

Halk sağlığı problemi olan talasemilerde laboratuvar

Laboratory on thalassemia which is a public health problem

Çiğdem SÖNMEZ¹, Ayşegül ÖZTÜRK-KAYMAK², Gülcan GÜNTAŞ¹

ÖZET

Talasemi ya da diğer adıyla Akdeniz Anemisi; dünyada ve ülkemizde en sık görülen ailesel geçişi olan hematolojik bir hastalıktır. Otozomal resesif geçiş gösteren, hemoglobin (Hb) zincirlerinden birinin veya birkaçının kalıtsal defekti sonucu gelişen hipokrom mikrositer anemi ile karakterize heterojen bir grup hastalıktır. Talasemi, α , β , γ , δ olarak tanımlanan hemoglobin zincirinin veya zincirlerinin az sayıda yapılması veya hiç yapılamaması ile oluşur. Alfa (α) zincir yapım azlığı ya da yokluğu α talasemiye, beta (β) zincir yapım azlığı veya yokluğu β talasemiye neden olmaktadır. Talasemi de klinik bulguların şiddeti globulin zincirlerindeki defektin miktarına ve etkilenen zincirin tipine göre değişmekle birlikte; asemptomatik seyirli taşıyıcılıktan sürekli transfüzyon tedavisi gerektiren ciddi klinik seyirlerle karşımıza çıkabilmektedir. Laboratuvar testleri talasemilerin tanı ve takibinde geniş yelpazede yer almaktadır. Tam kan sayımı, periferik yayma ve klinik kimya testleri ile hipokrom mikrositer anemilerin tanısı için gerekli parametreler iken; talasemilerin tanısı için yüksek performanslı likid kromatografisi, elektroforez testleri kullanılmaktadır. Talasemiler, taşıyıcıların laboratuvar tarama programları ile saptanması sonrası genetik danışma ve doğum öncesi tanı konabilmesiyle engellenebilir bir hastalık olmasına rağmen, dünyada her yıl en az 60.000 talasemi hastası doğmaktadır. Türkiye'de

ABSTRACT

Thalassemia which is also known as Mediterranean Anemia, is the most commonly observed hereditary blood disease in our country and in the world. This disease group which shows autosomal recessive transmission is a heterogeneous one group of disease which is characterized with hypochromic microcytic anemia that develops in the result of inherited defect of one or more of the hemoglobin chains. Thalassemia occurs either when hemoglobin chain or chains which are described as $\alpha, \beta, \gamma, \delta$ are produced in few amount or when they are not produced at all. Absence of α -chain production or its insufficient production leads to α -Thalassemia; and the absence of β -chain production or its insufficient production leads to β -Thalassemia. While the severity of clinical findings in thalassemia changes according to the amount of defect on globulin chains and the type of chains that is affected; it can appear with a severe clinical progress that requires continuous transfusion treatment, from a carrier case with asymptomatic progress. Wide range of laboratory tests take part in the diagnosis and follow-up of Thalassemia. While whole blood count, peripheral smear and clinical chemistry tests are required parameters for the diagnosis of hypochromic microcytic anemia; high performance liquid chromatography and electrophoresis tests are used for the diagnosis of thalassemia. Although thalassemia can be prevented

¹ Dr. Abdurrahman Yurtaslan Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya, ANKARA

² Dr. Abdurrahman Yurtaslan Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genetik, ANKARA



İletişim / Corresponding Author : Çiğdem SÖNMEZ

Dr. Abdurrahman Yurtaslan Onkoloji Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Biyokimya, ANKARA

Tel : +90312 336 09 08 - 4636

E-posta / E-mail : ataycigdem@yahoo.com

Geliş Tarihi / Received : 21.03.2014

Kabul Tarihi / Accepted : 01.05.2014

DOI ID : 10.5505/TurkHijyen.2014.26918

Sönmez Ç, Öztürk-Kaymak A, Güntaş G. Halk sağlığı problemi olan talasemilerde laboratuvar. Turk Hij Den Biyol Derg, 2014; 71(4): 221-8.

ise yaklaşık 1.300.000 talasemi taşıyıcısı ve 4.500 kadar talasemi hastası olduğu bildirilmektedir. Bu nedenle talasemiler ülkemiz için bir halk sağlığı problemidir. Talasemi tanısının zamanında ve doğru laboratuvar testleri ile konulması, gereksiz demir kullanımı gibi uygun olmayan tedavileri azaltacaktır. Genetik danışmanlık verilmesiyle taşıyıcı anne ve babaların hasta çocukları için alternatif tedaviler ile ilgili bilgi sahibi olmaları ve bir sonraki gebelik planlarında preimplantasyon genetik tanı (PGT) yönteminden faydalanmaları hedeflenmiştir. PGT, hasta bireylerin ömür boyu karşılaştıkları sağlık problemleri, hastalıkların tedavisindeki komplikasyonlar ve yüksek tedavi maliyetleriyle analiz edildiğinde, ailelerin sağlıklı çocuk sahibi olmalarına yardımcı olması nedeniyle kritik öneme sahip bir tekniktir. Bu derlemede talasemilerde, demir eksikliği anemisi ve diğer anemilerin ayrımında kullanılan eski ve yeni laboratuvar parametrelerinin neler olduğu ve nasıl kullanılacağı değerlendirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Talasemi, Laboratuvar testleri, Genetik Danışmanlık

with genetic counseling after the detection of carriers with laboratory screening programs and although it can be diagnosed before birth; every year at least 60.000 thalassemia patients are born in the world. It is reported that there are about 1.300.000 thalassemia carriers and about 4.500 thalassemia patients in Turkey. For this reason, thalassemia is a public health problem for Turkey. The diagnosis of thalassemia with the correct laboratory tests at a right time decreases inappropriate treatments like redundant use of iron. With the genetic counseling to the carrier families it is aimed to informed about alternative treatments for their children who have the disease and for their next birth plans how to use Preimplantation genetic diagnosis (PDG) technique. When health problems that patients encounter throughout their life, complications in the treatment of patients and high treatment costs are analyzed, PGD is a technique which has critical importance, it assists to make families have healthy children. In this review it is evaluated that in thalassemia what are the old and new laboratory parameters that are used in discrimination of iron deficiency anemia and other anemias; besides how they are used.

Key Words: Thalassemia, Laboratory Tests, Genetic Counseling

GİRİŞ

Talasemi ya da diğer adıyla Akdeniz anemisi; dünyada ve ülkemizde en sık görülen ailesel geçişli olan kalıtsal kan hastalığıdır. Kelimenin kökeni Yunancadan gelmektedir. Eski Yunanca'da "thalas" kelimesi deniz, "emia" kelimesi ise anemi anlamına gelmektedir, "Thalasemia" ise Akdeniz anemisi anlamına gelir. Akdeniz anemisi aynı zamanda Cooley anemisi olarak da adlandırılmaktadır (1) Talasemi hastalığı oluşum mekanizmasında, hemoglobinin sentezi defektleri temel rol alır. Talasemiler bu defektlerin şekline göre, asemptomatik taşıyıcılıktan farklı derecelerde hipokrom mikrositer anemiye kadar seyredabilen bir hastalık grubudur. Hemoglobin (Hb), eritrositlerin dokulara oksijen taşımasında görevli bir metalloproteindir (2). Bu

globuler yapıdaki tetramer polipeptid, iki farklı globin zinciri içermektedir. Bu globulin zincirleri merkezde kavite oluşturacak şekilde bir kabuk gibi sarmal oluştururken zincir üzerine kovalent bağ ile dört tane hemin bağlanacağı bölgeler oluşturur. Normal erişkin bir insanda Hb'nin %95-97'sini meydana getiren HbA molekülü, yapısında iki α ve iki β globin ($\alpha_2\beta_2$) zincirinden meydana gelen tetramer yapıda bir metalloproteindir. Fetal hayat ve yenidoğanın major Hb'i olan HbF ise iki α ve iki γ ($\alpha_2\gamma_2$) zincirinden meydana gelmekte olup normal erişkin insanda düzeyi %1'in altındadır. Yapısında iki α ve iki δ zinciri bulunan HbA2 ($\alpha_2\delta_2$) normal erişkinde %2-3 oranında bulunur. α globulin zinciri 16. kromozomda, α dışı zincirler ise

11. kromozomda kodlanır. Bu nedenle bir diploid gen 4 α globulin zinciri ve 2 β benzeri gen içerir. α ve β genleri sırasıyla 141 ve 146 amino asit residue içerirler. Bu iki zincir arasında homolog 64 amino asit dizisi idantik pozisyonlarda bulunur. β geninde ise delta ve gamma zincirinden farklı 39 ve 10 amino asit kalıntısı bulunmaktadır(1-3).

Talasemiler, otozomal resesif geçiş gösteren, Hb zincirlerinden birinin veya birkaçının hasarlı sentezi sonucu gelişen hipokrom mikrositer anemi ile karakterize heterojen bir grup hastalıktır. Talasemi, α , β , γ , δ olarak tanımlanan hemoglobin zincirinin veya zincirlerinin az sayıda yapılması veya hiç yapılamaması ile oluşur. Bu tanımlamaya göre, α zincir yapım azlığı yada yokluğu α talasemiye, β zincir yapım azlığı veya yokluğu β talasemiye neden olmaktadır (2).

Talasemiler, taşıyıcıların laboratuvar tarama programları ile saptanması sonrası genetik danışma ve doğum öncesi tanı konabilmesiyle engellenebilir bir hastalık olmasına rağmen, dünyada her yıl en az 60.000 talasemi hastası doğmaktadır (4). Türkiye’de yaklaşık 1.300.000 talasemi taşıyıcısı ve 4.500 kadar talasemi hastası vardır (5). Ülkemizde β talasemi taşıyıcılığı sıklığı %2,1 dolayındadır. Bu sayı farklı bölgelerde artmakta, taşıyıcılık sıklığı %13’e kadar yükselmektedir (Antalya %13, Edirne %6,4, Urfa %6,4, Aydın %5,1, Antakya %4,6, İzmir %4,8, Muğla %4,5, İstanbul %4,5). Akdeniz, Ege ve Trakya bölgeleri taşıyıcılığın yüksek olduğu bölgelerdir (5).

BETA TALASEMİLER

β talasemiler, β globulin zincir oluşumunun azalmasına bağlı oluşur ve gen bozukluğu toplumlarda %3 ile %10 arasında bir sıklıkta izlenmektedir. β talasemi için 200 den fazla gen mutasyonu tanımlanmıştır. Akdeniz, Afrika ve Güneydoğu Asya’da sıklıkla izlenmektedir (3, 6, 7). β talasemiler dört grupta incelenir.

1- β^0 - **Talasemi Major:** Akdeniz anemisi olarak da bilinir. β globulin zincirinin oluşmamasına

bağlı olarak HbA oluşmamaktadır. Yaşamın 3-4. aylarında başlayan, derin anemi ile seyreden ve sık transfüzyon ihtiyacı olan ciddi bir hematolojik hastalıktır. Bu hastalıkta klinik olarak gelişme geriliği, halsizlik, solgunluk, iştahsızlık, huzursuzluk, enfeksiyona meyil, hepatomegali ve splenomegali izlenir. İnefektif eritropoeze ve ekstremeduller hematopoeze bağlı olarak, yüz ve kafa kemiklerinden başlayan kemiklerde deformiteler ve tipik bir yüz görünümü ortaya çıkar. Hb düzeyi 7 g/dl’nin altındadır. Hb elektroforezinde HbA hemen hemen yoktur ve yerini HbF almıştır. HbA2 normal, düşük veya hafif artmış olabilir (3, 6, 7).

2- β^+ **Talasemi İntermedia:** β globulin zincirinin oluşumunun azalmasına bağlı olarak HbA miktarı azalır. Genellikle bir yaşından sonra tanı konulur. Klinik daha ılımlı, anemi daha hafiftir. Hb düzeyi 7-10 g/dl arasındadır. Hastalar genellikle düzenli kan transfüzyonu gereksinimi duymazlar (3, 8).

3- β^+ **Talasemi Minör (Taşıyıcı Tip):** Bu bireyler talasemi taşıyıcısıdır ve tedavi gerektirmezler. Talasemi taşıyıcılarında da bebeklik döneminde iyi beslenememe nedeniyle demir eksikliği gelişebilir. Bu nedenle demir eksikliği tanısı konan hastalar demir tedavisi sonrasında değerlendirilmeli ve birlikte bulunabilecek talasemi taşıyıcılığı atlanmamalıdır. Enfeksiyon, gebelik ve stres durumlarında nadiren transfüzyon ihtiyacı duyabilirler (3, 8).

4. **Talasemi minima (Talasemi taşıyıcılığı):** Bulgular talasemi minördeki gibidir, ancak hemoglobin elektroforezi normal saptanır, tanı gen analizi ile konur (6).

ALFA TALASEMİ

α globulin zincir geninin bir tanesinden dört taneye kadar hepsinin delesyonu veya nokta mutasyonu sonucu, silinen gen miktarına bağlı olarak sessiz anemiden yaşam ile bağdaşmayan hastalık durumuna kadar farklı klinik özelliklerde karşımıza çıkabilir. α talasemi bütün dünyada görülebilir. Ancak Güneydoğu Asya ülkelerinde sıklıkla izlenir

(7). α talasemiler, β talasemilere göre daha sık izlenirken çoğunlukla asemptomatik seyreder. β talasemiden en büyük farkı intrauterin dönemde de görülebilmektedir (6).

Hb Barts: α globulin zincirinin dördünün de etkilenmesi sonucu hiç α globulin sentezi olmamaktadır. Fetusda γ -globulin zincirleri bir araya gelerek γ_4 tetramer oluştururlar ve bu tetramer Hb Barts olarak adlandırılır. Bu hastalığa sahip bebek taşıyan annelerin gebeliklerinin 20-26. haftasında hipertansiyon, ultrasonografide polihidroamniyoz ve hidrops fetalis izlenir. Buna sebep olabilen toxoplazma, rubella, CMV ve HSV gibi diğer durumlar ekarte edilmelidir (6, 7). Bu tablo doğumdan sonra ölümlü sonuçlanır.

Hb H (Alfa talesemi intermedia): α globulin genini üç tanesinin ($\alpha\alpha\alpha$) etkilenmesi sonucu farklı derecelerdeki kronik anemi ile karşımıza çıkar. α globulin zincirinin az sentezlenmesi, β globulin zincirinin insoluble globulin zincir HbH tetramerleri oluşturmasına neden olur. Mikrositer anemi, splenomegali ve hemoliz görülebilir. Akut hastalık haricinde demir ve transfüzyon tedavisine gerek yoktur. Genetik danışmanlık gereklidir (6, 7).

α - Talasemi minor: 2 α globulin gen zincirinin defektine bağlı olarak gelişir. Hafif hipokrom mikrositer bir anemi ile seyreder (6).

α - Talasemisilent: Tek bir α globulin zincir defekti ile karşımıza çıkar. Anemi görülmez veya çok hafif derecede karşımıza çıkar. Demir düzeyi ve Hb tipi tayinlerinde sonuçlar referans aralık içindedir (6, 7). Sadece genetik olarak saptanabilir.

TALASEMİDE LABORATUVAR

Hematolojik hastalıklarının tanısında tam kan sayımı (TKS) ve periferik kan yayma incelemesi özellikle anemili hastanın ilk değerlendirmesinde, ayırıcı tanısında ve daha sonra istenecek olan testlerin seçiminde yönlendirici, basit ve hızlı sonuçlanan testlerdir. TKS değerlendirmesinde Hb miktarından sonra dikkat edilmesi gereken

en önemli parametre eritrositlerin büyüklükleri hakkında bilgi veren ortalama eritrosit hacmi (MCV)'dir. Ayrıca ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), ortalama hemoglobin yüzdesel miktarı (MCHC), eritrosit sayısı (RBC) ve eritrosit dağılım genişliğinin (RDW)(anizositozun göstergesi) de ayrı ayrı değerlendirilmesi gerekmektedir (9). Bu parametreler özellikle mikrositer hipokrom anemiler ile talasemi ayırıcı tanısında oldukça yardımcıdır (10). Demir eksikliği anemisinde MVC, MCH, MCHC ve RBC azalırken, RDW'de artış görülmektedir. Talasemi taşıyıcılarında Hb seviyeleri normal veya normalden 1-2 g/dl kadar düşüktür. Genellikle RBC sayısındaki artışa ($>5.0 \times 10^9/L$), hipokromi (MCH düşük) ve mikrositoz (MCV düşük) eşlik ederken RDW değeri normaldir. Anemilerin ayırıcı tanısında bu parametrelerin yanında tüm kan sayım parametrelerinin de değerlendirilmesi gerekirken yaşa ve cinsiyete göre referans aralık kullanılması en önemli unsurlardan biridir.

Modern teknolojinin gelişmesiyle kan sayım cihazlarına eklenen yeni parametreler ile eritropoez hızı ve kemik iliğine sunulan demir miktarı arasındaki denge ve hipokrominin daha etkin değerlendirmesi için hipokromik RBC = Hypo%, retikulosit Hbkontent= CHR ve Low Hb dansitesi = LDH% parametreleri geliştirilmiştir (11).

Tanıda TKS değerlendirilmesinin yanı sıra periferik yayma ile morfolojinin de değerlendirilmesi gerekmektedir. Eritrositlerin şekli, büyüklüğü, rengi, inklüzyon cisimcikleri ve düzenleri ayırıcı tanının yapılmasında anahtar role sahiptir. Talasemide periferik yaymada eritrositlerde hipokromi ve mikrositoz izlenirken, hedef hücresi ve bazofilik noktalanma da görülebilir (9).

Anemili hastada klinik kimya testlerinden demir, demir bağlama kapasitesi, transferrin, transferrin saturasyon indeksi, laktat dehidrogenaz (LDH), bilirubinler, haptoglobulin, soluble transferrin, ferritin, vitamin B12 ve folik asit düzeylerinin bakılması tanıda, ayırıcı tanıda ve hastalığın

izleminde kullanılan rutin laboratuvar testleridir. Serum demir ve demir bağlama değerleri hipokrom mikrositer anemiye neden olan hastalık grupları içerisinde ayırıcı tanıda oldukça yol göstericidir. Demir eksikliği anemisinde, demir düşük ve demir bağlama kapasitesi yüksek seyrederken, talasemi hastasında hastalığın tipine ve derecesine bağlı olarak demir normal veya yüksek, demir bağlama normal veya düşük olarak izlenebilir. Talasemi hastalığının derecesi, anemi derinliği ve transfüzyona bağlı olarak bu parametrelerin sonuçları düzenli takip edilmelidir. Ayrıca ferritin düzeyi ile birlikte değerlendirilmesi tanısal desteği artırır. Serum ferritin düzeyi demir yükünü özellikle karaciğerdeki demir miktarını güçlü yansıttığı için klinik öneme sahip, ucuz ve basit bir testtir. Demir eksikliği anemisinde ferritin düzeyi düşük bulunurken, talasemi vakalarında hastalığın erken dönemleri ve geç dönemlerinde (transfüzyonlara bağlı demir yükünün varlığında) serum düzeylerinde farklılıklar izlenebilir. β talasemili hastalarda ferritin değerleri transfüzyon miktarı ile ilişkilidir (12). Laboratuvarında ferritin düzeyinin dilüsyonlu çalışılması ile serum düzeylerinin tam olarak takibi hem şelasyon tedavilerinin hem de komplikasyonların takibinde önemlidir. Ferritin serum değerinin 1800 ug/L üzerinde olması artmış kardiyak demir düzeyini gösterirken, 2500 ug/l üzerindeki değerler kardiyak komplikasyonların artmış prevalansını gösterir (6, 13). Ancak ferritinin diüurnal ritme sahip bir akut faz reaktanı olması spesifitesinin düşüklüğüne neden olmaktadır (14). Bu nedenle yeni parametrelere ihtiyaç duyulmaktadır. Bunlardan biri olan soluble transferrin reseptörü (sTfR) inflamasyondan etkilenmeyen, ferritin ile beraber bakılması ve ferritin indeksinin hesaplanması ile (sTfR/log ferritin) demir eksikliği anemisinin ayırıcı tanısında güvenilir bir belirteçtir (14-16). Anemik hastanın değerlendirilmesinde klinik kimya testlerinden folik asit ve vitamin B12 düzeylerinin bakılması megaloblastik anemi lehine değerlendirmelerde

yardımcı olur. Talasemilerde semptomatik olanlarda sekonder folik asit eksikliği nedeniyle megaloblastik anemi de gelişebilir. Ayrıca talasemilerde izlenebilen intravasküler hemolize bağlı hiperbilirubinemi ve hiperürisemi görülebilir (13).

Demir metabolizmasında etkin olan ve rutin laboratuvar kullanımına yeni eklenen parametrelerden bir diğeri de hepsidin'dir. Talaseminin mortalite ve morbiditesinden sorumlu olan demir yükünün takibinde ve demirin vücut metabolizmasında oldukça önemli bir laboratuvar testidir. Karaciğerde sentezlenen bu peptid hormon plazmadaki demir konsantrasyonunun regülasyonunda ve farklı dokulara taşınmasında rol alır. Hepsidin serum ve idrar seviyeleri ölçülebilirken, idrar düzeylerinin ölçümünün kreatinin ile düzeltilmesi gerekmektedir. Talasemi hastalarında hepsidin seviyesi düşüklüğünün Hb konsantrasyonu ile pozitif, ferritin düzeyi ile negatif korelasyonu izlenmektedir (17, 18).

β talasemide izlenen anemi ve buna bağlı gelişen sekonder hipoksi sonucu serum eritropoietin (EPO) düzeyi dramatik şekilde artmıştır (19). Galanello ve arkadaşları (20) yaptığı çalışmada β talasemi hastalarında var olan HbF miktarının %40'ın üzerinde olduğunda EPO sentezini arttırdığı ve eritropoz üzerinde bağımsız regülatuar bir etki uyguladığını göstermişlerdir.

Talasemi majorlu hastalarda demir yüküne bağlı gelişen hemosiderozis sonucu hepatik fibrozis, hipoparatiroidi (geç dönemde) ve kardiyak yetmezlik gelişir. Karaciğer fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak 25-hidroksi vitamin D (25(OH)D) düzeylerinde azalma görülürken erken dönemde 25(OH)D yetmezliğinin tespiti, kemiğin mineral dengesinin sağlanmasına ve kemik hastalığının önlenmesine yönelik tedavi düzenlenmesini sağlayabilir (21).

TKS, periferik yayma değerlendirmesi ve diğer klinik biyokimya testleri ile hipokrom mikrositer anemilerin tanısında özellikle de demir eksikliği

anemisinde tanı konulabilse bile talasemi tanısı için elektroforez testleri ile Hb oranları, tipleri ve anormal Hb'lerin gösterilmesi gereklidir. Elektroforez, genel olarak, bir çözelti içerisindeki yüklü partiküllerin elektriksel alanda göç ettirilerek ayrıştırılması prensibine dayanan bir analiz yöntemidir. Agaroz jel ile Hb tiplerinin tayini talasemi ve hemoglobinopatili hastaların laboratuvar tanısı için gereklidir. Agaroz jel elektroforezi hem asit hem de alkali pH'da yapılmalıdır (2, 4). Alkali ortamda (alkali pH= 8,6) yapılan elektroforezde Hb F, A, S ve C taraması yapılırken minor varyant olan HbG ve HbD'yi HbS'den, HbE ve HbO'yu HbC'den ayıramaz. Asit Hb elektroforezinde (pH=6) ise HbG ve HbD'nin HbS'den; HbE ve HbO'nun HbC'den ayrılmasına olanak sağlar (2, 4).

Kapiller elektroforez, kapiller izoelektrik odaklama (CIEF) ve Kapiller zone elektroforezi olarak Hb varyantlarının, HbA2 ve HbF miktar tayini için ticari kitleri bulunan otomatize güvenilir sistemlerdir. CIEF, HbF'nin HbA ve varyant hemoglobiner S, C, D, punjab, E ve O Arab'dan iyi ayrılmasını sağlar (22).

HPLC (yüksek performanslı likid kromatografisi), bir tampon gradiyenti ile birlikte bir kolon kartilaj düzeninde iyon değişim reçinesi kullanarak iyonik güç ve/veya tampon pH değişikliklerine bağlı olarak belirli bir Hb kolondan ayrıştırılır ve Hb varlığı bir spektrofotometrik teknik kullanılarak tespit edilir. Hemoglobin fraksiyonun enjeksiyon zamanından ayrılmışan noktaya gelene kadar geçen alıkoyma süresi retansiyon zamanı olarak bilinir. Hemoglobinopati programında HbF, AO, A2/E, D, S ve C'ler için belirlenen pencereler ile retansiyon zamanı kullanılır. Retansiyon zaman skalasında yedi Hb yer alır (HbA, F, S, C, D, E ve A2). Her örnek analizinden sonra kromatogram kopyası otomatik olarak yazdırılır. HbF, HbA'dan ayrı olarak tespit edilirken Hb S, C, D, E de ayrı ayrı izlenmektedir. Bununla birlikte anormal Hb'lerde tespit edilir. Bu test taşıyıcılar, etkilenmiş infantlar ve HbS varyantı taşıyan B

talasemili hastaların ayırımında kullanılır. HbBarts ve HbH analiz başlamadan önce ayırma testlerinden kantifiye edilmeleri zordur. HPLC sistemleri geniş sayıda örnekler için kullanışlı sistemlerdir (2). HPLC sistemlerinde HbA2 ölçümlerinde agaroz jel tekniği ile karşılaştırılmasında HPLC yöntemi ile çalışmada HbA2 ölçümünde daha kesin ve doğru sonuçlar elde edilmektedir (2).

TALASEMİ VE GENETİK

Ülkemizde sık görülen ve klinik laboratuvar testleri ile Hb tip ve oranlarının gösterilmesindeki zorluklar nedeniyle β talasemi ve α talasemi üzerine genetik laboratuvar çalışmaları giderek ön plana çıkmıştır. β talasemiye neden olan HBB gen bölgesi 11 numaralı kromozomun kısa koluna (11p15.4) yerleşmiş üç ekzon ve iki introndan oluşmaktadır. Günümüzde HBB gen bölgesine ait 200'den fazla farklı mutasyon bildirilmiştir. Bu mutasyonlar bölgesel olarak farklılıklar göstermektedir. Bu yüzden hastalığın araştırılacağı kişide bakılacak olan mutasyonların önceliği kişiden kişiye değişmektedir. Yapılan araştırmalarda ülkemizde en sık gözlenen mutasyon IVS-I 110 olarak saptanmıştır. Diğer sık gözlenen mutasyonlar ise IVS-I 1, IVS-I 6, Cod 39, FSC-8, -30, IVS-II 1, IVS-II 745'dir (23). Sadece sık gözlenen mutasyonlar Real Time PCR ve hibridizasyon yöntemleriyle saptanabilir. Tüm gen araştırılması için ekzon ve intron bölgelerini içeren sekans analizi yapılmalıdır. Bunun için elde edilen DNA materyaline β Globulin (HBB) gen bölgesine spesifik primerler kullanılarak Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR) yapılır. Daha sonra elde edilen PCR oranına DNA dizi analizi uygulanır. Elde edilen veriler Gen Bankası Veri Tabanı'ndaki bilgilere göre yorumlanır. Moleküler genetik tanı; α talasemi tanısında önemli bir yer tutmaktadır. α 1-globini kodlayan HBA1 ve α 2-globini kodlayan HBA2 genlerinin incelenmesinde belli mutasyonlar için hibridizasyon yöntemi kullanılabilir. HBA1 ve HBA2 genleri 16. kromozomun kısa kolunun uç bölgesinde (16p13.3) yerleşik üçer

ekzon ve ikişer introndan oluşmaktadır. Etkilenmiş hastaların %90'unda delesyon, %10'unda ise nokta mutasyonları gözlenir. Türkiye'de en sık gözlenen delesyonlar, 3.7-kb sağ taraf (- α 3.7) ve 4.2-kb sol taraf delesyonudur (- α 4.2). HBA1 ve HBA2 genlerinde 6 kb ile 300 kb arasında değişen 20'den fazla farklı delesyon saptanmıştır. Bunlar içerisinde, --SEA, --FIL ve --MED en sık gözlenen delesyonlar olup homozigot olmaları durumunda HB Bart sendromu gözlenir. Hastalarda en sık gözlenen nokta mutasyon ise HbConstant Spring (HbCS) missense mutasyonudur. Bu delesyonların gösterilebilmesi için HBA1 ve HBA2 genleri için Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) analizi kullanılmaktadır (24). Delesyon saptanmayan ancak klinik şüphesi devam eden hastalarda sık gözlenen mutasyonlardan başlanarak mutasyon analizi yapılması gerekir.

Genetik danışma spesifik genetik hastalık için, hastaların, ailelerinin, yakınlarının ve risk taşıyan tüm kişilerin; hastalığın klinik özelliklerinin (tanı, prognoz ve tedavi olanakları), hastalığın ortaya çıkışında kalıtımın rolünün ve yakın akrabalarında bu hastalığın ortaya çıkma risklerinin, var olan bu risklere karşı prenatal tanı ve çocuk sahibi olmaya yönelik diğer alternatifleri öğrenmelerinin ve sonuç olarak hastalığa hastanın uyumunun artmasının hedeflendiği uzun ve katımlı bir süreçtir.

Talasemilerde de genetik danışmanlık önemli bir yer tutar. Eğer her iki ebeveyn talasemi taşıyıcı ise her gebelikte %25 olasılıkla normal, %50 olasılıkla talasemi taşıyıcısı, %25 olasılıkla talasemi majör çocuk doğabilir. Eğer ebeveynlerden biri talasemi taşıyıcısı ise doğacak her çocuk %50 ihtimalle taşıyıcı olabilir. Bu nedenle anne ve babaların çocuk sahibi olmadan önce talasemi taşıyıcısı olup olmadıklarını bilmeleri önemlidir. İki taşıyıcının evlenmesi halinde gebeliğin 10-11. haftalarında kordosentez ile doğum öncesi talasemi tanısı konulabilir.

Hızlı gelişen teknoloji ve birikim genetik bilgi sayesinde Preimplantasyon Genetik Tanı (PGT) koruyucu tıbbın en önemli kolu olmaya adaydır. Herediter geçiş gösteren bir hastalığa neden olan genetik değişikliğin doğum öncesi saptanabilmesi için hastalığa neden olan genin yapısının ve özelliklerinin çok iyi biliniyor olması gerekmektedir. Bugüne kadar yapılan araştırmalar sonucu β -talasemi, orak hücreli anemi, hemofili ve kistik fibrosis gibi hastalıklara neden olan genlerin yapısı belirlenmiştir. Bu yüzden Türkiye gibi taşıyıcı sıklığı ve akraba evliliğinin fazla olduğu toplumlar için talasemilerde PGT önem taşımaktadır (25).

β Talasemi Önleme Programlarının en önemli ayaklarını eğitim, tarama programları, genetik danışma, prenatal tanı ve PGT oluşturmaktadır (26). Talasemilerde, PGT yöntemi ile sağlıklı embriyoların saptanmasının yanı sıra HLA tiplemesi işlemi de aynı anda uygulanabilmekte ve embriyoların HLA tipi belirlenebilmektedir. Bu yöntem, aileleri prenatal tanı işlemlerine bağlı tıbbi ve psikolojik travmalardan da korumaktadır. Bunların yanı sıra; PGT, hasta bireylerin ömür boyu karşılaştıkları sağlık problemleri, hastalıkların tedavisindeki komplikasyonlar ve yüksek tedavi maliyetleriyle analiz edildiğinde, ailelerin sağlıklı çocuk sahibi olmalarına yardımcı olması ve hasta bireylere ek bir tedavi olanağı sunması nedeniyle halen gelişmekte olan zahmetli ve kritik öneme sahip bir tekniktir. Uygun doku tipine sahip kemik iliği bulunması durumunda nakil ile kesin tedavi sağlanabilmektedir.

Özetle; talasemilerin tanısı, tedavisi, takibi ve önlenmesi halk sağlığı açısından önemli bir yer tutmaktadır. Giderek ön plana çıkan genetik testler ile β talasemi ve α talasemi tanısının konması yanı sıra PGD ile hastalığın önlenmesi de amaçlanmaktadır.

KAYNAKLAR

1. GH Whipple, WL Bradford. Mediteranean Disease-Thalassemia (erythroblasticanemia of Cooley). J Pediatr, 1936; 9: 279-311
2. Clarke GM, Higgins TN. Laboratory Investigation of Hemoglobinopathies and Thalassemias: Review and Update Clinical Chemistry, 2000; 46: 1284-90.
3. Rund D, Rachmilewitz E. B-Thalassemia. N Engl J Med, 2005; 353: 1135-46.
4. Aydınok Y. Thalassemia Hematology, 2012; 1: 28-31
5. Canatan D. Dünyada ve Türkiye’de Talasemi ve Anormal hemoglobinler Türk Hematoloji Derneği 5. Ulusal Talasemi Gençlik Kampı. İzmir-Türkiye. 2004
6. Higgins T, Eckfeldt JH, Barton JC, Doumas BT. Hemoglobin, Iron and Bilirubin Chapter 32. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE eds. TietzTextbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics Fifth Edition. USA: Elsevier Saunders, 2012: 985-1030.
7. Muncie HL Jr, Campbell J. Alpha and B Thalassemia Am Fam Physician, 2009; 80: 339-44.
8. Olivieri NF. The B Thalassemias N. Engl J Med, 1999; 341: 99-109.
9. Albayrak D, Albayrak C. Anemik hastada iyi öngörü Türk Pediatri Arşivi, 2009; 6: 1-5.
10. Ford J. Redbloodcellmorphology. Int J Lab Hamatol, 2013; 35(3): 351-7.
11. Herklotz R, Risch L, Huber AR. Conventional and new laboratory parameters in the evaluation of hematologic disease. Ther Umsch, 2004; 61:93-102.
12. Martin A, Thompson AA. Thalassemias. Pediatr Clin North Am. 2013; 60:1383-91.
13. Carson SM, Martin MB. Effective Iron Chelation Practice for Patients With B-Thalassemia Major. Clin J Oncol Nurs, 2014;18:102-11.
14. Urrechaga E, Borque L, Escanero JF. Biomarkers of hypochromia: the contemporary assessment of iron status and erythropoiesis. Biomed Res Int, 2013;2013:603786. doi: 10.1155/2013/603786.
15. Tripatara A, Srichana N, LamoolP, Amnuaykan S, Hongart P, Jetsrisuparb A. Relationship between Plasma Ferritin Level and Siderocyte Number in Splenectomized β -Thalassemia/HbE Patients. Anemia, 2012; 2012: 890471.
16. Skikne BS. Serum Transferin Receptor. Am J Hematol, 2008; 83: 872-5.
17. Nemeth E. Hepcidine in β thalassemia. Ann N Y AcadSci, 2010; 1202: 31-5.
18. Hendy OM, Allam M, Allam A, Attia MH, El Taher S, Eldin MM, et al. Hepcidin levels and iron status in β -thalassemia major patients with hepatitis C virusinfection. Egypt J Immunol, 2010; 17: 33-44.
19. Rivella S. The role of in effective erythropoiesis in nontransfusion-dependent thalassemia. Blood Review, 2012; 26:12-5
20. Jalali MT, Mohseni A, Keikhaei B, Latifi M. Evaluation of diagnostic efficacy of serum sTfR assay in iron-deficiency anemia and B-thalassemia trait in Shafa hospital, Ahvaz, Iran 2010. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2012; 16: 1441-5.
21. Soliman A, De Sanctis V, Yassin M. Vitamin D status in thalassemia Major: An Update. Med J Hematol Infect Dis, 2013; 5; e2013057
22. Jenkins M, Ratnaik S. Capillary electrophoresis of hemoglobin. Clin Chem Lab Med, 2003;1: 747-54.
23. Bilgen T, Arikan Y, Canatan D, Yeşilipek A, Keser I. The association between intragenic SNP haplotypes and mutations of the β globin gene in a Turkish population. Blood Cells Mol Dis, 2011; 46: 226-9.
24. Guvenc B, Yıldız SM, Tekinturhan F, Dincer S, Akyuzluer I, Okten S, Erkman H. Molecular characterization of alpha-Thalassemia in Adana, Turkey: A single center study. Acta Haematol, 2010; 123: 197-200.
25. Kuliev A, Rechitsky S, Verlinsky O, Ivakhnenko V, Evsikov S, Wolf G, et al. Strom, Y. Verlinsky. Preimplantation Diagnosis of Thalassemias. J Assist Reprod Genet, 1998; 15: 219-25.
26. Nielsen P, Engelhardt R, Grosse R, Janka G, Harmatz P, et al. Italian Society of Hematology guidelines for Thalassemia and non-invasive iron measurements. Haematologica, 2009; 94: 294-5.