



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**HATAY-SAMANDAĞ YÖRESİNDEKİ LİSELERDE
HEMOGLOBİNOPATİ TİPLENDİRİLMESİ VE
BİLGİLENDİRİLMESİ ÇALIŞMASI**

DR. MURAT TAHİROĞLU

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. KIYMET AKSOY**

ADANA-2010



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**HATAY-SAMANDAĞ YÖRESİNDEKİ LİSELERDE
HEMOGLOBİNOPATİ TİPLENDİRİLMESİ VE
BİLGİLENDİRİLMESİ ÇALIŞMASI**

DR. MURAT TAHİROĞLU

UZMANLIK TEZİ

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. KIYMET AKSOY**

**Bu çalışma Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü Araştırma Fonu TF.2008.LTP.14
numaralı proje olarak desteklenmiştir.**

ADANA-2010

TEŞEKKÜR

Eğrisiyle doğrusuyla, yanlışıyla sancısıyla geçen dört yıllık asistanlık eğitiminin ardından... Sevinçlerin, heyecanların, kutlamaların, beraberliklerin fotoğrafları için deklanşöre basılmış ama kırgınlıkların, üzüntülerin, mutsuzlukların, vedaların, ayrılıkların fotoğrafları beynin ücra köşelerinde saklanılmış olsa da... Kanatlanıp yuvadan uçuşma zamanının yaklaştığı bugünlerde meslek hayatımın üçüncü dönüm noktasına başlayacak olmamın korkusu, heyecanı ve merakı iç içe girmişken... Yolun sonunda saygıdeğer hocalarım ve çalışma arkadaşlarım için söylenecek sözlerin bu sayfaya sığmayacağını biliyorum.

Biyokimya eğitimimin her aşamasında hatta tez örneklerimin toplanmasında dahi yanımda olan ve desteğini esirgemeyen değerli hocam ve tez danışmanım Prof. Dr. Kıymet AKSOY'a teşekkür ederim. Eğitim sürecinde teorik ve pratik bilgilerini aktaran değerli hocalarım Prof. Dr. Nurten DİKMEN'e, Prof. Dr. Levent KAYRIN'a, Prof. Dr. Akif ÇÜRÜK'e teşekkür ederim. 2003 yılında hazırladığı hemoglobinopati eğitim görsel sunumunu veren değerli hocam Prof. Dr. Abdullah TULİ'ye teşekkür ederim. Ayrıca Üniversitemizden bir süre önce ayrılan, eğitim sürecindeki değerli katkılarından dolayı Doç. Dr. Gülen ATTİLA'ya, Yrd. Doç. Dr. Tamer C. İNAL'a teşekkür ederim.

Tezdeki anket sorularının oluşturulması ve değerlendirilmesi aşamasında desteğini esirgemeyen Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Doç.Dr. Gülşah Seydaoğlu'na teşekkür ederim.

Hatay İli Valiliği'ne, Hatay İl Milli Eğitim Müdürlüğü'ne, Samandağ Yüksel Acun Anadolu Lisesi, Samandağ Teknik Anadolu Lisesi, Samandağ Kız Meslek Lisesi müdürlerine, öğretmenlerine ve öğrencilerine teşekkür ederim.

Güzel arkadaşlıklar ve dostlukların kurulmasını sağlayan, aramızdan ayrılan ve kalan tüm asistan arkadaşlarıma ve diğer çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Hayatıma anlam katan, yön veren, hep yanımda olan sevgili eşim Ayşegül YOLGA TAHİROĞLU'na teşekkür ederim. Biricik kızım Defne'ye ve destekleri için aileme teşekkür ederim.

Tez çalışmamı TF2008LTP14 nolu proje olarak destekleyen Çukurova Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	I
İÇİNDEKİLER	II
TABLO LİSTESİ.....	VI
ŞEKİL LİSTESİ.....	VII
SİMGELER ve KISALTMALAR	VIII
ÖZET.....	IX
ABSTRACT	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Antakya'nın Tarihçesi ve Coğrafik Özellikleri.....	3
2.1.1. Samandağ'ının Tarihçesi ve Coğrafik Özellikleri	4
2.2. Hemoglobinin Yapısı ve İşlevi.....	5
2.2.1. Globin Zincir Gen Yapısı.....	6
2.2.1.1. α -Benzer Globin Genler.....	7
2.2.1.2. β -Benzer Globin Genler.....	7
2.3. Hemoglobin Sentezi ve Hemoglobin Tipleri	8
2.4. Anormal Hemoglobinler	11
2.4.1. HbS (Hb Sickle Cell)	12
2.4.2. Hemoglobin C (HbC).....	12
2.4.3. Hemoglobin E (HbE)	13
2.4.4. Hemoglobin D (HbD)	13
2.4.5. Türkiye'de Görülen Anormal Hemoglobinler.....	14
2.4.6. Çukurova Bölgesinde Görülen Anormal Hemoglobinlerin Dağılımı...	18
2.5. Beta-talasemi.....	18
2.5.1. β -Talaseminin Patofizyolojisi.....	19
2.5.2. β -Talaseminin Klinik Formları.....	20
2.5.3. β -Talaseminin Moleküler Patolojisi.....	21
2.5.4. β -Talasemiye Neden Olan Mutasyonlar.....	22
2.5.4.1. Gen Delesyonları.....	22

2.5.4.2. Transkripsiyonel Mutasyonlar	22
2.5.4.3. RNA İşlemenme Mutasyonları	23
2.5.4.3.1. Splice Kavşağındaki Mutasyonlar	23
2.5.4.3.2. Konsensus Dizi Değişikliklerine Neden Olan Mutasyonlar	23
2.5.4.3.3. İntronlardaki Değişiklikler	23
2.5.4.3.4. Kodlanan Bölgedeki Mutasyonlar	24
2.5.4.4. RNA Translasyon Mutasyonları	24
2.5.4.4.1. Anlamsız Mutasyonlar	24
2.5.4.4.2. Çerçeve Kayması (Frameshift) Mutasyonları.....	24
2.5.4.5. Dominant Geçen β -Talasemi ve Stabil Olmayan β Globin Varyantları	25
2.5.4.6. Başlık Bölgesi (CAP Site) Mutasyonları.....	25
2.5.4.7. Başlangıç Kodonu Mutasyonları.....	25
2.5.4.8. 3' UTR Mutasyonları.....	25
2.5.4.9. Poliadenilasyon Sinyal Mutasyonları.....	26
2.5.5. Dünyada β -Talasemi Dağılımı.....	26
2.5.5.1. Türkiye'de β -Talasemi Dağılımı	26
2.5.5.2. Çukurova Bölgesinde β -Talasemi Dağılımı.....	29
2.6. α -Talasemiler.....	30
2.6.1. α Talasemi 1	31
2.6.2. α Talasemi 2	31
2.6.3. α Talasemi Klinik Formları.....	31
2.6.3.1. Sessiz Taşıyıcılık.....	31
2.6.3.2. α Talasemi Taşıyıcılığı	32
2.6.3.3. Hemoglobin H Hastalığı	32
2.6.3.4. Hemoglobin Barts Hidrops Fetalis	32
2.6.4. α -Talaseminin Coğrafik Dağılımı ve Sıklığı.....	33
2.6.4.1. Dünyada α Talasemi Sıklığı.....	33
2.6.4.2. Türkiye'de α Talasemi.....	33
2.6.4.3. Çukurova Bölgesinde α -Talasemi	34
2.7. Hemoglobinopati Eğitim Programı	34

2.7.1. Hemoglobinopati Kontrol Programları	35
2.7.2. Hemoglobinopati Eğitim Metodları.....	39
2.7.3. Ülkemizde Hemoglobinopati Eğitim Çalışmaları	40
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	42
3.1. Gereçler.....	42
3.1.1. Cihazlar	42
3.1.2. Kimyasal Malzemeler	43
3.2. Örnek Seçimi.....	44
3.3. Yöntemler.....	44
3.3.1. Hematolojik Çalışmalar	44
3.3.2. Hemoglobin Elektroforezi.....	44
3.3.2.1. Ayıraçlar	45
3.3.2.2. Yöntem	45
3.3.3. Mikrokolon Kromatografisi ile HbA2 Ölçümü.....	46
3.3.3.1. Ayıraçlar	46
3.3.3.2. Yöntem	47
3.3.4. Modifiye Betke Yöntemi ile Fetal Hemoglobin (HbF) Ölçümü	47
3.3.4.1. Ayıraçlar	47
3.3.4.2. Yöntem	48
3.3.5. Oraklaşma Testi.....	48
3.3.5.1. Ayıraçlar	48
3.3.5.2. Yöntem	48
3.3.6. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC).....	49
3.3.6.1. Yöntem	50
3.3.7. Tam Kandan DNA İzolasyonu	51
3.3.7.1. Yöntem	52
3.3.8. ARMS Yöntemi ile Mutasyonların Belirlenmesi	53
3.3.8.1. Amplifikasyon Koşulları	54
3.3.9. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP).....	57
3.3.10. Mikroarray Yöntemiyle Mutasyon Analizi	59
3.3.10.1. Mikroarray'in Çalışma Prensipleri	59
3.3.10.2. PCR Ürünleri.....	59

3.3.10.3. Mutant ve Yabanıl Tip İşaretleyici.....	59
3.3.10.4. Stabilizör	60
3.3.10.5. Mikroarray'in Çalışma Basamakları	61
3.3.10.6. Tam Kandan DNA İzolasyonu	61
3.3.10.7. Amplifikasyon.....	61
3.3.10.7.1. Ayıraçlar	61
3.3.10.7.2. Yöntem	61
3.3.10.7.3. Agaroz Jel Elektroforezi.....	62
3.3.10.7.4. Pürifikasyon.....	63
3.3.10.7.5. Yükleme	64
3.3.10.7.6. Okutma	65
3.3.10.7.7. Analiz	65
3.3.11. Gap PCR Yöntemi ile α Talasemi Mutasyon Taraması.....	66
3.3.11.1. Amplifikasyon Koşulları	66
3.4. Eğitim Materyalleri ve Anket Formu	69
3.4.1. Görsel Sunum: Hemoglobinopati Eğitimi	69
3.4.2. Bilgi ve İlgi Düzeyini Ölçmek İçin Hazırlanan Anket Soruları	69
4. BULGULAR.....	71
4.1. Anormal Hemoglobin Olguları	82
4.2. Beta Talasemi Olguları	91
4.3. Alfa Talasemi Olguları	94
4.4. Hemoglobinopati Konusuna İlgi ve Bilgi Düzeyini Ölçen Anket Verileri ...	97
5. TARTIŞMA.....	101
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	114
KAYNAKLAR	116
EKLER	128
EK-1 Etik Kurul Onay Formu	128
EK-2 Hatay Valiliği İzin Belgesi.....	129
EK-3 Onam Formu.....	130
EK-4 Görsel Sunum	131
EK-5 Anket Formu.....	136
ÖZGEÇMİŞ.....	137

TABLO LİSTESİ

Tablo No:

Sayfa No:

Tablo 1. İnsanda bulunan hemoglobin çeşitleri, alt birim yapıları ve var oldukları hayat dönemleri	11
Tablo 2. Türkiye’de saptanan anormal hemoglobin türleri	14
Tablo 3. Ülkemizde saptanan unstabil hemoglobinler.....	17
Tablo 4. Ülkemizde saptanan talasemik hemoglobinler.....	18
Tablo 5. Türkiye’de gözlenen beta talasemi mutasyonları.....	28
Tablo 6. Çukurova’da gözlenen beta talasemi mutasyonlarının sıklığı.....	30
Tablo 7. ARMS yönteminde kullanılan primerler.....	55
Tablo 8. ARMS yönteminde kullanılan Hb varyantların mutasyonlarına özgü primerler	55
Tablo 9. ARMS yönteminde kullanılan β -talasemi mutasyonlarına özgü primerler	55
Tablo 10. RFLP yönteminde kullanılan primerler.....	57
Tablo 11. Amplifikasyon döngü protokülünün ısı ve süreleri.....	62
Tablo 12. Amplikonlarda yer alan mutasyonlar	62
Tablo 13. Gap PCR yönteminde kullanılan primerler.....	68
Tablo 14. Olguların hematolojik verileri.....	73
Tablo 15. Hb AS ve Hb SS’li Olguların hematolojik verileri.....	83
Tablo 16. Hb AE’li Olguların hematolojik verileri	84
Tablo 17. Beta Talasemi Mutasyonu İçeren Olguların Hematolojik Verileri.....	91
Tablo 18. IVS I-110 mutasyonunun floresan sinyali, sinyal oranları ve analiz sonucunda belirlenen genotipi	92
Tablo 19. Cd 39 mutasyonunun floresan sinyali, sinyal oranları ve analiz sonucunda belirlenen genotipi	93
Tablo 20. Alfa talasemi mutasyonu çalışılan olgularının hematolojik verileri	95
Tablo 21. “Akdeniz Anemisi (Talasemi) ve Orak Hücre Anemisi hastalığı önemli bir halk sağlığı problemidir” sorusunun anket sonucu.....	97
Tablo 22. “Akdeniz Anemisi (Talasemi) ve Orak Hücre Anemisi hastalığı Çukurova bölgesinde yaygındır” sorusunun anket sonucu.....	98
Tablo 23. “Kalıtsal kan hastalıkları önlenabilir bir hastalıktır” sorusunun anket sonucu	98
Tablo 24. “Akdeniz Anemisi (talasemi hastalığı) ve/veya Orak Hücre Anemisi hastalığı bulaşıcıdır” sorusunun anket sonucu	98
Tablo 25. “Kalıtsal kan hastalığı taşıyıcılarında tedavi gereklidir” sorusunun anket sonucu	99
Tablo 26. “İki taşıyıcı çift evlendiğinde doğum öncesi tanı gereklidir” sorusunun anket sonucu	99
Tablo 27. “Akdeniz Anemisi (talasemi hastalığı) ve/veya Orak Hücre Anemisi sıtmanın yaygın olduğu yerlerde yaygındır” sorusunun anket sonucu.....	99
Tablo 28. “Akdeniz Anemisi (Talasemi) alyuvarlardaki hemoglobinin yeterli ya da hiç yapılamaması ile seyreden hastalıktır” sorusunun anket sonucu	100
Tablo 29. Toplam doğru yanıtlarının okullar arasındaki karşılaştırılması	100

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil No:

Sayfa No:

Şekil 1. Hem'in yapısı	6
Şekil 2. 16. ve 11. kromozomlarda yer alan globin gen bölgeleri	8
Şekil 3. Embriyonik ve fetal gelişimin farklı evrelerinde globin zincir sentezi	9
Şekil 4: Beta globin gen dizisi, RFLP için PCR primerleri ve Dde I kesim yerleri.....	58
Şekil 5. Talasemi ve Anormal Hemoglobin tarama şeması	72
Şekil 6. Hb AS'nin HPLC Görüntüsü.....	85
Şekil 7. Hb SS'in HPLC görüntüsü	86
Şekil 8. Hb AE'nin HPLC Görüntüsü	87
Şekil 9. Hb S'nin ARMS Görüntüsü.....	88
Şekil 10. Hb S'nin RFLP Görüntüsü	89
Şekil 11. Hb E'nin ARMS Görüntüsü	90
Şekil 12. IVS I-110 mutasyonunun mikroarray analiz grafiği	92
Şekil 13. Cd 39 mutasyonunun mikroarray analiz grafiği	93
Şekil 14. Alfa Talasemi mutasyon analizinin Agaroza Jel Elektrophorez Görüntüsü	96

SİMGELER ve KISALTMALAR

α	Alfa
β	Beta
δ	Delta
ϵ	Epsilon
γ	Gama
ζ	Zeta
θ	Teta
ψ	Psi
RBC	Alyuvar hücresi
Hb	Hemoglobin
Hct	Hematokrit
MCH	Ortalama Eritrosit Hemoglobini
MCV	Ortalama Eritrosit Hacmi
MCHC	Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu
DNA	Deoksiribo Nükleik asit
mRNA	Mesajcı Ribo Nükleik Asit
dNTP	Deoksi Nükleotit Tri Fosfat
IVS	İntron dizileri
Fsc	Frameshift
Cd	Kodon
PCR	Polymerase Chain Reaction
ARMS	Amplification Refractory Mutation System
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
EtBr	Etidyum Bromür
Kb	Kilo baz
bç	Baz çifti
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
UV	Ultra Viole (mor ötesi)
OD	Optik Dansite
N	Normalite
μ M	Mikro Molar
pM	Piko Molar
L	Litre
μ L	Mikro Litre
mA	MiliAmper
μ S	Mikro Siemens
nm	Nanometre
dk	Dakika
S.A.T.L.	Samandağ Anadolu Teknik Lisesi
S.K.M.L.	Samandağ Kız Meslek Lisesi
S.Y.A.A.L.	Samandağ Yüksel Acun Anadolu Lisesi
İ.Ö.	İsa'dan Önce
İ.S.	İsa'dan Sonra

ÖZET

Hatay-Samandağ Yöresindeki Liselerde Hemoglobinopati Tiplendirilmesi ve Bilgilendirilmesi Çalışması

Giriş ve Amaç: Dünya Sağlık Örgütü'nün yayınlarına göre, dünyada talasemi ve anormal hemoglobin sıklığı % 5,1 dir ve yaklaşık 266 milyon taşıyıcı vardır. Hemoglobin S'in Türkiye genelinde sıklığı % 0,37-0,60 arasında iken, Çukurova bölgesinin bazı yörelerinde bu sıklık % 3-44 arasındadır. Türkiye'de talasemi insidansı % 2,1 olarak bildirilmiştir. Hatay'ın Samandağ ilçesinde seçilen üç lisede öğrencilerin Hemoglobinopati tiplendirilmesi ve bilgilendirilmesi amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntem: 2008-2009 yılında görsel sunum öncesi ve sonrası öğrencilerin hemoglobinopati hakkında ilgi ve bilgi düzeyini ölçmek için anket uygulanmıştır. Alınan kan örneklerinin tam kan sayımı, hemoglobin tiplendirilmesi, HbA₂ ve HbF düzeyleri belirlenmiştir. Talasemi ve Anormal Hemoglobin olgularının DNA'ları izole edilip mutasyonlar ARMS, RFLP gibi geleneksel yöntemlerin yanı sıra mikroarray yöntemiyle çalışılmıştır.

Bulgular: Samandağ İlçesindeki seçilen üç lisede 32 olgu HbAS, 2 olgu HbSS olarak belirlenmiştir. 6 olgu Hb AE olarak belirlenmiştir. 5 olguda β talasemi taşıyıcısı olduğu belirlenmiş bunlardan 3'ünün IVS I-110 mutasyonunu taşıdığı, 1 olgunun Cd 39 mutasyonunu taşıdığı belirlenmiş olup, bir olgunun ise mutasyonu belirlenememiştir. 34 olgu α -talasemi açısından incelenmiş olup, 8 olgunun $\alpha^{3,7}$ mutasyonunu taşıdığı, 2 olgunun – –^{MED I} mutasyonunu taşıdığı belirlenmiştir. Görsel sunum öncesi ve sonrası anket sorularına verilen doğru cevaplar istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır.

Sonuç: Lise öğrencilerine konunun genel olarak iyi aktarılmış olduğu belirlenmiştir. Kalıtsal kan hastalıklarının önlenabilir olduğu iyi aktarılamadığı belirlenmiş ve bu bölüm için görsel sunum gözden geçirilmiştir. Gönüllü kişilerden alınan kan örnekleri incelenip, bireylerin hemoglobin kimliklendirilmesi sağlanmıştır. Sonuçlar bireylere tek tek teslim edilip, tüm taşıyıcılar için taşıyıcılık kavramı ve önemi konusunda ayrıca bilgilendirilme yapılmıştır.

Anahtar sözcükler: Anormal Hemoglobin, Talasemi, Moleküler Analiz, Eğitim

ABSTRACT

Education Program and Hemoglobinopathy Typing Study in the High School of Hatay-Samandag Region

Introduction and objectives: According to World Health Organization, the incidence of thalassemias and abnormal hemoglobins 5.1 % and there are approximately 266 million carriers in the world. Incidence of Hemoglobin S is 0.37-0.60 % in Turkey, it has been determined at the range of 3-44 % in some regions of Cukurova. The incidence of thalassemia has been reported as 2.1 % in Turkey. In this study, it was aimed that to determine and improvement of level of knowledge about hemoglobinopathies in the students of Samandag.

Material and methods: A questionnaire was applied to determine the level of knowledge of students before and after a half day long education program. Hematological parameters such as total blood count, hemoglobin types, and HbA₂ and HbF levels were measured in blood samples collected from these students. DNA isolation were made from cases with thalassemia and abnormal hemoglobin, mutation genotyping of these cases were carried out with ARMS, RFLP, and also microarray methodologies.

Results: 32 cases of Sickle cell anemia carrier and 2 cases of HBSS were determined in the tree high school of Samandag region. 6 cases were considered as Hb AE. β thalassemia carrying was determined in the 5 cases, 3 of them had IVS I-110 mutation, 1 of them had Cd 39 mutation, and mutation of a case cannot be determined. 34 cases were examined for α -thalassemia mutations, 8 of them had $\alpha^{3,7}$ mutation and 2 of them had – –^{MED I} mutation. Correct response rates of pre and post questionnaires were compared statistically.

Conclusions: Positive effect of education about the topic on students was observed. The parts of education about preventability of hemoglobinopathies were considered as insufficient so the parts of presentation which related to this topic were revisited. Blood samples of volunteers were analyzed and hemoglobin identifications were done. The results of analyses were reported individually for each case. The effected volunteers were informed about the mutation and their importance.

Keywords: Abnormal hemoglobin, Thalassemia, Molecular Analyze, Education

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Antakya, Batı ile Doğu kültürünün kesiştiği, toplumların kültür alışverişinde bulunduğu bir coğrafyada yer almaktadır. Konumu itibarıyla önemli bir ticaret ve geçiş merkezi olan Antakya, geçmişte ve günümüzde birçok dinden ve inançtan insanın bir arada yaşadığı bir kültür merkezi konumundadır. Günümüz Antakya'sında cami, kilise ve havra varlıklarını bir arada sürdürmektedir.¹

Samandağ ilçesi, Asi Nehri'nin Akdeniz'e dökülürken Musa Dağı, Keldağ ve Saman Dağı arasında oluşturduğu düzlükte yer alır. 446 kilometre karelik yüzölçümüne sahip olan ilçenin 13 belde ve 31 köy yerleşim yerinde 106.000 kişi yaşamaktadır. İlçe merkezinde yaşayan nüfus 35.000'dir. İlçede tarım, özellikle sebzeçilik, narenciye üretimi, balıkçılık ve taşımacılık geçim kaynaklarındandır. Genellikle Akdeniz iklimi egemendir. Samandağ'ında farklı din ve mezhepteki insanlar bir arada yaşamaktadırlar. Samandağ Antakya'ya 22 kilometre uzunluğundaki bir yol ile bağlıdır.²

Anormal hemoglobinler ve talasemiler, dünyada ve özellikle ülkemizin de yer aldığı Akdeniz kuşağında karşılaşılan en yaygın kalıtsal hastalıklardan bir tanesidir.³ Dünya Sağlık Örgütü'nün yayınlarına göre dünyada talasemi ve anormal hemoglobin taşıyıcı sıklığı % 5,1'dir ve yaklaşık 266 milyon taşıyıcı vardır. Halk sağlığı sorunu olan anormal hemoglobinlerin başlıcaları HbS, HbE, HbD, HbC ve HbO-Arab'dır.^{4,5}

Orak hücreli anemi ilk kez 1910 yılında Herrick tarafından 20 yaşlarında ağrıları ve kansızlığı olan bir hastanın kan yaymasının incelemesi sırasında oraklaşmış hücrelerin görülmesi ile tanımlanmıştır. Hastalığın merkezi Afrika olmakla birlikte göçler ile tüm dünyaya yayılım gerçekleşmiştir.⁶ Hemoglobinopatiler içinde Türkiye'de en sık görülen hemoglobin tipi hemoglobin S'dir. Türkiye genelinde sıklık % 0,37-0,6 arasında iken, özellikle Çukurova bölgesinde bazı yörelerde bu sıklık % 3-44 arasında saptanmıştır.⁷

Talasemi ilk kez 1925 yılında Detroitli pediatrist Dr.Thomas Cooley ve Pearl Lee tarafından şiddetli anemisi, dalak büyüklüğü ve karakteristik kemik değişiklikleri olan bir çocuk hastada tanımlanmıştır.⁸ Önceleri sadece Akdeniz ülkelerinde yaygın olduğu sanıldığından, adı Yunanca "Thalas" (Akdeniz) sözcüğünden gelmektedir. Günümüzde ise Kuzey Afrika, Ortadoğu, Hindistan, Çin, Güneydoğu Asya gibi malaryanın sık olduğu ülkelerde, Avrupa ve Amerika'da yüksek oranlarda gözlenmektedir.^{9,10}

Türkiye’de talasemi ile ilgili çalışmalar 1957 yılında Muzaffer Aksoy ile başlamıştır. Çavdar ve Arcasoy tarafından talasemi sıklığını gösteren ilk çalışmalar yapılmış ve Türkiye insidansı % 2,1 olarak bildirilmiştir. Bazı bölgelerde ise insidansın % 0,6-12 arasında olduğu gösterilmiştir.¹¹

Hemoglobin bozuklukları protein ve gen düzeyinde yapılan çalışmalar ile tanımlanabilmektedir. Protein düzeyindeki tanı yöntemleri; hemoglobin elektroforezi, yüksek basınçlı sıvı kromatografisi, HbA₂ miktarının saptanması gibi elektroforetik ve kromatografik yaklaşımları içermektedir. Gen düzeyindeki tanı yöntemleri ise günümüzde daha çok, ARMS, RFLP, SNP, Mikroarray, DNA dizi analizi ve benzeri yöntemler PCR tabanlı yaklaşımlara dayalı biçimde uygulanmaktadır.

Bu kalıtsal hastalıklar gen kaynaklı oldukları için sağlıklı bireylerin doğmasına yardımcı olabilmek amacıyla hemoglobinopati kontrol programları uygulanmaktadır. Bu programlar doğrultusunda, evlilik öncesinde bireylerin kimliklendirilmesi sağlanmakta ve olası taşıyıcı evliliklerinde çiftler doğum öncesi molekül sel tanı yöntemleri hakkında bilgilendirilerek sağlıklı bireylerin doğmasına yardımcı olmaya çalışılmaktadır.

Bu tez projesiyle de Hatay’ın Samandağ ilçesindeki üç liseye anormal hemoglobin ve talasemi konusunda eğitim verilmiştir. Eğitim öncesi ve sonrasında, öğrencilerin hemoglobinopati hakkında ilgi ve bilgi düzeyini ölçmek için anket uygulanmıştır. Gönüllü kişilerden kan örnekleri alınarak hemoglobinopati taraması yapılmıştır ve lise öğrencilerinin bilinçlendirilmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Antakya'nın Tarihçesi ve Coğrafik Özellikleri

Antakya, Anadolu'nun güneyinde, Akdeniz bölgesinin doğu ucunda yer alır. Antakya'nın Akdeniz'le bağlantısı kuzeyde Belen Geçidi üzerinden İskenderun Körfezi ile, güneybatıda Asi Nehri'nin denize döküldüğü yerde Samandağ Körfezi ile sağlanır.¹²

Güneyden Asi Nehri'nin açtığı vadi üzerinden Suriye-Filistin, doğuda Kargamış, Halep üzerinden Yukarı Mezopotamya uygarlıklarına ulaşan, yine Fırat Nehri üzerinden Basra Körfezine inen ticaret yollarının kesiştiği yer olan Amik Ovası ilk tunç çağlarından beri kentlerin biçimlendiği yer olmuştur. Bu ticaret yolları İ.Ö. 2200'den beri kullanılmaktadır. Helenistik dönemde bu rolü önce Amik Ovası'nda kurulan Antigoneia, daha sonra Selevkoslar döneminde Antiocheia üstlenmiştir.¹²

İ.Ö. 83'de Roma İmparatorluğunun egemenliği altına girmiş olan kent doğuya yapılan seferler için askeri üs olmuştur. Antakya'nın Kudüs'e yakın büyük ve zengin yerleşim merkezi olması, Anadolu ve Yunanistan'a ulaşan yolların kavşağında bulunması nedeniyle Kudüs'ten gönderilen havariler Hristiyanlığı yaymak üzere Antakya'ya gelmişler. Kent Kudüs'ün tahribinden sonra Hristiyanlığın merkezi olmuştur. Bizanslılar zamanında da önemini koruyan kent İran seferleri için bir üs olarak kullanılmıştır. İ.S. 525'te bir yangın geçiren kent 526'da ve 528'de meydana gelen büyük depremlerle tamamen harap olmuştur. Bizans kuvvetlerinin 636'da İslam orduları tarafından Yemrük savaşından sonra bir kısım halk şehri terketmiş ve Muaviye'nin Antakya'ya kırkiki cemaat yerleştirdiği nakledilmiştir. Kent 969'da tekrar Bizanslılar tarafından ele geçirilmiştir. Selçuklular döneminde Süleymanşah 1084-1085'te Antakya'ya hakim olmuştur. Antakya 1098'de Haçlıların eline geçmiştir. 1516'da Yavuz Sultan Selim'in fethiyle Osmanlı topraklarına katılmıştır. Antakya 1918'de bütün Suriye ile beraber İngilizlerin istilasına uğramış, daha sonra Fransızlar tarafından işgal edilmiştir. 1937'de "Hatay" devleti kurulmuş, 23 Haziran 1939'da Türkiye Cumhuriyeti'ne katılmıştır.¹²

2.1.1. Samandağ'ının Tarihçesi ve Coğrafik Özellikleri

Samandağ ilçesi, Asi Nehri'nin Akdeniz'e dökülürken Musa Dağı, Keldağ ve Saman Dağı arasında oluşturduğu düzlükte yer alır. 446 kilometrekarelik yüzölçümüne sahip olan ilçenin 13 belde ve 31 köy yerleşim yerinde 106.000 kişi yaşamaktadır. İlçede kilometrekareye düşen kişi sayısı 239'dur. İlçe merkezinde yaşayan nüfus 35.000'dir. İlçede tarım, özellikle sebzecilik, narenciye üretimi ve balıkçılık yaygındır. Taşımacılık da önemli geçim kaynaklarından. Genellikle Akdeniz iklimi egemendir. Samandağ'da farklı din ve mezhepteki insanlar birarada yaşamaktadırlar. Samandağ Antakya'ya 22 km uzunluğundaki bir yol ile bağlıdır.²

Antakya-Samandağ yolu ile Asi Nehri arasında 479 rakımlı bir dağ üzerinde bulunan St. Simeon Stilit Manastırı İ.S 6. yüzyılda yapılmış Antakya'lı St. Simeon'un bir sütun üzerinde 40 yıl yaşadığı yer olarak tanınmıştır. Genç Simeon'un sabrı, inancı ve dayanıklılığından dolayı mucizeler yarattığına inanıldığından dolayı o dönemler dağın adı "Mucizeler Dağı" olmuştur. Bu dağa daha sonra Simeon'un Arapça'da Sem'an olmasından dolayı "**Saman Dağı**" denilmiştir.²

Çevlik'te yapılan kazılarda elde edilen bulgular yöredeki yaşamın Orta Paleolitik (İ.Ö 100.000-40.000) döneme kadar uzandığına işaret etmektedir. Aynı yerde Üst Paleolitik Döneme ait araçlar ve insan kalıntılarına (Homo Sapiens Çevlikiyensis'ten kalma kemiklere) ulaşılmıştır. Ayrıca Meydan Köyü'nde bulunan Üç Ağızlı Mağarası'nda Üst Paleolitik Dönemin başlangıcına ilişkin buluntulara rastlanmıştır.²

Yazılı tarih döneminde İ.Ö 750 tarihlerine doğru Asi Nehri ağzına Yunanlılar tarafından Al-Mina Limanı kurulmuştur. O zamanlarda gemiler Asi Nehri yoluyla Antakya'ya kadar ulaşabiliyorlarmış. Bu liman önemini uzun süre korumuştur. Büyük İskender'den sonra kurulan Seleucus Krallığının hükümdarı Seleucus Nicator İ.Ö 23 tarihinde Seleucia Pieria (bugünkü Çevlik) liman kentini kurarak, ülkesinin başkenti yapmıştır.²

Roma hâkimiyeti döneminde İmparator Vaspasianus (İ.S 69) ve oğlu Titus tarafından limanı sel sularından korumak amacıyla tüneller yaptırılmıştır. Tünellerin yapımının 100 yıl sürdüğü sanılmaktadır. Samandağ, Selçuklu, Fatımi ve Memlük egemenliklerinden sonra 1516 yılında Yavuz Sultan Selim tarafından Osmanlı topraklarına katılmıştır.²

Birinci Dünya Savaşı sonrasında Fransız idaresinde kalan Samandağ, 1938 yılında Hatay Devleti'nin Antakya ilçesine bağlı "Süveydiye" nahiyesi olmuştur. 23 Temmuz 1939'da Hatay'ın Anavatan'a ilhakıyla Türkiye Cumhuriyeti'ne katılmıştır.

1948 yılında "Samandağ" adıyla ilçe olmuştur.²

2.2 Hemoglobinin Yapısı Ve İşlevi

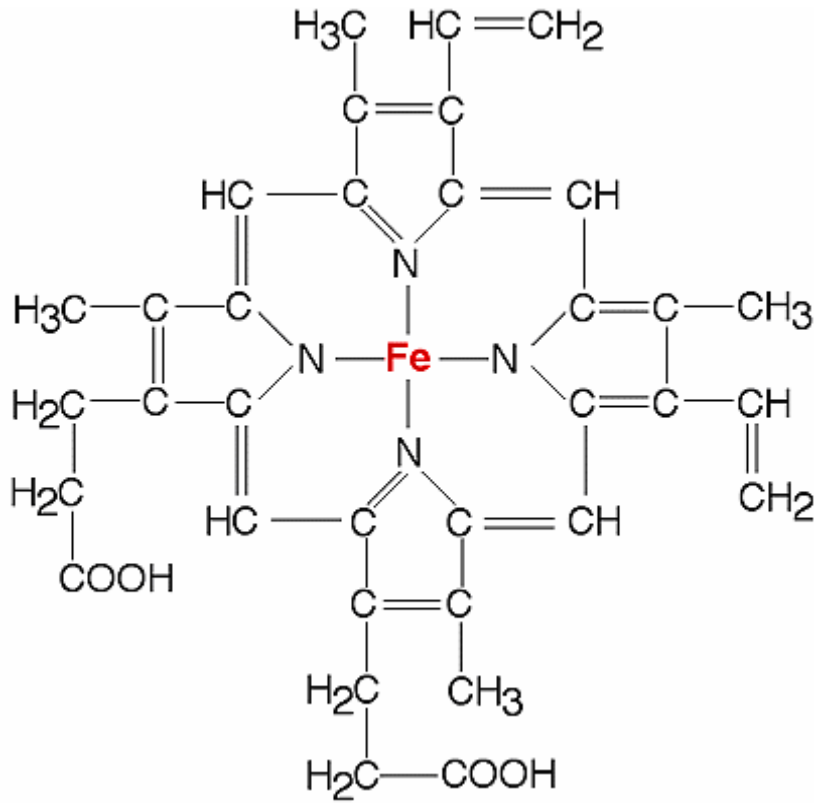
Eritrositlerin içinde yer alan ve yüksek konsantrasyonda oksijen bağlama yeteneği bulunan hemoglobin (Hb) molekülü, oksijeni akciğerlerden dokulara, karbondioksit ve protonları ise dokulardan akciğerlere taşımaktadır.¹³

Hemoglobin molekülü, hücre kuru ağırlığının % 60'ını, kan proteinlerinin 2/3'ünü oluşturmaktadır. Erkeklerde 100 mL kanda ortalama 15 g, kadınlarda ise 13 g hemoglobin bulunmaktadır.¹⁴ Hemoglobin molekülünün ağırlığı 64.500 daltondur.¹⁵

Hemoglobin, her biri içinde gömülü durumda hem grubu içeren ve globin olarak tanımlanan dört alt birimden oluşur. Bu alt birimler iki tane özdeş alfa (α veya ζ) ve iki tane beta (ϵ , δ , γ veya β) türü olarak tanımlanır.¹⁶

Hem grubu, globin molekülü yapısında yer alan hidrofobik bir çukura gömülü biçimde bulunur. Demir atomu, globin içerisine gömülü biçimde bulunan hem grubu ile düzlemsel-kare-düzenleşim karmaşasını (*square planar coordination complex*) oluşturur. (Şekil 1) Bu yapılanma içerisindeki demir atomu, beş numaralı düzenleşim bağı ile globin yapısında yer alan F8 konumundaki histidinin imidazol grubunun azot atomuna bağlıdır. Oksihemoglobinde altı numaralı düzenleşim bağı molekülse oksijen ile deoksihemoglobinde ise globine ait E7 histidin ile oluşturulur. Demir atomunun çapı altı odaklı düzenleşim karmaşası oluşturduğunda, hem düzlemi içerisinde yer alabilecek genişliktedir. Oksijen ile veya E7 histidin ile bağ kurulmadığı konumda ise, karmaşanın altıncı düzenleşim odağı ortadan kalktığından ötürü, demir atomu çapında bir genişleme oluşarak, demir atomu hem düzleminin 0,75 Å kadar dışında ve F8 histidine yakın konumda bulunacaktır. Demir atomunun bu özelliği nedeni ile hem düzlemi içerisindeki hareketi doğal olarak globinin üç boyutlu yapısına da yansımaktadır. Bunun bir sonucu olarak oksijenlenme sürecinde hemoglobin molekülünün tümü, üç boyutlu uzayda yapı değişikliğine uğramaktadır. Bu yapısal değişikliklerin kararlı biçimde korunmasında, globin alt birimleri arasındaki tuz köprülerinin katkısı olduğu bilinmektedir. Tüm bu

değişimlerin sonucunda; $\beta 1$ ve $\beta 2$ globin alt birimleri arasındaki uzaklık $33,4 \text{ \AA} - 40,3 \text{ \AA}$ Oksi-Hb-deoksi-Hb arasındaki değişikliği gösterir. Bu değişken yapısal farklılıklar, oksijene ilgisi düşük olan T (*tight*-sıkı) ve yüksek olan R (*relaxed*-gevsek) formlar olarak tanımlanır.¹⁷⁻²⁰



Şekil 1. Hem'in yapısı

2.2.1. Globin Zincir Gen Yapısı

Globin zincirlerinin aminoasit bilgileri iki farklı gen ailesinden oluşur. Her polipeptid zinciri bir Yunan alfabesi tarafından adlandırılır.

2.2.1.1. α -Benzer Globin Genler

16. kromozomun kısa kolunun p13.3 bölgesinde bulunmaktadır ve genomda yaklaşık 30 kb'lık bir yer tutar. 5' uçtan başlayarak 3' ucuna doğru ζ , $\psi\zeta$, $\psi\alpha_2$, $\psi\alpha_1$, α_2 , α_1 ve θ şeklinde sıralanmaktadır¹⁵(Şekil 2).

2.2.1.2. β -Benzer Globin Genler

11. kromozomun kısa kolu üzerinde p14 bölgesinde bulunur. Genomda yaklaşık 50 kb'lık yer tutar. 5' uçtan başlayarak 3' ucuna doğru ϵ , $G\gamma$, $A\gamma$, $\psi\beta$, δ ve β şeklinde sıralanmıştır¹⁵(Şekil 2).

β lokusu üzerinde bulunan $G\gamma$ ile $A\gamma$ genleri de yapısal olarak benzer protein ürünü vermektedir. Gama globin zincirlerinin bu iki geni 136. pozisyonadaki aminoasit açısından farklılık gösterir. $G\gamma$ globin zincirinde 136. aminoasit Glisin, $A\gamma$ globin zincirinde ise aynı pozisyonda Alanin bulunur. $A\gamma$ globin zincirinin ayrıca iki varyantı vardır. Bu varyantlardan 75. aminoasitte treonin içeren $A\gamma T$, İzolösin içeren $A\gamma I$ olarak adlandırılır. $A\gamma T$ varyantı özellikle bazı ırksal gruplarda sık gözlenir. Fetal yaşamda total gama zincirlerinin % 75'ini $G\gamma$, % 25'ini ise $A\gamma$ oluşturur. Doğum sonrası bu oran değişir ve erişkinde $A\gamma$ oranı % 60'a yükselirken, $G\gamma$ oranı ise % 40 civarına düşer. Epsilon, gama, delta ve beta zincirleri 146, alfa zincirleri ise 141 aminoasitten oluşurlar. Bu globinleri kodlayan genler ise 3 ekson ve 2 introndan meydana gelmektedir.¹⁵

Globin zincirini şifreleyen dizilerin olduğu gen bölgelerine ekson, proteine dönüşmeyen dizileri içeren bölgelere ise intron denilmektedir. Translasyona uğramamasına rağmen 5' ve 3' bölgelerindeki diziler oldukça önemli olup gen ekspresyonunda rol oynarlar.¹⁵

β -globin geni, β -globin zincirindeki 146 aminoasidi kodlamak için gerekli bilgiyi, 3 ekson, 2 intronda içerirken 5' ve 3' düzenleyici bölgeleri de kapsayan yaklaşık 1,8 kb uzunluğunda gen bölgesine sahiptir.¹⁵

β benzer genlerinde ekson 1'de ilk 30 aminoasiti, ekson 2'de 74 (31–104) ve ekson 3'de 42 aminoasidi (105–146) kodlamaktadır, α geni de ekson 1'de ilk 31 aminoasiti, ekson 2 (32–99) 67 aminoasit ve ekson 3 (100–141) 41 aminoasidi kodlamaktadır.¹⁵

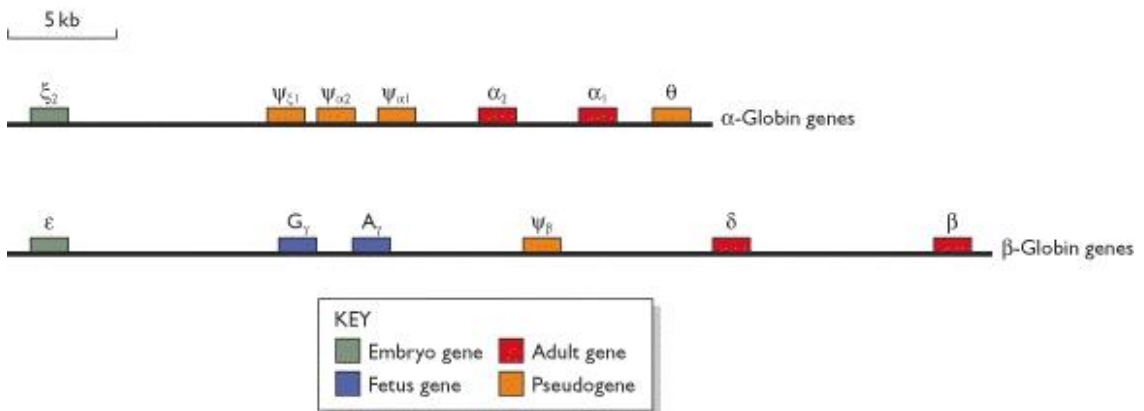
β -globin geninde oluşan mutasyonlar β -talasemiye, orak hücreli anemiye ya da diğer anormal hemoglobinelere neden olmaktadır.^{15,21}

2.3. Hemoglobin Sentezi Ve Hemoglobin Tipleri

Hem grubu ve globin zincirlerinin ortak üretimine bağlı olarak hemoglobin sentezi gerçekleşmektedir. Eritrosit öncüllerinde, hem grubu, mitokondri ve sitoplazma kısımlarında sentezlenmektedir. Olgun eritrositler mitokondri içermedikleri için hem grubunu sentezleyememektedirler.²²

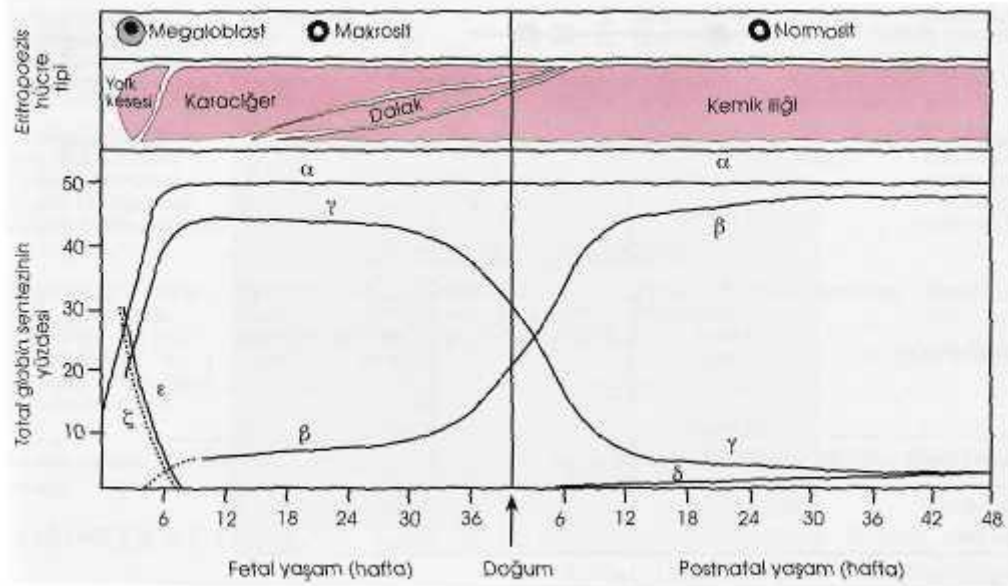
Normal erişkin hemoglobin molekülünün protein kısmını oluşturan alfa ve beta globin zincirleri, globin genlerinin ürünleri olarak sentez edilmektedirler. Globin genleri, genel olarak aynı yapısal özellikleri göstermektedirler. İnsan globin genleri; üç ekson, iki intron, 5' ve 3' uçlarında ise gen ifadesini düzenleyici bölgeler içermektedirler.²³

İnsan 16. kromozomunun kısa kolunda 30 kilobaz uzunluğundaki DNA bölgesine alfa gen ailesi yerleşmiştir. Alfa globin gen ailesi içinde yer alan yetişkin ve fetal dönemde 141 aminoasitten oluşan alfa globin zincirlerinin sentezlenmesinden sorumlu olan alfa globin genleri, 3' ucunda iki kopya halinde yer almakta, alfa 2 (α_2) ve alfa 1 (α_1) olarak adlandırılmaktadır. Her iki genden, aynı yapısal özelliklere sahip olan ürünler sentez edilmekte ve hemoglobin A, A₂ ve F'in yapısına katılmaktadır. Embriyonik dönemin ilk birkaç haftasında sentezlenen hemoglobinler Gower-1, Gower-2, Portland 1 ve Portland 2 olarak adlandırılırlar.²⁴



Şekil 2. 16. ve 11. kromozomlarda yer alan globin gen bölgeleri

Beta globin gen ailesi 11. kromozomun kısa kolu üzerinde 50 kilobaz uzunluğundaki DNA bölgesine yerleşmiştir. Bu gen ailesinde yer alan işlevsel genlerin ürünleri 146 aminoasit uzunluğunda olup, 5' ucundan başlayarak 3' ucuna doğru embriyonal dönemden yetişkin döneme doğru gelişim boyunca sırayla ifade edilmektedir. Beta globin gen bölgesinin 5' ucunda yer alan, döllenen sonra ilk oniki hafta içinde ifade edilen ve embriyonik gen olarak adlandırılan epsilon gen ürünü hemoglobin Gower-I ($\zeta_2\epsilon_2$) ve Gower-II ($\alpha_2\epsilon_2$)'nin yapısına katılmaktadır. Fötal evrede ifade edilen gama G ve gama A gen ürünleri hemoglobin Portland ve hemoglobin F ($\alpha_2\gamma_2$)'nin yapısına katılmaktadır. Gama G ve gama A genleri arasındaki farklılık, gama G globin zincirinin 136. amino asitinin glisin olması, gama A globin zincirinde ise aynı pozisyonda alanin içermesinden kaynaklanmaktadır. Beta globin gen ailesi sonunda yer alan delta ve beta genleri yetişkin dönemde ifade edilmektedir. Bu genlerin ürünleri ise normal yetişkin hemoglobinleri olan hemoglobin A₂ ($\alpha_2\delta_2$) ve A ($\alpha_2\beta_2$)'nin yapısına katılmaktadır²⁴(Tablo 1).



Şekil 3. Embriyonik ve fetal gelişimin farklı evrelerinde globin zincir sentezi

Gelişim boyunca, globin genlerinin ifadesinin düzenlenmesi, globin değişikliği (*globin switching*) olarak adlandırılmakta ve gelişimsel gen ifadesinde klasik örnek olarak gösterilmektedir. İki globin zincirine ait genler, 5' ucundan 3' ucuna doğru gelişim boyunca sırayla ifade edilmektedir. Gelişime bağlı olarak ifade edilen zincirlerin birbirlerine oranları Şekil 3'de gösterilmektedir. Bu ifade sonucu alfa, beta ve benzeri genlerin ürünleri dengeli miktarda üretilmektedir. Globin genlerinin sırayla ifade edilmesi aşamalarında, eritropoezin gerçekleştiği organlar değişmektedir.²⁵

Döllenmenin 3. ve 8. haftalarında, eritropoez sarı kesede (*yolk sac*) meydana gelmektedir. Bu dönemde sırasıyla; Gower-I, Gower-II, Portland-I ve Portland-II hemoglobinleri sentezlenmektedir. Döllenmenin yaklaşık 5. haftasından itibaren, eritropoez embriyonik karaciğerde gerçekleşmeye başlar. İstisnalar olmakla beraber, döllenmeden sonra onikinci haftadan itibaren fetal eritrositlerde hemoglobin F sentezi görülür. Fetal hemoglobinde bulunan γ -zincirlerinin, hemoglobin A'daki beta globin zincirlerindeki histidin grupları yerine serin grupları taşıması, hemoglobin F'nin oksijene olan ilginliğini artırır. Hemoglobin F'nin bu özelliği, düşük kısmi oksijen basıncında yaşayan fetusa gerekli oksijenin sağlanmasında katkıda bulunur. Doğumdan sonra gama globin zincirinin sentezi azalırken, beta globin zincirinin sentezi artmaktadır. Bu değişime rağmen doğumdan yedi-sekiz ay sonrasına kadar hemoglobin F, önemli miktarda sentezlenmeye devam etmektedir. Ancak HPFH (*Hereditary Persistence of Fetal Hemoglobin*) olarak adlandırılan durumda, γ -globin zincir sentezi doğumdan sonra azalmadan devam etmekte ve buna bağlı olarak Hb F miktarı normal değer üzerinde saptanır.²⁵

Normal yetişkin hemoglobini olan hemoglobin A ($HbA:\alpha_2\beta_2$), iki alfa ve iki beta globin zincirinden meydana gelmektedir. Hemoglobin A, doğumdan sonra on sekiz ile yirmi dört hafta içinde temel hemoglobin konumunu almaktadır. Bir diğer yetişkin hemoglobin türü olan hemoglobin A₂ ($HbA_2:\alpha_2\delta_2$) iki alfa ve iki delta globin zincirinden oluşmaktadır. Hemoglobin A₂, normal yetişkinlerde toplam hemoglobinlerin, ortalama % 3-3,5'ini oluşturmaktadır.²⁵ Hemoglobin A₂ miktarının ölçülmesi, β -talasemi tanısında yol göstericidir. İnsanda bulunan hemoglobin tipleri, alt birim yapıları ve var oldukları hayat dönemleri Tablo 1'de özet halinde verilmiştir.

Tablo 1. İnsanda bulunan hemoglobin çeşitleri, alt birim yapıları ve varoldukları hayat dönemleri

Hemoglobin Tipi	Alt birimleri	Varolduğu Hayat Dönemi
Gower-I	$\zeta_2\epsilon_2$	Erken fetal dönem
Gower-II	$\alpha_2\epsilon_2$	Erken fetal dönem
Portland-I	$\zeta_2\gamma_2$	Erken fetal dönem
Portland-II	$\zeta_2\beta_2$	Erken fetal dönem
F	$\alpha_2\gamma_2$	Geç fetal dönem
A	$\alpha_2\beta_2$	Normal yetişkindeki baskın tip
A ₂	$\alpha_2\delta_2$	Normal yetişkindeki % 2'si

2.4 Anormal Hemoglobinler

Kalıtsal hemoglobin bozuklukları, yapısal hemoglobin türleri ve talasemiler olmak üzere iki ana gruba ayrılırlar. Yapısal hemoglobin türleri α ve β zincirlerindeki tek aminoasit değişikliklerine neden olan mutasyonlar nedeni ile oluşurlar. Bu hemoglobin bozukluklarının birçoğu herhangi bir klinik belirti vermemekte, buna karşın bazı türleri hemoglobinin yapısal ve işlevsel özelliklerini değiştirerek klinik sorunlara neden olmaktadır.¹⁹

Anormal hemoglobin ve talasemiler konusunda hizmet veren globin gene sunucusunda (<http://globin.cse.psu.edu>) yayınlanan varyantların sayısı 1027'e ulaşmıştır.²⁶ Bu anormal hemoglobin türlerinden HbS, HbC, HbE ve HbD sık rastlananlar içinde yer alır.¹⁹ Bu anormal hemoglobinlerin hematolojik özellikleri ve elektroforetik hareketleri tanımlanmış ve ortaya çıkan bu farklı oluşumların molekül sel temelinin mutasyonlar nedeni ile oluşan aminoasit farklılıklarından meydana geldiği belirlenmiştir.²⁷ Bu anormal hemoglobin mutasyonlarının % 34'ü α globin zincirinde, % 55'i β globin zincirinde, % 8'i γ globin zincirinde ve % 3'ü δ globin zincirinde tanımlanmıştır. Birçok mutasyon tek nükleotit değişimiyle oluşmuş olsa da bazı mutasyonlar tek veya daha fazla nükleotit eklenmesiyle (*insertion*), çıkması ile (*deletion*) veya globin genlerinin yeniden düzenlenmesiyle oluşmuştur.^{28,29}

Yaygın olarak görülen yapısal Hb varyantları; HbS, HbC, HbE ve HbD'dir. Bu varyantların hepsi β -globin zincir varyantlarıdır.

2.4.1. HbS (Hb Sickle Cell)

Hb molekülünün ilk keşfedilen varyantı HbS'tir. HbS'de, HbA'dan farklı olarak β -globin zincirinin 6. pozisyonunda glutamik asit yerine valin ($\beta 6 \text{ Glu} \rightarrow \text{Val}$) bulunmaktadır. Bu tek aminoasit değişimiyle, HbS taşıyan eritrositler deoksijenasyonla orak şekline gelip polimerize olduklarından eritrositlerin yıkılmasına ve çeşitli klinik problemlere neden olmaktadır. HbS'li eritrositlerin ömrünün 16 gün olduğu saptanmıştır.^{30,31} Bu varyantın ilk oluşumunun Orta Afrika'daki siyah popülasyonda olduğu düşünülmektedir. Bu bölgelerde yüksek oranda malarya görülmektedir. HbS heterozigot bireylerin *Plasmodium falciparum* malarya parazitiine karşı, HbA taşıyanlardan daha dirençli olduğu ve bu bireylerde hastalığın daha hafif seyrettiği saptanmıştır. Bu durum biyolojik direnç ve çevre arasındaki ilişkiye bir örnek olup dengelenmiş polimorfizm olarak bilinir.^{3,32}

HbS geni, tropikal Afrika'da % 20, bazı Afrika kabilelerinde % 40 oranında görülmektedir. HbS geni ayrıca, Türkiye, Yunanistan, İtalya ve İspanya gibi Akdeniz ülkelerinde, Orta Asya'daki Arap ülkelerinde ve Doğu Hindistan'da bulunmaktadır. Ayrıca Latin Amerika zencilerinde, Orta ve Güney Amerika'da da (Brezilya) görülmektedir.^{3,32} HbS genini heterozigot taşıyan (HbA/S genotipli) bireyler, orak hücre taşıyıcısıdır. Eritrositlerde HbA ve HbS birlikte bulunur. Bu bireylerde dolaşımdaki hemoglobin S konsantrasyonu % 50'den azdır. Orak hücre taşıyıcılarının kan morfolojileri, fiziksel gelişimleri, aktiviteleri ve yaşam süreleri normaldir.^{33,34}

HbS/S genotipli bireylerde otozomal resesif kalıtsal hastalık olan "orak hücre anemisi" (sickle cell anemia) görülür. Anemi, bazı enfeksiyonların şiddetinde artış, organ hasarına yol açabilecek doku enfarktüsleri ve tekrarlayan ağrılar bu sendromun klinik belirtileri arasında yer almaktadır. Hastalar genellikle ilk yaşlarda kaybedilmektedir. Bu bireylerin eritrositlerinde, HbS ve HbF bulunmaktadır.^{34,35}

2.4.2. Hemoglobin C (HbC)

HbC varyantı, β -globin polipeptid zincirinde 6. pozisyonundaki glutamik asit yerine lizin amino asitinin ($\beta 6 \text{ Glu} \rightarrow \text{Lys}$) geçmesiyle oluşmaktadır. Bu değişiklik eritrositin dikdörtgen şeklinde deforme olmasına ve kristalleşerek çökmesine neden

olmaktadır.^{30,34} Bu Hb varyantının da malarıyaya karşı direnç sağladığı saptanmıştır.³⁶ Bu varyant daha çok Afrika kökenli siyah populasyonlarda görölmektedir. Özellikle Afrika'nın batı sahilinde yaşayan zencilerde % 26 oranında bulunmaktadır. Liberya, Cezayir ve Amerika siyah populasyonunda % 2 oranındadır. HbC'ye ayrıca Türkiye, İtalya, Yunanistan, Hollanda ve Orta Asya'da da rastlanmaktadır.^{32,34} HbC taşıyıcısı olan Hb C/A heterozigot bireylerde önemli bir klinik belirti görölmezken, Hb C/C homozigot bireylerde kronik hemolitik anemi ve splenomegali görölmektedir. Hb S/C heterozigot bireylerinde ise "hemoglobin SC hastalığı" görölür. Bu hastalar orak hücre sendromundaki klinik tabloyu gösterirler.^{34,35}

2.4.3. Hemoglobin E (HbE)

HbE'de β -globin polipeptid zincirinde 26. pozisyonadaki glutamik asit yerine lizin aminoasiti (β 26 Glu→Lys) geçmektedir. Bu değişim, pre-mRNA'nın fonksiyonel mRNA'ya dönüşüm işleminde anormalliğe neden olduğundan HbE, olması gerektiğinden daha az miktarda sentezlenmektedir.^{30,37} HbE'nin de, S ve C varyantları gibi malarıyaya karşı koruyucu etkisi olduğu saptanmıştır.^{38,39}

Hemoglobinin E varyantı daha çok Uzak Doğu Asya populasyonlarında yaygın olarak görölmektedir. Tayland'da % 8-55, Kamboçya'da % 32, Laos'da % 28, Vietnam'da % 3-9, Malezya'da % 5-28, Endonezya'da % 0-16, Hindistan'da % 3, Seylan'da % 12 oranında saptanmıştır. Ayrıca İran, Suudi Arabistan'ın doğusu, İtalya, Yunanistan ve Türkiye'de de görölmektedir.^{32,34}

Hb A/E heterozigotlarında herhangi bir belirti görölmemektedir. Eritrositlerdeki HbE oranı yaklaşık % 27 civarındadır. Hb E/E homozigot bireylerinde, orta derecede anemi görölmekte olup eritrositlerin ömrü biraz kısalmıştır.³⁷

2.4.4. Hemoglobin D (HbD)

Elektroforetik göçlerine dayanılarak HbD olarak adlandırılan birkaç varyant bulunmaktadır. HbD'ler alkali selüloz asetat elektroforezinde HbS ile birlikte, asidik sitrat agar elektroforezinde ise; HbA ile birlikte göç etmektedirler. HbD'nin en yaygın görölen formu, Hb D-Punjab'dır. Bu varyant, Hindistan'ın Punjab bölgesinde ve

Pakistan’da yaygın olarak görülmektedir. Hb D-Punjab’ta, β -polipeptid zincirinin 121.pozisyonundaki glutamik asit yerine glisin aminoasiti (β 121 Glu→Gln) geçmiştir.^{30,37}

Hemoglobinin bu varyantı, Avusturya, İspanya, Yunanistan, İngiltere, Almanya, Portekiz, Türkiye, İran ve Hindistan’da gözlenmektedir.^{32,34}

Hb A/D heterezigot ve Hb D/D homozigot genotipli bireylerde herhangi bir belirti görülmemektedir. Hb S/D genotipli bireylerde orak hücre sendromu görülmektedir.³⁴

2.4.5. Türkiye’de Görülen Anormal Hemoglobinler

Türkiye’de yapılan çalışmalarda, Tablo 2’de gösterildiği gibi, yaklaşık olarak 48 anormal hemoglobin türü tanımlanmış olup, bunlardan 16 tanesi α globin zincirinde, 28 tanesi β globin zincirinde, 2 tanesi de γ globin zincirinde yer almaktadır.^{41,42}

Tablo 2. Türkiye’de saptanan anormal hemoglobin türleri

Anormal Hemoglobinin İsmi	Mutasyon
α - globin zincirinde oluşan anormal hemoglobinler	
Hb O-Padova	α 30 (B11) Glu → Lys (GAA→AAG)
Hb Setif	[α 94 (G1) Asp→Tyr]
Hb Bronovo	[α 103 (His →Leu)]
Hb Hasharon	α 47(CE5) Asp→ His (GAC→CAC)
Hb Montgomery	α 48(CE6) Leu → Arg (CTG→CGG)
Hb Adana	α 59(E8) Gly → Asp (GGC→GAC)
Hb J-Anatolia	α 61(E10) Lys→Thr (AAG→ACG)
Hb Ube- 2	α 68(E17) Asn→Asp (AAC→GAC)
Hb Q-İran	α 75 (EF4)Asp→His (GAC→CAC)
Hb Moabit	α 86(F7) Leu→Arg (CTG→CGG)
Hb M-Iwate	α 87(F8) His→Tyr (CAC→TAC)
Hb Çapa	α 94(G1) Asp→Gly (GAC→GGC)
Hb G-Georgia	α 95(G2) Pro→Leu (CCG→CTG)
Hb Strumica	α 112(G19) His→Arg (CAC→CGC)
Hb J-Meerut	α 120(H3) Ala→Glu (GCG→GAG)
Hb J-Paris I	α 2[A10] Ala→Asp β 2
β - globin zincirinde oluşan anormal hemoglobinler	
Hb S	β 6(A3) Glu →Val (GAG→GTG)
Hb C	β 6(A3) Glu →Lys (GAG→AAG)
Hb Ankara	β 10(A7) Ala →Asp (GCC→GAC)
Hb E- Saskatoon	β 22(B4) Glu →Lys (GAA→AAA)
Hb G- Coughatta	β 22(B4) Glu →Ala (GAA→GCA)
Hb D- İran	β 22(B4) Glu →Gln (GAA→CAA)
Hb E	β 26(B8) Glu →Lys(GAG→AAG)
Hb Knossos	β 27(B9) Ala→Ser (GCC→TCC)
Hb Hakkâri	β 31(B13) Leu→Arg (CTG→CGG)
Hb G-Copenhagen	β 47(CD6) Asp→Asn (GAT→AAT)
Hb Summer Hill	β 52(D3) Asp→His (GAT→CAT)

Tablo 2. Devamı	
Hb Hamadan	β56(D7) Gly→Arg (GGC→CGC)
Hb J-Antakya	β65(E9) Lys→Met (AAG→ATG)
Hb City of Hope	β69(E13) Gly→Ser (GGT→AGT)
Hb J- İran	β77(EF1) His→Asp (CAC→GAC)
Hb G-Szuhu	β80(EF4)Asn→Lys (AAC→AAAvaya AAG)
Hb İstanbul Saint Etienne	β92(F8) His→Gln (CAC→CAA veya CAG)
Hb N-Baltimore	β95(FG2) Lys→Glu (AAG→GAG)
Hb Köln	β98(FG5) Val→Met (GTG→ATG)
Hb D-Los Angeles	β121(GH4) Glu→Gln (GAA→CAA)
Hb O-Arab	β121(GH4) Glu→Lys (GAA→AAA)
Hb Beograd	β121(GH4) Glu→Val (GAA→GTA)
Hb Sarrebourg	β131(H9) Gln→Arg (CAG→CGG)
Hb Brockton	β138(H16) Ala→Pro (GCT→CCT)
Hb Volga	[β27(B9) Ala→Asp]
Hb Siirt	[β27(B9) Ala→Gly]
Hb Pyrgos	[β83(EF7) Gly→Asp]
Hb D Punjab	[β121 Glu→Gln]
Hb Tyne	(β5 Pro→Ser) ve Hb S (B6 Glu→Val)
γ - globin zincirinde oluşan anormal hemoglobinler	
Hb F-Baskent	γ128(H6) Ala→Thr (GCT→ACT)
Hb A2 Yialousa	(D82 C-T Ala28Ser)

Aksoy 1961 yılında 966 Eti Türk bireylerinde yaptığı çalışmada HbS oranını % 16,8 olarak bulmuştur.⁴²

Çavdar ve arkadaşları 1976 da Hb Lepore Boston'u Türkiye'de ilk kez rapor etmiştir.⁴³

Aksoy 1980 yılında Antalya'da 135 kişide yapılmış çalışmada HbS oranını % 2,3 olarak bulmuştur.⁴⁴

Aksoy 1985 yılında batıdan göç eden sağlıklı olduğu düşünülen 102 Türk bireyde HbS ve Hb O-Arap oranını % 2,9-% 3,9 olarak bulmuştur.⁴⁵

Yenice ve arkadaşları 2000 yılında Nazilli'de 28 yaşındaki bayan hastada HbG-Coushatta, Muğla'da 14 yaşında bir erkek hastada Hb J-İran saptamışlardır.⁴⁶

Keser ve arkadaşları Hb Antalya'da (codon 3-5) kodon 5 te sitozin delesyonu (-C) kodon 3 te timin insersiyonu(+T) olduğunu saptamışlardır. β globin genin 1. eksonunda bu mutasyona bağlı 3.-5. kodonda aminoasit dizilişinin Leu-Thr-Pro à Ser-Asp-Ser'e dönüştüğünü göstermişlerdir.⁴⁷

İrken ve arkadaşları 2002 yılında Ege bölgesinde 1997-1999 yılları arasında anemi nedeniyle başvuran 3228 hastayı Hb elektroforezi ve HPLC ile incelemişlerdir. S-β talasemi oranını % 0,37, HbD taşıyıcılığını % 0,37, HbS taşıyıcılığını % 0,32, HbE taşıyıcılığını % 0,18, Hb O-Arap taşıyıcılığını % 0,12, Hb G-Copenhagen taşıyıcılığını %

0,09, Hb D-İran taşıyıcılığını % 0,06, Hb Lepore taşıyıcılığını % 0,06 ve Hb Hasharon taşıyıcılığını % 0,03 olarak bulmuşlardır.⁴⁸

Akar ve arkadaşları 2003'de bir Türk ailesinde hemoglobin Hamadan ve β talasemi kombinasyonu saptamışlardır. Ailede babanın homozigot Hb Hamadan ve büyükbabanın da Hb Hamadan β talasemi kombinasyonu olduğunu göstermişlerdir.⁴⁹

Atalay ve arkadaşları Denizli ilinde Hb D-Los Angeles'in birinci sıklıkta gözlemlendiğini (% 57,8) ve 2. sıklıkta HbS (% 21,9) olduğunu, Hb G-Coushatta (% 15,6), Hb E Saskatoon (% 3,1) ve HbC (% 1,6) nin de bulunduğunu bildirmişlerdir.⁵⁰

Alfa zincir varyantlarından Hb Adana'nın Hb Barts ile birlikteliği gösterilmiştir.⁵¹ Beta zincir varyantlarından Hb Çapa, Hb Ankara, Hb Hakkâri, HbJ-Antakya ve Hb İstanbul ilk kez Türklerde tanımlanmıştır (Tablo 2). Hb İstanbul Fransız araştırmacılar tarafından başka bir hastada Hb Saint Etienne olarak rapor edilmiştir. Heterozigotlarda anormal hemoglobin miktarı % 25 ve HbF düzeyi ise % 20 olarak saptanmıştır. İlk kez toplumumuzda saptanan Hb Hakkâri ve Hb Adana'nın unstabil olduğu bildirilmiştir. Bu unstabil hemoglobine ek olarak, Hb Moabit ve Hb Köln de saptanmıştır. Hb Moabit İsviçre'de yaşayan bir Türk ailesinde, Hb Köln ise birkaç ülkede rapor edilmiş unstabil hemoglobindir^{40,52}(Tablo 3).

Ülkemizde nadir görülen diğer bir varyant olan Hb Beograd elektroforezde S/D ile aynı yere göç etmektedir. Anormal hemoglobin miktarı % 30,6 olarak saptanmıştır.⁵³

Hb Antalya da ise aminoasit delesyonu ve insersiyonu beraber görülmüştür. Beta genindeki küçük bir delesyon ve insersiyon sonucunda mikrositoz ve yüksek HbA₂ düzeyi saptanmıştır. Elektroforezde anormal hemoglobin tespit edilmemesine rağmen klinik ve hematolojik verileri heterozigot β -talasemiden daha ağırdır.⁴⁰

Dinçol ve arkadaşları bir Türk erkeğinde Hb J-Meerut [α 120(H3) Ala→Glu (α 1)] mutasyonu olduğunu göstermişlerdir. Hb J Meerut, oksijen afinitesinde hafif artış, arteriyel kanda düşük P₅₀ değerleri ve kırmızı kan hücre sayısında hafif bir artış olduğunu bildirmişlerdir.⁵⁴

Keser ve arkadaşları bir olguda, normal HbA₂ düzeyine sahip Hb Knossos [β 27(B9) Ala→Ser] un IVS II-745 beta talasemi mutasyonu ile çift heterozigotluğu durumunda talasemi major fenotipine neden olduğunu bildirmişlerdir.⁵⁵

Köseler ve arkadaşları Denizli’de 32 yaşındaki bir erkek olguda Hb D-Ouled Rabah [$\beta 19(B1) \text{ Asn} \rightarrow \text{Lys}$] Türkiye’de ilk defa saptamışlardır. Hb D-Ouled Rabah taşıyıcısı olan olguda hematolojik verilerin normal olduğunu bildirmişlerdir.⁵⁶

Atalay ve arkadaşları Ege bölgesinde yaşayan bir ailede Hb Yaizu [$\beta 79(\text{EF3}) \text{ Asp} \rightarrow \text{Asn}$] taşıyıcılığını saptamışlardır. Hb Yaizu alkali pH hemoglobin elektroforezinde HbS den daha hızlı göç ettiğini ancak asidik pH da daha yavaş göç ettiğini saptamışlardır. Hb Yaizu taşıyıcılarının hematolojik ve klinik olarak önemli bulgu vermediğini bildirmişlerdir.⁵⁷

Alfa ve beta varyantlarına ek olarak bir A gama varyantı olan Hb F-Başkent ($128\text{Ala} \rightarrow \text{Thr}$) ilk kez ülkemizde tanımlanmıştır. Hibrid hemoglobinlerden Hb Lepore-Boston-Washington ve Hb P-Nilotic ile uzamış alfa zincir varyantlarından Hb CS (Constant Spring) taşıyan vakalar da saptanmıştır. Ülkemizde saptanan 42 anormal hemoglobinin dokuz tanesi instabil olup bunlar Tablo 3 de gösterilmiştir.⁴¹

Tablo 3. Ülkemizde saptanan instabil hemoglobinler

Hb Adı	Amino asit/Değişim Mutasyon
Hasharon	$\alpha 47 \text{ Asp} \rightarrow \text{His GAC} \rightarrow \text{CAC}$
Adana	$\alpha 59 \text{ Gly} \rightarrow \text{Asp GGC} \rightarrow \text{GAC}$
Moabit	$\alpha 86 \text{ Leu} \rightarrow \text{Arg CTG} \rightarrow \text{CGG}$
Çapa	$\alpha 94 \text{ Asp} \rightarrow \text{Gly GAC} \rightarrow \text{GGC}$
Hakkâri	$\beta 31 \text{ Lue} \rightarrow \text{Arg CTG} \rightarrow \text{CGG}$
İstanbul (St Etienne)	$\beta 92 \text{ His} \rightarrow \text{Gln CAC} \rightarrow \text{CAA veya CAG}$
Köln	$\beta 98 \text{ Val} \rightarrow \text{Met GTG} \rightarrow \text{ATG}$
Constant Spring	alfa 142
Antalya	β zincirinde delesyon ve insersiyon

Ülkemizde saptanan talasemik hemoglobinler Tablo 4 de gösterilmiştir. HbE özellikle Çukurova bölgesinde bulunmakta ve taşıyıcı sıklığı % 0,6-2,4 olarak belirlenmiştir. Hb E diğer varyantlardan farklı olarak mikrositoz ve hipokroma neden olmaktadır.⁴¹

Ayrıca Hb Knossos’un ise iki vakada β talasemi ile birlikteliği saptanmıştır.⁴²

Tablo 4. Ülkemizde saptanan talasemik hemoglobinler.

Hb Adı	Aminoasit/Değişim Mutasyon
E	$\beta 26 \text{ Glu} \rightarrow \text{Lys GAG} \rightarrow \text{AAG}$
Knossos	$\beta 27 \text{ Ala} \rightarrow \text{Ser GCC} \rightarrow \text{TCC}$
City of Hope	$\beta 69 \text{ Gly} \rightarrow \text{Ser GGT} \rightarrow \text{AGT}$

2.4.6. Çukurova Bölgesinde Görülen Anormal Hemoglobinlerin Dağılımı

Yüreğir ve arkadaşları Çukurova’da HbS ile G6PD enzim eksikliğini birlikte çalışmışlardır. HbS geninin ortalama % 8,2 oranında olduğunu, bu genin Eti Türklerine özgü olduğunu, sıklığın yöresel olarak % 3’ten % 44’e kadar değiştiğini, gen sıklığının Antakya, Adana, Mersin ve Tarsus’da yüksek; klinik seyrin Antakya’da hafif diğer bölgelerde ise ağır olduğunu saptamışlardır.⁵⁸

Yüreğir ve arkadaşları Karataş’ta yaptıkları tarama çalışmasında % 9,5 AS ve % 0,3 SF bulmuşlardır.⁵⁹

Kılınç ve arkadaşları İçel il genelinde 6746 kişide tarama yapmışlar. Orak hücre anemisi taşıyıcılık oranını % 6,4 olarak saptamışlardır.⁶⁰

Yüreğir ve arkadaşları Çukurova’da orak hücre anemili hastalarda haplotip çalışması yapmışlar ve Çukurova Bölgesinde rastlanan HbSS’li olguların Amerikan zenci HbSS’li olgular ile benzerlik gösterdiğini, Çukurova’da rastlanan HbSS’lilerin Benin Cezayir (haplotip 19) tipi olduğunu, Amerikan zencilerinin ise Benin-Cezayir ile birlikte Merkezi Afrika tipi (haplotip 20) olduğunu bildirmişlerdir.⁶¹

Kılınç ve arkadaşları Adana bölgesinde hemoglobin S sıklığını % 0,78 olarak rapor etmişlerdir. Bir vakada Hb Q-İran, diğer bir vakada Hb O-Padova ve iki vakada HbD bulmuşlardır.⁶²

2.5. Beta Talasemi

β talasemi, α talasemi gibi dünyada en sık görülen talasemi tiplerinden birisidir. β talasemi Akdeniz ülkeleri, Kuzey ve Batı Afrika’dan Ortadoğu ve Güneydoğu Asya ülkelerini de içine alan bir kuşak tarzında yayılma gösterir.⁶³ β talasemili hastalarda, β globin geninin 200’den fazla farklı mutasyonu tanımlanmıştır. Dünyada yüksek sıklığa sahip populasyonların her birinin özellikle bir bölgede birkaç yaygın mutasyonu taşıdığı

görülürken nadir olan mutasyonlara da rastlanmaktadır.²³ β talasemi, Akdeniz ülkeleri, Afrika ve Güneydoğu Asya gibi malarya için endemik alanlarda yüksek sıklıkta görülür. Hastalığın taşıyıcıları malaryaya karşı genetik olarak korunur ve seçici bir avantaja sahiptir.⁶⁴ Dünya popülasyonunun yaklaşık olarak % 4,5'inin β talasemi mutasyonu taşıdığı rapor edilmiştir.⁶⁵

2.5.1. β Talaseminin Patofizyolojisi

Kalıtsal hemoglobin bozukluklarının bir grubu olan β talasemiler, β globin zincir üretiminin azalmış sentezi veya tamamen yokluğuyla karakterizedir. α /non α globin sentez oranının dengesizliği β talasemi sendromundaki hastalığın şiddetini saptamada önemli faktördür.⁶⁶ β talasemide, α geni etkilenmediğinden α globinin normal sentezi devam eder. Serbest α zincirleri normal tetramerler oluşturamaz, bunun yerine eritrosit öncüllerinde inklüzyon cisimcikleri yapan presipitat oluştururlar. Bu inklüzyonlar, inefektif eritropoezle karakterize β talasemide eritroid prekürsörlerin intramedüller yıkımından sorumludurlar. Her ne kadar β talasemideki anemide temel neden inefektif eritropoez ise de, dolaşımdaki α zincir inklüzyonlarını içeren olgun eritrositlerin yıkımına bağlı gelişen hemolitik bir komponentde vardır.⁶⁵

Tedavi edilmemiş ciddi β talasemide, eritropoez inefektif olarak % 95'den % 200'e kadar artabilir. β talaseminin derecesinin göstergesi olan inefektif eritropoez, α globin zincirlerinin göreceli fazlalığının sayısız zararlı etkilerinin bir sonucudur. Bu göreceli fazlalık, normal eritroid olgunlaşmasının birçok aşamasını bozar. Örneğin hücre döngüsünün G_1 fazında eritrosit öncüllerinin intramedüller ölümü ve genç eritroblastların apoptozisini artırdığı gösterilmiştir.^{67,68}

α zincir inklüzyonlarını ihtiva eden olgunlaşmış kırmızı seri hücreleri yaşam sürelerini tamamlamadan, özellikle dalağın mikro sirkülasyonundan geçerken harap olur. Böylece β talasemide anemi hem inefektif eritropoez hem de eritrositlerin yaşam sürelerinin kısılmasından kaynaklanır. Anemi, böbreklerden eritropoietin yapımının artışı için bir uyarıdır. Talasemi majörlü vakalarda Hb'nin büyük kısmını oluşturan HbF'nin oksijene ilgisi fazla olduğundan dolayı doku anoksisine katkıda bulunarak eritropoietin artışına neden olur. Eritropoietinin etkisiyle kemik iliği aktivitesinin artışına bağlı olarak kafatası ve ekstremit kemiklerinde masif bir genişleme ile ilgili

olarak ciddi deformiteler oluşur. Anormal kırmızı seri hücreleri daima dalak tarafından dolaşımdan kaldırıldığı için dalak büyür. Böylece gelişen splenomegali, anemiye katkısı olan plazma volümünün artışına ve hipersplenizme neden olur.⁶³ Kemik iliği hiperplazisi esas olarak artmış demir emilimine ve dokulardaki demirin ilerleyici olarak çökmesine neden olur.⁶⁸

Doğumdan sonra fetal Hb yapımı durur. Fakat erişkinde az sayıda kırmızı seri öncülleri γ zincir üretimine devam eder. γ zincirleri HbF'i oluşturmak için α zincirleriyle kombine olurlar. β talasemili hastaların kemik iliklerinde göreceli olarak fazla γ zincir yapan hücreler α zincir presipitasyonunun zararlı etkisine karşı kısmen korumuş olur.^{63,69} Ancak HbF'deki bu kısmi fazlalık β -globin zincirlerinin azalmış sentezini kompanse etmede yetersizdir.^{67,70} γ globin zincir sentezi yapan hücreler selektif yaşam avantajına sahip oldukları için çevre kanında da bulunurlar ve bu sebeple yüksek fetal hemoglobin seviyesi β talaseminin karakteristik bir bulgusudur. δ zincir sentezi bozulmadığı için HbA₂'de göreceli veya mutlak artış β talaseminin diğer karakteristik bulgusunu oluşturur.⁶³

Aneminin eritrosit transfüzyonlarıyla düzeltilmesi, eritropoez uyarısını durdurarak kemik deformitelerinin oluşması önlenir, büyüme ve gelişme normal olur. Diğer taraftan her bir ünite eritrosit 200 mg civarında demir içerir. Düzenli eritrosit transfüzyonları sonucunda miyokard, karaciğer ve endokrin bezlerde demir birikir.⁶³

2.5.2. β -Talaseminin Klinik Formları

β -talasemiler dört klinik sendromu kapsar: bunlardan ikisi, " β -talasemi taşıyıcısı" ve "sessiz taşıyıcı" olarak adlandırılır ve genellikle semptomsuzdurlar, diğer ikisi medikal takip ve destek gerektiren "talasemi intermedia" ve "talasemi majör"dür.

Ciddi formlar sıklıkla mutant bir β globin alleli için homozigot veya birleşik heterozigot olanlardan kaynaklanır, nadir olarak dominant mutasyonlarda heterozigotlardan da kaynaklanır.^{67,71} "Sessiz β -talasemi" terimi, heterozigotlardaki hafif β -talasemik durumlar için kullanılmaktadır. Bunlarda hematolojik parametreler, HbA₂ ve HbF düzeyleri genellikle normal olduğundan tanımak zordur, sadece *in vitro* zincir sentezinde hafif bir dengesizlik gözlemlenebilir.⁷²

Homozigot veya birleşik heterozigotlarda, aneminin erken başlaması, karakteristik kan değışiklikleri ve artmış fetal hemoglobin konsantrasyonlarıyla tanı konabilir ve her iki ebeveynde β talasemi taşıyıcı varlığının kanıtlanmasıyla doğrulanabilir. Bu durum hafif anemi, azalmış ortalama hücre volümü (Mean Corpuscular Volüm, MCV) ve ortalama hücre Hb konsantrasyonu (Mean Cell Hemoglobin Concentration, MCHC) ile HbA₂'nin konsantrasyonunun yükselmesiyle (genellikle % 3,5'i aşması) karakterizedir.⁶⁷

β talasemi majörlü hastalar genellikle yaşamlarının ilk yılında tıbbi tedaviye başlarlar ve sonuçta hayatları boyunca düzenli transfüzyon gerekir. Yaşamın daha sonraki dönemlerinde ortaya çıkmış olanlar veya nadiren transfüzyon ihtiyacı olanlar talasemi intermedia olarak adlandırılır. β talaseminin birlikte kalıtımla aktarılması globin zincir dengesizliğinin şiddetini azaltabilir. Yapısal Hb varyantlarıyla birçok farklı etkileşimler klinik fenotiplerin karmaşık bir dizisiyle de sonuçlanabilir. Bu varyantların ikisiyle β talaseminin etkileşimleri (HbS ve HbE) dünya çapında öneme sahiptir. Sonuç olarak, ilerleyici splenomegali, enfeksiyonlara maruziyet, sosyoekonomik faktörler ve medikal hizmetlerin ulaşılabilirliğini kapsayan edinilmiş ve çevresel faktörlerin bir kısmı hastalığın şiddetini değıştirebilir.^{64,67}

2.5.3. β Talaseminin Moleküler Patolojisi

β talasemiler, β globin zincirlerinin tamamen yokluğu veya üretiminin azalmasıyla karakterizedir. Otozomal resesif bozuklukların oldukça heterojen bir grubudur.^{73,74} Bugüne kadar β globin genini etkileyen ve β talasemi fenotipine neden olan yaklaşık 200 farklı moleküler defekt yayınlanmıştır.⁷⁵ β talasemiye neden olan mutasyonların büyük bir çoğunluğu primer olarak nokta mutasyonudur, diğeri nükleotit eklenmesi veya delesyonları içerir.⁶⁵

β talasemide genin büyük bir kısmının kaybına neden olan mutasyonlar nadirdir. Mutasyonlar β geninin intronlarında, eksonlarında veya 5' ile 3' bölgelerinde bulunur. Bazı eksonlarda baz değışmesi anlamsız (nonsense) mutasyonları oluşturur. Intronlar arasında veya intron-ekson birleşme noktalarında, mRNA öncüllerinin işlenmesi sırasında, intronların uzaklaştırılmasından sonra, eksonların uç uca gelme mekanizmasıyla ilgili çeşitli mutasyonlar tanımlanmıştır. Intron/ekson birleşme

noktalarındaki tek bazlı yer değiştirmeler eksonların uç uca gelme olayını tamamen önlediği için β^0 talasemi fenotipinin oluşmasına neden olur. Bazı intron mutasyonları ise eksonlar için değişik uç uca gelme bölgeleri oluşturduğundan hem normal hem de anormal mRNA ürünlerinin oluşumuna neden olur. Uygun olmayan bir şekilde uç uca gelen mRNA intron dizileri içerdiğinden işlev göremez. Böylece mRNA normal bir globin zincirinin sentezlenmesinde kalıp görevi yapamaz. β globin geninin yan bölgelerinde tek baz değişimi bulunabilir. Bunlar β globin geni transkripsiyonunun başlamasında düzenleyici bölgeyi içine alan mutasyonlardır.⁶³

2.5.4. β -Talasemiye Neden Olan Mutasyonlar

β globin genindeki mutasyonlar gen ekspresyonunun herhangi bir kademesini etkileyerek β globin zincir sentezinde bozukluklara neden olur. Bu nedenle β globin genindeki mutasyonların sınıflandırılması gen ekspresyonu kademelerindeki etkilerine göre yapılabilir.

2.5.4.1. Gen Delesyonları

α talasemilerin aksine β talasemide gen delesyonları çok sık gözlenmez. Bugüne kadar yaklaşık 17 tane gen delesyonu tanımlanmıştır. β geninin 3' ucundaki 619 bp delesyonu Pakistan ve Hindistan'daki, Sind ve Gujarati popülasyonunda görülen β talasemilerin % 50'sinden sorumlu olduğu kaydedilmiştir.^{8,10,76,77}

2.5.4.2. Transkripsiyonel Mutasyonlar

β geninin promotör bölgesinde birçok baz değişimi tanımlanmıştır. CAP bölgesinde CCAAT ve ATA kutusunda görülen mutasyonlar RNA polimerazın, β genine bağlanma ve transkripsiyonu başlatma yeteneğini azaltır. β mRNA transkripsiyonu bu durumdan etkilenir ve β mRNA miktarı azalır. Bütün olguların fenotipi, β^+ talasemidir.⁷⁶

2.5.4.3. RNA İşlemlenme Mutasyonları

mRNA'nın çekirdeğe girmesini engelleyen tek baz mutasyonudur. Ekson ve intronun bağlanma noktasında 5' GT (donör) 3' AG (akseptör) bölgesinde gözlenir. Bu splice noktasındaki tek baz değişikliği splicingi bozar ve β^0 talasemi fenotipini oluşturur.^{8,76,78}

2.5.4.3.1. Splice Kavşağındaki Mutasyonlar

Bu sekanstaki mutasyonlar splicingi farklı oranlarda etkiler ve kriptik bölge çevresinde alternatif bir splicing oluşturur. IVS I-5'deki bir mutasyonla G→C veya T değişimi; β zincir üretiminde orta derecede bir azalma veya şiddetli β^+ talasemi ile sonuçlanır. Diğer taraftan IVS I-6'da T'nin C ile değişimi β yapımında orta derecede bir azalmaya neden olur. Bu mutasyon Akdeniz bölgesinde görülen β talaseminin Portekiz formu olarak adlandırılmaktadır.⁸

2.5.4.3.2. Konsensus Dizi Değişikliklerine Neden Olan Mutasyonlar

Ökaryotik hücre genlerindeki intron-ekson bağlanma bölgelerinde yer alan konsensus dizilerde meydana gelen değişiklikler de β talasemiye neden olmaktadır. Bu diziler donör bölgelerdeki eksonların son üç nükleotiti ile intronun ilk altı nükleotitini, akseptör bölgede ise intronun son 10 nükleotiti ile eksonun ilk nükleotitinden oluşur. Bu mutasyonlar β talasemiye sebep olurlar.⁷⁹

2.5.4.3.3. İntronlardaki Değişiklikler

β geninin içinde GT ve AG dinükleotitleri splice kavşakları dışında birçok yerde bulunabilir. Ancak bunlar normal splicing işleminde donör ve akseptör olarak kullanılmazlar. Kriptik bölgeler olarak adlandırılan bu yerlerde oluşan bazı mutasyonlar yeni splice bölgelerini oluştururlar. En yaygın görüleni IVS I-110'daki baz değişimidir.

Bu bölge 3' akseptör splice bölgesinde A-G yokmuş gibi işlem görür. IVS I-110. pozisyonundaki G→A değişikliği β zincir üretiminde azalmaya neden olur.^{8,79}

β globin geninin ikinci intronunda da mutasyon saptanmıştır. IVS 2'de pozisyon 654'de A→G değişimi anormal β globin zincir sentezine neden olur. Fenotipi ise β^0 talasemidir.⁸

2.5.4.3.4. Kodlanan Bölgedeki Mutasyonlar

β globin geninin ekson 1'de kodon 24-27, IVS 1 donör bölgesinde gizli mutasyon bölgesi vardır. Bu bölge G→T dinükleotitini içerir ve komşu değişimler bu bölgenin aktivasyonunu sağlar. Normal ekson/intron bağlantı bölgesi yerine burada anormal splicing oluşur ve ağır β^+ talasemi oluşur.

Kodon 19 (A→G), 26 (G→A) ve 27 (G→T) mutasyonları mRNA azalması ve anormal splicing ile sonuçlanır.⁸

2.5.4.4. RNA Translasyon Mutasyonları

2.5.4.4.1. Anlamsız Mutasyonlar

Tek bir nükleotitin yer değiştirmesi sonucu normalde bir aminoasidi kodlayan kodon, translasyonun durdurulması sinyalini veren durdurucu kodon (stop kodon: UAA, UAG veya UGA) haline gelir. Mutasyonun olduğu kodondan itibaren globin zincir üretimi normalden önce durur. En yaygın görüleni kodon 39 C→T (CAG→TAG) mutasyonudur.

Akdeniz bölgesinde yüksek sıklıkta görülen bu mutasyon sonucu β^0 talasemi fenotipi ortaya çıkar.⁸⁰

2.5.4.4.2. Çerçeve Kayması (Frameshift) Mutasyonları

Bir veya birden fazla nükleotitin delesyonu veya insersiyonu sonucu öne veya arkaya doğru (5' → 3' veya 3' → 5' yönünde) oluşan nükleotit kayması ile mutasyon

bölgesinden sonraki kodonların şifreleri değişerek farklı aminoasitlerin şifreleri ortaya çıkar ve β^0 talasemi fenotipine neden olur.⁸¹

2.5.4.5. Dominant Geçen β Talasemi ve Stabil Olmayan β Globin Varyantları

Son 20 yılda ağır β talasemiden ayrılamayan sporadik vakalar tanımlanmıştır. Bu tip vakalarda eritrosit öncüllerinde inklüzyon cisimcikleri çokça gözlenmektedir.

Dizi analizleri moleküler düzeyde heterojenite göstermektedir. Fakat çoğu β globin geninde ekson 3'de mutasyon içermektedir. Çerçeve kayması veya prematür zincir sonlanması gözlenir. Bu düzensizlik uzamış stabil β globin gen ürünlerini oluşturur. En sık görülen mutasyon ise kodon 121'de GAA→TAA değişikliğidir.^{82, 83}

Bazı β globin zincir varyantları oldukça unstabildir ve tetramer yapma eğilimi gösterirler. Oluşan unstabil hemoglobinler eritrosit öncüllerinde ve kanda birikirler. Dominant geçen β talasemiden hemolitik anemiye kadar değişik klinik gösterirler. Buna örnek olarak hemoglobin Indianapolis verilebilir.^{8,83}

2.5.4.6. Başlık Bölgesi (CAP Site) Mutasyonları

β^+ talasemi fenotipi ile sonuçlanan +1 A→C yer değişimi sonucu transkripsiyon azalır, başlıklanma yavaşlar ve mRNA kararlılığı bozulur. Homozigot olarak bulunması halinde bile kişide heterozigot gibi bulgu veren bir fenotiptir.⁸⁰

2.5.4.7. Başlangıç Kodonu Mutasyonları

Başlangıç kodonu olan ATG'deki nükleotit değişiklikleri sonucu transkripsiyon başlatılamaz ve bunun sonucunda β^0 talasemi fenotipi oluşur.⁷⁹

2.5.4.8. 3' UTR Mutasyonları

3' UTR bölgesinde +1565'den +1577 nükleotidine kadar olan kısmın delesyonu sonucu β^+ talasemi fenotipi ortaya çıkar.⁷⁹

2.5.4.9. Poliadenilasyon Sinyal Mutasyonları

β^0 globin mRNA'nın 3' dönüştürülemeyen (untranslated) bölgesinde AAUAAA dizisi β gen transkripsiyonunun kırılma ve poliadenilasyonu için uygundur. Örneğin β globin geninin bu bölgesinde TC değişimi orta şiddette β^+ talasemi ile sonuçlanmaktadır.⁸

2.5.5. Dünyada β Talasemi Dağılımı

Yüksek oranda talasemi geni taşıyan toplumları içine alan dünya talasemi kuşağı; Akdeniz'den ba layıp Ortadoğu  zerinden Güneydoğu Asya ülkelerine kadar uzanmaktadır. Dünya nüfusunun % 3'  (250 milyon) β talasemi geni taşımaktadır. En sık olarak Akdeniz  lkelerinde (% 0,5–14); Kıbrıs (% 14,7), Sardunya (% 12,6), Sicilya (% 5,9) ve Yunan adalarında (% 5–20) insidansın yüksek olması kapalı toplum olmalarından kaynaklanmaktadır. Afrika ve Amerikalı siyahlarda (% 1,5) Güneydoğu Asya  lkelerinde (% 5) Türkiye, Lübnan,  srail, Malta, Cezayir, Fas, Korsika (% 2–3), Yugoslavya (% 1,4) ve Fransa'da (% 0,1) talasemi taşıyıcılığı oldukça yüksek oranda gözlenmektedir.^{26,84}

2.5.5.1. Türkiye'de β Talasemi Dağılımı

Talasemilerin Türkiye'de en sık görülen tipi β talasemidir. Akraba evliliklerinin sıklığı ve doğum hızının yükseklığı, Türkiye'de beklenenin de üzerinde β talasemili  ocuk doğmasına neden olmaktadır. Hastalık, hafif klinikli β talasemi intermedya ile tranf zyona bağımlı β -talasemi majör arasında seyreden çok geniş bir yelpazede g r lmektedir.⁸⁵

Türkiye'de yaklaşık 1.300.000 talasemi taşıyıcısı olduğu ve 4000 hasta birey bulunduğu bildirilmektedir. Bu hastaların büyük bir kısmı erken yaşta kaybedilmektedir. Bu hastalığın tedavisinde genel olarak kan transfüzyonları ve demir şelasyonu kullanılmaktadır.⁸⁶

Türkiye'de ilk olarak Aksoy 1951'de 2 hastada β talasemi tanımlamıştır.⁸⁷ β talaseminin prevalansıyla ilgili ilk çalışma  avdar ve arkadaşları tarafından yapılmış ve

% 2,1 olarak bildirilmiştir.⁸⁸ Aksoy 1980 yılında Antalya’da 135 kişide yapılmış çalışmada HbA₂ yüksekliğiyle seyreden β talasemiye % 6,7 olarak bildirmiştir.⁴⁴ Yine Aksoy 1985 yılında batıdan göç eden sağlıklı olduğu düşünülen 102 Türk bireyi incelemiş ve yüksek HbA₂ ile seyreden β talasemi taşıyıcılık oranını % 10,8 olarak bildirmiştir.⁴⁵

Öner ve arkadaşları 6 yaşındaki erkek olguda HbF oranını % 100 bulmuşlar, ciddi anemisi olmayan heterozigot anne ve babanın DNA analiziyle ($\delta\beta$)⁰-talasemi Sicilian tipi olduğu gösterilmiştir.⁸⁹

Aydınok ve arkadaşları Denizli ve Nazilli’de 1124 öğrencide tarama yapmışlar ve β talasemi taşıyıcılık prevalansını % 3 bulmuşlardır.⁹⁰

Thadmouri ve arkadaşları Adanalı bir ailede nadir olarak gözlenen β talasemi mutasyonu olan FSC 36/37 (-T) saptamışlardır.⁹¹

Tadmouri ve arkadaşları Yunanistan göçmeni bir Türk ailede Chinese IVS II-654 (C $\rightarrow$ T) mutasyonunu Türkiye’de ilk kez saptamışlardır.⁹²

Keskin ve arkadaşları Denizlide β talasemi taşıyıcılığının % 2,6 olduğunu bildirmişlerdir.⁹³

Öner ve arkadaşları Türkiye’nin doğusunda β talasemi mutasyon sıklığının % 0,78 olduğunu bildirmişlerdir.⁹⁴

β talasemi sıklığına yönelik çalışmalar Türkiye’nin birçok bölgesinde yapılmış olup yoğunluğun güney illerinde daha yüksek olmak üzere değişik bölgelerde % 0,6-12 arasında değiştiği saptanmıştır. β talasemi taşıyıcılık oranı Türkiye genelinde % 2,1 olmakla birlikte, bu sayı Türkiye’nin bazı yörelerinde % 10’a kadar çıkmaktadır.^{88,95}

β talasemiye moleküler düzeyde araştıran çalışmalarda; Türkiye’de 43’ün üzerinde farklı mutasyon bulunduğu ve β talaseminin moleküler düzeyde çok heterojen bir yapı gösterdiği Tablo 5’de gösterilmiştir.^{96,97}

Tadmori ve arkadaşları Türkiye’de 31 farklı mutasyon tipi saptamışlardır. Bu çalışmada IVSI-110’un Türkiye’de en sık görülen mutasyon olduğunu, bunu azalan oranlarda IVSI-6(T $\rightarrow$ C), Cd 8 (-AA), IVSII-745(C $\rightarrow$ G), IVSI-1(G $\rightarrow$ A), IVSII-1(G $\rightarrow$ A), Codon 39 (C $\rightarrow$ T), -30 (T $\rightarrow$ A), Cd 5(-CT) ve -28 mutasyonunun izlediğini rapor etmişlerdir.⁹⁷

Başak’ın raporunda; IVSI-110’nun Türkiye’de en sıklıkla rastlanan β talasemi mutasyonu olduğu bunu IVSI-6, Fsc-8, IVSI-1, IVSII-745, IVSII-1, Cd 39, -30 ve Fsc-5 mutasyonlarının takip ettiği bildirilmiştir. IVSI-110’nun Türkiye genelinde % 40 olan

sıklığı, Orta Anadolu’da % 50’yi bulmakta, Doğu ve Güneydoğu Anadolu’da % 25’lere düşmektedir. Türkiye’nin coğrafi bölgeleri, mutasyon sıklığı ve çeşitliliği açısından kıyaslandığında, ülke nüfusunun % 50’sini barındıran Batı Anadolu ve Akdeniz bölgelerinin, Türkiye genelindeki dağılımıyla uyumlu olduğu Kuzey, Güney ve Doğu Anadolu bölgelerinin daha az heterojen olduğu ve kendilerine özgü mutasyonlar (-30, -87, Fsc8/9, IVS II-745 gibi) içerdiği gösterilmiştir.⁸⁶

Altay’ın raporunda IVSI-110, IVSI-6, IVSII-1, IVSII-745 ve IVSI-1 mutasyonlarının tüm β talasemi mutasyonlarının % 71’ini oluşturduğunu, IVSI-110’nun bütün bölgelerde en yaygın mutasyon olduğu Akdeniz Bölgesinde % 47 ve Marmara Bölgesinde % 27,5 oranında gözlemlendiği bildirilmiştir. Türkiye’de 2. en sık görülen mutasyon IVSI-6’dır. IVSI-1 mutasyonunun en sık Ege Bölgesinde, onu takiben Marmara, Karadeniz, İç Anadolu, Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu’da görüldüğü, IVSII-745 mutasyonunda en sık Akdeniz Bölgesinde gözlemlendiği saptanmıştır. Cd 8(-AA), IVSII-1 ve -30 (T→A) mutasyonları en sık Doğu Anadolu’da bunu takibende Güneydoğu Anadolu’da, Akdeniz Bölgesinde ve Ege’de görülmektedir. β talaseminin en yüksek oranda görüldüğü yer % 10 oranıyla Antalya olup, en az oranında görüldüğü yerde % 0,2 oranıyla Doğu Anadolu’dur.⁹⁸

Tablo 5. Türkiye’de gözlenen beta talasemi mutasyonları

No	Mutasyonun yeri	Mutasyonun türü
1	- 101	(C→T)
2	-87	(C→G)
3	-30	(T→A)
4	-28	(G→C)
5	+22	(G→A)
6	Fsc 5	(-CT)
7	Fsc 6	(-A)
8	Fsc 8	(-AA)
9	Fsc 8/9	(+G)
10	Cd 15	(TGG→TAG)
11	Cd 15	(TGG→TGA)
12	Fsc 22/23/24	(-AAGTTGG)
13	Cd 27	(G→T)
14	Cd 30	(G→C)
15	IVSI-1	(G→A)
16	IVSI-1	(G→C)
17	IVSI-1	(G→T)
18	IVSI-5	(G→A)

Tablo 5. Devamı		
19	IVSI-5	(G→C)
20	IVSI-5	(G→T)
21	IVSI-6	(T→C)
22	IVSI-110	(G→A)
23	IVSI-116	(T→G)
24	IVSI-130	(G→A)
25	IVSI-130	(G→C)
26	Fsc 36/37	(-T)
27	Cd 37	(G→A)
28	Cd 39	(C→T)
29	Fsc 44	(-C)
30	Fsc 74/75	(-C)
31	Fsc 82/83	(-G)
32	IVSII-1	(G→A)
33	IVSII-654	(C→T)
34	IVSII-745	(C→G)
35	IVSII-848	(C→A)
36	3' UTR	(-13 bp)
37	Poly A	(TAAA→TAAG)
38	Poly A	(TAA→TGA)
39	-290 bp del	

2.5.5.2. Çukurova Bölgesinde β Talasemi Dağılımı

Yüreğir ve arkadaşları Çukurova'daki beta talasemi taşıyıcılık oranlarını Hatay'da % 5,7, Mersin'de % 1,8 ve Adana'da % 3,0 olarak rapor etmişlerdir.⁸⁵

Yüreğir ve arkadaşları Türkiye'nin güney bölgesinde beta talasemi sıklığı ve mutasyon tiplerini çalışmışlar, HbA₂'si yüksek beta talasemi sıklığını % 3,9 olarak saptamışlar ve en yüksek oranda IVSI-110 mutasyonu görüldüğünü rapor etmişlerdir.⁵⁹

Kılınç ve arkadaşları Mersin'de Orak hücre anemisi taşıyıcılığını % 6,4 ve talasemi taşıyıcılığını % 3,1 olarak rapor etmişlerdir.⁶⁰

Arpacı ve arkadaşlarının çalışmasında; HbF değeri yüksek 2 olguda hemoglobin tipi HbAA ve IVSI-110 mutasyonu, 2 olguda hemoglobin tipi HbAS ve IVSI-110 mutasyonu ve bir olguda hemoglobin tipi HbSF ve IVSI-110 mutasyonu kaydedilmiştir.⁹⁹

Çürük ve arkadaşları Çukurova'daki β talaseminin genetik heterojenitesini vurgulamışlar ve bu çalışmada mutasyonların IVSI-110 (G→A) % 57,3, IVSI-1(G→A) % 8,3, Codon 39 (C→T) % 6,4, IVSI-6(T→C) % 5,7, Fsc 8 % 5,5 oranında olduğunu

bildirmişler, ayrıca bu çalışmada Çukurova’da ilk defa gözlenen Codon 15 ve Fsc 82/83(-G) mutasyonunun varlığı gösterilmiştir¹⁰⁰(Tablo 6).

Tablo 6: Çukurova’da gözlenen beta talasemi mutasyonlarının sıklığı.

Mutasyon yeri	Mutasyon türü	%
IVS1-110	(G→A)	57,3
IVS1-1	(G→A)	8,3
Cd 39	(C→T)	6,4
IVS1-6	(T→C)	5,7
Fsc 8	(-AA)	5,5
-30	(T→A)	5,1
IVSII-1	(G→A)	2,1
IVSII-745	(C→G)	4,2
Fsc 5	(-CT)	5,1
Fsc 44	(-C)	3,4
Fsc	74/75 (-C)	2,1
IVSI-5	(G→C)	0,4
Fsc 8/9	(+G)	0,8
Fsc 36/37	(-T)	0,8
Fsc 22/23/24	(-AAGTTGG)	0,8
IVSI-130	(G→C)	0,8
IVSI-5	(G→A)	0,4
-28	(G→C)	0,2
Cd 15	(TGG→TGA)	0,2
Fsc 82/83	(-G)	0,2

Attila ve arkadaşları Çukurova’daki hemoglobinopatilerin prenatal tanısıyla ilgili çalışmalarında en sık gözlenen olguların β talasemi major, HbSS ve HbS/ β talasemi olguları olduğunu bildirmişlerdir.¹⁰¹

2.6. α Talasemiler

α talasemi, α globin gen sentezindeki bir yetersizlik sonucunda oluşur. α talasemi en çok delesyonlarla oluşmaktadır.^{102,103}

α talaseminin iki formu tanımlanmıştır. Bunlardan biri α talasemi 1, diğeri klinik ve hematolojik bulguları belli olmayan α talasemi 2’dir. α talasemi 1 de α globin sentezi tamamen yoktur, α talasemi 2 de ise sentezde azalma vardır.¹⁰⁴

2.6.1. α Talasemi 1

α globin genlerinin her ikisinde tam ya da kısmi delesyon bulunmaktadır. α talasemi 1 olgularında fonksiyonel α globin genlerinin her ikisi delesyona uğramakta ve etkilenen kromozomdan α zincir üretimi ortadan kalkmaktadır. Homozigot durumunda Hb Barts hidrops fetalis sendromuna neden olmaktadır.^{102,105}

Akdeniz popülasyonunda en sık gözlenen α talasemi delesyonları ($-\text{MEDI}$), ($-\text{MEDII}$), ($\alpha^{-20,5}$), ($-\text{SPAN}$), ($-\text{CANT}$) ve ($-\text{5,2}$) dir.^{106,107}

2.6.2. α Talasemi 2

Alfa talasemilerin iki globin geninden birini içeren delesyon nedeniyle oluşan tipi dünyada oldukça sık gözlenmektedir. En yaygın görülen tipi 3,7 kb delesyon ve daha az oranda görülen 4,2 kb delesyonudur.^{103,105,108,109}

2.6.3. α Talasemi Klinik Formları

α geninin 30'dan çok haplotipi bilinmekte ve bu yüzden 465'in üzerinde etkileşim ortaya çıkmaktadır. Fenotipik olarak dört kategoride incelenebilir. Bunlar, sessiz taşıyıcılık, α talasemi taşıyıcısı, hemoglobin H hastalığı ve hemoglobin Barts Hidrops fetalis olarak sınıflandırılabilir.⁷⁹

2.6.3.1. Sessiz Taşıyıcılık

Tek bir α -globin geninin delesyonu, fenotipik olarak sessizdir. MCV 78-80 fL arasında olup diğer hematolojik parametreler referans aralığı içinde olmaktadır.¹¹⁰

3,7 kb delesyonu dünyadaki en yaygın tek gen bozukluğudur.^{79,108,111}

2.6.3.2. α Talasemi Taşıyıcılığı

α talasemi taşıyıcılığı iki α -globin geninin kaybı ve fonksiyonel iki α -globin geninin korunması ile ortaya çıkan klinik bir durumdur. α talasemi taşıyıcılığının en sık gözlenen formu 3,7 kb delesyonunun homozigotluğudur ($-\alpha^{3,7}/-\alpha^{3,7}$). İkinci olarak daha az sıklıkta $--/\alpha\alpha$ genotipide bu fenotip altında yer almaktadır. Bu genotip, genellikle anlamlı bir mikrositoz ve artmış kırmızı hücre sayısı ile karakterizedir.¹¹⁰

2.6.3.3. Hemoglobin H Hastalığı

Hemoglobin H hastalığı, yaşamla bağdaşabilen α talasemi tiplerinin en ciddisidir. Hemoglobin H hastalığına yol açan en sık genotip, bir tek fonksiyonel α -globin genini içeren $--/-\alpha$ durumudur.^{109,110,112-114}

Hemoglobin H hastalığı fenotip, mikrositoz, 9-12 g/dL arasında hemoglobin düzeyine sahip hafiften orta şiddete değişen anemi ve splenomegaliyi kapsamaktadır. Eritrosit morfolojisi genellikle bazofilik noktalanma, target hücreleri ve gözyaşı damlası şekilleri ile anormaldir. Eritrositlerde hipokromi ve anizopoikilositoz gözlenmektedir.¹¹⁰

Hemoglobin H (β_4) unstabilidir, çökelir ve eritrositler brilliant cresyl blue veya methylene blue gibi bazık boyalarla inkübe edildiğinde eritrosit içi inklüzyon cisimcikleri gözlenir.¹¹⁵

2.6.3.4. Hemoglobin Barts Hidrops Fetalis

Dört alfa globin geninin tamamının kaybı yaşamla bağdaşmamakta, orta ya da geç gestasyonel dönemde hidropik fetusun ölü doğumu ile sonuçlanmaktadır. Bu sendrom daima delesyonel kökenlidir ($--/--$).¹⁰⁹

Etkilenen infantlarda yaygın ödem, karında asit, büyük genişlemiş karaciğer, normal veya büyümüş dalak ve büyük kızarık plasenta vardır. Periferik kan incelemesinde retikülositoz, target hücreleri, fragmentasyonlu hipokromi ve azalmış ozmotik frajiliteye eşlik eden ciddi eritroblastoz gözlenmektedir. MCV değeri dolaşan çok sayıdaki çekirdekli eritrositler nedeniyle daima yüksektir. Hemoglobin elektroforezinde yüksek düzeyde hemoglobin Barts (γ_4) gözlenmektedir.¹¹⁶

2.6.4. α -Talaseminin Coğrafik Dağılımı ve Sıklığı

Dünya popülasyonundaki α talasemi dağılımı falsiparum malaryasının yaygınlığına uymaktadır. Eritrosit glukoz-6-fosfat dehidrogenaz eksikliği, orak hücre anemi taşıyıcılığı, β talasemi taşıyıcılığı gibi α talasemi taşıyıcılığı da eritrositlerde malaryal parazitlerin barınmasını engellemektedir.²¹

2.6.4.1. Dünyada α Talasemi Sıklığı

α talasemi, Güneydoğu Asya, Güney Çin, Okyanus Adaları, Afrika, Akdenizi çevreleyen ülkelerde ve Ortadoğuda baskın bulunmaktadır.^{79,111}

α talasemi-1 sıklıkla Akdeniz ülkeleri ve Asya popülasyonlarında bulunmakta, Afrika ve Ortadoğuda nadirdir. α talasemi-2 delesyon formları ise büyük sıklıkla Batı Afrika, Akdeniz, Ortadoğu ve Güneydoğu Asya'da görülmektedir.^{79,106,111,112,114}

2.6.4.2. Türkiye'de α -Talasemi

Türkiye'de HbSS ve α talasemi bileşik kalıtımı bildiren yayınlanmış olgular vardır.¹¹⁷

Eti Türklerinde yapılan bir çalışmada orak hücre anemi hastalarında α talasemi sıklığı % 17 olarak bulunmuş, $\alpha^{3,7}$ daha sıklıkta olmak üzere $\alpha^{4,2}$ ile birlikte α talasemi-2 olguları bildirilmiştir.¹¹⁸

Aksoy ve arkadaşları HbH'li olgularda $\alpha^{3,7}$ ye bağlı α talasemi-2 ve 25 kb.lık α talasemi-1'in birlikteliğini göstermişlerdir.¹¹⁹

Öner ve arkadaşları 25 HbH hastasında 10 farklı genotip saptamışlar ve en sık α talasemi-2 mutasyon tipinin 3,7 kb delesyonu olduğunu ve bunu non delesyonel α talasemi mutasyonun takip ettiğini göstermişlerdir.¹²⁰

Canatan ve arkadaşları Antalya'da HbH hastalarının moleküler temelinde $\alpha^{3,7}$, $\alpha^{4,2}$, MED I ve $\alpha^{20,5}$ mutasyonlarını bulmuşlar ve Antalya'da α talasemi taşıyıcılık insidansının düşük olduğunu bildirmişlerdir.¹²¹

2.6.4.3. Çukurova Bölgesinde α -Talasemi

Kılınç ve arkadaşları Adana bölgesinde yeni doğan bebeklerde kordon kanı çalışması ile α talasemi sıklığını % 3,3 olarak bildirmişlerdir.⁶²

Yüreğir ve arkadaşları, Adana Karataş bölgesinde α talasemi-2 ($\alpha^{3,7}$) ve α gen triplikasyonlu olgular bildirmişlerdir.¹²² Yine Yüreğir ve arkadaşları α talasemi-1 ve α talasemi-2 mutasyonunun yanında α 2-globin geninin poliadenilasyon kuyruğunda nokta mutasyonu (AATAAA→AATGAA) olduğunu göstermişlerdir.¹²³

Çürük ve arkadaşları 2 Türk hastada unstabil α globin varyantı olan Hb Adana ile kombine taşıyıcı alfa talasemi-1 olgularının varlığını göstermişlerdir.⁵¹

Çürük ve arkadaşları Çukurova’da α talasemi taşıyıcı insidansını % 3 olarak bildirmişlerdir. 5 değişik α gen delesyonu ve 4 nondelesyonel mutasyon tanımlamışlardır.¹²⁴

Çürük ve arkadaşları Çukurova’da HbH hastalığı olan 32 olgunun altısında – – ^{MED I}(-17,4)/- $\alpha^{3,7}$, iki olguda – – ^{MED II}(-26,5)/ $\alpha^{5 nt}$ α , bir olguda – – ^{MED I}(-17,4)/- $\alpha^{3,7}$ +HbAS, bir olguda – – ^{MED I}(-17,4)/ $\alpha^{5 nt}$ α , dokuz olguda – – ^{20,5}/- $\alpha^{3,7}$, bir olguda – – ^{MED I}(-17,4)/ α^{PA1} α , bir olguda – – ^{20,5}/- $\alpha^{4,2}$, iki olguda – – ^{20,5}/ $\alpha\alpha^{codon59}$, üç olguda – – ^{MED II}(-26,5)/- $\alpha^{3,7}$, dört olguda – – ^{MED II}(-26,5)/ α^{PA2} α , bir olguda α^{PA1} / α^{PA1} α ve bir olguda – – ^{MED II}(-26,5)/ α^{PA2} α + HbAS varlığını göstermişlerdir.¹²⁵

2.7. Hemoglobinopati Eğitim Programı

ABD ve Kanada’da 1960 yılına kadar Yunan ve İtalyan kökenli hastalar yoğunlukta iken son elli yılda her iki ülkede Asya kökenli hastalar ön plana çıkmıştır. İngiltere’de son yıllarda Kıbrıs kökenli hastaların yerini Pakistan kökenli hastalar almıştır. Kuzey ve Batı Avrupa ülkelerinde de göçler nedeni ile talasemi ve hemoglobinopati sorun olmaya başlamıştır.

Gelişmiş ülkelerde önleme ve tedavi programları ulusal sağlık politikasında yerini almıştır. Akdeniz ülkelerinde 1970’li yıllarda başlayan hemoglobinopati kontrol programları başarılı olmuştur.

Gelişmekte olan ülkelere ise, bebek ölüm hızının azalması ile hemoglobinopatili hasta sayısı artmıştır ve önlem programları son yıllarda önem kazanmıştır.^{21,126-128}

2.7.1. Hemoglobinopati Kontrol Programları

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), hemoglobinopati kontrol programlarını, 1970’li yıllarda Akdeniz bölgesinde uygulamaya başlamıştır. Akdeniz’de ilk kurulan “Talasemi Kontrol Programı” Sicilya’da uygulanmış ve başarılı olunmuştur. Sicilya’da beta talasemi sıklığı % 5-9 ve HbS % 2 oranında görülmektedir. Sicilya bölgesi sağlık yönetimi doktor, hemşire, teknisyen ve sosyal çalışanların görev aldığı 14 merkezde ve Palermo’da bir prenatal tanı merkezi oluşturarak korunma programını başlatmışlardır. 1984 yılında bölgesel kayıt sistemi oluşturulmuştur. 1982-1989 yılları arasında hasta doğumunun % 55 oranında azaldığı bildirilmiştir. 1990’larda hasta doğumu sıfırlanarak aile ve hastalara finans desteği ve iş bulma sorunları ön plana çıkmıştır. 2000’li yıllarda bu sorunların da çözüldüğü bildirilmiştir. İtalya’da Ferrara’da, Sardinya’da, Yunanistan, İngiltere ve Kıbrıs’ta 1970’li yıllarda başlayan çalışmalar ile 10 yılda başarılı sonuçlar alınmıştır.¹²⁹⁻¹³⁰

Dünya Sağlık Örgütü’nün hemoglobinopatilerin kontrol programına alınması için önerdiği planlamalar;

1. Hastalığın epidemiyolojisi ve görülme sıklığının saptanması
2. Toplumun demografik yapısı; nüfusu, doğum hızı, bebek ölüm hızı
3. Akraba evlilik sıklığı
4. Doğum öncesi tanı altyapısı
5. Ulusal kayıt sisteminin oluşturulması^{5,131-133}

Dünya Sağlık Örgütünün verileri:

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), Herediter Hastalıklar Program başkanı Bernadette Model ve ekibi tarafından 1980 yıllarından beri veriler toplanmaya başlanmıştır. Afrika, Amerika, Avrupa, Ortadoğu Asya Bölgesi, Güneydoğu Asya Bölgesi ve Batı Pasifik bölgesi olarak 6 bölgeden veriler toplanmıştır. Afrika’da HbS+ HbC+ β -talasemi olmak üzere % 15, Uzak Doğuda HbE+ Alfa Talasemi olmak üzere % 6,5, Ortadoğuda HbS+ β talasemi olmak üzere % 5,5, Batı Pasifik bölgesinde alfa talasemi+ beta talasemi+ HbE olmak üzere % 3, Amerika’da HbS+ β talasemi olmak üzere % 3 ve Avrupa’da β -talaseminin % 1,5 sıklıkta olduğu bildirilmiştir.

Dünyada 229 ülkenin % 60’ında hemoglobin bozukluklarının endemik olduğu bildirilmiştir. Dünya nüfusunun % 5,2’si, gebe kadınların % 7’si hemoglobin

bozukluklarından etkilenmektedir. Her yıl 332.000 bebeğin % 83'ü orak hücre bozuklukları ve % 17'si talasemi olarak doğmaktadır.¹³³⁻¹³⁵

Dünyada 269 milyon taşıyıcı, Uzakdoğu'da 90 milyon, Afrika'da 88 milyon, Batı Pasifik'te 48 milyon, Ortadoğu'da 20 milyon, Amerika'da 15 milyon ve Avrupa'da 8 milyon taşıyıcı olduğu bildirilmiştir.¹³⁵

Dünyada yıllık 9,2 milyon gebe taşıyıcının 4 milyonu Afrika'da, 2,7 milyonu Uzakdoğu'da, 1,2 milyonu Batı Pasifik'te, 700 bini Ortadoğu'da, 400 bini Amerika'da ve 200 bini Avrupa'da bulunuyor. Dünyada yıllık 1,47 milyon riskli gebenin 900 bini Afrika'da, 280 bini Uzakdoğu'da, 140 bini Batı Pasifik'te, 90 bini Ortadoğu'da, 40 bini Amerika'da ve 20 bini Avrupa'da bulunmaktadır.¹³⁵

Dünyada yıllık hasta doğan çocuk sayısı 332.000'dir. Afrika'da 200.000, Uzakdoğu'da 60.000, Batı Pasifik'te 37.000, Ortadoğu'da 20.000, Amerika'da 10.000 ve Avrupa'da 5000 bebek hasta doğmaktadır. Dünyadaki çiftlerin % 1,1'i hemoglobin bozukluğuna sahip çocuk yapma riski var ve her 1000 konsepsiyonun 2,7'si etkileniyor, etkilenmiş doğum sayısı ise her 1000 doğumda 2,55'dir. Etkilenmiş çocukların çoğunluğu gelişmiş ülkelerde kronik hastalıkla yaşamını sürdürür iken gelişmekte olan ülkelerde çoğunluğu 5 yaş altında kaybediliyor. Mortalite hızı dünya genelinde % 3,4 iken Afrika'da % 6,4 olduğu bildirilmektedir.¹³⁵

Hemoglobinopatili yıllık hasta doğan sayısı 332.000 olup, bunların 275.000'i orak hücre anemili ve 56.000 talasemili doğmakta, 30.000'i düzenli transfüzyon alır iken, 55.000'i alfa talasemiye bağlı perinatal dönemde kaybedilmektedir. Doğumların % 75'i endemik bölgelerde, % 13'ü ise göçlerden dolayı diğer bölgelerdedir.¹³⁵

Hemoglobinopati kontrol programlarına rağmen, başta ABD devletleri olmak üzere tüm dünyada hemoglobinopatilerin profili değişmektedir. Özellikle Uzakdoğu ülkelerindeki göçler ve hızlı nüfus artışı en önemli faktördür. Nüfusun hızla arttığı Uzakdoğu ülkelerinde α talasemi ve HbE artışı ile tüm dünyada α talasemi ve HbE ön plana geçmiştir.¹³⁶

Modell ve arkadaşları global göç hareketlerinden dolayı, tüm Avrupa ülkelerindeki hemoglobin bozukluklarını yeniden gözden geçirmişler, yerli ve göçmen nüfusun demografik yapıdaki etkilerini, ayrıca hasta bakımı, taşıyıcı tanısı, genetik danışma ve prenatal açısından, 1988 ve 2006 tarihleri arasındaki verileri karşılaştırmışlar ve Güney Avrupa ülkelerinde taşıyıcı sıklığının ve etkilenen doğum

sayısının anlamlı olarak azaldığını, fakat Kuzeybatı Avrupa ülkelerine göçler nedeni ile taşıyıcı sıklığının ve etkilenen doğum sayısının anlamlı olarak arttığını gözlemlemişlerdir.¹³⁴

Ülkemizde Çukurova, Akdeniz kıyı şeridi, Ege ve Marmara bölgelerinde talasemi taşıyıcılığı çok sık görülmektedir. İç Anadolu, Doğu ve Güneydoğu Anadolu'da yeterince araştırma merkezi olmadığından bu yörelerdeki kesin sayı bilinmemektedir. Sağlıklı Türk popülasyonunda beta talasemi taşıyıcı sıklığı % 2,1'dir. Türkiye'de yaklaşık 1.300.000 taşıyıcı ve 4000 civarında hasta olduğu Sağlık Bakanlığı tarafından bildirilmiştir.¹³⁷

Türkiye'de çok sayıda hemoglobin varyantının görülmesi, Anadolu'da yıllar boyunca çok çeşitli ırk ve kültürlerin yaşamasından ve akraba evliliklerinden kaynaklanmaktadır. Türkiye'de yapılan her 5 evlilikten biri akraba evliliğidir. Akraba evlilikleri en çok (%70) birinci dereceden akrabalar arasında gerçekleşmektedir.¹³⁷

Ülkemizde 30.12.1993 tarihinde 3960 sayılı Kalıtsal Kan Hastalıkları ile Mücadele Kanunu çıkmıştır. 23.06.2001 tarihinde, ülkemizde talasemi ve hemoglobinopati konusunda çalışan tüm merkezler, vakıflar ve dernekler Sağlık Bakanlığı Ana Çocuk Sağlığı-Aile Planlaması ve Tedavi Hizmetleri Genel Müdürlüğü koordinatörlüğünde Ulusal Hemoglobinopati Konseyini kurmuşlardır. Program kapsamında, anormal hemoglobinlerin koruyucu sağlık hizmetleri kapsamında önlenmesi ve mücadele edilmesine yönelik tedbirlerin ve bu hastalıkların tanı ve tedavilerine yönelik faaliyetlerin usul ve esaslarını düzenlemek amacıyla Kalıtsal Kan Hastalıklarından Hemoglobinopati Kontrol Programı ile Tanı ve Tedavi Merkezleri Yönetmeliği yürürlüğe konmuştur.

Bu yönetmelik; kalıtsal kan hastalıklarından hemoglobinopatilere yönelik;

1. Eğitim,
2. Tarama,
3. Genetik danışma,
4. Doğum öncesi ve sonrası tanı,
5. Hastaların tedavilerine ilişkin her türlü faaliyetler,
6. Tanı ve tedavi merkezleri,
7. Kayıt, bildirim, sevk ve izin işlemlerini kapsamaktadır.¹³⁷

AMAÇLARI

1. Yeni talasemi ve anormal hemoglobin hastası doğmasının uygun strateji ile önlenmesidir. Bunun için 1.basamak olarak;

- a. Toplum taranması,
- b. Halk eğitimi,
- c. Doğum öncesi hemoglobinopati tanı yöntemlerini kullanmak,
- d. Genetik danışmanlık (rehberlik) hizmeti vermek,
- e. Her ikisi de taşıyıcı olan çiftlerin ileri tetkik ve tedavi merkezlerine sevklerini yaparak moleküler mutasyonlarının saptamasını sağlamak,
- f. Talasemi taşıyıcısı çiftlerin gebelikte doğum öncesi tanıları yaptırmaları için danışmanlık verilmektedir.

2. Mevcut hemoglobinopati hastalarının yaşam süresinin uzatılması ve yaşam kalitelerinin artırılmasıdır. 2. ve 3. basamak olarak;

- a. Tanı ve tedavi merkezlerinin kurulması,
- b. Kan merkezlerinin çalışır hale getirilmesi,
- c. Hastalara uygun kan temini,
- d. Kemik iliği nakillerinin yapılması,
- e. İleri tetkik ve tedavilerden hastaların yararlanmasını sağlamak,

hemoglobinopati kontrol programının ana amaçlarıdır.¹³⁸

1. basamak merkezlerde, hemoglobinopatiler konusunda eğitim hizmetinin yanı sıra, hemoglobin elektroforezi veya kolon analizi yöntemleri uygulanarak, taşıyıcı ve toplum taraması, evlilik öncesi çiftlere tarama ve genetik rehberlik hizmetleri verilmektedir. 2. basamak merkezlerde ise bu hizmetlere ilave olarak serum demir, total demir bağlama düzeyi, ferritin ve diğer ayırıcı tanı yöntemleri ile transfüzyon tedavisi, şelasyon tedavisi, splenoktomi ve komplikasyon tedavileri uygulanmaktadır. 3. basamak kuruluşlar ise moleküler düzeyde tanı yapan laboratuvar ünitesini, doğum öncesi tanı ünitesini ve kemik iliği nakil ünitesini içermektedir.¹³⁹

Ülkemizde 33 ilde (Adana, Ankara, Antalya, Aydın, Batman, Bilecik, Burdur, Bursa, Çanakkale, Denizli, Diyarbakır, Düzce, Edirne, Erzurum, Eskişehir, Gaziantep, Hatay, Isparta, İstanbul, İzmir, Kahramanmaraş, Karaman, Kayseri, Kırklareli, Kocaeli, Konya, Kütahya, Manisa, Mersin, Muğla, Sakarya, Şanlıurfa, Tekirdağ) 1. basamak Hemoglobinopati Kontrol Programı başlatılmıştır.¹³⁹

2.7.2. Hemoglobinopati Eğitim Metodları

1. Mesleki Eğitimi

2. Halk Eğitimi

olmak üzere 2 kısımda ele alınabilir.

1. Mesleki Eğitim:

a) Danışmanların Eğitimi:

i. Doğru bilgi kaynağı ile,

ii. Yönlendirme yapmadan danışma tekniklerinde eğitim yapılmalı,

iii. Sürekli hizmet içi eğitim olanakları sağlanmalıdır.

b) Hekim ve Hemşire Eğitimi:

i. Tıp ve hemşirelik müfredatlarında gerekli düzenlemeler yapılmalı,

ii. Özellikle kadın doğum uzmanları, pratisyen hekimler, birinci basamakta çalışan ebe ve hemşirelere hizmet içi eğitimler düzenlenmelidir.

2. Halk Eğitimi:

Özellikle talasemi taşıyıcılığının sık görüldüğü bölgelerde; bilinçli toplum oluşturarak, gereksinimin farkına varılması ve korunmak için aktif çaba harcanması, davranış değişikliği yaratılması hedeflenmelidir.¹³⁸

İletişim Nasıl Olmalı

— Ön yargıdan arınmış,

— Anlaşılır,

— Dinleme, anlamaya yönelik,

— Katma, katılma, beraberce yürütme,

— Karşıdakinin karar ve düşüncelerine saygılı olma şeklinde olmalıdır.

Toplum Eğitim Programları

Talasemi gibi otozomal resesif geçiş gösteren kalıtsal hastalıkların kontrolünde en etkili yöntem, hastalık hakkında toplumun bilgilendirilmesidir.

Toplum, bilinçlenip hastalığın önemi kavrandıkça korunma için de aktif olarak çaba gösterecektir.

Eğitimde hedef, toplumdaki farklı yaş grupları ve meslekleri kapsayarak geniş kitlelere ulaşmaktır.¹³⁸

Eğitim Verilecek Gruplar

1. Okullarda Eğitim

- a. Öğretmenlere,
- b. Öğrencilere.

2. Yetişkin Eğitimi

- a. Evlilik öncesi,
- b. Çocuk sahibi olmak isteyen eşler,
- c. Toplum liderleri (öğretmen, müftü, imam vb.),
- d. Nikah kıyan görevliler (belediye başkanı, muhtar vb.),
- e. Gönüllü kuruluşlar ve çeşitli toplulukların eğitimi,
- f. Kitle iletişim araçları ile halkın eğitimi.

3. Taşıyıcı, Hasta ve Yakınlarının Eğitimi

Kullanılabilecek Eğitim Araç ve Gereçleri

- Taşıyıcı ve hastalar için broşürler,
- Afiş, çıkartma gibi çalışmalar,
- Bu konuda internet sayfalarının hazırlanması,
- Okullar için yazılı metin, broşür,
- Hekimler için tedavi kılavuzu,
- Hekim ve hemşireler için tarama ve danışma kılavuzu.¹³⁸

2.7.3. Ülkemizde Hemoglobinopati Eğitim Çalışmaları

Arpacı ve arkadaşları 2003 yılında 8. sınıf öğrencilerini hedef alan çalışmada; 7 ilköğretim okulunda 1221 öğrenciye hemoglobinopatiler konusunda sunum yapmışlar. 5 okulda sunum öncesi anket, 2 okulda sunum sonrası anket yapılmıştır. İki grup istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve bilgilerin iyi aktarılmış olduğunu bildirmişlerdir.¹⁴⁰

Gülleroğlu ve arkadaşları 2007 yılında Kocaeli Üniversitesi öğrencilerini hedef alan çalışmada; eğitim öncesinde ve sonrasında öğrencilere açık ve kapalı uçlu sorular içeren anket yapmışlar. Barkovizyon kullanılarak talasemi ve orak hücreli aneminin klinik özelliklerini, genetik geçişini, kan sayımı ve hemoglobin elektroforezi ile yapılan tarama çalışmasının ve hastalığın önlenmesindeki önemini anlatan 20 dakikalık eğitim vermişlerdir. 42 seminer yapılmış, katılımcıların % 74'ü talasemiyi daha önce

duyduğunu belirtmekle birlikte bunların ancak % 25'inin orak hücreli anemide doğru bilgi sahibi olduğu belirlenmiş. Eğitim sonrası talaseminin ve orak hücreli aneminin anlaşılması oranları % 86,2 ve % 72,1'e yükseldiğini bildirmişlerdir. Katılanların % 13,6'sı taşıyıcı olmanın riskini bilirken bu oran eğitimle % 78,6'ya yükselmiştir. Eğitim sonrası öğrencilerin % 92,4'ü bu hastalıkların kalıtımla geçtiğini, % 78,8'i akraba evliliklerinin hasta çocuğa sahip olma riskini artırdığını öğrendiğini bildirmiştir.¹⁴¹

Canatan ve arkadaşları ULUSAL TALASEMİ MÜCADELE KAMPANYASI adlı çalışmalarında, TALOTIR adlı projeye talaseminin yoğun olduğu Marmara, Batı, İç, Güney ve Güney Doğu Anadolu' da 23 ili kapsayan eğitim programı yürütmüşlerdir. Eğitim programında hedef kitle olarak, hekimler, yardımcı sağlık personeli, öğretmenler, öğrenciler, muhtarlar, imamlar ve halk seçilmiş. İstanbul (2190), Ankara (1740), Kayseri (880), Diyarbakır (1140), Batman (1400), Siirt (1230), Şanlıurfa (1580) ve Gaziantep (1250)'te toplam 11.410 kişiye eğitim verilmiştir. Talotır'ın ikinci etabında Edirne (2193), Tekirdağ (2190), Çanakkale (2349), Bursa (582), Manisa (1099), İzmir (4894), Aydın (1974), Muğla (6845), Denizli (2630), Burdur (2264), Isparta (1925), Konya (2125), Hatay (2768), Adana (2790), Mersin (4189) ve Antalya (10455) da toplam 50.872 kişiye eğitim verilmiş. 8 ayda, 23 ilde, 40 merkezde, toplam 62682 kişinin eğitimi sağlanmıştır. Bu kişilerin 2007'sini hekimler ve sağlık personeli (% 4,3), 2523'ünü öğrenciler (%4), 2912'sini öğretmen, muhtar veya din görevlileri (% 4,6) ve 54450'sini genel halk (% 87,1) oluşturmuştur. Talotır projesiyle, toplam 62682 kişiye ulaşılmıştır.¹⁴²

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereçler

3.1.1. Cihazlar

Hassas Terazı	Mettler AJ 100
Kan sayım cihazı	Coulter Counter T-890
Spektrofotometre	Shimadzu UV-120-02
Santrifüj	Eppendorf 5403
Otomatik Pipet	Gilson 0-10 µL, 0-20 µL, 0-100 µL, 0-200 µL
pH metre	Beckman Century SS-1
Etüv	Nüve EN 500
Vorteks	Nüve NM 110
Otomatik DNA İzolasyon Cihazı	Magna-Pure LC
Derin dondurucu	Bosh
Çalkalayıcı	Irma Shaker
Mikrosantrifüj	Beckman Microfuge E
Elektroforez Güç Kaynağı	Pharmacia Electroforesis Power Supply EPS500/400, Bio-Rad Power PAC 300
Elektroforez Tankı	Bio-Rad Mini Protean II
Mikrodalga fırın	Arçelik
Thermal Cyclers	Perkin Elmer Cetus DNA thermal Cyclers
Mikroarray	Nanogen Nanochip Molecular Biology Workstation
İletkenlik ölçer	Horiba Twin Compact Meter
Pürifikasyon pompası	Millipore

3.1.2. Kimyasal Malzemeler

Glisin	Merck
Potasyum siyanür	Merck
DE-52	Whatman
Amonyum sülfat	Sigma
Sodyum hidroksit	Merck
Potasyum Siyanoferrat	Merck
Amonyum Bikarbonat	Sigma
Amonyum Klorür	Merck
Sodyuk Klorür	Merck
EDTA Na ₂	Merck
Tris	Amresco
Borik asit	Merck
Sodyum dietil barbital	Merck
Dietil barbitürik asit	Merck
Ponceau-S	Sigma
Trikloroasetik asit	Merck
Asetikasit	Merck
Seluloz asetat kâğıdı	Sepraphore III
Whatman kâğıdı	Whatman III
Taq polimeraz	Promega, Fermantas
L-Histidin	Sigma
Primerler	
dNTP'ler	

3.2. Örnek Seçimi

Örnekler toplanmadan önce, Ç.Ü.T.F. den etik kurul onayı ve Hatay valiliğinden izin belgesi alınmıştır. Etik kurul onayı Ek 1’de, Hatay valiliğinden alınan izin belgesi Ek 2’de verilmiştir. Kan örnekleri Samandağ ilçesindeki üç liseden toplanmıştır. Gidilen liselerde görsel sunum yapılmıştır. Gönüllü kişilerden onam formu alınmıştır. Onam formunun örneği Ek 3’te verilmiştir. Kan örnekleri EDTA’lı tüpe alınarak, soğuk zincir kurallarına uygun şekilde Ç.Ü.T.F. Tıbbi Biyokimya AD’na getirilmiştir. Tüm örneklerin tam kan sayımı, hemoglobin tiplendirilmesi, HbA₂ ve HbF düzeyleri belirlenmiştir. Talasemi ve Anormal Hemoglobin olgularının DNA’ları izole edilip +4 derecede saklanmıştır. Mutasyonlar ARMS, RFLP gibi geleneksel yöntemlerin yanı sıra mikroarray yöntemiyle çalışılmıştır.

3.3. Yöntemler

3.3.1.Hematolojik Çalışmalar

EDTA.K₃ tüpüne alınan tam kandan, lökosit ve eritrosit sayısı, Hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct), ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH) ve ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) Coulter T 890 kan sayım cihazı ile ölçülmüştür.¹⁴³

3.3.2.Hemoglobin Elektroforezi

Alkali pH’ta hemoglobin molekülü negatif yüklüdür ve elektriksel ortamda anoda doğru göç eder. Yük değişikliği olan varyantlar ise farklı göç ederler. Alkali ortamda selüloz asetat kâğıdı üzerine uygulanan hemolizat örneklerine, elektriksel güç uygulanarak hemoglobin tipleri farklı olarak göç ederek tiplendirilmesi yapılmıştır.¹⁴⁴

3.3.2.1. Ayır  lar

1. Anot tamponu 0,26 M pH 9,1

Tris 25,2 g

EDTA 2,5 g

Borik asit 1,9 g

Bir miktar distile suda   z  l  p, pH 9,1'e ayarlanarak 1 litreye distile su ile tamamlanmıştır.

2. Katot tamponu pH 8,6

Na-Barbital 5,15 g

Barbital 0,92 g

Bir miktar distile suda   z  l  p, pH 8,6'ya ayarlanarak 1 litreye distile su ile tamamlanmıştır.

3.Boya   zeltisi

500 mg Ponceau-S 100 mL % 5'lik trikloroasetik asitte çözülmüştür.

4.Yıkama   zeltisi

% 5 lik asetik asit

5.Elektrorez koşulları

Süre 45 dk

Voltaj 190-200 volt

Amper 0,75 mA/cm

Uygulama katodik

6.Taşıyıcı ortam

Selüloz asetat kâğıdı

3.3.2.2. Yöntem

1. Hemolizat hazırlanması: EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri santrifüj edilerek plazmasından ayrılmıştır.

2. Eritrositler serum fizyolojik ile üç defa yıkanmıştır.

3. 60   L eritrosit üzerine 800   L saf su eklenerek eritrositler parçalanarak hemoliz edilmiştir.

4. Elektroforez tankının anoduna ve katoduna uygun tamponlar konulmuştur.
5. Anot ve katot tampondan eşit hacim içeren çözeltide selüloz asetat kâğıdı yaklaşık 10 dakika ıslatılmıştır.
6. Selüloz asetat kâğıdına hazırlanan hemolizattan 3 µL tatbik edilerek elektroforez tankının köprüsüne yerleştirilmiştir.
7. 0,75 mA/cm akım 45 dakika uygulanıp Ponceau-S ile boyanmıştır.
8. Yıkama çözeltisi ile temizlenen selüloz asetat kâğıdında hemoglobin tiplendirilmesi yapılmıştır.

3.3.3. Mikrokolon Kromatografisi ile HbA₂ Ölçümü

Hemoglobin molekülünün yüklü gruplarının iyon değiştirici reçineye bağlanmasıyla HbA₂ diğer hemoglobinlerden uzaklaştırılmıştır. Reçineye bağlı HbA₂ geliştirici tamponuyla ayrıştırılarak miktarı spektrofotometrede okunmuştur.¹⁴⁵

3.3.3.1. Ayıraçlar

1. Geliştirici A-1 (yıkama için) : 0,2 M Glisin ve 0,01 M KCN saf suda çözülerek 1 L' ye tamamlanmıştır.
2. Geliştirici A-2: 0,2 M Glisin 0,01 M KCN ve 0,02 M NaCl saf suda çözülerek 1 L' ye tamamlanmıştır.
3. Geliştirici B: 15 g Glisin, 0,01 M KCN ve 0,2 M NaCl saf suda çözülerek 1 L' ye tamamlanmıştır.
4. İyon değiştirici DE-52 kolonunun hazırlanması: 1 hacim DE-52 üzerine 3 hacim geliştirici A-1 eklenerek jel yıkanıp pH'sı 7,2-7,6 arasında oluncaya kadar bu işleme devam edilmiştir.

3.3.3.2. Yöntem

EDTA'lı tüplere alınan kan örnekleri santrifüj edilerek plazmasından ayrılmıştır. Eritrositler serum fizyolojik ile üç defa yıkanmıştır. 50 µL eritrosit üzerine 200 µL saf su eklenerek eritrositler parçalanarak hemoliz edilmiştir

Kolon dengelendikten sonra üzerine 60 µL hemolizat tatbik edilerek geliştirici A–2 ile yıkanıp 8 mL süzüntü toplanmıştır. Bu sırada HbA₂'nin kolondan ayrılması sağlanmıştır.

Total Hb'nin reçineden ayrıştırılması için kolon geliştirici B ile yıkanmıştır. Toplanan süzüntü saf su ile 25 mL'ye tamamlanmıştır. Süzüntü spektrofotometrede absorbansları 415 nm dalga boyunda saf su körüne karşı okunarak % HbA₂ hesaplanmıştır.

Hesaplama

Aşağıdaki eşitliğe göre hesaplama yapılmıştır.

$$\%HbA_2 = OD\ HbA_2 / (OD\ HbA_2 + 3,125 \times OD\ HbA)$$

Referans Aralığı: % 1,5–3,7¹⁴⁵

3.3.4. Modifiye Betke Yöntemi ile Fetal Hemoglobin (HbF) Ölçümü

Hemoglobinler içinde alkaliye en dirençli olanı HbF'dir. Bu özelliğinden faydalanılarak HbF miktarı belirlenmektedir. NaOH ile denaturasyondan sonra diğer hemoglobinler amonyum sülfatla çöktürülerek filtre kâğıdından süzülür ve HbF içeren berrak süpernatant solusyonunun absorbansı spektrofotometrede 540 nm'de okunup konsantrasyonu saptanmıştır.¹⁴⁶

Hesaplama

Aşağıdaki eşitliğe göre hesaplama yapılmıştır.

$$\% HbF = (OD\ HbF\ süzüntü / (OD\ HbToplam \times 100)) \times 100$$

Referans Aralığı: % 0,8–2,5¹⁴⁶

3.3.4.1. Ayıraçlar

1. Siyanür çözeltisi

6,1 M $K_3Fe(CN)_6$ ve 0,03 M KCN 1L saf suda çözülmüştür.

2. 1,2 M NaOH

3. Doymuş Amonyum Sülfat

5,3 M $(NH_4)_2SO_4$ distile suda çözülerek 100 mL'ye tamamlanmıştır.

3.3.4.2. Yöntem

Hemolizat 3.3.3.2. de anlatıldığı gibi hazırlanmıştır. Her bir örnek için 3 deney tüpü hazırlanıp ayıraçlar oda ısısına getirildikten sonra I.tüpe 3,8 mL siyanür çözeltisi konup 0,2 mL hemolizat ile karıştırılarak 10 dakika bekletilmiştir. Bu karışımdan 2,8 mL II. tüpe alınıp üzerine 1,2 N NaOH'dan 0,2 mL ilave edilip 2 dakika bekletilmiştir. Daha sonra II. tüpün üstüne 2 mL amonyum sülfat eklenip 20 dakika bekletilmiş ve filtre kâğıdından süzümüştür. Total hemoglobin tayini için I.tüpten 0,4 mL alınıp üzerine 6,75 mL saf su ilave edilerek III. tüp hazırlanmıştır. II. ve III. tüplerin absorbansları spektrofotometrede 540 nm'de saf suya karşı okunarak HbF oranı % olarak hesaplanmıştır.

3.3.5. Oraklaşma Testi

Hemoglobin S, oksijensiz ortamda veya güçlü bir indirgeyici ajan olan sodyum metabisülfid varlığında eritrositlerin orak şeklini almasıyla tanımlanmaktadır.¹⁴³

3.3.5.1. Ayıraçlar

0,1 M $Na_2S_2O_5$ 10 mL suda çözülmüştür. Taze olarak kullanılmıştır.

3.3.5.2. Yöntem

Tam kan örneğinden 20 µL alınarak lamın ortasına konup üzerine % 2'lik sodyum meta bisülfitten bir damla eklenip üzeri lamelle kapatılıp lamelin kenarları entellan veya

oje gibi yapıştırıcı ile hava almaması için kapatılıp 5–30 dk. sonra mikroskopta eritrositlerin oraklaşması incelenmiştir.

3.3.6. Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC)

Sıvı Kromatografisi, hareketli sıvı fazın kolon ya da ince tabaka partikülleri arasında dağılması esasına göre yapılan ayırma tekniğidir. Bu sistem ile proteinler, peptidler, ilaçlar ve metabolik ürünler kolaylıkla analiz edilebilmektedir.

HPLC, temelde farklı olmamasına karşın diğer konvansiyonel sıvı kromatografilerinden ileri teknolojik aletlerin, özel kolonların, çok duyarlı saptayıcıların ve yüksek akış hızlarının kullanımı ile daha üstün ayırma özelliğine sahiptir.^{143,147,148}

HPLC sistemi aşağıdaki bölümlerden oluşmaktadır.

- 1-Hareketli sıvı deposu
2. Pompalar: yüksek basınç sağlar
- 3.Enjeksiyon halkası
- 4.Kolon: Basınca dayanması için çelikten yapılmış bir boru içerisine anyon veya katyon değiştirici reçine doldurulmuştur.
- 5.Değişken dalga boyu saptayıcısı (Hb için 415 nm, globin zincir analizi için 220 nm.)
- 6.Kaydedici ve integrator: Dedektörden gelen sinyalleri kaydeder ve her fraksiyonun yüzde değerlerini hesaplar.
- 7.Sonikator

Açık sistemli klasik kolon kromatografisinde hareketli faz, durgun faz içinden yerçekimi veya düşük basınçla geçerken, HPLC’de hareketli faz kolon içine yüksek basınç ile pompalanmaktadır. Durgun faz, hareketli faz ve örnek arasındaki etkileşimlerin tipine bağlı olarak, HPLC’de çeşitli ayırıştırma özellikleri kullanılabilir.^{143,147,148}

HPLC’ nin klasik kromatografik sistemlere üstünlüğü;

- 1.Seçiciliğinin yüksek oluşu
- 2.Duyarlılık
- 3.Analiz süresinin kısalığı
- 4.İstenilen fraksiyonların saflaştırılması
- 5.Tekrarlanabilirlik

6.Uygulama kolaylığı

7.Mikrogram düzeyinde az örnekle çalışılması gibi özellikleri vardır.

Sistemin Özellikleri

1.Sabit akım hızı sağlar, bu nedenle retansiyon zamanları ve pik alanları analizden analize değişim göstermez.

2.Kompüterize gradyan kontrollü çözelti kompozisyonunun analizden analize tekrarlanabilirliğini sağlar.

3.Enjeksiyon valfi sayesinde enjekte edilen madde miktarı sabit tutulur ve istenilen miktarda örnek enjekte edilebilir.

4.Saptayıcılar istenilen duyarlılığı sağlar.

Uygulama Alanları

Oldukça geniş kullanım alanları vardır; peptidler, kimyasallar, ilaçlar, hormonlar, enzimler, nükleik asitler, proteinler (hemoglobinler, immunoglobulin G vb), yiyecekler, aminoasitler ve vitaminler gibi konsantrasyonu düşük kimyasallar ayrıştırılabilirler.^{143,147,148}

3.3.6.1. Yöntem

- 1) Kahverengi şişelere hemolizat çözeltisinden 500 µL, EDTA.K₃ tüpüne alınmış olan tam kandan 2 µL eklenir ve karıştırılır,
- 2) Cihazlar kapalıyken purge vanası açılır,
- 3) Bilgisayar açılır ve Cag Bootp Server tıklanır,
- 4) Cihaz açılır ve HPLC programı açılır ve On düğmesine basılır,
- 5) Ekranda görülen şişe şeklinin üzerindeki yeşil düğmeye basılır, Set up tıklanır. Çözeltinin kolondan geçiş hızını gösteren Flow kısmına 1.5 mL/dk yazılır,
- 6) Borulardaki hava boşluğunun olmadığına emin olduktan sonra purge vanası kapatılır,
- 7) Sequence düğmesi tıklanır, ardından Sequence Parameter düğmesi tıklanır,
- 8) Prefix kısmına tarih yazılır ve ok düğmesine tıklanır,
- 9) Sequence düğmesi tekrar tıklanır ve Sequence Table düğmesine basılır,
- 10) Insert Vial Range düğmesine basılır, ekrana gelen Method Name kısmından Hb2 seçilir,

- 11) From Vial, kaçınıcı örnekten başlanacağını, To Vial, kaç örneğin çalışılacağını, Injection pervial, örneklerin kaç defa çalışılacağını, Injection volüm, kaç µL örnek alınacağını gösterir. Injection volüm kısmına 10 yazılır ve Ok düğmesine basılır,
- 12) Sample Name kısmına isimler yazıldıktan sonra Sequence düğmesi tıklanır ve Save Sequence tıklanır,
- 13) Ekrandaki küçük Ok düğmelerinden Online Plots düğmesine basılır,
- 14) Balance düğmesine basılır ve Base Line çizgisinin sıfırda olduğu kontrol edilir,
- 15) Start düğmesine basılır, ardından ekranda çıkan Ok düğmesine basılır,
- 16) Örnekler çalışıldıktan sonra Set up düğmesinden Flow kısmına 0 mL/dk yazılır ve pompa akışı durdurulur,
- 17) Sonuçlara ulaşmak için Method and Run Control düğmesine basılır ve Data Analyse düğmesine basılır,
- 18) Kaydedilen dosyaya tıklanır ve print düğmesine basılarak yazıcıda örnekler yazdırılır,
- 19) Method düğmesi tıklanır ardından off düğmesi tıklanır ve bilgisayar kapatılır,
- 20) En son cihaz kapatılır.

3.3.7. Tam Kandan DNA İzolasyonu

Magna Pure LC Otomatik DNA İzolasyon cihazı ile elde edilmiştir. Manyetik partikül teknolojisi esastır. Kaotropik tuzlar ve proteinaz K içeren tamponla örnekler muamele edilerek parçalanır. Manyetik cam partiküller eklenerek, DNA bunların yüzeylerine bağlanır. Bağlanmayan maddeler birçok yıkama basamaklarıyla uzaklaştırılır ve saflaştırılmış DNA toplanır.¹⁴⁹

- 1) Yıkama Tamponu I: PCR inhibitörlerini çıkarmak içindir.

Guanidinyum HCl

Etanol

- 2) Yıkama Tamponu II: Tuzlar, proteinleri çıkarmak içindir.

Etanol

- 3) Yıkama Tamponu III: Tuzları çıkarmak içindir.

4) Parçalayıcı / Bağlayıcı Tampon: Tüm hücrelerin parçalanması sağlanır ve nükleik asitler serbest kalırlar

Guanidinyum tiosiyanat

Triton X-100

5) Manyetik Cam Partikül (MGP) süspansiyonu:

Kaotropik tuz varlığında, izopropanol ve bağlayıcı tamponun yüksek iyonik gücüne bağlı olarak DNA'lar MGP nin silika yüzeyine yapışır.

6) Toplama Tamponu: Saf DNA'yı toplamak içindir.

7) Proteinaz K tampon II: Proteinaz K'nın yeniden tertiplenmesi içindir.

8) Proteinaz K

3.3.7.1. Yöntem

- 1) Cihaz açıldıktan sonra bilgisayar açılır,
- 2) Ekranı gelen MagnaPure yazılım programında Sample Ordering düğmesine basılır. A1'den başlanarak hasta isimleri yazılır. Files düğmesine basıldıktan sonra Save düğmesine basılır ve kaydedilir,
- 3) Ok düğmesine basıldıktan sonra ekranda gösterilen yerleşim yerine göre Elution Kartuş, Storage Kartuş ve pipetler yerleştirilir,
- 4) Solid Waste kısmına poşet takılır,
- 5) EDTA.K₃ tüpüne alınmış olan tam kandan 500 µL Processing kartuşuna sırayla pipetlenir,
- 6) Kit hazırlığına geçilir, ekrandaki sıra ve miktarlarına göre çözeltiler konur,
- 7) Proteinaz K kendi tamponu ile çözülür (bir şişe için 5 mL tampon),
- 8) Manyetik Partikül en son konur,
- 9) 32 örnek için;

Wash Buffer I	48,8 mL
Wash Buffer II	28,0 mL
Lysis/Binding	16,2 mL
MGP	11,0 mL
Elution Buffer	12,5 mL
Proteinaz K	2,1 mL

eklenir,

- 10) DNA LV Blood 300-500 seçilir,
- 11) Sample Volume kısmına 500 µL, Elution Volume kısmına 100 µL yazılır,
- 12) Konulan her şey için ekranda işaretlenir,
- 13) Ok düğmesine basılır ve program basılır,
- 14) Program bitince cihazın kapağı açılır ve DNA'lar Storage kartuştan alınır,
- 15) Cihazın kapağı kapatılır, ekrandaki Decontamination düğmesine basılır ve 2 saat süre verilir. Action düğmesine basıldıktan sonra Start düğmesine basılır,
- 16) 2 saatin sonunda bilgisayar ve cihaz kapatılır.

3.3.8. ARMS Yöntemi ile Mutasyonların Belirlenmesi

İzole edilen DNA örneklerinin ilgili bölgeleri PCR ile amplifiye edildikten sonra ARMS yöntemi ile mutasyon tanımlanması gerçekleştirilmiştir.^{148,150,151}

Ayırıcılar

Stok Çözeltiler

KCl	2 M
TrisHCl, pH 8,3	1 M
MgCl ₂ .6H ₂ O	1 M

+4 °C'de saklanır.

10X Cetus Tamponu

2 M KCl	1,25 mL
1 M Tris.HCl	0,5 mL
1 M MgCl ₂	75 µL
Jelatin	5 mg
Steril distile su	3,2 mL

Jelatinin erimesi için 37 °C'de bekletilir.

Spermidin 1 M

PCR Karışımı (4 mL)

10X Cetus Tamponu	500 µL
Steril distile su	2700 µL

1,25 mM dNTP karışımı	800 µL
Spermidin 1 M	4 µL

dNTP Karışımı

dNTP'lerin (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) her birinden (100 mM'lık stoktan) 60 µL alınıp üzerine 4740 µL steril distile su eklenerek 1,25 mM'lık çözelti hazırlanmıştır.

Primerler

Primerler 5 pmol/ µL olacak şekilde sulandırılmıştır.

10X TBE Tamponu pH 8,3

Tris.HCl	2 M
Sodyum Asetat 3H ₂ O	1 M
EDTA-Na ₂	10 mM

Saf su ile 1 litreye tamamlanıp pH'ı glasiyel asetik asit ile ayarlanmıştır.

3.3.8.1. Amplifikasyon Koşulları

Amplifikasyon 24,1 µL'lik reaksiyon hacminde gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımı; PCR karışımı, mutasyonu içeren bölgeye özgü ARMS primeri, ortak primer (1 veya 2), sabit primer, genomik DNA ve Taq polimeraz içermektedir.¹⁴⁸

Amplifikasyon Protokolü

PCR Karışımı	20 µL
Ortak primer 1 veya 2	1 µL
5' sabit primer	1 µL
3' sabit primer	1 µL
DNA (0,5-1 µg/mL)	1 µL
Taq polimeraz (5 U/µL)	0,1 µL

ARMS yönteminde kullanılan ortak ve sabit primerler Tablo 7 ve 8 de gösterilmiştir.

Tablo 7. ARMS yönteminde kullanılan primerler

Ortak primer 1	5' ACC TCA CCC TGT GGA GCC AC 3'
Ortak primer 2	5' CCC CTT CCT ATG ACA TGA ACT TAA 3'
5' sabit primer	5' CAA TGT ATC ATG CCT CTT TGC ACC 3'
3' sabit primer	5' GAG TCA AGG CTG AGA GAT GCA GGA 3'

Tablo 8. ARMS yönteminde kullanılan Hb varyantların mutasyonlarına özgü primerler

HbS (A→T) (M)	5'-CCC ACA GGG CAG T AA CGG CAG ACT TCT GCA-3'
HbS (A→T) (N)	5'-CCC ACA GGG CAG TAA CGG CAG ACT TCT GCT-3'
HbC (G→A) (M)	5'-CCA CAG GGC AGT AAC GGC AGA CTT CTG CTT -3'
HbC (G→A) (N)	5'-CCA CAG GGC AGT AAC GGC AGA CTT CTG CTC-3'
HbD (G→C) (M)	5'-ATA GGC AGC CTG CAC TGG TGG GGT GAG TTG -3'
HbD (G→C) (N)	5'-ATA GGC AGC CTG CAC TGG TGG GGT GAG TTC-3'
HbE (G→A) (M)	5'-TAA CCT TGA TAC CAA CCT GCC CAG GGC GTT-3'
HbE (G→A) (N)	5'-TAA CCT TGA TAC CAA CCT GCC CAG GGC GTC-3'

*M:mutant primer

*N:normal primer

β -talasemi mutasyonlarına özgü kullanılan ARMS primerleri Tablo 9'da gösterilmiştir.

Tablo 9. ARMS yönteminde kullanılan β -talasemi mutasyonlarına özgü primerler

IVS I-110 (G→A) (M)	5' ACC AGC AGC CTA AGG GTG GGA AAA TAC ACT 3'
IVS I-110 (G→A) (N)	5' ACC AGC AGC CTA AGG GTG GGA AAA TAC ACC 3'
IVS I-1 (G→A) (M)	5' TTA AAC CTG TCT TGT AAC CTT GAT ACG AAT 3'
IVS I-1 (G→A) (N)	5' TTA AAC CTG TCT TGT AAC CTT GAT ACG AAC 3'
Cd 39 (C→T) (M)	5' CAG ATC CCC AAA GGA CTC AAA GAA CCT GTA 3'
Cd 39 (C→T) (N)	5' TTA GGC TGC TGG TGG TCT ACC CTT GGT CCC 3'
IVS I-6 (T→C) (M)	5' TCT CCT TAA ACC TGT CTT GTA ACC TTC ATG 3'
IVS I-6 (T→C) (N)	5' TCT CCT TAA ACC TGT CTT GTA ACC TTC ATA 3'
IVS II-1 (G→A) (M)	5' AAG AAA ACA TCA AGG GTC CCA TAG ACT GAT 3'
IVS II-1 (G→A) (N)	5' AAG AAA ACA TCA AGG GTC CCA TAG ACT GAC 3'
Cd 6 (-A) (M)	5' CCC ACA GGG CAG TAA CGG CAG ACT TCT GCC 3'
Cd 6 (-A) (N)	5' CCC ACA GGG CAG TAA CGG CAG ACT TCT GCT 3'
IVS II-745 (C→G) (M)	5' TCA TAT TGC TAA TAG CAG CTA CAA TCG AGG 3'
IVS II-745 (C→G) (N)	5' TCA TAT TGC TAA TAG CAG CTA CAA TCG AGC 3'
- 87 (C→G) (M)	5' CAC TTA GAC CTC ACC CTG TGG AGC CAC CCG 3'
- 87 (C→G) (N)	5' CAC TTA GAC CTC ACC CTG TGG AGC CAC CCC 3'

PCR Programı

PCR programı 25 döngü; 94°C’de 1 dk (denatürasyon), 65°C’de 1 dk (yapışma) ve 72°C’de 1 dk (uzama) olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Son olarak 72°C’de 3 dk 1 döngü şeklinde tamamlanmıştır.

Agaroz Jel Elektrofözezi

Ayır  lar

%2’lik Nuesive-Agaroz Jel

NuSieve 1 g

Agaroz 1 g

100 mL 0,5xTBE tamponu içinde mikrodalga fırında çözülerek hazırlanmıştır.

Yükleme Tamponu

Brom fenol mavisi %0,05

Gliserol %10

Ficoll %15

5 x Tris Borat EDTA (TBE) Tamponu pH 8,0

Tris baz 54,0 g

Borik Asit 27,5 g

EDTA (0,5M pH 8,0) 20 mL

1 L saf suda çözülerek hazırlanmıştır.

Etidyum Bromür   zeltisi

EtBr 5 µg/mL olacak şekilde saf suda çözülerek hazırlanmıştır. PCR sonunda amplifiye olan üründen 20 µL alınarak 2 µL yükleme boyası ile karıştırıldıktan sonra %2’lik agaroz jele uygulanıp 150 voltta 30 dk yürütülmüştür.

Elektroförez sonrası jel etidyum bromür ile 3 dk boyanıp boyanın fazlası saf su ile yıkanarak temizlenmiştir. DNA parçaları UV ile görünür hale getirilerek fotoğrafı çekilmiştir. Homozigot olgular mutant çalışmada çift bant, normal çalışmada ise tek bant verirler. Heterozigot olgular hem mutant hem de normal çalışmada çift bant verirler. Normal olgular ise mutant çalışmada tek bant, normal çalışmada çift bant verirler.

3.3.9. Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

Mutasyon içeren DNA parçası PCR ile amplifiye edilerek mutasyon noktasını tanıyan bir restriksiyon endonükleaz ile inkübe edildikten sonra jel elektroforezinde ayrıştırılır. Fragmant parça uzunluklarına göre genotipi belirlenir. Beta globin geni 11 ve 12 nolu primerler ile ARMS yöntemindekine benzer PCR programı (sadece 72°C’de 90 sn ve son döngüde 60 sn ek süre) kullanılmıştır. Agaroz jelde kontrol edildikten sonra 10 µL PCR ürünü bir ependorf tüpüne alınıp üzerine 1µL Dde I (5U/µL) enzimi eklenir. Bir gece 37°C de inkübe edildikten sonra %2’lik Agaroz jel (NuSieve Agaroz 1 g, Agaroz 1 g) elektroforezinde yürütölüp etidyum bromür ile boyanarak değerlendirilir. Beta globin geni üzerinde bulunan Hb S mutasyonu 11 ve 12 no’lu primerler ve Dde I enzimi ile Hb D ise 229 ve 230 primerleri ve EcoR I enzimi ile belirlenmektedir. RFLP analizinde kullanılan primerler Tablo 10’da gösterilmiştir.¹⁴⁸

Beta globin genin RFLP için PCR primerleri ve Dde I kesim yerleri Şekil 4’te gösterilmiştir.

Tablo 10: RFLP yönteminde kullanılan primerler

HbS RFLP #11	5'-GGC CAA TCT ACT CCC AGG AG-3'
HbS RFLP #12	5'-ACA TCA AGG GTC CCA TGA AC-3'
HbD RFLP #229	5'-ATA CAA TGT ATC ATG CCT CTT TGC ACC-3'
HbD RFLP #230	5'-GTA TTT TCC CAA GGT TTG AAC TAG CTC-3'

-148 ccagaagagc caaggacagg tacggctgtc atcacttaga cctcaccctg tggagccaca
#11 → #30 →

-88 ccctaggggtt ggccaatcta ctcccaggag cagggagggc aggagccagg gctgggcata
-28 aaagtcaggg cagagccatc tattgcttAc atttgcttct gacacaactg tgttcactag
+24 caacctcaaa cagacacc ← #45N

Ekson 1 ATG GTG CAC CTG ACT C↓CT GAG GAG AAG TCT GCC GTT ACT GCC CTG TGG
← #44M

Cd 16 GGC AAG CTG AAC GTG GAT GAA GTT GGT GGT GAG GCC CTG GGC AG
IVS1 1 gttggtatca aggttacaag acaggtttta ggagaccaat agaaactggg catgtggaga
61 cagagaagac tcttggttt ctgataggca ctgactctct ctgcctattg gtctattttc
121 ccacc↓cttag

Ekson 2 G CTG CTG GTG GTC TAC CCT TGG ACC CAG AGG TTC TTT GAG TCC TTT GGG
Cd 47 GAT CTG TCC ACT CCT GAT GCT GTT ATG GGC AAC C↓CT AAG GTG AAG GCT
Cd 63 CAT GGC AAG AAA GTG CTC GGT GCC TTT AGT GAT GGC CTG GCT CAC CTG
Cd 79 GAC AAC CTC AAG GGC ACC TTT GCC ACA ↓ CTG AGT GAG CTG CAC TGT GAC
Cd 95 AAG CTG CAC GTG GAT C↓CT GAG AAC TTC AGG
← #12

IVS2 1 gtga↓ctctat gggacccttg atgttttctt tccccttctt ttctatgggt aagtctatgt
61 cataggaagg ggagaagtaa cagggtagag tttagaatgg gaaacagacg aatgattgca
121 tcagtgtgga agtctcagga tcgttttagt ttcttttatt tgcgtttcat aacaattggt
181 ttcttttgtt taattcttgc tttctttttt tttcttctec gcaattttta ctattatact
241 taatgcctta acattgtgta taacaaaagg aaatatctct gagatacatt aagtaactta
301 aaaaaaaact ttacacagtc tgcctagtag attactattt ggaatatatg tgtgcttatt
361 tgcataattca taatctccct actttatttt cttttatttt taattgatac ataactatta
421 tacataattta tgggttaaag tgtaattgtt taatatgtgt acacataattg accaaatcag
481 ggtaattttg catttgtaat tttaaaaaat gctttcttct ttttaataac ttttttgttt
541 atcttatttc taatactttc cctaactctt ttctttcagg gcaataatga tacaatgtat
→ #15

601 catgcctctt tgcaccattc taaagaataa cagtataat ttctgggtta aggcaatagc
661 aatatttctg catataaata tttctgcata taaattgtaa ctgatgtaag aggtttcata
721 ttgctaatag cagctacaat ccagctacca ttctgctttt atttatgggt tgggataagg
781 ctggattatt ctgagtccaa gctaggccct ttgctaatac atgttcatac ctcttatctt
841 cctcccacag

Ekson 3 CTC CTG GGC AAC GTG CTG GTC TGT GTG CTG GCC CAT CAC TTT GGC AAA
Cd 121 GAA TTC ACC CCA CCA GTG CAG GCT GCC TAT CAG AAA GTG GTG GCT GGT
Cd 137 GTG GCT AAT GCC CTG GCC CAC AAG TAT CAC TAA

UTR 1 gctcgtttc ttgctgtcca atttctatta aaggttcctt tgttccctaa gtccaactac
UTR 61 taaactgggg gatattatga agggccttga gcatctggat tctgcctAAT AAAAAacatt
UTR 121 tattttcatt gcaatgatgt atttaaatta tttctgaata ttttactaaa aagggaatgt
UTR 181 gggaggtcag tgcatttaaa acataaagaa atgaagagct agttcaaaacc ttgggaaaaat
UTR 241 acactatata ttaaaactcca tgaaagaagg tgaggctgca aacagctaag gcacattggc
UTR 301 aacagccctg atgcctatgc cttattcatc cctcagaaaa ggattcaagt agaggcttga
UTR 361 tttggagggt aaagttttgc tatgctgtat ttacattac ttattgtttt agctgtcctc
UTR 421 atgaatgtct tttcactacc catttgctta tcatgcatat ctacagcatt actocactca
← #16

Şekil 4: Beta globin gen dizisi, RFLP için PCR primerleri ve Dde I kesim yerleri

3.3.10. Mikroarray Yöntemiyle Mutasyon Analizi

3.3.10.1. Mikroarray'in Çalışma Prensibi

Nanochip 100 tane test alanına sahip olan elektronik bir mikrodizin platformudur.

Çip yapısında DNA test alanlarına ek olarak bulunan kanal sistemi örneklerin test alanlarına gönderilmesini, hibridizasyon ve yıkama işlemlerinin yapılmasını sağlar.¹⁵¹

Çip yüzeyindeki DNA test alanları streptavidin molekülleri ile kaplıdır. Test alanlarına gönderilecek DNA molekülleri 5' uçlarından biotin ile işaretlenirler. DNA molekülleri sahip oldukları negatif elektrik yükü sayesinde çip yüzeyindeki test alanlarına elektronik olarak gönderilirken ulaştıkları test alanlarına sabitlenebilmeleri için 5' uçlarında bulunan biotin moleküllerinden yararlanırlar. Biotin molekülleri streptavidin ile özgül ve güçlü bir bağ kurma özelliğine sahiptir.¹⁵¹

SNP analizlerinde amplicon down metodu yani 5' uçlarında biotinle işaretlenmiş PCR ürünlerinin çip yüzeyindeki test alanlarına gönderilmesi tercih edilmektedir. Test alanlarına stabil bir şekilde bağlanan PCR ürünlerinin analizi mutant ve yabanıl tip problemlerle hibridizasyona tabi tutularak yapılır.¹⁵¹

3.3.10.2. PCR Ürünleri

Tanımlanmak istenen SNP'nin yaklaşık olarak çoğaltılacak PCR ürününün (200-400 bp) ortalarına gelmesi istenir. Ürünün biotinle işaretlenmesi PCR için kullanılan primerlerden birinin biotinli olarak kullanılması ile sağlanır.¹⁵¹

3.3.10.3. Mutant ve Yabanıl Tip İşaretleyici

SNP analizlerinde işaretleyici olarak tanımlanmak istenen SNP'yi 5' ucunda taşıyan bir yabanıl tip bir de mutant tip yaklaşık 10-12 baz çiftlik oligonükleotitler tasarlanır. Analiz edilen hedef dizi ile bir ilgisi olmayan ve uygulanan bütün testler için kullanılan bu floresan işaretli işaretleyicilerin özgül diziye bağlanabilmesini sağlayabilmek için mutant/yabanıl tip prob dizisinin 5' ucuna evrensel işaretleyicinin

dizisi de bir kuyruk olarak takılır. Böylece hibridizasyon sırasında floresan işaretli evrensel işaretleyiciler özgül diziye ait problemlere bağlanabilir.¹⁵¹

3.3.10.4. Stabilizör

Nanogen sisteminde tek nükleotit değişimlerinin yabancı tip veya mutant problemlerin hibridizasyonu ile tanıya kesin güvenilirlik özelliği kazandırmak için bağımsız DNA molekülleri arasındaki baz etkileşim enerjisinden (base stacking energy) faydalanılmaktadır. Baz etkileşim enerjisi DNA zincirleri boyunca nükleotitler arasındaki elektronların üstüste binmesi ile açığa çıkar.¹⁵¹

Diziye özgül işaretleyici probun 5' ucunun hemen bitiminden başlayan 25-35 nükleotitlik sabitleyici olarak tabir edilen bir ikinci oligo hibridizasyon aşamasına eşlik eder. Hibridizasyon sırasında stabilizör ve diziye özgül işaretleyici prob dipdibe PCR ürününe bağlanırlar. Dipdibe yerleşen stabilizör 5' ucundaki baz ile işaretleyicinin 3' ucundaki baz arasında oluşan "baz etkileşim" enerjisi hibridizasyonun kuvvetini arttıran bir etken olarak belirir. Çip hibridizasyon sonrası özgül olmayan bağlanmalardan arındırılmak üzere yıkamalara ve artan sıcaklığa maruz bırakılır. Yabancı tip probun mutant allele, mutant probun ise yabancı allele bağlanması, aralarındaki fark yalnızca bir bazdan ibaret olduğu için mümkündür. Nanochip sisteminde uygulanan ısı ve yıkama işlemlerine ek olarak stabilizörün yarattığı baz etkileşim enerjisi özgül olmayan bağlamaların saf dışı edilmesinde etkinlik kazanır. Dolayısıyla SNP analizlerinde meydana gelebilecek yanlış eşleşmelerde test alanındaki DNA'ya bağlanmayan tek baz, stabilizör ve işaretleyici oligo arasındaki etkileşimi değiştirecek bu da yıkama ve ısı uygulamaları sırasında söz konusu yanlış eşleşmiş problemlerin uzaklaştırılmasını iyice kolaylaştıracaktır. Baz etkileşim enerjisinin en düşük olduğu ve bu nedenle en az tercih edilen baz kombinasyonu TA'dır. İlgilenilen DNA dizisinin içeriği gereği stabilizör ve işaretleyici arasında tercih edilmeyen baz kombinasyonları oluştuğunda tasarımın diğer zincir (antisens) üzerinden yapılması gerekmektedir. (AC, GC, GT en çok tercih edilen; TA, AA ve TT en az tercih edilen kombinasyonlardır).¹⁵¹

3.3.10.5. Mikroarray'in Çalışma Basamakları

DNA mikroarray yöntemi; DNA izolasyonu, amplifikasyon, saflaştırma (pürifikasyon), yükleme, okutma ve analiz olmak üzere 6 basamaktan oluşmaktadır.

3.3.10.6. Tam Kandan DNA İzolasyonu

Magna-Pure otomatik DNA izolasyon cihazıyla Lökosit DNA sı izole edilmiştir.

3.3.10.7. Amplifikasyon

Mikroarray yönteminin ikinci aşaması genomik DNA'nın amplifikasyonudur.

3.3.10.7.1. Ayıraçlar

1. 10×Tampon (KCL'li)
100 mM Tris-HCL pH 8,8
500 mM KCL
2. 25 mM MgCl₂
3. 10 mM dNTPs
4. Taq polimeraz
5. 5µM Primer karışımı

3.3. 10.7.2. Yöntem

Amplifikasyon Protokolü

distile H ₂ O	16,6 µL
10×Tampon(KCl'li)	2,5 µL
25 mM MgCl ₂	1,1 µL
5µM Primer karışımı	2 µL
10 mM dNTPs	0,5 µL

Taq polimeraz	0,3 µL
DNA	2 µL

Amplifikasyon döngüsü Nanotal programıyla yapılmıştır. Döngü protokolünün ısı ve süreleri Tablo 11’de gösterilmiştir.

Tablo 11. Amplifikasyon döngü protokolünün ısı ve süreleri

95°C	3dk	1 döngü
95°C	30sn	35 döngü
57°C	45sn	
72°C	45sn	
72°C	10dk	1 döngü

Bu çalışmada mutasyonlara özgün ampikonlar kullanılmıştır. Ampikonlarda yer alan mutasyonlar Tablo 12’de verilmiştir.

Tablo 12. Ampikonlarda yer alan mutasyonlar.

Ampikon	Mutasyonlar
1	IVS I-110(G→A), Cd 44(-C),Cd 39(C→T), IVS1-130(G→C), IVS 1-130(G→A)
2	IVS I-1(G→A), IVS I-5(G→A), IVS I-6(T→C),IVS II-1(G→A),Cd74/75(-C)
3	IVS II-745(C→T),Hb D(G→C), Hb O Arab(G→A), IVS II-848(C→A), IVS II-849(A→G), Hb Beograd(A→T)
4	-87(C→G), Cd8(-AA), Cd8/9 (+G), Hb G-Coushatta(A→C), Hb E Saskatoon(G→A), Hb D İran(G→C)
5	Hb S (A→T), -30 (T→A), Cd5(-CT), Hb C (G→A)

3.3.10.7.3. Agaroz Jel Elektroforezi

Agaroz jel elektroforezi, amplifiye edilmiş DNA molekülünün tanımlanması, ayrıştırılması ve saflaştırılması için kullanılır. Agaroz jelde DNA moleküllerinin içerdikleri nükleotit sayısının logaritması ile ters orantılı olarak anoda doğru göç ederler. Bu göç hızı jele eş zamanlı amplike edilen kontrol DNA ile birlikte değerlendirilir.

Ayıraçlar

1.% 2’lik agaroz jel

2 g agaroz 100 mL 0,5XTBE tamponu içinde mikrodalga fırında çözülerek hazırlanmıştır.

2. Yükleme tamponu

Brom fenol mavisi % 0,05

Gliserol % 10

Ficoll % 15

0,5XTBE tamponu ile 100 mL'ye tamamlanmıştır.

3. 10xTris Borat EDTA (TBE) Tamponu pH 8,0

Tris baz 54,0 g

Borik asit 27,5 g

EDTA (0,5 M, pH: 8,0) 20 mL

1 L saf suda çözülerek hazırlanmıştır.

4. Etidyum bromür çözeltisi

Etidyum bromür çözeltisi 5 µg/µL olacak şekilde saf suda çözülerek hazırlanmıştır.

Yöntem

0,5XTBE tamponu içinde mikrodalga fırında çözülen % 2'lik agoroz jel elektroforez kapları içine döküldükten sonra soğumaya bırakılmıştır. 0,5XTBE tamponuyla dolu elektroforez tankı içine yerleştirilerek jel içindeki tarak çıkarıldığında oluşan kuyulara, amplifiye örnekten 5 µL alınarak 2 µL yükleme tamponu ile karıştırıldıktan sonra jele aplik edilip, 150 voltta 30 dakika yürütülmüştür. Elektroforez sonrası jel etidyum bromür ile 3 dakika boyanıp saf su ile yıkanarak boya atıklarından temizlenmiştir.

DNA fragmanları UV ile görünür hale getirilip, fotoğrafı çekilerek değerlendirilmiştir.

3.3.10.7.4. Pürifikasyon

Pürifikasyon işlemine başlamadan önce kullanılacak olan pürifikasyon tabağı ile sistemin basınç kontrolü yapılmıştır. Tabağa herhangi bir şey yüklemeyen vakum pompası çalıştırılıp basıncın istenilen seviyede (8-10mbar) 1–2 dakika sabit kalması kontrol edilmiştir.

Pürifikasyon işleminde kullanılacak distile H₂O'nun iletkenliği amplifiye ürünlerin tuzdan iyi arındırılması için önemlidir. distile H₂O'nun iletkenliğinin 15

$\mu\text{S}/\text{cm}$ ' ye kadar olması istenir. Bunun için iletkenlik ölçerin üzerine bir damla kullanılacak distile H_2O 'dan konulmuştur. Göstergedeki değer distile H_2O 'nun iletkenliğini (sertlik derecesini) verir.

Yöntem

1. 20 μL amplifiye ürünü 80 μL distile H_2O 'la karıştırılıp pürifikasyon tabağının kuyularına aktarılmıştır.
 2. Pürifikasyon tabağı millipora yerleştirilip 10 inç Hg (1/3 Atm) olacak şekilde 10–15 dakika basınç uygulanmıştır.
 3. Kuyulardaki örnek miktarını takip ederek membran yüzeyinin tamamen kurummasını engellemek için örnek miktarı erken biten kuyulara birkaç damla distile H_2O eklenmiştir.
 4. Tüm kuyularda sıvı kalmadığında basınç kesilerek üzerlerine tekrar 100 μL distile H_2O eklenmiştir. Bu işlem bir kez daha yapılmıştır.
 5. Tüm kuyularda sıvı kalmadığında basınç kesilerek pürifikasyon tabağı temiz bir kurutma kâğıdı üzerine alınarak her bir kuyuya 65 μL distile H_2O eklenerek 15 dakika orta hızda çalkalanmıştır.
 6. Membran yüzeyindeki amplikonların tekrar suya karışması sağlandıktan sonra örnekler tekrar işaretlenen tüplere aktarılmıştır.
- 5 μL pürifiye amplikon % 2'lik agaroz jelde kontrol edilmiştir.

3.3.10.7.5. Yükleme

Ayıraçlar

1.50 mM L-Histidin

L-Histidin'den 3,88 g tartılıp distile H_2O ile 500 mL'ye tamamlanmıştır.

2. 100 mM L- Histidin

L-Histidin'den 0,776 g tartılıp distile H_2O ile 50 mL'ye tamamlanmıştır.

3. 0,3 M NaOH

50 veya 100 mL'lik 1M'lık NaOH stoku hazırlanıp distile H_2O ile sulandırılma yapılarak 0,3 M NaOH elde edilmiştir.

Yöntem

Yükleme tabağının kuyularına (96 kuyucuklu) 30 µL pürifiye ampikon ve 30 µL 100 mM 'lık L-Histidin karışımı, en son kuyucuğada 60 µL 50mM L- Histidin pipetlenmiştir. Histidinden sonraki kuyucuğa da 60 µL 0,3 M NaOH konulmuştur. Yükleme tabağı ile kartuja adresleme yapılarak cihaza yükleme yapılmıştır.

3.3.10.7.6. Okutma

Yöntem

1. Denaturasyon için çip yüzeyini kaplayacak şekilde 0,3 M NaOH konup 3 dk beklenmiştir.

2. Çip yüzeyi distile H₂O ile 2-3 defa iyice yıkanmıştır.

3. Çip yüzeyini kaplayacak şekilde yüksek tuz tamponu konulup 10–15 dk bekletilmiştir.

4. Her mutasyona özgü reporter(işaretleyici) karışımı hazırlanmıştır.

WT reporter	1 µL
MT reporter	1 µL
Stabilizer	1 µL
WT Universal Reporter	1 µL
MT Universal Reporter	1 µl
Yüksek tuz tamponu	95 µL

5. Çipin üzerindeki yüksek tuz tamponu çekilip her mutasyona çip yüzeyine gönderilmiştir ve mutasyonların okutma aşaması yapılmıştır.

3.3.10.7.7. Analiz

1. Veri analiz programında örneklerden alınan sinyaller değerlendirilirken öncelikle bir örnekten alınan kırmızı ve/veya yeşil sinyallerin enaz 50 düzeyinde olup olmadığı kontrol edilmiştir. Sinyallerden en az biri bu düzeyi aşmıyorsa söz konusu örnek değerlendirmeye alınmamıştır.

2. Veri analizinin değerlendirilmesinde iki türlü sinyal bulunmaktadır. Bunlar geri plan kırmızı/yeşil sinyaller ve özgül kırmızı/yeşil sinyallerdir.

3. Geri plan sinyalleri; çipe yüklenen histidin üzerinden alınan özgül olmayan yeşil ve kırmızı sinyallerdir.

4. Geri plan sinyalleri ile örneklerden alınan özgül sinyallerden biri arasında, özgül sinyallerin sağlıklı sınırdaki değerlendirilebilmesi için, 5'e 1 veya daha fazla oranda bir fark bulunması gerekmektedir.

5. Geri plan kırmızı veya yeşil sinyallerinden en az birine göre özgül sinyalleri 5'e 1 veya üzeri oranı tutturamayan örnekler değerlendirilmeye alınmamıştır. Bu oran istatistiksel olarak hesaplanmış standart sapma değerinin 3 katı kullanılarak ve kesin doğruluk arz eden sonuçlar elde etmek üzere belirlenmiştir.

6. Doğru belirlemelerin yapılabilmesi için heterozigot kontrollerde, hem kırmızı hem de yeşil kanalların 5:1 kriterini geçmiş olması gerekmektedir. Homozigot örneklerde ise kırmızı veya yeşil kanalın bu oranı yakalaması esastır.

7. Özgül sinyaller; örneklerden alınan özgül yeşil ve kırmızı sinyallerdir. Bu sinyallerin birbirine olan oranı ile örneğin genotipi belirlenmiştir.

8. 1:1 – 1:2 arasındaki oranlarda örnek heterozigottur.

9. 1:5 ve üzerindeki oranlarda yüksek olan sinyal kırmızı ise mutant, yeşil ise yabancılıktır.

10. 1:2'den fazla ve 1:5'den az ise genotipleme yapılamaz.

3.3.11. Gap PCR Yöntemi İle α Talasemi Mutasyon Taraması

İzole edilen DNA örneklerinin ilgili bölgeleri amplifiye edildikten sonra α talasemi mutasyon tanımlamaları Gap PCR yöntemiyle yapılmıştır.¹⁵²

Primer Karışımının Hazırlanışı:

4.2-F stok	5 μ L,	Saf su	15 μ L
4.2-R stok	5 μ L,	Saf su	15 μ L
α 2-R stok	2 μ L,	Saf su	18 μ L
α 2/3.7-F stok	2 μ L,	Saf su	18 μ L
3.7/20.5-R stok	2 μ L,	Saf su	18 μ L
SEA-F stok	2 μ L,	Saf su	18 μ L

SEA-R stok	2 µL,	Saf su	18 µL
20.5-F stok	2 µL,	Saf su	18 µL
MED-F stok	2 µL,	Saf su	18 µL
MED-R stok	2 µL,	Saf su	18 µL

olacak şekilde seyreltilen primerler ependorf tüpüne alınır ve 320 µL'ye saf su ile tamamlanır.

Ayıracılar

1. 10× PCR Tamponu
2. 25 mM MgCl₂
3. 6 mM dNTPs
4. Taq polimeraz
5. Primer karışımı
6. 5xGC Geliştirici

PCR karışımı; Primer karışımı, MgCl₂, dNTP karışımı, 10xPCR tamponu, 5xGC Geliştirici içermektedir.

PCR Karışımı

Primer Karışımı	320 µL
MgCl ₂	60 µL
dNTP karışımı	35 µL
10xPCR tamponu	100 µL
5xGC Geliştirici	200 µL

1000 µL ye saf su ile tamamlanır

3.3.11.1. Amplifikasyon Koşulları

Amplifikasyon 27,25 µL'lik reaksiyon hacminde gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon karışımı; PCR karışımı genomik DNA ve Taq polimeraz içermektedir.

PCR Karışımı	25 µL
DNA	2 µL
Fast Start Taq polimeraz	0,25 µL

Gap PCR yönteminde kullanılan primerler Tablo 13'de gösterilmiştir.¹⁵²

Tablo 13. Gap PCR yönteminde kullanılan primerler

α 2/3.7-F	CCCCTCGCCAAGTCCACCC
3.7/20.5-R	AAAGCACTCTAGGGTCCAGCG
α 2-R	AGACCAGGAAGGGCCGGTG
4.2-F	GGTTTACCCATGTGGTGCCTC
4.2-R	CCCGTTGGATCTTCTCATTTC
SEA-F	CGATCTGGGCTCTGTGTTCTC
SEA-R	AGCCCACGTTGTGTTTCATGGC
20.5-F	GCCCAACATCCGGAGTACATG
MED-F	TACCCTTTGCAAGCACACGTAC
MED-R	TCAATCTCCGACAGCTCCGAC

PCR Programı

PCR programı 1 döngü, 95°C’de 5 dk şeklinde başlamıştır. 30 döngü; 98°C’de 45 sn (denatürasyon), 60°C’de 1 dk 30 sn (yapışma) ve 72°C’de 2 dk 15 sn (uzama) olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Son olarak 72°C’de 5 dk 1 döngü şeklinde tamamlanmıştır.

Agaroz Jel Elektrophorezi

Ayırıcılar

%1,5’lik Agaroz Jel

Agaroz 1,5 g

100 mL 0,5xTBE tamponu içinde mikrodalga fırında çözülerek hazırlanmıştır.

Yükleme Tamponu

Brom fenol mavisi %0,05

Gliserol %10

Ficoll %15

5 x Tris Borat EDTA (TBE) Tamponu pH 8,0

Tris baz 54,0 g

Borik Asit 27,5 g

EDTA (0,5M pH 8,0) 20 mL

1 L saf suda çözülerek hazırlanmıştır.

Etidyum Bromür Çözeltisi

EtBr 5 µg/mL olacak şekilde saf suda çözülerek hazırlanmıştır. PCR sonunda amplifiye olan üründen 20 µL alınarak 2 µL yükleme boyası ile karıştırıldıktan sonra %1,5’lik agaroz jele uygulanıp 150 voltta 50 dk yürütülmüştür.

Elektroforez sonrası jel etidyum bromür ile 3 dk boyanıp boyanın fazlası saf su ile yıkanarak temizlenmiştir. DNA parçaları UV ile görünür hale getirilerek fotoğrafı çekilmiştir.

3.4. Eğitim Materyalleri ve Anket Formu

3.4.1.Görsel Sunum: Hemoglobinopati Eğitimi

Samandağ ilçesinde seçilen üç okulda görsel sunum yapılmıştır. Görsel sunum örneği Ek 4’te verilmiştir. Bu görsel sunumda;

Hücre nedir

Kan nedir

Alyuvar nedir

Hemoglobin nedir

Hemoglobinin işlevi nedir

Kalıtım nedir

Kromozom ve DNA nedir

Hatalı Protein sentezinde neler olur

Kalıtsal kan hastalığı nerede görülür

Talasemi ve Orak Hücre Anemi Hastalığının belirgin klinik özellikleri

Talasemi ve Orak Hücre Anemi Hastalığının genetik geçişi

Talasemi ve Orak Hücre Anemi Taşıyıcılığı nedir

Doğum öncesi Tanının önemi

Kalıtsal kan hastalıklarının önlenmesi nasıl olur

konusunda bilgi aktarılmıştır.

3.4.2. Bilgi ve İlgil Düzeyini Ölçmek İçin Hazırlanan Anket Soruları

Görsel Sunum öncesi ve sonrası anket çalışmasıyla öğrencilerin konu hakkındaki bilgi ve ilgi düzeyleri araştırılmıştır. Anket formunda üst başlık olarak; anket formunun

amacı belirtilmiştir. Anket formunda öğrencilerin Rumuz yazması istenmiştir. Anket formu örneği Ek 5’te verilmiştir.

Anket soruları:

1-Akdeniz Anemisi (Talasemi) ve Orak Hücre Anemisi hastalığı önemli bir halk sağlığı problemidir.

☐ Doğru ☐ Yanlış

2-Akdeniz Anemisi (Talasemi) ve Orak Hücre Anemisi hastalığı Çukurova bölgesinde yaygındır.

☐ Doğru ☐ Yanlış

3-Kalıtsal kan hastalıkları önlenebilir bir hastalıktır.

☐ Doğru ☐ Yanlış

4-Akdeniz Anemisi (talasemi hastalığı) ve/veya Orak Hücre Anemisi hastalığı bulaşıcıdır.

☐ Doğru ☐ Yanlış

5-Kalıtsal kan hastalığı taşıyıcılarında tedavi gereklidir.

☐ Doğru ☐ Yanlış

6-İki taşıyıcı çift evlendiğinde doğum öncesi tanı gereklidir.

☐ Doğru ☐ Yanlış

7- Akdeniz Anemisi (talasemi hastalığı) ve/veya Orak Hücre Anemisi sıtmanın yaygın olduğu yerlerde yaygındır.

☐ Doğru ☐ Yanlış

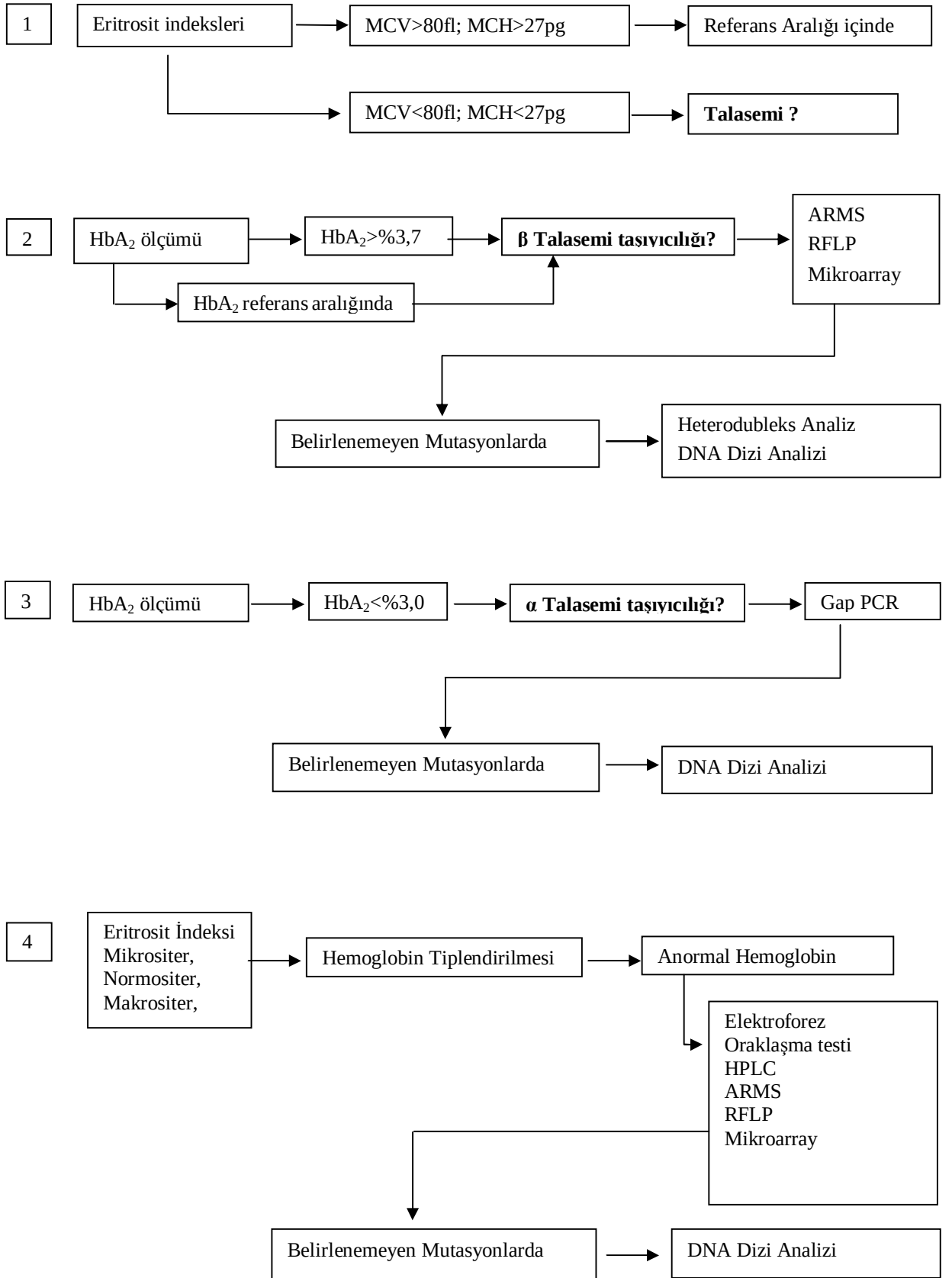
8-Akdeniz Anemisi (Talasemi) alyuvarlardaki hemoglobinin yeterli ya da hiç yapılamaması ile seyreden hastalıktır.

☐ Doğru ☐ Yanlış

4. BULGULAR

Bu tez çalışmasında, Antakya'ya bağlı Samandağ ilçesinde üç lisede hemoglobinopati hakkında görsel sunum yapılmıştır. Samandağ ilçesindeki liselerde hemoglobinopati hakkındaki ilgi ve bilgi düzeyini ölçmek için sunum öncesi ve sonrası anket çalışması yapılmıştır. Samandağ Yüksel Acun Anadolu Lisesinde 166, Samandağ Kız Meslek Lisesinde 81 ve Samandağ Teknik Anadolu Lisesinde 48 kişiden kan örnekleri alınarak soğuk zincir kurallarına uygun şekilde Ç.Ü.T.F. Tıbbi Biyokimya AD'na getirilmiştir. EDTA'lı tüpe alınan kan örneklerinin tam kan sayımı, hemoglobin tiplendirilmesi, HbA₂ ve HbF düzeyleri belirlenmiştir.

Örneklerin incelenmesinde Şekil 5'deki tarama şeması kullanılmıştır. Olguların hematolojik verileri Tablo 14'de verilmiştir.



Şekil 5. Talasemi ve Anormal Hemogloblin tarama şeması

Tablo 14. Olguların hematolojik verileri

No	Olgu	C	Yaş	Rbc ($\times 10^{12}/L$)	Hb (g/dL)	Hct (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	Hb Tipi	HbA ₂ (%)	HbF (%)
Samandağ Yüksel Acun Anadolu Lisesinden alınan örnekler												
31639	S.A.	E	16	5,40	11,8	38,1	70,4	21,8	30,9	AA	2,4	1,0
31640	N.A.	K	17	3,93	11,0	34,2	87,2	28,0	32,1	AA	2,5	1,8
31641	M.A.A.	E	17	5,12	14,3	43,5	85,0	27,8	32,7	AA	2,6	1,3
31642	İ.B.	K	15	4,79	13,0	41,4	86,4	27,2	31,4	AA	2,4	0,8
31643	Y.B.	E	37	5,04	15,0	45,2	89,8	29,9	33,3	AA	3,0	0,9
31644	M.B.	K	16	4,31	11,8	37,3	86,5	27,3	31,6	AA	2,6	1,4
31645	D.B.	K	16	4,24	11,3	35,9	84,7	26,7	31,5	AA	2,6	1,3
31646	H.H.B.	E	17	5,49	14,5	44,8	81,5	26,4	32,4	AS	3,2	0,5
31647	Z.A.C.	E	17	5,08	14,3	43,6	85,8	28,2	32,8	AS	3,3	0,7
31648	F.C.S.	K	14	4,88	13,1	41,6	85,3	26,9	31,5	AA	2,7	0,4
31649	G.Ç.	K	17	4,96	13,1	41,2	83,2	26,3	31,7	AA	2,7	1,2
31650	Ö.Ç.	K	17	5,71	11,2	38,1	66,7	19,7	29,4	AA	4,8	1,0
31651	Y.D.	K	17	4,03	10,4	34,2	84,8	25,8	30,4	AA	2,6	0,8
31652	Y.D.	K	16	4,56	13,2	42,0	92,1	29,1	31,6	AA	2,6	0,5
31653	S.D.	E	15	4,44	12,8	40,6	91,5	28,8	31,5	AA	3,0	0,7
31654	B.D.	E	17	5,37	14,3	45,1	84,0	26,7	31,8	AA	2,7	0,6
31655	A. L.D.	E	17	5,53	15,4	48,4	87,5	27,8	31,8	AA	2,7	0,7
31656	S.D.	K	16	4,23	11,4	35,9	84,9	26,9	31,7	AA	3,0	0,4
31657	E.D.	E	17	4,2	12,0	37,4	89,1	28,6	32,1	AA	3,3	0,6
31658	D.E.	K	16	4,81	14,0	43,5	90,4	29,1	32,2	AA	2,8	1,6
31659	A.E.	K	16	4,53	13,2	41,7	91,9	29,1	31,7	AA	2,9	0,6
31660	B.S.E.	K	17	4,10	11,4	35,1	85,5	27,7	32,4	AA	3,4	0,7
31661	Ö.G.	K	17	4,17	11,0	35,6	85,4	26,4	30,9	AA	3,0	0,6
31662	M.G.	K	16	4,56	12,8	39,5	86,7	28,2	32,5	AS	2,7	0,6
31663	H.G.	E	17	4,83	14,3	44,2	91,6	29,6	32,3	AA	3,1	0,5
31664	H.G	E	17	5,11	14,7	45,5	89,0	28,8	32,4	AS	2,7	0,7
31665	Y.G.	E	16	5,18	13,9	43,6	84,2	27,0	32,0	AA	3,0	0,8
31666	T.D.	E	17	4,92	13,9	45,4	92,3	28,2	30,6	AA	2,6	0,8
31667	P.H.	K	17	4,29	12,5	39,8	92,7	29,1	31,4	AA	2,5	0,6
31668	İ.H.	K	16	4,65	13,6	42,9	92,3	29,2	31,6	AA	2,5	0,7
31669	N.İ.	K	16	4,57	12,5	41,0	89,9	27,3	30,3	AA	2,7	0,4
31670	S.K.	E	17	4,65	13,2	40,9	88,0	28,4	32,3	AA	2,5	1,6
31671	S.K.	E	16	5,09	14,1	44,9	88,1	29,1	33,0	AA	2,6	1,6

Tablo 14. Devamı												
31672	E.K.	K	16	4,80	11,5	37,8	78,8	23,9	30,4	AA	2,2	0,3
31673	T.K.	K	16	4,54	13,4	43,0	94,7	29,6	31,2	AA	2,5	0,6
31674	C.K.	K	17	4,32	13,3	41,2	95,4	30,8	32,3	AA	2,5	1,7
31675	İ.K.	E	17	5,14	14,8	45,4	88,3	28,8	32,6	AA	2,8	0,7
31676	H.K.	K	16	3,83	10,5	33,3	86,9	27,3	31,5	AA	2,6	0,7
31677	G.K.	K	16	4,50	12,2	39,9	88,8	27,2	30,5	AA	2,5	0,6
31678	S.K.	K	15	4,50	12,6	40,1	89,1	28,0	31,4	AA	2,4	0,6
31679	M.L.	K	17	4,18	12,3	37,8	90,4	29,3	32,4	AA	2,6	1,3
31680	Y.Ç.M.	E	16	5,24	15,3	47,9	91,5	29,2	31,9	AS	3,2	0,9
31681	S.M.	K	17	4,36	11,2	36,9	84,7	25,7	30,3	AA	2,7	0,7
31682	H.N.	K	16	4,43	12,5	39,9	90,0	28,4	31,5	AA	2,7	0,7
31683	İ.O.	E	16	5,66	14,8	47,1	83,2	26,1	31,4	AA	2,5	1,1
31684	Ç.Ö.	K	17	4,51	12,8	41,8	92,7	28,3	30,5	AA	2,5	0,4
31685	M.Ö.	E	17	4,78	13,3	42,9	89,9	28,0	31,1	AA	2,7	0,8
31686	N.P.	K	16	4,05	11,4	36,6	90,3	28,2	31,3	AA	2,4	0,5
31687	D.P.	K	15	4,17	12,4	38,3	91,8	29,7	32,3	AA	3,3	0,6
31688	M.S.	E	17	4,93	14,4	45,7	92,8	29,3	31,6	AA	3,0	0,5
31689	Ş.S.	K	16	4,59	12,7	40,6	88,6	27,6	31,2	AA	2,3	0,7
31690	M.S.	K	17	4,11	12,7	39,7	96,6	30,8	31,9	AA	2,6	0,5
31691	S.S.	K	16	4,70	13,4	42,2	89,9	28,6	31,8	AS	2,6	0,6
31692	A.S.	K	44	4,71	11,8	37,9	80,5	25,0	31,1	AA	2,6	1,7
31693	B.E.S.	K	18	4,41	13,9	43,3	98,2	31,6	32,2	AA	2,8	0,8
31694	S.S.	E	16	4,83	14,0	43,7	90,5	29,1	32,1	AA	2,6	0,8
31695	S.S.	K	16	5,16	8,6	31,1	60,3	16,7	27,7	AA	1,5	0,7
31696	A.S.S.	K	38	4,62	12,2	38,8	84,0	26,3	31,7	AA	2,4	0,6
31697	G.Ş.	E	17	6,05	15,9	53,0	87,6	26,3	30,0	AA	2,6	1,6
31698	S.T.	K	18	4,37	12,1	38,1	87,2	27,6	31,6	AA	2,7	1,1
31699	Y.T.	E	17	4,83	14,0	44,9	92,7	28,9	31,2	AA	2,7	0,8
31700	G.T.	K	16	4,75	12,1	39,7	83,6	25,6	30,6	AA	3,7	0,7
31701	T.T.	E	15	4,94	15,6	46,2	93,6	30,4	32,5	AA	2,8	1,0
31702	S.Y.	K	16	4,56	12,8	41,5	90,9	28,2	31,0	AA	2,5	0,6
31703	M.Y.	E	17	4,99	15,1	47,7	95,6	30,3	31,7	AA	3,0	0,7
31704	A.Y.	E	17	5,13	14,5	45,9	89,4	28,2	31,5	AS	2,6	1,3
31705	S.Y.	K	17	4,26	12,4	40,1	94,1	29,1	30,9	AA	2,4	0,5
31706	N.Z.	K	17	5,05	12,8	42,3	83,8	25,4	30,3	AA	2,3	0,8
31910	A.A.	E	15	4,86	13,2	39,3	80,8	27,2	33,6	AA	3,0	1,0

Tablo 14 Devamı												
31911	M.A.	E	38	4,92	14,6	43,8	89,1	29,6	33,3	AA	3,4	0,5
31912	İ.A.	E	15	4,40	11,6	33,2	75,6	26,4	34,9	AA	2,6	0,7
31913	Ö.Ş.A.	E	16	4,53	12,8	37,7	83,1	28,1	33,8	AA	2,9	1,2
31914	A.A.	E	15	4,65	13,7	38,8	83,4	29,4	35,3	AA	2,9	1,1
31915	A.B.	E	15	4,57	13,1	38,9	85,1	25,7	33,8	AA	3,1	0,8
31916	İ.B.	K	15	4,15	11,6	35,3	85,1	28,0	32,9	AA	2,7	0,9
31917	T.B.	K	15	4,69	13,9	40,8	87,1	29,6	34,0	AA	2,6	0,7
31918	M.B.	E	15	4,57	12,0	38,2	83,5	28,1	33,6	AA	2,9	1,3
31919	M.C.	K	14	2,67	7,9	22,2	83,0	29,5	35,6	AA	2,8	0,5
31920	Y.K.C.	E	15	5,41	15,7	47,2	87,2	29,1	33,1	AA	3,0	1,0
31921	E.Ç.	K	15	5,64	12,5	39,3	69,9	22,2	31,8	AA	4,9	1,0
31922	K.Ç.	K	16	3,81	10,4	31,7	83,3	27,4	32,9	AA	3,1	0,7
31923	A.D.	K	16	4,43	12,3	37,2	84,0	27,8	33,1	AA	2,8	0,7
31924	S.Ş.D.	E	15	5,83	16,2	48,6	83,5	27,8	33,3	AA	3,1	1,6
31925	V.D.	E	15	4,27	12,3	37,3	87,3	28,8	33,0	AA	3,0	0,6
31926	A.D.	E	15	5,15	11,6	37,5	72,9	22,5	30,9	AA	2,3	0,7
31927	M.D.	E	15	5,06	14,3	42,3	83,6	28,4	33,9	AA	3,2	0,8
31928	S.D.	E	15	4,85	14,5	41,5	85,4	29,8	34,9	AA	3,4	0,7
31929	G.E.	E	15	5,28	13,5	40,8	77,2	25,6	33,1	AA	2,6	1,1
31930	G.G.	K	15	4,31	10,7	32,7	75,7	24,8	32,8	AA	2,1	1,0
31931	F.G.	K	45	4,69	12,6	38,1	81,2	26,9	33,1	AS	2,8	1,0
31932	M.G.	E	51	5,13	15,1	44,9	87,5	29,5	33,7	AA	2,6	0,8
31933	M.C.H.	E	15	5,15	14,4	43,4	84,3	28,0	33,3	AA	2,4	0,7
31934	H.İ.	K	15	4,07	11,7	35,6	87,5	28,8	33,0	AA	2,3	1,2
31935	N.İ.	E	15	4,92	14,6	43,2	87,9	29,7	33,8	AA	2,3	1,1
31936	A.K.	K	15	5,24	14,3	43,0	82,1	27,3	33,2	AS	3,2	0,7
31937	G.K.	K	15	4,11	8,9	28,2	68,7	21,6	31,5	AA	2,1	1,0
31938	M.K.	E	17	5,81	16,6	49,6	85,4	28,6	33,5	AA	2,7	0,5
31939	N.K.	K	15	3,80	11,8	34,7	91,3	31,2	34,1	AA	2,6	1,1
31940	Y.K.	K	15	4,24	11,5	34,2	80,8	27,1	33,5	AA	3,0	0,5
31941	S.K.	E	15	4,53	11,8	37,4	82,5	26,2	31,7	AA	3,1	0,9
31942	M.A.K.	E	15	4,87	13,3	39,9	82,1	27,4	33,3	AA	2,8	0,7
31943	Ö.M.	K	15	4,82	13,2	40,2	83,2	27,5	33,0	AA	2,5	1,3
31944	S.M.	K	17	4,39	11,3	34,5	78,7	25,7	32,6	AA	2,9	0,5
31945	B.N.	K	15	4,24	11,7	35,6	84,0	27,5	32,7	AA	2,6	1,0
31946	A.O.	E	15	4,82	14,4	42,9	89,0	30,0	33,7	AA	2,7	0,7

Tablo 14 Devamı												
31947	A.O.	E	15	5,15	13,7	41,8	81,2	26,7	32,9	AA	3,1	0,5
31948	O.Ö.	E	15	4,41	13,8	41,6	94,4	31,3	33,2	AS	3,2	0,6
31949	D.Ö.	K	15	4,80	11,4	35,0	72,9	23,7	32,5	AE	25,1	1,0
31950	E.Ö.	K	15	4,61	12,7	38,5	83,6	27,5	32,8	AA	2,7	0,8
31951	Ö.Ö.	E	15	5,21	14,6	42,1	80,8	28,0	34,6	AA	2,2	1,1
31952	M.Ö.	E	35	5,36	14,5	44,9	83,8	27,0	32,3	AS	3,1	1,0
31953	B.Ö.	K	15	4,52	12,0	37,5	83,0	26,6	32,0	AA	2,5	0,7
31954	O.C.Ö.	E	15	4,98	13,8	40,9	82,1	27,7	33,7	AA	2,9	0,7
31955	Ş.R.	E	46	6,13	12,8	41,7	68,1	21,0	30,8	AA	2,2	0,9
31956	D.S.	K	15	5,14	14,9	44,7	87,0	29,0	33,3	AA	2,6	1,2
31957	Ç.S.	E	16	4,86	14,4	43,5	89,5	29,6	33,1	AA	2,6	0,8
31958	B.S.	E	15	4,93	14,0	41,7	84,6	28,4	33,6	AA	2,6	1,1
31959	S.S.	K	15	4,52	12,9	39,1	86,6	28,5	32,9	AS	3,2	0,8
31960	T.S.	K	36	4,70	13,7	42,1	89,5	29,1	32,5	AA	2,7	0,8
31961	M.S.	K	15	4,73	12,8	39,4	83,3	27,0	32,4	AA	2,3	0,9
31962	A.S.	E	15	4,81	14,5	43,2	89,7	30,1	33,5	AA	2,5	1,0
31963	E.S.	E	15	4,90	13,8	41,7	85,1	28,1	33,1	AA	2,5	0,9
31964	A.T.	K	15	4,64	12,8	39,2	84,6	27,5	32,5	AA	2,7	0,7
31965	S.T.	K	16	4,43	13,5	40,9	92,3	30,6	33,1	AA	2,9	0,5
31966	A.U.	K	16	4,63	13,7	41,2	89,0	29,6	33,2	AA	2,6	0,8
31967	M.C.Y.	E	15	5,27	14,4	43,7	82,9	27,3	32,9	AA	2,4	0,5
31968	Y.Y.	K	16	4,64	13,6	40,8	87,9	29,4	33,4	AA	2,6	1,1
31969	Y.Y.	K	14	4,46	12,2	36,6	82,0	27,4	33,4	AA	2,6	0,9
31970	S.Y.	K	17	4,04	12,0	35,9	88,9	29,7	33,4	AA	2,5	1,3
31971	S.Y.	K	15	4,90	13,9	41,5	84,8	28,3	33,4	AA	2,8	0,7
32323	A.T.Y.	E	14	4,89	13,3	39,6	81,0	27,3	33,7	AA	2,7	0,8
32324	A.D.	E	15	4,88	12,5	39,5	81,0	25,5	31,6	AA	2,6	1,0
32325	A.D.	K	15	4,09	11,7	33,7	81,7	28,6	34,9	AA	2,7	1,5
32326	B.A.	K	15	4,51	14,3	40,7	90,2	31,6	35,0	AA	2,7	0,5
32327	B.K.	K	15	4,96	14,7	43,0	86,7	29,7	34,2	AA	2,5	1,0
32328	B.S.	E	.	5,74	13,4	40,9	71,3	23,3	32,7	AE	25,4	0,8
32329	B.S.	K	15	3,97	11,9	33,7	84,9	30,1	35,5	AA	2,8	0,9
32330	C.D.B.	E	15	5,20	15,5	46,8	90,0	29,9	33,2	AA	2,9	0,7
32331	D.K.	E	16	4,96	14,3	42,1	84,9	28,7	33,8	AA	2,9	1,2
32332	D.G.	K	15	4,41	13,5	39,3	89,0	30,5	34,3	AA	2,4	1,0
32333	E.Ö.	K	15	4,90	13,4	39,6	81,0	27,4	33,9	AA	2,4	0,8

Tablo 14 Devamı												
32334	E.T.	E	15	4,96	14,2	41,9	84,6	29,6	33,9	AA	3,3	0,6
32335	F.D.	K	15	5,51	15,3	45,0	81,6	27,8	34,0	AA	3,2	1,1
32336	F.B.Ç.	K	15	5,17	13,9	40,5	78,4	26,9	34,2	AA	2,9	1,0
32337	G.Y.	K	16	4,47	12,2	36,8	82,2	27,3	33,2	AA	2,9	0,8
32338	H.K.	E	16	5,25	13,8	41,4	78,9	26,3	33,4	AA	2,7	0,9
32339	H.Ö.	K	15	4,34	12,8	37,8	87,2	29,4	33,8	AA	2,8	1,0
32340	K.Ç.	K	17	4,56	12,8	37,9	83,2	28,0	33,7	AA	3,0	1,2
32341	M.S.	K	15	4,24	12,7	38,7	89,6	29,9	33,4	AA	2,6	0,6
32342	M.A.	E	16	5,18	13,7	40,7	78,7	26,6	33,7	AA	2,5	1,6
32343	M.C.S.	E	15	5,10	15,1	44,4	87,2	29,7	34,0	AA	2,6	0,8
32344	M.A.	K	15	4,29	13,0	38,9	90,7	30,3	33,4	AA	2,8	0,7
32345	M.T.	K	15	4,76	13,6	41,3	86,8	28,7	33,0	AA	3,0	0,6
32346	M.Ö.	E	15	4,85	12,8	39,7	82,0	26,5	32,3	AS	3,1	1,6
32347	M.A.	E	16	5,29	15,0	44,7	84,6	28,4	33,5	AA	2,8	0,8
32348	N.M.	K	14	4,65	12,4	37,0	79,6	26,7	33,6	AA	2,7	0,7
32349	O.K.	E	15	5,07	14,3	43,4	85,5	28,1	32,9	AA	2,7	1,0
32350	S.K.	E	15	5,63	14,7	43,8	77,8	26,2	33,6	AS	3,5	0,6
32351	T.Ö.	K	15	4,77	13,2	40,1	84,1	27,7	32,9	AS	3,2	0,6
32352	T.G.	E	16	4,70	13,2	39,9	84,8	28,2	33,2	AA	2,8	1,3
32353	U.I.	E	15	4,51	12,6	37,7	83,5	28,6	33,5	AA	3,2	0,5
32354	U.Ö.	E	15	4,84	13,3	39,9	82,4	27,5	33,4	AS	2,6	0,7
32355	U.Y.	E	15	4,57	13,7	40,6	89,0	30,0	33,7	AA	2,8	1,1
32356	Y.Ö.	K	15	4,75	12,9	38,5	81,0	27,3	33,6	AA	3,0	1,0
32357	Y.C.	E	15	5,47	14,1	43,0	78,6	25,8	32,8	AA	2,5	0,9
32358	Z.Ş.	E	15	4,99	14,1	41,1	82,3	28,3	34,3	AA	2,2	1,0
Samandağ Anadolu Teknik Lisesinden Alınan Örnekler												
32359	A.U.	E	16	5,43	15,8	46,9	86,4	29,2	33,8	AA	2,8	0,6
32360	A.E.	E	16	5,28	14,4	43,4	82,2	27,3	33,3	AA	3,3	0,4
32361	A.Y.	E	16	5,41	15,3	45,3	83,6	28,3	33,8	AA	3,3	0,7
32362	A.N.	E	16	5,48	14,5	45,1	82,4	26,4	32,0	AE	24,3	0,5
32363	A.H.	E	15	4,31	11,2	34,6	80,4	26,1	32,4	AA	2,8	0,3
32364	A.P.	E	17	5,56	16,0	45,8	82,4	28,8	34,9	AS	3,2	0,9
32365	A.K.	K	15	4,79	13,3	40,8	85,2	27,8	32,6	AA	2,7	0,9
32366	B.K.	E	18	4,78	14,4	43,6	91,2	30,1	33,0	AA	2,6	0,7
32367	B.B.	E	14	5,28	13,6	41,6	78,8	25,7	32,7	AS	3,2	0,6
32368	C.D.C.	E	17	5,45	14,0	43,2	79,1	25,6	32,4	AS	2,7	0,7

Tablo 14 Devamı												
32369	C.Y.	E	16	3,88	7,9	25,8	66,4	20,4	30,8	SS	2,6	5,0
32370	C.Ö.D.	E	17	5,25	15,7	46,5	88,6	29,9	33,7	AA	3,1	1,0
32371	D.D.	E	16	5,33	14,5	43,3	81,3	27,3	33,5	AA	3,0	0,9
32372	D.D.	K	24	4,34	13,2	39,9	91,9	30,3	33,0	AA	2,9	0,8
32373	E.P.	E	16	5,00	14,3	43,0	86,2	28,7	33,4	AA	2,3	0,7
32374	E.D.	E	16	4,90	13,5	40,7	83,1	27,5	33,1	AA	2,7	0,8
32375	E.G.	E	15	4,65	13,2	40,9	87,8	28,4	32,4	AS	2,8	0,9
32376	E.K.	E	35	5,03	15,7	46,8	93,0	31,3	33,7	AA	3,0	0,9
32377	E.H.	E	15	5,78	16,6	50,1	86,7	28,7	30,2	AA	2,8	0,9
32378	F.Ö.	E	14	5,53	14,4	44,6	80,8	26,0	32,2	AA	2,7	1,0
32379	F.T.	E	16	6,20	16,3	47,8	77,1	26,2	34,0	AA	4,2	1,5
32380	H.İ.D.	E	15	5,08	14,5	41,8	82,2	28,5	34,7	AA	2,7	1,3
32381	H.Ç.	E	18	4,87	13,5	41,0	84,1	27,8	33,1	AA	2,9	1,0
32382	H.K.V.	E	16	5,00	15,2	44,6	89,1	30,5	34,2	AA	2,8	0,7
32383	İ.D.	E	16	5,24	12,5	40,4	77,1	24,6	31,9	AA	2,8	0,9
32384	M.N.	E	15	4,52	12,5	37,8	83,6	27,6	33,0	AA	3,1	1,0
32385	M.A.	E	14	5,13	14,5	43,9	85,7	28,4	33,1	AA	2,6	0,8
32386	M.A.Ö.	E	16	5,29	12,3	36,8	69,7	23,2	33,3	AE	23,4	1,5
32387	M.K.	E	15	4,92	13,5	40,6	82,6	27,5	33,3	AA	3,2	1,2
32388	M.K.	E	15	4,68	14,3	42,7	91,2	30,6	33,6	AA	2,8	0,8
32389	N.H.	K	17	4,11	12,6	37,8	91,9	30,7	33,4	AA	2,8	0,7
32390	O.O.	E	16	5,86	14,7	45,6	77,9	25,1	32,2	AS	3,5	0,6
32391	O.K.	E	15	5,61	14,2	49,8	88,8	25,3	28,5	AS	3,3	1,8
32392	P.K.	K	16	4,88	13,5	40,7	83,5	27,6	33,1	AA	2,8	0,5
32393	R.D.	E	15	4,68	13,1	39,1	83,3	27,9	33,4	AA	3,1	0,7
32394	S.D.D.	E	14	4,81	12,7	38,9	80,9	26,4	32,6	AA	2,9	1,0
32395	S.Y.	E	17	5,15	14,7	44,9	87,2	28,6	32,8	AA	2,8	0,5
32396	S.D.	E	16	4,73	13,6	41,2	87,2	28,7	33,0	AA	2,5	0,8
32397	S.B.	E	15	4,65	12,7	38,7	83,2	27,3	32,8	AS	3,1	1,1
32398	T.S.	E	16	4,18	7,1	36,9	88,2	16,9	19,2	AA	3,0	1,5
32399	U.Ö.D.	E	15	4,65	13,1	39,8	85,5	28,2	33,0	AA	3,0	0,6
32400	U.A.İ.	E	15	4,24	11,5	36,9	87,1	27,2	31,2	AS	3,1	1,0
32401	U.Ş.	E	16	5,67	13,2	42,2	74,3	23,3	31,3	AA	2,7	0,6
32402	Y.A.B.	E	16	5,10	12,9	40,6	79,6	25,4	31,9	AS	2,9	1,5
32403	Y.M.	E	16	5,01	14,1	43,1	85,9	28,1	32,7	AA	3,2	0,5
32404	Y.T.	E	16	4,97	13,9	41,6	83,8	28,1	33,5	AA	3,1	1,0

Tablo 14 Devamı												
32405	Y.D.	E	14	4,43	13,7	40,4	91,2	31,0	34,0	AA	2,7	0,7
32406	Y.A.	E	16	4,55	13,6	41,6	91,4	30,0	32,8	AA	2,8	1,0
32425	D.E.	E	15	5,11	13,6	39,8	77,9	26,6	34,2	AA	3,0	1,2
Samandağ Kız Meslek Lisesinden alınan örnekler												
32586	P.A.	K	16	3,57	9,4	29,8	83,6	26,3	31,4	AA	2,7	0,9
32587	C.A.	K	16	4,32	11,5	37,4	86,6	26,7	30,8	AA	2,6	0,6
32588	A.A.	K	17	4,53	10,7	35,0	77,2	23,7	30,6	AA	2,1	1,1
32589	B.A.	K	16	5,08	12,8	40,8	80,4	25,2	31,3	AA	2,7	0,7
32590	Z.A.	K	16	4,33	13,0	40,1	92,5	30,0	32,4	AA	2,4	0,6
32591	H.A.	K	17	4,62	12,8	40,3	87,1	27,6	31,7	AA	2,3	0,6
32592	M.A.	K	17	5,98	11,5	38,9	65,2	19,2	29,5	AA	6,2	0,8
32593	Ö.A.	K	18	4,58	12,3	39,5	86,1	26,9	31,3	AA	2,1	0,5
32594	D.B.	K	17	4,11	12,0	37,4	90,9	29,3	32,2	AA	3,1	0,6
32595	D.B.	K	18	4,45	11,8	37,7	84,7	26,6	31,5	AA	2,4	1,0
32596	Z.B.	K	18	4,00	11,8	36,3	90,5	29,4	32,5	AA	3,2	1,0
32597	G.B.	K	16	4,81	11,9	38,3	79,5	24,8	31,2	AS	3,2	0,5
32598	S.B.	K	15	5,36	11,5	38,2	71,3	21,5	30,2	AA	2,2	1,0
32599	C.C.	K	16	4,28	12,6	38,3	89,6	29,5	33,0	AA	2,2	0,5
32600	A.C.	K	16	4,92	13,5	42,9	87,2	27,3	31,4	AA	2,9	0,7
32601	N.C.	K	16	4,29	12,1	38,2	89,1	28,2	31,6	AA	2,7	0,7
32602	M.C.	K	15	4,61	13,1	40,8	88,4	28,4	32,1	AA	2,8	1,0
32603	İ.Ç.	K	16	5,20	8,6	29,8	57,3	16,6	29,0	AA	1,7	0,5
32604	S.Ç.	K	17	4,57	11,4	35,3	77,5	25,0	32,3	AA	2,8	0,7
32605	Ç.D.	K	16	4,10	12,1	38,0	92,5	29,5	31,9	AA	2,2	0,5
32606	S.D.	K	15	4,28	11,7	37,4	87,6	27,4	31,3	AA	2,4	1,3
32607	M.D.	K	14	4,69	11,7	37,5	80,0	24,9	31,2	AA	2,9	1,0
32608	B.D.	K	17	4,32	12,6	38,6	89,4	29,1	32,0	AA	2,9	0,5
32609	H.E.	K	16	4,73	11,3	36,0	76,2	23,9	31,4	AE	25,8	1,0
32610	E.G.	K	15	4,23	12,5	40,3	95,3	29,7	31,1	AA	2,6	0,7
32611	P.G.	K	17	4,33	12,6	41,3	95,4	29,1	30,5	AA	2,7	0,7
32612	D.G.	K	17	4,37	11,1	37,0	84,7	25,3	29,9	AA	2,7	1,0
32613	P.G.	K	17	5,05	12,9	42,0	83,0	25,6	30,9	AA	2,6	0,7
32614	Ö.G.	K	17	4,02	11,1	35,9	89,4	27,7	31,0	AA	2,7	0,7
32615	Y.G.	K	17	4,06	11,7	37,6	92,6	28,7	31,0	AS	3,0	1,0
32616	M.G.	K	16	4,63	11,2	37,5	80,9	24,2	29,9	AA	2,7	0,8
32617	G.H.	K	15	4,04	11,5	37,0	91,4	28,5	31,1	AA	2,6	1,5

Tablo 14 Devamı												
32618	E.H.	K	16	3,68	10,3	32,9	89,4	28,1	31,5	AA	2,5	0,8
32619	İ.I.	K	15	4,44	12,9	40,7	91,7	29,0	31,6	AA	2,5	1,0
32620	S.I.	K	16	4,50	12,9	40,5	90,0	28,7	32,0	AA	2,7	0,7
32621	S.K.	K	17	4,68	12,9	41,8	89,2	27,6	31,0	AA	2,8	0,5
32622	G.K.	K	15	4,81	12,6	41,3	85,8	26,3	30,6	AA	2,5	1,2
32623	B.K.	K	15	4,23	12,9	40,9	96,8	30,5	31,5	AA	2,6	1,1
32624	N.K.	K	18	4,44	12,7	40,9	92,1	28,6	31,1	AA	2,5	1,0
32625	K.K.	K	15	4,68	12,3	40,3	86,2	26,4	30,6	AA	2,7	1,0
32626	A.K.	K	18	2,56	8,0	25,1	98	31,1	31,8	SS	2,9	0,8
32627	G.K.	K	17	4,66	12,2	39,2	84,2	26,2	31,1	AA	2,6	0,8
32628	G.K.	K	16	4,35	13,0	40,9	94,0	29,9	31,8	AA	2,7	0,8
32630	Ç.K.	K	16	4,43	13,4	42,1	95,1	30,2	31,7	AA	2,5	0,7
32631	E.K.	K	16	4,74	13,7	42,8	90,2	29,0	32,1	AA	2,4	0,7
32632	E.K.	K	17	4,85	13,7	43,3	89,3	28,3	31,6	AA	2,3	0,6
32633	E.K.	K	17	4,22	11,7	37,2	88,3	27,8	31,5	AA	2,5	1,3
32634	M.K.	K	16	4,49	10,9	35,2	78,6	24,4	31,1	AA	2,6	1,0
32635	D.K.	K	16	4,70	13,0	41,4	88,1	27,7	31,5	AA	2,6	0,7
32636	E.K.	K	17	4,50	8,5	30,1	66,8	18,8	28,2	AA	2,4	0,6
32637	G.K.	K	17	4,45	8,7	31,0	69,8	19,7	28,1	AA	2,3	0,8
32638	S.K.	K	15	4,44	11,8	36,5	82,2	26,6	32,3	AA	2,2	0,9
32639	G.K.	K	18	4,47	11,1	38,2	85,5	24,9	29,1	AA	2,8	1
32639	A.K.	K	25	4,49	12,5	40,4	90,0	27,7	30,8	AA	2,7	0,6
32640	S.K.	K	17	5,22	12,6	40,8	78,1	24,1	30,9	AE	23,2	0,7
32641	Ç.M.	K	15	4,83	13,9	44,5	92,0	28,7	31,2	AA	2,4	0,9
32642	S.M.	K	17	6,13	13,7	52,2	85,1	22,3	26,2	AA	2,7	0,6
32643	A.M.	K	16	4,20	12,0	37,8	90,1	28,5	31,6	AA	2,6	1,3
32644	S.O.	K	14	4,47	8,6	30,7	68,6	19,3	28,2	AA	2,1	0,7
32645	A.Ö.	K	16	4,16	12,3	39,3	94,5	29,6	31,4	AA	2,6	1,6
32646	S.Ö.	K	16	4,13	12,5	40,1	97,0	30,2	31,1	AA	2,8	0,5
32647	F.Ö.	K	16	4,44	12,1	39,5	89,0	27,4	30,8	AA	2,5	0,9
32648	H.Ö.	K	16	4,50	13,0	41,3	91,8	29,0	31,6	AA	2,7	0,8
32649	E.S.	K	16	3,85	10,9	34,7	90,3	28,4	31,4	AA	2,5	1,5
32650	H.S.	K	17	4,77	12,8	40,6	85,1	26,7	31,4	AS	2,7	1,0
32651	Y.S.	K	17	5,15	13,8	43,2	83,9	26,7	31,9	AS	2,9	0,7
32652	B.Ş.	K	16	5,13	14,1	43,8	85,3	27,4	32,1	AS	3,2	0,7
32653	D.Ş.	K	16	4,61	13,2	41,2	89,4	28,5	31,9	AA	2,6	1,0

Tablo 14 Devamı												
32654	İ.T.	K	16	3,92	11,0	35,0	90,4	28,2	31,1	AA	2,5	0,5
32655	D.T.	K	17	4,98	9,9	35,8	71,9	19,9	27,7	AA	2,0	0,7
32656	S.T.	K	16	4,74	12,7	40,4	85,3	26,8	31,4	AA	2,6	1,0
32657	Y.T.	K	16	4,63	13,1	40,4	87,3	28,4	32,5	AA	2,5	1,3
32658	H.U.	K	16	4,24	10,8	35,8	84,5	25,5	30,2	AA	2,4	1,4
32659	S.U.	K	17	4,24	12,2	40,5	95,5	28,7	30,1	AA	2,7	1,2
32660	N.Ü.	K	15	5,44	11,0	37,3	68,7	20,2	29,4	AA	4,7	1,0
32661	Ş.Y.	K	15	4,62	12,4	39,9	86,2	26,9	31,2	AA	2,4	1,0
32662	G.Y.F.	K	15	4,44	12,7	40,8	92,0	28,6	31,1	AA	2,6	1,3
32663	A.Y.	K	15	4,99	13,1	41,9	84,1	26,3	31,6	AS	3,8	1,1
32664	Z.Y.	K	15	4,46	12,1	37,8	84,9	27,1	31,9	AS	2,9	1,0
32665	N.Y.	K	18	4,23	13,1	41,4	97,9	31	31,6	AA	2,3	1,1
32666	Y.Y.	K	16	3,95	11,0	34,9	88,3	27,8	31,5	AA	2,6	0,9
32667	D.D.	K	15	4,55	12,7	41,0	90,1	27,8	30,9	AA	2,8	0,6

4.1. Anormal Hemoglobin Olguları

Hemoglobin tiplendirmesinde 32 olgu Hb AS, 2 olgu Hb SS, 6 olgu Hb AE ve 257 olgu Hb AA olarak belirlenmiştir.

Hb AS ve Hb SS'li olguların hematolojik verileri Tablo 15'de verilmiştir. Hb AE'li olguların hematolojik verileri Tablo 16'da verilmiştir.

Hb AS, Hb SS ve Hb AE'li olguların HPLC görüntüsü Şekil 6-8 arasında verilmiştir.

Hb AS, Hb SS'li olguların moleküler düzeydeki çalışmaları ARMS ve RFLP yöntemiyle çalışılmıştır. Elektroforez görüntüsü Şekil 9 ve 10' da verilmiştir.

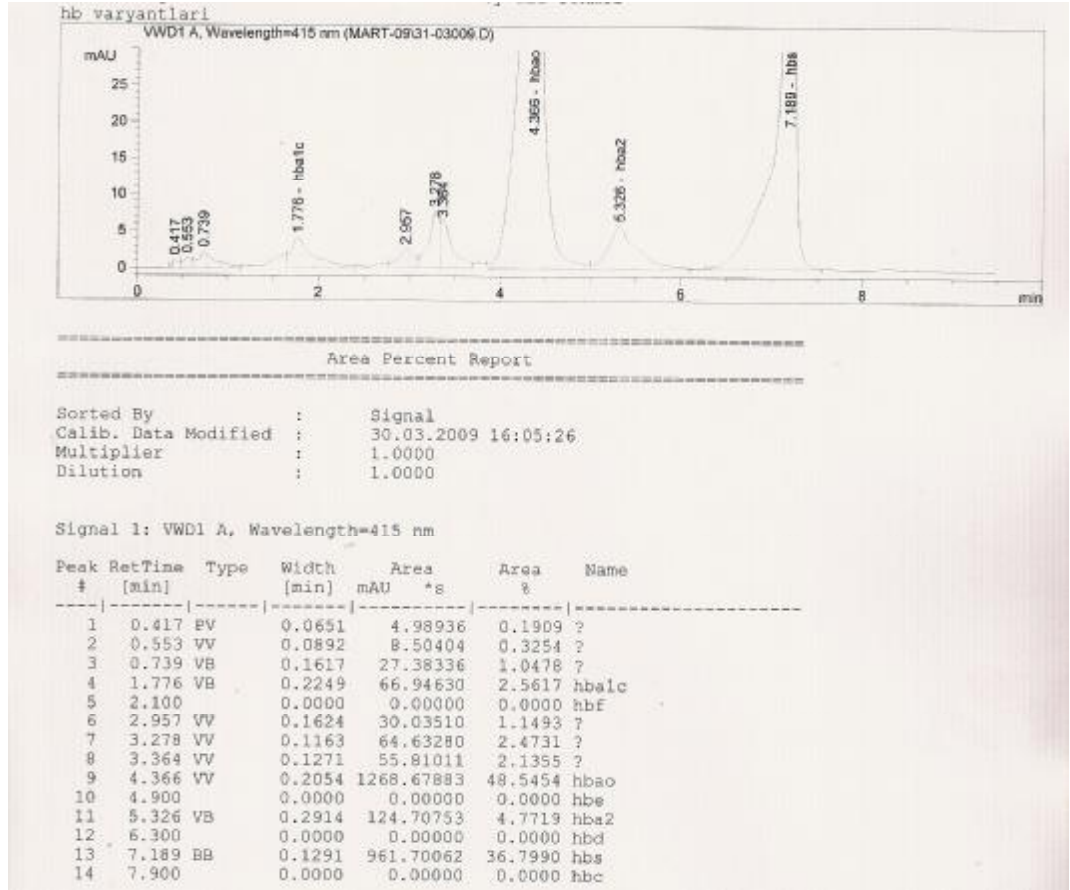
Hb AE'li olguların moleküler çalışmaları ARMS yöntemiyle çalışılmıştır. Elektroforez görüntüsü Şekil 11' de verilmiştir.

Tablo 15. Hb AS ve Hb SS'li Olguların hematolojik verileri

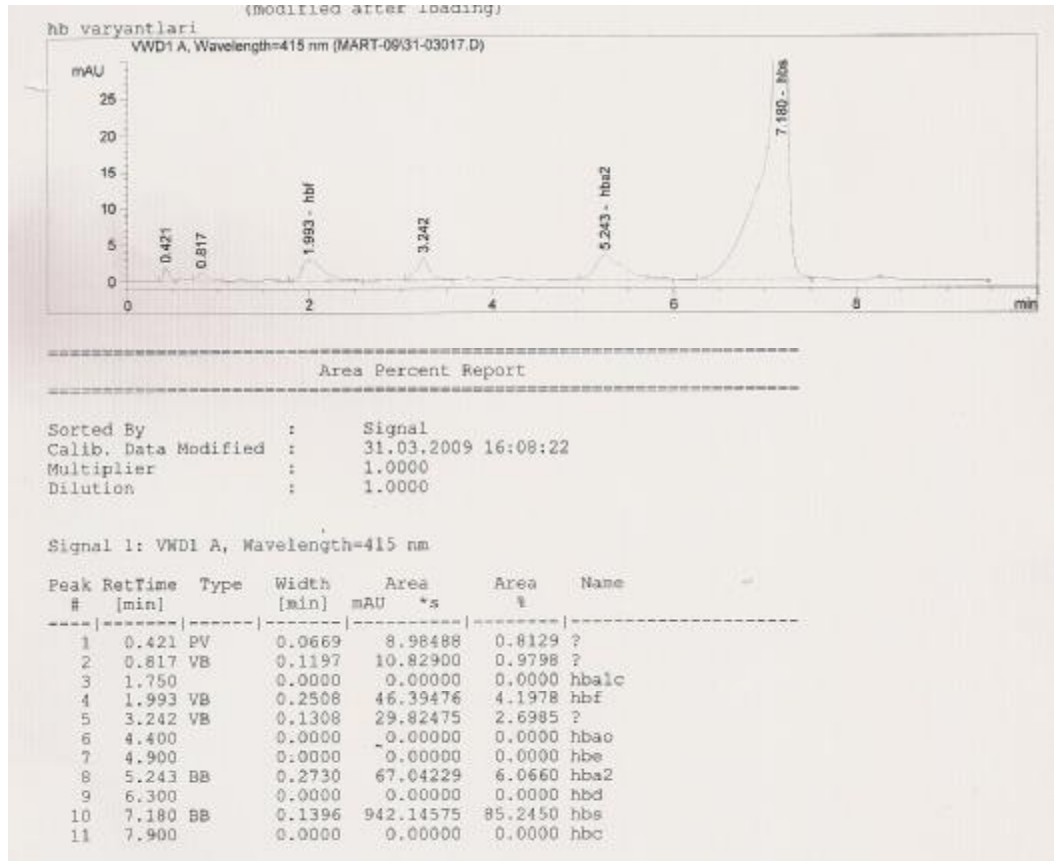
HPLC (%)											
No	Rbc	Hb	Hct	MCV	MCH	MCHC	Hb Tipi	HbA ₂	HbF	HbA	HbS
	(x10 ¹² /L)	(g/dL)	(%)	(fL)	(pg)	(g/dL)		(%)	(%)		
Samandağ Yüksel Acun Anadolu Lisesinden alınan örnekler											
31646	5,49	14,5	44,8	81,5	26,4	32,4	AS	3,2	0,5	49	36
31647	5,08	14,3	43,6	85,8	28,2	32,8	AS	3,3	0,7	49	39
31662	4,56	12,8	39,5	86,7	28,2	32,5	AS	2,7	0,6	50	36
31664	5,11	14,7	45,5	89,0	28,8	32,4	AS	2,7	0,7	49	38
31680	5,24	15,3	47,9	91,5	29,2	31,9	AS	3,2	0,9	50	36
31691	4,70	13,4	42,2	89,9	28,6	31,8	AS	2,6	0,6	50	38
31704	5,13	14,5	45,9	89,4	28,2	31,5	AS	2,6	1,3	49	37
31931	4,69	12,6	38,1	81,2	26,9	33,1	AS	2,8	1,0	51	35
31936	5,24	14,3	43,0	82,1	27,3	33,2	AS	3,2	0,7	50	36
31948	4,41	13,8	41,6	94,4	31,3	33,2	AS	3,2	0,6	49	39
31952	5,36	14,5	44,9	83,8	27,0	32,3	AS	3,1	1,0	49	36
31959	4,52	12,9	39,1	86,6	28,5	32,9	AS	3,2	0,8	50	37
32346	4,85	12,8	39,7	82,0	26,5	32,3	AS	3,1	1,6	48	37
32350	5,63	14,7	43,8	77,8	26,2	33,6	AS	3,5	0,6	50	35
32351	4,77	13,2	40,1	84,1	27,7	32,9	AS	3,2	0,6	51	36
32354	4,84	13,3	39,9	82,4	27,5	33,4	AS	2,6	0,7	50	34
Samandağ Anadolu Teknik Lisesinden Alınan Örnekler											
32364	5,56	16,0	45,8	82,4	28,8	34,9	AS	3,2	0,9	48	37
32367	5,28	13,6	41,6	78,8	25,7	32,7	AS	3,2	0,6	49	36
32368	5,45	14,0	43,2	79,1	25,6	32,4	AS	2,7	0,7	49	36
32369	3,88	7,9	25,8	66,4	20,4	30,8	SS	2,6	5,0	0,0	85
32375	4,65	13,2	40,9	87,8	28,4	32,4	AS	2,8	0,9	49	38
32390	5,86	14,7	45,6	77,9	25,1	32,2	AS	3,5	0,6	50	36
32391	5,61	14,2	49,8	88,8	25,3	28,5	AS	3,3	1,8	50	38
32397	4,65	12,7	38,7	83,2	27,3	32,8	AS	3,1	1,1	49	38
32400	4,24	11,5	36,9	87,1	27,2	31,2	AS	3,1	1,0	51	36
32402	5,10	12,9	40,6	79,6	25,4	31,9	AS	2,9	1,5	51	35
Samandağ Kız Meslek Lisesinden alınan örnekler											
32597	4,81	11,9	38,3	79,5	24,8	31,2	AS	3,2	0,5	53,1	29,9
32615	4,06	11,7	37,6	92,6	28,7	31,0	AS	3,0	1,0	49,9	32,3
32626	2,56	8,0	25,1	98,0	31,1	31,8	SS	2,9	0,8	0,0	87,4
32650	4,77	12,8	40,6	85,1	26,7	31,4	AS	2,7	1,0	50,7	31,4
32651	5,15	13,8	43,2	83,9	26,7	31,9	AS	2,9	0,7	49,9	31,8
32652	5,13	14,1	43,8	85,3	27,4	32,1	AS	3,2	0,7	49,5	30,9
32663	4,99	13,1	41,9	84,1	26,3	31,6	AS	3,8	1,1	48,8	32,4
32664	4,46	12,1	37,8	84,9	27,1	31,9	AS	2,9	1,0	49,7	33,2

Tablo 16. Hb AE'li Olguların hematolojik verileri

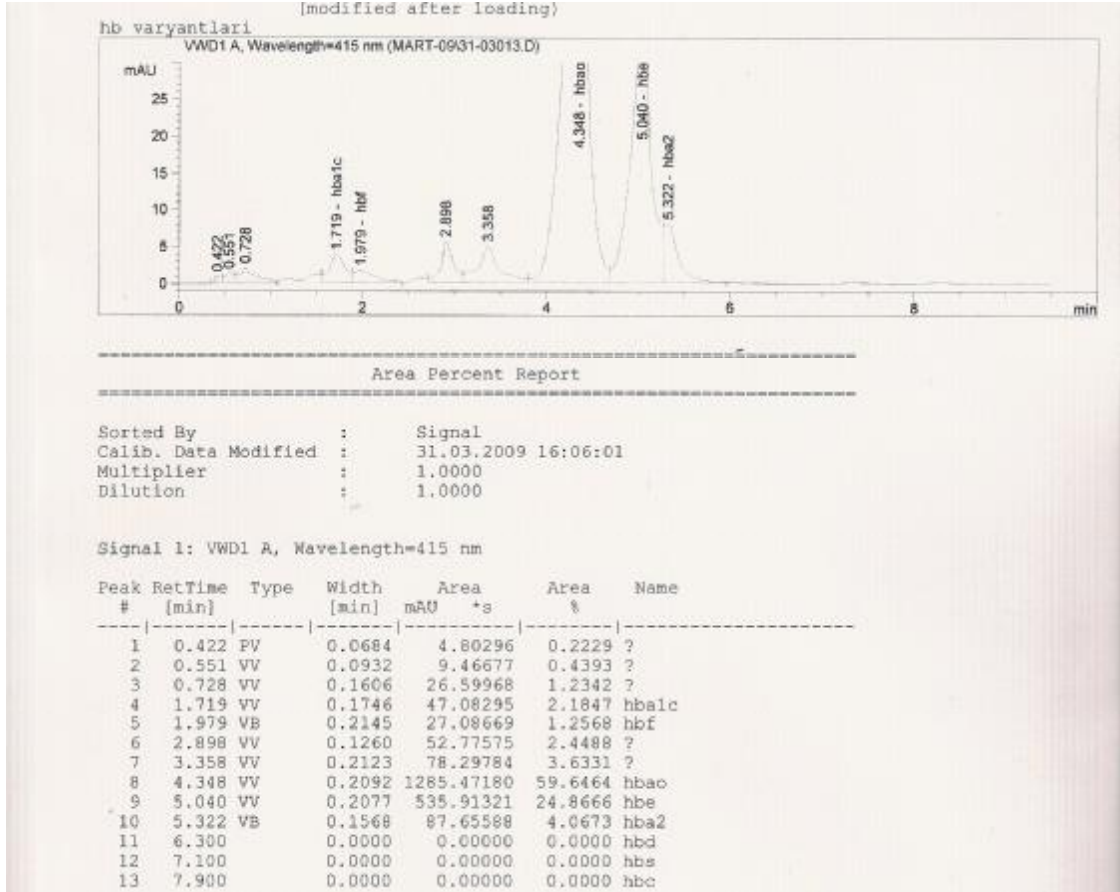
										HPLC (%)	
No	Rbc (x10 ¹² /L)	Hb (g/dL)	Hct (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	Hb Tipi	HbA ₂ (%)	HbF (%)	HbA	HbE
Samandaş Yüksel Acun Anadolu Lisesinden alınan örnekler											
31949	4,80	11,4	35,0	72,9	23,7	32,5	AE	25,1	1,0	59	24
32328	5,74	13,4	40,9	71,3	23,3	32,7	AE	25,4	0,8	60	24
Samandaş Anadolu Teknik Lisesinden Alınan Örnekler											
32362	5,48	14,5	45,1	82,4	26,4	32,0	AE	24,3	0,5	60	25
32386	5,29	12,3	36,8	69,7	23,2	33,3	AE	23,4	1,5	59	24
Samandaş Kız Meslek Lisesinden alınan örnekler											
32609	4,73	11,3	36,0	76,2	23,9	31,4	AE	25,8	1,0	52,2	25
32640	5,22	12,6	40,8	78,1	24,1	30,9	AE	23,2	0,7	52,9	22,9



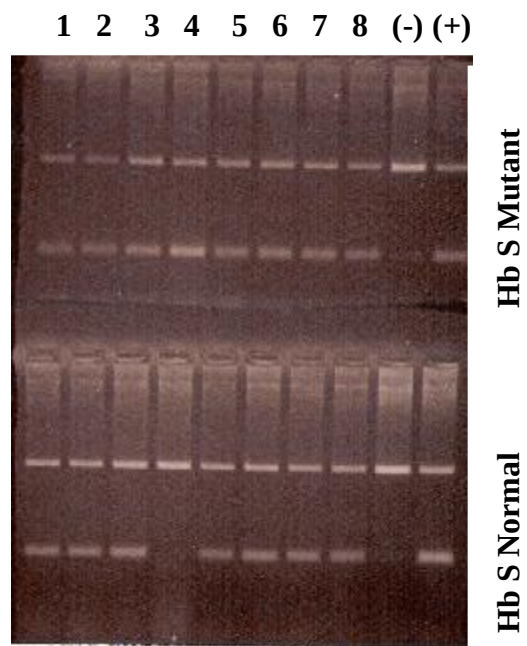
Şekil 6. Hb AS'nin HPLC Görüntüsü



Şekil 7. Hb SS'in HPLC görüntüsü

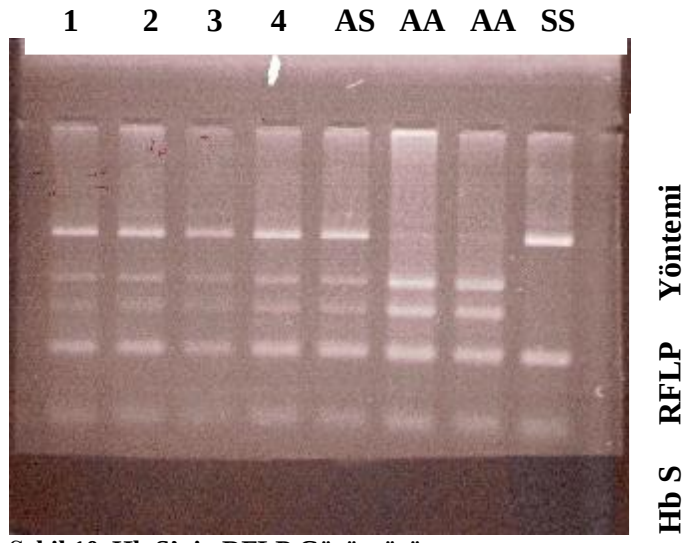


Şekil 8. Hb AE'nin HPLC Görüntüsü



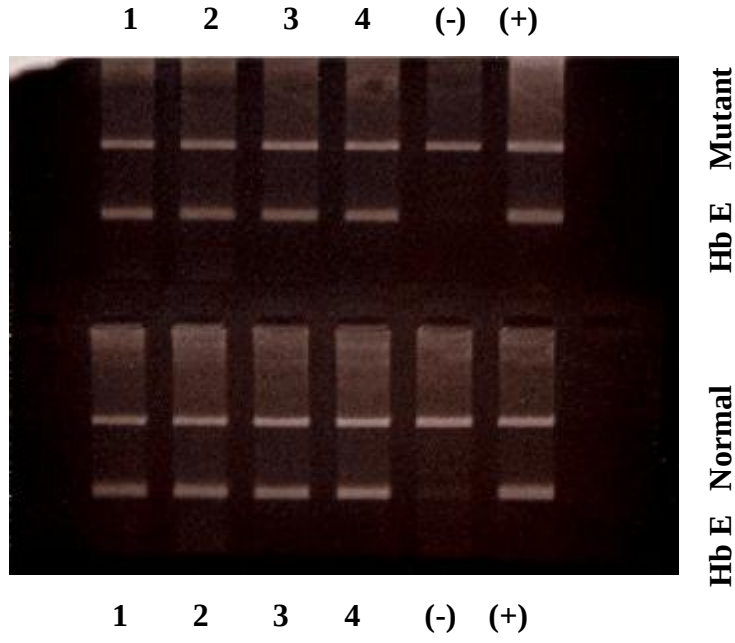
1	2	3	4	5	6	7	8	(-)	(+)
---	---	---	---	---	---	---	---	-----	-----

1. Hb AS
2. Hb AS
3. Hb AS
4. Hb SS
5. Hb AS
6. Hb AS
7. Hb AS
8. Hb AS
9. (-) Kontrol
10. (+) Kontrol



Şekil 10. Hb S'nin RFLP Görüntüsü

1. Hb AS
2. Hb AS
3. Hb AS
4. Hb AS
5. Hb AS Kontrol
6. Hb AA Kontrol
7. Hb AA Kontrol
8. Hb SS Kontrol



Şekil 11. Hb E'nin ARMS Görüntüsü

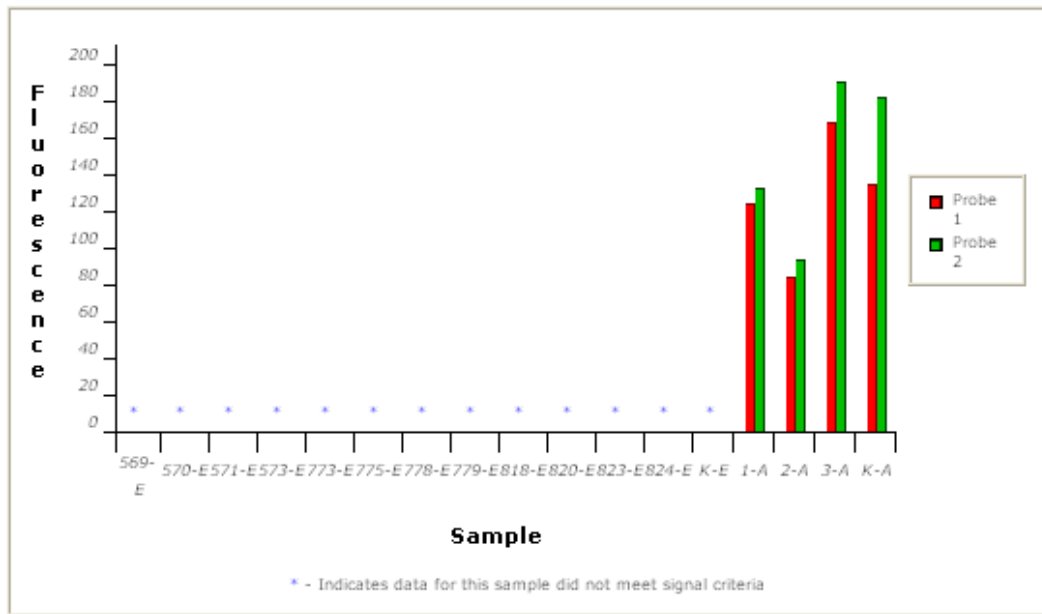
1. Hb AE
2. Hb AE
3. Hb AE
4. Hb AE
5. (-) Kontrol
6. (+) Kontrol

4.2. Beta Talasemi Olguları

Beta talasemi mutasyonu saptanan olgularının hematolojik verileri ve mutasyon tipleri Tablo 17’de verilmiştir. Ayrıca bu mutasyonlar mikroarray cihazında çalışılmıştır. IVS I-110 ve Cd 39 mutasyon tiplerinin mikroarray cihazından elde edilen bar grafiği Şekil 12 ve Şekil 13’de, sinyal oranları ve belirlenen genotipleri Tablo 18 ve Tablo 19’da verilmiştir.

Tablo 17. Beta Talasemi Mutasyonu İçeren Olguların Hematolojik Verileri

No	Rbc ($\times 10^{12}/L$)	Hb (g/dL)	Hct (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	Hb Tipi	HbA ₂ (%)	Hb F (%)	Mutasyon tipi
Samandağ Yüksel Acun Anadolu Lisesinden alınan örnekler										
31650	5,71	11,2	38,1	66,7	19,7	29,4	AA	4,8	1,0	IVS I-110/A
31921	5,64	12,5	39,3	69,9	22,2	31,8	AA	4,9	1,0	IVS I-110/A
Samandağ Anadolu Teknik Lisesinden Alınan Örnekler										
32379	6,20	16,3	47,8	77,1	26,2	34,0	AA	4,2	1,5	mutasyonu belirlenemedi
Samandağ Kız Meslek Lisesinden alınan örnekler										
32592	5,98	11,5	38,9	65,2	19,2	29,5	AA	6,2	0,8	Cd39/A
32660	5,44	11,0	37,3	68,7	20,2	29,4	AA	4,7	1,0	IVS I-110/A



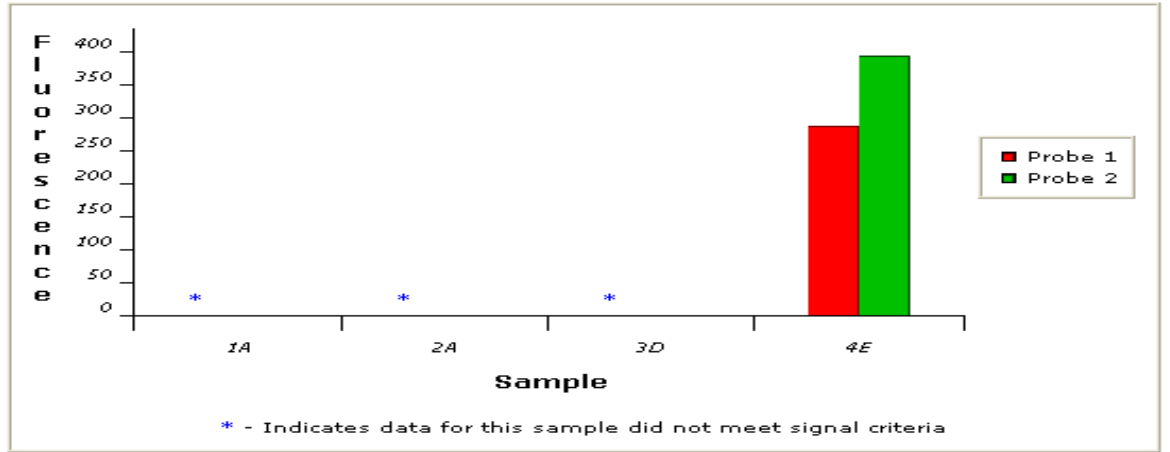
Şekil 12. IVS I-110 mutasyonunun mikroarray analiz grafiği

Tablo 18. IVS I-110 mutasyonunun floresan sinyali, sinyal oranları ve analiz sonucunda belirlenen genotipi

K-E	N/A	N/A	0	N/A	N/A
1-A	127	136	1	1 : : 1.07	Red/Green
2-A	86	96	1	1 : : 1.12	Red/Green
3-A	172	195	1	1 : : 1.13	Red/Green
K-A	138	186	1	1 : : 1.35	Red/Green

Probe Designation Thresholds:

Heterozygote < 1:2 < No Designation < 1:5 < Homozygote
Signal-to-noise ratio for *Pad Exclusion* or *No Designation*: 5:1
Minimum background-subtracted signal for *Pad Inclusion*: 25



Şekil 13. Cd 39 mutasyonunun mikroarray analiz grafiği

Tablo 19. Cd 39 mutasyonunun floresan sinyali, sinyal oranları ve analiz sonucunda belirlenen genotipi

Sample	Red	Green	Pads	Ratio (R::G)	Probe Designation
1A	N/A	N/A	0	N/A	N/A
2A	N/A	N/A	0	N/A	N/A
3D	N/A	N/A	0	N/A	N/A
4E	300	411	1	1 :: 1.37	Red/Green

Probe Designation Thresholds:

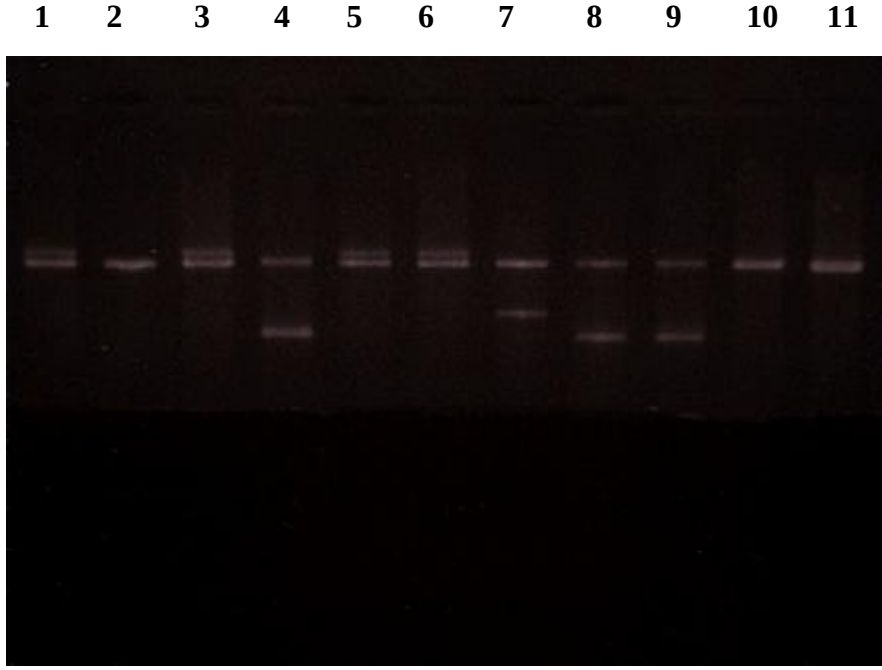
Heterozygote < 1:2 < No Designation < 1:5 < Homozygote
Signal-to-noise ratio for *Pad Exclusion* or *No Designation*: 5:1
Minimum background-subtracted signal for *Pad Inclusion*: 5

4.3. Alfa Talasemi Olguları

Alfa talasemi mutasyonu çalışılan olgularının hematolojik verileri ve mutasyon tipleri Tablo 20’de verilmiştir. Alfa talasemi mutasyonları Gap PCR yöntemiyle çalışılmış ve Agaroj jel elektroforez görüntüsü Şekil 14’de verilmiştir.

Tablo 20. Alfa talasemi mutasyonu çalışılan olgularının hematolojik verileri

No	Rbc ($\times 10^{12}/L$)	Hb (g/dL)	Hct (%)	MCV (fL)	MCH (pg)	MCHC (g/dL)	Hb Tipi	HbA ₂ (%)	Hb F (%)	Mutasyon tipi
31639	5,40	11,8	38,1	70,4	21,8	30,9	AA	2,4	1,0	$-\alpha^{3,7}/\alpha\alpha$
31642	4,79	13,0	41,4	86,4	27,2	31,4	AA	2,4	0,8	$-\alpha^{3,7}/\alpha\alpha$
31654	5,37	14,3	45,1	84,0	26,7	31,8	AA	2,7	0,6	4 α talasemi mutasyonu yok
31672	4,80	11,5	37,8	78,8	23,9	30,4	AA	2,2	0,3	$-\alpha^{3,7}/\alpha\alpha$
31695	5,16	8,6	31,1	60,3	16,7	27,7	AA	1,5	0,7	$--^{MED1}/\alpha\alpha$
31706	5,05	12,8	42,3	83,8	25,4	30,3	AA	2,3	0,8	4 α talasemi mutasyonu yok
31912	4,40	11,6	33,2	75,6	26,4	34,9	AA	2,6	0,7	4 α talasemi mutasyonu yok
31926	5,15	11,6	37,5	72,9	22,5	30,9	AA	2,3	0,7	4 α talasemi mutasyonu yok
31929	5,28	13,5	40,8	77,2	25,6	33,1	AA	2,6	1,1	4 α talasemi mutasyonu yok
31930	4,31	10,7	32,7	75,7	24,8	32,8	AA	2,1	1,0	4 α talasemi mutasyonu yok
31933	5,15	14,4	43,4	84,3	28	33,3	AA	2,4	0,7	4 α talasemi mutasyonu yok
31934	4,07	11,7	35,6	87,5	28,8	33,0	AA	2,3	1,2	4 α talasemi mutasyonu yok
31935	4,92	14,6	43,2	87,9	29,7	33,8	AA	2,3	1,1	4 α talasemi mutasyonu yok
31937	4,11	8,9	28,2	68,7	21,6	31,5	AA	2,1	1,0	4 α talasemi mutasyonu yok
31951	5,21	14,6	42,1	80,8	28	34,6	AA	2,2	1,1	4 α talasemi mutasyonu yok
31953	4,52	12,0	37,5	83,0	26,6	32,0	AA	2,5	0,7	4 α talasemi mutasyonu yok
31955	6,13	12,8	41,7	68,1	21,0	30,8	AA	2,2	0,9	4 α talasemi mutasyonu yok
31967	5,27	14,4	43,7	82,9	27,3	32,9	AA	2,4	0,5	$-\alpha^{3,7}/\alpha\alpha$
32588	4,53	10,7	35	77,2	23,7	30,6	AA	2,1	1,1	4 α talasemi mutasyonu yok
32589	5,08	12,8	40,8	80,4	25,2	31,3	AA	2,7	0,7	4 α talasemi mutasyonu yok
32593	4,58	12,3	39,5	86,1	26,9	31,3	AA	2,1	0,5	4 α talasemi mutasyonu yok
32598	5,36	11,5	38,2	71,3	21,5	30,2	AA	2,2	1,0	4 α talasemi mutasyonu yok
32603	5,20	8,6	29,8	57,3	16,6	29,0	AA	1,7	0,5	$--^{MED1}/\alpha\alpha$
32604	4,57	11,4	35,3	77,5	25	32,3	AA	2,8	0,7	4 α talasemi mutasyonu yok
32607	4,69	11,7	37,5	80,0	24,9	31,2	AA	2,9	1,0	$-\alpha^{3,7}/\alpha\alpha$
32613	5,05	12,9	42,0	83,0	25,6	30,9	AA	2,6	0,7	4 α talasemi mutasyonu yok
32616	4,63	11,2	37,5	80,9	24,2	29,9	AA	2,7	0,8	$-\alpha^{3,7}/\alpha\alpha$
32634	4,49	10,9	35,2	78,6	24,4	31,1	AA	2,6	1,0	4 α talasemi mutasyonu yok
32636	4,50	8,5	30,1	66,8	18,8	28,2	AA	2,4	0,6	$-\alpha^{3,7}/\alpha\alpha$
32637	4,45	8,7	31,0	69,8	19,7	28,1	AA	2,3	0,8	$-\alpha^{3,7}/\alpha\alpha$
32638	4,44	11,8	36,5	82,2	26,6	32,3	AA	2,2	0,9	4 α talasemi mutasyonu yok
32642	6,13	13,7	52,2	85,1	22,3	26,2	AA	2,7	0,6	4 α talasemi mutasyonu yok
32644	4,47	8,6	30,7	68,6	19,3	28,2	AA	2,1	0,7	4 α talasemi mutasyonu yok
32655	4,98	9,9	35,8	71,9	19,9	27,7	AA	2,0	0,7	4 α talasemi mutasyonu yok



Şekil 14. Alfa Talasemi mutasyon analizinin AgaroZ Jel Elektroforez Görüntüsü

1. $-\alpha^{3,7}/\alpha\alpha$
2. 4 α talasemi mutasyonu yok
3. $-\alpha^{3,7}/\alpha\alpha$
4. $--^{MED I}/\alpha\alpha$
5. $-\alpha^{3,7}/\alpha\alpha$
6. $-\alpha^{3,7}/\alpha\alpha$ Kontrol
7. 20,5 Kontrol
8. $^{MED I}$ Kontrol
9. $^{MED I}$ Kontrol
10. (-) Kontrol
11. (-) Kontrol

4.4. Hemoglobinopati Konusuna İlgili ve Bilgi Düzeyini Ölçen Anket Verileri

Samandağ ilçesinde seçilen üç okulda Hemoglobinopati konusunda ilgi ve bilgi düzeyini ölçmek için sunum öncesi ve sonrası anket formu verilmiştir. Anket soruları istatistik paket programı SPSS 15’de Mc Nemar testi ile değerlendirilmiştir. Anlamlılık için $p<0,05$ alınmıştır. “Akdeniz Anemisi (Talasemi) ve Orak Hücre Anemisi hastalığı önemli bir halk sağlığı problemidir” anket sorusunun verileri Tablo 21’de, “Akdeniz Anemisi (Talasemi) ve Orak Hücre Anemisi hastalığı Çukurova bölgesinde yaygındır” anket sorusunun verileri Tablo 22’de, “Kalıtsal kan hastalıkları önlenabilir bir hastalıktır” anket sorusunun verileri Tablo 23’de, “Akdeniz Anemisi (talasemi hastalığı) ve/veya Orak Hücre Anemisi hastalığı bulaşıcıdır” anket sorusunun verileri Tablo 24’de, “Kalıtsal kan hastalığı taşıyıcılarında tedavi gereklidir” anket sorusunun verileri Tablo 25’de, “İki taşıyıcı çift evlendiğinde doğum öncesi tanı gereklidir” anket sorusunun verileri Tablo 26’da, “Akdeniz Anemisi (talasemi hastalığı) ve/veya Orak Hücre Anemisi sıtmanın yaygın olduğu yerlerde yaygındır” anket sorusunun verileri Tablo 27’de, “Akdeniz Anemisi (Talasemi) alyuvarlardaki hemoglobinin yeterli ya da hiç yapılamaması ile seyreden hastalıktır” anket sorusunun verileri Tablo 28’de verilmiştir. Anket soruların değerlendirilmesinde doğru yanıtlar esas alınmıştır. Örneğin; “Akdeniz Anemisi (talasemi hastalığı) ve/veya Orak Hücre Anemisi hastalığı bulaşıcıdır” anket sorusunda Yanlış seçeneğini işaretleyenler doğru yanıt vermiş kabul edilmiştir.

Tablo 21. “Akdeniz Anemisi (Talasemi) ve Orak Hücre Anemisi hastalığı önemli bir halk sağlığı problemidir” sorusunun anket sonucu

		Doğru Yanıt	Yanlış Yanıt	Boş Yanıt	p
Genel	İlk Test	220 (97,3)	6 (2,7)		0,1
	Son Test	225 (99,6)		1 (0,4)	
S.A.T.L.	İlk Test	52 (92,9)	4 (7,1)		
	Son Test	55 (98,2)		1 (1,8)	
S.Y.A.A.L.	İlk Test	92 (100)			0,1
	Son Test	92 (100)			
S.K.M.L.	İlk Test	76 (97,4)	2 (2,6)		0,1
	Son Test	78 (100)			

S.A.T.L.: Samandağ Anadolu Teknik Lisesi

S.Y.A.A.L. : Samandağ Yüksel Acun Anadolu Lisesi

S.K.M.L.: Samandağ Kız Meslek Lisesi

Tablo 22. “Akdeniz Anemisi (Talasemi) ve Orak Hücre Anemisi hastalığı Çukurova bölgesinde yaygındır” sorusunun anket sonucu

		Doğru Yanıt	Yanlış Yanıt	Boş Yanıt	p
Genel	İlk Test	128 (56,6)	91 (40,3)	7 (3,1)	0,0001
	Son Test	199 (88,1)	27 (11,9)		
S.A.T.L.	İlk Test	28 (50,0)	27 (48,2)	1 (1,8)	0,0001
	Son Test	50 (89,3)	6 (10,7)		
S.Y.A.A.L.	İlk Test	55 (59,8)	32 (34,8)	5 (5,4)	0,0001
	Son Test	89 (96,7)	3 (3,3)		
S.K.M.L.	İlk Test	45 (57,7)	32 (41,0)	1 (1,3)	0,004
	Son Test	60 (76,9)	18 (23,1)		

Tablo 23. “Kalıtsal kan hastalıkları önlenabilir bir hastalıktır” sorusunun anket sonucu

		Doğru Yanıt	Yanlış Yanıt	Boş Yanıt	p
Genel	İlk Test	79 (35,0)	145 (64,2)	2 (0,9)	0,356
	Son Test	71 (31,4)	154 (68,1)	1 (0,4)	
S.A.T.L.	İlk Test	22 (39,3)	33 (58,9)	1 (1,8)	0,503
	Son Test	18 (32,1)	38 (67,9)		
S.Y.A.A.L.	İlk Test	18 (19,6)	73 (79,3)	1 (1,1)	0,093
	Son Test	28 (30,4)	64 (69,6)		
S.K.M.L.	İlk Test	39 (50,0)	39 (50,0)		0,020
	Son Test	25 (32,1)	52 (66,7)	1 (1,3)	

Tablo 24. “Akdeniz Anemisi (talasemi hastalığı) ve/veya Orak Hücre Anemisi hastalığı bulaşıcıdır” sorusunun anket sonucu

		Doğru Yanıt	Yanlış Yanıt	Boş Yanıt	p
Genel	İlk Test	153 (67,7)	72 (31,9)	1 (0,4)	0,0001
	Son Test	201 (88,9)	24 (10,6)	1 (0,4)	
S.A.T.L.	İlk Test	3 (58,9)	23 (41,1)		0,0001
	Son Test	50 (89,3)	5 (8,9)	1 (1,8)	
S.Y.A.A.L.	İlk Test	82 (89,1)	10 (10,9)		0,146
	Son Test	88 (95,7)	4 (4,3)		
S.K.M.L.	İlk Test	38 (48,7)	39 (50,0)	1 (1,3)	0,0001
	Son Test	63 (80,8)	15 (19,2)		

Tablo 25. “Kalıtsal kan hastalığı taşıyıcılarında tedavi gereklidir” sorusunun anket sonucu

		Doğru Yanıt	Yanlış Yanıt	Boş Yanıt	p
Genel	İlk Test	36 (15,9)	186 (82,3)	4 (1,8)	0,0001
	Son Test	144 (63,7)	82 (36,3)		
S.A.T.L.	İlk Test	9 (16,1)	45 (80,4)	2 (3,6)	0,0001
	Son Test	29 (51,8)	27 (48,2)		
S.Y.A.A.L.	İlk Test	20 (21,7)	71 (77,2)	1 (1,1)	0,0001
	Son Test	70 (76,1)	22 (23,9)		
S.K.M.L.	İlk Test	7 (9,0)	70 (89,7)	1 (1,3)	0,0001
	Son Test	45 (57,7)	33 (42,3)		

Tablo 26. “İki taşıyıcı çift evlendiğinde doğum öncesi tanı gereklidir” sorusunun anket sonucu

		Doğru Yanıt	Yanlış Yanıt	Boş Yanıt	p
Genel	İlk Test	212 (93,8)	11 (4,9)	3 (1,3)	0,227
	Son Test	219 (96,9)	6 (2,7)	1 (0,4)	
S.A.T.L.	İlk Test	50 (89,3)	5 (8,9)	1 (1,8)	0,219
	Son Test	55 (98,2)	1 (1,8)		
S.Y.A.A.L.	İlk Test	90 (97,8)	1 (1,1)	1 (1,1)	1,0
	Son Test	90 (97,8)	1 (1,1)	1 (1,1)	
S.K.M.L.	İlk Test	72 (92,3)	5 (6,4)	1 (1,3)	0,1
	Son Test	74 (94,9)	4 (5,1)		

Tablo 27. “Akdeniz Anemisi (talasemi hastalığı) ve/veya Orak Hücre Anemisi sıtmanın yaygın olduğu yerlerde yaygındır” sorusunun anket sonucu

		Doğru Yanıt	Yanlış Yanıt	Boş Yanıt	p
Genel	İlk Test	44 (19,5)	170 (75,2)	12 (5,3)	0,0001
	Son Test	214 (94,7)	11 (4,9)	1 (0,4)	
S.A.T.L.	İlk Test	11 (19,6)	41 (73,2)	4 (7,1)	0,0001
	Son Test	51 (91,1)	5 (8,9)		
S.Y.A.A.L.	İlk Test	18 (19,6)	70 (76,1)	4 (4,3)	0,0001
	Son Test	86 (93,5)	5 (5,4)	1 (1,1)	
S.K.M.L.	İlk Test	15 (19,2)	59 (75,6)	4 (5,1)	0,0001
	Son Test	77 (98,7)	1 (1,3)		

Tablo 28. “Akdeniz Anemisi (Talasemi) alyuvarlardaki hemoglobinin yeterli ya da hiç yapılamaması ile seyreden hastalıktır” sorusunun anket sonucu

		Doğru Yanıt	Yanlış Yanıt	Boş Yanıt	p
Genel	İlk Test	170 (75,2)	44 (19,5)	12 (5,3)	0,001
	Son Test	199 (88,1)	24 (10,6)	3 (1,3)	
S.A.T.L.	İlk Test	35 (62,5)	15 (26,8)	6 (10,7)	0,1
	Son Test	41 (73,2)	14 (25,0)	1 (1,8)	
S.Y.A.A.L.	İlk Test	83 (90,2)	9 (9,8)		-
	Son Test	91 (98,9)		1 (1,1)	
S.K.M.L.	İlk Test	52 (66,7)	20 (25,6)	6 (7,7)	0,021
	Son Test	67 (85,9)	10 (12,8)	1 (1,3)	

Anket sorularına verilen toplam doğru yanıt SPSS 15 istatistik paket programı ile Wil Coxon ve Kruskal Wallis testi ile değerlendirilerek üç okul karşılaştırılmıştır. İstatiksel anlamlılık için $p < 0,05$ değeri alınmıştır. Veriler Tablo 29’da verilmiştir.

Tablo 29. Toplam doğru yanıtlarının okullar arasındaki karşılaştırılması

Toplam Doğru	Genel	S.A.T.L.	S.Y.A.A.L.	S.K.M.L.	p*
n (%)	226 (100.0)	56 (24,8)	92 (40,7)	78 (34,5)	
İlk Test	4,61 ± 1,16	4,26 ± 1,48	4,98 ± 1,01	4,42 ± 0,96	0,001
Son Test	6,51 ± 0,93	6,25 ± 1,06	6,89 ± 0,70	6,26 ± 0,93	0,0001
p**	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	

*Kruskal Wallis testi

**Wil Coxon testi

5. TARTIŞMA

Dünya Sağlık Örgütü, dünyada hemoglobinopati sıklığını % 5,1, taşıyıcı sayısını ise; 266 milyon olarak açıklamıştır. Her yıl yaklaşık 300.000 hasta çocuğun dünyaya geldiği bildirilmiştir. Hemoglobinopati ülkemizde en sık görülen kalıtsal hastalıklar arasında yer almaktadır ve ülkemizin özellikle Çukurova Bölgesinde önemli bir sağlık sorunu oluşturmaktadır.¹³¹

Hemoglobin varyantları, polipeptid zincirlerini kodlayan genlerdeki çeşitli mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Bu genlerin ekzon bölgesindeki veya bu bölge dışındaki nokta mutasyonları, insersiyonlar ve delesyonlar çeşitli Hemoglobin varyantlarının oluşumuna yol açmaktadır. Mutasyonların büyük bir kısmını nokta mutasyonları oluşturmaktadır. Bu mutasyonlar polipeptid zincirinde tek bir aminoasit değişimine neden olmaktadır.^{30,35}

Anormal hemoglobinlerin dağılımı coğrafik lokalizasyon ve ırksal gruplara göre oldukça farklılık göstermektedir. Milyonlarca insanın etkilendiği anormal hemoglobinlerin en yaygın olanları HbS, HbD, HbE ve HbC'dir.³⁴ Orak hücreli anemi ilk kez 1910 yılında Herrick tarafından 20 yaşlarında ağrıları ve kansızlığı olan bir hastanın kan yaymasının incelemesi sırasında oraklaşmış hücrelerin görülmesi ile tanımlanmıştır. Hastalığın merkezi Afrika olmakla birlikte göçler ile tüm dünyaya yayılım gerçekleşmiştir.⁶

Hemoglobinopatiler içinde Türkiye'de en sık görülen hemoglobin tipi hemoglobin S'dir. Ülkemizde de ilk kez 1957 yılında Aksoy tarafından bildirilmiştir.³⁹ Türkiye genelinde sıklık % 0,37-0,6 arasında bildirilmiştir.⁷

Yüreğir ve arkadaşları Çukurova'da HbS geninin ortalama % 8,2 oranında olduğunu, bu genin Eti Türklerine özgü olduğunu, sıklığın yöresel olarak % 3'ten % 44'e kadar değiştiğini, gen sıklığının Antakya, Adana, Mersin ve Tarsus'da yüksek; klinik seyrin Antakya'da hafif diğer bölgelerde ise ağır olduğunu saptamışlardır.⁵⁸

Yüreğir ve arkadaşları Karataş'ta yaptıkları tarama çalışmasında % 9,5 AS ve % 0,3 SF bulmuşlardır.⁵⁹

Kılınç ve arkadaşları İçel il genelinde 6746 kişide tarama yapmışlar. Orak hücre anemisi taşıyıcılık oranını % 6,4 olarak saptamışlardır.⁶⁰

Arpacı uzmanlık tez çalışmasında Samandağ İlçesi Meydan Köyünde HbS sıklığını % 22,1 olarak bildirmiştir.¹⁵³

Bu tez çalışmasında selüloz asetat elektroforezi, oraklaşma testi ve HPLC ile Hb S taşıyıcısı ve hastası saptanan olgular Tablo 15’de verilmiştir. Hb AS ve Hb SS’li olguların moleküler düzeydeki çalışmaları ARMS ve RFLP yöntemiyle yapılmıştır. 32 olgu Hb AS, 2 olgu Hb SS olarak belirlenmiştir. Samandağ ilçesindeki seçilen üç lisede Hb S taşıyıcılık sıklığını % 10,8 olarak, Hb SS sıklığını % 0,68 olarak belirlenmiştir. Bu veri Hatay ilinde daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu olarak bulunmuştur.

Hb AS’li 32 olgunun hematolojik verileri incelendiğinde 6 olgunun MCV’nin 80 fL’nin altında, 12 olgunun 80,1-85,0 fL arasında, 14 olgunun ise 85,0 fL üstünde olduğu belirlenmiştir. HPLC ile saptanan HbS yüzdeleri incelendiğinde 1 olgunun % 30’un altında, 10 olgunun % 30-35 arasında, 21 olgunun ise % 35’in üstünde olduğu belirlenmiştir.

Hb SS’li 2 olgunun hematolojik verileri incelendiğinde 32369 nolu olgunun MCV’si 66,4 fL, HbF oranının % 5 olduğu, 32626 nolu olgunun ise MCV’si 98,0 fL ve HbF oranının % 0,8 olduğu belirlenmiştir.

Ülkemizde yaygın olarak gözlenen diğer anormal hemoglobin ise HbD-Los Angeles olup görülme sıklığı % 0,2 olarak saptanmıştır. HbF ve HbA₂ düzeyleri normaldir.^{145,154} HbD taşıyıcıları ve homozigotları genellikle asemptomiktir. Bu olguların Hb düzeyleri normal veya hafif düşüktür. Bununla birlikte HbS ve HbD’nin çift heterozigotluk durumunda hastalık ağır seyretmektedir. Klinik ve hematolojik olarak homozigot HbS’li bireylerden ayırt edilememektedir.²⁷ Kılınç’ın çalışmasında HbD’nin oranı Çukurova bölgesi için % 0,3 olarak bildirilmiştir.¹⁵⁵ Atalay ve arkadaşları Denizli ilinde en sık gözlenen anormal varyantın % 57,8 sıklıkla HbD-Los Angeles olduğunu, HbS’in % 21,9 oranıyla en sık 2. anormal hemoglobin olduğunu, HbG-Cousatta, HbE Saskatoon ve HbC sıklığını ise sırasıyla % 15,6, % 3,1 ve % 1,6 olarak bildirmişlerdir.⁵⁰ Yüreğir ve arkadaşlarının Kahramanmaraş ve çevresinde yaptıkları tarama çalışmasında HbD taşıyıcılık oranını % 0,27 olarak saptamışlardır.¹⁵⁶

Bu tez çalışmasında HbD olgusu saptanmamıştır.

HbE ülkemizde üçüncü sıklıkta gözlenmektedir. Özellikle Çukurova bölgesinde bulunmaktadır ve taşıyıcı sıklığı % 0,16-2,4 olarak bildirilmiştir.⁴⁰ Aksoy tarafından Mersin Eti-Türklerinde % 1,37 ve Hatay Eti-Türklerinde ise % 2,43 oranında

saptanmıştır.¹⁵⁷ HbE talasemik bir mutasyon olup fenotipi diğer hemoglobin varyantlarından farklı olarak kırmızı kan hücrelerinde mikrositoz ve hipokromi gözlenir. Bazı hastalar semptomatiktir. Hafif sarılık olduğu gibi, karaciğer ve dalakta hafifçe büyümüştür. Periferik yaymada şiddetli hipokromi ile beraber target hücreleri de bulunur.^{158,159} HbE alkali pH elektroforezinde HbA₂ ile aynı yere göç etmektedir. Aynı şekilde HbC'de aynı yere göç etmektedir. Elektroforetik mobilitesi HbC'ye çok benzese de kesin ayırım asit pH'da agar jel elektroforezi, HPLC ve mutasyon analizleri ile yapılmaktadır.¹⁶⁰

Bu tez çalışmasında selüloz asetat elektroforozu ve HPLC ile Hb AE taşıyıcısı saptanan olgular Tablo 16'da verilmiştir. Hb AE'li olguların moleküler düzeydeki çalışmaları ARMS yöntemiyle yapılmıştır. 6 olgu Hb AE olarak belirlenmiştir. Samandağ İlçesindeki seçilen üç lisede HbE taşıyıcılık sıklığını % 2,0 olarak belirlenmiştir. Bu veri daha önce yapılan çalışmalarla uyumlu olarak bulunmuştur. Samandağ ilçesinde Anormal Hemoglobinlerden 2. Sıklıkta Hb E görülmüştür.

Hb AE'li 6 olgunun hematolojik verileri incelendiğinde 3 olgunun MCV'nin 75 fL'nin altında, 3 olgunun ise 75 fL'nin üstünde olduğu belirlenmiştir. HPLC ile HbE yüzdesinin % 22-25 arasında değiştiği belirlenmiştir.

Talasemi ilk kez 1925 yılında Detroitli pediatrist Dr.Thomas Cooley ve Pearl Lee tarafından şiddetli anemisi, dalak büyüklüğü ve karakteristik kemik değişiklikleri olan bir çocuk hastada tanımlanmıştır.⁸ Önceleri sadece Akdeniz ülkelerinde yaygın olduğu sanıldığından adı, Yunanca "Thalas" (Akdeniz) sözcüğünden gelmektedir. Günümüzde ise Kuzey Afrika, Ortadoğu, Hindistan, Çin, Güneydoğu Asya gibi malaryanın sık olduğu ülkelerde, Avrupa ve Amerika'da yüksek oranlarda gözlenmektedir.^{9,10}

Talasemiler moleküler düzeyde oldukça heterojendir. β -talasemili hastalarda, β -globin geninin 200'den fazla farklı mutasyonu tespit edilmiştir. Önemli olarak, dünyada yüksek sıklığa sahip popülasyonların her birinin özellikle belli bir bölgede sadece birkaç yaygın mutasyonu taşıdığı görülmektedir, bunun yanında nadir olanlar da görülebilir.²³ 200 mutasyonun tümünün her toplumda görülmemesi ve mutasyonların etnik gruplara özgün olması, bu geniş moleküler çeşitliliği biraz basite indirgeyen bir faktör olmuştur.⁸⁷

Görülen allel çeşitliliği, Sardunya adası, Kıbrıs gibi küçük ve izole etnik gruplarda daha da azalmakta, örneğin Sardunya adasında sadece iki tip β -talasemi mutasyonu

hastalık genlerinin % 99'unu oluşturmaktadır. Akdeniz ülkeleri genelinde bakılacak olursa, yaklaşık 35 mutasyon Akdeniz Havzasına özgü olarak nitelendirilmiş olmakla beraber, bu mutasyonların dağılımı ülkeler arasında büyük farklılıklar göstermektedir. Türkiye'de β -talasemi, diğer Akdeniz ülkelerine oranla daha karmaşıktır. Diğer toplumlar için tanımlanan % 95'ini 5–6 mutasyonun oluşturması kuralı Türk toplumu için geçerli değildir.⁸⁶

Komşu bazı ülkelerle karşılaştırıldığında, oranlarda farklılıklar olsa da Yunanistan, Makedonya, Bulgaristan ve Suriye'de de Türkiye'de olduğu gibi en yaygın mutasyon IVS I-110'dur. İtalya'da en yaygın mutasyon Cd 39 iken Bulgaristan'da IVS I-110'a çok yakın oranda görülmektedir. İran ve Azerbaycan'da en sık mutasyon IVS II-1'dir. Ancak Azerbaycan'da IVS I-110 oranı da buna yakındır.⁹⁸

Ülkemiz coğrafi konumu tarihi geçmişi ile birçok toplumun etkisi altında kalmıştır. Bu karışıklıklar ve etnik kimliklerin karışması sonucu mutasyon çeşitliliği ülkemizde çok fazladır. Türkiye'de talasemi ile ilgili çalışmalar 1957 yılında Muzaffer Aksoy ile başlamıştır. Çavdar ve Arcasoy tarafından talasemi sıklığını gösteren ilk çalışmalar yapılmış ve Türkiye insidansı % 2,1 olarak bildirilmiştir. Bazı bölgelerde ise insidansın % 0,6-12 arasında olduğu gösterilmiştir.¹¹

Başak'ın raporunda; IVS I-110'nun Türkiye'de en sıklıkla rastlanan β -talasemi mutasyonu olduğu bunu IVS I-6, FSC-8, IVS I-1, IVS II-745, IVS II-1, Cd39, -30 ve FSC-5 mutasyonlarının takip ettiği bildirilmiştir. IVS I-110'nun Türkiye genelinde % 40 olan sıklığı, Orta Anadolu'da % 50'yi bulmakta, Doğu ve Güneydoğu Anadolu'da % 25'lere düşmektedir. Türkiye'nin coğrafi bölgeleri, mutasyon sıklığı ve çeşitliliği açısından kıyaslandığında, ülke nüfusunun % 50'sini barındıran Batı Anadolu ve Akdeniz bölgelerinin, Türkiye genelindeki dağılımıyla uyumlu olduğu Kuzey, Güney ve Doğu Anadolu bölgelerinin daha az heterojen olduğu ve kendilerine özgü mutasyonlar (-30, -87, FSC8/9, IVS II-745 gibi) içerdiği gösterilmiştir.⁸⁶

Tadmori ve arkadaşları Türkiye'de 31 farklı mutasyon tipi saptamışlar, bu çalışmada IVS I-110'un Türkiye'de en sık görülen mutasyon olduğunu, bunu azalan oranlarda IVS I-6(T→C), Cd 8(-AA), IVS II-745(C→G), IVS I-1(G→A), IVS II-1(G→A), Cd 39 (C→T), -30 (T→A), Cd 5(-CT) ve -28 mutasyonunun izlediğini rapor etmişlerdir.⁹⁷

Altay'ın raporunda IVS I-110, IVS I-6, IVS II-1, IVS II-745 ve IVS I-1 mutasyonlarının tüm β -talasemi mutasyonlarının % 71'ini oluşturduğunu, IVS I-110'un bütün bölgelerde en yaygın mutasyon olduğu Akdeniz Bölgesinde % 47 ve Marmara Bölgesinde % 27,5 oranında gözlemlendiği bildirilmiştir. Türkiye'de 2. en sık görülen mutasyon IVS I-6'dır. IVS I-1 mutasyonunun en sık Ege Bölgesinde, onu takiben Marmara, Karadeniz, İç Anadolu, Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu'da görüldüğü, IVS II-745 mutasyonunun da en sık Akdeniz Bölgesinde gözlemlendiği saptanmıştır. Cd8 (-AA), IVS II-1 ve -30 (T→A) mutasyonları en sık Doğu Anadolu'da bunu takibinde Güneydoğu Anadolu'da, Akdeniz Bölgesinde ve Ege'de görülmektedir. β -talaseminin en yüksek oranda görüldüğü yer % 10 oranıyla Antalya olup, en az oranında görüldüğü yerde % 0,2 oranıyla Doğu Anadolu'dur.⁹⁸

Yüreğir ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada Çukurova'nın üç ilinde (Hatay, Adana, İçel) toplam 7444 kişi taranmış ve beta talasemi sıklığı sırasıyla % 5,7, % 1,8 ve % 3,3 olarak bulunmuştur. Yine aynı çalışmada mutasyon sıklıkları; IVS I-110 (% 54,6), IVS I-1 (% 9,4), Cd39 (% 8,7), IVS I-6 (% 4,7), Cd8 (% 3,5), IVS II-1 (% 2,7), -30 (% 2,4), IVS II-745 (% 1,9), Cd76 (% 0,8), Cd36/37 (% 0,4) olarak bulunmuştur.⁸⁵

Yüreğir ve arkadaşları Türkiye'nin güney bölgesinde beta talasemi sıklığı ve mutasyon tiplerini çalışmışlar, HbA₂ 'si yüksek beta talasemi sıklığını % 3,9 olarak saptamışlar ve en yüksek oranda IVS I-110 mutasyonu görüldüğünü rapor etmişlerdir.⁵⁹

Kılınç ve arkadaşları Mersin'de Orak hücre anemisi taşıyıcılığını % 6,4 ve talasemi taşıyıcılığını % 3,1 olarak rapor etmişlerdir.⁶⁰

Arpacı ve arkadaşlarının çalışmasında; HbF değeri yüksek 2 olguda hemoglobin tipi HbAA ve IVS I-110 mutasyonu, 2 olguda hemoglobin tipi HbAS ve IVS I-110 mutasyonu ve bir olguda hemoglobin tipi HbSF ve IVS I-110 mutasyonu kaydedilmiştir.⁹⁹

Çürük ve arkadaşları Çukurova'daki β talaseminin genetik heterojenitesini vurgulamışlar ve bu çalışmada mutasyonların IVS I-110(G→A) % 57,3, IVS I-1(G→A) % 8,3, Cd 39(C→T) % 6,4, IVS I-6(T→C) % 5,7, Fsc 8 % 5,5 oranında olduğunu bildirmişler, ayrıca bu çalışmada Çukurova'da ilk defa gözlenen Cd 15 ve Fsc 82/83(-G) mutasyon varlığını göstermişlerdir.¹⁰⁰

Talasemilerin tanısında en iyi yol öncelikle hematolojik verilerin analizidir. Talasemi taşıyıcı tanısında kan sayımı, HbA₂ ve HbF düzeyleri kullanılmaktadır. HbA₂ oranı mikrokolon ve HPLC sistemiyle HbF oranı da alkali denaturasyon ve HPLC sistemiyle yapılmaktadır. MCV ve MCH değerlerinin sırasıyla 80 fL ve 27 pg altındaki değerlere sahip olan olgularda talasemi düşünülerek moleküler analizler yapılmalıdır. HbA₂ konsantrasyonları % 3,7 ve/veya HbF için % 2,0'nin üzerindeki olgular β talasemi taşıyıcısı olarak kabul edilerek moleküler düzeyde araştırılmaktadır. Anabilim dalımızda talasemi mutasyonlarının saptanmasında kullanılan moleküler analizler ARMS, RFLP ve son teknolojilerden olan mikroarray yöntemidir.¹⁶¹

Bu çalışmada β talasemi taşıyıcısı olguların hemoglobin elektroforezi sonuçlarında 5 olgunun HbAA olduğu gözlenmiştir (Tablo 17). Mikrokolon kromatografisi yöntemiyle saptanan HbA₂ düzeyleri 4,2-6,2 arasında bulunmuştur. Bu çalışmada β talasemi taşıyıcısı olguların alkali denatürasyon yöntemiyle HbF değerleri % 0,8-1,5 arasında bulunmuştur (Tablo 17).

Türkiye'de yapılan diğer çalışmalarda olduğu gibi bizim çalışmamızda en yüksek oranda gözlenen mutasyonun IVS I-110 olduğu belirlenmiştir. Bu çalışmada bir olgu Cd 39 taşıyıcısı olarak belirlenmiştir. Bir olguda ise hematolojik veriler β talasemi taşıyıcısı olduğunu düşündürse de mutasyonu belirlenememiştir (Tablo 17).

β -talasemide erken teşhis ve tanı büyük önem taşımaktadır. Bu nedenle popülasyon taramalarında taşıyıcıların belirlenmesi ve riskli çiftlere doğum öncesi erken tanı uygulanmasında hızlı, ekonomik ve kolay uygulanabilen yöntemler ön plana çıkmaktadır. Günümüzde β -talasemi tanısında kullanılan klasik yöntemlerle kesin ve güvenilir sonuçlar elde edilmektedir. Ancak doğum öncesi erken tanı söz konusu olan durumlarda Türk toplumu gibi birçok mutasyon olasılığı olan toplumlarda bu yöntemleri zaman baskısı altında uygulamak kolay değildir. Bu nedenle tedaviye cevabın ve hastalığın ilerlemesinin önceden belirlenmesi ve en önemlisi tedavi için yeni hedeflerin bulunmasında mikroarray'ler büyük önem taşımaktadır.¹⁵⁰

Tek bir çalışma ile yüzlerce ya da binlerce SNP'in eş zamanlı genotiplendirilmesi son yıllarda gelişmiş bir teknolojidir. Bu gelişmiş platform (NanoChip Molecular Biology Workstation) bir günde 400 örnek (4 chip) tarama imkanı sağlayan tamamen otomatize bir cihazdır. NanoChip Molecular Biology Workstation, kendine ait bir mikroçip kartuşu kullanmaktadır. Bu kartuş elektronik olarak adreslenebilen 100 bölge

içermektedir. Bu bölgelerde belirlenmiş test alanları üzerindeki biyotinli moleküllerin aktif depolanmasına ve toplanmasına olanak sağlamaktadır. Daha sonra her bir ped üzerindeki DNA, normal veya mutant dizilere komplementer olan spesifik oligonükleotit problemler ile (Cy3 ve Cy5 boya ile işaretlenmiş) hibridize edilir. Çip yüzeyi görüntülenir, floresan sinyaller taranır, izlenir ve oldukça gelişmiş sayısal görüntüleme yöntemleri ile değerlendirilir. Bu teknolojinin en önemli yararı; yöntemin tasarımına olanak sağlayan yüksek esneklik özelliğidir. Sistemin esnekliği aynı çip üzerinde farklı içerikte, uzunlukta ve kimyasal kompozisyondaki çeşitli problemlerin aynı anda kullanımına olanak sağlamasıdır.¹⁵⁰

Bu çalışmada β talasemi mutasyonunun moleküler analizi mikroarray yöntemiyle yapılmış olup, Şekil 12’de IVS I-110 mutasyonunun, Şekil 13’ de Cd 39 mutasyonunun mikroarray analiz grafikleri, Tablo 18’de IVS I-110 mutasyonunun, Tablo 19’da Cd 39 mutasyonunun floresan sinyali, sinyal oranları ve analiz sonucunda belirlenen genotipleri verilmiştir.

Dünya popülasyonundaki α -talasemi dağılımı falsiparum malaryasının yaygınlığına uymaktadır.²¹ α -talasemi, Güneydoğu Asya, Güney Çin, Okyanus Adaları, Afrika, Akdenizi çevreleyen ülkelerde ve Ortadoğuda baskın bulunmaktadır.^{79,111} Akdenizli popülasyonunda en sık gözlenen α talasemi delesyonları (- MED I), (-MED II), (α -20,5), (-SPAN),(-CANT) ve (-5,2) dir.^{106,107} En yaygın görülen α -talasemi 2 tipi 3,7 kb delesyon ve daha az oranda görülen 4,2 kb delesyonudur.^{103,105,108,109}

Eti Türklerinde yapılan bir çalışmada Orak Hücre Anemi Hastalarında α -talasemi sıklığı % 17 olarak bulunmuş, $\alpha^{3,7}$ daha sıklıkta olmak üzere $\alpha^{4,2}$ ile birlikte α -talasemi-2 olguları bildirilmiştir.¹¹⁸

Aksoy ve arkadaşları HbH’li olgularda $\alpha^{3,7}$ ’ye bağlı α -talasemi-2 ve 25 kb.lık α -talasemi-1’in birlikteliğini göstermişlerdir.¹¹⁹

Öner ve arkadaşları 25 HbH hastasında 10 farklı genotip saptamışlar ve en sık α -talasemi 2 mutasyonu tipinin 3,7 kb delesyonu olduğunu ve bunu non delesyonel α talasemi mutasyonu takip ettiğini göstermişlerdir.¹²⁰

Canatan ve arkadaşları Antalya’da HbH hastalarının moleküler temelinde $\alpha^{3,7}$, $\alpha^{4,2}$, MED-1 ve $\alpha^{20,5}$ mutasyonlarını bulmuşlar ve Antalya’da α talasemi taşıyıcı insidansının düşük olduğunu bildirmişlerdir.¹²¹

Kılınç ve arkadaşları Adana bölgesinde yeni doğan bebeklerde kordon kanı çalışması ile α -talasemi sıklığının % 3,3 olarak bildirmişlerdir.⁶²

Yüreğir ve arkadaşları, Adana Karataş bölgesinde α -talasemi-2 ($\alpha^{3,7}$) ve α -gen triplikasyonlu olgular bildirmişlerdir.¹²² Yine Yüreğir ve arkadaşları α -talasemi-1 ve α -talasemi-2 mutasyonunun yanında α -2-globin geninin poliadenilasyon kuyruğunda nokta mutasyonu (AATAAA→AATGAA) olduğunu göstermişlerdir.¹²³

Çürük ve arkadaşları 2 Türk hastada unstabil α globin varyantı olan Hb Adana ile kombine taşıyıcı alfa talasemi-1 olgularının varlığını göstermişlerdir.⁵¹

Çürük ve arkadaşları Çukurova'da α talesemi taşıyıcı insidansını % 3 olarak bildirmişlerdir. 5 değişik α gen delesyonu ve 4 nondelesyonel mutasyon tanımlamışlardır.¹²⁴

Polat Uzmanlık tezinde Mersin merkeze bağlı bir köyden topladıkları kan örneklerinde yaptıkları çalışmada 8 olguda $\alpha^{3,7}$, bir olguda $\alpha^{20,5}$ mutasyonu belirlemişlerdir.¹⁶²

Yalın doktora tez çalışmasında α talasemiye neden olan mutasyonlardan $\alpha^{3,7}$ 'yi % 45, MED I'i % 28,3, $\alpha^{20,5}$ 'i % 1,7 sıklıkta gözlerken, $\alpha^{4,2}$ mutasyonuna rastlamamıştır.¹⁶³

Çürük ve arkadaşları Çukurova'da HbH hastalığı olan 32 olgunun altısında – –^{MED I}(-17,4)/- $\alpha^{3,7}$, iki olguda – –^{MED II}(-26,5)/ $\alpha^{5 nt}$ α , bir olguda – –^{MED I}(-17,4)/- $\alpha^{3,7}$ + Hb AS, bir olguda – –^{MED I}(-17,4)/ $\alpha^{5 nt}$ α , dokuz olguda – –^{20,5}/- $\alpha^{3,7}$, bir olguda – –^{MED I}(-17,4)/ α^{PA1} α , bir olguda – –^{20,5}/- $\alpha^{4,2}$, iki olguda – –^{20,5}/ $\alpha^{codon59}$, üç olguda – –^{MED II}(-26,5)/- $\alpha^{3,7}$, dört olguda – –^{MED II}(-26,5)/ α^{PA2} α , bir olguda α^{PA1} / α^{PA1} α ve bir olguda – –^{MED II}(-26,5)/ α^{PA2} α + Hb AS varlığını göstermişlerdir.¹²⁵

Bu çalışmada α -talasemi açısından incelen 34 olgunun hematolojik verileri Tablo 20'de, α -talasemi mutasyon taraması Gap PCR yöntemi ile yapılmış olup Agaroz jel elektroforez görüntüsü Şekil 14'de verilmiştir. 8 olgunun $\alpha^{3,7}$ mutasyonunu taşıdığı, 2 olgunun – –^{MED I} mutasyonunu taşıdığı belirlenmiştir. Bu veri Polat'ın Uzmanlık tez ve Yalın'ın doktora tez çalışmasındaki bulgularıyla uyumlu bulunmuştur.

Talasemi ve hemoglobin bozuklukları, gerek ülkemizde ve gerekse de dünyada rastlanan en önemli kalıtsal sorunlardan bir tanesidir. Her ne kadar bu kalıtsal sorunlar öncelikli olarak Akdeniz kuşağında gösterilmiş olsa da yapılan çalışmalarda tüm dünyada değişik oranlarda varlığı gösterilmiştir. Sorun gen kaynaklı olduğundan sağlıklı bireylerin doğmasına yardımcı olabilmenin tek yolu, günümüzde prenatal tanı

uygulamalarının yapılabilmesidir. Bu nedenle, gerek dünyada ve gerekse ülkemizde hemoglobinopati kontrol programları uygulanmaktadır. Bu programlardaki temel yaklaşım, özellikle evlilik öncesi dönemde bireylerin molekölse olarak kimliklendirilmesinin sağlanmasıdır.

Akdeniz toplumlarında antenatal tanı programları yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun başarısı hastalık hakkında halk eğitim programlarının mükemmelliği ve devamında antenatal tanı için etkin tarama rejimleri ve kolaylıklarının geliştirilmesine bağlıdır. Dini, kültürel, kurumsal ve ekonomik nedenlerden dolayı bu tür programların, Hindistan ve Güneydoğu Asya'nın büyük popölasyonlarında uygulanması çok daha zor olabilir. Bir başlangıç olarak, eğitim programları geliştirilmeli, gönüllü tabanlı taşıyıcı taramaları kolaylıkla desteklenmelidir. Ülkelerin bunları takip etmesi, geliştirilmiş popölasyon kontrol programlarının oluşturulmasında temel yaklaşımı oluşturur.²³

β -talasemi için homozigot ve birleşik heterozigot durumlarında klinik seyir değişken olsa da, transfüzyon almayan vakaların büyük bir çoğunluğunda yaşamının ilk birkaç yılında ölüm meydana gelir. Yeterli transfüzyon, şelasyon ajanlarının uygulanması, desferrioksamin ile çocuklar büyüyüp gelişebilir ve yaşam süreleri yetişkin döneme kadar uzayabilir. Desferrioksamin dezavantajı devamlı infüzyon pompasıyla verilmesi ve pahalı olmasıdır. Yoksul ülkelerin tamamında ilaçlar elde edilse de çoğu çocuğun yetersiz dozajda aldığı görölmektedir ve bunların çoğu aşırı demir yüklenmesinin etkilerinden dolayı çocukluk ve adölesan dönemde ölmektedir.²³

Akdeniz ülkelerinde, tarama ve antenatal tanıyı kapsayan kontrol programları % 80'den % 100'e yakın oranlarda hemoglobinopatili yeni doğumlarının sıklığını azaltmada başarılı olmuştur. Demografik geçişe maruz kalan gelişmiş ülkelerin çoğunda, hizmet şartları başlıca ekonomik ve kurumsal koşullar tarafından hala güçleştirilmektedir. Bu nedenle etkilenmiş birçok infant ve çocuk tanı konulamadan, tedavi edilemeden veya tedavi altındayken ölmektedir.²³

Her ne kadar sıklık bilgileri hala yetersiz olsa da, özellikle fakir ülkeler için bu hastalıkların sağlık hizmetleri üzerinde oluşturacağı yükün bazı göstergelerini elde etme açısından bilgiler yeterlidir. Bu hastalıkların yaygın olduğu ülkelerin yöneticileri ve uluslararası sağlık kuruluşlarının problemin farkına varması ve kontrol altına almasında en ekonomik ve etkili yaklaşımları planlamaya başlaması açısından çok önemlidir.²³

β -talasemi gibi kalıtımla kuşaklara aktarılan hastalıkların yaygınlığında ve devamlılığında şüphesiz ki akraba evliliklerinin büyük önemi vardır. Asadi-Pooya ve arkadaşlarının İran’da yaptığı bir çalışmada talasemi majörlü hastaların yaşı, cinsiyeti ve aralarındaki akrabalıklar sorgulanmıştır. Bu sırada akrabalık oranı, akraba evliliklerini azaltmak için evlilik öncesi danışma ve bunların otozomal resesif hastalıkları önlemede etkisine bakılmış; β -talasemili hastaların % 40,6’sında ilk kuzen evliliğinden doğan çocuklar olduğu görülmüştür. β -talasemili hastaların aile içi evlilikleri ve normal toplum karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmüştür.¹⁶⁴ Türkiye akraba evlilikleri açısından yüksek oranlara sahiptir. Türk Nüfus ve Sağlık Araştırması’nın beş yılda bir ortaya koyduğu verilere göre 1983’den beri bu oran % 20-25’de seyretmektedir. Bütün akraba evliliklerinin yaklaşık % 70’i ilk kuzenler arasında gerçekleşmekte ve bunlar çoğunlukla amca çocukları olmaktadır.¹⁶⁵

Dünya Sağlık Örgütü’nün, “Hemoglobin Hastalıklarını Kontrol Programına” göre; kalıtsal kan hastalıklarını önlemek için halkın bilgilendirilmesi ve genel eğitimi, taşıyıcıların belirlenmesi için popülasyon taramaları, lokal mutasyonların tanımlanması, tedavi, genetik danışmanlık ve prenatal tanının birlikte koordineli olarak yapılması gerekmektedir. Türkiye’de hemoglobinopati ile mücadele amacıyla 30.12.1993 tarih ve 21804 sayılı resmi gazetede, 3960 sayılı “Kalıtsal Kan Hastalıkları ile Mücadele” kanunu çıkarılmıştır. Ardından Sağlık Bakanlığı tarafından Antakya, Mersin, Muğla ve Antalya’da, Kalıtsal Kan Hastalıkları Araştırma ve Tedavi merkezleri kurularak, evlenecek çiftlerde talasemi taraması zorunlu hale getirilmiştir. 23.06.2000 tarihinde kayıt, tarama, eğitim, prenatal tanı, konvansiyonel tarama amacıyla “Ulusal Hemoglobinopati Konseyi” kurulmuş ve bu konsey, Sağlık Bakanlığı Ana-Çocuk Sağlığı-Aile Planlaması ve Tedavi Hizmetleri Genel Müdürlüğü ile koordineli çalışmalar yapmaya başlamıştır. Devam eden çalışmalarla, Sağlık Bakanlığı ve Ulusal Hemoglobinopati Konseyi “Kalıtsal Kan Hastalıkları ile Mücadele” kanununa bağlı olarak “Kalıtsal Kan Hastalıklarından Hemoglobinopatiler ile Mücadele ve Kontrol Programı ile Tanı ve Tedavi Merkezleri Yönetmeliği” çıkarmışlardır.¹⁶⁶

Bütün bu yasal düzenleme ve uygulamalara rağmen gerçek bir başarı sağlanabilmesi, yaygın ve kuşaklarla aktarılan bir hastalık için uzun bir zaman gerektirmektedir. Bu süreçte hasta olanlar için kolay, ucuz ve uygulanabilir tedavi yöntemlerinin araştırılmasına önem verilmelidir. Aynı zamanda etkilenmiş yeni

doğumların önlenmesi için artık yasal bir zorunluluk da olan evlilik öncesi danışmanlık hizmetlerine ve prenatal tanı uygulamalarına daha fazla önem verilmelidir.

Ülkemiz gibi çok sayıda etnik, dini, kültürel çeşitliliği barındıran ve akraba evlilik oranının oldukça yüksek olduğu toplumlarda halk eğitime ve bilgilendirme çalışmalarına öncelik verilmeli ve özen gösterilmelidir.

Talasemi major olgularının yüksek tedavi maliyetleri ve yaşam sürelerinin sınırlı kalışı talasemi prevalansının yüksek olduğu Kıbrıs, Yunanistan, İtalya, Sardinya ve hatta İngiltere’de 1970’li yıllarda henüz çok yeni olan, yaygın bir genetik hastalığı toplum düzeyinde önleme kavramını gündeme getirmiştir. Bu ülkelerin Ulusal hemoglobinopati Çalışma Grupları tarafından Sağlık Bakanlığı ile ilişkili olarak yürütülen Hemoglobinopati Kontrol Programlarının başarısının en iyi göstergesi olarak hastalıklı doğan çocuk sayısında anlamlı düşüşler izlenmiş ve hatta Kıbrıs ve İtalya’nın Ferrara bölgesinde talasemi tama yakın eradike edilmiştir.¹⁶⁷

Altay ve Gürgey, 1985 nüfus sayımı ve bebek doğum hızını dikkate alarak ve talasemi taşıyıcılık prevalansını Türkiye genelinde % 2 kabul ederek yaptıkları projeksiyonda, Türkiye’de her yıl 150 major hastalığa sahip çocuğun dünyaya gelmesinin beklendiğini ileri sürmüşlerdir.¹⁶⁸

Arpacı ve arkadaşları 2003 yılında 8. Sınıf öğrencilerini hedef alan çalışmada; 7 ilköğretim okulunda 1221 öğrenciye hemoglobinopatiler konusunda sunum yapmışlar. 5 okulda sunum öncesi anket, 2 okulda sunum sonrası anket yapılmıştır. İki grup istatistiksel olarak karşılaştırılmış ve bilgilerin iyi aktarılmış olduğunu bildirmişlerdir.¹⁴⁰

Gülleroğlu ve arkadaşları 2007 yılında Kocaeli Üniversitesi öğrencilerini hedef alan çalışmada; eğitim öncesinde ve sonrasında öğrencilere açık ve kapalı uçlu sorular içeren anket yapmışlar. Barkovizyon kullanılarak talasemi ve orak hücreli aneminin klinik özelliklerini, genetik geçişini, kan sayımı ve hemoglobin elektroforezi ile yapılan tarama çalışmasının ve hastalığın önlenmesindeki önemini anlatan 20 dakikalık eğitim vermişlerdir. 42 seminer yapılmış, katılımcıların % 74’ü talasemiye daha önce duyduğunu belirtmekle birlikte bunların ancak % 25’inin orak hücreli anemide doğru bilgi sahibi olduğu belirlenmiş. Eğitim sonrası talaseminin ve orak hücreli aneminin anlaşılması oranları % 86,2 ve % 72,1’e yükseldiğini bildirmişlerdir. Katılanların % 13,6’sı taşıyıcı olmanın riskini bilirken bu oran eğitimle % 78,6’ya yükselmiştir. Eğitim

sonrası öğrencilerin % 92,4'ü bu hastalıkların kalıtımla geçtiğini, % 78,8'i akraba evliliklerinin hasta çocuğa sahip olma riskini arttırdığını öğrendiğini bildirmiştir.¹⁴¹

Bu tez çalışmasında Samandağ ilçesinde seçilen üç okulda görsel sunum yapılmıştır. Görsel Sunum öncesi ve sonrası anket çalışmasıyla öğrencilerin konu hakkındaki bilgi ve ilgi düzeyleri araştırılmıştır. Anket formunda üst başlık olarak; anket formunun amacı belirtilmiştir. Anket formunda öğrencilerin Rumuz yazması istenmiştir. Anket soruları istatistik paket programı SPSS 15'de Mc Nemar testi ile değerlendirilmiştir. Anlamlılık için $p < 0,05$ alınmıştır.

Akdeniz Anemisi (Talasemi) ve Orak Hücre Anemisi hastalığı önemli bir halk sağlığı problemidir anket sorusunun verileri Tablo 21'de verilmiştir. Her üç okulda hemoglobinopatilerin önemli halk sağlığı problemidir anket sorusunun sunum öncesi ve sonrası doğru yanıtlama oranı istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır.

Akdeniz Anemisi (Talasemi) ve Orak Hücre Anemisi hastalığı Çukurova bölgesinde yaygındır anket sorusunun verileri Tablo 22'de verilmiştir. Her üç okulda bu anket sorusuna doğru yanıt verme oranının istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptanmıştır.

Kan hastalıkları önlenabilir bir hastalıktır anket sorusunun verileri Tablo 23'de verilmiş olup, her üç okulda doğru yanıt verme oranının istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadığı saptanmıştır. Kan hastalıklarının önlenabilir olduğunun daha anlaşılır şekilde anlatılması gerektiği düşünülmüş ve görsel sunumda değişiklik yoluna gidilmiştir.

Akdeniz Anemisi (talasemi hastalığı) ve/veya Orak Hücre Anemisi hastalığı bulaşıcıdır anket sorusunun verileri Tablo 24'de verilmiş olup S.A.T.L. ve S.K.M.L.okullarının doğru yanıtlama oranında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuş ancak S.Y.A.A.L'de anlamlı fark bulunmadığı tespit edilmiştir. S.Y.A.A.L öğrencilerinin kan hastalığının bulaşıcı olmadığı konusunda daha önceden yeterli bilgiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Kalıtsal kan hastalığı taşıyıcılarında tedavi gereklidir anket sorusunun verileri Tablo 25'de verilmiş olup, her üç okulda bu anket sorusuna doğru yanıt verme oranının istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptanmıştır.

İki taşıyıcı çift evlendiğinde doğum öncesi tanı gereklidir anket sorusunun verileri Tablo 26'da verilmiş olup, her üç okulda bu anket sorusuna doğru yanıt verme oranının

istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptanmıştır. Öğrencilerinin bu konuda daha önceden yeterli bilgiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Akdeniz Anemisi (talasemi hastalığı) ve/veya Orak Hücre Anemisi sıtmanın yaygın olduğu yerlerde yaygındır anket sorusunun verileri Tablo 27’de verilmiş olup, her üç okulda bu anket sorusuna doğru yanıt verme oranının istatistiksel olarak anlamlı fark olduğu saptanmıştır.

Akdeniz Anemisi (Talasemi) alyuvarlardaki hemoglobinin yeterli ya da hiç yapılamaması ile seyreden hastalıktır anket sorusunun verileri Tablo 28’de verilmiştir.

Üç okulun toplam doğru yanıt verme oranı Tablo 29’da verilmiştir. Genel olarak istatistiksel olarak anlamlı fark bulunsa da her üç okul ayrı ayrı incelendiğinde bu anket sorusuna doğru yanıt verme oranının istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı saptanmıştır.

Çalışmamızda sonuçlar bireylere tek tek teslim edilip, tüm taşıyıcılar için taşıyıcılık kavramı ve önemi konusunda ayrıca bilgilendirilme yapılmıştır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Samandağ Yüksel Acun Anadolu Lisesinde 166, Samandağ Kız Meslek Lisesinde 81 ve Samandağ Teknik Anadolu Lisesinde 48 kişiden olmak üzere toplam 295 kan örneği alınmıştır.
2. Hb AS, Hb SS'li olguların moleküler düzeydeki çalışmaları ARMS ve RFLP yöntemiyle çalışılmıştır. 32 olgu Hb AS, 2 olgu Hb SS olarak belirlenmiştir. Bu tez çalışmasında en sık görülen Anormal Hemoglobin, HbS olarak belirlenmiştir.
3. Hb AE'li olguların moleküler düzeydeki çalışmaları ARMS yöntemiyle çalışılmıştır. 6 olgu Hb AE olarak belirlenmiştir. 2. sıklıkta görülen Anormal hemoglobin, HbE olarak belirlenmiştir.
4. Beta talasemi mutasyon tipleri mikroarray cihazında çalışılmış olup; üç olgu IVS I–110 taşıyıcısı, bir olgu Cd 39 taşıyıcısı olarak belirlenmiştir. Bir olgunun ise mutasyonu belirlenememiştir. Bu tez çalışmasında en yüksek oranda gözlenen β talasemi mutasyon tipi IVS I–110 mutasyonu olarak belirlenmiştir. Türkiye'de yapılan diğer çalışmalarla uyumlu bulunmuştur.
5. Bu çalışmada α - talasemi açısından 34 olgu incelenmiş olup; 8 olgunun $\alpha^{3,7}$ mutasyonunu taşıdığı, 2 olgunun – – ^{MED I} mutasyonunu taşıdığı belirlenmiştir. Bu veri Çukurova'da yapılan çalışmalardaki bulgularla uyumlu bulunmuştur.
6. Samandağ ilçesindeki üç lisede Hemoglobinopati konusunda görsel sunum yapılmıştır. Görsel Sunum öncesi ve sonrası anket çalışmasıyla öğrencilerin konu hakkındaki bilgi ve ilgi düzeyleri araştırılmıştır. Talasemi ve Orak Hücre Anemisi taşıyıcılığının Çukurova bölgesinde yaygın olduğu, bulaşıcı olmadığı, kalıtsal kan hastalığı taşıyıcılarında tedavinin gerekli olmadığı, iki taşıyıcı çift evlendiğinde doğum öncesi tanının gerekli olduğu, Talasemi hastalığı ve/veya Orak Hücre Anemisinin sıtmanın yaygın olduğu yerlerde gözlemlendiği konusundaki bilgilerin iyi kavrandığı saptanmıştır. Kalıtsal kan hastalıklarının önlenabilir olduğu iyi anlaşılmamış olup görsel sunum gözden geçirilmiştir.
7. Çalışmamızda taşıyıcı olarak tespit edilen bireylere; akraba evliliğinin riski, taşıyıcılık kavramı, taşıyıcılığın önemi, evlilik öncesi testlerle çiftlerin değerlendirilmesinin gerekliliği, doğum öncesi tanının önemi hakkında ayrıca eğitim verilmiştir.

8. Türkiye'de son yıllarda, Üniversiteler, Talasemi dernekleri, Sağlık Bakanlığı'na bağlı kuruluşlar ve Ulusal Hemoglobinopati Konseyi çok iyi bir organizasyon ile eğitim ve halkı bilinçlendirme çalışmalarını sürdürmektedir. Türkiye'de kalıtsal kan hastalıklarının eradikasyonu için halkın bilinçlendirilmesi son derece önemlidir. Eğitim için evlilik öncesi yaş grupları hedef kitle olduğu için okullardaki eğitim daha fazla önem kazanmaktadır. Bu yüzden Milli Eğitim Bakanlığı'ndan destek alınmalıdır. Biyoloji derslerinin görüldüğü 8. sınıf müfredatına Hemoglobinopati konusunun ilave edilmesinin faydalı olacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. **Türkoğlu AE.** Geçmişte ve Günümüzde Antakya’da Hristiyanlık. Yüksek Lisans tezi, Çukurova Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Adana, **2006**.
2. Erişim: (<http://www.samandagrehberim.com/>) **2009**. Erişim Tarihi: 20/12/2009
3. **Cavalli SL, Menozzi P, Piazza A.** *The History and Geography of Human Genes*. Princeton: University Pres, **1996**.
4. **World Health Organization. Guidelines for control hemoglobin disorders.** World Health Organization. Geneva, WHO/HDP/GL 94.1. Control of hereditary diseases. Geneva. **1996**.
5. **Modell B, Kuliev A.** The history of community genetics: the contribution of the hemoglobin disorders. *Community Genet* **1998**; 1:3-11.
6. **Harmening DM.** Hemoglobinopathies. In: Harmening DM, Eds. *Clinical Hematology and Fundamentals of Hemostasis*, 3th Ed., Philadelphia: F.A. Davis Comp, **1997**: 173-192.
7. **Ozsoylu S, Sahinoglu M.** Haemoglobinopathy survey in an Eti-Turk village. *Hum.Hered.* **1975**; 25(1):50-9.
8. **Weatheral DJ.** The Thalassemias. In: Stamatoyannopoulos G, Majerus PW, Perlmutter RM, Varmus H. Eds. *The Molecular Basis of Blood Disease*, 3th Ed., Philadelphia: WB Saunders Comp, **2001**: 183-226.
9. **Bunn HF, Forget BG.** *Hemoglobin. In: Molecular Genetic and Clinical Aspects*. Philadelphia; WB Saunders Comp, **1986**: 60-90.
10. **Kazazian HH, Boehm CD.** Molecular basis and prenatal diagnosis of β -thalassemia. *Blood* **1998**; 72:1107-1116.
11. **Arcasoy A, Canatan D.** Dünyada ve Türkiye’de Talasemi ve Hemoglobinopatiler. In: Arcasoy A, Canatan D, Köse M, Üstündag M, Eds. *Hemoglobinopati ve Talasemi, Önlem-Tanı-Tedavi*, Antalya: Siyah Grafik Matbaacılık Ltd Sti, **2002**: 13-17.
12. **Temiz M.** XIX. Yüzyıl ve Sonrasında Antakya’nın Kentsel Oluşumunda Meydana Gelen Değişiklikler ve Kurtuluş Caddesi. Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü, Van, **2002**.
13. **Thompson M, Mcinnes R R, Willard H F.** *Genetics in Medicine*. 5th ed. Philadelphia: B. Saunders Comp, **1991**: 247-270.
14. **Murray RK, Granner DK, MayesPA, RadwellVW.** *Harper’s Biochemistry*. 21th ed. London: Long Medical Book, **1988**.

15. **Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR, Wood WG.** The Hemoglobinopathies. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Vale D, Eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th ed . USA: International Edition, **2001**.
16. **Ho PJ, Thein SL.** Gene regulation and deregulation: a β globin perspective. *Blood Rev* **2000**; 14:78-93.
17. **Wada Y.** Advanced analytical methods for hemoglobin variants. *J Chromatogr* **2002**; 781:291-301.
18. **Tekman S, Öner N.** *Genel Biyokimya Dersleri*. İstanbul: İstanbul Üniversitesi Yayınları, **1981**: 200-205.
19. **Çelebi G.** *Biyofizik Cilt 1. 3.* Baskı, İzmir: Barış Yayınları, **2005**: 44- 50.
20. **Nelson DL, Cox MM.** *Lehninger Principles of Biochemistry*. NewYork: Worth Publishers, **2000**: 213.
21. **Weatherall DJ, Clegg JB.** The Thalassaemia Syndromes. 4th ed. London: Blackwell Sience, **2001**.
22. **Yüregir GT.** Hemoglobin Yapısı ve Özellikleri. *Klinik Biyokimya* **1990**; 1:132-143.
23. **Weatherall DJ, Clegg JB.** Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. *Bull World Health Organ* **2001**; 79:704-712.
24. **Huisman Titus HJ.** High performance liquid chromatographic analysis of human hemoglobins and their polypeptide chains: its use in the identification of variants. *Analytica Chimica Acta* **1997**; 352:187-200.
25. **Ganong WF.** *Review Of Medical Physiology*. 12th ed. California: Lange Medical Publications, **1985**: 431.
26. Erişim: (<http://globin.csu.edu.tr>.) **2009**. Erişim Tarihi: 23/11/2009.
26. **Ahmed M, Stuhmann M, Bashawri L, Kühnau W, El- Harith A, Harith E.** The β -globin genotype E121Q/W15X (cd121GAA $\rightarrow$ GAA/cd15TGG $\rightarrow$ TGA) underlines Hb D/ β -(0) thalassaemia marked by domination of haemoglobin D. *Ann Hematol* **2001**; 80:629-633.
27. **Viprakasit V, Chinchang W, Pung- Amritt P, Tanphaichitr SV.** Identification of Hb Q-India (α 64 Asp $\rightarrow$ His) in Thailand. *Hematology* **2004**; 9:151-155.
28. **Wajcman H, Prehu C, Michau JB, Prome D, Riou J, Godart C, Mathis M, Hurtrel D, Galacteros F.** Abnormal hemoglobins: Laboratory methods. *Hemoglobin* **2001**; 25:169-181.
29. **Huisman, THJ.** The Structure and function of normal and abnormal hemoglobins. *Bailieres Clin Haematol* **1993**; 6:1-30.

30. **Öner C.** (Çev. Ed.) 2002. Genetik Kavramlar. Palme Yayıncılık, Ankara. (Klug, S., Cummings, M. R. 2000. Concepts of Genetic)
31. **Flint J, Harding RM, Boyce AJ, Cleg JB.** The Population genetics of the haemoglobinopathies. *Baillieres Clin Haematol* **1998**; 11:1-51
32. **Huisman, THJ.** *The Hemoglobinopathies*. Edinburgh: Churchill Livingstone Com, **1986**.
33. **Lukens JN, Lee GR.** The Abnormal Hemoglobins. In: Lee GR, Bithell CT, Foerster J, Athens JW, Wkens JN, Eds. *Wintrobe's Clinical Hematology*, Pennsylvania: Lea and Febiger Com, **1993**.
34. **Huisman THJ.** Human Hemoglobin. In: Miller DR, Baehner RL, Eds. *Blod Disease of Infancy and Childhood*, 7th ed, St Louis: Mosby-Year Book Inc, **1995**.
35. **Agarwal A, Guindo A, Cissoko Y, Taylor JG, Coulibaly D, Kone A, Kayentao K, Djimde A, Christopher VP, Doumbo O, Wellems TE, Diallo D.** Hemoglobin C associated with protection from severe malaria in the dogopn of mali, a west african population with a low prevalance of hemoglobin S. *Blood* **2000**; 96:2358-2363.
36. **Bunn HF, Forget BG.** *Hemoglobin: Molecular, Genetic, and Clinical Aspects*. Philadelphia: WB Saunders Com, **1986**.
37. **Hutagulung R, Wilairatana P, Looareesuwan S, Brittenham GM, Aikawa M, Gordeuk VR.** Influence of hemoglobin e trait on the severity of falciparum malaria. *J Infect Dis* **1999**; 179:283-286.
38. **Chotivanich K, Udomsengpetch R, Pattanapanyasat K, Chierakul W, Simpson J, Looareesuwan S, White N.** Hemoglobin E: A balanced polymorphism protective againts high parasitemias and thus severe p. falciparum malaria. *Blood* **2002**; 100:1172-1176.
39. **Altay Ç.** Abnormal hemoglobins in Turkey. *Turk J Haematol* **2002**; 19:63-74.
40. **Akar E, Akar N.** A review of abnormal hemoglobins in Turkey, *Turk J Hematol* **2007**; 24:143-145
41. **Aksoy M.** Brief Note:Hemoglobin S in Eti-Turks and the Allewits in Leabanon, *Blood* **1961**; 17:657-659.
42. **Cavdar AO, Arcasoy A.** Haemoglobin LeporeBoston in a Turkish family. *J Med Genet* **1976**; 13:363–365
43. **Aksoy M, Dinçol G, Erdem S.** Survey on haemoglobin variants, beta-thalassaemia, glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and haptoglobin types in Turkish people living in Manavgat, Serik and Boztepe (Antalya). *Hum Hered* **1980**; 30:3-6.
44. **Aksoy M, Kutlar A, Kutlar F, Dinçol G, Erdem S, Baştesbihçi S.** Survey on haemoglobin variants, beta thalassaemia, glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency, and haptoglobin types in Turks from western Thrace. *J Med Genet* **1985**; 22:288-290.

45. **Yenice S, Kemahlı S, Bilenogu O, Gul O, Akar E, Basak AN, Akar N.** Two rare hemoglobin variants in the Turkish population (Hb G-Coushatta (B 22(B4) GLU-ALA and Hb J Iran (B 77 (EF1) HIS-ASP) *Turk J Haematol* **2000**; 17:27-28.
46. **Keser I, Kayisli OG., Yesilipek A, Ozes ON., Luleci G.** Hb Antalya [Codons 3–5 (Leu-Thr-Pro → Ser-Asp-Ser)]: A New unstable variant leading to chronic microcytic anemia and high Hb A₂. *Hemoglobin* **2001**; 25:369-373.
47. **Irken G, Oren H, Undar B, Duman M, Gulen H, Ucar C, Sanli N.** Analysis of thalassemia syndromes and abnormal hemoglobins in patients from the Aegean region of Turkey. *Turk J Pediatr* **2002**; 44:21-24.
48. **Akar E, Ozdemir S, Timur HI, Akar N.** First observation of homozygous hemoglobin hamadan (B 56 (D7) GLY-ARG) and beta thalassemia (-29 G>A)- hemoglobin Hamadan combination in a Turkish family. *Am J Hematol* **2003**; 74:280-282.
49. **Atalay EO, Koyuncu H, Turgut B, Atalay A, Yildiz S, Bahadir A, Koseler A.** High incidence of Hb D-Los Angeles [beta121(GH4)Glu → Gln] in Denizli province, Aegean region of Turkey. *Hemoglobin* **2005**; 29:307-310.
50. **Çürük MA, Dimovski AJ, Baysal E, Gu LH, Kutlar F, Molchanova TP, Webber BB, Altay Ç, Gürgey A, Huisman TH.** Hb Adana or alpha 2 (59) (E8) Gly→Asp beta 2, a severely unstable alpha 1-globin variant, observed in combination with the-(alpha) 20.5 Kb alpha-thal-1 deletion in two Turkish patients. *Am J Hematol* **1993**; 44:270-275.
51. **Aksoy M, Erdem Ş, Efremov GD, Wilson JB, Huisman THJ, Schroeder J, Müftüoğlu A.** Hemoglobin İstanbul: Substitution of glutamine for histidine in a proximal histidine (F8(92)β). *J Clin Inv* **1972**; 51:1380-1387.
52. **Akar E, Tunç Ş, Arcasoy A, Öztürk A, Akar N.** Further observation of Hemoglobin Beograd (β121Glu→Val) in Turkish population. *Turk J Haematol* **2004**; 21:149-151.
53. **Dincol G, Güvenc S , Elam D, Kutlar A, Kutlar F.** Hb J- Meerut [α 120 (H3) Ala ->Glu (α1)] In a Turkish male. *Int J Med Sci* **2006**; 3:26-27.
54. **Keser I, Manguoglu E, Kayisli O, Yesilipek A, Luleci G.** Combination of Hb Knossos [Cod 27 (G-T)] and IVSII-745 (C-G) in a Turkish patient with beta-thalassemia major. *Genet Test* **2007**; 11:228-230.
55. **Koseler A, Bahadir A, Koyuncu H, Atalay A, Atalay EO.** First observation of Hb D-Ouled Rabah [beta19(B1)Asn>Lys] in the Turkish population. *Turk J Hematol* **2008**; 25:51-53.
56. **Atalay EO, Atalay A, Koyuncu H, Ozturk O, Köseler A, Özkan A, Demirtepe S.** A Rare hemoglobin variant Hb Yaizu observed in Turkey. *Med Princ Pract* **2008**; 17:321–324.
57. **Yüreğir GT, Ispir T.** Çukurova’da Hb S ve G6PD enzim eksikliği ve aralarındaki ilişki. *Doğa Tu Tıp Ecz Der* **1984**; 8:232-244.

58. **Yüreğir GT, Aksungur P, Burgut R.** A survey of high A2 β Talasemi, hemoglobin variants, G6PD deficiency anemia in Karatas, Cukurova, Southern Turkey. *Doğa Tu Med Sci* **1989**; 13:203-210.
59. **Kılınç M, Koçak F, Yüreğir GT, Aksoy K.** İçel ilinde orak hücre anemisi ve β talasemi taşıyıcı sıklığı. *ÇÜ Tıp Fak Der* **1999**; 2:62-65.
60. **Yüreğir GT, Bakioğlu İ, Çürük A, Kılıç Y, Aksoy M, Huisman THJ.** Çukurova’da orak hücre anemili hastalarda haplotipler. *ÇÜ Sağlık Bil Der* **1988**; 2:83-94.
61. **Kılınç Y, Kumi M, Gurgey A, Altay C.** Adana bölgesinde doğan bebeklerde kordon kanı çalışması ile alfa talasemi, glukoz 6-fosfat dehidrogenaz enzim eksikliği ve hemoglobin S sıklığının araştırılması. *Doğa Tu Tıp Ecz Der* **1986**; 10:162-167.
62. **Günçag D.** Hemolitik Anemiler. In: Dinçol G, Pekçelen Y, Atamer T, Sargın D, Nalçacı M, Aktan M, Beşışık SK, Eds. *Klinik Hematoloji*, İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi, **2003**: 87-152.
63. **Higgs DR.** Gene regulation in hematopoiesis: New lessons from thalassemia. *Hematol* **2004**; 1:1-13.
64. **Tüzmen S, Schechter AN.** Genetic diseases of hemoglobin: diagnostic method for elucidating β -thalassemia mutations. *Blood Rev* **2001**; 15:19-29.
65. **May C, Sadelain MA.** Promising genetic approach to the treatment of β -thalassemia. *Trends Cardiovasc Med* **2001**; 11:276-280.
66. **Olivieri NF.** The β -Thalassemias. *Medical Progress* **1999**; 341:99-109.
67. **Rund D, Rachmilewitz E.** Beta-thalassemia. *N Engl J Med* **2005**; 353:1135-1146.
68. **Thein SL.** β -Thalassaemia prototype of a single gene disorder with multiple phenotypes. *Int J Hematol* **2002**; 76:96-104.
69. **Wood WG.** Increased HbF in adult life. *Baillieres Clin Haematol* **1993**; 6:177-213.
70. **Thein SL, Hesketh C, Taylor P, Temperley IJ, Hutchinson RM, Old JM, Wood WG, Clegg JB, Weatherall DJ.** Molecular basis for dominantly inherited inclusion body β thalassemia. *Proc Natl Acad Sci* **1990**; 87:3924-3928.
71. **Gonzalez-redondo JM, Stoming TA, Kutlar A, Kutlar F, Lanclos KD, Howard EF, Fei YJ, Aksoy M, Altay C, Gurgey A.** A C----T substitution at nt--101 in a conserved DNA sequence of promotor region of the beta-globin gene is associated with "silent" the beta-thalassemia. *Blood* **1989**; 73:1705-1711.
72. **Weatherall DJ.** Phenotype-genotype relationships in monogenic disease: lessons from the thalassaemias. *Genetics* **2001**; 2:245- 255.

73. **Faa V, Meloni A, Moi L, Ibba G, Travi M, Vitucci A, Cao A, Rosatelli MC.** Thalassemia-like carriers not linked to the β -globin gene cluster. *Br J Haematol* **2006**; 132:640-650.
74. **Huisman THJ, Carver MFH, Baysal EA.** Syllabus of Thalassemia Mutations. *The Sickle Cell Anemia Foundation*, **1997**.
75. **Weatherall DJ, Clegg JB, Higgs DR, Wood WG.** The Thalassemias. In: Scriver CR, Arthur AL, Sly WS, Valle D, Eds. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, 8th Ed, New York: McGraw Hill Publishing Division, **2001**: 4571-4636.
76. **Aksoy M.** Anormal Hemoglobinler ve Hemoglobinopatiler. *Çocuk Hematolojisi ve İmmünolojisi*, İstanbul: **1973**: 33-71.
77. **Weatherall DJ.** The Thalassemias. In: Beutler E, Coller BS, Lichtman MA, Kipps TJ, Seligsohn U. Eds. *Williams Hematology*, 6th Ed, New York: Mc Graw Hill Publishing Co, **2001**: 547-580.
78. **Kazazian Jr HH.** The thalassemia syndromes: Molecular basis and prenatal diagnosis in 1990. *Semin Hematol* **1990**; 27:209-228.
79. **Rosatelli MC, Dozy A, Faa V, Meloni A, Sardu R, Saba L, Kan YW, Cao A.** Molecular characterization of β -thalassemia in the Sardinian population. *Am J Hum Genet* **1992**; 50:422-426.
80. **Nienhuis AW, Anagnou NP, Ley TJ.** Advances in thalassemia research. *Blood* **1984**; 63:738-758.
81. **Rund D, Rachmilewitz E.** Pathophysiology of β - and α - thalassemia: Therapeutic implications. *Sem Hematol* **2001**; 38:343-349.
82. **Weatherall DJ.** The Thalassemias. In: Williams WJ, Beutler E, Coller BS, Lichtman MA, Kipps TJ, Seligsohn U, Eds. *Williams Hematology*, 5th Ed. New York: McGraw Hill Publishing Co, **1995**: 581-615.
84. **Thein SW.** β -Thalassemia. *Br Clin Haem* **1993**; 6:151.
85. **Yüreğir GT, Donma O, Dikmen N, İspir T, Çınar M.** Population studies of hemoglobin S and other variants in Çukurova. The southern part of Turkey. *Acta Haematol* **1987**; 50:757-765.
86. **Başak AN.** Talaseminin Moleküler Genetiği. Temel Moleküler Hematoloji Kursu. Mersin, **2005**.
87. **Aksoy M.** Brother and sister infested with Cooley anemia; their parents showing symptoms of thalassemia minor. *Wiener Klinische Wochenschrift* **1952**; 64:367-369.
88. **Çavdar AO.** Türkiye’de talasemi insidansı. Thalassemia Sempozyumu, TÜBİTAK, Ankara, **1981**

89. **Oner C, Gurgey A, Altay C, Kutlar F, Huisman TH.** Variation in the level of fetal hemoglobin in (delta beta) (0)-thalassemia heterozygotes with different numbers of alpha-globin genes. *Am J Hematol* **1990**; 34:230-231.
90. **Aydinok Y, Oztop S, Nişli G, Kavakli K.** Prevalence of beta-thalassaemia trait in 1124 students from Aegean region of Turkey. *J Trol Pediatr* **1997**; 43:184-185.
91. **Tadmouri GO, Tüzmen S, Başak AN.** Rare beta-thalassemia mutation in a Turkish patient: FSC-36/37 (-T). *Hum Biol* **1997**; 69:263-267.
92. **Tadmouri GO, Bilenoglu O, Kutlar F, Markowitz RB, Kutlar A, Başak AN.** Identification of the Chinese IVS-II-654 (C-->T) beta-thalassemia mutation in an immigrant Turkish family: recurrence or migration? *Hum Biol* **1999**; 71:295-302.
93. **Keskin A, Türk T, Polat A, Koyuncu H, Saracoglu B.** Premarital screening of beta-thalassemia trait in the province of Denizli, Turkey. *Acta Haematol* **2000**; 104:31-33.
94. **Öner AF, Özer R, Üner A, Arslan Ş, Gümrük F.** Beta-thalassemia mutations in the east of Turkey. *Turk J Haematol* **2001**; 18:239-242.
95. **Arcasoy A.** Türkiye’de Thalassemia Taşıyıcı Sıklığı ve Anormal Hemoglobinler. Ankara Talasemi Derneği, **1994**.
96. **Akar N, Cavdar AO, Dessi E, Loi A, Pirastu M, Cao A.** β -Thalassemia mutations in the Turkish population. *J Med Genet* **1987**; 24:378-379.
97. **Tadmouri GO, Tüzmen Ş, Özçelik H, Özer A, Baig SM, Senga EB, Başak AN.** Molecular and population genetic analyses of β -thalassemia in Turkey. *Am J Hematol* **1998**; 57:215-220.
98. **Altay Ç.** The frequency and distribution pattern of β -thalassemia mutations in Turkey. *Turk J. Haematol* **2002**; 19:309-315.
99. **Arpacı A, Aksoy K, Yüreğir GT.** Preliminary studies for prenatal diagnosis: Incidence and mutation sites of β -thalassaemia in Antakya, Türkiye. *Ann Med Sci* **1992**; 1:103-110.
100. **Çürük M A, Arpacı A, Atilla G, Tuli A, Kılınç Y, Aksoy K, Yüreğir GT.** Genetic heterogeneity of β -thalassemia at Çukurova in Southern Turkey. *Hemoglobin* **2001**; 25:241-245.
101. **Atilla G, Çürük MA, Arpacı A, Özgünen FT, Kılınç Y, Aksoy K, Yüreğir GT.** Prenatal diagnosis of hemoglobinopathies in Southern Turkey. *Ann Med Sci* **1999**; 8:93-97.
102. **Higgs DR, Wood WG, Jarman AP, Vickers MA, Wilkie AO, Lamb J, Vyas P, Bennett JP.** The alpha-thalassemias. *Ann N Y Acad Sci* **1990**; 612:15-22.

103. **Liebhaber SA.** Alpha thalassemia. *Hemoglobin* **1989**; 13:685-731.
104. **Lukens JH.** The Thalassemias and Related Disorders: Quantitative Disorders Of Hemoglobin Synthesis. In: Lee GR et al, Eds. *Wintrobe's Clinical Hematology*, 9th ed, Philadelphia: Lea&Febiger, **1993**: 1102.
105. **Loukopoulos D.** Thalassemia: genotypes and phenotypes. *Ann Hematol* **1991**; 62:145-150.
106. **Bowden DK, Vickers MA, Higgs DR.** A PCR-based strategy to detect the common severe determinants of alpha thalassaemia. *Br J Haematol* **1992**; 81:104-108.
107. **Lebo RV, Saiki RK, Swanson K, Montano MA, Erlich HA, Golbus MS.** Prenatal diagnosis of alpha-thalassemia by polymerase chain reaction and dual restriction enzyme analysis. *Hum Genet* **1990**; 85:293-299.
108. **Baysal E, Huisman TH.** Detection of common deletional alpha-thalassemia-2 determinants by PCR. *Am J Hematol* **1994**; 46:208-213.
109. **Higgs DR, Vickers MA, Wilkie AO, Pretorius IM, Jarman AP, Weatherall DJ.** A review of the molecular genetics of the human alpha-globin gene cluster. *Blood* **1989**; 73:1081-1104.
110. **Lin CK, Yang ML, Jiang ML, Chien CC, Lin HH, Peng HW.** Comparison of two screening methods, modified Hb H preparation and the osmotic fragility test, for alpha-thalassemic traits on the basis of gene mapping. *J Clin Lab Anal* **1991**; 5:392-395.
111. **Sonati MF, Farah SB, Ramalho AS, Costa FF.** High prevalence of alpha-thalassemia in a black population of Brazil. *Hemoglobin* **1991**; 15:309-311.
112. **Al-Saleh AA, Hussain S.** Alpha thalassaemia in Saudis. *Acta Haematol* **1992**; 88:165-169.
113. **Fei YJ, Oner R, Bözkurt G, Gu LH, Altay C, Gurgey A, Fattoum S, Baysal E, Huisman TH.** Hb H disease caused by a homozygosity for the AATAAA-->AATAAG mutation in the polyadenylation site of the alpha 2-globin gene: hematological observations. *Acta Haematol* **1992**; 88:82-85.
114. **Liu TC, Chiou SS, Lin SF, Chen TP, Tseng WP, Chen PH, Chang JG.** Molecular basis and hematological characterization of Hb H disease in southeast Asia. *Am J Hematol* **1994**; 45:293-297.
115. **Chinprasertsuk S, Wanachiwanawin W, Piankijagum A.** Effect of pyrexia in the formation of intraerythrocytic inclusion bodies and vacuoles in haemolytic crisis of haemoglobin H disease. *Eur J Haematol* **1994**; 52:87-91.
116. **Green DW, Walters L, Ackerman NB Jr.** Pathological case of the month. Case 1. Bart's hemoglobin hydrops fetalis syndrome. *Arch Pediatr Adolesc Med* **1994**; 148:283-284.

117. **Aksoy M.** Homozygous hemoglobin S and alpha thalassemic disease. *Turk Tip Cemiy Mecm* **1963**; 29:299-305.
118. **Aluoch JR, Kiliç Y, Aksoy M, Yüregir GT, Bakioglu I, Kutlar A, Kutlar F, Huisman TH.** Sickle cell anaemia among Eti-Turks: haematological, clinical and genetic observations. *Br J Haematol* **1986**; 64:45-55.
119. **Aksoy M, Kutlar A, Kutlar F, Harano T, Chen SS, Huisman TH.** Hemoglobin H disease in two Turkish females and one Iranian newborn. *Hemoglobin* **1985**; 9:373-384.
120. **Oner C, Gürgey A, Oner R, Balkan H, Gümrük F, Baysal E, Altay C.** The molecular basis of Hb H disease in Turkey. *Hemoglobin* **1997**; 21:41-51.
121. **Canatan D, Oğuz N, Güvendik I, Yildirim S.** The incidence of alpha-thalassemia in Antalya-Turkey. *Turk J Haematol* **2002**; 19:433-434
122. **Yüregir GT, Aksoy K, Dikmen N.** Alfa talasemi taramasında tek tüp osmotik fragilitenin yeri. *Doğa Tr J Med Sci* **1990**; 14:374-380.
123. **Yüregir GT, Aksoy K, Cürük MA, Dikmen N, Fei YJ, Baysal E, Huisman TH.** Hb H disease in a Turkish family resulting from the interaction of a deletional alpha-thalassaemia-1 and a newly discovered poly A mutation. *Br J Haematol* **1992**; 80:527-532.
124. **Cürük MA, Kiliç Y, Evrûke C, Özgünen FT, Aksoy K, Yüregir GT.** Prenatal diagnosis of Hb H disease caused by a homozygosity for the alpha-2 poly A (AATAAA-->AATAAG) mutation. *Hemoglobin* **2001**; 25:255-258.
125. **Cürük MA.** Hb H (beta4) disease in Cukurova, Southern Turkey. *Hemoglobin* **2007**; 31:265-271.
126. **Model B, Khan M, Darlison M, King A, Layton M, Old J, Petrou M, Varnavides L.** A national register for surveillance of inherited disorders: β thalassemia in the United Kingdom. *Bull of the WHO* **2001**; 79: 2001.
127. **Galanello R, Eleftheriou A, Traeger-Synodinos J, Old J, Perou M, Angastiniotis M.** Prevention of thalassemias and other haemoglobin disorders. *TIF Publications* (3), Volume 1, **2003**.
128. **Vichinsky EP, MacKlin EA, Waye JS, Lorey F, Olivieri N.** Changes in the epidemiology of thalassemia in North America: A new minority disease. *Pediatrics* **2005**; 116:818-825.
129. **Silvestroni E, Bianco I.** Screening for microcytemia in Italy: analysis of data collected in the past 30 years. *Am J Hum Genet* **1975**; 27:198-212.
130. **Cao A.** Results of programmes for antenatal detection of thalassemia in reducing the incidence of the disorder. *Blood Rev* **1987**; 1:169-176.

131. World Health Organization. Guidelines for the control haemoglobin disorders. World Health Organization. Geneva, WHO/HDP/GL94.1. Control of Hereditary Diseases. **1996**
132. **Modell B.** The ethics of prenatal diagnosis and genetic counselling, *World Health Forum* **1990**; 11:179-186.
133. **Petrou M, Modell B.** Prenatal screening for hemoglobin disorders. *Prenat Diagn* **1995**; 15:1275-1295.
134. **Modell B, Darlison M, Birgens H, Cario H, Faustino P, Giordano PC, Gulbis B, Hopmeier P, Lena-Russo D, Romao L, Theodorson E.** Epidemiology of haemoglobin disorders in Europe: an overview. *Scand J Clin Lab Invest* **2007**; 67:39-70.
135. **Modell B, Darlison M.** Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. Bulletin of the World Health Organization DOI 10.247/BLT.06.036673.04/03/2008.
136. **Vichinsky EP.** Changing patterns of thalassemia worldwide. *Ann N Y Acad Sci* **2005**; 1054:18-24.
137. **Altunsu AT.** Hemoglobinopati Kontrol Programı. 5. Uluslararası Talasemi Yazokulu; Antalya-Türkiye, 20-24 Ekim **2008**; 21-23
138. **Timur İH.** Talasemi Merkezlerinde Toplum Eğitimi Programları. 5. Uluslararası Talasemi Yazokulu Antalya-Türkiye, 20-24 Ekim **2008**; 31-41
139. **Özbaş S.** Hemoglobinopati Tanı Merkezleri. 5. Uluslararası Talasemi Yazokulu Antalya-Türkiye, 20-24 Ekim **2008**; 25-27
140. **Arpacı A, Aytaç N, Yüregir GT, Tuli A, Aksoy K.** Education Programme on Sickle Cell Anemia and β -Thalassemia for the 8th Grade Students. *Turk J Haematol* **2003**; 20:19-24.
141. **Gülleroğlu KS, Sarper N, Gökalp AS.** Public education for the prevention of hemoglobinopathies: a study targeting Kocaeli University students. *Turk J Hematol* **2007**; 24:164-170.
142. **Canatan D, Aydınok Y, Kılınç Y, Karakaş Z, Şaşmaz İ, Apak H, Sarper N.** Ulusal Talasemi Mücadele Kampanyası: Talotır Projesi poster No: P0108xxxiv. Ulusal Hematoloji Kongresi. İzmir-Türkiye, 08-11 Ekim **2008**; 117-118
143. **Huisman THJ, Jonxis JHP.** *The Hemoglobinopathies, Techniques of Identification*. New York: Marcel Dekker Inc, **1977**.
144. **Kohn J.** Separation of hemoglobin on cellulose acetate. *J Clin Pathol* **1969**; 22:109-110.
145. **Huisman THJ, Scroder WA, Brodie AN, Mayson M, Jakway J.** Microchromatography of hemoglobin. A simplified procedure for determination of hemoglobin A₂. *J Lab Clin Med* **1975**; 86:700-702.

146. **Singer K, Chernoff AA, Singer L.** Studies on abnormal hemoglobins. Alkali denaturation. *Blood* **1951**; 6:413-423.
147. **Huisman THJ.** High Performance liquid chromatography as a method to identify haemoglobin abnormalities. *Acta Haemat* **1987**; 78-123.
148. **Aksoy K, Kayrın L, Tuli A, Çürük MA, Atilla G.** Anormal Hemoglobinler ve Talasemi Tanısında Kullanılan Yöntemler. 8. Biyokimya Yaz Okulu, Adana, **2006**.
149. Magna Pure LC DNA İsolation Kit-Large Volume. Version December **2008**.
150. **Özkaralı E.** β - Talasemi Moleküler Tanısında Klasik Yöntemlerle Mikroarray Yönteminin Karşılaştırılması. Çukurova Üniveritesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Adana, **2007**.
151. **Seydel S G.** Hemoglobinopatilerin Mikroarray Yöntemiyle Belirlenmesi Çukurova Üniveritesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Adana, **2007**.
152. **Chong SS, Boehm CD, Higgs DR, CuttingGR.** Single-tube multiplex-PCR screen for common deletional determinants of alpha-thalassemia. *Blood*, **2000** 95: 360-362.
153. **Arpacı A.** Antakya yöresinde β talasemik gen sıklığı ve mutasyonların gen amplifikasyon yöntemi ile saptanması. Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi, *Uzmanlık Tezi*, **1991**.
154. **Gürgey A.** Talasemi ve hemoglobinopatilerde yeni görüşler. TUBİTAK Yayınları No:628, Ankara, **1986**.
155. **Kılınç Y:** Hemoglobinopathies in Turkey. *Turk J Hematol* **2006**; 23:214-216.
156. **Yüreğir GT, Kılınç M, Ekerbiçer H, Bilaloğlu N, Tekin N:** Screening of hemoglobinopathies in Kahramanmaraş, Turkey. *Turk J Haematol* **2001**; 18(2): 79-83.
157. **Aksoy M:** Abnormal hemoglobins and thalassemia in Eti Turks living in Antakya. *Med Bull* **1968**; 1:296-301.
158. **Kazazian HH Jr, Waber PG, Boehm CD, Lee JI, Antonanrakis SE, Fairbanks VF:** Hemoglobin E in Europeans further evidence for multiple origins of the beta E-globin gene. *Am J Hum Genet* **1984**; 36(1):212.
159. **Sanguanserm Sri T, Flatz G, Flatz SD:** Distribution of hemoglobine E and beta-thalassemia in Kampuchea (Cambodia). *Hemoglobine* **1987**; 11(5):481.
160. **Johnson JP, Vichinsky E, Hurst D, Camber A, Lubin B, Louie E:** Differentiation of homozygous hemoglobin E from compound heterozygous hemoglobin E-beta O-thalassemia by hemoglobin E mutation analysis. *J Pediatr* **1992**; 120: (5): 775.

161. **Aksoy K:** Hemoglobinopati ve Talasemi Tanısında Kullanılan Yöntemler. II. Ulusal HPLC ve Diğer Separasyon Teknikleri Sempozyumu. Ankara, **2004**.
162. **Polat G.** Alfa talasemili bir ailenin mutasyon tiplerinin moleküler düzeyde incelenmesi. ÇÜ Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, *Uzmanlık Tezi*. **1995**
163. **Yalın E.** α talasemi ve G6PD enzim eksikliğine neden olan mutasyonların moleküler düzeyde incelenmesi. ÇÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü, *Doktora Tezi*, **2004**
164. **Asadi-pooya AA, Doroudchi M.** Thalassaemia major and consanguinity in Shiraz city, Iran. *Turk J Haematol* **2004**; 21: 127–130.
165. **Tunçbilek E, Özgüç M.** Application of medical genetics in Turkey. *Turk J Pediatr* **2007**; 49: 353–359.
166. **Dönbak L.** İnsan Hemoglobin Varyantları. *KSÜ Fen ve Mühendislik Dergisi* **2005**; 8: 13–22.
167. **Cao A, Furbetta M, Galanello R, Melis A, Angius A.** Prevention of homozygous beta-thalassemia by carriers screening and antenatal diagnosis in Sardinia. *Am J Hum Genet.* **1981**; 33: 592,
168. **Altay Ç, Gürgey A.** Distrubution of hemoglobinopathies in Turkey. *Turk J Pediatr* **1986**; 28:219-229.

Ek 1. Etik Kurul Onay Belgesi



**T.C.
ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ETİK KURULU**

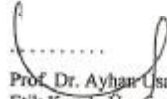
T.C. ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ETİK KURULU

Toplantı Sayısı	Tarih
2	12.02.2008

KARAR No 6- Biyokimya Anabilim Dalı'nda Prof. Dr. Kıymet Aksoy yönetiminde, Arş. Gör. Dr. Murat Tahiroğlu tarafından tıpta uzmanlık tez çalışması olarak yürütülmesi öngörülen, "Antakya yöresinin anormal hemoglobin ve talasemi mutasyon tiplerinin moleküler düzeyde tanımlanması," başlıklı proje, araştırma etiği yönünden değerlendirildi; toplantıya katılan üyelerin oybirliğiyle uygun olduğuna karar verildi.


Prof. Dr. İlter Üzel
Etik Kurulu Başkanı


Prof. Dr. Yurdanur Kılıç
Etik Kurulu Üyesi


Prof. Dr. Ayhan Usal
Etik Kurulu Üyesi

Toplantıya Katılmadı
Prof. Dr. Behnan Alper
Etik Kurulu Üyesi


Prof. Dr. Neslihan Seyrek
Etik Kurulu Üyesi

Toplantıya Katılmadı
Doç. Dr. Süreyya Soyupak
Etik Kurulu Üyesi

Toplantıya Katılmadı
Doç. Dr. Mehmet Kanadaşı
Etik Kurulu Üyesi

Toplantıya Katılmadı
Yar. Doç. Dr. Ersin Akpınar
Etik Kurulu Üyesi


Ar. Gör. Dr. Şehmus Ölmez
Etik Kurulu Üyesi

Toplantıya Katılmadı
Başhemşire Nuriye Kabukçu
Etik Kurulu Üyesi


Öğrenci Temsilcisi Cem Başpınar
Etik Kurulu Üyesi

Ek 2. Hatay Valiliği İzin Belgesi

T.C.
HATAY VALİLİĞİ
İl Millî Eğitim Müdürlüğü

Sayı : B.08.MEM.4.31.00.08-540 Sağlık-164 34875

16 EKİ 2008

Konu : Bilgilendirme Toplantısı.

VALİLİK MAKAMINA

İlgi: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığının 10.10.2008 gün ve 160 sayılı yazısı.

Çukurova Üniversitesi Bilimsel Araştırma Fonu tarafından destekli proje kapsamında; Hemoglobinopatilerin tanısı konusunda İlimiz Merkez İlçe ile Altınözü, Samandağ, Yayladağı, Reyhanlı, Kırıkhan ve Belen İlçelerindeki okullarımızda, kan örneklerinin alınması ve bilgilendirme toplantısı yapılması Üniversitenin ilgi yazısında istenilmektedir.

Bu nedenle söz konusu ilgili Üniversite tarafından yukarıda belirtilen Merkez ve İlçe okullarda, kan örnekleri alınacak kişilerin rızası alınmak şartıyla kan örneklerinin alınması ve konu ile ilgili bilgilendirme toplantısı yapılması Müdürlüğümüzce uygun görülmektedir.

Makamlarımızca da uygun görüldüğü takdirde olurlarınıza arz ederim.

Nazmi BOZOĞLAN
Müdür V.

OLUR
.../10/2008

Dr. Yalçın YILMAZ
Vali a.
Vali Yardımcısı



HATAY İL MİLLÎ EĞİTİM MÜDÜRLÜĞÜ
Kırsırsarı Mah. Fevzi Çakmak Cad. Valilik Binası
B. Blok Kat : 2 31070 Antakya/HATAY
Tlf. : 0 326 - 2142201- (6 Hat)
Faks : 0 326 - 2161042
http : www.hatay.meb.gov.tr/www.millilerhatay.com



Ek 3. Onam Formu

Ç.Ü.T.F. BİYOKİMYA ANABİLİM DALI TARAFINDAN YÜRÜTÜLEN
“ANTAKYA YÖRESİNİN ANORMAL HEMOGLOBİN VE TALASEMİ MUTASYON
TIPLERİNİN MOLEKÜLER DÜZEYDE TANIMLANMASI”

ARAŞTIRMASININ BİLGİLENDİRME VE EBEVEYN/KİŞİ RIZA FORMU

Prof. Dr. Kıymet AKSOY yönetiminde, Arş. Gör. Dr. Murat TAHİROĞLU tarafından tıpta uzmanlık tez çalışması olarak yürütülmesi önerilen araştırmamız çerçevesinde Anormal hemoglobin ve Talasemi mutasyon tiplerinin moleküler düzeyde tanımlanması amaçlanmaktadır.

Çalışmamız çerçevesinde Antakya yöresinde yaşayan kişilerden alınacak kan örneği Ç.Ü.T.F. Biyokimya Anabilim Dalı laboratuvarında genetik değerlendirilmeye alınacaktır.

Yapmak istediğimiz araştırma kişiye/çocuğunuza risk getirmemektedir. Kan aldirmaları genelde hiçbir zararı olmamasına karşın, iğne uygulamasının yapıldığı yerde nadiren kanamaya ve morarmaya yol açabilir.

Sonuçlar sadece bilimsel amaçlarda kullanılacak, kişinin/çocuğunuzun kişisel bilgileri gizli tutulacak, sonuçlar size de bildirilecektir. Parasal bir bedel ödemenizi gerektirmeyen ve kişiye/çocuğa ödeme yapılması söz konusu olmayan bu çalışmaya katılmama hakkınız ve istediğiniz zaman çalışmadan çekilme hakkınız bulunmaktadır.

Araştırmaya kabul ettiğiniz takdirde kişiden/çocuğunuzdan 5 milimetre kan örneği alacağız. Bu çalışmayla ilgili ek bilgi talebiniz olursa sözlü olarak karşılanacaktır. Aşağıda isimleri ve telefon numaraları belirtilen araştırmacılar tarafından gerekli bilgilendirmeler yapılacaktır.

Arş. Gör. Dr. Murat TAHİROĞLU BİYOKİMYA AD 0322 338 60 60- 3470

..... isimli yaşındaki benden/çocuğumdan
alınacak kan örneğinde yukarıda belirlen koşullar çerçevesinde genetik inceleme
yapılmasını kabul ediyorum.

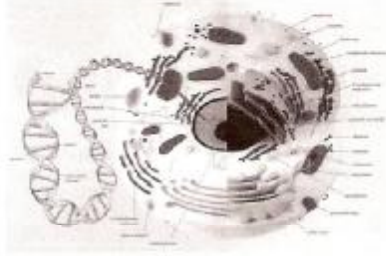
TARİH:

AD-SOYAD:

İMZA:

Ek 4. Görsel Sunum

Hücre Nedir?



Kan Nedir?

- Plazma denen akıcı bir sıvı ve üç tür hücreden oluşur.
- Alyuvarlar.
- Akyuvarlar.
- Kan pulcukları (Trombositler).



Alyuvar Nedir?

- Hemoglobin molekülünü içeren hücredir.



Hemoglobin Nedir?

- Kana kırmızı rengini veren bir proteindir.



İşlevi Nedir?

- Oksijen taşır.

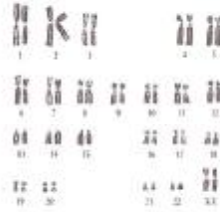
Kalıtım Nedir?

- Saç, göz, ten rengi gibi canlının özelliklerinin kuşaktan kuşağa aktarılmasıdır.



Kalıtımı Ne Sağlar?

- Kromozomlar.



Kromozom Neden Oluşmuştur?



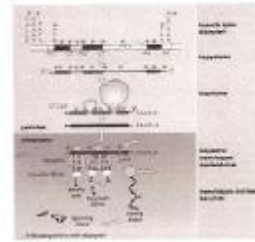
¹DNA'nın İşlevi Nedir?

- Kalıtımın şifresini saklar.



²DNA'nın İşlevi Nedir?

- Protein sentezini yönlendirir.

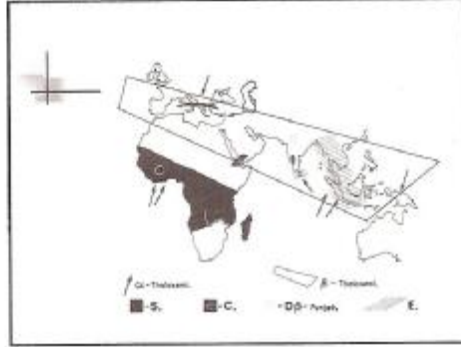


Hatalı Protein Sentezinde Ne Olur?

- Bölgemizde de sık rastlanan hemoglobinopati adıyla anılan kan hastalıkları, *Orak Hücre Anemisi* ve *Akdeniz Anemisi (Talasemi)*, gibi çeşitli kalıtsal hastalıkların oluşmasına neden olur.

Kalıtsal Hemoglobin Hastalıkları Nerede Gözlenir?

- Sıtmanın yaygın olduğu yerde.



Orak Hücre Anemisi Nedir?

- Alyuvardaki hemoglobinin bozukluğu ile seyreden bir hastalıktır.
- Taşıyıcılara tedavi gerektirmez.
- Hastalarda tam iyileşme yoktur.



Orak Hücre Anemisi Krizi Nedir?

- Oraklaşmış alyuvarların lokal damarları tıkaması sonucu oluşan bulgu ve belirtilerdir.



Orak Hücre Anemisi Nasıl Geçer?

- Bulaşıcı değildir.
- Kalıtım ile geçer.



Akdeniz Anemisi (Talasemi) Nedir?

- Alyuvardaki hemoglobinin yeterli yada hiç yapılmaması ile seyreden bir hastalıktır.
- Taşıyıcılara tedavi gerektirmez.
- Hastalarda tam iyileşme yoktur.



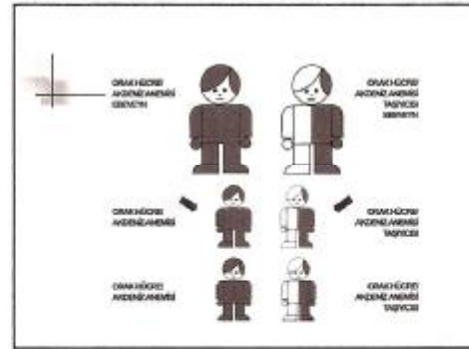
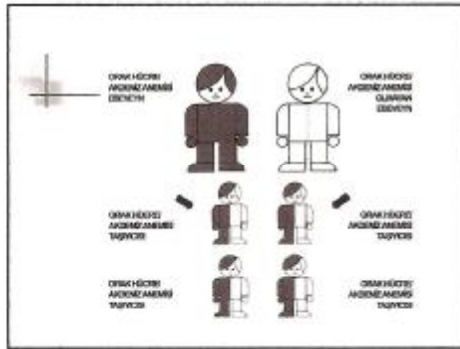
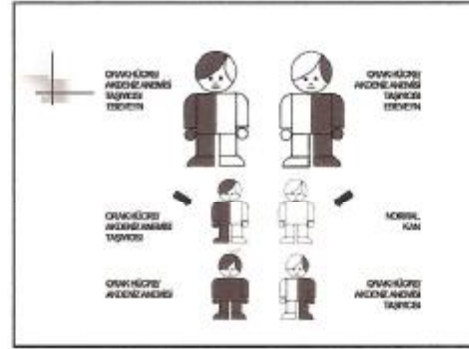
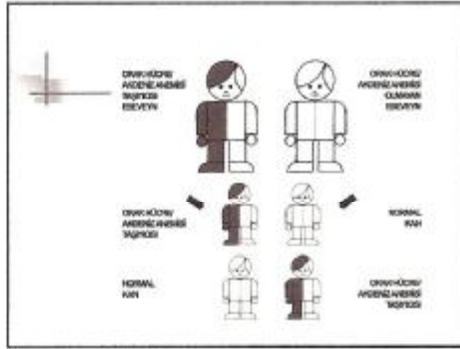
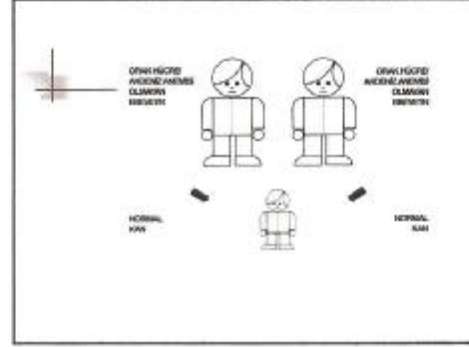
Talasemide Belirti ve Bulgular Nedir?

- Solukluk.
- Kansızlık.
- Kann sızılgı.
- Mongoloid yüz.
- Dişlerde öne fırlama.
- Dalak ve karaciğer büyümesi.

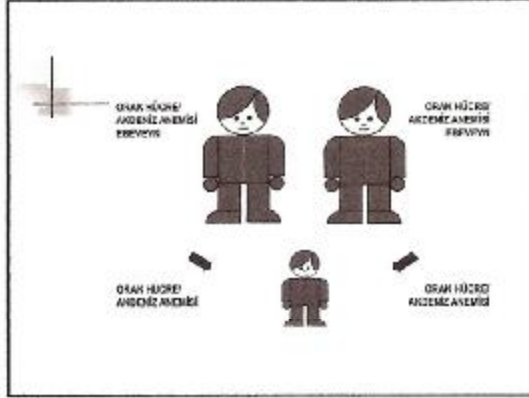


Talasemi Nasıl Geçer?

- Bulaşıcı değildir.
- Kalıtım ile geçer.



Ek 4. Devamı



Kalıtsal Hastalıkların Önlenmesi

- Toplumun eğitilmesi ve bilinçlendirilmesi.
- Taşıyıcıların belirlenmesi.
- Bölgesel mutasyonların belirlenmesi.
- Tedavi ve genetik danışmanlık verilmesi.
- Doğum öncesi tanı.



Bilgi İçin Başvuru

- Prof. Dr. Kıymet AKSOY (☎ : 3386947)
- TADAD (Talasemi Dayanışma Derneği)
- Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi
Biyokimya AD
- Devlet Hastanesi Evlilik Öncesi Tarama
Merkezi

Ek 5. Anket Formu

Bu anket formu Anormal hemoglobin ve talasemi (Akdeniz Anemisi) hakkındaki bilgi düzeyinizi belirlemek amacıyla hazırlanmıştır. Bu bilgiler bilimsel amaçlarla kullanılacaktır. Zaman ayırdığınız için teşekkür ederiz.

Rumuz:

Tarih:

1-Akdeniz Anemisi (Talasemi) ve Orak Hücre Anemisi hastalığı önemli bir halk sağlığı problemidir.

☐ Doğru ☐ Yanlış

2-Akdeniz Anemisi (Talasemi) ve Orak Hücre Anemisi hastalığı Çukurova bölgesinde yaygındır.

☐ Doğru ☐ Yanlış

3-Kalıtsal kan hastalıkları önlenabilir bir hastalıktır.

☐ Doğru ☐ Yanlış

4-Akdeniz Anemisi (talasemi hastalığı) ve/veya Orak Hücre Anemisi hastalığı bulaşıcıdır.

☐ Doğru ☐ Yanlış

5-Kalıtsal kan hastalığı taşıyıcılarında tedavi gereklidir.

☐ Doğru ☐ Yanlış

6-İki taşıyıcı çift evlendiğinde doğum öncesi tanı gereklidir.

☐ Doğru ☐ Yanlış

7- Akdeniz Anemisi (talasemi hastalığı) ve/veya Orak Hücre Anemisi sıtmanın yaygın olduğu yerlerde yaygındır.

☐ Doğru ☐ Yanlış

8-Akdeniz Anemisi (Talasemi) alyuvarlardaki hemoglobinin yeterli ya da hiç yapılamaması ile seyreden hastalıktır.

☐ Doğru ☐ Yanlış

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Murat TAHİROĞLU
Doğum Tarih ve Yeri : 18.06.1976
Medeni Durumu : Evli
Adres : Sümer Mah. 69168. Sok. Grand Park Plaza Sitesi C
Blok K:7 No:14 Seyhan/ADANA
Telefon : 0 532 764 91 07
Faks : -
E.posta : murattahiroglu@mynet.com
Mezun Olduğu Tıp Fakültesi : Çukurova Üniversitesi
Varsa Mezuniyet Derecesi : İyi
Görev Yerleri : Adana 112 Acil Servis ve Kurtarma İstasyonu
Dernek Üyelikleri : Türk Biyokimya Derneği
Türkiye Klinik Biyokimya Derneği
Adana Fotoğraf Amatörleri Derneği (AFAD)
Adana Sinema Derneği (ADSİNDER)
Alınan Burslar : Yok
Yabancı Dil(ler) : İngilizce
Diğer Hususlar : -