

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

**BETA-TALASEMİ TAŞIYICISI ÇOCUKLARDA
EŞLİK EDEN DEMİR EKSİKLİĞİNİN
HBA2 DÜZEYİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. ŞEYDA DEĞERMENCİ**

**TEZ DANIŞMANI
Prof. Dr. DENİZ ASLAN**

ANKARA

2020

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	i
TEŞEKKÜR	iii
KISALTMALAR	iv
TABLolar LİSTESİ	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. TANIM	4
2.2. TARİHÇE	4
2.3. EPİDEMİYOLOJİ	5
2.4. FİZYOLOGENEZ	6
2.4.1. HEMOGLOBİN	6
2.4.1.1. HbA2	10
2.4.2. TALASEMİ TİPLERİ	12
2.4.2.1. Alfa Talasemi	12
2.4.2.2. Beta Talasemi	14
2.4.2.3. Sessiz Beta Talasemi	15
2.4.2.4. Talasemi Minör	16
2.4.2.5. Talasemi İntermedia	18
2.4.2.6. Talasemi Major	20
2.5. DEMİR EKSİKLİĞİ	22
2.6. DEMİR EKSİKLİĞİ ve HbA2 İLİŞKİSİ	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. Çalışma Grubu ve Yöntemi	25
3.2. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Onayı	26
3.3. İstatistiksel Yöntem	26
4. BULGULAR	28
5. TARTIŞMA	39
6. SONUÇLAR	51

KAYNAKLAR	53
ÖZET	62
SUMMARY	64
ÖZGEÇMİŞ	66

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca hiçbir konuda yardımını esirgemeyen, tezimin oluşmasında büyük katkısı olan, fikir, öneri, bilgi ve tecrübesi ile bana yol gösteren değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Deniz Aslan'a,

Deneyimini ve bilgisini bizlere ilgiyle aktaran, eğitimimiz süresince iyi birer hekim olmamız için sarf ettiği çabalardan dolayı Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Aysun Bideci'ye,

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve tecrübe paylaşımları sayesinde hekimlik sanatını öğrenme fırsatı bulduğum Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üyelerine ve uzmanlarına,

Zorlu asistanlık süresince mesleğimin tüm zorluklarını ve de keyfini paylaştığım yol arkadaşlığı yaptığım tüm asistan arkadaşlarıma,

Tezimin yapım aşamasında istatistik alanında yardımlarını esirgemeyen Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalından Arş. Gör. Ali Kadir Koç'a,

Beni hep destekleyen, evlatları olmaktan her zaman gurur duyduğum annem, babam ve kardeşlerim başta olmak üzere canım ailemin tüm üyelerine,

Tanıştığımız günden beri her daim yanımda olup desteğini eksik etmeyen, yaşamın onunla daha anlamlı olduğu sevgili eşime ve onu yetiştiren kıymetli ailesine,

Ve varlıklarıyla en zor anımda bile neşe kaynağım olan canım oğullarım Gökalp'ime ve Batuhan'ima sonsuz teşekkür ederim.

Dr. Şeyda Değermenci

KISALTMALAR

CBC	: Tam kan sayımı
DE	: Demir eksikliği
DEA	: Demir eksikliği anemisi
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
Fe	: Demir
Fe⁺²	: Ferröz demir
Hb	: Hemoglobin
HbA	: Hemoglobin A
HbA2	: Hemoglobin A2
Hb F	: Fetal hemoglobin
HCT	: Hematokrit
HH	: Herediter hemokromatozis
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
MCH	: Ortalama eritrosit hemoglobini
MCHC	: Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu
MCV	: Ortalama eritrosit hacmi
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
IUBC	: Serum Demir Bağlama Kapasitesi
PLT	: Trombosit sayısı
RBC	: Eritrosit sayısı
RDW	: Eritrosit dağılım genişliği

SD : Serum demiri

Tİ : Talasemi intermedia

TM : Talasemi majör

TSI : Transferrin saturasyon indeksi

$$= (\text{Serum demir düzeyi} / \text{Demir bağlama kapasitesi}) \times 100$$

PLT : Trombosit

WBC : Beyaz kan hücresi

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 1: Türkiye’de farklı illerden bildirilmiş β talasemi taşıyıcılığı sıklığı

Tablo 2: Yaşa göre hemoglobin yüzdeleri

Tablo 3: HbA2 düzeyine etki eden faktörler

Tablo 4: Araştırmaya katılan olguların tanımlayıcı özellikleri

Tablo 5: Çalışma grubunda farklı kriterlere göre DE sıklığı

Tablo 6: Farklı kriterlere göre DE olan ve olmayanlarda HbA2 düzeyleri

Tablo 7: HbA2 < %3,5 olgularda HbA2 ile diğer parametreler arasındaki
korelasyon

Tablo 8: HbA2 < %3,5 grubun HbA2 $\geq$ %3.5 grubuyla karşılaştırması

Tablo 9: Farklı kriterlere göre DE sıklığının HbA2 < %3,5, HbA2 $\geq$ %3,5 ve
toplam grupta durumu

Tablo 10: Her üç kritere göre DE bulunmadığı halde HbA2 düzeyi < %3,5 olan
olguların eritrosit parametreleri

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1: Hemoglobin Molekülünün Yapısı

Şekil 2: Hemoglobin Tipleri

Şekil 3: Hemoglobinin Normal Gelişimsel Değişimi

Şekil 4: Beta Talasemi Patofizyolojisi

Şekil 5a: Toplam grupta ferritine göre DE olduğu halde $HbA2 \geq \%3,5$ olan olgular

Şekil 5b: Toplam grupta TSI ne göre DE olduğu halde $HbA2 \geq \%3,5$ olan olgular

Şekil 6a: Ferritine göre DE olup $HbA2 \geq \%3,5$ olan olguların toplam grupla karşılaştırılması

Şekil 6b: TSI ne göre DE olup $HbA2 \geq \%3,5$ olan olguların toplam grupla karşılaştırılması

Şekil 6c: TSI ve Ferritine göre DE olup $HbA2 \geq \%3,5$ olan olguların toplam grupla karşılaştırılması

Şekil 7a: Toplam grupta ferritine göre DE olmayan olgular arasında $HbA2$ düzeyi $< \%3,5$ olan olgular

Şekil 7b: Toplam grupta TSI ne göre DE olmayan olgular arasında $HbA2$ düzeyi $< \%3,5$ olan olgular

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Talasemi, otozomal resesif geçişli, hemoglobin (Hb) zincirlerinden (α , β , γ , δ) birinin veya birkaçının bozuk sentezi sonucu gelişen, hipokrom mikrositer anemi ile karakterize heterojen bir grup hastalıktır. İsimlendirme yapımı bozulan globin zincirinin adına göre yapılır. Alfa (α) genlerinden bir, iki, üç veya dört tanesinde delesyon olması durumunda alfa-globin zincir yapımı bozulur ve alfa talasemiler gelişir; bir veya iki beta (β) geninde nokta mutasyonu olması durumunda ise beta-globin zincirinin yapımı bozulur ve beta talasemiler gelişir (1). Beta talasemi klinik olarak en önemli talasemi türüdür ve ülkemizde en sık görülen talasemidir. Tek gende mutasyon olan olgular beta talasemi taşıyıcısı (beta talasemi minör) ve her iki gende mutasyon olan olgular beta talasemi hastası (beta talasemi majör) olarak değerlendirilir.

Talasemiler, tüm dünyada yaygın olarak görülür. Akdeniz bölgesinden, Orta Doğu ve Hindistan'dan Güneydoğu Asya'ya kadar uzanan ırklar arasında yaygındır (1). Dünya nüfusunun %3ü beta talasemi taşıyıcısıdır. Ülkemizde Çukurova, Akdeniz kıyı şeridi, Ege ve Marmara bölgelerinde talasemi taşıyıcılığı çok sık görülmektedir. Türkiye'de yaklaşık 1.300.000 beta talasemi taşıyıcısı ve 4000 civarında beta talasemi hastası vardır (2). Mevcut taşıyıcı sayısına bağlı olarak yılda 300-400 hasta çocuğun dünyaya gelmesi olasılığı vardır (3).

Ebeveynlerden her ikisinin de talasemi taşıyıcısı olması durumunda her gebelikte talasemi majör gelişmesi olasılığı %25'tir. Taşıyıcıların saptanmasıyla ve taşıyıcı çiftlere genetik danışmanlık verilmesiyle hasta çocukların doğması

önlenebilir. Taşıyıcılar HbA2 düzeyinin %3.5 ve üstünde olmasıyla saptanır. Dünyada ve ülkemizde bu hastalığın prenatal tanısı mümkündür. Ancak ülkemizde halen çok sık hasta çocuklar doğmaktadır. Bunun önemli bir nedeni beta talasemi taşıyıcılarının yeterince tanımlanamamasıdır. Bu gerekçeyle, tanıda karışıklığa yol açan nedenler -yani hemogloblin elektroforezinde taşıyıcılığa rağmen HbA2 düzeyinin %3.5in altında olmasına yol açan potansiyel nedenler- bilinmelidir.

HbA2 iki alfa ve iki delta-globin zincirinden oluşur. Taşıyıcılarda HbA2 düşüklüğüne yol açan bazı genetik ve kazanılmış nedenler vardır. En yaygın olarak bilinen neden eşlik eden DE bulunmasıdır. Eşlik eden DEnde HbA2 düzeyi değişik mekanizmalara bağlı olarak düşer: İntraselüler demir eksikliğinde alfa-globin zincir sentezi, non-alfa globin zincirlerine göre daha fazla azalır. Beta-globin zincir temini az olduğundan, beta-globin zincirleri delta için olduğuna göre alfa-globin zincirleri için daha yoğun yarışır. Bu da azalmış HbA2 düzeyine yol açar (4-7). Demir tedavisi sonrası HbA2 düzeyinin normale döndüğü çeşitli çalışmalarda gösterilmiştir (8). Bu bilgi klasik başvuru kitaplarında yer almakta ve klinik uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Klinik uygulamalarda klasik yaklaşım, böyle bir olgunun DEnin düzeltilmesi ve tedavi sonrası talasemi taşıyıcılığı yönünden -yani HbA2 düzeyi yönünden- tekrar değerlendirilmesidir. Bununla birlikte, DEnin eşlik ettiği talasemi taşıyıcısı olgularda HbA2 düzeylerinin tanıda karışıklığa yol açacak kadar fark göstermediğini bildiren bazı çalışmalar da vardır (8-11). Bu çalışmalarda HbA2 düzeyinin beta talasemi taşıyıcılığı taramasında DE varlığında bile güvenilir bir test olduğu

belirtilmektedir (12). Bu alışmalar ağırlıklı olarak yetişkinlerde yapılmış olup çocuklardaki durum belirsizdir. Genetik nedenlerden alfa veya delta globin zincir yapımının bozulmasına veya tetramer oluşturmalarının bozulmasına yol açan mutasyonlar da dūřuk HbA2 dūzeylerine neden olur (8-11).

Bu tez çalışmasının birincil amacı, beta talasemi taşıyıcısı ocuklarda DEnin tanısai test olan HbA2 dūzeyini dūřürüp dūřürmediğini saptamaktır. İkincil ve nihai amaç, çalışmanın sonuçlarına dayanarak beta talasemi taşıyıcılığının saptanmasını artırmaktır. Bu kazanımlar olgulara genetik danışmanlık verilmesine ve sonuçta talasemi hastalığının eradikasyonuna katkı verecektir.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Tanım

Talasemiler, hemoglobin globin zincirinin yok olmasından veya azalmış sentezinden kaynaklanan hipokromik mikrositik aneminin yaygın kalıtsal bir nedenidir. Globin biyosentezinin azalması hemoglobin tetramerlerinin yapımını azaltır, hipokromi ve mikrositoza neden olur. Tutulmayan globin zincirlerinin yapımı normal hızda olduğundan alfa ve beta subünitlerinin dengesiz birikimi oluşur. Dengesiz zincir birikimi klinik fenotipi belirler. Etkilenen globin zincirine göre alfa, beta, gama ve delta talasemiler olarak sınıflandırılırlar (13).

2.2 Tarihçe

Talasemi, ilk kez Detroitli bir çocuk hekimi olan Thomas Cooley tarafından 1925 yılında derin anemi, dalak büyümesi, gelişme geriliği ve kemik deformiteleri gibi bulguları olan çocuklarda ayrı bir hastalık olarak tanımlanmıştır (14). George Whipple ve Lesley Bradford 1936'da inceledikleri vakaların Akdeniz civarındaki ülkelerden geldiğini saptadıkları hastalığa Yunanca deniz anemisi anlamına gelen "Thalassaemia" adını vermişlerdir (15). Türkiye'de ilk iki talasemi vakası Ord. Prof. Dr. Sedat Tavat ve Prof. Erich Frank tarafından 1940 yılında eşzamanlı olarak bildirilmiştir (16).

2.3. Epidemiyoloji

Talasemi dünyada en sık görülen genetik hastalık olarak öngörülmektedir. Tüm dünya nüfusunun %3 'ünü etkilemekle beraber, özellikle Türkiye'nin de içinde bulunduğu Akdeniz Havzası, Ortadoğu, Hindistan, Güneydoğu Asya ve Tropikal Afrika'da endemik olarak görülür. Birçok farklı mutant alel, heterozigotların bir ölçüde falciparum malaryanın etkilerinden korunmuş olmasından dolayı, dünyanın tropikal ve subtropikal bölgelerinde seçilerek çok yüksek sıklıklara ulaşmıştır. Son yıllarda Avrupa ve Amerika kıtalarında da yoğun göçler nedeniyle görülme sıklığı artmıştır (17-19).

Ülkemizde Çukurova, Akdeniz kıyı şeridi, Ege ve Marmara bölgelerinde talasemi taşıyıcılığı çok sık görülmektedir (Tablo 1). Türkiye'de yaklaşık 1.300.000 beta talasemi taşıyıcı ve 4000 civarında beta talasemi hastası vardır (15).

Tablo 1: Türkiye'de farklı illerden bildirilmiş β talasemi taşıyıcılığı sıklığı (20).

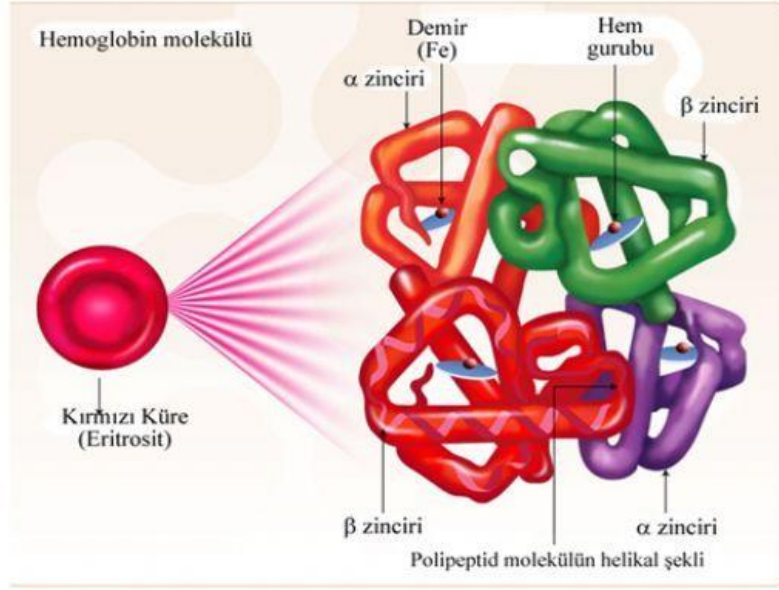
İl	β talasemi taşıyıcılığı sıklığı (%)
Adana	3-13
Antakya	0.8-1.4
Antalya	2-13.7
İzmir	2.1-4.9
Mersin	1.7-2.4
Van	2.6
Muğla	3.8

2.4. Fizyopatogenezi

Talasemi sendromları değişik derecelerde inefektif hematopoez ve artmış hemolizle karakterizedir. Klinik sendromlar, hangi gen mutasyona uğramışsa onunla ifade edilir (α , β , $\delta\beta$ gibi). Talasemiler genel olarak alfa ve beta talasemi olarak ikiye ayrılır. Beta talasemiler, 11. kromozomda eksprese edilen iki beta globin geninden bir veya ikisinde oluşan nokta mutasyonları nedeniyle görülür. 16. kromozomda eksprese edilen alfa talasemiler, dört adet alfa globin geninden bir veya birkaçında delesyon olması nedeniyle gelişir. Eksik olan globin zinciri, hemoglobin tetramerlerinin yapımını bozar, hipokromi ve mikrositoza neden olur. Etkilenmeyen globin zincirlerinin yapımı normal hızda olduğundan alfa veya beta subünitlerinin dengesiz birikimi oluşur. Hemoglobin molekülünde normalde birebir olan alfa ve beta globin zincir oranı yapımı bozulan globin zincirinin aleyhine olarak bozulur.

2.4.1 Hemoglobin

Hemoglobin (Hb) eritrositlerin içindeki temel protein olup akciğerlerdeki alveollerden dokulara oksijen ve dokulardan akciğerlere karbondioksit taşımakla görevlidir (21). Hemoglobin molekülü, tetramer yapıda olup hem ve globin proteinlerinin bir araya gelmesi ile oluşur. Hem oksijene bağlanma özelliğine sahip Fe^{+2} (ferröz demir) ve protoporfirin IX halkasından oluşur (22) (şekil 1).



Şekil 1. Hemoglobin Molekülünün Yapısı

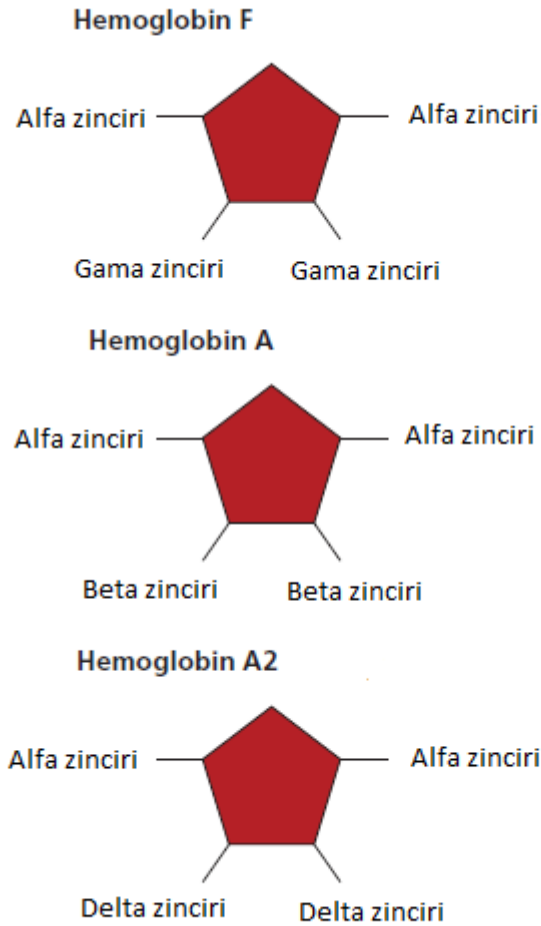
Hemoglobinin yapısında bulunan globin proteinlerinin sentezinde görev alan genler başlıca 2 gruba ayrılır (21) ;

1. Alfa (α) globin benzeri genler: 16. kromozomun kısa kolunda lokalizedir. Zeta (ζ), alfa1 ($\alpha 1$) ve alfa 2 ($\alpha 2$) olmak üzere üç genden oluşmaktadır.
2. Beta (β) globin benzeri genler: 11. kromozom kısa kolunda lokalizedir. Beta (β), epsilon (ϵ), 2 tip gama ($G\gamma$ ve $A\gamma$) ve delta (δ) olmak üzere beş genden oluşmaktadır.

Tablo 2:Yaşa göre hemoglobin yüzdeleri (23).

Yaş	HbA2%	HbF%	HbA%
0-7 gün	< 3.5	69-85	15-30
1 hafta-2 ay	< 3.5	60-82	20-40
1-6 ay	< 3.5	20-60	40-80
6 ay-1 yaş	< 3.5	0.5-7	87-98
1-3 yaş	< 3.5	0-2	94-98
> 3 yaş	< 3.5	0-2	94-99

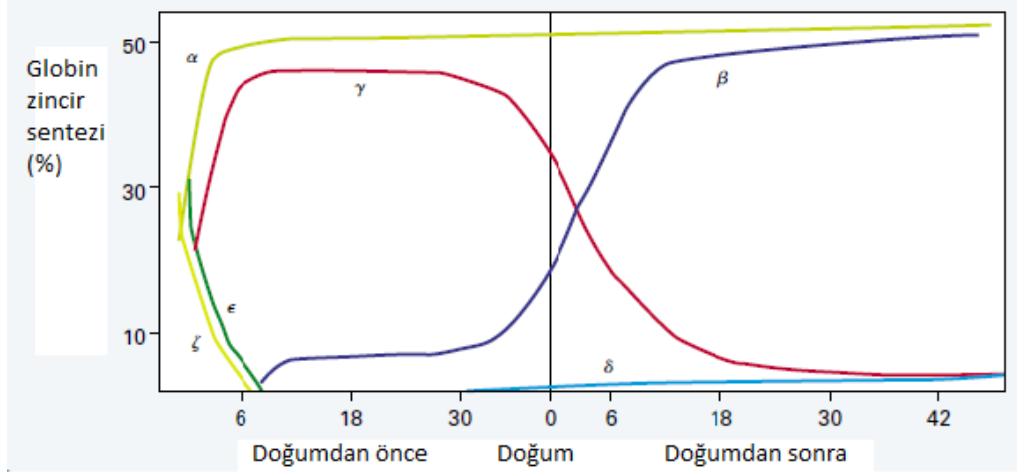
Embriyo, fetüs ve erişkin dönemlerinde oksijen taşınmasında görevli farklı hemoglobinler sentezlenir. Bütün hemoglobinlerin benzer tetramerik yapısı vardır; iki farklı globin zinciri ve bunlara bağlı hem molekülü içerirler. Erişkin ve fetüs hemoglobinlerinde α zincirleri β zincirleriyle (HbA, $\alpha_2\beta_2$), δ zincirleriyle (HbA₂, $\alpha_2\delta_2$) ve γ zincirleriyle (HbF, $\alpha_2\gamma_2$) kombine edilmiştir (24) (Şekil 2).



Şekil 2. Hemoglobin Tipleri

Embriyonik yaşamda α zincirleri ζ zincirleri olarak adlandırılır ve γ zincirleriyle kombine edilerek Hb Portland, ϵ zincirleriyle kombine edilerek Hb Gower I oluşur. α zincirleri, ϵ zincirleriyle kombine edilirse Hb Gower II oluşur (25).

Embriyonik globin sentezi vitellus kesesinde gebeliğin 3. haftasından 8. haftasına kadar olan dönemde oluşur ancak yaklaşık 5. haftada hematopoezin başlıca yeri olan vitellus kesesinden fetal karaciğere doğru hareket etmeye başlar. Gebeliğin erken devrelerinde Hb Portland ($\zeta_2\gamma_2$), Hb Gower I ($\zeta_2\epsilon_2$) ve Hb Gower II ($\alpha_2\epsilon_2$), dominant tespit edilen embriyonik hemoglobinlerdir. Ancak çok az miktarlarda HbF ve HbA da vardır (26). Gebeliğin 10-11. haftalarında eritropoezin karaciğer ve dalakta başlaması ile embriyonik hemoglobinler azalarak kaybolur ve HbF ($\alpha_2\gamma_2$) yapımı başlar. HbF ($\alpha_2\gamma_2$) fetal yaşam boyunca çoğunluk teşkil eden hemoglobindir. Doğumda toplam hemoglobinin %70'ini, erişkin yaşamda ise toplam hemoglobinin %1'inden azını oluşturur. Bir yaşından itibaren hemoglobin kompozisyonu yaklaşık olarak HbA %97,5, HbA2 %2 ve HbF % 0,5 oranlarında meydana gelir (27). β zincirleri erken gebelikte tespit edilmesine rağmen, sentezleri sadece doğuma yakın belirgin hale gelir ve 3 aylıktan itibaren neredeyse tüm mevcut hemoglobin yetişkin tip HbA'dır. δ zincirinin sentezi doğumdan sonra da devam eder, ancak HbA2 ($\alpha_2\delta_2$) normal yetişkin hemoglobinin yaklaşık % 2'sinden fazlasını oluşturmaz (26, 28) (Tablo 2) (Şekil 3).



Şekil 3. Hemoglobinin Normal Gelişimsel Değişimi

2.4.1.1 HbA2

HbA2 erişkin hemoglobinin %2-3'ünden azını oluşturur ve globin parçası 2 alfa (α) ve 2 delta (δ) polipeptit zincirinden oluşur. Hemoglobin elektroforezinde düzeyinin $\geq 3,5$ olması beta talasemi taşıyıcılığı açısından tanı koydurucudur. HbA2 düzeyine etki eden çeşitli genetik ve kazanılmış faktörler bulunmaktadır. (Tablo 3)

Tablo 3: HbA2 düzeyine etki eden faktörler (29)

HbA2	KALITSAL	KAZANILMIŞ
Artmış (>%3,4)	• β-talasemi heterozigot • Herediter yüksek HbA2 • Delesyonel HPFH (bazı tipleri) • Unstabil Hemoglobin • Orak hücre anemisi • Orak hücre taşıyıcılığı • HbS/β^0-talasemi • Konjenital diseritropeetik anemi • Diğer β zincir varyanlarının heterozigotluğu	• Tirotoksikoz • HIV enfeksiyonu • Zidovudin tedavisi • Megaloblastik anemi
Azalmış (<%2,2)	• α-talasemi: α^+ homozigot, α^0 heterozigot ve HbH hastalığı • Delesyonel HPFH (bazı tipleri) • $\delta\beta$ ve $\gamma\delta\beta^-$ talasemi heterozigot (bazı tipleri) • δ talasemi • Hemoglobin Lepore • Hemoglobin Kenya	• Ağır demir eksikliği • Kronik hastalık anemisi • Sideroblastik anemi • Kurşun zehirlenmesi • Juvenil myelomonositik lösemi • Akut myeloid lösemi (bazı tipleri) • Aplastik anemi (bazı tipleri) • Hipotiroidizm • Kemoterapi

HbA2 düzeyi yapısı gereği delta-globin zincirini etkileyen hemoglobinopatilerden etkilenir. Varyant delta-globin zincirleri, delta talasemi mutasyonları ve Corfu delesyonu gibi delta globin genini içeren nadir delesyonlar beta talasemi taşıyıcılarının normal HbA2ye sahip olmasına neden olabilir ve beta talasemi taşıyıcılığı tanısında karışıklığa yol açabilir (30). Bununla birlikte bazı varyant hemoglobinler de (hemoglobin Lepore, hemoglobin Kenya) HPLCde düşük HbA2 düzeyine neden olabilir. Komple beta globin gen kümesini kaldıran büyük delesyonlar (ϵ GDB)⁰-talasemi ile sonuçlanır ve eritrosit indeksleri beta talasemi taşıyıcılığı ile benzer olan bu olgularda artmış HbA2 düzeyleri görülmez (31).

2.4.2. Talasemi Tipleri

2.4.2.1. Alfa Talasemi

Sıklıkla Güney ve Güney Doğu Asya'da, daha az sıklıkla Akdeniz bölgesi ve Afrika'da görülür. Türkiye'de Çukurova Bölgesinde alfa talasemi insidansı %3.3 olarak saptanmıştır (32).

Her bireyin genomunda 16. kromozomların her birinde iki tane olmak üzere alfa globin geninin dört kopyası bulunur (33). Alfa talasemide en sık görülen patoloji gen delesyonudur. Bu genlerdeki farklı sayıdaki defektler dört farklı klinik tablo olarak karşımıza çıkar (34).

1. Sessiz α taşıyıcısı ($-\alpha/\alpha\alpha$)

Alfa geninin birinde mutasyon vardır. Yenidoğan döneminde kord kanında %2-5 oranında Hb Bart's (γ_4) tespit edilir. Bu hastalar klinik ve hematolojik olarak tamamen normaldirler. Tam kan sayımında ortalama eritrosit hacmi (MCV)

ve ortalama eritrosit hemoglobini (MCH) değerleri normal aralıklardadır. Yenidoğan dönemi dışında bu bireyler ancak in-vitro Hb zincir sentezi veya DNA alışmaları ile tespit edilebilirler (35).

2. α talasemi taşıyıcısı ($--/\alpha\alpha$) ya da ($-\alpha/-\alpha$)

İki alfa geninde mutasyon vardır. Hipokrom mikrositer eritrositler mevcuttur. Yenidoğan döneminde Hb Bart's %3-8 oranında bulunur ve 6 aydan sonra kaybolur. Tam kan sayımında MCV ve MCH değerleri dışıktır. Periferik kan yaymasında, hipokromi, mikrositoz, anizositoz, polikromazi görülebilir. DE ve beta talasemi taşıyıcılığı dışlanan hastada genetik çalışmalar ile tanısı konulabilir (36).

3. HbH hastalığı ($--/-\alpha$)

 alfa geninde delesyon mevcuttur. Hemoglobin elektroforezinde %20-40 oranında Hb Bart's tespit edilir. Sonrasında Hb Bart's yerini %5-30 oranında HbH ye (β_4) bırakır. Hemoglobin değerleri genellikle 7-11 g/dl civarındadır. Hastaların adölesan ve gebelik döneminde transfüzyon ihtiyaçları olabilir. Talasemi intermediaya benzeyen veya ondan daha hafif seyreden bir klinik tabloya yol açar. Hipokromi ve mikrositoz görülür. Talasemik yüz görünümü, hepatosplenomegali, bacak ülserleri, indirekt hiperbilirubinemi görülebilir (37).

4. Alfa talasemi majör ($--/--$)

Dört alfa geninde kısmi/tam delesyon veya fonksiyon kaybı sonucu oluşur. Doğumda majör hemoglobin Hb Bart's olup az miktarda HbH ve Hb Portland

olabilir. Hidrops fetalis nedeniyle bu bebekler sıklıkla intrauterin hayatta kaybedilir (35).

2.4.2.2 Beta Talasemi

Her bireyin genomunda 11 no'lu kromozomun üzerinde her bir homolog kromozom üzerinde birer tane olmak üzere toplam iki tane beta globin geni bulunur (33). Alfa talasemilerde delesyonel mutasyonlar görülürken, beta talasemide genellikle 11. kromozomdaki beta globin geninde nokta mutasyonlar görülür (35). Bugüne kadar yüzlerce mutasyon tanımlanmıştır. Hastalarda beta⁰ ya da beta⁺ mutasyonlar olmak üzere kliniği değiştiren iki farklı mutasyon grubu vardır (38, 39):

1. Beta⁰ Talasemi: Beta-globin zincir sentezinin hiç olmadığı gruptur. α_4 tetramerleri stabil olmayıp kemik iliğinde eritrositlerin hemolizine neden olur. Homozigotlarda talasemi major kliniği görülür.
2. Beta⁺ Talasemi: Az miktarda beta-globin zinciri sentezi vardır. Homozigot ya da bileşik heterozigot hastalarda HbA yapımı normalin altında olup talasemi intermedia fenotipine neden olur.

α /non- α globin sentez oranının dengesizliği beta talasemide hastalığın şiddetini belirlemedeki temel faktördür (40, 41). Homozigot veya heterozigot beta talasemi hastalarında ek olarak α globin geni mutasyonu da mevcut ise zincirler arası dengesizlik azalır ve klinik daha hafif seyreder. Beta globin genlerinin sentezinin bozulması nedeniyle, γ globin zincirlerinin artan miktarlardaki üretimine bağlı olarak Hb F ($\alpha_2\gamma_2$) sentezi artacak ve δ globin zincirlerinin artan miktarda üretilmesine bağlı olarak HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$) düzeyi yükselecektir.

Beta talasemide moleküler bozukluk beta zincirinin hiç yapılmamasına veya az yapılmasına neden olur. Alfa zincir yapımı normal hızda devam ettiği için alfa zincir lehine bir zincir dengesizliği olur. Hemoglobin sentezinde kullanılmayan alfa zincirleri, büyük intrasellüler inklüzyonlar oluşturarak eritroid serinin kemik iliğinde olgunlaşmakta olan genç hücrelerinde çöker. Bu hücrelerin bir kısmı kemik iliğinde olgunlaşmadan parçalanır (inefektif eritropoez). Dolaşıma geçen alfa zincir inklüzyonları ihtiva eden olgunlaşmış kırmızı seri hücreleri yaşam sürelerini tamamlamadan, özellikle dalağın mikrosirkülasyonundan geçerken harap olur. Anormal kırmızı seri hücreleri daima dalak tarafından dolaşımdan kaldırıldığı için dalak hipertrofiye uğrar. Böylece gelişen splenomegali anemiye katkısı olan plazma volümünün artışına ve hipersplenizme neden olur. Eritropoietin etkisiyle kemik iliği aktivitesinin artışına bağlı olarak kafatası ve ekstremitelerde kemiklerinde genişleme ile ilgili deformiteler oluşur (16).

2.4.2.3. Sessiz Beta Talasemi

Altta yatan moleküler defektler beta-globin sentezinde sadece çok az bir oranda azalmaya neden olur. Sessiz taşıyıcı fenotipi beta globin genindeki iki nokta mutasyonu ile kalıtılmaktadır. En sık -101 promotor mutasyonu görülür. Karakteristik olarak sessiz taşıyıcılarda HbA2 normal seviyelerdedir. Homozigot sessiz beta talasemi geni taşıyan bazı hastalar tanımlanmıştır. Anemi orta düzeyde olup (Hb 6-7 g/dl) nadiren transfüzyon gerekir. Hepatosplenomegali olabilir. HbF seviyeleri %10-15 arasındadır ve HbA2 seviyeleri talasemi taşıyıcısı olan kişilerde görülen normal aralıktan daha yüksektir (42).

2.4.2.4. Talasemi Minör

Beta talasemi minör hafif anemi, mikrositoz ve normal fizik muayene bulgularına sahip bir klinikle karşımıza çıkar. Periferik kan yaymalarında hipokromi, mikrositoz, bazofilik noktalanma, “target” hücreleri görülebilir. Tipik olarak hemoglobin elektroforezinde HbA2 düzeyi artmıştır (%3.5-8) (43). Genellikle tesadüfen ya da diğer aile bireyleri incelenirken tanı konur. Talasemi taşıyıcılığı olarak da adlandırılmaktadır.

Beta talasemi minör 4 farklı tipte olabilir (2, 39):

1. Yüksek HbA2 ile olan beta talasemi minör

- ✓ En fazla görülen tiptir
- ✓ HbA2 %3,5-8, HbF %1-5tir
- ✓ β^+ veya β^0 mutasyonlarla olan heterozigotlar farklıdır
- ✓ β^+ taşıyıcılarda MCV ve MCH daha yüksektir. Homozigot çocuklarında transfüzyona bağımlı anemi veya talasemi intermedia fenotipi olabilir.

2.Yüksek HbA2 ve yüksek HbF ile olan beta talasemi minör

- ✓ Farklı bir varyanttır. Hem HbA2 hem de HbF (%5-20) yüksektir. β gen delesyonu varken, δ ve γ genleri sağlamdır.

3. Normal HbA2 ile olan beta talasemi minör

- ✓ Sessiz taşıyıcılardan ayrılmalıdır. Sessiz taşıyıcılardan farkı, hipokrom mikrositer anemi oluşudur (HbA2 seviyesi sınırda saptanır).
- ✓ Hem β hem δ geni hasarlıdır (aynı kromozom veya karşı sağlam kromozomda).
- ✓ Ebeveynlerden biri bu tip, diğeri klasik taşıyıcı ise homozigot çocukta ağır klinik tablo görülür.

4. $\delta\beta$ talasemi minör

- ✓ Heterozigot bireylerdeki bu mutasyonlarda, yüksek HbF (%5-15) ve düşük HbA2 seviyeleri vardır. Bu fenotip, sıklıkla δ ve β globin genlerin kodlayan bölgelerin tamamının veya çok büyük bir kısmının kaybolmasıyla ortaya çıkmaktadır.

Talasemi minör hematolojik özellikleriyle diğeri anemilerden ayırt edilmelidir:

- ✓ Tam kan sayımında eritrositoz (>5 milyon/mm³), mikrositoz (Ortalama Eritrosit Hacmi < 80 fl), hafif anemi (9-11 gr/dl) vardır.

- ✓ Periferik kan yaymasında hipokromi, mikrositoz ve target hücreleri görülür.
- ✓ Hemoglobin elektroforezinde HbA₂, HbF veya her ikisi birden artmıştır. HbA₂ $\geq$ 3,5tir; HbF ise %50 olguda yüksek bulunur.
- ✓ Kemik iliğinde hafif-orta derecede eritroid hiperplazi bulunur. (44)

Talasemi minör, en çok DE ile karıştırılır. DEnde eritrosit sayısı azalmış veya normaldir, talasemi minörde artmıştır. Her ikisinde de MCV azalmıştır. Beta talasemi taşıyıcılarında eritrositoz varken DEnde yapım eksikliği nedeniyle kırmızı küre düşüktür. RDW talasemi minörde normalken DEnde artmıştır (45).

2.4.2.5. Talasemi İntermedia

Bu hastalarda altta yatan moleküler defekt beta⁺ veya sessiz beta talasemi mutasyonlarının homozigot veya bileşik heterozigot beraberliğidir (35, 46). Homozigot beta talasemilerin yaklaşık %10 kadarında klinik seyir beta talasemi majörden daha hafif ve talasemi taşıyıcılarından daha ağırdır. Beta talasemi intermedia adı verilen bu grupta periferik kan bulguları ve eritrosit indeksleri beta talasemi majörde olduğu gibidir (47). Hb elektroforezinde HbA, HbF ve HbA₂ seviyeleri değişkenlik göstermektedir.

Talasemi intermedia hastalarının kliniği heterojendir. Genellikle transfüzyon gereksinimi olmayan orta düzeyde anemi görülür. Erişkin hayata

kadar tamamen asemptomatik de olabilirler (43). Kliniği daha ağır seyreden hastalar ise 2-6 yaş arasında tanı alırlar ve aralıklı kan transfüzyonu ihtiyacı olabilir. Bazı hastalarda ağır anemi, büyüme gelişme geriliği, hipersplenizm ve düzenli kan transfüzyonu ihtiyacı görülebilir (44).

İnefektif eritropoeze bağlı splenomegali, artmış demir Emilimi sonucu demir birikimi bulguları, artmış eritropoetik aktiviteye bağlı kemik ekspansiyonu ve folik asit eksikliği, doku oksijenizasyonunda azalma ve doku fragilitesindeki artışa bağlı olarak bacak ülserleri görülebilir.

Bu hastalar büyüme gelişme geriliği, kemik değişiklikleri ve splenomegali açısından takip edilmelidir. Gerekğinde kan transfüzyonu, splenektomi ve demir şelatörleri uygulanır. Talasemi intermedialı hastalarda kan transfüzyonu uygulanmasa bile artmış intestinal demir Emilimine bağlı demir birikimi görülebilir. Bu hastaların demir birikimi yönünden serum ferritin ve karaciğer demir birikimlerinin karaciğer biyopsisi ya da T2*/R2* MRG ile izlemi ve demir birikiminin bu hastalar için belirlenmiş olan eşik değerlerin üstüne çıkması halinde şelasyon tedavisinin başlanması yönünde veriler bulunmaktadır (48).

Bu hastalarda kan transfüzyon ihtiyacını azaltılması amacıyla splenektomi düşünülebilir ancak splenektomiye bağlı gelişebilecek artmış enfeksiyon riski ve portal hipertansiyon, bunlara bağlı yüksek morbidite ve mortalite riskleri nedeniyle mümkün olduğunca ertelenmelidir (49).

Klinik, hematolojik ve moleküler çalışmalar ile talasemi majör ve intermedia ayırıcı tanısı başlangıçta yapılmalı, böylelikle hasta gereksiz transfüzyon ve komplikasyonlarından korunmalıdır.

2.4.2.6. Talasemi Majör

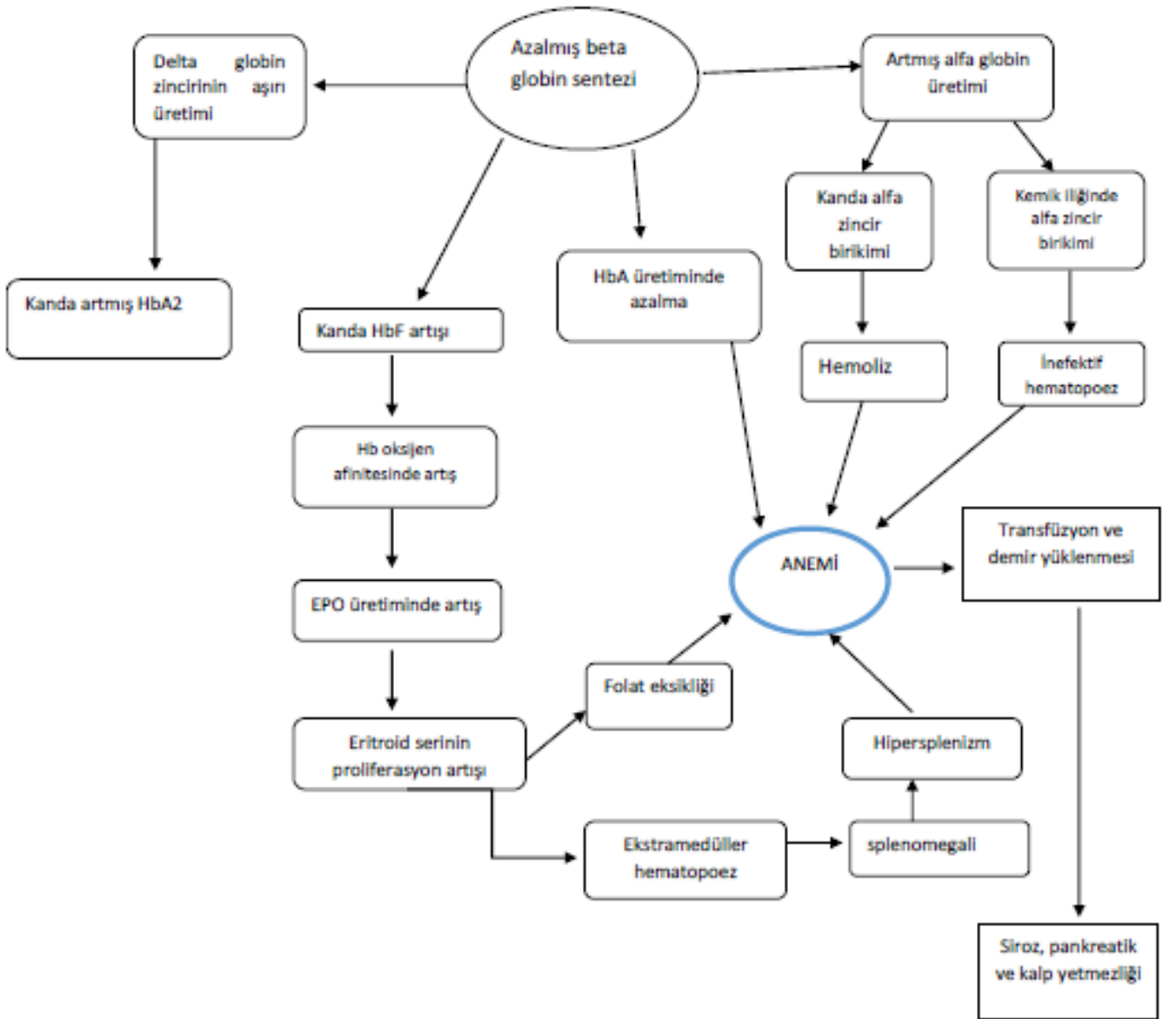
Talasemi majörde görülen klinik bulgular; kronik anemi, kemik iliğinde genişleme, demir birikimi ve kronik hemoliz ile ilişkilidir (Şekil 4). Beta talasemi majör bebekler doğumda HbF yüksekliği nedeniyle asemptomatiktirler. γ globin zincir yapımı hayatın ilk 4-6 ayı içinde hızlı bir şekilde azalır ve hastalarda anemi gelişir. 4-6. aylarında anemi ve anemiye bağlı semptomlar görülür. Halsizlik, iştahsızlık, beslenme güçlüğü, solukluk, kilo alamama, büyüme ve gelişme geriliği, karın şişliği (hepatosplenomegaliye bağlı), sık enfeksiyon geçirme gibi şikayetler ile hastaneye başvurulur. Bu hastalara kan transfüzyonu yapılmazsa anemi derinleşir ve kalp yetmezliği bulguları gelişir.

Hemoglobin düzeyleri çoğunda ilk altı ay ile bir yıl arasında transfüzyon gerektirecek düzeylere iner. Uygun transfüzyon yapılmayan hastalarda tipik talasemik yüz görünümü (burun kökü basıklığı, maksilla ve alın kemiklerinin çıkıklığı) ortaya çıkar. Kafa kemiklerinde belirgin olarak gözlenen değişiklikler, artan hematopoetik doku aktivitesi nedeniyle medullanın kemik aleyhine genişlemesinden kaynaklanır (50).

Vertebra ve uzun kemiklerde kemik iliği genişlemesine bağlı incelmeden dolayı kortekste spontan kırıklar olabilir. İnefektif eritropoez, hipogonadizm, hipoparatiroidi, hipotiroidi, folat eksikliği, demir yükü, yoğun demir şelasyon tedavileri osteoporoza yol açan nedenler arasında sayılabilir.

Erken tanı alan düzenli kan transfüzyonu programındaki hastalar 10-11 yaşına kadar asemptomatik seyrederler. Daha sonrasında hastaların kliniği kullandıkları şelatör tedavinin etkinliğine göre değişir. Etkin şelasyon tedavisi

almayan hastalarda demir birikimine bağı olarak hepatik, endokrin, kardiyak ve pulmoner komplikasyonlar görölmektedir (51). Renal tubuler dilatasyona bağı böbreklerde büyüme, orta derecede proteinüri ve mikroskopik hematüri ve interstisyel nefrit demir depolanmasına bağı olarak meydana gelmektedir. Büyük yaşlardaki hastalarda safra taşları, kolesistit ve diyare oluşabilir.



Şekil 4. Beta Talasemi Patofizyolojisi

2.5. Demir Eksikliği

Demir eksikliği tüm dünyada en sık görülen besinsel eksiklik olup özellikle gelişmekte olan ülkelerde önemli bir halk sağlığı sorunudur. DENin tüm dünyada kaç kişiyi etkilediğine dair kesin bir veri yoktur. Ancak dünyada 500 milyondan fazla kişide demir eksikliği anemisi (DEA) olduğu tahmin edilmektedir (52). Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) verilerine göre DEA gelişmekte olan ülkelerde %36, gelişmiş ülkelerde %8 oranında görülmektedir (53).

Demir eksikliği anemisi demir eksikliğinin son basamağıdır. Halbuki DENin mental, motor gelişme ve büyüme üzerine olumsuz etkileri derin anemiden daha sık görülmektedir (54). Anemi gelişmeden DENin saptanmasında ve tedavisinin izleminde en değerli testin serum ferritin düzeyi olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (55, 56).

Ferritin demir depolayıcı bir protein olup hemen hemen tüm hücrelerde bulunur, demirin toksik olmayan şekilde depolanmasını ve gereğinde kolayca salınmasını sağlar. Eritroid öncü hücreler ile demir metabolizması ve depolanmasında özel rolleri olan makrofaj ve hepatositlerde en yüksek miktarda bulunur. Normal koşullarda plazma ferritin düzeyi hücre içi ferritin miktarı ile doğru orantılıdır. Bu nedenle plazma ferritin konsantrasyonu, vücut demir deposunun durumunu yansıtır (57). Ferritin, enflamasyonlarda ve karaciğer hastalıklarında demir depoları ile orantısız olarak yüksek bulunabilir. Ayrıca bazı kalıtsal demir metabolizması bozukluklarında depolardan bağımsız olarak yüksek bulunur (58). Ferritin yaşla da değişkenlik gösterir.

2.6. Demir Eksikliği ve HbA2 ilişkisi

HbA2 düzeyinin $\geq 3,5$ olması beta talasemi taşıyıcılığı için önemli bir tanı kriteridir. HbA2, çeşitli laboratuvar yöntemleriyle ölçülebilir ancak bu yöntemlerin doğrulukta farklılıkları vardır (59). Katyon değişimi yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC), mikrokolon kromatografisi ve elüsyonlu selüloz asetat elektroforezi, beta talasemi minörü teşhis etmek için kabul edilebilir yöntemler arasındadır (60). Son çalışmalar, HbA2 ölçümünde diğer yöntemlere kıyasla daha yüksek oranda HPLC bulunduğunu onaylamıştır (61, 62).

Demir eksikliği ve beta talasemi minörün birlikte bulunduğu olgularda demir tedavisi sonrasında HbA2 seviyesinin yükseldiğini gösteren çalışmalar mevcuttur (1, 63). Düşük HbA2 değerleri, çoğu durumda δ -globin zincirinin indirgenmiş sentezinin veya α -globin zincirlerinin sentezindeki bir düşüşe bağlı olarak HbA2 tetramerinin montajındaki post-translasyonel modifikasyonların sonucudur (64). Aslında hücre içi demir eksikliği, α -globin olmayan zincirlere göre α -globin zincirinin sentezini azaltır; β -globin zincirlerinin temini sınırlı olduğundan, β -globin zincirleri α -globin zincirleri için δ globin zincirlerinden daha etkili bir şekilde rekabet eder, bu da HbA2 seviyelerinin düşmesine neden olur (64).

Bununla birlikte, DE ve talasemi minör birlikteliği bulunan hastalarda demir tedavisinden sonra HbA2 düzeyinin anlamlı olarak değişmediğini gösteren çalışmalar da mevcuttur (10, 11).

Farklı sonuçları olan yayınlar, DE varlığında beta talasemi taşıyıcılığı taraması yapmak için bu testin güvenilirliği konusunda kafa karışıklığına neden olmaktadır.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubu ve Yöntem

Bu çalışmada, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematolojisi Bilim Dalı Polikliniğinde beta talasemi taşıyıcılığı tanısıyla izlenen çocukların dosya kayıtları incelenmiştir.

Olguların çalışılmış olan tam kan sayımı (CBC) verileri ve hemolizsiz serum örneklerinden çalışılmış olan ferritin, serum demiri (SD) ve ansature demir bağlama kapasitesi (UIBC) sonuçları kayıtlardan alınmıştır. Tam kan sayımları EDTA'lı tüplerdeki kan örneklerinden kan sayım cihazıyla saptanmış olup tez çalışmamız için Hb, Hct, MCV, MCH, MCHC, RBC, RDW, WBC ve PLT değerleri incelemeye alınmıştır. Transferrin saturasyonu indeksi (TSI) SD ve UIBC kullanılarak geçerli formüle göre hesaplanmıştır ($TSI = SD / UIBC \times 100$).

Demir eksikliği tanısı için 3 farklı kriter kullanılmıştır: 1-Ferritin (Dünya Sağlık Örgütü'nün önerisine göre %59 duyarlılık ve %99 özgüllüğe sahip olan ferritin <15 ng/ml sınırı kabul edilmiştir) (65,66) (ferritin kriteri), 2-TSI (Sonuçların güvenilirliği ve çalışmanın doğruluğu için $TSI < \%15$ sınırı kabul edilmiştir) (TSI kriteri) ve 3-Her iki koşulun birlikte sağlandığı durum (hem ferritin <15 ng/ml hem de $TSI < \%15$ olarak) (ferritinveTSI kriteri).

Olguların dosya kayıtlarından alınan hemoglobin elektroforez sonuçları (HbA, HbA2 ve HbF) hastanemiz biyokimya laboratuvarında HPLC yöntemiyle çalışılmış değerlerdir (VARIANT™ system, Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA).

Ferritin parametresini etkileyebilecek enfeksiyonu veya inflamasyonu bulunan olguların, HbA2 düzeyini etkileyebilecek eşlik eden başka bir hemoglobinopatisi (Hemoglobin D, S, C vs.) bulunan olguların, kronik hastalığı olan ve kronik ilaç kullanan olguların sonuçları çalışma dışı bırakılmıştır.

Çalışma grubunun tanımlayıcı bilgileri belirlenmiş ve DE sıklığı hesaplanmıştır. DE sıklığı hem ferritine göre hem de diğer iki kritere göre hesaplanmıştır. Olgular ferritin değerine göre DE olanlar ve olmayanlar olarak ikiye ayrılmıştır. Her iki grupta HbA2 ortanca değeri hesaplanmıştır. Aynı değerlendirme TSİ ve ferritin ve TSİ kriterleri için de yapılmıştır. Çalışma grubu HbA2 düzeyine göre düşük ve yüksek olarak ikiye ayrılıp her grubun çalışılan parametreler yönünden özellikleri saptanmıştır. HbA2 düşüklüğü olan olgularda HbA2nin diğer parametrelerle korelasyon çalışmaları yapılmıştır.

3.2. Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Onayı

Çalışmamız Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, girişimsel olmayan klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından incelenmiş olup etik kurul onayı alınmıştır (Onay tarihi-21.10.2019).

3.3. İstatistiksel Yöntem

Araştırmanın verileri SPSS (versiyon 26.0) istatistik paket programı aracılığıyla değerlendirilmiştir. Tanımlayıcı istatistikler ortalama ($\pm$) standart sapma, ortanca ($\pm$) standart sapma, frekans dağılımı ve yüzde olarak sunulmuştur. Ferritin değerleri, ferritin <15 ng/ml olanlar DE ve ferritin ≥ 15 ng/ml olanlar Normal şeklinde gruplandırılarak; TSİ değerleri TSİ <15 olanlar DE ve TSİ ≥ 15 olanlar Normal şeklinde gruplandırılarak, HbA2 sonuçları HbA2 $<3,5$ ve

HbA2 $\geq$ %3,5 şeklinde gruplandırılarak analize alınmıştır. Ayrıca TSI ve ferritin değerleri beraber kullanılarak, TSI ve ferritin değerlerinin her ikisinin de 15'in altında olduğu değerler DE ve en az birinin 15 ve üzeri olduğu değerler Normal şeklinde gruplandırılmıştır.

Analize almadan önce RBC, HB, HCT, MCV, MCH, MCHC, RDW, PLT, WBC, Ferritin, HBA2, UIBC, Demir, TSI, HBA0 ve HBF değişkenlerinin hem görsel hem istatistiksel yöntem ile normal dağılıma uyup uymadığı değerlendirilmiştir.

İstatistiksel yöntem olarak Mann Whitney U testi ve Spearman korelasyon testi kullanılmıştır. Spearman korelasyon testinde korelasyon katsayılarını sınıflandırmak için literatürden faydalanılmıştır (65).

4.BULGULAR

Bu çalışmada 213 çocuk olgu değerlendirilmiştir. Olguların yarısı kız yarısı erkektir (K=107 ve E=106). Çalışma grubunun yaş ortancası 6.0 (standart deviyasyon 4.1) yaştır. Araştırmaya katılan olguların demografik özellikleri ve laboratuvar özellikleri Tablo 4’te gösterilmiştir.

Tablo 4: Araştırmaya katılan olguların tanımlayıcı özellikleri

İncelenen Değişken Ortanca (SD*)	Cinsiyet		
	Kadın (n=107)	Erkek (n=106)	TOPLAM (n=213)
Yaş	6,0 (4,3)	5,0 (3,7)	6,0 (4,1)
RBC	5,8 (0,5)	5,7 (0,5)	5,8 (0,5)
HGB	11,0 (0,9)	11,2 (1,1)	11,1 (1,0)
HCT	35,4 (2,7)	35,4 (3,4)	35,4 (3,1)
MCV	60,0 (4,8)	60,8 (4,9)	60,3 (4,8)
MCH	18,7 (1,9)	19,1 (1,9)	18,9 (1,9)
MCHC	31,3 (3,0)	31,5 (1,1)	31,4 (2,3)
RDW	16,8 (1,9)	17,0 (2,5)	16,9 (2,2)
PLT	344,0 (100,7)	337,1 (103,9)	340,0 (102,1)
WBC	7,830 (2,929)	8,230 (2,413)	8,000 (2,678)
HBA2	4,7 (1,2)	4,5 (1,5)	4,6 (1,4)
Hb F (n)	1,5 (2,2) (106)***	1,2 (2,2) (103)***	1,3 (2,2) (209)***
Hb A0 (n)	83,6 (3,5) (101)***	83,4 (3,1) (104)***	83,5 (3,3) (205)***
Demir	74,0 (30,8)	65,0 (29,0)	70,0 (30,3)
UIBC	282,0 (57,0)	288,7 (62,2)	287,0 (59,6)
TSI	26,3 (14,7)	22,6 (12,7)	24,0 (13,9)
Ferritin (n)	26,9 (17,9) (106)***	26,3 (20,3) (105)***	26,5 (19,1) (211)***
Ferritin’e Göre DE			
DE Olanlar, sayı (%**)	28 (26,4)	23 (21,9)	51 (24,2)
Normal, sayı (%**)	78 (73,6)	82 (78,1)	160 (75,8)
TSI’ya Göre DE			
DE Olanlar, sayı (%**)	21 (19,6)	34 (32,1)	55 (25,8)
Normal, sayı (%**)	86 (80,4)	72 (67,9)	158 (74,2)
Ferritin ve TSI’ya Göre DE			
DE Olanlar, sayı (%**)	10 (9,4)	13 (12,4)	23 (10,9)
Normal, sayı (%**)	96 (90,6)	92 (87,6)	188 (89,1)

n: mevcut veri sayısı

Demir eksikliği (DE) sıklığı ferritin kriteri esas alındığında %24,1 bulunmuştur (ferritin düzeyi bakılmış olan 211 olgudan 51 olguda DE vardır). DE sıklığı TSI kriteri esas alındığında %25,8 bulunmuştur (TSI hesaplanabilmiş 213 olgudan 55 tanesinde DE vardır). FerritinveTSI kriterine göre DE sıklığı %10,9 bulunmuştur (hem ferritin düzeyi hem de TSI verisi mevcut olan 211 olgudan 23 olguda DE vardır). Tablo 5 çalışma grubunda farklı kriterlere göre DE sıklığını göstermektedir.

Tablo 5: Çalışma grubunda farklı kriterlere göre DE sıklığı

DE sıklığı %			
	Ferritin	TSI	FerritinveTSI
Toplam grup	24,2	25,8	10,9

Çalışma grubu ferritin kriterine göre DE olanlar ve olmayanlar olarak ikiye ayrıldığında, HbA2 ortancası DE olanlarda (n=51) %4,1 ve DE olmayanlarda (n=160) %4,9 bulunmuştur (p 0.007). Olgular TSI kriterine göre ayrıldığında, HbA2 ortancası DE olanlarda (n=55) %4,1 ve DE olmayanlarda (n=158) %4,9 bulunmuştur (p 0.003). Olgular ferritinveTSI kriterine göre ayrıldığında, HbA2 ortancası DE olanlarda (n=23) %3,3 ve DE olmayanlarda (n=188) %4,87 bulunmuştur (p 0.001). Tablo 6 farklı kriterlere göre DE olan ve olmayanlarda HbA2 düzeylerini göstermektedir.

Tablo 6: Farklı kriterlere göre DE olan ve olmayanlarda HbA2 düzeyleri

DE kriteri	HbA2 (ortanca) %		
	DE olan	DE olmayan	P
Ferritin	4,1	4,9	0.007
TSI	4,1	4,9	0.003
FerritinveTSI	3,3	4,87	0.001

Hemoglobin A2 düzeyi $<3,5$ olgularda (n=67) HbA2 düzeyinin çalışılan diğer parametrelerle korelasyonuna bakıldığında, TSI ve MCH ile düşük/önemsiz korelasyon (0.280 ve 0.254, sırasıyla), UIBC ile düşük-orta korelasyon (-0.367) ve RDW ile orta derecede korelasyon (-0.437) saptanmıştır. Ferritin veya diğer parametrelerle düşük HbA2 düzeyi arasında korelasyon saptanmamıştır. Tablo 7 HbA2 $<3,5$ olgularda HbA2 ile diğer parametreler arasındaki korelasyonu göstermektedir.

Tablo 7: HbA2 <%3,5 olgularda HbA2 ile diğer parametreler arasındaki korelasyon

***	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
1.HBA2	-															
2.Yaş	0,025	-														
3.RBC	-0,045	0,460**	-													
4.HGB	0,214	0,204	0,257*	-												
5.HCT	0,151	0,527**	0,600**	0,829**	-											
6.MCV	0,214	-0,028	-0,474**	0,634**	0,366**	-										
7.MCH	0,254*	-0,197	-0,589**	0,584**	0,173	0,917**	-									
8.MCHC	0,199	-0,434**	-0,550**	0,276*	-0,229	0,439**	0,723**	-								
9.RDW	-0,437**	0,123	0,219	-0,511**	-0,214	-0,561**	-0,649**	-0,502**	-							
10.PLT	0,012	-0,092	0,102	-0,139	-0,021	-0,123	-0,187	-0,242*	-0,041	-						
11.WBC	-0,207	-0,139	0,266*	-0,125	-0,045	-0,354**	-0,323**	-0,164	0,081	0,360**	-					
12.Ferritin	0,226	0,113	0,191	-0,087	0,030	-0,210	-0,203	-0,200	-0,185	0,144	0,158	-				
13.HbA0	-0,024	0,345**	0,166	-0,096	0,093	-0,140	-0,167	-0,226	0,260*	-0,021	0,002	0,040	-			
14.HbF	-0,043	-0,578**	-0,419**	-0,127	-0,382**	0,125	0,195	0,356**	-0,027	-0,073	0,054	-0,161	-0,582**	-		
15.UIBC	-0,367**	-0,228	-0,143	-0,046	-0,125	0,050	0,040	0,059	0,300*	-0,119	0,050	-0,513**	-0,120	0,219	-	
16.Demir	0,236	0,243*	0,120	0,111	0,143	-0,026	0,009	0,036	-0,143	0,040	-0,060	0,265*	0,070	-0,099	-0,679**	-
17.TSI	0,280*	0,252*	0,122	0,077	0,132	-0,044	-0,018	-0,008	-0,187	0,084	-0,50	0,382**	0,110	-0,145	-0,835**	0,964**

Hemoglobin A2 düzeyi düşük olgular vücut demir göstergeleri yönünden HbA2 düzeyi yüksek olgularla karşılaştırıldığında, demir, TSI ve ferritin değerlerinin daha düşük (p 0.003, p 0.001, p 0.017, sırasıyla) ve UIBC değerinin daha yüksek (p 0.001) olduğu bulunmuştur. Yaş ve cinsiyet karşılaştırmasında yaşın daha küçük ve erkek olgu yüzdesinin daha fazla olduğu saptanmıştır (p 0.015 ve p 0.011, sırasıyla). Tablo 8 HbA2 <%3,5 grubun, HbA2 ≥%3,5 grupla karşılaştırmasını göstermektedir.

Tablo 8: HbA2 <%3,5 grubun HbA2 ≥%3,5 grubuyla karşılaştırması

	HBA2 ≥%3,5 (n=146)	HBA2 <%3,5 (n=67)	P	
Cinsiyet (n=213)				
	Kadın, sayı (yüzde)	82 (76,6)	25 (23,4)	0,011**
	Erkek, sayı (yüzde)	64 (60,4)	42 (39,6)	
Yaş	6,0 (4,2)	5,0 (3,7)	0,015*	
RBC	5,8 (0,5)	5,6 (0,5)	<0,001*	
HGB	10,9 (0,9)	11,6 (1,0)	<0,001*	
HCT	34,7 (2,9)	36,5 (3,2)	<0,001*	
MCV	59,2 (3,9)	65,7 (4,5)	<0,001*	
MCH	18,4 (1,5)	21,0 (2,0)	<0,001*	
MCHC	31,4 (0,9)	31,8 (3,8)	0,016*	
RDW	17,2 (1,7)	16,0 (3,2)	0,001*	
PLT	346,5 (108,9)	334,2 (85,3)	0,417*	
WBC	8,205 (2,642)	7,810 (2,773)	0,542*	
HBf (n)	1,6 (2,2) (144)	0,9 (2,3) (65)	<0,001*	
HBA0 (n)	82,6 (3,1) (139)	85,7 (2,7) (66)	<0,001*	
UIBC	279,8 (46,7)	313,2 (75,3)	<0,001*	
Demir	75,0 (29,3)	59,0 (31,3)	0,003*	
Ferritin (n)	28,8 (19,0) (145)	22,3 (19,0) (66)	0,017	
TSI	26,3 (13,4)	18,6 (14,3)	0,001*	
Ferritin’e Göre DE (n=211)				
	Normal, sayı (%**)	117 (73,1)	43 (26,9)	0,015**
	DE Olanlar, sayı (%**)	28 (54,9)	23 (45,1)	
TSI’ya Göre DE (n=213)				
	Normal, sayı (%**)	116 (73,4)	42 (26,6)	0,009**
	DE Olanlar, sayı (%**)	30 (54,5)	25 (45,5)	
TSI ve Ferritin’e Göre DE (n=211)				
	Normal, sayı (%**)	135 (71,8)	53 (28,2)	0,006**
	DE Olanlar, sayı (%**)	10 (43,5)	13 (56,5)	

DE sıklığı HbA2 düşük grupta, toplam gruba göre ve HbA2 yüksek gruba göre, daha fazla bulunmuştur: Ferritin kriterine göre %34,8, TSI kriterine göre %37,3 ve ferritinveTSI kriterine göre %19,7. Tablo 9 farklı kriterlere göre DE

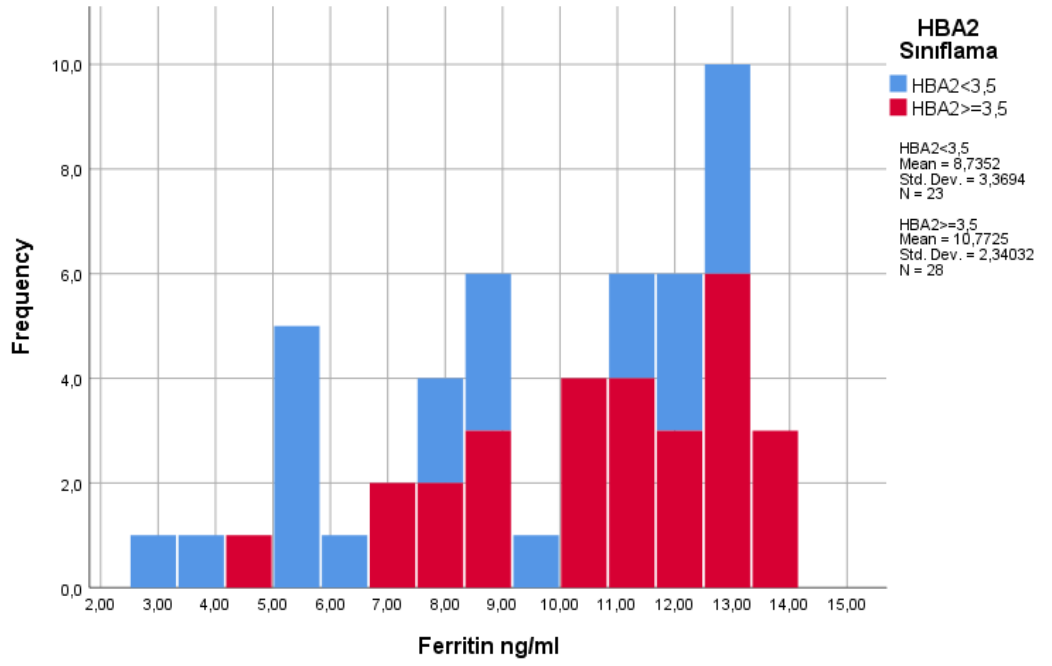
sıklığının HbA2 <%3,5, HbA2 ≥%3,5 ve toplam grupta durumunu göstermektedir.

Tablo 9: Farklı kriterlere göre DE sıklığının HbA2 <%3,5, HbA2 ≥%3,5 ve toplam grupta durumu

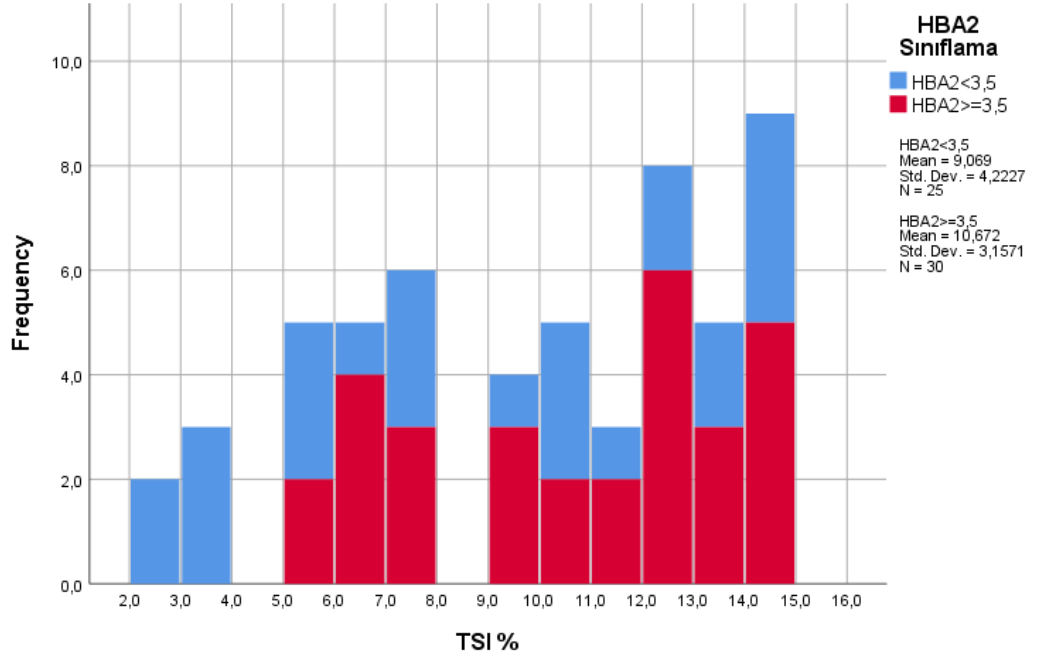
DE sıklığı %			
	Ferritin	TSI	FerritinveTSI
Toplam grup	24,2	25,8	10,9
HbA2 <%3,5	34,8	37,3	19,7
HbA2 ≥%3,5	19,3	20,5	6,9

Hemoglobin A2 ortanca değeri toplam grupta %4,6 (SD 1.4), HbA2 düşük grupta %2,7 (SD 0.3) ve HbA2 yüksek grupta %5,2 (SD 0.9) bulunmuştur. Detaylı irdilemede, yani HbA2 ham değerlerine bakıldığında, toplam grupta DE olduğu halde HbA2 ≥%3,5 olan olgular olduğu gözlenmiştir: Ferritin kriterine göre DE bulunan 51 olgudan 28 tanesinde (%54,9), TSI kriterine göre DE bulunan 55 olgudan 23 tanesinde (%41,8), ferritinveTSI kriterine göre DE bulunan 23 olgudan 10 tanesinde (%43,5) HbA2 ≥%3,5 düzeyindedir. Benzer şekilde, HbA2 yüksek grupta (n=146) DE olan olgular vardır: Ferritin'e göre 145 olgudan 28 tanesinde (%19,3), TSI'e göre 146 olgudan 30 tanesinde (%20,5), ferritinveTSI'e göre 145 olgudan 10 tanesinde (%6,9) DE bulunmaktadır. Diğer bir deyişle, DE olanların % 45,1 i HbA2 düşük gruptaysa % 54,9u da HbA2 yüksek grupta yer almaktadır. Şekil 5A ve 5B toplam grupta DE olduğu halde HbA2 ≥%3,5 olan olguları göstermektedir (A- ferritin kriterine göre, B- TSI kriterine göre).

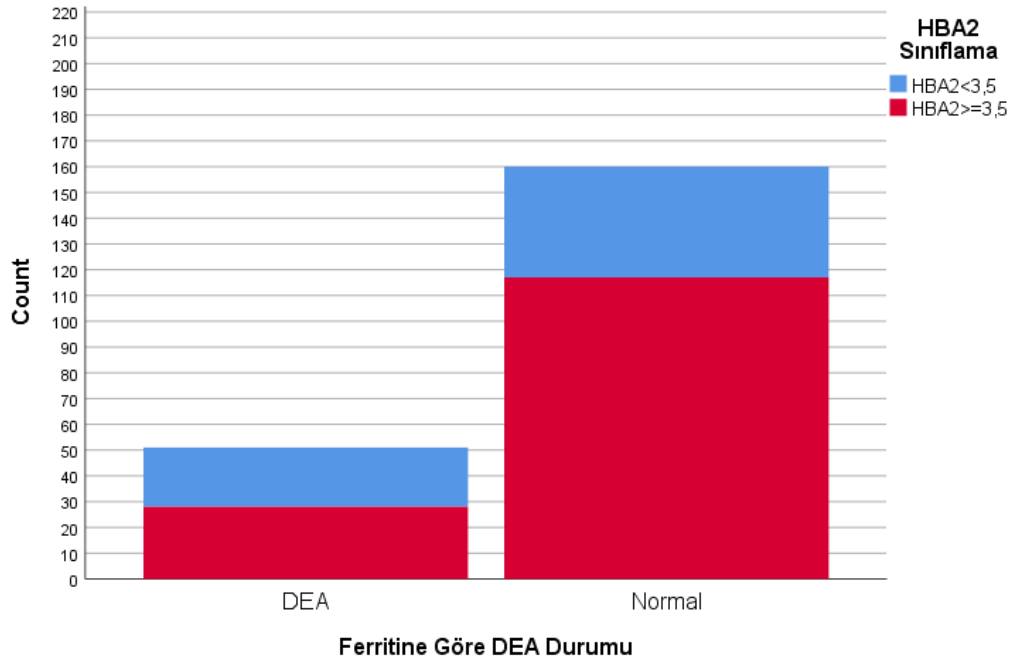
Şekil 6A, 6B ve 6C DE olup HbA2 $\geq$ 3,5 olan olguları DE olmayan grupla karşılaştırmalı olarak göstermektedir (A- ferritin kriterine göre, B- TSI kriterine göre, C- ferritinveTSI kriterine göre)



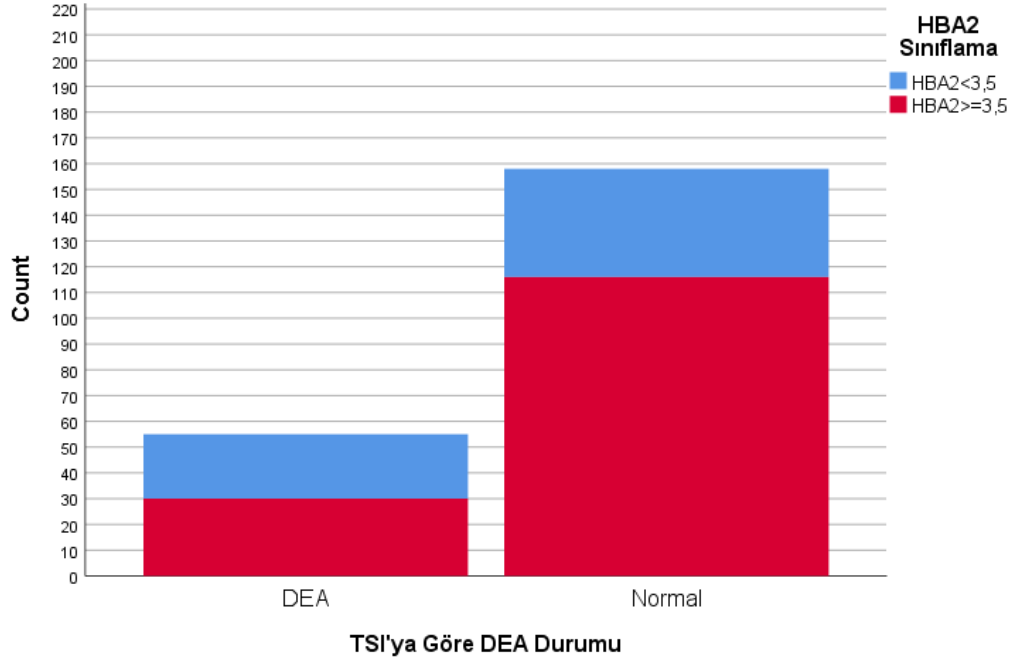
Şekil 5A: DE olduğu halde HbA2 $\geq$ 3,5 olan olgular (Ferritin kriterine göre)



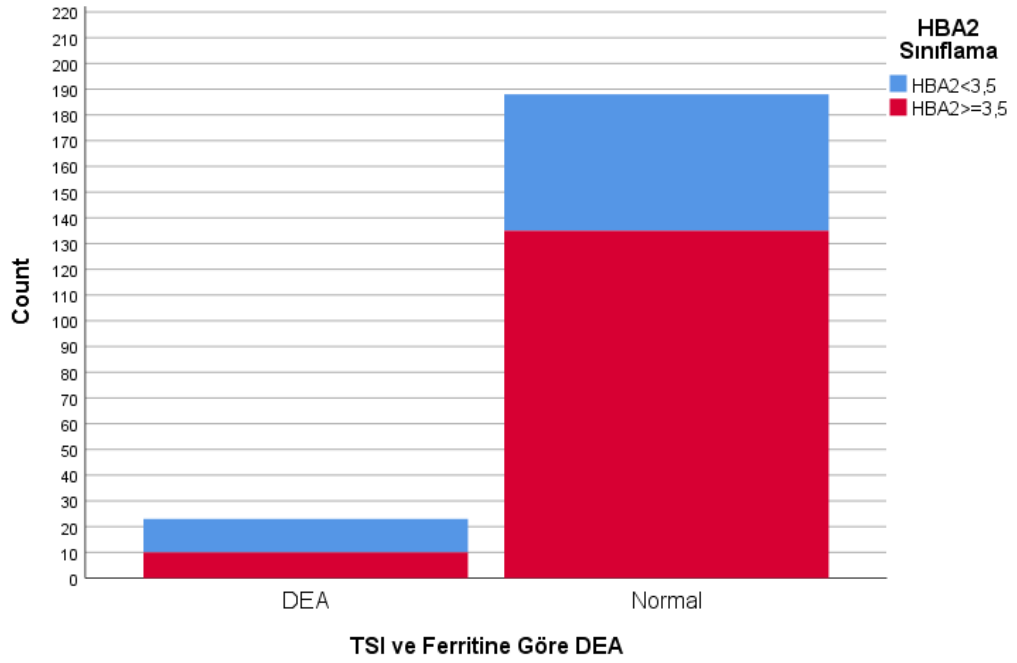
Şekil 5B: DE olduğu halde HbA2 ≥ 3,5 olan olgular (TSI kriterine göre)



Şekil 6A: DE olup HbA2 ≥ 3,5 olan olguların DE bulunmayan grupta HbA2 ≥ 3,5 olan olgularla karşılaştırmalı gösterimi (Ferritin kriterine göre)



Şekil 6B: DE olup HbA2 $\geq 3,5$ olan olguların DE olmayan grupta HbA2 $\geq 3,5$ olan olgularla karşılaştırmalı gösterimi (TSI kriterine göre)



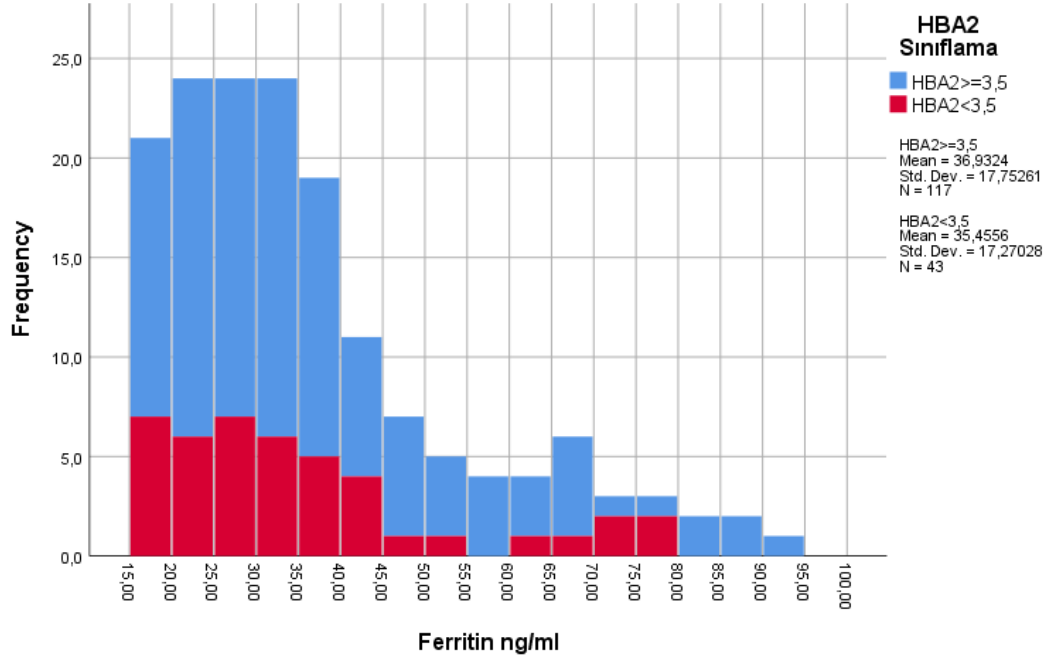
Şekil 6C: DE olup HbA2 $\geq 3,5$ olan olguların DE olmayan grupta HbA2 $\geq 3,5$ olan olgularla karşılaştırmalı gösterimi (ferritinveTSI kriterine göre)

Öte yandan, HbA2 düşük grupta DE olmayan olgular olduğu saptanmıştır: HbA2 düşük 67 olgunun –ferritin için 66- ferritin kriterine göre 43 tanesinde DE yoktur (%26,9), HbA2 düşük 67 olgunun TSI kriterine göre 42 tanesinde DE yoktur (%26,6), HbA2 düşük 67 olgunun ferritinveTSI kriterine göre 53 tanesinde DE yoktur (%28,2).

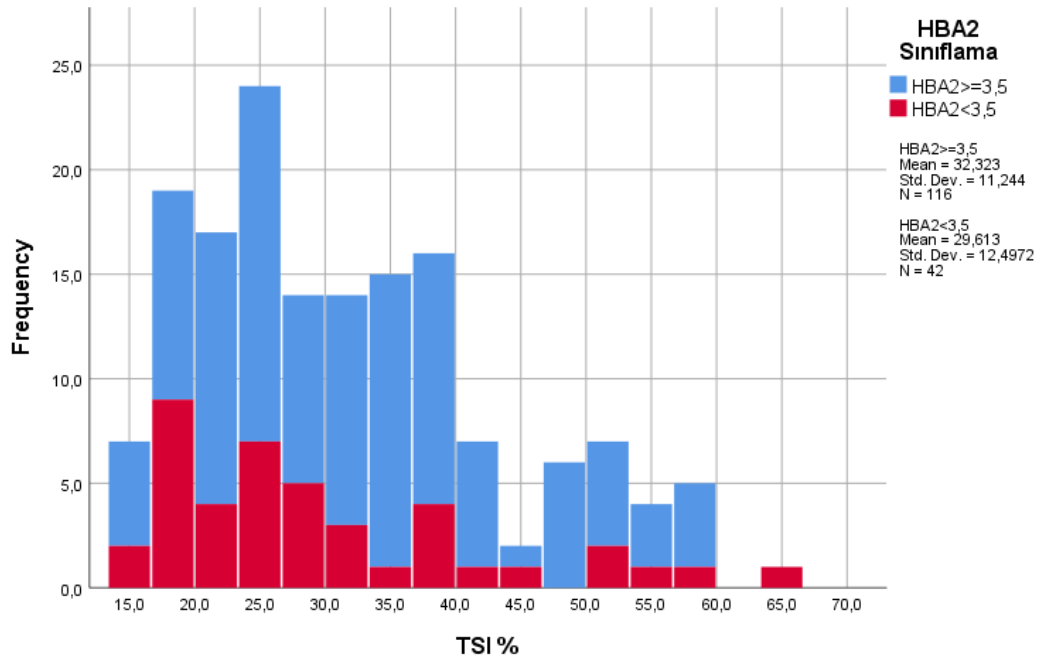
Benzer şekilde, toplam grupta, DE olmayan olgular arasında, HbA2 düzeyi düşük olan olgular olduğu gözlenmiştir (ferritin kriterine göre 160 olgudan 43ü, %26,9; TSI kriterine göre 158 olgudan 42si, %26,6; ferritinveTSI kriterine göre 188 olgudan 53ü, %28,2). Bu olguların çalışılan parametreler yönünden özelliklerine bakıldığında, CBC özelliklerinin talasemi taşıyıcılığını gösteriyor olduğu saptanmıştır (Normal'e yakın Hb, belirgin mikrositoz, belirgin eritrositoz ve normal rdw) (Tablo 10). Şekil 7A ve 7B toplam grupta DE olmayan olgular arasında HbA2 düzeyi <%3,5 olan olguları göstermektedir (A- ferritin kriterine göre, B- TSI kriterine göre).

Tablo 10: Her üç kritere göre DE bulunmadığı halde HbA2 düzeyi <%3.5 olan olguların eritrosit parametreleri

Eritrosit parametreleri(Ortanca)			
DE olmayan HbA2 <%3.5 olgular			
	Ferritin	TSI	FerritinveTSI
RBC	5.7	5.6	5.6
HB	11.5	11.7	11.6
HCT	36.5	36.9	36.5
MCV	64.6	65	65
MCH	20.1	20.6	20.5
MCHC	31.7	31.8	31.8
RDW	16.1	16	16.1



Şekil 7A: Toplam grupta (Ferritin kriterine göre) DE olmayan olgular arasında HbA2 düzeyi <3.5 olan olgular



Şekil 7B: Toplam grupta (TSI kriterine göre) DE olmayan olgular arasında HbA2 düzeyi <3.5 olan olgular

5.TARTIŞMA

Talasemi tüm dünyada sık görülen genetik bir hastalıktır ve önemli bir halk sağlığı sorunudur (1, 3). Klinik olarak en önemli formu beta talasemilerdir. Beta talasemi otozomal resesif geçişlidir ve beta-globin geninde nokta mutasyonları sonucu gelişir. Toplam iki beta-globin geni vardır ve her iki genin mutant olmasıyla hastalık, tek genin mutant olmasıyla taşıyıcılık gelişir. İkisi de taşıyıcı olan bir çiftin her gebelikte %25 hasta çocuk sahibi olma riski vardır. Taşıyıcıların saptanması ve genetik danışmanlık verilmesiyle hasta çocukların doğması önlenabilir ve hastalık eradike edilebilir. Genetik danışmanlık için taşıyıcı taraması yapılması gereklidir. Beta talasemi taşıyıcılığında tarama testi olarak HbA2 düzeyi kullanılır (1, 2, 18, 28). Bu test kabul görmüş köklü bir testtir ve artmış HbA2 düzeyi ($\geq\%3,5$) taşıyıcılığı gösterir. Taramada taşıyıcıların atlanmaması için yanlış-negatif test sonuçlarının potansiyel nedenlerinin bilinmesi zorunludur. Diğer bir deyimle, beta talasemi taşıyıcılığından şüphe edilerek test edilen ve HbA2 düzeyi yüksek bulunmayan olgularda buna yol açan durumları bilmek gereklidir. Bazı genetik ve kazanılmış durumlar buna yol açabilir. Bu durumlardan biri (deltabeta)⁰-talasemidir (delta-globin geninde delesyona bağlı olarak delta-globin zincirinin yapımının azalması). Beta⁺-talasemi mutasyonları taşıyan olgularda beta⁰-talasemi mutasyonu taşıyanlara oranla daha düşük HbA2 düzeyleri görülür. Beta talasemi taşıyıcılarının küçük bir bölümünde delta-globin genleri normal olmakla beraber normal HbA2 düzeyi görülür (66-70). Genetik olan bu durumlar klinik uygulamada pek bilinmezken kazanılmış nedenlerden DEnin HbA2 düşüklüğüne yol açtığı yaygın olarak bilinmektedir. Bu bilgi klasik

başvuru kitaplarında yer almaktadır (42, 44). Çok sayıda çalışma da DE bulunan talasemi taşıyıcılarında HbA2 düzeylerinin beklenenden düşük olduğunu göstermiştir (63, 71-74). Ancak giderek artan sayıda diğer çalışmalar da DE bulunan talasemi taşıyıcısı olgularda DE'nin HbA2 düzeyine etkisi olmadığını göstermektedir (11, 12, 75, 76). Sonuçlardaki bu farklılıklar bu tarama testinin DE varlığında geçerliliği konusunda kafa karışıklığına yol açmaktadır. Yerleşik klasik bilgiye rağmen, klinik uygulamalarda beta talasemi taşıyıcılığında DE ve HbA2 ilişkisi halen netleşmiş değildir. Farklı sonuçların olası nedenleri çalışılan olguların yaşı, HbA2 düzeyini belirleme tekniği, DE tanısının konduğu kriter ve bu kriterin seçilen düzeyi veya talasemi mutasyonlarının tipi olabilir. Bu ilişkiyi inceleyen çalışmaların tümü yetişkin olguları içermektedir ('sadece yetişkin' veya 'çocuk ve yetişkin' olgular). Bilgilerimize göre, sadece pediatrik olguların değerlendirildiği bir çalışma yoktur.

HbA2 ölçüm tekniği olarak HPLC yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. HbA2 $\geq$ %3,5 talasemi taşıyıcılığı için tanısal kabul edilmektedir. DE varlığını göstermek için demir depolarını en iyi yansıtan test olan serum ferritin düzeyi yaygın olarak kullanılmaktadır. Serum ferritin düzeyi <15 ng/ml DE için tanısaldır. Talasemiye yol açan mutasyonların çoğunluğu taşıyıcılarda yüksek HbA2 düzeyiyle karakterizedir ancak yukarıda da bahsedildiği gibi düşük HbA2 düzeyiyle giden beta talasemi mutasyonları da olabilir. Her toplumda talasemiye yol açan mutasyonların farklı olması da farklı toplumlarda yapılmış çalışmaların sonuçlarının farklılığından sorumlu olabilir. Tez çalışmamızı bu bilgileri dikkate alarak tasarladık.

Çalışmamızda değerlendirilen olguların tümü çocuktur ve DE tanısı birden fazla kritere göre verilmiştir. Bu çalışmada sadece çocuk olgular değerlendirilmiştir (yaş ortanca değeri 6 yıl). Önceki benzer iki temel makalede (12, 75) hem çocuk hem yetişkin olgulardan oluşan çalışma grupları incelenmiştir, hatta incelenen topluluklar ağırlıklı olarak yetişkin olgulardan oluşmaktadır. Sözelimi, Chui ve ark. çalışmasında (12) yaş aralığı 1-78 yıl olmakla beraber yaş ortalaması 42 yıldır ve Madan ve ark. çalışmasında (75) olguların sadece %19'u çocukken %81'i yetişkindir. Bilindiği gibi yaş DE tanısı için kullanılan ferritin düzeyi üzerinde etkilidir. Ferritin düzeyi yaşla beraber artış göstermektedir. Bu nedenle yetişkin olgularda ferritine dayanarak DE tanısı vermek yanıltıcı düşük sonuçlara neden olabilir. Nitekim ağırlıklı olarak yetişkin olguların incelendiği ve ferritin kriterinin kullanıldığı Chui ve ark. çalışmasında (12) DE sıklığı oldukça düşük bulunmuştur.

Chui ve ark. çalışmasında, ve önceki çalışmaların hemen tümünde (11, 12, 75), DE tanısı sadece 1 kritere dayanarak (serum ferritin düzeyi) verilmiştir. Ferritin demir depolarını en iyi temsil eden kriter olmakla beraber çeşitli durumlara bağlı olarak değişkenlik gösterebilir (56, 57). Sözelimi, yaşla daha önce de belirtildiği gibi ferritin düzeyi artar. Ayrıca, ferritin akut faz reaktanı olduğundan, örnekleme enfeksiyonsuz dönemde yapılmış olsa bile, bazı olgularda yalancı yüksek bulunmuş olabilir. Bu durumlar DENin gerçek sıklığını belirlemede güçlük yaratır. Bahsekonu önceki çalışmada DENin az görülmesinin nedeni bu olabilir. Chui ve ark. çalışmasında (12) ayrıca hasta grubunun ferritin düzeyi 181 ± 195 (2-1377) ng/ml bulunmuştur. Görüldüğü üzere ferritin dağılım

aralığı çok geniştir ve ferritin yüksekliği çok fazladır. Bu durum DE değerlendirmesi yapmak için uygun değildir çünkü ferritin değeri 1000 ng/ml'nin üstünde olan olgularda eşlik eden hereditör hemokromatozis (HH) gibi demir metabolizması bozukluğu bulunması olasılığı kuvvetle mevcuttur. Böyle bir durum hastaların hangi gruba gireceğini (DE olan veya DE olmayan) etkileyeceğinden çalışmanın sonuçlarını tümüyle değiştirir. DE tanısında ferritin sınır değerinin 12 ng/ml veya 15 ng/ml gibi farklı alınması bu sorunların giderilmesini sağlayamaz. Gerçeğe en yakın DE tanısı için farklı kriterlerin kullanılması yardımcı olabilir. Karışıklığa neden olabilen bu olasılıkların etkisini kaldırmak, hata payını azaltmak ve doğruya en yakın sonuca ulaşmak sadece çocuk olguların değerlendirildiği çalışmamızda olasıdır. DE tanısı tek bir kritere göre değil (sadece ferritinle dayanarak değil) 3 farklı kritere göre verilmiş (ferritin, TSI ve ferritin+TSI kriterleri) ve tüm değerlendirmeler 3 kriter için de ayrı ayrı yapılmıştır. Çalışma grubumuzun yaş özelliği ve DE tanı kriterlerimizin fazlalığı çalışmamızın avantajlarıdır. Bu arada, çalışmamızda TSI kriterine göre alınan sonuçların tümü ferritin kriterine göre alınan sonuçlarla örtüşme göstermiştir. Sonuçlarımız çocuklarda DE tanısı verilirken TSI kriterinin de güvenle kullanılabileceğini göstermektedir.

Çalışmamızda önceki çalışmalara göre DE sıklığı daha fazladır (~%25). Bunun muhtemel nedeni çalışma grubumuzun yaşının küçük olmasıdır. DE çocukluk çağında, özellikle 5 yaş altında, daha siktir (52-58). Bu durum ayrıca toplumumuzun besleme alışkanlıklarının özel bir sonucu da olabilir. Neden ne olursa olsun, DE sıklığının fazlalığı DE'nin HbA2 düzeyine etkisini görme

bakımından daha gerçekçi bir görüş sahibi olunmasına yardımcı olmuştur ve çalışmamızın bir diğer avantajıdır.

Çalışmamızın temel amacı DEnin HbA2 düzeyine etkisini saptamaktı. Bu kapsamda, sonuçlarımız klasik bilgiyi yani DEnin HbA2 düzeyini düşürdüğü bilgisini doğrulamıştır: 1-Kullandığımız her 3 kritere göre de DE bulunan olguların ortalanca HbA2 değeri bulunmayanlara göre düşüktür (Tablo 6), 2-DE sıklığı HbA2 düşük grupta daha fazladır (Tablo 9), 3-HbA2 düşük grubun demir, TSI ve ferritin düzeyleri daha düşük ve UIBC daha yüksektir (Tablo 8).

Kullandığımız 3 kritere göre de DE bulunan olguların ortalanca HbA2 değeri bulunmayanlara göre düşüktür ve fark istatistiksel olarak anlamlıdır (Tablo 6). Örnek olarak, HbA2 ortalanca değeri ferritin kriterine göre DE olanlarda %4,1 ve DE olmayanlarda %4,9'dur (p 0.007). Benzer durum diğer kriterlere göre DE olan ve olmayan olgular arasında da geçerlidir. Ancak, burada önemli olan nokta düzeylerin ham değerleridir. Yani olguların kaçında düşük kaçında halen yüksek olduğudur. Diğer çalışmalarda ham veriler verilmemiştir. Sadece ortalamalardan ve bunların istatistiksel farkından bahsedilmiştir. Sadece Chui ve ark. çalışmasında (12) HbA2 düzeylerinin ham değerlerinden bahsedilmektedir ve DE bulunan talasemi taşıyıcılarının hiçbirinin HbA2 değerinin düşük olmadığı belirtilmiştir. Aslında bu durum bahse konu çalışma için bir zayıflık sayılabilir: DE eşlik edip HbA2 düzeyinin 400'ü aşkın olgunun hiçbirinde sınırın altına inmemiş olması nasıl mümkün olabilir? DE etkisinin incelendiği bir çalışmada katılımcılarda gerçek bir DE yok mudur? Karıştırıcı bir faktör mü var (Yaş,

enfeksiyon hatta altta yatan HH gibi bir hastalık belki)? Bugüne kadar bilinenlerin tümü yanlış olabilir mi? Bu nedenle Chui ve ark. çalışması tasarım olarak kusursuz görünmekle beraber katılımcıların özelliği bakımından, dolayısıyla sonuçları bakımından, zayıf kabul edilebilir. Yazarlar da bu durumu dile getirmiş ve şu ifadeyi kullanmıştır (*We can not rule out the possibility that iron deficiency in our patient group was less severe than in previously reported groups/çalışma grubumuzda demir eksikliği sıklığının önceki gruplara göre daha az olmasının sonuçlarımızdan sorumlu olabileceği gerçeğini dışlayamayız*). Bizim çalışmamızda HbA2 değerlerinin ham verileri mevcuttur ve paylaşılmıştır.

DEnin HbA2 düzeyini düşürdüğü klasik bilgisini doğrulayan bir diğer bulgumuz HbA2 düzeyi düşük grupta DE sıklığının, üstelik her 3 kritere göre, daha fazla bulunmasıdır. Örnek olarak, ferritin kriterine göre DE sıklığı toplam grupta %24,1 ve HbA2 yüksek grupta %19,3 iken HbA2 düşük grupta %34,8 dir ve fark istatistiksel olarak anlamlıdır ($p < 0,05$). Benzer durum TSI ve ferritinveTSI kriterleri için de geçerlidir (Tablo 9).

HbA2 düşük grupta, HbA2 yüksek gruba göre, vücut demir göstergeleri olan demir, TSI ve ferritin değerleri daha düşük ($p = 0.003$, $p = 0.001$ ve $p = 0.017$, sırasıyla) ve UIBC daha yüksektir ($p = 0.001$).

DEnin HbA2 düzeyi üzerindeki düşürücü etkisine rağmen sonuçlarımızda dikkat çeken nokta şudur: DE bulunan olgularda ortalama HbA2 düzeyi halen %4,1 dir (hem ferritin hem de TSI kriterine göre) ve tanı sınırının (%3,5) üstündedir. DE bulunan olguların HbA2 ham değerlerine bakıldığında, toplam grupta DE olduğu halde HbA2 $\geq$ %3,5 olan olgular olduğu gözlenmiştir: Ferritin kriterine

göre DE bulunan 51 olgudan 28 tanesinde (%54,9); TSI kriterine göre DE bulunan 55 olgudan 23 tanesinde (%41,8) ve ferritinveTSI kriterine göre DE bulunan 23 olgudan 10 tanesinde (%43,5) HbA2 $\geq$ %3,5 düzeyindedir. Hatırlatmak gerekirse, ferritinveTSI kriterine göre sadece ferritin düzeyi 15 ng/ml altında olan olgular veya sadece TSI %15 altında olan olgular normal olarak değerlendirilmiştir. Aslında, doğal koşullarda bunlar DE olgusu olarak değerlendirilmektedir. Buna rağmen bu kritere göre olguların %43,5'inde HbA2 düzeyi yüksek bulunmuştur. Diğer bir deyimle, en katı kritere göre DE bulunan olgularda bile olguların yaklaşık yarısında HbA2 düzeyi yüksektir. Şekil 5 ve 6 bu durumu göstermektedir. Benzer şekilde, HbA2 yüksek grupta (n=146) DE olan olgular vardır: Ferritin'e göre HbA2 $\geq$ %3,5 olan 145 olgudan 28 tanesinde (%19,3), TSI'e göre HbA2 $\geq$ %3,5 olan 146 olgudan 30 tanesinde (%20,5) ve ferritinveTSI'e göre HbA2 $\geq$ %3,5 olan 145 olgudan 10 tanesinde (%6,9) DE mevcuttur. Diğer bir deyimle, DE olanların yarısına yakını (%45,1) HbA2 düşük gruptaysa, yarısından fazlası (%54,9) da HbA2 yüksek grupta yer almaktadır (ferritin kriterine göre). Benzer oranlar TSI kriterine göre ve ferritinveTSI kriterine göre de geçerlidir (%45,5 vs %54,5 ve %56,5 vs %43,5, sırasıyla) (Tablo 8).

Özetle, talasemi taşıyıcılığına eşlik eden DE, olguların HbA2 düzeyini sanıldığı kadar düşürmemektedir. Talasemi taşıyıcısı olgularımızın yarısından fazlasında HbA2 düzeyi ağır DEne rağmen halen tanısal değerin üstündedir. Diğer iki çalışma da (12, 75) benzer sonuca varmıştır ancak biz daha sağlam bir zeminde bunu söylüyoruz: 1-Anlamli oranda DE bulunan bir grupta bunu gösterdik, 2-

Birden fazla sayıda kritere göre değerlendirme yaptıktan sonra bunu gösterdik ve 3-Ham verilerle bunu detaylı olarak gösterdik.

Öte yandan ve ilginç olarak, DE bulunmayan olgular arasında HbA2 düzeyi düşük olanlar vardır. Veya HbA2 düzeyi düşük olgular arasında DE bulunmayanlar vardır. HbA2 düşük olguların %75 kadarında (kriterlere göre sırasıyla %73,1, %73,4 ve %71,8) DE varsa %25-30 kadarında (kriterlere göre sırasıyla %26,9, %26,6 ve %28,2) DE yoktur. Bu olgularda HbA2 düşüklüğünden DE sorumlu olamaz. Bu, HbA2 düzeyini etkileyen tek nedenin DE olmadığını, DE dışında HbA2 düşüklüğüne yol açan başka durumların da olduğunu göstermektedir. Gerçekten, HbA2 düzeyi düşük olgularda HbA2'nin diğer parametrelerle ilişkisine baktığımızda ferritinle ilişkisi olmadığını gördük, diğer demir göstergeleriyle zayıf-orta ilişkisi olduğunu saptadık. Oysa beklediğimiz HbA2'nin başlıca ferritin düzeyiyle olmak üzere tüm vücut demir göstergeleriyle kuvvetle ilişkili olmasıydı (demir, TSI ve ferritin ile doğru; UIBC ile ters ilişki).

HbA2 düzeyi DE ile düşüyorsa, HbA2 ile demir parametreleri arasında ilişki bulunmalıdır (anlamlı ve pozitif bir ilişki). Ancak korelasyon çalışmalarımız düşük HbA2 ile ferritin arasında ilişki saptamadı. Hatta HbA2'nin diğer vücut demir göstergelerinden hiçbirisiyle arasında güçlü bir ilişki bulunmadığını gösterdi (Tablo 7). Kullandığımız tüm kriterlere göre DE bulunmadığını gösterdiğimiz halde HbA2 düzeyi düşük olan bu özel grup çalışma grubumuzun yaklaşık %25-30'unu oluşturuyordu (ferritin'e göre %26,9, TSI'e göre %26,6, ferritinveTSI'e göre %28,2) (Şekil 7). Bu olguların CBC'de eritrosit indeksleri tam anlamıyla

talasemi taşıyıcılıyla uyumluydu (N'e yakın Hb, belirgin mikrositoz, belirgin eritrositoz ve N rdw) (Tablo 10). Talasemi taşıyıcılığı bulunan bu olgularda DE yoktu ama HbA2 düşüktü. Hatta HbA2 düzeyindeki düşüklük DE ile açıklanamayacak kadar büyük görünüyordu (ortanca HbA2 %2.7, toplam grupta %4.6 ve HbA2 yüksek grupta %5.2, $p < 0.05$). Eritrosit indeksleri, HbA2 düşüklüğünden DEnin değil talasemi taşıyıcılığının sorumlu olduğunu gösteriyordu. Özetle, bu olgular özel bir grup talasemi taşıyıcısıydı (adiyla, "HbA2 düşük talasemi taşıyıcısı"). Çalışmamızda mutasyon analizi bakılmadığından talasemi taşıyıcılığının alt tipini bilmiyoruz ama sonucumuz mutasyon analizi bakılmış olan Chui ve ark. çalışmasının (12) sonuçlarını destekler şekildedir ve HbA2 düzeyi düşük seyreden beta talasemi taşıyıcılığı bulunduğunu açıkça göstermektedir. Anlamlı oranda DE bulunan çalışma grubumuzda HbA2'nin özellikle ferritinle ilişkili bulunmamasının olası açıklaması da bu durumla ilgili olabilir: olgularımızın önemli bir bölümünde, HbA2 düşüklüğüne yol açan gerçek neden "mutasyon"lardır. Ancak çalışmamızda mutasyon analizi yer almadığından ve dolayısıyla korelasyon bakılan parametreler arasında mutasyon bulunmadığından HbA2 düzeyiyle güçlü ilişkili bir parametre bulamamış olabiliriz. HbA2 düzeyi düşük seyreden talasemi sıklıkla delta genini ilgilendiren mutasyonlara bağlıdır (66-70). Olgularımızda sorumlu mutasyonlar delta genini ilgilendiren mutasyonlar olabileceği gibi farklı mutasyonlar da olabilir. Sözgelimi, ülkemizde en sık görülen mutasyonlar (IVS-I-110, IVS-I-6, FSC-8, IVS-I-1, sırasıyla) beta-globin geninde nokta mutasyonlarıdır (13, 20, 47) ve bunlar beta⁺-talasemi mutasyonları olmaları nedeniyle HbA2 düşüklüğüne yol

açıyor olabilir. Mutasyon çalışılmamış olması çalışmamızın bir zayıflığı sayılabilir ancak ülkemizde talasemi taşıyıcısı çocuklarda rutin olarak mutasyon analizi yapılmamaktadır. Olgular CBC ve Hb elektroforez sonuçlarıyla değerlendirilmektedir. Mümkün olduğunca aile çalışması da yapılmaktadır. Ayrıca talasemi (ve diğer tüm hemoglobinopatiler) taşıyıcılarının DNA analizinden çok hematolojik bulgularla saptandığı tek genetik hastalıktır. Tam tarama eritrosit parametrelerine ve HbA2, HbF ve hemoglobin varyant değerlerine dayanarak yapılır. Literatürde de benzer konulu çalışmaların sadece küçük bir bölümünde mutasyon analizi yapılmıştır (11, 12), çoğunluğunda CBC ve Hb elektroforezi sonuçları değerlendirilmiştir.

Çalışmamız dosya taraması olduğu için çalışılmış testler değerlendirilebilmiştir. Mikrositozla başvuran taşıyıcı çocuklarda makrositoza yol açan vitamin B12 ve folat düzeyleri çalışılmamış olduğundan bu sonuçlara dayanarak veya bu düzeylerin HbA2 düzeyi üzerine etkisi konusunda yorum yapılamamıştır. Ancak bu iki mikronütrientin eksikliğinin sıklığının, varsa eğer, DE bulunan ve bulunmayan gruplarda benzer oranda olması beklenmektedir.

Ayrıca, HbA2 düzeyi düşük bulunan ve DE olmayan taşıyıcılarda alfa talasemi taşıyıcılığı, KLF-1 mutasyonlarının varlığı vb. genetik inceleme yapılmadan tam olarak dışlanamaz. Ancak, beta talasemi taşıyıcılığı dışındaki bu tip mutasyonların eritrosit parametreleri üzerinde belirgin değişiklik etkisi yoktur ve karakteristik eritrosit değişikliklerini gösteren olgularımızın sonuçlarıyla uyumlu değildir.

Aslında HbA2 düzeyi düşük olup DE bulunan taşıyıcıların bir bölümünde bile HbA2 düşüklüğünden sorumlu tek faktör DE olmayabilir, mutasyon da olabilir. Mutasyon analizi yapılmadan veya demir tedavisi sonrası demir parametrelerinin düzeldiği ama HbA2 düzeyinin düşük kaldığı gösterilmeden bu olgulardaki düşük HbA2 düzeyinden sadece DEnin sorumlu olduğu söylenemez. Bu nedenle, HbA2 düzeyi düşük taşıyıcıların oranı belirttiğimizden de (%25-30'dan) fazla olabilir.

Klinik uygulamalarda, talasemi taşıyıcılığı düşünülüp HbA2 düzeyi düşük bulunan olgularda ve talasemi taşıyıcılığı ve DE birlikte bulup HbA2 düşüklüğü olan olgularda HbA2 düşüklüğünden otomatik olarak DE sorumlu tutulmaktadır. Hem birinci hem de ikinci durumda HbA2 düşüklüğünün tek sorumlusu DE olmayabilir, sorumlu talasemiye yol açan mutasyon olabilir. Bu durumlarda talasemi taşıyıcılığını atlamamak gerekir. Mutasyon analizi yapamamak bile birinci durumda aile çalışması yapmak ve ikinci durumda demir tedavisi sonrası demir parametrelerinin normale döndüğünü ama HbA2nin değişmediğini göstermek doğru tanıya yardımcı olacaktır. Bu bağlamda ve bunu destekler şekilde, beta talasemi taşıyıcılığı düşünüp incelenmiş ama HbA2 düzeyi düşük bulunmuş 60, 55 ve 10 numaralı olgularımızın aile çalışması kardeşlerinde de talasemi taşıyıcılığının varlığını ve HbA2 düzeyinin düşük olduğunu göstermiştir. Ayrıca talasemi taşıyıcılığı ve DE bulunan 208 numaralı olgumuzun demir tedavisi sonrası demir göstergelerinin düzeldiği ancak HbA2 düzeyinin halen düşük kaldığı gözlenmiştir. Ailelere tanı ve genetik danışmanlık verilmiştir. Mutasyon analizinin yapılmış olduğu kaynak çalışmada da (12) talasemi taşıyıcılığı ve DE

birlikte bulunan olgularda HbA2 düşüklüğünden sadece DEni sorumlu tutmadan önce delta-globin geninin (ve diğeri globin gen anormalliklerinin) çalışılması önerilmektedir: “talasemi taşıyıcılığı ve DE olup HbA2si 3.5%in altında olan olgularda bile sorumlu sadece DE olmayabilir, mutasyon olabilir” denmektedir. Bu bizce de doğrudur. Böyle düşünülürse, HbA2 düzeyi düşük taşıyıcı olup DE bulunan olgularda bile gen incelemesi gereklidir. Teze konu olan çalışmamızın sonuçlarına dayanarak biz de aynı şeyi söylüyoruz: Her düşük HbA2den DE sorumlu değildir, HbA2 düzeyi düşük seyreden beta talasemi taşıyıcılığı mevcuttur. Bunu bilmek ve HbA2 düzeyi düşük olan olguları basit DE olarak değerlendirmemek, talasemi taşıyıcılığını atlamamak gerekir. Mutasyon analizi yapamamak bile aileyi mümkünse DE tedavisi sonrası değerlendirmeye gerek olmadan, aileyi kaybetmeden, olguyu gördüğümüz o anda aile çalışması yaparak bilgi sahibi olabiliriz ve danışmanlık verebiliriz. Bu, bizim gibi talaseminin sık görüldüğü ancak olanakları kısıtlı ülkelerde eldeki olanaklarla yapılacak en uygun hareket olacaktır.

6. SONUÇLAR

1- Tümüyle çocuk olgulardan oluşan ve anlamlı oranda DE bulunan geniş bir beta talasemi taşıyıcısı popülasyonun değerlendirildiği bu tez çalışmasında, DE bulunan taşıyıcı olgularda HbA2 düzeyinin halen yüksek seyrettiği gösterilmiştir. Bu durum DE tanısı için kullanılan standart kritere göre (ferritin kriteri) %55 olguda mevcuttur. Çalışmamıza özel olarak belirlenmiş en katı kritere göre bile (ferritinveTSI kriteri) bu oran %44 civarındadır. Diğer bir deyimle, eşlik eden DE varlığında bile HbA2 düzeyi beta talasemi taşıyıcılığı taramasında tanısal test olarak geçerlidir.

2- Çalışmamızda, DE bulunmadığı halde HbA2 düzeyi düşük ($\leq 3,5$) olan taşıyıcı olgular olduğu gösterilmiştir. Bu özel grup, çalışma grubunun kullanılan değişik kriterlere göre %25-30luk bölümünü kapsamaktadır. Tam kan sayımı bulguları talasemi taşıyıcılığı bulgularıyla tam olarak örtüşen ama DE bulunmayan bu olgularda HbA2 düşüklüğünden talasemi mutasyonu sorumludur. Diğer bir deyimle, HbA2 düzeyi düşük beta talasemi taşıyıcısı olgular da vardır ve talasemi taramalarında bu durum mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır.

3- Taşıyıcılarda düşük HbA2 düzeylerinden sadece DE sorumlu değildir, talasemi mutasyonları da sorumlu olabilir. Bunu bilmek ve HbA2 düzeyi düşük olguları basit “DE” olarak değerlendirmemek ve taşıyıcıları atlamamak gerekir. Bu olgularda mutasyon analizi yapılamasa bile **hasta görüldüğü anda ve aile çalışması yaparak** bilgi sahibi olmak ve genetik danışmanlık vermek mümkündür. Bu yaklaşım, bizim gibi talasemi sıklığının yüksek olduğu ancak

kaynakları kısıtlı ÷lkelerde eldeki olanaklarla yapılacak en uygun yaklaşıml olacaktır.

KAYNAKLAR

1. Weatherall DJ. The Thalassemias. In: Beutler E, Coller BS, Lichtman MA, Kipps TJ, Seligsohn U., Eds. Williams Hematology. 6th Ed., New York: McGraw-Hill Company. 2001; 547-580.
2. Türk Hematoloji Derneği, Eritrosit Hastalıkları ve Hemoglobin Bozuklukları Tanı ve Tedavi Kılavuzu- 2019.
3. Canatan D ve Aydınok Y: Talasemi ve hemoglobinopatiler tanı ve tedavi. Talasemi federasyonu, 11-18, 2007.
4. J. B. Alperin, P. A. Dow, and M. B. Petteway, "Hemoglobin A2 levels in health and various hematologic disorders," American Journal of Clinical Pathology, pp. 219–226, 1977.
5. A.K.Saraya, R.Kumar, S.Kailash, and A.K.Seohal, "Iron deficiency in beta-heterozygous thalassaemia," The Indian Journal of Medical Research, pp.68–75, 1984.
6. Qureshi TZ, Anwar M, Ahmed S, Ahmed Khan D, Saleem M. Serum ferritin levels in carriers of beta-thalassaemia trait. Acta Haematol. 1995;94(1):7-9.
7. T.K. Dolai, K.S.Nataraj, N.Sinha, S.Mishra, M.Bhattacharya, and M.K.Ghosh, "Prevalance of iron deficiency in thalassemia minor: a study from tertiary hospital, "Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion, pp.7–9, 2012.

8. Verma S, Gupta R, Kudesia M, Mathur A, Krishan G, Singh S. Coexisting iron deficiency anemia and Beta thalassemia trait: effect of iron therapy on red cell parameters and hemoglobin subtypes. *ISRN Hematol.* 2014 Mar 12;2014:293216.
9. Gibney GT, Panhuysen CI, So JC, et al. Variation and heritability of Hb F and F-cells among b-thalassemia heterozygotes in Hong Kong. *Am J Hematol* 2008;83:458–464.
10. N. Kurlekar and B. C. Mehta, “Haemoglobin A2 levels in iron deficiency anaemia,” *Indian Journal of Medical Research*, pp.77–81, 1981.
11. Passarello C, Giambona A, Cannata M, Vinciguerra M, Renda D, Maggio A. Iron deficiency does not compromise the diagnosis of high HbA(2) β thalassemia trait. *Haematologica.* 2012;97(3):472-473.
12. Verhovsek, M., C.C. So, T. O’Shea, et al. 2012. Is HbA2 level a reliable diagnostic measurement for α -thalassemia trait in people with iron deficiency? *Am. J. Hematol.* 87: 114-116.
13. Başak N. Beta Talasemide moleküler tanı ve yöntemleri. In *Talasemi ve Hemoglobinopatiler Tanı ve Tedavi* (Eds D Canatan, Y Aydınok):49-60. Antalya, Talasemi Federasyonu, 2007.
14. Weatherall DJ, Clegg JB, Wood WG, Old JM, Higgs DR, Pressley L, et al. The clinical and molecular heterogeneity of the thalassemia syndromes. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 1980;344:83-100.
15. Canatan D. Talasemi ve Hemoglobinopatilerin Dünya ve Türkiye’de Durumu. *Türkiye Klinikleri Hematoloji Onkoloji Özel Sayısı.* 2010;3 (1):1-4.

16. Günçağ D, Pekçelen Y, Atamer T. Talasemi Klinik Hematoloji. 2003;137-47.
17. Tuzmen S, Schechter AN. Genetic diseases of hemoglobin: diagnostic methods for elucidating beta-thalassemia mutations. Blood reviews. 2001;15 (1):19-29.
18. Ip HW, So CC. Diagnosis and prevention of thalassemia. Critical reviews in clinical laboratory sciences. 2013;50 (6):125-41.
19. Higgs DR. Gene regulation in hematopoiesis: new lessons from thalassemia. Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology American Society of Hematology Education Program. 2004:1-13.
20. Canatan D. Türkiye'de hemoglobinopatilerin epidemiyolojisi. Hematolog. 2014;4-1:11-21.
21. Zheng G, Schaefer M, Karplus M. Hemoglobin Bohr effects: atomic origin of the histidine residue contributions. Biochemistry. 2013;52:8539-55.
22. Cappellini MD, Cohen A, Eleftheriou A, Piga A, Porter J, Taher A. Guidelines for the Clinical Management of Thalassaemia, 2nd edition. Nicosia (CY), Thalassaemia International Federation, 2008.
23. Hoffman R. Thalassemia syndromes. In Hematology Basic Principles and Practice, 3rd edition (Eds R Hoffman, EJ Benz, SJ Shattil):485-509. Philadelphia, Churchill Livingstone, 2000.
24. Muncie HL, Jr., Campbell J. Alpha and beta thalassemia. American family physician. 2009;80 (4):339-44.

25. Robert J. Arceci, Ian M. Hann, Smith OP. Pediatric Hematology, Third Edition. 3rd ed. Olivieri NF, editor 2006. 281-301 p.
26. Thompson & Thompson Tıbbi Genetik (Thompson & Thompson Genetics in Medicine) 2005. 17-31 p. 61.
27. Fathallah H. DNA hypomethylation therapies and hemoglobin disorders. [An interview with Hassana Fathallah by H&O]. Clinical advances in hematology & oncology : H&O. 2008;6 (11):806-8.
28. Olivieri NF. The beta-thalassemias. The New England journal of medicine. 1999;341 (2):99-109.
29. Bain BJ, Wild BJ, Stephens AD, Phelan LA. Variant hemoglobins: a guide to identification. 1st ed. West Sussex, UK: Wiley-Blackwell; 2010.
30. Waye, J.S., M. Patterson, L. Walker, et al. 2003. Thalassemia in association with a new α -chain hemoglobin variant [α 116(g18)Arg $\rightarrow$ Leu]: implications for carrier screening and prenatal diagnosis. Am. J. Hematol. 74:179–181.
31. Pirastu, M., Y.W. Kan, C.C. Lin, et al. 1983. Hemolytic disease of the newborn caused by a new deletion of the entire-globin cluster. J. Clin. Invest. 72: 602–609.
32. Çürük MA, Genç A, Huseynova P, Zeren F, Aksoy K. Çukurova’da alfa talasemi genotipleri ve Hb H hastalığı. Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci. 2007;3:17-23.
33. Harvey RA, Champe PC. Talesemiler. In Tokullugil A, Dirican M, Ulukaya E (Çevirenler) Biyokimya 2. Baskı, İstanbul; Tayf Ofset 1997: s. 37.

34. Vichinsky E. Complexity of alpha thalassemia: growing health problem with new approaches to screening, diagnosis, and therapy. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1202:180-7.
35. Cunningham M. The thalassemias. In Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood, 7th edition (Eds SH Orkin, DG Nathan, D Ginsburg, AT Look, DE Fisher, SE Lux):1015-106. Philadelphia, Saunders Elsevier, 2009.
36. Higgs DR. Alpha thalassemia: an overview. *Current Views on Thalassemia.* 1992;31-40.
37. Musallam KM, Rivella S, Vichinsky E, Rachmilewitz EA. Non-transfusion-dependent thalassemias. *Haematologica.* 2013;98:833-44.
38. Lanzkowsky P. *Lanzkowsky Manual of Pediatric Hematology and Oncology* 4ed2005.
39. Birgens H, Ljung R. The thalassaemia syndromes. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation.* 2007;67 (1):11-25.
40. Cao A, Galanello R. Beta-thalassemia. *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics.* 2010;12 (2):61-76.
41. May C, Sadelain M. A promising genetic approach to the treatment of beta-thalassemia. *Trends in cardiovascular medicine.* 2001;11 (7):276-80.
42. Melody J, Nathan D, Orkin S. *The Thalassemias; nathan and oski's hematology of infancy and childhood.* 7 ed2009.
43. Musallam KM, Taher AT, Rachmilewitz EA. Beta-thalassemia intermedia: a clinical perspective. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012;2:a013482.
44. Weatherall DJ. *The Thalassemia Syndromes* 4ed2005.

45. Burdick C. Combined iron deficiency and thalassemia minor. American journal of clinical pathology. 2013;139 (2):260.
46. Rund D, Rachmilewitz E. Beta-thalassemia. N Engl J Med. 2005;353:1135-46.
47. Gümrük F. Hemoglobin ve hemoglobinopatiler, Temel İç Hastalıkları 1996.
48. Taher AT, Musallam KM, Karimi M, Cappellini MD. Contemporary approaches to treatment of beta-thalassemia intermedia. Blood Rev. 2012;26:24-7.
49. Rivella S. The role of ineffective erythropoiesis in non-transfusion-dependent thalassemia. Blood Rev. 2012;26:12-5.
50. Lansowsky P. Manual of Pediatric Hematology and Oncology, 5th edition. Oxford, Academic Press, 2011. 200-7.
51. Gibbons R, Higgs DR, Olivieri NF, Wood WG. The β thalassaemias. In The Thalassaemia Syndromes, 4th edition (Eds DJ Weatherall, JB Clegg):287-356. Oxford, Blackwell Science, 2001.
52. Provan D. Mechanisms and management of iron deficiency anaemia. British journal of haematology. 1999;105 Suppl 1:19-26.
53. Khusun H, Yip R, Schultink W, Dillon DH. World Health Organization hemoglobin cut-off points for the detection of anemia are valid for an Indonesian population. The Journal of nutrition. 1999;129(9):1669-74.
54. Walter T, Kowalsky J, Stekel A. Effect of mild iron deficiency on infant mental development scores. J Pediatr 1983; 102: 519-22.
55. Hallberg L, Hulten L, Lmdstedt G. Prevalence of iron deficiency in Swedish adolescents. Pcd Res 1993; 34: 680-7.

56. Cook J D, Finch C A. Assessing iron status of a population. *Am J Clin Nutr* 1979; 32: 2115-9.
57. Brittenham GM. Disorders of iron metabolism: Iron deficiency and overload. In: Hoffman C (ed). *Hematology Basic Principles and Practice*. Third ed. Pennsylvania: Livingstone, 2000: 397-425.
58. Yıldız I Iron deficiency anemia *Türk Ped Arfl* 2009; 44 Özel Sayı: 14-8.
59. Colah RB, Surve R, Sawant P, D'Souza E, Italia K, Phanasgaonkar S, et al. HPLC studies in hemoglobinopathies. *Indian J Pediatr*. 2007;74(7):657–62.
60. Head CE, Conroy M, Jarvis M, Phelan L, Bain BJ. Some observations on the measurement of haemoglobin A₂ and S percentages by high performance liquid chromatography in the presence and absence of alpha thalassaemia. *J Clin Pathol*. 2004;57(3):276–80.
61. Anagnostopoulos K, Tentis I, Kalleas C, Margaritis D, Toli A, Pendilas D, et al. Effect of HbS in the determination of HbA₂ with the Menarini HA-8160 analyzer and comparison with other instruments. *Int J Lab Hematol*. 2009;31(6):665–72.
62. Paleari R, Gulbis B, Cotton F, Mosca A. Interlaboratory comparison of current high-performance methods for HbA₂. *Int J Lab Hematol*. 2012;34(4):362–8.
63. P. Wasi, P. Disthasongchan, and S. Na-Nakorn, “The effect of iron deficiency on the levels of hemoglobins A₂ and E,” *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, vol. 71, no. 1, pp. 85–91, 1968.

64. Steinberg MH, Adams JG. Hemoglobin A2: Origin, evolution and aftermath. *Blood*. 1991;78(9):2165-77.
65. Hayran, M. (2011). Sağlık araştırmaları için temel istatistik. Omega Araştırma.
66. Figueiredo MS. The importance of hemoglobin A2 determination. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2015 Sep-Oct;37(5):287-9.
67. Fucharoen S, Fucharoen G, Sanchaisuriya K, Pengjam Y. Molecular analysis of a thai beta-thalassaemia heterozygote with normal haemoglobin A2 level: implication for population screening. *Ann Clin Biochem*. 2002 Jan;39(Pt 1):44-9.
68. Galanello R, Barella S, Ideo A, Gasperini D, Rosatelli C, Paderi L, Paglietti E, Sollaino C, Perseu L, Loi D, et al. Genotype of subjects with borderline hemoglobin A2 levels: implication for beta-thalassemia carrier screening. *Am J Hematol*. 1994 Jun;46(2):79-81.
69. Luo HY, Chui DH. Diverse hematological phenotypes of β -thalassemia carriers. *Ann N Y Acad Sci*. 2016 Mar;1368(1):49-55.
70. Mosca A, Paleari R, Ivaldi G, Galanello R, Giordano PC. The role of haemoglobin A(2) testing in the diagnosis of thalassaemias and related haemoglobinopathies. *J Clin Pathol*. 2009 Jan;62(1):13-7.
71. Alperin JB, Dow PA, Petteway MB. Hemoglobin A2 levels in health and various hematologic disorders. *Am J Clin Pathol*. 1977 Mar;67(3):219-26.

72. El-Agouza I, Abu Shahla A, Sirdah M. The effect of iron deficiency anaemia on the levels of haemoglobin subtypes: possible consequences for clinical diagnosis. *Clin Lab Haematol.* 2002 Oct;24(5):285-9.
73. Galanello R, Turco MP, Barella S, Giagu N, Dessì C, Cornacchia G, Cao A. Iron stores and iron deficiency anemia in children heterozygous for beta-thalassemia. *Haematologica.* 1990 Jul-Aug;75(4):319-22.
74. Kattamis C, Lagos P, Metaxotou-Mavromati A, Matsaniotis N. Serum iron and unsaturated iron-binding capacity in the -thalassaemia trait: their relation to the levels of haemoglobins A, A₂, and F. *J Med Genet.* 1972 Jun;9(2):154-9.
75. Madan N, Sikka M, Sharma S, Rusia U. Haematological parameters and HbA₂ levels in beta-thalassaemia trait with coincident iron deficiency. *Indian J Pathol Microbiol.* 1998 Jul;41(3):309-13.
76. Sharma P, Das R, Trehan A, Bansal D, Chhabra S, Kaur J, Marwaha RK, Varma N, Garewal G. Impact of iron deficiency on hemoglobin A₂% in obligate β -thalassemia heterozygotes. *Int J Lab Hematol.* 2015 Feb;37(1):105-11.

ÖZET

Beta-Talasemi Taşıyıcısı Çocuklarda Eşlik Eden Demir Eksikliğinin HbA2 Düzeyi Üzerine Etkisi

Bu tez çalışmasında talasemi taşıyıcılığına eşlik eden demir eksikliğinin HbA2 düzeyi üzerine etkisi incelenmiştir. Bunun için 213 β -talasemi taşıyıcısı çocuk (107 kız, 106 erkek, yaş ortancası 6 standart deviasyon 4.1 yaş) değerlendirilmiştir. Olgular ferritin düzeyine göre demir eksikliği olanlar (ferritin <15 ng/ml) ve olmayanlar olarak ayrılmış ve 2 grup arasında HbA2 düzeyi karşılaştırılmıştır. Sonuçların güvenilirliği bakımından benzer karşılaştırma transferrin saturasyonu (transferrin saturasyon indeksi <%15) ve ferritin+transferrin saturasyon indeksi (hem ferritin <15 ng/ml hem de transferrin saturasyon indeksi <%15) kriterlerine göre ayırım yapıldıktan sonra da tekrarlanmıştır. Demir eksikliği sıklığı kriterlere göre sırasıyla %24,2, %25,8 ve %10,9 bulunmuştur. Karşılaştırma sonuçları demir eksikliği bulunan taşıyıcılarda HbA2 düzeyinin bulunmayanlara göre düşük ama ilk iki kritere göre halen tanısal sınırdan olduğunu göstermiştir (%4,1 ve %4,9, p 0,007; %4,1 ve %4,9, p 0,003; %3,3 ve %4,9, p 0,001, kriterlere göre sırasıyla). İlginç olarak demir eksikliği bulunmayan taşıyıcılar arasında da HbA2 düzeyi düşük bir grup olduğu saptanmıştır (~%30) (kriterlere göre sırasıyla, %26,9, %26,6 ve %28,2). Bu grubun eritrosit parametreleri talasemi taşıyıcılığıyla tam olarak uyumludur. HbA2 düzeyi düşük olgularda korelasyon çalışmaları HbA2 düzeyiyle demir parametreleri arasında güçlü bir ilişki bulunmadığını göstermiştir (transferrin

saturasyonu indeksi ile düşük/önemsiz korelasyon [0,280]; ansature demir bağlama kapasitesi ile düşük-orta korelasyon [-0,367]; ferritin ile korelasyon saptanmamıştır). Bu bulgularla, β -talasemi minor taramasında tanısal test olarak kullanılan HbA2 düzeyinin eşlik eden demir eksikliği varlığında da, olguların büyük çoğunluğunda, geçerli olduğu sonucuna varılmıştır. HbA2 düzeyinin düşüklüğünden demir eksikliği dışında diğer faktörlerin de başlıca özel talasemi mutasyonlarının, sorumlu olabileceği önerilmiştir.

Anahtar kelimeler: β -talasemi minor, demir eksikliği, HbA2 düzeyi

SUMMARY

Effect of iron deficiency on the level of HbA2 in children with beta thalassemia minor

In this study the effect of accompanying iron deficiency on the levels of HbA2 in β -thalassemia minor was investigated. For this purpose, 213 children with β -thalassemia minor (107 female, 106 male, median(SD) 6(4.1) years) were evaluated. Children were divided as iron deficient and non-iron deficient according to ferritin level (ferritin cut-off value of 15 ng/ml) and the levels of HbA2 were compared between the groups. In term of reliability of results, same comparisons were done after division based two more criteria: 1-transferrin saturation index $<15\%$ and 2-ferritin plus transferrin saturation index $<15\%$ (both ferritin <15 ng/ml and transferrin saturation index $<15\%$). The frequency of iron deficiency was 24.2%, 25.8%, and 10.9% according to the criteria used respectively. Comparisons between iron deficient and non-iron deficient carriers showed that the levels of HbA2 were lower in iron deficient cases but were still above the cut-off value of 3.5% according to the first two criteria (%4.1 vs %4.9, p 0.007; %4.1 vs %4.9, p 0.003; %3.3 vs %4.9, p 0.001, according to the criteria used, respectively). Interestingly, approximately 30% of the non-iron deficient carriers was found to have low HbA2 levels (26.9%, 26.6% and 28.2%, according to the criteria used, respectively). Erythrocyte parameters of those cases were consistent with β -thalassemia minor. No significant correlation was found between low HbA2 levels and iron status parameters (transferrin saturation index

low/insignificant correlation [0.280]; unsaturated iron binding capacity low-medium correlation [-0.367]; ferritin no correlation). Based on our results, we conclude that HbA2 mostly remains a reliable test for β -thalassemia minor screening in the presence of iron deficiency. Other factors, particularly special thalassemia mutations, may also be responsible for the low levels of HbA2 in β -thalassemia minor.

Keywords: β -thalassemia minor, iron deficiency, HbA2 level

ÖZGEÇMİŞ

Adı : Şeyda

Soyadı : Değermenci

Doğum yeri ve tarihi : Tokat / 1984

Eğitimleri:

- Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları
Anabilim Dalı'nda Uzmanlık Eğitimi
- Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi
- Tokat Atatürk Anadolu Lisesi
- Tokat Gazi Osman Paşa İlköğretim Okulu

Yabancı dili : İngilizce

e-mail : sydycl@hotmail.com