Sayısı	
	SAYI	ORAN (%)
ERKEK	26	74,3
KADIN	9	25,7
TOPLAM	35	100

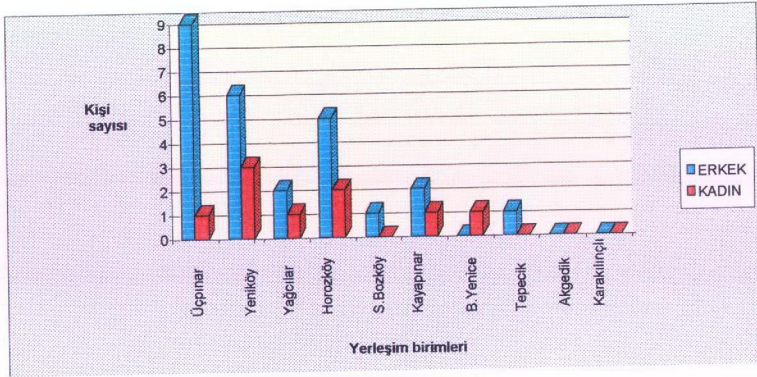


Şekil 4.4: Erkek ve kadın olgularda ciddi düzeyde G6PD enzim eksikliği sıklığı.

816 erkek ve 788 kadından oluşan 1604 bireyden alınan kan örneklerinin floresans spot testi ile incelenmesi sonucunda, ciddi düzeyde enzim eksikliği saptanan ve yakın akraba olmayan 35 olgunun yerleşim birimlerine göre dağılımı Tablo 4.5'de verilmiştir. Ciddi düzeyde enzim eksikliğine sahip bu olguların cinsiyete göre dağılımları da Şekil 4.5'de gösterilmiştir.

Tablo 4.5: Ciddi düzeyde G6PD enzimi eksikliği saptanan ve yakın akraba olmayan 35 olgunun yerleşim birimlerine göre dağılımı.

YERLEŞİM BİRİMİ	KİŞİ SAYISI		
	ERKEK	KADIN	TOPLAM
Üçpınar	9	1	10
Yeniköy	6	3	9
Yağcılar	2	1	3
Horozköy	5	2	7
Sancaklı Bozköy	1	0	1
Y. Kayapınar	2	1	3
Belen Yenice	0	1	1
Tepecik	1	0	1
Akgedik	0	0	0
Karakılınçlı	0	0	0
TOPLAM	26	9	35

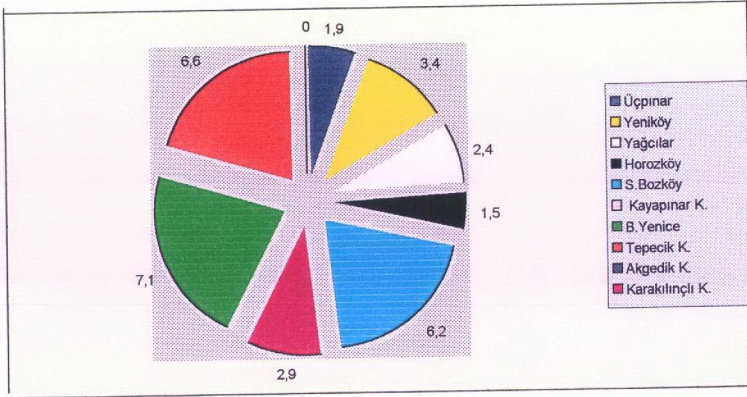


Şekil 4.5: Ciddi düzeyde enzim eksikliğine sahip 35 olgunun cinsiyete göre dağılımları

Ciddi düzeyde G6PD enzimi eksikliğine sahip 35 olgunun yerleşim birimlerinde görülme sıklığı Tablo 4.6' da gösterilmektedir. En fazla oran % 7,1 ile Belen Yenice köyüne ait iken, en az oran ise, yapılan laboratuvar ölçümleri sonucunda herhangi bir olguya rastlanılmayan Akgedik ve Karakılınçlı köylerine aittir.

Tablo 4.6: Ciddi düzeyde G6PD enzimi eksikliğine sahip 35 olgunun yerleşim birimlerinde görülme sıklığı.

YERLEŞİM BİRİMİ		Taranan Birey Sayısı	G6PD Enzimi Eksikliği Saptanan Birey Sayısı	
			SAYI	ORAN (%)
1. GRUP	Üçpınar	523	10	1,9
	Yeniköy	268	9	3,4
	Yağcılar	126	3	2,4
	Horozköy	477	7	1,5
	Y. Kayapınar	103	3	2,9
2. GRUP	Sancaklı Bozköy	16	1	6,2
	Belen Yenice	14	1	7,1
	Tepecik	15	1	6,6
	Akgedik	23	0	----
	Karakılınçlı	39	0	----

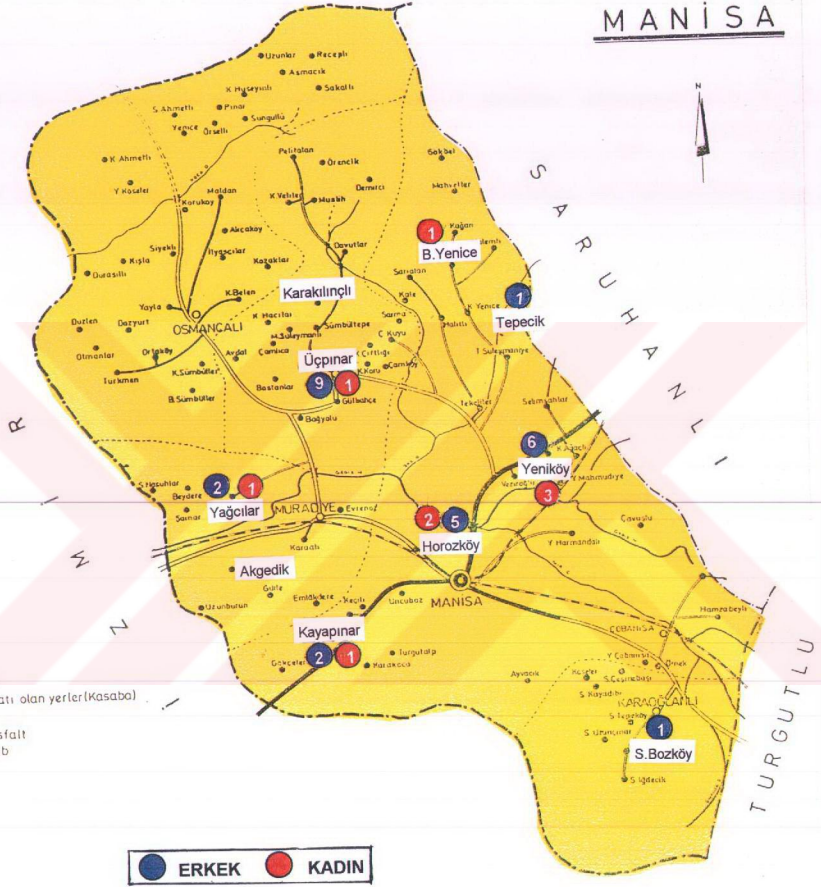


Şekil 4.6: Ciddi düzeyde G6PD enzimi eksikliğine sahip bireylerin yerleşim birimlerinde görülme sıklığı (%).

Tablo 4.6 'nın sonuçlarına göre, yerleşim birimleri arasında ciddi düzeyde enzim eksikliği görülme sıklığı açısından istatistiksel analizler yapılmıştır, Mevcut yerleşim birimleri tarama yapılan birey sayısına göre 2 gruba ayrılmıştır. 1. Grupta Üçpınar (523), Yeniköy (268), Yağcılar (126), Horozköy (477) ve Y.Kayapınar (103) köyleri yer almıştır. Bu grupta ciddi düzeyde G6PD enzim eksikliği sıklığı en çok % 3,4 oranıyla Yeniköy'de görülürken, en az % 1,5 ile Horozköy'de rastlanılmıştır. Bu grup içerisinde yer alan yerleşim birimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

2. Grupta ise ; Sancaklı Bozköy (16), Belen Yenice (14), Tepecik (15), Akgedik (23) ve Karakılınçlı (39) köylerinden oluşturulmuş olup, ciddi düzeyde G6PD enzim eksikliği görülme sıklığı en çok % 7,1 ile Tepecik Köyü'nde ; en az ise yapılan incelemeler sonunda hasta birey rastlanılmayan Akgedik ve Karakılınçlı köylerinde bulunmuştur. Bu grupta yer alan yerleşim birimleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

MANİSA



Şekil 4.7: Ciddi düzeydeki G6PD enzimi eksikliği olgusu saptanan ve yakın akraba olmayan bireylerin coğrafik dağılımı.

5. TARTIŞMA

G6PD enzim eksikliği, klinik önemi bakımından görülme sıklığı en fazla olan kalıtsal metabolik hastalıklardandır. Kalıtsal metabolik hastalıklar insan yaşamında doğrudan veya koşullara bağlı olarak sağlık sorunlarına yol açabilmektedir. G6PD enzim eksikliğine sahip milyonlarca kişide bu durumda etkilenmiş bulunmaktadır.

G6PD enzim eksikliği, koşullara bağlı olarak (besin ve ilaçların alımı ile bazı hastalıklar) ölümcül olabilen akut hemolitik krize yol açmaktadır. Doğum sonrası gelişen ciddi yenidoğan sarılığının nedenlerinden biridir. Ayrıca yenidoğan ölümlerinin başlıca nedenlerinden biri olan kernikterusa yol açmaktadır (Demircan, 1996).

Görülme sıklığının yüksek olması kullanılan bazı ilaçlarla hemoliz görülme riskini bireylerde artırması gibi sebeplerden dolayı, G6PD enzim eksikliğinin doğru ve güvenilir testlerle belirlenmesi önem taşımaktadır (Huang, 1996).

Dünya Sağlık Örgütü G6PD eksikliği çalışma komitesinin (WHO-G6PD) önerileri doğrultusunda klinik bakımından hastalığın hızlı ve doğru tanısı çok önemlidir ve bazen ölüm ile hayat arasında bir seçim olabilmektedir. Özellikle yenidoğanlarda bu konu daha da hayati bir öneme sahiptir. G6PD enzim eksikliği gibi konjenital hastalıklarda enzim eksikliğinin tanımlanmaması veya geç tanımlanması ölümlere neden olmaktadır.

Manisa'nın merkez köylerinde, tarama yapılan bireylerin G6PD enzimi eksikliğine sahip olup olmadıklarını saptamada, Floresans Spot Testi tercih edilmiştir. Floresans Spot Testi, sadece ciddi düzeydeki G6PD enzim eksikliğini hemizigot erkekler ve homozigot dişilerde saptamada geçerliliği yüksek olan bir testtir. Bununla birlikte Uluslararası Hemotoloji Standardizasyon Komitesince standardize edilen ve WHO- G6PD grubunca önerilen en geçerli test Floresans Spot Testidir (Uzunoğlu, 1995).

Floresans Spot Testinin uygulanması öncesinde test için kullanılan çözelti (Floresans Spot Test Çözeltisi), Sigma standartları G6PD kontrol - Normal (Sigma G-6888) aktivite düzeyi (4,6 - 13,0 Ü gr / Hb) ve G6PD kontrol - Hasta (severe - full - deficient) (Sigma G-5888) aktivite düzeyi (0,0 - 0,4 Ü gr / Hb) kullanılarak kalibre edilmiştir.

Floresans Spot Testi sonuçları değerlendirilirken yukarıda aktivite sınırları verilen Sigma standart kontrol -Sağlam ve Sigma standart kontrol -Hasta hemolizat örneklerinin oluşturduğu renkler esas alınmıştır. UV lamba altında sağlam kişiye ait hemolizat açık veya koyu yeşil renk, hastaya ait hemolizat ise kahverengi renk vermektedir. Bu renkler esas alınarak incelenen örneklerde, ciddi düzeyde G6PD enzimi eksikliği var veya yok tanısı konmuştur. Ciddi düzeyde G6PD eksikliği saptanan kan örnekleri, hemoglobinin yüksek konsantrasyonuna bağlı olarak ortaya çıkabilecek olası yanlış pozitifliklerin önlenmesi amacıyla, farklı seyreltiler yapılarak çalışılmış ve böylece renk oluşumundaki farklılıklar standardize edilmiştir.

Spot test reaksiyonu sonrası Whatman kağıdına damlatılan tüm örnek spotlar 5-10 dakikalık kurumayı takip eden ilk 20 dakika içerisinde değerlendirilmiş, olası yanlış pozitifliklerden kaçınılmıştır. Floresans Spot Test ile yapılan başka çalışmalarda da benzer sonuçlarla karşılaşılmış, yanlış pozitif sonuç veren noktaların standardize edilmesi gerekliliğine dikkat çekilmiştir. Şimdiye kadar yayınlanmış literatür verilerinin tümünde Floresans Spot Testin normal değerinin % 10 ve altında enzim aktivitesi içeren kan örneklerinde daima negatif sonuç verdiği belirtilmektedir. Bu verilerin ışığında Floresans Spot Test, bireyin ciddi düzeyde enzim eksikliğine sahip olduğunu ortaya koyarken, spot testin negatif sonucundan kişinin G6PD eksikliğine sahip olmadığını söyleyebilmek, testin geçerlilik ve güvenilirlik sınırlarının dışında kalmaktadır (Uzunoğlu, 1995).

Çalışmanın temel amacı, ciddi düzeyde G6PD enzim eksikliğine sahip bireylerin tespiti olduğundan, enzim eksikliği görülen olguların enzimatik aktivite düzeylerinin ayrıca kantitatif olarak saptanmasına gerek duyulmamıştır.

Bu araştırmada, Manisa'nın belirlenen merkez köylerinde oturan 1604 bireyden alınan kan örneklerine Floresans Spot Testi uygulanarak, ciddi düzeydeki G6PD enzimi eksikliği populasyon düzeyinde tespit edilmiştir.

Floresan Spot Testi sonucu elde edilen verilerle tablo ve şekiller hazırlanmış; örneklemelerin yapıldığı bireylerin cinsiyetleri arasında ve örneklemelerin yapıldığı köyler arasında önemli farklılıklar olup olmadığını saptamak amacıyla varyans analizleri uygulanmıştır.

Örnek grubumuzu oluşturan 1604 kişinin 35'inde ciddi düzeyde enzim eksikliği saptanmıştır. Genel olarak ciddi düzeyde enzim eksikliği görülme sıklığı erkeklerde % 3,2 , kadınlarda %1,14 ve toplam bireylerde %2,2 olarak bulunmuştur. Ciddi düzeyde enzim eksikliği görülen 35 erkek ve kadın olguda G6PD enzimi eksikliği görülme sıklığı yapılan varyans analizi sonucunda erkeklerde belirgin olarak yüksek bulunmuştur (25,7 / 74,3) (Tablo 4.3, 4.4 ve Şekil 4.3, 4.4). Bunun da nedeni G6PD enzimini şifreleyen genin dölden döle geçişinin X'e bağlı kalıtımın özelliklerini taşımasıdır. Erkeklerde X kromozomundaki genetik bilgilerin birer kopyası mevcutken, dişilerde iki kopya vardır (XY / XX). X'e bağlı kalıttan dolayı ciddi düzeyde G6PD enzimi eksikliği daha çok hemizigot erkeklerde ve homozigot dişilerde ortaya çıkmaktadır.

Yerleşim birimleri arasında ciddi düzeyde enzim eksikliği görülme sıklığı Tablo 4.6 ve Şekil 4.6' da verilmiştir. Yerleşim birimleri tarama yapılan birey sayısına göre iki gruba ayrılmıştır. Üçpınar (523), Yeniköy (268), Yağcılar (126),Horozköy (477) ve Yukarı Kayapınar (103)'ün yer aldığı grup içerisinde yer alan yerleşim birimleri arasında ciddi düzeyde G6PD enzim eksikliği görülme sıklığı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0,05$).

Sancaklı Bozköy (16), Belen Yenice (14), Tepecik (15), Akgedik (23) ve Karakılınçlı (39) köylerinin yer aldığı grup içerisinde yer alan yerleşim birimleri arasında da istatistiksel açıdan anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$).

Bu grup içerisinde yer alan yerleşim birimleri arasında, ciddi düzeyde G6PD enzim eksikliği görülme sıklığındaki değişimlerin örnekleme sayısının az olmasından kaynaklanabileceği düşünülmektedir.

Manisa yöresinde G6PD enzimi eksikliği konusunda yapılan çalışmaların çok sınırlı sayıda olduğu görülmüştür.

1999 yılında, Demircan K.'nin yaptığı benzer bir çalışma Manisa ve yöresinde yeni doğan ve erişkinlerde G6PD enzim aktivitesinin normal değerleri saptanmıştır. Çalışmanın sonucuna göre, tarama yapılan 601 bireyde ciddi düzeyde G6PD enzim eksikliği görülme sıklığı erkeklerde % 5,37, kadınlarda % 0,62 ve toplam olgularda %2,82 olarak bulunmuştur. Elde edilen sonuçlar, yaptığımız çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar ile karşılaştırıldığında değerlerin birbirine yakın olduğu sonucuna varılmıştır.

Türkiye'nin değişik coğrafik bölgelerinde de G6PD enzimi eksikliği konusunda yapılan çalışmalar az sayıdadır.

1985 yılında Esen'in, Antalya Doğumevi ve SSK hastanesindeki yenidoğanlardan alınan 500 kordon kanında G6PD enzimi eksikliği erkeklerde %2,65, kadınlarda % 2,12 ve tüm bireylerde 2,4 olarak bulunmuştur (Demircan, 1999). Bu değerlerin, çalışmamız sonucu elde ettiğimiz değerlerle arasında farklar görülmemiştir.

Methemoglobin indirgenme testi ile, Alanya ve yöresinde Sipahioğlu'nun yaptığı bir çalışmada, G6PD enzim eksikliği erkeklerde % 25, kadınlarda %31-37 olarak bulunmuştur. Bu değerlerin, elde ettiğimiz değerlerle karşılaştırılması sonucunda enzim eksikliği görülme sıklığında önemli ölçüde farkların olduğu görülmüştür. Bunun nedeninin, uygulanan testin ilk olarak 1962 yılında gerçekleştirilen standartlara uyulmasından ve testin değerlendirilmesinde yanlış pozitiflik noktasında yapılan hatalardan kaynaklandığı düşünülmüş ve elde edilen sonuçların doğruluğu şüpheli bulunmuştur.

Kılınç Y. ve arkadaşları Adana'da 1982 ve 1986 yıllarında gerçekleştirdikleri çalışmalarda, birinde % 1, bir diğerinde % 20,2 oranında G6PD eksikliği saptamışlardır. Bu sonuçlar karşılaştırıldığında bazı tutarsızlıklar görülmüştür. Yine 1986 yılında Akoğlu T. ve arkadaşları Adana civarında yaşayan Eti Türklerinde G6PD eksikliğinin % 11,2 ve % 4,9 arasında değiştiğini saptamışlardır. Ancak bu farklılığın, içindeki alt gruplardan mı kaynaklandığı hususu ile nedenleri belirtilmemiştir.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu araştırmada, Manisa'nın belirlenen merkez köylerinde oturan, 1604 bireyden alınan kan örnekleri üzerinde çalışılmıştır. Ölümcül olabilen akut hemolitik anemiye ve ciddi yenidoğan sarılığına yol açabilecek düzeyde G6PD enzimi eksikliğine sahip olguların doğru şekilde saptanmasını sağlayan ve WHO - G6PD grubunca önerilen, Uluslararası Hematoloji Komitesince güncelleştirilen ve standardize edilen ve böylece doğruluğu, güvenilirliği, geçerliliği kabul edilen floresans spot testi uygulanarak ciddi düzeyde G6PD enzimi eksikliği popülasyon düzeyinde tespit edilmiştir.

Örnek grubumuzu oluşturan 1604 kişinin 35'inde ciddi düzeyde G6PD enzimi eksikliği saptanmış ve enzim eksikliği görölme sıklığı erkeklerde % 3,2, kadınlarda % 1,14 ve toplam bireylerde % 2,2 olarak bulunmuştur.

Elde edilen değerler sonucu ciddi düzeyde G6PD enzimi eksikliği görölme sıklığının erkeklerde belirgin olarak yüksek olduğu görölmüştür. Buna karşın, örneklemelerin yapıldığı yerleşim birimleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar bulunamamıştır.

Manisa yöresine ait, bu konuda yapılan çalışmalar az sayıdadır. Bu alışma Floresans Spot Testi uygulanarak yapılan tek çalışma olup, taranan kişi sayısının çokluğu bakımından en geniş kapsamlı araştırma olduğu düşünölmektedir.

Araştırma bölgemizde ciddi düzeyde G6PD enzimi eksikliği görölme sıklığının %2,2 olarak bulunması, bu kalırsal ve metabolik eksikliğin önemli bir sağlık sorunu olduğunu göstermektedir.

Yapılan bu alışma, Manisa yöresinde belli bir yöreyi kapsadığı halde, ciddi düzeyde G6PD enzimi eksikliği görölen kişi sayısının çokluğu, bu konuda yapılan araştırmaların artırılması gerekliliğini ortaya koymaktadır. Hemolize neden olan ilaç çeşitlerinin oldukça fazla olması ve toplumumuzda yaygın olarak bakla tüketilmesi nedeniyle de ciddi düzeyde G6PD enzimi eksikliği bulunan bireylerin saptanmasının ve bu konuda bilinçlendirilmesinin önemi ortaya çıkmaktadır.

Ayrıca bu araştırmanın, bölgede ileride yapılacak daha geniş kapsamlı çalışmalara önemli bir katkı sağlayacağı da açıktır.

KAYNAKLAR

1. Aksoy, M. (1975). Hematoloji 1. Eritrosit Hastalıkları. İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Yayınları. İstanbul. Sayfa:454-468.
2. Arese, P., De Flora, A. (1990). Pathophysiology of Hemolysis in Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. *Seminars in Haematology*. Vol.27 (1). pp: 1-40
3. Bağcı, H., Yücel, G., Aksu T.A. (1998). Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Yetmezlikli Bireylerde Mutasyonların Genetik Mühendisliği Teknikleri ve Enzim Varyantlarının Biyokimyasal Metodlar ile Belirlenmesi. Tübitak Proje No: SBAG 1467.
4. Benson, P.F ve Fensom, A.H. (1985). *Genetic Biochemical Disorders*. Oxford Univ. Press. Oxford. pp:386-396.
5. Betke, K., Beutler, E., et al. (1967). Standardization of procedures for the study of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase: report of a WHO Scientific Group. WHO Tech. Rep. Ser. No:366.
6. Beutler, E. (1990). Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. Chapter 58 in *Haematology* edited by Williams W.J et al. International edition. Mc Graw Hill, Newyork. Pp:591-606
7. Beutler, E. (1991). Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. *Current Concepts*. The New England J. Medicine. Vol.324(3). pp:169-174.
8. Beutler, E. (1993). Study of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase : History and Molecular Biology. *Am.J. Haematology*. Vol.42. pp:53-58.
9. Beutler, E. (1994). G6PD Deficiency. *Blood*. Vol. 84 (11). Pp:3613-3636.
10. Catalona, E.W., Johnson, G.F., et al. (1975). Measurement of Erythrocyte Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Activity with a Centrifugal Analyzer. *Clinical Chemistry*. Vol.21(1). pp:134-138.
11. Demircan, K. (1999). Manisa ve Yöresinde Yenidoğan ve Erişkinlerde Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Enzim Aktivitesinin Normal Değerlerinin Belirlenmesi. Celal Bayar Üniversitesi. Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.
12. Elliot, W.H. (1997). *Biochemistry and Molecular Biology*. Oxford University Press. Pp:181-185.
13. Fairbanks, V.F., Beutler, E. (1962). A Simple Method for Detection of Erythrocyte Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. (G6PD Spot Test). *Blood*. Vol.20 (5). Pp:591-601.
14. Gök, O. (1962). Favizm. Uzmanlık tezi. İzmir (Dr. Behçet Uz) Çocuk Hastanesi 1. Dahiliye Servisi. Sh:1-33.
15. Johnson, M.R., et al. (1994). Oxidant Damage to Erythrocyte Membrane in G6PD Deficiency: Correlation with invivo Reduced Glutathione Concentration and Membrane Protein Oxidation. *Blood*. Vol.83(4). pp:1117-1123.

- 16.Kirkman, H.N., Gaetani, G.D., et al. (1975). Red Cell NADP+ and NADPH Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. J. Clinical Investigation. Vol:55. Pp:875-878.
- 17.Kirkman, H.N., Wilson, W.G., et al. (1980). Regulation of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase. (I.Intact Red Cells). J. Lab. Clin. Med. Vol. 95(6). Pp:877-887.
- 18.Luzatto, L. (1974). Genetic Heterogeneity and Pathophysiology of G6PD Deficiency. Brit.J. Haematology. Vol.28. pp: 268-280.
- 19.Luzatto, L., Batistuzzi G. (1985). Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase. (Chapter 4) Advances in Human Genetics. Plenum Publipping Newyork. Pp:217-329.
- 20.Mayes, P.A. (1993). Harper'in Biyokimyası. Barış Kitabevi. İstanbul. Sayfa: 237-249.
- 21.Miller, D.R., Kotok, D., et al. (1968). The Micro-Methemoglobin Reduction Screening Test for G6PD Deficiency in Chilhood. Pediatrics. Vol.41(2). pp:528-531.
- 22.Mosca, A., Paderi, M., Sanna, A., et al. (1990). Preliminary Experience with the Differential pH Technique for Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Measurement in Whole Blood: Application to an Area with High Prevalence of Thalassemia and G6PD Deficiency. Haematologica. Vol.75. pp:397-399.
- 23.Oppenheim, A., Jury, C.L., et al. (1993). G6PD Mediterranean Accounts for The High Prevalence of G6PD Deficiency in Kurdish Jews. Hum. Genet. Vol.91. pp:293-294.
- 24.Piomelli, S. (1987). Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency and Related Disorders of the Pentose Pathway. W.B. Saunders Comp. London. Pp:583-612.
- 25.Scott, M.D., Luo, L., Lubin, B.H., et al. (1991). NADPH, Not Glutathione, Status Modulates Oxidant Sensivity in Normal and Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficient Erythrocytes. Blood. Vol:77(9). Pp:2059-2064.
- 26.Ulusu, N., Kuş, M.S., Tezcan, E.F. (1997). Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Moleküler ve Kinetik Özellikleri. Biyokimya Dergisi. 2(22). Pp:25-33.
- 27.Uzunoğlu, S. (1995). Ege Bölgesindeki Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz (G6PD) Eksikliğine Yol Açan Akdeniz Mutasyonunun DNA Teknolojisi ile Araştırılması. Doktora Tezi. D.E.Ü. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı. Sf: 14-46.
- 28.Vulliamy, T., Mason, P., ve Luzatto, L. (1992). The Moleculer Basis of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. Trends in Genetics. Vol. 8 (1). pp: 138-143
- 29.WHO Working Group. (1989). Update : Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. Bulletin of WHO. Vol.67 (6). pp: 601-611.
- 30.Yoppida, A., Lin, M. (1973). Regulation of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Activity in Red Blood Cells from Hemolytic and Nonhemolytic Variant Subjects. Blood. Vol.41(6). pp:877-891.
- 31.Yoppida, A., Beutler, E. (1983). G6PD Variants : Another update. Ann. Hum. Genet. Vol. 47. Pp:25-38

ÖZGEÇMİŞ

Adı ve Soyadı : Ersin MİNARECİ
Doğum Yeri ve Yılı : İzmir - 18.10.1973
Uyruğu : T.C.
Medeni Durumu : Bekar
Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim (Derece, Tarih, Üniversite) :

Biyoloji Öğretmeni 1992 - 1996 : Ondokuz Mayıs Üniversitesi
Eğitim Fakóltesi. Biyoloji Bölümü.

Yüksek Lisans 1996 - : Celal Bayar Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Bölümü.

Kariyer / İş (Tarih, İşveren ve Pozisyon) :

Öğretmenlik 1996 - : Milli Eğitim Bakanlığı