

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

Dr. Murat Dolunay

+ ANTALYA İL MERKEZİNDE G6PD YETMEZLİĞİ
PREVALANSI VE ANTALYA KÖKENLİ YETMEZLİKLİ
BİREYLERDE BİYOKİMYASAL GÖRÜNÜM

UZMANLIK TEZİ

Dr. Murat DOLUNAY

T273/1-1

ANTALYA-1988

(85.01.103.07 Numaralı bu proje Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.)

(273)

İ Ç İ N D E K İ L E R

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
GEREÇ VE YÖNTEM	24
BULGULAR	35
TARTIŞMA	61
ÖZET	87
KAYNAKLAR	94

9 2 3 2 7
G İ R İ Ő İ V E A M A Ğ

60

Eritrositler nükleus, mitokondri ve ribozom gibi çok önemli üç hücre organeline sahip bulunmadıkları için oksidatif fosforilasyon, Krebs siklusu, protein ve lipid sentezi gibi enzimatik mekanizmalardan yoksundurlar^{1,2,3}. Yaşamları için gerekli enerji anaerobik glikoliz ile sağlanır^{2,4}. Olgun eritrosit 120 günlük yaşam siklusu boyunca, yapısı ve fonksiyonları için gerekli protein ve lipid içeriklerini korumak zorundadır. Söz konusu içerikler anaerobik glikolitik yolun (Embden-Meyerhof yolu) enzimleri, eritrosit membranını oluşturan lipoprotein kompleksi ve hemoglobindir^{2,3}.

Bu içeriklerin yapılarını ve fonksiyonlarını yikirmelerine neden olabilen en önemli faktör eritrositin otooksidasyonudur. Yüksek oksidasyon potansiyeline sahip eritrositlerin, otooksidasyondan korunmaları, glukozun Heksoz Monofosfat (HMP) şantı üzerinden yıkılması ile sağlanır¹.

Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) enziminin metabolik önemi, bu hücreler için tek redükte Nikonitinamid Adenin Dinükleotit Fosfat (NADPH) kaynağı olan ve onları oksidatif hemolizden koruyan HMP şantını başlatıcı enzim olmasından gelir^{1,5}. Bu enzimin kalıtsal metabolik hatalar sonucu aktivite göstermemesi veya çok az aktivite göstermesi, G6PD yetmezliği olarak bilinen anormal özellikte bir mutantın ortaya çıkmasına neden olur¹.

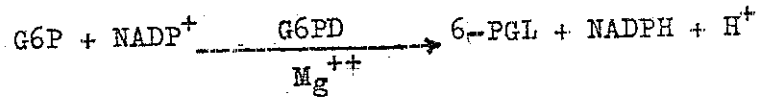
Dünyada oldukça yaygın ve gerektiğinde ölümcül olabilen G6PD yetmezliği, ilk kez antimalaryal ilaçların sağıtımda kullanıldığı yıllarda fark edilmiştir.1953 de, Şikago Üniversitesinde primakin hassasiyeti üzerinde yapılan araştırmalar sırasında hemolizle sonuçlanan olgulara rastlanması, dikkatleri eritrosit glutatyon içeriğı üzerinde toplamıştır¹. Daha sonraki araştırmalarda geçitli metabolik ve enfeksiyöz etkenlerin, G6PD yetmezlikli bireylerde hemolize yol açtığı anlaşılmıştır⁶.

Bugün dünyada üçyüz milyondan fazla insanda görülen bu anomaliye, başta Akdeniz ve Doğı toplumlari olmak üzere subtropikal bölgelerde sık olarak rastlanmaktadır^{1,4,5,7,8,9}. Yöremizde de bu anomalinin oldukça sık bulunabileceğı bildirilmektedir^{10,11}. Bu nedenle "Antalya İlinde G6PD yetmezliğı prevalansı ve defektif enzimin kinetik özellikleri" konulu ve Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonunda desteklenen bir araştırma projesi (Proje No:85.01.0103.07) planlanmıştır. Projenin bir bölümünü kapsayan bu çalışmada:

- a-Antalya il merkezinde G6PD yetmezliğı prevalansının saptanması,
- b-Yetmezlikli odakların ve risk altındaki grupların belirlenmesi,
- c-Toplum taramasında elde edilecek sonuçlara göre, G6PD yetmezliğinin yöremiz için önemli bir sağık sorunu olup olmadığının açıklığı kavuşturulması,
- d-G6PD yetmezliğı prevalansının yüksek bulunması halinde, ilgili kurlara bilgi verilerek bu konuda gerekli önlemlerin alınmasına katkıda bulunulması,
- e-Yetmezlikli bireylerin eğitilmesi,
- f-Antalya kökenli yetmezlikli bireylerin G6PD kantitatif aktiviteleri ölçülerek, yöremizde yetmezliğin biyokimyasal görünümü hakkında bilgi edinilmesi,
- g-Böylece enzim karakterizasyonu için ileriye yönelik çalışmalara ışık tutulması amaçlanmıştır.

GENEL BİLGİLER

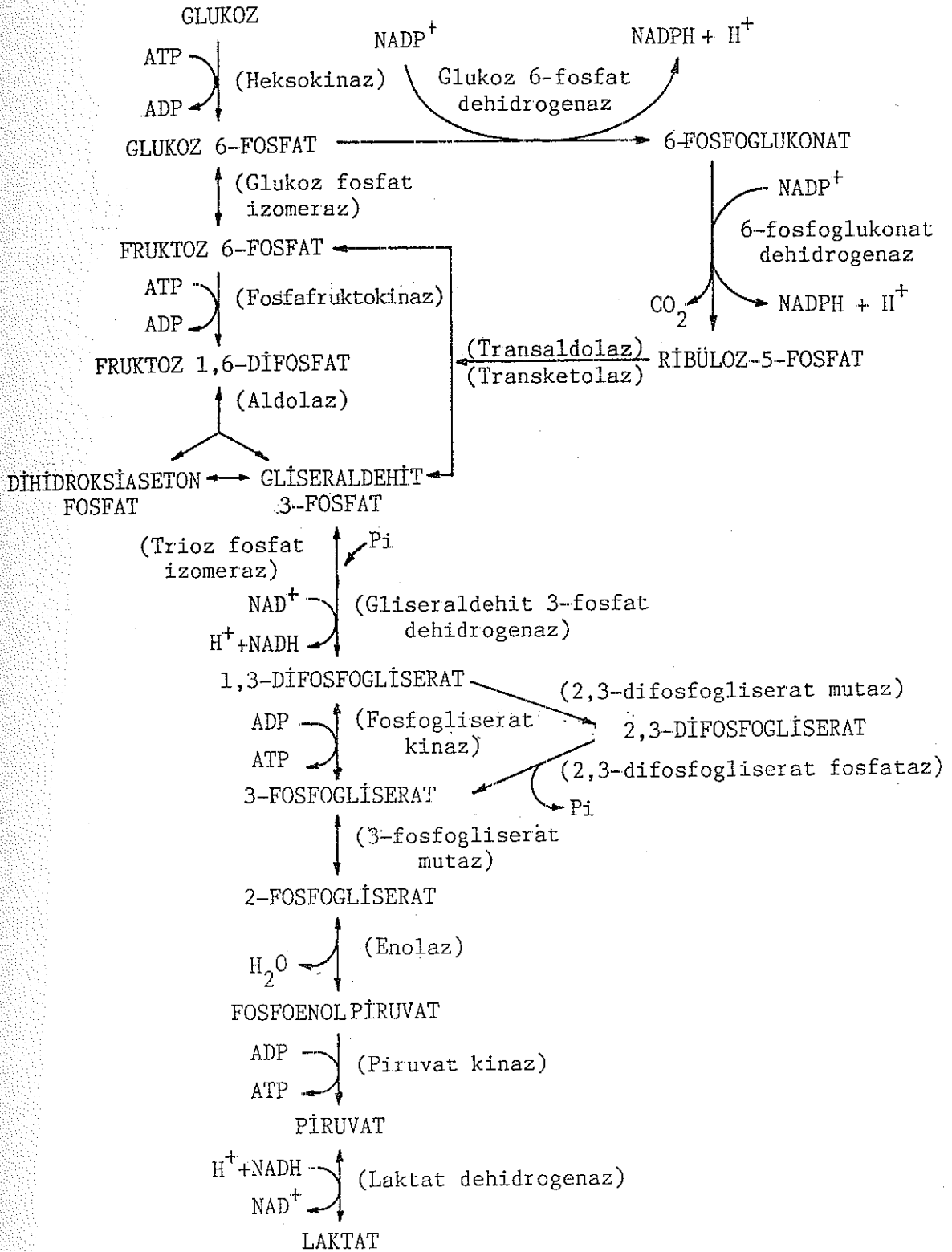
G6PD, D-glukoz-6-fosfattan (G6P), D-glukano-5-lakton-6-fosfat (6-PGL) oluşumunu katalizleyen ve bu sırada NADP^+ , NADPH a redükleyen bir enzimdir^{1,5,12}.



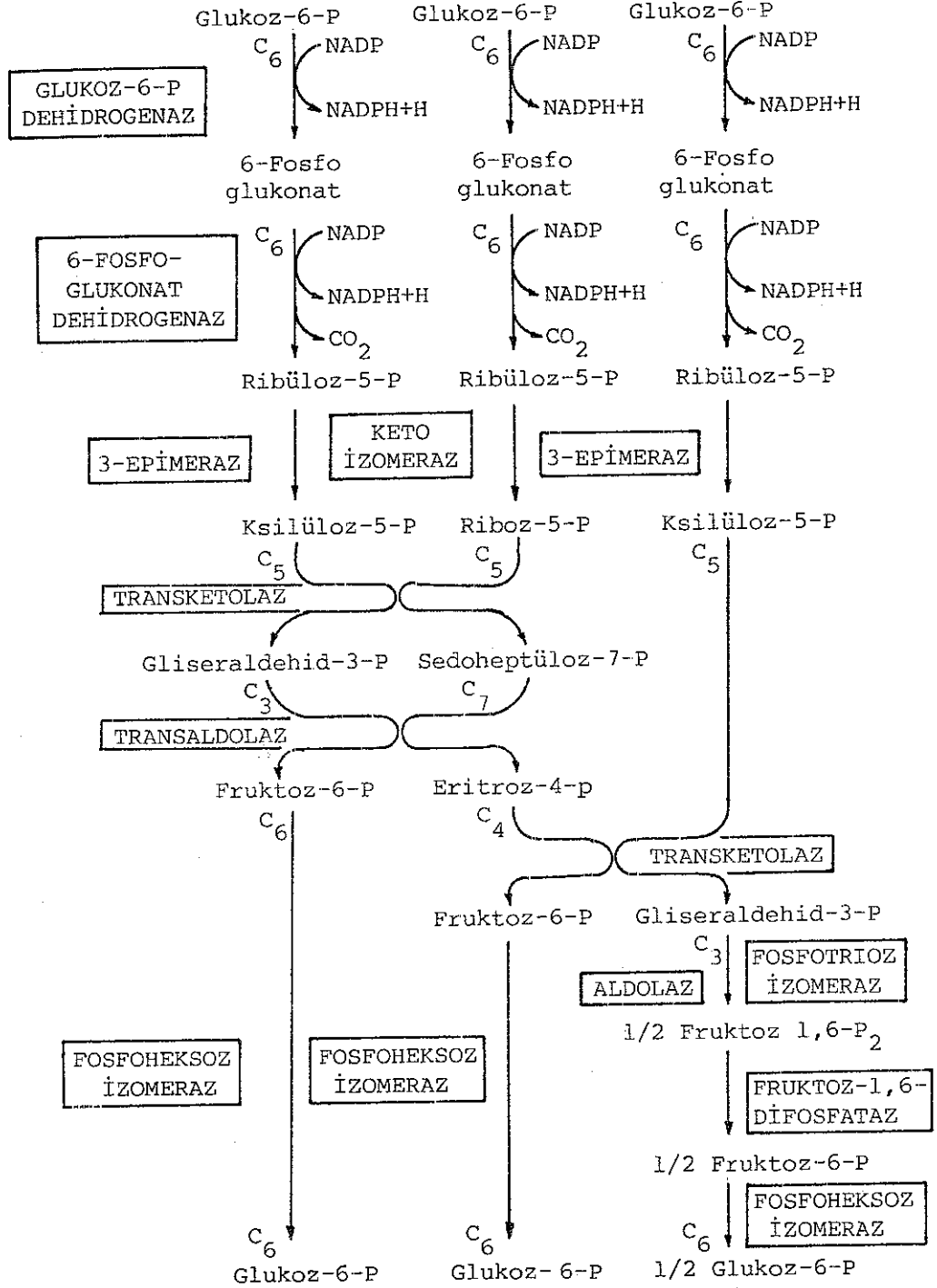
Bu reaksiyon, NADPH ve riboz-5-fosfat üretiminden sorumlu olan HMP şantı, diğer adıyla pentoz fosfat metabolik yolunun ilk basamağıdır¹.

G6P, Embden-Meyerhof yolu veya HMP şantı aracılığıyla farklı amaçlar için kullanılır¹³. Normal şartlarda eritrositler G6P in çok az bir miktarını pentoz yolunda kullanırlar. Çoğu glikolize girerek (yaklaşık % 95 i) ATP, 2,3-difosfogliserat (2,3-DPG) ve laktat üretiminde kullanılır^{1,12,14}.

G6PD, HMP şantını oluşturan reaksiyonlar zincirinin ilk basamağını kontrol eder. Bu reaksiyonlar zinciri, G6P in direkt oksidasyo-



Şekil 1 : HMP şantı ve Embden -Meyerhof yolu ile bağlantısı .
(Tietz'den)



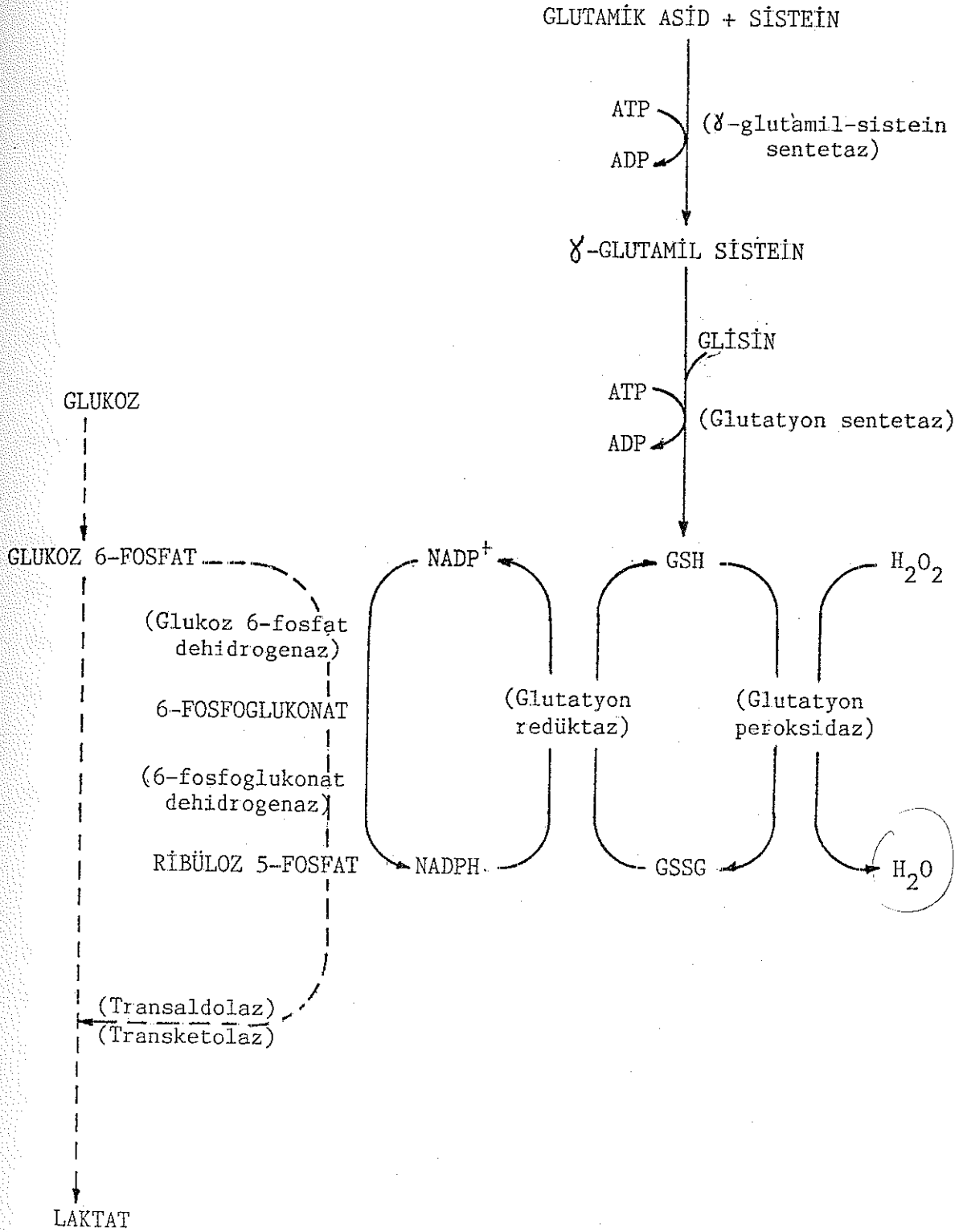
Şekil 2 : HMP şantı (pentoz fosfat yolu).
(Harper'dan)

nu ve dekarboksilasyonu ile ribüloz-5-fosfata, daha sonra bir seri transketolasyon ve transaldolasyon olayları ile fruktoz-6-fosfat ve gliseraldehit-3-fosfata dönüşümünü kapsar⁵ (Şekil 1)³. Sonuç olarak her mol glukozdan biri tamamen karbondioksite dönüşür; bu sırada 12 mol NADPH oluşur (Şekil 2)^{1,5}.

Glukozun oksidasyonuna olanak veren HMP şantının fizyolojik önemi, ara ürün olarak nükleotit için gerekli pentoz fosfatların oluşumunu ve redüktif biyosentezler için gerekli, hücreyi oksidatif streslere karşı koruyan NADPH üretimini sağlamasından ileri gelir^{1,15,16,17}. Ancak eritrositler gibi nükleuslarını kaybetmiş hücreler için pentoz fosfatlara gereksinim olmadığına göre, bu hücrelerde HMP şantının önemi, NADPH üretimidir. Üstelik bu hücreler mitokondrilerini de kaybettiklerinden oksidatif bir yoldan yoksun olup, NADPH üretimi için tamamen HMP şantına bağımlıdırlar^{1,3,4,5,12,18,19,20}.

NADPH, redükte glutatyon (GSH) sağlanması için glutatyon redüktazın koenzimi olarak çalışır (Şekil 3)^{3,12,21,22}. GSH ise, diğer hücre elemanlarına oranla daha kolay okside olma eğilimi gösterdiğinden, redükte sülfidril grubu (-SH) taşıyan bazı enzimleri, membran lipoproteinlerini ve hemoglobini otooksidasyondan koruyarak yapısal ve fonksiyonel bütünlüğü sağlar^{5,19,23,24}. GSH ayrıca, glutatyon peroksidazın katalizlediği reaksiyonla eritrositlerde hidrojen peroksit (H_2O_2) ve diğer serbest oksijen radikallerinin redüksiyonu için gereklidir^{12,23}.

Bütün bu olaylar, GSH'ın ve dolayısıyla NADPH'ın sürekli rejenerasyonunu gerektirir ki, bu da glukozun HMP şantı üzerinden metabolizması ile sağlanır⁵. Eritrosit metabolizmasında G6PD enziminin önemi ve mutlak gerekliliği, bu hücre için tek NADPH kaynağı olan HMP şantını başlatıcı enzim olmasından gelir¹.



Şekil 3 : Glutasyon yolu ve HMP şantı ile bağlantısı .
(Tietz'den)

G6PD ın YAPISAL VE KİNETİK ÖZELLİKLERİ

G6PD, aminoasit diziliği birbirine benzeyen iki monomerdan oluşan bir enzimdir. Amino ucunda alanin ve/veya tirozin, karboksil ucunda lizin ve/veya lösin aminoasitleri bulunur^{1,5,9,16,25}. Son çalışmalar enzimin molekül ağırlığınının 61.700 Dalton'dan daha fazla olduğunu göstermiştir^{1,3}.

Monomerler inaktiftir. Aktif enzim iki molekül NADP⁺ ile bağlanmış iki monomer içeren bir dimerdir^{1,3,5,9,26}. Hücre içinde çoğunlukla dimer-tetramer karışımı halinde bulunur^{1,9}. En aktif formun hekzamer yapıda olduğu bildirilmiştir^{5,16}. Enzim NAD⁺ i de koenzim olarak kullanabilir²⁷. Ancak bu durumda enzim, normalin % 4-10 u kadar aktivite gösterir^{5,16}.

Enzim NADP⁺ ve G6P için farklı affinitelere sahiptir. Enzimin doğal substratı olan G6P için K_m değeri 60-90 µM arasındadır. NADP⁺ a olan affinitesi çok daha yüksektir. Bu substrat için K_m değeri 1-3 µM arasındadır¹. Enzim 2-deoksi G6P, Galaktoz-G-P ve Fruktöz-6-fosfatı da düşük aktivite göstererek kullanabilir^{1,5,14}.

Fizyolojik şartlarda enzimin başlıca inhibitörleri NADPH ve ATP dir^{14,26}.

G6PD AKTİVİTESİNİN VE HMP ŞANTİNİN KONTROLÜ

G6PD aktivitesi intraselüler NADP⁺ konsantrasyonu ve NADP⁺/NADPH oranına bağlıdır^{1,5,9,16,26,28}. Eritrosit içinde NADP⁺ konsantrasyonu sadece 1 mM olduğundan normal şartlarda enzim subaktif formda kalabilir. Bu durumda minimal aktivite gösteren enzim, hücrenin vital fonksiyonlarını sürdürmesi için yeterli NADPH üretimini sağlayabilir. Yapılan araştırmalar normal şartlarda enzimin maksimal kapasitesininin % 0.1-0.2 hızıyla çalıştığını göstermiştir^{1,5,9,26,28}. Ancak hücrede oksidatif bir stresin oluşmasıyla NADP⁺/NADPH oranı değişir ve sırasıyla:

- NADP konsantrasyonu artar,
- NADPH ın inhibitör etkisi kalkar,
- Enzim aktive olarak V_m değeri aniden yükselir,

- HMP şantına metabolik akım çok hızlanır,
- G6P konsantrasyonu azalır,
- Heksokinaz uyarılarak daha fazla glukoz, G6P a dönüşür.

Bu değişimler sonucu, glukozun HMP şantı üzerinden metabolizması artarak NADPH hızla rejenere olur. Eritrosit için yeterli NADPH olduğunda, G6PD aktivitesi inhibe olur ve HMP şantı inaktif durumuna döner^{1,5}. Böylece G6PD, glukoz metabolizmasının HMP şantına yönelmesinde düzenleyici bir rol alarak, oksidan stres karşısında bu yola glukoz akımının artmasını sağlar^{1,5,19,26}.

Enzimin dimer formda kalması intrasellüler $NADP^+/NADPH$ oranına bağlı olduğundan bazı araştırmacılar tarafından G6PD aktivitesi, NADPH ve okside glutatyon konsantrasyonlarına göre ayarlanan bir faktör olarak da tanımlanmıştır¹.

Enzim aktivitesini eritrositin yaşı da etkiler. Eritropoetik dokularda yapılan araştırmalar, gelişmekte olan eritroblastın enzim aktivitesinin hücre bölünmesinin gerçekleştiği aşamalarda daha yüksek olduğunu, son hücre bölünmesinin tamamlandığı aşamada ise anlamlı derecede düştüğünü göstermiştir. Aktivite bundan sonra retikülosit aşamasına kadar stabil kalır. Eritrosit periferik dolaşıma geçtiğinde, nükleus ve ribozomunu kaybettiği için sentez yeteneğinden yoksundur ve enzim aktivitesi yaşlanmasına paralel olarak düşer. Böylece normal aktivite gösteren bir eritrosit topluluğunda tek tek eritrositlerin enzim aktiviteleri incelenecek olursa, aktivitenin genç hücrelerde yüksek, yaşlı hücrelerde daha düşük olduğu görülür^{29,30,31,32,33,34,35,36}.

Son yıllarda yapılan çalışmalarda, enzim aktivitesinin bireyin yaşı ile de ilişkili olduğu ve yaşlanma ile aktivitenin giderek azaldığı ileri sürülmüştür. Gerçekten yenidoğanlarda aktivite erişkinlerden daha yüksek, yaşlılarda ise erişkinlerden daha düşüktür. Enzim yaşlanması veya yaş ile enzim aktivitesinin düşmesinden, $NADP^+$ a karşı enzim affinitesinin azalması sorumlu tutulmuştur^{1,29,30,34}.

ou berrin de diminiton du NADPH ?

Bazı çalışmalarda enzim aktivitesinin kadınlarda erkeklerden daha yüksek olduğu bildirilmiş ise de, bir ünite kan için ortalama aktivite her iki sekste aynıdır. Zira kadınlarda ortalama hemotokrit değerleri erkeklerden daha düşüktür⁶⁹.

YETMEZLİKLİ ERİTROSİTLERİN BİYOKİMYASAL DEFEKTİ

G6PD potansiyel aktivitesine sahip normal hücreler, oksidan etkilerle karşılaştıklarında, HMP şantına yönelik artmış metabolik akımla kolaylıkla başa çıkabilirler. Ancak enzim yetmezliği olan hücrelerde, G6PD aktivitesi sınırlı kalacağından glukozun HMP şantına akımı ve NADPH rejenerasyonu çok az veya hiç olmaz. Bu durumun eritrositlerdeki sonucu oksidatif hemolizdir 1,19,26,37.

Eritrositte oksidan stresin en belirgin etkisi hemoglobin ve membran üzerindedir. Hemoglobinin oksidasyona duyarlılığı iki şekilde olur. Birincisi, hem gruplarının oksidasyonu ile methemoglobin oluşumudur. İkinci etkisi ise, globinin sisteinil yan zincirlerindeki sülfidril gruplarının oksidasyonu ile disülfid köprülerinin oluşumudur. Böylece globinin tetramer yapısı bozulur ve polipeptit zincirleri çözülerek çöker. Bu denatüre olmuş globin kitlesi (Heinz body) membran sülfidril grupları ile de disülfid köprüleri oluşturur. Bu gibi intraselüler inklüzyonların dalaktan geçerken fagositoz yoluyla alınması membranda kayba, hatta eritrositin tamamen parçalanmasına neden olur^{1,2,5,23,38}.

Bugün bu mekanizma güncelliğini korumakla birlikte, son zamanlarda oksidan stresin yol açtığı hemolizin intravasküler olduğu ve oksidatif hasarın daha çok eritrosit membranında meydana geldiği kabul edilmektedir³⁷.

Oksidan stresin bu önemli etkisi membran sülfidril grupları üzerindedir. Bu grupların oksidasyonu spektrin, globin ve diğer membran ve sitoplazma proteinlerinin disülfid köprüleri ile bağlanarak çökmesine ve membran bütünlüğünün bozulmasıyla eritrositin parçalanmasına neden olur^{1,5,12,39,40,41}.

Oksidan stres ayrıca membran lipitlerinin peroksidasyonu ve Ca^{++} - Mg^{++} -ATP azın inhibisyonu yolu ile de hemolize neden olur^{5,21,37,38,40}.

G6PD YETMEZLİĞİ GENETİĞİ

G6PD ile ilgili gen X kromozomu üzerinde bulunur. X e bağılı kalıtım kalıbı sonucu erkekler normal (XY) veya hemizigot yetmezlikli (X^-Y) olabilirler. Kadınlar ise normal (XX), heterozigot yetmezlikli (X^-X^-) veya homozigot yetmezlikli (X^-X^-) olarak bulunabilirler^{1,12,14,26,42}. Bugün G6PD enziminin kalıtım X e bağılı resesif olarak kabul edilmekle birlikte⁴³, heterozigotların fenotipik görünümleri açısından bu kalıtım şekli, tipik kalıba uymaz⁴². Zira bunlar az veya çok ama mutlaka yetmezlikli hücrelere sahiptirler ve klinik olarak değişik şiddetlerde yetmezlik gösterirler^{1,4,5,12,24}. Bu fenomen X-inaktivasyon (Lyon) hipotezi ile açıklanır. Bu hipotezin varsayımları şunlardır¹:

1- Kadınların herbir hücresinde iki X kromozomundan sadece biri aktif, diğeri uyku halindedir.

2- İki X kromozomundan hangisinin aktif kalacağı erken gelişim aşamalarında rastgele tayin edilir.

3- Herbir hücrenin çoğalmasında aynı X kromozomu bundan sonra inaktif kalır.

Bu nedenle, heterozigot yetmezlikli bir kadının her hücresinde enzim aktivitesi eşit derecede azalmış olarak bulunmaz. Aynı bireyde, biri normal aktivite gösteren, diğeri ise yetmezlikli iki farklı hücre popülasyonu vardır (hücreSEL mozaizm)^{4,5,24,44,45}. Her bireyde normal ve yetmezlikli hücrelerin rölatif oranı rastgele tayin edildiğinden, enzim aktivitesi geniş farklılıklar gösterebilir. Bazı bireylerde normal, bazı bireylerde de yetmezlikli hücrelerde artış vardır ve kadın fenotip

olarak normal veya yetmezlikli olabilir ^{1,46,47}.

Heterozigot kadınlar, germ hücrelerinde hem normal hem de yetmezlikli X kromozomunu taşıdıklarından, normal veya G6PD yetmezlikli erkek çocuklara sahip olabilirler. G6PD yetmezlikli erkek çocuğa sahip olduğu halde kendisi normal aktivite gösteren kadınlara "zorunlu heterozigot" denir ^{1,45,46,47}.

Heterozigot kadınlarda iki ayrı hücre popülasyonunun varlığı, elektroforetik yöntemlerle iki farklı mobilitede enzimin gösterilmesi ile ispatlanmıştır ^{1,48,49}.

G6PD VARYANTLARI

G6PD yetmezliği, normal enzimin yokluğu veya sentezinin azalması değil, varyant enzimin yapısal olarak anormal oluşudur. Bugüne kadar yaklaşık ikiyüzün üzerinde varyant tanımlanmıştır ^{3,5,12,33,50}. Varyantların çoğunun molekül yapısındaki anomaliler kesin olarak bilinmemektedir. Hemoglobinopatilerde olduğu gibi G6PD varyantlarında da bir monomeri oluşturan 100-110 aminoasitten birinin yer değiştirmesi ile fiziksel özellikler, biyolojik aktivite ve dolayısıyla klinik görünümde belirgin farklılıklar ortaya çıkar ^{3,12}.

G6PD, fenotip ve genotip olarak "Gd" ile sembolize edilir. Tüm popülasyonlarda en yüksek prevalansa sahip Gd B⁺, normal enzim standardını temsil eder ^{5,12}. Gd B⁻, anormal varyanttır. İlk olarak Güney Akdeniz halkında bulunduğu ve bu bölgede sık görüldüğü için Gd Akdeniz de denmektedir. Elektroforetik mobilitesi Gd B⁺ ile aynı, fakat enzim aktivitesi çok düşüktür (Normalin % 0-5 i). NADP⁺ ve G6P a affinitesi çok yüksektir. Bu varyant Güneydoğu Asya'lılarda da sık görülür ^{1,3,5,33,51}.

Gd A⁺, Amerikan zencilerinin % 20 sinde görülen, Afrika'da sık rastlanan diğer bir varyanttır. Elektroforetik mobilitesi Gd B⁺ dan daha

hızlı, buna karşılık enzim aktivitesi normal veya normale yakındır (Normalin % 80-100 ü) ^{1,5,14,52,53}. Gd A⁻ yine zenci ırkta sık görülen, Gd A⁺ ile aynı elektroforetik mobiliteye sahip fakat enzim aktivitesi oldukça düşük bir varyanttır (Normalin % 15 i kadar). Bu varyantta temel patoloji, genç eritrositlerde enzim aktivitesi normal olduğu halde, enzim stabilitesinin çok azalmasına bağlı olarak eritrositlerin yarı ömrünün sadece 13 gün olmasıdır ^{1,33}.

Gd A ve Gd B dışındaki varyantlar buldukları yörenin coğrafi isimleri ile anılırlar. Bunlar arasında en sık rastlanan ve düşük aktivite gösteren Kuzey Afrika'da Gd ^{Debrouss} ve Güney Asya'da Gd ^{Canton} varyantlarıdır ¹⁴.

G6PD YETMEZLİĞİNİN COĞRAFI DAĞILIMI VE MALARİYAL HİPOTEZ

Dünyada G6PD yetmezliğinin dağılımı incelendiğinde, genellikle Akdeniz Bölgesi, Kıbrıs, Yunan adaları, Sardunya, İran, Hindistan, Filipinler ve Kuzey Amerika'da prevalansın yüksek olduğu görülür. En yüksek morbidite Suudi Arabistan'da % 65.4, İsrail'de masevi olmayanlarda % 10-60, Amerikan zencilerinde % 10-20 olarak bulunmuştur ^{1,3,12,14,44}. Türkiye'de yapılan çeşitli araştırmalarda, Tarsus'ta % 11.4, İskenderun'da % 3-10, Antalya ve Alanya yöresinde % 3-20, Ege bölgesinde % 5-9, Ankara ve Erzurum'da % 1 in altında bulunmuştur ^{14,42,54,55,56,57,58,59,60,61}.

Dünyada 300 milyondan fazla insanı tutan G6PD yetmezliğinin ⁹ sık rastlandığı bölgelerde yapılan epidemiyolojik araştırmalar, yetmezliğin bugünkü coğrafi dağılımı ile geçmişteki malarial endeminin kuvvetle süperempoze olduğunu göstermiştir. Bu nedenle yetmezliğin sık görüldüğü popülasyonlarda defektif enzimin çoğalmasında sağlayan selektif faktörler olduğu düşünülmüştür. Gerçekten Nijerya'da çok şiddetli bir endemide yapılan taramada, Gd A⁻ hemizigotlarda malarial parazitemi sık-

lığı düşük bulunmuştur. Sitolojik çalışmalarda ise, normal eritrositlerde, yetmezlikli eritrositlerden daha yüksek oranda parazit görülmüştür^{1,62}. Daha sonraki çalışmalarda, heterozigot kadınların eritrosit kültürlerinde plazmodyum falsiparumun gelişim hızının, eritrositlerin enzim aktiviteleri ile orantılı olarak arttığı saptanmıştır^{1,30,63,64}.

Sıtma paraziti konak hücrede çoğalabilmek için RNA ve DNA sentezlemek zorundadır^{64,65}. Bu nedenle parazitlerin çoğalmaları için gerekli riboz bileşikleri HMP şanti aracılığıyla, dolayısıyla bu yolun ilk basamağını kontrol eden G6PD aktivitesi ile sağlanır⁶⁵. G6PD yetmezlikli eritrositlerde bu beş karbonlu bileşiklerin sentezlenememesi, sıtma parazitlerinin konak eritrositlerde çoğalma olanağını ortadan kaldırır^{12,51,62,65}.

Yetmezlikli eritrositlerde parazitin çoğalamamasının bir diğer nedeni, plazmodyum falsiparum tarafından yaratılan oksidan strestir. Bu, denatürasyona uğrayan yetmezlikli eritrositin hemoglobini tarafından ferrihem salınımına neden olur. Ferrihem hem eritrosit ve hem de sıtma paraziti için potent bir litik ajandır⁶⁶.

Günümüzde yeni ve farklı görüşler malaryal hipoteze yeni boyutlar kazandırmıştır. Son zamanlarda malaryaya karşı koruyucu fenomenin hücresel mozaizm gösteren heterozigot yetmezlikli kadınlarda ortaya çıktığı ve sürpriz olarak, hemizigot yetmezlikli erkeklerde görülmediği ileri sürülmüştür⁶⁷. Bu hipotez, G6PD yetmezlikli eritrositlerde parazitlerin çoğalabilme yeteneğini arttıran adaptif bir değişikliğe uğramaları ve parazitteki bir gen tarafından yeni bir G6PD sentezinin kodlanması ile açıklanmıştır⁶⁷.

G6PD yetmezlikli hücrelere yapılan pasajların ilk kültürlerinde parazitler, normal eritrositlere göre % 43-47 oranında çoğalabilmişler, ancak daha sonraki kültürlerde % 79 oranında çoğalabildikleri görülmüş-

tür. Bu durum parazitlerin yetmezlikli hücre şartlarına adapte olabildiklerini gösterir. Bu adaptasyonun daha somut bir göstergesi, yetmezlikli eritrositlerde parazit tarafından sentezlenen G6PD in varlığının enzimatik ve elektroforetik olarak gösterilmesidir. Şöyle ki, enfeste Gd A⁻ tip eritrositlerde elektroforetik olarak bir de Gd B⁺ tipine uyan ikinci bir bant bulunmuş, buna karşılık enfeste Gd A⁺ tip eritrositlerde elektroforetik olarak ikinci bir banda rastlanmamıştır ⁶⁷.

Bugün için hücre sel mozaik yapılarda plazmodyum falsiparumun adaptasyon gösterememesinin nedeni, her şizogonik siklustan sonra şizontların farklı tip eritrositler (yetmezlikli veya normal) ile karşılaşmaları ve yeni tip eritrosite adapte olmadan diğer tip eritrositlere girmelerinin, onlara yeterli adaptasyon ortamının ve süresinin sağlanamaması ile açıklanabilir ⁶⁷.

G6PD YETMEZLİĞİ KLİNİĞİ

G6PD varyantları, enzim aktiviteleri ve klinik görünümüne göre beş grupta incelenebilirler ^{3,53}.

1- Kronik non-sferositer hemolitik anemi (CNSHA) ile birlikte ciddi enzim yetmezliği: Bu gruptaki varyantlar değişik şiddetlerde, klinik olarak belirgin hemolizle seyrederekler (Gd Şikago, Gd New York, Gd Strasbourg gibi).

2- Ciddi enzim yetmezliği: Bu gruptaki varyantların enzim aktiviteleri % 10 un altındadır. Sadece oksidan ajanlarla karşılaştıklarında akut hemolitik atakla seyrederekler (Gd Akdeniz, Gd Mahidol, Gd Union gibi).

3- Hafif ve orta şiddette enzim yetmezliği: Bu gruptaki varyantların enzim aktiviteleri % 10-60 arasındadır. İkinci gruptaki varyantlara oranla daha nadir olarak oksidan ajanlar karşısında akut hemoliz gösterirler (Gd A⁻ gibi).

4- Normal veya çok hafif enzim yetmezliği: Bu gruptaki varyantların enzim aktiviteleri % 60-150 arasındadır. Klinik öneme sahip değildirler (Gd A⁺, Gd B⁺ gibi).

5- Artmış enzim aktivitesi: Enzim aktiviteleri % 150 nin üzerindedir. Bu grupta sadece birkaç varyant tanımlanmıştır (Gd Hektoen).

G6PD yetmezliğinin klinik gösterimleri; akut kazanılmış hemolitik anemi, konjenital non-sferositer hemolitik anemi ve favizmdir ¹.

1- AKUT KAZANILMIŞ HEMOLİTİK ANEMİ

a- İlaça bağlı hemoliz:

İlaça bağlı hemoliz ikinci ve üçüncü gruptaki varyantlarda görülür. Hemolitik atakların olmadığı dönemlerde klinik bir bulgu yoktur. Ancak dikkatli hemolitik incelemeler subklinik ve kronik bir hemolizin varlığını desteklemektedir ^{1,68,69}.

Bu gruptaki bireylerin eritrositleri, oksidan stres karşısında yetmezliğin derecesine göre değişik şiddetlerde hemoliz gösterirler. Oksidan ajanla karşılaşıldıktan sonra hemoliz meydana gelme süresi varyantlara göre değişir ¹.

G6PD yetmezlikli bireylerde oksidan ajanla karşılaşıldıktan birkaç saat ya da iki üç gün içinde, ani olarak gelişen halsizlik, solukluk, idrar renginde koyulaşma, daha ciddi durumlarda sırt ve karın ağrıları, hatta dolaşım yetmezliği klinik tabloya hakim olur ^{5,12,51}. İnvasküler oksidatif hemoliz sonucu "Heinz body" oluşumu ile birlikte anemi, retikülositoz, hemoglobinemi ve hemoglobinüri görülür ^{1,5}. Periferik yaymada polikromazi, non-spesifik anizositoz, poikilositoz izlenir. Kısa bir süre sonra "Heinz body" içeren eritrositler yerlerini membranı fagositoz yoluyla alınmış hücrelere (pincer cell) bırakırlar ^{1,5,32}.

43

İlaça bağlı hemolizin en yaygın iki örneği olan Gd A⁻ ve

Gd Akdeniz erkekleri arasındaki klinik görünüm farkları aşağıdaki tabloda gösterilmiştir¹.

Bulgular	Gd A ⁻	Gd Akdeniz
Normal durum		
Eritrositlerin aktivitesi	% 5-15	% 0-5
Lökositlerin aktivitesi	% 100	% 20
Eritrositlerin yaşam süresi	96 gün	100 gün
Retikülosit düzeyi	% 1.7	% 1.5
Hemolitik atak		
Oksidan ajana maruz kalımdan sonra oluşum süresi	24-36 saat	3-24 saat
Hemoglobinüri	Sıklıkla	Sürekli
Sarılık	Sıklıkla	Sürekli
Anemi	Orta derecede	Ciddi
	(nadiren <% 6 gHb)	(Sıklıkla <% 6 gHb)
Hemolizin seyri	Otokontrollü	Fatal olabilir

Gd A⁻ varyantında oksidan strese neden olan ilacın alınması devam ettiği halde, akut hemolitik atak bir hafta içinde spontan olarak sonlanır; ancak retikülositoz bir süre daha devam eder. Hemolizin otokontrollü olması, yetmezlikli yaşlı eritrositlerin elimine edilmesinden⁷⁰ ve dolaşıma katılan genç hücrelerin oksidan faktörü etkisiz duruma getirebilecek enzim düzeyine sahip olmasından dolayıdır^{1,4,5,12,24,30,32,43}.

Gd Akdeniz varyantında hemolitik atağın klinik görünümü daha şiddetlidir. Hemoliz otokontrollü olmayıp oksidan stres devam ettikçe, eritrositlerin yıkımı da devam eder. Zira defektif eritrositin yaşam süresi hem çok kısa ve hem de enzim aktivitesi çok düşüktür^{5,12,24,30,32}.

71. Dolaşıma geçen hücreler birkaç saat içinde hemoliz olurlar. Oksidan ajan uzaklaştırılmadığı veya kan transfüzyonu yapılamadığı takdirde, akut renal yetmezlik veya laktik asidoz sonucu ölüm olabilir ^{1,5,51}.

İlaça bağlı hemolizin şiddeti, yetmezliğin tipine, ilacın tabiatı ve dozuna bağlı olarak değişir ^{2,12,51}.

b- Enfeksiyona bağlı hemoliz:

Viral ve bakteriyel enfeksiyonlar sırasında hemolitik ataklar meydana gelebilir⁴³. Bu durumlarda hemoliz ciddi seyrederek; akut renal yetmezlik ile sonlanabilir. Enfeksiyon sırasında makrofajlar tarafından üretilen süperoksit anyonu ve hidrojen peroksitinin hemolize neden olduğu düşünülmektedir ^{5,12,51}. Bazen enfeksiyon sırasında verilen ilaç enfeksiyon ile beraber hemolize neden olabilir. Bazen de verilen ilaçlar enfeksiyonu ortadan kaldırarak hemolizi sonlandırabilir ^{12,51}.

Diabetik ketoasidoz ve hipoglisemik ataklar da kan glukoz ve pürüvat düzeylerinde ve kan pH sında değişiklikler meydana getirdikleri için G6PD yetmezlikli kişilerde hemolize neden olabilirler ^{12,72}.

2- KONJENİTAL NON-SFEROSİTER HEMOLİTİK ANEMİ

Bu gruptaki varyantlarda genellikle eritrosit enzim aktiviteleri düşüktür ve değişik şiddette kronik bir hemoliz vardır ¹. Spontan hemolizin membran sülfidril gruplarındaki ve membran lipidlerindeki defekte bağlı olduğu düşünülmektedir. Bunlarda oksidan stres olmadığı zaman bile eritrosit yaşamını sürdüremez ^{1,2,3,24}. Hemoglobini % 8-10 gram arası ve retikülositoz % 10-15 arası olup eritrosit morfolojisi normale yakındır ^{1,2,12}. Kronik hemolizin dışında ilaç ve enfeksiyonlara bağlı akut ataklar da görülebilir ^{4,12}.

3- FAVİZM

Çoğunlukla çiğ veya pişirilmiş baklanın yenmesini takiben bir iki

gün içinde, nadiren de bakla çiçeği polenlerinin inhalasyonunu izleyen birkaç saat içinde ortaya çıkan bir akut hemolitik anemi tablosudur^{1,3,5,12,73}. 2-6 yaş arası erkek çocuklar favizme daha duyarlıdır^{5,12,43,74,75}. Emzirilen bebeklerde, annenin bakla yemesiyle de hemoliz gelişebilir^{1,6,75}.

G6PD yetmezlikli kişilerin yaklaşık % 20 sinde rastlanan favizm, daha çok Gd^{Akdeniz} varyantında görülür^{1,76}.

Favizm gösteren ve göstermeyen G6PD yetmezlikli bireyler arasında, enzimin biyokimyasal özellikleri açısından önemli bir farklılık bulunmamıştır. Favizme ailesel yatkınlığın olması nedeni ile, heterozigot durumdaki otozomal bir genin favizme karşı duyarlılığı arttırabileceği ileri sürülmüştür. Ancak biyokimyasal ve genetik bir bulguya henüz rastlanmamıştır⁷⁶.

Favizmde klinik ve hematolojik bulgular ilaca bağlı hemolizin bulgularına benzemekle birlikte, tablo çok daha dramatiktir¹². Hemoglobinin, atakların 1/3 inde % 4 gramın, 2/3 sinde % 6 gramın altına düşer. Kan transfüzyonu yapılmadığı takdirde, akut renal yetmezlik nedeni ile ölüm olabilir^{1,12}. Bu durumlarda mortalite % 8 e kadar yükselir¹². Bakla yenmesinden üç gün sonra hemolitik olay yatıştır⁷⁷.

Temel patoloji, baklada bulunan vizin, konvizin gibi β-glikozidlerin biyokimyasal etkilerine dayanır^{76,78,79}. Bu glikozidlerin izouramil ve divizin gibi aglikon kısımlarının hemolitik atağın tetiğini çekebileceği düşünülmektedir⁷⁶.

Her favizimli bireyde mutlaka G6PD yetmezliği vardır. Ancak her G6PD yetmezlikli kişide favizm olmayabilir. Hatta bakla yenmesi, daha önceden favizm geçirmiş de olsa, kişide her zaman aynı duyarlılığa neden olmayabilir^{6,12,75}. Bu özellikler favizmin ortaya çıkışında G6PD yetmezliğinin gerekli olduğunu, ancak yeterli olmadığını, eritrosit di-

şında başka faktörlerin de sorumlu olabileceğini gösterir 4,5,30,38.

Son zamanlarda ince barsaklarda bulunan β -glikozidaz enzimin üzerinde durulmaktadır. Baklada inaktif halde bulunan vizin ve konvizin, ince barsaklarda β -glikozidaz etkisiyle divizin ve izouramile yıkılır. Divizin ve izouramil, yetmezlikli eritrositlerde glutasyonu oksitleyerek hemolize neden olurlar. Buna göre tüm favizmlî bireylerin baklaya karşı aynı duyarlılığı göstermemeleri, β -glikozidazın spesifik aktivitesinin kişiden kişiye farklı olmasına bağlanmaktadır. Bu nedenle, şiddetli favizm gösteren olgularda β -glikozidaz aktivitesinin de yüksek olacağı düşünülmektedir. Fakat bu hipotez favizm gösteren ve göstermeyen G6PD yetmezlikli deneklerin ince barsak biyopsilerinde β -glikozidaz aktivitele-
rinin yeterince farklı bulunamaması nedeniyle henüz açıklığa kavuşturulamamıştır 76.

Favizmin değişken karakteri bakla cinsleri arasındaki farklılara, Gd^{Akdeniz} varyantındaki genetik farklılıklara, kişiler arasındaki immünolojik ve diğer metabolik farklılıklara bağlanmaktadır 1,12,75.

YENİDOĞAN SARILIĞI

Yenidoğan sarılığında G6PD ensidansı, Akdeniz bölgesinde ve Akdeniz adalarında oldukça yüksek oranda bulunmuştur. Eritrosit GSH peroksidaz, methemoglobin redüktaz aktivitelerinin, E vitamini ve kan glukoz konsantrasyonlarının yenidoğanlarda erişkinlere oranla düşük olması, bunları oksidan faktörlere karşı daha hassas kılar 1,2,5,47,51. Fakat bütün bu yetmezlikli bebeklerde sarılık gelişmemesi, bu komplikasyonun ortaya çıkışında G6PD yetmezliği dışında başka faktörlerin de rol oynadığını düşündürür 4,5. Birçok olguda hemolizin şiddeti yüksek bilirubin düzeylerini açıklamaktan uzaktır. Sarılığın nedeni hemolizden çok yetmezlikli bebeklerde karaciğerin konjügezon yeteneğinin azlığına bağlanmaktadır⁵.

Sarılık genellikle post-natal 2-3. günlerde ortaya çıkar. 4-8. günlerde pik değerine ulaşarak uzun süre yüksek değerlerde seyreder. Kan transfüzyonu yapılmadığı takdirde kern ikterus riski büyüktür⁵.

G6PD YETMEZLİĞİNİN TANISI

G6PD yetmezliğinin tanısı için birçok tarama testleri geliştirilmiştir. Bunlar arasında en yaygın olarak kullanılan floresan spot testtir. Bu test G6PD aktivitesi ile orantılı olarak oluşan NADPH ın, ultraviyole ışığı ile aktive edilerek floresans oluşumunun gözlenmesi esasına dayanır. Kantitatif enzim aktivite ölçümleri ile iyi korelasyon gösteren bu test, kısa zamanda sonuç vermesi, hematokrit değerlerinden fazlaca etkilanmemesi ve ucuz bir yöntem olması nedeniyle tercih edilmektedir^{7,51,80,81}.

Tarama testlerinde dikkate değer iki nokta vardır. Birincisi, G6PD aktivitesinin eritrosit yaşına bağımlı olması¹⁴ ve bu nedenle hemolitik atak sonrası ileri derecede retikülositoz gösteren yetmezlikli olguların gözden kaçabilmesidir. Bunun için dikkatli bir anamnez ile yakın zamanda geçirilmiş bir hemoliz tespit edilirse, bireyin retikülosit cevabı normale dönüncüye kadar (yaklaşık 2-4 ay) beklenmesi gereklidir^{4,5,24}. Ancak Gd B⁻ varyantında hemoliz sonrası en genç hücrede bile aktivite çok düşük olduğundan, yetmezliğin tanısı genellikle mümkündür^{5,30,44}. Buna karşılık Gd A⁻ varyantında hemolizden sonra genç eritrositlerin enzim aktivitesi normaldir ve ortalama eritrosit yaşının 12 günün altına inmesi, dolaşımdaki eritrositlerin enzim aktivitelerinin normalden bile yüksek bulunmasına yol açabilir^{1,5}.

İkinci önemli nokta ise, heterozigotların tanısı için bilinen tüm tarama testlerinin yetersiz olduğudur^{5,7,80,82}. Zira bu testlerin çoğunun (+) sonuç verebilmesi için, dolaşımdaki yetmezlikli eritrosit oranı en az % 60 olmalıdır⁴⁶. Yetmezlikli eritrosit yüzdesi daha düşük

heterozigotlar yalancı (-) sonuç verirler ^{5,4,6}.

G6PD aktivitesinin kantitatif ölçümü için tanımlanmış spektrofotometrik ¹⁴ ve florometrik ⁸³ yöntemler, NADPH ın 340 nm de verdiği abzorban ölçümüne dayanır ^{1,14}. Laboratuvarlar arası birliğin sağlanması için Dünya Sağlık Örgütü (D.S.Ö.) tarafından ölçüm yöntemleri standardize edilmiştir ve bu şartlar altında 25°C da, bir dakikada bir mikromol NADP⁺ redüksiyonunu katalizleyen enzim miktarı, enzim aktivite ünitesi (IU) olarak tanımlanmıştır. Aktivite ölçümlerinin genellikle 30°C da yapılması önerilmektedir ¹⁴.

G6PD YETMEZLİĞİNİN TEDAVİSİ

Henüz geçerli bir tedavi yöntemi yoktur. Gd^{Akdeniz} varyantlarında genellikle kan transfüzyonu gerekir. Burada donör kanının G6PD aktivitesinin normal olmasına dikkat edilmelidir. Hemolize neden olan oksidan ajan tespit edilmeli ve ortamdaki uzaklaştırılmalı, yetmezlikli bireyler eğitilerek oksidan etkenlerden korunmaları sağlanmalıdır. Eğer yetmezlikli birey anne sütü ile besleniyorsa, sütle geçiş gözönünde bulundurulurken anne uyarılmalıdır ^{1,5}. G6PD yetmezlikli kişilerde hemolize neden olabilecek ajanlar Ek 1 de gösterilmiştir ^{1,84,85}.

Son yıllarda, ciddi enzim yetmezliği bulunan ve kronik hemolizle seyreden veya akut hemolitik atak hikayesi olan çocuklarda, E vitamini uygulamaları başarılı sonuçlar vermiştir ⁸⁶.

800 IU/gün oral olarak 60 gün süreyle E vitamini uygulanan çocuklarda, hemoglobin ve hematokrit düzeylerinde belirgin yükselme, retikülosit oranında anlamlı düşme gözlenmiş ve tedavi süresince hemoliz meydana gelmemiştir. Ortalama eritrosit yarı ömürlerinde de belirgin artışlar bulunmuş ve tedaviye 25 µg/gün selenyum eklendiği takdirde çok daha etkili hematolojik düzelme sağlandığı gözlenmiştir ⁸⁶.

G6PD yetmezlikli bireylerde serum E vitamini düzeyleri, sağlıklı insanlardan anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Bu durum, hasar görmüş eritrositlerde oksidan stresi nötralize edebilmek için E vitamini tüketimindeki belirgin artışın sonucu olarak açıklanmaktadır. E vitamini eksikliğinde ise, eritrositlerin oksidan strese karşı duyarlılığı şiddetlenir ve eritrosit yaşam süresi kısalır⁸⁶.

E vitamini, oksijen molekülünün poliansatüre yağ asitleri üzerine saldırısına karşı serbest radikallere proton sağlayarak antioksidan etki yapar⁸⁶.

Tedavide E vitamininin selenyumla beraber kullanılması, endojen antioksidanların korunması yönünden gereklidir. Selenyumun glutatyonun oksidasyonuna neden olan peroksitlerin yıkımında rol alan glutatyon redüktaza bağlanarak bu enzimin aktivitesini arttırdığı düşünülmektedir⁸⁶.

Daha uzun süreli tedavilerle hafif kronik hemolizin düzeltilebileceği ve akut hemolizin şiddetinin azaltılabileceği ileri sürülmekte, bu yönde araştırmalara devam edilmektedir⁸⁶.

G E R E Ç V E Y Ö N T E M

Bu çalışma, ilgili makamların izni ile, Mart 1986-Ocak 1988 tarihleri arasında Devlet İstatistik Enstitüsü (DİE) tarafından belirlenen örneğe göre, Antalya il merkezi ve köylerinde oturan 375 aile üzerinde yapıldı. Ailelerin mahalle ve köylere göre dağılımı ek 2 de gösterilmiştir.

Çalışma iki aşamada sürdürüldü. Birinci aşamada, Mart 1986-Mayıs 1987 tarihleri arasında DİE tarafından belirlenmiş olan adreslerde oturan aileler ziyaret edildi. Aile bireyleri ile tek tek görüşülerek, sosyal özelliklerine (adı soyadı, cinsiyeti, yaşı, aile kökeni, akraba evliliği durumu) ve ailede olası G6PD yetmezliğine yönelik soruları içeren anket formları dolduruldu. Kullanılan anket formlarının bir örneği ek 3 de sunulmuştur.

Araştırmada örneğe çıkan 375 ailenin hepsi ziyaret edildi. Prensipte olarak iki kez arandığı halde adreslerinde bulunamayan ailelerin

yerine örnekleme çizelgesinde belirtilmiş olan yedek aileler alındı. Ailelerdeki 1620 bireyin 1521 inden kan örneği alınabildi. Evlerinden, işyerlerinden veya okullarından iki kez arandığı halde bulunamayan veya kan vermek istemeyen 99 bireyden kan örneği alınamadı. Kan alınabilen ailelerin oranı, aile örneğinin % 100 ü olduğu halde, birey oranı toplam birey sayısının % 93.89 u idi.

Görüşülen bireylerin parmak ucu steril bir lanset ile delinerek, kan örnekleri 1 cm. çapında daire şeklinde kesilmiş filtre kağıtlarına (Whatman No 1) emdirildi^{87,88,89}. Hemoliz ve enzim aktivitesinde kaybın engellenmesi için kapaklı küçük plastik tüplere konulan örnekler, test edilene kadar aşı nakil kutusunda saklandı. Her örneğin bulunduğu tüpe o bireyin anket formundaki kişi sıra numarası yazıldı.

Her bireyden ikişer kan örneği alındı ve toplanan bütün kan örneklerinin kalitatif G6PD aktiviteleri aynı gün içinde değerlendirildi.

Eylül 1987-Ocak 1988 tarihleri arasındaki ikinci aşamada, Antalya kökenli olup ilk çalışmanın test sonuçlarına göre tam yetmezlik veya ara şekil gösteren 84 olgunun 70 inden ve normal aktivite gösteren 10 zorunlu heterozigot olgunun hepsinden alınan venöz kan örneklerinde kantitatif enzim aktivitesi ölçüldü.

Ailedeki yetmezlikli bireyleri birarada bulabilmenin güçlüğü ve kan örneklerinin laboratuvara nakli sırasında çıkabilecek sorunlar göz önüne alınarak, denekler mektupla Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarına davet edildi. Heparinize edilerek alınan venöz kan örneklerine ait G6PD aktiviteleri aynı gün içinde ölçüldü. Heparinizasyon işleminde Liquemine flacon-Roche kullanıldı.

Araştırmanın ikinci aşamasına katılan deneklerin oranı katılması gereken birey sayısının % 85.10 u (94 bireyden 80 i) idi.

KALİTATİF G6PD TAYİNİ

Kalitatif G6PD ölçümünde Beutler⁸¹ tarafından tanımlanan "Floresan spot test" küçük bir değişiklik yapılarak uygulandı. Eritrositleri hemoliz etmek için Beutler tarafından uygulanan doymuş Digitonin çözeltisi yerine, % 0.02 lik Digitonin çözeltisi kullanıldı.

Prencip: G6PD aktivitesi varlığında, koenzim NADP⁺ nin NADPH a indirgenmesi ve bu son bileşiğin uzun dalga U.V. ışığı ile aktive edildiğinde floresans vermesi esasına dayanır¹⁵.

Ayırıcılar:

1- NADP, 0.0075 M: 63.4 mg β -Nicotinamid Adenin Dinucleotide Phosphate monosodium salt (Sigma N-0505) tartılarak 10 ml arık suda çözüldü.

2- G6P, 0.01 M: 35.8 mg D-Glucose-6-Phosphate disodium salt (Sigma G-7250) tartılarak 10 ml arık suda çözüldü.

3- Digitonin, % 0.1 g: 100 mg Digitonin (Merck) tartılarak 100 ml arık suda çözüldü.

4- Fosfat tamponu, 0.25 M, pH: 7.4:

$K_2 HPO_4$ anhydrous (Merck) 34.8 g, $KH_2 PO_4$ (Merck) 6.8 g tartılarak 900 ml arık suda çözüldü. pH kontrolü yapılarak, eğer gerekiyorsa 1 M HCL veya 1 M NaOH ile pH:7.4 e ayarlandı. Arık su ile hacim litreye tamamlandı.

Gereçler:

1- Test tüpü: 8 x 100 ml lik

2- Pipet: 20 mikrolitrelik sahli tipi, 1 ml lik serolojik

3- Filtre kağıdı: Whatman No 1

4- Ultravirole lambası: Model UVSL-25 mineralight Lamp Multiband

UV-254/366 NM

Yöntem:

a- Reaksiyon karışımının hazırlanışı:

			Son konst.
NADP ⁺	0.0075 M	10 ml	0.75 mM
G6P	0.01 M	10 ml	1.00 mM
Digitonin	% 0.1	20 ml	% 0.02
Fosfat tamponu			
pH: 7.4	0.25 M	30 ml	75.00 mM
Arık su		30 ml	

100 ml lik balon joje içinde yukarıdaki şekilde hazırlanan reaksiyon karışımı küçük test tüplerine 0.2 ml hacimde dağıtılarak -20°C a donduruldu. Reaksiyon karışımı bu ısıda en az 3 ay stabildir⁸¹.

b- Deneyin yapılışı:

Deney yapılacağı gün çalışılacak örnek sayısı kadar reaksiyon karışımı içeren test tüpü dondurucudan çıkarılarak oda ısısında erimeye bırakıldı. Bu sırada örnek kanlar, test tüpleri ve üçgen şeklinde kesilmiş filtre kağıtları numaralandırıldı. Reaksiyon karışımları oda ısısına geldikten sonra her bir test tüpüne, karşılık olan numaralı kan örneği (1 cm çapında daire şeklinde filtre kağıdına emdirilmiş)^{87,88,89} koyuldu. Berrak bir hemolizat elde edilinceye kadar tüpler karıştırıldı. Karışımdan filtre kağıdının bir köşesine bir damla emdirilerek "Sıfır zamanı" olarak işaretlendi. Tüpler oda ısısında beş dakika enkübe edildikten sonra her örnek için aynı filtre kağıdının ikinci köşesine bir damla daha emdirildi ve "5. dakika" olarak işaretlendi. Aynı işlem onuncu dakikada da tekrarlanarak filtre kağıdının üçüncü köşesine alınan son damla "10.dakika" olarak işaretlendi. Damlalar tamamen kuruduktan sonra değerlendirmeye geçildi.

Değerlendirme:

Filtre kağıtları karanlık bir ortamda uzun dalga u.v. ışığı al-

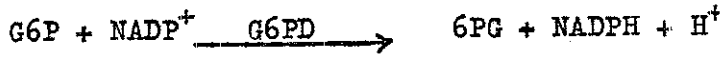
tında gözlemlendi. "Sıfır zamanı" kontrol olarak kabul edildi. Aktivitenin normalin % sine göre gösterimi DSÖ¹⁴ tarafından önerilen şekilde yapıldı.

	Floresans şiddeti			
Sıfır zamanı	Yok	Yok	Yok	Yok
5. dakika	Yok	Çok hafif	Az parlak	Çok parlak
10. dakika	Yok	Hafif	Parlak	Çok parlak
Değerlendirme	(-)	(±)	(+)	(+ +)

KANTİTATİF G6PD TAYİNİ

Eritrosit hemolizatında kantitatif G6PD aktivitesi DSÖ¹⁴ tarafından önerilen modifiye Zinkham yöntemiyle ölçüldü.

Prinsip, reaksiyon sırasında G6PD aktivitesi ile orantılı olarak oluşan NADPH'nin 340 nm'de verdiği absorbanst artışının kinetik olarak izlenmesine dayanmaktadır¹⁴.



Bu reaksiyonda G6P'dan NADP⁺ a 1 H⁺ ve 2 elektron transfer olmakta, böylece G6P yükseltgenirken NADP⁺, NADPH a indirgenmektedir¹⁶. Ancak biyolojik sistemlerin çoğu 6-Fosfoglukonat dehidrogenaz (6PGD) aktivitesine de sahip olduklarından bu reaksiyonun sonucunda açığa çıkan 6PG aşağıdaki reaksiyona girecektir:



Sonuç olarak ölçülen NADPH her iki reaksiyonun toplam ürünüdür ve ölçülen aktivite yalnızca G6PD a değil, aynı zamanda 6PGD aktivitesine de bağımlıdır. Bununla beraber, birçok durumda oluşan NADPH, G6PD aktivitesi ile orantılıdır¹⁴.

A- HEMOLİZATIN HAZIRLANIŞI

Ayırıklar :

1- İzotonik sodyum klorür:

9.0 g NaCl (Merck) tartılarak 1000 ml arık suda çözüldü. 4°C de saklandı.

2- Stabilize edici solüsyon:

2.7 mM EDTA, 0.7 mM 2-mercaptoethanol

a- Stok EDTA 0.27 M pH: 7.0 :

10 g Ethylenedinitrilotetraacetic acid (Merck) içinde 50 ml arık su bulunan 100 ml lik balon jojeye kondu. EDTA çözülmüceye kadar damla damla 2.5 M NaOH eklenerek karıştırıldı. pH:7.0 ye ayarlandıktan sonra hacim arık su ile 100 ml ye tamamlandı. Koyu renkli şişe içinde +4°C de saklandı.

Gereçler:

- 1- Soğutmalı santrifüj: Heraeus Christ Minifuge 2 model
- 2- Vakum pompası : Beckman Model 260 Vacum Pump
- 3- Derin dondurucu: Karteknik marka dondurucu (-20°C ye inebilen ilave motorlu)
- 4- Su banyosu: Grant marka, BS
- 5- Santrifüj tüpü: 15 x 100 mm, dibi konik
- 6- Pipet: 0.2, 1, 2 ve 10 ml lik serolojik

Yöntem:

2-3 ml heparinize kan +4°C de 6000 devir/dakikada on dakika santrifüj edilerek plazma ve beyaz hücre tabakası dikkatle aspire edildi. İki kez 10 hacim soğuk izotonik sodyum klorür (FIS) ile yıkandı. Son yıkamadan sonra dipte kalan eritrosit paketi 1 hacim FIS ile % 50 süspansiyon edildi. Eritrosit süspansiyonundan 0.2 ml alınarak üzerine 1.8 ml stabilize edici solüsyon eklendi. Karıştırılarak derin dondurucuda -20°C da donduruldu. Tamamen dondurulduktan sonra oda ısısında su banyosuna alınarak eritildi. Böylece 1/20 oranında dilüe edilmiş hemolizat hazır-

landı.

Hemolizat diğer işlemler tamamlanıncaya kadar buzlu su banyosu içinde bekletildi.

B- HEMOLİZAT HEMOGLOBİN İÇERİĞİ ÖLÇÜMÜ

Hemolizat Hb ini tayini Boehringer Mannheim kit: Kat.No 125482 ile yapıldı.

Prensip: Alkaleen pH da potasyum ferrosiyandır varlığında hemoglobin, ve sulfhemoglobin dışındaki hemoglobin deriveleri methemoglobine oksitlenir. Methemoglobin potasyum siyanür ile siyanmethemoglobin bileşiğini oluşturur. Bu son bileşiğin maksimum absorpsiyon verdiği 546 dalga boyundaki renk şiddeti hemoglobin konsantrasyonu ile orantılıdır^{5,90}.

Ayırıcılar:

1- Drabkin ayırıcı, stok: 100 kısım sodyum bikarbonat, 20 kısım potasyum ferrosiyandır ve 5 kısım potasyum siyanür içeren kuru karışım. Oda ısısında ve karanlıkta saklandı.

2- Drabkin solüsyonu: Stok Drabkin ayırıcı 1000 ml arık suda çözüldü. Üzerine 0.5 ml % 30 Brij-35 solüsyonu eklendi. İyice karıştırıldıktan sonra koyu renkli şişede oda ısısında saklandı. Bu isida en az altı ay stabildir.

3- Brij-35 solüsyonu, stok:100 ml sinde 30 g Brij-35 içerir.

4- Siyanmethemoglobin Standart set (Boehringer Mannheim, Kat No. 125482): Herbirinde 8 ml Siyanmethemoglobin Standart solüsyonu bulunan, sırasıyla % 5 g, % 10 g, % 15 g ve % 20 g hemoglobine karşılık olan 4 ampul. +4°C da ve karanlıkta saklandı.

Gereçler:

1- Spektrofotometre: Bausch-Lomb, spectronic 21

2- Test tüpü: 16 x 160 mm lik

3- Otomatik pipet: 100 mikrolitrelik Assipette marka

4- Pipet: 10 ml lik serolojik

Yöntem:

1- Çalışılacak örnek sayısından bir fazla test tüpü alınarak kör, örnek 1, örnek 2, şeklinde işaretlendi.

2- Bütün tüplere 5 ml Drabkin solüsyonu pipetlendi.

3- Test tüplerine 100 mikrolitre hemolizat konarak pipet 3-4 kez solüsyonla yıkandı. Karıştırılarak onbeş dakika oda ısısında beklendi.

4- 546 nm de köre karşı örneklerin abzorbanası okundu.

5- Okunan abzorbanası karşı kalibrasyon grafiğinden bulunan değer dilüsyon faktörü ile çarpılarak % gram olarak hemolizat hemoglobin konsantrasyonu bulundu.

$$\text{Dilüsyon faktörü} = \frac{5.10 \times 0.02}{0.10 \times 5.02} = 0.203$$

Not: Yönteme göre total hemoglobin konsantrasyonunu ölçmek için 5 ml Drabkin solüsyonuna 20 mikrolitre tam kan örneği konulması gerekiyordu. Ancak hemolizatın 1/20 dilüe oluşu nedeniyle yeterli renk şiddeti elde edilmesi için, 5 ml Drabkin solüsyonuna 100 mikrolitre hemolizat eklendi. Sonuç dilüsyon faktörü ile çarpılarak standardizasyon sağlandı.

KALİBRASYON GRAFİĞİNİN ÇİZİLİŞİ

1- 5 adet test tüpü alınarak 1 den 5 e kadar numaralandı.

2- 1 numaralı tüpe 5 ml Drabkin solüsyonu, diğer tüplere 5 ml siyanmethemoglobin standart solüsyonu pipetlendi.

3- 546 nm de 2,3,4 ve 5 numaralı tüplerin abzorbanası 1 numaralı kolona kaydedildi.

1	2	3	4	5
Tüp No	Siyanmethemoglobin standart solüsyonları	Drabkin solüsyonu	Abzorbans	Kan Hb i
	% mg	ml	A	% 9
1	0.0	0.0	0.0	0.0
2	19.9	5.0	0.130	5.0
3	39.8	5.0	0.264	10.0
4	59.7	5.0	0.398	15.0
5	79.6	5.0	0.530	20.0

4- Kolon 4 e karşı kolon 5 e ait değerler grafik kağıdına geçirilerek orijinden geçen bir doğru elde edildi.

C- HEMOLİZAT G6PD AKTİVİTESİNİN ÖLÇÜMÜ

Ayıraçlar:

1- NADP⁺ 2 mM :

168.9 mg β -Nicotinamid Adenin Dinucleotide Phosphate monosodium salt (Sigma N-505) tartılarak 100 ml arık suda çözüldü.

2- G6P 6 mM:

214.9 mg D-Glucose-6-Phosphate disodium salt (Sigma G-7250) tartılarak 100 ml arık suda çözüldü. -20°C de saklandı. Bu ısıda bir yıl stabildir.

3- MgCl₂ 0.1 M:

2033.1 mg MgCl₂ 6 H₂O (Merck) tartılarak 100 ml arık suda çözüldü.

4- Tris-HCL tamponu 1 M, pH:8.0

121.1 g Tris (hydroxymethyl-aminometan) tartılarak litrelik balon jöjeye kondu. Üzerine 250 ml arık su ve 650 ml 1 N HCL eklene-

rek çözülmüneye kadar karıştırıldı. pH:8.0 e ayarlandıktan sonra hacim arık su ile litreye tamamlandı.

Gereçler:

- 1- Spektrofotometre: Beckman model 26 spectrophotometer
- 2- Yazdırıcı: Beckman model 39 Printer
- 3- Derin dondurucu: Karteknik marka dondurucu (-20°C ye inebilen ilave motorlu)
- 4- Test tüpü: 16 x 160 mm
- 5- Pipet: 1 ve 2 ml lik serolojik
- 6- Otomatik pipet: 50 ve 100 mikrolitrelik Assipette marka

Yöntem:

Reaksiyon karışımı:

Ayıraçlar	Kör	Örnek	Son Konst.
H ₂ O	0.55 ml	0.55 ml	
NADP ⁺ 2 mM	0.10 ml	0.10 ml	0.20 mM
Tris-HCL			
1 M pH:8.0	0.10 ml	0.10 ml	0.10 M
MgCl ₂ 0.1 M	0.10 ml	0.10 ml	0.01 M
Hemolizat			
1:20 dilüe	0.05 ml	0.05 ml	
G6P 6mM	-	0.10 ml	0.60 mM
H ₂ O	0.10	-	
Total hacim	1.00 ml	1.00 ml	

Test tüplerine 0.55 ml arık su, 0.10 ml NADP⁺, 0.10 ml Tris-HCL ve 0.10 ml MgCl₂ pipetlenerek -20°C de donduruldu. Bu karışım -20°C de bir yıl stabildir¹⁴.

Deneyin yapılışı:

Ölçüm yapılacağı gün gerektiği kadar test tüpü oda ısısına getirilerek kör ve örnek olarak işaretlendi. Her iki tüpe 1/20 dilue hemolizattan 0.05 ml eklendi. Karışım kapaklı kare kuartz mikroküvetlere (Q6) konarak spektrofotometreye yerleştirildi. Küvetler 30°C da on dakika enkübe edildi. Bu sırada "sıfır" ayarı yapıldı. Kör küvetine 0.10 ml arık su ve örnek küvetine 0.10 ml G6P eklenerek reaksiyon başlatıldı. 340 nm deki optik dansite (O.D) değerleri yirmibir dakika boyunca otuz saniyede bir yazdırıcıya kaydedildi.

Değerlendirme:

Yazdırıcıdan alınan sonuçların grafik analizi ile reaksiyon hızının en lineer olduğu aralık bulundu. Bu aralıktaki O.D.farkının zamana bölünmesi ile dakikadaki O.D.artışının ortalama değeri ($\Delta OD/dak$) bulundu. Bulunan değer aşağıdaki formüle uygulanarak gram Hb başına düşen enzim aktivitesi hesaplandı¹⁴.

$$IU/g Hb = \frac{(\Delta OD/dak) \cdot 10^5}{(6.22) \cdot (Hb)^x \cdot (Hemolizat hacmi)^{xx}}$$

x= % gram olarak

xx= mikrolitre hemolizat/ml reaksiyon karışımı

İSTATİSTİK DEĞERLENDİRME

Verilerin dizgelenecek tablo haline getirilmesi ve istatistik değerlendirme araştırmacı tarafından el ile yapıldı. Elde edilen verilerin bir bölümü sayımla belirtilen karakterler olduğundan, iki veya daha çok grup arasında fark bulunup bulunmadığını test etmek için, parametrik olmayan önemlilik testlerinden ki kare (gerekli yerlerde Yates düzeltmesi yapılarak) ve beklenen frekansların beşden küçük bulunduğu durumlarda geçerli olan Fisher'in kesin ki kare testi uygulandı.

Verilerin ölçümle belirtilen ve parametrik varsayımları yerine getiren bölümünde iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi (gerekli yerlerde Mann Whitney U testi) uygulandı.

Kontrol, %5 LD-50 ve %10 LD-50 (40 ve 80 mg/kg) dozları için yapılan deneyde elde edilen sonuçlar, 24 saatlik ve 72 saatlik sürelerde elde edilen GSD verileri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadığı (p > 0.05) kontrol ve %5 LD-50 dozları için elde edilen verilerin karşılaştırılmasında istatistiksel farklılık bulunmadığı (p > 0.05) kontrol ve %10 LD-50 dozları arasında elde edilen verilerin karşılaştırılmasında istatistiksel farklılık bulunmadığı (p > 0.05) olarak değerlendirilmiştir.

B U L G U L A R

Antalya il merkezi ve köylerinde oturan 375 örnek ailedeki 1521 deneğin cinsiyete, yaş gruplarına, aile kökenine ve akraba evliliği görülme sıklığına ait veriler tablo 1, tablo 2 ve tablo 3 te gösterilmiştir.

Tablo 1: Deneklerin cinsiyete ve yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş Grubu	Erkek	%	Kadın	%	Toplam	%
0-14	284	52.40	258	47.60	542	100.00
15-44	309	43.64	399	56.36	708	100.00
45 ve üzeri	135	49.82	136	50.18	271	100.00
Toplam	728	47.86	793	52.14	1521	100.00

İncelenen deneklerden % 47.86 sı erkek, % 52.14 ü kadındı. Deneklerden % 35.63 ü 0-14 yaş grubunda, % 46.55 i 15-44 yaş grubunda ve % 17.82 si 45 ve üzeri yaş grubunda bulunuyordu.

Tablo 2: Deneklerin aile kökenine göre dağılımı

Aile Kökeni	Denek Sayısı	%
Merkez ilçe	743	48.85
Serik	80	5.26
Manavgat	28	1.84
Alanya	10	0.66
Gazipaşa	12	0.79
Gündoğmuş	10	0.66
Akseki	36	2.37
Kumluca	38	2.50
Elmalı	23	1.51
Korkuteli	86	5.65
Finike	8	0.53
Kaş	13	0.85
Antalya dışı	434	28.53
T o p l a m	1521	100.00

İncelenen 1521 denek aile kökenine göre, 743 olgu merkez (% 48.85) ,344 olgu diğer ilçeler (% 22.62) ve 434 olgu Antalya dışı (% 28.53) olmak üzere dağılım gösterdi.

Subkronik dönemde bazı grupların burada ileride ve kronik grupta da aralarında yerleşim koşullarında önemli değişiklikler gözlemlenmektedir (p. 20.05)

Tablo 3: Deneklerin aile kökeni ve akraba evliliğine göre dağılımı

Aile Kökeni	Akraba Evliliği				Toplam
	Olan	%	Olmayan	%	
Antalya Merkez ilçe	179	53.43	564	47.55	743
Diğer ilçeler	67	20.00	277	23.36	344
Antalya dışı	89	26.57	345	29.09	434
T o p l a m	335	100.00	1186	100.00	1521

Mart 1986-Mayıs 1987 tarihleri arasında Antalya il Merkezi ve köylerinde oturan deneklerde akraba evliliği sıklığı % 22.02 (335/1521) olarak saptandı. Ebeveynleri birbirleri ile akraba olan toplam 335 denek aile kökenine göre, 179 merkez (% 53.43), 67 diğer ilçeler (% 20.00) ve 89 Antalya dışı (% 26.57) olarak dağılım gösterdi.

Aile kökeni merkez ilçe olan deneklerde akraba evliliği sıklığı % 24.09 (179/743), diğer ilçeler olan deneklerde % 19.48 (67/344) ve Antalya dışı olan deneklerde % 20.51 (89/434) olarak saptandı.

A- KALİTATİF ÖLÇÜMLERE AİT BULGULAR

728 erkek ve 793 kadından oluşan 1521 denegin kapiller kan örneğinin floresan spot test ile incelenmesi sonucunda, 54 erkek ve 50 kadın olmak üzere toplam 104 olguda G6PD yetmezliği saptandı.

Yetmezlik saptanan 54 erkeğin hem 5. hem de 10.dakika spotlarında hiç floresans gözlenmedi. Tam yetmezlik gösteren bu olgularda floresans (-) olarak değerlendirildi.

Yetmezlik saptanan 50 kadının 14 ünde hem 5. hem de 10.dakika spotlarında hiç floresans gözlenmedi. Tam yetmezlik gösteren bu olgularda floresans (-) olarak değerlendirildi.

Diğer 36 kadının 5.dakika spotlarında çok hafif, 10.dakika spotlarında biraz daha parlak olmasına karşın normale göre oldukça hafif floresans gözlemlendi. Ara şekil gösteren bu olgularda floresans (±) olarak değerlendirildi.

674 erkek ve 743 kadının hem 5. hem de 10.dakika spotlarında parlak floresans gözlemlendi. Normal aktivite gösteren bu olgularda floresans (+) olarak değerlendirildi.

Deneklerin G6PD aktivitesi ve cinsiyete göre dağılımı tablo 4 te gösterilmiştir.

Tablo 4: Deneklerin G6PD aktivitesi ve cinsiyete göre dağılımı

G6PD Aktivitesi	Erkek	%	Kadın	%	Toplam	%
Tam yetmezlik gösteren olgular	54	7.42	14	1.77	68	4.47
Ara şekil gösteren olgular	0	0.00	36	4.54	36	2.37
Normal olgular	674	92.58	743	93.69	1417	93.16
T o p l a m	728	100.00	793	100.00	1521	100.00

Tam yetmezlik görülme sıklığı erkeklerde % 7.42, kadınlarda % 1.77 ve olguların tümünde % 4.47 olarak bulundu. Ara şekil gösteren olguların tümü kadındı ve kadınlarda görülme sıklığı % 4.54, toplam olgularda görülme sıklığı % 2.37 olarak bulundu. Erkeklerde ara şekil gösteren olguya rastlanmadı (Tablo 4).

Tam yetmezlik gösteren 68 olgunun % 79.41 i erkek ve % 20.59 u kadın olup, aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu (Tablo 5).

Tablo 5: Deneklerin G6PD aktivitesi ve cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	Tam yetmezlik gösteren olgular	%	Normal veya ara şekil gösteren olgular	%	Toplam
Erkek	54	79.41	674	46.39	728
Kadın	14	20.59	779	53.61	793
Toplam	68	100.00	1453	100.00	1521

$\alpha = 0.01$ $\chi^2 = 25.717$ $p < 0.01$

G6PD yetmezliği görülme sıklığı erkeklerde % 7.42, kadınlarda % 6.31 ve toplam olgularda % 6.84 olarak saptandı. Erkek ve kadın denekler arasında yetmezlik görülme sıklığı açısından istatistiksel olarak fark bulunmadı (Tablo 6).

Tablo 6: Deneklerin G6PD aktivitesi ve cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	G6PD Aktivitesi				Toplam	%
	Yetmezlik gösteren olgular	%	Normal olgular	%		
Erkek	54	7.42	674	92.58	728	100.00
Kadın	50	6.31	743	93.69	793	100.00
Toplam	104	6.84	1417	93.16	1521	100.00

$\alpha = 0.05$ $\chi^2 = 0.736$ $p > 0.05$

Tablo 4, tablo 5 ve tablo 6 nin sonuçlarına göre, erkekler ve kadınlar arasında yetmezlik görülme sıklığı açısından fark bulunmamasına rağmen, tam yetmezliğin erkeklerde kadınlardan daha sık görüldüğü saptandı. Ara şekle ise erkeklerde hiç rastlanmadı.

Araştırmaya göre Mart 1986-Mayıs 1987 tarihleri arasında Antalya il merkezinde oturan kişilerde G6PD yetmezliği prevalansı % 6.84, tam yetmezlik prevalansı % 4.47 ve ara şekil prevalansı % 2.37 olarak bulundu.

Yaş gruplarına göre tam yetmezlik görülme sıklığı, 0-14 yaş grubunda % 6.64, 15-44 yaş grubunda % 3.11, 45 ve üzeri yaş grubunda % 3.69 du(Tablo 7).Ara şekil görülme sıklığı 0-14 yaş grubunda % 2.58, 15-44 yaş gurubunda % 2.40, 45 ve üzeri yaş grubunda % 1.85 olarak bulundu(Tablo 7).

Tablo 7: Deneklerin G6PD aktivitesi ve yaş gruplarına göre dağılımı

G6PD Aktivitesi	Yaş Grubu						Toplam
	0-14	%	15-44	%	45 ve üzeri	%	
Tam yetmezlik gösteren olgular	36	6.64	22	3.11	10	3.69	68
Ara şekil gösteren olgular	14	2.48	17	2.40	5	1.85	36
Normal olgular	492	90.78	669	94.49	256	94.46	1417
Toplam	542	100.00	708	100.00	271	100.00	1521

Tam yetmezlik gösteren 68 olgunun % 52.94 ü 0-14, % 32.35 i 15-44, % 14.71 i 45 ve üzeri yaş grubunda olup, birbirleri ile karşılaştırıldığında 0-14 yaş grubundaki tam yetmezlik gösteren olgular, diğer yaş gruplarındaki tam yetmezlik gösteren olgulardan istatistiksel olarak farklı bulundu (Tablo 8).

Tablo 8: Deneklerin G6PD aktivitesi ve yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş Grubu	G6PD Aktivitesi				Toplam
	Tam yetmezlik gösteren olgular	%	Normal veya ara şekil gösteren olgular	%	
0-14	36	52.94	506	34.83	542
15-44	22	32.35	686	47.21	708
45 ve üzeri	10	14.71	261	17.96	271
Toplam	68	100.00	1453	100.00	1521

$$\alpha=0.01 \quad x_1^2=5.983 \quad x_2^2=3.076 \quad x_3^2=0.387 \quad x^2=9.446 \quad p<0.01$$

Ara şekil gösteren 36 olgunun % 38.89 u 0-14, % 47.22 si 15-44, % 13.89 u 45 ve üzeri yaş grubunda olup, birbirleri ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak fark bulunmadı (Tablo 9).

Tablo 9: Deneklerin G6PD aktivitesi ve yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş Grubu	G6PD Aktivitesi				Toplam
	Ara şekil gösteren olgular	%	Normal veya tam yetmezlik gösteren olgular	%	
0-14	14	38.89	528	35.56	542
15-44	17	47.22	691	46.53	708
45 ve üzeri	5	13.89	266	17.91	271
Toplam	36	100.00	1485	100.00	1521

$$\alpha=0.05 \quad x_1^2=0.110 \quad x_2^2=0.003 \quad x_3^2=0.318 \quad x^2=0.431 \quad p>0.05$$

G6PD yetmezliği görölme sıklığı 0-14 yaş grubunda % 9.23, 15-44 yaş grubunda % 5.51, 45 ve üzeri yaş grubunda % 5.54 olarak saptandı. Yaş grupları yetmezlik görölme sıklığı açısından birbirleri ile karşılaştırıldığında, 0-14 yaş grubundaki yetmezlikli olgular, diğer yaş gruplarındaki yetmezlikli olgulardan istatistiksel olarak farklı bulundu (Tablo 10).

Tablo 10:Deneklerin G6PD aktivitesi ve yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş Grubu	G6PD Aktivitesi				Toplam	%
	Yetmezlik gösteren olgular	%	Normal olgular	%		
0-14	50	9.23	492	90.77	542	100.00
15-44	39	5.51	669	94.49	708	100.00
45 ve üzeri	15	5.54	256	94.46	271	100.00
Toplam	104	6.84	1417	93.16	1521	100.00

$\alpha=0.05$ $\chi^2_1=4.868$ $\chi^2_2=1.963$ $\chi^2_3=0.721$ $\sum \chi^2=7.552$ $p<0.05$

Tablo 7, tablo 8, tablo 9 ve tablo 10 un sonuçlarına göre, yaş grupları arasında ara şekil görölme sıklığı açısından fark olmamasına rağmen, yetmezlik ve tam yetmezlik görölme sıklığı açısından fark vardı. 0-14 yaş grubunda yetmezlik ve tam yetmezlik görölme sıklığı diğer yaş gruplarından daha yüksekti.

Tam yetmezlik gösteren 54 erkek olgunun % 57.40, 0-14, % 27.78 i 15-44, % 14.82 i 45 ve üzeri yaş grubunda olup, birbirleri ile karşılaş-

tırıldığında 0-14 yaş grubundaki tam yetmezlik gösteren olgular, diğer yaş gruplarındaki tam yetmezlik gösteren olgulardan istatistiksel olarak farklı bulundu (Tablo 11).

Tablo 11: Erkek deneklerin G6PD aktivitesi ve yaş gruplarına göre dağılımı.

Yaş Grubu	G6PD Aktivitesi				Toplam
	Tam yetmezlik gösteren olgular	%	Normal olgular	%	
0-14	31	57.40	253	37.54	284
15-44	15	27.78	294	43.62	309
45 ve üzeri	8	14.82	127	18.84	135
Toplam	54	100.00	674	100.00	728
$\alpha=0.05$	$\chi^2_1=5.055$	$\chi^2_2=2.956$	$\chi^2_3=0.432$	$\sum \chi^2=8.443$	$p < 0.01$

Tablo 11 in sonucuna göre erkeklerde yaş grupları arasında tam yetmezlik görülme sıklığı açısından fark bulundu. Erkeklerde tam yetmezlik görülme sıklığı, 0-14 yaş grubunda diğer yaş gruplarından daha yüksekti.

Yaş gruplarına göre kadınlarda tam yetmezlik görülme sıklığı, 0-14 yaş grubunda % 1.94, 15-44 yaş grubunda % 1.75, 45 ve üzeri yaş grubunda % 1.47; ara şekil görülme sıklığı 0-14 yaş grubunda % 5.43, 15-44 yaş grubunda % 4.26, 45 ve üzeri yaş grubunda % 3.68 olarak bulundu (Tablo 12).

Tablo 12: Kadın deneklerin G6PD aktivitesi ve yaş gruplarına göre dağılımı

G6PD Aktivitesi	Yaş Grubu						Toplam
	0-14	%	15-44	%	45 ve üzeri	%	
Tam yetmezlik gösteren olgular	5	1.94	7	1.75	2	1.47	14
Ara şekil gösteren olgular	14	5.43	17	4.26	5	3.68	36
Normal olgular	239	92.63	375	93.99	129	94.85	743
Toplam	258	100.00	399	100.00	136	100.00	793

Tam yetmezlik gösteren 14 kadın olgunun % 35.71 i 0-14, % 50.00 si 15-44, % 14.29 u 45 ve üzeri yaş grubunda olup, birbirleri ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak fark bulunamadı (Tablo 13).

Tablo 13: Kadın deneklerin G6PD aktivitesi ve yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş Grubu	G6PD Aktivitesi				Toplam
	Tam yetmezlik gösteren olgular	%	Normal veya ara şekil gösteren olgular	%	
0-14	5	35.71	253	32.48	258
15-44	7	50.00	392	50.32	399
45 ve üzeri	2	14.29	134	17.20	136
Toplam	14	100.00	779	100.00	793

$\alpha = 0.05$ $\chi^2_1 = 0.045$ $\chi^2_2 = 0.023$ $\chi^2_3 = 0.068$ $\sum \chi^2 = 0.136$ $p > 0.05$

Ara şekil gösteren 36 kadın olgunun % 38.89 u 0-14, % 47.22 si 15-44, % 13.89 u 45 ve üzeri yaş grubunda olup, birbirleri ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak fark bulunmadı (Tablo 14).

Tablo 14: Kadın deneklerin G6PD aktivitesi ve yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş Grubu	G6PD Aktivitesi				Toplam
	Ara şekil gösteren olgular	%	Normal veya tam yetmezlik gösteren olgular	%	
0-14	14	38.89	244	32.23	258
15-44	17	47.22	382	50.46	399
45 ve üzeri	5	13.89	131	17.31	136
Toplam	36	100.00	757	100.00	793

$$\alpha = 0.05 \quad x_1^2 = 0.468 \quad x_2^2 = 0.071 \quad x_3^2 = 0.233 \quad \sum x^2 = 0.772 \quad p > 0.05$$

Kadınlarda G6PD yetmezliği görülme sıklığı 0-14 yaş grubunda % 7.36, 15-44 yaş grubunda % 6.02, 45 ve üzeri yaş grubunda % 5.15 olarak saptandı. Yaş grupları kadınlarda yetmezlik görülme sıklığı açısından birbirleri ile karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak fark bulunmadı (Tablo 15).

Tablo 15: Kadın deneklerin G6PD aktivitesi ve yaş gruplarına göre dağılımı

Yaş Grubu	G6PD Aktivitesi				Toplam	%
	Yetmezlik gösteren olgular	%	Normal olgular	%		
0-14	19	7.36	239	94.64	258	100.00
15-44	24	6.02	375	93.98	399	100.00
45 ve üzeri	7	5.15	129	94.85	136	100.00
Toplam	50	6.31	743	93.69	793	100.00

$\alpha=0.05$ $\chi^2_1=0.489$ $\chi^2_2=0.058$ $\chi^2_3=0.311$ $\sum \chi^2=0.858$ $p>0.05$

Tablo 13, tablo 14 ve tablo 15 deki sonuçlara göre kadınlarda yaş grupları arasında yetmezlik, tam yetmezlik ve ara şekil görülme sıklığı açısından fark bulunmadı.

Antalya il merkezinde oturan 1521 denegin G6PD aktivitesi ve aile kökenine göre dağılımı tablo 16 da gösterilmiştir.

219
13/15

Tablo 16: Deneklerin G6PD aktivitesi ve aile kökenine göre dağılımı

Aile Kökeni	G6PD Aktivitesi				Toplam
	Yetmezlik gösteren olgular	%	Normal olgular	%	
Merkez ilçe	47	45.19	696	49.10	743
Serik	13	12.50	67	4.73	80
Manavgat	0	0.00	28	1.98	28
Alanya	1	0.97	9	0.64	10
Gazipaşa	0	0.00	12	0.85	12
Gündoğmuş	0	0.00	10	0.71	10
Akseki	0	0.00	36	2.54	36
Kumluca	0	0.00	38	2.68	38
Elmalı	3	2.89	20	1.41	23
Korkuteli	17	16.35	69	4.87	86
Finike	3	2.89	5	0.35	8
Kaş	0	0.00	13	0.92	13
Antalya dışı	20	19.23	414	29.22	434
Toplam	104	100.00	1417	100.00	1521

Tablo 16: Deneklerin G6PD aktivitesi ve aile kökenine göre dağılımı

Yetmezlik gösteren 104 olgunun % 80.77 si Antalya kökenli ve % 19.23 ü Antalya dışı kökenli olup, aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu (Tablo 17).

Tablo 17: Deneklerin G6PD aktivitesi ve aile kökenine göre dağılımı

Aile Kökeni	G6PD Aktivitesi				Toplam
	Yetmezlik gösteren olgular	%	Normal olgular	%	
Antalya	84	80.77	1003	70.78	1087
Antalya dışı	20	19.23	414	29.22	434
Toplam	104	100.00	1417	100.00	1521

$$\alpha=0.05 \quad x^2=4.745 \quad p < 0.05$$

Buna göre G6PD yetmezliği Antalya kökenli denekler arasında % 7.73 (84/1087) olup, Antalya dışı kökenli deneklerdekenden % 4.61 (20/434) daha yüksektir.

Antalya İl Merkezinde oturan 1521 deneğin 335 inde anne-baba arasında akrabalık bulunduğu saptandı (% 22.02).Akraba evliliğine rastlanan olgularda G6PD yetmezliği sıklığı (% 11.34) akraba evliliği görülmeyen olgulardan (% 5.56) yüksek ve aradaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu (Tablo 18).

Tablo 18: Deneklerin G6PD aktivitesi ve akraba evliliğine rastlanma sıklığına göre dağılımı

G6PD Aktivitesi	Akraba Evliliği				Toplam
	Olan	%	Olmayan	%	
Yetmezlik gösteren olgular	38	11.34	66	5.56	104
Normal olgular	297	88.66	1120	94.44	1417
Toplam	335	100.00	1186	100.00	1521

$$\alpha=0.01 \quad x^2=13.687 \quad p<0.01$$

Yetmezlik gösteren 104 olgunun 11'inin çeşitli oksidan faktörlere bağlı olarak hemoliz geçirdiği saptandı. Hemoliz geçirdiği saptanan olguların tümü tam yetmezlikli olup, ara şekil gösteren olgularda geçirilmiş hemolize rastlanmadı. Hemoliz görülme sıklığı açısından tam yetmezlik ve ara şekil gösteren olgular arasındaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu (Tablo 19).

Tablo 19: Yetmezlikli deneklerin çeşitli oksidan faktörlere bağlı olarak hemoliz görülme sıklığına göre dağılımı

G6PD Aktivitesi	Hemolitik Atak				Toplam	%
	Geçiren	%	Geçirmeyen	%		
Tam yetmezlik gösteren olgular	11	16.18	57	83.82	68	100.00
Ara şekil gösteren olgular	0	0.00	36	100.00	36	100.00
Toplam	11	10.58	93	89.42	104	100.00

$$\alpha=0.05 \quad P_{\text{hesap}}=0.01 \quad p<0.05$$

Tam yetmezlikli 54 erkekte hemoliz görülme sıklığı % 20.37 bulunmasına karşın, tam yetmezlikli 14 kadında geçirilmiş hemolize rastlanmadı. Hemoliz görülme sıklığı açısından tam yetmezlik gösteren erkek ve kadın olgular arasındaki fark istatistiksel olarak önemsiz bulundu(Tablo 20).

Tablo 20: Tam yetmezlik gösteren deneklerin hemoliz görülme sıklığı ve cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	Hemolitik atak				Toplam	%
	Geçiren	%	Geçirmeyen	%		
Erkek	11	20.37	43	79.63	54	100.00
Kadın	0	0.00	14	100.00	14	100.00
Toplam	11	16.18	57	83.82	68	100.00

$$\alpha=0.05 \quad p_{\text{hesap}}=0.06 \quad p > 0.05$$

Buna karşın tüm yetmezlikli olgular göz önüne alınarak incelendiğinde; yetmezlikli erkek deneklerde hemolizin yetmezlikli kadın deneklerden daha fazla olduğu görüldü (Tablo 21).

Tablo 21: Yetmezlik gösteren deneklerin hemoliz görülme sıklığı ve cinsiyete göre dağılımı

Cinsiyet	Hemolitik atak				Toplam	%
	Geçiren	%	Geçirmeyen	%		
Erkek	11	20.37	43	79.63	54	100.00
Kadın	0	0.00	50	100.00	50	100.00
Toplam	11	10.58	93	89.42	104	100.00

$$\alpha=0.05 \quad \chi^2=9.35 \quad p < 0.05$$

11 olguda geçirilmiş hemolizin klinik görünümlerinin dağılımı tablo 22 de gösterilmiştir.

Tablo 22: Hemolizin klinik görünümlere göre dağılımı

Hemolizin klinik görünümü	Olgu sayısı	%
Favizm	6	54.55
Kombine şekil (favizm+ilaca bağlı hemoliz)	3	27.27
İlaca bağlı hemoliz	1	9.09
Enfeksiyona bağlı hemoliz	1	9.09
T o p l a m	11	100.00

11 olgudan 9 unda favizme rastlandı. Favizm istatistiksel olarak önemli bulundu (Tablo 23).

Tablo 23: Klinik görünüm olarak favizm:

Favizm	Olgu sayısı	%
Geçiren olgular	9	81.82
Geçirmeyen olgular	2	18.18
T o p l a m	11	100.00

$\alpha=0.05$ $\chi^2=4.455$ $p<0.05$

Tablo 22 ve tablo 23 ün sonuçlarına göre hemolizin klinik görünümleri içinde en sık favizme, daha sonra sırasıyla kombine şekle (favizm+ ilaca bağlı hemoliz) ve ilaç ve enfeksiyona bağlı hemolize rastlandı.

B- KANTİTATİF ÖLÇÜMLERE AİT VERİLER

Floresan spot test ile G6PD yetmezliği saptanan Antalya kökenli 70 olguya ait veriler tablo 24 de toplu halde gösterilmiştir.

Tablo 24: G6PD yetmezlikli deneklere ait değerler (olgular G6PD aktivite-
lerine göre sıralanmıştır)

Denek sıra no	Seks	Yaş	Aile kökeni	Hemolizin klinik görünümü	G6PD aktivitesi IU/gr Hb
1	K	0	Antalya		0.00
2	E	2	Serik		0.00
3	E	4	Serik		0.00
4	E	5	Antalya		0.00
5	E	9	Antalya	Favizm	0.00
6	E	10	Antalya	Favizm+İlaca bağlı hemoliz	0.00
7	E	10	Antalya	Favizm	0.00
8	E	11	Antalya		0.00
9	E	14	Alanya	Favizm	0.00
10	K	23	Antalya		0.00
11	E	38	Antalya		0.00
12	E	11	Antalya	Favizm	0.03
13	E	46	Antalya		0.03
14	E	9	Antalya	Enfeksiyona bağlı hemoliz	0.04
15	E	7	Serik		0.06
16	E	10	Antalya	İlaca bağlı hemoliz	0.07
17	E	44	Antalya		0.07
18	E	0	Serik		0.09
19	K	31	Antalya		0.12
20	K	23	Antalya		0.16
21	E	25	Antalya	Favizm	0.18
22	K	28	Serik		0.18
23	E	10	Serik	Favizm+İlaca bağlı hemoliz	0.19
24	K	0	Antalya		0.21
25	E	55	Antalya		0.21
26	E	5	Antalya		0.23
27	E	25	Antalya		0.23
28	E	30	Korkuteli		0.23

29	E	11	Antalya		0.25
30	E	3	Elmalı		0.29
31	E	3	Antalya		0.29
32	E	3	Antalya		0.32
33	E	27	Korkuteli		0.32
34	E	29	Finike		0.36
35	E	14	Serik	Favizm+İlaca bağlı hemoliz	0.38
36	E	28	Korkuteli		0.39
37	E	6	Elmalı		0.40
38	K	6	Antalya		0.40
39	K	61	Korkuteli		0.40
40	E	32	Finike		0.45
41	K	54	Korkuteli		0.47
42	E	5	Serik	Favizm	0.48
43	K	30	Elmalı		1.74
44	K	38	Serik		1.88
45	K	7	Serik		2.08
46	K	31	Serik		2.21
47	K	31	Antalya		2.56
48	K	34	Antalya		2.68
49	K	50	Antalya		2.74
50	K	3	Antalya		2.78
51	K	43	Antalya		2.85
52	K	33	Serik		2.86
53	K	31	Antalya		2.99
54	K	0	Korkuteli		3.05
55	K	50	Antalya		3.10
56	K	42	Antalya		3.12
57	K	64	Antalya		3.17
58	K	38	Korkuteli		3.18
59	K	7	Antalya		3.20
60	K	14	Antalya		3.38
61	K	12	Korkuteli		3.45
62	K	60	Finike		3.56
63	K	14	Korkuteli		3.59
64	K	19	Antalya		3.74
65	K	54	Korkuteli		3.80
66	K	5	Antalya		3.86
67	K	27	Antalya		3.89
68	K	21	Antalya		4.18
69	K	35	Antalya		4.19
70	K	21	Serik		4.27
Ort	±	SD			(*)

(*) G6PD aktivitelerine ait Ort[±]SD değerleri tablo 26 da verilmiştir.

Not: Denek sıra no 1-42 arasında olanlar tam yetmezlikli, 43-70 arasında olanlar ara şekil gösteren olgulardır.

Floresan spot test ile G6PD aktivitesi normal bulunan zorunlu heterozigot 10 kadına ait veriler tablo 25 de toplu halde gösterilmiştir.

Tablo 25: Floresan spot test ile normal aktivite gösteren zorunlu heterozigot deneklere ait değerler

Denek sıra no	Seks	Yaş	Aile kökeni	G6PD aktivitesi IU/gr Hb
1	K	22	Antalya	4.70
2	K	60	Antalya	5.13
3	K	19	Antalya	5.36
4	K	65	Antalya	5.55
5	K	23	Antalya	5.90
6	K	30	Antalya	6.22
7	K	24	Antalya	6.59
8	K	23	Antalya	6.73
9	K	29	Antalya	7.02
10	K	35	Antalya	7.08
Ort ± SD				(*)

* G6PD aktivitelerine ait Ort SD değerleri tablo 26 da verilmiştir.

Tablo 26: Yetmezlik gösteren ve zorunlu heterozigot olan deneklerde eritrosit G6PD aktiviteleri Ort \pm SD değerleri

	G6PD Aktivitesi (IU/g Hb)	
	Ort.	SD
Tam yetmezlikli olgular (n=42)	0.179	0.161
	CV	89.944
Ara Şekil gösteren olgular (n=28)	3.146	0.679
	CV	21.583
Zorunlu heterozigot olgular (n=10)	6.028	0.830
	CV	13.769

Floresan spot test ile tam yetmezlikli bulunan 33 erkek ve 9 kadına ait G6PD aktiviteleri 0.00 IU/g Hb ile 0.48 IU/g Hb arasında (Tablo 24), ortalama 0.179 ± 0.161 IU/g Hb olarak bulundu (Tablo 26).

Floresan spot test ile ara Şekil gösteren 28 kadına ait G6PD aktiviteleri 1.74 IU/g Hb ile 4.27 IU/g Hb arasında (Tablo 24), ortalama 3.146 ± 0.679 IU/g Hb olarak bulundu (Tablo 26).

Floresan spot test ile normal aktivite gösteren 10 zorunlu heterozigot kadına ait G6PD aktiviteleri 4.70 IU/g Hb ile 7.08 IU/g Hb arasında (Tablo 25), ortalama 6.028 ± 0.830 IU/g Hb olarak bulundu (Tablo 26).

Bu sonuçlara göre floresan spot test ile tam yetmezlik gösteren olguların tümü, ara Şekil gösteren olgulardan G6PD aktiviteleri 1.74 IU/g Hb ile 4.27 IU/g Hb arasında olanlar yakalanabildi.

G6PD yetmezliği saptanan 70 olgunun ortalama eritrosit enzim aktivitesi ve aile kökenine göre dağılımı tablo 27 de gösterilmiştir.

Tablo 27: Yetmezlikli deneklerin eritrosit G6PD aktiviteleri Ort \pm SD değerleri ve aile kökenine göre dağılımı

Aile kökeni	G6PD aktivitesi (IU/g Hb)
Merkez ilçe	
Tam yetmezlikli olgular (n=24)	Ort. 0.118 SD 0.124 CV 105.085
Ara şekil gösteren olgular (n=16)	Ort. 3.277 SD 0.537 CV 16.387
Diğer ilçeler	
Tam yetmezlikli olgular (n=18)	Ort. 0.261 SD 0.171 CV 65.517
Ara şekil gösteren olgular (n=12)	Ort. 2.973 SD 0.824 CV 27.716

Aile kökeni merkez ilçe olan tam yetmezlikli 24 denekte ortalama enzim aktivitesi 0.118 ± 0.124 IU/g Hb olarak bulundu (Tablo 27).

Aile kökeni diğer ilçeler olan tam yetmezlikli 18 denekte ortalama enzim aktivitesi 0.261 ± 0.171 IU/g Hb olarak bulundu (Tablo 27).

Aile kökeni merkez ilçe olan tam yetmezlikli olguların ortalama enzim aktivitesi, aile kökeni diğer ilçeler olan tam yetmezlikli olguların ortalama enzim aktivitesinden daha düşüktü ve aralarındaki fark istatistiksel olarak önemli bulundu (Tablo 28).

Tablo 28: Tam yetmezlik gösteren deneklerin aile kökeni ve ortalama eritrosit G6PD aktivitesine göre dağılımı

	G6PD aktivitesi (IU/gr Hb)	
	Merkez ilçe	Diğer ilçeler
Ort.	0.118	0.261
SD	0.124	0.171
n	24	18

$\alpha=0.01$ $t=3.04$ $p<0.01$

Aile kökeni merkez ilçe olan ara şekil gösteren 16 denekte ortalama enzim aktivitesi 3.277 ± 0.537 IU/g Hb olarak bulundu (Tablo 27).

Aile kökeni diğer ilçeler olan ara şekil gösteren 12 denekte ortalama enzim aktivitesi 2.970 ± 0.828 IU/g Hb olarak bulundu (Tablo 27).

Aile kökeni merkez ilçe olan ara şekil gösteren olguların ortalama enzim aktivitesi, aile kökeni diğer ilçeler olan ara şekil gösteren olguların ortalama enzim aktivitesi ile karşılaştırıldığında, aralarında istatistiksel olarak fark bulunmadı (Tablo 29).

Tablo 29: Ara şekil gösteren deneklerin aile kökenine ve ortalama eritrosit G6PD aktivitesine göre dağılımı

	G6PD aktivitesi (IU/gr Hb)	
	Merkez ilçe	Diğer ilçeler
Ort.	3.277	2.973
SD	0.537	0.824
n	16	12

$\alpha = 0.05$ $t = 1.11$ $p > 0.05$

Floresan spot test ile tam yetmezlikli bulunan 42 olgunun eritrosit enzim aktivitesi ve oksidan faktörlerin neden olduğu hemolizin görülme durumuna göre dağılımı tablo 30 da gösterilmiştir.

Tablo 30: Tam yetmezlikli deneklerin eritrosit G6PD aktiviteleri Ort \pm SD değerleri ve hemoliz görülme durumuna göre dağılımı

	G6PD Aktivitesi (IU/g Hb)	
	Ort.	SD
Hemoliz görülen olgular (n=11)	0.125	0.167
	CV	133.600
Hemoliz görülmeyen olgular (n=31)	0.199	0.156
	CV	78.392

$\alpha = 0.05$ $t = 1.30$ $p > 0.05$

Hemoliz görülen tam yetmezlikli 11 denekte ortalama enzim aktivitesi 0.125 ± 0.167 IU/g Hb olarak bulundu (Tablo 30).

Hemoliz görülmeyen tam yetmezlikli 31 denekte ortalama enzim aktivitesi 0.199 ± 0.156 IU/g Hb olarak bulundu (Tablo 30).

Hemoliz görülen tam yetmezlikli olguların ortalama enzim aktivitesi, hemoliz görülmeyen tam yetmezlikli olguların ortalama enzim aktivitesi ile karşılaştırıldığında, aralarında istatistiksel olarak fark bulunmadı (Tablo 30).

Floresan spot test ile tam yetmezlikli bulunan 42 olgunun eritrosit enzim aktivitesi ve cinsiyete göre dağılımı tablo 31 de gösterilmiştir.

Tablo 31: Tam yetmezlikli deneklerin eritrosit G6PD aktiviteleri Ort \pm SD değerleri ve cinsiyete göre dağılımı

	G6PD Aktivitesi (IU/g Hb)	
Erkek olgular (n=33)	Ort.	0.169
	SD	0.158
	CV	93.491
Kadın olgular (n=9)	Ort.	0.216
	SD	0.173
	CV	80.093

$\alpha = 0.05$ $z = 0.630$ $p > 0.05$

Tam yetmezlikli 33 erkekte ortalama enzim aktivitesi 0.169 ± 0.158 IU/g Hb olarak bulundu (Tablo 31).

Tam yetmezlikli 9 kadında ortalama enzim aktivitesi 0.216 ± 0.173

IU/g Hb olarak bulundu (Tablo 31).

Tam yetmezlikli erkeklerin ortalama enzim aktivitesi, tam yetmezlikli kadınların ortalama enzim aktivitesi ile karşılaştırıldığında, aralarında istatistiksel olarak fark bulunmadı (Tablo 31).

T A R T I Ş M A

Birçok toplumda önemli bir sağlık sorunu olan G6PD yetmezliğinin tanısı için çeşitli tarama testleri geliştirilmiştir. Biz Antalya il merkezi ve köylerinde G6ED yetmezliği prevalansını saptamak için Beutler'in⁸¹ floresan spot testini kullandık. Bu test için kan örnekleri EDTA, heparin, ASD (asit-sitrat-dekstroz) ve AFD (asit-fosfat-dekstroz) gibi antikoagulanlar ile alınabilir⁸⁷. Fakat biz tarama için kan örneği alınmasında ve bu örneklerin laboratuvara naklinde kolaylığı nedeniyle filtre kağıtlarını (Whatman No 1) tercih ettik^{87,88,89}. Parmak ucundan filtre kağıtlarına emdirilen kan örneklerinin plastik, kapaklı küçük tüpler içinde ve aşı nakil kutusunda test edilinceye kadar saklanması, kuruyan bu kan örneklerinde sıcaklığa bağlı enzim inaktivasyonunu minimuma indirerek yalancı (+) sonuçların çıkmasını engelledi⁸⁹.

Kitle taramasında floresan spot testi tercih etmemizin nedenleri

gunlardır:

1- Ekonomiktir. Bugünkü fiatlarla 500 teste yetecek kadar reaksiyon karışımının maliyeti otuz bin TL civarındadır.

2- Uygulaması basit olup, kısa sürede sonuç verir^{5,68}.

3- Reaksiyon karışımı uzun süre stabil kalır (-20°C da yaklaşık 3 ay)⁸¹.

4- Beklemiş kan örnekleri ile çalışılabilir. Antikoagülan kullanılarak alınan kan örneklerinin +4°C da 21 gün veya 25°C da 5 gün süreyle saklandığı takdirde herhangi bir aktivite kaybına uğramadığı ileri sürülmüştür⁸⁷. Kurutulmuş kan örneklerinde ise enzimin +4°C da 5-40 gün stabil kaldığı bildirilmiştir⁸⁹. Lowe ve arkadaşları⁹¹ heparinize tam kan örneklerinin 30°C da 8 gün stabilitesini koruduğunu, Solem ve arkadaşları⁸⁹, kurutulmuş kan örneklerinde saklama koşullarına dikkat edilmeden ancak 3-4 hafta sonra % 10 oranında yalancı (+) sonuç bulunabileceğini belirtmişlerdir. Bu çelişkili veriler karşısında biz kurutulmuş kan örneklerini, örneğin alınışından itibaren en geç sekiz saat içinde değerlendirdik ve normal enzim aktivitesinin +4°C da en fazla beşinci güne kadar korunduğunu gözledik.

5- Anemi ve hemoglobinin baskılayıcı etkisine karşı büyük ölçüde kendini düzeltebilir. Floresan spot testin tam kan veya kurutulmuş kan örnekleri ile yapılması, NADPH ın verdiği floresans şiddetinin hemoglobin tarafından bir miktar baskılanmasına neden olur. Ancak bu yöntemde, NADPH ın verdiği floresansı aktive etmek için kullanılan U.V. dalga boyunun hemoglobinin maksimum absorpsiyon bandının (Soret bölgesi) altında kalması ve reaksiyon karışımının filtre kağıtlarına damlatılması ile bir miktar hemoglobinin NADPH dan kromatografik olarak ayrışması, hemoglobinin baskılayıcı etkisini azaltır^{5,81}.

Anemik örneklerde, enzim miktarındaki azalmaya bağlı olarak a-

çığa çıkan NADPH miktarı da azalacaktır. Ancak örneğin hemoglobin içeriğinin de aynı oranda azalmış olması ile bu durum dengelenir ve gözlenen floresans şiddetinde önemli bir değişiklik olmaz^{5,81}.

Esen⁵ çalışmasında 500 yenidoğana ait kordon kanının hemoglobin düzeylerinin % 10 g ile % 20.8 g arasında değişmesine karşın, test sonuçlarında belirgin bir enterferans gözlememiştir.

6- Test sonuçları kantitatif aktivite ölçümleri ile iyi korelasyon gösterir. Sıfır, beş ve onuncu dakika spotlarında gözlenen floresans şiddetinin enzim aktivitesine bağımlı ve göreceli olarak değişmesi, sonuçların semikantitatif değerlendirilmesine olanak verir^{5,92}. Böylece tam yetmezlik, ara şekil, normal ve artmış aktivite gösteren olgular spot test ile ayırdedilebilir^{5,51}.

D.S.Ö. kantitatif aktivitesi normalin % 25 inden az bulunan olguların (-), % 25-65 arasında bulunanların (\pm), 65-150 arasında bulunanların (+) ve % 150 nin üzerindekiilerin (++) şeklinde değerlendirilmesini önermektedir¹⁴. Yapılan çalışmalar, floresan spot test sonuçlarının kantitatif test sonuçları ile çok iyi korelasyon gösterdiğini ve D.S.Ö. tarafından önerilen değerlendirmenin spot test sonuçlarına da uygulanabileceğini göstermiştir^{5,51,60,61}.

7- Çok az miktarda kan örnekleri ile çalışılabilir. Floresan spot testte kullanılan tam kan örneğinin hacmi sadece 20 mikrolitredir^{5,81}. Bu özellikle kitle taramaları ve yenidoğanlar üzerinde büyük avantaj sağlar⁸⁰. Test için filtre kağıtlarına emdirilerek kurutulmuş kan örneklerinin de kullanılabilmesi kitlelerin daha kolay taranabilmesine olanak verir^{89,93,94}.

Bütün bu avantajlarına karşın floresan spot testin G6PD yetmezliğinin tanısında iki önemli dezavantajı vardır. Birincisi heterozigotların, ikincisi ise yakın zaman içinde hemolitik atak geçirmiş ve reti-

külosit cevabı henüz yatışmamış olan olguların tanısıdır^{5,81,89}. İkinci sorun özellikle G6 A⁻, varyantında önem kazanır^{23,43,70,87}. Bu varyantta genç eritrositlerin aktivitesi normaldir. Hemolitik olay dolaşımdaki aktivitesi azalmış yaşlı eritrositleri elimine eder^{1,5}. Retikülosit cevabı ile ortalama eritrosit yaşının azalması, aktivitenin normal hatta normaldin yüksek bulunmasına neden olabilir^{1,5}. Ancak Gd B⁻ varyantında hemoliz sonrası en genç hücrede bile aktivite çok düşük olduğundan, yetmezliğin tanısında genellikle floresan spot test yeterlidir^{5,30,44}.

Heterozigot yetmezlik gösteren olgularda değişik oranlarda iki farklı hücre topluluğu vardır. Liyonizasyonun rastgele oluşu nedeniyle yetmezlikli ve normal hücreler arasındaki oran % 0 ile % 100 arasında herhangi bir değerde olabilir^{1,9,45}. Böylece heterozigot bir birey tamamen normal veya yetmezlikli bulunabilir. Bu nedenle heterozigot olgular tarama testlerinde ve hatta kantitatif yöntemlerde dahi kolaylıkla gözden kaçabilir^{7,50,51,81,87}.

Beutler ve Smith^{81,102}, hemolizat kullanılan yöntemlerde heterozigotları yakalamanın güç olduğunu, buna karşılık intakt eritrositlerle yapılan methemoglobin elüsyon¹⁰³ ve G6PD tetrazolyum sitokimyasal yöntemleri⁸² ile her hücrede enzim aktivitesini incelemenin mümkün olabileceğini ileri sürmüşlerdir.

Fairbanks ve arkadaşları^{46,82} yetmezlikli ve normal erkeklerin kanlarını belirli oranlarda karıştırarak in vitro heterozigot kan örnekleri hazırlamışlardır. Bu örneklerde methemoglobin elüsyon ve G6PD tetrazolyum sitokimyasal yöntemleri ile çalışmalar yapmışlar ve bu yöntemlerin % 2-5 oranında yetmezlikli hücre içeren heterozigotları yakalayabilecek duyarlılıkta olduğunu ileri sürmüşlerdir^{46,82}. Buna karşılık floresan spot testte heterozigotları yakalayabilmek için, bu karışımın en az % 60 oranında yetmezlikli eritrosit içermesi gerektiğini bildirmişlerdir^{46,82}.

Ancak bu araştırmacıların floresan spot testin duyarlılığını Gd A⁻ varyantına ait eritrositlerde incelemeleri gözden kaşmaması gereken bir noktadır. Bilindiği gibi Gd^{Akdeniz} varyantında yetmezlikli eritrositlerin enzim aktiviteleri, Gd A⁻ varyantındaki yetmezlikli eritrositlerin enzim aktivitelerinden çok daha düşüktür¹. Sanna ve arkadaşları⁴⁷, heterozigotlarda yetmezlikli hücre yüzdesinin enzim aktivitesi ile önemli derecede korelasyon gösterdiğini vurgulamışlardır. Buna göre Gd^{Akdeniz} varyantında, Gd A⁻ varyantına oranla yetmezlikli eritrosit yüzdesi daha düşük heterozigotların floresan spot test ile yakalanabilmesi doğaldır.

Bu çalışmanın esas olarak Antalya il merkezi ve köylerinde G6PD yetmezliği prevalansının belirlenmesi amacına yönelik olması nedeniyle, örneğimizde normal enzim aktivitesi değerini saptamadık. Bu nedenle normalin yüzdesi olarak ifade edemediğimiz tam yetmezlik ve ara şekil gösteren olgularımızı, D.S.Ö. nün¹⁴ önerdiği ve floresan spot test ile uyum gösteren yüzdelere karşılaştıramadık. Bununla beraber çalışmamızda floresan spot testin duyarlılığını şu şekilde yorumlayabiliriz: Kantitatif ölçümler sonunda aktiviteleri 0.00 IU/g Hb ile 0.48 IU/g Hb arasındaki olguları tam yetmezlik, aktiviteleri 1.74 IU/g Hb ile 4.27 IU/g Hb arasındaki olguları ara şekil olarak saptadık. Yani aktiviteleri 4.27 IU/g Hb den düşük olgularda yalancı (-) sonuç gözlemedik. Esen⁵ floresan spot test ile yetmezlikli hücre yüzdesi en az % 45 olan yenidoğan heterozigotları yakalayabilmiştir. Biz yenidoğan dışındaki yaş gruplarını kapsayan deneklerde floresan spot test ile yakalayabildiğimiz en düşük aktivite gösteren heterozigot olguda bulduğumuz değerin, büyük olasılıkla normal enzim aktivitesinin % 45 inden daha düşük olduğu kanısındayız.

X kromozomuna bağlı kalıtılan karakterler için, hemizigot yetmezlikli erkek yüzdesi bilinen bir popülasyonda bulunması gereken (beklenen) heterozigot yüzdesi Hardy-Weinberg eğitliğinden hesaplanabilir¹:

$$p^2 + 2pq + q^2 = 1 \text{ (Hardy-Weinberg eşitliği)}$$

q = hemizigot yetmezlikli erkek yüzdesi

p = hemizigot normal erkek yüzdesi

p^2 = homozigot normal kadın yüzdesi

2pq = heterozigot yetmezlikli kadın yüzdesi

q^2 = homozigot yetmezlikli kadın yüzdesi

İncelediğimiz popülasyonda bu eşitliğe göre:

- a) Beklenen heterozigot yüzdesi: $p=0.9258$, $q=0.0742$, $2pq=0.1374=$
% 13.74
- b) Bulunan heterozigot yüzdesi: $36/793=$ % 4.54
- c) Yakalanan heterozigot yüzdesi: $4.54/13.74 =$ % 33.02

Eğer beklenen heterozigotların hepsini floresan spot test ile yakalamış olsaydık, Antalya il merkezi ve köylerinde G6PD yetmezliği prevalansı % 11.64 olarak karşımıza çıkacaktı. Fakat floresan spot test ile prevalansı % 6.84 olarak bulmamız, toplum taramasında heterozigotların yakalanmasında floresan spot testin yetersiz kaldığını gösterir. Bu nedenle bir toplumda G6PD yetmezliğinin prevalansının belirlenmesinde sadece erkek deneklerin taranması ve prevalans değeri olarak da sadece hemizigot yetmezlikli erkeklerin yüzdesinin verilmesi daha doğru olacaktır.

Floresan spot test ile yakaladığımız heterozigot olgulara ait en yüksek enzim aktivitesinin 4.27 IU/g Hb bulunması yakalayamadığımız heterozigotların enzim aktivitelerinin büyük olasılıkla daha yüksek olduğunu ve normal fenotipe kaydığını düşündürür. Yetmezlikli erkek çocuğa sahip olduğu halde kendisi floresan spot test ile normal aktivite gösteren 10 zorunlu heterozigot kadında enzim aktivitelerinin 4.70 IU/g Hb ile 7.08 IU/g Hb arasında bulunması bu düşüncemizi destekler.

Esen⁵ 500 kordon kanında yaptığı taramada beklenen heterozigotların % 25 ini yakalayabilmiştir. Yenidoğanlarda eritrosit yaşam süresinin erişkinlerden daha kısa olması^{5,105,106} ve bu özelliğin G6PD yetmezliği ile birleşmesi yenidoğan heterozigotlarda yetmezlikli eritrosit yüzdesinde azalma ve dolayısıyla ortalama enzim aktivitesinde bir artışla sonuçlanır^{5,47}. Böylece yenidoğan heterozigotlar normal fenotipe kayarlar ve erişkinlere oranla daha fazla yalancı (-) sonuç verirler. Yenidoğan heterozigotların tamsındaki bu güçlük, Esen'in⁵ bize göre daha düşük oranda heterozigot yakalayabilmesine neden olmuştur.

Beutler⁸¹ sık aralıklarla alınan spotların incelenmesi ile heterozigotların yaklaşık % 60 ının yakalanabileceğini bildirmiştir.

Solem ve arkadaşları⁸⁹ floresan spot test ile % 42 oranında yakaladıkları heterozigotları, aynı testte reaksiyon karışımına maleimid (PGD inaktive eder) ekleyerek ve kan örneği toplamadan önce filtre kağıtlarını amonyum sülfat solüsyonu ile satüre ederek % 70 oranında yakalamışlardır. Yine aynı araştırmacılar¹⁰⁴ gravimetrik yöntemle elde ettikleri yaşlı eritrositlerden hazırladıkları hemolizatlara otomatik sistemde 0.5-1.0 dakika enkübe ettikten sonra G6PD aktivitesini ölçmüşler ve beklenen heterozigotları % 97 oranında yakalamışlardır.

Yüksek heterozigot yakalama yüzdelerinin bildirildiği bu çalışmalarda kullanılan yöntemleri, kendi çalışmamızda uygulamadık, çünkü bu çalışmalar küçük gruplar üzerinde yapılmış olup kitle taramalarında kullanışlılığı başka araştırmacılar tarafından desteklenmemiştir. Bu nedenle gerek kitle taramasında gerekse kantitatif enzim aktivitesi ölçümünde D.S.Ö.¹⁴ tarafından standardize edilmiş klasik yöntemlere bağlı kaldık.

Değişik yaş gruplarından olgular üzerinde çalışan Hamamy ve Saeed¹⁰⁷, heterozigotların % 35 ini yakalayabildiklerini ve bu oranın, klinik olarak risk altında bulunan heterozigot yüzdesine çok yakın olduğunu bil-

dirmişlerdir. Enzim aktiviteleri normalin % 30 undan düşük bulunan olguların, klinik olarak risk altında olduğu kabul edilmektedir^{1,5,14,50}. Esen⁵ kordon kanında enzim aktivitesi, ortalama olarak normalin % 49 u civarında olan olguları yakalayabilmiş ve bu nedenle floresan spot testin yetmezlikli erkeklerde olduğu kadar klinik olarak risk altında bulunan heterozigotların tanısında da değerli bir test olabileceğini ileri sürmüştür.

D.S.Ö.nün normal enzim aktivitesi olarak kabul ettiği değer 37°C da 12.1 ± 2.09 IU/g Hb dir^{3,44}. Bu değer 30°C a düzeltildiğinde¹²³ 8.83 ± 1.53 IU/g Hb olur. Buna göre klinik olarak risk altında bulunan gruplarda G6PD kantitatif aktivitesinin 2.65 ± 0.46 IU/g Hb in altında olması gerekir. Çalışmamızda kantitatif aktiviteleri 0.00 IU/g Hb ile 0.48 IU/g Hb arasında bulunan tam yetmezlikli olguları ve kantitatif aktiviteleri 1.74 IU/g Hb ile 4.27 IU/g Hb arasında bulunan heterozigotları floresan spot test ile yakaladık. Bu durumda D.S.Ö.nün normal kabul ettiği değere göre klinik olarak risk taşıyan tam yetmezlikli ve heterozigot olgular çalışmamızda da floresan spot test ile yakalanabilmiştir.

İncelediğimiz 728 erkeğin hiçbirinde (\pm) sonuç gözlenmedi. Yüreğir ve arkadaşları⁶¹, floresan spot test ile bir erkekte (\pm) sonuca rastladıklarını ve bu olgunun elektroforetik olarak Gd B⁺ ile aynı mobiliteye sahip olduğunu bildirmişlerdir. Yine Yüreğir ve İsbir^{59,60}, Çukurova'nın çeşitli yörelerinde yaptıkları taramada erkeklerin % 3.8 inde (\pm) sonuç bulduklarını bildirmişlerdir. Daha sonra Aksoy ve arkadaşları⁵⁹, normal enzim aktivitesi gösteren bu olguları, elektroforetik mobilitelerinin yavaşlığı ve verdikleri bifazik optimum pH eğrisi nedeni ile normal enzimden farklı, yeni bir varyant olarak tanımlamışlardır (G6PD Balcali).

Tablo 32 de bizim ve floresan spot test ile tarama yapmış bazı araştırmacıların bulguları ve bu bulgulara dayanarak Hardy-Weinberg e-

şitliğine göre hesapladığımız beklenen ve yakalanan heterozigot yüzdeleri verilmiştir.

Araştırmamızda ve Esen'in çalışmasında⁵ hiçbir olguda (++) floresans gözlenmemesine karşın, Yüreğir ve arkadaşları⁶¹, iki olguda (++) floresansa rastladıklarını ve bu olguların kantitatif enzim aktivitelelerini normalin % 150 sinden fazla bulduklarını bildirmişlerdir. Bu durumu Çukurova'da G6PD enziminin son derece heterojen bulunmasıyla açıklamışlardır⁶¹.

Araştırmada Antalya il merkezi ve köylerinde prevalansını % 6.84 olarak saptadığımız G6PD yetmezliğinin cinsiyete göre dağılımı incelendiğinde, prevalans erkekler arasında % 7.42 ve kadınlar arasında % 6.31 bulundu. Ara şekle sadece kadınlarda rastlandı. Yetmezlik gösteren erkeklerin hepsi, kadınların % 1.77 si tam yetmezlikli idi. Yöremizde yetmezlik görülme sıklığı her iki sekste birbirine yakındı ($p > 0.05$), fakat tam yetmezlik görülme sıklığı erkeklerde belirgin olarak yüksekti ($p < 0.01$). Bu G6PD yetmezliğinin kalıtımının X e bağlı resesif olması⁴³ nedeniyle beklenen bir durumdur.

Bugüne kadar yöremizde G6PD yetmezliği prevalansına yönelik kapsamlı bir epidemiyolojik çalışma yapılmamıştır. Literatür taramasında Antalya'nın bazı ilçelerinde yaşayan küçük topluluklar üzerinde herhangi bir örnekleme yöntemi uygulanmaksızın yapılmış bazı çalışmalar vardır.

1968 de Aksoy ve arkadaşları⁵⁴, Manavgat, Serik ve Boztepe yöresinde yaşayan 72 erkekte metilen mavisi dekolorizasyon testi ile % 5.4 oranında yetmezlik saptamıştır.

Sipahioğlu, methemoglobin redüksiyon testi ile 1966 da Alanya yöresinde bir etnik grupta % 43⁵⁷; 1967 de yine Alanya yöresinde kadınlar arasında % 31.4-37.5, erkekler arasında % 25.3¹⁰; 1976 da aynı yörede % 20^{11,58} oranında yetmezlik bulunduğunu yayınlamıştır.

Tablo 32: Bu çalışma ve diğer çalışmalarda bulunan floresan spot test sonuçları:

Kaynak	İncelenen olgular		Spot test sonucu			Heterozigot(%)		
			(+)	(±)	(-)	Bulunan	Beklenen	Yakalanan
Bu çalışma	Erkek	728	674	0	54			
	Kadın	793	743	36	14	4.5	13.7	33.
	Toplam	1521	1417	36	68			
5 Esen	Erkek	264	257	0	7			
	Kadın	236	231	3	2	1.3	5.2	25.
	Toplam	500	488	3	9			
60 Yüreğir ve İsbir	Erkek	771	706	29	36			
	Kadın	1224	1125	63	36	5.2	15.4	34
	Toplam	1995	1831	92	72			
Milbauer ve ark. ¹²⁷	Erkek	3847	3582	0	265			
	Kadın	3597	3502	52	43	1.4	12.8	11.
	Toplam	7444	7084	52	308			
Aksu ve Yanarates ⁹²	Erkek	463	461	0	2			
	Kadın	287	287	0	0	0.0	0.53	0.
	Toplam	750	748	0	2			
Dow 88 ve ark.	Erkek	140	127	0	13			
	Kadın	135	133	0	2	0.0	16.9	0.
	Toplam	275	260	0	15			
Hamamy 107 ve Saeed	Erkek	305	267	0	38			
	Kadın	394	359	?	?	7.4*	21.1*	35*
	Toplam	699	629	?	?			

* Yazarların kendi bulgularıdır. Diğerleri verilen floresan test sonuçlarına göre tarafımızdan hesaplanmıştır.

Esen⁵, Mayıs 1985-Eylül 1985 tarihleri arasında Antalya Doğumevi, Fakülte Hastanesi ve SSK hastanesindeki yenidoğanlardan alınan 500 kordon kanında G6PD yetmezliğini erkeklerde % 2.65, kadınlarda % 2.12 ve tümünde % 2.40 bulmuştur. Taramada aynı yöntemi kullanmamıza rağmen bu fark büyük olasılıkla şu nedenlere bağlı olabilir:

1- Araştırmamız Antalya il merkezinden seçilen ailelerdeki tüm bireylerde yapılmıştır. Buna karşılık Esen⁵ çalışmasında Antalya'ya temsil edecek bir örnek seçmemiş ve ailelerin sadece bir bireyinde (yenidoğanda) enzim aktivitesini değerlendirmiştir.

2- Yenidoğanlarda enzim aktivitesinin erişkinlerden daha yüksek olması^{1,5,29,30,34} nedeniyle heterozigot olguların normal fenotipe kayması sonucu Esen'in çalışmasında G6PD yetmezliği oranı bizim bulduğumuz prevalansdan daha düşük bulunmuştur.

Bugüne kadar Türkiye'nin çeşitli yerlerinde olasılıklı örnek seçim tekniklerine başvurmadan yapılan araştırmalar yetmezliğin en sık Çukurova bölgesinde olduğu kanısını uyandırabilir. Bu yörede Arapça konuşan Eti Türklerinde yetmezliğin sıklığı % 8.1-11.4 arasında bulunmuştur^{51,56,59,60,95}. Türkmen, Ermeni, Çerkez, Gürcü ve yerli halktan oluşan topluluklarda ise % 0.5 ile % 3.7 arasında değişen sıklıkta bulunmuştur^{51,60,95}. Yüreğir ve İsbir^{59,60}'in 1984 de Çukurova'nın dört farklı bölgesinde yaptığı araştırmada erkekler arasında % 8.4 oranında yetmezlik saptanmıştır. Yüreğir⁶⁰, Say⁵⁶ ve Akoğlu⁹⁵ Eti Türklerinde yüksek Hb S sıklığını da vurgulamıştır. Hb S ve G6PD genleri farklı kromozomlar üzerinde kalıtılmakla beraber, birçok araştırmacı G6PD yetmezliği ile orak hücreli aneminin organizmaya yaşama şansı vermek için birarada bulunduğu görüşündedir^{64,96,97,98}.

Çukurova, Türkiye'nin birinci derecede sıtma bölgesi içinde bulunmaktadır^{56,59}. G6PD yetmezlikli bireylerde sıtma enfestasyonuna kar-

şı koruyucu fenomenin, etkenin plazmodyum falsiparum olduğu durumlarda meydana geldiği bildirilmiştir^{12,62,64,78,99}. Buna karşın Türkiye'deki sıtma enfestasyonlarından daha çok plazmodyum vivaks sorumludur. Akoğlu ve arkadaşları¹⁰⁰ G6PD yetmezlikli bireylerde plazmodyum vivaks enfestasyonuna karşı da koruyucu etki oluşabileceğini ileri sürmüşlerdir. Tartışmalı yönleri olmakla beraber Çukurova'da G6PD yetmezliğinin yüksek oluşunun nedenleri:

- a- Yörenin birinci derecede sıtma bölgesi içinde olması^{56,59},
- b- Değişik kökenli birçok etnik gruptan meydana gelen heterojen bir popülasyonun yaşaması⁶⁰,
- c- Yüksek Hb S sıklığı bulunması^{56,60,95} olabilir.

Say ve arkadaşları⁵⁶ G6PD yetmezliği sıklığını Kıbrıs Türklerinde % 3.5, Diyarbakır'da Kürtçe konuşan popülasyonda % 1.9, İzmir'de % 0.9, Ankara'da % 0.5, İstanbul'da Yunan, Ermeni ve Yahudi asıllı topluluklarda % 0, Rize'de yine % 0 olarak bulmuşlardır.

Aksoy ve Erdem¹⁰¹ Türkiye'nin çeşitli yörelerinden bireyler arasında % 0.6, Aksu ve Yanarates⁹² Erzurum civarında % 0.3 oranında yetmezlik saptamışlardır.

Bütün bu çalışmalara dayanarak Türkiye'de G6PD yetmezliği prevalansı hakkında kesin bir yargıya varmak mümkün değildir; çünkü ülkenin tümünü veya bölgelerin hepsini ayrı ayrı temsil etebilecek epidemiyolojik çalışmalar yapılmamıştır. Sadece Yüreğir ve İsbir^{59,60} in, Say ve Akoğlu⁹⁵ nun Çukurova'da yaptığı araştırmalar ve bizim Antalya'da yaptığımız bu çalışma yapıldığı evreni temsil edecek şekilde örnek seçilerek uygulanmıştır. Bu nedenle Tablo 33 de bazı Akdeniz ve Orta Doğu ülkelerindeki G6PD yetmezliği dağılımını gösterirken Türkiye'nin Akdeniz Bölgesi için bu çalışmalarda bulunan prevalansı aldık.

Tablo 33: Bazı Akdeniz ve Orta Doğu ülkelerinde G6PD yetmezliğinin dağılımı^{8,14,59,60,61,95}

<u>Ülke adı</u>	<u>G6PD yetmezliği (%)</u>
Cezayir	0-12
Mısır	4
Libya	1
Birleşik Arap Emirlikleri	26.4
Kıbrıs	0-10.6
İran	7-12
Irak	9-15
İsrail'de Musevi olmayan topluluklar	10-60
Suudi Arabistan	0-65
Türkiye (Akdeniz bölgesi ve geneli)	6.84-11.4 1-11.4
Yunanistan	1-32
İtalya	0-35
Yugoslavya	1
Sardunya	17-30
İspanya	0.32-1.53

Taramada yetmezlik ve tam yetmezlik görülme sıklığı 0-14 yaş grubunda diğer yaş gruplarından belirgin olarak yüksek bulundu ($p < 0.05$). Yetmezliğin 0-14 yaş grubunda yüksek bulunması, bu yaş grubundaki tam yetmezlikli erkeklerin sayıca fazla olmasından ($p < 0.01$) kaynaklandı.

Hamamy ve Saeed¹⁰⁷ yaş ile G6PD yetmezliği arasındaki ilişkiyi incelemek için, değişik yaş gruplarından 527 Iraklı'yı floresan spot test ile taramış ve G6PD yetmezliğini 0-10 yaş grubu erkeklerde diğer yaş grup-

larından belirgin olarak yüksek bulmuşlardır. Yazarlar bunu yaş ilerledikçe G6PD yetmezlikli bireylerde yetmezliği tolere edebilecek yeni sistemler gelişebileceğini ileri sürerek açıklamaktadırlar¹⁰⁷. Petrakis ve arkadaşları¹⁰⁸ da San Fransisko'da zenci erkeklerde yaptıkları bir araştırmada G6PD yetmezliğinin 5-20 yaş grubunda diğer yaş gruplarına göre daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Petrakis ve arkadaşları¹⁰⁸ nın bu bulgularını yaş ilerledikçe G6PD yetmezlikli kişilerde mortalitenin artışıyla açıklamaları oldukça şaşırtıcıdır¹⁰⁸. Yine aynı araştırmacılar¹⁰⁹ G6PD yetmezlikli kişilerde sistolik ve diyastolik kan basıncını, nabız hızını ve serum kreatinin düzeylerini G6PD yetmezliği olmayan sağlıklı kişilerden belirgin olarak yüksek bulmuşlar ve bu durumun zamanla böbrek fonksiyonlarını bozabileceğini ileri sürmüşlerdir; Petrakis ve arkadaşları¹⁰⁹ ayrıca G6PD yetmezlikli bireylerde viral ve bakteriyel enfeksiyonların da daha ciddi seyrettiğini bildirmişlerdir.

Oksidan strese erkek çocukların daha duyarlı olması ve çocukluk döneminde oksidan strese bağlı olarak gelişen hemolitik atakların birçok olguda daha ileri yaş dönemlerinde görülmemesi^{5,12,43,74,75}, Hamamy ve Saeed'in¹⁰⁷ görüşlerini destekler gibi görünmektedir. Araş şeklin yaş gruplarına göre değişiklik göstermemesi, bu bireylerde G6PD yetmezliğine karşı tolerans gelişmesine gerek olmadığını düşündürebilir; zira bu olguların çoğunda eritrosit yaşamı ve fonksiyonları için yeterli miktarda enzim vardır.

Araştırmada G6PD yetmezlikli olguların % 80.77 sini teşkil eden Antalya kökenli deneklerde yetmezlik sıklığı % 7.73 bulundu. Yetmezliklilerin % 19.23 ünü meydana getiren Antalya dışından değişik kökenli olgularda ise sıklık % 4.61 idi. Yetmezliğin Antalya kökenli deneklerde diğerlerine göre daha yüksek bulunmasının ($p < 0.05$) nedeni, bu grubun örnekte sayıca daha fazla olmasından kaynaklanabilir. Bu durum hakkında ke-

sin bir yargıya varabilmek için ancak Türkiye'nin çeşitli bölgelerinde benzer araştırmaların yapılması gerekir.

Denekler arasında anne ve babası akraba olanların oranı % 22.02 olarak saptandı. Sadece haneler dikkate alındığı takdirde bu oranın % 20.53 olduğu görüldü. Hacettepe Üniversitesi Nüfus Etütleri Enstitüsü¹¹⁰; nün 1983 yılında Türkiye çapında yaptığı araştırmada akraba evliliği oranı Güney Anadolu'da % 29.36 (kentsel ve kırsal beraber), nüfusu 50.000 den fazla olan yerleşme yerlerinde ise % 19.06 olarak bulunmuştur. Araştırmamız Antalya merkezini kapsadığı için bulduğumuz oran ikinci orana yakındır. Tedavisi olmayan pek çok genetik bozukluğun gelecek nesillere aktarılmasında akraba evliliğinin büyük rolü olduğu bilinen bir gerçektir⁶¹. Çalışmamızda akraba evliliğine rastlanan olgularda G6PD yetmezliği sıklığının (% 11.34), akraba evliliği görülmeyen olgulardan (% 5.56) belirgin olarak yüksek bulunması ($p < 0.01$) bu gerçeğin sadece bir örneğidir. Esen'in⁵ Antalya kökenli 500 denekte yaptığı çalışmada, yine Yüreğir ve İsbir'in⁶⁰ Çukurova'nın çeşitli yörelerinde yaptıkları taramada, G6PD yetmezlikli olgularda akraba evliliğine rastlanma sıklığı normal olgulardan önemli derecede yüksek bulunmuştur.

Yetmezlik gösteren 104 olgunun 11'inin çeşitli oksidan faktörlere bağlı olarak hemoliz geçirdiğini saptadık. Hemoliz geçiren olguların tümünün tam yetmezlikli olması beklenen bir sonuçtu ($p < 0.05$); çünkü klinik olarak risk altında bulunan gruplarda olguların çoğunluğu tam yetmezliklidir^{1,5,14,50}.

Hemoliz geçiren tam yetmezlikli olguların cinsiyete göre dağılımını incelendiğinde kadın ve erkek denekler arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmaması ($p > 0.05$), hemolize sadece erkek olgularda rastlamamızın tesadüfe bağlı olduğunu göstermiştir. Zaten tam yetmezlikli olgular arasında hemoliz geçirilmesi açısından cinsiyet farkı olmaması do-

ğaldır. Ancak hemoliz, tüm yetmezlikli deneklerin cinsiyete göre dağılımını gözönüne alınarak incelendiğinde, arada istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu görüldü ($p < 0.05$). G6PD yetmezliğinin X e bağlı resesif olarak kalıtılması nedeniyle tam yetmezliğin daha sık görüldüğü erkeklerde, hemolize de kadınlardan daha sık rastlanır.

Hemolizin klinik görünümleri içinde en sık favizme rastlandı ($p < 0.05$). İlaça bağlı hemoliz olgularının dördünde etkenin aspirin ve birinde primakin, enfeksiyona bağlı hemoliz olgusunda ise geçirilen enfeksiyonun pnömoni olduğu saptandı. Çalışmamız yeni doğanları kapsamadığı için, yöremizde yenidoğan sarılığı şeklinde ortaya çıkan hemoliz olgularının durumunu bilmiyoruz. Tablo 34 de bu ve bazı çalışmalarda saptanan hemoliz olgularının klinik görünümüne göre dağılımı gösterilmiştir.

Çalışmamızda varyant karakterizasyonu yapılmamış olmakla beraber, Antalya'nın bir Akdeniz şehri olması nedeni ile yakaladığımız olgular Gd Akdeniz varyantına özgün görünmektedir^{5,12,14,30,43,113}. Birçok Akdeniz ülkesinden yapılan yayınlarda^{6,8,75}, G6PD yetmezliğinin en sık rastlanan klinik şeklinin favizm olduğu, ilaca ve enfeksiyona bağlı hemolizin ikinci ve üçüncü sırayı aldığı bildirilmiştir. Çukurova'da yapılan araştırmada⁵¹ hemoliz geçiren 68 yetmezlikli olgunun sadece dördünde (% 5.6) favizm görüldüğü, enfeksiyona ve ilaca bağlı hemolizden sonra üçüncü sırayı aldığı bulunmuştur. Fakat bu çalışma sadece hemolizle hastaneye başvuran olgularda yapılmıştır. Sipahioğlu¹¹⁴ Akdeniz bölgesinde favizm görülme sıklığının (% 10-15) kendi bulgularına göre G6PD yetmezliği sıklığına yakın olduğu kanısındadır. Esen⁵, yetmezlikli olguların % 16.7 sinin ailesinde favizm anamnezi verdiğini bildirmiştir. Bizim çalışmamızda, 104 yetmezlikli olgunun dokuzundan (% 8.65) favizm hikayesi alındı.

Tablo 34 : Bu çalışmada ve diğer çalışmalarda bulunan hemolizli olguların klinik görünümlerine göre dağılımı

Yöre	Bu çalışma		Corrons ve Pujades		Shannon ve Buchanan*		Vergnes ve arkadaşları		D.S.Ö. ⁵¹		Toncheva ve arkadaşları		Schilliro ve arkadaşları		Meloni ve arkadaşları	
	Antalya	Barselona	Dallas	Tulus	Adana	Sofya	Sicilya	Sardunya								
Olgu sayısı (n)	11	6	14	22	68	79	270	948								
Favizm	n 6	5	0	10	4	42	224	923								
	% 54.55	83.33	0.00	45.45	5.88	53.17	82.96	97.36								
İlaça bağlı	n 1	1	3	2	32	11	2	24								
	% 9.09	16.67	21.43	9.09	47.06	13.92	0.74	2.53								
Enfeksiyona bağlı	n 1	1	11	4	18	7	1	1								
	% 9.09	16.67	78.57	18.18	26.47	8.86	0.37	0.11								
Kombine şekil	n 3	3	78.57	18.18	26.47	8.86	0.37	0.11								
	% 27.27	50.00	56.07	81.82	39.09	11.90	1.27	0.37								
Yenidoğan sarılığı	n	n	n	n	n	n	n	n								
	%	%	%	%	%	%	%	%								
Kronik hemolitik anemi	n	n	n	n	n	n	n	n								
	%	%	%	%	%	%	%	%								
Bilinmeyen	n	n	n	n	n	n	n	n								
	%	%	%	%	%	%	%	%								

* Zenci çocuklar üzerinde yapılmıştır.

Favizm anemnezi veren olguların tümünde etken pişirilmiş taze bakla olarak tarif edilmiştir. Esen⁵ de Favizm olgularının hepsinde etkenin pişirilmiş taze bakla olduğunu bildirmiştir. Yöremizde yapılan her iki araştırmada da etkenin çoğunlukla pişirilmiş taze bakla olarak bulunması büyük olasılıkla toplumun beslenme alışkanlığına bağlı olabilir. Meloni ve arkadaşları⁷⁵ Sardunya'daki favizm olgularında etkenin % 94.4 oranında taze bakla olduğunu bulmuşlardır. Kattamis ve arkadaşları⁷⁴ ise Yunanistan'da kurutulmuş bakla yenmesine bağlı favizme daha sık rastlandığını bildirmişlerdir. Her iki araştırmada da^{74,75} annenin bakla yeme- siyle sütle geçiş ve polen inhalasyonu sonucu favizm saptanmamıştır. Schiliro ve arkadaşları⁶, Sicilya'da favizme neden olan etkeni, % 87.8 taze bakla, % 7.6 kurutulmuş bakla, % 3.0 polen inhalasyonu ve % 1.6 an- ne sütü olarak bulmuşlardır. Lattanzio ve arkadaşları⁷⁹, bakla tohumunun gelişimi boyunca, oksidan etkisinden sorumlu olan vizin ve konvizin içe- riğinin önemli derecede değişikliğe uğradığını ve kurutulmuş baklanın ta- ze baklaya oranla bu metabolitleri daha az içerdiğini bulmuşlardır. Heda- yat ve arkadaşları⁷³ ise, baklanın taze olarak veya kurutulmuş olarak yenmesi- nin favizmin kliniğini etkilemediği görüşündedirler.

Araştırmada G6PD kantitatif aktivitesini modifiye Zinkham yönte- mi ile eritrosit hemolizatında ölçtük. Bu yöntemde uygulanan yıkama iş- lemleri Solem ve arkadaşları¹⁰⁴ tarafından eleştirilmiş ve işlemlerin yaşlı eritrositlerin hemolizine yol açarak genç eritrositleri hakim kil- diği; bunun da aktivitenin gerçek değerinden daha yüksek bulunmasına ne- den olduğu belirtilmiştir. Aynı araştırmacılar¹⁰⁴ gravimetrik yöntemle diğer kan bileşenlerini uzaklaştırarak ve eritrositleri yaşlarına göre ayırarak yaşlı eritrositlerde aktivite ölçümü yapılmasını önermişlerdir. Ancak biz olanaklarımız elvermediği için bu yöntemi kullanamadık. Bunun- la beraber santrifügasyon işlemi sırasında dansite gradientine bağlı ola-

rak tüpün alt kısmında toplanan yaşlı eritrositleri 29,44,70,115 almaya özen gösterdik.

Hemoliz işlemi sırasında ortama 2-merkaptoetanol eklenmesi ile enzimin +4°C da 10 gün süreyle inaktivasyondan korunduğu bildirilmiştir¹¹⁷. Bu durum enzimin yarı ömrünün çok kısa olduğu yetmezlikli bireylerin eritrositlerinde¹¹⁶ daha da önem kazanır. Bu nedenle 2-merkaptoetanol içeren stabilize edici solüsyonu kullanarak hazırladığımız hemolizatlarda aktivite ölçümlerini kan örneği alındığı gün tamamladık.

Eritrosit paketini -20°C da dondurup 37°C da hızla çözerek elde ettiğimiz hemolizati bazı araştırmacılar distile su, digitonin ve saponin kullanarak hazırlamışlardır. Fakat eritrositlerde hipotonik şok yaratarak yapılan bu işlem, kısmen membrana bağlı bulunan G6PD ın rezolüsyonu için yetersizdir^{5,118,119}.

Enzim aktivitesini ölçmeden önce hemolizati santrifüj etmedik. Beutler ve arkadaşları¹¹⁸, Marks ve arkadaşları³⁴ hemolizatta stroma bulunmasının enterferansa yol açmadığını bildirmişlerdir. Biz de stroma varlığının enzimin in vivo koşullarına daha uygun olacağı düşüncesi ile santrifügasyondan kaçındık.

Enzim aktivitesi ölçümünde hemolizatin ısısını D.S.Ö.¹²⁰ nün önerdiği ısı derecesi olan 30°C a getirdik. Uluslararası Biyokimya Birliği¹²⁰ 37°C da preenkübasyon sırasında bazı enzim proteinlerinin denatüre olma riskinin bulunması ve sıcak iklime sahip ülkelerde reaksiyon kuvvetlerini 25°C da soğutmanın güçlüğü nedeniyle bu ısı derecelerinde enzim aktivitesi ölçümlerinin yapılmaması gerektiğini bildirmiştir.

Kullandığımız yöntemde (enzyme-uncorrected assay)¹⁴ G6PD aktivitesi ile beraber 6PGD aktivitesi de ölçüldüğü için, G6PD aktivitesi gerçek değerinden % 17-30 kadar yüksek bulunur^{4,5,14,44,50,83}. Fakat G6PD aktivitesinin 6PGD aktivitesine göre düzeltilerek ölçüldüğü (en-

zyme-corrected assays) çeşitli yöntemlerin ^{5,14,44,50,74,83} pahalı ve zaman alıcı olmaları yanında başka sakıncaları da vardır.

G6PD ve 6PGD total aktivitesinin ve tek başına 6PGD aktivitesinin ölçülerek aradaki farktan G6PD aktivitesinin bulunduğu iki aşamalı yöntemde (standart assay)^{5,14,44,50,83}; G6PD yetmezlikli olgularda her iki enzim aktivitesi arasındaki fark çok azalacağı için hata payı artar ^{5,44,50}.

Ticari 6PGD preparatlarının reaksiyon karışımına eklendiği yöntemde (enzyme-linked assay)⁷⁴ reaksiyonunun Lag fazının uzaması hassasiyetin azalmasına neden olur⁵⁰. Ayrıca eklenen 6PGD preparatları tamamen saf olarak elde edilemediği gibi bir miktar G6PD ile kontamine de olabilir^{5,104,121}. Chan⁵⁰ bu yöntemin yüksek aktivite düzeylerinde düşük sonuç verdiğini bildirmiştir.

Maleimid veya 2,3 difosfogliserat ile 6PGD ın inhibisyonuna dayanan yöntemlerde (enzyme-inhibited assays)^{5,26,104,121} G6PD aktivitesi de etkilenebilir.

Chan⁵⁰ bizim pH:8.0 de 21 dakika süre ile yürüttüğümüz reaksiyonun, pH:7.6 da 3.5 dakika yürütülmesi ile 6PGD interferansının minimal olacağını ve G6PD aktivitesinin gerçek değerine yakın bulunacağını bildirmiştir. Solem ve arkadaşları¹⁰⁴ iki aşamalı yöntemin ve maleimid ile 6PGD aktivitesinin inhibisyonuna dayanan yöntemlerin hassas olmadığını bildirmişlerdir. Aynı araştırmacılar en iyi hassasiyeti otomatize sistemde 0.5-1.0 dakikalık preenkübasyondan sonra yapılan G6PD aktivitesi ölçümlerinde bulmuşlar ve bunu preenkübasyon süresinin kısa olması nedeni ile 6PGD enterferansının oluşmasına fırsat kalmadan aktivite ölçümlerinin tamamlanmasına bağlamışlardır¹⁰⁴.

Otomatize sistemlerde yapılan G6PD aktivitesi ölçümleri spektrofotometrik yöntemlerden daha hassastır¹⁰⁴. Ancak en hassas ölçümler flo-

rometrik yöntemlerle elde edilir⁸³. Çünkü florometrik yöntemlerde kullanılan örneğin çok dilue olması (1/5000) hemoglobinin baskılayıcı etkisini ortadan kaldırarak sadece NADPH a ait aktivitenin ölçülmesine olanak verir⁸³. Bizim deney koşullarımızda kullandığımız örneklerin reaksiyon karışımı içindeki son dilüsyonu 1/400 olduğundan hemoglobinin istenmeyen bu etkisi G6PD kantitatif aktivitelerinin göreceli olarak düşük bulunmasına neden olur⁵. Bu durum hemoglobin düzeyi yüksek olan olgularda daha da önemlidir.

Enzim aktivitesini etkileyen diğer bir faktör de aktiviteyi gram hemoglobin başına düşen ünite (IU/g Hb) şeklinde göstermemiz olabilir⁵. Zira eritrosit G6PD aktivitesi hemoglobin konsantrasyonundan çok, eritrosit sayısı ile orantılıdır^{5,14,50,55,83}. D.S.Ö.⁵¹ eritrosit sayımlarının "Counter" ile yapılmasının mümkün olmadığı laboratuvarlarda enzim aktivitesinin gram hemoglobin başına gösterilmesini önermektedir. Bu uygulama aktivitenin demir eksikliği, hipokrom ve mikrositer anemilerde ise yalancı düşük bulunmasına neden olur^{5,50,69,83,122}.

Tablo 36 da araştırmamızda ve bazı çalışmalarda bulunmuş olan G6PD kantitatif aktivitelerinin ortalama değerleri verilmiştir.

Çalışmamızda ortalama enzim aktivitesini hemoliz geçiren olgularda 0.125 ± 0.167 IU/g Hb, hemoliz geçirmeyen olgularda 0.199 ± 0.156 IU/g Hb olarak bulduk. Enzim aktivitesi yönünden hemoliz geçiren ve hemoliz geçirmeyen olgular arasında fark bulamamamız ($p > 0.05$) ve klinik olarak risk taşıyan olgularımızın sadece % 23.4 ünde (11/47) hemolize rastlamamız, oksidan ajanlara bağlı olarak ortaya çıkan hemolizin eritrosit enzim aktivitesi ile ilişkili olmadığını gösterir. Bu fenomenin ortaya çıkışında enzim aktivitesi dışında başka faktörlerin sorumlu olabileceği düşünülmektedir. Gd A⁻ ve Gd^{Akdeniz} varyantlarına ait değişken aktivite gösteren yetmezlikli bireylerde herhangi bir oksidan stresin bulun-

Tablo 36: Bu çalışma ve diğer çalışmalarda bulunan G6PD kantitatif aktivitesine ait ortalama \pm SD değerleri

	Çalışmanın yapıldığı yöre	Tam yetmezlik		Ara şekil	
		IU/g Hb	n	IU/g Hb	n
Bu çalışma	Antalya	0.179 \pm 0.161	42	3.146 \pm 0.679	28
Esen ⁵ (*)	Antalya	(0.184 \pm 0.152) ^{***}	9	(4.830 \pm 0.637) ^{***}	3
D.S.Ö. ⁵¹ (**)	Adana			3.00	22
Solem ve ark ¹⁰⁴	Hessen			(2.839 \pm 1.115) ^{***}	100
Gerli ve ark ¹²³ (**)	Güney İtalya	0.210 \pm 0.181	73	4.950 \pm 2.310	53
Sanna ve ark ⁴⁷	Sardunya	0.120 \pm 0.200	30	2.930 \pm 0.860	50
Sanna ve ark ⁴⁷ (*)	Sardunya	0.300 \pm 0.300	26	3.230 \pm 1.040	20
Roth ve ark ⁶²	Sardunya	0.320 \pm 0.140	3	3.300 \pm 1.390	8
Morelli ve ark ¹²⁴	Cenova	0.170 \pm 0.121	4		
Gaetani ve ark ⁷⁷	Sassari	(0.294 \pm 0.090) ^{***}	8		
Roth ve ark ⁶⁵	New York	(0.701 \pm 0.365) ^{***}	4		
Mir ve ark ¹²⁵	Bingazi	0.100 \pm 0.060	5		
Mir ve ark ¹²⁵ (*)	Bingazi	0.156 \pm 0.030	3		

* Yenidoğanlara ait verilerdir.

** Aktivitenin ölçüğü ısının belirtilmediği verilerdir.

*** Parantez içindeki rakamlar 30°C a düzeltilmiş değerlerdir.

Düzeltilme faktörleri¹¹⁸: 25°C / 37°C = 0.504 30°C / 37°C = 0.730

madığı bazal şartlarda dahi klinik olarak önemsiz, kronik bir hemolizin varlığı hematolojik incelemelerle gösterilmiştir^{1,69,106}. Yetmezlikli eritrositlerin yaşam süresinin kısalığı, bu hücrelerde okside glutasyon ve okside NADP düzeylerinin yüksek bulunmasıyla açıklanabilir^{28,126}. Erişkinlerde bu subklinik hemoliz büyük ölçüde kompanse edilir ve klinik bulgu ortaya çıkmaz¹⁰⁶. Başta yenidoğanlar olmak üzere, çocuklar erişkinlere göre oksidan ajanlara karşı daha duyarlıdır ve bu nedenle akut ve kronik hemolize daha fazla eğilim gösterirler^{5,12,43,47,74,75}. Bizim çalışmamızda da hemoliz geçirdiği saptanan bireylerin hepsi bu fenomeni 10 yaşından önce geçirdiklerini söylemişlerdir.

Hemolizi takiben Gd A⁻ varyantında eritrosit enzim aktivitesi normal hatta normalden yüksek bulunabilir^{1,5}. Gd^{Akdeniz} varyantında ise en genç hücrede bile aktivite çok düşüktür ve klasik tanı yöntemleri ile yetmezlik saptanabilir^{5,30,44}. Gaetani ve arkadaşları⁷⁷ Gd^{Akdeniz} varyantına ait hemolizli olgularda, oksidan ajanlara maruz kalımdan 72 saat sonra enzim aktivitesinin % 14-39 oranında arttığını bulmuşlardır.

Oksidan stresin klinik olarak risk altında bulunan bireylerin bazılarında belirgin hemolize yol açması, buna karşılık çoğunluğunda görülmemesi, günümüzde birçok yönü iyi tanımlanmış olan G6PD yetmezliğinin henüz açıklığa kavuşmamış karanlık bir noktasıdır. Bununla beraber oksidan etkenler karşısında yetmezlikli eritrositlerde gözlenen bu iki farklı durum, oksidan ajanın doğasına, varyant enzimin kinetik özelliklerine, kişiler arasındaki genetik, metabolik ve immünolojik farklılıklara ve çevresel faktörlere bağlanmaktadır^{1,12,43,47,74,75}.

Çalışmamızda tam yetmezlikli erkeklerde 0.169 ± 0.158 IU/g Hb olarak bulduğumuz ortalama enzim aktivitesi ile tam yetmezlikli kadınlarda 0.216 ± 0.173 IU/g Hb olarak bulduğumuz ortalama enzim aktivitesi arasında istatistiksel bir fark bulamadık ($p > 0.05$). Bu durum yöremizde tam

yetmezlik gösteren olgularda enzim aktivitesinin cinsiyete göre değişmediğini gösterir. Esen⁵ de normal ve tam yetmezlikli kız ve erkek yenidoğanların kordon kanı ortalama enzim aktivitesi arasında fark bulmamıştır. Buna karşılık Solem ve arkadaşları¹⁴⁰, normal enzim aktivitesini kadınlarda erkeklerden % 15 oranında yüksek bulduklarını ve bu farklılığın yetmezlikli olgularda da olabileceğini, bu nedenle yeni bir varyant karakterizasyonu yapılırken bu durumun dikkate alınması gerektiğini vurgulamışlardır. Piomelli ve Siniscalco⁶⁹ da kadınlarda enzim aktivitesini erkeklerden yüksek bulmuşlar ancak kadınlarda hematokrit değerlerinin düşük oluşu nedeniyle bir ünite kan başına düşen aktivitenin erkeklerle aynı olduğunu bildirmişlerdir. Yine Yüreğir ve İsbir⁶¹ kadınlarda enzim aktivitesini yüksek bulmuşlardır. Ancak D.S.Ö.¹⁴ ve birçok araştırmacı enzim aktivitesi açısından kadınlar ve erkekler arasında farklılık bulunmadığı konusunda birleşmektedirler^{1,3,5,47,62,77,123}.

Çalışmamızda merkez ilçe kökenli ve tam yetmezlikli olguların ortalama enzim aktivitesini (0.118 ± 0.124 IU/g Hb), aile kökeni Antalya'nın diğer ilçeleri olan tam yetmezlikli olguların ortalama enzim aktivitesinden (0.261 ± 0.171 IU/g Hb) belirgin olarak yüksek bulduk ($p < 0.01$).

Aile kökeni merkez ilçe ve diğer ilçelere ait olan ara şekil gösteren olgularda ortalama eritrosit enzim aktiviteleri (sırasıyla 3.277 ± 0.537 IU/g Hb; 2.973 ± 0.824 IU/g Hb) arasında fark bulamadık ($p > 0.05$).

Merkez ilçe dışındaki ilçelerden ayrıca örnek seçmediğimiz için yetmezlikli deneklere ait enzim aktivitesi ve aile kökeni arasındaki ilişki hakkında kesin bir yargıya varamadık. Bu bulgu diğer bulgularla birlikte bizi şu sonuçlara götürmektedir:

Yöremizde G6PD yetmezliği prevalansını % 6.84 olarak bulmamız, bu kalıtsal ve metabolik defektin önemli bir sağlık sorunu olduğunu gös-

termiştir. Geçmişte sıtma epidemilerinin sık görüldüğü ilimiz ikinci derecede sıtma bölgesi içinde olup günümüzde de Temmuz ve Ağustos aylarında sıtma vakalarında artma görülmektedir. Bu nedenle yöremizde sıtma tedavisi ve korunması uygulanacak bireylere antimalaryal ilaçlar G6PD aktivitelerinin değerlendirilmesinden sonra verilmelidir.

Eritrosit enzim aktiviteleri 2.650 ± 0.460 IU/g Hb den düşük olan ve toplumun % 3.1 ini oluşturan bireyler klinik olarak risk altındadır. Bunlar özellikle, G6PD yetmezliğinin en sık bulunduğu ve oksidan etkenlere bağlı hemolizin en fazla görüldüğü 0-14 yaş grubu erkek çocukları kapsamaktadır.

Ek 1 de gösterilen hemolize neden olan ilaç spektrumunun oldukça geniş olması ve % 3.1 i (47/1521) risk altında bulunan toplumumuzda yaygın olarak bakla tüketilmesi nedeniyle yetmezlikli bireylerin eğitilmesinin ve ilgili sağlık kurumlarının uyarılarak koruyucu hekimlik hizmetlerinin planlanmasının gerekli olduğu inancındayız.

Yöremizde akraba evliliklerine azımsanamayacak sıklıkta rastlanması, etkili tedavi sistemi olmayan G6PD yetmezliği ve pek çok genetik hastalığın gelecek nesillere aktarılmasında çok önemli rol oynar. Bu yönüyle gelecekte sağlıklı bir topluma kavuşmamız ancak çok iyi planlanmış genetik bir öğütlemeye ile sağlanabilir. Örf ve adetlerine sıkı sıkıya bağlı olan etnik gruplarda akraba evliliklerini azaltmak ve genetik defekti olan bireyler arasında evlenme olasılıklarını ortadan kaldırmaya çalışmak güç bir iştir. Genetik öğütlemeler kültürel faktörler gözönünde bulundurularak uygulanmalıdır.

Bu çalışmada elde ettiğimiz sonuçlar, yöremizde önemli bir halk sağlığı sorunu olarak görünen G6PD yetmezliğinin tüm Antalya ilini kapsayan epidemiyolojik araştırmasının yapılması gerektiğini göstermiştir. Ay-

rıca bu araştırmanın kalitatif ve kantitatif yöntemlerle klinik olarak risk altında bulunan grupların saptanmasına, aile kökenine göre yetmezlik prevalansının ve kantitatif aktivitenin değişip değişmediğinin incelenmesine ve yöremizde defektif enzimin kinetik özelliklerinin belirlenmesine yönelik ilerideki çalışmalara ışık tutacağı inancındayız.

Araştırmadan kazandığımız deneyimlere göre kullandığımız biyokimyasal yöntemlerin bundan sonraki araştırmalarda daha sağlıklı olarak uygulanabilmesi için önerilerimiz şunlardır:

a- Floresan spot testin heterozigot olguların yakalanmasındaki yetersizliği nedeniyle, bu testin kitle taramasında sadece erkek deneklere uygulanması,

b- Floresan spot testin heterozigot olguların tanısında yetersiz kalması hemoglobinin baskılayıcı etkisi, anemi ve PGD enterferansından dolayıdır. Bu olumsuz faktörlerin büyük ölçüde ortadan kaldırıldığı iki modifikasyonlu floresan spot testin⁸⁹ kitle taramasında kullanılabilirliğinin araştırılması,

c- Kantitatif aktivite ölçümünde, gravimetrik yöntemle eritrositlerin yaşlarına göre ayrılması ve bu şekilde yıkama aşamalarından geçirilmeden elde edilen yaşlı eritrositlerden hemolizat hazırlanması; hazırlanan hemolizatta otomatize sistemde çok kısa preinkübasyon süresinden sonra aktivite ölçümüne geçilmesi¹⁰⁴.

Bütün bu modifikasyonlarla gerek kitle taramasında ve gerekse kantitatif enzim aktivitesi ölçümlerinde saptadığımız yetersizliklerin ortadan kalkacağı ve daha sağlıklı sonuçlar elde edileceği inancındayız.

Ö Z E T

Bu çalışmanın Mart 1986 - Mayıs 1987 tarihleri arasındaki ilk aşamasında Devlet İstatistik Enstitüsü tarafından belirlenen örneğe göre Antalya il merkezi ve köylerinde oturan 1521 denegın (728 erkek, 793 kadın) parmak ucundan alınan kan örnekleri Beutler'in floresan spot testi ile tarandı. Kadınlar arasında % 6.31 (% 1.77 tam yetmezlik, % 4.54 ara şekil), erkekler arasında % 7.42 (% 7.42 tam yetmezlik) olmak üzere ortalama % 6.84 oranında G6PD yetmezliği saptandı. Kadın ve erkek denekler arasında yetmezlik görölme sıklığı açısından fark bulunmamasına rağmen ($p > 0.05$), tam yetmezlik görölme sıklığı erkeklerde belirgin olarak yüksek bulundu ($p < 0.01$). Ara şekle ise sadece kadınlarda rastlandı. Yetmezlik ve tam yetmezlik görölme sıklığı 0-14 yaş grubunda diğer yaş gruplarından belirgin olarak yüksek bulundu (sırasıyla, $p < 0.05$ ve $p < 0.01$). Yaş grupları arasında ara şekil görölme sıklığı açısından fark bulunmadı ($p > 0.05$). 0-14 yaş grubunda yetmezlik görölme sıklığınının diğer yaş gruplarından yüksek bulunmasına, bu yaş grubundaki tam yetmezlik gösteren er-

keklerin prevalansının yüksek olmasının neden olduğu saptandı.

Tarama yaptığımız toplumda Antalya kökenli olgular arasında G6PD yetmezliği sıklığı % 7.73, Antalya dışı kökenli olgularda % 4.61 olarak saptandı, aradaki fark önemli bulundu ($p < 0.05$).

Akraba evliliği rastlanan olgularda G6PD yetmezliği sıklığı, akraba evliliği görülmeyen olgularda belirgin olarak yüksek bulundu ($p < 0.01$).

Oksidan faktörlere bağlı hemoliz geçiren olguların hepsi tam yetmezlikli olup, ara şekil gösteren olgularda bu fenomene rastlanmadı; aradaki fark önemli bulundu ($p < 0.05$). Kadın ve erkek denekler arasında hemoliz geçirme sıklığı açısından fark bulunmadı ($p > 0.05$). Hemoliz görülen olguların klinik görünüşleri içinde en sık favizme rastlandı ($p < 0.05$).

Çalışmamızın Eylül 1987-Ocak 1988 tarihleri arasındaki ikinci aşamasında yetmezlik gösteren Antalya kökenli 70 denekte kantitatif enzim aktivitesi 0.00 IU/g Hb ile 4.27 IU/g Hb arasında bulundu. Ortalama aktivite, tam yetmezlik gösteren olgularda 0.179 ± 0.161 IU/g Hb, ara şekil gösteren olgularda 3.146 ± 0.679 IU/g Hb idi.

Floresan spot testin kantitatif enzim aktivitesi ile iyi uyum gösterdiği, aktiviteleri 4.27 IU/g Hb den düşük heterozigotlarda yalancı (-) sonuç vermediği görüldü. Floresan spot test ile beklenen heterozigotların sadece % 33 ü yakalanabildi. Bu olguların kantitatif enzim aktiviteleri 1.74 IU/g Hb ile 4.27 IU/g Hb arasındaydı. Araştırmada floresan spot testin heterozigotların yakalanmasında yetersiz kaldığı ancak klinik olarak risk altında bulunan olguların tanısında son derece güvenilir bir test olduğu görüldü.

Ek 1: G6PD yetmezlikli bireylerde hemolize neden olan ajanlar^{1,84,85}
(* Yalnız beyaz ırkta)

Antimalaryaller †

Primakin
Pamakin
Pentakin
Plazmokin
Klorokin
Kinosid
Kinakrin
Kinin*

Antibiyotikler

Kloramfenikol*
Nalidiksik asit
Niridazol

Nitrofuranlar

Nitrofurantion
Furazolidon
Furaltadon
Nitrofurazon

Sulfonamidler

Sülfanilamid †
N²- Asetil sülfanilamid
Sülfasetamid
Sülfametoksipiridazin
Salisilazosülfapiridin
Sülfizoksazol †
Sülfapiridin
Ko-trimoksazol

Sülfonlar

Antipretik ve Analjezikler

Asetilsalisilik asit
Asetanilid
Asetofenetidin
Antipirin*
Aminopirin*
p-Aminosalisilik asit

Antihistaminikler

Antazolin fosfat
Difenhidramin hidroklorid
Tripelennamin hidroklorid

Diğerleri

Dimerkaprol (BAL)
Metilen mavisi
Naftalin
Fenilhidrazin
Asetil fenilhidrazin
Probenesid
K vitamini
Askorbik asit
Orinaz
Kinidin*
Bakla*
Çin otu

Enfeksiyonlar

Respiratuvar viruslar
Enfeksiyöz hepatit
Enfeksiyöz mononükleoz
Bakteriyel pnömoniler

Diabetik asidoz

Ek 2: DİE tarafından belirlenen örneğin Antalya il merkezi ve köylerinde oturan ailelerin bağlı buldukları mahalle ve köylere göre dağılımı

<u>Mahalle veya köy</u>	<u>Aile sayısı</u>	<u>Birey sayısı</u>
Varlık	25	112
Yüksekalan	30	126
Yıldız	25	99
Deniz	20	78
Dutlubahçe	25	120
Düdenbaşı	20	98
Altındağ	25	103
Bahçelievler	30	102
Gençlik	25	90
Etiler	25	91
Kütükçü	25	112
Topallı	25	121
Güloluk	25	122
Solak	25	115
Köseler	25	131
<hr/>		
Toplam	375	1620
Alınabilen örnek sayısı	375	1521
%	100	93,89

Ek 3: Antalya ilinde G6PD yetmezliği prevalansı anket formu

TANITIM KODU	KOLON KODU
Kişi sıra no	1-4
Adı ve soyadı	5-8
Ev adresi	
A. Cinsiyeti	9
1. Erkek	
2. Kadın	
B. Yaşı ()	10
1. 0-14	
2. 15-44	
3. 45 ve üzeri	
C. Aile Kökeni	11-12
1. Merkez	8. Kumluca
2. Serik	9. Elmalı
3. Manavgat	10. Korkuteli
4. Alanya	11. Finike
5. Gazipaşı	12. Kaş
6. Gündoğmuş	13. Antalya dışı
7. Akseki	()
D. Anne-Baba arasında akrabalık olup olmadığı	13
1. Var	
2. Yok	
3. Bilmiyor	
E. şimdiye kadar sarılık geçirip geğirmediği	14
1. Evet (F ye geğiniz)	
2. Hayır (K ye geğiniz)	
3. Hatırlamıyor	
F. Ne kadar sürdüğü (gün olarak) ?	15-16
G. Sarılıktan hemen önce ilaç kullanıp kullanmadığı ?	17
1. Evet	
2. Hayır	
3. Hatırlamıyor	

- H. Hangi ilaç ? 18
1. Antimalaryal
 2. Antipiretik analjezik
 3. Antibiyotik
 4. Diğerleri
 5. Hatırlamıyor
- İ. Sarılıktan hemen önce enfeksiyöz bir hastalık geçirip geçirmediği ? 19
1. Evet
 2. Hayır
 3. Hatırlamıyor
- J. Sarılık nedeniyle kan verilip verilmediği ? 20
1. Evet
 2. Hayır
 3. Hatırlamıyor
- K. Bakla zehirlenmesi geçirip geçirmediği ? 21
1. Evet
 2. Hayır
- L. Floresan spot test sonucu 22
1. Artmış aktivite
 2. Normal aktivite
 3. Azalmış aktivite
 4. Aktivite yok

KISALTMALAR .

AFD	: Asit-fosfat-dekstroz
ASD	: Asit-sitrat-dekstroz
ATP	: Adenozin trifosfat
CNSHA	: Kronik non-sferositer hemolitik anemi
DİE	: Devlet İstatistik Enstitüsü
DNA	: Deoksiribonükleik asit
2,3-DPG	: 2,3-difosfogliserat
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
EDTA	: Etilendinitrilo tetraasetik asit
FTS	: İzotonik sodyum klorür
G6P	: Glukoz-6-fosfat
G6PD	: Glukoz-6-fosfat dehidrogenaz
GSH	: Redükte glutatyon
GSSG	: Okside glutatyon
Hb	: Hemoglobin
HMP	: Heksoz Monofosfat
NAD	: Nikotin Adenin Dinükleotit
NADH	: Redükte Nikotin Adenin Dinükleotit
NADP	: Nikotin Adenin Dinükleotit Fosfat
NADPH	: Redükte Nikotin Adenin Dinükleotit Fosfat
6PGD	: 6-fosfoglukonat dehidrogenaz
6PGL	: 6-fosfoglukonat
RNA	: Ribonükleik asit
-SH	: Redükte sülfidril grubu
S-S	: Okside sülfidril grubu

K A Y N A K L A R

- 1 . PIOMELLI, S., VORA, S. : G6PD deficiency and related disorders of the Pentose Pathway . In hematology of Infancy and Childhood . Ed . by Nathan and Oski , W.B. Saunders Company , 1981 , p:608-43
- 2 . WILLOUGHBY, M.L.N. : Pediatrik Hematoloji . Çev:Ulukutlu, L., Yıldız İ. , İst. Üniv. Cerrahpaşa Tıp Fak. yayım., 1982, s:149-56
- 3 . FAIRBANKS, V.F., KLEE, G.G. : Textbook of Clinical Chemistry . Biochemical Aspects of Hematology . Ed . by TIETZ, N.W. , W.B. Saunders Company , 1986 , p:1495-584
- 4 . BEUTLER, E. : Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency diagnosis clinical and genetic implications . Am. J. Clin. Pathol. 47:3 , 303-11 , 1967
- 5 . ESEN, G.F. : Eritrosit G6PD enzimine ait temel laboratuvar yöntemleri, normal değerleri ve bazı kinetik parametrelerin belirlenmesi . Uzmanlık tezi , Antalya , 1986
- 6 . SCHILIRO, G., RUSSO, A., et al. : Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency in Sicily . Incidence , biochemical characteristics and clinical implications . Clin. Genet. , 15 , 183-8 , 1979
- 7 . BEUTLER, E. : Screening for Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency . Prent , 9:9 , 1350-2 , 1973
- 8 . CORRONS, J.L.V., PUJADES, A. : Heterogeneity of "Mediterranean Type" Glucose-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) deficiency in Spain and description of two new variants associated with Favism . Human Genetics , 60:216-21 , 1982
- 9 . LUZZATO, L. : New developments in Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency . Prent , 9:9-10 , 1484-98 , 1973
- 10 . SİPAHİOĞLU, H. : G6PD Venom and Hemolytic Anemia . Lancet , 11 , 15 1967
- 11 . SİPAHİOĞLU, H. : Yeni bir eritrosit G6PD enzim eksikliği varyantı (G6PD Antalya) . Kayseri Üniv. Gevher Nesibe Tıp Fac. Mec. , 1:1 , 101-19 , 1976
- 12 . WINTROBE, M.M., LEE, G.R., et al. : Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency and related deficiencies involving the Pentose Phosphate Pathway and Glutathione Metabolism . In Clin.Hematol. Lea-Febriger , 1981 , p:786-95

- 13 . KANJI, M.I., TOEWS, M.L., CARPER, W.R. : Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase purification and partial characterization . J. Biol. Chem. , 251:8 , 2255-7 , 1976
- 14 . WHO : Standardisation of procedures for the study of G6PD Techn. Rep. Ser. , 366:5-53 , 1967
- 15 . HOFFMAN, W.S. : Oxidation of glucose . In the Biochemistry of Clinical Medicine . Third edition , Year Book Medical Publishers Inc , Chicago , p:70-75
- 16 . GÖZÜKARA, E.M. : "Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz" enziminin özellikleri, metabolik ve klinik açıdan önemi . Biyokimya Dergisi , yıl:2 cilt:2 , sayı:3 , 217-40 , 1978
- 17 . ORZALESI, N., et al. : The relationship between glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and cataracts in Sardinia . An epidemiological and biochemical study . Doc. Ophthalmol. , 57 , 187-201 , 1984
- 18 . GAHR, M., BORNHALM, D., SCHROTER, W. : Hemolytic Anemia due to Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) deficiency : Demonstration of two new biochemical variants G6PD Hamm and G6PD Tarsus . Brit. j. Haematol. , 33 , 363 , 1976
- 19 . GORDON-SMITH, E.C., WHITE, J.M. : ANNOTATION : Oxidative haemolysis and Heinz Body Haemolytic Anemia . Brit. J. Haematol. , 26 , 513-7 , 1974
- 20 . WHITE, A., HANDLER, P., et al. : The Phosphogluconate Oxidative Pathway . In Principles of Biochemistry , Second ed., Mc Graw-Hill Book Comp. Inc., New York , Toronto , London , p:407-13
- 21 . JAFFE, E.R. : CLINICAL PROFILE : Hereditary hemolytic disorders and enzymatic deficiencies of human erythrocytes . Blood , 35:1 , 116-34 , 1970
- 22 . ZINKHAM, W.H. : An In-Vitro abnormality of Glutathione Metabolism in erythrocytes from normal newborns : Mechanism and clinical significance . Pediatrics , 23 , 18-32 , 1959
- 23 . JANSSON, S.E., HEKALI, R., et al. : Membrane characteristics and metabolic properties of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficient red cells . Brit. J. Haematol. , 46:1 , 79-87 , 1980
- 24 . BEUTLER, E. : Genetic disorders of red cell metabolism . Med. North. Am. 53: , 813-25 , 1969

- 25 . DESCALZI-CANCEDDA, F., CARUSO, C., et al. : Amino acid sequence of the carboxy-terminal end of human erythrocyte Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase . *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 118:1 , 332-8 , 1984
- 26 . YOSHIDA, A. : Hemolytic Anemia and G6PD deficiency . *Science* , 179:9 Feb. , 532-7 , 1973
- 27 . ADAMS, M.J., LEVY, H.R., MOFFAT, K. : Crystallization and preliminary X-ray data for Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase from *Leuconostoc mesenteroides* . *J. Biol. Chem.* , 258:9 , 5867-8 , 1983
- 28 . KIRKMAN, H.N., GAETANI, G.D., et al. : Red cell NADP^+ and NADPH in Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency . *J. Clin. Invest.* 55 , 875-8 , 1975
- 29 . BAKAY, B., NYHAN, W.L., MONKUS, E.St.J. : Change in electrophoretic mobility of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase with aging erythrocytes . *Pediatr. Res.* 6 , 705-12 , 1972
- 30 . CARSON, P.E., FRISCHER, H. : Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency and related disorders of the Pentose Phosphate Pathway . *Am. J. Med.* , 41 , 744-61 , 1966
- 31 . DENTON, M.J., SPENCER, N., ARNSTEIN, H.R.V. : Biochemical and enzymic changes during erythrocyte differentiation . *Biochem. J.* , 146 , 205-11 , 1975
- 32 . GLADER, B.E. : Erythrocyte disorder in infancy in Schaffer's Disease of the newborn . Ed. by Avery, M.E., Taeusch, W.H., W.B. Saunders Company . Philadelphia , 1984 , p:598-600
- 33 . LUZZATO, L. : Annotation : Genetic heterogeneity and pathophysiology of G6PD deficiency . *Brit. J. Haematol.* , 28 , 151-55 , 1974
- 34 . MARKS, P.A., SZEINBERG, A., BANKS, J. : Erythrocyte Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase of normal and mutant human subjects . *J. Biol. Chem.* , 236:1 , 10-16 , 1961
- 35 . ROZENSZAJN, L.A., KOLMAN, S., et al. : Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase isoenzymes in blood cells . *Nature* , 226 , 862-3 , 1970
- 36 . ROZENSZAJN, L.A., SHOHAM, D., MENASHI, T. : Evolution of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase in single erythrocytes in human blood smears . *Acta. Haemat.* , 47:303-10 , 1972
- 37 . SHALEV, O., LAVI, V., et al. : Erythrocyte (Ca^{++} + Mg^{++}) - ATPase

- Activity : Increased Sensitivity to Oxidative Stress in Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency . *Am. J. Hematol.* , 19:131-6 , 1985
- 38 . JAFFE, E.R. : Oxidative hemolysis , or "What made the red cell break ?" *New Eng. J. Med.* , 286:3 , 156-7 , 1972
- 39 . ALLEN, D.W., JOHNSON, G.J., et al. : Membrane polypeptide aggregates in Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficient and in vitro aged red blood cells . *J. Lab. Clin. Med.* , 91:2 , 321-7 , 1978
- 40 . BASHAN, N., MAKOVER, O., et al. : Effect of oxidant agents on normal and G6PD deficient erythrocytes . *Isr. J. Ped. Sci.* 16:351-6 , 1980
- 41 . CORRONS, J.L.V., FELIV, E., et al. : Severe Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) deficiency associated with Chronic Hemolytic Anemia, granulocyte dysfunction and increased susceptibility to infections : Description of a new molecular variant (G6PD Barcelona) . *Blood* , 59:1 , 428-34 , 1982
- 42 . ŞAYLI, B.S. : *Temel Medikal Genetik* . *Ank. Üniv. Basımevi* , 1973 , s:223-7
- 43 . SHARNON, K., BUCHANAN, G.R. : Severe Hemolytic Anemia in Black Children with Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency . *Pediatrics* , 70:3 , 364-70 , 1982
- 44 . BAUER, J.D. : Enzymes of erythrocyte and their laboratory investigation . In *Gradwohl's Clinical Laboratory Medicine and Diagnosis* . Ed. by Sonnenwirth, A.C., Jarett, L. , The C.V. Mosby Company , 1980 , p:872-84
- 45 . PANIZON, F., ZACCHELLO, F., et al. : The ratio between normal and sensitive erythrocytes in heterozygous Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficient women . *Acta. Haemat.* , 43 , 291-5 , 1970
- 46 . FAIRBANKS, V.F., FERNANDEZ, M.N. : The identification of metabolic errors associated with Hemolytic Anemia . *JAMA* , 208:2 , 316-20 1969
- 47 . SANNA, G., FRAU, F., et al. : Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase red blood cell phenotype in Gd^{Mediterranean} heterozygous females and hemizygous males at birth . *Pediatr. Res.* , 15 , 1443-6 , 1981
- 48 . STEELE, M.W., MIGEON, B.R. : Sex differences in activity Glucose-6-

- Phosphate Dehydrogenase from cultured Human Fetal Lung Cells despite X-Inactivation . *Biochem. Genet.* , 9:2 , 163-8 , 1973
- 49 . KAHLER, S.G., KIRKMAN, H.N. : Intracellular Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase does not monomerize in human erythrocytes . *J. Biol. Chem.* , 258-2 , 717-8 , 1983
- 50 . CHAN, C.K. : Measurement of erythrocyte Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase activity using a centrifugal analyzer . *Med. Lab. Sci.* , 41 , 112-20 , 1984
- 51 . WHO : Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency . Reports on a WHO Workshop , Adana , Turkey , 20-22 October 1983
- 52 . BABALOLA, A.O.G., BEETLESTONE, J.G., LUZZATO, L. : Genetic variants of human erythrocyte G6PD . *J. Biol. Chem.* , 251-10 , 2993-3002 1976
- 53 . YOSHIDA, A., BEUTLER, E., MOTULSKY, A.G. : Human G6PD variants . *Bulletin of WHO* , 45 , 243-53 , 1971
- 54 . AKSOY, M., DINCOL, G., ERDEM, S. : Survey on haemoglobin variants , Beta-Thalassaemia , Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency and haptoglobin types in Turkish people living in Manavgat , Serik and Boztepe (Antalya) . *Human Hered.* , 30 , 3-6 , 1980
- 55 . AKSU, T.A. : Muhtelif yaş gruplarındaki sağlam şahıslarda eritrosit Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz enzim kinetiği üzerine bir çalışma Atatürk Üniv. Tıp Fak. Dergisi , 5:17 , 1-8 , 1972
- 56 . SAY, B., OZAND, P., et al. : Erythrocyte Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency in Turkey . *Acta. Paediatr. Scand.* , 54:319 , 1965
- 57 . SİPAHIOĞLU, H. : Alanya Bölgesi Toros Selçuk Türk'lerinde Brewer testi ile eritrosit G6PD enzim eksikliği araştırması . 19. Milli Tıp Kongresi , 25-29 Eylül , 1966 , İzmir
- 58 . SİPAHIOĞLU, H. : Akdeniz Bölgesinde eritrosit G6PD enzim eksikliği Türkiye Tıp Akademisi Mecmuası , 11-15 , 1976
- 59 . AKSOY, K., YUREGİR, T.G., et al. : Three new variants, G6PD Adana, G6PD Samandağ and G6PD Balçalı in Çukurova , Turkey . *Hum. Genet.* , 76:199-201 , 1987
- 60 . YÜREĞİR, G.T., İSBİR, T. : Çukurova'da Hb S ve G6PD Enzim eksikliği ve analarında ilişki . *Doğa Bilim Dergisi C* , 8 , 2 , 232-44 1984

- 61 . YUREGIR, G.T., ISHIR, T., CINAR, M. : Assesment of the flourescent spot test as a screening method for G6PD deficiency .
Ç.Ü. Tıp Fak. Med. , 1 , 22-27 , 1982
- 62 . ROTH, E.F., SUAREZ, G.R., et al. : The effect of X kromozome inactivation on the inhibition of Plasmodium Falciparum Malaria growth by Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficient red cells
Blood , 62:4 , 866-8 , 1983
- 63 . BIENZLE, V., AYENI, O., et al. : Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase and Malaria . The Lancet , Jan 15 , 107-110 , 1972
- 64 . GELPI, A.P. : Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency the sickling trait and Malaria in Saudi Arab children .
Trop. Ped. , 71:1 , 138-46 , 1967
- 65 . ROTH, E.F., RUPRECHT, R.M., et al. : Ribose Metabolism and Nucleic Acid Synthesis in Normal and Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficient Human Erythrocytes Infected with Plasmodium falciparum . J. Clin. Invest. , 77:4 , 1129-35 , Apr. 1986
- 66 . JANNEY, S.K., JOIST, J.H., et al. : Excess Release of Ferriheme in G6PD-Deficient Erythrocytes : Possible Cause of Hemolysis and Resistance to Malaria . Blood , 67:2 , 331-3 , Feb. 1986
- 67 . USANGA, E.A., LUZZATO, L. : Adaptation of Plasmodium falciparum to glucose-6-phosphate dehydrogenase-deficient host red cells by production of parasite-encoded enzyme . Nature , 313 : 6005 , 793-5 , Feb. 1985
- 68 . BERNINI, L., BATTE, B., et al. : Survival of Cr-labelled red cells in subjects with Thalassaemia-Trait or G6PD deficiency or both abnormalities . Brit. J. Haemat. , 10 , 171-80 , 1964
- 69 . PIOMELLI, S., SINISCALCO, M. : The haematological effect of Glucose -6-Phosphate Dehydrogenase deficiency and Thalassaemia Trait : Interaction between the two genes at the phenotype level .
Brit. J. Haemat. , 16 , 537-48 , 1969
- 70 . HERZ, F., KAPLAN, E., SCHEYE, E.S. : Diagnosis of erythrocyte Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency in the Negro Male despite hemolytic crisis . Blood , 35:1 , 90-3 , 1970
- 71 . BABALOLA, A.O.G., CANCEDDA, R., LUZZATO, L. : Genetic variants of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase from human erythrocytes : Unique properties of the A⁺ variant isolated from "Deficient"

- cells . Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A. , 69:4 , 946-50 , 1972
- 72 . SHALEV, O., ELIAKIM, R., et al. : Hypoglycemia-Induced Hemolysis in Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency . Acta. Haematol. 74:4 , 227-9 , 1985
- 73 . HEDEYAT, S.H., FARHUD, D.D., et al. : The pattern of bean consumption laboratory findings in patients with Favism G6PD deficient and a control group . J. Trop. Ped. , 27 , 110-2 , 1982
- 74 . KATTAMIS, C.A., KYRIAZAKOU, M., CHALIDAS, S. : Favism : Clinical and biochemical data . J. Med. Genet. , 6:34 , 1969
- 75 . MELONI, T., FORTELONI, G., et al. : Favism and Hemolytic Anemia in Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficient subject in North Sardinia . Acta. Haemat. , 70 , 83-90 , 1983
- 76 . MARENI, C., REPETTO, L., et al. : Favism : looking for an autosomal gene associated with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency . J. Med. Genet. , 21:4 , 278-80 , Aug 1984
- 77 . GAETANI, G.F., MARENI, C., et al. : Favism : Erythrocyte metabolism during hemolysis and reticulocytosis . Brit. J. Haematol. , 43 , 39-48 , 1979
- 78 . GOLENSAR, J., MILLER, J., et al. : Inhibitory effect of a Fava Bean Component on the in vitro development of Plasmodium falciparum in normal and Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficient erythrocytes . Blood , 61:3 , 507-10 , 1983
- 79 . LATTANZIO, V., BIANCO, V.V., LAFIANDRA, D. : High-performance reversed-phase liquid chromatography (HPLC) of Favism-inducing factors in *Vicia faba* L . Experientia , 38 , 789-90 , 1982
- 80 . YEUNG, C.Y., LAI, H.C., et al. : Fluorescent spot test for screening erythrocyte Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency in newborn babies . J. Pediatr. , 76:6 , 931-4 , 1970
- 81 . BEUTLER, E. : A series of new screening procedures for Pyruvate Kinase deficiency , Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency and Glutathione Reductase deficiency . Blood , 28:4 , 553-61 , 1966
- 82 . FAIRBANKS, V.F., LAMPE, L.T. : A tetrazolium linked cytochemical method for estimation of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase activity in individual erythrocytes : Applications in the study of heterozygotes for Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency

- cy . Blood , 31 , 5:589-603 , 1968
- 83 . LOWE, M.L., STELLA, A.F., et al. : Microfluorometry of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase and 6-Phosphogluconate Dehydrogenase in red cells . Clin. Chem. , 18:5 , 441-5 , 1972
- 84 . SINGH, H. : Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency : a preventable cause of mental retardation . Br. Med. J. (Clin. Res.) 292:6517 , 397-8 , Feb. 1986
- 85 . POHL, A., BLECHSCHMIDT, E., MOSER, K. : Glukose-6-Phosphatdehydrogenasemangel und andere Enzymomalien in Erythrozyten . Wien. Klin. Wochenschr. , 96:14 , 542-8 Jul. 1984
- 86 . HAFEZ, M., AMAR, E., et al. : Improved erythrocyte survival with combined vitamin E and selenium therapy in children with glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency and mild chronic hemolysis . J. Pediatr. , 108:4 , 558-61 , Apr. 1986
- 87 . BEUTLER, E., BLUME, K.G., et al. : International Committee for Standardization in Haematology : Recommended screening test for Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) deficiency . Brit. J. Haematol. , 43 , 469-77 , 1979
- 88 . DOW, P.A., PETTEWAY, M.B., ALPERIN, J.B. : Simplified method for G6PD screening using blood collected on filter paper . A.J.C.P. 61 , 333-6 , 1974
- 89 . SOLEM, E., PIRZER, G., et al. : Mass screening for Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency : improved fluorescent spot test 152:1-2 , 135-42 Oct. 1985
- 90 . ANONYMOUS : Clinical Laboratory . 11th edition , E. Merck , Darmstadt , 1970 , p:6-10
- 91 . LOWE, M.L., GIN, J.B., DEMETRIOV, J.A. : Stability of erythrocytic enzymes for screening test . Clin. Chem. , 19:5 , 529-30 , 1973
- 92 . AKSU, T.A., YANARATEŞ, E. : Doğu Anadolu Bölgesinde eritrosit Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz enzimi noksanlığı hakkında preliner bir çalışma . Atatürk Üniv. Tıp Fak. Dergisi , 4:16 , 313-6 , 1972
- 93 . BEUTLER, E., MITCHELL, M. : BRIEF REPORT : Special modifications of the fluorescent screening method for Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency . Blood , 32:5 , 816-8 , 1968
- 94 . SZEINBERG, A. , PELED, N. : Detection of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency in the newborn using blood specimens

- dried on filter paper . Prent , 9:9 , 1353-4 , 1973
- 95 . AKOGLU, T., OZER, F.L., AKOGLU, E. : The coincidence of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency and Hemoglobin S gene in Cukurova province, Turkey . Am. J. Epidemiol. , 123:4 , 677-80 Apr. 1986
 - 96 . LEWIS, R.A. : Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase electrophoresis in Ghanaians with AA and SS Haemoglobin . Acta. Haemat. , 50 , 105-11 , 1973
 - 97 . LEWIS, R.A., HATHORN, M. : Correlation of S Haemoglobin with Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency and its significance Blood , 26:2 , 176-80 , 1965
 - 98 . PIOMELLI, S., REINDORF, C.A. et al. : Clinical and biochemical interactions of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency and Sickle-Cell Anemia . New Eng. J. Med. , 287:5 , 213-7 , 1972
 - 99 . CLARK, I.A., COWDEN, W.B., et al. : Activity of divicine in Plasmodium vivax-infected mice has implications for treatment of Favism and epidemiology of G6PD deficiency . Brit. J. Haematol 57:3 , 479-87 , Jul. 1984
 - 100 . GÖLOĞLU, M. Z. : Plazmodyum vivaks enfestasyonu ile orak hücre karakteri ve G6PD yetmezliği ve retikülosit indeksi arasındaki ilişki . Doğa Tıp ve Ecz. Dergisi , 10:2 , 148-51 , 1986
 - 101 . AKSOY, M., ERDEM, S. : Determination of G6PD and other enzymes in Turkish People . J. Ist. Med. Fac. , 31 , 39-49 , 1968
 - 102 . SMITH, H.L., WHITESIDE, M.G. : The detection of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency in Mediterraneans by comparative quantitative enzyme electrophoresis . Med. J. Aust. , 1 , 558-9 , 1975
 - 103 . GRIMES, A.J. : Annotation : The laboratory diagnosis of enzyme defects in the red cell . Brit. J. Haematol. , 17 , 129-35 , 1969
 - 104 . SOLEM, E. : Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency : an easy and sensitive quantitative assay for the detection of female heterozygotes in red blood cells . Clin. Chem. Acta , 142 ; 2 153-60 , Sep. 1984
 - 105 . BUONOCERE, G., BERTI, D., et al. : Moderately increased hemolysis in newborn infants with hiperbilirubinemia of unknown etiology Biol. Neonate. , 44:251-6 , 1983

106. VALAEB, T., KARAKLIS, A., et al. : Incidence and mechanism of neonatal jaundice to Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency Ped. Res. , 3 , 448-58 , 1969 .
107. HAMAMY, H.A., SAEED, T.K. : Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency in Iraq . Human Genet. , 58 , 434-5 , 1981
108. PETRAKIS, N.L., WIESENFELD, S.L., et al. : Prevalance of Sickle-Cell trait and Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency. New Eng. J. Med. , 282:14 , 767-70 , 1970
109. WIESENFELD, S.L., PETRAKIS, N.L., et al. : Elevated blood pressure pulse rate and serum creatinine in Negro Males deficient in Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase . New Eng. J. Med. 282:18 , 1001-2 , 1970
110. H.Ü.N.E.E. : Türkiye'de akraba evlilikleri ve çocuk ölümlerine etkisi . Ed. TUNÇBİLEK, E., Nüfusbilim Dergisi , 9:7-26 , 1987
111. VERGNES, H.A., BONNET, L.G., GROZDEA, J.D. : Genetic variants of human erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase : new characterization data obtained by multivariate analysis. Ann. Human. Genet. , 49:pt 1 , 1-9 , Jan. 1985
112. TONCHEVA, D., TZONEVA, M. : Genetic polymorphism of G6PD in a Bulgarian Population . Hum. Genet. , 67:3 , 340-2 , 1984
113. Mc CANN, S.R., SMITHWICK, A., et al. : G6PD (Dublin) : Chronic Non-Spherocytic Haemolytic Anemia resulting from Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency in an Irish kinred . J. Med. Genet. , 17 , 191-3 , 1980
114. SİPAHIOĞLU, H. : Aynı aileden görülmüş 8 G6PD eksikliği , 2 Favism 5 Pürivat Kinaz eksikliği münasebeti ile , Türk Tıp Derneği Dergisi , 41:8 , 392-6 , 1975
115. GAHR, M., MEVES, H., SCHROTER, W. : Fetal properties in red blood cells of newborn infants . Pediatr. Res. , 13 , 1231-6 , 1979
116. SMITS, H.L., OSKI, F. A., BRODY, J.I. : The hemolytic crisis of Sickle Cell Disease : The role of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency . J. Pediatr. , 44:4 , 544-51 , 1969
117. YOSHIDA, A. : Change of activity and substrate activity of human Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase by oxidation . Arch. Biochem. Biophy. , 159 , 82-8 , 1973
118. BEUTLER, E., BLUME, K.G., et al. : Recommended methods for red-

- cell enzyme analysis . Brit. J. Haematol. , 35 , 331-41 , 1977
- 119 . MORELLI, A., BENATTI, V., et al. : In vitro corection of erythrocyte Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase (G6PD) deficiency . Arch. Biochem. Biophy. , 197:2 , 543-50 , 1979
- 120 . HORDER, M., WILKINSON, J.H. : Enzymes . In Chemical Diagnosis of Disease . Ed. by BROWN, S.S., MITCHELL, F.L., YOUNG, D.S. , Elsevier Biomedical Press , 1982 , p:363-405
- 121 . CATALANO, E.W., JOHNSON, G.F., SOLOMON, H.M. : Measurement of erythrocyte Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase activity with a centrifugal analyzer . Clin. Chem. , 21:1 , 134-8 , 1975
- 122 . SANNA, G., FRAU, F., et al. : Interaction between the Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency and Thalassemia genes at phenotype level . Brit. J. Haematol. , 44 , 555-61 , 1980
- 123 . GERLI, G.C., BERETTA, L., et al. : Erythrocyte Superoxide Dismutase, Catalase and Glutathione Peroxidase in Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency . Scand. J. Haematol. , 29 , 135-40 , 1982
- 124 . MORELLI, A., BENATTI, V., et al. : Biochemical mechanism of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency . Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. , 75:4 , 1979-83 , 1978
- 125 . MIR, N.A., FAKHRI, M., et al. : Erythrocyte Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase status of newborns and adults in eastern Libya . Ann. Trop. Paediatr. , 5:4 , 211-3 , Dec. 1985
- 126 . SRIVASTAVA, S.K., BEUTLER, E. : Oxidized Glutathione levels in erythrocytes of Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase-Deficient subjects . The Lancet , July 6 , 23-4 , 1968
- 127 . MILBAVER, PELED, N., SVIRSKY, S. : Neonatal Hyperbilirubinemia and Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase deficiency . Israel. J. Med. Sci. , 9:11-12 , 1547-52, 1973 .
- 128 . MARTIN, D.W., MAYES, P.A., RODWELL, V.W. : Harper's Review of Biochemistry , 18 th edition . Lange Medical Publication Los Altos . California . P:173-7 .