

T.C.
İstanbul Üniversitesi
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı
Hematoloji-Onkoloji Bilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. İnci Yıldız

KALITSAL SFEROSİTOZLU HASTALARIMIZIN
DEĞERLENDİRİLMESİ VE ERİTROSİT ZAR PROTEİN
EKSİKLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Pediyatrik Hematoloji Yandal Uzmanlık Tezi

Dr.Aylin Canbolat Ayhan

İSTANBUL-2006

T.C.
İstanbul Üniversitesi
Cerrahpaşa Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı
Hematoloji-Onkoloji Bilim Dalı
Tez Danışmanı: Prof. Dr. İnci Yıldız

KALITSAL SFEROSİTOZLU HASTALARIMIZIN
DEĞERLENDİRİLMESİ VE ERİTROSİT ZAR PROTEİN
EKSİKLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

Pediyatrik Hematoloji Yandal Uzmanlık Tezi

Dr. Aylin Canbolat Ayhan

Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Tıbbi, Cerrahi ve İlaç Araştırmaları Etik Kurulu tarafından 16/6/2005 tarihinde 14781 sayı ile onaylanmıştır. Bu çalışma, İstanbul Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir. Proje No: T-722/130920

İSTANBUL- 2006

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

1. GİRİŞ VE AMAÇ.....
2. GENEL BİLGİLER.....
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....
4. BULGULAR.....
5. TARTIŞMA.....
6. SONUÇLAR.....
7. ÖZET.....
8. KAYNAKLAR

KISALTMALAR

Hb	: Hemoglobin
Hct	: Hematokrit
KS	: Kalıtsal sferositoz
MCHC	: Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu
MCV	: Ortalama eritrosit hacmi
OD	: Ozmotik direnç
OFT	: Ozmotik fragilite testi
RBC	: Eritrosit sayısı
Ret	: Retikülosit
rHu-Epo	: Rekombinant insan eritropoetini
SDS-PAGE	: Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi

TEŞEKKÜR

İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda yandal uzmanlık eğitimim süresince büyük katkıları olan Anabilim Dalı Başkanı Sayın Prof. Dr. Yıldız Camcıoğlu'na; eğitimim süresince bilimsel ve huzurlu bir ortamda çalışmamı sağlayan, her konuda destek olan Çocuk Hematoloji-Onkoloji Bilim Dalı Başkanı değerli hocam ve tez danışmanım Sayın Prof. Dr. İnci Yıldız'a; Çukurova Tıp Fakültesi Biyokimya ABD laboratuvarında eritrosit zar proteinlerinin araştırılmasını sağlayan Sayın Prof Dr. Kıymet Aksoy ve araştırma görevlisi Sayın Sedefgöl Yüzbaşıoğlu'na; eğitimim süresince kendilerinden çok şey öğrendiğim Doç. Dr. Tiraje Celkan, Doç. Dr. Alp Özkan ve Doç. Dr. Hilmi Apak'a; birlikte çalışma fırsatı bulduğum, her konuda yardımlarını gördüğüm uzman, hemşire ve asistan arkadaşlarıma; ayrıca tezimin yürütülmesinde sağladığı bilimsel ve maddi destekten dolayı İ. Ü. Araştırma Fonu'na teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Aylin Canbolat Ayhan

GİRİŞ VE AMAÇ

Kalıtsal sferositoz (KS) genetik geçişli, çocuklarda sık görülen bir hemolitik anemidir. Hastalığın genetik geçişi, klinik bulguları, moleküler ve biyokimyasal özellikleri hastadan hastaya geniş bir spektrum içinde değişkenlik gösterir. Hastaların büyük çoğunluğunda dominant genetik geçiş saptanmakla birlikte bir kısmında resesif geçiş veya yeni mutasyonlar da olabilmektedir (1).

Kalıtsal sferositozda klinik bulgular oldukça farklı şekilde olabilir. Hastalık, hemoglobin (Hb) düzeyi, retikülosit (Ret) sayısı, bilirübin düzeyi ve eritrosit zarının spektrin içeriğine göre taşıyıcı, hafif, orta, ağır ve çok ağır olarak sınıflandırılmıştır. KS'li hastaların 2/3-3/4'ü hafif ve orta tip, %5-10 kadarı ağır ve çok ağır grupta yer almaktadır (1-3). Hastaların %20 ile 30'unda kompanse hemoliz vardır. Bu hastalarda yapım, yıkım dengededir ve bu nedenle Hb normal düzeydedir (2,4). Hafif ve orta KS'de kısmen kompanse hemoliz, buna bağlı hafif ve orta düzeyde anemi vardır. Anemi yorgunluk, halsizlik, solukluk dışında asemptomatiktir. Bu hastalarda eşlik eden viral infeksiyonlar ile sarılık gelişebilir. Ağır tip KS'de hastaların Hb düzeyi 6-8 gr/dl arasında, retikülosit sayısı % 10 civarında, bilirübin düzeyleri de 2-3 mg/dl arasındadır. Hastalığın çok ağır formlarında ise hayatı tehdit eden anemi vardır ve hastalar transfüzyona bağımlıdır. Çok ağır tip KS'li hastaların yaklaşık %5'inde gözlenir (5).

Kalıtsal sferositozdaki temel bozukluk eritrosit zar iskeletinde, zarın protein bileşenlerindedir. Eritrosit zarı proteinlerinin miktar ve fonksiyon olarak normal olmaları zarın stabilizasyonunda önemli rol oynar. Bu proteinlerdeki kantitatif eksiklik veya fonksiyonel bozukluklar eritrosit yüzeyinden lipit kaybına, eritrositin normal şeklinin, ısı ve hareketle stabilitesinin, ozmotik direncinin azalmasına, eritrosit ömrünün kısalmasına sonuçta hemolitik anemiye neden olur. Hastaların büyük bir oranında tespit edilmiş olan protein bozukluğu spektrin ve ankirin eksikliği olmakla birlikte yapılan son çalışmalarda temel moleküler

bozukluğun bu proteinlere ilave olarak bant 3 veya protein 4.2'yi de kapsadığı gösterilmiştir (1,6).

Eritrosit zar proteinleri sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi (SDS-PAGE) ile incelenebilir. Bu yöntem ile jelde elde edilen bantların dansitometrik traseleri çizdirilerek proteinler incelenebilmektedir (7).

Bu çalışmada İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı Hematoloji-Onkoloji Bilim Dalı Polikliniği'nde KS tanısı almış hastaların klinik ve laboratuvar bulgularının değerlendirilmesi, eritrosit zar proteinlerindeki eksiklik tiplerinin gösterilmesi, zar protein eksikliğinin tipi ile klinik ve laboratuvar spektrum değişkenliği arasında bir korelasyon varlığının araştırılması hedeflendi.

Bu amaçla 1979-2005 yılları arasında KS tanısı almış bütün hastalarımız değerlendirildi. Bu hastalarımızın bir kısmında aile taraması yapılarak KS bulgusu saptanmış olan aile bireylerinde yaş sınırı olmaksızın eritrosit zar proteinleri sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi yöntemi ile incelendi ve eksiklik tipi tespit edilmeye çalışıldı.

GENEL BİLGİLER

KALITSAL SFEROSİTOZ

Eritrosit zarı bozukluğuna bağlı hemolitik anemiler, kalıtsal anemiler içinde önemli bir yer tutar. Bunlar içinde KS, kalıtsal eliptositoz ve kalıtsal piropoikilositoz en sık görülenlerdir.

Kalıtsal sferositoz, sferosit şeklinde, ozmotik frajiliteleri (OF) artmış eritrositler ile karakterize olan ve genellikle dominant kalıtımla geçiş gösteren bir anemidir. Temel bozukluk eritrosit zarında olup yüzey kaybı vardır. Yüzey kaybı ve buna bağlı artmış zar frajilitesi eritrosit zarında yer alan proteinlerden olan ankirin, spektrin, bant 3 ve protein 4.2'nin yapısındaki bozukluklara bağlıdır. Bu proteinlerdeki eksiklik sonucunda eritrositlerde hacim yüzey ilişkisi bozulur, başlangıçta esnek olan eritrosit zarı küre halini aldığında gerilmeye dayanıksız hale gelir, deformabilite yeteneğini kaybeder (1,6). Deforme olamayan eritrositlerin dalakta tutularak yıkılması sonucu hemoliz ortaya çıkar; bu nedenle temelde zar bozukluğuna bağlı olan hemolizde dalağın da önemli bir rolü vardır (1,6).

Kalıtsal sferositoz, ilk olarak yaklaşık 100 yıl kadar önce Vanlair ve Masius adında iki Belçikalı bilim adamı tarafından tanımlanmıştır (6). Bundan 20 yıl kadar sonra Wilson ve Minkowski bir ailede üç nesilde sekiz vaka bildirmişlerdir (6). Daha sonra Chauffard tarafından eritrositlerin ozmotik frajilitesinin (OF) artmış olduğu gösterilmiştir (8). Bu nedenle hastalık Minkowski-Chauffard hastalığı ismiyle de anılır.

Kalıtsal sferositoz siyah ırkda daha az olmakla beraber KS bütün ırklarda ve etnik gruplarda görülebilir. Kuzey Avrupa'da ve Kuzey Amerika'da en sık görülen kronik hemolitik anemi tipidir ve sıklığı yaklaşık olarak 1/2000 olarak bildirilmiştir (9). Türkiye'de de sık görülmekle birlikte sıklığı ve mevcut protein bozuklukları hakkında geniş veriler henüz elde edilememiştir.

GENETİK

Eritrosit zar proteinlerini kodlayan genler ve bunların kromozomal lokalizasyonları (3,10) bilinmektedir (Tablo I). Kalıtsal sferositozdan sorumlu olan genler içinde ANK1, SPTA1, SPTB, AE1, EPB41, EPB42 yer alır. Olguların yaklaşık % 75'inin otozomal dominant geçiş gösterdiği, %25'inin ise sporadik olduğu kabul edilir (2,11). Sporadik

vakaların da yaklaşık yarısının spontan yeni mutasyonlar sonucu, diğer yarısının da otozomal resesif geçişe bağlı olarak ortaya çıktığı düşünülmektedir (2,12,13). Genellikle hastalığı taşıyan aile bireylerinde hemolizin şiddeti çok farklılık göstermez. Aynı aile bireylerinde hastalığın klinik seyri arasında ciddi farklılığın olması genetik bozukluğun farklı penetrasyonu, de novo mutasyon, bozukluğun doku spesifik mozaisizmi, resesif geçişin hafif formu olması gibi çeşitli fikirlerle açıklanmaya çalışılmıştır (2,12,13). Kalıtsal sferositoz tanısı almış hastanın aile bireyleri mutlaka hastalık açısından araştırılmalıdır.

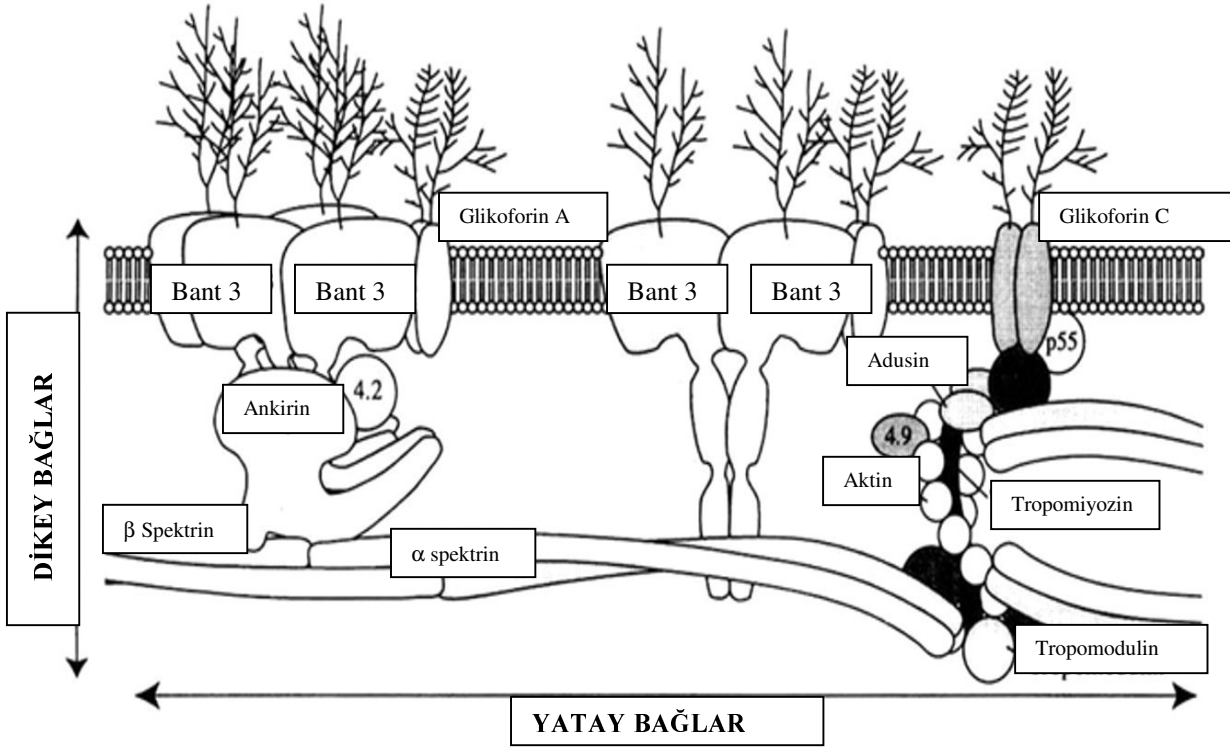
Tablo I Eritrosit zarı proteinlerinin genleri ve kromozomları

Protein	Gen	Kromozomal lokalizasyon
Alfa spektrin	SPTA1	1q22-q23
Beta spektrin	SPTB	14q23-q24.1
Ankirin	ANK1	8p11.2
Bant 3	AE1	17q21-q22
Protein 4.1	EPB41	1p36.p34
Protein 4.2	EPB42	15q15-q21
Glikoforin C	GYPC	2q14-q21

ETYOLOJİ VE PATOGENEZ

Eritrosit Zar Yapısı

Eritrositler lipit tabaka, zar iskelet ağını oluşturan periferik proteinler, lipit tabakaya ve zar yüzeyine dikey uzanan integral zar proteinleri ve az miktarda karbonhidrattan oluşmuş bir hücre zarı ile çevrilidir. Zarın dış yüzeyi kolesterol, serbest yağ asitleri, fosfolipit ve glikolipitlerden oluşan bir lipit tabaka ile kaplıdır. Bu lipit tabakanın hemen altında sitoplazmik yüzeyde zar iskeleti adı verilen, alfa ve beta spektrin, ankirin, aktin, protein 4.1 gibi yapısal proteinlerden oluşan bir multi-protein kompleksi yer alır ve bunlara periferik proteinler denir. Zarda iskelet proteinleri ile lipit tabaka ve transmembran proteinleri arasındaki bağlantılar zarın stabilizasyonunu sağlar. Bu bağlantılar dikey ve yatay olarak iki tiptir. Dikey bağlar zar iskeleti ve lipit tabaka arasında yer alırken yatay bağlar bant 3, ankirin, spektrin ve protein 4.2 arasındadır. Bunlar içinde en önemlileri alfa ve beta spektrin, beta spektrin ve protein 4.1, protein 4.1 ve aktin (14) arasındakilerdir (Şekil1).



Şekil 1. Eritrosit zar yapısı

Yatay bağlardaki bozukluk kalıtsal eliptositoz veya kalıtsal piropoikilositoza, dikey bağlardaki bozuklukların da KS'ye neden olduğu bilinmektedir (15-18). Spektrin periferik proteinlerin yapısını oluşturur. Alfa ve beta spektrin proteinleri her biri 106 amino asitten oluşan polipeptit zincirlerini, bu zincirler de bir araya gelerek heterodimerleri oluşturur. Heterodimerler baş kısımları ile birleşip tetramerleri oluştururken kuyruk kısımlarından protein 4.1 ve aktine bağlanırlar. Tetramer oluşumundaki bozukluk spektrin fonksiyon bozukluğuna neden olur. Tetramerler ankirin aracılığı ile integral membran proteini olan bant 3'e bağlanır; protein 4.2 aynı noktadan bant 3'e bağlanarak ankirin-bant 3 arasındaki bağlantıyı kuvvetlendirir, böylece spektrin yani zar iskeleti bant 3 aracılığı ile lipit tabakaya bağlanmış olur. Spektrin ağının lipit tabakayı dikey geçmesinde bant 3 ve glikoforin C transmembranöz proteinleri görev alır. Glikoforin C protein p55 ve protein 4.1'e bağlanıp sonuçta beta spektrine bağlanır. Eritrosit zarındaki protein bozukluklarından en sık görülenler spektrin (alfa ve/veya beta), ankirin, bant 3 ve protein 4.2 eksiklikleridir. Bu zar bileşenlerinden herhangi birisinin kaybı veya fonksiyon bozukluğu eritrosit morfolojisinde bozukluğa ve eritrosit ömründe kısaltmaya yol açar (15-21).

Eritrosit Zarı Protein Bozuklukları

SPEKTRİN

Spektrin eritrosit zarının yapısındaki temel bileşendir. Farklı genler tarafından kodlanan alfa ve beta spektrin olmak üzere iki alt tipi vardır. Beta spektrin anahtar görevi üstlenmiştir, alfa spektrin zincirleri ile eşleşerek heterodimerler oluşturur ayrıca ankirin ve protein 4.1'in bağlanacağı bölgeleri yapısında bulundurur. Spektrinin görevi hücrenin şeklini korumak, bütünleyici zar proteinlerinin lateral mobilitesini sağlamak ve lipit tabaka için yapısal destek sağlamaktır. Eksikliği hem dominant hem resesif formlarda görülebilir. Spektrin yapısındaki spesifik mutasyonların hastalığın ana nedenlerinden olduğu ancak son zamanlarda gösterilebilmiştir. Eksikliğin derecesi eritrositlerin sferosit oluşu, frajilitesi, hemolizin ağırlığı ve hastaların splenektomiye cevabı ile korelasyon gösterir (22,23). İnsanlarda alfa spektrin yapımı beta spektrin yapımından üç-dört kat daha fazladır. Zar iskeletinin biyosentezinde zincir üretim hızını belirleyen beta spektrindir. Heterozigot alfa spektrin defektinde bile beta spektrin zincirleriyle eşleşecek yeterli alfa zincirler bulunmaktadır. Bu nedenle kalıtsal sferositozda spektrin bozukluklarının çoğunluğu beta spektrin geninde bulunmaktadır. Hastalar ancak homozigot olduklarında semptomatik olurlar. Beta spektrin zincir yapımında bozukluk olduğunda dominant geçiş olduğu düşünülür (24-26).

Resesif geçiş gösteren kalıtsal sferositozların çoğunda spektrin eksikliğinin nedeni bilinmemektedir. Çok ağır eksikliği olan hastaların küçük bir bölümünde mutant bir alel, α Lepra (low-expression Prague) tespit edilmiştir (27-30). Alfa spektrin Lepra alelinin null mutasyon taşıyan başka bir alfa spektrin aleli ile bir araya gelmesinin resesif kalıtsal sferositoza neden olabileceği düşünülmektedir (30-31). Beta spektrin mutasyonlarının çoğunun null aleller ile olduğu gösterilmiştir. Aralarında akrabalık olmayan pek çok hastada tek bir nukleotid delesyonuna (spektrin Houston) bağlı mutasyon tespit edilmiş ve bunun KS ile ilişkili yaygın bir beta spektrin mutasyonu olabileceği düşünülmüştür (13,29-31). Saptanmış bir diğer mutasyon Spektrin Kissimmee'dir. Burada protein 4.1'e bağlanamayan, stabil olmayan ve aktine ancak zayıf bir şekilde bağlanabilen bir β spektrin söz konusudur (29). Heterozigot beta spektrin eksikliği olan ve dominant geçiş gösteren bir grup hastada diğer sferositoz formlarında görülmeyen akantosit popülasyonu %8-15 oranında tipik KS tablosu ile birlikte görülmüştür (29,30).

ANKİRİN

Ankirin bant 3 ile bağlanarak membran iskeletinin lipit tabakaya tutunmasını sağlar. Genetik çalışmalar çok sayıda ankirin geninde (ANK1) de novo mutasyon olduğunu ve ankirin eksikliğinin dominant geçiş gösterdiğini ortaya koymuştur (32,33). Mutasyonlar sonucu defektif ankirin molekülü, ankirin eksikliği veya aynı anda her ikisi ortaya çıkmaktadır. Ankirin Waldstrome varyantında ankirin ile birlikte spektrin ve bant 3 eksikliğine neden olan bir mutasyon tespit edilmiştir (34).

BANT 3

Bant 3 ankirin, protein 4.1 ve protein 4.2 aracılığı ile membran iskeletine bağlanan ana bütünleyici proteindir. Hücrenin su ve anyon transportundan sorumludur. Amerika ve Avrupa'daki KS'li hastaların %20' sinde bant 3 eksikliği tespit edilmiştir. Japonya' da çok daha sık olduğu düşünülmektedir. Bu eksikliği taşıyan hastaların periferik yaymasında mantar şeklinde eritrositler görülür (35,36). Duplikasyon, insersiyon, delesyon gibi çok çeşitli mutasyonların bant 3 bozukluğuna neden olduğu görülmüştür (33,35).

PROTEİN 4.2

Bazı KS'li hastalarda izole protein 4.2 eksikliği bulunmakla birlikte sıklıkla ankirin veya bant 3 eksikliği ile birlikte bulunur. Tek başına eksikliği resesif geçiş gösterir. Hafif bir klinik tablo oluşturur ve hastaların periferik yaymalarında az sayıda sferositin yanısıra ovalosit ve stomatositler de görülebilir (37,38). Resesif geçiş gösteren protein 4.2 eksiklikleri daha çok Japonya'da görülmüştür (33). Yedi tane protein 4.2 mutasyonu tanımlanmıştır. Sık görülen bir varyantı protein 4.2 Nippon'dur; mRNA sentezini bozan bir nokta mutasyonu olduğu düşünülmektedir (39).

İkincil Eritrosit Zarı Bozuklukları

ERİTROSİT ZAR LİPİTLERİ

Kalıtsal sferositozun çok ağır formlarında bile membran yapısındaki kolesterol ile fosfolipitler arasındaki oran ve fosfolipitlerin zarındaki asimetrisi korunur. Lipit tabakada

görülen başlıca bozukluk zarda yüzey kaybına bağlı olarak lipitlerin arasındaki mesafenin simetrik olarak azalmasıdır (17).

KATYON İÇERİĞİ VE ZAR GEÇİRGENLİĞİ

Sferositlerin potasyum ve su içeriği azalmış, eritrosit içine pasif sodyum geçişi artmıştır. Artmış sodyum geçişi Na-K-ATPaz ile katyon pompasını aktive ederek ATP döngüsünü ve glikolizi artırır. Splenektomili hastaların sferositlerinin daha az dehidrate olması sferositlerin dalaktan geçerken de su kaybettiklerini düşündürmektedir (17,40).

KALITSAL SFEROSİTOZDA DALAK

Kalıtsal sferositozun fizyopatolojisinde dalak sekonder olmakla birlikte çok önemli bir yer tutar. Hemolizin temel nedeni bozulmuş yüzey-hacim oranı ve artmış hücre dehidratasyonudur. Eritrositler çok dar kapillerlere uyum sağlamalarına yarayan şekil değiştirme yeteneklerini kaybettikleri için dalak sinüzoidlerinde, mikrodolaşımda parçalanarak fagosite edilirler. Ayrıca dalak mikrodolaşımındaki düşük pH, düşük glikoz ve ATP konsantrasyonu ile artmış toksik serbest radikallerin de sferositlerin fagositozunu kolaylaştırdığı düşünülmektedir (1,17,40).

KLİNİK BULGULAR

Hastalığın tipik bulguları doğumdan ileri yaşlara kadar herhangi bir dönemde ortaya çıkabilir. Klinik bulgular asemptomatik taşıyıcılıktan ağır hemolize kadar değişebilir. Çocukluk çağında en sık (%50) görülen bulgu anemidir, bunu splenomegali ve sarılık takip eder. Ailede %75 oranında benzer yakınmalar vardır (41). Bu nedenle ailede anemi, sarılık, safra kesesinde taş varlığı ve splenektomi öyküsü mutlaka sorgulanmalıdır. Hastaların 2/3-3/4'ünde inkomplet kompanse hemolize bağlı hafif veya orta şiddette anemi mevcuttur. Anemi genellikle hafif yorgunluk ve solukluk dışında asemptomatiktir. Küçük çocuklarda irritabilite gibi nonspesifik bulgu da verebilir. Yenidoğan döneminde kan değişimi gerektirecek derecede ağır hemoliz ve hiperbilirubinemi olabilir.

Hastalık genellikle intermitandır, hafif veya orta derecedeki infeksiyonları takiben retiküloendotelial sistemin uyarılmasıyla hemoliz ve buna bağlı olarak da sarılık gelişir. Akolürik olan sarılıkta, unkonjuge hiperbilirubinemi mevcuttur. Splenomegali daha çok büyük çocuklar ve erişkinlerde olmak üzere %75-95 oranında vardır. Tipik olarak dalak 2-6

cm büyüme gösterir, nadiren masif splenomegali görülür. Dalak büyüklüğü ile hastalığın şiddeti arasında bir korelasyon tespit edilmemiştir. Resesif formun biraz daha ağır bir seyir gösterdiği düşünülürse de hem resesif hem dominant şeklinde benzer klinik bulgular görülür (1,2,17,41).

Hastaların Hb, bilirubin ve retikülosit değerlerine göre KS hafif, orta, ağır, çok ağır (1,2,4) olarak sınıflandırılmıştır (Tablo II). Bu sınıflandırma eritrosit zarındaki spektrin düzeyi ile korelasyon gösterir. Daha ağır hastalarda daha düşük spektrin düzeyi vardır (2,42).

Tablo II Kalıtsal sferositozda sınıflama

Laboratuvar	HS trait	Hafif	Orta	Ağır	Çok ağır
Hb (gr/dl)	Normal	11-15	8-12	6-8	<6
Ret (%)	1-3	3-8	±8	≥10	≥10
Bilirubin (mg/dl)	0-1	1-2	±2	2-3	≥3
Spektrin (Normalin %)	100	80-100	50-80	40-80	20-50
Periferik yayma	Normal	hafif Sferositoz	sferositoz	sferositoz	sferositoz ve poikilositoz
OFT					
Taze kanda	Normal	Normal/hafif ↑	↑	↑	↑
İnkübasyonlu	Hafif ↑	↑	↑	↑	Çok ↑

Hastaların %20-30'unda eritrosit yapım ve yıkımı dengede, Hb değerleri normaldir, buna kompanse hemoliz denir (4,38). Bu kişiler asemptomatiktir. Eritrosit ömrü normalden kısa olsa bile artmış eritropoez nedeniyle Hb değeri normal sınırdadır, tanı almaları zordur. Ret değerleri %6'dan düşüktür, periferik yaymada sferositler eritrositlerin %60'ında görülür. Ancak araya giren enfeksiyöz mononükleoz gibi viral enfeksiyonlar ile veya gebelik gibi durumlarda hemoliz artar, splenomegali gelişir (43).

Hastaların %5-10'unda ağır anemi mevcuttur. Bu hastaların Hb değerleri 6-8 gr/dl arasında, retikülositleri %10, bilirubin değerleri 2-3 mg/dl arasındadır. Eritrositlerinde normalin %40-80'i arasında spektrin bulunduğu tespit edilmiştir. Dominant ve resesif formlarda görülebilir. Çok ağır KS'de hastalar ağır anemi nedeniyle transfüzyona bağımlıdır. Bu hastaların tama yakınının resesif olduğu görülmüştür. Çoğunda daha çok alfa spektrin olmak üzere izole ağır spektrin eksikliği bulunduğu, spektrin normalin %40'ının altında olduğu gösterilmiştir (22,23,44).

Hasta yenidoğanlarda en sık bulgu anemi olup doğumda %43'ünün Hb değeri 15 gr/dl'nin altındadır (45,46). Erken dönemde yenidoğanlarda ağır anemi nadirdir. Genellikle doğumdan sonraki üçüncü haftada Hb düşmeye başlar (45,46). Sarılık genellikle ilk 2 günde

gelişir. Kan transfüzyonu, kan değişimi gereksinimi olabilir. Bu dönemdeki aneminin ağırlığı ile hastanın daha ileri yaşlarındaki hastalığının ağırlığı arasında bir korelasyon yoktur. Çok ağır vakalarda ilk bir yaşta sık transfüzyon gerekebilir. Bant 3 veya spektrin eksikliğine bağlı olarak intrauterin transfüzyon ihtiyacı olan ağır hidrops fetalisli vakalar da bildirilmiştir (17,47,48) .

ASEMPTOMATİK TAŞIYICILIK

Resesif KS'li hastaların ebeveynleri klinik olarak asemptomatiktir, anemi, splenomegali, hiperbilirubinemi ve periferik yaymada sferosit yoktur. Yüzde 2 civarında retikülosit, hafif azalmış haptoglobin ve hafif artmış ozmotik frajilite saptanabilir. İnkübasyonlu ozmotik frajilite testi taşıyıcılar için en duyarlı test olarak kabul edilmektedir. Dünya nüfusunun %1.4'ünün taşıyıcı olduğu düşünülmektedir (1,17).

KOMPLİKASYONLAR

Hemolitik, Aplastik ve Megaloblastik Krizler

Hemolitik krizler genellikle çocukluk çağında, viral infeksiyonlar sonrasında gelişir. Sarılık ve splenomegalide artış, retikülositoz ve hemoglobinde düşüş olur. Genellikle çok ağır değildir, transfüzyona ihtiyaç duyulmaz (49).

Viral infeksiyonları kemik iliğini baskılaması sonucu gelişen *aplastik krizler* nadir olmakla beraber çok ağır anemiye ve ciddi komplikasyonlara neden olabilir. En sık görülen etken eritema infeksiyozum etkeni olan parvovirüs B19'dur. Virüs selektif olarak eritropoetik öncü hücreleri infekte ederek büyümelerini baskılar (49,50). Orta düzeyde nötropeni, trombositopeni, bazen pansitopeni gelişebilir, hematokrit (Hct) ve retikülosit düzeyinde belirgin düşüş olur. Kemik iliğinde eritroblastlar kaybolur ve serumda demir birikimi gözlenir. Kemikiliğinde parvovirüs B19'un sitopatik etkisini gösteren dev pronormoblastlar ortaya çıkar. Mikrosferositlerin oranında ve ozmotik frajilitede artış görülür. Aplastik kriz genellikle 10-14 gün sürer (1,49-51).

Megaloblastik krizler folat ihtiyacının arttığı, çok çalışan kemik iliğinin folik asit gereksiniminin yeterince karşılanamadığı durumlarda ortaya çıkar. Gebelerde, büyüme çağındaki çocuklarda ve aplastik krizde çıkan hastalarda görülür. Folat desteği ile kolayca önlenir (3,52).

Safra kesesi taşı

Kronik hemoliz sonucu gelişir. Kalıtsal sferositozda en sık görülen komplikasyondur. Taş gelişimi üç yaşından büyük çocuklarda oluşmaya başlar, özellikle on yaşından sonra ve erişkinlerde sorun yaratır. Hastalar asemptomatik olabilecekleri için ultrasonografi kontrolleri ile takipleri önerilir (4).

LABORATUAR BULGULARI

Hastalığın tipik belirtisi periferik yaymada sferositlerin görülmesidir fakat % 20-25'inde yayma tamamen normal de olabilir. Anizositoz ve poikilositoz görülebilir. Nadiren sferostomatositler de bulunabilir. Spesifik olarak beta spektrin eksikliğinde sferositik akantositler, bant 3 eksikliğinde mantar şekilli eritrositler görülür (35). Çocukların birçoğunda anemi kompanse durumdadır, Hb 9-12 gr/dl'dir. Eritroblastopenik krizlerde Hb değeri 2-3 gr/dl'ye kadar düşebilir. Retikülosit sayısı %3-15 arasındadır. Ortalama eritrosit hacmi (MCV) normaldir fakat çok ağır olgularda hafif düşük olabilir. Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) hücreiçi dehidratasyona bağlı olarak hastaların yaklaşık %50'sinde yüksektir (%35-38 arası). Coombs testi negatiftir. Kemik iliği incelemesinde normoblastik hiperplazi ve demir artışı görülür (1,7,53).

Normal eritrositler diskoid bir şekle sahiptir ve yüzeyleri geniştir. Sferositlerde ise yüzey volüm oranı azalmıştır. Ozmotik frajilite testi (OFT) bu şekil bozukluğuna dayanır. Eritrositlerde ozmotik direncin (OD) azaldığı, ozmotik frajilitenin (OF) arttığı şeklinde ifade edilir. Test, eritrositlerin giderek yoğunluk yüzdesi azaltılan hipotonik tuzlu su ortamında tutulması ve her yoğunlukta hemoliz oranının belirlenmesi şeklindedir. Normal eritrositler buna şişerek yanıt verebilirken sferositler azalmış yüzey-hacim oranından dolayı erken dönemde, yüksek tuz konsantrasyonunda parçalanırlar. Hastaların yaklaşık ¼'ünde taze kanda test normal bulunabilir. Eritrositler 24 saat süreyle 37 derecede inkübe edildiklerinde zar daha geçirgen ve dengesiz hale gelir, yüzeyini daha kolay kaybeder. Böylece sferositler hemolize uğrar. Bu nedenle inkübasyonlu OFT tanıda standart test olmuştur ama duyarlılığı zayıftır (53,54). OFT'nin normal olması tanıyı ekarte ettirmez. Hastaların %10-20'sinde normal bulunabilir (55). Akut hemolizlerde, yeni transfüzyon yapılmış hastalarda, az sayıda sferositi olanlarda güvenilir değildir (3). Demir eksikliğinde, obstrüktif sarılık varlığında ve retikülosit sayısının yüksek olduğu aplastik krizden çıkış döneminde test normal bulunabilir (56). Splenektomize olmayan hastalarda dalakta sferositlerin hücresel dehidratasyona uğramasının da OFT'nin normal bulunmasına neden olabileceği düşünülmüş (57). Kalıtsal eliptositoz ve hemoliz varlığında OFT pozitif olabilmektedir. Yapılabilen bir diğer test de eritrosit membran

proteinlerinin kalitatif ve kantitatif olarak gösterilmesidir. Otohemoliz testi, hipertonic kriyohemoliz testi, asidifiye gliserol testi spesifik olmayan ve yaygın kullanılmayan diğer testlerdir (3).

Kalıtsal sferositozda tanı parametreleri şu şekilde özetlenebilir (3):

Splenomegali: hastaların 1/3-2/3'ünde vardır.

Eritrosit özellikleri: Hb düşük

MCV düşük

MCHC yüksek

Sferosit artmış

RDW yüksek

Retikülosit yüksek

Periferik yayma: Anormal morfoloji- sferosit varlığı

Hemoliz bulgusu: İndirekt bilirübin artışı

Retikülositoz

Bakılabiliriyorsa eritrosit zar yapısı ve genetik

AYIRICI TANI

Yeni doğan döneminde hastalığın ABO uyumsuzluğu ve Coombs negatif hemolitik anemiler ile ayırıcı tanısı güç olabilir. Ayrıca çok hafif kalıtsal sferositozlarda veya transfüzyona bağımlı sferositozlarda, ilk kez aplastik krizle başvuran hastalarda da tanı güçlüğü çekilebilir; aplaziye rağmen splenomegalinin bulunması ve sferositlerin görülmesi sferositozu akla getirmelidir. Klostridial sepsis, transfüzyon reaksiyonu, ağır yanıklar, yılan, örümcek, arı gibi hayvan ısırıklarında gelişen reaksiyonlarda sferositik hemolitik anemi gelişebilir. Obstrüktif sarılıklar, vitamin B12, folat eksikliği, demir eksikliği, β talasemi taşıyıcılığı ve hemoglobin SC hastalığında eritrositlerin yüzey-hacim oranı arttığı için sferositoz ile ayırıcı tanı gerekir (1, 3,17).

TEDAVİ

Hastalığın tedavisi splenektomidir ancak 5 yaş öncesi önerilmemektedir (58). Splenektomi esas hastalığı yok etmemekle birlikte aneminin ve komplikasyonlarının gelişmesine engel olur. Splenektomi öncesinde bütün çocuklara pnömokok, meningokok, hemofilus influenza B aşılarının yapılması ve hastaların penisilin proflaksisine alınması önerilir (59). Splenektomi sonrası sarılık, anemi ve retikülositoz hızla kaybolur; eritrosit

morfolojisindeki değişiklikler ve ozmotik frajilite testinin bozukluğu ise devam eder. Nadiren splenektomiye rağmen hastalık kontrol altına alınamaz. Bu gibi durumlarda aksesuar dalak varlığı, piruvat kinaz eksikliği gibi eşlik eden bir başka eritrosit patolojisi akla gelmelidir. Aksesuar dalak hastaların % 15-40'ında tespit edilmiştir. Ağır blastopenik krizlerde eritrosit transfüzyonu yapılabilir. Ayrıca hastalara megaloblastik krizleri önlemek amacıyla profilaktik olarak günlük 1 mg folik asit önerilir (1,3,17).

ERİTROSİT ZAR PROTEİNLERİNİN İNCELENMESİ

Kalıtsal sferositoz, kalıtsal eliptositoz ve kalıtsal piropoikilositozda eritrosit zarı proteinlerindeki anormallik Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi yöntemleri ile incelenebilmektedir (7,60). SDS-PAGE yöntemi KS'de eritrosit zarı protein eksikliğinin belirlenmesinde ve kalıtsal eliptositozda spektrin varyantlarının tespit edilmesinde şu anda halen referans laboratuvar yöntemi olarak kabul edilmektedir (60). SDS-PAGE yöntemi, jelde elde edilen bantların dansitometrik traselerinin çizdirilmesi ve böylece membran proteinlerinin miktarının ölçülmesi esasına dayanır (61-63). Sodyum dodesil sülfat (SDS) anyonik bir deterjan olup zar proteinlerini lipit tabakada ayrıştırmak amacıyla kullanılır, SDS susever özellik gösterip zar proteinlerinin eritilmesinde oldukça etkili bir deterjandır. SDS, proteinlerin yapısını değiştirmeden molekölü sararak dış yüzeyi (-) yükle kaplar. Böylece poliakrilamid jel elektroforeziyle zar proteinleri anoda doğru göç ederek moleköler ağırlıklarına göre ayrıştırılırlar (7,60,62-64).

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamızda 1979-2005 yılları arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Hematoloji-Onkoloji Bilim Dalı'nda KS tanısı almış 97 hastamızın klinik, laboratuvar ve tedavi özellikleri değerlendirildi. Bu hastalarımızın 27'sinde ve onların, yaş sınırı olmaksızın, KS'li aile bireylerinde olmak üzere toplam 50 hastada eritrosit zar protein eksikliği araştırıldı. Hastaların eritrosit zar proteinlerindeki eksiklik tipi ve ayrıca klinik spektrum farklılığının zar protein eksikliğinin tipi ile korelasyonu araştırıldı.

Sağlık kontrollerine gelip bu nedenle kan tetkiki yaptırmış olan 42 sağlıklı kişiden eritrosit zar proteinlerinin normal değerleri tespit edilerek kontrol grubu oluşturuldu. Spektrin, ankirin, Bant 3, B 4.1 ve B 4.2 incelenerek normal değerler tespit edildi.

Spektrin ve Bant 3 için -2 SDS'nin altı; Ankirin, B 4.1 ve B 4.2 için -1 SDS'nin altı eritrosit zar protein eksikliği olarak değerlendirildi.

Eritrosit zar protein eksikliği araştırılacak hastalarda KS tanısını kesinleştirmek amacıyla tam kan sayımı, retikülosit sayımı ve 24 saat inkübasyonlu ozmotik fragilite testi tekrarlandı. Hastaların tam kan sayımları Beckman Coulter, demir ve total demir bağlama kapasiteleri Metkim CX-9 biyokimya analizörü ile çalışılmıştı. Haptoglobülin çalışması BN-2 Nefelometrik yöntem ile yapıldı.

EDTA'lı tüpe alınan 10 cc periferik venöz kandan sodyum dodesil sülfat poliakrilamid jel elektroforezi yöntemi ile eritrosit zar protein eksiklikleri araştırıldı.

Eritrosit Zarının (ghost) Dodge Yöntemine Göre Hazırlanışı

Prensip: Eritrositlerin izotonik ortamda yıkanıp, hipotonik solüsyonla hemoliz edildikten sonra yüksek devirde santrifüj işlemiyle hemoglobinden arındırılması esasına dayanır.

Ayırıcılar:1) 310 mOsm pH 7.4 fosfat tamponu:

NaH₂PO₄.2H₂O ve NaHPO₄ ile hazırlanır.

2) 20 mOsm pH 7.4 fosfat tamponu:

aynı çözeltiden hazırlanır.

Yöntem: EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri yaklaşık olarak 10 defa çok yavaş hareketlerle karıştırılır. 2000 rpm'de 20 dakika süreyle santrifüj edilerek eritrositler çöktürülür ve plazma kısmı aspire edilir. Eritrosit çöktürmeleri izotonik 310 mOsm'lik fosfat tamponu ile üç kez yıkanır. Her yıkama sonunda tüpler 20 dakika süreyle 2000 rpm'de santrifüj edilir ve üstündeki süpernatant kısmı aspire edilir. Bu işlemden sonra yıkanmış olan eritrositlerden 2 ml

alınıp 40 ml'lik büyük santrifüj tüplerine konulup üstüne 28 ml 20 mOsm fosfat tamponu eklenir. Bu tüpler 4°C'de 11000 rpm'de 40 dakika santrifüj edilir. Her yıkamada üstteki süpernatant kısmı çok dikkatli bir şekilde aspire edilir ve geri kalan kısma tekrar 28 ml 20 mOsm fosfat tamponu eklenir. Bu işleme süpernatant renksiz veya çok hafif pembe olana kadar yaklaşık dört defa devam edilir.

Solubilizasyon

Ayırıcılar: 1) 8 M üre

2) %2 2-merkapto-etanol

3) %2 SDS

Yöntem: Eritrosit zar proteinlerinin solubilizasyonunda 8 M üre, %2 SDS ve %2'lik 2-merkapto-etanol karışımı kullanılır. Solubilizasyon işleminde, eritrosit membran hacmi kadar solubilizasyon solüsyonunda 1/1 oranında ilave edildikten sonra kaynar su banyosunda 5 dakika süreyle bekletilir. Böylece SDS-PAGE yöntemi için gerekli materyel elde edilir.

SDS-Poliakrilamid Jel Elektroforezi (SDS-PAGE)

Prensip: Sodyum dodesil sülfat anyonik bir deterjan olup zar proteinlerini lipid tabakasında ayrıştırmak amacıyla kullanılır. SDS amfipatik özellik gösterip zar proteinlerinin solubilizasyonunda oldukça etkili bir deterjandır. SDS, proteinlerin yapısını değiştirmeden molekülü sararak dış yüzeyi (-) yükle kaplar. Böylece poliakrilamid jel elektroforeziyle zar proteinleri anoda doğru göç ederek moleküler ağırlıklarına göre ayrıştırılırlar.

Ayırıcılar:

1) Akrlamid çözeltisi

Akrilamid 40 g

N,N-Metilen-bis-akrlamid 1.5 g

Saf su 100 ml'ye tamamlanır.

2) Elektroferez tampon (10×Buffer) çözeltisi

1.0 M Tris-baz

2 M Sodyum Asetat

0.2 M EDTA

Bu çözeltiler hazırlandıktan sonra

1 M Tris 400 ml

2 M Sodyum Asetat 100 ml

0.2 M EDTA 100 ml

karişim pH'sı 7.4'e asetik asitle ayarlanır ve saf su ile 1000 ml'ye tamamlanır.

3) % 20 Sodyum Dodesil Sülfat (SDS)

4) Amonyum persülfat (15 mg/ml) taze olarak hazırlanır

5) TEMED

30 ml/ 20 ml jel olmak üzere ayarlanır.

6) Boya çözeltileri:

Coomassie Brilliant Blue: 1.25 g coomassie brilliant blue % 50'lik 454 ml etanol ve 46 ml glasiyal asetik asitte çözülür.

% 0.5 Bromofenol mavisi

7) Arındırma Solusyonu:

Metanol, asetik asit ve saf su (5:1:5 oranında) karıştırılır.

Jelin Hazırlanışı:

Jel Çözeltilisi

Akrilamid solüsyonu	4 ml
10×Buffer	3 ml
% 20 SDS	1 ml
H2O	10 ml
Amonyum persülfat	2 ml
TEMED	30 µl

Disk şeklindeki tüpler alkolle temizlenip kurutulduktan sonra tüplerin boyları ayarlanıp alt kısımları parafilm ile kapatılır. Jel çözeltilisi hava kabarcığı kalmayacak şekilde tüplere doldurulur. Hemen üzerine saf su eklenerek jel yüzeyinin düzgün bir şekilde polimerize olması sağlanır ve jelin kuruması engellenir. Bir gece oda ısısında polimerizasyon için bekletilir.

Yöntem: Elektroforez tankına yeteri kadar tampon konulduktan sonra tanka jeller yerleştirilir. 100 µl ghost, 10 µl bromofenol mavisi ve bir damla gliserol karişımının 100 µl'si jellerin

üzerine aplike edilir. Materyalin jele adsorbe olması için birkaç dakika beklendikten sonra pastör pipeti ile tüplerin üzerine tampon eklenir ve tankın üst kısmı da tampon ile doldurularak tankın kapağı kapatılır. Her tüpe 6 mAmp düşecek şekilde akım verilir ve elektroforez 2.5-3 saatlik bir sürede gerçekleşir. Bromfenol mavisi jelin alt ucuna yaklaşık 1 cm kalana kadar elektroforez devam ettirilir.

Elektroforez bitiminde jeller tüpten çıkartılıp Coomassie Brilliant Blue ile oda ısısında bir gece inkübe edilerek boyanır. Jeller arındırma çözeltisinde 6 saat süreyle tutulur ve daha sonra % 7.5' luk asetik asitte muhafaza edilir. Jellerin absorpsiyon pikleri dansitometrede 545 nm'de elde edilir.

İSTATİSTİKSEL İNCELEMELER

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 10.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma) yanısıra verilerin karşılaştırılmasında, yaşlara göre yapılan değerlendirmede Mann Whitney U test kullanıldı. Niteliksel verilerin karşılaştırılmasında ise tek gözlü düzende Ki-Kare testi ve dört gözlü düzende Ki-Kare testi kullanıldı. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirildi.

Tablo III Eritrosit zar proteini çalışma grubu (Grup 1)Hastaların araştırma anındaki yaş, cinsiyet ve hematolojik bulguları:

Olgu	Yaş(yıl)	Cinsiyet	Hb (gr/dl)	MCHC	Ret (%)	OF	Splenektomi
1	6 ay	E	10.6	33,5	0.3	hafif artmış	
2	1.5	K	11.9	34,6	0.7	artmış	
3	2	K	10.4	36,9	10.6	artmış	
4	2	E	9.9	36,1	8.6	artmış	
5	2	E	12.3	34	0.9	artmış	
6	2.5	K	10.3	33,5	1	hafif artm	
7	3	K	7.6	35	1.1	artmış	
8	3	K	12.7	34,8	0.6	hafif artmış	
9	3	E	9.7	35,7	6	artmış	
10	3	K	12.6	35,1	0.6	artmış	
11	4	E	12.4	37,8	5.1	artmış	
12	4	E	9.3	35,9	3.5	artmış	
13	4.5	K	11.5	34,5	0.2	hafif artmış	
14	5	E	8.4	36,3	6.1	artmış	
15	6	E	7.6	35,2	4	artmış	+
16	6	K	8	35,8	5	artmış	
17	8	E	10.9	35,9	9.6	artmış	
18	9	E	15.2	35,1	0.6	artmış	
19	12	E	13.7	36,5	1.8	artmış	+
20	12	E	12.5	34,5	0.3	artmış	+
21	13	K	12.9	35,1	0.2	artm iş	
22	14	K	14.9	34,3	1.1	artmış	
23	14	K	14.4	35,7	1	artmış	+
24	16	E	13.8	36,6	4.1	artmış	+
25	16	K	14.5	34,8	0.2	artmış	+
26	18	E	15.5	43,1	0.9	artmış	+
27	18	K	14.6	35	2.2	artmış	+
28	19	E	15.9	35,5	0.7	artmış	+
29	19	K	12.8	36,8	2.5	artmış	+
30	22	K	14	29,3	0.5	artmış	+
31	22	K	12.1	33,6	0.4	hafif artmış	+
32	23	K	13.7	35,3	1.3	artmış	+
33	24	E	15.5	36,9	0.6	artmış	+
34	24	K	12.8	35,8	1.2	artmış	+
35	25	K	15.1	35,8	1.4	artmış	+
36	28	K	12.9	34,5	0.9	artmış	
37	28	K	13.1	37,7	12.8	artmış	+
38	29	K	14.2	36,7	0.2	artmış	
39	32	K	14.2	36,2	2.9	artmı	
40	35	K	13.4	33,4	0.6	artmı	
41	38	K	10.5	35,8	9	artmış	+
42	39	K	13	35,3	0.6	normal	
43	42	K	11.8	33,8	0.5	artmış	+
44	43	K	12.2	34	0.3	hafif artmış	+
45	45	K	12.6	35,1	1.3	artmış	+
46	31	E	14.5	33	1	artmış	
47	39	E	15.1	33,2	0.2	hafif artmış	
48	40	E	17.2	37,3	0.6	artmış	+
49	41	E	11.2	37	12	artmış	+
50	53	E	14.8	35,2	1.9	artmış	+

Tablo IV Eritrosit zar proteini çalışması kontrol grubu (Grup 2)

Yaş, cinsiyet ve hematolojik bulguları

Olgu	Cinsiyet	Yaş (yıl)	Hb (gr/dl)	MCHC
1	E	5	14.5	29.7
2	K	5	12.9	27.4
3	E	6	15	30.1
4	E	7	11.6	26.5
5	E	7	12.2	29.3
6	K	7	12.2	29.2
7	K	9	11.6	27.5
8	K	9	12.4	28.9
9	E	9	12.5	26
10	E	9	12.4	29.3
11	E	9	13.9	28
12	E	10	13.3	27.7
13	E	11	12.2	28.3
14	K	12	13.8	27.6
15	E	12	13.7	26.8
16	K	16	11.6	27.4
17	E	16	12.7	27.1
18	K	17	13.2	28.6
19	K	17	12.1	27.6
20	E	18	12.1	27.4
21	K	19	15.4	31.4
22	K	19	9.6	26.9
23	K	19	12.3	28.8
24	E	20	15.4	31.4
25	K	20	12.8	30.9
26	E	20	14.2	26
27	K	20	13.7	31.3
28	K	21	12.2	28.3
29	K	21	13.0	26.9
30	K	23	13.0	29.8
31	K	24	13.3	28.7
32	K	25	14.6	28.3
33	K	26	12.8	28.3
34	K	27	13.6	30.9
35	K	29	12.7	30.5
36	K	30	13.7	31.2
37	K	32	13.9	31.4
38	K	35	13.8	32
39	K	36	12.7	30.9
40	K	41	12.1	29.1
41	K	41	13.6	30.5
42	E	41	16.1	29.4

Tablo V Kontrol grubu eritrosit membran proteini verileri

OLGU	SPEKTRİN	ANKİRİN	BANT 3	B 4.1	B 4.2
1	23	6	24	5	4
2	23	3	24	4	6
3	20	4	19	6	5
4	19	4	20	7	5
5	19	3	20	5	5
6	22	4	22	7	4
7	22	5	23	6	8
8	23	5	23	5	4
9	19	4	20	7	6
10	18	4	22	6	6
11	18	3	18	6	4
12	19	5	20	6	5
13	19	3	20	5	5
14	19	5	19	7	6
15	19	5	20	5	6
16	19	4	20	7	4
17	19	4	20	7	4
18	20	5	22	4	7
19	20	4	21	5	9
20	20	6	18	7	11
21	20	6	21	6	9
22	20	4	21	7	4
23	20	4	19	6	6
24	21	5	21	3	4
25	22	5	23	4	6
26	22	5	22	6	4
27	22	4	22	7	4
28	22	5	23	6	6
29	22	6	22	4	4
30	22	5	23	4	5
31	22	4	23	4	5
32	22	4	23	5	4
33	23	5	22	7	5
34	23	6	24	5	8
35	23	4	24	8	4
36	23	5	23	7	6
37	23	3	24	4	4
38	23	3	24	4	4
39	23	5	23	5	5
40	23	5	23	4	7
41	24	6	22	5	5
42	25	5	26	4	5
	21 ± 2	5 ± 1	22 ± 2	5 ± 1	5 ± 1

BULGULAR

1979-2005 yılları arasında İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji-Onkoloji Bilim Dalı'nda 97 hasta kalıtsal sferositoz tanısı aldı.

Hastaların 43'ü (%44.3) erkek, 54'ü (%55.7) kız idi. Hastaların başvuru sırasındaki yaşları 1 ay ile 16 yaş arasında değişmekte olup ortalama başvuru yaşı $4,5 \pm 4,24$ idi.

Tablo VI Kalıtsal sferositoz tanılı hastalarımızın demografik özellikleri

Cinsiyet	Sayı	Yaş dağılımı	Yaş (ort \pm SD)
Kız	54	1 ay-11 yaş	3,8 yaş \pm 3,38
Erkek	43	2 ay-16 yaş	4,7 yaş \pm 4,32
Toplam	97	1 ay-16 yaş	4,5 yaş \pm 4,24

Hastalarımızın cinsiyet dağılımları istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

Hastaların başvuru nedenleri 7 (% 7,22) hastada uzamış sarılık, 1 (%1,03) hastada USG'de safra kesesi taşı tespit edilmesi, 70 (%72,16) hastada solukluk ile sarılık olması, 19 (%19,58) hastada kardeşinde hastalık olması idi.

Tablo VII Kalıtsal sferositoz tanılı hastalarımızın başvuru şikayetleri

Şikayet	Sayı	%
Sulukluk-sarılık	70	72,16
Uzamış sarılık	7	7,22
USG'de taş	1	1,03
Kardeşinde hastalık oluşu nedeniyle tetkik	19	19,58
Toplam	97	100

Doksanyedi hastanın 14'ünün (%14,4) anne-babası arasında akraba evliliği vardı.

Hastaların 27'sinin (%27,8) ailesinde ve diğer akrabalarında KS öyküsü vardı.

Hastaların 7'si (%7,22) yenidoğan döneminde uzamış sarılık nedeniyle başvurmuştu. Bu hastaların 1'ine (%1,1) yenidoğan döneminde hiperbilirubinemi nedeniyle kan değişimi yapılmış, 4'üne (%4,1) ilk 1 ay içinde 1'er kez kan transfüzyonu yapılmıştı.

Hastalarımızın başvuru sırasındaki fizik muayenelerinde dalak büyüklüğü palpe edilemeyen dalak ile masif splenomegali arasında değişmekte idi. Hastaların 26'sında (%26,8) dalak palpe edilememiş, 71'inde (%73,2) palpabl bulunmuştu, bunların da 6'sında (%6,2) masif splenomegali saptanmıştı.

Hastalarımızın başvuru sırasındaki Hb değerleri 3,3 gr/dl-14 gr/dl, Hct değerleri %10-41 arasında değişmekte olup ortalama başvuru Hb değeri $9,4 \pm 2,32$ gr/dl, ortalama Hct değeri $27,4 \pm 6,65$ idi. MCV değerleri 70-120 fl arasında idi , ortalama değer $79 \pm 11,58$ fl idi. Tanı sırasındaki MCHC değerleri 33,8 ile 38,7 arasında idi ve ortalama MCHC değeri $35,2 \pm 1,65$ idi. Hastalarımızın düzeltilmiş retikülosit değerleri de %0,1 ile 18,6 arasında, ortalama düzeltilmiş retikülosit değeri $5,8 \pm 5,1$ idi.

Doksanyedi hastanın 22'sinde (%22,6) tanı sırasında ayrıca demir eksikliği anemisi mevcuttu. Bu hastaların ortalama demir değerleri $22,8 \pm 4,06$ mg/dl ve bu hastaların ortalama yaşları $6 \pm 2,13$ yıl idi, ortalama ferritin değerleri $6,8 \pm 1,19$ mg/dl bulunmuştu.

Hastaların 28'inin (%28,8) haptoglobin düzeyi incelenebilmişti ve ortalama haptoglobin düzeyi $87,2 \pm 21,06$ mg/dl idi.

Tablo VIII Hastalarımızın başvuru sırasındaki hematolojik değerleri

	Dağılım	Ortalama \pm SD
Hb (gr/dl)	3,3-14	$9,4 \pm 2,32$
Hct (%)	10-41	$27,4 \pm 6,65$
MCV	70-120	$79 \pm 11,58$
MCHC	33,8-38,7	$35,2 \pm 1,65$
Düzeltilmiş Ret (%)	0,1-18,6	$5,8 \pm 5,1$

Tablo IX Hastaların hastalığın şiddetine göre dağılımı

	KS trait	Hafif	Orta	Ağır	Çok ağır
Hasta	10	20	48	16	3
%	10,3	20,6	49,5	16,5	3,1

Hastaların 37'sine (%38,1) splenektomi yapılmıştı. Splenektomi yapılma yaşı 3,5 ile 16 arasında değişmekte olup ortalama splenektomi yaşı $8,7 \pm 2,71$ idi. Splenektomi öncesi yapılan USG'de 6 hastada safra kesesinde kalkül görülmüştü. Bu hastaların yaş ortalaması $10 \pm 2,65$ yaş idi. İki yaşındaki bir kız hastamızda başka bir nedenle yapılan batın USG sırasında safra kesesi görülmüş ve daha sonra KS tanısı almıştı.

Yedi (%7,2) hastanın tedavisinde rekombinant eritropoetin (rHu-Epo) kullanılmıştı. Eritropoetin kullanılan hastaların 3'ü kız, 4'ü erkek idi. Yaşları 16 gün ile 9 ay arasında, ortalama yaşları 3 aydı. Hastalardan birine 6,5 aylık iken ve 15 aylık iken, 3,5 aylık ve 6 aylık süreler şeklinde 2 kez eritropoetin uygulandı. Eritropoetin dozu 2 hastada 1000Ü/haftada 3 gün, 5 hastada 2000Ü/haftada 3 gün şeklinde idi. Tedavi süreleri 3 ay ile 8 ay arasında değişmekte idi ve ortalama tedavi süresi 5 aydı. Hastaların eritropoetin tedavisi öncesi Hb değerleri 6,7 gr/dl-7,9 gr/dl (ort Hb 7,1 gr/dl), düzeltilmiş Ret değerleri %2,6-23 (ort Ret %9,9) idi. Tedavi sonrasında hastaların Hb değerleri 9.4gr/dl-8gr/dl arasında (ort Hb 8.8gr/dl), Ret değerleri %8-16 arasında (ort Ret %12) idi.

Tablo X Hastaların Eritropoetin öncesi ve sonrası hematolojik bulguları

Hasta	Yaş	Tedavi öncesi Hb (gr/dl)	Tedavi öncesi düzelt. Ret (%)	rH-Epo dozu	Tedavi süresi	Tedavi sonrası Hb	Tedavi sonrası düzelt. Ret
1	6,5 ay	7,0	23	2000 Ü/haftada 3 gün	6 ay	8	16
2	16 gün	6,7	10,8	2000 Ü/haftada 3 gün	9 ay	8,6	14
3	2 ay	7,6	8,4	2000 Ü/haftada 3 gün	5 ay	8,6	12
4	2,5 ay	7,2	2,6	2000 Ü/haftada 3 gün	4,5 ay	9,1	8,2
5	2,5 ay	7,9	4,5	2000 Ü/haftada 3 gün	4 ay	9,4	11
6	2 ay	6,5	9,8	2000 Ü/haftada 3 gün	4,5	8,2	12
7	4,5 ay	6,8	10	1000 Ü/haftada 3 gün	3 ay	9,1	14

KS tanılı 97 hastamızın ve 27'sinde (%27,8) ve onların KS tanısı almış aile bireylerinde, toplam 50 olgu çalışma grubu ve 42 olgu kontrol grubu olmak üzere eritrosit zarı protein eksiklikleri araştırıldı.

Grup 1 (Çalışma grubu): Çalışmaya 27 farklı aileden toplam 50 hasta dahil edildi. 50 olgunun 21'i (%42) erkek, 29'u (%58) kadın idi. Hastaların yaş dağılımı 6 ay-53 yaş arasında olup ortalama yaş 18,75±14,70'dir.

Grup 2 (Kontrol grubu): Kontrol grubu 14 (%33,3) erkek, 28 (%66,7) kadın toplam 42 olgudan oluşmaktaydı. Olguların yaş dağılımı 5-41 yaş arasında olup ortalama yaş 19,05±10,30 idi.

TabloXI Çalışma ve kontrol gruplarının demografik özellikleri

Olgu	Sayı	Cinsiyet (E/K)	Yaş dağılımı	Yaş (ort ± SD)
Hasta	50	21/29	6 ay-53 yıl	18,75±14,70
Kontrol	42	14/28	5-41 yıl	19,05±10,30

Çalışma ve kontrol grubu olgularının yaşlara göre dağılımları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktur ($p>0,05$). Cinsiyet dağılımları gruplara göre anlamlı farklılık göstermemektedir ($p>0,05$).

Tablo XII Çalışma grubunun eritrosit zar proteini sonuçları

Aile 1: Baba Çocuk Çocuk	Normal Spektrin Ankirin	Aile 4: Çocuk	Normal
Aile 2: Anne Çocuk	Spektrin Normal	Aile 6: Anne Çocuk	Normal Normal
Aile 3: Çocuk Çocuk	Ankirin Spektrin + B 4.2	Aile 8: Anne Baba Çocuk	Normal Normal Normal
Aile 5: Anne Çocuk Çocuk	Spektrin Normal Normal	Aile 12: Çocuk Çocuk	Normal Normal
Aile 7: Anne Çocuk Çocuk	Normal Ankirin Spektrin	Aile15: Çocuk	Normal
Aile 9: Anne Çocuk Çocuk	Spektrin Spektrin Normal	Aile 18: Çocuk	Normal
Aile 10: Baba Çocuk Çocuk	B 4.2 Spektrin B 4.2	Aile 20: Çocuk	Normal
Aile 11: Çocuk	Ankirin	Aile 21: Çocuk	Normal
Aile 13: Çocuk	Spektrin	Aile 22: Anne Çocuk	Normal Normal
Aile 14: Çocuk	Spektrin	Aile 23: Çocuk	Normal
Aile 16: Anne Çocuk	Normal B 4.2	Aile 24: Çocuk	Normal
Aile 17: Çocuk Çocuk	Spektrin Normal	Aile 25: Çocuk	Normal
Aile 19: Anne Çocuk	Spektrin Normal	Aile 26: Baba Çocuk	Normal Normal
Aile 27: Anne Baba Çocuk	Normal B 4.2 Spektrin + Ankirin		

Eritrosit zarı protein eksikliği 50 hastanın (27 aileden) 21'inde (14 aile) (%42) tespit edildi. Yirmidokuz hastada (%58) protein eksikliği tespit edilemedi ve normal olarak değerlendirildi. Saptanan protein eksiklikleri 11 hastada (%22) spektrin, 4 hastada (%8) ankirin, 4 hastada(%8) B4.2, 1 hastada (%2) kombine spektrin + B 4.2 ve 1 hastada (%2) spektrin + ankirin idi. Bu sayılar istatistiksel değerlendirme için yetersizdi.

TabloXIII Saptanan protein eksiklikleri

Eksik Protein	N	%
Spektrin	11	22
Ankirin	4	8
B 4.2	4	8
Spektrin + B 4.2	1	2
Spektrin + Ankirin	1	2

Tablo XIV Çalışma grubu olgularında, protein eksikliğine göre cinsiyetlerin değerlendirilmesi

Cinsiyet	Protein eksikliği (+)		Protein eksikliği (-)		P Değeri
	N	(%)	N	(%)	
Kadın	12	57,1	17	58,6	
Erkek	9	42,9	12	41,4	
	21	100	29	100	P : 0,917

Çalışma grubu olgularında, protein eksikliği ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmemektedir ($p>0,05$).

Eritropoetin tedavisi verilmiş olan 7 hastanın 4'ünde eritrosit zar proteinleri incelenebildi. Bu hastaların 1'inde spektrin eksikliği, 1'inde ankirin eksikliği bulunurken 2 hastada eksiklik saptanmadı.

Eritrosit zar proteini incelenebilen, uzun süreli takipleri Bilim Dalı'mız tarafından yapılmış olan 0-18 yaş arasındaki 33 çocuk hastamızın Hb değerlerine göre sınıflaması yapıldığında Hb değeri 7 gr/dl'nin altında seyreden 5 hastanın 2'sinde, Hb değeri 7-11 gr/dl arasında olan 23 hastanın 11'inde, Hb değeri 11 gr/dl'nin üstünde olan 5 hastanın 2'sinde protein eksikliği bulundu. Çalışma öncesi kan değerleri ve klinik seyirleri bilinmediği için anne ve babalar bu sınıflamaya dahil edilmedi.

Tablo XV Hemoglobin düzeyleri ve eritrosit zar proteinleri

Hb Düzeyi (gr/dl)	Hasta sayısı		Protein eksikliği (+)		Protein eksikliği (-)
	N	(%)	N	Tipi	
<7	5	15	2	1 spektrin 1 spektrin+B4.2	3
7-11	23	70	11	5 spektrin 3 ankirin 2 B 4.2 1 spektrin+ankirin	12
>11	5	15	2	1 spektrin 1 ankirin	3

Tablo XVI Splenektomi yapılmış olan hastalarda eritrosit zar proteini sonuçları

Olgu	Cinsiyet	Zar proteinleri
1 (aile 3)	K	Ankirin eksikliği
2 (aile 5)	K	Spektrin eksikliği
3 (aile 10)	E	Spektrin eksikliği
4 (aile 14)	K	Spektrin eksikliği
5 (aile 17)	K	Spektrin eksikliği
6 (aile 16)	E	B 4.2 eksikliği
7 (aile 10)	E	B 4.2 eksikliği
8 (aile 3)	K	Spektrin + B 4.2 eksikliği
9 (aile 1)	E	Normal
10 (aile 4)	K	Normal
11 (aile 5)	E	Normal
12 (aile 6)	K	Normal
13 (aile 7)	K	Normal
14 (aile 8)	K	Normal
15 (aile 12)	E	Normal
16 (aile 12)	E	Normal
17 (aile 16)	K	Normal
18 (aile 17)	E	Normal
19 (aile 18)	K	Normal
20 (aile 22)	K	Normal
21 (aile 23)	E	Normal
22 (aile 24)	K	Normal
23 (aile 26)	E	Normal
24 (aile 26)	K	Normal

Splenektomi yapılmış olan 24 hastanın 8 (%33,3)'inde eritrosit zar protein eksikliği tespit edildi, 16'sında (%66,7) protein eksikliği saptanmadı. Bu protein eksiklikleri 4 hastada spektrin, 1 hastada ankirin, 1 hastada spektrin + B 4.2 kombine eksikliği ve 2 hastada B 4.2 eksikliği şeklinde idi.

Tablo XVII Çalışma grubu olgularında, splenektomi yapılma durumunun protein eksikliğine göre değerlendirilmesi

Splenektomi	Protein eksikliği (+)		Protein eksikliği (-)		P Değeri
	N	(%)	N	(%)	
(+)	8	38,1	16	55,2	P : 0,233
(-)	13	61,9	13	44,8	
	21	100	29	100	

Çalışma grubu olgularında, protein eksikliği ile splenektomi yapılma durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmemektedir ($p>0,05$).

Tablo XVIII Çalışma grubu olgularında, cinsiyete göre splenektomi yapılma durumunun değerlendirilmesi

Splenektomi	Kadın		Erkek		P Değeri
	N	(%)	N	(%)	
(+)	14	48,3	10	47,6	
(-)	15	51,7	11	52,4	
	29	100	21	100	P : 0,963

Çalışma grubu olgularında, cinsiyet ile splenektomi yapılma durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmemektedir ($p>0,05$).

TARTIŞMA

Kalıtısal sferositoz en sık görülen eritrosit zar hastalığıdır. Eritrosit zarının lipit katman ile hücre iskeletini oluşturan protein ve glikoproteinlerden oluştuğu, eritrosit şeklinin korunmasının zar iskeletinin yapısını oluşturan proteinlere bağlı olduğu bilinmektedir. Bu iskelet yapısının temel taşlarını oluşturan proteinlerdeki moleküler bozukluklar hemolitik anemi ile sonuçlanmaktadır (65).

Kalıtısal sferositozun genetik geçişi hastaların yaklaşık %80'inde otozomal dominant, geri kalan %20'sinde otosomal resesif veya yeni mutasyonlar sonucudur (4,66). Her iki cinsiyette de eşit oranlarda görülebilir. Hastalığın görülme sıklığı Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika'da 1/2000'dir (67,68). Tüm etnik gruplarda ve ırklarda görülmektedir ama Güneydoğu Asya'da ve Afrikalı-Amerikalı'larda daha nadir olduğu düşünülmektedir (6). Ülkemizdeki sıklığı tam olarak bilinmemektedir.

Bilim Dalı'mızda 1979-2005 tarihleri arasında 97 hasta kalıtısal sferositoz tanısı aldı. Hastaların %55,7'si kız (54/97), %44,3'ü erkek (43/97) idi. Hastalarımızın cinsiyet dağılımı arasında istatistiksel olarak bir fark yoktu ($p>0,05$).

Kalıtısal sferositoz'lu hastalar sıklıkla çocukluk ve genç erişkin döneminde tanı almakla beraber herhangi bir yaşta da tanı konabilir. Yedinci ve dokuzuncu dekatlarda tanı almış vakalar bildirilmiştir (69). Bizim hastalarımızın tanı anındaki yaşları 1 ay ile 16 yaş arasında değişmekteydi. Ortalama tanı yaşı ise $4,5\pm 4,24$ yaş idi. Yurtdışı serilerde hastaların yaklaşık % 75'inde aile öyküsünde KS olduğu bildirilmiştir (3). Bizim hastalarımızın ilk başvurularında aile öyküsü sorgulanıp aile taraması yapıldığında % 24'ünün ailesinde bir başka bireyde KS olduğu görüldü.

Akraba evlilikleri çalışmaların daha çok yapıldığı Avrupa ülkelerinde oldukça nadir olduğu için çalışmalarda yer belirtilmemiştir, ülkemizde ise çok yaygındır. Hastalarımızın anne-babaları arasında %14,4 oranında akraba evliliği olduğu görüldü.

Hastalarda klinik bulgular anemiye bağlı solukluk, halsizlik, sarılık, splenomegali olabilir. Bu hastalarda Hb düzeyi normal olabildiği gibi hafif, orta, ağır veya çok ağır düzeylerde anemi de gelişebilir. Hastaların çoğunda kompanse hemoliz bulguları vardır. Bu hastalarda Hb düzeyleri normaldir ve retikülositoz vardır. Çok ağır anemi hastaların %5'inden azında görülmektedir (2). Hastalarımızın Hb değerleri ilk başvuruda 3,3 ile 14 gr/dl arasında değişmekteydi, ort değer Hb değeri $9,4\pm 2,32$ gr/dl, ortalama düzeltilmiş retikülosit değeri de

%5,8±5,1 idi. Hb değerine göre hastalık sınıflandırıldığında hastalarımızın %10,3'ünün trait, %70'inin hafif-orta, %16,5'inin ağır ve %3,1'nin ağır olduğu görüldü.

Kalıtsal sferositoz yenidoğan döneminde kan değişimine neden olabilecek sarılığa yol açabilir. Yenidoğan dönemindeki bu tablonun tam nedeni bilinmemekle birlikte hastalığın ağırlığı ile ilişkili olmadığı düşünülmektedir (70). Yenidoğan döneminde periferik yaymanın çok tipik olmaması, bu dönemde ozmotik frajilite testinin de çok güvenilir olmaması nedeniyle tanı konması daha zordur. Bizim takip etmekte olduğumuz hastaların 7'si (%7,22) ilk bir ayda uzamış sarılık nedeniyle bilim dalımıza yönlendirilmiş ve KS tanısı almışlardı. Bu hastalardan birine yenidoğan döneminde hiperbilürubinemi nedeniyle kan değişimi yapılmıştı. Kalıtsal sferositoz tanılı hastalar özellikle yenidoğan döneminde kan transfüzyonlarına ihtiyaç duyabilir ama bu genellikle devam etmez, bu dönemde birkaç kez transfüzyon yapılsa bile sonraki yaşlarda transfüzyon gerekmez (71). Bizim hastalarımızın %4'üne ilk 1 ayda transfüzyon yapılması gerekmişti. Eritropoetin tedavisinin yaşamın ilk bir yılındaki transfüzyon ihtiyacını azalttığı gösterilmiştir. Bu dönemde kan eritropoetin düzeyinin yeterli olsa bile hücre düzeyinde yeterli yanıt oluşturamadığı, bu nedenle eritropoetin tedavisinin yararlı olabileceği düşünülmektedir (5,72,73). Bizim hastalarımızı 7'sine eritropoetin tedavisi verilmişti. Bu hastalarımızda tedavi döneminde transfüzyon ihtiyaçları azalmış ve Hb değerleri korunmuştu.

Kalıtsal sferositozda en sık görülen komplikasyonlardan biri kronik hemolize bağlı olarak gelişen safra kesesi taşlarıdır. Taşlar infantlarda bile görülebilmekle birlikte sıklıkla 10 ile 30 yaşları arasında ortaya çıkar (4,74). Safra kesesi taşı görülme sıklığı %21 ile %63 gibi çok farklı oranlarda bildirilmiştir (3,75). Yapılmış bir çalışmada yaşları 10-30 arasında değişen 152 hastanın %50'sinde safra kesesi taşı olduğu görülmüştür (76). Bizim hastalarımızdan biri USG'de saptanmış olan safra kesesi taşı nedeniyle bize yönlendirilmiş ve KS tanısı almıştı. Hastamız 2 yaşında bir kız idi. Sandler tarafından uzun süreli takip edilmiş hastalarda yapılmış çalışmada 18 yaş altındaki hastalarda 15 yıllık takip öncesinde hiç safra kesesi taşı tespit edilmemişti (77). İtalya'da 468 çocuk hastanın 79'unda (%17) safra kesesi taşı tespit edilmiş ve bunların yarısı 11 yaş öncesinde tanı almıştı (78). Bizim hastalarımızın 6'sında (%6,2) splenektomi öncesi yapılan USG'de safra kesesi taşı bulunmuştu ve bu hastaların yaş ortalaması 10±2,65 yaş idi.

Kalıtsal sferositoz'lu hastaların çoğunda değişik büyüklükte splenomegali bulunur. Splenomegali süt çocuklarının %50'sinde, büyük çocukların ve erişkinlerin %75-95'inde vardır (79,80). Dalak büyüklüğü tipik olarak kot altı 2-6 cm arasındadır ama 6 cm'den büyük, masif splenomegali de gelişebilir (3,81,82). Klinik önemi yoktur. Dalak büyüklüğü ile

splenektomi arasında bir ilişki yoktur ve bu hastalarda dalak rüptürü sıklığının normal toplumdaki farklı olmadığı görülmüştür (3). Çalışmamızda hastalarımızın %73'ünde dalak değişik boyutlarda ele gelmekteydi, bunların %6,2'sinin dalağı 6 cm'den büyük, masif splenomegaliydi.

Kalıtsal sferositoz tanılı hastalarda splenektominin hemolizi azalttığı, eritrosit ömründe belirgin uzamaya neden olarak anemiye azalttığı bilinmektedir (83). Splenektomi sonrası özellikle küçük çocuklarda sepsis riski yüksektir. Bu riski azaltmak amacıyla splenektominin aşı ve antibiyotik profilaksisi uygulayarak 5-6 yaş sonrasında yapılması gerektiği gösterilmiştir (58). Hastalarımızın %38,1'ine splenektomi yapılmıştı ve yaş ortalamaları $8,7 \pm 2,31$ idi. Bir hastaya ağır hemoliz bulguları nedeniyle 3,5 yaşında splenektomi yapılmıştı.

Seksenli yıllara kadar spektrin eksikliğinin KS'deki başlıca bozukluk olduğu düşünülmüş fakat sonraki yıllarda eritrosit zarının yapısında ankirin, bant 3, protein 4.2 gibi pek çok farklı protein bozukluğunun görülebildiği ortaya konmuştur (84,85). Eritrosit zarındaki bu protein bozuklukları SDS-PAGE yöntemi ile saptanabilmektedir (7).

Biz bu çalışmamızda KS tanısı almış olan hastalarımızın ve onların klinik bulgu olmasa bile KS'nin laboratuvar bulguları mevcut olan aile bireylerinin eritrosit zarı protein eksikliklerini SDS-PAGE yöntemi ile araştırdık. Amacımız popülasyonumuzda KS tanısı almış hastalarımızda mevcut protein eksikliği tipini belirlemek idi. Çeşitli nedenlerle hastalarımızın tamamı çalışmaya dahil edilemedi. Çalışmamızda 27 farklı aileden 50 olgu değerlendirildi. Hastalarımızın %58'i kadın, %42'si erkek idi. Literatür bilgisi ile uyumlu olarak hastalarımızın cinsiyet dağılımı arasında anlamlı bir farklılık yoktu. Eritrosit zarında protein eksikliği tespit edilmiş olan hastaların % 57,1'i kadın, %42,9'u erkek idi. Protein eksikliği ile cinsiyet arasında da diğer çalışmalara benzer şekilde istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmedi ($p < 0,05$) (1,69).

Elde ettiğimiz sonuçlarda 50 hastanın 21'inde (%42) protein eksikliği tespit edilebildi, 29 hastada (%58) ise herhangi bir eksiklik bulunmadı. Çeşitli ülkelerden yapılmış olan çalışmalarda protein eksikliği tespit edilme oranları oldukça farklılık göstermektedir. İtalya'dan %93, Brezilya'da %70, Fransa'da %45 vakada protein eksikliği bildirilmiştir. Bizim oranımız Fransa ile uyumlu bulunmuştur (25,86,87). Klinik ve diğer laboratuvar tetkikleri ile KS tanısı almış olan hastaların bir kısmında herhangi bir eritrosit zar bozukluğunun ortaya konamaması şu anda mevcut olan tekniklerin yetersiz olmasından da kaynaklanabilir. Çok hafif eksikliklerin SDS-PAGE yöntemi ile henüz tespit edilemediği, çok

hafif bozukluklar için daha komplike biyokimyasal analiz yöntemlerine ihtiyaç duyulduğu düşünülmektedir (25,88).

Hastalarımızda en sık görülen protein eksikliği kombine ve izole olmak üzere spektrin eksikliği olarak bulundu. Hastalarımızın %22'sinde (11/50) izole spektrin eksikliği vardı. Miraglia del Giudice ve ark (25) tarafından İtalya'da 39 aileden toplam 87 KS tanılı hastada yapılmış çalışmada bizim sonuçlarımıza benzer şekilde en sık olarak izole veya kombine olmak üzere spektrin eksikliği bulunmuştu. Hastaların % 43.2'de(13 aileden 36 hasta) izole spektrin eksikliği saptanmıştı. Bizim çalışmamızdan farklı olarak İtalya'da daha yüksek oranda hastada eksiklik tespit edilebilmiş, sadece 5 aileden toplam 6 hastada (%7) herhangi bir zar proteini eksikliği gösterilememiştir (25). Benzer şekilde Brezilya (78) ve Meksika'da (89) yapılmış çalışmalarda da en sık bulunan spektrin eksikliği olmuştur. Brezilya'dan Saad ve ark.'nın (86) çalışmasında hastaların % 52'sinde (7 aile ve 5 akrabalığı olmayan hasta) hafif spektrin eksikliği (< 25% eksiklik) bulunmuştur. Meksika'lı hastalarda Sanchez-Lopez (89) tarafından 27 aile ve farklı dört hasta olmak üzere toplam 31 hastada yapılmış olan çalışmada 12 hastada (%39) tek bir protein eksikliği, 16 hastada (%52) kombine eksiklik bulunmuştur. Tek protein eksikliği olan hastaların %13'ünde spektrin eksikliği vardı. Premetis ve ark (90) tarafından Yunanistan'da 1999'da yapılmış çalışmada 73 hastanın zar proteinleri incelenmiştir. Bizim sonucumuza benzer şekilde en sık bulunan %40 gibi yüksek bir oranda izole spektrin eksikliği olmuştur. Yunanistan'da bizim çalışmamıza göre oldukça düşük bir oranda, hastaların %6'sında normal protein yapısı bulunmuştur (90). Bizim çalışmamıza ve Avrupa ülkelerinden yapılmış çalışmalara karşıt olarak spektrin eksikliği Kore'de %7 gibi düşük bir oranda bulunmuş, Japonya'da ise hiç saptanmamıştır (91,92). Bu sonuçlarla etnik farklılıkların eksiklik tiplerinin etkileyebileceği düşünülebilir. Yine bizim sonuçlarımızdan farklı olarak Kore'de hastaların %28'inde, Japonya'da %33'ünde protein eksikliği bulunmamıştır (91,92).

Hastalarımızın dördünde (%8) izole olarak bir (%2) hastada ise spektrin ile kombine şekilde ankirin eksikliği mevcuttu. İtalya popülasyonunda bizim sonuçlarımızdan farklı olarak hiç izole ankirin eksikliği görülmemiştir (25). Meksika'da (89) ise bizim sonucumuza benzer şekilde %6 oranında izole ankirin eksikliği vardı. Kore'de ise bizim ve diğer iki çalışmanın aksine en sık görülen %33,3'lük oranla izole ankirin eksikliği olmuştur (92). Brezilya çalışmasında ise tek başına ankirin eksikliği %5 gibi düşük bir oranda bulunmuştur (86). Sonuçlar Jarolim ve ark (77) tarafından 1992 yılında Amerika ve Avrupalı hastalar ile yapılmış çalışmanın sonuçları ile de benzer bulunmuş, Kuzey Avrupa ve Kuzey Amerika ile Güney Amerika popülasyonları arasında çok belirgin bir fark olmadığı düşünülmüştür.

Savvides ve ark (93) tarafından 1993 yılında yayınlanmış çalışmada da benzer şekilde sadece primer ankirin eksikliği bulunan bir aile tanımlanmış ve yine aynı çalışmada orta düzeyli ankirin eksikliğinin radioimmunoassey yöntemi ile daha kolay tespit edildiği söylenmiştir. Polonya'dan Boguslawska ve ark (94) tarafından yapılan çalışmada ise 7 ailenin 6'sında (%86) ankirin eksikliği saptanırken ankirin düzeyinde %19-51 oranında azalma olduğu görülmüştür.

Yapılmış çalışmalarda kombine ankirin + spektrin eksikliğinin otozomal dominant KS'da sık olduğu gösterilmiştir (95,96). Bir çalışmada otozomal dominant geçişli KS tanılı hastaların %70'inde kombine ankirin ve spektrin eksikliği olduğu gösterilmiştir (78). Bizim çalışmamızda bir hastada spektrin ve B 4.2, diğer bir hastada spektrin ve ankirin kombine eksiklikleri bulundu. Spektrinve ankirin kombinasyonu olan hastanın babasında B 4.2 eksikliği bulundu, annesinde ise eksiklik saptanamadı. Bu hastaların genetik çalışması olmadığı için genetik geçiş hakkında bilgimiz olmadı. Bizim çalışmamızda hastalarımızda %2 (1/50) oranında spektrin + B 4.2 ve yine %2 (1/50) oranında spektrin + ankirin eksikliği şeklinde kombine eksiklik tespit edildi. İtalya'nın (25) çalışmasında %16'da (5 aileden 12 hasta) kombine spektrin ve hafif ankirin eksikliği, %3.7'de (3 aileden 4 hasta) spektrin eksikliği ile birlikte ağır ankirin eksikliği tespit edilmiş. Meksika'da (89) kombine eksikliklerde spektrin ve bant 3 kombinasyonu en fazla tespit edilenler olmuş ama çalışmada bir oran verilmemiştir. Yunanistan'ın çalışmasında (90) %30 gibi yüksek bir oranda kombine spektrin+ankirin eksikliği olmuştur

Hastalarımızda protein 4.2 eksikliği ankirin eksikliği ile eşit olarak, %8 (4/50) oranında izole, %2 (1/50) oranında kombine olarak bulundu. Bizim sonucumuza benzer olarak Meksika'da (89) protein 4.2 eksikliği %6 oranında bulunmuştur. Japonya'da ise bu sonuçlardan farklı olarak en sık görülen protein 4.2 eksikliği olmuştur (91).Yawata ve ark (91) tarafından 2000 yılında yapılmış olan çalışmada 60 hastada eritrosit zar proteinleri incelenmiş, protein 4.2 eksikliği %45 oranında bulunmuştur. Yunanistan'da ise %1 oranında protein 4.2 eksikliği bulunmuştur (90). Avrupa ve Amerika toplumlarında en sık olan spektrin eksikliği Japonya'da hiç görülmemiştir.

Bant 3 eksikliği oranları yapılmış çalışmalarda oldukça farklılık göstermektedir. Hastalarımızda diğer çalışma sonuçlarından farklı olarak bant 3 eksikliği hiç tespit edilmedi. Meksika'da (89) %10 oranında iken Japonya'da (91) %20 gibi oldukça yüksek bir oranda orta düzeyde bant 3 eksikliği bulunmuştur. Yunanistan'da da yine bizden farklı olarak %23 oranında bant 3 eksikliği görülmüştür. Kore'de %11, Brezilya'da %13, İtalya'da %25.9, Yunanistan'da %23 gibi yüksek oranlarında bulunmuştur (25,63,91,92,94). İsviçre'den

Reinhart ve ark (97) tarafından akraba olan 10 hasta ile yapılmış çalışmada da %14,4±7'lik bir azalma ile bant 3 eksikliği saptanmıştır. Bu sonucun ırksal farklılıklardan kaynaklanabileceği düşünüldü. Eksikliklerin tipi ve ağırlığı farklılık göstermekle birlikte KS dünya'da oldukça sık görülen bir hastalıktır

Kalıtısal sferositoz ile ilgili genetik çalışmalarda büyük oranda aileye spesifik özel mutasyonların hastalığa yol açtığı görülmüştür (98). Bu nedenle aynı aile bireylerinde aynı protein eksikliği görülür. Yapılmış çalışmalarda aynı aile bireylerinde farklı eksiklik tipleri gösterilmemiştir. Bizim çalışmamızda ise bu bilgilere karşıt olarak 5 ailede farklı eksiklikler bulunmuştur. Genetik çalışmaların yapılması ile bu ailelerdeki genetik geçişin belirlenmesi açısından önem kazanmaktadır.

Splenektomi KS'li hastalarda görülen hemolitik anemiye ve periferik kandaki sferosit sayısını belirgin ölçüde azaltmakla beraber mevcut olan eritrosit membran protein bozukluğunu etkilemez. Eritrosit zar proteini incelenen hastaların %48'ine (24/50) çalışma öncesi çeşitli dönemlerde splenektomi yapılmıştı. Splenektomi yapılmış olan hastaların %33,3'ünde (8/24) protein eksikliği bulundu, %66,6'sında (16/24) eksiklik saptanmadı. Protein eksikliği ile splenektomi gereksinimi arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı (p:0,233). Bu hastalarda bulunan eksiklikler %50 (4/8) oranında izole spektrin, %12,5 (1/8) oranında spektrin + B4.2, %12,5 (1/8) ankirin ve %25 (2/8) oranında B4.2 idi. Splenektomi yapılmış olan hastaların %58,3'ü kadın, %41,7'si erkek idi. Bu açıdan cinsiyetler arasında anlamlı bir fark olmadığı görüldü (p>0,05).

Splenektomi yapılmamış hastalarda eritrosit zarından lipit tabakanın kaybıyla birlikte kısmen bant 3 kaybı da olduğu için spektrinin bant 3'e oranının relatif olarak normal bulunduğu ve sonuç olarak bunun da splenektomi olmamış hastalarda membran proteinlerinin normal bulunmasına neden olduğu; hafif spektrin eksikliklerinin gösterilmesinde dansitometrik ölçümlerin çok duyarlı olamayabildiği düşünülmektedir (74).

Yapılan bazı çalışmalarda spektrin eksikliğinin ağırlığı ile hastalığın ağırlığı arasında yakın bir korelasyon olduğu görülmüştür (2,11). Kısmi protein 4.2 eksikliği, bant 3 eksikliği veya hafif ankirin eksikliği ile birlikte spektrin eksikliği bulunan hastalarda tipik KS seyri olduğu, ağır ankirin eksikliği ile birlikte spektrin eksikliği olan hastalarda ise ağır KS bulguları olduğu görülmüştür (2,11). Bununla birlikte izole spektrin eksikliğinin klinik seyir ve herediter geçiş açısından çok büyük farklılıklar taşıdığı da gösterilmiştir (25). Bizim çalışmamızda hastaların takipleri sırasındaki Hb değerlerine göre hastalığın şiddeti değerlendirildiğinde Hb değeri 7 gr/dl'nin altında seyreden 5 hastanın 1'inde spektrin, 1'inde spektrin ve B 4.2 kombine eksikliği, Hb değeri 7-11 gr/dl arasında olan 23 hastanın 5'inde

spektrin, 3'ünde ankirin, 2'sinde B 4.2, 1'inde spektrin ve ankirin kombine eksikliği bulundu. Hb değeri 11 gr/dl'nin üstünde olan 5 hastanın ikisinde bir spektrin ve bir ankirin olmak üzere protein eksikliği bulundu. Bizim sonuçlarımızda spektrin ve diğer protein eksiklikleri ile Hb değerine göre hastalığın şiddeti arasında anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p>0,05$).

SDS-PAGE yöntemi, çok karmaşık ve zor bir teknik olmamakla birlikte protein eksikliğini göstermek, daha geniş çalışmalar ile protein eksikliğinin tipi ve klinik seyir arasındaki korelasyonu tespit ederek hastaların takibini buna göre planlamak açısından oldukça yararlı olabilecek bir yöntemdir. Ayrıca bu hastalardaki primer moleküler defektlerin tespit edilmesine yönelik çalışmalarda da yol gösterici olabileceği düşünülmektedir. Sonuç olarak çalışmamızda bizim KS'li hasta grubumuzda en sık görülen eritrosit membran protein eksikliğinin izole veya kombine olarak spektrin eksikliği olduğu, hastalığın seyri ile protein eksikliği ve eksikliğin tipi ile bir korelasyonunun olmadığı görüldü.

Protein eksikliği saptanamayan vakalarda daha duyarlı veya farklı yöntemler gerektiği ve genetik geçişi açıklamak için fenotip tayininin gerekli olduğu görülmektedir. Aynı ailede farklı protein eksikliklerinin saptanması bu eksikliklerin kombine olup yöntem gereği bir protein eksikliğinin yeterince gösterilemeyeceği olabilir. Çocukların %56'nın splenektomize olmamış olması bazı eksikliklerin belirlenmesini önlemiş olabilir.

Tablo XIX Farklı merkezlerdeki eritrosit zar protein eksikliği sonuçları

	Hasta sayısı	Spektrin %	Ankirin %	Bant 3 %	B 4.2 %	kombine eksiklik %	Normal %
CTF/Türkiye	50	22	8	0	8	4	58
İtalya	87	41	0	26	7	18	7
Yunanistan	73	40	0	23	1	30	6
Japonya	60	0	7	20	45	0	28
Kore	27	7	30	11	15	4	33
Brezilya	23	39	5	13	0	13	30
Meksika	31	16	6	10	6	52	10

SONUÇLAR

- 1) 1979-2005 tarihleri arasında İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji-Onkoloji Bilim Dalı'nda 97 hasta kalıtsal sferositoz tanısı aldı. Hastaların 43'ü (%44,3) erkek, 54'ü (%55,7) kız idi.
- 2) Hastaların başvuru yaşı 1 ay ile 16 yaş arasında değişmekte olup ortalama yaşları $4,5 \pm 4,24$ yaş idi.
- 3) Hastaların başvuru şikayetleri 70 hastada (%72,16) sarılık ve solukluk, 7 hastada (%7,22) uzamış sarılık, 1 hastada (%1,03) USG'de taş görülmesi, 19 hastada (%19,58) kardeşinde hastalık olması idi.
- 4) Hastaların 14'ünün (%14,4) anne babası arasında akraba evliliği vardı.
- 5) Yirmiyedi (%27,8) hastanın aile öyküsünde KS öyküsü vardı.
- 6) Uzamış sarılık ile başvuran 7 hastanın 1'ine (%1,1) yenidoğan döneminde hiperbilirubinemi nedeniyle kan değişimi yapılmış, 4'üne (%4,1) ilk 1 ay içinde bire kez kan transfüzyonu yapılmıştı.
- 7) Hastaların %73,2'sinde fizik muayenede dalak ele gelmekte idi. Bunların %6,2'sinde dalak 6 cm'den büyük idi.
- 8) Tanı sırasında hastaların Hb değerleri 3,3-14 gr/dl arasında olup ortalama $9,4 \pm 2,32$ gr/dl, Hct değerleri %10-41 arasında ortalama $27,4 \pm 6,65$, MCV değerleri 70-120 fl arasında, ortalama $79 \pm 11,58$ fl, MCHC değerleri 33,8-38,7 arasında ortalama $35,2 \pm 1,65$, düzeltilmiş retikülosit değerleri %0,1-18,6 arasında ortalama $5,8 \pm 5,1$ idi.
- 9) Hastaların %28,8'ine haptogloblin araştırılmış ve ortalama $87,2 \pm 21,06$ mg/dl bulunmuştu.
- 10) Yirmiki hastada (%22,6) demir eksikliği de vardı. Ortalama demir değeri $22,8 \pm 4,06$ mg/dl, ortalama ferritin 6,8 mg/dl idi. Bu olguların yaşları ortalama $6 \pm 2,13$ yıl idi.
- 11) Hastaların hastalığın şiddetine göre dağılımı yapıldığında %10,3'ü taşıyıcı, %20,6'sı hafif KS, %49,5'i orta KS, %16,5'i ağır, %3,1'i çok ağır KS idi.
- 12) Hastaların %38,1'ine splenektomi yapılmıştı. Bu hastaların yaş dağılımları 3,5-16 yaş arasında olup ortalama splenektomi yapılma yaşı 8,7 idi.
- 13) Bir hastada tanı sırasında, 6 hastada daha sonraki takiplerinde safra kesesi taşı bulunmuştu. Yaş ortalamaları $10 \pm 2,65$ yıldır.
- 14) Hastaların 7'sine (%7,2) 3-8 ay süre ile rHu-Epo tedavisi verilmişti. Bu hastaların yaşları 16 gün- 9 ay arasında, ortalama yaşları 3 aydır.
- 15) Kalıtsal sferositoz tanısı almış hastalarımızın ve onların yaş sınırı olmaksızın aile bireylerinin olacak şekilde 50 hastanın eritrosit zar protein eksiklikleri SDS-PAGE yöntemi

ile araştırıldı. Bu olguların yaşları 6 ay ile 53 yaş arasında değişmekte olup ortalama yaş $18,75 \pm 14,70$ ' idi..

16) Hastaların %58'i (29/50) kadın, %42'si (21/50) erkek idi.

17) Hastaların %42'sinde (21/50) eritrosit zar protein eksikliği tespit edildi. Protein eksikliği görülen olgular ile görülmeyenler arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı ($p > 0,05$).

18) Protein eksikliği bulunan hastaların %57,1'i (12/21) kadın, %42,9'u (9/21) erkek idi. Eritrosit zar protein eksikliği ile cinsiyet arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmedi ($p > 0,05$).

19) Hastalarda tespit edilen protein eksiklikleri: %22 spektrin (11/50), %8 ankirin (4/50), %8 B 4.2 (4/50), %2 spektrin + B4.2 (1/50), %2 spektrin + ankirin (1/50) idi. Bant 3 eksikliği saptanmadı.

20) Hastaların %48'ine (24/50) çalışma öncesinde çeşitli zamanlarda splenektomi yapılmıştı. Splenektomi yapılmış olan hastaların %33,3'ünde (8/24) protein eksikliği tespit edildi. Protein eksikliği ile splenektomi yapılma durumu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki görülmedi ($p > 0,05$).

21) Protein eksikliğinin tipi ile splenektomi yapılması arasında istatistiksel olarak anlamlı bir ilişki bulunmadı ($p > 0,05$).

ÖZET

Çalışmamızda kalıtsal sferositoz tanılı 0-18 yaş arasındaki 97 hastamız klinik, laboratuvar bulguları ve tedavileri ile retrospektif olarak değerlendirildi.

Bu hastalardan 27'sinde ve bu hastaların yaş sınırı olmaksızın, aile taraması yapılarak hastalık bulgusu saptanmış olan aile bireylerinde olmak üzere toplam 50 hastada eritrosit zar proteinleri SDS-PAGE yöntemi ile incelendi. Eritrosit zar proteinlerindeki eksiklik tiplerinin dağılımının, eksikliğin tipi ile klinik spektrum farklılığı arasındaki korelasyonun araştırılması hedeflendi.

Kalıtsal sferositoz tanılı hastalarımızın başvuru yaşı ortalama $4,5 \pm 4,24$ yaş idi. Başvuru yakınmaları %72,16'sında solukluk ve sarılık, %7,22'sinde uzamış sarılık, %1'inde USG'de safra kesesi görülmesi, %19'58'inde kardeşinde hastalık bulunması idi. Hastalarımızın %14'ünde anne baba arasında akraba evliliği, %27,8'inde ailelerinde KS öyküsü vardı. Olgularımızın %73,2'sinde fizik muayenede dalak palpe edilebilmekte idi ve %6,2'sinde 6 cm'den büyük idi. Hastalığın şiddetine göre hastalarımızın dağılımı yapıldığında %10,3'ü taşıyıcı, %20,6'sı hafif, %49,5'i orta, %16,5'i ağır, %3,1'i çok ağır kalıtsal sferositoz idi.

Eritrosit zar protein eksikliği araştırılan hastaların 21'i (%42) erkek, 29'u (%58) kadın idi. Yaş dağılımı 6 ay ile 45 yıl arasında değişmekte olup ortalama yaş $18,75 \pm 14,70$ idi. Hastaların %42'sinde (21/50) protein eksikliği saptanırken %58'inde (29/50) eksiklik tespit edilmedi. Protein eksikliği görülen olgular ile görülmeyenler arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık yoktu ($p > 0,05$). Protein eksikliği saptanan hastaların %57,1'i (12/21) kadın, %42,9'u (9/21) erkek olup protein eksikliği ile cinsiyet arasında anlamlı bir ilişki görülmedi. Tespit edilen protein eksiklikleri 11 hastada (%22) spektrin, 4 hastada (%8) ankirin, 4 hastada (%8) B4.2, 1 hastada (%2) kombine spektrin + B 4.2 ve 1 hastada (%2) spektrin + ankirin idi.

Sonuç olarak çalışmamızda bizim hasta grubumuzda en sık görülen eritrosit zar protein eksikliği izole veya kombine olarak spektrin eksikliği idi. Hastalığın klinik seyri ve laboratuvar bulguları ile protein eksikliğinin bulunması veya tipi ile bir korelasyonunun olmadığı görüldü.

KAYNAKLAR

- 1) Gallagher PG, Forget BG: Hereditary Spherocytosis, elliptocytosis, and related disorders. In: Williams Hematology, edited by E Beutler, sixth edition: McGraw-Hill, 2001, pp.503-18.
- 2) Eber SW, Armbrust R & Schröter W. Variable clinical severity of hereditary spherocytosis: relation to erythrocyte spectrin concentration, osmotic fragility and autohemolysis. Journal of Pediatrics 1990, 117 409-16
- 3) Bolton-Maggs PHB, Stevens RF, Dodd NJ, et al. Guidelines for the diagnosis and management of hereditary spherocytosis. Br J Haematol 2004, 126 455-74
- 4) Tse WT, Lux SE: Red blood cell membrane disorders. Br J Haematol 1999, 104:2
- 5) Delhommeau F, Cynober T, Schitchmanoff PO, et al. Natural history of hereditary spherocytosis during the first year of life. Blood 2000, 95 393-7
- 6) Becker PS, Luk SE: Disorders of the red cell membrane. In: Hematology of Infancy and Childhood, edited by Nathan D, Oski F: WB Saunders, Philadelphia, 1993, pp. 529-605.
- 7) Palek J.& Jarolim, P. Clinical expression and laboratory detection of red blood cell membrane protein mutations. Seminars in Hematology 1993, 30 249-83.
- 8) Dacie J: The life span of the red blood cell and circumstances of its premature death. In: Blood, Pure and Eloquent, edited by M Wintrobe: McGraw-Hill, New York, 1980, p 211
- 9) Walensky LD, Narla M, Lux SE. Disorders of the red cell membrane. In: Handin RI, Lux SE, Stossel TP, eds. PA: Lippincott, Williams, & Wilkins, Philadelphia, 2003, pp. 1709-858.
- 10) Stenson PD, Ball EV, Mort M, Phillips AD, Shiel JA, Thomas NS, Abeyasinghe S, Krawczak M & Copper DN. Human Gene Mutation Database (HGMD): 2003 update. Human mutation 2003, 21 577-81.
- 11) Agre P, Asimos A, Casella JF & McMillan C. Inheritance pattern and clinical response to splenectomy as a reflection of erythrocyte spectrin deficiency in hereditary spherocytosis. New England Journal of Medicine 1986, 315 1579-83.

- 12) Miraglia del Giudice E, Francese M, Nobili B, Morle L, Cutillo S, Delunay J. & Perrotta S. High frequency of de novo mutations in ankyrin gene (ANK1) in children with hereditary spherocytosis. *Journal of Pediatrics* 1998, 132 117-20.
- 13) Miraglia del Giudice E, Lombardi C, Francese M, Nobili B, Conte ML, Amendola G, Cutillo S, Iolascon A & Perrotta S. Frequent de novo monoallelic expression of β -spectrin gene (SPTB) in children with hereditary spherocytosis and isolated spectrin deficiency. *British Journal of Haematology* 1998, 101 251-4.
- 14) Iolascon A, Miraglia del Giudice E, Perrotta S, Alloisio N, Morle L & Delunay J. Hereditary spherocytosis: from clinical to molecular defects. *Haematologia* 1998, 83 240-57.
- 15) Palek J & Lux S. Red cell membrane skeletal defects in hereditary and acquired hemolytic anemias. *Seminars in Hematology* 1983, 20 189-224.
- 16) Hassoun H. & Palek J. Hereditary spherocytosis: a review of the clinical and molecular aspects of disease. *Blood Reviews* 1996, 10 129-47.
- 17) Gallagher PG, Forget BG & Lux SE: Disorders of the erythrocyte membrane. In: *Hematology of Infancy and Childhood*, edited by Nathan D, Oski F: 5 th edn, Saunders, Philadelphia Vol. 1 1998, pp. 544-664.
- 18) Delaunay J. Genetic disorders of the red cell membrane. *Critical Reviews in Oncology/Hematology* 1995, 19 79-110.
- 19) Delaunay J, Alloisio N, Morle L, Baklouti F, Dalla Venezia N, Maillet P & Wilmette R. Molecular genetics of hereditary elliptocytosis and hereditary spherocytosis. *Annals of Genetics* 1996, 39 209-21.
- 20) Rybicki AC, Schwartz RS, Hustedt EJ & Cobb CE. Increased rotational mobility and extractability of band 3 from protein 4.2-deficient erythrocyte membranes: evidence of a role for protein 4.2 in strengthening the band 3-cytoskeleton linkage. *Blood* 1996, 88 2745-53.
- 21) Lux SE & Palek J: Disorders of the red cell membrane. In: *Blood: Principles and Practice of Hematology*, edited by Handin RI, Lux SE and Stossel TP: Lippincott, Philadelphia, 1995; pp. 1701-818.
- 22) Agre P, Casella JF, Zinkham WH, McMillan C, Bennett V. Partial deficiency of erythrocyte spectrin in hereditary spherocytosis. *Nature* 1985, 314 380.
- 23) Agre P, Asimos A, Casella JF, McMillan C Inheritance pattern and clinical response to splenectomy as a reflection of erythrocyte spectrin deficiency in hereditary spherocytosis. *N Eng J Med* 1986, 315 1579.
- 24) Haspal M, Palek J: Biogenesis of normal and abnormal red blood cell membrane skeleton. *Semin Hematol* 1992, 29 305.

- 25) Miraglia del Giudice E, Iolascon A, Pinto L, Nobili B & Perrotta S. Erythrocyte membrane protein alterations underlying clinical heterogeneity in hereditary spherocytosis. *British Journal of Haematology* 1994, 88 52-5.
- 26) Hanspal M & Palek J. Synthesis and assembly of membrane skeletal proteins in mammalian red cell precursors. *Journal of Cell Biology* 1987, 105 1417-24.
- 27) Jarolim P, Wichterle H, Palek J, Gallagher PG, Forget BG: The low expression α spectrin lepra is frequently associated with autosomal recessive/non-dominant hereditary spherocytosis. *Blood* 1996, 88: 4a.
- 28) Wichterle H, Hanspal M, Palek J, Jarolim P: Combination of two mutant α spectrin alleles underlies a severe spherocytic hemolytic anemia. *J Clin Invest* 1996, 98: 2300.
- 29) Becker PS, Tse WT, Lux SE, Forget BG. Beta spectrin Kissimmee: A spectrin variant associated with autosomal dominant hereditary spherocytosis and defective binding to protein 4.1. *J Clin Invest* 1993, 92: 612.
- 30) Hassoun H, Vassiliadis JN, Murray J, et al: Characterization of the underlying molecular defect in hereditary spherocytosis associated with spectrin deficiency. *Blood* 1997, 90: 398 .
- 31) Tse WT, Gallagher PG, Jenkins PB, Wang Y, Benoit L, Speicher D, Winkelmann JC, Agre P, Forget BG & Marchesi SL. Amino-acid substitution in α -spectrin commonly co-inherited with nondominant hereditary spherocytosis. *American Journal of Hematology* 1997, 54 233-41.
- 32) Eber SW, Gonzalez JM, Lux ML, et al: Ankyrin-1 mutations are a major cause of dominant and recessive hereditary spherocytosis. *Nature Genet* 1996, 13: 214,.
- 33) Gallagher PG, Forget BG: Hematologically important mutations: Spectrin and ankyrin variants in hereditary spherocytosis. *Blood Cell Mol Dis* 1998, 24:539.
- 34) Gallagher PG, Ferreira JDS, Saad STO, Kerbally J, Costa FF, Forget BG: A recurring frameshift mutation of the ankyrin-1 gene associated with severe hereditary spherocytosis in Brazil. *Blood* 1996,88: 6a.
- 35) Jarolim P, Murray JL, Rubin H., Taylor WM, Prchal, JT, Ballas SK, Snyder LM, Chrobak L, Melrose WD, Brabek V & Palek J. Characterization of 13 novel band 3 gene defects in hereditary spherocytosis with band 3 deficiency. *Blood* 1996a, 88 4266-374.
- 36) Inoue T, Kanzaki A, Yawata A, Wada H, Okamoto N, Takahashi M, Sugihara T, Yamada O & Yawata Y. Uniquely higher incidence of isolated or combined deficiency of band3 and/or band 4.2 as the pathogenesis of autosomal dominantly inherited hereditary spherocytosis in the Japanese population. *International Journal of Hematology* 1994, 60 227-38.

- 37) Lux SE, Tse WT, Meninger JC, John KM, Harris P, Shalev O, et al. Hereditary spherocytosis associated with deletion of human erythrocyte ankyrin gene on chromosome 8. *Nature* 1990, 345 736-9.
- 38) Kanzaki A, Yasunaga M, Okamoto N, Inoue T, Yawata A, Wada H, et al. Band 4.2 Shiga: 317CGC-TGC in compound heterozygotes with 142GCT-ACT results in band 4.2 deficiency and microspherocytosis. *British Journal of Haematology* 1995a, 91 333-40.
- 39) Bouhassira EE, Schwart RS, Yawata Y, et al: An alanine-to-threonine substitution in protein 4.2 cDNA is associated with Japanese form of hereditary hemolytic anemia (protein 4.2 Nippon). *Blood* 1992 79:1846.
- 40) De Franceschi L, Olivieri O, Miraglia del Giudice E, et al: Membrane cation and anion transport activities in erythrocyte of hereditary spherocytosis: Effects of different membrane protein defects. *Am J Hematol* 55: 121, 1997.
- 41) Weiss L, Tavssoli M: Anatomical hazards to the passage of erythrocytes through the spleen. *Semin Hematol* 1970, 7:372.
- 42) Agre P, Asimos A, Casella JF & McMillan. Inheritance pattern and clinical response to splenectomy as a reflection of erythrocyte spectrin deficiency in hereditary spherocytosis. *New England Journal of Medicine* 1986, 315 1579-83.
- 43) Gehlbach SH & Cooper BA. Haemolytic anaemia in infectious mononucleosis due to inapparent congenital spherocytosis. *Scandinavian Journal of Haematology* 1970, 7 141-4.
- 44) Whitfield CF, Follweiler JB, Lopresti-Morrow L, Miller BA. Deficiency of alpha-spectrin synthesis in burst-forming units-erythroid in lethal hereditary spherocytosis. *Blood* 1991, 78: 3043.
- 45) Schröter W, Kahsnitz E: Diagnosis of hereditary spherocytosis in newborn infants. *J Pediatr* 1983, 103 460.
- 46) Delhommeau F, Cynober T, et al: Natural history of hereditary spherocytosis during the first year of life. *Blood* 2000, 95 393.
- 47) Burman D: Congenital spherocytosis in infancy. *Arch Dis Child* 1958, 33: 335.
- 48) Trucco JJ, Brown AK: Neonatal manifestations of hereditary spherocytosis. *Am J Dis Child* 1967, 113: 263
- 49) Brown KE. Haematological consequences of parvovirus B19 infection. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol* 2000, 13: 245-59.

- 50) Murphy PT, O'Donnell JR. B 19 parvovirus infection causing aplastic crisis in 3 out of 5 family members with hereditary spherocytosis. *Ir J Med Sci* 1990, 159 (6): 182-184
- 51) Brown KE, Young NS: Parvovirus B19 in human disease. *Annu Rev Med* 1997 48:59.
- 52) Rosenblatt DS & Hoffbrand AV. Megaloblastic anemia and disorders of cobalamin and folate metabolism. In: *Pediatric Hematology* (ed. By J.S. Lilleyman, I.M. Hann & V.S. Blanchette: Churchill Livingstone, London. 1999, pp. 167-84.
- 53) Palek J & Sahr KE. Mutations of the red cell membrane proteins: from clinical evaluation to detection of the underlying genetic defect. *Blood* 1992, 80 308-30.
- 54) Pinto L, Iolascon A, Miraglia del Giudice E & Nobili B. A modification of pink test may improve the diagnosis of hereditary spherocytosis. *Acta Haematologica* 1989, 82 53-4.
- 55) Dacie JV, Lewis SM & Luzatto L. Investigation of the hereditary haemolytic anaemias: membrane and enzyme abnormalities. In: *Practical Haematology*, edited by Dacie JV & Lewis SM: Churchill Livingstone, Edinburgh. 1991, pp. 195-225.
- 56) Korenes D & Pearson HA. Normal erythrocyte osmotic fragility in hereditary spherocytosis. *Journal of Pediatrics* 1989, 114 264-6.
- 57) Cynober T, Mohandas N & Tchernia G. Red cell abnormalities in hereditary spherocytosis: relevance to diagnosis and understanding of the variable expression of clinical severity. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine* 1996, 128 259-69.
- 58) Kondradsen HB & Henrichsen J. Pneumococcal infections in splenectomized children are preventable. *Acta Paediatrica Scandinavica*. 1991, 80 423-7.
- 59) Davies JM, Barnes R & Milligan D. Update of guidelines for the prevention and treatment of infection in patients with an absent or dysfunctional spleen. *Clinical Medicine: Journal of the Royal College of Physicians of London* 2002, 2 440-3.
- 60) King MJ, Behrens J, Rogers C, Flynn C, et al. Rapid flow cytometric test for the diagnosis of membrane cytoskeleton-associated haemolytic anaemia. *British Journal of Haematology* 2000, 111 924-933.
- 61) Jarolim P, Rubin HL, Liu S, Cho MR, Brabec V, Derick LH, Yi SJ, Saad STO, Alper S, Brugnara C, Golan DE, Palek J. Duplication of 10 nucleotides in the erythroid band 3 (AE1) gene in a kindred with hereditary spherocytosis and band 3 protein deficiency (band3PRAGUE). *J Clin Invest* 1994, 93: 121.
- 62) Dodge JT, Mitchell C Hanahan DJ. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes. *Arch Biochem Biophys* 1963,100: 119-30.
- 63) Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 1970, 227 680-7.

- 64) Fairbanks G, Steck TL, Wallach DFH. Electrophoretic analysis of the major polypeptides of the human erythrocyte membrane. *Biochemistry* 1971, 10: 2606-17.
- 65) Bens EJ. The erythrocyte membrane and cytoskeleton: structure, function, and disorders. In: Stamatoyannopoulos G, Nienhuis AW, Majerus PW, Varmus H, eds. *The molecular basis of blood diseases*. WB Saunders, Philadelphia.1994, pp. 257-92.
- 66) Lux SE & Becker PS. Disorders of the red cell membrane skeleton hereditary spherocytosis and hereditary elliptocytosis. In: *The Metabolic Basis of Inherited Disease*, 6th edn. McGraw-Hill, 1989, pp 170-7.
- 67) Godal HC & Heisto H. High prevalence of increased osmotic fragility of red blood cells among Norwegian blood donors. *Scandinavian Journal of Haematology* 1981, 27 30-4.
- 68) Eber SW, Pekrun A, Nefeldt A & Schroter W. Prevalence of increased osmotic fragility of erythrocytes in German blood donors: screening using a modified glycerol lysis test. *Annals of Hematology* 1992, 64 88-92.
- 69) Friedman EW, Williams JC & Van Hook L. Hereditary spherocytosis in elderly. *American Journal of Medicine* 1988, 84 513-6.
- 70) Schroter W & Kahsnitz E. Diagnosis of hereditary spherocytosis in newborn infants. *Journal of Pediatrics*. 1983, 103 460-3.
- 71) Delhommeau F, Cynober T, Schischmanoff PO, Rohlich P, Delaunay J, Mohandas N & Tchernia G. Natural history of hereditary spherocytosis during the first year of life. *Blood* 2000, 95 393-7.
- 72) Tchernia G, Delhommeau F, Perrotta S, et al. Recombinant erythropoietin therapy as an alternative to blood transfusions in infants with hereditary spherocytosis. *Hematol J* 2000, 1 146-52
- 73) Celkan T, Karaman S, Apak H, Özkan A, Yüksel Soycon L, Yıldız İ. Herediter sferositozlu süt çocuklarında rekombinan eritropoetin tedavisi. *Türk Pediatri Arşivi* 2004, 39 125-8.
- 74) Bates G, Brown C. Incidence of gallbladder disease in chronic hemolytic anemia (spherocytosis). *Gastroenterology* 1952, 21: 104
- 75) Rutkow IM. Twenty years of splenectomy for hereditary spherocytosis. *Archives of Surgery* 1981, 116 306-8.
- 76) Bates GC, Brown CH: Incidence of gallbladder disease in chronic hemolytic anemia (spherocytosis). *Gastroenterology* 1952, 21 104

- 77) Jarolim P, Brabec V, Ballas SK, Prchal TT, Poon MC, Castleberry R, Arnold D, Coetzer TL, Liu SC & Palek J. Biochemical heterogeneity of the hereditary spherocytosis syndrome. *British Journal of Haematology* 1992 ; 81 Suppl 1: 35.
- 78) Pinto L, Iolascon A, Miraglia del Giudice E, Materese MR, Nobili B & Perrotta S. The Italian survey on hereditary spherocytosis. *International Journal of Pediatric Hematology and Oncology* 1995, 2 43-7.
- 79) MacKinney AA Jr, Morton NE, et al: Ascertaining genetic carriers of hereditary spherocytosis by statistical analysis of multiple laboratory tests. *J Clin Invest* 1962, 41 554.
- 80) Young LE, Platzer RF: Hereditary spherocytosis: I. Clinical, hematologic and genetic features in 28 cases, with particular reference to the osmotic and mechanical fragility of incubated erythrocytes. *Blood* 1951, 6 1073.
- 81) Debre R, Lamy M, et al: Congenital and familial hemolytic disease in children. *Am J Dis Child* 1938, 56 1189.
- 82) Diamond LK: Indications for splenectomy in childhood: Results in fifty-two operated cases. *Am J Surg* 1938, 39 400
- 83) Chapman RG & McDonald LL. Red cell life span after splenectomy in hereditary spherocytosis. *Journal of Clinical Investigation* 1968, 47 2263-7.
- 84) Agre P, Casella JF, Zinkham WH, McMillan C, Bennett V. Partial deficiency of erythrocyte spectrin in hereditary spherocytosis. *Nature* 1985, 314: 380-3.
- 85) King MJ, Behrens J, Rogers C, Flynn C, Greenwood D & Chambers K. Rapid flow cytometric test for the diagnosis of membrane cytoskeleton-associated haemolytic anemia. *British Journal of Haematology* 2000, 942-3.
- 86) Sara TO Saad, Fernando F. Costa, Dilmara L. Vicentim, Tereza S. I. Salles and Patricia H. L. Pranke. Red cell membrane abnormalities in hereditary spherocytosis in Brazil. *British Journal of Haematology* 1994, 88 295-9.
- 87) Tshilolo L, Kagambega F, Sztern B, Vertongen F, Gulbis B. Hereditary spherocytosis. one year study of erythrocyte membrane proteins. *Rev Med Brux.* 1998 Oct; 19 (5 Pt 1): 417-23.
- 88) Perrotta S, Miraglia del Giudice E, Pinto L, Sannino E, Nobili B, Cutillo S & Iolascon A. Biochemical basis of neonatal hereditary spherocytosis. *Blood* 1993; 82 Suppl 1: 459a.
- 89) J Yoaly Sanchez-Lopez, Ana L Camacho, Maria Teresa Magana, Bertha Ibarra, and F Javier Perea. Red cell membrane protein deficiencies in Mexican patients with hereditary spherocytosis. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* 2003, 31: 357-9.

- 90) E Premetis, A Stamoulakatou, D Loukopoulos. Erythropoiesis: hereditary spherocytosis in Greece: collective data on a large number of patients. *Hematology* 4 1999, 361-6.
- 91) Yawata Y, Kanzaki A, Yawata A, Doerfler W, Ozcan R, Eber SW. Characteristic features of the genotype and phenotype of hereditary spherocytosis in the Japanese population. *Int J Hematol* 2000, 71 (2): 118-35.
- 92) Young Kyung Lee, Han Ik Cho, Sung Sup Park, et al. Abnormalities of erythrocyte membrane proteins in Korean patients with hereditary spherocytosis. *J Korean Med Sci* 2000 15: 284-8.
- 93) Savvides P, Shalev O, John KM & Lux SE. Combined spectrin and ankyrin deficiency is common in autosomal dominant hereditary spherocytosis. *Blood* 1993, 82 2953-60.
- 94) Boguslawska DM, Heger E, Chorzaska A, Nierzwicka M, Holojda J, Swiderska A, Straburzynska A, Pazdzior G, Langner M, Sikorski AF. Hereditary spherocytosis: identification of several HS families with ankyrin and band 3 deficiency in a population of southwestern Poland. *Ann Hematol* 2004, 83 (1): 28-33.
- 95) Coetzer TL, Lawler J, Liu SC, Prehal JT, Gualtieri RJ, Brain MC, Dacie JV, Palek J. Partial ankyrin and spectrin deficiency in severe, atypical hereditary spherocytosis. *N engl J Med* 1988, 318 230.
- 96) Hanspal M, Yoon SH, Yu H, Hanspal JS, Lambert S, Palek j, Prehal JT. Molecular basis of spectrin and ankyrin deficiencies in severe hereditary spherocytosis: Evidence implicating a primary defect of ankyrin. *Blood* 1991, 77 165.
- 97) Reinhart WH, Wyss EJ, Arnold D, et al. Hereditary spherocytosis associated with protein band 3 defect in a Swiss kindred, *Br. J. Haematol.* 1994, 86 147-55.
- 98) Peters LL, Shivdasani RA, Liu SC, John KM, Gonzalez JM, et al. Anion exchanger 1 (band 3) is required to prevent erythrocyte membrane surface loss but not to form the membrane skeleton. *Cell* 1996, 86 917-27.

