

T. C.
Ankara Üniversitesi
Antalya Tıp Fakültesi
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği

**+ HOMOZİGOT BETA THALASSEMİADA
İDRARLA HİDROKSİPROLİN ATIMI**

T225/1-1

Uzmanlık Tezi

Dr. Çiğdem Ferhan Gürpınar

1980

(225)

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

Giriş ve Amaç.....	1
Genel Bilgiler.....	5
Materyal ve Metod.....	27
Bulgular.....	35
Tartışma.....	44
Sonuç.....	58
Özet.....	60
Literatür.....	62

GİRİŞ VE AMAÇ

Thalassemia sendromları, hemoglobinin bir ya da daha çok globin zincirlerinin yapım hızındaki azalma ya da tüm yokluğu sonucu oluşan hemoglobin sentez hastalıklarının bir grubudur (1,2,3,4,5).

Thalassemia sendromları ilk kez Ingram ve Stretton tarafından alfa ve beta olmak üzere iki gruba ayrılmıştır. Beta thalassemia, Akdeniz memleketlerinde yaygındır. Alfa thalassemia ise uzak doğuda ve daha az olarak da zencilerde görülmektedir. Bununla birlikte dünyanın her tarafında bu sendrom görülmüştür (2,5,6).

Türkiye'de değişik thalassemia tipleri bildirilmiş ve beta thalassemia traitin sıklığı % 2.1 olarak saptanmıştır (5,6,7,8).

Hemozigot beta thalassemiada en önemli klinik bulgular; anemi, kafada ve yüzde belirgin şekil bozukluklarına neden olan kemik değişiklikleri, hepatosplenomegali ile birlikte gelişme geriliğidir (3,6,9).

Homozigot beta thalassemiada, beta ve alfa zincirlerinin dengesiz sentezi söz konusudur. Beta zincir sentezinde azalma, alfa zincirlerinin fazlalığına yol açmakta, artan globin ise eritrosit membranında çökerek kırmızı seri hücre prekürsörlerinin ölümüne neden olmaktadır. Sonuçta oluşan ineffektif eritropoez, kemik iliği genişlemesine ve kemik değişikliklerine yol açmaktadır (3,10,11).

Thalassemiadaki büyüme geriliği çeşitli şekillerde açıklanmaya çalışılmışsada nedeni tam olarak aydınlanmamıştır (9,12). Ağır derecedeki aneminin neden olduğu hipoksi, ineffektif eritropoeze bağlı kemik iliği genişlemesi, demir

yüklenmesi veya homakromatozise bağlı endokrin yetmezlik ve folat eksikliğinin büyüme geriliği yapabileceği düşünülmüştür. Bununla beraber yapılan araştırmalar boy kısalığı ile hemoglobin düzeyi arasında bir ilişki olmadığını ve thalassemia majorda büyüme hormonunun da normal düzeyde olduğunu göstermiştir (3,9,12).

Homozigot beta thalassemiyalı hastalarda ek olarak sekonder cinsiyet özelliklerinde, menarşda gecikme ve hipogonadizm gibi seksüel olgunlaşmada da gerilik dikkati çekmektedir (4). Gonadal yetmezliğin hipofizde demir birikmesine bağlı, sekonder olarak gelişen hipofonksiyona bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (12). Yapılan bir araştırmada thalassemiyalı hastalarda büyüme hormonunun normal bulunmasına karşın, ikincil hemosiderosise bağlı olmak üzere, karaciğerde somatomedinin biyosentezinin ve aktivitesinin azaldığı gösterilmiştir (13).

Thalassemia majorlu hastalarda büyüme ve seksüel gelişme geriliğinin bulunması, sekonder bir çinko eksikliği olabileceğini düşündürmüştür (14). Önceleri bitkiler ve hayvanlarda, daha sonrada insanlar üzerindeki gözlemler çinko eksilğininin büyüme ve gelişmeyi engellediğini göstermiştir (15,16).

Çinko eksikliğinde nükleik asit metabolizmasının çok erken evrelerinde bozulma olmakta, bu ise protein sentezini de bozarak büyümeyi etkilemektedir. Çinko ayrıca kollajen metabolizmasına da etki eden bir iz elementtir (17). Nitekim yapılan araştırmalarda beta thalassemia major ve intermediyalı hastalarda serum çinko düzeylerinde kontrol grubuna göre belirgin düşüklük olduğu saptanmıştır (18). Ayrıca 20 beta thalassemia majorlu hastada plazma, eritrosit içi, saç ve idrar çinko düzeyi araştırılmış ve plazma, eritrosit ve saçta çinko düzeyi, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Aynı hastalarda idrarla Zn'nin fazla miktarda

atıldığı görülerek, kaybın böbrekler yoluyla olabileceği ileri sürülmüştür. Bu araştırma beta thalassemia majorda büyüme, seksüel gerilikte çinkonun önemli rolü olabileceğini düşündürmektedir (19).

Thalassemia majorlu hastalarda başlıca kemik değişiklikleri; kafa grafilerindeki fırça manzarası görünümü, osteoporoz, maxiller kemiklerdeki aşırı gelişme ile yüzün aldığı mongoloid görünümdür (11). Öteyandan thalassemia majorlu hastalarda osteoartropati, epifizlerin erken kapanması, spontan mikro ve makro fraktürlerin sık görülmesi, hatalı bir callus oluşumu bu hastalarda tümüyle kollojen metabolizmasında bir bozukluk olduğunu düşündürmektedir (20,21,22). Çünkü vücuttaki kollajenin % 40-70 kemiğin matrixinde bulunmaktadır ve kemik kollajeninin diğer dokulardaki kollajenden daha hızlı bir turnoverının olduğu görülmüştür (23,24,25). Bir başka yayında ise total kemik ağırlığının % 19'u, kemik organik kısmının ise % 94'nün kollajenden oluştuğu bildirilmektedir (26). Ayrıca büyüme hormonu, büyüyen kişilerde kollajen depolanmasından sorumludur, yani büyüme kollajen formasyonunu hızlandıran bir durumdur (23).

Insanlarda kollajen metabolizması, kollajenin yapısında bulunan hidrokisprolin aminoasidi ile ölçülmektedir (25,27,28,29). Hidrokisprolin kollajende % 14, elastinde ise % 1-2 oranında bulunan bir aminoasittir. Vücutta başka bir proteinde de bulunmamaktadır (24,25,30,31). Hidrokisprolin plazmada ve daha çok da idrarda ölçülebilmektedir. Plazmada serbest hidrokisprolin düzeyi, bağlı olan formundan daha fazla miktarda bulunur. Idrarda ise durum tersinedir. Süt çocukluğu dönemi dışında, idrardaki total hidrokisprolinin (serbest hidrokisprolin+bağlı hidrokisprolin), % 96'sını peptide bağlı olan şekli oluşturmaktadır (25,30,31).

İdrarla atılan hidroksiprolin miktarının değişebilmesi için kollajen turnoverında büyük değişiklikler gerekir. Büyüme önemli ölçüde peptitlerin atımını etkilemektedir. Hidroksiprolin atımı bebeklikte ve adolesanda, genç erişkinlerde lineer büyümeyle paralellik göstermektedir (23,32,33).

Gelişme geriliklerinde, beslenme bozukluklarında, doğuştan kollajen metabolizması bozuklukları ile seyreden çeşitli sendromlarda, kollajen doku hastalıklarında, paratiroid fonksiyon bozukluklarında, iskelet sistemine metastaz yapan tümörlerde, kısaca kollajen turnoverını etkilemesi olası, birçok fizyolojik ve patolojik durumlarda idrarda hidroksiprolin atımı incelenmiştir.

Gözden geçirilebildiği kadarıyla beta thalassemia majorda hidroksiprolin atımı ile ilgili bir yayına rastlıyamadık.

Homozigot β thalassemiada belirgin kemik değişiklikleri ve gelişme geriliği görülmektedir. Bu nedenle idrarla hidroksiprolin atım düzeyini ölçerek, büyüme ve iskelet sistemi ile yakından ilişkisi olan kollajen metabolizmasını incelemek istedik.

Hidroksiprolin atımında normale göre bir değişiklik olduğu takdirde, bunun β thalassemia majorda organizmadaki demir fazlalığı ve çinko elementinin eksikliği ile ilişkisinin bulunup bulunmadığını araştırmak amacıyla bu çalışmayı yaptık.

GENEL BİLGİLER

A) BAĞ DOKUSU BİYOKİMYASI, FİZYOLOJİSİ VE METABOLİZMASINA ETKİ EDEN FAKTÖRLER:

Bağ dokusu embryoner hayatta mezodermal yapraktan gelişir. Erişkinde ise; kıkırdak dokusu, kemik dokusu, kan ve lenf dokusu gibi çeşitli elemanlar olarak farklılaşır. Bağ dokusunun vücuttaki görevi; hücrelere destek olmak, beslemek, rejenerasyon ve tamiri gerçekleştirmek, gene aynı yapraktan gelişen RES, kan hücreleri ve mastositler aracılığıyla vücudun savunma, oksijenleme ve bağışıklığını sağlamaktır. Bu doku vücutta, kıkırdak, tendon, ligament, kemik matriksi, böbreğin pelvisi, uterus, urethra, deri, kan damarları, karaciğer ve kas gibi pek çok organ ve yapıda bulunur. Bağ dokusu:

- a) Hücreler,
- b) Hücreler arası maddeden oluşur (34).

Bağ dokusu hücresi fibroblasttır. Bundan türeyen fibrosit, kıkırdakta kondroblast, kemikte ise osteoblast adını alır. Ayrıca histiyositler, mast hücreleri, yağ dokusu hücreleri ve lenf hücreleri de bağ dokusu hücrelerindedir. Fibroblast nerede bağ dokusu yapılacaksa, orada ilk kez beliren fusiform şekilli bir hücredir. Hücreler arası maddenin fibroblast, kondroblast, osteoblast tarafından sentez edildiği yapılan invitro çalışmalarla, hücre kültürlerinde üretilen fibroblastlarda gösterilmiştir (34,36).

Bağ dokusu ara maddesinin iki yapı taşı bulunur:

- a) Fibriller protein
- b) Mukopolisakkarid-protein kompleksleri

a) Bağ dokusunun esas yapısını oluşturan ve bu dokuda en fazla bulunan fibriller protein, kollajendir. Kollajen, 340.000 mol. ağırlığındaki bir monomerin (tropokollajenin), polimerleşmesi ile oluşmuş makromoleküldür. Üçlü heliks yapısında olduğu gösterilmiştir. Tropokollajen, molekül ağırlığının 2/3'ü kadar glisin, prolin ve hidroksprolin iğerir.

Bağ dokusunun ikinci fibriller proteini elastik liflerdir. Elastin denilen proteinden oluşur, yapısı kollajenden farklıdır (24,34).

Kollajenin Sentezi:

Fibroblastların kollajen ve elastin sentezlediği gerek elektron mikroskopuyla, gerekse doku kültürlerinde gösterilmiştir. Önce hücre içinde prokollajen veya tropokollajen denilen öncül molekül sentez edilir. Ribozomlarda geręekleřen bu olay sonucunda üç peptid zincirinden oluşan helikal yapıdaki tropokollajen meydana gelir. Her bir polipeptid zinciri de üç özel peptidin tekrarlanması ile oluşmuştur. Kollajende bu zincirler alfa₁ ve alfa₂ olmak üzere iki türdür. Bu üçlü peptid (glisin-x-y) formülü ile gösterilebilir. Burada x ve y yerinde en çok (prolin-hidroksiprolin) veya (lizin-hidroksilizin) bulunur. Amino asitlerin diziliş şekli genetik kontrol altındadır. Bu evreye 'genetik şifrenin tercümesi evresi' veya 'alfa zincirlerinin sentezi evresi' denmektedir (24,34,35,36).

Zincir oluştuktan sonra prolin ve lizin, prolin hidroksilaz ve lizin hidroksilaz gibi stoplazmik enzimlerle hidroksillenir. Hidroksilasyon işlemi için oksijen, demir iyonu, askorbik asit ve alfa keto glutarat gibi ko-faktörlere gerek vardır. Hidroksilasyondan sonra protein, ısıya dayanıklı ve daha stabil hale gelmiş olur. Daha sonra üçlü

peptid zincirleri birbirleri etrafında dolanarak bir üçlü heliks oluşturur. Molekülün bir glikoprotein yapısını kazanması için glikozilasyon işlemi gerekmektedir. Bunun için helikal yapıya özel transferaz enzimleri aracılığıyla karbohidrat üniteleri, sonrada özel enzimler aracılığıyla UDP-galaktoz ve UDP-glukoz üniteleri peptid zincirindeki hidrosilizinlere takılırlar. Glikozilasyondan sonra özel bir peptidaz aracılığıyla küçük bir peptid kısmı yapıdan ayrılır. Uzayan bu peptidler tekrar heliks yapısı kazanırlar (24,30,35,36).

Aralarında disülfid köprülerinin gelişmesiyle fibril halini alarak hücre dışına atılırlar. Bundan sonra prokolajenler lizin oksidaz enzimi aracılığıyla çaprazlaşarak olgun protein yapısını oluştururlar. Çaprazlaşma (cross-linking) evresinden sonra kollajen fibrilleri birbirleriyle ve diğer makromoleküllerle birleşip daha geniş kollajen fibrillerini oluştururlar (24,30,35,36).

Kollajen sentezini düzenleyen mekanizma tam olarak bilinmemekle beraber, prolin hidrosilaz aktivitesinin sentezde hız kısıtlayıcı bir rolü olduğu ileri sürülmüştür (36).

Kısaca özetlemek gerekirse kollajen sentezi evreleri:

1. Alfa zincirlerinin biyosentezi
2. Hidrosilasyon
3. Glikolizasyon
4. Kısmi proteoliz
5. Sekresyon
6. Cross-linking (çaprazlaşma)
7. Kollajen fibrillerinin birbiriyle birleşmesi şeklindedir.

Bu evrelerden herhangi birisindeki bozukluk kollajenin yapısını ve doğal olarak görevini etkileyecektir.

a) Bağ dokusu ara maddesinin ikinci yapı taşı mukopolisakkarid-protein kompleksleridir. Bu bileşikler, bir grup asidik amino asit ve karbonhidrat türevleridir. Ara madde sodyumdan zengin olduğu için organizmada sodyum deposu olarak da görev yapmaktadır. Sodyum miktarını kondroitin sülfat ve hyalüronik asit ayarlamaktadır (24,36).

Yukarda söz edilen alfa zincirlerine göre vücutta dört tip kollajenin bulunduğu ileri sürülmüştür. Örneğin kollajen tip I de, iki adet birbirinin aynı alfa₁ zinciri, bir tanede yapısı tamamen farklı olan alfa₂ zinciri bulunmaktadır. Vücutta en fazla bulunan tip I kollajendir. Tablo I da kollajen tipleri kapsadıkları aminoasitler ve buldukları dokular gösterilmektedir (30).

Tablo I. Organizmada bulunan kollajen tipleri

Tip	Zincir Yapısı	4-Hyp	3-Hyp	Hyl.	Gly.	1/2 Cys	Buldukları doku.
1	[$\alpha 1(I)$] ₂ $\alpha 2$	93 83	0.8 0.8	4.9 9.2	346 347	0 0	Tendon, kemik, dermis, ligament, akciğer, kalp kapağı, fascia, kornea, skatris, karaciğer, dentin
2	[$\alpha 1(II)$] ₃	97	2	14	326	0	Kıkırdak, nukleus pulposus
3	[$\alpha 1(III)$] ₃	124	0	5	354	2	Kardiyovasküler doku, A.C, karaciğer, ince barsak,
4	[$\alpha 1(IV)$] ₃	130	II	45	310	8	Bazal membranlar.

Bilindiği gibi herhangi bir maddenin sentezi uygun ham maddenin, çevrenin, enzimlerin ve enerjinin bulunmasına bağlıdır. Kollajende hammadde aminoasitlerdir. Uygun bir

çevre veya ortam denilince hormonlar, vitaminler, toksik maddenin varlığı anlaşılmaktadır. Hormonlardan tiroid hormonu; kollajenin sentez ve yıkımını arttıran, büyüme hormonu ise; sulfasyona dolaylı olarak etki edip sentezi hızlandıran, parathormon; yıkımı arttıran, kortizon ise; sentezi azaltan hormonlardır (25). Aldosteronun ise glikokortikoidlerin tersine total hidroksprolin atımını arttırıcı etkisi gözlenmiştir (37). Vitaminlerden özellikle C vitamini kollajen sentezinde ko-faktör olarak rol oynamaktadır. D vitaminin kollajen sentezindeki etkisi yapılan in vivo çalışmalarla incelenmiştir. Diyetteki D vitamininin C¹⁴ ile işaretli prolinin C¹⁴ hidroksprolin haline geçişini engellediği kromatografik yöntemlerle ortaya konmuştur. Elementlerden demir, kollajen sentezinde rol oynayan gerekli bir maddedir. Bakır ve çinkonun da eksikliklerinde kollajen formasyonunun bozulduğu görülmüştür (30).

Bunlardan bakır eksikliğinde kollajen ve elastinin sentezinde cross-linking evresinde bozukluk olmaktadır. Bakıra bağlı bir enzim olan, cross-linking de önemli rol oynayan lizin oksidaz enziminin etkisiyle oluşan bu bozukluğun sonucunda, kollajen daha solubl hale gelmektedir (30). Ayrıca bakır eksikliğinde cross-linking sayısında da azalma olduğu bildirilmiştir (39).

Çinko kollajen metabolizmasında önemli bir yeri olan iz elementtir. Eksikliğinde yaraların güç iyileşmesi, iyileşmekte olan yara bölgelerinde (doku hasarı olan yörelerde) çinkonun normalden daha az birikmesi, büyüme ve gelişme geriliğine neden olması, yara bölgelerinde gerilme kuvvetinde azalma, çinkonun kollajen metabolizmasındaki yerinin değerli kanatlarıdır (17).

Biyoşimik çalışmalar, çinkonun kollajen sentezine mi, yoksa kollajen metabolizmasının diğer komponentlerine mi etkili olduğunu aydınlatmaya yöneltmiştir. Genel olarak, çinko eksikliğinde total kollajen miktarında azalma olduğu gösterilmiştir. Bununla beraber DNA sentezindeki aksaklıkların, fibroblastların proliferasyonunu da engelleyerek, protein sentezinde (kollajenin sentezinde) total olarak bir azalmaya yol açacağı ileri sürülmüştür (17).

Kollajen içeren bağ dokusu sürekli değişime uğrayan bir dokudur. Büyüme sırasında kemiklerin yeniden şekillenmesi (remodelling), doku hasarından sonra dokuların yenilenmesi ve uterusun doğumdan sonra tekrar eski şeklini alması, bağ dokusunun bu yeteneğini göstermektedir. Organizmadaki çeşitli doku proteolitik enzimlerine dayanaklı olan kollajenin yıkılabilmesi ve parçalanabilmesi için özel bir kollajenaz enzimine gerek vardır. Kollajenaz, kollajen fibrillerini fizyolojik şartlarda parçalama özelliğine sahip olan bir enzimdir. Tüm memelilerdeki kollajenaz enzimi, kollajene aynı şekilde etki eder. Doğal kollajen iki kısma parçalanır (30).

a) Kollajenin % 75'ini oluşturan ve amino terminaline sahip olan birinci parça.

b) % 25'ini oluşturan ve korboksi terminaline sahip olan ikinci parça.

Fizyolojik ısıda bu parçaların çabuk denatüre olan, sabit olmayan bir yapıları vardır. Denatüre olunca, dokudaki proteolitik enzimlere karşı yapılarını koruyamıyarak yıkılırlar (30).

Epitel hücreleri, mezenşim hücreleri, polimorf nüveli lökositler, trombositler, Kupffer hücreleri, fibroblast gibi birçok hücreler kollajenazı sentez etme ve salgılama

yeteneğine sahiptirler. Bunun dışında Clostridium ve Pseudomonas gibi bazı bakteriler de kollajenaz enzimini yapabilmektedir. Kollajenazın ciltte, iyileşen yaralarda, kemikte, gingivada, parçalı lökositlerde, postpartum dönemde uterusu, romotoid snovia ve nodülde, korneada bulunduğu gösterilmiştir (25,30).

Kollajenazın yapımı hormonal kontrol altındadır. Progesteron, çok düşük dozlarda bile kollajenazın sentezini bozmaktadır. Hidrokortizon ve deksametazonun ise, kollajenaz üzerine inhibitör veya etkisini arttırıcı rolü olduğu şeklinde çelişkili yayınlar vardır (25,30,40).

Bunun dışında tip 2 kollajenin, kemiğin yapısındaki tip I kollajenden daha güç yıkıldığı, genç kollajenin ise daha kolay yıkıldığı bildirilmiştir. Tendon ve ligamanlardaki kollajenin daha dayanıklı olduğu, cross-linking evresinin, kollajen fibrillerini kollajenazın etkisine daha dayanıklı bir hale getirdiği de yazılmaktadır (25,30,40).

Kemik Dokusu:

Kemik dokusu, matriksine kalsiyum tuzlarının çökmesi ile oluşmuş bir bağ dokusudur (36). Kuru ağırlığının % 30-40 kadarını organik matriks oluşturur. Matriksin % 95'i ise kollajendir (26).

Büyüme plağı denilen, immatür kemiğin uzunlamasına büyümesinden sorumlu olan kısmında, eklem kıkırdağının en yüzeysel tabakasında kollajen miktarı, derin tabakalara oranla daha fazla bulunmuştur (25,36). Çinkonun kemik, dokusunda kalsifikasyon işlemini aktive eden ve osteonların yapımından sorumlu bir iz element olduğu da bildirilmiştir (41).

B) HİDROKSİPROLİN

Kollajen metabolizmasında ve bağ dokusunda sık sık sözü geçen hidroksiprolin bir non-esansiyel aminoasittir. Kollajende % 13-14, elastinde ise % 1-2 oranında bulunur. Vücutta başka bir proteinde bulunmadığı bildirilmekle beraber, beyinde lipoproteinlerde de çok az miktarda saptandığı yazılmıştır (30).

Hidroksiprolin (HOP), insanlarda, memelilerde, birçok bitkide ve özellikle bitkilerin hücre duvarının yapısında bulunan bir amino asittir. Ayrıca mikroorganizmalarda ve bazı antibiyotiklerde hidroksiprolinin bulunduğu gösterilmiştir. Örneğin Aktinomisın 1 denilen ve Streptomyces antibioticus'dan elde edilen antibiyotiğin yapısında bulunduğu ve sentezinin hayvanlardakinden daha hızlı olduğu ortaya konmuştur (42,43).

HOP, memelilerde 4-Hydroxy-L-Proline ve 3-Hydroxy-L-Proline şeklinde bulunur. İnsanlarda ve özellikle kollajende en fazla bulunan 4-Hydroxy-L-Proline şeklidir. (30)

Hidroksiprolinin çoğu doğrudan doğruya prolinden oluşur. Yani prolinin hidroksilasyonu ile meydana gelir. Uzun yıllar hidroksilasyon reaksiyonunun, prolinden zengin bir kollajen prekürsörü üzerinde olduğu düşünülmüştür. Buna karşın, son yıllarda fibroblast kültürlerinde yapılan araştırmalar, hidroksilasyonun polizomlara bağlı kollajen zincirinde oluştuğunu göstermiştir. Hidroksilasyon işlemi prolin hidroksilaz denilen özel bir enzimle katalize edilmektedir. Hidroksilasyon işlemine oksijen, demir iyonu, alfa-keto-glutarat ve askorbik asit de katılmaktadır. Bu maddelerin bulunması hidroksilasyon reaksiyonu için şarttır. Bunun dışında Goldstone ve Adams'ın öne sürdüğü diğer bir

yolla da serbest hidroksprolin sentezi yapılabilir. Burada hidroksprolin glyoxalate ve pyruvattan elde edilmektedir. İnsanlarda da bu mekanizmanın geçerli olabileceği düşünülmektedir. Ancak son yıllarda öne sürülen ikinci biyosentez mekanizması henüz tam aydınlatılamamıştır (30, 31,36).

Serbest hidroksprolin dokularda özel bir yolla yıkılmaktadır. Yıkımı, yaklaşık olarak ikinci biyosentez mekanizmasının tersi yöndedir. Bu yolla yıkımı karaciğer ve böbrekte gösterilmiştir. İnsanlarda HOP turnoverinin % 80' i bu yolla olmaktadır. Kalan ise kollajenden elde edilen peptide bağlı bir şekilde idrarla atılır. İdrarda peptide bağlı olarak atılan bu hidroksprolinin atım hızı, kabaca eriyebilen (solubl) kollajen turnoverinin bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (30,31).

Plazmadaki total hidroksprolinin % 20'si (0,01 mM den azı) serbest şekildedir. Yine plazmada total HOP'nin % 2 den azı hidroksprolin peptidleri şeklindedir. İdrarda ise peptidler fazladır. Oligopeptidler hücrelere zor taşınır, fakat renal tübüllerden salgılanabilirler (30).

Serbest hidroksprolinin normalde renal klirensi çok düşüktür. Geri emiliminde birden fazla sistem etkilidir. Yüksek konsantrasyonlarda geri emilimi, prolin ve glisin tarafından paylaşılır. Bununla beraber, endojen şartlarda ve konsantrasyonlarda olasılıkla ve öncelikle prolin tarafından taşınır. Yani hidroksprolinin kendine ait bir transport sistemi yoktur. Prolin ve glisin ile aynı transport sistemine sahiptir (31)..

İdrarda total HOP miktarı denilince, bağlı ve serbest hidroksprolin miktarının toplamı anlaşılır. Serbest hidroksprolin, en fazla erken süt çocukluğu döneminde görülür.

Bağlı HOP ise, erişkinlerin idrarındaki total hidroksiprolinin % 96'nı oluşturur. Jelatin dışında normal bir diyetin, idrar akış hızının, hidrasyon veya dehidratasyonun, atım miktarını etkilemediği bildirilmiştir (30,31,44). Normal bir kimse jelatinden zengin bir diyetle beslenince de idrarı ile atılan HOP peptidleri değişmez, yalnızca total hidroksiprolin miktarı artar (30,45).

Serbest plazma hidroksiprolininin diğer bir kaynağı da kollajen yıkımıdır. Kollajen hidroksiproline değil, hidroksiprolin içeren peptidlere yıkılmakta ve bu peptidlere bağlı hidroksiprolin de idrarla atılmaktadır. Erken süt çocukluğu dönemi dışında, sağlıklı kişilerin idrarında serbest HOP bulunmamaktadır. Ancak hidrolizden sonra serbest hidroksiprolinin idrarda gőrőlebileceęi bildirilmiştir. Bağlı hidroksiprolin solubl ve insolubl kollajenin yıkımını takiben idrarda bulunur. Hurych ve Chvapil, serbest hidroksiprolinin ana kaynağının solubl kollajen olduğunu göstermişlerdir. Araştırmaları, yeni oluşan solubl kollajenin HOP içeren oligo peptidlerden meydana geldiğini, bunların daha sonra serbest hidroksiproline dőnüřtőęünü ortaya koymuştur. Insolubl kollajenin turnoverı ise daha yavaş olmaktadır. Memelilerde idrardaki hidroksiprolinin yarısı olasılıkla solubl kollajenin turnoverından oluşmaktadır (30).

Bu gőrőřleri etkileyen, ya da değiştiren iki faktör vardır.

a) Solubl kollajenin turnoverı ile ağığı çıkan oligo peptidlerin tekrar kollajen sentezinde kullanıldığı dőřőnőlmektedirki, bu husus halen tartışmalıdır.

b) Elde edilen idrardaki HOP miktarı, solubl kollajenin turnoverından beklenen HOP miktarından daha az bulunmuştur. Kaybolan hidroksiprolinin, katabolik havuza girdiği öne sőrőlmektedir (30).

İdrardaki hidroksprolin peptidleri ilk kez Westall tarafından prolylhydroxyproline dipeptidi şeklinde tanımlanmıştır (23).

Ayrıca sağlıklı kişilerde ve çeşitli kollajen doku hastalıklarında 'ion-exchange' kromatografisiyle idrardaki hidroksprolin peptidlerinin beş pik oluşturduğu ve normal kişilerle, hasta olanlar arasında pikler açısından fark olmadığı gösterilmiştir. Aynı kollajen molekülünde bulunan (glisin-prolin-hidroksprolin) tripeptid dizisinin idrarda da bulunduğunu ortaya koymuştur. Bu çalışma, idrardaki hidroksprolin peptidlerinin, kollajen metabolizmasının son ürünleri olduğunun önemli kanıtlarıdır (45). Daha sonraları 1964 yılına dek, idrarda ek olarak 12 hidroksprolin peptidi daha saptanmıştır (23). Hatta, yapılan bazı hayvan deneyleri, kollajen peptidlerinin bir kısmının karbondioksit kadar parçalandığını göstermiştir (27,30).

Bugüne dek üç ayrı olguda hidroksprolinemi, bir doğuştan metabolizma bozukluğu olarak bildirilmiştir. Bir tür aminoasidopati olup, otozomal resesif geçiş gösterdiği saptanmaktadır. Plazma ve idrarda serbest HOP atımı yüksek, peptide bağlı olan HOP ise normal bulunmuştur. Normal kollajen turnoverının (2g/gün), hidroksprolinemiye yol açmak için yeterli olduğu görülmüştür. Üç olgudan ikisinde, mental ve fizik gelişim geriliği olduğu dikkati çekmiştir. Defektin olasılıkla hidroksprolin oksidaz enzimi ile ilgili olduğu düşünülmektedir. Yapılan çalışmalar insan beyninde, bu enzim aktivitesinin bulunmadığını göstermiştir. Ek olarak, hasta çocukların B.O.S. da HOP saptanılmamıştır. Bu nedenle zeka geriliği ile biyosimik defektin arasında doğrudan bir ilişki olmadığı sonucuna varılmıştır. Diyetle tedavi olasılığı olmamasına karşın, HOP ve askorbik asit kısıtlanmış; glisin ise diyete özellikle konulmuştur. Sonuçta HOP düzeyi biraz düşürülmüş fakat hiperglisinemi tablosu

ortaya çıkmıştır (30,31).

Kollajende bulunan hidroksiprolinin atımı, kollajen metabolizmasını ve turnoverını en iyi yansıtan bir indeks olarak kabul edilmektedir. Normalde az miktarda hidroksiprolin idrarla atılmaktadır. Kollajen metabolizmasını etkileyen herhangi bir olay hidroksiprolin metabolizmasını da etkiler. Hidroksiprolinin oluşumundaki herhangi bir aksaklık onun depolarını da etkilemektedir. Kollajenin HOP peptidlerine kadar yıkılmasının, solubl, daha az solubl ve insolubl kollajen havuzlarındaki değişikliklerin sonucunda olduğu saptanmıştır (30).

Hidroksiprolin miktarı, kolorimetrik olarak ölçülebilmektedir. Mademki HOP, yeni bir kollajen yapımında tekrar kullanılmamaktadır, o zaman idrardaki düzeyi, kollajenin yıkımından açığa çıkan HOP miktarıdır denmektedir. Yani hidroksiprolin atım düzeyi, kollajenin yıkım hızını ve miktarını yansıtmaktadır (30).

Vücuttaki kollajenin büyük bir kısmı kemiğin matriksinde bulunmaktadır (% 95). Kemik kollajenin diğer dokularındaki kollajenden daha hızlı bir turnoverının olduğu saptanmıştır. Kemik, olgun kollajenin deposu gibidir ve katabolizması idrarla atılan HOP peptidlerinin çoğunu oluşturmaktadır. Yani kemik yıkımı artınca idrardaki HOP miktarı da artar. Büyümekte olan çocuklarda kemiğin turnoverı hızlıdır, yüksek miktarda HOP atılır. Yetişkinlerde atım azalır. Yalnız kemik yıkımı, hiperparatiroidizm, iskelet sistemi metastazları veya infeksiyonlar gibi nedenlerle artarsa HOP atımı da artar (25). Fakat bu belirtilen durumlarda ve özellikle büyümede hem kollajenin sentezi, hem de yıkımı söz konusudur. İdrardaki hidroksiprolinin senteze mi, yoksa kollajenin yıkımınamı ait olduğunu saptamanın güç olduğu bildirilmektedir (23).

Yayınlardaki ortak nokta, idrardaki total HOP atım miktarının organizmadaki kollajen turnoverını ve özellikle kemiğin turnoverını yansıttığı şeklindedir. Bu nedenle de HOP atımı, kollajen metabolizmasının ilgili olduğu her durumda, özellikle büyümede "bir indeks olarak", çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlarda incelenmiş, değerli sonuçlar elde edilmiştir (23,25,30,31).

C) THALASSEMİA SENDROMLARI VE KEMİK DEĞİŞİKLİKLERİ

Thalassemia sendromu 1925 yılından beri tanınmaktadır. Başta Akdeniz ülkeleri olmak üzere Orta Doğudan Uzak Doğuya kadar uzanan bir kuşak boyunca yüksek insidans göstermektedir. Bununla beraber dünyanın her yerinde görülebilmektedir. Ülkemizde de % 2.1 sıklıkta görülen beta thalassemia trait, alfa thalassemia ya oranla daha fazla önem taşımaktadır (5).

Thalassemia sendromları, hemoglobinin globin zincirlerinden bir veya daha çoğunda sentez hızında azalma ya da tüm yokluğu ile oluşan, hemoglobin sentez hastalıklarının bir grubudur (1,2,3,4,7).

Bilindiği gibi hemoglobinin globin kısmı dört polipeptid zincirinden oluşmaktadır. Bunların ikisi alfa, diğer ikisi ise beta polipeptididir. Alfa zinciri tüm insan hemoglobinlerinde aynıdır. Yani hemoglobinleri birbirinden ayıran alfa zinciri olmayan diğer zincirlerdir. Hb A da 2 alfa-2 beta zinciri, Hb A₂ de 2 alfa-2 beta, Hb F de ise 2 alfa -2gama zinciri bulunmaktadır (2,6). Intrauterin dönemde egemen olan Hb F dir. Doğumda dolaşımdaki tüm hemoglobinin % 80 - 90'nını Hb F oluştururken, bu oran doğum sonrası 4-6. ayda % 2 veya daha aşağı düşerek hep bu oranda devam eder. Normal dolaşımdaki hemoglobinin % 95 veya daha çoğu Hb A dır. Hb A₂ ise total hemoglobinin % 2-3'nü oluşturur (2,6).

Globin zincirlerinin yapımı genetik kontrol altındadır. Her bir polipeptid zinciri ayrı bir yapısal gen tarafından kontrol edilmektedir. Yapısal (strüktürel) genler ise kendilerine ait messenger RNA (mRNA) aracılığıyla görevlerini yaparlar. Protein sentezi, kırmızı seri ön hücrelerinin poliribozomlarında olmaktadır. Hücrenin çekirdeğindeki DNA da sentez edilecek olan proteine ait bilgi bulunmaktadır. Bu bilgi ribozomlara mRNA aracılığıyla taşınmakta ve onları yapılacak olan özel proteinin sentezine yetenekli kılmaktadır (2,10). Amino asitlerin, polipeptid haline gelmeden önce uyarılmaları gerekir. Bu nedenle herbir amino asit için ayrı bir enzim, enerji ve spesifik transfer RNA ya (tRNA) gerek vardır. Amino asit uyarılınca transfer RNA'nin bir ucuna yerleşir. Bundan sonra her amino asit ribozomlarda mRNA ve tRNA'nın bazıları arasındaki spesifik bir bilgi ile belirlenmiş olan belirli bir sırayla, ribozomlarla birleşir, kümeleşir ve peptid bağlarını oluşturur. Uzama süreci peptid zinciri tamamlanıncaya kadar sürer. Protein oluştuktan sonra, ribozomlardaki sentez noktasından mRNA'nın verdiği uyarı ile serbest duruma geçer (2,10,19).

Thalassemia sendromlarında alfa, beta ve gama peptid zincirleri, genetik bozukluğa bağlı olarak yetersiz yapıldığından, globin zincir sentezi dengesiz olmaktadır. Bunun hatalı peptid zincirinin fonksiyonel mRNA sında azalma sonucunda olabileceği düşünülmektedir. mRNA'nın ya normalden daha hızlı yıkıldığı veya miktar olarak normal olmasına karşın mRNA'nın fonksiyonel olmamasına bağlı olduğu öne sürülmektedir (10).

Beta talassemialıların çoğunda HbF sentezi sürmektedir. Son yıllarda beta talassemia β^+ (beta zinciri mRNA sında azalma olan), β^0 (beta zinciri mRNA sının olmadığı) talassemialar olmak üzere çeşitli tiplere ayrılmaktadır (1).

Bu genetik bozukluğu homozigot olarak taşıyanlarda klinik bulgular çok belirgindir. Yaşamın erken dönemlerinde tanı konulabilen major tipinin yanısıra, klinik bulguların daha hafif seyrettiği heterozigot olan minor formu da bulunmaktadır. Klinik bulguların orta şiddette olduğu, intermedia tipi ise homozigot veya heterozigot olabilmektedir (2,6,10).

Homozigot beta thalassemia da HbA₂ yüksek, HbF ise normal veya hafif yüksek olabilir. Bunun yanısıra HbA₂ si normal, HbF'i ise hafif veya çok yüksek olan tipler de bulunmaktadır (2).

Thalassemia sendromunda klinik belirtiler globin zincirinin sentezindeki dengesizlikle ilgilidir. Beta zinciri az sentez edilince, alfa zincirlerindeki sentez artmaktadır. Bu durumda artan alfa zincirleri membranda birikerek eritroid seri ön hücrelerinin kemik iliğinde erkenden parçalanmasına yol açmaktadır (3,10).

Artan ineffektif eritropoez kemik iliğinin genişlemesine, myeloid seri/eritroid seri oranının ters dönmesine yol açmaktadır (3,5).

Beta thalassemia majorda en belirgin klinik bulgular; yaşamın ilk aylarında beliren anemi, belirgin iskelet sistemi değişiklikleri ve yüz görünümü, hepatosplenomegali, gelişme geriliği ve hipogonadizmdir (2,3,4,5,9,18,31).

Büyüme, seksüel olgunlaşmadaki gerilik önemli klinik belirtilerdendir. Özellikle 8-10 yaşlar civarında büyüme geriliğine özel bir eğilim olmakta ve çocukların eriştikleri en son boy uzunlukları da kısa kalmaktadır(46). Beta thalassemia majorlu çocuklar üzerinde yapılan bir araştırmada, erkeklerde 6 yaştan, kızlarda ise 8 yaştan sonra büyüme hızında azalma olduğu gösterilmiştir. Bu hastalarda adolesan evrede

büyüme hızında artış olmadığı da gözlenmiştir (9).

Büyüme geriliğinin anemi, hipoksi, folat eksikliği, aşırı kemik iliği aktivitesi ve kemik iliğinde genişleme, demir yüklenmesine bağlı endokrin yetmezliğe bağlı olabileceği öne sürülmüştür. Yapılan çalışmalarda büyüme hormonu ise normal düzeylerde bulunmuştur (3,9,12).

Ineffektif eritropoezin büyüme etkisi genellikle erken çocukluk dönemlerinde görülmekte ve daha ileri yaşlarda görülen endokrin bozukluklara bağlı büyüme geriliklerinden de farklı olmaktadır. Bunun nedeninin ise kemik iliğinin hiperaktivitesi olabileceği düşünülmüştür. Bu hastalarda ek olarak, adale dokusunun azlığı, ekstremitelerin zayıf görünmesi, egzersizlere dayanıksızlıkları da büyüme ve gelişme geriliklerini vurgulayan diğer bulgular-
dır (5).

Beta thalassemia majorlu çocukların boy, ağırlık ve iskelet gelişiminin incelendiği bir araştırmada, 4 yaşından önce gelişmenin normal sınırlarda olduğu görülmüştür. Ancak bu yaştan sonra büyüme hızının giderek yavaşladığı, hatta normalde puberte döneminde, bu kriterlerde artış olmasına karşın, thalassemia majorlularda böyle bir durumun olmadığı saptanmıştır. Transfüzyonlarla hemoglobinin sabit bir düzeyde tutulmasının yararlı olmadığı ve endokrin glandlarda demir birikmesinin buna neden olduğu fikri öne sürülmüştür (47).

Boy, ağırlık, baş çevrelerinin ölçümü ve değerlendirilmesiyle yapılan bir diğer çalışmada, büyümenin 4 yaşından sonra yavaşladığı gösterilmiştir. Ayrıca yaş ilerledikçe büyüme geriliğinin daha da belirginleştiği, baş çevresinin ise kontrol grubundan farklı olmadığı saptanılmıştır (48).

Ayrıca çinkonun büyüme, hipogonadizm ve kemik değişikliklerine etkisini incelemek üzere yapılan çalışmada, talassemia majorlu hastalarda plazma, eritrosit ve saçta çinko düşük, idrarla çinko atımı ise yüksek bulunmuştur. Çinko eksikliğinin neden olduğu protein sentezindeki ve endokrin sistemin işlevindeki bozukluğun büyüme, hipogonadizm ve kemik değişikliğine yol açtığı düşünülmüştür (19).

Thalassemia majorda ikincil cinsiyet özelliklerinde, menarşda gecikme olmakta, hatta bazı ölçularda menarş oluşmamaktadır (4,46). Gonadal yetmezliğin hemokromatozise ve sekonder hipofizer hipofonksiyona bağlı olabileceği ileri sürülmüştür (12,46). Fakat hastalarda görülen endokrinopatiji açıklamak bakımından, kortikotropin, tirotropin ve gonadotropinlerin hipofizer sekresyonlarının pirimer bozukluğu henüz bildirilmemiştir (3). Yalnız bu hastalarda growth hormon düzeylerinin normal olmasına karşın, olasılıkla karaciğerde demir depolanmasına bağlı olarak somatomedin düzeylerinin normale göre düşük olduğu bildirilmiştir (13).

Beta talassemia majordaki kemik değişiklikleri ise ilk kez 1927 de radyolog Lawrence Reynolds tarafından tanımlanmıştır. Bu değişiklikler kemik iliğinin aşırı çalışmasına ve genişlemesine bağlanmıştır. Nisbeten hafif klinik formlarında, kemik boşluğu güve yeniği gibi görünürken, hastalığın ileri evrelerinde, belirgin vertikal çizgilenmelerin olduğu, uzun kemiklerin normalden daha geniş gibi görüldüğü ve kemiklerin ağır osteoporosis nedeniyle giderek saydam bir hal aldığı bildirilmiştir (11).

Tüm yaşam boyu eritropoetik aktivitesini sürdüren kafatası, columna vertebralis ve pelvisteki değişiklikler giderek belirginleşir ve puberteden sonra daha da çok dikkati çeker hale gelir. Sonuçta kafatasında diploe mesafesinde genişleme, frontal bossing, fırça manzarası şeklinde görünüm ortaya çıkmaktadır (3,11,49).

Paranasal kemiklerde, kemik iliğinin aşırı çalışması pnömatizasyonu engeller. Bu durum özellikle maxiller sinüslerde çok belirgin olmaktadır. Temporal kemiklerde pnömatizasyon normal veya tamamen kaybolmuşken, kemik iliğinin az olduğu ethmoidal sinüslerin pek değişmediği bildirilmiştir. Frontal sinüsler normal, küçük veya kaybolmuştur. Maksillanın hipertrofisi sonucunda özellikle ön santral kesici dişlerin ektopisine ve üst maksillanın öne fırlar şekilde yer almasına yol açar. Üst dudak yukarı çekilir, gözler arasındaki mesafe genişler ve üst dişlerin öne fırlamış haliyle hastaların mongoloid görünümünden ziyade bir 'kemirici' görünümüne büründükleri ileri sürülmüştür (11,49).

Ineffektif eritropoez sonucunda kemik korteksinde incelme, kaba trabeküler yapı, kemik boşluğunda kistik bir görünüm oluşur. Spontan veya travmalarla kırıklar olabilir (5,50). Bu fraktürlerin sıklıkla birden çok olduğu ve alt ekstremitelerde görüldüğü, kırık iyileşmesinin geciktiği ve kalıcı iskelet deformitelerinin olduğu bildirilmektedir. Ayrıca columna vertebralisde asemptomatik kompresyon kırıkları ve uzun kemiklerde erken epifiz kapanmasının olduğuda saptanılmıştır. Kırıkların sayısının yaşla hastalığın ağırlığıyla veya Hb düzeyi ile ilgili olmadığı belirtilmektedir (11,20,21,50).

Erken epifiz kapanması aslında ender görülen bir durumdur. Epifiz kırırdağını içine alan enfeksiyon ve travmalardan sonra bir komplikasyon olarak görülebildiği, A vitamini hipervitaminozunda, konjenital kondrodistrofilerde, skorbütü takibende ortaya çıktığı bildirilmiştir. Bununla beraber talassemialılarda bilinmeyen bir nedenle özellikle 10 yaşından sonra epifizlerin erken füzyonunun % 23 oranında özellikle humerusun ve tibianın proksimal, femurun ise distal ucunda görüldüğünden söz edilmekte, sonuçta ekstremitelerde boy kısalıklarının olduğu vurgulanmaktadır (21).

Beta thalassemia majorlu hastaların gelişen tedavi yöntemleri sonucunda yaşam süreleri 20-30 yaşına dek uzatılabilmektedir. Bu nedenle başlangıçta pek dikkati çekmeyen, ender görülen problemler giderek önem kazanmaktadır.

Gratwich ve arkadaşları 5-33 yaşlar arasındaki 50 hastadan 25'de hareketle artıp, istirahatle geçen, ağırlık taşımayla şiddetlenen bacak ağrıları şeklinde, periartiküler hastalık belirtilerinin ortaya çıktığını gözlemişlerdir. Osteoartropati adını verdikleri bu tabloda, eklem ve kemik yakınmaları simetrik olup, bası bölgelerinde ağrı, orta derecede eklem şişlikleri şeklinde olmaktadır.

Artrosentezde inflamasyon belirtisine rastlanmamıştır. Radyolojik değişiklikler olarak ağır osteopeni, medullada genişleme, kortekste incelleme, kaba trabekülasyon ve mikrofraktürler olduğu saptanılmıştır. Histolojik incelemede fraktürlerin sanılandan fazla olduğu, osteomalasinin bulunduğu, osteoblastik ve osteoklastik yüzey alanlarında artma olduğu, sement çizgileri ve kalsifikasyon sahalarında demir depolandığı otopsi ve osteotomi yapılarak gösterilmiştir (20).

Ender görülen bir iki olguda sağ hemotoraksın apeksinde saptanılan kemik kitlesi hastaların yaşı ilerledikçe büyümüştür. Nekropside bunun kemik iliğiyle, periostuyla tam bir kemik dokusu olduğu ortaya konmuştur. 'Kostal osteoma' denilen bu durumun thalassemia majorun bir komplikasyonu olabileceği düşünülmüştür (11).

Bir radyolog olan Baker'a göre, thalassemik çocuklarda kemik değişiklikleri yaşamın ilk yılında genellikle ortaya çıkmamaktadır. Bununla birlikte ilk 6 ay içerisinde de kemik değişiklikleri görülebileceği bildirilmektedir. Süt çocuğunda kemik değişikliklerinin en fazla görüldüğü

yerin el ve ayaklardaki küçük tübüler kemikler olduğu, spon-
giosa tabakasının ve korteksin atrofiye uğradığı ve kare Őek-
lini aldığı belirtilmektedir. Baker'a göre vertebraların kor-
pusundaki vertikal çizgilenmeler direnci arttırmak için bir
nlem olmaktadır. Thalassemiklerde, sicklecell anemideki gi-
bi vertebra cisimlerinde genişleme, yassılaŐma ve anaklaŐ-
ma olmadığı ne sürülmektedir. Nisbeten yaŐlı olgularda co-
lumna vertebralıŐe komŐu olan posterior kostalarda belirgin
ŐiŐliklere, geniŐlemelere de rastlamıŐlardır (49).

Novikova ve arkadaşlarının 199 thalassemik hasta ze-
rinde yaptıkları bir incelemede patalojik kırıkların yalnız-
ca beta thalassemia majorda grldğu, intermedia ve minor
formlarında ise görülmediği bildirilmiştir. Beta thalassemia
majorda patalojik kırıkların görülme sıklığı olgularında
% 5.5 olarak saptanılmıştır. Kırıkların temeldeki hastalı-
ėın çok belirginleştiği 5-9 yaşlar arasında ortaya çıktığı
vurgulanmaktadır. Gözlemlerine göre patalojik kırıklar da-
ha çok ve belirli bir travma olmaksızın femurda, çok par-
Çalı kırıklar Şeklinde olmaktadır. Yazarlar, bu kırıkların
iyileŐebildiėini ancak, kallusun iğne Şeklinde periostosis
gösterdiğini belirtmektedirler. Bunun kemiklerdeki tamir
işleminde atipik bir kemik maddesinin oluştuğunu düŐündür-
düğünü ne sürmektedirler (22).

Thalassemik hastalardaki kemik değişikliği anlaŐıla-
bileceği gibi detaylı olarak ortaya konmuştur. Giderek ya-
Őam süreleri uzayan tahalassemia majorlu hastalarda olası-
lıkla yeni ve bilinmeyen kemik değişiklikleri ile de kar-
ŐılaŐılabilinecektir. Ancak kemik değişikliklerinin neden-
leri genellikle kemik iliğindeki aşırı genişleme ve faali-
yete bağlanmak istenilmiştir (2,3). Bunun yanısıra normal
kemik metabolizmasının, normal bir endokrin, protein ve
mineral metabolizması ile sağlanabileceğini ne süren ya-
zarlar da vardır (51,52).

Endokrin bozuklukların varlığı talassemiada halen kesinlik kazanmamakla birlikte Shai ve arkadaşları olası anormal tiroid fonksiyonundan, Canale ve arkadaşları ise bozulmuş paratiroid ve gonadotropik hormon fonksiyonundan söz etmişlerdir. Tüm bunlar hipofizde veya son organlardaki hemakromatosise bağlanmak istenilmiştir.

Thalassemia majordaki kemik değişikliklerinin kolla- jen doku metabolizmasındaki bozukluktan olabileceği de düşünölmüştür. Bunun sonucunda kemikleşmenin hatalı olabileceği öne sürölmüştür. Bu nedenle 25 talassemia majorlu çocukta kan ve idrarda prolin düzeyleri incelenmiştir. Sonuçta kontrol grubuna oranla kanda ve idrarda prolin düzeyi yüksek bulunmuştur. Hiperprolinüri renal nedenlerle açıklanmıştır. Ancak hiperprolinemi ve hiperprolinüri ile kemik değişiklikleri ve osteoporosisin açıklanamıyacağı sonucuna vararak, idrarda hidroksiprolin tayininin yapılmasını önermişlerdir (52).

Thalassemia majorda kemik iliğinin aşırı aktivitesi gastrointestinal sistemden demirin absorpsiyonunun artmasında yol açmaktadır. Ayrıca sentez defekti Hb molekülündeki demir (inkorporasyonunu) önlediğinden dokulardaki demir birikmektedir. Öte yandan hastalara sık yapılan kan transfüzyonları da demir birikmesini arttırmaktadır. Ek olarak hastalarda sürekli hemoliz ile fazla miktarda demir açığa çıkmaktadır (3,53).

Thalassemia sendromlarının tedavisi lezyonun sekunder sonuçlarına yönelik olmaktadır. Örneğın anemi için çeşitli transfüzyon rejimleri önerilmektedir. Hemoglobın düzeyini 9-14 g/dl arasında tutacak şekilde belirli aralıklarla kan vermek gerekmektedir. Bu hastalar için konsantre kan transfüzyonları daha yararlı bulunmaktadır (5,10). Son yıllarda ise hipertransfüzyon rejimi denilen bir yöntemle

hastaların Hb düzeyi 9.5-10 g/dl olarak tutulmaktadır. Bu şekilde hastalarda hipersplenizm ve kalp komplikasyonlarının daha az görüldüğü, gelişmenin daha normal seyrettiği savunulmaktadır. Bu diğer yöntem ise, normal vericilerden alınan genç eritrositlerin hastalara transfüzyonudur. Bunun hemakromatosis olasılığını azalttığı ileri sürülmektedir (54,55).

Splenektomi, hepersplenizm bulguları olan, ağır trombositopeni ve çok sık transfüzyon gerektiren olgulara uygulanmaktadır (3,53,55).

Diğer önemli bir tedavi ise, organizmadaki demir fazlalığının giderilmesi için uygulanan demir bağlayan Desferrioksamine (DF) uygulanmasıdır. Bu ilaç i.m., i.v veya s.c. verilebilmektedir. Doz ve veriliş şekli için çeşitli görüşler vardır. 0.5-1 g/gün veya 20-25 mg/kg/gün olarak verilebilmektedir. İnfüzyon veya s.c uygulamasın daha etkili olduğu savunulmaktadır (54,56).

MATERYAL VE METOD

Araştırma, Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği, Hematoloji ve Onkoloji bölümünde homozigot β -thalassemia tanısı ile izlenmekte olan toplam 12 hastada yapılmıştır. Hastaların 6'sı erkek 6'sı kızdır. Yaşları 8 ay ile 20 yaş arasında değişmektedir.

Hastalara tanı, klinik hematolojik elektroforetik ve genetik incelemelere dayanarak konulmuştur.

Hastaların hepsinde anemi, belirgin morfolojik değişiklikler gösteren hipokromik eritrositler, normoblastosis, anormal fetal hemoglobin düzeyleri, serum demirinde artma ve latent demir bağlama kapasitesinde belirgin azalma bulunmaktadır. Anne ve babalarının heterozigot thalassemiyalı olduğu kan sayımı, periferik kan yayması ve hemoglobin elektroforezi ile saptanmıştır.

Hemoglobin elektroforezi sellüloz asetat ile, fetal hemoglobin ölçümü alkali denatürasyon testi ile, kan sayımları Coulter Counter ZF ile ve rutin hematolojik tetkikler standard metodlara göre yapılmıştır.

Hastaların özellikleri tablo II'de gösterilmektedir.

Kontrol grubu olarak aynı yaş grubundan seçilmiş sağlıklı 6 kız ve 6 erkek çocuk alınmıştır.

Yukarıda özellikleri belirtilen çocuklarda idrarda hidroksprolin atım miktarı aşağıda belirtilen yöntemlerle yapılmıştır. Plazma çinko düzeyi yalnızca hastalarda ve aşağıdaki yöntemlerle araştırılmış, kontrol grubu olarak laboratuvarımızda plazma çinko düzeyi ölçülen sağlıklı çocuklardaki değerlerden yararlanılmıştır.

Tablo II. Homozigot beta talassemialı hastaların klinik ve laboratuvar bulguları.

Sıra	Adı	Yaş (Yıl) ve Cinsiyet	Boy (cm)	Ağırlık (kg)	Yüz-görünümlü	Fizik gelişme	K.C büyüklüğü (cm)	Dalak büyüklüğü (cm)	Splenektomi	Kemik değişikliği	K.C fonk test	S. Demiri ($\mu\text{g/dl}$)	Zn tedavisi uygulanlar	Zn ted. süresi (Yıl)	D.F alan	D.F ted. süresi (Yıl)	Kemik yaşı
1	B.A	3K	95	16	N.	%50	7	6	-	-	N.	-	+	1.5	+	1	N.
2	A.G	13K	123	25	Mongoloid.	%3	8	-	+	+	Bozuk	115	+	4	+	1	geri
3	D.P	15K	141	31.5	"	%3	9	-	+	+	"	274	+	4	-	-	"
4	A.Y	9E	122	22	"	%3	6	-	+	+	"	-	+	3	+	2	"
5	N.B	20E	155	45	"	%3	5	-	+	+	"	160	+	2	-	-	N.
6	E.U	4E	91	13	"	%3	7	15	-	+	N	276	+	4/12	-	-	geri
7	A.Y	8K	111	19	"	%3	10	-	+	+	Bozuk	-	-	-	+	1	"
8	E.G	8K	119	23	"	%25	9	-	+	+	N	-	-	-	-	-	"
9	E.E	3K	89	12.5	N.	%3	3.5	2	-	+	Bozuk	122	-	-	-	-	N.
10	O.Ö	10E	130	25	Mongoloid.	%10	6	-	+	+	"	250	-	-	-	-	geri
11	T.Y	11E	134.5	27	"	%3	10	-	+	+	"	176	-	-	-	-	"
12	S.G	8/12E	70	9	N.	%25	2	-	-	-	N	142	-	-	-	-	"

Kliniğimizde 1965-1980 yılları arasında izlenmekte olan hastaların belirli aralıklarla çekilen, uzun kemikler, kafa grafileri ve el bilek grafilерinin radyolojik değerlendirmeleri, ve serum demiri düzeyleri dosyalarının incelenmesi ile elde edilmiştir.

İDRARDA TOTAL HİDROKSİPROLİN ATIM MİKTARININ ÖLÇÜLMESİ:

Araştırmada total (serbest aminoasid + hidroliz sonucu peptidlerden açığa çıkan) hidrokсіprolin atım miktarını ölçmek için geliştirilen Hypronosticon kidinden yararlanılmıştır.

Testin Esası : İdrardaki hidrokсіprolinin büyük bir kısmı peptide bağlı bir şekildedir. Bu, kuvvetli asit kation exchange resine bağlanır. Yüklenmiş resini birkaç kez distile su ile yıkıyarak, işlemde araya giren bazı komponentlerden kurtulunur. Resine bağlanan peptidler, daha sonra ısı 100°C'e kadar yükseltilerek 16 saat süreyle hidroliz edilir. Hidrokсіprolin resinden ayrıldıktan sonra, aminoasid bir pyrrole türevi oluşturmak üzere okside edilir. Bu türev Ehrlich reaktifi ile renklendirilerek miktarı fotometrik ölçümle saptanılabilir.

İdrar Örneklerinin Toplanması:

Test 24 saatlik idrarla yapılmaktadır. Hastanın yaşı, kilosu ve boyu kayıt edilmektedir. İdrar toplanmadan 24 saat önce ve idrar toplandığı ikinci 24 saatlik süre içinde kollajensiz veya az miktarda kollajen içeren diyet uygulanmaktadır. Hasta idrar toplamaya başladığı gün ilk idrarını dışarı yapar, ondan sonraki tüm idrarları ertesi sabahki ilk idrar dahil şişede toplanır, serin bir yerde saklanır.

İdrarın saklanması için herhangi bir koruyucu madde konulması gerekiyorsa 30 cc Toluene konulabilmektedir. 24 saatlik idrar miktarı ölçülüp kayıt edilir. Bundan sonra en az 10 cc'lik homojen örnek, soğuk bir yerde saklanır. Eğer örnekler 2 gün veya daha fazla süreyle bekletilecekse -20° C de dondurularak bekletilmesi gerekmektedir. İdrar şişelerinin yarıdan fazla dolu olmaması gerekmektedir. Donmuş idrarın çözülmesi sırasında oluşabilecek tortunun, testin sonucunu etkilemediği bildirilmiştir. Bununla beraber pipetle ölçümü zorlaştırıyorsa, santrifüj edilerek tortunun atılması önerilmektedir.

Kollajensiz Diyet:

Bu diyetle et, et ürünleri, balık, tavuk, çorba, hazır çorba, et suyu ile hazırlanmış sos ve puding, dondurma jöle gibi jelatin içeren tatlıların yenmesi yasaklanır. Bunların yerine, peynir, yumurta, Sütlü gıdalar (yoğurt, ayran), fasulye, bezelye ve sebze çorbaları yedirilebilir. Aynı test az kollajenli diyet ile de yapılabilmektedir. Sonuçların tam anlamıyla güvenilir olabilmesi için kollajensiz diyetin uygulanmasını daha uygun bulduk.

OKSİDAN SOLÜSYONUNUN HAZIRLANMASI :

Oda ısısında ($15-25^{\circ}$ C) saklanması güç olduğu için kullanılmasından 15 dakika önce hazırlanmaktadır. Hazırlanmış şekli tabloda gösterilmiştir. (Tablo III)

RENK REAKTİFİNİN HAZIRLANMASI :

Oda ısısında saklanması zor olduğundan kullanılmasından 2 saat önce hazırlanmaktadır. Hazırlanmış şekli tabloda gösterilmiştir. (Tablo III)

TABLO III

İdrar örneklerinin sayısı	Kör tüplerinin sayısı	Toplam tüp sayısı	Oksidan Solüsyon		Renk Reaktifi			
			Tartılacak oksidan reaktif miktarı (mg)	Eklenecek buffer miktarı (ml)	Tartılacak renk reaktif miktarı (g)	Eklenecek perklorik asit miktarı (ml)	Isopropanol ile tamamlanacak miktar (ml)	
1	1	5	55	4	4	6	55	
7	2	30	330	24	24	36	330	
12	2	50	550	40	40	60	550	
30	2	122	1375	100	100	150	1375	

Testin Yapılışı:

1-	5 adet hidroliz tüpü bu şekilde işaretlenir.	B ₁	U ₁	S ₁	U ₂	S ₂
2-	Her tüpe forseps ile 1 resin tab. konulur.	1	1	1	1	1
3-	Belirtilen tüplere 0,5 cc idrar konulur.	-	0.5cc	0.5cc	0.5cc	0.5cc
4-	"S" işaretli tüplere standart solüsyon ilave edilir	-	-	1.0cc	-	1.0cc

- 5- Her tüpe 10 cc işaretini gösteren çizgiye dek distile su konulur, plastik tıpa ile kapatılıp, elde çalkalanır. Sonra 5 dakika süriyle (1500 x G) santrifüj edilip üstte kalan kısmı atılır.
- 6- Bütün tüpler plastik tıpa ve burgulu kapakları ile kapatılıp $102 \pm 2^{\circ}\text{C}$ da 16 saat süreyle gliserol veya sili-kon yağında, ısıtma banyosunda bekletilir. Süre bitiminde çeşme suyuyla soğutulup kapakları açılır.
- 7- Bütün tüplere 1 damla % 1 lik etanol içinde phenolphtalein damlatılır. Tüpler elde çalkalanırken, yaklaşık 0,5 cc 2 N NaOH solusyonu ile indikatörün rengi değişinceye kadar titrasyon yapılır.
- 8- 5 dakika süreyle santrifüj edilir (1500 x G) ; tüplerin üzerindeki 2,5 cc işaretine dek distile su eklenir. Süspansiyon iyice homojenize edildikten sonra tekrar aynı devirde 5 dakika santrifüj edilir.

9- 5 adet tüp işaretlenir.	B	U ₁	S ₁	U ₂	S ₂
10- Hidroliz tüpündeki berrak süpernatanttan karşıtı olan yeni işaretli tüplere konur.	0,5 cc	0,5 cc	0,5 cc	0,5 cc	0,5 cc
11- Bütün tüplere 1 damla 2N Hcl damlatılır (Renk kaybolur)					
12- Bütün tüplere isoproponol konur. (1.0 cc)	1.0 cc	1.0 cc	1.0 cc	1.0 cc	1.0 cc

	B	U ₁	S ₁	U ₂	S ₂
13- Oksidan solüsyon eklenir. (0.5 cc)	0.5 _{cc}	0.5 _{cc}	0.5 _{cc}	0.5 _{cc}	0.5 _{cc}
14- Tüpler iyice çalkalanıp 4 dakika oda ısısında oksidasyon için bekle- tilir.					
15- Renk reaktifi konulur tüpler iyice karıştırılır. (10.0cc)	10.0 _{cc}	10.0 _{cc}	10.0 _{cc}	10.0 _{cc}	10.0 _{cc}
16- Tüpler 25 dakika süreyle 60±2°C da ısıtma banyo- suna konulur. Süre biti- minde çeşme suyu ile soğutulur.					
17- 30 dakika oda ısısında bekletilir. 560 nm dalga boyunda absorbands fotometrik olarak köre (B) karşı okunur.		E _{U₁}	E _{S₁}	E _{U₂}	E _{S₂}

18- Sonuçlar aşağıdaki formüle göre hesaplanır. Hidroksi prolin (mg/lt) (50 : Standart konsantrasyon)

$$C_1 = \frac{2 \times E_{U_1} \times 50}{E_{S_1} - E_{U_1}}$$

$$C_2 = \frac{20 E_{U_2} \times 50}{E_{S_2} - E_{U_2}}$$

19- Elde edilen sonuçların mg/gün/m² cinsinden ifade edilmesi için, önce toplanan 24 saatlik idrar miktarı ile orantı kurulur ve günlük HOP atımı mg/gün cinsinden elde edilir. Vücut yüzeyi için boy ve kiloya göre hazırlanmış nomogramlardan yararlanılmıştır litrede mg/gün olarak çıkan sonuçların vücut yüzeyine bölünmesiyle de mg/gün/m² olarak hidroksprolin atım düzeyi hesaplanmış olur.

Kiçinin kullanım şeklini belirten prospektüsünde aynı kitle hasta ve sağlıklı kişilerde yapılan incelemeler sonucunda, normal değerler şu şekilde bildirilmiştir: (Tablo IV)

Yaş	Hidroksprolin mg/24 saat/m ²
1 hafta - 1 yaş	100 (55-220)
1 yaş - 13 yaş	50 (25-80)
22 yaş - 65 yaş	12 (6 - 22)
66 yaşından büyük	12 (5 - 17)

Tablo IV Hidroksprolinin atım düzeyleri
PLAZMA ÇİNKO DÜZEYİNİN ÖLÇÜLMESİ :

Örneğin Hazırlanması : β -Thalassemia majorlu hastalardan sabah aç karına kan alınır. Kan alınırken paslanmaz çelikten yapılmış kalın iğneler kullanılmıştır. Mineralden arıtılmış ve içine 0,5 ml. demineralize suyla hazırlanmış amonyum potasyum oksalat konmuş santrifüj tüplerine, iğneler tüplere değdirilmeden damla damla 10 ml venöz kan alınır. 3000 devirde 5 dakika santrifüj edilip aspirasyonla plazması ayrılır. Plazma demineralize tüplerde buzlukta saklanır, en geç 24 saat içinde çinko düzeyi atomik absorpsiyon spektrofotometresinde bildirilen standart yöntemlerle ölçülür. (57,58).

BULGULAR

Çalışmada 6 kız, 6 erkek toplam 12 homozigot β thalassemiyalı hastada ve aynı yaş grubundan 6 kız, 6 erkek toplam 12 kontrol çocukta, 48 saat kollajensiz diyet uygulanarak, 24 saatlik idrarda total hidroksprolin atım düzeyi ölçüldü.

Ek olarak aynı hasta grubunda plazma çinko düzeyleri de incelenerek, HOP atım düzeyi ile aralarındaki ilişki araştırıldı.

HİDROKSİPROLİN:

Hasta ve kontrol gurubu çocukların 24 saatlik idrarında saptanan total hidroksprolin atım miktarları, tablo V de gösterilmiştir.

Kontrol grubu çocuklarda idrarda total HOP atım düzeyi 13.91-133.33 mg/gün/m² arasında değişmektedir, $\bar{X} \pm SD$: 72.71 \pm 23.32 olarak bulunmuştur.

Beta thalassemia majorlu hastalarda idrarda total HOP atım düzeyi 8.35-98.11 mg/gün/m² arasında değişmektedir, $\bar{X} \pm SD$: 43.35 \pm 20.92 olarak bulunmuştur.

Homozigot β thalassemiyalı çocuklarda idrarda total HOP atım miktarı ile kontrol grubu çocuklarda idrarda total HOP atım miktarı arasındaki fark önemli bulunmuştur. (P < 0,05) (t_{2.404}) (Tablo VI. Grafik I.)

Kontrol grubu çocukların idrarındaki HOP atım düzeyi ile yaşları arasında korelasyon araştırılarak, r= - 0,415 lik bir negatif ilişki saptanmıştır. Bu negatif korelasyon önemsizdir. (P > 0,05) (t_{1.482})

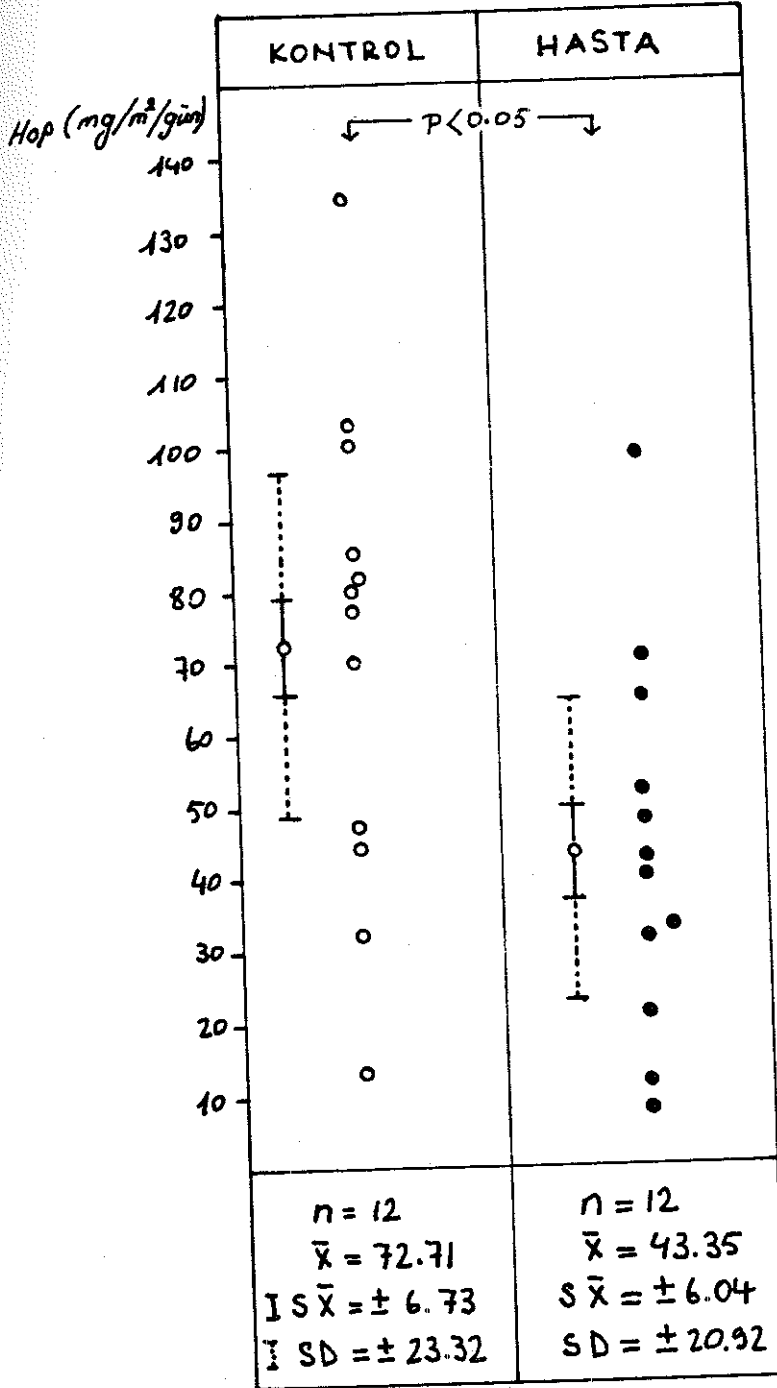
Tablo : V Kontrol grubu ve β thalassemia majorlu hastalarda idrarla total HOP atım düzeyleri

Kontrol Grubu			β Thal. Majorlu Hastalar		
Adı	Yaş (yıl) Cinsiyet	Total HOP mg/gün/m ²	Adı	Yaş (yıl) cinsiyet	Total Hop mg/gün/m ²
D.N	3 K	103.77	B.A	3 K	98.11
A.T	13 K	70.37	A.G	13 K	11.28
H.T	15 K	101.47	D.P	15 K	20.99
N.Ş	9 E	81.47	A.Y	9 E	64.18
H.T	20 E	13.91	N.B	20 E	8.35
C.A	4 E	47.33	E.U	4 E	47.64
D.Y	8 K	77.69	A.Y	8 K	40.42
Ö.K	6.5 K	80.64	E.G	7 K	52.70
A.A	3.5 K	32.72	E.E	3 K	31.07
D.A	9.5 E	85.39	O.Ö	10 E	70.49
A.A	11 E	44.43	T.Y	11 E	42.53
B.A	9/12 E	133.33	S.G	8/12 E	32.55
Ortalama:		72.71	Ortalama:		43.35

	n	\bar{X}	$\pm S\bar{X}$	$\pm SD$
Kontrol	12	72.71	6.73	23.32
Hasta	12	43.35	6.04	20.92
P değeri	P < 0.05			

Tablo VI

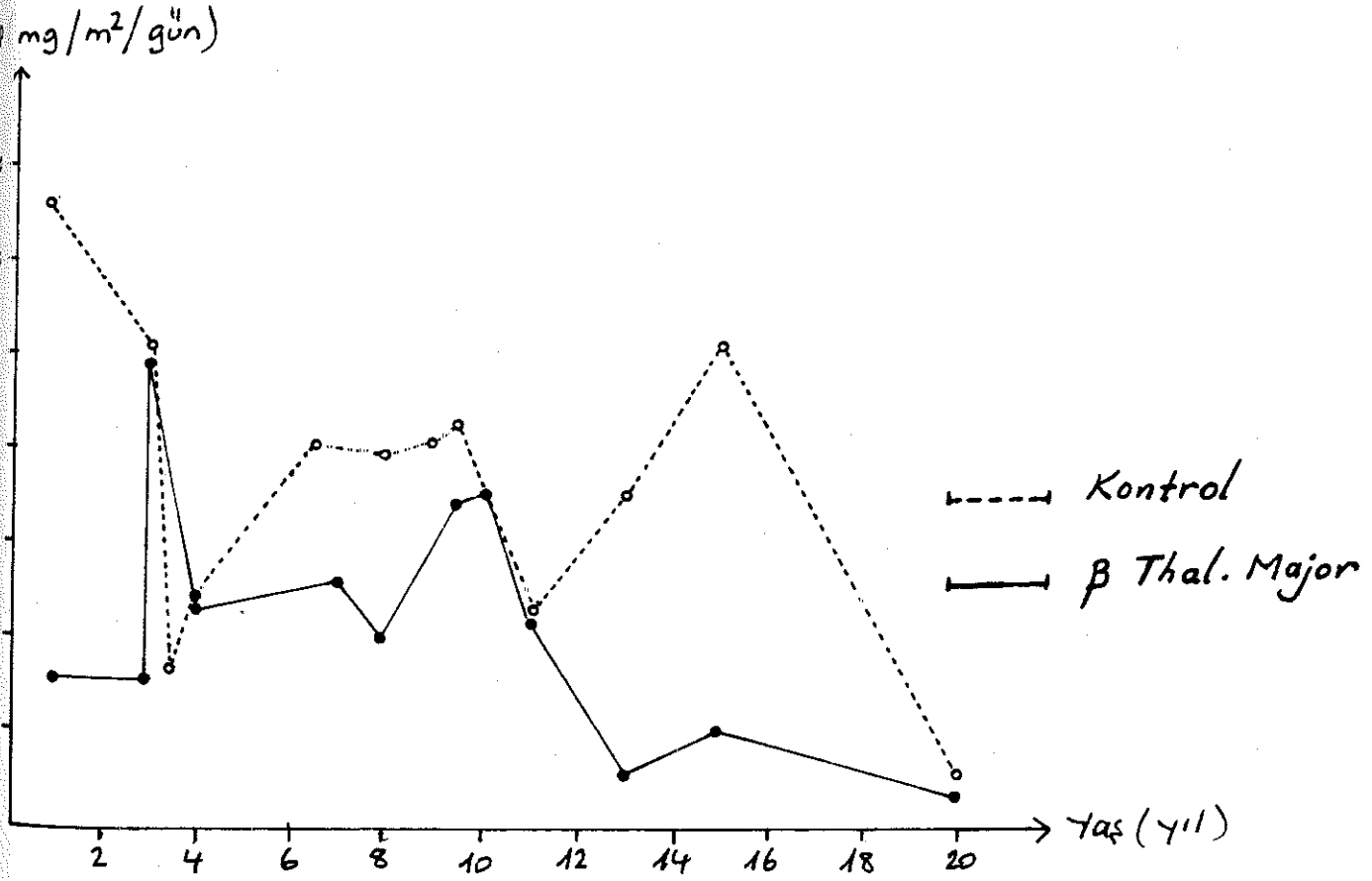
Kontrol çocuklarda ve homozigot β -thalassemialı hastalarda idrarla total HOP atım düzeyi. (mg/m²/gün)



KONTROL GRUBUNDA VE HOMOZİGOT β THALASSEMİALİ HASTALARDA İDRARLA HOP ATIM DÜZEYLERİ.

Grafik I

Hasta çocukların idrarındaki HOP atım düzeyi ile yaşları arasında da negatif bir korelasyon bulunmuştur. ($r = - 0.523$). Buna göre çocukların yaşları arttıkça idrarındaki HOP atım miktarı azalmaktadır. Fakat bulunan $r = - 0.523$ lük ilişki önemsizdir. ($P > 0.05$) ($t_{1.937}$) (Grafik II)



YAŞLARA GÖRE HOP ATIM DÜZEYLERİ

Grafik II

Kliniğimiz hematoloji laboratuvarında sağlıklı kontrol çocuklarda plazma çinko ortalaması $\bar{X} \pm SD$: 114 ± 22.53 $\mu\text{g/dl}$. dir.

Beta thalassemia majörli hastalarımızda plazma çinko değerleri 60-132 $\mu\text{g/dl}$ arasında değişmektedir, $\bar{X} \pm SD$: 84.00 ± 24.58 olarak bulunmuştur (Tablo : VII)

Adı	Yaş (Yıl) Cinsiyet	Plazma Çinkosu ($\mu\text{g/dl}$)	
1. B.A	3 K	60	
2. A.G	13 K	92	
3. D.P	15 K	132	
4. A.Y	9 E	108	
5. N.B	20 E	82	
6. E.U	4 E	122	
7. A.Y	8 K	72	
8. E.G	8 K	64	
9. E.E	3 E	76	
10. O.Ö	10 E	56	
11. T.Y	11 E	72	
12. S.G	8/12 E	72	
n	\bar{X}	$\pm S\bar{X}$	$\pm SD$
12	84.00	7.09	24.58

Tablo: VII: Homozigot B Thalassemiyalı Hastalarımızın Plazma çinko düzeyleri ($\mu\text{g/dl}$)

Beta thalassemia majorlu çocukların plazma çinko düzeyleri ile idrarda total HOP atım düzeyleri arasında negatif ilişki bulunmuştur. ($r:-0,368$). Bu negatif ilişkinin önemli olmadığı saptanmıştır. ($P > 0.05$) ($t_{1,251}$)

8 Beta talassemia majorlu çocuktaki serum demiri ile idrardaki total HOP atım düzeyi arasında $r:0.843$ lük bir korelasyon bulunmuştur. Buna göre total HOP atım düzeyi, serum demirine bağlı olarak artış göstermektedir. Hidroksiprolin atım miktarı ile serum demiri arasındaki ilişki önemli bulunmuştur. ($P < 0.001$) ($t_{4.941}$).

Çinko tedavisi uygulanan homozigot beta talassemi-ali çocuklarda, total hidroksiprolin atım düzeyi $8.35-98.11$ $\text{mg}/\text{m}^2/\text{gün}$ arasında değişmektedir, $\bar{X} \pm \text{SD}: 41.75 \pm 35.18$ olarak bulunmuştur. (n:6)

Çinko tedavisi uygulanmayan homozigot beta talassemi-ali çocuklarda total HOP atım miktarı ise $31.07-70.49$ $\text{mg}/\text{m}^2/\text{gün}$ arasında değişmektedir, $\bar{X} \pm \text{SD}: 44.96 \pm 32.90$ olarak saptanmıştır (n:6)

Çinko tedavisi uygulanan ve uygulanmayan hasta çocuklardaki, HOP atım düzeyleri arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. ($P > 0.05$) ($t_{0.222}$)

	n	\bar{x}	$\pm S\bar{x}$	$\pm \text{SD}$
Çinko tedavisi görenler	6	41.75	14.41	35.18
Çinko tedavisi almayanlar	6	44.96	13.48	32.90
P değeri				$P > 0.05$

Tablo VIII: Çinko tedavisi uygulanan ve uygulanmayan hasta grubunda HOP atım düzeyleri ($\text{mg}/\text{m}^2/\text{gün}$)

Çalışmaya alınan homozigot beta talassemialı çocuklar, fizik gelişimi % 3'ün altında ve % 3 den yukarı olanlar olarak iki gruba ayrıldı. Bu iki grupta idrarla total HOP atım düzeyi arasındaki fark önemli bulunmuştur. ($P < 0,05$) ($t_{2.240}$) (Tablo IX., Grafik III.)

Tablo IX : Hasta grubunun fizik gelişmelerine göre total HOP atım düzeyleri (mg/gün/m^2)

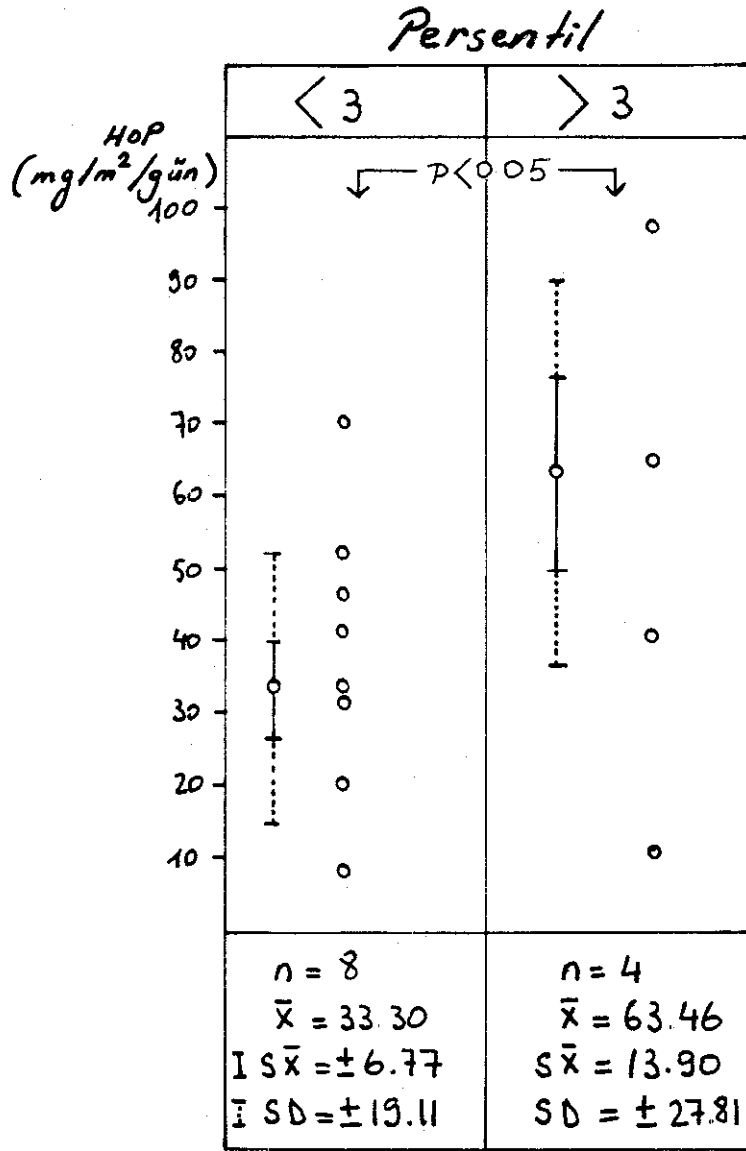
Fizik gelişimi	n	\bar{X}	$\pm S\bar{X}$	$\pm SD$
Persentil				
< 3	8	33.30	6.71	19.11
> 3	4	63.46	13.90	27.81
P değeri			$P < 0.05$	

Splenektomi yapılan hasta çocuklarda idrarla HOP atım düzeyi $8.35-70.49 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ arasında değişmektedir. $\bar{X} \pm SD: 38.86 \pm 23.47$ olarak bulunmuştur. (n:8)

Splenektomi yapılmayan beta talassemia majorlu çocuklardaki HOP atım düzeyi $31.07-98.11 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ arasında değişmektedir, $\bar{X} \pm SD: 52.34 \pm 31.42$ olarak bulunmuştur. (n:4)

Splenektomi yapılan ve yapılmayan hasta çocuklardaki idrarla total HOP atım düzeyi arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. ($P > 0.05$) ($t_{0.842}$)

Desferrioxamine (DF) tedavisi uygulanan B talassemia majorlu çocukların total hidroksiprolin atım düzeyi $11.28-98.11 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ arasında değişmektedir. Ortalamaları $\bar{X} \pm SD: 53.49 \pm 36.77$ olarak bulunmuştur. (n:4)



HASTA GRUBUNUN GELİŞİMLERİNE GÖRE HOP ATIM DÜZEYLERİ

Grafik III

Desferrioxamine (DF) tedavisi uygulanmayan beta thalassemia majorlu çocukların total hidroksiprolin atım düzeyi 8.35-70.49 mg/m²/gün arasında değişmekte olup $\bar{X} \pm SD$: 38.29 \pm 19.37 olarak saptanmıştır. (n: 8)

DF uygulanan ve uygulanmayan çocukların total hidroksiprolin atım miktarları arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. (P > 0.05) (t_{0.961})

TARTIŞMA

Beta Thalassemia majorlu 12 hastada idrarda hidrok- siprolin atım miktarları ve plazma çinko düzeyi aracılığıyla bu hastalarda kollajen metabolizması incelenmeye çalışılmıştır.

Hidroksiprolin daha önce de belirtildiği gibi kollajenin ve özellikle kemiğin turnoverını gösteren bir indeks olarak kabul edilmektedir. (23, 25, 27, 28, 29, 30).

İdarla total hidrok- siprolin atım miktarı denilince serbest ve bağlı HOP düzeylerinin toplamı anlaşılmaktadır. Jelatin dışında normal bir diyetin HOP atım düzeyini etkilemediği bildirilmiştir. Jelatinli diyetin, peptidleri etkilemeyip, yalnızca total HOP atımını arttırdığı gözlenmiştir. (30, 31, 45).

Bazı yayınlarda ise diyetle alınan jelatinin idrardaki bağlı hidrok- siprolin atımını arttırdığı bildirilmektedir. (27) Buna karşın diyetin HOP atım miktarına etkisinin olmadığını savunanlarda vardır (44).

Kivirikko (59) adlı araştırmacının da belirttiği gibi, diyetteki gıdalara bağlı değişikliklerin ekarte edilebilmesi için, kollajensiz bir diyetin uygulanması uygun bulundu.

Yapılan literatür incelemelerinde, HOP ile ilgili araştırmalarda diyet şeklinin farklı olduğu, sonuçların ya vücut yüzeyi veya ağırlıkla, ya da yaşa bağlı olarak bildirildiği görüldü.

Hidroksiprolin atımının mg/gün olarak ifade edildiğinde geniş bir range gösterdiği bildirilmiştir. Hata olasılığını azaltmak için, kollajensiz bir diyetin uygulanması ve sonuçların mg/gün/m² şeklinde hesaplanması önerilmektedir (59). Araştırmada elde edilen sonuçlar da mg/gün/m² cinsinden hesaplanmıştır.

İdrarla total HOP atım düzeyi kollajen turnoverını, dolayısıyla çocuklardaki büyüme hızını yansıtan bir indeks olarak kabul edilmektedir (32, 33, 59, 60). Bunun için günlük, yaşa bağlı normal HOP atım miktarı ölçümleri yapılmıştır. Jones ve arkadaşları 5-49 yaşları arasında 80 kişiye kollajensiz diyet uygulayıp, idrarlarındaki HOP miktarını ölçmüş ve HOP atımında yaşla belirgin değişiklik olduğunu bildirmişlerdir (33).

1577 sağlıklı, İngiliz çocuğunda rastgele idrar toplanarak total hidroksiprolin/kreatinin (HOP:Cr) oranları incelenmiş ve sonuçta HOP : Cr oranının boylarındaki uzama ile paralel olduğu görülmüştür. Ayrıca raşitizm, hipotiroidi, izole growth hormon eksikliği olan çocuklarda da HOP:Cr oranı incelenmiş, yalnızca raşitizmde yüksek bulunmuştur. Diğer nedenlerle büyüme geriliği gösteren çocuklara gerekli tedavi uygulanınca büyüme hızlarına uygunluk gösteren bir şekilde HOP : Cr düzeylerinin arttığı görülmüştür. Bu nedenle HOP : Cr oranının, antropometrik ve radyolojik bulgulara ek olarak kullanılabilir, çabuk sonuç alınan bir büyüme indeksi olabileceği kanısına varılmıştır (32).

Bir diğer çalışmada zamanında doğan bebeklerde, intrauterin gelişme geriliği olanlarda ve prematürlerde idrarda HOP : Cr oranı incelenmiştir. Yaşamın ilk haftasında bağlı HOP : Cr oranının, bu dönemde bebeklerden beklenen büyüme hızına uygunluk gösterdiği görülmüştür. Yaşamın ilk

gününde bu oran prematürlerde, normal bebeklere oranla belirgin yükseklik gösterirken, intrauterin gelişme geriliği olanlarda ise anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Normal ve intrauterin gelişme geriliği olanlarda ilk hafta içinde oran, prematürlerdekine göre daha hızlı bir artış göstermiştir. Bu nedenle araştırmacılar, bağılı HO:Cr oranının perinatal dönemde büyüme hızını gösteren bir indeks olabileceğini ileri sürmüşlerdir (60)

Whitehead tarafından yapılan bir çalışmada ise, gelişmesi normal, sağlıklı çocuklarda ve beslenme bozukluğu olanlarda, büyüme hızı HOP: Cr oranı ile araştırılmıştır. Malnütrüsyonun klinik belirtilerinin görüldüğü çocuklarda HOP : Cr oranı düşük bulunmuştur. Hidroksiprolin indeksi ile yaşa göre boş çizelgeleri arasında istatistiksel bir ilişki saptanmıştır. Uygun diyet tedavisinden sonra HOP atımında artış gözlenmiştir. Bundan öte, belirgin bir ağırlık artımı olmadan önce, HOP:Cr oranının değişmesi, iyileşme için objektif ve öncül bir test olarak yararlı olacağını göstermiştir (61).

Bazı araştırmacılar aktif büyümeyi hesaplamak için bir HOP indeksi geliştirmiştir.

$$\text{HOP indeksi} : \text{HOP} (\mu.\text{mole}) \times \text{Ağırlık} (\text{kg}) / \text{Kreatinin} (\mu.\text{mole})$$

Bu indeksle yapılan araştırmalarda kwashiorkorlu çocukların HOP indeksi düşük bulunmuştur. Tedavi sonunda HOP indeksleri normale yükselmiştir. HOP düzeyi çok yüksek olan bazı bebeklerin ölmesi, yüksek HOP indeksinin kötü prognoz belirtisi olarak kabul edilmesine yol açmıştır (62).

Linear büyümeyle bu kadar ilgisi olan bir maddenin, büyüme hormonu (STH) eksikliği olan çocuklardaki düzeyinin nasıl olacağı düşünülebilir. Bu konu da incelenmiştir. Büyüme hormonu eksikliği şüphesi olan 7 hastaya 3-5 gün süreyle büyüme hormonu verilmiş ve idrardaki HOP:Cr oranı araştırılmıştır. STH eksikliği olan 4 hastada, dışardan hormon verilince idrardaki HOP atımı artmıştır. Bu artışın bir yıllık boy uzama hızı ile de oranlı olduğu görülmüştür. Intrauterin cüce (primordial cüce) olan has ada ise STH düzeyi normal olmasına karşın, dışardan verilen growth hormon ile HOP atımı biraz artmıştır. Kısa bir süre STH verilmesi dahi büyüme hormonu eksikliği olanlarda HOP düzeyini 2-8 misli arttırmıştır. Aralıklı HOP ölçümleri ile hastanın tedaviye yanıtı ve prognozunu anlaşılabileceği, büyüme hormonu tedavisi için endikasyon konulabileceği öne sürülmüştür (63).

Ayrıca yapılan diğer bir çalışmada boyları %3'ün altında olan 26 çocuk ve adolesanda, kontrol grubu ile kıyaslanarak idrardaki HOP atımı incelenmiştir. Hastaların 14'ünün gelişme geriliği hipofizer, ya da hipotroidiye bağlı bulunmuştur. Diğerlerinin gelişmesindeki gerilik ise non-endokrin nedenlere bağlanmıştır. Endokrin bozukluğu olan hastalardaki HOP atımı düşük bulunmuş, uygun tedavi sonucunda normal düzeylere çıkmıştır. Non-endokrin gelişme geriliklerinde ise HOP düzeyleri normal bulunmuştur. Bu nedenle araştırmacılar çocukluk döneminde endokrin ve non-endokrin cücelikleri birbirinden ayırtmada idrardaki HOP düzeyinin yararlı olacağını savunmaktadırlar (59).

Daha öncede belirtildiği gibi beta thalassemia major-
da belirgin gelişme geriliği olmaktadır. Bu gerilik 8-10
yaşlarından önce hafif iken, puberte döneminde çok belir-
ginleşmektedir (13). Büyüme geriliğinin nedeni ise tam
aydınlanmamıştır. (9, 12) Aneminin neden olduğu hipoksi,
demir birikmesi, hemakromatosise bağlı endokrin yetmezlik,
folat eksikliği, çinko eksikliği, somatomedinin biyosentez
ve aktivitesindeki azalma büyüme geriliğinin sebebi olarak
öne sürülmüştür. (3, 9, 12, 13, 19).

Büyümeyle yakından ilgisi olan total hidroksprolin
atımı, beta thalassemia majorlu hastalarımızda kontrol gru-
buna oranla düşük bulunmuştur. Hastalarımızdaki total HOP
atımının ortalaması $43.35 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ iken, kontrol çocuklar-
da ortalama $72.72 \text{ mg/m}^2/\text{gün}$ dür. Aradaki fark istatistik
olarak anlamlı bulunmuştur ($p < 0,05$).

Kontrol grubumuzdaki çocukların fizik gelişimi normal
sınırlardayken, beta thalassemia majorlu hastalarımızın fi-
zik gelişimleri 8 tanesinde %3 altında, 4 ünde ise %3 üstün-
de bulunmuştur. Her ne kadar bu gruplardaki hasta sayısı
eşit değilse de fizik gelişimi geri olan thalassemik çocuk-
larla gelişimi %3 ün üstünde olan thalassemik çocukların
total hidroksprolin atım düzeyleri arasındaki fark önemli
bulunmuştur ($p < 0,05$). Yani hidroksprolin atımı thalasse-
mik hastalardaki büyüme geriliği ile uygunluk göstermekte-
dir. Literatürde bildirildiği gibi hastalarımızda da HOP atımı
büyümeyi gösteren bir indeks olarak kabul edilebilir.

Beta thalassemia majorlu hastalarda büyüme hormonu
normal bulunmuştur. Nitekim bu hastalarda endokrin fonksi-
yonlar incelendiğinde hipofiz, tiroid ve adrenal glandla-
rın fonksiyonu normal bulunmuştur. Yalnız bazı hastalarda
nedeni bilinmeyen yüksek PBI düzeyi saptanmıştır. İdrarda-

ki gonadotropin düzeyinin yaşlarına uygunluk gösterdiği fakat 17-Keto steroidlerin atımının bozulduğu görülmüştür. Jüvenil hemakromatosis ile etyolojisi farklı olmasına rağmen beta thalassemia majorda demir birikimi, demir fazlalığına duyarlı olan enzimleri ve belki de 17-ketosteroid sentesini etkileyerek büyüme ve gonadal geriliklere yol açabilir şeklinde düşünülmüştür (64). Yine demir fazlalığının bu grup hastalarda glikoz intoleransına yol açabileceği de gösterilmiştir (65).

Homozigot beta thalassemiyalı hastalarda endokrin fonksiyonları inceleyen diğer bir araştırmada hastaların ötiroid olmalarına karşın serum tiroksin düzeyi düşük, ortalama tirotrofik hormon düzeyi ise yüksek bulunmuştur (66).

Saenger ve arkadaşları ise beta thalassemia majorlu hastalarda somatomedin aktivitesinin düşük olduğunu göstermişlerdir. Araştırmacılara göre bunun nedeni karaciğerdeki demir yüklenmesidir. (13).

Pek çok etkenlerin rol oynadığı büyüme Stuart adlı bir araştırmacı a) Yavaş büyüme (2-6 yaş), b) düzenli büyüme (6-12 yaş), c) hızlı büyüme (12-14 yaş), d) maksimal büyüme (14-16 yaş), e) yavaşlayan büyüme (16-20 yaş) olmak üzere beş periyoda ayırarak incelemiştir. Nitekim bu periyodlarla ilişki kurularak incelendiğinde, hidroksiprolin atımının, büyüme hızı ile yakından ilgisi olduğu görülmüştür. Hidroksiprolin düzeyi puberte öncesi yükselmeye başlamakta, pubertede çok hızlı bir artış göstermekte ve 14-15 yaşlarında bir pik yaptıktan sonra hızla adult değerlerine inmektedir. Ayrıca aynı yaşlardaki erişkin kadınların, erkeklere oranla daha az HOP çıkardıkları görülmüştür. Bu durum kadınların erkeklere göre daha erken gelişmesiyle açıklanmıştır (33).

Yaşlarına göre hastalarımızdaki HOP atımı gözden geçirilecek olursa, süt çocuğu dönemindeki hastamızın atım düzeyinin, kontrol grubundakinden hayli düşük olduğu dikkat çekicidir. Aynı şekilde puberte evresinde olan talasemik hastamızın, kontrol grubundakinden çok daha az total HOP atımı gösterdiği de saptanmıştır. Tüm olarak hasta ve kontrol grubumuz gözden geçirildiğinde total HOP atımındaki farkın 4 yaşından sonra belirginleştiği görülecektir. Hidroksiprolin atımının adült değerlere indiği 20 yaşında bile hastamızdaki total HOP düzeyi, kontrol grubundakinden daha düşük bulunmuştur.

Çalışmamızda hasta ve kontrol grubu çocuklarda yaş ile total hidroksiprolin atım düzeyi arasında negatif bir korelasyon saptanmıştır. Bu ters ilişki her iki grupta da önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$)

Genel bilgiler bölümünde de söz edildiği gibi hidroksiprolin kemiğin organik matriksinde de bulunmaktadır. Kemik, matür kollajenin deposu gibi kabul edilmektedir ve katabolizması idrarla atılan hidroksiprolinin büyük bir kısmını oluşturmaktadır. (25, 30).

Bu noktadan hareket edilerek iskelet sistemini ilgilendiren çoğu fizyolojik ve patolojik durumlarda hidroksiprolin atımı incelenmiştir. Örneğin geçici osteoporoz denilen ve daha çok gebe kadınlarda görülen, nedeni bilinmeyen tablonun tanısında HOP atımından yararlanılabileceği öne sürülmüştür. Daha önceleri kemik biyopsisi veya sintigrafisi ile tanı konulan geçici osteoporozda HOP atımının ölçülmesi daha yararlı ve emin bir yol olarak gösterilmektedir. Bu tür osteoporozda gebeliğin son trimestrinde total HOP atımının çok arttığı, bu değer doğumdan iki ay sonra normale indiği ve postpartum 3. ayda çekilen grafiplerde osteopozisin kaybolduğu bildirilmiştir (67).

Khermosh ve arkadaşları ise kemik kollajen metabolizmasını ölçmek için kırıklardan sonra idrarda total hidrok-siprolin miktarını tayin etmişlerdir. Multipl kırıklardan sonra üriner HOP atımında, tek kırıklara göre önemli bir değişiklik olmadığını belirtmişlerdir (68).

Meme kanseri olup, iskelet sistemine metastaz yapmış bir grup hastada idrarda HOP ve lökositlerde askorbik asit tayini yapılmıştır. Sonuçta askorbik asit düzeyi düşük, idrarda HOP atımı ise anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bu hastalara yüksek doz askorbik asit verilince, idrardaki HOP nin azalmaya başladığı gözlenmiştir (69).

Yapılan bir çalışmada diyetdeki kalsiyumun kısıtlanması, paratiroidektomi, nefrektomi ve bunların kombinasyonu ile sıçanlarda HOP nin plazma düzeyi araştırılmıştır. Paratiroidektominin plazma HOP düzeyini düşürdüğü, nefrektominin ise peptide bağlı HOP ni azalttığı, fakat serbest HOP nin plazma düzeyini arttırdığı görülmüştür. Öne sürüldüğüne göre, sabit bir kan kalsiyum düzeyi sağlamak amacıyla, paratiroid kemik dokusu etkileşimi sonucunda, kemik dokusu ve bu arada da kemiğin matriksinde bulunan kollajen de yıkılmaktadır. Parathormon aktivitesini arttıran nefrektominin, kemik kollajeninin yıkımını hızlandırdığı ve HOP nin de peptide bağlanarak plazmaya geçtiği saptanmıştır (29).

Beta talassemia majorlu çocuklarda da kemik değişiklikleri nedeniyle kalsiyum, fosfor, magnezyum, alkali fosfatazın plazma düzeyleri incelenmiş ve fosfor düzeyindeki azalma dışında plazma değerlerinin normal olduğu bildirilmiştir (70).

Flynn ve arkadaşlarının yaptığı bir araştırmada ise 31 talassemik çocuktan 25 inde parathormon düzeyi normal altında bulunmuştur. Buna karşın hastaların tok iken alınan kan kalsiyum düzeyleri ise normal bulunmuştur (66).

Thalassemik osteoartropati adı verilen şiddetli kemik ağrıları ve eklem yakınmaları olanların bir kısmında alkalin fosfataz düzeyini yüksek, kalsiyum ve fosfor düzeylerini ise normal bulmuşlardır. Bunun yaşa bağlı bir özellik olmaktan öte, artan kemik turnoverına bağlı olabileceğini düşünmüşlerdir. Bu hasta grubunda ürik asit düzeyinin yüksek olmasına karşın, gutun klinik belirtilerinin olmadığını saptamışlardır. Osteoartropati belirtileri görülen hastalarda SGOT yüksekliğini karaciğerde demir birikmesine bağlamışlardır. Aynı araştırmada hastaların bir kısmında paratiroid fonksiyonu normalken, bir kısmında orta derecede hiperparatiroidi ya da idyopatik hipoparatiroidi saptanmıştır (20).

Bu çalışmadan daha önce yapılan bazı araştırmalarda ise beta talassemia majorda total vücut kalsiyumun % 12-54 oranında düşük olduğu ve idrarla fosfor atımının arttığı gösterilmiştir (20).

Anlaşılacağı gibi homozigot beta talassemialı hastalarda parathormon, kalsiyum, fosfor, magnezyum ve alkalin fosfatazın düzeylerinde fikir birliğine varılamamıştır. Bu nedenle literatürden yararlanarak bu parametreler ve hastalarımızdaki düşük HOP atım düzeyleri arasında bir ilişki-den söz etmenin doğru olamayacağını düşündük.

Beta thalassemia majorda önemli klinik bulgulardan birisi de iskelet sistemindeki değişikliklerdir. Bu değişiklikler kafatasında, yüzde uzun kemiklerde, eklemlerde, epifizde, kolumna vertebralisde, toraksda ve ellerde değişik şekillerde görülmektedir. Ek olarak hastalarda belirgin osteoporoz, büyüme geriliği, spontan mikro ve makrofraktürler normalden farklı bir kallus yapısı da saptanmıştır. (11, 20, 21, 50).

Hastalarımızın özelliklerini gösteren tablo incelendiğinde, yalnızca iki hastamızda klinik ve radyolojik olarak kemik değişiklikleri olmadığı görülecektir. Bu iki hastadan biri 8 aylık, diğeri ise 3 yaşındadır. Kemik değişiklikleri olmamasına karşın HOP atım düzeyleri birisinde normale yakın, diğesinde ise süt çocuğu döneminde olmasına karşın hayli düşük bulunmuştur. Aynı hastalarda karaciğer fonksiyon testlerinin normal olması dikkati çekmiştir. Kemik değişikliği olan hastaların HOP atım düzeyleri kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur.

İncelemeye alınan hastaların yalnızca üçünde kemik kırığı görülmüştür.

Hastalarımızdan birisinde 15 yaşındayken sol bacağın sağa göre 1,5 cm kısa olduğu saptanmıştır. Bu duruma erken epifiz kapanmasının neden olduğu düşünülmektedir.

Kemik değişiklikleri olan hastalarımızda bunun en erken 2 ve 3 yaşlarında ortaya çıktığı görülmüştür. Osteoporozis, diploe mesafesinde genişleme, kafatasında fırça manzarası, mikrofraktürler, kemik yaşındaki değişikliklere ek olarak, kostalarda genişleme, femur distalinde genişleme, dirsekte artrit ve erken epifiz kapanması genel olarak hastalarımızda saptadığımız kemik değişiklikleridir.

Homozigot beta talassemialı hastalardaki bu kemik değişiklikleri, gelişen tedavi yöntemleriyle yaşam süreleri uzayınca daha da önem kazanmıştır. Bu nedenle patogenezi aydınlatmaya yönelik çalışmalar yapılmaktadır.

Choremis ve arkadaşları beta talassemia majorlu hastalarda serum kalsiyum, fosfor, alkalen fosfataz, sitrik asit düzeyi ile idrarda sitrik asit ölçümü yapmışlardır. Sonuçta serum sitrik asit düzeyi düşük, idrarda sitrik asit atımı ise normallere göre yüksek bulunmuştur. Kalsiyum, fosfor, alkalen fosfataz ise normalin alt sınırında bulunmuştur. Düşük sitrik asit düzeyinin anemi ile ilgisi olmadığı gibi, artan osteoklastik aktivite ile de arasında bir ilişki olmadığı belirtilmiştir. Alkalen fosfataz değerlerindeki azalmanın, osteoblastik aktivitedeki yavaşlamayı yansıttığını düşünmüşlerdir. Bu nedenle araştırmacılar osteoporozisin nedeninin yalnızca kemik iliği hiperplazisi olmadığını öne sürmüş, hatalı bir kemikleşme olasılığı üzerinde durmuşlardır (51).

Daha sonraki yıllarda kemik deformitelerinin nedenini aydınlatmada serum ve idrar prolin düzeylerinin daha yararlı olacağı düşünülmüştür. Daha önce de söz edildiği gibi, hidroksiprolin prolinin hidroksilasyonu ile oluşmaktadır. Sonuçta hastaların hem kan, hem de idrarında prolin miktarının arttığı görülmüştür. Normalde yenidoğan ve erken süt çocukluğu dışında, prolinin yaklaşık tamamı böbreklerden geri emilmektedir. Daha sonraki yaşlarda ise prolinemi görülmemektedir. Talassemik çocuklarda plazma amino asit düzeyi düşük veya normal olsun, jeneralize aminoasitürinin görülmesi nedeniyle, prolinüri de renal nedenlere bağlanmıştır. Araştırmacılar hiperprolinüriyi ve hiperprolinemiye tek başına osteoporozisin nedeni olarak göstermenin hatalı olacağını belirtmişlerdir. Hastalardaki prolin düzeyleri ile birlikte idrarla HOP atım düzeyinin de ölçülmesinin, osteoporoz patogenezi aydınlatmada daha yararlı olacağını öne sürmüşlerdir (52).

Thalassemik hastalarda gerek hemoliz, gerekse sık transfüzyonlar sonucunda organizmada demir birikmektedir (3, 53). Demir, prolinin hidroksproline dönüştüğü hidroksilasyon işlemi için gerekli bir maddedir. Demir ile HOP atımı arasındaki ilişki demir eksikliği anemisinde incelenmiştir. Demir eksikliği olanlarda HOP düzeyinin, kontrol grubuyla yaklaşık aynı olduğu görülmüştür. Fakat tek ve yüksek doz demir dextran verildikten sonra kontrol grubunun HOP atımı değişmezken, demir eksikliği olanlarda HOP atımının % 40 arttığı saptanmıştır (71).

Beta thalassemia majorlu hastalarımızda demir düzeyindeki yükseklik literatüre uygunluk göstermektedir. Nitekim hastalardaki Serum Fe^{++} düzeyi ile HOP atım miktarı arasındaki ilişki önemli bulunmuştur. ($p < 0,001$). Ayrıca serum demirindeki artışın, HOP atamında da artışa yol açacağı aralarındaki pozitif korrelasyonla gösterilmiştir ($r = 0,843$).

Kontrol grubuna kıyasla, hasta grubunda hidroksprolin atımının düşük olması thalassemiklerin hidroksprolin metabolizmasında demirin tek etkili faktör olmadığını düşündürmektedir. Çünkü hidroksilasyon işleminde demir kadar oksijene, askorbik asite, alfa-keto glutarata da gerek vardır. Beta thalassemia majorunda aneminin neden olduğu hipoksi HOP metabolizmasının normal olmasına engel yaratabilir. Ayrıca beta thalassemia majorunda serumdaki sitrik asit düzeyi de düşük bulunmuştur (51). Ayrıca hasta grubunda α -ketoglutaratın durumunu gösteren yayına rastlanamamıştır. Fakat olasılıkla hipoksi ve sitrik asit düzeyindeki düşüklük, bir diğer ko-faktör olan demirin ve protokollajen prolininin organizmadaki fazlalığına rağmen (52), HOP nin metabolizmasını ters yönde etkilemektedir. Bu nedenle hastalarımızda beklenen yüksek HOP düzeyi yerine normalden düşük değerler elde etmiş olabiliriz.

Splenektomi yapılan ve yapılmayan grupta HOP atım düzeyleri arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$). Bunun araştırmadaki hasta sayısının azlığı ile ilgisi olabileceğini düşünmekteyiz. Çünkü splenektomiden sonra özellikle karaciğerde demir birikimi artmaktadır (3).

Aynı şekilde DF uygulanan ve uygulanmayan hastalarımızdaki HOP atımının arasındaki fark da önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$). Bunun uygulanan tedavi süresinin kısa ve hasta sayısının az olması ile ilgisi olduğu kanısındayız.

Olgularımızdaki plazma çinko düzeyi ile kollajen metabolizmasının ilişkisine gelince:

Daha önce de belirtildiği gibi çinko protein metabolizması için önemli bir iz elementtir. Eksikliğinde yaraların geç iyileşmesi, büyüme ve gelişmede geriliğin olması, doku hasarı olan yerlerde daha az çinkonun bulunması kollajen metabolizmasındaki önemini göstermektedir (17).

Biyosimik çalışmalarla çinkonun kollajen metabolizmasının hangi evresine etki ettiğini aydınlatmaya çalışılmaktadır. Fakat çinko eksikliğinde total kollajen miktarı azalmaktadır. Çinkonun DNA sentezine etki ettiği gösterilmiştir. Eksikliğinde DNA sentezinde aksaklıkların olabileceği, fibroblastların proliferasyonunun engelleneceği ileri sürülmüştür (17).

Ayrıca çinko kemiğin organik yapısını etkilemekte kalifikasyon sürecinin aktivasyonunda rol oynamaktadır (41).

Beta thalassemia majorlu hastalarda plazma, eritrosit ve saçta çinko düzeyi anlamlı olarak düşük bulunmuştur. Hastalardaki zinküri renal nedenlere bağlanmıştır (19).

Yine yapılan bir çalışmada beta thalassemia major ve intermedialı hastalarda serum çinkosu kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur (13).

Hematoloji labratuvarımızda sağlıklı kontrol çocuklarda plazma çinko ortalamaları $\bar{X} \pm SD$: 114.95 ± 22.53 $\mu\text{g/dl}$ dir.

Hastalarımızdaki plazma çinko değerleri ortalama 84.00 $\mu\text{g/dl}$ olarak bulunmuştur. Bu değer literatürde bildirilen düşük çinko değerlerine uygunluk göstermektedir (19).

Çinko tedavisi uygulanan 6 thalassemik hastada total HOP atım düzeyi ortalaması 41.75 $\mu\text{g/dl}$ bulunmuştur.

Çinko tedavisi uygulanmayan 6 hastada ise total HOP atım düzeyi ortalaması 44.96 Mg/dl olarak saptanmıştır.

Çinko tedavisi uygulanan ve uygulanmayan hasta çocuklardaki HOP atım düzeyleri arasındaki fark önemsiz bulunmuştur ($p > 0,05$). Bunda çinko tedavisinin uygulanma süresinde farklılık olması kadar, araştırmaya alınan çocukların sayıca az olmasının da rolü olduğunu düşünmekteyiz.

SONUÇ

Homozigot beta talassemialı hastalarda 24 saatlik idrarda total hidroksprolin atım düzeyleri ve plazma çinko düzeylerinin kollajen metabolizmasına etkisi aşağıdaki sonuçları vermiştir.

A) 1. Total HOP atımı beta talassemia majorlu çocuklarda düşüktür. ($P < .05$)

2. β talassemia majorlu çocukların idrarlarındaki HOP düzeyleri ile yaşları arasında negatif korelasyon bulunmuştur. ($r = -.523, P > .05$)

3. Tüm olarak kontrol ve hasta grubumuz gözden geçirildiğinde total HOP atımındaki farkın, 4 yaşından sonra belirginleştiği görülmüştür.

4. β talassemia majorlu hastalarımızda süt çocukluğu ve puberte dönemlerinde beklenen HOP atımındaki artış görülmemiştir.

5. Hasta grubun idrarla total HOP atım düzeyleri ile plazma çinko düzeyleri arasında negatif korelasyon saptanmıştır. ($r = -.368, P > .05$)

Ayrıca incelemeye alınan homozigot β talassemialı hastalarımızdaki bazı klinik, laboratuvar ve tedavi özellikleri ile, HOP atımı arasındaki ilişkiler incelenmiş ve şu sonuçlara varılmıştır:

B) 1. Hidroksprolin atım miktarı ile serum demiri arasındaki ilişki önemli bulunmuştur. ($r = .843, P < .001$)

2. Splenektomi yapılan ve yapılmayan hasta grubunda, idrarla total HOP atım düzeyi arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. ($P > .05$)

3. Fizik gelişimleri 3. persentilin üstünde ve altında olan β talassemia majorlu hastalarda idrarla HOP atım düzeyi arasındaki fark önemli bulunmuştur. ($P < .05$)

4. Çinko tedavisi uygulanan ve uygulanmayan hasta çocuklarda HOP atım düzeyleri arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. ($P > .05$)

5. Desferrioxamine tedavisi uygulanan ve uygulanmayan β talassemia majorlu çocuklarda HOP atım düzeyleri arasındaki fark önemsiz bulunmuştur. ($P > .05$)

Homozigot β talassemialı hastalarda idrarla HOP atımının düşük bulunması, bu hastalarda görülen, nedeni tam açıklanmayan büyüme geriliğinde ve kemik değişikliklerinde diğer faktörlerin yanı sıra kollajen metabolizmasındaki defektinde rolü olabileceği kanısını uyandırmıştır.

Kollajen turnoverını yansıtan HOP aminoasidinin sentezinde önemli etkisi olan demirin organizmadaki fazlalığının tek başına kollajen sentezini olumlu yönde etkilemediği sonucuna varılmıştır.

ÖZET

Araştırma A.Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniği Hematoloji bölümünde izlenen 8/12 ve 20 yaş arası 6 kız, 6 erkek toplam 12 homozigot beta talassemialı hastada yapılmıştır. Kontrol grubu olarak da aynı yaş grubundan 6 kız, 6 erkek 12 sağlıklı çocuk incelenmiştir.

Hastalarda ve kontrol grubunda idrardaki total HOP atım düzeyi, Hypronosticon kidleri ile ölçülmüştür. Plazma çinko düzeyi atomik absorpsiyon spektrofotometresi ile belirlenmiştir.

Beta talassemia majorlu hastalarda 24 saatlik idrarda total HOP atım düzeyi kontrol grubuna göre düşük bulunmuştur. HOP atım düzeyleri arasındaki farklılık hastalardaki kemik değişiklikleri ve büyüme geriliğinin görülmeye başlandığı 4 yaşında daha belirginleşmektedir.

İncelenen hastalardaki HOP atım düzeyleri fizik gelişmelerini de yansıtmaktadır. Bu nedenle HOP atımının, beta talassemia majorlu hastalarda da büyüme indeksi olarak kullanılabileceği düşünülmüştür.

Kollajen metabolizmasına etkisi olduğu bildirilen çinko iz elementi, hasta grubunun plazmasında düşük bulunmuştur. Bu sonuç literatüre uygunluk göstermektedir. HOP atımı ile plazma çinko düzeyi arasındaki ilişki önemsiz olarak saptanmıştır. Nitekim çinko tedavisi uygulanan ve uygulanmayan hastalarda, HOP atımı arasında fark bulunmamıştır.

Prolinin hidrokisproline dönüştüğü hidrokisilasyon işleminde bir ko-faktör olan demir iyonu ile HOP atımı arasındaki ilişki önemli bulunmuştur. Ancak desferrioxamine tedavisi uygulanan ve uygulanmayan grup arasında HOP atımı bakımından fark görülmemiştir.

HOP atamının talassemik çocuklarda düşük olması, bu hasta grubunda HOP metabolizmasında demirin tek etkili faktör olmadığını düşündürmektedir. Hidroksilasyon işleminde demir iyonu kadar oksijene, askorbik aside, alfa-keto glutarata da gerek vardır. Beta talassemia majorda aneminin neden olduğu hipoksi, HOP metabolizmasının normal olmasına engel yaratabilir. Ayrıca bu hastalarda serumda sitrik asidin düşüklüğü de bildirilmiştir. Olasılıkla bu iki faktörün eksikliği, demirin ve protokollajen prolinin organizmadaki fazlalığına rağmen HOP metabolizmasını ters yönde etkilemektedir. Bu nedenle hastalarımızda beklenen yüksek HOP atım düzeyi yerine, normalden düşük değerler elde etmiş olabiliriz.

Kollajen turnoverını yansıtan bir amino asit olan hidroksiprolin homozigot beta talassemialı çocuklarda erken yaşlardan itibaren düşük bulunmuştur. Bunun hastalarda kollajen metabolizmasındaki defekti yansıttığı kanısındayız.

Beta talassemia majorda büyüme geriliği ve kemik değişikliklerinin nedenini aydınlatmak için HOP aracılığıyla yapılan bir çalışmaya raslanmamıştır. Araştırmamızın sonucuna göre, bu hastalarda diğer faktörlerin yanısıra HOP ve dolayısıyla kollajen metabolizmasındaki bozukluğun da sözü edilen klinik bulgular üzerinde rolü olabileceğini düşünmekteyiz.

LİTERATÜR

1. Clegg, J.B., and Weatherall D.J. : Molecular basis of thalassaemia. Br. Med. Bull. 32:262, 1976.
2. Çavdar, A.O. : Thalassemiada bioşimik ve genetik değişiklikler. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 1973.
3. Modell, B. : Managment of thalassaemia major. Br. Med. Bull. 32 : 270, 1976.
4. Pearson, A.H., and QBrien, R.T. : The managment of thalassaemia major. Sem. Hemat. 12 : 255, 1975.
5. Arcasoy, A., Çavdar, A., Cin, Ş., Gözdaşoğlu, S., Babacan, E., Erten, J., Ertem, U., Göğüş, S. : Türkiye'de thalassaemia ve anormal hemoglobin insidansı. TÜBİTAK Pediatrik Onkoloji ve Hematoloji Ünitesi, Nuray Matbaası, 1978.
6. Arcasoy, A., and Çavdar, A.O. : Thalassaemia sendromları Homozigot ve heterozigot beta thalassemiada klinik, hematolojik ve genetik tetkikler. A.Ü. Tıp Fak. Mec. 23 : Suppl. 35, 1970.
7. Aksoy, M., Erdem, Ş. : The thalassaemia syndromes. Acta Haemat. 37 : 181, 1967.
8. Çavdar, A.O., and Arcasoy, A. : The incidence of thalassaemia and abnormal hemoglobins in Turkey. Acta Haemat. 45: 312, 1971.

9. Constantoulakis, M., Panagopoulos, G., Augoustaki, Q. :
Stature and longitudinal growth in thalassemia major.
Clin. Pediat. 14 : 355, 1975.
10. Burka, E.R. : The pathogenesis of thalassemia. In Abstracts of Internatinal Istanbul Symposium on Abnormal Hemoglobins and Thalassemia (Istanbul, August 24-27, 1974) TBTAK. Ankara, 1975, p. 217.
11. Caffey, J. : Cooley's anemia. A review of the roentgenographic findings in the skeleton. Am. J. Roentgenol., 78 : 381, 1957.
12. Mc Intosh, N. : Endocrinopathy in thalassemia major. Arch. Dis. Child. 51 : 195, 1976.
13. Saenger, P., Schwartz, E., Markenson, A.L., Graziano, J.H., Levine, L.S., New, M.I., and Hilgartner, M.W. : Depressed serum somatomedin activity in β thalassemia. J. Pediat. 96 : 214, 1980.
14. Prasad, A.S., Diwany, M., Gabr, M., Standstead, H.H., Mokhtar, N., and Hefny, A.E. : Biochemical studies in thalassemia. Ann. Inter. Med. 62 : 87, 1965.
15. Prasad, A.S., Halsted, J.A., and Nadimi, M. : Syndrome of iron deficiency, dwarfism and geophagia. Am. J. Med. 31 : 532, 1961.
16. Prasad, A.S., Miale, A., Farid, Z., Standstead, H.H., Schulert, A.R. : Zinc metabolism in patients with the syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, dwarfism and hypogonadism. J. Lab. Clin. Med. 61 : 537, 1963.

17. Fernandez, F., Prasad, A.S., and Oberleas, D. : Effect of zinc deficiency on nucleic acids, collagen and non collagenous protein of the connective tissue. *J. Lab. Clin. Med.* 82 : 951, 1973.
18. Arcasoy, A., and Çavdar, A.O. : Changes of trace minerals (serum iron, zinc, copper and magnesium) in thalassemia. *Acta Haemat.* 53 : 341, 1975.
19. Doğru, Ü. : Homozigot beta talassemiada plazma, eritrosit, saç ve idrarda çinko, bakır ve magnezyum düzeylerinin incelenmesi. Doçentlik tezi, Ankara, 1977.
20. Gratwick, G.M., Bullough, P.G., Bohne, W.H., Markenson, A.L., and Peterson, C.M. : Thalassemic osteoarthropathy. *Ann. Inter. Med.* 88 : 494, 1978.
21. Currarino, G., and Erlandson, M.E. : Premature fusion of epiphyses in Cooley's anemia. *Radiology*, 83 : 656, 1964.
22. Novikova, E.Z., and Abrakhanova, Kh. N. : Peculiarities attending the course of fractures of the tubular bones in children with major β thalassemia. *Vest. Rentg. Radiol.* 50 : 44, 1975.
23. Smiley, J.D., and Ziff, M. : Urinary hydroxyproline excretion and growth. *Physiol. Rev.* 44 : 30, 1964.
24. Mc Kusick, V.A. : The biology of normal connective tissue. In, *Heritable disorders of connective tissue*. 4th Ed. Saint Louis, Mosby Co, 1972, p. 32.

25. Rang, M. : Anatomy and physiology of the growth plate. In, The growth plate and its disorders. 1st Ed. Edinburgh, Livingstone Co, 1969, p. 1.
26. Miller, E.J., Martin, G.R. : The collagen of bone. Clin. Orthop. 59 : 195, 1968.
27. Weiss, P.H., and Klein, L.R. : The quantitative relationship of urinary peptide hydroxyproline excretion to collagen degradation. J. Clin. Invest. 48 : 1, 1969
28. Ziff, M., Kibrick, A., Dresner, E., and Gribetz, H.J. : Excretion of hydroxyproline in patients with rheumatic and non-rheumatic diseases. J. Clin. Invest. 35 : 579, 1956.
29. Bates, W.K., Mc Gowen, J., Talmage, R.V. : Influence of the parathyroids on plasma hydroxyproline levels. Endocrinology. 71 : 189, 1962.
30. Scriver, C.R. : Disorders of proline and hydroxyproline and 5- Oxoproline metabolism. In, Stanbury, J.B., Wyngaarden, J.B., Fredrickson, D.S. (Eds.), The metabolic basis of inherited disease. 4th Ed., Newyork, Mc Grawhill Co, 1978, pp. 336, 1366.
31. Rosenberg, L.E., Scriver, C.R. : Disorders of amino-acid metabolism. In. Bondy-Rosenberg (Eds.), Duncan's diseases of metabolism. 7th Ed. Philadelphia, Saunders Co, 1974, p. 540.
32. Wharton, B.A., Gough, G., Williams, A., Kitts, S., and Pennock, C.A. : Urinary total hydroxyproline : creatinine ratio. Arch. Dis. Child. 47 : 74, 1972.

33. Jones, C.R., Bergman, M.W., Kittner, P.J., and Pigman, W.W. : Urinary hydroxyproline excretion in normal children and adolescents. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 115 : 85, 1964.
34. Erkoçak, A. : Genel histoloji. A.Ü. Tıp Fak. Yayınlarından, Ankara. 1978, p. 156.
35. Jackson, D.S. : Biosynthesis of collagen fibres. J. Bone Joint Surg. 52 : 181, 1970.
36. Mergen, E. : Normal ve latiritik hayvanlarda kırık iyileşmesi sırasında kollajen sentezi ve mukopolisakkarit metabolizmasının incelenmesi. Doçentlik tezi. Ankara, 1977.
37. Palmieri, G.M.A., and Hawrylko, J. : Effects of aldosterone on the urinary excretion of total and non-dialyzable hydroxyproline. Horm. Metab. Res. 9:507, 1977.
38. Firchein, H.E., and Shill, J.P. : The determination of urinary hydroxyproline. J. Bone Joint Surg. 48:811, 1966.
39. Heller, R.M., Kirchner, S.G. : Skeletal changes of copper deficiency in infants receiving prolonged total parenteral nutrition. J. Ped. 92 : 947, 1978.
40. Woessner, J. F. : Mammalian collagenases. Clin. Orthop. 96 : 310, 1973.
41. Haumont, S., and Mc Lean, F.C. : Zinc and the physiology of bone. In. Prasad, A.S, (Ed.), Zinc metabolism, Charles, C. Thomas, Springfield. 1966, p. 169.

42. Katz, E., and Prockop, D.J. : Precursors of the hydroxyproline and ketoproline in actinomycin. *J. Biol. Chem.* 237 : 1585, 1962.
43. Sadava, D., and Chrispeels, M.J. : Hydroxyproline biosynthesis in plant cells. *Biochim. Biophys. Acta.* 227: 278, 1971.
44. Prockop, D.J., and Sjoerdsma. : Significance of urinary hydroxyproline in man. *J. Clin. Invest.* 40: 843, 1961.
45. Meilman, E., Urivetzky, M.M., and Rapoport, C.M. : Urinary hydroxyproline peptides. *J. Clin. Invest.* 42: 40, 1963.
46. Weatherall, D.J., Clegg, J.B. : The thalassemia syndromes. 2nd Ed. London, Blackwell, 1972, p. 75.
47. Johnston, F. E., Hertzog, K.P., and Malina, R.M. : Longitudinal growth in thalassemia major. *Amer. J. Dis. Child.* 112 : 396, 1966.
48. Logothetis, J., Loewenson, R.B., Augoustaki, O., Economidon, J., and Constatoulakis, M. : Body growth in Cooley's anemia with a correlative study as to other aspects of the illness in 138 cases. *Pediatrics.* 50 : 92, 1972.
49. Baker, D.H. : Roentgen manifestations of Cooley's anemia *Ann. New York. Acad. Sciences.* 119 : 641, 1964.
50. Dines, D.M., Canale, V.C., and Arnold, W.D. : Fractures in thalassemia. *J. Bone Joint Surg.* 58 : 662, 1976

51. Choremis, C., Liakakos, D., Tsegghi, C., and Moschovakis, C. : Pathogenesis of osseous lesions in thalassemia. *J. Pediat.* 66:962, 1965.
52. Liakakos, D., Karpouzas, J., and Agathapoulos, A. : Hyperprolinemia and hyperprolinuria in thalassemia. *J. Pediat.* 73 : 419, 1968.
53. Bölükoğlu, M.A., Tataroğlu, N., Tüzün, M., Kabalak, T., and Arslan, M. : Depot iron content in adult thalassemia. In abstracts of International Istanbul Symposium on Abnormal Hemoglobins and Thalassemia (Istanbul, August 24-27, 1974), TB TAK, Ankara, 1975, p.359.
54. Weiner, M., Karpatkin, M., Hart, D., Seaman, C., Vora, S.K., Henry W.L., and Piomelli, S. : Cooley anemia: High transfusion regimen and chelation therapy, results and perspective. *J. Pediat.* 92 : 653, 1978.
55. Proper, R.D., Button, L.N., and Nathan, D.G. : New approaches to the transfusion management of thalassemia. *Blood.* 55 : 55, 1980.
56. Modell, B. : Total management of thalassemia major. *Arch. Dis. Child,* 52 : 489, 1977.
57. Perkin-Elmer. : Clinical methods for atomic absorption spectroscopy, Determination of copper in serum, AA-Cu-1,1. : Determination of zinc in serum, AA-Zn-1,1. Perkin-Elmer, Norwalk, Connecticut, 1971.
58. Sprague, S., and Seavin, W. : Determination of iron, copper and zinc in blood by atomic absorption method requiring only dilution. *Atomic Absorption Newsletter.* 4 : 228, 1965.

59. Teller, W. M. , Genscher, U., Burkhardt, H., and Rommel, K. : Hydroxyproline excretion in various forms of growth failure. Arch. Dis. Child. 48 : 127, 1973.
60. Younoszai, M.K., Kacic, A., Dilling, L., and Haworth, J.C. : Urinary hydroxyproline : creatinine ratio in normal term, pre-term, and growth retarded infants. Arch. Dis. Child. 44 : 517, 1969.
61. Whitehead, R.G. : Hydroxyproline : creatinine ratio as an index of nutritional status and rate of growth. Lancet. 18 : 567, 1965.
62. Howells, G.R., Wharton, B.A., and Mc Cance, R.A. : Value of hydroxyproline indices in malnutrition. Lancet. 20: 1082, 1967.
63. Wharton, B.A., Brown, G., Rayner, P.H.W., Howells, G., and Pennock, C.A. : Urinary hydroxyproline in children with growth hormone deficiency. Arch. Dis. Child. 49 : 159, 1974.
64. Kuo, B., Zaino, E., and Roginsky, M.S. : Endocrine function in thalassemia major. J. Clin. End. Metab. 28 : 805, 1968.
65. Saudek, C.D., Hemm, R.M., and Peterson, C.M. : Abnormal glucose tolerance in β - thalassemia major. Metabolism. 26 : 43, 1977.
66. Flynn, D.M., Fairney, A., Jackson, D., and Clayton, B.E. : Hormonal changes in thalassemia major. Arch. Dis. Child. 51 : 828, 1976 .

67. Longstreth, P.L., and Malinak, L.R. : Hydroxyproline and transient osteoporosis. *Ann. Intern. Med.* 76 : 833, 1972.
68. Khermosh, O., Weissman, S.L., Oberman, Z. : Changes in bone protein after fracture. *J. Bone Joint Surg.* 53 : 559, 1971.
69. Basu, T.K., Raven, R.W. : Leucocyte ascorbic acid and urinary hydroxyproline levels in patients bearing breast cancer with skeletal metastases. *Eur. J. Cancer*, 10 : 507, 1974.
70. Lapatsanis, P. : Calcium, phosphorus, and magnesium balance studies in homozygous thalassaemia. *Arch. Dis. Child.* 48 : 829, 1973.
71. Ganzoni, A.M., and Fumagalli, I. A.L. : Hydroxyproline excretion in iron deficiency anaemia prior to and after substitution with iron-dextran, *Acta. Haemat.* 44 : 200, 1970.