ÇANKIRI KARATEKİN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

IRAKLI HASTALARIN KLİNİK ÖRNEKLERİNDEN BETA TALESEMİNİN MOLEKÜLER TEŞHİSİ

Ibrahim Nazhan Mahgoob MAHGOOB

BİYOLOJİ ANABİLİMDALI

ÇANKIRI
2023

Her hakkı saklıdır.

TEZ ONAYI

Ibrahim Nazhan Mahgoob MAHGOOB tarafından hazırlanan "**Iraklı Hastaların Klinik Örneklerinden Beta Taleseminin Moleküler Teşhisi**" adlı tez çalışması 01/02/2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK

Eş Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Farooq Ibrahem MOHAMMAD

Jüri Üyeleri :

Başkan **:** Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye **:** Dr. Öğr. Üyesi İlkay ÇORAK ÖCAL
Biyoloji Anabilim Dalı
Çankırı Karatekin Üniversitesi

Üye **:** Dr. Öğr. Üyesi Aysel SARI
Biyoloji Anabilim Dalı
Fırat Üniversitesi

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Hamit ALYAR

Enstitü Müdürü

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğine göre hazırlamış olduğum "**Iraklı Hastaların Klinik Örneklerinden Beta Taleseminin Moleküler Teşhisi**" konulu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu, çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı, tezin içerdiği yenilik ve sonuçları başka bir yerden almadığımı, tezde kullandığım eserleri usulüne göre kaynak olarak gösterdiğimi, tezin Çankırı Karatekin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nden başka bir bilim kuruluna akademik amaç ve unvan almak amacıyla vermediğimi ve bu çalışmanın Çankırı Karatekin Üniversitesi tarafından kullanılan "Bilimsel İntihal Tespit Programı"yla tarandığını, "intihal içermediğini" beyan ederim. Çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması halinde ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm. Çankırı Karatekin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca gereğinin yapılmasını arz ederim (01/02/2023).

Ibrahim Nazhan Mahgoob MAHGOOB

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

IRAKLI HASTALARIN KLİNİK ÖRNEKLERİNDEN BETA TALESEMİNİN MOLEKÜLER TEŞHİSİ

Ibrahim Nazhan Mahgoob MAHGOOB

Çankırı Karatekin Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Eş Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Farooq Ibrahem MOHAMMAD

Bu tezin amacı Beta Talasemi nin kesin ve doğru tanısı için moleküler yöntemleri araştırmaktır. Nisan- Haziran 2022 arasında, Azadi Eğitim ve Al Jumhuri Hastanesinden Beta talasemili 100 hasta kişi ve kontrol grubu olarak 50 sağlıklı kişi seçilmiştir. Labaratuar çalışmaları, kerkük'teki özel laboratuvarda yürütülmüştür. ARMS-PCR cihazı spesifik alele ait primerler kullanılarak amplifikasyonun varlığı veya yokluğu ile nokta mutasyonlarının doğrudan saptanmasına olanak sağlar. Spesifik nokta mutasyonunun karakterizasyonu için, biri nokta mutasyonunu (Mt ARMS primeri) ve diğeri normal DNA dizisini (NARMS primeri) tamamlayıcı 3' terminal nükleotidine sahip bir çift alele özgü primer kullanıldı. Çevre ülkelerdeki yaygın β-talasemi mutasyonlarının dağılımına göre, moleküler karakterizasyon için iki mutasyon seçilir. Son zamanlı RBC sayımın bulgularına göre, hastaların sayımları kontrol grubundakilerden anlamlı şekilde (P <0,05) daha düşüktür. Hastaların hemoglobin konsantrasyonu kontrol grubuna kıyasla anlamlı şekilde (P <0,05) daha düşüktür. Hastaların PCV'si kontrol grubuna kıyasla anlamlı (P <0,05) bir azalma göstermiştir. MCV ve WBC, hasta ve kontrol grubu arasında anlamlı olmayan (P <0,05) farklar göstermiştir. Hepsidin seviyeleri hasta grupta, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde (P <0,05) daha yüksektir. Hastaların ferritin konsantrasyonu kontrol grubuna göre anlamlı şekilde (P <0,05) daha yüksektir. 861 bç molekül ağırlığı olan dahili kontrol ürününün jel elektroforezinde görünmesi başarılı bir ARMS-PCR tepkimesinin gerekli görünen göstergesidir. Bu nedenle, IVS 1-5 (GC) mutasyon deseni, beta talasemi mutasyon deseni için araştırılan 100 vaka içinde 3 numunede (%3) bulunmuştur. Kalan 97 numunenin (%97) doksan yedisinde IVS 1-5 (GC) beta talasemi mutasyonu bulunmamıştır.

2023, 53 sayfa

ANAHTAR KELİMELER: Beta-talasemi, Mutasyon, IVS 1-5, Kırmızı kan hücreleri

ABSTRACT

Master of Science Thesis

CLINICAL AND MOLECULAR DIAGNOSIS OF BETATHALASSEMIA IN SAMPLE OF IRAQI PATIENTS

Ibrahim Nazhan Mahgoob MAHGOOB

Çankırı Karatekin University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biology

Adrvisor: Prof. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK
Co-Adrvisor: Asst. Prof. Dr. Farooq Ibrahem MOHAMMAD

The purpose of this thesis is to investigate the molecular parameters in the beta thalassemia diagnosis and use the molecular techniques for fast and accurate diagnosis. Between January and April 2022, 150 patients were identified with beta thalassemia in Azadi Teaching Hospital and Al Jumhuri Hospital. Private laboratories in Kirkuk, Iraq, conducted experimental work. The volunteers in current study were divided to 50 healthy volunteers as control group. 100 beta thalassemia patients as a second group. ARMS-PCR device permits the detection of point mutations directly by the absence or presence of amplification using primers of specific allele. For the characterization of specific point mutation, a pair of allele-specific primers one of which has its 3′ terminal nucleotide complementary to the point mutation (Mt ARMS primer) and other to the normal DNA sequence (NARMS primer) was used. According to the distribution of common of β-thalassemia mutations in the surrounding countries, two mutations are selected for molecular characterization. The current results of RBC count was ($P < 0.05$) in patients compared to control group. Hemoglobin concentration ($P < 0.05$) in patients compared to control group PCV ($P < 0.05$) patients compared to control group MCV and WBC demonstrated non-significant ($P < 0.05$) changes in patients compared to control group. Hepcidin concentration ($P < 0.05$) elevated in patients compared to control group. Ferritin concentration ($P < 0.05$) elevated in patients compared to control group. Molecular analysis revealed that the 100 beta thalassemia cases studied for mutational pattern, IVS 1-5 (G→C) was present in 3(3%) among them. In all successful ARMS-PCR reactions, the internal control product of 861bp molecular weight was observed, which was considered as a mandatory sign of successful reaction upon gel electrophoresis. So out of the 100 cases studied for beta thalassemia mutational pattern, in 3 samples (3%), the mutational pattern IVS 1-5 (G→C) was detected. The rest 97 samples (97%) were negative for the IVS 1-5 (G→C) beta thalassemia mutation.

2023, 53 pages

Keywords: Beta-thalassemia, Mutation, IVS 1-5, Red blood cells

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Hayatımda tüm zorlukları benimle göğüsleyen ve hayatımın her evresinde beni destekleyen annem ve babama, her zaman benim yanımda duran ve destekleyen değerli kardeşlerime, çalışmanın her aşamasında yakın ilgi ve önerileri ile beni yönlendiren, her türlü yardımını esirgemeyen, her zaman destekleyen, büyük bir anlayış gösteren değerli danışmanlarım Doç. Dr. Seçil AKILLI ŞİMŞEK ve Dr. Öğr. Üyesi Farooq Ibrahem MOHAMMAD'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ibrahim Nazhan Mahgoob MAHGOOB

Çankırı, Mayıs 2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET i
ABSTRACT ii
ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR iii
İÇİNDEKİLER iv
SİMGELER DİZİNİ vi
KISALTMALAR DİZİNİ vii
ŞEKİLLER DİZİNİ viii
ÇIZELGELAR DİZİNİ ix
1. GİRİŞ 1
2. LİTERATÜR ÖZETİ 3
2.1 Hemoglobin 3
2.1.1 Hemoglobinin yapısı 3
2.1.2 Globin geni 3
2.2 Genetik 5
2.3 Beta Talasemi 7
2.4 Semptomlar 8
2.5 β-talaseminin Klinik Sınıflandırması 9
2.5.1 Talasemi majör 9
2.5.2 Talasemi intermedia 10
2.5.3 Talasemi minör 11
2.5.4 β-talaseminin patofizyolojisi 11
2.5.5 β-talasemi komplikasyonları 13
2.5.6 Demir metabolizması ve talasemi hastalarında demir birikimi 14
2.6 β-talasemi Tanısı 14
2.6.1 Klinik tanı 15
2.6.2 Kan tanısı 15
2.6.3 Nitel ve nicel Hb analizi 15
2.6.4 Moleküler genetik analiz 15
3. MATERYAL VE METOT 19
3.1 Materyal 19

3.2 Yöntem **20**
3.3 Çalışmanın Grupları **20**
3.4 Kan Numunelerinin Toplanması ve İşlenmesi **20**
3.5 Tam Kan Sayımları (CBC) **21**
3.6 Ferritin **21**
3.6.1 Deney prosedürü **21**
3.6.2 Hesaplamalar **22**
3.7 Hepsidin **23**
3.7.1 Prosedür **23**
3.8 Genetik Çalışma **24**
3.9 Primer Seçimi **24**
3.10 İstatistiki Analiz **26**
4. BULGULAR VE TARTIŞMA **27**
4.1 Hematolojik Parametreleri **27**
4.2 Hepsidin ve Ferritin **30**
4.3 Genetik Çalışma **35**
5. SONUÇ VE ÖNERİLER **39**
KAYNAKLAR **41**
ÖZGEÇMİŞ **53**

SİMGELER DİZİNİ

%	Percentage
±	Plus-minus
µL	Mikroliter
℃	Degree celsius

KISALTMALAR DİZİNİ

A	Alfa
ALT	Alanine aminotransferase
AST	Aspartat aminotransferaz
BTI	Beta talasemi intermedia
BTM	Beta talasemi majör
FSH	Folikül uyarıcı hormon
GH	Büyüme hormonu
GPX	Glutatyon Peroksidaz
Hb	Hemoglobin
HbF	Cenin hemoglobini
HDL	Yüksek yoğunluklu lipoprotein
HS	Hiperhassas alanlar
IHP	İnositol heksafosfat
Kb	Kilobaz
LCR	Lokus kontrol bölgesi
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
LH	Luteinize edici hormon
MCH	Ortalama eritrosit hemoglobin
MCHC	Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu
MCV	Ortalama Eritrosit Hacmi
NTDT	Nakil gerektirmeyen talasemiler
RBC	Kırmızı kan hücreleri
RDW	Kırmızı hücre dağılım genişliği
SOD	Superoxide dismutase
T3	Tri-iyodotironin
T4	Serbest tiroksin
WBC	Beyaz kan hücreleri

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1 Globin gen lokusunun şematik gösterimi üst panel Kromozom 16 üzerinde bulunan α-globin lokusunu göstermektedir (Surapon 2011). 4
Şekil 2.2 β-talasemi patofizyolojisi (Rund and Rachmilewitz 2005). 12
Şekil 3.1 Ferritin standart eğrisi. 23
Şekil 3.2 Hepsidin standart eğrisi. 24
Şekil 4.1 Çalışılan gruplarda hepsidin seviyeleri. 30
Şekil 4.2 Çalışılan gruplarda ferritin seviyeleri. 31
Şekil 4.3 IVS-1-5 mutasyonu nedenli talasemi için ARMS-PCR çoğaltması %1 konsantrasyonda agaroz jel üzerinde ve 100 V elektrik potansiyel farkı altında 1,5 saatte gösterilmiştir. Dahili kontrol bantları (861bç), IVS-I-5 bantları (285 bç). 35

ÇIZELGELAR DİZİNİ

Çizelge 3.1 Bu çalışmada kullanılan cihazların listesi.....19
Çizelge 3.2 β-globin genindeki mutasyonları bulmak için kullanılan primer dizileri. .25
Çizelge 4.1 Çalışılan gruplarda kan parametreleri.....27
Çizelge 4.2 Çalışılan gruplarda Hepsidin ve ferritin değerleri. 30

1. GİRİŞ

β-talasemi adı verilen tek genli bir hastalık hemoglobin üretimini sınırlandırmaktadır. Trombositlerin Hb proteini tüm vücut hücrelerine oksijen taşımaktadır. Hb, demir içerir ve β-talasemi hastası bir kişinin hemoglobin eksikliği birçok vücut bölgesinde oksijen eksikliğine neden olmaktadır. Bireylerde aynı zamanda demir eksikliği vardır, bu da solgun ten rengi, kırılganlık, uyuşukluk ve hatta korkutucu komplikasyonlara neden olabilmektedir (Galanello *et al.* 2010, Origa *et al.* 2007).

Beta talasemili kişilerin anormal pıhtılar üretme riski daha yüksektir (Rund *et al.* 2005, Galanello *et al.* 2010, Origa *et al.* 2007). Ön belirtilerin ciddiyetine göre beta talasemi iki tipe ayrılmaktadır, talasemi majör, genellikle Cooley anemisi olarak bilinir ve talasemi intermedia talasemi majör ikisi arasında daha zorlu olanıdır (Rund D *et al.* 2005, Galanello *et al.* 2010, Origa *et al.* 2007). Bir veya daha fazla globin gen lokusunda, globin üretimini azaltmaya yol açan mutasyonlar bilinen genetik hastalık talaseminin nedenidir (Mok *et al.* 2011). β-globin gen ifadesinin çeşitli derecelerini etkileyen ve β-talasemiye yol açan 200'den fazla farklı mutasyon yakın zamanda bulunmuştur.

Her biri, az sayıda ortak olan ve değişen sayılarda ortak olmayan mutasyonların varlığı ile tanımlandıklarından bu mutasyonlar eşit şekilde dağılmamışlardır bunun yerine bölgesel özelliğe ve etnik menşee sahip olmaktadırlar (Cao and Galanello 2010, Owen *et al.* 2010).

Globin geninin transkripsiyonu, bölünme süreçleri ve β-globin geni mRNA'sının okunmasının hepsinin, nükleotid değişimi ve/veya eklenme/silme tipi çerçeve kayması gibi mutasyonlardan etkilendikleri rapor edilmiştir (Lahiry *et al.* 2008). Sonuç olarak, globin zincirlerinin sentezi ya yoktur ya da azalmıştır. Bu sorunun çok sayıda semptomunun, serbest β-globinin hücre zehirleyici şekilde birikmesinin ve de bozulan β-globin üretiminin doğrudan etkisinin sonucu olduğu görünmektedir. Serbest hemoglobin çok dengesizdir ve hızla çökelti haline gelir, zar yapılarını bozar ve alyuvar öncülerinin programlanmış hücre ölümüne uğramasına neden olur.

Bu α-zincirlerinin aşırı fazla oluşunun oksidatif strese yol açan durum olduğu öne sürülmüştür (Valko *et al.* 2007, Ceriello 2008).

β-talasemililerde, kan demiri ve özellikle serbest demir yükselen miktarda gözlemlenmiştir. Bu yapıdaki demir bu nedenle, β-talasemili kırmızı kan hücrelerinde ve DNA, protein ve lipit zarlar dahil makromoleküllerde görülen oksidatif hasarın tetikleyicisi olarak görülebilir ve muhtemel sonuç olan hızlanmış apoptoz talasemili hücrelerin yaşam döngüsünün kısalmasına neden olabilmektedir (Kunwittaya *et al.* 2007, Srinoun *et al.* 2009).

2. LİTERATÜR ÖZETİ

2.1 Hemoglobin

Hemoglobin, kanın vücutta oksijen taşımasını mümkün kılan kırmızı kan hücrelerinde bulunan bir maddedir. Hemoglobin, kırmızı kan hücrelerine rengini veren ve demir açısından zengin bir proteindir.

2.1.1 Hemoglobinin yapısı

Hemoglobinde iki çift farklı polipeptit zinciri bulunur, her bir çiftin tek alfa (α) α-zincirdir, diğeri ise α olmayan (β, γ veya δ) zincirdir. Tüm insan hemoglobinleri benzer zincirlere sahip olmaktadırlar (Bank 2006). Hemoglobin A2 zincirleri, cenin hemoglobini (α2 β2) γ zincirleri ve normal yetişkin hemoglobini (Hb2 2) zincirleri olmayan zincir örnekleridir (Patel *et al.* 2008).

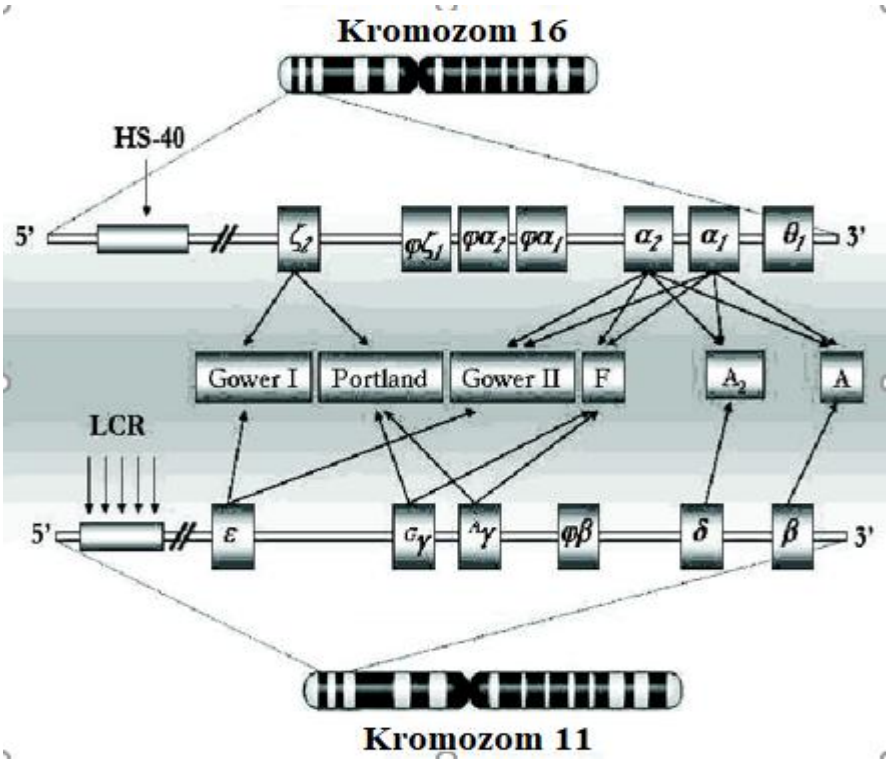
2.1.2 Globin geni

Farklı globinlerin sentezi ve yapısını düzenleyen toplu genler iki ayrı grup halinde organize olmuşlardır, α veya α – benzeri globin genleri ve β ve β - benzeri globin genleri olmaktadırlar (Cohen *et al.* 2004).

A Alfa- Globin

α- benzeri globin genlerinin gen grubu kromozom 16 üzerinde yer alır ve 5’ - ζ - ψζ - ψα2 - ψα1 - α2 - α1-θ - 3’ sırasıyla bulunurlar (Thein 2005). Kromozom 16’ın kısa kolu üzerindeki p13.3 bandı 70 kilobaz (kb) uzunluğundaki globin gen grubunun bulunduğu alandır. Genin CAP noktası 0 adlandırmasına sahiptir. Sentromer tarafında α2 geni, ζ – geninden 20 kb veya 3,7 kb uzaklıkta bulunur. Aşırı hassas alanlar (HS), ζ globin geni düzenleyici elemanları, α globin geninin 40 kb yukarısında yer almaktadır. Grup içinde aynı zamanda üç adet yalancı gen (,ψζ, ψα2 ve ψα1), üç adet işlevsel α-benzeri gene ek

olarak bulunmaktadır (Levings ve Bungert 2002). α-globin geni grubu telomerden 170 ila 430 kb uzaklıkta bulunmaktadır (Şekil 2.1) (Chan *et al.* 2010).



Şekil 2.1 Globin gen lokusunun şematik gösterimi üst panel Kromozom 16 üzerinde bulunan α-globin lokusunu göstermektedir (Surapon 2011)

B Beta - globin gen grubu

Beta-globin gen grubu kromozom 11'in kısa kolu üzerinde bulunmaktadır. Embriyo β-geni, çiftlenmiş bir globin ε geni ve iki tane daha globin geni δ ve β- globin gen grubunu oluşturmaktadır (Cao ve Moi 2002, Higgs 2004). İki γ beta-globin geni kodon 136'nın yeri haricinde aynıdır, burada fetüs gelişimi sırasında Gγ geni tercihen glisin ve Aγ geni alenin ifade eder. İki adet çiftli gamma (γ) geni vardır, bunlardan biri glisin Gγ ve diğeri de alanin Aγ kodlarını taşımaktadır (Şekil 2.1) (Bhanu *et al.* 2004, Bailey *et al.* 2007).

Kompleks içindeki tüm genlerin ifadesi için gerekli olan, lokus kontrol bölgesi (LCR) olarak bilinen düzenleyici alan iki fetüs geninden, embriyo geninin aşağı tarafından 35 ila 43 kb uzaklıkta bulunmaktadır (Weatherall and Clegg 2001, Singh *et al.* 2011).

Valin ve histidin genlerin başlangıcındadır, bunun yanında Tyr β145 ve His β146 c-terminal kalıntı kısmındadır. β, γ, δ veya epsilon ε-zincirleri β146 amino asitlerine sahiptir. γ delta zincirini β-zincirinden sadece 10 kalıntı ayırmaktadır, bununla beraber zincirleri 39 kalıntı ayırmaktadır (Cao and Galanello 2010).

2.2 Genetik

Hemoglobinin protein bileşenlerini oluşturan globin moleküleri polipeptit olarak bilinen bir dizi farklı katlanmış amino asit zincirlerinden oluşmaktadırlar. Gen olarak bilinen DNA bölümleri de bir hücre tarafından üretilen herhangi bir polipeptidin amino asit dizisini tanımlarlar. Bir proteinin amino asit dizisi, tüm proteinlerde kimyasal kompozisyonu ve fonksiyonu etkiler. Bir dizi hemoglobin geni vardır, insanlarda HBA1, HBA2 ve HBB genleri hemoglobin A kodunu taşır, bu da yetişkinlerde görülen baskın hemoglobin tipidir (Hardison 2012).

Her ikisi de kromozom 16 üzerinde bulunan ve birbiri ile yan yana olan HBA1 ve HBA2 genleri sırasıyla alfa 1 ve alfa 2 hemoglobin alt birimlerinin kodlarını taşılar. Kromozom 11 üzerinde hemoglobinin beta bileşenini kodlayan HBB geni bulunur. Hemoglobinleri oluşturan globin proteinleri genellikle türe göre farklı amino asit dizilerine sahiptirler. Türler arasındaki evrim açıklığı bu farklılıkların boyutunu artırır. Örneğin, insanlar, cüce şempanzeler ve şempanzelerdeki en yaygın hemoglobin dizilerinin alfa veya beta globin proteini zincirleri içinde tek bir amino asit varyasyonu bile yoktur (Offner 2010).

İnsanlar ve gorillerin hemoglobinleri arasında hem alfa hem de beta zincirlerinde tek bir amino asit farklılığı varken, daha uzak akraba olan türler arasında bu farklılıklar artmaktadır. Genellikle her bir türde bir dizi "daha baskın" olsa da, hemoglobin

varyasyonları türler içinde de mevcuttur. Hemoglobin varyantları, bir türün hemoglobin proteini geni değiştiğinde ortaya çıkar (Huisman 1996).

Bu mutant hemoglobin tiplerinin çoğu hastalığa yol açmaz. Ancak bu mutant hemoglobin formlarının bazıları, hemoglobinopati adı verilen bir genetik hastalık sınıfından sorumludurlar. En iyi bilinen hemoglobinopati, moleküler nedeni tanımlanan ilk insan hastalığı olan orak hücre hastalığıdır.

Globin geninin kontrolündeki sorunlar ve mutasyonlar üzerinden, talasemiler olarak bilinen bir (oldukça farklı) grup hastalık normal hemoglobinlerin az üretilmesine ve bazen de anormal olarak üretilmelerine neden olurlar. Bu durumların hepsi anemiye yol açar (Uthman 2007).

Diğer proteinlerde olduğu gibi, hemoglobinin amino asit dizisindeki varyasyonlar uyumsal olabilir. Örneğin hemoglobinin çeşitli şekillerde yüksek rakımlara uyum sağladığı bulunmuştur. Yüksek rakımda yaşayan organizmalar için deniz seviyesinde yaşayanlara kıyasla oksijenin kısmi basıncı daha düşüktür. Normalde yüksek kısmi oksijen basıncında oksijen ile bağ kuran hemoglobinin daha düşük basınçta bulunduğu zamanlarda da oksijen ile bağ kurabilmesi gerekmektedir, bu durum da bu tip koşullarda yaşayan canlılar için bir zorluk meydana getirmektedir. Bu zorluğu aşmak için bazı yaratıklar evrimleşmişlerdir. Örneğin, geyik fareleri üzerindeki yeni araştırmalar, dağlarda yaşayan geyik farelerinin yüksek rakımdaki ince havada başarılı olma yetisine katkıda bulunabilecek genetik varyasyonlara dikkat çekmektedir. Ovalarda ve dağlarda yaşayan geyik fareleri, Nebraska-Lincoln Üniversitesindeki araştırmaya göre dört farklı gendeki mutasyonlar nedeniyle farklılık göstermektedirler. Hem dağlarda hem de ovalarda yakalanan vahşi fareler üzerindeki araştırmaya göre iki soyun genleri "temelde aynıdır – hemoglobinlerinin oksijen taşıma yetisini belirleyenler haricinde". Dağlar gibi yüksek rakımlarda daha az oksijen bulunduğundan "genetik varyasyon dağ farelerinin oksijenlerini daha verimli kullanmasına izin vermektedir" (Perutz 1987).

Pleistosen boyunca mamutlar yüksek rakımlara çıkmayı başarmışlardır çünkü mamut hemoglobini düşük sıcaklıklarda oksijen taşımasına izin veren mutasyonlara sahiptir. Bu durum aynı zamanda Ant Dağlarındaki sinekkuşlarında da keşfedilmiştir. Ant Dağları sinekkuşlarının, çok enerji harcamaları ve yüksek oksijen ihtiyaçlarına rağmen yüksek rakımlarda rahatlıkla yaşadıkları görülmüştür. Yüksek rakımlarda yaşayan bir dizi tür (Oreotrochilus, A. castelnaudii, C. violifer, P. gigas ve A. viridicuada), hemoglobin geni üzerinde, kuşlarda bulunan ve 2,3-BPG in ile benzer bir işlevi olan inositol heksafosfat (IHP) molekülüne proteinin yatkınlığını azaltan yapı değiştiren mutasyonlara sahiplerdir (Projecto-Garcia *et al.* 2013).

2.3 Beta Talasemi

En çok Akdeniz havzasında görülürler ancak Asya ve Afrika'da, ekvator yakınlarında da bulunabilmek. β-Talasemiler, aynı orak hücre anemisi ve alyuvar G6PD enzim eksikliği gibi, sıtmanın geçmişte yaygın olduğu bölgelerde çokça görünmektedir (Kariuki and Williams 2020). Sıtma enfeksiyonu talasemi taşıyıcılarında daha yumuşak bir klinik gidişat izlemektedir çünkü sağlıklı insanlara göre hastalığa daha dirençlidirler. β-Talasemi taşıyıcıları 150 milyonun üzerindedir ve Akdeniz havzasında, Arap yarımadasında, Ortadoğu'da, Batı Afrika'da, İran, Pakistan, Hindistan ve Güneydoğu Asya'da yoğunluktadırlar. β-Talasemi, uluslararası göç ve etnik kökenler arası irtibatlar sonucu şu anda dünyanın her tarafında bulunmaktadır. Türkiye'de %2,1 oranında β-talasemi taşıyıcı görülmektedir, bunun yanında bazı Akdeniz havzası bölgelerinde bu oran %13'e kadar çıkabilmektedir (Başak 2007 Güvenç vd. 2012).

Beta talasemi hastaları, -101 başlatıcı mutasyonu gibi bir dizi mutasyon ile normal hematolojik parametreler ve Hb A2 seviyeleri olan sessiz taşıyıcılar olabilirler (Başak 2007, Güvenç vd. 2012). Rutin taramalar bu kişileri ayırt edemez. Beta talasemi taşıyıcılarındaki hipokrom mikrositik anemi sıklıkla yüksek HbA2 (%3,5-8), HbA2 ve HbF (%5-20) seviyeleri ile birlikte görülmektedir (Sankaran *et al.* 2015).

Beta talasemi taşıyıcıları sıklıkla eritrositoz (RBC> 5x1012/L), micrositoz ve normal RDW sahibidirler ancak demir eksikliği anemisi, alfa talasemi özellikleri ve kronik

hastalık anemisi de ayırıcı tanılama için dikkate alınmalıdır. Beta talasemi intermedia (BTI) hastaları düzenli kan nakli programına ihtiyaç duymazlar. Bunlar, nakilden bağımsız talasemiler olarak bilinirler ve bir yıl içerisinde beş kan naklinden azına ihtiyaç duyarlar (NTDT). Yüksek RDW, düşük hemoglobin ve alyuvar indisleri vardır (MCV, MCH, ve MCHC). Periferik kan sayımında hedef hücreler, polikromazi, bazofilik beneklenme, ciddi hipokromi, mikrositoz, anizositoz, poikilositoz ve normoblastlar görülür. Ağyuvar seviyesinde %2-4 marjinal artış olmaktadır. Hemoglobin elektroforezinde HbA düşer (%10-20), HbF artar (%70-80) ve HbA artar (Sankaran *et al.* 2015).

Tam kan sayımı ve hemoglobin elektroforezi ile anne ve baba talasemi taşıyıcılığı için kontrol edilmelidir. Ancak nadir vakalarda, moleküler tanı gerekli olabilir. Beta talasemi majör (BTM) hastaları kan nakline bağımlıdırlar. BTI ve BTM kıyaslanabilir laboratuvar özellikleri paylaşırlar. HbA hemoglobin elektroforezinde görünmez çünkü BTI'a göre HbA üretimi çok daha düşüktür ve HbF tüm hemoglobinin %80'inden fazlasını oluşturur (Aydinok vd. 2018).

2.4 Semptomlar

Talaseminin tipi, talaseminin nasıl vücut bulacağı üzerinde bir etkiye sahiptir (Khan 2018). Sütten kesilen, beta talasemili bebeklerin neredeyse hiçbirinde ön belirtiler 6 aylık olana kadar ortaya çıkmazlar. Bunun nedeni yeni doğanların, eşişiz bir tip hemoglobin olan cenin hemoglobinine sahip olmalarıdır. Altı aydan sonra sıradan hemoglobin cenin hemoglobininin yerine geçmeye başlar, ek olarak semptomlar görülebilir (Khan 2018). Bunlar:

- Sarı ve solgun ten
- Uyuşukluk ve yorgunluk
- Göğüs ağrısı
- Soğuk el ve ayaklar
- Nefes darlığı
- Bacak krampları
- Hızlı kalp atışı
- Kötü beslenme

- Geciken büyüme
- Baş ağrıları
- Baş dönmesi ve baygınlık
- Enfeksiyona daha fazla duyarlılık olabilir (Khan 2018).

Beden ek kemik iliği üretmeye çalışırken kemik yapısı bozulmaları oluşabilir. Ferritin fazlalığı olduğu kabulüyle, karkas dengelemek için ekstra demir emmeye çalışacaktır. Ferritin benzer şekilde kan nakillerinden de birikebilir. Fazlalık demir dalağı, kalbi ve karaciğeri çalışmaz hale getirebilir (Khan 2018).

Aşırı miktarda demir benzer şekilde diyabet, hipo veya hiper tiroit/paratiroit, düşük seviye östrojen (kadın hormonu) veya testosterona (erkek hormonu) neden olabilir. Hemoglobin H taşıyan hastalar safra taşı ve büyümüş dalağa sahip olmaya yatkındırlar (Khan 2018). Talaseminin diğer tezahürleri arasında doğurganlık bozukluğu bulunmaktadır (Khan 2018).

2.5 β-talaseminin Klinik Sınıflandırması

2.5.1 Talasemi majör

Her iki globin alelinde de mutasyon olması β-globin zinciri oluşumunu ciddi şekilde azalttığı için, genellikle Cooley's anemi ve Akdeniz anemisi olarak adlandırılan talasemi majör en ciddi talasemi şeklidir (Wood *et al.* 2008). Bu talasemi fenotipine üç adet yaygın alel kombinasyonu neden olur: - β^o /β^o, β^o/β+ ve bazen β+ /β+ (Thein and Menze 2009).

Talasemi majörde, çok fazla eşleşmemiş alfa-globin zinciri bulunduğunda inklüzyon cisimcikleri oluşur. Bu zincir inklüzyon cisimcikleri RBC zarlarına zarar vererek damar için hemolize neden olur (Tanner *et al.* 2008). Verimsiz alyuvar oluşumunun diğer nedenleri bu hasar ve RBC öncülerinin erkenden kaybedilmesidir. Ciddi anemi ve bozulan oksijen taşımaktadır (Uda *et al.* 2008, Iolascon *et al.* 2017).

Sürekli kan nakilleri ile bazı hastalar ölebilir. Diğer klinik emareler arasında kemik eğrilikleri, geciken ergenlik, hepatosplenomegali, yorgunluk, nefes darlığı, zayıf iştah ve halsizlik bulunmaktadır. Bozuk şekilli RBC olan mikrositik anemi ve anormal Hb elektroforezi laboratuvar anormalliklerine iki örnektir (Badens *et al.* 2011).

2.5.2 Talasemi intermedia

Çoğu β-talasemi intermedia hastası kan nakline ihtiyaç duymaz ve anemileri hafif ila ciddi arasında değişir (Taher *et al.* 2010). Azalmış β-globin zinciri sentezi ile bağlı olan bir globin geni mutasyonunun kalıtımına bağlı olarak bu hastalık talasemi majöre göre daha yumuşak seyreder. En sık görülen genotip β+ /β+ ile belirlenir (Aessopos *et al.* 2007).

Talasemi intermedia klinik fenotipi neredeyse talasemi majör ile hafif hastalığın ortasında gibidir. Hapsolan hasarlı RBCler nedeniyle oluşan dalak büyümesi yaygın bir klinik semptomdur ve artan bağırsak emilimi, diğer etkenlerin yanında, aşırı demir birikimi riskini artırır (Harteveld *et al.* 2008).

Talasemi intermedia genellikle daha ileri yaşlarda ortaya çıkar ve kemiklerin kötü gelişmesi veya eğrilikleri ile bağlantılı olsa da yaşam süresi üzerinde küçük bir etkiye sahiptir (Taher *et al.* 2010). Hastalar rutin kontrolden geçmelidirler çünkü klinik ciddiyet bireyler arasında ve de bir kişi üzerinde zamanla ciddi farklılıklar gösterebilmekte olup, talasemi için ciddi fenotip kötüleşmesi potansiyeli olabilmektedir (Sollaino *et al.* 2009). Talasemi intermedia, fenotipik olarak bir dizi yaygın olmayan β-globin tipinde bulunmaktadır (Aessopos *et al.* 2007, Cappellini *et al.* 2020).

Örneğin, β-talasemi veya inklüzyon cisimciği β-talasemi kalıtımını baskın olarak almış bireyler klinik olarak talasemi intermedia gösterirler. Bu hastalar orta düzey anemiye ve dalak büyümesine sahiptirler (Taher *et al.* 2010). Nadir bir varyant formu olan "sessiz β-talasemi", talasemi intermediaya yol açan, azalmış β-globin sentezi nedeniyle globin zinciri sentezinde hafif bir dengesizliğe neden olur. Sessiz β-talasemi

mutasyonları genellikle düzenleyici bölgelerde, β-globin başlatıcı ve 5’ ile 3’ UTRlerde görülür (Lai *et al.* 2011, Ünal ve Gümrük 2015).

2.5.3 Talasemi minör

Talasemi minör, β-talaseminin en yaygın formudur ve aynı zamanda “talasemi özelliği” olarak da bilinir, etkilenmiş bireyler asemptomatiktir (Rund and Rachmilewitz 2005).

Bu hastalar genellikle β-talasemi için heterozigot olurlar çünkü bir adet normal hemoglobin β-globin aleli ve bir adet talasemi aleli taşıralar – ya β^o veya β+ (Quek and Thein 2007). Düzenli kan testleri bu asemptomatik bireylerin tanımlanması için kullanılmaktadır ancak bazen yeni tanımlanan hastalarda daha sonrasında küçük RBCler olduğu ve orta düzey anemileri olduğu görülmektedir. Talasemi minör hastaları için önemli uyarı ise eşlerinin de talasemi minör taşıyıcısı olması halinde çocuklarının daha ciddi düzey hastalığa sahip olma olasılığıdır (Kaiser 2009).

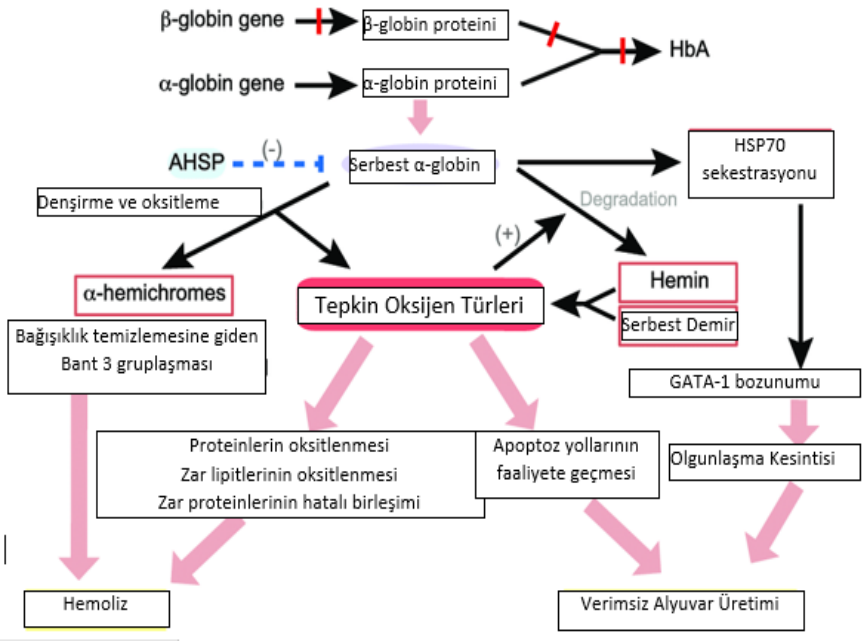
2.5.4 β-talaseminin patofizyolojisi

Beta zinciri sentezi normal bir hızda gerçekleşse de talasemideki temel moleküler anormallik ya yok olmuş (βo) ya da çok azalmış (β+) beta zinciri üretimine neden olmaktadır. Yetişkin hemoglobininin (HbA: $\alpha 2\ \beta 2$) azalmış üretimi azalan zincir üretiminin ilk etkisidir. İkinci bir etki dengesiz globin zinciri sentezidir, burada zincir sentezi normal bir hızda oluşsa da alyuvarlar içinde fazladan bir zincir bulunmaktadır. Kemik iliği kırmızı hücre öncülerinde fazladan zincirler istikrarsızdır ve çökelti oluştururlar, bunun sonucunda büyük hücre içi inklüzyonlar oluşarak kırmızı kan hücrelerinin olgunlaşmasını, işlevini ve hayatta kalmasını engellerler (Şekil 2.2) (Weatherall 2000, Elizabeth and Mary 2010).

Verimsiz alyuvar oluşumu bu hücre içi inklüzyonların kırmızı hücre olgunlaşmasına müdahalesi nedeniyle oluşur ve kırmızı hücre öncülerinin ilik içi ölümü ile sonuçlanır. Kırmızı hücrelerin ilik dışı yok edilmesi norm haline gelmiştir çünkü dolaşıma giren

yetişkin kırmızı hücreleri mikrodolaşımda ilerlemeleri engelleyen zincir inklüzyonlarına sahiplerdir, özellikle dalakta.

Böylece hem verimsiz alyuvar oluşumu hem de azalmış kırmızı hücre hayatta kalması talasemililerin anemi olmasında pay sahibi olur (Weatherall 1996, Ginzburg and Rivella 2011).



Şekil 2.2 β-talasemi patofizyolojisi (Rund and Rachmilewitz 2005)

Talasemi hastalarının deneyimlediği anemi böbrekleri daha fazla eritropoetin üretmesi için tetikler, bu da alyuvar oluşumunu artırır. Ancak alyuvar oluşumundaki ciddi verimsizlik alyuvar iliğini normal seviyesinin 30 katına kadar genişlemesine neden olur, bu da ciddi bir kemik iliği genişlemesi ve hiperplezi ile sonuçlanarak sadece kafatası ve uzun kemiklerde deformasyon oluşmasına neden olmakla kalmaz aynı zamanda demir emilimini ve dokularda demirin giderek daha fazla depolanmasını doğurur. İlik dışı eritropoietik doku büyük ölçüde göğüste ve paraspinal bölgede oluşur ve artan eritropoetin üretiminden etkilenebilir (Olivieri 1999, Galanello and Origa 2010).

Ek olarak, talasemi hastalarının dalakları, aşırı RBC üretiminin sürekli onları bombardımana tutmasından dolayı aşırı büyür ve splenomegali talasemili bireyler için kilit bir özellik olarak ortaya çıkar (Ginzburg and Rivella 2011).

Anemi büyüyen splenomegali ile daha kötü hale gelir çünkü bu artan ilik nedeniyle yön değiştirmenin sonucu olarak plazma hacmini artırır (Ginzburg and Rivella 2011).

Talasemili alyuvar zarı anomalileri çok detaylı olarak raporlanmıştır. Birincil kırmızı hücre zarı hücre iskeleti proteinleri, spektrin, bant 3 ve bant 4.1 gibi, fazladan globin zincirlerinin ve bunların parçalanma ürünlerinin birikmesi sonucunda anomaliler gösterirler (Grinberg and Rachmilewitz 1995, Olivieri 1999). RBCler ve trombositler arasındaki bağlantı üzerinden, bu anomalilerin sadece RBC hayatta kalımını değil aynı zamanda trombosit işlevini de bozduğu gösterilmiştir (Valles *et al.* 2002).

2.5.5 β-talasemi komplikasyonları

Kan nakli alan talasemili bireyler demir fazlalığı ile bağlantılı sorunlar yaşayabilirler. Büyüme geriliği ve cinsel olgunluğa ulaşamama veya bunlardaki gecikme çocuklardaki demir fazlalığının yan etkileridir. Kalp (genişlemiş kardiyomiyopati veya seyrek aritmiler), karaciğer (fibroz ve siroz) ve endokrin bezlerin (diabetes mellitus, hipogonadizm ve paratiroit, tiroit, hipofiz ve daha seyrek olarak böbrek üstü bezlerinin yetersizliği) eklenmesi daha ileri demir fazlalığına bağlı komplikasyonlardır (Higgs *et al.* 2012). Diğer sorunlar arasında osteoporoz, hepatit B ve/veya C virüsü enfeksiyonu kaynaklı kronik hepatit, HIV enfeksiyonu, venöz tromboz ve hipersplenizm bulunmaktadır (Muncie and Campbell 2009).

Karaciğer rahatsızlığı, virüs enfeksiyonları ve demir fazlalığı olan hastalarda karaciğer karsinomu oluşma ihtimali daha yüksektir. Sıkça kan nakli almayanlar genellikle ikinci veya üçüncü on yıllarına ulaşmadan ölürler ancak düzenli nakil alanlar ve şelasyon tedavisi görenler 40 yaşına kadar yaşayabilirler.

Talasemide demir birikiminin en önemli ve en yüksek yaşam tehlikesi içeren yan etkisi miyokard sideroz yüzünden oluşan kalp rahatsızlığıdır. Fiiliyatta, kalp sorunları talasemi majör hastalarının ölüm nedenlerinin %71'ini oluşturur (Galanello and Origa 2010).

2.5.6 Demir metabolizması ve talasemi hastalarında demir birikimi

Çoğu yaşam formu demire ihtiyaç duyar ve düzgün insan fizyolojisi de buna bağlıdır. Çocuklar 8 mg/gün, ergenler 11 mg/gün ve yetişkinler 18 mg/gün demir tüketmelidirler (Tıp Enstitüsü: Gıda and Beslenme Kurulu 2001). Gelişmiş ülkelerde, sağlıklı bireylerin çoğu sistemlerinde 4 ila 5 gram demire sahiplerdir. Bu miktarın 2,5 g kadarı hemoglobinde bulunur, kalan miktarın çoğunluğu ferritin olarak saklanır (Camaschella and Schrier 2011). Onikiparmak bağırsağı duvarındaki enterositler sindirilen besinler veya katkılar ile alınan demirin çoğunluğunu emer (Fleming and Bacon 2005). Onikiparmak bağırsağından emildikten sonra demir, sonradan plazmada taşınacak olan transferini oluşturmak için kan plazmasında hızla, bir beta globülin olan apotransferin ile eşleşir (Duffy 1996).

Transferin içindeki demir zayıf bağlı olduğunda herhangi bir doku hücresine, vücudun herhangi bir yerinde bırakılabilir. Çoğunlukla karaciğer, retiküloendoteyal hücrelerde ve kemik iliğindeki alyuvar öncülerinde bulunan ana demir depolama protein kompleksi olan ferritin kandaki fazla demiri depolar (Guyton and Hall 2006, Camaschella and Schrier 2011).

2.6 β-talasemi Tanısı

Beta talasemi, Akdeniz bölgesinde sık görülen bir hastalıktır. Bu nedenle halk arasında genellikle Akdeniz anemisi olarak adlandırılır. Akdeniz anemisi genlerle aktarılan bir kan hastalığıdır.

2.6.1 Klinik tanı

Ciddi mikrositik anemi, orta düzey sarılık ve hepatosplenomegali olan iki yaşın altındaki bebeklerin tipik olarak hastalığı taşıdıkları düşünülür (Higgs *et al.* 2012).

2.6.2 Kan tanısı

Kan değerlendirmesinde azalmış Hb seviyesi (<7 g/dl), <50–<70 civarında bir ortalama parçacık hacmi (MCV) <12–<20 pg civarında bir ortalama parçacık Hb (MCH) vardır. Hasta kişiler çevresel kan yaymalarında, çekirdekli RBCler ve mikrositoz, hipokromi, anisositoz ve pikilositoz (yani ön alyuvarlar) dahil RBC morfolojik anormallikleri gösterirler. Ön alyuvarların miktarı, dalağın alınması sonrasında ciddi miktarda artar ve aneminin ciddiyeti ile doğru orantılıdır (Galanello and Origa 2010).

2.6.3 Nitel ve nicel Hb analizi

Selüloz asetat elektroforezi, DE-52 mikrokromotografi veya HPLC kullanarak mevcut Hb miktar ve tipini belirler. Beta talasemi tipine bağlı olarak Hb desni değişir. Beta0 talasemide, homozigot HbA mevcut değildir ve tüm Hb'nin %92-95'i HbF'den oluşur. Beta+ talasemi homozigotlarında ve beta+/beta0 genetik kombinasyonlarında HbA seviyeleri %10 ila 30 arasında ve HbF %70 ila 90 arasında değişmektedir. Beta talasemi homozigotları değişen HbA2 seviyelerine sahiptirler, bunun yanında beta talasemi minör hastaları yüksek seviylere sahiptir. β-talasemi ile etkileşme geçebilecek diğer hemoglobinopatiler (S, C, E, OArab, Lepore) de Hb elektroforezi ve HPLC ile tespit edilirler (Cao and Galanello 2010).

2.6.4 Moleküler genetik analiz

Moleküler genetik testler, herhangi bir grup içinde öne çıkan mutasyonların sayısının az olması nedeniyle oldukça kolay olmaktadır. PCR temelli teknikler genellikle görüle beta globin geni değişikliklerini bulmakta kullanılmaktadırlar. Ters nokta leke analizi

veya primere özel çoğaltma içinde, hasta bireylerin geldiği popülasyon içinde en sık görülen mutasyonlara uyumlu olan bir set sonda veya primer en çok kullanılan iki tekniktir. Beta globin gen dizilimi analizi, odaklanmış mutasyon analizi başarılı olmazsa beta globin genindeki mutasyonları bulmak için kullanılabilir (Old *et al.* 2005, Galanello and Origa 2010, Fernandes 2018).

Genetik bir hastalık olarak beta talasemi, taşıyıcı taraması ve doğum öncesi tespit ile önlenebilir. Eper ebeveynlerden biri normal genlere sahipse bu durumdan kaçınılabilir, böylece taramalar taşıyıcıların normal hemoglobine sahip eşler seçmesine yardımcı olabilir. Orak hücre hastalığına neden olan genleri gelecek nesillerde inceleyen bir araştırma. Beta talesemili hastalar <19 RDW'ye ve ≤26 MCH'ye sahiptirler. Beta talasemi ile tutarlı bir hemoglobin fenotipi ve RDW, <10,148 bireyden 1,739'unda mevcuttur. Hasta daraltmasından sonra beta talasemili olan 77 kişi, HbA2 seviyeleri testi ardından tanımlanmıştır (Cousens *et al.* 2010).

Göstergelerin yüksek alfa talasemi görünme sıklığı nedeniyle bu tarama yönteminin Batı Afrika geçmişli kişiler için duyarsız olduğu gösterilmiştir. Hemoglobinopati taşıyıcıları kaynaklı üreme tehlikeleri bir dizi ulusal inisiyatif içinde tartışılmıştır. Taşıyıcılara ve taşıyıcı çiftlere danışmanlık sunmanın yanı sıra, talasemi taşıyıcı taraması programları, okullarda, askeriyede ve medyada eğitim inisiyatiflerini kapsamaktadır.

Benzer Çalışmalar

2 ila 15 yaş arasındaki 44 adet β-talasemi hastası (21=β-tal. majör, 23=β-tal. minör), 25 adet Hb S/β sıfır-talasemi hastası ve 50 adet sağlıklı kontrol içinde El-Hazmi ve diğerleri (1994), testosteron, kortizol, lütenize edici hormon (LH), folikül uyarıcı hormon (FSH), serbest tiroksin (T4), tri-io seviyelerini ölçmüşlerdir. Toplam hemoglobinin ortalama miktarı kontrollerde çok daha düşükken, plazma ferritin seviyeleri β-talasemi majör ve Hb S/ β sıfır-talasemi hastalarında anlamlı şekilde daha yüksektir (P 0,01). Hem talasemi majör hem de Hb S/ β sıfır talasemi hastalarında düşük LH, FSH, testosteron ve plazma kortizol seviyeleri bulunmuştur, bunun plazma

ferritin seviyeleri ile negatif bir bağlantısı vardır. Serbest T3 ve T4 seviyeleri artmıştır ancak istatistiki olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir.

2003 yılında Laksmitawati ve diğerleri (2003) tarafından serum demir ferritin, AST, ALT ve bilirubin seviyelerinde anlamlı artışlar gösterilmiştir. Bulgular, minimal oksidatif stres göstergeleri, artmış hemoglobin bozunması göstermek olarak özetlenebilir ancak kan nakli almayan talasemi intermedia hastalarında doku veya hücre hasarına dair kesin delil yoktur. Bu görüntü kan nakline bağımlı olan talasemi majörlü bireylerden oldukça farklıdır: antioksidanlar ve tiyollerde büyük bir düşüş ile ciddi demir fazlası ve hücre hasarı vardır. Uzun vadede nakil alan hastaların durumları kötüleşmektedir.

Demir şelasyonu genellikle (birkaç istisna haricinde) Endonezya'da sadece bir kere nakil ile birlikte uygulandığından nakil sonrasında yeterli olmamaktadır. Bu nedenle sık nakiller (ortalama ayda bir kere) ve nakil ile birlikte ayda bir kere yapılan yetersiz şelasyon terapisi Endonezya'daki nakile bağımlı talasemi hastalarının kötü durumuna dair ana etken gibi görünmektedir.

90 adet talasemi majörlü İtalyan hastada Napoli ve diğerleri (2006) yüksek serum ferritin, AST ve ALT seviyeleri ile düşük kemik yoğunluğu keşfetmişlerdir. Talasemili hastaların tipik olarak kötü kalsiyum metabolizması olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Dahası, 105 adet, ciddi talasemi temelli kan nakli ihtiyacı olan çocuk, Al-Samarrai ve diğerleri (2008) tarafından değerlendirilmiştir. Talasemi hastalarının ortalama kan kalsiyum seviyelerinin kontrollere kıyasla daha düşük olduğunu bulmuşlardır. Karşıt olarak talasemili bireylerde daha yüksek serum fosfor seviyeleri vardır. Talasemi majör hastalarının karaciğer işlevleri, lipit profilleri ve glikometabolik işlevleri yanında bunların ferritin ve kan demir seviyeleri ile bağlantısı değerlendirilmiştir (Shams *et al.* 2010). Homozigot talasemi majör hastaları, kontrollere kıyasla ciddi şekilde daha yüksek açlık serum glükozu, trigliserit, AST, ALT seviyeleri ve insülin direnç endeksine sahiptirler. Hastalarda dikkate değer şekilde azalmış serum kolesterolü seviyeleri bulunmuştur.

Ek olarak, ciddi talasemi hastalığı olan 69 hasta, Hamed ve Elmelegy (2010) tarafından kontrol grubu ile kıyaslandıklarında kan kalsiyum seviyelerinde önemli düşüşler ve ürik asit seviyesinde ciddi artış göstermişlerdir. Düzenli kan nakli alan 48 adet β-talasemi majör hastasındaki demir fazlalığını, antioksidan durumunu ve hücre hasarını anlamak için Chaigneau ve diğerleri (2022) bir araştırma düzenlemişlerdir.

Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında talasemi hastaları dikkate değer miktarda düşük E vitamini, antioksidan enzimleri GPX ve SOD seviyelerine sahiplerdir. Talasemili kişiler kontrol grubu ile karşılaştırıldığında serumdaki AST, ALT, toplam ve doğrudan bilirubin ve diğer göstergelerin seviyelerinde dikkate değer artışlar göstermişlerdir, bu da karaciğerde hücre hasarına işaret etmektedir.

Benzer bir yapıda Attia ve diğerleri (2011) homozigot β-talasemili kişilerde antioksidan vitaminlerinin karaciğer işlevine etkilerini ve antioksidan durumunu araştırmışlardır. Vitamin terapisi almadan önce enzim testlerinin sonuçları, talasemi majörlü çocukların yüksek seviyelerde ALT, AST, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz enzim faaliyetine sahip olduğunu göstermiştir. Tedavi öncesi seviyeleri ile kıyaslandığında, talasemili bireylerde ALT, AST, GPx ve SOD faaliyetleri dikkate değer şekilde düşmüş, bu sırada katalaz ve glutatyon reduktaz ciddi miktarda artmıştır.

Anca ve diğerleri (2010) düzenli şelasyon tedavisi alan 85 adet beta talasemi majör hastası çocukta kan lipit profillerini araştırmış ve katkısı olan değişkenleri tanımlamışlardır. Kontrol grubu için 55 sağlıklı çocuğun kanı alınmıştır. β-talasemi majör grubu, kontrol grubuna kıyasla dikkate değer miktarda düşük hematokrit ve hemoglobin seviyelerine sahiptir. Ferritin seviyelerinin talasemi majörlü grupta kontrol grubundan dikkate değer şekilde daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Talasemi majör hastalarının kontrol grubuna göre dikkate değer düzeyde daha düşük kolesterol, HDL kolesterol ve LDL kolesterol seviyelerine sahip oldukları bulunmuştur.

3. MATERYAL VE METOT

3.1 Materyal

Çalışmada kullanılan cihazların listesi Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Bu çalışmada kullanılan cihazların listesi

Cihazlar ve camlar	**Şirket**	**Ülke**
ELISA	Labon	Çin
Spektrofotometre	Biobase	Hindistan
Santrifüj	Memmert	Almanya
Işık Mikroskobu	Olympus	Japonya
Fırın	Memmert	Almanya
Su Banyosu	Memmert	Almanya
Salınımlı Su Banyosu	Memmert	Almanya
Sysmex cihazı	Sysmax	Japonya
Pipet	BioSan	Almanya
Farklı Camlar	-----	Çin
Buzdolabı	BEKO	Türkiye

3.2 Yöntem

Bu çalışma bir vaka (beta talasemili hastalar) – kontrol (sağlıklı kişiler) çalışmasıdır.

3.3 Çalışmanın Grupları

Çalışma Nisan-Haziran 2022 arasında Azadi Eğitim ve Al-Jumhuri hastanesinde beta talasemi hastası olan yada olmayan 150 denek üzerinde yapılmıştır. Laboratuvar çalışmaları Kerkük, Irak'taki özel laboratuvarlarda yürütülmüştür. Bu çalışmadaki gönüllü denekler şu şekilde ayrılmıştır:

- 50 sağlıklı gönüllü, kontrol grubu olarak.
- 100 beta talasemi hasası, ikinci grup olarak.

3.4 Kan Numunelerinin Toplanması ve İşlenmesi

Her bir hastadan yetkin hemşireler tarafından kan numuneleri alınmıştır. Taze alınmış kan numunelerin önemi açısından farklı uzmanlar farklı görüşlere sahiptirler. Taze alınmış kan bu nedenle gerekli değildir. Her bir deneğin beş mililitre toplardamar kanı bir EDTA tüpüne (1,0 ml) ve bir boş boşaylı tüpe (4,0 ml) ayrılmıştır.

Temiz serum numuneleri, boşaylı tüplerde bir süre kanın pıhtılaşmasına izin verildikten sonra 10 dakika boyunca 4000 rpm'de santrifüj edilmesi ile elde edilmiştir. Analiz zamanına kadar ayrılmış serum beş basit tüpe koyulmuş, mühürlenmiş ve -20^{o}C'de saklanmıştır. Kullanmadan önce donmuş serum numuneleri 4 ila 8 ^{o}C'de çözdürülmüş ve sonra oda sıcaklığında yavaşça sallanmışlardır.

3.5 Tam Kan Sayımları (CBC)

Tam kan sayımı (CBC), kanda dolaşımda olan hücreleri değerlendiren bir grup testtir. CBC toplam sağlığınızı değerlendirebilir ve enfeksiyonlar, kansızlık ve lösemi gibi çeşitli hastalık ve sorunları tespit edebilir. EDTA test tüpündeki 1 ml kan, Sysmax cihazı kullanılarak yapıla kan testlerinde (RBC, HB, HCT ve MCV) kullanılmıştır.

3.6 Ferritin

Serum ferritin konsantrasyonu ile vücudun demir rezervleri ters orantılıdır. Serum feritin ölçümleri, demir eksikliği kaynaklı anemiler ile diğer anemi tipleri arasında ayrım yapmak için kullanılabilir. Serum ferritin konsantrasyonunun, kalıtsal hemokromatozları siroz öncesi aşamalarında tanımlamaya yardımcı olabilecek demir fazlalığı için girişimsel olmayan, etkili bir test olabileceği gösterilmiştir (Addison *et al.* 1972, Halliday *et al.* 1977).

3.6.1 Deney prosedürü

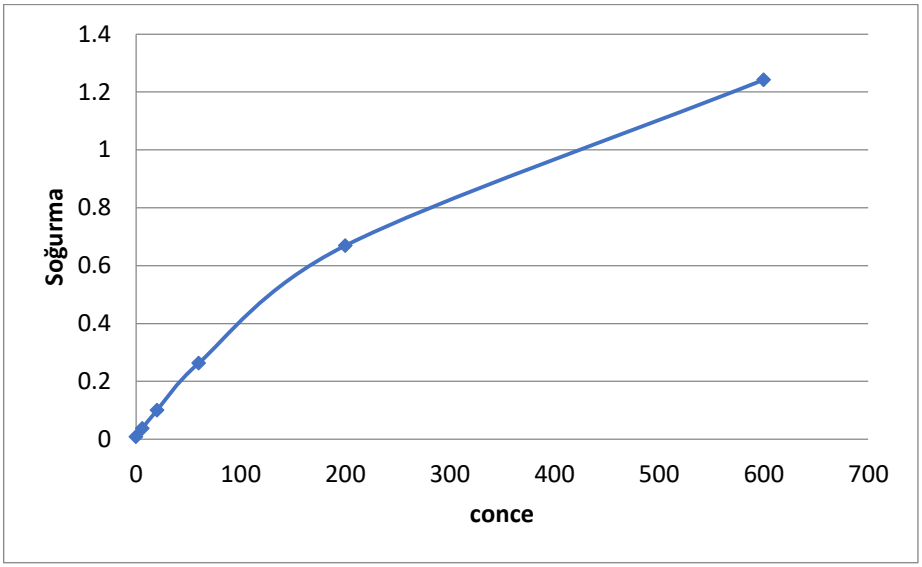
- Katı Faz Anti-insan Ferritin kabından gerekli sayıda mikro kuyuya alındı, Kuyu Tutucuya yerleştirildi ve kuruyana kadar sallandırıldı.
- Önceden seyreltilmiş ferritin kalibre edici çözeltinden 10 ul pipetle alındı ve çift olarak mikro kuyular içine C1'den başlayarak (A1 ve B1'i atlayın) ayırıştırıldı. A1 ve B1 mikro kuyuları içinde, Özel Olmayan Bağlanmayı (NSB) değerlendirmek için sadece Eşlenik Anti-insan Ferritin bulunmalıdır.
- Her bir mikro kuyu içine 200 µl eşlenik anti-insan ferritin pipetle koyu renk olmuştur.
- Oda sıcaklığında, 180-200 rpm'e ayarlı motoru olan bir titreştirici veya klinik döndürücü masa üzerinde kuluçkaya bırakıldı.
- Her bir mikro kuyuyu su ile dolduruldu sonra deiyonize su ile yıkamadan önce toplam 3 kez boşaltmak için çalkalandı. Son yıkama sonrasında mikro kuyuların

tepesini 30 saniye boyunca bir emici malzemeye hafifçe vurarak suyun emilmesini sağlandı.

- Her bir kuyuya 200 µl altlık çözeltisi pipetle koyulaştırıldı.
- 30 dakika oda sıcaklığında kuluçkaya bırakıldı.
- Renk oluşturmak için her bir mikro kuyuya 100 µl potasyum ferrosiyanür çözeltisi (%0,24) eklendi ve iyice karıştırıldı (örn. 180 – 200 rpm'de 1 dakika).
- Mikrotabak okuyucuyu sıfırlamak için 200 µl altlık çözeltisi ve 100 µ potasyum ferrosiyanür ile hazırlandı ve boş örnek kullanıldı.
- Tüm numunelerin soğurmalarını 500±10 nm'de okundu ve 600-630 nm düzeltici dalga boyu kullanıldı ekstra olarak net okumaları almak için deney sonlanmasının bir saatlik diliminde alınmaktadır.
- Eğer otomatik arka plan çıkarması mümkün değilse tabağın ikinci bir kere, 600 – 630 nm'de incelenmesi ve bu sonuçların orijinal 500 nm ölçümlerinden elle çıkarılması için yapılmıştır. Yetersiz arka plan soğurması ve düzeltilmesi test değişkenliğini artırabilir ve muhtemel yanlış okumalara yol açabilmektedir. Tüm sonuçları doğru ve net olarak hesaplanmıştır.

3.6.2 Hesaplamalar

Bir logit log veri indirgeme algoritması, serum ferritin konsantrasyonunu belirlemek için kullanılabilir. Her bir önceden seyreltilmiş ferrtin kalibrasyon çözeltisi için net soğurma değerlerini (kalibre edicinin ortalama O.D.'si eksi NSB) dikey eksen (Y) üzerine veya denk gelen ferritin konsantrasyonunu ng/ml cinsinde yatay eksene (X) kalibrasyon eğrisini oluşturmak için yerleştirin. Her bir numune ve kontrol için ortalama soğurma değerini belirleyin (Şekil 3.1).



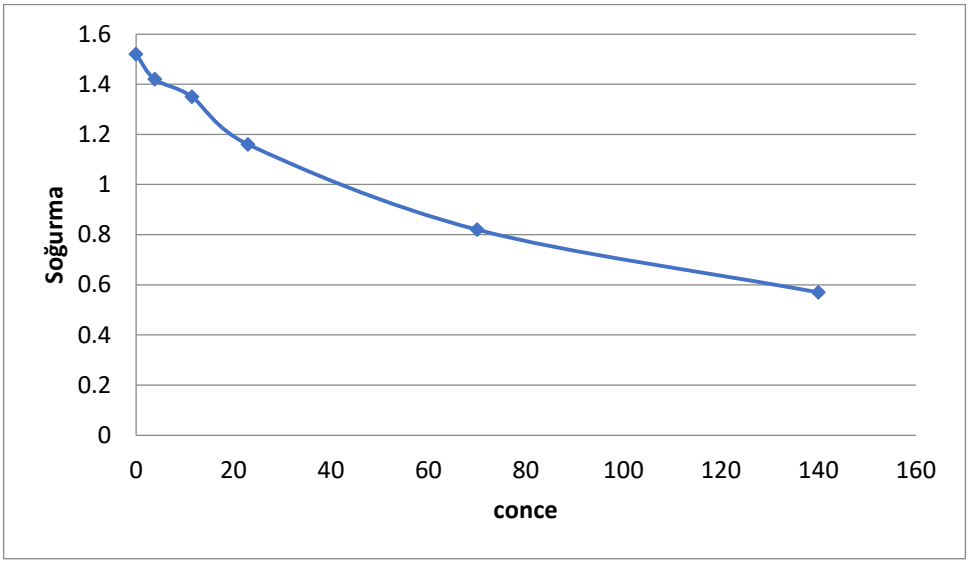
Şekil 3.1 Ferritin standart eğrisi

3.7 Hepsidin

Kit, insan serumu, plazma, homojenize edilmiş doku, hücre lizatları, hücre kültürü üst fazları ve diğer biyolojik sıvılar içinde hepsidinin in vitro nitel ölçümü için bir rekabetçi engelleme enzimi bağışıklık deneyi tekniğidir.

3.7.1 Prosedür

- Tüm standartları, numuneleri ve tepkileri hazırlandı.
- Her bir kuyuya standart veya numuneden 50 µl koyuldu, ve derhal 50 µl hazırlandı tespit Tepkini A'dan eklendi. Karıştırıp sallandırıldı. 37^{o}C'de 1 saat kuluçkaya bırakıldı.
- Üç kere emme yapılıp yıkandı.
- 100 µl hazır tespit tepkini B eklendi. 37^{o}C'de 30 dakika kuluçkaya bırakıldı.
- Beş kere emme yapılıp yıkandı.
- 90 µl altlık çözeltisi eklendi. 37^{o}C'de 10-20 dakika kuluçkaya bırakıldı.
- 50 µl Durdurma Çözeltisi eklendı ve okundu. (Şekil 3.2)



Şekil 3.2 Hepsidin standart eğrisi

3.8 Genetik Çalışma

Eşsiz alele özel primerlerin kullanımı üzerinden Çoğaltmaya Dayanıklı Mutasyon Sistemi (ARMS-PCR) nokta mutasyonlarının doğrudan tespitine olanak sağlar. Biri nokta mutasyona eşleşen 3′ ucu nükleotidine (Mt ARMS primer) ve diğeri de normal DNA dizisine (N ARMS primer) sahip bir çift alele özel primer, belirli bir nokta mutasyonunu tanımlamak için kullanılmıştır. Komşu ülkelerdeki yaygın β-talasemi mutasyonlarının dağılımları temelinde, Babil bölgesindeki moleküler tanımlama için iki mutasyon seçilmiştir (Roudknar *et al.* 2003, Bhardwaj *et al.* 2005, Rahimi *et al.* 2010).

3.9 Primer Seçimi

Çizelge (3.2) mutasyon ARMS analizi için seçilen primer setlerini göstermektedir (Christopher *et al.* 2013). Tüm ARMS-PCR tepkimeleri için:

• Dahili kontrol primerleri:
Primer A (İleri): "5 - -CAA TGT ATC ATG CCT CTT TGC ACC -3 - "
Primer B (Geri): "5 - -GAG TCA AGG CTG AGA GAT GCA GGA-3 - "
Dahili kontrol primerleri ürününün parça boyutu 861 bç'dir".

Ortak primer C: "5 - -ACC TCA CCC TGT GGA GCC AC-3 - '"

Çizelge 3.2 β-globin genindeki mutasyonları bulmak için kullanılan primer dizileri

Mutasyonlar		Dizi (5'-3')	Ürün bç
IVSI-5 (G – C)	Mutant	”5-CTC CTT AAA CCT GTC TTG TAA CCT TGT TAG-3"	285
	Normal	"5-CTC CTT AAA CCT GTC TTG TAA CCT TGT TAC-3"	

7 µl genom DNA’sı, 15 µl 2X Taq PLUS PCR Ön Karışımı, 1 µl ya mutant (M) ya da normal (N) primer, Dahili Kontrol Primeri A ve B’nin her ikisinden de 1 µl ve 4 µl nükleazsız su PCR tepkime karışımını oluşturmaktadır (toplam hacim: 30 l).

Tüm tepkimelerde karışım bileşenlerini elde etmek için SolGent test kitleri kullanıştırıldı. DNA termal döngüleyici her bir aşama tepkime tüpü için ısı gerçekleştirildi (Biometra, Almanya). ARMS-PCR prosedürü IVS1-110 ve IVS1-5 mutasyonlarının tespiti için “25 döngüdür: 94^{o}C’de 2 dakika ön ısıtma, 94^{o}C’de 1 dakika dinlenme, 65 ^{o}C’de 1 dakika yeniden birleştirme, 72 ^{o}C’de 1,5 dakika uzama ve 72 ^{o}C’de 3 dakika nihai uzama.” ARMS-PCR ürünlerini basamak işaretleyicilerden ayırmak için elektroforez kullanılmıştır. 7 µl ürün, 100 ml 1X TBE tamponu ve 0,5 µg/ml etidyum bromit çözeltisi içinde 2 gr agaroz ile elde edilen %2’lik agaroz jelinde iki saat boyunca 70 voltta yürütülmüştür. Bantlar UV ışığı altında gözlenmiş ve bir resim belgeleme cihazı ile kaydedilmişlerdir. Tüm tepkimeler içinde, PCR’ın çalıştığını göstermek için, bir dahili kontrol bandı (861 bç) da çoğaltılmıştır. PCR ürünleri nihai olarak elektroforez ile analiz edildi.

3.10 İstatistiki Analiz

İstatistiki analiz için GraphPad Prism versiyon 8 ve SPSS versiyon 21 bilgisayar uygulamaları kullanılmıştır. İstatistiki testlerin sonuçları ve çubuk grafikler MeanSE kullanılarak ifade edilmiştir. Hasta ve kontrol grupları arasında parametre ortalamalarını karşılaştırmak için bir eşleşmemiş T-testi (Man-Whitney U) kullanılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1 Hematolojik Parametreleri

Çizelge 4.1, β-talasemi hastalarındaki bazı hematolojik parametrelerini göstermektedir, burada RBC sayısı Şekil 4.1'de gösterildiği şekilde hastalarda (3,081±0,175) kontrol grubuna (4,815±0,246) kıyasla anlamlı (P<0,05) düşüş göstermiştir. Hemoglobin konsantrasyonu Şekil 4.2'de gösterildiği gibi hastalarda (7,35 ± 0,129) kontrol grubuna (14,05 ± 1,047) kıyasla anlamlı (P<0,05) düşüş göstermiştir. PCV Şekil 4.3'te gösterildiği gibi hastalarda (21,73 ± 1,79) kontrol grubuna (43,42 ± 4,621) kıyasla anlamlı (P<0,05) düşüş göstermiştir. MCV Şekil 4.4'te gösterildiği gibi hastalar (78,62 ± 5,02) ile kontrol grubu (81,56 ± 7,53) arasında anlamlı olmayan (P<0,05) farklılıklar göstermiştir. WBC Şekil 4.5'te gösterildiği gibi hastalar (6,94 ± 1,35) ile kontrol grubu (7,36 ± 1,47) arasında anlamlı olmayan (P<0,05) farklılıklar göstermiştir.

Çizelge 4.1 Çalışılan gruplarda kan parametreleri

Gruplar/ Parametreler	Kontrol (50)	Hastalar (100)	P-Değeri
RBC	4,815 ± 0,246	3,081 ± 0,175	0,0001
Hb	14,05 ± 1,047	7,35 ± 0,129	0,0001
PCV	43,42 ± 4,621	21,73 ± 1,79	0,0001
MCV	81,56 ± 7,53	78,62 ± 5,02	0,378
WBC	7,36 ± 1,47	6,94 ± 1,35	0,289

Bu çalışmada, kadın talasemili hastalarda kontrol deneklerine kıyasla PCV ve hemoglobin (Hb) seviyelerinde anlamlı bir azalma vardır. Kalıcı anemi ve perfüzyon bozukluğu nedeniyle oluşan oksijen yetmezliği gibi diğer etkenler de dengesizliğe katkıda bulunmaktadırlar. Hipotalamus hipofiz ekseni, tiroit, paratiroit, böbrek üstü, pankreas, eşey organlarının hepsi düşük faaliyet göstermektedir (Sabato *et al.* 1983).

Seçilen Iraklı beta talasemi hastaları, özellikle kırmızı kan hücresi kütlesi (RBC sayısı, Hct ve Hb) ve ilgili belirteçlerde (MVC) olmak üzere, hipokromi olmadan anlamlı şekilde belirgin mikrositoz yanında hemogramda ciddi değişimlere sahiplerdir.

Weatherall (2001) kan transfüzyonu gerektiren talasemi vakaları için bildirilen tipik klinik tablolar ve beta talasemili bireylerde hematolojik bulgularımız benzerdir.

Iraklı beta talasemi hastalarında Elhams (2010) RBC kütlesi ve WBC sayısı için kıyaslanabilir sonuçlar elde etmiştir. Diğer uluslarda da farklı kurulumlarda benzer sonuçlar gösterilmiştir. Rigano ve diğerleri (2001) Sicilyalı talasemi hastalarında, anlamlı şekilde değişmiş hemogram, ciddi anemi, trombositoz ve lökositoz bulmuşlardır. Borgna-Pignatti ve diğerleri (1998) bir İtalyan çok merkezli çalışmada beta talasemili hastalardaki tromboembolik olayların bağlantısını göstermişlerdir.

Ek olarak Taher ve diğerleri (2006) İran ve Akdeniz havzasındaki beta talasemi hastalarının klinik olarak anlamlı bir miktarında tromboembolik olayların gerçekleştiğini gözlemlemişlerdir. Tromboembolik olaylar, Borgna-Pignatti ve diğerleri (1998) tarafından yılında beta talasemili hastalarda kaydedilmiştir. Bunun yanında Eldor ve diğerleri (1999) çocukluktaki beta talaseminin, kalıcı aşırı pıhtılaşma sorunu yaratabileceğini bunun da hayatlarının devamında kalp, akciğer ve trombotik sorunlara yol açabileceğini göstermişlerdir (Eldor *et al.* 1999).

Hastaların klinik durumunun ciddiyetiyle doğru orantılı olabilecek farklı şekil ve derecelerdeki poikilositozlar beta talasemi hastalarında mevcuttur (Weatherall 2001). Beta talasemi hastalarının raporlanmış poikilositik sorunları hastaların hemodinamik sorunlarına neden olmaktadır. Ancak talaseminin tedavisinde RBC akışbilimsel özelliklerinin gelişiminin dikkate alınabileceğini tavsiye etmişlerdir. RBCler, artan RBC birikebilirliğine bağlı olabilirler ve hastaların klinik durumlarını ciddileştirebilirler (Chen *et al.* 1996).

Sonuçlar, RBC sayısının beta talasemi minör ve majör içindeki hematolojik azalmasını göstermektedir. Bu sonuçlar diğer çalışmalar ile paraleldir (Linman 1975). Bu azalma, RBClerin retiküloendotel sistem içinde makrofajlar tarafından, poikilositoz, anisositoz ve RBC zarında alfa zincirlerinin birikimi nedeniyle hedef hücreler gibi anormal kırmızı kan hücrelerini nedeniyle yok edilmesinden kaynaklı olabilir (Thomson 1984). İlk seferinde bu sonuçlar, kemik iliğinin alyuvar hiperplazisi, artan alyuvar öncüsü seviyesi ile alakalı ilik dışı hematopoiez ile ilgili bilinenlerle çelişmektedir (Dore *et al.* 1993, Nilsi *et al.* 1997).

Her iki beta talasemi tipi içinde kontrol deneklerine kıyasla görülen anlamlı Hb konsantrasyonu azalması diğer çalışmalar ile uyuşmaktadır (Donofric *et al.* 1995, Komen *et al.* 1996, Madan *et al.* 1999).

Bu Hb konsantrasyonu azalması, alsı biyosentezin bozulması ve RBC sayısındaki azalma ile alakalı olan beta globin zincirleri sentezinin azalması veya olmaması nedenine bağlıdır (Wintrobe *et al.* 1976, Hofbrand and Lewis 1981).

İki tip beta talasemi içinde kontrol deneklerine kıyasla görülen PCV azalması diğer çalışmaların sonuçları ile uyumludur (Kjeldsberg *et al.* 1989, Zerez and Tanaka 1989). Bu PCV azalması RBClerin sayısındaki azalma, mikrositoz ve Hb konsantrasyonundaki azalamaya bağlıdır (Kumar *et al.* 1992, Wedward *et al.* 1995).

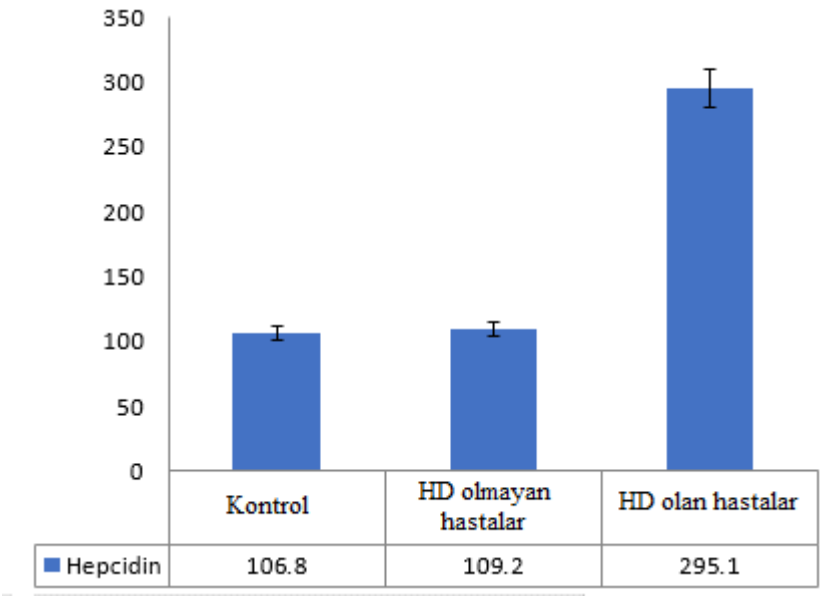
RBC belirteçlerindeki azalma her iki tip beta talasemide ve kontrol deneklerinedir. Bu sonuçlar diğer çalışmalar ile uyumludur (Thompson and Wootton 1970, Yang and Hung 1991, Behrman *et al.* 1993, Bain 1998). Bu belirteçlerin bileşeninin RBC sayısı, Hb konsantrasyonu ve PCV'yi içermesi yanında, bu değerlerde beta talasemi minör ve majördeki azalma bu belirteçlerin azalmasına yol açmaktadır (Hofbrand and Pettit 1993, Tierney *et al.* 1994).

4.2 Hepsidin ve Ferritin

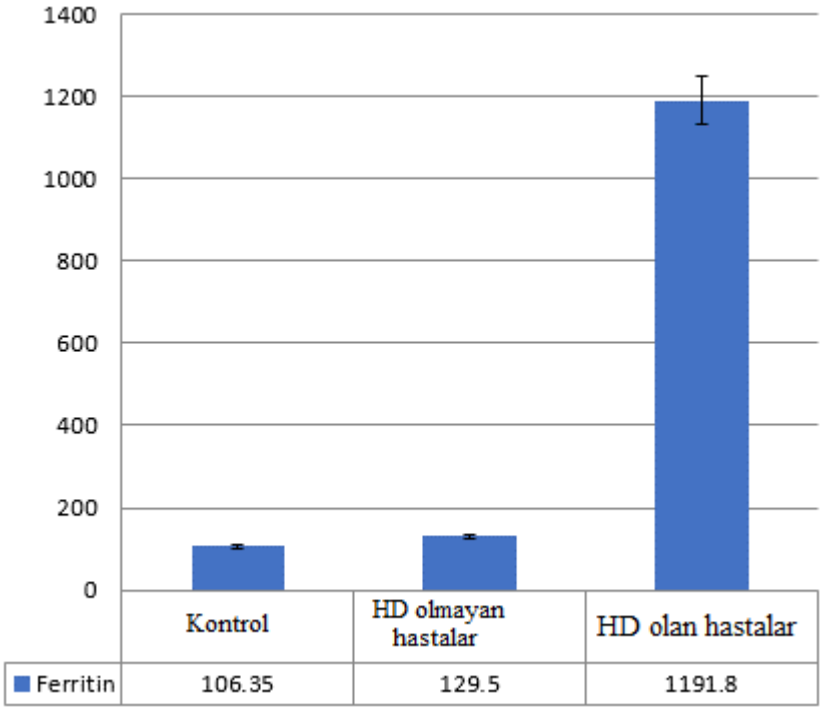
Çizelge 4.2, β-talasemi hastalarındaki hepsidin ve ferritin konsantrasyonlarını göstermektedir, Şekil 4.1'da gösterildiği gibi hepsidin konsantrasyonu hastalarda (295,1 ± 12,41) kontrol grubuna (106,8 ± 15,72) kıyasla anlamlı (P <0,05) bir yükselme göstermiştir. Şekil 4.2'de gösterildiği şekilde ferritin konsantrasyonu hastalarda (1191,8 ± 54,02) kontrol grubuna (106,35 ± 29,58) kıyasla anlamlı (P <0,05) bir yükselme göstermiştir.

Çizelge 4.2 Çalışılan gruplarda Hepsidin ve ferritin değerleri

Gruplar / Parametreler	Kontrol (50)	Hastalar (100)	P-Değeri
Hepsidin (ng/ml)	106,8 ± 15,72	295,1 ± 12,41*	0,0001
Ferritin (ng/ml)	106,35 ± 29,58	1191,8 ± 54,02*	0,000



Şekil 4.1 Çalışılan gruplarda hepsidin seviyeleri



Şekil 4.2 Çalışılan gruplarda ferritin seviyeleri

Ferritin seviyeleri ile ilgili yakın zamanlı keşifler Pootrakul ve diğerleri (1981) tarafından yapılan beta talasemi hastalarının ortalamadan daha yüksek serum ferritin seviyelerine sahip oldukları buluşu ile tutarlıdır. Benzer bir sonuç, Hindistan'daki Bhopal hastanesinde çok sayıda nakil alan talasemi majör hastalarının serum ferritin seviyelerinin kontrol grubuna kıyasla daha yüksek olduğunu gösteren Mishra ve Tiwari (2013) tarafından da bulunmuştur.

Easa (2009) β talasemi majör ve talasemi intermediate de dahil olmak üzere 70 adet β-talasemi hastasını, Kerbela Eğitim Hastanesinin Talasemi Merkezindeki tedavileri sırasında incelemiştir. Çalışmanın tüm β-talasemi majör hastalarında sonuç olarak yüksek ferritin seviyeleri görülmüştür.

Sonuç demir eksikliği nedenli anemidir. Bu bulgular, 203 adet 38 yaşında kadının serum ferritin seviyelerini ölçmüş olan Hallberg ve diğerleri (1993) ile uyumludur. Serum ferritin seviyelerinin demir eksikliği için en iyi gösterge olduğu sonucuna

varmışlar ve daha önceden popülasyon taramaları ve klinik vaka çalışmaları ile oluşturulmuş olana göre daha kısa bir yol olduğunu belirtmişlerdir.

Ek olarak Zanella ve diğerleri (1989) araştırmasının sonuçları bu çalışmanınkiler ile uyumludur. Demir eksikliğini tespit için serum ferritin konsantrasyonunun hassaslığına ve tahmin gücüne bakmışlardır. Serum ferritini için, toplam hassasiyet ve tanı belirliliği sırasıyla %82 ve 95 olmuştur. Anemi eksikliğinde ferritin hassasiyeti %70'e düşse de ciddi anemi durumlarında %80'den fazla hassastır. Serum ferritininin hem popülasyonlarda hem de hastane hastalarında, demir eksikliği tanısı için bir dizi laboratuvar testinin tanısal faydasının sistematik bir değerlendirmesi sonucu, basit demir eksikliği için en etkin test olduğu gösterilmiştir.

Hepsidin 25 amino asitten oluşan bir peptittir ve ana amacı vücudun üç ana kaynağından demir emmesini engellemektir – onikiparmak bağırsağında gıda emilimi, makrofaj atıklarından geridönüşüm ve hepatositlerde atık imhası (Park *et al.* 2001). Vücuttaki demir miktarı ne kadar hepsidin üretildiğini etkiler, demir miktarı çoksa çok hepsidin salınır, bu da vücudun daha fazla demir emmesini engeller. Diğer taraftan demir eksikliğinde, yeterli mikro element emilimine izin vermek için hepsidin ayrılması azalır veya durur. Hepsidin konsantrasyonu iltihap sırasında artar ve oksijen yetmezliği sırasında düşer, bunun istisnası demir fazlalığıdır.

Yüksek demir miktarına rağmen β-talasemi hastalarında düşük hepsidin seviyeleri vardır (Nemeth and Ganz 2006, Pasricha *et al.* 2013). Etkinleşmiş alyuvar üretiminde ve dokulardaki oksijen yetmezliğindeki demir talebi bu baskınlığın nedenleri olarak görülmektedir.

Sharma (2008)'nın araştırmasına göre hepsidin seviyeleri, enfeksiyon taşıyan, uzun vadeli iltihap koşulları bulunan ve IDA ile birlikte var olan habis durumları bulunan veya "kronik hastalık/iltihap anemisi" olan kişilerde yüksek bulunmuştur.

Ek olarak Ganz ve Nemeth (2011) hepsidinin iltihaplı hipoferremi içindeki rolünü ve IL-6 ile LPS etkinleştirilmiş makrofajların üst fazlarının nasıl etkin şekilde, insan hepatositleri ve hepatik hücre hatlarında hepsidin ürettiğini incelemişlerdir. Bu araştırmanın sonuçları bu bulgular ile uyumludur.

Yedi IDA hastasının şeker hastalı geçmişi, üç tanesinin kronik böbrek hastalığı, iki tanesinin iltihaplı bağırsak hastalığı, dört tanesinin kanseri, iki tanesinin sistemik lupus eritematozu (SLE) ve bir tanesinin Hashimoto tiroit geçmişi bulunmaktadır. Bu kişilerde hiposideremi, yüksek hepsidin seviyeleri ve otobağışıklık bozuklukları vardır. Bu bulgular, uygunsuz şekilde yükselen hepsidinin ve takip eden hipoferreminin de demir sınırlandırmalı aneminin, otobağışıklık hastalıkları ve bazı kanserler gibi iltihaplı hastalıklar ve enfeksiyonları bağlı olan yaygın formlarının ortaya çıkışında patojenik bir rol oynadığının düşünüldüğünü gösteren Ganz ve Nemeth (2011) bulguları ile uyumludur. Interlökin IL-6, IL-1, IL-22 ve dönüştürücü büyüme faktörü β süper ailesinin bazı üyeleri bu durumlarda hepsidin üretimini artırdığı bilinen sitokinler arasındadır.

Hepsidinin iltihap düzenlemesi, mikroorganizmaların demir erişimini azaltmak için bir konak savunma mekanizması olarak gelişmiştir ancak aynı mekanizma bulaşıcı olmayan ve anemiye yol açan iltihaplı hastalıklarda uyum bozucu olabilir. Diğer beş IDA hastası, yüksek hepsidin seviyeleri ve hiiposideremi olan yaşlı kişilerdir. Bu durum, yaşlanmanın sıklıkla düşük derece iltihap yatıkını durumlar ile birlikte geldiğine dair Den-Elzen ve diğerleri (2009)'in sonuçları ile uyumludur.

Dolaşımdaki hepsidinin kalıcı yükselişinin hafif iltihap yatkını bu durumdan kaynaklandığı ileri sürülmüştür. Otuz dört IDA hastasının sadece dördünde düşük hepsidin seviyeleri vardır. Bu durum, hipoxi ve aneminin demir metabolizmasına bir etkisi olduğuna dair Weinstein ve diğerleri (2002) sonuçlarını desteklemektedir.

Serum içindeki hepsidin seviyeleri, bu araştırmadaki talasemi majör grubu içinde yüksektir, bu da bu hastalarda ciddi bir demir yükünü göstermektedir.

Talasemi majör grubunda, kontrol grubuna kıyasla, ferritin seviyeleri daha yüksektir ancak bu fark istatistiki olarak anlamlı değildir. Ek olarak, serum ferritin seviyesi ile hepsidin arasında bir bağlantı yoktur. Haghpanah ve meslektaşları da, kendi araştırmalarındaki talasemi majör grubunda daha yüksek serum ferritini seviyesi bulmuşlardır, bu da benzer bir sonuç üretmiştir (Haghpanah *et al.* 2015). Ancak bu çalışmadaki fark istatistiki olarak anlamlı değildir.

Diğer çalışmalar karaciğer hspsidin mRNA seviyelerini ve idrar hepsidin konsantrasyonlarını β-talasemi hastalarında ölçmeyi önermişlerdir ve demir belirteçleri ile hiçbir ilişki gözlemlememişlerdir, bu da bu çalışmanın bulguları ile tutarlıdır. Ek olarak, Origa ve diğerleri (2007)'nin idrar hepsidin seviyeler üzerindeki bulgularıyla paralel olarak bizim verilerimiz ferritindeki değişikliklerin deseninin hepsidin seviyesi ile ilgili olduğunu göstermiştir.

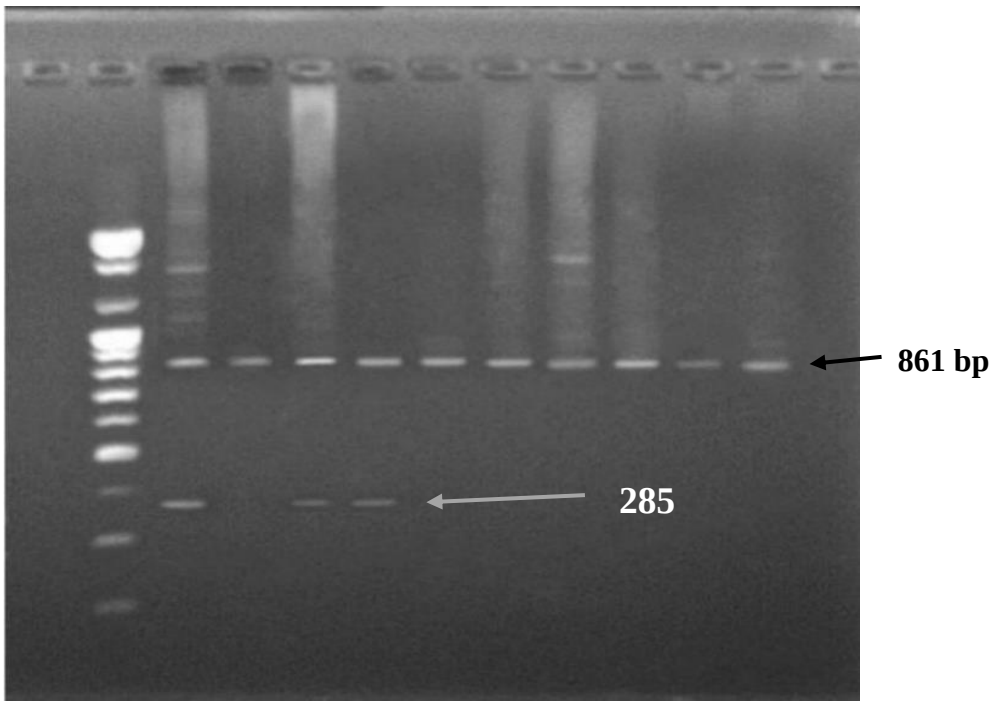
Ferritin (şelasyon tedavisi öncesi ve sonrası) ve hepsidin seviyelerinin, talasemi majör hastaları ve kontrol grubu arasında karşılaştırılması çalışmanın ana gücüdür çünkü net bir şekilde talasemi tipinin nasıl demir durumu göstergelerini etkilediğini göstermektedir. Hepsidinin farklı zamanlarda fazla sayıda ölçümünün yapılmamış olması, kontrol grubundaki numune sayısının azlığı ve rastgeleleştirilmemiş hasta seçimi ile birlikte çalışmanın zayıf noktalarından biridir. Dokulardaki demir seviyelerini, dokudaki demir yükünün daha net bir göstergesini sunabilecek olan moleküler araştırma veya görüntüleme teknikleri ile değerlendirmemişlerdir.

İdrar ve serumdaki hepsidin seviyeleri demir yükleyen, düzenli nakillerle tedavi edilmeyen beta talasemi intermedia ve doğuştan gelen diseritopoietik anemiler gibi anemilerde düşmektedir. Hepsidin eksikliği bu şekilde aşırı demir emilimine ve sistemik demir aşırı yüklenmesine izin vermektedir (Nemeth and Ganz 2006, Origa *et al.* 2007, Zhao *et al.* 2013).

4.3 Genetik Çalışma

150 hasta numunelerdan 100'ü (%66,7) hemoglobinopatiler veya talasemiler için pozitif test vermiştir, bunun yanında kalan 50'si (%33,3'ü) herhangi bir tip hemoglobinopati veya talasemiye sahip değillerdir. Bileşke Hb E-beta talasemi, bileşke Hb S- beta talasemi, beta talasemi majör ve beta talasemi minör için pozitif çıkan numuneler, moleküler analize alınmıştır. Moleküler analize göre IVS 1–5 (G→C) mutasyon deseni için incelenen 100 beta talasemi hastasından üçünde (%3) bulunmuştur.

Başarılı bir ARMS-PCR tepkimesinin jel elektroforezindeki gerekli göstergesi 861 bç moleküler ağırlıkta olan dahili kontrol ürünün gözlenmesidir. Sonuç olarak, mutasyon deseni IVS 1-5 (G→C) beta talasemi mutasyon deseni için araştırılan 100 vaka içinde 3 numunede (%3) bulunmuştur, kalan 97 numunenin (%97) doksan yedisi de IVS 1-5 (G→C) beta talasemi mutasyonunu taşımamaktadır (Şekil 4.3).



Şekil 4.3 IVS-1-5 mutasyonu nedenli talasemi için ARMS-PCR çoğaltması %1 konsantrasyonda agaroz jel üzerinde ve 100 V elektrik potansiyel farkı altında 1,5 saatte gösterilmiştir. Dahili kontrol bantları (861bç), IVS-I-5 bantları (285 bç)

Kerkük şehrindeki talasemi hastaları arasında, bu araştırmada on bir β-globin gen mutasyonu tanımlanmıştır.

Birkaç β-talasemi numunesi test edilen mutasyonların dördü içinde negatiftir. Bu bulgunun nedeni, bu teknoloji ile tespit etmediğimiz ek beta talasemi mutasyonlarının varlığı olabilir. Bu durumda hastanın beta-globin genlerinin dizilerinin çıkarılması ek mutasyonları olup olmadığını belirlemek için en etkili yöntemdir. B-talasemi hastalığında yüksek moleküler heterojenlik bulunmaktadır. Her ırk ve popülasyon kendi eşsiz mutasyonlarına sahiptir ve şu ana kadar 200'den fazla farklı β-globin gen mutasyonu tanımlanmıştır (Najmabadi *et al.* 2002, Huisman 1996). Geçmiş çalışmalardan sadece birkaçı Irak'ın yönetim bölgelerini ele almıştır. Özellikle Kerkük ilinde bu çalışmanın daha derinlemesine bir araştırma sunması amaçlanmıştır.

Hemoglobinopatiler ve talasemiler, dünya çapında yaygın kalıtsal hastalıklardır. Hb E, Hb S, Hb D, Hb C ve diğer hemoglobin varyasyonları dünyada en çok görülenlerdir. En yaygın hemoglobin varyantlarından biri, özellikle Güney Doğu Asya ülkelerinde, hemoglobin E'dir. Assam ve Hindistan'ın kuzey doğu kesimleri homozigot ve heterozigot Hb E için sıcak bölgelerdir. Ek olarak, beta talasemi Hindistan'ın kuzey doğu bölgesinde yaşayanlarda görülmektedir. Hindistan'ın kuzey doğu bölgesinin insanlarındaki beta talaseminin moleküler nedenleri bu çalışmada incelenmiştir. Araştırma altındaki kişilerin %3'ünde IVS 1-5 (G→C) beta talasemi mutasyonu vardır.

Akdeniz havzası IVS 1.5 (G > C) mutasyonunun yoğun bulunduğu bölgedir. Birleşik Arap Emirliklerinde (%55) ve Umman'da (%62) ve de komşu ülkeler Kuveyt ve Suudi Arabistan'da en çok görülen mutasyondur. IVS 1-25 (25 bpDEL) (kesim bölgesi mutasyonu) Irak yakınlarındaki Arap ülkelerinde ve İran'da, ancak düşük oranlarda, tespit edilmiştir. En yaygın olduğu yer Arap Yarımadası ülkeleridir, özellikle Bahreyn'de popülasyonun %36'sında mevcuttur. Suudi Arabistan'da %10'a ulaşması haricinde, çerçeve kayması mutasyonu kod 8 (-AA) Irak yakınlarındaki ülkelerde ve Arap ülkelerinde nadir görülmektedir (Zahid 2001).

Bulgular, IVS 1-5 (G→C) mutasyonunun Asyalı Hintlerde en yaygın mutasyon olduğunu gösteren Varawalla ve diğerleri (1991) araştırması ile tutarlıdır.

Panigrahi ve Marwaha (2007) araştırmasına göre IVS 1-5 (G→C) Hindistan popülasyonunda en yaygın mutasyondur ve IVS 1-5 (G-C) yüksek frekansı (%72) Hindistan'ın doğu kesimlerinde görülmektedir.

Sinha ve diğerleri (2009) Hindistan'da eyalet ve bölgesel seviyelerde β-talasemi mutasyonlarını çalışmışlar ve IVS 1-5 (G→C) görülme sıklığının Hindistan'ın kuzey bölgelerinde %44,8 ile doğu bölgelerinde %71,4 arasında değiştiğini bulmuşlardır. Çalışma aynı zamanda tüm Hindistan analizi içinde kuzeydoğu bölgesinden (n=461) aleller de içermektedir, bu bölgede IVS 1-5 (G→C) görülme oranı %54,7 olarak kaydedilmiştir. Daha önceki araştırmacılar tarafından yürütülmüş diğer beta talasemi profil araştırmaları talasemi mutasyon desenleri üzerine mevcut çalışma ile uyumludur.

Pakistan göçmeni olan Hintler arasında öne çıkan mutasyon IVS 1-5 (G→C) mutasyonudur, güney eyaletlerde %85 ile doğu eyaletlerinde %66-70 ve kuzey eyaletlerinde %47-60 arasında değişiklik göstermektedir. Tanımlanan mutasyonun deseni bu araştırma çalışmasının bulguları ile benzerdir.

Verma ve diğerleri (1997) beta talasemi genindeki mutasyonları tanımlamış ve Hindistan'daki bölgesel dağılımlarını analiz etmişlerdir.

Daha önce Çin ve Asyalı Hint popülasyonlarında bulunmuş olan ve aynı zamanda Akdeniz havzasında gözlemlenmiş olan IVS 1.5 (G>C) (kural değiştirme mutasyonu) ilgi çekicidir (Zahid 2001). Ancak mevcut çalışma, IVS 1.5 (G-C) mutasyonunun alellerin %2,08'ine (1/48) denk geldiği ve bir hastada heterozigot formda ortaya çıktığı Omer (2009)'in çalışmasına uymaktadır.

Ek olarak, Akdemiz havzası IVS 1.5 (G - C) (kural değiştirme mutasyonu) oluştuğu yerdir. %10'luk frekansla, bu araştırmadaki en çok görülme sıklığı olan ikinci

mutasyondur. Bu mutasyonun bu çalışmadaki görülme sıklığı, IVS1-5'in Irak'taki talasemi hastaları arasında %12,5 oranıyla görüldüğünü gösteren, Al-Assadi (2007)'nin çalışması ile uyumludur. Umman (%62) ve Emirliklerde (%55) en yaygın görülen mutasyondur ve yakınlardaki Suudi Arabistan ve Kuveyt'te görece yaygındır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Kerkük şehrinde talasemi hastalarında yapılan bu araştırmada 11 β-globin gen mutasyonunun tespit edildiğini doğrulamaktadır. Moleküler analize göre, mutasyon paterni açısından incelenen 100 beta talasemi hastasının üçünde (%3) IVS 1-5 (G→C) bulundu. Bu çalışmada kullanılan ARMS-PCR tekniği hızlı, basit ve radyoaktif olmayan bir yöntemdir, β-talasemi tanısı için değerli bir moleküler cihaztır. Bu zamanlarda, hastaların beta-globin genlerinin sıralanması, mutasyonlara sahip olduğunu yada olmadıklarını belirlemenin en etkili yöntemdir.

β-talasemi ve buna eşlik eden aşırı demir yüklemesi, yüksek hepsidin seviyelerine yol açar. aynı zamanda ferritin seviyeleri ortalamanın üzerindeydi. Ayrıca serum ferritin düzeyi ile hepsidin arasında bağlantı yoktu. Talasemi hastalı grubu ve kontrol grubu arasındaki ferritin (çelator tedavisi öncesi ve sonrası) ve hepsidin düzeylerinin karşılaştırılması, talasemi tipinin demir durumu göstergelerini nasıl etkilediğini açıkça gösterebildiği için çalışmanın ana gücüdür.

Kadın talasemi hastalarının PCV ve hemoglobininde (Hb) kadın kontrol denekleriyle karşılaştırıldığında önemli bir düşürme vardır. Beta talasemili hastalarda, özellikle kırmızı kan hücresi (RBC sayısı, Hct ve Hb) ve ilişkili indeksler (MCV) ile birlikte, hipokromi olmaksızın önemli ölçüde belirgin bir mikrositoz ile birlikte önemli ölçüde değişen bir hemogram vardır.

Genetik testler için modern moleküler aletların kullanımını vurgulayan bilimsel araştırma çabalarının teşvik edilmesi, Irak ve diğer komşu ülkelerde β - talasemi mutasyon tipleri için bir veri tabanı oluşturan araştırma faaliyetlerinin arttırılmasıyla sağlanabilmektedir.

Bu çalışmadan sonra yapılan benzer çalışmalr Irak popülasyonlarındaki β-talasemi yeni mutasyon türleri için ve β-talasemi mutasyonlarının tamamlamak için Multiplex-ARMS ve Real Time-PCR kullanılmaktadır. doğum öncesi tanıya yönelik kapsamlı kültürel ve dini yapıyı göz önünde bulundurarak, yüksek riskli ailelerde β-talasemi mutasyonları ve nadir mutasyonlar için evlilik öncesi ve doğum öncesi test kullanılmalıdır. Talasemi hastalarının istisnasız tüm yaş gruplarını dahil ederek bir tedavi planı geliştirin, tedavi stratejisi olarak antioksidanlar kullanılabilir.

KAYNAKLAR

Addison, G. M., Beamish, M. R., Hales, C. N., Hodgkins, M., Jacobs, A. and Llewellin, P. 1972. An immunoradiometric assay for ferritin in the serum of normal subjects and patients with iron deficiency and iron overload. Journal of Clinical Pathology, 25(4): 326-329.

Aessopos, A., Kati, M. and Meletis, J. 2007. Thalassemia intermedia today: should patients regularly receive transfusions. Transfusion, 47(5): 792-800.

Al-Assadi, Z. M. 2007. Molecular detection of some mutations associated with beta-thalassemia in Iraq. Institute of Genetic Engineering and Biotechnology for Post Graduate Studies.

Al-Badran, A. I., Hassan, M. K. and Washil, A. F. 2016. β-Thalassemia mutations among thalassemia major patients in Basrah Province-Iraq. Int J Curr Microbiol App Sci., (5): 448-457.

Al-Samarrai, A. H., Adaay, M. H., Al-Tikriti, K. A. and Al-Anzy, M. M. 2008. Evaluation of some essential element levels in thalassemia major patients in Mosul district, Iraq. Saudi medical journal, 29(1): 94-97.

Anca, V., Arica, S. and Ozer, C. 2010. Serum lipid values in children with beta thalassemia major. PediatTherapeut, 2(5): 130-3.

Attia, M. M. A., Sayed, A. M., Ibrahim, F. A., Mohammed, A. S. and El-Alfy, M. S. 2011. Effects of antioxidant vitamins on the oxidant/antioxidant status and liver function in homozygous beta-thalassemia. Romanian J. Biophys, (21): 93-106.

Aydinok, Y., Oymak, Y., Atabay, B., AYDOĞAN, G., Yesilipek, A., Ünal, S., Kilinc, Y., Oflaz, B., Akin, M., Vergin, C. and Evim, M. 2018. A national registry of thalassemia in Turkey: demographic and disease characteristics of patients, achievements, and challenges in prevention. Turkish Journal of Hematology, 35(1).

Badens, C., Joly, P., Agouti, I., Thuret, I., Gonnet, K., Fattoum, S., Francina, A., Simeoni, M. C., Loundou, A. and Pissard, S. 2011. Variants in genetic modifiers of β-thalassemia can help to predict the major or intermedia type of the disease. haematologica, 96(11): 1712-1714.

Bailey, L., Kuroyanagi, Y., Franco-Penteado, C. F., Conran, N., Costa, F. F., Ausenda, S., Cappellini, M. D. and Ikuta, T. 2007. Expression of the γ-globin gene is sustained by the cAMP-dependent pathway in β-thalassaemia. British journal of haematology, 138(3): 382-395.

Bain, B. J. 1988. Screening of antenatal patients in a multiethnic community for beta thalassaemia trait. Journal of clinical pathology, 41(5): 481-485.

Bank, A. 2006. Regulation of human fetal hemoglobin: new players, new complexities. Blood, 107(2): 435-443.

Başak, N. A. 2007. The molecular pathology of β-thalassemia in Turkey: the Boğaziçi University experience. Hemoglobin, 31(2): 233-241.

Behrman, R. E. and Vaughan III, V. C. 1983. Nelson textbook of pediatrics (No. Ed. 12). WB Saunders company.

Bhanu, N. V., Trice, T. A., Lee, Y. T. and Miller, J. L. 2004. A signaling mechanism for growth-related expression of fetal hemoglobin. Blood, 103(5): 1929-1933.

Bhardwaj, U., Zhang, Y. H., Lorey, F., McCabe, L. L. and McCabe, E. R. 2005. Molecular genetic confirmatory testing from newborn screening samples for the common African-American, Asian Indian, Southeast Asian, and Chinese β-thalassemia mutations. American journal of hematology, 78(4): 249-255.

Borgna-Pignatti, C. A. T. E. R. I. N. A., Rugolotto, S., De Stefano, P., Piga, A., Di Gregorio, F., Gamberini, M. R., Sabato, V., Melevendi, C., Cappellini, M. D. and Verlato, G. 1998. Survival and disease complications in thalassemia major. Annals of the New York Academy of Sciences, 850(1): 227-231.

Camaschella, C. and Schrier, S. L. 2011. Regulation of iron balance. Preuzeto sa: http://www. uptodate. com/contents/regulation-of-iron-balance / Erişim tarihi 12-11-2022.

Cao, A. and Galanello, R., 2010. Beta-thalassemia.Genet Med., 12(2): 61–76.

Cao, A., and Moi, P. 2002. Regulation of the Globin Genes. Pediatric Research, 51(4): 415-421.

Cappellini, M. D., Viprakasit, V., Taher, A. T., Georgiev, P., Kuo, K. H., Coates, T., Voskaridou, E., Liew, H. K., Pazgal-Kobrowski, I., Forni, G. L. and Perrotta, S. 2020. A phase 3 trial of luspatercept in patients with transfusion-dependent β-thalassemia. New England Journal of Medicine.

Ceriello, A. 2008. Possible role of oxidative stress in the pathogenesis of hypertension. Diabetes care, 31(Supplement 2): S181-S184.

Chaigneau, A.A., Law-Chune, S., Melet, A., Voldoire, A., Reffray, G. and Aouf, L. 2022. Impact of wave-water level non-linear interactions for the projections of mean and extreme wave conditions along the coasts of western Europe. EGUsphere, 1-40.

Chan, Owen T. M., Kenneth, D., Westover, Lisa Dietz, James, L., Zehnder and Iris Schrijver 2010. "Comprehensive and efficient HBB mutation analysis for detection of β-hemoglobinopathies in a pan-ethnic population." American journal of clinical pathology, 133(5):700-707.

Chen, S., Eldor, A., Barshtein, G., Zhang, S., Goldfarb, A., Rachmilewitz, E., Yedgar, S. 1996. Enhanced aggregability of red blood cells of beta-thalassemia major patients. American Journal of Physiology, 270(6 Pt 2): 1951-1956.

Christopher, A. F., Kumari, A., Chaudhary, S., Hora, S., Ali, Z. and Agrawal, S. C. 2013. Unique pattern of mutations in β-thalassemia patients in Western Uttar Pradesh. Indian Journal of Human Genetics, 19(2): 207.

Cohen, A. R., Galanello, R., Pennell, D. J., Cunningham, M. J. and Vichinsky, E. 2004. Thalassemia. Hematol Education Prog Am Soc Hematol Am Soc Hematol., 14-34.

Cousens, N. E., Gaff, C. L., Metcalfe, S. A. and Delatycki, M. B. 2010. Carrier screening for beta-thalassaemia: a review of international practice. European journal of human genetics, 18(10):1077-1083.

Den-Elzen, W. P., Willems, J. M., Westendorp, R. G., de Craen, A. J., Assendelft, W. J. and Gussekloo, J. 2009. Effect of anemia and comorbidity on functional status and mortality in old age: results from the Leiden 85-plus Study. Cmaj., 181(3-4): 151-157.

Donofric, G., Chirillo, R., Zini, G. and Gaenaro, G. 1995. Stimultaneous measurement of reticulocytes and red blood cell indices healthy subjects and patients with microcytic and macrocytic anemia., 85(3): 23 – 40 .

Dore, F., Bonfigli, S., Gaviano, E. and Pardini, S. 1993. Sesum erythropoietin level in thalassemia intermedia. Ann. Hematol, 67(4): 6-20.

Duffy, T. 1996. Microcytic and hypochromic anemias. In: Bennett C., Plum, (eds). Cecil Textbook of medicine, 20 th ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia. 839-842.

Easa, Z. O. 2009. Complications of High Serum Ferritin Level after Splenectomy in β Thalassemic Patients. Kufa Med. Journal, 12(1): 138-142.

Eldor, A., Durst, R., Hy-Am, E., Goldfarb, A., Gillis, S., Rachmilewitz, E. A., Abramov, A., MacLouf, J., Godefray, Y. C., De Raucourt, E. and Guillin, M. C. 1999. A chronic hypercoagulable state in patients with β-thalassaemia major is already present in childhood. British journal of haematology, 107(4): 739-746.

Elhams, S. F. H. 2010. Immunological Assessment of β-thalassemic Major Children Aged 5-12 Years Old Attending Abd El-Aziz El-Rantisy Hospital in Gaza strip.

El-Hazmi, M. A. F., Warsy, A. S. and Al-Fawaz, I. 1994. Iron-endocrine pattern in patients with β-thalassaemia. Journal of tropical pediatrics, 40(4): 219-224.

Elizabeth, G. and Ann, T. M. 2010. Genotype-phenotype diversity of beta-thalassemia in Malaysia: treatment options and emerging therapies. Medical Journal of Malaysia, 65(4).

Fernandes, J. L. 2018. MRI for iron overload in thalassemia. Hematology/Oncology Clinics, 32(2): 277-295.

Fleming, R. E. and Bacon, B. R. 2005. Orchestration of iron homeostasis. New England Journal of Medicine, 352(17): 1741-1744.

Galanello, R. and Origa, R. 2010. Beta-thalassemia. Orphanet journal of rare diseases, 5(1): 1-15.

Ganz, T. and Nemeth, E. 2011. Hepcidin and disorders of iron metabolism. Annual review of medicine, 62: 347-360.

Ginzburg, Y. and Rivella, S. 2011. β-thalassemia: a model for elucidating the dynamic regulation of ineffective erythropoiesis and iron metabolism. Blood, The Journal of the American Society of Hematology, 118(16): 4321-4330.

Grinberg, L. N. and Rachmilewitz, E. A. 1995. Oxidative stress in -thalassemic red blood cells and potential use of antioxidants. Colloques-Institut National De La Sante Et De La Recherche Medicale Colloques Et Seminaıres, 519-524.

Guyton, A. C. and Hall, J. E. 2006. Acid-base regulation. Guyton AC, Hall JE. Textbook of medical physiology. 11th ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier, 379-396.

Güvenç, L., Uygan, I. M. C., Kahraman, K., Karaahmetoglu, R., Altay, I., Sentürk, M. and Efendioglu, B. 2012. Cooperative adaptive cruise control implementation of team mekar at the grand cooperative driving challenge. IEEE Transactions on Intelligent Transportation Systems, 13(3): 1062-1074.

Haghpanah, S., Esmaeilzadeh, M., Honar, N., Hassani, F., Dehbozorgian, J., Rezaei, N., Abdollahi, M., Bardestani, M., Safaei, S. and Karimi, M. 2015. Relationship between serum hepcidin and ferritin levels in patients with thalassemia major and intermedia in Southern Iran. Iranian Red Crescent Medical Journal, 17(7): 787.

Hallberg, L., Bengtsson, C., Lapidus, L., Lindstedt, G., Lundberg, P. A. and Hultén, L. 1993. Screening for iron deficiency: an analysis based on bone-marrow examinations and serum ferritin determinations in a population sample of women. British journal of haematology, 85(4): 787-798.

Halliday, J. W., Cowlishaw, J. L., Russo, A. M. and Powell, L. W. 1977. Serum-ferritin in diagnosis of haemochromatosis: a study of 43 families. The Lancet, 310(8039): 621-624.

Hamed, E. A. and ElMelegy, N. T. 2010. Renal functions in pediatric patients with beta-thalassemia major: relation to chelation therapy: original prospective study. Italian journal of pediatrics, 36(1): 1-10.

Hardison, R. C. 2012. Evolution of hemoglobin and its genes. Cold Spring Harbor perspectives in medicine, 2(12): 11627.

Harteveld, C. L., Refaldi, C., Cassinerio, E., Cappellini, M. D. and Giordano, P. C. 2008. Segmental duplications involving the α-globin gene cluster are causing β-thalassemia intermedia phenotypes in β-thalassemia heterozygous patients. Blood Cells, Molecules, and Diseases, 40(3): 312-316.

Higgs, D. R. 2004. Ham-Wasserman lecture: gene regulation in hematopoiesis: new lessons from thalassemia. ASH Education Program Book, 1: 1-13.

Hofbrand, A. V. H. and Lewis, S. M. 1981. Postgranduate haematology, 2th ed., W.B. Saunders Comp., London. 211-216.

Hofbrand, A. V. H., and Pettit, J. E. 1993. Essential haematology. 3 thed., 99– 101.

Huisman, T. H. J. and Carver, M. F. H. 1998. The β-and-Thalassemia Repository (Part I). Hemoglobin, 22(2): 169-195.

Huisman, T. H. J., 1996. "A Syllabus of Human Hemoglobin Variants". Globin Gene Server. Pennsylvania State University.

Iolascon, A., Andolfo, I., Barcellini, W., Corcione, F., Garçon, L., De Franceschi, L., Pignata, C., Graziadei, G., Pospisilova, D., Rees, D. C. and de Montalembert, M. 2017. Recommendations regarding splenectomy in hereditary hemolytic anemias. haematologica, 102(8): 1304.

Kaiser, J., 2009. β-Thalassemia treatment succeeds, with a caveat.

Kariuki, S.N. and Williams, T.N., 2020. Human genetics and malaria resistance. Human genetics, 139(6): 801-811.

Khan, S. S., 2018. Clinical and Demographic Variables of Beta Thalassemia Patients from Islamabad and Rawalpindi. Diss. Capital University, Pakistan.

Kjeldsberg, C., Butter, E., Bell, C., Houugie, C., Foucar, K. and Savag, R. 1989. Pracical diagnosis of haematologic disorders, Ascp. Chicago. 141 – 145.

Komen, G. J., Cavaleri, L., Donelan, M., Hasselmann, K., Hasselmann, S. and Janssen, P. A. E. M. 1996. Dynamics and modelling of ocean waves, 554.

Kumar, V., Cortran, R. and Robbins, S. 1992. Basic pathology.,5th. Ed., Mosby Comp., Philadelphia. 339 – 340 .

Kunwittaya, S., Chanarat, P., Mundee, Y. and Mevatee, U. 2007. Effect of Oxidative Stress on Leukocyte DNA Damage in Î²-thalassemic Patients. Siriraj Medical Journal, 59(5): 242-244.

Lahiry, P., Al-Attar, S. A. and Hegele, R. A. 2008. Understanding beta-thalassemia with focus on the Indian subcontinent and the Middle East. The open hematology journal, 2(1): 66.

Lai, M. E., Vacquer, S., Carta, M. P., Spiga, A., Cocco, P., Angius, F., Mandas, A. and Dessì, S. 2011. Thalassemia intermedia is associated with a proatherogenic biochemical phenotype. Blood Cells, Molecules, and Diseases, 46(4): 294-299.

Laksmitawati, D. R., Handayani, S., Udyaningsih-Freisleben, S. K., Kurniati, V., Adhiyanto, C., Hidayat, J., Kusnandar, S., Dillon, H. S. D., Munthe, B. G., Wirawan, R. and Soegianto, R. R. 2003. Iron status and oxidative stress in β-thalassemia patients in Jakarta. Biofactors, 19(1-2): 53-62.

Levings, P. P. and Bungert, J. 2002. The human β-globin locus control region: A center of attraction. European journal of biochemistry, 269(6): 1589-1599.

Linman, J. W. 1975. Haematology, physiologicpathophysiologic and clinical principles.Macmillan publishing company, INC, Newyork, 223-283.

Madan, N., Sikka, M., Sharma, S., Rusia, U. and Kela, K. 1999. Red cell indices and discriminant functions in the detection of beta-thalassaemia trait in a population with high prevalence of iron deficiency anaemia. Indian journal of pathology & microbiology, 42(1): 55-61.

Mishra, A. K. and Tiwari, A., 2013. Iron overload in beta thalassaemia major and intermedia patients. Maedica, 8(4): 328.

Mok, S., Imwong, M., Mackinnon, M. J., Sim, J., Ramadoss, R., Yi, P., Mayxay, M., Chotivanich, K., Liong, K. Y., Russell, B. and Socheat, D. 2011. Artemisinin resistance in Plasmodium falciparum is associated with an altered temporal pattern of transcription. BMC genomics, 12(1): 1-14.

Muncie, J. R., H. L., Campbell, J. S. 2009. Alpha and beta thalassemia. American Family Physician, 80(4): 340-344.

Najmabadi, H., Pourfathollah, A. A., Neishabury, M., Sahebjam, F., Krugluger, W. and Oberkanins, C. 2002. Rare and unexpected mutations among Iranian beta-thalassemia patients and prenatal samples discovered by reverse-hybridization and DNA sequencing. haematologica, 87(10): 1113-1114.

Napoli, N., Carmina, E., Bucchieri, S., Sferrazza, C., Rini, G. B. and Di Fede, G. 2006. Low serum levels of 25-hydroxy vitamin D in adults affected by thalassemia major or intermedia. Bone, 38(6): 888-892.

Nemeth, E. and Ganz, T. 2006. Hepcidin and iron-loading anemias. haematologica, 91(6): 727-732.

Nilsi, G., Kavakl, K., Audinok, Y., Ozotop, S. and Cetingle, N. 1997. Serum erythropoietin level in patients with beta thalassemia major and minor ., Pediatric Hematol. Oncol., 14(2): 7-16.

Offner, S. 2010. Using the NCBI genome databases to compare the genes for human & chimpanzee beta hemoglobin. The american biology Teacher, 72(4): 252-256.

Old, J., Traeger-Synodinos, J., Galanello, R., Petrou, M., Angastiniotis, M. 2005. Prevention of Thalassemias and other hemoglobin disorders. Laboratory Methods. Nicosia, Cyprus: Thalassemia International Federation, (TIF), Vol 2.

Olivieri, N.F. 1999. The b-thalassemias. Medical Progress, 341(2): 99-109

Omer, A. W., 2009. Molecular characterization of beta-thalassemiamutations in Ninawa governorate. Ann. Coll. Med. Mosul, 35(2): 124-133

Origa, R., Galanello, R., Ganz, T., Giagu, N., Maccioni, L., Faa, G., Nemeth, E. 2007. Liver iron concentrations and urinary hepcidin in beta-thalassemia. Haematologica, 92(5): 583–588/

Owen, T. M. Chan, K. D. Dietz, L., Zehnder, J. L. and Schrijver I. 2010. Comprehensive and Efficient HBB Mutation Analysis for Detection of -Hemoglobinopathies in a Pan-Ethnic Population.Am J Clin Pathol., 133: 700-707.

Panigrahi, I. and Marwaha, R. K. 2007. Mutational spectrum of thalassaemias in India. Indian Journal of Human Genetics, 13(1): 36-37.

Park, C., Valore, E., Waring, A. and Ganz, T. 2001. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. J Biol Chem., 276: 7806–7810.

Pasricha, S., Frazer, D., Bowden, D. and Anderson, G. 2013. Transfusion suppresses erythropoiesis and increases hepcidin in adult patients with beta-thalassemia major: a longitudinal study. Blood, 122: 124–133.

Patel,V. S., Cooper, S. J. B., Deakin, J. E., Fulton, B., Graves, T., Warren, W. C., Wilson, R. K. and Graves, J. A. M. 2008. Platypus globin genes and flanking loci suggest a new insertional model for beta-globin evolution in birds and mammals, BMC Biol., 6:34.

Perutz, M. F., Fermi, G., Luisi, B., Shaanan, B., and Liddington, R. C. 1987. Stereochemistry of cooperative mechanisms in hemoglobin. Accounts of Chemical Research, 20(9): 309-321.

Pootrakul, P., Vongsmasa, V., La- ongpanich, P. and Wasi, P. 1981. Serum Ferritin Levels in Thalassemias and the Effect of Splenectomy. Acta. Haematol, 66(4): 244-50.

Projecto-Garcia, Joana, Natarajan, Chandrasekhar, Moriyama, Hideaki, Weber, Roy, E., Fago, Angela, Cheviron, Zachary, A., Dudley, Robert, McGuire, Jimmy, A.,

Witt, Christopher, C. 2013. "Repeated elevational transitions in hemoglobin function during the evolution of Andean hummingbirds". Proceedings of the National Academy of Sciences, 110(51): 20669–74.

Quek, L. and Thein, S. L., 2007. Molecular therapies in betathalassaemia. Br. J. Haematol, 136(3): 353-65

Rahimi, Z., Muniz, A. and Parsian, A. 2010. Detection of responsible mutations for beta thalassemia in the Kermanshah Province of Iran using PCR-based techniques. MolBiol Rep., 37: 149–154.

Rigano, P., Rodgers, G. P., Renda, D., Renda, M. C., Aquino, A., Maggio, A. 2001. Clinical and hematological responses to hydroxyurea in Sicilian patients with Hb S/beta-thalassemia. Hemoglobin, 25(1): 9-17.

Roudknar, M. H., Najmabadi, H., Derakhshandeh, P. 2003. Detection of rare and unknown mutations in βthalassemia traits in Iran. Iranian J Pub Health, 32(1): 11-14.

Rund, D., and Rachmilewitz, E. 2005. Beta-thalassemia. The New England Journal of Medicine, 353(11): 1135-1146.

Sabato, A. R., de S. V, Atti, G., Capra, L., Bagni, B., Vullo, C. 1983. Primary hypothyroidism and the low T3 syndrome in thalassaemia major. Arch Dis Child, 58: 120-7.

Sankaran, V. G., Nathan, D. G., Orkin, S. H., Orkin, S. H., Nathan, D. G., Ginsburg, D., Look, A. T., Fisher, D. E., Lux, S., Nathan, and Oski's, 2015. Hematology and Oncology of Infancy and Childhood. Eight Edition. Elsevier. PA, USA.,715-769.

Shams, R., Sadeghi, P., Kennedy, R.A. and Hartley, R.I., 2010. A survey of medical image registration on multicore and the GPU. IEEE signal processing magazine, 27(2): 50-60.

Sharma, S., Nemeth, E. and Chen, Y. H., 2008. Involvement of Hepcidin in the Anemia of Multiple Myeloma. Clin Cancer Res J. June, 14(11):3262-7.

Singh, M. R., Choudhury, B., Singh, T. S. and Rao, V. R. 2011. Beta-Globin Gene Haplotypes in Manipur, North-east India. Int. J. Hum. Genet., 11(1):45-49.

Sinha, S., Black, M. L., Agarwal, S., Colah, R. 2009. Profiling beta thalassaemia mutations in India at state and regional levels: implications for genetic education, screening and counseling programmes. The HUGO Journal, 3(1- 4): 51-62.

Sollaino, M. C., Paglietti, M. E., Perseu, L., Giagu, N., Loi, D.and Galanello, R. 2009. Association of alpha globin gene quadruplication and heterozygous beta thalassemia in patients with thalassemia intermedia. Haematologica, 94(10): 1445–8.

Srinoun, K., Svasti, S., Chumworathayee, W., Vadolas, J. and Phantip, I. 2009. Imbalanced globin chain synthesis determines erythroid cell pathology in thalassemic mice.Haematologica, 94(9); 1211-1219.

Surapon, T. 2011. Thalassemia syndrome. Advances in the study of genetic disorders, 21: 101-48.

Taher, A. T., Musallam, K. M. and Karimi, M. 2010. Overview on practices in thalassemia intermedia management aiming for lowering complication rates across a region of endemicity: the optimal care study. Blood, 115: 1886-92.

Taher, A., Isma'eel, H., Mehio, G., Bignamini, D., Kattamis, A., Rachmilewitz, E. A., Cappellini, M. D. 2006. Prevalence of thromboembolic events among 8,860 patients with thalassaemia major and intermedia in the Mediterranean area and Iran. Thrombosis and Haemostasis Journal, 96(4): 488-491.

Tanner, M. A., Galanello, R. and Dessi, C. 2008. Combined chelation therapy in thalassemia major for the treatment of severe myocardial siderosis with left ventricular dysfunction. J. Cardiovasc Magn. Reson., 10:12.

Thein, S. L. 2005. Genetic modifiers of beta-thalassemia. Haematologica. 90(5): 649-60.

Thein, S. L. and Menzel, S. 2009. Discovering the genetics underlying foetal haemoglobin production in adults. Br. J. Haematol, 145: 455– 467.

Thompson, R. H. S. and Wootton, I. D. P. 1970. Biochemical disorders in human diseases.3th ed., Newyork, 177 – 178.

Thomson, R. B. 1984. A short text book of haematology. 6 th.ed., W.B. sounders company, Philadelphia, 66-74.

Tierney, J. R. Mephee, S. J. and Papadkis, M. A. 1994. Current medical diagnosis and treatment, 30th ed., 418 – 419.

Uda, M., Galanello, R., Sanna, S., Lettre, G., Sankaran, V. G. and Cao, A. 2008. Genome-wide association study shows BCL11A associated with persistent fetal hemoglobin and amelioration of the phenotype of beta-thalassemia. Proc Natl Acad Sci USA., 105:1620– 1625.

Uthman, M. D. E. d. 2007. "Hemoglobinopathies and Thalassemias". Archived from the original, 12-15.

Ünal, Ş., Gümrük, F., 2015. The Hematological and molecular spectrum of α-thalassemias in Turkey: The Hacettepe Experience. Turk J Haematol, 32(2): 136-43.

Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, MTD., Mazur, M. and Telser, J. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease, The International Journal of Biochemistry and Cell Biology, 39: 44–84.

Valles, J., Santos, M., Aznar, J., Martinez, M., Moscardo, A., Pinon, M., Broekman, M. and Marcus, A. 2002. Platelet-erythrocyte interactions enhance alpha (IIb) beta (3) integrin receptor activation and P-selectin expression during platelet recruitment: down-regulation by aspirin ex vivo. Blood, 99(11): 3978-3984.

Varawalla, N. Y., Old, J. M., Sarkar, R., Venkatesan, R., Weatherall, D. J. 1991. The spectrum of beta thalassaemia mutations on the Indian subcontinent: the basis for prenatal diagnosis. Br.J. Hematol, 78:242-247.

Verma, I. C., Saxena, R., Thomas, E. and Jain, P. K. 1997. Regional distribution of beta thalassaemia mutations in India. Human Genetics, 100(1): 109-13.

Weatherall, D. 2000. Single gene disorders or complex traits: lessons from the thalassaemias and other monogenic diseases. British Medical Journal, 321: 1117-1121.

Weatherall, D. J. 2001. Phenotypeñgenotype relationships in monogenic disease: lessons from the thalassaemias. Nature reviews genetics, 2: 245-255.

Weatherall, D. J. and Clegg, J. B. 2001. Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. Bulletin of the World Health Organization, 79(8): 704-12.

Wedward, G. R. Baucher, I. A. Haslett, C. and Chilvars, E. R. 1995. Davidson principals and practice of medicin. 4th. Ed. W.B. Saunders Comp.

Weinstein, D. A. Roy, C. N. Fleming, M. D. Loda, M. F. Wolfsdorf, J. I. and Andrews, N. C. 2002. Inappropriate Expres- sion of Hepcidin is associated with Iron

Refractory Anemia: Implications for the Anemia of Chronic Disease. Blood, 100(10): 3776- 378.

Wintrobe, M. M. Richardlee, G., Boggs, D. R., Bithell, T. C., Athens, J. W. and Foerster, J. 1976. Clinical haematology.,7th ed ., Herny kiption publisher, London. 862– 871.

Wood, J. C., Origa, R., Agus, A., Matta, G., Coates, T. D. and Galanello, R. 2008. Onset of cardiac iron loading in pediatric patients with thalassemia major. Haematologica, 93: 917–920.

Yang, C. P. and Hung, I. J. 1991. Hematological data analysis in children with thalassemia trait, J. forms. Med. Assoc., 90(60): 586.

Zahid, L., 2001. The spectrum of β-thalassemia mutations in the Arab populations. Journal of Biomedicine and Biotechnology, 1(3): 129-132.

Zanella, A., Gridelli, L., Berzuini, A., Colotti, M. T., Mozzi, F. and Milani, S. 1989. Sensitivity and Predictive Value of Serum Ferritin and Free Erythrocyte Protoporphyrin for Iron Deficiency. J Lab Clin Med. Jan., 113(1): 73-8.

Zerez, C. R. and Tanaka, K. R. 1989. Impaired erythrocyte NAD synthesis : A metabolic abnormality in thalassemia, Amar. J. Hematol, 32: 1-7 .

Zhao, N., Zhang, A. S. and Enns, C. A. 2013. Iron regulation by hepcidin. The Journal of clinical investigation, 123(6): 2337-2343.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı ve Soyadı : Ibrahim Nazhan Mahgoob MAHGOOB

Doğum Yeri : Irak , Kerkük Valiliği , Havice District , Tal Ali Köyü .

Doğum Tarihi: 1/12/1991

Medeni Hali : evli

Yabancı Dili Arapça

Adres : Irak , Kerkük Valiliği , Havice District , Tal Ali Köyü

Tel : 009647829197307

E-posta: ibraheem.nazhan1990@gmail.com

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Tel Ali Erkek Lisesi (2004 – 2010)

Lisans : Tikrit Üniversitesi Eğitim Fakültesi (2010 – 2014)

Yüksek Lisans Çankırı Karatekin Üniversitesi 2020-Halen
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoloji Anabilim Dalı