

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

ANTALYA'DA BETA TALASSEMİ
TAŞIYICI SIKLIĞI

Uzmanlık Tezi

T442/1-1

DR. ASAF GÜVEN

(Bu çalışma Akdeniz Üniversitesi Araştırma Fonu'nun 87.01.
0103.23 no'lu projesidir.
Araştırma Akdeniz Talassemi Derneği tarafından maddi olarak
desteklenmiştir.)

ANTALYA -1989

uz:442

İ Ç İ N D E K İ L E R

GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER	3
MATERYAL VE METOD.....	27
BULGULAR	29
TARTIŞMA	39
ÖZET.....	50
KAYNAKÇA	51

G İ R İ Ş

Tıptaki tüm ilerlemelere rağmen günümüzde beta talassemi majorlu hastaların kesin tedavisi başarılammıştır. Hastaların yaşamlarını uzatan düzenli kan transfüzyonu ve şelasyon tedavisi ise son derece pahalı ve zahmetlidir. Bu nedenle diğer otozomal resesif geçiş gösteren hastalıklarda olduğu gibi beta talassemiyi önleminin günümüz için geçerli tek yolu taşıyıcıların belirlenmesi, genetik danışma, risk altındaki bireylerin uyarılması ve prenatal tanının gerçekleştirilmesidir (33,64,69,74,81,96,117).

Talassemi sendromları otozomal resesif geçiş gösteren herediter hastalıkların en sık rastlanana olup beta talassemi majorlu hastalar en iyi şartlarda bile kan transfüzyonu ve şelasyon tedavisi ile maksimum 25-30 yaşlarına kadar yaşatılabilmektedir (3,73,115).

Otozomal resesif geçiş gösteren bu tip hastalıkların taşıyıcıları sağlıklı olup özel testler yapılmadan tanınmaları mümkün değildir. Dünya nüfusunun % 3'ü veya 150 milyon insanın beta talassemi geni taşıdığı düşünülmektedir (64).

Bir akdeniz ülkesi olan ülkemizde de beta talassemi taşıyıcılığı insidansı yüksektir. Türkiye'de çeşitli merkezlerde beta talassemi sıklığını gösteren çalışmalar yapılmıştır. Bu araştırmalar ülkemizde beta talassemi taşıyıcılığının homojen bir dağılım göstermediğini, özellikle güney ve batı Anadolu'da, Trakya'da daha yüksek oranda bulunduğunu göstermiştir (4-6,11,13,19,28,29,46,70,89).

Hastanemizin bölge referans hastanesi olması nedeniyle kliniğimizde çok sayıda beta talassemi majorlu hasta takip edilmektedir. Gerek bu vakalarımızın sayısının fazla oluşu, gerekse anne ve babalardan alınan bilgilerle, bu hastaların yakınlarında benzer tablolarla erken yaşlarda tanı almadan ölen çocukların dikkat çekici oluşu bölgemizde beta talassemi insi-

dansının düşünülenden daha yüksek olduğu kanısını uyandırmıştır. Bu konuda Antalya'da yapılmış az sayıda çalışma bulunmaktadır (11,14,28).

Zamanımızda beta talassemi taraması için önerilen çok sayıda test ve tarama programları bulunmaktadır. Başlıcaları tek tüp osmotik frajilite testi, elektronik aletlerle ölçülen OEH ve OEV, HbA₂ tayini için mikrokolon kromatografisi ve çeşitli yöntemlerle yapılan hemoglobin elektroforezidir. Bütün bu testlere rağmen bazı durumlarda beta talassemi taşıyıcılığı tanısını koymak için globin sentezi gibi güç ve masraflı ileri laboratuvar incelemelerine gerek duyulabilir (36,37,63,77,81,83,91,92).

Çalışmamız Antalya il merkezinde beta talassemi taşıyıcı sıklığını saptamak, taramada kullanılan metodları karşılaştırmak ve gidilen ev ve mahallelerde talassemi hakkında aydınlatıcı bilgi vererek bu konuda bilinçlendirmek amacıyla düzenlenmiştir.

G E N E L B İ L G İ L E R

HEMOGLOBİN

Hemoglobin tüm omurgalılarda kırmızı kan hücrelerinin rengini veren, oksijen taşıyan ve bu canlıların yaşamları için gerekli olan bir proteindir. Son yıllarda moleküler biyolojide gerçekleştirilen önemli aşamalar kan hastalıklarının moleküler düzeyde incelenmesine olanak sağladığı gibi hemoglobin yapısındaki değişikliklerin gen düzeyinde açıklanmasını da sağlamıştır (25,26,81,109,113,116).

Hemoglobin hem ve globin olmak üzere iki bölümden oluşur. Hem hemoglobinin prostetik gurubu olarak bilinir. Dört hem iki alfa ve iki nonalfa polipeptit zinciriyle birleşerek tetramerik yapıda olan farklı hemoglobin moleküllerini oluşturur. Hemoglobin moleküllerinin hepsinde hem aynı yapıda olup, farklılık globin zincirlerindeki amino asit sırası ve uzunluğundadır.

İnsanda iki gen kümesinde bulunan ve her biri ayrı genle kontrol edilen en az 6 globin zinciri bilinmektedir. Bunlar Yunan Alfabesinde alfa, (α) beta (β), gama (γ), delta (δ), epsilon (ϵ) ve zeta (ζ) harfleriyle tanınırlar. Alfa globin zinciri 141, diğerlerinin tümü 146 amino asit içermektedir (26,56,62,84,116,117).

İNSAN HEMOGLOBİNLERİ

Fetal ve yetişkin normal hemoglobinleri bir çift alfa zinciri ile bir çift beta, gama veya delta zincirlerinden oluşur (tablo 1). Embriyonik dönemde ise zeta zinciri alfa gibi davranarak embriyonik hemoglobinleri oluşturur (26,56,62,84).

Embriyonik Hemoglobinler : Fetal dönemde sırasıyla Hb Gower 1 ($\zeta_2\epsilon_2$), Hb Gower 2 ($\alpha_2\epsilon_2$), HbF ($\alpha_2\gamma_2$), Hb Portland 1 ($\zeta_2\gamma_2$) ve Hb Portland 2 ($\zeta_2\beta_2$) yapılıdır. HbF dışındaki diğer hemoglobinler embriyonik hemoglobinler denir. Hemoglobin Gower 1 ve 2 ilk üç ayda sentez edi-

TABLO 1 : İnsan Hemoglobinleri

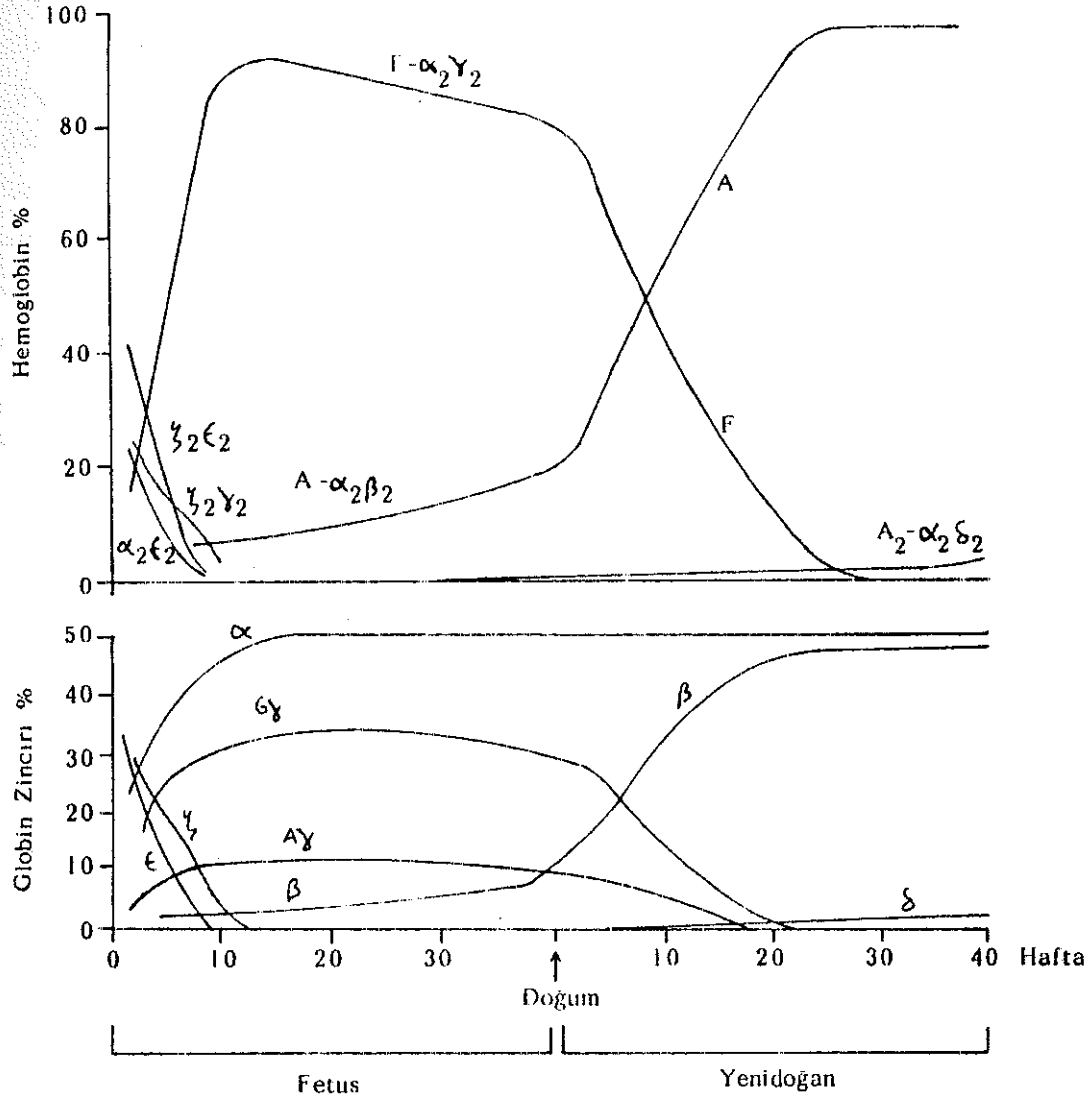
Hemoglobin Cinsi	Yapısı	Erişkinde bulunan miktar ^x	Fetusta bulunan miktar ve yapım zamanı
Hb Gowers 1	$\zeta_2 \epsilon_2$	-	İlk üç ay
Hb Gowers 2	$\alpha_2 \epsilon_2$	-	İlk üç ay
Hb Portland 1	$\zeta_2 \gamma_2$	-	İlk üç aydan sonra ve kordon kanında
Hb Portland 2	$\zeta_2 \beta_2$	Hb H ve talassemi taşıyıcılarında az.	İlk üç aydan sonra
Hb F	$\alpha_2 \gamma_2$	% 1-2	Intrauterin 10-12 haftalarda sentez edilir.
Hb A ₂	$\alpha_2 \delta_2$	% 2-3	Üçüncü trimestirde
Hb A	$\alpha_2 \beta_2$	% 95	6-8 haftada yapımı başlar

^xTotal hemoglobin yüzdesi.

lirken, Hb Portland 1 ve 2 ilk üç aydan sonra yapılırlar. Normalde kordon kanında az miktarda Hb Portlanda raslandığı gibi trisomi 13-15 gibi bazı kromozomal hastalıklarda da Hb Gower 2'ye rastlanabilmektedir (56, 117).

Fetal hemoglobin (Alfa₂Gama₂) : Embriyonik hemoglobinlerden sonra gelen fetal hayatın major hemoglobini dir. Moleküler yapısını bir çift alfa ve bir çift gama zinciri oluşturur. Fetal hemoglobin gama zincirinin 136. pozisyonundaki amino asitin glisin (^Ggama/^Agama) veya alanin (^Agama) oluşuna göre iki tip tir. Doğumda ^Ggama/^Agama oranı yaklaşık 3/1 iken, erişkinde HbF konsantrasyonunun % 1'in altında olduğu dönemde 2/3'tür. Ayrıca ^Agama zinciri 75. pozisyonda izolosin yerine threonine içererek % 0-40 arasında değişen oranda polimorfizm gösterebilir (26,99, 113,116). Fetal hemoglobin yapımı embriyonik hayatın 10-12. haftalarında başlar, ikinci aydan sonra total hemoglobinin % 90'nını oluşturur. Doğuma kadar bu seviyede kalır ve doğum sırasında % 70-90 oranındadır. Doğumdan sonra da hızla yerini HbA'ya bırakır. 1. ayın sonunda % 50-70, 3.ayın sonunda % 10-30, 6. ayda % 8, 12.ayda % 2, 2.yılda % 1.8, 3.yılda % 1 daha sonra da rutin

ŞEKİL 1 : Embriyodan erken çocukluk dönemine kadar insan gelişmesi sırasında hemoglobin tetramerleri (üstte) ve globin zincirindeki (altta) değişimler.



laboratuvar metodlarıyla ölçülemeyecek düzeye (% 0.4) düşer (62). Şekil 1'de gelişme sırasında insan hemoglobinlerindeki değişimler gösterilmiştir. HbF elektroforetik olarak HbA'dan daha yavaş hareket eder ve alkaliye dirençlidir. HbF konsantrasyonu beta talassemi, kalıtsal kalıcı fetal hemoglobin (HPFH), orak hücreli anemi gibi kalıtsal hastalıklarda, megaloblastik anemi, aplastik anemi ve lösemide artar (26).

HbA($\alpha_2\beta_2$) : Yetişkin hemoglobinin büyük bir bölümünü oluşturur. İki alfa ve iki beta polipeptid zincirinden meydana gelir. Fetal hayatın son altı haftasında yapımı başlar gittikçe artarak 6-12.aylar arasında erişkin düzeyine ulaşır.

HbA₂(alfa₂delta₂) : Yetişkin insan hemoglobinin minor komponenti olup moleküler yapısı bir çift alfa ve bir çift delta globin zinciri şeklindedir. Gebeliğin son haftalarında ortaya çıkar ve hayat boyu düşük miktarlarda devam eder. Kordon kanında % 0-2 iken kısa bir süre sonra ortalama % 2.5 olan erişkin seviyesine ulaşır. Fonksiyonu tam olarak bilinmemekle beraber HbA benzeri bir işleve sahip olduğu düşünülmektedir. Miktarındaki değişiklik diagnostik önem taşır. Tablo 1'de HbA₂'nin azaldığı ve arttığı hastalıklar özetlenmiştir. (26). HbA₂ düzeyi elektroforetik yöntemlerle değerlendirilebilir ancak kromatografik olarak daha sağlıklı ve duyarlı bir şekilde tayin edilmektedir (83).

TABLO 2 : Çeşitli hastalıklarda HbA₂ değişiklikleri

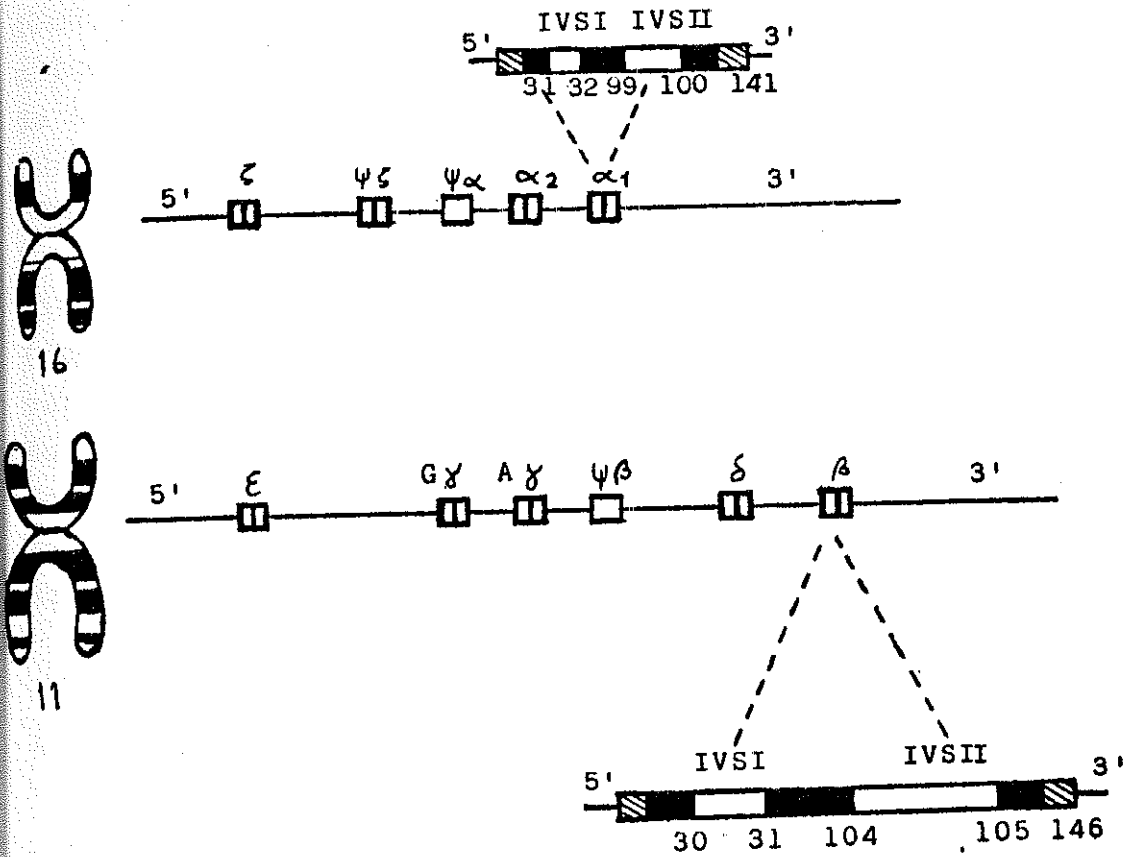
	HbA ₂ Artar	HbA ₂ Azalır
Konjenital	Beta talassemi trait Durağan olmayan Hb varyantları Sickle trait(AS) Alfa talassemili Sickle cell.	Alfa talassemi Deltabeta talassemi Delta talassemi HPFH ^X
Akiz	Megaloblastik anemi Hipertroidi Down sendromu	Demir eksikliği anemisi Sideroblastik anemi

HPFH^X : Herediter kalıcı fetal hemoglobin

İNSAN GLOBİN GENLERİ

İnsan hemoglobinlerinin alfa gen kümesi 16. kromozomun kısa kolunda, beta gen kümesi 11. kromozomun kısa kolunda bulunmaktadır (45,54,62,71, 84,109,113,116). Restriksiyon endonükleazlarla DNA dizisinin parçalarına ayrılması (RFLP) ve DNA dizilim analizleri yöntemleri ile gen kümelerinin haritaları çıkarılmış ve amino asit dizilimi belirlenmiştir (54,71,109,116). Şekil 2'de görüldüğü gibi alfa gen kümesi 25 kilobazlık bir alan

ŞEKİL 2 : Alfa ve beta gen kümeleri ve içerdikleri genler



(Siyah kısımlar : Ekson
Beyaz kısımlar : Intron (araya giren dizilim)
Taralı bölgeler: Translasyonun olmadığı kısım
Rakamlar : Şifreleme dizisindeki amino asitleri göstermektedir).

kaplar ve 2 zeta, 2 psödoalfa ve 2 alfa genini içerir (26,56,84, 109). Ayrıca bu gen kümesinin 3. bölgesine yakın hiçbir fonksiyon tanımlanamayan bir omega geninin olduğu bildirilmektedir (112). Beta gen kümesinde 60 kb'lık alanda yer alarak epsilon γ^G , γ^A psödobeta delta ve beta genlerinden oluşur (26,54,56,109,113,116). Genlerin DNA üzerindeki dizilişin gelişme sırasındaki ontogenik ekspresyonlarına göre olduğu düşünülmektedir (113,116).

Alfa ve beta gen kümesinde psödogenler şifreleme veya regülatör bölgelerinde meydana gelen değişikliklerle inaktif hale gelmişlerdir ve gen ürünü vermezler. Henüz herhangi bir fonksiyonları saptanamamıştır (56,113,116).

Ürün veren her globin geninde 3 ekson ve 2 intron bulun-

makta olup, globin zincirini şifreleyen diziye ekson, proteine dönüşmeyen diziye intron veya IVS (araya giren dizilimler) denilmektedir (56,71,116). Şekil 2'de alfa ve beta globin genlerinde her bir intron ve eksonun şifrelediği amino asitlerin dizisi görülmektedir. Beta geninde intron 1 (IVS-1) 125-130, intron 2 800-850 nükleotid uzunluğundadır.

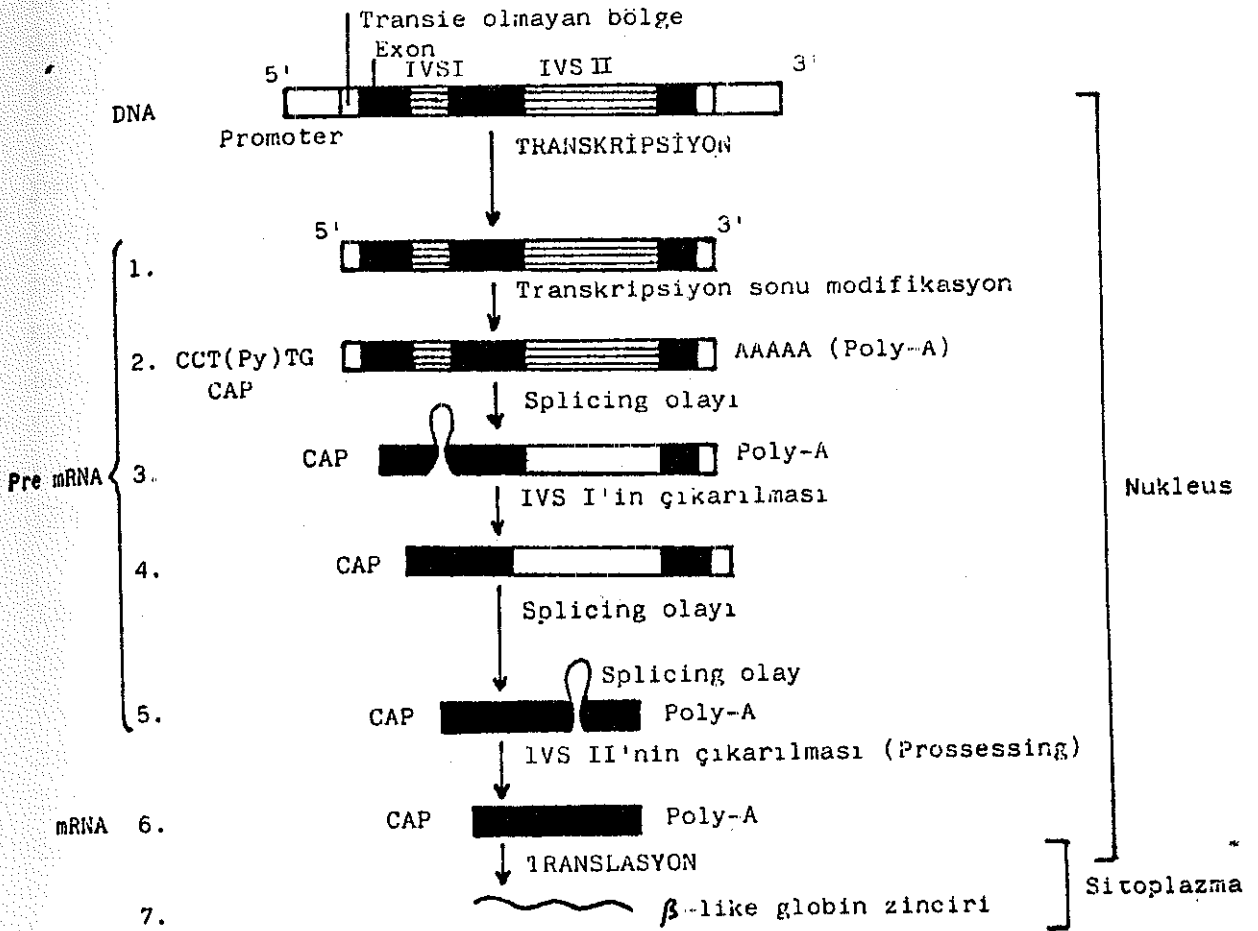
Bir genin veya gen parçasının başlangıca yakın kısmına 5' bitişe yakın kısmına 3' bölgesi denilmektedir. 5' kısmı verici (donör) yeri 3' kısmı alıcı (akseptör) yeri adını alır. Eksonun verici yerinde GT alıcı yerinde AG nükleotid dizileri bulunur. Bu diziler beta globin geni içinde birçok kereler tekrarlanır. Fakat normal RNA işlenmesi (processing) sırasında bu tekrarlayan diziler kullanılmazlar. Bu nedenle bunlara saklı yerler yani kriptik (cryptic) yerler adı verilir (56,109,116).

Gen dizisinin 5' kısmı önünde transkripsiyonun doğru başlamasını sağlayan özgün sinyaller içeren 150 nükleotidlik bir bölge vardır. Bu bölüme PROMOTOR adı verilir ve şifrelenen bölgenin dışında olduğu için (-) ile gösterilir (56,84). Beta globin geni promotorunda en az üç farklı kısım vardır. Bu bölgeler ATA kutusu ve PuCPuCCC bölgesidir. Gen kümesinin 3' bölgesinde transkripsiyonu bitiren yani dur emrini veren adenozinlerin birbirine eklenerek Poli A dizisinin oluşmasını sağlayan korunmuş dizi (conserved sequence) yer alır (84,85,116,118).

GLOBİN SENTEZİ

Bir globin sentez edileceği zaman geni oluşturan DNA dizisinden transkripsiyon olayıyla bir nükleer RNA kopyalanır. Transkripsiyonun etkili ve tam başlaması için gerekli DNA dizisi olan promotor bölgesine gerek vardır. Bu durumda başla komutunu promotor bölgesi vermektedir. Beta globin promotorunun iş görebilmesi için enhanser (ENHANCER) denilen küçük bir DNA parçasına gereksinim olduğu ve bu parçanın promotor gen fonksiyonunu aktive ettiği düşünülmektedir (56,109,116). Transkripsiyonla oluşan RNA hem intron hemde eksonları içermekte olup heterojen nükleer RNA adını almaktadır. Olgun (matür) mRNA'nın oluşması için belirli bir kurala göre intronların kesilerek uzaklaştırılması, eksonların ise yapışma (splicing) denilen bir olayla birbirine yapışması gerekir. Bu işlem de şu şekilde olmaktadır. Önce mRNA'da

ŞEKİL 3 : Globin Sentezi



1. DNA'dan enzimatik olarak RNA kopyalanır (Transkripsiyon). Buna heterojen RNA (hrRNA) denir.
2. Heterojen nükleer RNA'nın 5' kısmı modifiye olup CAP yeri oluşur. Genin 3' kısmına adozinler gelerek poly-A dizisini oluştururlar.
3. İtron 1 (IVS-1) kesilerek diziden çıkartılır.
4. İtron 1'in diziden çıkartılmış durumu.
5. İtron 2 diziden çıkartılır (Prosessing).
6. İtronlar diziden çıkartılır ve 3 ekson birbirine yapışarak matür mRNA oluşur.
7. Translasyon sonucu beta-globin zinciri meydana gelir.

genin 5' kısmı metilasyona uğrayarak modifiye olur. Metilasyonun olduğu yere CAP yeri olaya CAPPING adı verilir. Sonra heterojen nükleer mRNA'dan her iki intron sırayla enzimatik olarak kesilip diziden çıkarılır. Bu olaya da PROSESSING denir. İtronlar ayrıldıktan sonra eksonun verici yeri ile alıcı yeri birbirine yapışır. Bu yapışmanın olabilmesi için eksonun verici yeri içinde guanin veya tymin yani GT dizisi, alıcı yerinde adenin veya guanin yani

AG dizisinin bulunması gerekir. Aksi takdirde anormal ekson ya-
pışmasına neden olmakta ve sonuç olarak anormal mRNA oluşmakta-
dır. Bu nükleotidler birleşme fonksiyonunda çok önemli görevle-
re sahip bulunmaktadır.

Bu olaylardan sonra RNA şifreleme dizisinin 3' kısmına u-
yan DNA parçasında transkripsiyon devam eder ve burada bulunan
korunmuş dizi transkripsiyonu keşerek, adenozinlerin birbirle-
rine eklenmesiyle poli A dizisinden oluşan zincirin meydana gel-
mesine neden olur. Yeteri kadar adenozin birleştikten sonra poli-
adenilasyon signalıyla poli A yapımının kesildiği düşünülmektedir
(56,84,113,116). Poli A dizisi mRNA'nın nükleustan sitoplazmaya
taşınmasında ve sitoplazmada stabil olmasında önemli görev alır
(84).

Bu aşamadan sonra mRNA hücre sitoplazmasının poliribozom-
ları üzerine yerleşerek transfer RNA'nın taşıdığı amino asitle-
rin sahip olduğu genetik bilgiye uygun olarak birbirlerine bağ-
lanmasını sağlar. Sonuç olarak polipeptid zinciri yani globin
sentezi gerçekleşmiş olmaktadır. DNA'daki bilgileri protein şek-
line dönüştüren bu işleme translasyon adı verilmektedir(25,56).
Şekil 3'te globin sentezi şematize edilerek özetlenmiştir.

Messenger RNA üzerindeki üç nükleotid bazı bir amino asi-
ti şifrelemekte ve bu üçlü baz dizisine CODON adı verilmektedir.
Buna göre alfa genindeki kodon sayısı ile beta genindeki kodon sa-
yısı farklıdır. Alfa zinciri (14 x 3) 423 bazı içermektedir. Pro-
tein sentezini başlatan ve sonlandıran kodonlar da gözönüne alı-
nırsa alfa mRNA'da en az 429 bazın görev yaptığı düşünülmektedir
(56,117)

Globin geninin herhangi bir bölgesinde meydana gelen bir
defekt polipeptid sentezinin herhangi bir aşamasında bozulmasına
globin zincir sentez eksikliğiyle karakterize talassemi sendrom-
larının oluşmasına neden olmaktadır. Talassemi sendromlarında ta-
nımlanan defektler özet olarak dört ana grupta toplanabilir.

- 1- Transkripsiyon defektleri
- 2- Processing defektleri
- 3- Translasyon defektleri
- 4- Gen delesyonu

TALASSEMI SENDROMLARI

Hemoglobinin globin zincirlerinden bir veya birden fazlasının yapım hızının normalden az olması veya hiç yapılamamasına talassemi adı verilir (3,62,73,77,81,82,111,114-116). Yunanca "Thalas" yani Akdeniz anlamına gelen bir kelimedenden türetilmiştir (3,73,116). İlk vakalar Yunan, İtalyan ve Suriye-Ermeni asıllı çocuklarda saptanmıştır (3).

Talassemi herne kadar Akdeniz ülkeleri, orta Doğu, Hindistan ve Uzak Doğu'ya yayılan bir kuşak boyunca sık rastlansa da dünyanın her yerinden sporadik vakalar bildirilmiştir. Beta Talassemi heterozigot sıklığı Sardinya'da % 13, Kıbrıs'ta % 18, Yunanistan'ın orta bölgesinde % 10, İspanya'da % 3.5, Lübnan'da % 3 olarak bulunmuştur. Ayrıca Uzak doğu ülkelerinden Tayland'da % 4.8, Vietnam'da % 8 sıklıkta olduğu bildirilmektedir (34,35,39,117,120). Türkiye'de ise Arcasoy ve Arkadaşları tarafından yapılan çalışmada beta talassemi taşıyıcılığı % 2.1 olarak bildirilmiştir (19).

Talassemiler yapımı etkilenmiş olan globin zincir tipine göre alfa, beta, deltabeta vs. talassemiler şeklinde adlandırılırlar. Dünyada en sık rastlanan talassemi tipi beta ve alfa talassemileridir (64,118). Talassemiler ayrıca etkilenen globin zincirinin yapılıp yapılamamasına göre de iki tipe ayrılırlar. Örneğin beta talassemide beta zincir yapımı azalmışsa beta⁺, hiç yapılamıyorsa beta⁰ talassemi olarak adlandırılırlar (62,85,117,118). Talassemiler özellikle eskiden malarianın endemik olduğu bölgelerde yaygın olarak bulunmaktadır (3,60,64,84,85,118).

Çalışmamızın temelini oluşturan ve Ülkemizde en sık talassemi tipi olan beta talassemi, özellikle beta talasseminin moleküler biyolojisi ve taşıyıcılığı üzerinde son gelişmeler ışığında ağırlıklı olarak durulacaktır.

BETA TALASSEMIDE TANIMLANAN MOLEKÜLER DEFEKTLER

1970 yılından itibaren DNA teknolojisinin talassemi sendromlarında kullanılmasıyla bu hastalıkların moleküler defektleri tanınmaya başlamış, tanımlanan mutasyon sayısı gittikçe artmıştır (17,26,62,101,117). 1988 ortalarında tanımlanan nokta mutasyonu sayısı 51'e çıkmıştır (64). Tablo 3'de Dünyada tanımlanan beta talassemi nokta mutasyonlarının listesi verilmiştir. Beta

TABLO 3 : Beta talassemide nokta mutasyonları(64).

Mutasyon Bölgesi	Tip ^x	Etnik grup
I. Nonfonksiyone mRNA Anlamsız mutasyonlar		
1. Kodon 17(A-T) ^{xx}	0	Çin
2. Kodon 39(C-T)	0	Akdeniz,Avrupa
3. Kodon 15(G-A)	0	Asya Hindistan
4. Kodon 121(A-T)	0	Polonya
5. Kodon 37(G-A)	0	Suudi Arabistan
6. Kodon 43(G-T)	0	Çin
Dizi Kayması(Frameshift) Mutasyonları		
7. -2 Kodon 8	0	Akdeniz
8. -1 Kodon 16	0	Asya Hindistan
9. -1 Kodon 44	0	Kürt
10. +1 Kodon 8/9	0	Asya Hindistan
11. -4 Kodon 41/42	0	Asya Hindistan, Çin
12. -1 Kodon 6	0	Akdeniz
13. +1 Kodon 71/72	0	Çin
14. +1 Kodon 106/107	0	Zenci
15. -1 Kodon 76	0	İtalyan
16. -1 Kodon 37	0	Kürt
II.RNA Processingi Mutasyonları		
splice Junction Değişikliği		
1. IVS-1 nt 1 (G-A)	0	Akdeniz
2. IVS-1 nt 1 (G-T)	0	Asya Hindistan, Çin
3. IVS-2 nt 1 (G-A)	0	Akdeniz, Tunus,Zenci
4. IVS-1 nt 2 (T-G)	0	Tunus
5. IVS-1 3'-ve -17 bp	0	Kuveyt
6. IVS-1 3'-ve -25 bp	0	Asya Hindistan
7. IVS-2 3'-ve (A-G)	0	Zenci(U.S.A)
8. IVS-2 3'-ve (A-C)	0	Zenci(U.S.A)
Consensus Değişiklikleri		
9. IVS-1 nt 5(G-C)	+	Asya,Hint.Çin, Malezya
10. IVS-1 nt 5(G-T)	+	Akdeniz, Avrupa
11. IVS-1 nt 5(G-A)	+	Cezayir
12. IVS-1 nt 6(T-C)	+	Akdeniz
13. IVS-1 nt-1(G-C)(Kodon 30)?		Tunus
14. IVS-1 nt-3(C-T)(Kodon 29)?		Lübnan
15. IVS-2 3'-ve CAG-AAG	+	İran,Mısır
16. IVS-1 3' ve TAG-GAG	+	Suudi Arabistan
Internal IVS Değişiklikleri		
17. IVS-1 nt 110(G-A)	+	Akdeniz
18. IVS-1 nt 116(T-G)	0	Akdeniz
19. IVS-2 nt 705(T-G)	+	Akdeniz
20. IVS-2 nt 745(C-G)	+	Akdeniz
21. IVS-2 nt 654(C-T)	0	Çin

Mutasyon Bölgesi	Tip	Etnik Grup
• Kodlama Bölgesi Substitasyonu		
22. Kodon 26(G-A)	Hb E	Asya, Avrupa
23. Kodon 24(T-A)	+	Zenci
24. Kodon 27(G-T)	Hb Knossos	Akdeniz
III. Transkripsiyon Mutasyonları		
1. -88 C-T	+	Zenci, Asya, Hindistan
2. -87 C-G	+	Akdeniz
3. -31 A-G	+	Japon
4. -29 A-G	+	Zenci, Çin
5. -28 A-C	+	Kürt
6. -28 A-G	+	Çin
IV. RNA Ayrılması + Poliadenilasyon Mutasyonları		
1. AATAAA-AACAAA	+	Zenci (U.S.A)
2. AATAAA-AATAAG	+	Kürt
V. Cap Bölgesi Mutasyonları		
1. +1 A-C	+	Asya, Hindistan
VI. Durağan olmayan globinler		
1. Beta ^{Indianapolis} Kodon(112) +		Avrupa
2. Beta ^{Shows-Yakushi} Kodon(10) +		Japon
x : Beta ⁰ veya beta ⁺ talassemi		
xx : Adenin yerine tymin gelmesi vs.(A-T)		

talassemide tanımlanan bu mutasyonların bazıları ise :

1- Transkripsiyon Defektleri : Transkripsiyonun doğru başlayabilmesini sağlayan promotor bölgesindeki defektlerdir. Beta⁺ talassemi fenotipine neden olurlar. Promotor bölgesinde nükleotid değişimine bağlı en az 6 farklı beta talassemi fenotipi tanımlanmıştır (64). Bunlardan ikisi -87 ve -88 pozisyonunda PuCPuCCC bölgesindeki değişiklik sonucu meydana gelir ve hafif talassemiye neden olur. Zencilerde sık, Akdeniz ve Güneydoğu Asya toplumlarında daha seyrek rastlanır. TATA bölgesinde -28, -29, ve -31 pozisyonlarında olmak üzere beta talassemi nedeni en az üç mutasyon tanımlanmıştır. Bu mutasyonlar sırasıyla Kürt Yahudisi, zenciler ve Japon bir hastada tanımlanmış olup, genellikle kan transfüzyonlarına gereksinim göstermezler (56,64,111). Ayrıca Afrika tipi hafif beta talassemide de bu tip defektler tanımlanmıştır(56,86).

2- Splicing Defektleri : RNA'nın processinginde önemli rol oynayan yapışma yerlerini tutan veya bu bölgelere yakın yerleri ilgilendiren mutasyonlar processing defektine neden olmakta beta⁺ ve beta⁰ talassemi oluşturmaktadır (56,85). Bu mutasyonlar:

a) Birleşme yerlerinde değişmeyen GT ve AG dinükleotidlerinde bir substitusyon yapışma için gerekli amino asit dizisini bozar.

b) Birleşme yerlerine yakın bölgelerdeki substitusyonlar ahenkli çalışan amino asit sırasını bozar. Bu durumda arada bir normal yapışma olacağı için beta⁺ talassemi oluşur.

c) Intronlardaki nükleotid substitusyonu verici veya alıcı yer özelliği gösteren bölgelerin oluşmasını sağlar.

d) Ekson içinde bulunan yapışmada kullanılmayan kriptik yerler aktive olur. Böyle mutasyonlar aynı zamanda bir amino asit substitusyonuna neden olur. HbE'nin temeli olan mutasyon kriptik bir bölgeyi aktive eder (64).

Akdeniz ülkelerinde sık görülen beta talassemi tipinde IVS-1 içinde 110. pozisyonda G yerine A nükleotidinin gelmesi ile yeni alıcı yeri oluşmakta ve sonuç olarak IVS-1'de 19 nükleotidlik bir bölüm mRNA içinde kesilmeden kalmaktadır (56).

3- Poliadenilasyon Signal Defekti : Poliadenilasyon signalinde T yerine C nükleotidinin gelmesiyle Amerika'da zenci bir hastada beta talassemi meydana gelmiştir (56,64).

4- RNA Translasyonunu Etkileyen Mutasyonlar : Bu mutasyonlar sonucu protein sentezi ya mutasyonun olduğu yerde erken veya birkaç kodon ötede durduğundan beta⁰ talassemi fenotipi meydana gelmektedir. Bu mutasyonlar : a) Anlamsız, b) Kodon dizi kayması (Frameshift) mutasyonu sonucu oluşur (56,84).

a) Anlamsız Mutasyon : İlk kez Çin'li bir vakada 17. kodon A→T mutasyonu ile anlamsız hale gelmiş ve translasyonu durdurmuştur. Ayrıca Hindistan'da 15. kodonda G→A mutasyonu, Sardinya'da talassemiklerin büyük bir bölümünü 39. kodondaki CAG yerine TAG terminasyon kodonu gelerek anlamsız mutasyon oluşturmaktadır (38,56).

b) Kodon Dizi Kayması (Frameshift) Mutasyonu : Kodon dizi kayması bir, iki veya daha fazla baz çiftinin delesyonu veya bir baz çiftinin sokulması sonucu oluşur. Günümüze kadar en az 10 farklı kodon dizi kayması tanımlanmış olup bunlardan bir tanesi

8. kodonda iki baz delesyonu sonucu yeni bir kodon okuma sistemi gelişerek 21.kodon anlamsız hale gelmektedir. Bu matasyon bir Türk hastada tanımlanmıştır (56,85,116,118).

5- Missense Mutasyonlar : Bazı mutasyonlar nadiren stabil olmayan beta globin yapımına neden olurlarsa bir çeşit beta talassemi meydana gelir. Bu globinler sentez edildikten hemen sonra bozulurlar. Beta zincirinde 112. ve 110. durumda bulunan amino asitlerdeki değişiklik sırasıyla beta^{Indianapolis} ve beta^{Showa-Yakushi} vakalarını oluşturmaktadır (64).

6- Delesyona Bağlı Beta Talassemiler : Beta talassemiler genellikle tek baz değişikliği sonucu olduğu halde delesyona bağlı en az üç farklı beta^o talassemi tanımlanmıştır(56,64,90). Bu delesyonlar özetle :

a) Hindistan'lı talassemiklerin % 30'unda görülen beta geninin 3' bölgesinde 0.6 kb.lık bir delesyon.

b) Literatürde Dutch tipi olarak bilinen Hollanda'lı bir beta^o talassemi vakası daha sonra incelenmiş ve beta geninin tamamen delesyona uğradığı gösterilmiştir.

c) Amerikalı bir zencide beta geninin 5' bölgesinden itibaren 1.35 kb.lık bir delesyon olduğu bildirilmiştir.

Beta talassemi mutasyonları dünya üzerinde farklı bir şekilde dağılmış olup her toplumda 8-10 tür mutasyon olduğu düşünülmektedir. Akdeniz ülkelerinde 20 farklı moleküler defekt tanımlanmıştır. Bu defektlerin 19 tanesi tek baz substitüsyonu veya ufak delesyonla oluşmaktadır. Bir tanesi ise yalnız bir Türk hastada tanımlanmış olup büyük gen delesyonu sonucu ortaya çıkmaktadır (34,64). Bu moleküler defektlerin 12 tanesi beta⁺ geriye kalan 8 tanesi ise beta^o talassemiye neden olmaktadır. Ayrıca Akdeniz ülkelerinde saptanan mutasyonların 12 tanesi çok nadir olup bir veya birkaç hastada tanımlanmıştır. 8 tanesi ise sık rastlanmaktadır. Sık rastlanan moleküler defektlerin Akdeniz Ülkelerindeki yayılımı ise şu şekilde olmaktadır. Beta^o 39 mutasyonu Sardinya dahil batı Avrupa'da İspanya ve Portekiz'de yaygın iken, doğu Akdeniz ülkeleri, Türkiye, Kıbrıs'ın Türk kesimi ve Lübnan'da en yüksek sıklıkta olmak üzere beta⁺ 110 mutasyonu yaygındır (1,17,34,39,64,108). Tablo 4'te beta talassemi mutasyonlarının bazı Akdeniz toplumlarındaki dağılımı görülmektedir.

TABLO 4 : Beta talassemi mutasyonlarının Akdeniz Toplumlarındaki spektrumu (64).

Mutasyon	E T N İ K G R U P			
	İspanyol	Sicilya	Yunan İtalyan	Türk
IVS-1 nt 110	5	26	53	40
Anlamsız Kodon 39	37	35	44	2
IVS-1 nt 6	9	28	17	22
IVS-1 nt 1(G-A)	2	3	15	4
IVS-2 nt 1			12	8
Frameshift 6			3	
Frameshift 8	1		1	13
IVS-2 nt 745		3	9	1
IVS-2 nt 705	1			
- 87		1	2	2
IVS-1 nt 5(G-T)			2	2
Frameshift 76		1		
Toplam	55	97	158	94

Akdeniz'den Güneydoğu Asya'ya doğru Pakistan ve Hindistan'da intron 1'de beta 5 mutasyonu Çin ve Güney Doğu Asya'da 41-42 pozisyonda dizi kayması (Frameshift) mutasyonu ön plana çıkmaktadır (31,64,65).

Türkiye'de ise dış merkezlerle işbirliğiyle yapılan birkaç çalışmada beta⁺ IVS-1-110(A-G) % 36-40, beta⁺ IVS-1-6(T-C) % 12-22 olmak üzere ilk iki sırada bulunmuştur (1,23,64,67)

BETA TALASSEMİ TRAIT

Beta globin sentezini etkileyen bir mutasyon için heterozigot olan kişilerde ortaya çıkan talassemi formudur. İlk kez 1925 yılında İtalyan Rietti tarafından bir sendrom olarak tanımlanmış 1945'lerde başka otoriteler tarafından inceleyerek açıklığa kavuşturulmuştur (3,85). Bu hastaların malaryaya karşı dirençli oldukları uzun süredir bilinmektedir (3,60,81). Basit beta talassemi heterozigotları genellikle asemptomatiktir. Bu nedenle çoğu zaman tanıları konulamamaktadır. Hipokromi, mikrositoz anemili veya

anemisiz olabilir. Demir veya folik asit eksikliği, hamilelik ve bazı kalıtsal hastalık durumlarında, süt çocukluğu döneminde beta talassemi taşıyıcılarında anemi ağırlaşabilir (55,56,81,85). Beta talassemi taşıyıcılarının yaklaşık yarısında hafif anemi ve halsizlik, dörtte birinde splenomegali nadir olarak hepatomegali olduğu gösterilmiştir. Organomegaliye daha çok Akdeniz uluslarında rastlanmaktadır (77,79,81,94).

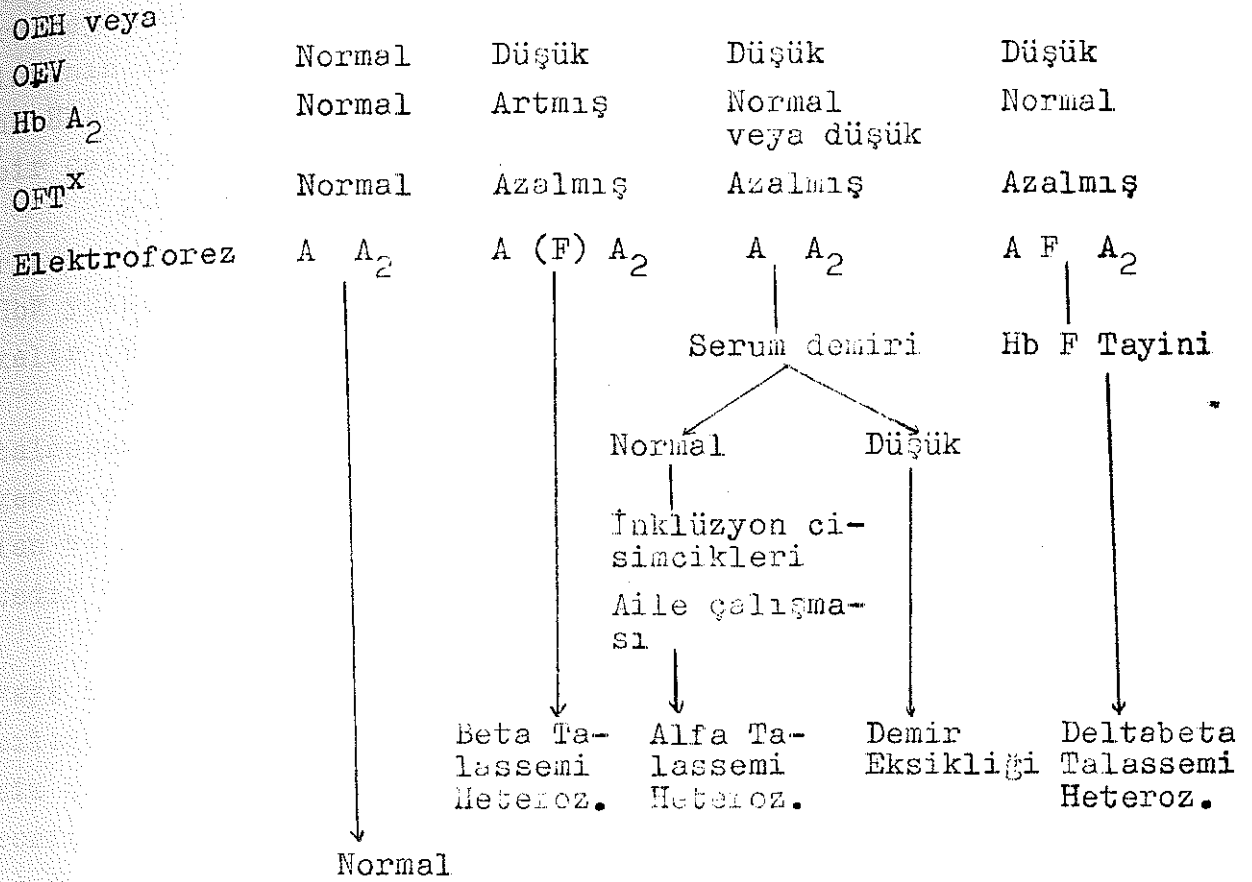
Beta talassemi trait olgularının periferik kan yaymalarında genellikle farklı derecelerde hipokromi mikrositoz vardır. Anisitoz target hücreleri ve nadiren bazofilik noktalanma olabileceği gibi tamamen normal veya normale yakın kırmızı küre morfolojisi gösteren taşıyıcılarda bulunmaktadır.

Ortalama eritrosit hemoglobini (OEH), ortalama eritrosit volumu (OEV) gibi kırmızı küre indeksleri düşüktür. Ayrıca eritrositlerin osmotik direnci artmış olarak bulunur. Hafif derecede periferik eritrositoz olabilir, serum demiri normal veya hafif artış gösterebilir (3,77,79,81,117).

Ortalama eritrosit hemoglobini genellikle beta zincir sentezinin ağırlığını yansıttığı bildirilmektedir. Beta⁰ talassemilerde beta⁺ talassemilerden daha düşük bulunduğu gösterilmiştir. OEH beta talassemisinin çeşitli tiplerinde 18-26 pg arasında değişebilmektedir. (81).

Beta talassemi heterozigotlarında HbA₂ düzeyi genellikle yüksektir. Bazı olgularda ise HbF de yüksektir. Bu nedenle beta talassemi taşıyıcılığı tanısında en önemli kriter HbA₂ düzeyinin yüksekliğidir. Geniş kitle taramalarında HbA₂ tayini pratik olmadığından OEH, OEV gibi eritrosit indeksleri veya tek tüp osmotik fragilite testi yapılması, düşük bulunanlarda HbA₂ tayinine gidilmesi önerilmektedir (28,37,51,61,116,117). Daha sağlıklı bir çalışma için talassemi taşıyıcılarıyla çoğu zaman karışabilen demir eksikliği anemisinin dışlanması gerekir. Bu amaçla OEH düşük HbA₂ düzeyi normal olanlarda serum demiri, total demir bağlama kapasitesi veya eritrosit serbest protoporfirin tayini yararlı olacaktır. Zira bu taşıyıcılarda demir eksikliği varsa HbA₂ yüksekliği gözlenebilir (85). Bu durumda demir eksikliği tedavi edildikten sonra HbA₂ tayininin tekrarı gerekmektedir (36,56). Beta talassemi heterozigot taramasında yardımcı olabilecek birçok şemalar önerilmektedir (35-37,81).

TABLO 4 : Beta talassemide tarama şeması (35).



OFT^x: Tek tüp osmotik fragilite testi.

Beta talassemi taşıyıcılarının periferik kan retikülositlerinde beta:alfa globin sentez oranı 0.5-0.7 olarak bulunur (81, 85,116). İn vitro hemoglobin sentezinin taşıyıcıların saptanmasında çok yararlı olduğu gösterilmiştir (56). Bunun dışında HbA₂ düzeyi normal olan bazı kişilerin çocuklarında da talassemi görülmektedir (43,56,85,117). HbA₂' si normal olan bu tip taşıyıcılara sessiz (silent) taşıyıcı adı verilmektedir (7,9,56,85,117). İlk kez Schwartz tarafından, Ülkemizde ise Aksoy tarafından bildirilmiştir (7-9,48,102). Bu vakaların in vitro hemoglobin zincir sentezi ile incelenmesinde çok hafif dengesizlik veya normale yakın sonuçlar elde edilmiştir (9,56). Bu çalışmalarda HbA₂ düzeyi normal olduğu halde taşıyıcıların diğer hematolojik değerleri normal veya normale yakın bulunmaktadır (8,85).

Beta talassemi taşıyıcıları minor hemoglobinler olan HbA₂ ve HbF miktarına göre şu şekilde sınıflandırılmaktadır (85,117).

1- Yüksek HbA₂ ile giden form : Beta talasseminin klasik şekli olup en sık rastlanan formdur. HbA₂ değeri laboratuarlara göre değişmekle birlikte % 3.5 - % 8 arasındadır. Dinçol ve Arkadaşlarının 164 talassemi taşıyıcısı üzerinde yaptıkları bir çalışmada HbA₂ yüksekliği vakaların % 80'ininde, Hacettepe'de yapılan bir çalışmada ise % 96'sında saptanmıştır (48,56).

2- HbF yüksekliği ile giden form : Delta ve beta zincirlerinde meydana gelen bazı delesyonlar bu fenotipi ortaya çıkarırlar. HbF yüksek fakat HbA₂ düşüktür. Deltabeta talassemi tipi meydana gelir (85,118).

3- HbA₂ ve HbF yüksekliği ile giden form : Bu formda beta talassemi mutasyonuna ek olarak HbF yapımını arttıran ikinci bir genin olduğu kabul edilmektedir. Bunun da genellikle heterojen olan ve kesin tanımlanamayan İsviçre tipi HFPH olduğu düşünülmektedir (85).

4- Normal HbA₂ ile seyreden form : Bu formda HbA₂ normal veya düşük olmasına karşılık beta talassemi taşıyıcıları, taşıyıcılığın karakteristik kırmızı küre morfolojisini gösterirler. Sessiz taşıyıcılardan kırmızı küre morfolojisinin hipokromik ve mikrositer olmasıyla ayrılır. Zira her iki formda da HbA₂ normal veya düşüktür. Bu talassemi fenotipinin genellikle beta ve delta gen fonksiyonlarını azaltan bir mutasyonda olduğu bildirilmektedir(85).

Son yıllarda HbF'sı % 10 ve altında HbA₂ düzeyi yüksek bulunan ve bu bulgularla talassemi taşıyıcısı fakat klinik hemotolojik bulgularla homozigot talassemi olarak düşünülen vakalar rapor edilmiştir. Portekiz'de daha sık bulunduğundan Portekiz tipi talassemi adı verilen bu talassemi tipine Ülkemizde de rastlandığı bildirilmektedir (15,56). Bu hastaların bir kısmında dört yerine beş veya daha fazla alfa globin geni bulunmuştur (56).

Daha önce de bildirildiği gibi klinikte demir eksikliği anemisi ile ayırıcı tanı çok önemlidir. Bu konuda kırmızı küre indeksleri bazan yardımcı olmasına rağmen çoğu zaman yeterli olmamaktadır. Taşıyıcılarda hafif eritrositoz buna karşılık demir eksikliğinde eritrosit sayısı azalmıştır. Çoğu zaman serum Fe, TDBK ve HbA₂ tayini gerekmektedir (52,56,85). Klinikte demir eksikliği gibi düşünülen demir tedavisine cevap vermeyen hastalar mutlaka beta talassemi minor yönünden araştırılmalıdır.

BETA TALASSEMİ INTERMEDIA

Laboratuvar incelemeleriyle beta talassemi major bulgusu veren bazı hastalarda klinik seyrin hafif olduğu gözlenmiştir. Bu hastalarda hemoglobin 7-8 gr/dl veya üstünde seyrederek. Ve genellikle kan transfüzyonuna gerek duymazlar veya seyrek gereksinimleri olur. Bu hastalar genetik olarak çok heterojendirler. Beta⁰ talassemi, beta⁺ talassemi, HPFH ile birlikte olan beta talassemiler, ebeveynlerde HbA₂ düzeyi normal talassemiler ve HbF düzeyi %10 altında olan bazı talassemiler beta talassemi intermedia kliniği verebilirler (7,8,10,15,56,85,118).

Talassemi intermedia vakalarında klinik bulgular mutasyonun tabiatına uygun olarak değişkendir (57,85). Bazı olgularda beta talassemi major benzeri klinik ve hemotolojik değişiklikler saptanırken bazı olgular tamamen normale yakındır. Hacettepe'de takip edilen iki hastada bacakta ülser, bir başka iki hastada osteoporozla bağlı spontan kırık gözlendiği bildirilmektedir. Aksoy'un iki vakasında da çok nadiren görülen porselen safra kesesi ve kemik değişiklikleri tesbit edilmiştir (56).

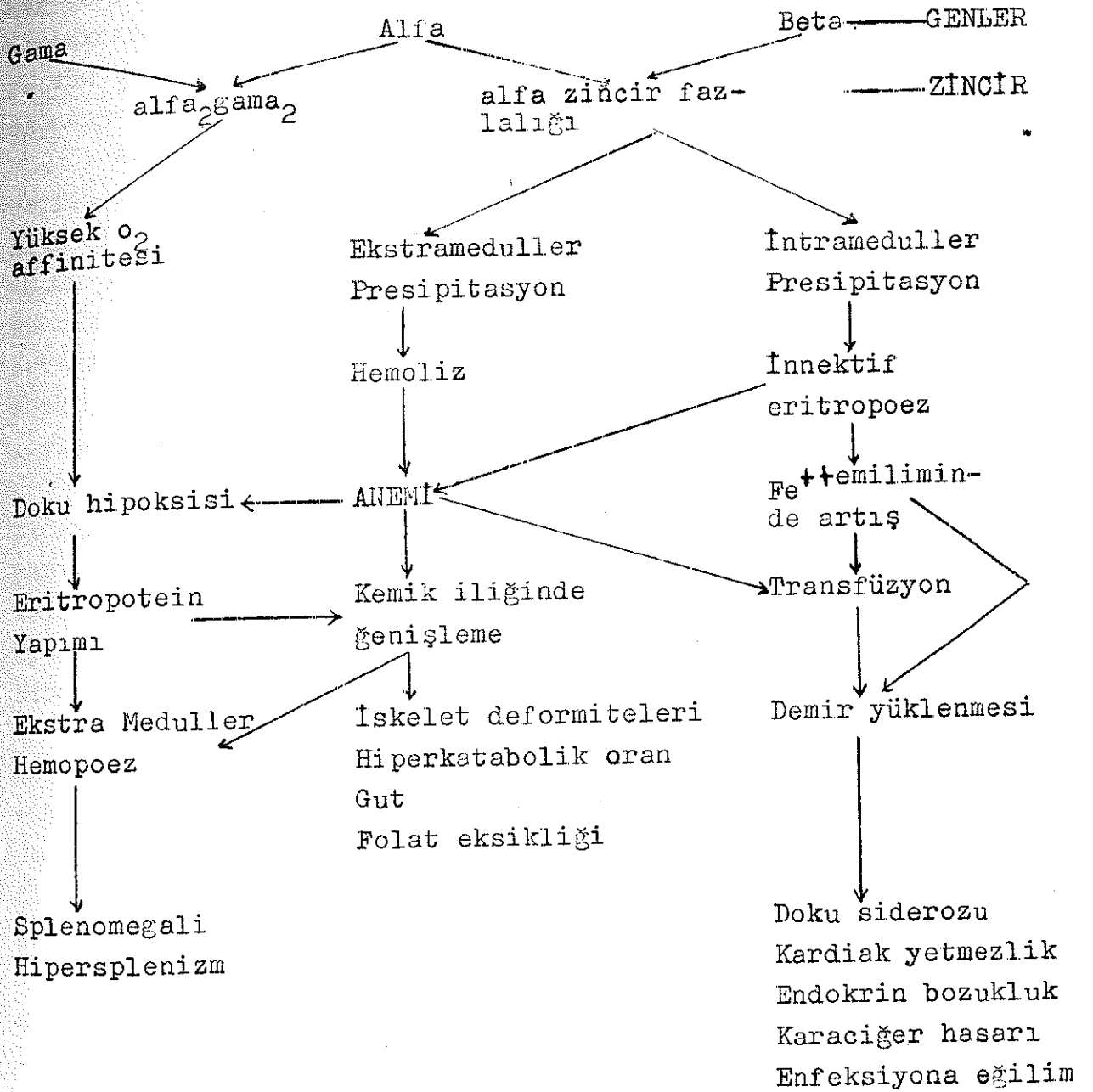
Talassemi intermedialı hastalarda aşırı kemik iliği aktivitesi olup, demirin barsaklardan absorpsiyonu artmıştır. Böylece bu hastalara kan transfüzyonu yapılmasa bile organlarda demir birikimi olmaktadır. Bu nedenle talassemi intermedialı hastalara kemik iliği aktivitesini bastırmak amacıyla özellikle adölesan yaştan itibaren hipertransfüzyon ve şelasyon tedavisi önerilmektedir (56,85,117).

Ülkemizde çeşitli merkezlerde yapılan çalışmalarda en sık olarak heterozigotlarda HbF ve HbA₂ yüksekliği ile giden beta⁰ talassemi intermediaya rastlanmaktadır. Ayrıca IVS-2-1(G-A) en sık beta⁰ talassemi intermedia nedeni, IVS-1-6(T-C) ise en sık beta⁺ talassemi intermedia nedeni olarak bulunmuştur. FSC8 dinükleotid delesyonlu vakanın da klinik ve hemotolojik olarak hafif seyirli olduğu gözlenmiştir (8,15,56,57).

BETA TALASSEMİ MAJOR

Talassemi major iki ağır talassemi geninin aynı kişide bulunmasıyla ortaya çıkan ve seyri oldukça ağır olan bir hemolitik anemi tablosudur. Bu kişilerde talassemi mutasyonu için homozigotluk yani beta⁺/beta⁺ veya beta⁰/beta⁰ sözkonusu olabilir. Veya iki

TABLO 5 : Beta talasseminin fizyopatolojisi.



farklı talassemi mutasyonu için heterozigotluk yani β^0/β^+ olabilir. Bu son guruba birleşik heterozigot adı verilmektedir.

Beta talassemi majorun fizyopatolojisi ayrıntılı bir şekilde incelenmiştir (Tablo 5). Beta zincir sentezinin azalması veya yokluğu alfa zincir sentezinde artışa neden olur. Aşırı artmış olan alfa zincirleri kırmızı küre öncül hücrelerinde çökerek hemolize yol açmaktadır. Böylece talassemi hastalarda ineffektif eritropoez en önemli olay olarak karşımıza çıkmaktadır. Kemik

iliği ileri derecede genişler, myeloid/eritroid oranı tersine döner ve eritroblast safhasında matürasyon duraklar. Bu durum kemik korteksinde incelmeye ile birlikte kafa kemikleri başta olmak üzere tüm kemiklerde patolojik değişikliklere neden olur. Hastalarda da mongoloid yüz görünümü ortaya çıkar.

Aşırı aktif kemik iliği gastrointestinal sistemden demir emilimini arttırır. Bir taraftan transfüzyona bağlı demir yüklenmesi diğer taraftan absorpsiyon artışı aşırı demir yüklenmesine neden olur. Bu demir vücutta başta karaciğer ve dalak olmak üzere tüm organlarda birikerek hemosiderozise neden olur. Hemolizin artması ve myeloid metaplaziye bağlı olarak karaciğer ve dalak büyür (81,85,117,118). Beta talassemi majorda fizyopatolojik olaylar Tablo 5'te şematize edilmiştir.

Klinik : Doğum sırasında major hemoglobin komponenti HbF olduğundan bebekler normal doğar. Ancak doğumdan sonra gama zincir yapımının giderek azaldığı buna karşılık beta zincir sentezinin arttığı aylardan itibaren anemi belirginleşmeye başlar. Yani 3. aydan sonra ortaya çıkmaya başlar ve ilerleyici seyir gösterir. Birçok olguda 1 yaşına doğru kan transfüzyon gereksinimi başlar.

Bebeklerde solukluk, kilo alamama, huzursuzluk, gastroenterit gibi eneksiyonlara eğilim, hepatosplenomegali ve karın şişliği ilk görülen semptomlardır. Düzenli ve yeterli transfüzyon ve şelasyon tedavisi alınmayan hastalarda büyüme gelişme geriliği, kemik değişiklikleri ve hemosideroza bağlı komplikasyonlar gelişir.

Derin anemi, periferik yaymada eritrosit yapısında belirgin hipokromi, anizopoikilositoz, polikromazi, bazofilik noktanlanma ve bol sayıda normoblast, hemoglobin elektroforezinde HbF'nin yüksek, HbA'nın düşük veya hiç olmamasıyla beta talassemi majör tanısı konur. Tanıyı kesinleştirmek için globin zincir sentez oranı, moleküler defekt tayini için de globin zincir sentez analizleri yapılmaktadır.

Beta talassemi majör hastalarda gerek kan transfüzyonları gerekse gastrointestinal sistemden emilimin artması nedeniyle vücutta aşırı demir yüklenmesi meydana gelir. Demir başta karaciğer, dalak, kalb, pankreas sürrenaller ve diğer endokrin organlarda birikerek fonksiyon bozukluklarına neden olur (3,18,20, 81,84,85,94,117,118). Beta talassemi majör vakalarda büyüme

geriliği ve seksüel matürasyonda gerilik olmaktadır. Bu hastalarda somatomedin-C eksikliğinin yanısıra, çinko eksikliği ve adrenal bezin hemosiderozuna bağlı olarak ACTH-kortizol ilişkisinin bozulması, kısa boy ve püberta gecikmesinden sorumlu olduğu düşünülmektedir (2,24,85,106). Yine bu hastalarda pankreas beta hücrelerinin hasarı sonucu önceleri insuline direnç ve hiperinsulinizm daha sonra diabet geliştiği rapor edilmiştir (80).

Beta talassemi majorlu hastalarda demirin nötrofiller içinde birikmesine bağlı olarak fagositozun bozulduğu muhtemelen opsonizasyonun azaldığı ve hücrel immünitede yardımcı T hücrelerinin azalması, baskılayıcı T hücrelerinin artması şeklinde bozukluklar gösterilmiştir (30,66).

Tedavi : Günümüzde talassemili hastalarda genetik defektin tedavisi mümkün olmadığından semptomatik tedavi uygulanmaktadır. Bu tedavi anemi, aşırı demir birikimi, hipersplenizm ve özel bakıma yönelik olmaktadır.

1) Kan Transfüzyonu : Son zamanlarda Dünya Sağlık Örgütü hemoglobini minimal 10gr/dl, ortalama 12 gr/dl civarında tutacak şekilde hipertransfüzyon rejimini önermektedir. Bu tedavi rejiminde genç eritrositlerin (neocyt) verilmesiyle transfüzyon gereksiminin dolayısıyla demir birikiminin azaldığı gösterilmiştir (56,84,118). Bunun yanısıra endojen eritropoezi tamamen durduracak şekilde hasta hemoglobini 14-15 gr/dl'de tutacak şekilde süpertransfüzyon rejimini önerenler bulunmaktadır (84).

2) Şelasyon Tedavisi : Aşırı demir birikimini önlemek amacıyla demir bağlayıcı ajanlar kullanılmaktadır. Şimdilik kullanım alanı olan tek şelatör ajan desferriksamindir(84,85,94). Günümüzde, en iyi sonucun, desferriksaminin 8-12 saatlik subkutan ve infüzyon pompalarıyla haftanın 4-5 günü verildiğinde, alındığı gösterilmiştir. Doz olarak da 25-40 mg/kg olarak önerilmektedir (85, 94). Yüksek dozlar kullanılmışsa da görme işitme bozuklukları gibi toksik yan etkilerinin ortaya çıkması ve büyüme gelişme geriliğine neden olduğundan önerilmemektedir (100).

Desferriksamin tedavisine 3 yaşından veya 20-30 transfüzyondan sonra başlanmasının uygun olacağı, zira erken başlanan şelasyonun büyüme ve gelişme geriliğine neden olduğu gösterilmiştir (85,115). Günümüzde daha ucuz ve oral kullanılabilen bir şelatöre ihtiyaç vardır. Bu amaçla yoğun çalışmalar sürdürülmektedir (56,68,84,85).

3) Splenektomi : transfüzyon ihtiyacı 250 ml/kg/yıl eritrosit süspansiyon olan hastalarda splenektomi endikasyonu vardır (56,85).

4) Bu hastalara folik asit E vitamini ve askorbik asit gibi vitaminlerin, ayrıca eser elemntlerden çinkonun verilmesi büyüme ve gelişmeyi olumlu yönde etkilediği gösterilmiştir (2, 24,84,85).

Yeni Tedavi Yöntemleri :

1) Fetal dönüşüm modülasyonu : Gama zincir yapımının aktif olduğu HPPH, deltabeta talassemi ve haplotip 31'li Sickle cell anemili hastalardaklinik seyir hafiftir (56,84,117,118). Bu gözleme dayanarak bir süredir represe olmuş gama genlerinin reaktivasyonunu sağlayarak ağır seyirli beta talassemi major tedavisi yapılmaya çalışılmaktadır (56,84,85). Bu amaçla da kanser tedavisinde kullanılan 5-azacytidinin doku kültürü hücrelerinde gama genlerini reaktive ettiği gösterilmiştir. 7 gün süreyle sınırlı sayıda hastaya uygulanmış başarılı sonuçlar alınmıştır (56,85). 5-Azacytidinin karsinojenik etkiye sahip olması ve kısa süre etkili olması nedeniyle şimdilik yeterince deneme yapılmadan kullanılmaması önerilmektedir (56,84).

2) Kemik iliği transplantasyonu (KİT) : HLA uygun Kardeşler arasında yapılan KİT'da ölüm oranı hala yüksektir. Thomas ve arkadaşları erken yapılan transplantasyonda 1.5 yıllık izlemden sonra % 10 mortalite % 12 talassemili yaşama dönüş ve % 78 hastaliksız yaşam, Lucaralli ve arkadaşları ilerlemiş ağır talassemili hastalarda geç KİT'da % 25 ölüm ve % 69 oranında 2 yıllık hastaliksız yaşam sağlandığını bildirmektedirler (76,85). Yaşı küçük, az transfüzyon almış hastalarda başarı şansı daha yüksektir.

Gen Tedavisi : Rekombinant DNA teknolojisinin kullanıma girmesiyle beta talassemi majorlu hastalarda gen tedavisi gündeme gelmiş bulunmaktadır. Bunun için klonlanmış normal beta globin genleri regülatör dizileriyle birlikte izole edilmekte, talassemili hastaların kemik iliği hücrelerine transfer edildikten sonra kendi kemik iliği hücreleri alıcıya tekrar verilmektedir. Bu aşamalar henüz doku kültürlerinde ve hayvan deneylerinde başarılmış bulunmaktadır (20). Yakın gelecekte talassemili hastalara uygulanabileceği ümit edilmektedir (21,84,85).

PRENATAL TANI

Beta talasseminin doğum öncesi tanısı 1975 yılında fetoskopinin geliştirilmesinden beri fetal kan örnekleme yöntemiyle globin zincir sentezinin göreceli oranlarının belirlenmesine bağlı olarak konulabilmektedir (16,41,56,64).

1- Fetal Kan Yöntemi : Fetal kan gebeliğin 18-20. haftalarında ultrasound yardımıyla ya plasental aspirasyon veya fetoskop ile göbek kordonundan alınır. Fetal hücreler H^3 -Leucin ile inkübe edilir. Karboksi metil sellüloz kromatografisi ile globin zincirlere ayrılır ve herbir zincirin içerdiği radyoaktivite hesaplanarak fetusun hasta, taşıyıcı veya sağlam olduğuna karar verilir (16,41,114). Herne kadar fetal kan incelemesi teknik zorlukların yanı sıra % 4-5 oranında fetal mortalite riski taşıyorsa da, Türkiye dahil birçok ülkede kullanılmaktadır. Bu tekniğin dezavantajı uzunca bir bekleme süresinin bulunmasıdır (56,64,114).

2-Fetal DNA İncelemesiyle Doğum Öncesi Tanı : Fetal DNA'ya amniosentez veya son zamanlarda kullanılan ve gebeliğin 8-10 haftalarında uygulanabilme avantajı olan koryonik villus biopsisinden elde edilmektedir (16,32,40,41,56,64).

A) Moleküler Lezyonun Direkt Tanımlanması (Southern Blot Yöntemi) : Bu yöntemle gen delesyonları ve genin yeniden sıralanmasına bağlı değişiklikleri tanımlamak mümkündür. Koryonik villustan elde edilen DNA restriksiyon enzimleriyle tanıma noktalarından parçalanır. Bu parçalar elektroforezle büyüklüklerine göre ayrılır ve nitrocellüler filtre üzerine geçirildikten sonra radyoaktif işaretlenmiş komplementer DNA ile birleştirilir (87).

B) Oligonükleotid Probla Tanı : Nokta mutasyonu olan durumlarda sözkonusu mutasyon bir restriksiyon enzimi kesme bölgesini değiştirmeyebilir. Bu durumda mutasyonun olduğu bölgenin aynı, 16-19 nükleotidlik oligonükleotid problar kullanılır. Sicilya'da beta talassemilerin % 95'inin 39. kodonun stop kodonuna dönüşmesinden kaynaklandığı için bu yöntem yaygın olarak kullanılmaktadır (38,41,64,88,93)

C) Restriksiyon Enzimleriyle Elde Edilen Parçaların Polimorfizmi ile indirek Tanı (RFLP Linkage Analizi) : İnsan DNA'sında her 300-400 baz çiftinde, bir defekte neden olmaksızın bir tek baz değişikliği olur. Bu değişiklikler restriksiyon enzimleriyle yeni kırılma yerleri meydana getirir veya mevcut kırılma yerlerini

ortadan kaldırırlar. Buna DNA polimorfizmi denir ve Mendel Kanunlarına göre geçer. Sözkonusu DNA polimorfizmleri genetik marker olarak kullanılır. Bu metodla yapılan doğum öncesi tanıda mayotik rekombinasyon nedeniyle teorik olarak yanılma payı vardır (27,64).

Bu yöntemin bir uzantısı haplotip analizidir. Endonükleaz restriksiyon enzimleri kullanılarak DNA dizisinin kırılma yeri olup olmadığı araştırılır. Böylece aynı enzimle benzer kırılmalar gösterenler aynı grupta toplanarak haplotip numaraları verilmiştir. Haplotip analizleriyle beta talassemisinin doğum öncesi tanısı konulabilmektedir (16,56,64). DNA'nın beta bölgesinde 17 haplotip gösterilmiştir. Bunların 14'ü genel 3'ü de bir ırkta görülmüştür. Bir talassemi mutasyonunda birden fazla haplotip görülebilmektedir (56,64).

Günümüzde beta globin geninde görülen nokta mutasyonlarını tanımlamak için kullanılan en duyarlı yöntemlerden biri DNA'nın enzimatik olarak çoğaltılması (gen amplifikasyonu) ve çoğaltılmış DNA'nın sentetik oligonükleotid probları ile hibritleştirilmesidir (Dot-Blot hibridizasyonu). Bu amaç için uygun primerler kullanılmaktadır (23,67). Son zamanlarda radyoaktif olmayan allel-spesifik oligonükleotid problar yüksek radyoaktivite içeren probların yerini almış bulunmaktadır (64,101).

M A T E R Y A L V E M E T O D

MATERYAL

Araştırma için Antalya'nın merkezinde bulunan 1, 2, 3 ve 4 numaralı sağlık ocaklarına bağlı mahallelere ait ev halkı tesbit fişlerinden 1/50 sistematik örnekleme ile 1136 hane seçildi (110). Bu hanelerde bulunan ebeveynler araştırmamızın materyalini oluşturdu. Söz konusu sağlık ocaklarına bağlı köyler çalışma dışı bırakıldı. 1986 yılı ortalarında Antalya'nın nüfusu 228 212 ve hane sayısı 56 784 idi.

Örneğe çıkan hanelere gidilerek hastalık hakkında kapsamlı bilgi verildi, ailelerin soruları cevaplandırıldı. Daha sonra ebeveynlerden heparinli enjektörle birer mililitre kan alındı ve periferik yaymaları yapıldı. Ayrıca bu deneklere yaş, cinsiyet, doğum yeri, anne baba akrabalığı ve ailedeki kan hastalığı gibi durumları belirleyen kısa bir anket uygulandı.

METOD

Alınan kanlar 2-3 saat içinde laboratuara ulaştırıldı ve ilk kez Silvestroni ve arkadaşları tarafından kullanılan yöntem uygun olarak % 0.36 tamponlu NaCl çözeltisi kullanarak tek tüp osmotik fragilite testi (OFT) yapıldı (63,104,105). Testin sonucu % 91-100 negatif, % 86-90 şüpheli, % 85 ve altı pozitif olarak kabul edildi (28,63,).

Heparinli kanlar 3 kez % 0.9 NaCl sölüsyonuyla yıkanarak +4°C'de saklandı. Bu kan örneklerinde en geç bir hafta içinde Titan III sellüloz asetat plaklarında alkali pH'da "Helena" yöntemiyle hemoglobin elektroforezi yapıldı (62). Elektroforez plaklarındaki hemoglobin fraksiyonlarının yüzdeleri Gelman dansitometresi ile ölçüldü. HbA₂ için % 1.5-4.1, HbF için % 2 ve altı değerler normal olarak kabul edildi (62). Anormal hemoglobin saptanan olgularda Titan IV sitrat agar plaklarında, asit pH'da "Helena" sitrat agar hemoglobin elektroforezi ve solubilite testi yapıldı (62).

Deneklerden yapılan periferik yaymalar diğer tetkik sonuçları bilinmeksizin Wright boyası ile boyanarak kırmızı küre morfolojisi +, ++, +++, +++++, hipokromi, mikrositoz, anizositoz, polinomazi, bazofilik noktalanma yönünden değerlendirildi (50,81).

Birinci aşamada yapılan laboratuvar tetkikleri sonucu tek tüp osmotik fragilite testi şüpheli veya düşük, hemoglobin elektroferezinde HbA₂ değeri % 3.8'in üzerinde bulunanlar hastanemize çağrıldı. Bu şahıslardan tekrar heparinli enjektöre birer mililitre kan alındı. Elektronik GmII mini phometer M.100 D:2 Type 6205-200 aletiyle hemoglobin tayini ve eritrosit sayımı yapılarak ortalama eritrosit hemoglobini (OEH) hesaplandı.

Deneklerden ikinci kez alınan heparinli kan aynı şekilde 3 kez % 0.9 NaCl solüsyonuyla yıkandıktan sonra DE-Sellüloz asetat mikrokolon kromatografisi yöntemiyle HbA₂ tayini yapıldı (51, 61). Bu çalışmada 0.5 x 0.5 cm'lik mikrokolonlarda DE-52 mikrogranüler (Whatman Biochemicals Ltd) kullanıldı ve elüsyonların optik dansiteleri 415 dalga boyunda spektrofotometrede okunarak HbA₂ değerleri hesaplandı. Laboratuvarımızda bu yöntemin normal değerlerini saptamak için örneğe çıkan fakat tek tüp osmotik fragilite testi, hemoglobin elektroforezi, hemoglobin konsantrasyonu ve periferik yayması normal bulunan 40 kişi HbA₂ için kontrol grubu olarak alındı.

Laboratuvarında elde edilen sonuçlar anket formundaki bilgilerle birlikte kodlanarak bilgisayarda değerlendirildi. DBase III ve Microstat programıyla istatistiksel hesapları yapıldı. Aritmetik ortalama, standart sapma, iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi, bağımlı örneklerde iki oran arasındaki farkın önemlilik testi kullanıldı. Spesifite ve sensitivite hesapları yapıldı.

B U L G U L A R

Araştırmamız 1632 kişide gerçekleştirildi. Bunların % 46.39'u erkek % 53.61'i kadındı. Deneklerin 939'u (%57.54) Antalya doğumlu, 693'ü (% 42.46) Antalya dışı doğumlu idi. Ayrıca olguların 212'sinde çeşitli derecelerde anne-baba akrabalığı saptandı. Bunların da 136'sı (% 64.15) 1. derece akraba idi. Deneklerin 25'inin (% 1.53) ailesinde kan hastalığı olduğu öğrenildi. Ailede kan hastalığı olanların arasında talasseminin 13 dekte (% 52) ilk sırada yer aldığı görüldü.

Sellüloz asetat elektroforezinde anormal hemoglobin prevalansı % 0.80 olarak saptandı. DE-52 mikrokolon yöntemine göre HbA₂ yüksekliği ile giden beta talassemi taşıyıcılığı prevalansının da % 10.23 olduğu bulundu (Tablo 6).

TABLO 6 : Deneklerin tanıya göre dağılımı.

	HbA ₂ 'si çalışılmayan	Beta talassemi taşıyıcısı olmayan	Beta Talassemi taşıyıcısı	Anormal hemoglobin	Toplam
n	16	1436	167	13	1632
%	0.98	87.99	10.23	0.80	100

Tek tüp osmotik frajilite (OFT) testine göre deneklerin % 74.45'inde negatif, % 7.47'sinde şüpheli, % 18.08'inde pozitif sonuç elde edildi (Tablo 7).

TABLO 7 : Deneklerin osmotik frajiliteye göre dağılımı

Osmotik Frajilite	n	%
Negatif	1217	74.57
Şüpheli	121	7.41
Pozitif	294	18.02
Toplam	1632	100.00

OFT şüpheli ve pozitif bulunan deneklerin sayısı 415 olarak bulundu (% 25.43). Bunların içerisinde 16 kişi (%3.85) 2. kez kan vermeyi reddettiği için kantitatif HbA₂ tayini yapılamadı. Geriye kalan 399 (% 96.15) olgunun tanıya göre dağılımları tablo 8'de verilmiştir. Buna göre 153 vakada (% 38.35) HbA₂ yüksekliği ile giden beta talassemi taşıyıcılığı, 3 vakada (% 0.75) anormal hemoglobin, 243 vakada (% 60.9) HbA₂ düzeyi normal bulundu.

TABLO 8 : Tek tüp osmotik frajilite testi şüpheli ve pozitif olanların tanıya göre dağılımı

Tanı	n	%
HbA ₂ 'si yüksek beta talassemi trait	153	38.35
Anormal hemoglobin	3	0.75
HbA ₂ değerleri normal	243	60.90
Toplam	399	100.00

Beta talassemi taşıyıcılarının OFT'ne göre dağılımı ise %73.06 pozitif, % 18.56 şüpheli ve % 8.38 negatif olarak saptandı (Tablo 9).

TABLO 9 : Beta talassemi taşıyıcılarının tek tüp osmotik frajilite testi değerlendirilmesi

Osmotik Frajilite	n	%
Negatif	14	8.38
Şüpheli	31	18.56
Pozitif	122	73.06
Toplam	167	100.00

Deneklerin 458'inin (% 21.93) periferik yaymalarında çeşitli derecelerde hipokromi vardı. Periferik yaymalarında hipokromi saptanan olguların 163'ünde (% 35.59) HbA₂ yüksekliği ile karakterize beta talassemi taşıyıcılığı, 6'sında (% 1.31) anormal hemoglobin ve 289'unda (% 63.1) kantitatif HbA₂ düzeyleri normal olarak bulundu (Tablo 10).

TABLO 10 : Periferik yaymalarında hipokromisi bulunan deneklerin tanıya göre dağılımı.

Tanı	n	%
HbA ₂ 'si yüksek beta talassemi trait	163	35.59
Anormal hemoglobin	6	1.31
HbA ₂ 'si normal	289	63.10
Toplam	458	100.00

HbA₂ değerleri yüksek 167 olgunun periferik yaymaları incelendiğinde yalnızca 4 olguda (% 24) normokrom, normositer olarak bulundu.

Beta talassemi taşıyıcılarında HbA₂ düzeyleri ile OFT sonuçları arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki saptandı (Tablo 11).

TABLO 11 : Deneklerin tek tüp osmotif frajilite testi ve talassemi taşıyıcılığına göre dağılımı

Beta talassemi	Osmotik Frajilite					
	Şüpheli veya pozitif		Negatif		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Taşıyıcı	153	9.47	14	0.86	167	10.53
Taşıyıcı değil	243	15.04	1206	74.63	1449	89.67
Toplam	396	24.51	1220	75.49	1616	100.00

t= 14.2 p < 0.001

Beta talassemi taşıyıcılarında HbA₂ yüksekliği ile periferik yayma arasında da istatistiksel anlamlı bir ilişki bulundu (Tablo 12).

TABLO 12 : Deneklerin periferik yayma ve talassemi taşıyıcılığına göre dağılımı

Beta talassemi	Periferik Yayma				Toplam	
	Anormal		Normal		n	%
	n	%	n	%		
Taşıyıcı	163	10.02	4	0.25	167	10.27
Taşıyıcı değil	289	17.77	1170	71.96	1459	89.73
Toplam	452	27.79	1174	72.21	1626	100.00

t= 17.5 p < 0.001

Sellüloz asetat elektroforezinde HbA₂ değeri yüksek bulunan 137 olgunun yapılan DE-52 mikrokromatografisinde 27 tanesinin taşıyıcı olmadığı saptandı. Buna karşılık taşıyıcı olarak kabul edilen olguların 57'sinde hemoglobin elektroforezi HbA₂ değerlerinin % 3.4-4.2 arasında olduğu görüldü. Çalışmamızda

hemoglobin elektroforezindeki HbA₂ değerleri ile mikrokromatografide taşıyıcı olarak saptananların HbA₂'leri arasında da istatistiksel anlamlı bir ilişki bulundu (Tablo 13).

TABLO 13 : Deneklerin hemoglobin elektroforezi ve talassemi taşıyıcılığına göre dağılımı.

Beta talassemi	Sellüloz asetat Hb elektroforezi					
	HbA ₂ Artmış		HbA ₂ Normal		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Taşıyıcı	110	6.81	57	3.52	167	10.33
Taşıyıcı değil	27	1.67	1422	88.00	1449	89.67
Toplam	137	8.48	1479	91.52	1616	100.00

t= 3.24 p < 0.01

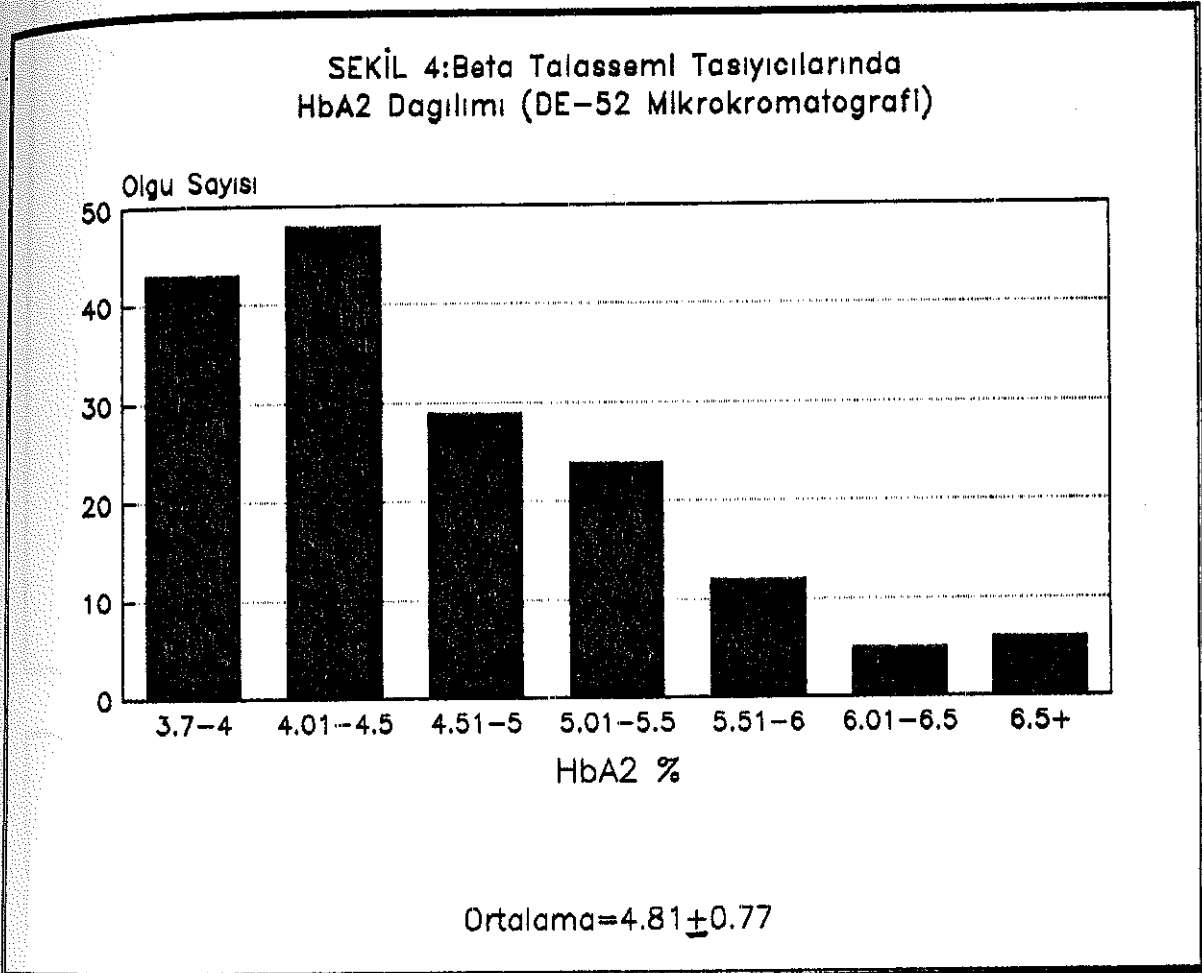
Tek tüp osmotik frajilite testi ve hemoglobin elektroforezine göre şüpheli bulunan ve DE-52 mikrokromatografisi çalışılan 441 olguda OEH 27 pg ve üstü değerler normal olarak kabul edildi. OEH ile beta talassemi taşıyıcılığı arasındaki ilişki istatistiksel olarak anlamlı bulundu (Tablo 14).

TABLO 14 : Deneklerin ortalama eritrosit hemoglobini ve talassemi taşıyıcılığına göre dağılımı.

Beta talassemi	Ortalama Eritrosit Hemoglobini					
	27 pg altı		27 pg ve üstü		Toplam	
	n	%	n	%	n	%
Taşıyıcı	152	34.47	15	3.4	167	37.87
Taşıyıcı değil	85	19.27	189	42.96	274	62.13
Toplam	237	53.74	204	46.26	441	100.00

t= 6.63 p < 0.001

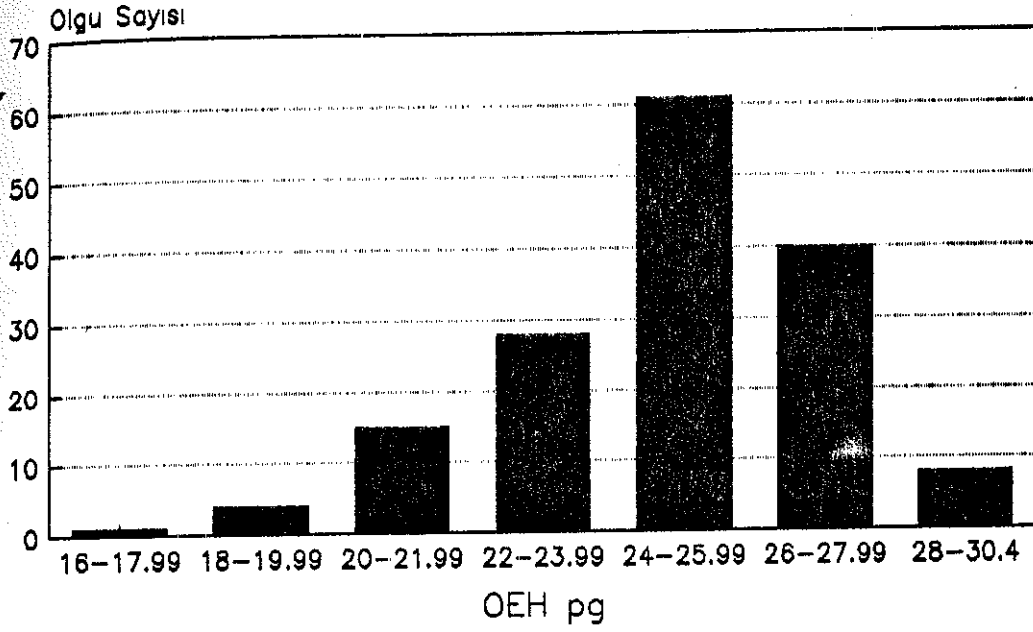
Beta talassemi taşıyıcısı olarak kabul edilen hastalarda kantitatif HbA₂ değerlerinin dağılımı % 3.72-7.40 ($\bar{X} \pm SD: 4.61 \pm 0.77$) olarak bulundu (şekil 4).



Beta talassemi taşıyıcılarında OEH 16.1-30.4 (24.9 ± 2.34)pg olarak bulundu. Taşıyıcı olan deneklerin OEH'i dağılımı şekil 5'te görülmektedir.

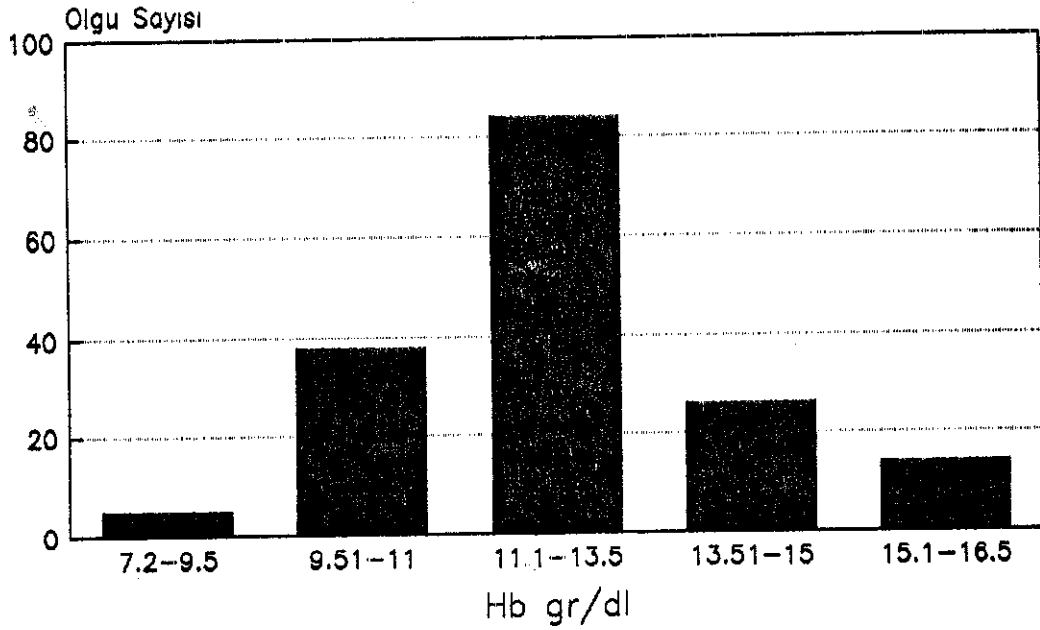
HbA₂'si yüksek beta talassemi taşıyıcısı olarak bulunan 45 olgunun (% 27) hemoglobinin konsantrasyonu 11 gr/dl'nin altında bulundu. Taşıyıcıların hemoglobinin dağılımı şekil 6'da görülmektedir.

SEKİL 5:Beta Talassemi Tasiyicilarında
OEH Dagilimi



Ortalama=24.9±2.34

SEKİL 6:Beta Talassemi Tasiyicilarında
Hb Dagilimi



Ortalama=12.21±1.67

Mikrokolon kromatografisi yöntemiyle beta talassemi taşıyıcısı olarak saptanan deneklerin % 76.75'i Antalya il merkezi ve ilçelerinde, % 23.35'inin ise Antalya ili dışında doğmuş oldukları öğrenildi (tablo 15).

TABLO 15 : Beta talassemi taşıyıcılarının doğum yerlerine göre dağılımı.

Memleket	Antalya İl merkezi	Antalya İlçeleri	Antalya İli Dışı	Toplam
n	107	21	39	167
%	64.08	12.57	23.35	100

Beta talassemi trait olduğu saptanan 167 vakanın hematolojik bulguları tablo 16'da topluca görülmektedir.

TABLO 16 : Beta talassemi taşıyıcısı olan olguların hematolojik bulguları.

	Hb(gr / dl)	KK(x 10 ⁶)	OEH(pg)	Hb Elekt-roforezi A ₂ %
Ortalama±SD	12.21±1.68	4.9±0.61	24.9±2.34	4.8±1.34
Dağılım	7.2-16.0	2.9-6.1	16.1-30.4	3.24-11.37

HbA₂'si yüksek beta talassemi taşıyıcıları ile HbA₂'si normal veya düşük taşıyıcı olmayanların Hb, OEH ve hemoglobin elektrofrezindeki HbA₂ değerlerinin ortalamaları karşılaştırıldı. Taşıyıcılarda Hb ve OEH taşıyıcı olmayanlardan anlamlı düşük hemoglobin elektrofrezindeki HbA₂ seviyesi de anlamlı yüksek bulundu (Tablo 17).

TABLO 17 : Beta talassemi taşıyıcıları ile taşıyıcı olmayanların hematolojik bulgularının ortalamaları arasındaki fark.

	Beta Talassemi	\bar{X}	$S\bar{x}$	n	t	p
Hemoglobin gr/dl	Taşıyıcı	12.21	0.129	167	4.11	p < 0.001*
	Taşıyıcı Olmayan	12.97	0.133	274		
OEH (PE)	Taşıyıcı	24.89	0.180	167	15.61	p < 0.001
	Taşıyıcı Olmayan	28.80	0.172	274		
Hemoglobin Elektroferezinde A ₂	Taşıyıcı	4.80	0.103	167	18.12	p < 0.001
	Taşıyıcı Olmayan	2.60	0.061	274		

Tablo 18' de görüldüğü gibi sensitivite periferik yaymada % 98, spesifite hemoglobin elektroferezinde % 98, pozitif testin prediktif değeri yine hemoglobin elektroferezinde % 80, negatif testin prediktif değeri ise periferik yaymada % 100'e yakın olarak en yüksek bulundu.

TABLO 18 : Beta talassemi taramasında kullanılan yöntemlerin etkinlik ölçüleri

	Osmotik Frajilite	n	Periferik Yayma	n	Hemoglobin Elektrof- rezi	n	OEH	n
Sensitivite %	91	1616	98	1626	66	1616	91	441
Spesifite %	83	"	80	"	98	"	69	"
(+) Testin Prediktif değeri %	39	"	36	"	80	"	64	"
(-) Testin Prediktif değeri	99	"	100	"	96	"	93	"

Yalancı negatiflik en düşük % 2 ile periferik yayma en yüksek % 34 olarak da hemoglobin elektroforezinde bulundu. Yalancı pozitiflikte ise en düşük hemoglobin elektroforeziyle % 2, en yüksek periferik yaymada % 20 değerleri bulundu. OEH'de testin yalancı negatifliği OFT'de olduğu gibi % 9 olarak bulunduğu halde sadece şüpheli deneklere uygulandığı için yalancı pozitifliği hakkında sağlıklı bir değerlendirme yapılamadı (Tablo 19).

TABLO 19 : Beta talassemi taramasında kullanılan testlerin yalancı pozitiflik ve negatiflik oranı.

Test	n	Yalancı Pozitiflik %	Yalancı Negatiflik %
OFT	1616	17	9
Periferik Yayma	1626	20	2
Hb Elektro- forezi	1616	2	34
OEH	441		9

T A R T I Ő M A

Talassemi sendromları otozomal resesif geçiş gösteren kalıtsal hastalıkların önemli bir gurubunu oluşturur. Bu gurubun içinde beta talassemi ilk sırada yer almaktadır. Talasseminin sık görüldüğü bölgelerde taşıyıcıları ortaya çıkarmak amacıyla toplum taramaları yapılmaktadır. Heterozigotların prospektif olarak saptanması ve doğum öncesi tanının birlikte uygulanmasıyla beta talassemi majorlu bebek doğumu yaklaşık % 100 oranında engellenebilmektedir.

Dünya Sağlık Örgütünün "2000 yılında herkes için sağlıklı yaşam" hedefi doğrultusunda ve maddi yardımıyla beta talasseminin sık olduğu bölgelerde bu hastalık ya tamamen önlenmiş ya da önemli aşamalar kaydedilmiştir (69). Örneğın İtalya'nın Ferrara bölgesinde doğan talassemitli majorlu hasta sayısı % 95 oranında önlenmiş (22,69), Kıbrıs'ta % 100'e yakın, İtalya'nın Sardinya bölgesinde ve Yunanistan'da yarı yarıya azaltılmıştır (69). Dünya nüfusunun % 3'ü yani 150 milyon sağlıklı görünen insanın beta talassemi geni taşıdığı düşünöldüğünde taşıyıcı tarama çalışmaları ve genetik danışmanın önemi daha da netlik kazanacaktır (64).

Beta talassemi taşıyıcılarının belirlenmesinde en kesin tanı yöntemi olan HbA₂'nin kantitatif tayini toplum taramalarında pratik ve ekonomik değildir (19,92,103,117,120). Bu nedenle ön taramada kullanılabilircek daha pratik ve daha ucuz testlere gerek duyulmaktadır. Araştırıcılar tarafından talassemi taramalarında uygulanabilecek birçok test önerilmiştir. Bu amaçla elektronik aygıtlarla OEV ve OEH tayini, tek tüp OFT, hemoglobin elektroforezi gibi yöntemler kullanılmaktadır (36,37,53,63,77,81,91,92). Bu testlerin biri veya birkaçı İtalya, Yugoslavya, Yunanistan Kıbrıs, Tayland ve Ülkemizde kullanılmış, yararları ve riskleri tartışılmıştır (28,29,35,37,53,63,83,91,92,104). Özellikle beta talassemi taşıyıcı tanısında ucuz ve nisbeten kolay uygulanabilirliğı olan tek tüp osmotik fragilite testini öneren araştırma-

cılar bulunmaktadır (28,63,82,104). Bu testin anormal hemoglobineri saptamada yetersizliği ve yalancı negatiflik gibi sakıncaları vardır (37,63,91). Hemoglobin elektroforezi pahalı bir yöntem olmakla beraber hem anormal hemoglobineri saptamada yararlı, hem de HbA₂ miktarı hakkında fikir vermektedir. Biz de çalışmamızda sellüloz asetat elektroforezi, tek tüp OFT ve periferik yaymayı birlikte uyguladık. Böylece araştırmamız HbA₂ yüksekliği ile giden beta talassemi taşıyıcılarının büyük oranda doğru belirlenmesine ve bu tarama testlerinin kullanılabilirliğinin karşılaştırılmasına olanak sağladı.

Çalışmamızın sonucunda sellüloz asetat hemoglobin elektroforezinde Antalya'da anormal hemoglobin insidansı % 0.80 bulundu. Anormal hemoglobiner içinde HbS trait'in % 0.25 oranında olduğu görüldü. Antalya'da bulunduğu HbS insidansı Arcasoy ve Çavdar'ın çalışmalarıyla uyumludur (18). DE-52 mikrokromatografi yöntemiyle ve HbA₂ yüksekliğiyle belirlenen beta talassemi taşıyıcı sıklığı % 10.23 oranında saptandı (Tablo 6).

Türkiye'de talassemi ve anormal hemoglobin insidansını bulmaya yönelik birçok araştırma yapılmıştır. Bu çalışmalar özellikle Güney Anadolu Bölgesi'nde yaşayan Eti Türkleri, Batı Trakya Türkleri ve Kıbrıslılar üzerinde yoğunlaşmaktadır (4,5,11,12,14,46,89) Aksoy ve grubunun çalışmalarında HbA₂ yüksekliği ile giden beta talassemi taşıyıcılığı Antakya'nın iki Eti Türkü köyünde % 0.81-1.14 (4,46), Antalya'nın Manavgat, Serik ve Boztepe yerleşim merkezlerinde % 6.7 (11), Batı Trakya Türklerinde % 10.8 (6) ve İmroz Adası'nda yaşayan Rumlarda % 7.76 (12) bulunmuştur. Güney Anadolu Türklerinde Altay ve arkadaşları % 1.7 (13), Özsoylu grubu da % 1.78 (89) beta talassemi bulduklarını rapor etmişlerdir. Bu çalışmalar yöresel olup bazı etnik gruplardaki insidansı yansıtmaktadır.

Türk toplumunda beta talassemi ve anormal hemoglobin insidans çalışması ilk kez 1971'de Çavdar ve Arcasoy tarafından yapılmıştır. Araştırmacılar Ankara'da asker ve öğrencilerden rastgele seçilen 1000 kan örneğinde beta talassemi taşıyıcılığını % 1.66 olarak bildirmişlerdir (44). Yine Arcasoy ve Çavdar grubu genişleterek seçtikleri 3630 kan örneğinden oluşan çalışmalarında talassemi insidansının % 2.1 oranında olduğunu rapor et-

mişlerdir (18,19). Arcasoy'un bu çalışmalarından sonra Dinçol ve arkadaşları İstanbul'da hastaneye müracaat eden hematolojik hastalığı olmayan 1000 kişiyi beta talassemi yönünden incelemişler ve % 2 beta talassemi taşıyıcısı bulduklarını yayınlamışlardır (47). Bu çalışmalarda incelenen bireyler Türkiye'nin değişik yörelerinden gelmiş olsalar da, bu araştırmalarda elde edilen ve Türkiye'de beta talassemi taşıyıcı insidansı olarak kabul edilen % 2 rakamı istatistiksel olarak Türkiye genelini yansıtmamaktadır.

Dinçol ve arkadaşları yüksek HbA₂'li 164 beta talassemi minorlü vakayı inceleyen çalışmasında olguların önemli bir bölümünün Akdeniz Bölgesi'nden geldiğini saptamışlardır (48). Aksoy ve arkadaşları Manavgat ve çevresinde 135 kişiyi inceleyerek %6.7 taşıyıcılık tesbit etmişler ve Antalya'da beta talassemisinin yüksek oranda olduğunu vurgulamışlardır (11). Altay ve arkadaşları 1975-1985 yılları arasında Haçettepe çocuk hastanesinde talassemi major tanısı olan hastaların Türkiye haritasında dağılımını vermişler ve Antalya'da talassemisinin yoğun olduğunu göstermişlerdir (14). Bizim araştırmamızda saptadığımız taşıyıcılık oranı Aksoy'un bildirdiği orandan yüksektir. Manavgat ve çevresindeki çalışmada örnek sayısının az oluşu, Sudan'lı siyahilerin araştırma dışı tutularak seçici davranılmış olması ve belki de laboratuvar faktörleri taşıyıcı oranının daha düşük bulunmasında rol oynamış olabilir. Canatan 1983'de Antalya il merkezinde 1097 lise öğrencisini tek tüp OPT'ini kullanarak taramış, şüpheli olanlarda sellüloz asetat hemoglobin elektroforezi yapmış ve talassemi taşıyıcılığını % 2 olarak bildirmiştir (28). Bu çalışmaya göre Antalya'daki beta talassemi taşıyıcısı oranı Arcasoy ve arkadaşlarının bildirdiği % 2.1'in de altında olup bizim sonuçlarımızla çelişmektedir. Biz bu çelişkinin Canatan'ın çalışmasında tarama testi olarak yalnızca tek tüp osmotik fragilite testinin seçilmesinden ve kesin taşıyıcıların elektroforezle belirlenmesinden kaynaklanabileceğini düşünüyoruz.

Cin ve Arkadaşları Kıbrıs Türkleri'nde beta talassemi taşıyıcılığını % 14.4, Kuzey Kıbrıs Türk Cumhuriyeti Sağlık Bakanlığı ise evlenmeye karar veren ve incelenmek üzere hastaneye başvuran bireyler arasında % 17.3 olarak bulmuşlardır (42).

Kıbrıs Rum kesiminde Hadjiminias ve arkadaşları da % 17.2 taşıyıcı saptadıklarını bildirmişlerdir (42). Bizim çalışmamızda talassemi taşıyıcılığı oranı Kıbrıs'tan daha düşüktür.

Beta talassemi trait Akdeniz ülkelerinden Yunanistan'da % 8-12 (53,75), İtalya'nın Latium Bölgesinde % 2.41 (105), Sardinia'da % 13 (34,37,38), Lübnan'da % 2-3 (39), İspanya'da % 0.2-3.33 (97), İsrail'de % 2.7-20 (98) oranındadır. Bizim çalışmamız Antalya'daki taşıyıcı oranının yüksek olduğunu, dolayısıyla beta talassemisinin en az Yunanistan veya İtalya'daki kadar önemli bir sağlık sorunu olduğunu göstermektedir.

Birçok araştırmacı beta talassemi trait taramasında tek tüp OFT'ini kullanmıştır. 1981 yılında Kattamis, Efremov ve Pootrakul Yunanistan, Yugoslavya ve Tayland'da üç değişik Konsantrasyonda tek tüp osmotik frajilite testini uygulamışlardır. En iyi sonucu % 0.36 tamponlu NaCl solüsyonuyla elde etmişlerdir. Bu çözeltiyle beta talassemi taşıyıcılarında % 96-100 pozitif sonuç aldıklarını bildirmişlerdir (63). Aynı araştırmacılar sağlıklı kişilerde % 9.1 yalancı pozitif, beta talassemi taşıyıcılarında % 2 yalancı negatif sonuç almışlardır. Bu çalışmada Tayland serisinde normal kişilerde tek tüp OFT % 11.4 pozitif, % 5.7 şüpheli, Yugoslavya'da 384 okul çocuğunda % 9.6 pozitif ve şüpheli değerler elde edildiği bildirilmiştir. % 0.36 tamponlu NaCl çözeltisiyle tek tüp osmotik frajilite testi sonuçlarımız bu serilerle karşılaştırıldığında uygunluk göstermiyordu. Yunanistan'da iki ayrı seride % 91.6 ve % 89.6, Yugoslavya'da % 84.1 ve Tayland'da % 82.9 negatif sonuç alınırken çalışmamızda % 74.57 negatif sonuç alınmıştır. Pozitif ve şüpheli olgularımızın yüksek oluşu beta talassemi taşıyıcılığı yanında demir eksikliğinin de bölgemizde yüksek oranda olduğunu göstermektedir. Bilindiği gibi OFT'nin beta talassemi taşıyıcılığı yanında demir eksikliğinde de şüpheli veya pozitif olma ihtimali vardır. Demir eksikliğinde tek tüp OFT'nin % 80' yakın pozitif sonuç verdiği gösterilmiştir (63). Bu nedenle serum demir ve TDBK'nin çalışılması gerekir. Çalışmamızda deneklerin aç karnına üçüncü kez çağırılması güçlük yarattığından demir eksikliğini saptayamadık. Son yıllarda önerilen serbest eritrosit protoporfirini tayininde teknik imkanların yetersizliği nedeniyle gerçekleştiremedik.

Ayrıca OFT şüpheli veya pozitif bulunan vakaların bir bölümü normal HbA₂'li beta talassemi taşıyıcısı, hemoglobin F yüksekliğiyle giden veya alfa talassemi taşıyıcısı olabilir. Bunları ortaya çıkarmak için olgularımızda hemoglobin F tayini veya globin zincir sentezi yapılmadı.

Tek tüp OFT bulgularımız Canatan'ın Antalya'da lise öğrencilerinde, Kürkçüoğlu ve arkadaşlarının Erzurum ve çevresinde yaptıkları çalışmaların sonuçlarından da farklıdır. OFT'ni Canatan % 92.4 (28), Kürkçüoğlu da % 92.9 (70) negatif bulmuştur.

Biz tek tüp OFT kullanarak beta talassemi taramasında % 17 yalancı pozitiflik saptadık. Bu rakam demir eksikliğini de kapsamaktadır. Oysa Canatan % 2.9 yalancı pozitiflik ve % 2.6 demir eksikliği bulunduğunu bildirmektedir. Yunanistan ve Tayland serisinde % 9.7, Yugoslavya'da % 5.7 yalancı pozitiflik rapor edilmiştir (63). Bizim bulduğumuz yalancı pozitiflik bu araştırmacıların rapor ettiklerinden daha yüksektir. Beta talassemi taşıyıcısı olarak bulduğumuz olguların % 8.38'inde tek tüp OFT'nin negatif olduğunu gördük. Retrospektif olarak diğer araştırmacıların çalışmalarında da % 0.4 civarında negatif sonuçlar alındığı gösterilmiştir (28,63,70)

Pekçok araştırmacı tarafından % 0.4 tamponlu NaCl çözeltisi kullanılarak tek tüp OFT ile talassemi taraması yapılmış ve farklı sonuçlar alınmıştır. Malamos ve arkadaşları 85 beta talassemi taşıyıcısının 6'sında (78), Pearson ve arkadaşları beta talassemi trait vakaların % 34'ünde (92), Mazza ve arkadaşları 54 beta talassemi minorlu serilerinde % 6 negatif (79) sonuçları aldıklarını bildirmişlerdir. Aynı şekilde Cao ve arkadaşları 1978 yılında Sardinya'da aynı metodla yaptıkları çalışmada % 6.5 yanlış pozitif ve % 3.6 yanlış negatif sonuçlar elde ettiklerini yayınlamışlardır (35). Hem % 0.36 hem de % 0.4 tamponlu NaCl çözeltileriyle alınan sonuçlar bizim çalışmamızın OFT değerleriyle birlikte düşünüldüğünde bu testin laboratuvarlar ve belki bölgeler arasında değiştiği ve kullanılan çözeltinin sonucu çok fazla etkilemediği izlenimini vermektedir.

Beta talassemi taşıyıcısı olarak saptadığımız 167 olgunun sadece 4 tanesinde kırmızı küre morfolojisi normaldi. Bu

testin yalancı negatifliği % 2 olarak bulundu. Buna karşılık aynı testle % 20 oranında yalancı pozitiflik saptandı (Tablo 19). Pearson ve Arkadaşları taşıyıcıların periferik yayma bulgularında % 13 yalancı negatiflik % 9.8 yalancı pozitiflik bulmuşlardır (92). Malamos ve arkadaşları 85 beta talassemi taşıyıcısının sadece birinde (78), Pootrakul ve arkadaşları 312 deneğin 15'inde (95) kırmızı küre morfolojisini normal bulmuşlardır. Yine Antalya'da Canatan tarafından yapılan çalışmada 22 olgudan sadece birinin periferik yayması normal olarak bulunmuştur (28). Bizim yalancı negatif sonucumuz Malamos ve arkadaşları ile Canatan'ın sonuçlarına uygunluk göstermektedir. İspanya'da Pellicer, İngiltere'de Knox-Macaulay ve arkadaşları ise çalışmalarında beta talassemi taşıyıcılarının hepsinde kırmızı küre morfolojisinde değişiklikler olduğunu görmüşlerdir (77,97). Aynı şekilde Dinçol ve arkadaşlarının çalışmalarında tüm taşıyıcılarda PY'de talassemik değişikliklerin bir veya birkaçının olduğu vurgulanmıştır (41). Bizim çalışma dahil tüm bu çalışmalar PY'nin beta talassemi taramasında hassas bir test olduğunu göstermektedir.

Hemoglobin elektroforezinde genellikle HbA₂'nin % 4.2 ve üstü değerleri beta talassemi taşıyıcısı olarak kabul edilmektedir. Araştırmamızda mikrokromatografik olarak beta talassemi taşıyıcısı saptananların hemoglobin elektroforezindeki A₂ düzeyleri incelendiğinde 57(%34) vakada % 3.4 - 4.2 arasında olduğu görüldü. Bu da bize elektroforezin HbA₂ tayininde sensitivitesinin düşük olduğunu göstermektedir. Ayrıca mikrokromatografide taşıyıcı olarak saptananlarla hemoglobin elektroforezinde A₂'si % 4.1'in üzerinde bulunanların yüzdeleri bağımlı örneklerde iki oran arasındaki farkın önemlilik testiyle karşılaştırıldı ve istatistiksel anlamlı bir ilişki olduğu saptandı (Tablo 13). Hemoglobin elektroforezinde taşıyıcıların HbA₂ alt sınırı % 3.4 olarak alındığında daha az sayıda taşıyıcının gözden kaçacağı sonucuna varıldı. Pearson ve bir çok araştırmacı da hemoglobin elektroforezinde % 3.5 - 4.5 arasındaki değerlerin yanıltıcı sonuçlar verebileceğini belirtmişlerdir. Bulgularımız bu görüş doğrultusundadır. Diğer yandan hemoglobin elektroforezinde HbA₂ düzeyleri % 4.2 ve daha yüksek saptanan 137 olgunun 27'sinin (% 19)mikrokromatografik çalışma sonucu taşıyıcı olmadıkları saptandı. hemoglobin elektroforezinde nonhem

proteinler bazen HbA₂ ile aynı mobiliteye sahip olmakta ve HbA₂'nin yüksek bulunmasına neden olabilmektedir (62).

Günümüzde birçok merkezde elektronik sayaçlar kullanılarak OEV ve OEH ile taramalar yapılmaktadır. Özellikle İtalya ve Yunanistan'da daha basit olarak yapılabilen fakat spesifitesi daha yüksek olan OEH tercih edilmektedir (37,38,53,75). Çalışmamızda beta talassemi taşıyıcılarının OEH'i 16.1-30.4(24.9±2.34)pg bulundu (Tablo 16). OEH'ini Yunanistan'da Malamos ve arkadaşları 18-29 (22±1.9) (78), Tayland ve Çin'de Pootrakul ve arkadaşları 16-34 (20.0±3) (95), İngiltere'de Knox-Macaulay ve arkadaşları 18.6-25.6 (21.8±1.4) (77), İtalya'da Mazza ve arkadaşları 15-31 (23.5±1.02) (79) pg olarak bildirmişlerdir. Bizim sonuçlarımız bütün bu araştırmacıların değerlerinden yüksek, Mazza ve arkadaşlarının sonuçlarına yakındır. Efremov'un Georgia eyaletinde bulunduğu 20-31 (ortalama 26) pg değerinden de hafif düşüktür (51). Ülkemizde de Dinçol ve arkadaşları 164 beta talassemi taşıyıcısını incelemişler ve OEH'nin erkeklerde 18.5-25.3 (22.06 ± 2.07), kadınlarda 18.6-24 (21.62±1.63), çocuklarda ise 20.0-23.6 (21.62±1.63)pg olduğunu rapor etmişlerdir (48). Biz çalışmamızda erkek ve kadınları ayrı ayrı değerlendirmedik ama elde ettiğimiz OEH değerlerinin Dinçol'un saptadığı değerlerden daha yüksek olduğu görülmektedir.

OEH'ini tarama testi olarak uygulayan merkezler farklı yalancı pozitif ve negatif rakamlar bildirmektedirler (36,37,53,78,79,91,92,95,103). İtalya'da Cao ve arkadaşları talassemi taramasında OEH'ini tarama testi olarak kullanmakta ve yalancı negatifliği % 1- 1.5 civarında bildirmektedirler (36,37). Aynı ülkeden Mazza grubu ise beta talassemi taşıyıcılarının % 14'ünde OEH'ini normal (27 pg ve üstü) saptamışlardır (79). Malamos ve arkadaşları da 85 beta talassemi trait 'den oluşan serilerinde 3 olguda OEH'ini 27 pg'nin üstünde bulduklarını yayınlamışlardır (78). Yine Shine ve Pootrakul gruplarının yaptıkları ayrı ayrı çalışmalarda bu testle taramada vakaların % 19-20'sini kaçırdıklarını rapor etmişlerdir (95,103). Fessas grubu ise OEH'ini beta talassemi taşıyıcılarında seçici bulduklarını ve bu nedenle Yunanistan'da talassemi merkezlerinde rahatlıkla kullandıklarını vurgulamaktadırlar(53). Bizim çalışmamızda OEH tayininde % 9 yalancı negatiflik tesbit edildi.

Bu rakam çeşitli araştırma gruplarınınca verilen rakamların ortalarında yer almaktadır. Tüm olgularımızda OEH çalışılmadığı için testin yalancı pozitifliğini değerlendirme olanağımız olmadı.

Beta talassemi taşıyıcısı olan vakalarımızın Hb'i 7.2-16 (12.2-1.68) gr/dl bulundu. Çeşitli serilerle karşılaştırıldığında Mazza ve arkadaşlarının çalışmasındaki hemoglobin konsantrasyonlarıyla (erkeklerde 12-1.34, kadınlarda 10.93-1.34 gr/dl) uygunluk gösterdiği görüldü (79). Ayrıca Efremov'un Amerika'da Geogia eyaletinde taşıyıcılarda saptadığı 8.3-14.7(ortalama 12 gr/dl) hemoglobin konsantrasyonlarına yakındır (51). Knox -Macaulay, Malamos ve Pootrakul gruplarının serilerinden de hafif derecede yüksek bulundu (77,78,95). Olgularımızın hemoglobin konsantrasyonlarının Dinçol'un serisinden (erkeklerde 11.57-1.53, kadınlarda 10.32-1.19) de daha yüksek olduğu görüldü (48). Hemoglobini 7.2 gr/dl olan tek olgumuzun 8 aylık gebe olduğu öğrenildi. Beta talassemi taşıyıcılarında, gebelikte aneminin ağırlaşabileceği bilinmektedir (55, 56,81,85).

Talassemi taşıyıcısı olgularımızda kırmızı küre sayısı 2.9-6.1 (4.9-0.61) milyon olarak bulundu (Tablo 16). Malamos ve arkadaşları taşıyıcılarda kırmızı küre sayısını 4.2-7.8 (5.9±0.7) (78), Pootrakul ve arkadaşları 3.3-7.3 (5.2±0.6) (95), Macaulay ve arkadaşları da 4.3-6.8 (5.1±0.5)x10⁶/mm³ (77) olarak bulmuşlardır. Bizim saptadığımız kırmızı küre sayısı daha düşüktür. Ülkemizde ise Dinçol ve arkadaşları taşıyıcılardaki kırmızı küre sayısını 3.8-6.7 (4.8±0.6)x10⁶/mm³ bildirmişlerdir (48). Saptadığımız kırmızı küre sayısı Dinçol'un çalışmasıyla uyumlu bulundu. Bu araştırmacıların bildirdikleri % 30-34 oranındaki eritrositoz olgularımızda daha hafif olarak görüldü.

Beta talassemi taşıyıcılarında Hb, OEH ve OEV'nin normal kişilerden daha düşük bulunabileceği birçok araştırmacı tarafından gösterilmiştir. Taşıyıcı olarak saptadığımız olguların hematolojik değerlerini karşılaştırabileceğimiz normal kontrol grubu çalışılmadı. Ancak tek tüp OFT şüpheli ve pozitif bulunanlarla hemoglobin elektroforezinde HbA₂'si % 3.8'in üzerinde bulunan ve kantitatif A₂'leri çalışılmak üzere ikinci kez çağırılan 441 olgunun hematolojik bulguları değerlendirildi. Kantitatif A₂ tayini yapıldıktan sonra taşıyıcı olarak değerlendirilenlerle A₂'si nor-

mal olanların Hb ve OEH değerlerinin ortalamaları karşılaştırıldı. Beta talassemi taşıyıcılarında Hb ($t=4.11$, $p < 0.001$), OEH ($t=15.61$, $p < 0.001$) taşıyıcı olmayanlardan anlamlı düşük bulundu (Tablo 17). Bu bulgular beta talassemi taşıyıcılarında bildirilen düşük Hb ve OEH değerleriyle uyumludur.

Laboratuvarımızda HbA₂'nin normal değerlerini saptamak için aldığımız kontrol grubuna tek tüp OFT, Hb, kırmızı küre ve hemoglobin elektroforezi normal bulunan 40 denek alındı. Kontrol grubunda DE-52 mikrokromatografi yöntemiyle saptadığımız ($\bar{X} \pm 2SD$: 2.57 ± 0.57) % 3.71'in üzerindeki HbA₂ düzeyine sahip denekler beta talassemi taşıyıcısı olarak kabul edildi. Çalışmamızda beta talassemi taşıyıcılarında HbA₂ % 3.72-7.4(4.6-0.8) olarak bulundu. Efremov ve arkadaşları çalışmalarında beta talassemi taşıyıcılarında HbA₂'nin alt sınırını % 3.7 olarak bulmuşlardır (51). İtalya da halen beta talassemi taşıyıcısı tanısı HbA₂ % 3.7 ve üzerinde olduğunda konmaktadır (36). Türkiye'de Dinçol ve arkadaşları DE-52 mikrokromatografi yöntemiyle 95 beta talassemi traitli vakada HbA₂'yi % 3.8 -6.5(4.7 ± 0.62) olarak bulmuşlardır (48). Aynı araştırmacılar hastaneye başvuran hematolojik hastalığı olmayan 1000 kişide saptadıkları taşıyıcılarda ise HbA₂'nin % 3.7-5.6 (4.5 ± 0.6) düzeyinde olduğunu bildirmişlerdir (47). Sonuçlarımız bu araştırmacıların sonuçlarıyla tam uyumlu bulundu (Şekil 4). Galenello ise 1977 yılında taşıyıcılarda % 4.23-6.50 (5.35 ± 0.55) düzeyinde daha yüksek HbA₂ değerleri bildirmişlerdir (83).

Araştırmamızda uyguladığımız testlerden en yüksek sensitivite periferik yaymada (% 98) en yüksek spesifite hemoglobin elektroforezinde (% 98) bulundu. Buna karşılık periferik yaymanın spesifitesinin ise düşük (% 66) olduğu saptandı. Çalışmamızda tek tüp OFT ile OEH'nin sensitiviteeleri eşit (% 91) bulundu. Her iki testin sensitivitesi ise periferik yaymanın sensitivitesinden düşüktü. Tek tüp OFT'nin spesifitesi (% 83) periferik yaymanınkinden (% 80) hafif yüksek bulundu (Tablo 18)

Testlerin prediktif değerleri incelendiğinde tek tüp OFT veya periferik yayması anormal saptanan her 3 kişiden birinin talassemi taşıyıcısı olabileceği görüldü. Hemoglobin elektroforezinde HbA₂'si yüksek bulunanların % 80'ninin ise gerçek taşıyıcı olduğu görüldü. Diğer taraftan osmotik frajilitesi negatif bulunanla-

rın % 99'unun, periferik yaymaları normal olanların % 100'e yakın bölümünün taşıyıcı olmadığı saptandı (Tablo 19).

Testler yalnızca pozitiflik ve negatiflik yönünden değerlendirildi. Buna göre periferik yayma ile tarama yapıldığında taşıyıcıların % 2'sinin, tek tüp OFT veya OEH ile % 9'unun, hemoglobin elektroforezi ile de en fazla olmak üzere % 34'ünün normal olarak değerlendirilebileceği görüldü. Yalancı pozitiflik en düşük hemoglobin elektroforezinde (% 2) bulundu. OFT ve periferik yaymada ise % 17-20 gibi yüksek yalancı pozitiflik saptandı (Tablo 19).

Çalışmamızın sonuçları göstermiştir ki, hiçbir test tüm beta talassemi taşıyıcılarını ortaya çıkaramamaktadır. Sellüloz asetat elektroforeziyle taşıyıcıların büyük bir bölümü kaçırılmaktadır. Bu nedenle HbA₂ tayininin mutlaka mikrokromatografik yöntemlerle belirlenmesi gerekir. Kitle taramalarında sensitivitesi yüksek, yalancı negatifliği düşük ucuz ve pratik olan periferik yayma rahatlıkla kullanılabilir. Periferik kan yaymasını sağlık ocağı hekimi dahi eğitildiğinde değerlendirebilir. Tek tüp osmotik fragilite testini ise sensitivitesi yüksek ve ucuz olduğu halde zahmetli ve kan alındıktan sonra kısa sürede değerlendirilme zorunluluğu olduğundan beta talassemi taramasında kullanılmasını önermiyoruz. Günümüzde birçok merkezde kullanılan OEH'nin sensitivitesi tek tüp osmotik fragilite testine eşit olup basit aletlerle yapılabilir. Herne kadar tüm olgularımızda çalışamadığı için spesifite ve yalancı pozitifliğini değerlendiremediyse de taramada periferik yaymadan sonra kullanılabilecek ikinci test olabileceğini düşünüyoruz.

Beta talassemi taşıyıcılığının % 10.23 gibi yüksek oranda bulunduğu Antalya gibi bölgelerde daha sağlıklı ve gerçekçi bir çalışma için ön taramada periferik yayma ile birlikte tek tüp osmotik fragilite testi veya daha pratik olan OEH tayini kullanılması uygundur. Amaç taşıyıcıları mümkün olduğunca doğru saptamak olmalıdır. Talassemi insidansının çok düşük olduğu bölgelerde ise iki yalancı negatifliğin bir arada olma olasılığı düşük olduğundan tek tüp OFT veya OEH kullanarak tarama yapılabilir. Alfa ve beta talassemi taşıyıcılığı birlikte olduğunda OEH ve periferik yayma normal bulunabileceğinden (82) bu tip talassemilerin yoğun olduğu yörelerde OFT ile birlikte OEH kullanılı -

ması uygundur.

Araştırmamızda beta talassemi trait olarak saptanan olguların % 23.35'inin Antalya ili dışında doğdukları görüldü. Bunların da yaklaşık üçte biri Burdur ve Isparta illerinden gelmişlerdi. Çalışmamızın sonuçları bize özellikle Burdur'da beta talassemi sıklığının Türkiye ortalamasının üstünde olduğu izlenimini vermektedir. Bu nedenle Burdur'da beta talassemi sıklığını ortaya çıkarmaya yönelik tarama çalışmalarının yapılmasının uygun olacağını düşünüyoruz.

Sonuç olarak beta talasseminin Antalya için ciddi bir sağlık sorunu olduğu net olarak görülmektedir. Üniversite olarak bize düşen görev öncelikle Antalya'daki sağlık ocaklarında görevli pratisyen hekimlerin eğitilmesi ve bu konuya dikkatlerinin çekilmesi yönünde olmalıdır. Bunu yaparken de halk talassemi konusunda bilinçlendirilmeli, genetik danışma ve doğum öncesi tanının önemi vurgulanmalıdır. Antalya'da kurulu bulunan Akdeniz Talassemi Derneği olanakları ölçüsünde hastaların tedavisine ve araştırmalara katkıda bulunmaktadır. Bu derneğin olanaklarının artırılması ile katkılar genişletilebilir. En iyisi Akdeniz Talassemi Derneği, Üniversite ve Sağlık Bakanlığının işbirliğiyle bir talassemi tanı merkezinin kurulmasıdır. Bu merkez hem tanıtıcı ve eğitici programları yürütebilir hem de taşıyıcıların ücretsiz olarak saptanmasını sağlayabilir.

Antalya'da evlenecek çiftlerin hiç olmazsa birinin talassemi taşıyıcılığı yönünden taranması, taşıyıcı olarak bulunursa diğer çiftin ve ailenin taranması yoluna gidilmelidir. Geniş bir katılımın sağlanması amacıyla okullarda, radyo ve televizyonda eğitici konferanslar verilebilir. Hatta talasseminin orta öğretimin biyoloji derslerinin kapsamına alınmasından büyük yarar sağlanacağı da bir gerçektir. Talasseminin sık olduğu Kıbrıs, İtalya ve Yunanistan'da olduğu gibi Dünya Sağlık Örgütünün maddi katkısı sağlanarak doğum öncesi tanı ünitesinin kurulması yönünde girişimlerin başlatılması uygun olacaktır. Ayrıca Antalya ve çevresinin talassemi haritasının çıkarılması için Antalya İlçeleri, Burdur ve Isparta illerini kapsayan tarama çalışmalarının sürdürülmesi gereklidir.

Ö Z E T

Bölgemizde beta talassemi sıklığını saptamak, taramada kullanılan metodları karşılaştırmak ve halkı bu konuda uyarmak amacıyla çalışmamız plânlandı. Antalya il merkezinde gerçekleştirilen bu çalışmada 1,2,3,4 numaralı sağlık ocaklarına bağlı ev halkı tesbit fişlerinden 1/50 sistematik örnekleme metoduyla seçilen 1632 kan örneği incelendi.

Tüm kan örneklerinde periferik yayma, tek tüp OFT ve "Helena" yöntemiyle hemoglobin elektroforezi çalışıldı. OFT şüpheli ve pozitif veya hemoglobin elektroforezinde HbA₂ değeri % 3.8'in üzerinde bulunan 441 olgu talassemi taşıyıcılığı için şüpheli kabul edildi. Bunlardan ikinci kez kan alınarak Hb, KK ve OEH ile birlikte DE-52 mikrokromatografi yöntemiyle kantitatif HbA₂ tayini yapıldı. Bu yöntemle A₂'si %3.71'in üzerinde bulunanlar kesin beta talassemi taşıyıcısı olarak kabul edildi.

Günümüzde beta talassemi taşıyıcı taramalarında tek tüp OFT, OEV, OEH ve hemoglobin elektroforezi gibi testler kullanılmaktadır. Çalışmamızın sonuçları göstermiştir ki, hiçbir test tüm beta talassemi taşıyıcılarını ortaya çıkaramamaktadır. Araştırmamızda periferik yaymanın sensitivitesinin yüksek bulunması (%98), ucuz ve basit bir test olması, eğitildiğinde pratisyen hekim tarafından kolaylıkla değerlendirilebilmesi nedenleri ile talassemi taramasında kullanılabilecek ilk test olduğu vurgulandı.

Tek tüp OFT ve OEH beta talassemi taşıyıcı tanısında sensitivite-lerinin (%91) eşit olduğu görüldü. Tek tüp OFT yüksek yalancı pozitifliği nedeniyle ucuz olmasına rağmen pratik bulunmadı. Basit elektronik sayaglarla yapılan OEH daha pratik olarak değerlendirildi. Beta talassemi taşıyıcı tanısında hemoglobin elektroforezinin düşük sensitiviteye sahip olduğu ve dolayısıyla hatalı sonuç verebileceği bulundu. Özellikle bu yöntemle HbA₂ değeri %3.44-4.2 arasında olanların taşıyıcı olabileceği görüldü. Bu nedenle yüksek HbA₂ li beta talassemi taşıyıcılarının kesin tanısının mikrokromatografi yöntemiyle kurulması gerektiği düşünüldü.

Çalışmamızda %0.80 anormal hemoglobin ve %10.23 HbA₂ yüksekliği ile giden beta talassemi taşıyıcılığı saptandı. Türkiye'de beta talassemi taşıyıcılık oranının en yüksek olduğu bölgelerden birinin Antalya olduğu görüldü. Bu nedenle bölgemizde talassemi önemli bir halk sağlığı sorunudur ve etkin önlemlerin alınması gerekir.

K A Y N A K Ç A

- 1- Akar N, Çavdar A, Dessi E, Pirastu M and Cao A : Beta thalassemia mutations in the Turkish population. J.Med.Genet.24 : 378 - 379, 1987.
- 2- Akar N, Cin Ş, Berberoğlu M, Arcasoy A, : Beta talassemi majorlu hastalarda çinko suplemantasyonunun somatomedin-C üzerine etkisi. 2. Çinko Simpozyumu ve XX.Ulusal Hematoloji Kongresi Özet Kitabı, Ankara 1988, 24.
- 3- Aksoy M : Hematoloji 1. (Eritrosit Hastalıkları), Anemiler ve polisitemiler. İstanbul, Sermet Matbaası, 1975, 566-609.
- 4- Aksoy M, and Erdem Ş : Abnormal hemoglobins and thalassemia in Eti-Turks Living in Antakya. Med.Bull.İstanbul 1: 296, 1968.
- 5- Aksoy M, İkın EV, Mauraut AE and Lehman H : Blood Groups, Hemoglobins and thalassemia in Trkish in Southern Turkey and Eti-Turks. British Med.J. 2 : 937, 1958.
- 6- Aksoy M, Kutlar A, Dinçol G, Erdem Ş, and Baştesbihçi S : Survey on haemoglobin variants, beta thalassemia, glucose- 6-Phosphate dehydrogenase deficiency and haptoglobin types in Turks from Western Thrace. J.Med.Genet. 22 : 288-290, 1985.
- 7- Aksoy M, Erdem Ş, Dinçol G : Beta thalassemia with normal levels of hemoglobins F and A₂. Study in seven families. International İstanbul Symposium on Abnormal Hemoglobins and Thalassemia. 24-27 August 1974 İstanbul, TBTAk, ed. Aksoy M. 289-299.
- 8- Aksoy M, Bermek E, Almış G, Kutlar A : Beta thalassemia intermedia homozygous for normal hemoglobins A₂ beta thalassemia . Study in four families. 67 : 57-61, 1982.

- 9- Aksoy M, Bermek E, Sayhan O : "Sesiz" beta talassemi genleri ve "Sessiz" beta talassemili bir ailede zincir sentez sonuçları. Hematoloji VIII. TÜBİTAK yayınları, TAG 35, Ankara 1985, 76-79.
- 10- Aksoy M, Bermek E, Almış G, Kutlar A : Beta talassemi intermedianın çeşitli tipleri. Thalassemia simpozyumu 25 Kasım 1981 Ankara, TÜBİTAK yayınları TAG 25, 1982, 1-12.
- 11- Aksoy M, Dinçol G, and Erdem Ş, : Survey on haemoglobin variants, beta Thalassemia, G6PD deficiency and haptoglobin types in Turkish people Living in Manavgat, Serik and Boztepe (Antalya) : Hum.Hered. 30 : 3-6, 1983.
- 12- Aksoy M, Erdem Ş, Dinçol G : A Survey for hemoglobin variants. Thalassemia, G6PD deficiency and haptoglobin types in Greek population Living in a Turkish Island Imroz : International Istanbul Symposium on Abnormal Hemoglobins and Thalassemia. 24-27 August 1974, Istanbul. TBİTAK, Ed.Aksoy M. 191-196.
- 13- Altay Ç, Yetkin S and Özsoylu Ş : The Incidences of hemoglobin S and some other hemoglobinopathies in Eti Turks. International Istanbul Symposium on Abnormal Hemoglobins and Thalassemia. 24-27 August Istanbul. TBİTAK, Ed.Aksoy M. 185-190.
- 14- Altay Ç, Gürgey A : Distribution of hemoglobinopathies in Turkey. Based on studies conducted at Hacettepe Children's Hospital and reviews of other studies. The Turkish J.Ped. 28: 219-229, 1986.
- 15- Altay Ç, Gürgey A : Clinical and haematological evaluation of beta thalassemia intermedia with increased HbF and HbA₂ in heterozygotes : Beta thalassemia intermedia I. J.Med.Genet. 22 : 205-212 1985.
- 16- Alter BP : Prenatal diagnosis of haemoglobinopathies : a status report. Lancet ii : 1151-1155, 1981.
- 17- Amselem S, Nunes V, Vidaud M, et al : Determination of the spectrum of beta thalassemia genes in Spain by use of Dot-Blot analysis of amplified beta globin DNA.Am.J.Hum.Genet.

43:95-100,1988.

- 18- Arcasoy A, Çavdar AO, Cin Ş, Gözdaşoğlu S, Babacan E, Erten J, Ertem U, Gögüş S : Türkiye'de thalassemia ve anormal hemoglobin insidansı. TÜBİTAK "Pediatrik onkoloji ve hematoloji ünitesi" Ankara, Nuray Matbaası, 1978.
- 19- Arcasoy A, Çavdar AO : Türkiye'de thalassemia insidansı. Thalassemia simpozyumu 25 Kasım 1981 Ankara. TÜBİTAK yayınları, TAG 25, 1982, 13-19.
- 20- Angelika L, Graf N und Hoffman W : Kardiale dysfunction bei Kindern mit thalassemia major. Klin.Pädiat. 200 : 102-107, 1988.
- 21- Bank A, Peluso MD, Laflamme S, Rund D, and Lerner N : Approaches to gene therapy for beta thalassemia. Birth Defects. 23(5B) : 339-346,1988.
- 22- Barrai I, Vulva C : Screening for beta thalassemia heterozygotes. Lancet 6 : 1257, 1980.
- 23- Başak AN, Özçelik H, Özer A, Kırdar B : Türkiye'de görülen beta talassemi nokta mutasyonlarının gen amplifikasyonu ve oligonükleotit hibridizasyonu yöntemi ile tanınması. 2.Çinko Simpozyumu ve XX.Ulusal Hematoloji Kongresi özet Kitabı. Ankara 21-25 Kasım 1988, 33.
- 24- Berberoğlu M, Öcal G, Akar N, Arcasoy A : Homozigot beta talassemide seksüel matürasyon (Hormon ve hormon ile birlikte çinko tedavisinin etkilerinin incelenmesi). 2. Çinko Simpozyumu ve XX.Ulusal Hematoloji Kongresi. özet Kitabı. Ankara 21-25 kasım 1988, 38.
- 25- Bruce A, Dennis B, Julian L et al : Molecular Biology of the cell. Garland Publishing Inc. Newyork, London. 1983, 199-232
- 26- Bunn HF : Human hemoglobins from Hematology of Infancy and Childhood (Third edition) Ed. Nathan DG, Oski FA, Philadelphia, W.B.Saunders Co. 1987, 613-640.
- 27- Camaschella C, Serra A, Saglio G et al : Meiotic recombination in the beta globin gene cluster causing an error in prenatal diagnosis of beta thalassemia. J.Med.Genet.25 : 307-310, 1988.

- 28- Canatan D : Tek tüp osmotik fragilite testi ile beta talassemi trait taraması (Uzmanlık Tezi). Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı, 1983.
- 29- Canatan D, Arcasoy A, Bor S, Yeşil N : Elbistan yöresinde anormal hemoglobin ve HbA₂ yüksekliği ile karakterize beta talassemi trait taraması. 2.Çinko Simpozyumu ve XX.Ulusal Hematoloji Kongresi özet Kitabı. Ankara, 21-25 Kasım 1988, 30.
- 30- Cantinieaux B, Hariga C, Ferster A, Fondu P : Neutrophil dysfunctions in thalassemia major. The role of cell iron overload. Eur.J.Haemat.39 : 28-34, 1987.
- 31- Cai SP, Zhang JZ, Huang DH, et al : A simple approach to prenatal diagnosis of beta thalassemia in Geographic Area Where multiple mutations occur. Blood 71(5) : 1357 - 1360,1988.
- 32- Cauchi MN : Molecular biology and the diagnosis of thalassemia. Med.J.Aust. 146(4) : 462-465, 1987.
- 33- Cao A, Furbetta M, Galenello R : Screening for beta thalassemia Lancet 29 : 1189, 1980.
- 34- Cao A, Gossens M, Pirastu M : Beta thalassemia mutations in Mediterreanean Populations. British J.Haemat. 71 : 309-312, 1989.
- 35- Cao A, Galenello R, Furbetta M et al : Thalassemia types and their incidence in Sardinia. J.Med.Genet. 15 : 443-447, 1978.
- 36- Cao A, Furbetta M, Galanello R et al : Prevention of homozygous beta thalassemia by carrier screening and prenatal diagnosis in Sardinia. Am.J.Hum.Genet. 35 : 592-605, 1981.
- 37- Cao A, Pintus L, Lecca U et al : Control of homozygous beta thalassemia by carrier screening and antenatal diagnosis in Sardinias. Clinical Genet. 26 : 12-22, 1984.
- 38- Cao A, Rosatelli C : Control of beta thalassemia in Sardinia. Birth Defects 23 (5B) 395-404, 1988.

- 39- Chehab FF, Kaloustian VD, Khoceri FP, et al : The molecular basis of beta thalassemia in Lebanon. Application to prenatal diagnosis. Blood 69: 1141-1145, 1987.
- 40- Chehab FF, Doherty M, Cai S et al : Detection of sickle cell anaemia and thalasseмии. Nature 329:293-294, 1987.
- 41- Chang H, Hobbins JC, Cividalli G, et al : In Utero diagnosis of hemoglobinopathies. Hemoglobin syntesis in fetal red cells. N.Engl. J. Med.9 : 1067 -1068, 1974 .
- 42- Cin Ş, Akar N, Arcasoy A, Dedeoğlu S, Çavdar AO : Kıbrıs Türk toplumunda Thalasseміa-anormal hemoglobin ve G6PD enzim eksikliği insidansı. Doğa 7 : 21-30, 1983 .
- 43- Cin Ş, Akar N, Arcasoy A, et al : Prevalance of thalasseміa and G6PD deficiency in North Cyprus. Acta haemat. 71:69-70, 1984.
- 44- Çavdar AO, Arcasoy A : The incidence of beta thalasseміa and abnormal hemoglobin in Turkey. Acta haemat. 45: 312-318, 1971.
- 45- Deisseroth A, Nienhuis A, Turner P et al : Localization of the human alfa globin structurel gene to chromosome 16 in somatic cell hybrids by moleculer hybridization. Cell 12:205-218, 1977.
- 46- Dinçol G, Aksoy M, Kazancıoğlu R, Dinçol K: Antakya'nın iki Eti Türkü köyünde anormal hemoglobin ve A₂'si yüksek beta talasseмі. DOĞA 8 : 14-17, 1984.
- 47- Dinçol G, Aksoy M, Dinçol K and Kutlar A : A survey for hemoglobin variants and high HbA₂ beta thalasseміa in 1000 Turks. North Cyprus symposium on abnormal hemoglobins and thalasseміa, 10-11 october 1983, Girne. TÜBİTAK Publications. TAG 31, 95-101.
- 48- Dinçol G, Aksoy M, Erdem Ş : Beta thalasseміa with increased HbA₂ in Turkey. A study of 164 thalasseміc heterozygotes. Hum.Hered. 29:272-278, 1979.
- 49- Diaz-Chico JC, Yang KG, Efremov DG, et al : Mild and severe beta thalasseміa among homozygotes from Turkey: Identification of the types by hybridization of amplified DNA

- with syntetic probes. Blood 71(1) : 248-251, 1988.
- 50- Efremov GD, Huisman AHJ : The Laboratory diagnosis of the haemoglobinopathies. Clinics in Haemat. 2: 257, 1974.
- 51- Efremov GD, Wrightstone RC, Braun AN, Huisman THJ : The use of microchromatography in mass-testing programs for hemoglobinopathies. International İstanbul Symposium on Abnormal Hemoglobins and Thalassemia. 24-27 August 1974, İstanbul, TBTAk. Ed.Aksoy M. 237-255.
- 52- England JM, Fraser PM : Differentiation of iron deficiency from thalassemia trait by routine blood-count. Lancet 3 : 449-455, 1973.
- 53- Fessas P : Prevention of thalassemia and haemoglobin S syndromes in Greece. Acta haemat. 78 : 168-172, 1987.
- 54- Fritsch EF, Lawn RM, Maniatis T : Molecular Cloning and characterization of the human beta-like globin gene cluster. Cell 19 : 959-972, 1980.
- 55- Gehlbach DL, Morgenstern LL : Antenatal screening for thalassemia minor. Obstet.Gynecol.71(5) : 801-803, 1988.
- 56- Gürgey A : Talassemi, Hemoglobinopatilerde yeni görüşler. TÜBİTAK yayınları, TAG 36, Ankara 1986.
- 57- Gürgey A, Altay Ç, Kutlar F, Huisman THJ : Beta⁰ ve Beta⁺ talassemi intermedialı vakalarda moleküler defekt. 2.Çinko Simpozyumu ve XX.Ulusal Hematoloji Kongresi özet Kitabı, Ankara 1988, 34-35
- 58- Güz K : Antalya yöresinde akraba evliliği sıklığı ve tıbbi sonuçları (Yüksek Lisans tezi). Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Antalya 1987.
- 59- H.Ü.N.E.E : Türkiye'de akraba evlilikleri ve çocuk ölümlerine etkisi. Ed.Tunçbilek E. Nüfus Bilim Dergisi 9 : 7, 1987.
- 60- Hill AVS, Fliut J, Weatherall DJ : Alfa thalassemia and the malaria hypothesis. Acta haemat. 78 : 173-179, 1987.
- 61- Huisman THJ, Schroeder WA, Brodic AN et al : Microchromatography of hemoglobins. A Simplified procedure for the determination of hemoglobin A₂. J.Lab.Clin.Med. 86 : 700-702, 1975.

- 62- Kaplan LA, Pesce AJ : Clinical chemistry. Theory, Analysis and correlation. The C.V. Mosby Co. 1984.
- 63- Kattamis C, Efremov G, and Pootrakul S : Effectiveness of one tube osmotic fragility screening in detecting beta thalassaemia trait. J. Med. Genet. 18:266-270, 1981.
- 64- Kazazian HH, Boehm CD : Molecular basis and prenatal diagnosis of beta thalassaemia. Blood 72(4): 1107-1116, 1988 .
- 65- Kazazian HH, Dowling JCE et al : The spectrum of beta thalassaemia genes in China and Southeast Asia. Blood 68(4): 964-966, 1986.
- 66- Khalifa AS, Maged Z, Khalil R, Sabri F, Hasan O, El-Alfy M : T Cell function in infants and children with beta - thalassaemia. Acta haemat. 79: 153-156, 1988 .
- 67- Kirdar B : Gene amplification in the diagnosis of hemoglobinopathies. Nato Advanced Research Workshop in Antalya-Turkey, 14-17 March, 1989 .
- 68- Kontoghiorghes GJ, Aldouri MA, Hoffbrand AV et al.: Effective chelation of iron in beta thalassaemia with the oral chelator 1,2-dimethyl-3-hydroxyprid-4-One. British Med. J. 197: 297 : 65-68, 1988.
- 69- Kuliev AM : The WHO control program for hereditary anemias. Birth Defects 23((B) : 383-394, 1988 ✓
- 70- Kürkçüoğlu M, Dağcı A, Arcasoy A : Doğu Anadolu Bölgesinde beta talassemi ve anormal hemoglobin taraması. DOĞA 10: 318-325, 1986.
- 71- Lauer J, Shen CKJ, Maniatis T : The Chromosomal arrangement of human alfa-like globin genes: Sequence homology and delta-globin gene deletions. Cell 20 : 119, 1980 .
- 72- Lebo RV, Carrano AV, et al : Assignment of human beta, gamma and delta globin genes to the short arm of chromosome 11 by chromosome sorting and DNA restriction enzyme analysis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76: 5804-5808, 1979 ,
- 73- Lehman H, Huntsman RG : Man's haemoglobins (2nd. edition) North-Holland Publishing Co. Amsterdam 1974.

- 74- Loukopoulos D, Tassiopoulou A, Fessas P : Screening for thalassemia. *Lancet* 29: 1188, 1980.
- 75- Loukopoulos D, Tassiopoulou KA, Fessas P : Thalassemia control in Greece. *Birth Defects* 23(5B):405-416, 1988.
- 76- Lucarelli G, Galimberti M, Polchi P, et al : Marrow transplantation in patients with advanced thalassemia. *N.Engl. J. Med.* 316:1050-1055, 1987.
- 77- Macaulay-Knox HHM, Weathrall DJ, Clegg JB: Thalassemia in the British. *British Med. J.* 3 : 150-155, 1973.
- 78- Malamos B, Fessas P, Stamatoyannopoulos G : Types of thalassemia-trait carriers as revealed by a study of their incidence in Greece. *Brit. J. Haemat.* 8 : 5-14, 1962 .
- 79- Mazza U, Saglio G, Cappio CF et al : Clinical and haematological data in 254 cases of beta-thalassemia trait in Italy. *Brit. J. Haemat.* 33:91-99, 1976.
- 80- Merkel AP, Donald BA et al : Insulin resistance and hyperinsulinemia in patients with thalassemia major treated by hypertransfüzyon. *N.Engl. J. Med.* 318: 809-814, 1988.
- 81- Modell B, Berdoukas V : The Clinical Approach to thalassemia. Grüne and Stratton LTD. London 1984 .
- 82- Maccioni L and Cao A : Osmotic fragility test in heterozygotes for alfa and beta thalassemia. *J. Med. Genet.* 22: 374-376, 1985 .
- 83- Melis MA, Galenello R, et al : Quantitation of HbA₂ with DE-52 microchromatography in whole blood as screening test for beta thalassemia heterozygotes. *Acta haemat.* 57:32-36, 1977.
- 84- Nienhuis AW, Anagnou NP, Ley TJ : Advances in thalassemia research. *Blood* 63: 738-758, 1984.
- 85- Nienhuis AW, Wolfe L : The thalassemias from Hematology of Infancy and Childhood (third edition) Nathan DG, Oski FA. Philadelphia : W.B.Saunders CO. 1987, 699-778.
- 86- Orkin SH, Setton J, et al : ATA box transcription Mutation in beta thalassemia. *Nucl. Acids Res.* 11:4727, 1983.

- 87- Orkin SH : Genetic diagnosis by DNA analysis. Progress through amplification. N.Engl.J.Med. 317 : 1023-1025, 1987.
- 88- Orkin SH, Markham AF, Kazazian HH : Direct detection of the common Mediterranean beta thalassemia gene with synthetic DNA probes. An alternative approach for prenatal diagnosis Clin.Invest. 71 : 775-779, 1983
- 89- Özsoylu Ş, Şahinoğlu M. : Abnormal hemoglobins in an Eti-Turks village. International Istanbul Symposium on Abnormal Hemoglobins and Thalassemia. 24-27 August 1974. Istanbul TBTAk, Ed. Aksoy M. 173-180.
- 90- Padanilam BJ, Felice AE and Huisman THJ : Partial deletion of the 5'beta globin gene region causes beta⁰ thalassemia in members of an American Black Family. Blood. 64: 941, 1984.
- 91- Pearson HA, O'Brien RT and McInosh S : Screening for thalassemia trait by electronic measurement of mean corpuscular volume. N.Engl.J.Med.288 : 351-353, 1973.
- 92- Pearson HA, McPhadren P, O'Brien RT et al : Comprehensive testing for thalassemia trait. Annals New York Academy of Sciences 232:135-144, 1974.
- 93- Pirastu M, Kan Y, Cao A et al : Prenatal diagnosis of beta thalassemia. Detection of a single nucleotide of mutation in DNA, N.Engl.J.Med. 309: 284-287, 1983.
- 94- Pippard MJ : Iron chelation in thalassemia. Birth Defects 23 (5B) : 35-40, 1988.
- 95- Pootrakul P, Wasi P, Na-Nakorn S : Haematological data in 312 cases of beta thalassemia trait in Thailand. Brit.J. Haemat. 24: 703-712, 1973.
- 96- Population screening for carriers of recessively inherited disorders (Editorial) Lancet: 679, 1980..
- 97- Pellicer A : Frequency of thalassemia in a Sample of the Spanish Population. Am.J.Hum.Genet.19:695-699, 1967.
- 98- Ramot B, Abrahamov A, Gafni D : The incidence and types of thalassemia trait carriers in Israel. Brit.J.Haemat.10:155-158, 1964.

- 99- Ricco G, Mazza V : Significance of a new type of human fetal hemoglobin carrying a replacement isoleucine-threonine at position 75(E 19) of the gamma chain. Hum.Genet.32:305, 1976.
- 100- Reappraisal of high-dose desferrioxamine therapy. Correspondence. Acta haemat. 76:63-64, 1987,
- 101- Saiki RK, Change C et al : Diagnosis of sickle cell anemia and beta thalassemia with enzymatically amplified DNA and nonradioactive allele-specific oligonucleotide probes. N. Engl.J.Med. 319: 537-541, 1988,
- 102- Schwartz E : The silent carrier of beta thalassemia. N.Engl. J.Med. 281: 1327-1333, 1969
- 103- Shine Ian, Lal S : A strategy to detect beta thalassemia minor. Lancet 26:692-694, 1977.
- 104- Silvestroni E, Bianco I, et al. First premarital screening of thalassemia carriers in intermediate schools in Latium. J.Med.Genet. 15: 202-207, 1978
- 105- Silvestroni E, Bianco I, et al. Screening of thalassemia carriers intermediate schools in Latium. Result of four year's work. J.Med.Genet.17 : 161-164, 1980.
- 106- Sklar CA, Lew LQ, et al : Adrenal Function in thalassemia major following long-term treatment With multiple transfusions and chelation therapy. AJDC 14: 327-330, 1987
- 107- Slavin S, Cividalli G, et al : Bone marrow transplantation in beta thalassemia major with prevention of Graff-vs-Horst disease. Birth Defects 23(5B) : 313-316, 1988.
- 108- Sözüöz A, Berkalp A, Cao A: Kıbrıs Türk toplumunda beta talassemi mutasyonları. 2.Çinko Simpozyumu ve XX.Ulusal Hematoloji Kongresi özet Kitabı, Ankara, 21-25 Kasım 1988, 36.
- 109- Steinberg MH, Adams JG:Thalassemic Hemoglobinopathies.AJP 3: 396-405, 1983.
- 110- Sümbüloğlu K : Sağlık Bilimlerinde Araştırma Teknikleri ve İstatistik. Ankara Çağ Matbaası 1978, 60-180.
- 111- Takihara Y, Nakamura T, et al : A novel mutation in the TATA Box in a Japanese patient with beta⁺ thalassemia. Blood 67(2): 547-550, 1986.

- 112- Thein SL, Wallace RB, et al : The polyadenylation site mutation in the alfa globin gene cluster. Blood 71(2):313-319, 1988.
- 113- Thompson JS, Thompson MW : Genetics in Medicine(Fourth edition) WB sounders Co. Philadelphia 1986, 79-92.
- 114- Trent RJ, Warr RG, et al. DNA analysis for antenatal diagnosis of thalassemia and haemophilia. Med.J.Aust.146(4):462-465, 1987.
- 115- Virgilis S, Congia M, et al. Deferroxamine induced growth retardation in patients with thalassemia major. The Journal of Pediatrics 113(4):661-668, 1988.
- 116- Vogel F, Motulsky AG : Human Genetics Problems and approaches. Second Completely Revised Edition. Springer Verlag, Berlin,Heidelberg, New York, Tokyo 1986, 227-302.
- 117- Weatherall DJ, Clegg JB : The thalassemia Syndromes (3 rd. edition) Blackwell Scientific Publications Oxford 1981.
- 118- Weatherall DJ : The Thalassemias from Hematology (3 rd. edition) Ed. Williams WJ, Beutler E, et al : McGraw-Hill Book Co. Newyork 1986, 493-521.
- 119- Wolman IJ : Transfusion therapy in cooley's anemia : Growth and health as related to long range hemoglobin levels. A progress report. Ann.N.Y.Acad.Sci. 119:736, 1964.
- 120- WHO Human Genetics Programme, Division of noncommunicable Disease. Report of a WHO working group on the community control of hereditary anemias. Na HMG/WG/81.4 Ceneva, WHO, 1981.