



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANA BİLİM DALI
PROF. DR. SAVAŞ KANSOY

**KEMİK İLİĞİ TRANSPLANTASYONU YAPILAN
BETA TALASEMİ MAJÖR TANILI HASTALARDA
ALFA GEN MUTASYONLARININ ETKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Gizem ÖZCAN

DANIŞMAN
Prof. Dr. Savaş KANSOY

İZMİR - 2017

ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Eğitimime değerli katkılarından dolayı, birlikte çalışmaktan onur duyduğum ve akademik deneyimlerini tezimin her aşamasında benimle paylaşan saygıdeğer tez danışmanım ve Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. Savaş KANSOY başta olmak üzere tüm Ege Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD Öğretim Üyeleri'ne

Birlikte çalışmaktan onur duyduğum ve akademik deneyimlerini tezimin her aşamasında benimle paylaşan saygıdeğer Çocuk Genetik ve Tıbbi Genetik Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof.Dr. Ferda ÖZKINAY'a ve Doç.Dr. Hüseyin ONAY ve Doç.Dr.Tahir Atik ile birlikte diğer Çocuk Genetik ve Tıbbi Genetik Öğretim Üyeleri'ne

Pediatric mesleğinin inceliklerini ve deneyimlerini her fırsatta paylaşan, gerçek birer "abi" ve "abla" olan uzmanlarıma

Tezim boyunca güleryüzleri ile yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Genetik teknisyenleri Özlem ORAL ve Ayşegül ERGÜN'e

Asistanlık süreci boyunca birlikte çalıştığım, ailemden çok vakit geçirdiğim ve çok sevdiğim tüm araştırma görevlisi arkadaşlarıma, özellikle tezimi yazarken bana hep yardım eden, asistanlığımda her anımda yanımda olan, dostum, canım eş kıdemlim Aygün MEMMEDOVA'ya

Asistanlık sürecini daha güzel kılan, güzel anıları paylaştığım, her zorlukta yanımda olan, bana yardımlarını esirgemeyen canım arkadaşım Sirmen KIZILCAN'a

Doğduğum günden beri ellerimden tutan, beni destekleyen, bana hayat veren, yol gösteren, bıkmadan usanmadan beni dinleyen, en yakın dostum, canım annem Termin ÖZCAN'a

Hayata geldiğimden andan itibaren, her sorunumda bana kol kanat geren, sevgisini ve emeğini esirgemeyen, bana her zorlukta destek olan babam İlhan ÖZCAN'a

Hayatıma anlam katan, bana hayatın en güzel duygularından biri olan ablalık duygusunu yaşatan, yakın zamanda meslektaşım olacak olan biricik kardeşim İlter ÖZCAN'a

Minnet ve teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Gizem ÖZCAN
Ağustos 2017, İzmir

ÖZET

Talasemiler, otozomal resesif geçiş gösteren, hemoglobin (Hb) zincirlerinden birinin veya birkaçının hasarlı sentezi sonucu gelişen, hipokrom mikrositer anemi ile karakterize heterojen bir grup hastalıktır. Talasemi, α , β , γ , δ olarak tanımlanan Hb zincirinin veya zincirlerinin az sayıda veya hiç yapılamaması ile oluşur. Bu tanımlamaya göre, alfa zincir yapımı azlığı alfa talasemiye, beta zincir yapım azlığı beta talasemiye neden olmaktadır. Beta talasemi klinik olarak sessiz taşıyıcı, talasemi minör (taşıyıcı), talasemi intermedia, talasemi majör şeklinde sınıflandırılmaktadır. Klinik bulguların ağırlığı (fenotip) ile beta talasemide görülen mutasyonlar (genotip) arasındaki ilişkiye “genotip-fenotip korelasyonu” adı verilir. Klinik tabloyu etkileyen genetik faktörler primer modifiye edici faktörler, sekonder modifiye edici faktörler ve tersiyer modifiye edici faktörler olarak üç ana grupta incelenmektedir. Sekonder modifiye edici faktörler arasında olan alfa gen delesyonlarında alfa globin sentezi azalacağı için klinik tablo hafifler, triplikasyon veya quadriplikasyonları ise klinik tabloyu ağırlaştırır. Ancak beta talasemi nedeniyle kök hücre nakli olan hastalarda alfa gen mutasyonlarının etkisi daha önce hiç araştırılmamıştır. Bu çalışmanın amacı beta talasemi majör nedeniyle kök hücre nakli yapılan hastalarda alfa gen mutasyonlarının kök hücre naklinin başarısına ve nakil sonrası komplikasyonlar üzerine olan etkisini araştırmaktır. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Transplantasyon Ünitesi'nde Ocak 2005-Ocak 2017 tarihleri arasında kemik iliği nakli yapılmış olan beta talasemi majör tanılı 30 hasta ve 30 donör çalışmaya dahil edildi. Hastaların klinik öyküleri alınarak olgu formlarına işlendi. Kök hücre nakli öncesinde her hasta ve donöründe kimerizmin araştırılması amacıyla izole edilen DNA örneklerinde Alfa-Globin Strip Test (Vienna Lab-Labordiagnostika GmbH) kullanılarak HbA geni mutasyonu taraması yapıldı. İki hastada ve farklı iki hastanın donörlerinde olmak üzere toplam 4 kişide alfa gen mutasyonu saptanmış olup hepsindeki mutasyon heterozigot -3.7 tek gen delesyonu idi. Alfa gen mutasyonlarının nakil sonrası mortalite ve komplikasyonlar üzerine etkisi saptanmamıştır. Bu çalışma beta talasemi nedeniyle kök hücre nakli olan hastalarda alfa gen mutasyonlarının etkisini değerlendiren ilk çalışmadır.

Anahtar Kelimeler: Alfa gen mutasyonu, beta talasemi majör, kök hücre nakli

SUMMARY

Thalassaemia is a heterogenous group disease that shows autosomal recessive inheritance, that develops as a result of damaged synthesis on one or some of hemoglobin (Hb) chains and that is characterized with hypochromic microcytic anemia. Thalassaemia develops by performing Hb chain or chains defined as α , β , γ , δ in small amounts or in no amount. According to this definition, the deficiency of alpha chain structuring causes alpha thalassaemia and deficiency of beta chain structuring causes beta thalassaemia. Beta thalassaemia is clinically classified as mute /silent carrier, thalassaemia minor (carrier), thalassaemia intermedia and thalassaemia major. The relationship between the severity of clinical findings and mutations seen in beta thalassaemia is called "genotype-phenotype correlation". The genetic factors affecting the clinical picture are examined in 3 main groups such as primary modifying factors, secondary modifying factors and tertiary modifying factors. Because alpha globin synthesis will decrease in alpha gene deletions which is one of the secondary modifying factors, the clinical picture becomes moderate. Triplication and quadruplication makes the clinical picture serious. The effect of alpha gene mutations to the patients having undergone stem cell transplantation because of beta thalassaemia has never been researched. The objective of this study is to research the effects of alpha gene mutations over the success of stem cell transplantation and the complications after transplantation in the patients with stem cell transplantation because of beta thalassaemia major. The study included 30 donors and 30 patients with beta thalassaemia diagnosis having undergone bone marrow transplantation between January, 2005 and January 2017 in Pediatric transplantation unit of Ege University. Their clinical history was taken and registered on subject forms, and HBA gene mutation was scanned by using Alpha- Globin Strip Test (Vienna Lab-Labordiagnostika GmbH) in DNA samples isolated from all patients and their donors before stem cell transplantation for examining the pretransplantation tissue group compatibility. Alpha gene mutation was detected in two of the patients and two of the donors, in all of whom the detected mutation is heterozygote -3-7 single gene deletion. The effect of alpha gene mutations

was not detected over mortality and complications after transplantation, yet it was concluded that it can be considered as good prognostic factor. This study is the first study to examine the effects of alpha gene mutations in patients transplanted with stem cell due to beta thalassaemia.

Key Words: Alpha gene mutation, beta thalassaemia, stem cell transplantation



İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT	v
TABLolar DİZİNİ.....	x
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
KISALTMALAR	xiv

1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
------------------------	---

2. GENEL BİLGİLER.....	4
------------------------	---

2.1. Talasemi Tarihçesi	4
2.2. Hemoglobin ve Globinin Yapısal Özellikleri	6
2.3. Beta Globulin Geni ve Mutasyonları	9
2.4. Alfa Globulin Geni ve Mutasyonları	10
2.5. Talasemiler.....	12
2.5.1. Talasemi Epidemiyolojisi	13
2.5.2. Alfa Talasemi	19
2.5.2.1. Alfa Talasemi Sendromları Tanısı	24
2.5.3. Beta Talasemi	26
2.5.3.1. Beta Talasemide Klinik Tabloyu Etkileyen Genetik Faktörler.....	27
2.5.3.2. Beta Talasemi Sınıflandırılması	32
2.5.3.2.1. Sessiz Taşıyıcı	32
2.5.3.2.2. Beta Talasemi İntermedia (Hasta, Homozigot).....	33
2.5.3.2.3. Diğer Hemoglobinopatilerle Birlikte Olan β Talasemi	33
2.5.3.2.4. Otozomal Dominant β Talasemi	34
2.5.3.2.5. Diğer Bulgularla Birlikte Olan β Talasemi	34
2.5.3.2.6. Beta Talasemi Majör (Hasta, Homozigot).....	34

2.6. Beta Talasemi Major Tanısı	35
2.6.1. Moleküler Genetik Analiz	37
2.6.1.1. Allel Spesifik Olgonükleotid Hibridizasyon (ASO) ...	38
2.6.1.2. Amplifikasyon Refrakter Mutasyon Sistemi (ARMS)	39
2.6.1.3. Gap-PCR	40
2.6.1.4. DNA Dizi Analizi	40
2.6.1.5. Denature Edici Yüksek Performanslı Likid Kromatografi (DHPLC) Yöntemleri ve Gradient Jel Elektroforezi (DGGE)	40
2.6.1.7. Quantitative Multiplex PCR of Short Fragments (QMPSF)	41
2.6.1.8. Real-Time PCR	41
2.6.1.9. Multiple Ligation Probe Analysis (MLPA)	41
2.6.1.10. Yeni Nesil Dizi Analizi	42
2.7. Beta Talasemi Majör Tedavisi	42
2.7.1. Eritrosit Transfüzyonu	42
2.7.2. Demir Şelasyon Tedavisi	43
2.7.3. Splenektomi	48
2.7.4. Hematopoetik Kök Hücre Transplantasyonu	49
2.7.5. Hematopoetik Kök Hücre Transplantasyonunda Graft Fonksiyonu	51
2.7.5.1. Erken Graft Fonksiyonuna (Engraftman) Etki Eden Faktörler	51
2.7.5.2. Sekonder (Geç) Graft Fonksiyonuna Etkili Faktörler	52
2.7.6. Kimerizm	53
2.7.6.1. Kimerizm Tipleri	54
2.7.6.2. Kimerizm Tayininde Kullanılan Yöntemler	54
2.7.6.3. Kök Hücre Nakillerinde Kimerizm Testleri İçin Örnek Seçilmesi Ve Ölçümlerin Sıklığı	55
2.7.6.4. Kimerizm Tayininin Allo-KHN'de Kullanılan Hazırlık Rejimine Göre Önemi	56

2.7.6.5. Malign olmayan hastalıklarda yapılan Allo-KHN'de kimerizm takibi	57
2.8. Hematopoietik Kök Hücre Transplantasyonu Komplikasyonları	58
2.8.1. Graf Versus Host Hastalığı (GVHH)	58
2.8.1.1. Akut GVHH Semptomları	63
2.8.1.1.1. GHVHH Derecelendirmesi	64
2.8.1.1.2. GVHH Tedavisi	66
2.8.1.2. Kronik GVHH (kGVHH) ve Patofizyolojisi	68
2.8.1.3. Kronik GVHH Tanısı ve Klinik Bulguları	69
2.8.1.4. kGVHH Klinik Derecelendirilme ve Sınıflandırma ...	71
2.8.1.5. Kronik GVHH'nin Skorlaması	72
2.8.1.6. Kronik GVHH Tedavisi	73
2.9. Hematopoietik Kök Hücre Nakli Erken Dönem Komplikasyonları	74
2.9.1. Hepatik Sinüzoidal Obstrüksiyon Sendromu (HSOS)	74
2.9.2. Engraftman Sendromu.....	76
2.9.3. Hematopoietik Kök Hücre Nakline Bağlı Trombotik Mikroanjiyopati.....	77
2.9.4. Hemorajik Sistit.....	78
2.9.5. Graft Yetmezliği	80
2.9.6. İdiyopatik İnterstisyel Pnömoni	81
2.9.7. Diffüz Alveolar Hemoraji	82
2.9.8. Alloimmünizasyon.....	82
2.9.9. İnfeksiyonlar	83
2.10. Talasemide Hematopoietik Kök Hücre Transplantasyonu ve Tarihçesi.....	86
2.11. Pesaro Risk Sınıflandırılması.....	87
2.11.1. Sınıf I ve II Risk Grubu Hastalarda HKHT Sonuçları	88
2.11.2. Sınıf III Risk Grubu Hastalarda HKHT Sonuçları	88
2.12. Talasemide Aile Dışı Vericilerden HKHT	94
2.13. Talasemide Haploidantik HKHT	95
2.14. Türkiye'de Talasemi'de Kök Hücre Nakli (KHT)	95
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	97
3.1. Etik Kurul Onayı.....	97

3.2. Çalışma Grubunun Oluşturulması ve Değerlendirilmesi.....	97
3.2.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri	97
3.2.2. Çalışmaya Alınmama Kriterleri	97
3.2.3. Çalışmadan Çıkarılma Kriterleri ve Bu Durumda Yapılacak Uygulamalar	98
3.3. Hasta Değerlendirmesi.....	98
3.4. Alfa Globin Strip Test	98
3.4.1. Analiz Prosedürü	99
3.4.2. Sonuçların Yorumlanması	102
3.5. Verilerin İstatistiksel Analizi	102
4. BULGULAR.....	103
5. TARTIŞMA	113
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	118
KAYNAKLAR	121
EKLER.....	129
Ek 1.Olgu Rapor Formu.....	129
Ek 2.Etik Kurul Onay Raporu.....	130
Ek 3.Genetik Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (6-12 Yaş Hastalar, 12-18 Yaş Hastalar, Donör, Ebeveyn)	132

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Hemoglobin gen varyant taşıyıcılığının tahmini prevalansı ve etkilenen gebelikler	16
Tablo 2.	Gelecek 20 yılda, yıllık E- β -talasemi ve β -talasemi doğumları	17
Tablo 3.	Ülkemizde yapılmış olan beta talasemi çalışmaları	18
Tablo 4.	Ülkemizde yapılmış olan alfa talasemi çalışmaları	19
Tablo 5.	Hb H hastalarında genotip fenotip ilişkisi	21
Tablo 6.	Beta talasemide genetik düzenleyiciler	30
Tablo 7.	Beta talasemide hemoglobin özellikleri (>12 ay)	36
Tablo 8.	Demir şelatörlerinin özellikleri	45
Tablo 9.	Engraftman sağlayacak donör kaynaklı hücre sayıları	52
Tablo 10.	Kimerizm ölçüm yöntemleri	55
Tablo 11.	Örnek kaynağının ve hücre ayrıştırılmasının kimerizm analizi sonuçları üzerine etkisi	56
Tablo 12.	Akut ve Kronik GVHH tanımı	59
Tablo 13.	Organa Özgü Evrelendirme (Glucksberg)	64
Tablo 14.	Genel derecelendirme tablosu (Glucksberg Skalası)	65
Tablo 15.	Akut GVHH derecelendirmesinin uzlaşma konferansı	65
Tablo 16.	Akut GVHH Şiddet İndeksi (IBMTR)	66
Tablo 17.	Kronik GVHH'nin klinik özellikleri	70
Tablo 18.	Kronik GVHH'de klinik semptom ve bulguların ölçümü	73
Tablo 19.	HSOS gelişme riskini arttıran faktörler	75
Tablo 20.	HSOS tanı kriterleri	76
Tablo 21.	Hemorajik Sistit Klinik Evrelemesi	79
Tablo 22.	Ziegler'in Derecelendirmesi	80
Tablo 23.	Kök Hücre Nakli Yapılan Hastalarda Erken Dönemde Görülen Enfeksiyonlar	85
Tablo 24.	Talasemi hastalarına farklı ülkelerde ve farklı merkezlerde uygulanmış olan HKHT sonuçlarının karşılaştırılması	91
Tablo 25.1.	Nakil olan hastaların genel profili	105
Tablo 25.2.	Nakil olan hastaların genel profili	105

Tablo 26.	Nakil olan hastalarda tanımlanan beta globulin mutasyonları	106
Tablo 27.	Graft reddi olan hasta grubunun genel profili	107
Tablo 28.1.	Çalışmaya dahil edilen hastaların genel profili	109
Tablo 28.2.	Çalışmaya dahil edilen hastaların genel profili	109
Tablo 29.	Çalışmaya dahil edilen hastalarda tanımlanan beta globulin mutasyonları	110
Tablo 30.	Alfa gen mutasyonu saptanan hastaların genel profili	111
Tablo 31.	Alfa gen mutasyonlarının nakil sonrası komplikasyonlara etkisi.....	112



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Hemoglobinin yapısı.....	7
Şekil 2.	Embriyonik, fetal ve erişkin eritroid gelişiminin çeşitli evrelerinde globin sentezi.	8
Şekil 3.	Embryonik, fötal ve erişkin globin ve buna bağlı Hb tipindeki Ontogeni	9
Şekil 4.	Beta globulin geni	9
Şekil 5.	Alfa globin geninde mutasyonlar	12
Şekil 6.	Dünyada hemoglobin bozukluklarının dağılımı	14
Şekil 7.	Yıllara göre talasemi major hastalarının yaş dağılımı.....	17
Şekil 8.	Hb elektroforezinde Hb H bandı	25
Şekil 9.	Strip Assay ile değerlendirilen alfa talasemi mutasyonları	26
Şekil 10.	Beta talaseminin moleküler tanısında kullanılan Strip Assay. Test ile saptanabilen mutasyonlu ve normal allelleri gösteren Bantlar.....	39
Şekil 11.	Splenektomili hastalarda kemoprofilaksi	49
Şekil 12.	Akut Graft Versus Host Hastalığı'nın Patofizyolojisi	61
Şekil 13.	Kronik GVHH Patofizyolojisi.....	69
Şekil 14.	Pesaro grubu tarafından BU14CY200 hazırlama rejimi kullanılarak aile içi donörlerden HKHT uygulanmış olan toplam 480 sınıf 1 ve 2 risk grubu talasemi hastasında HKHT sonrası talasemisiz-yaşam oranları	88
Şekil 15.	Pesaro grubu tarafından BU14CY160 hazırlama rejimi kullanılarak aile içi donörlerden HKHT uygulanmış olan toplam 122 sınıf 3 risk grubu talasemi hastasında HKHT sonrası genel yaşam, talasemisiz-yaşam ve graft rejeksiyonu oranları.....	89
Şekil 16.	Hazırlık rejimi olarak Protokol 26 kullanılan aile içi donörlerden HKHT uygulanmış olan 17 yaşından küçük toplam 33 sınıf 3 risk grubu talasemi hastasında HKHT sonrası genel yaşam, talasemisiz-yaşam ve graft rejeksiyonu oranları.....	90

Şekil 17. Dünyada yıllara göre talasemi nedeniyle nakil olan hastaların Dağılımı	92
Şekil 18. Çalışmaya dahil edilen hastalarda Graft Versus Host hastalığının sistem tutulumlarına göre dağılımı.....	110
Şekil 19. Alfa gen mutasyonu saptanan hastalarda Alfa Globin Strip Testi	111



KISALTMALAR

Hb	: Hemoglobin
HKHN	: Hematopoetik kök hücre nakli
HSOS	: Hepatik sinüzoidal obstrüksiyon sendromu
GVHH	: Graft versus host hastalığı
KİT	: Kemik iliği transplantasyonu
DFP	: Defepiron
DFX	: Deferasiroks
DFO	: Desferal
LCR	: Lokus kontrol bölgesi
NTDT	: Transfüzyona bağımlı olmayan talasemi
GDF	: Growth differentiation factor
MCV	: Ortalama eritrosit hacmi
MCH	: Ortalama eritrosit hemoglobini
PCR	: Polimeraz zincir reaksiyonu
ASO	: Allel Spesifik Oligonükleotid Hibridizasyon
ARMS	: Amplifikasyon Refrakter Mutasyon Sistemi
MLPA	: Multiple Ligation Probe Analysis
QMPSF	: Quantitative Multiplex PCR of Short Fragments
MCA	: Melting Curve Analysis
DGGE	: Gradient Jel Elektroforezi
DHPLC	: Denatüre edici Yüksek Performanslı Likid Kromatografi
SQUID	: Superconducting Quantum Interference Device
Sc	: subkutan
HR	: Hazırlık Rejimi
KHK	: Kök Hücre Kaynağı
CMV	: Sitomegalovirüs
STR	: short tandem repeats
VNTR	: variable number of tandem repeats
DLI	: Donör Lökosit İnfüzyonu
APC	: Antijen sunucu hücreler
Mi-Hag	: Minor Histocompatibility Antigens
LPS	: Lipopolisakkarid

NO	: Nitrik oksit
ECP	: Ekstrakorporeal foto-immünoterapi
GIS	: Gastrointestinal sistem
HS	: Hemorajik sistit
MNH	: Mononükleer hücre
CCI	: Düzeltilmiş sayı artışı
TBI	: Tüm vücut ışınlaması
CY	: Siklofosamid
BU	: Busulfan
MTX	: Metotreksat
CsA	: Siklosporin
Kİ	: Kemik iliği
PKH	: Periferik kök hücre
KK	: Kordon kanı

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Talasemiler, otozomal resesif geçiş gösteren, hemoglobin (Hb) zincirlerinden biri veya birkaçının hasarlı sentezi sonucu gelişen, hipokrom mikrositer anemi ile karakterize heterojen bir grup hastalıktır. Talasemi, α , β , γ , δ olarak tanımlanan Hb zincirinin veya zincirlerinin az sayıda veya hiç yapılamaması ile oluşur. Bu tanımlamaya göre, alfa zincir yapımı azlığı alfa talasemiye, beta zincir yapım azlığı beta talasemiye neden olmaktadır. Beta zincir yapımı hiç yoksa β^0 , beta zincir yapımı az da olsa yapılıyorsa β^+ talasemi adı verilmektedir. Dünya nüfusunun %3'ü beta talasemi taşıyıcısı, Güneybatı Asya'da nüfusun %5-10'u alfa talasemi taşıyıcısıdır. Ülkemizde Çukurova, Akdeniz kıyı şeridi, Ege ve Marmara bölgelerinde talasemi taşıyıcılığı çok sık görülmektedir. Türkiye'de yaklaşık 1.300.000 beta talasemi taşıyıcı ve 4000 civarında beta talasemi hastası vardır(1).

Beta talasemi klinik olarak sessiz taşıyıcı, talasemi minör (taşıyıcı), talasemi intermedia, talasemi majör olarak sınıflandırılmaktadır (1). Talasemi sendromları değişken derecede inefektif hematopoez ve artmış hemoliz ile karakterizedir. Bu sendromlar globulin zincirlerindeki alfa ve beta gen mutasyon sayısına göre değişik klinik bulgular vermektedir (2). Klinik bulguların ağırlığı (fenotip) ile beta talasemide görülen mutasyonlar (genotip) arasındaki ilişkiye "genotip-fenotip korelasyonu" adı verilir. Bu bağlantılar bir hastalığın patofizyolojisinin açıklanmasında çok önemli rol oynar (3) . Klinik tabloyu etkileyen genetik faktörler primer modifiye edici faktörler, sekonder modifiye edici faktörler ve tersiyer modifiye edici faktörler olarak 3 ana grupta incelenmektedir (4). Primer modifiye edici faktörler beta talasemi gen bölgesinde bulunan genlerdeki mutasyonlardır. Beta genindeki bazı mutasyonlarda globin zinciri sentezi tamamen durmaktadır ve β^0 talasemi olarak adlandırılan bu tip talasemilerde klinik tablo, hemoglobin sentezinin kısmen yapılabildiği β^+ veya β^{++} talasemilere göre daha ağırdır. Sekonder modifiye edici faktörler ise diğer globin zincirlerini kodlayan genlerdeki defektlerdir. Talasemide eritrosit yıkımına neden olan en önemli patolojik olay eritositlerin içinde alfa globin zincirlerinin yığılmasıdır. Bu nedenle alfa gen delesyonlarında alfa globin sentezi azalacağı için klinik tablo hafifler. Alfa gen delesyonunun bulunduğu, α^-/α^+ , α^-/α^- , α^-/α^- , α^-/α^- genotipleri beta

talasemi ile bulunduklarında klinik tabloyu hafifletir. Triplikasyon veya quadriplikasyonlar ($\alpha\alpha\alpha$, $\alpha\alpha\alpha\alpha$) ise klinik tabloyu ağırlaştırır. HbF' nin yüksekliği klinik tabloyu hafifleten bir diğer nedendir. Beta ve δ genlerinin total delesyonunda HbF yüksekliği vardır ve klinik tablo daha hafiftir. Tersiyer modifiye edici faktörler ise talaseminin komplikasyonları ile ilgili çeşitli gen ve gen gruplarındaki DNA düzeyindeki değişiklikler (polimorfizm ve mutasyonlar) fenotipik bulguları etkiler (5). Talasemi majorlu bireyler genellikle yaşamın ilk iki yılında düzenli eritrosit transfüzyonuna ihtiyaç duyarlar. Talasemi majörün klinik bulguları 6 ile 24 ay arasında ortaya çıkar. Etkilenen bebeklerde gelişme geriliği ve giderek artan solukluk şikayeti olur. Beslenme sorunları, ishal, irritabilite ile dalak ve karaciğer büyümesine bağlı batın distansiyonu oluşur. Talasemi majörde büyüme geriliği, solukluk, sarılık, kas güçsüzlüğü, genu valgum, hepatosplenomegali, bacak ülserleri, ekstramedüller hematopoeze bağlı kitle oluşumu ve kemik iliğinin genişlemesinden kaynaklanan iskelet değişiklikleri görülür. İskelet değişikliklerinde uzun kemiklerdeki deformitenin yanında tipik kraniyofasiyal görünüm (frontal öne çıkıklık, malar belirginleşme, deride kahverengi pigmentasyon, burun kökünde basıklık, mongoloid göz görünümü, maksiller hipertrofiye bağlı üst dişlerde düzensizlik) dikkati çeker (6). Talasemi majörün tedavisinde eritrosit transfüzyonu, demir şelasyonu, splenektomi, komplikasyonların izlemi mevcuttur. Talasemi majörlü hastalarda hipertransfüzyon tedavisi önerilmektedir. Hipertransfüzyon tedavisinde; transfüzyon öncesi hastanın hemoglobin düzeyinin 9-10 g/dl'nin altına indirilmeden, ortalama 12 g/dl civarında tutulması ve mümkün olduğu kadar genç eritrosit (7 günden kısa) verilmesi önerilmektedir (1). Şelasyon tedavisi, tipik olarak, 2 yaşından küçük çocuklarda kullanılmaz ve genellikle 1-2 yıl düzenli transfüzyondan sonra başlatılır. Kronik transfüzyon alan hastalarda şelasyon tedavisinin endikasyonları; 120 ml/kg veya daha fazla kümülatif transfüzyon yükü olması, serum ferritin seviyesi sürekli olarak 1000 ng/ml den yüksek seyretmesi, karaciğer demir konsantrasyonunun 5-7 mg/g kuru ağırlığından yüksek olmasıdır (2). Splenektomi ise geç hemolitik transfüzyon reaksiyonu yokken ve eritrosit süspansiyonu kalitesi yeterliyken, transfüzyon öncesi hemoglobin değerini 9-9.5 g/dl arasında sürdürmek için gerekli yıllık kan tüketimi 250 ml/kg eritrosit süspansiyonu üzerinde olan ve hipersplenizm bulguları olan hastalarda önerilmektedir. Talasemi majörde sık transfüzyon ve

buna bağılı oluşan demir birikimi, splenektomi, anemi, nutrisyonel yetersizlikler nedeniyle kardiyak, hepatik, endokrin ve enfeksiyöz komplikasyonlar gelişmektedir (1). Düzenli transfüzyon programı uygulanarak en düşük hemoglobin seviyesi 9,9-10,5 gr/dL arasında tutulan olgular 10-12 yaşlarına kadar normal büyüme gösterirler. Bu dönemden sonra şelasyona uyum düzeyine göre demir yüküne ikincil önemli komplikasyonlarla karşı karşıya kalırlar. Düzenli transfüzyon programı uygulanan olgular 10-11 yaşlarına kadar sorunsuz seyreder. Daha sonraki dönemde pubertal büyüme atağının gerçekleşmemesi ve seksüel matürasyonda gecikme saptanır. şelasyon uyumu iyi olan olgular bu dönemde normal pubertal gelişim ve büyüme gösterirler. Yaş ilerledikçe şelat rlere ait yan etkiler kendine göstermeye başlar (7). Bu nedenle günümüzde talasemi majörün kesin tedavisi hematopoetik kök hücre nakli ile mümkündür. En iyi sonuçlar hastalığın erken döneminde yani henüz talaseminin ve onun konvansiyonel tedavisinin organ hasarı yapmadığı hastalarda alınmaktadır. Bu nedenle HLA uyumlu vericisi olan talasemi majörlü hastalara kök hücre nakli mümkün olduğu kadar erken dönemde uygulanmalıdır (1).

Hematopoetik kök hücre nakli (HKHN) uygulaması sırası ve sonrasında yaşamı tehdit edici komplikasyonlar gelişebilir. Graft reddi, hepatik sinüzoidal obstrüksiyon sendromu (HSOS), graft versus host hastalığı (GVHH), hemorajik sistit, engrafman sendromu, nakile bağılı trombotik mikroanjyopati, diffüz alveolar hemoraji ve idiyopatik pnömoni sendromu bu komplikasyonlar arasında sayılabilir. Ayrıca, infeksiyonlar diğer önemli bir sorundur. Hastalar nakil öncesi ve sonrası hem profilaksi, hem de tedavi amaçlı bakteriyel, viral ve mantar kökenli infeksiyonlara karşı yoğun antiinfektif ajanlar kullanırlar. Bunların dışında mukozit, bulantı-kusma, sıvı-elektrolit dengesizliği veya beslenme bozuklukları gibi çoğunlukla destek ve bakımı ilgilendiren, kalıcı olmayan ve mortalite olasılığı düşük komplikasyonlar da naklin erken dönemlerinde karşımıza çıkabilir. Komplikasyonların gelişiminde hem kullanılan hazırlık rejimlerinin, hem de immünsupresif ajanların büyük rolü bulunmaktadır (8).

Bu  alışmada, Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Kemik İliği  nitesi'nde beta talasemi majör tanısı ile kök hücre nakli yapılan hastalarda alfa gen mutasyonlarının kök hücre nakli sonrasında gelişen komplikasyonlar üzerine olan etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Talasemi Tarihçesi

1889 yılında Von Jaksch orijinal çalışmasında, anemi, splenomegali ve lökositozu olan bir erkek çocuğunu “anemia infantum pseudoleucamia” olarak tanımladı, bunun lösemi olmadığı tespit edildi ve “Von Jaksch Anemisi” olarak tanımlandı. 1925 yılında Thomas B. Cooley (1871-1945) tarafından “Cooley Anemisi” olarak tanımlandı. 1932 yılında Whipple ve Bardford yayınlarında ilk kez “Talasemi” terimini kullandılar. Eski Yunanca Thalassa: Deniz, anlamında olduğu için “Thalassanemia: Deniz anemisi” olarak tanımlandı. 1938 yılında Caminopetros talaseminin Mendelian genetik geçişini tanımladı. 1945 yılında Silvestroni ve Bianco İtalya’da “constitutional microcytic anemia” olarak talasemiye tanımladı. 1946 yılında Vezzoso İtalya’da talasemi dağılımının “Sıtma Hastalığı” dağılımı ile aynı olduğunu yayınladı. 1949 yılında Chini ve Valeri kafa kemiklerinde kemik değişiklikleri olan ilk insanların Sicilya’da, Sardinya’da, Amerika’nın ilk yerlilerinde, Peru’nun İnkaları’nda, Kolombiya yerlilerinde, Meksika Aztekleri’nde, Yucatan’da Maya yerlilerinde ve birçok yerlerde olduğunu yayınladı. 1950 yılında Neel ve Itano hemoglobin elektroforezinde anormal hemoglobinleri tanımladı. 1956 yılında Chernof ve arkadaşları Hb E + beta talasemiye yayınladı. 1950-1960 yılları arasında Aksoy, Minich, Vella, Whetherall, Chernoff, Lie-Injo, Chatterjia ve Vong değişik ülkelerden talasemiye tanımladı ve yayınladı. 1960-1980 yılları arasında alfa, beta, gama ve delta globinlerin farklı genlerde olduğu yayınlandı. Talasemilerin genetik heterojenitesi olduğu saptandı. 1960 yıllarında Wolman tarafından talasemide transfüzyon rejimleri yayınlandı. 1960’larda Ciba tarafından “Desferrioxamine” elde edildi, ilk kullanımı 1970’li yıllarda başladı. 1980’li yıllardan sonra talaseminin moleküler patolojisi ile ilgili çalışmalar yayınlandı. 1980’li yıllarda Edward Thomas tarafından ilk transplantasyon, ABD’de Seattle şehrinde gerçekleştirildi (9). Hiç transfüze edilmemiş, 14 aylık bir erkek hasta olan bu olguya HLA tam uygun kız kardeşinden allojenik kemik iliği transplantasyonu (KİT) uygulanarak hastalıksız ve uzun bir sürvi sağlandı. İlk transplanttan iki hafta sonra Pesaro da 14 yaşında ve 150 kez transfüzyon almış hastaya

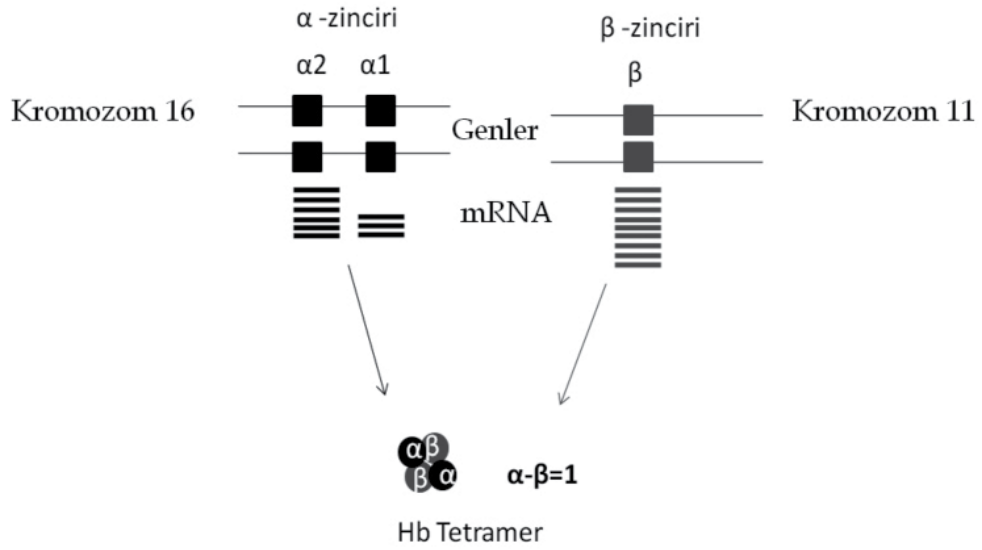
yapılan kemik iliği transplantasyonu ise graft rejeksiyonu ve talasemik rekonstitüsyon ile sonuçlanmıştır. İlk seri çalışmalar da Lucarelli ve arkadaşları tarafından Pesaro, İtalya'dan yayınlanmıştır. Lucarelli ve arkadaşları talasemi'de dünyada en çok kök hücre transplantasyonu yapan gruptur. Bu tecrübelerin ışığında bugüne kadar Pesaro da 1000 den fazla beta talasemi hastasına kök hücre transplantasyonu yapılmış ve başarılı sonuçlar bildirilmiştir (10). 1990'lı yıllarda oral şelatör (L1; deferipron [DFP]) ve 2000'li yıllarda oral şelatör ICL670 (deferasiroks [DFX]) gündeme geldi (9). 1990'lı yıllarda gen tedavisi için ilk klinik çalışmalar Fransa'da başladı. İlk hastada gen tedavisinin başarısızlıkla sonuçlanmasından sonra 2007 yılında HbE/β0 talasemili transfüzyona bağımlı ve HLA uyumlu verici bulunamayan 18 yaşındaki bir olguda yapılan uygulama başarılı oldu. Aynı merkezde, Kasım 2012'de ikinci hastaya gen tedavisi başarı ile uygulanmıştır ancak detaylar henüz yayınlanmamıştır (11).

Türkiye'de talaseminin 70 yıllık bir geçmişi vardır. Türkiye'de β-talasemi majörlü ilk hasta 1941'de bildirilmiştir. 1958'de Aksoy ve arkadaşları tarafından talasemi ile ilgili ilk klinik ve hematolojik çalışmalar yayınlanmıştır. 1971'de Çavdar ve Arcasoy, β-talasemi insidansının %2.1 olduğunu bildirmişlerdir. 1983'te Beksaç ve arkadaşları hemoglobinopatilerin tanımlanmasına yönelik ilk doğum öncesi tanı yöntemlerini uygulamışlardır. 1987'de Akar ve arkadaşları Türk toplumunda en sık görülen talasemi allelinin IVS-I-110 (G>A; HBB: c.93-21G>A) mutasyonu olduğunu göstermiştir. Canatan ve Arcasoy, ilk kök hücre transplantasyonunun talasemili bir hastada Özerkan tarafından yapıldığını bildirmiştir. 1992'de Başak ve arkadaşları, Türk toplumunda meydana gelen β-talasemi mutasyonlarının dağılımını bildirdi. En sık görülen altı mutasyon, IVS-I-110, IVS-I-6 (T> C; HBB: c.92 + 6T> C), çerçeve kaydırma kodonu (FSC) 8 (-AA; HBB: c.25_26delAA), IVS-I-1 (G>A; HBB: c.92 + 1G> A), -30 (T> A; HBB: c-80T> A) ve FSC 5 (-CT; HBB: c.17_18delCT) dir. Bu mutasyonlar toplam mutasyonların yalnızca %70'ini oluşturmaktadır. 2002'de Altay anormal HbS ve β-talasemi için tarama çalışmalarını yayınlamıştır. Bu çalışmalar en yaygın anormal mutasyonun Hb S (HBB: c.20A> T) ve bunu takiben Hb D-Pencab (HBB: c.364G> C), Hb E (HBB: c.79G> A) ve HbO -Arab (HBB: c.364G> A) olduğunu göstermiştir. Buna ek olarak, Türk toplumunda başka

42 anormal hemoglobin tespit edilmiştir. 2004'te Kahraman ve arkadaşları tarafından Türkiye'de HLA tiplmesi ile birlikte preimplantasyon genetik tanı uygulamıştır (12). Sağlık Bakanlığı verilerine göre, 31 ilde 47 merkez kurularak, 2003 yılında evlenen çiftlerin %30'u taranır iken, 2010 yılında yüzde 85'i taranmış, yeni hasta çocuk doğum sayısı 2002 yılında 272 iken, 2010 yılında 25'e düşmüştür. Türkiye'de şu anda yaklaşık 5500 kayıtlı hasta vardır. Son on yılda yapılan önleme programları ile hemoglobinopatili hasta bebek doğumu yüzde doksan azalmıştır (12).

2.2. Hemoglobin ve Globinin Yapısal Özellikleri

Oksijen, akciğerlerden dokulara, eritrositlerde bulunan ve protein yapısında bir molekül olan hemoglobin ile taşınır (13). İnsan hemoglobini (Hb) heme ve polipeptid yapıdaki globin zincirlerinden oluşmaktadır. Hemoglobin molekülü 4 globin zincirinden oluşan bir tetramerdir ve her bir globine bir heme eşlik etmektedir. Heme'nin yapısında bulunan ferröz (Fe^{+2}) demir atomları oksijene (O_2) bağlanır ve transportunda görev alır. Heme'nin yapısındaki ferröz iyonu histidinin N ucuna bağlıdır. Porphirin halkası ise bulunduğu cebe, yapısındaki fenilalanin aracılığı ile oturur. Her heme grubunda oksijen ferröz demire geri dönüşümlü olarak bağlanır (11). Her bir hemoglobin molekülü, iki çift özdeş alt birim, globin zinciri tarafından oluşturulur (Şekil 1(14)) . Bu zincirlerin isimleri Yunan alfabesinin harfleriyle isimlendirilir ve iki gruba aittir: ζ - ve α -globin zincirlerini içeren α -globin kümesi ve globin zincirlerini ϵ , γ , β ve δ içeren β -globin kümesidir.

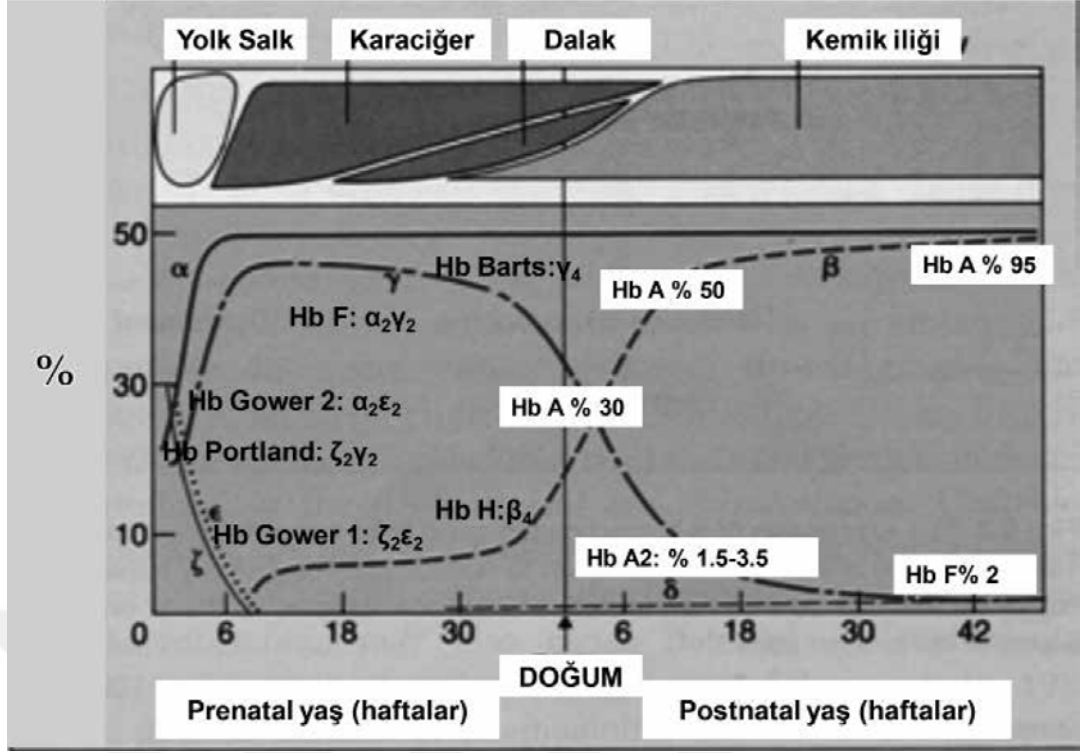


Şekil 1. Hemoglobinin yapısı

Globin zincirleri ontogenez sırasında sırayla ortaya çıkar ve aşağıdaki dört ana hemoglobin türünü oluştururlar:

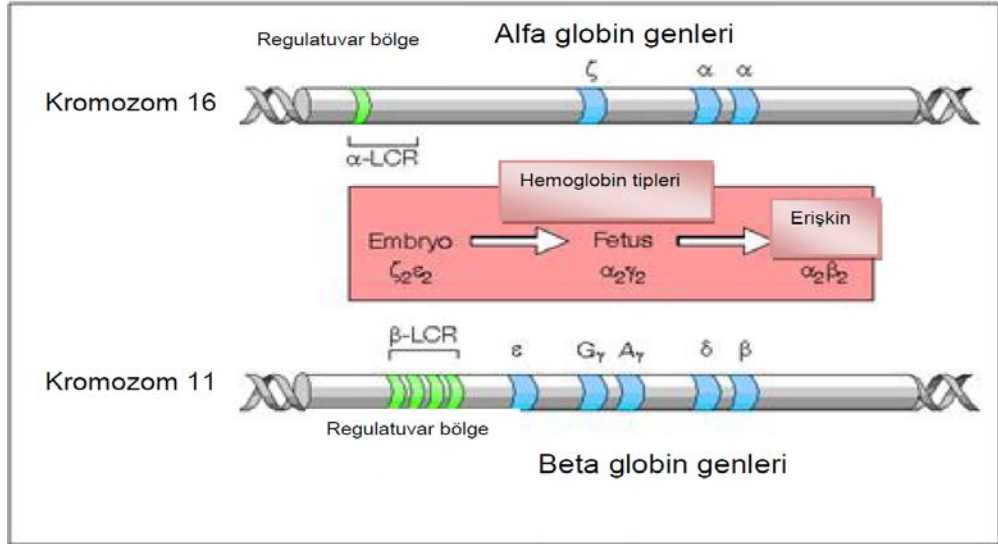
1. 3.gestasyonel haftadan 10.gestasyonel haftaya kadar saptanabilen "embriyonik" hemoglobinler: $\zeta 2\epsilon 2$ (Hb Gower 1), $\alpha 2\epsilon 2$ (Hb Gower 2), $\zeta 2\gamma 2$ (Hb Portland1) ve $\zeta 2\beta 2$ tetramers (Hb Portland 2)
2. Gebelik sırasında baskın oksijen taşıyan hemoglobini oluşturan "Fetal hemoglobin": $\alpha 2\gamma 2$ (HbF)
3. "Yetişkin hemoglobin": $\alpha 2\beta 2$ (HbA), doğumdan kısa süre sonra HbF'yi değiştirir.
4. Erişkinlerde az miktarda bulunan $\alpha 2\delta 2$ (HbA2)

İnsan hayatının belirli bir döneminde üretilen ve durdurulan farklı hemoglobin türleri "hemoglobin değişimi" olarak bilinir (Şekil 1) (14). Normal koşullarda yetişkinlerde yaklaşık % 97-98 oranında HbA, %2.5-3.5 HbA2 ve <%1 HbF bulunur (13).



Şekil 2. Embriyonik, fetal ve erişkin eritroid gelişiminin çeşitli evrelerinde globin sentezi.

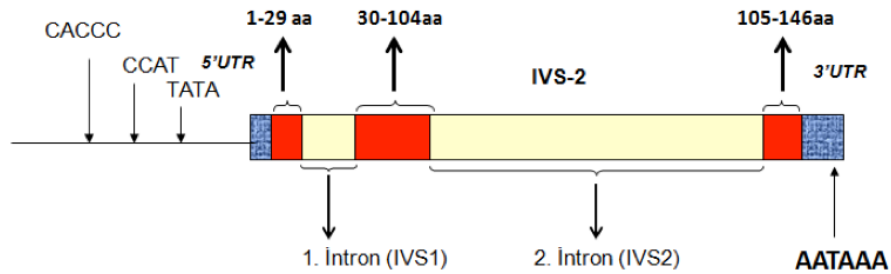
Alfa globin zincirleri N-terminal bölgedeki metiyonini saymazsak 141 aminoasitten ve β globin zincirleri (ya da β -benzeri= β , γ , δ) N-terminal bölgedeki metiyonini saymazsak 146 aminoasitten oluşmaktadır. Bu globin dimerleri biraraya gelir ve $\alpha_1\beta_2$, $\alpha_1\beta_1$ bağlantı noktalarında hemoglobini stabilize eder. Bu noktalar ya da çevresindeki herhangi bir anormallik hemoglobin molekülünün stabilitesini bozar (15). Beta ve benzer genleri (ϵ , γ , δ ve β) 11. kromozomun kısa kolu üzerindeki p15.4 bölgesinde (16), alfa ve benzer genleri (ζ ve α) ise 16. kromozomun kısa kolunun p13.3 bölgesinde bulunmaktadır (17). (Şekil 2) (18). Bütün globin genleri bazı ortak yapısal özelliklere sahiptir. Üç kodlayıcı bölge (ekzon) ve aralarında iki kodlayıcı olmayan bölgeden (intron) oluşur. İntron-ekzon kavşakları bu bölgelerde gelişen mutasyonlar talasemi sendromlarına yol açabilmesi nedeniyle önemlidir (15).



Şekil 3. Embryonik, fœtal ve erişkin globin ve buna bağlı Hb tipindeki ontogeni

2.3. Beta Globulin Geni ve Mutasyonları

Beta globulin geni 11.kromozomun kısa kolunda bulunur. Gen 1.6 Kb uzunluğundadır ve 149 amino asitten oluşan bir protein kodlar. Birinci ekzon 1'den 29'a kadar olan amino asitleri, ikinci ekzon 30'dan 104'e kadar olan amino asitleri, üçüncü ekzon 105'den 149'a kadar olan amino asitleri kodlar (Şekil 4). Gen içinde 800 kadar değişiklik tarif edilmiştir. Bunlarda 200 kadarı talasemi tablosuna neden olan mutasyonlardır. Mutasyonların çoğu nokta mutasyonları olup nadiren delesyonlar ve insersiyonlar da görülebilir. 5' promotor bölgede TATA, CAAT ve duplike olmuş CACCC dizileri bulunur. Ayrıca β globin geninden 50Kb uzakta, β gen bölgesinin önünde, 4 (HS-1, HS-2, HS-3, HS-4) eritroid seriye özğün DNA az lara duyarlı lokus kontrol bölgesi (LCR) bulunur. Bu bölge β ve β benzeri genlerin ekspresyonunu düzenler (3).



Şekil 4. Beta globulin geni

β ve β benzeri genlerin herbiri sırasıyla embriyonal yaşımdan erişkin yaşama kadar soldan sağa doğru eksprese olur. Embriyonal ve fetal yaşamda eksprese olan, beta gen bölgesindeki epsilon geni erişkinde inaktiftir. Gama geni çok az eksprese olur. Beta globin ekspresyonunu etkileyen nokta mutasyonları üç farklı grupta toplanır: Transkripsiyonu bozanlar (promotor ve 3'UTR mutasyonları), mRNA işlenmesini bozanlar (kırılma bölgesi (splicing) mutasyonları), poliadenilasyon bölgesi mutasyonları ve diğerleri), mRNA translasyonunu bozanlar (stop kodon oluşturanlar, çerçeve kayması mutasyonları, başlatıcı kodon mutasyonları). Bazı mutasyonlarda (başlatıcı kodon mutasyonları, kırılma bölgesi mutasyonları gibi) protein zinciri sentezi hiç yoktur. Bazılarında ise değişik düzeylerde protein zinciri sentezlenir. Protein zinciri sentezindeki etkilerine göre mutasyonlar hafif, orta ve ağır olmak üzere sınıflandırılır. Promotor bölge mutasyonları ve 3'UTR mutasyonları genellikle hafif veya orta mutasyonlardır. β ve β benzeri genlerin olduğu bölgede büyük delesyonlar tipinde mutasyonlar nadirdir. Ayrıca β talaseminin sık olduğu toplumlarda, nadir de olsa, β geni ve delta genini içine alan (delta-beta0-talasemi) delesyon, beta geni, delta, A ve G gama genlerini içine alan (G-gamaA-gamadeltabeta0-talasemi) delesyonu ve LCR bölgesi delesyonları görülebilir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda β geninde yeni delesyon mutasyonları tarif edilmektedir (3).

2.4. Alfa Globulin Geni ve Mutasyonları

Hemoglobin molekülünün yapısında yer alan alfa globin zincirlerinin sentezinden sorumlu olan alfa globin gen kümesi 16 numaralı (16p 13.3) kromozomun kısa kolu üzerinde yer alan subtelomerik bölgede bulunan 4 fonksiyonel genden oluşur: HBZ, HBA2, HBA1 ve HBQ1. Bu genler HS-40 düzenleyici bölgesinin kontrolü altındadırlar. Homolog kromozomların her birinde ikişer tane olmak üzere toplam dört tane alfa globin geni vardır ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$). Aynı kromozom üzerindeki alfa genlerine 5'-3' doğrultusunda, $\alpha 2$ ve $\alpha 1$ isimleri verilir. Bu genler yapısal olarak birbirinin kopyasıdır (duplikasyon). Bu genler üzerinde meydana gelen değişiklikler (mutasyonlar) sonucu alfa

globin zinciri sentezi azalmakta veya tamamen yok olmaktadır (Şekil 5 (19)). Bugüne kadar 500'den fazla α globin geni mutasyonu bildirilmiştir (14). Bu mutasyonlar 3 ana grupta toplanır:

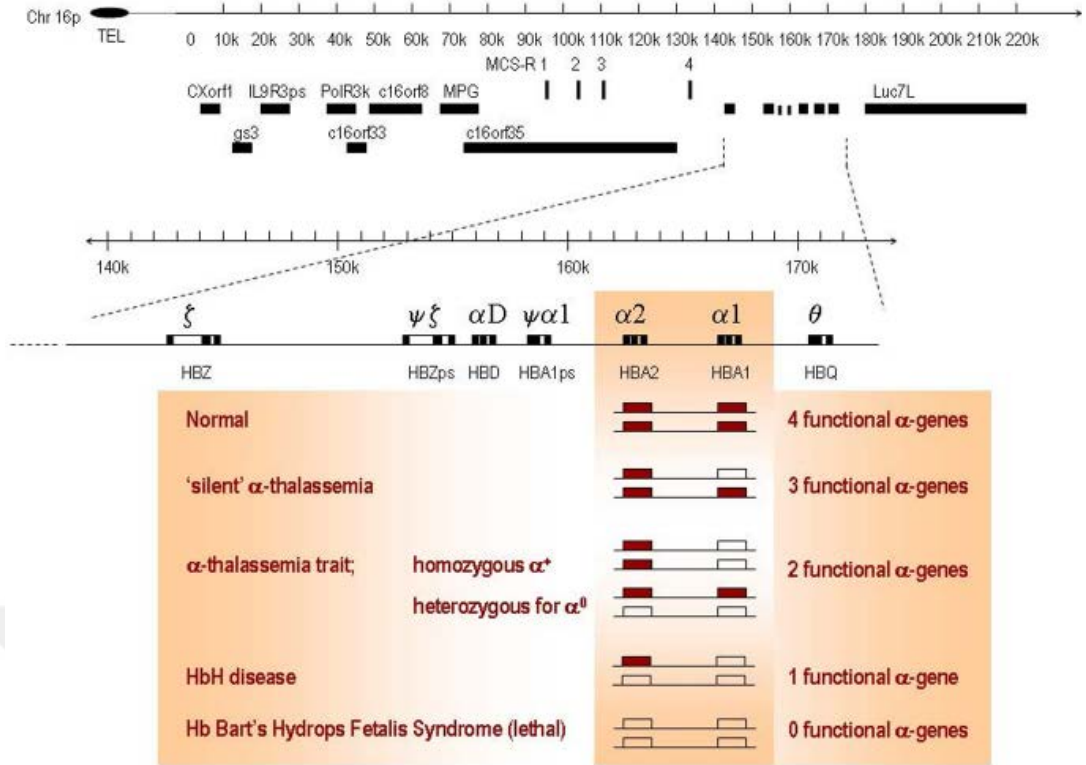
1. Delesyonlar: Alfa talasemide en sık rastlanılan hastalık sebebidir. Delesyonların genişliği önemlidir ve klinik fenotipi etkilemektedir.

2. Nokta mutasyonları: Beta talasemide siktir, alfa talasemide nadirdir.

3. Düzenleyici elementlerde nadir delesyonlar

Her bir haploid gen üzerinde 2 alfa globin gen kopyası vardır (alfa1 ve alfa2). Alfa 2 geni alfa 1 geninden 2-3 kat fazla alfa globin zinciri oluşturur. Alfa talasemi sendromlarında etkilenen alfa globin genine ve miktarına göre alfa zincir yapımı azalır ve bu azalmanın miktarına göre de klinik tablo değişir.

Bir mutasyon bir kromozomdan ekspresyonu tamamen ortadan kaldırıyorsa alfa0 talasemi, kısmi olarak ekspresyonu azaltıyorsa alfa+ talasemi olarak adlandırılır. Alfa globulin genindeki bir gen delesyonu sessiz taşıyıcı, 2 gen delesyonu taşıyıcı, 3 gen delesyonu Hb H, 4 gen delesyonu Hb Barts Hidrops fetalis olarak değerlendirilir. Geniş delesyonlar, delesyonel olmayan (non-delesyonel) mutasyonlar, düzenleyici bölgede değişim, epigenetik genler ve unstabil mutasyonların hepsi fenotipin şiddetini artırıcı yönde etki göstermektedir. Bazı delesyonlar alfa+ talasemi'ye (-3.7 ve -4.2 gibi), bazıları alfa0 talasemi'ye (-20,5, MED, THAI, FIL gibi) neden olmaktadır. Non-delesyonel mutasyonlar ise alfa globin gen ekspresyonu için kritik olan bölgelerde tek nükleotid değişimleri veya oligonükleotid delesyonları/insersiyonlarına neden olmaktadır (14).



Şekil 5. Alfa globin geninde mutasyonlar

2.5. Talasemiler

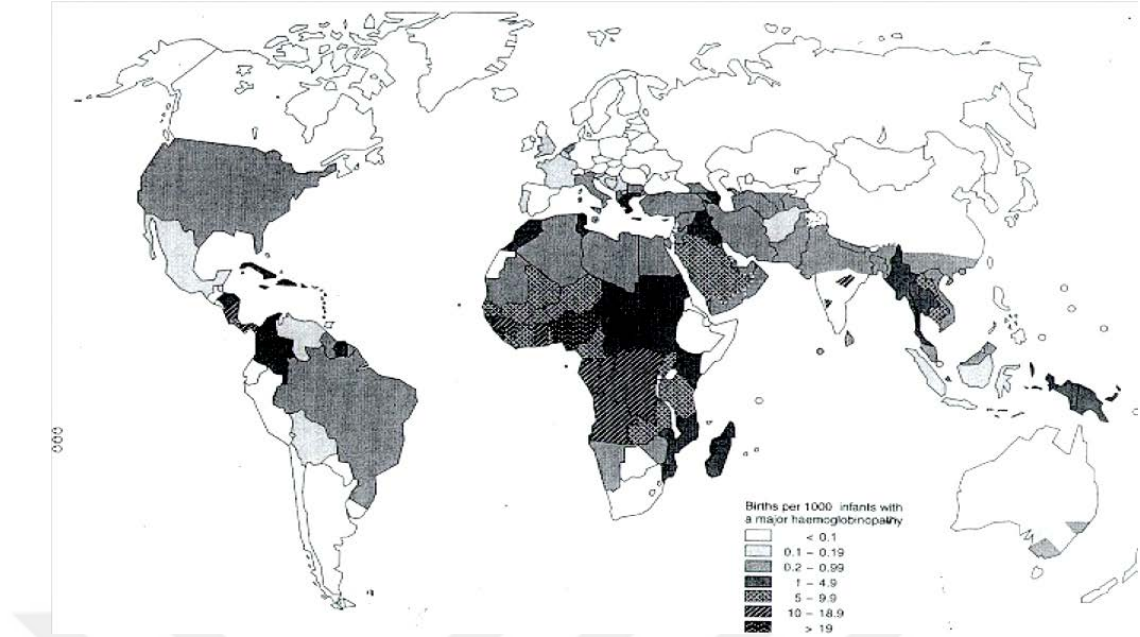
Hemoglobinopatiler kantitatif veya kalitatif olarak iki şekilde olabilir. Globin zincirinin yapısal bozuklukları yani kalitatif bozuklukları yapısal hemoglobin bozukluklarını (HbS vb) oluşturur. Yapısal hemoglobin bozukluklarından HbE'de zincirin yapısının bozulmasının yanı sıra, globin zincir sentezi de azaldığından hastalık tablosu talasemilere benzer. Yapısal hemoglobinopatilerin bazıları hemolitik anemi tablosu dışında, oksijene affiniteyi artırarak dokuda hipoksi, polisitemi ve siyanoz tablosuna neden olur. Globin zincirlerinden birinin az sentezlenmesi veya hiç yapılamaması yani kantitatif yetersizliği talasemiler (α ve β talasemi) olarak adlandırılır (3).

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

zincir yapımı hiç yoksa β^0 , beta zincir yapımı az da olsa yapılıyorsa β^+ talasemi adı verilmektedir (1).

2.5.1. Talasemi Epidemiyolojisi

Hemoglobin bozuklukları dünyada 229 ülkenin %71'inde endemik olup, doğumların %89'unu etkilemekte olduğu için, tüm dünyada hastalığın önlenmesine yönelik yerel stratejiler geliştirilmektedir (20). Dünya nüfusunun en az %7'si anormal bir hemoglobin geni taşımakta (yaklaşık 270 milyon), her yıl 300.000-400.000 çocuk anlamlı hemoglobin bozukluğu tanısıyla doğmaktadır. Hastaların yaklaşık %90'ı düşük ya da orta gelir düzeyi olan ülkelerde doğan çocuklardır. Doğumların %70'ini orak hücre hastalığı, kalanları da talasemi sendromları oluşturur (21). Orak hücre hastalığı tanısı alan doğumların %70'i Afrika'da görülür. Dünya nüfusunun en az %2'si alfa talasemi taşıyıcısıdır. Dünyada çiftlerin yaklaşık %1,1'inde hemoglobin bozukluğu olan çocuğa sahip olma riski vardır. Yılda 400.000'lere ulaşan doğumların 275.000'i orak hücre hastalığına sahip olup, erken tanı ve profilaksiye ihtiyaç duyar. En az 30.000'i düzenli transfüzyon gerektiren yaklaşık 70.000 beta talasemi, 5000 kadarı perinatal ölüme neden olan alfa talasemilidir. Doğumların %75'i hemoglobin bozukluklarının endemik olduğu bölgelerde görülür. Yılda 9 milyon taşıyıcı kadın gebe kalmaktadır. Taşıyıcıların eşlerinde taşıyıcılık riski %0,1-40 (ortalama %14) arasında değişmektedir. Yılda en az 948.000 yeni taşıyıcı çift belirlenmektedir. Yılda 1,33 milyon riskli gebelik vardır ve tümüne prenatal tanı uygulanmalıdır. Doğan çocukların yaklaşık %12'si transfüzyona bağımlı talasemi major tanısı almakta, bunların yalnızca %40'ına uygun demir şelasyon tedavisi verilebilmektedir. Orak hücre anemisi bozukluklarına ilişkin karşılaştırılabilir veri ise yoktur (Şekil 6 (22)).



Şekil 6. Dünyada hemoglobin bozukluklarının dağılımı

Beta talasemi prevalansı Akdeniz ülkeleri, Orta Doğu, Asya, Güneydoğu Çin, Uzak Doğu ülkeleri yanı sıra Kuzey Afrika kıyıları ve Güney Amerika'da yüksektir. En yüksek taşıyıcı sıklığı Kıbrıs (%14), Sardunya (%10,3) ve Güneydoğu Asya'da rapor edilmiştir. Tüm dünya nüfusunun %1,5'i dolayında (80-90 milyon kişi) beta talasemi taşıyıcılığı olduğu tahmin edilmektedir. Çoğu gelişmekte olan ülkelerde olmak üzere, her yıl yaklaşık 60.000 semptomatik talasemili doğum olmaktadır. Yıllık total semptomatik birey insidansının dünyada 100.000'de 1, Avrupa Bölgesinde 10.000'de 1 olduğu düşünülmektedir. Birçok bölge nüfusunda taşıyıcı oranlarına ilişkin doğru veri yoktur. Uluslararası Talasemi Federasyonu'na göre dünyada, hayatta olan 200.000 talasemili hastaya düzenli tedavi uygulanabilmektedir. Beta talaseminin anormal Hb veya yapısal bir Hb varyantıyla en çok görülen kombinasyonu HbE/beta talasemi'dir ve Güneydoğu Asya'da sıklığı yüksektir (taşıyıcılık sıklığı yaklaşık %50) (23). Alfa talasemi belki de dünyada en sık görülen tek gen hastalığıdır. Dünyada 270 milyon mutant globin gen taşıyıcısı olduğu tahmin edilmektedir. Her yıl 300.000-400.000 ağır hasta bebek doğmakta ve bunların %95'inden fazlası Asya, Hindistan veya Ortadoğu'dan bildirilmektedir. DNA analizi yapılmadan önce hastalar kord kanında hemoglobin Barts düzeyine göre belirlenmekteydi. Bu şekilde yenidoğan döneminde tek gen delesyonlu heterozigotların belirlenmesi mümkün

olmamaktadır. Bu nedenle farklı alfa talasemi tiplerinin sıklığına ilişkin güvenilir bir veri bulunmamaktadır. Alfa talasemi allel sıklığı Akdeniz bölgesinde %5-10, Batı Afrika'da %20-30, Suudi Arabistan, Hindistan, Tayland, Papua Yeni Gine ve Malezya'da %60-80 kadar çoktur. Nüfusu 62 milyon olan Tayland'da yaklaşık her yıl 7000 bebek HbH hastalığı tanısıyla doğmaktadır. Çinlilerde heterozigot taşıyıcılık sıklığı %5-15 olarak rapor edilmiştir. İngiltere, İzlanda ve Japonya'da ise alfa talasemi sıklığı %0,01'den az görülmektedir. Alfa talasemi sıklığı zencilerde de yüksektir. Amerika'lı zencilerde %15 sessiz taşıyıcı (tek alfa geni defektif), %3 ağır alfa talasemi taşıyıcısı (iki alfa geni defektif) olduğu tahmin edilmektedir. Güneydoğu Asya'da çok görülen hemoglobin Constant Spring (CS) nedeniyle HbH (ağır alfa taşıyıcı & HbCS; --/- α CS) fenotipi görülebilir (23). HbH hastalığında ağır anemi oranı artmazken, HbH Constant Spring (HCS) hayatı tehdit eden anemi riskinin yüksek olması nedeniyle farklı bir talasemi sendromu kliniğiyle seyretmektedir (24). Kuzey Amerika Talasemi Araştırma Ağı (TCRN) verilerine göre alfa talasemili hastaların %85'i Asya'lı, %4'ü beyaz, %11'i Afrika'lı, zenci ve karışık etnik kökenlidir. Hastaların %59'u HbH olup, tek bir alfa globin genine sahiptir (- α /--), %8'inde alfa globin geni bulunmaz (--/--), %33'ünde ise yapısal mutasyonlara bağlı gen delesyonları vardır (25). Ancak son 50 yılda hemoglobinopatilerin dağılımında giderek artan değişiklik olmuştur (7). Bu artışın birinci nedeni, endemik bölgeden göçler nedeniyle hemoglobinopatilerin tüm dünyada görülmeye başlamasıdır. İkinci neden çoğu göçmen nüfusunun genç olmasıdır. Bu nedenle bu riskli popülasyonda gebelik oranı artmaktadır. Üçüncü neden ise göç alan gelişmiş ülkelerde doğum oranının azalmasına karşın, bazı göçmen gruplarında hasta doğum prevalansının yüksekliğidir. Tüm bu özellikler nedeniyle hemoglobinopatiler farklı etnik yapı ve fenotip özellik gösteren heterojen grup bir hastalık olmakla birlikte, günümüzde tüm dünyada önemli bir halk sağlığı sorunu olmaya devam etmektedir (22) (Tablo 1 (26)). Son zamanlarda göçlerde değişiklik ve bunu izleyen artan talasemili doğum oranları, büyük olasılıkla talasemili Asyalı çocukların yüksek oranına bağlıdır. Nüfus sayımı verilerine göre, son 3 yılda Akdeniz bölgesinden göçte azalma, Asya'dan yapılan göçte ise %2000 artış olduğunu göstermektedir (27). Son zamanlarda Kuzey Amerika'daki ağır talasemili hastaların etnik köken, yaş dağılımı ve genotiplerinde de önemli

ölçüde değişiklik olmuştur. Kuzey Amerika ve Avrupa'da önceleri HbE-beta talasemi ve HbH hastalığı nadir görülürken, günümüzde birçok bölgede klasik talasemi majordan daha yaygın saptandığı belirtilmektedir (28). Kuzey Amerika göçmenlerinin dörtte üçü talasemi mutasyonlarının daha çok olduğu bölgelerden olmaktadır. Bu demografik değişikliklerle Kuzey Amerika'da hemoglobinopatiler önemli bir sağlık problemine yol açmıştır. Göçlerdeki değişiklikler, talasemi doğumlarında benzer eğilime yansımıştır. 1970'lerden bu yana, Kaliforniya'da beta talasemi majorlu yeni doğan doğumu artmaktadır. Yeni vakaların çoğu da Asya veya Orta Doğu'dan gelenlerdir. Alfa talasemi prevalansında artış ve morbiditesi nedeniyle Kaliforniya'da yeni doğan taramasında HbH ve HbH-constant spring yer almaktadır (29).

Tablo 1. Hemoglobin gen varyant taşıyıcılığının tahmini prevalansı ve etkilenen gebelikler

WHO	Demografi 2003				Taşıyıcı nüfus %			Etkilenen doğumlar (her 1000)			
	Nüfus (milyon)	Kaba doğum oranı	Yıllık doğum (1000)	5 yaş altı ölüm oranı	Anlamli varyant	α^+ talasemi	Diğer varyant	Orak hücre hastalığı	Talase-miler	Toplam	Hasta doğum (<5 yaş ölüm %)
Afrika	586	39,0	22,895	168	18,2	41,2	44,4	10,68	0,07	10,74	6,4
Amerika	853	19,5	16,609	27	3,0	4,8	7,5	0,49	0,06	0,54	2,0
Doğu Akdeniz	573	29,3	16,798	108	4,4	19,0	21,7	0,84	0,70	1,54	1,4
Avrupa	879	11,9	10,459	25	1,1	2,3	3,3	0,07	0,13	0,20	0,8
Güneydoğu Asya	1564	24,4	38,139	83	6,6	44,6	45,5	0,68	0,66	1,34	1,6
Batı Pasifik	1761	13,6	23,914	38	3,2	10,3	13,2	0,00	0,76	0,76	2,0
Dünya	6217	20,7	128,814	81	5,2	20,7	24,0	2,28	0,46	2,73	3,4

Anlamli varyantlar: HbS, HbC, HbE, HbD

α -talasemi: Heterozigot ve homozigot talasemiler

Diğer varyantlar: Beraberinde α ve β varyantları olması ve zararsız β varyant kombinasyonları

Orak hücre bozuklukları: SS, SC, S/ β talasemi

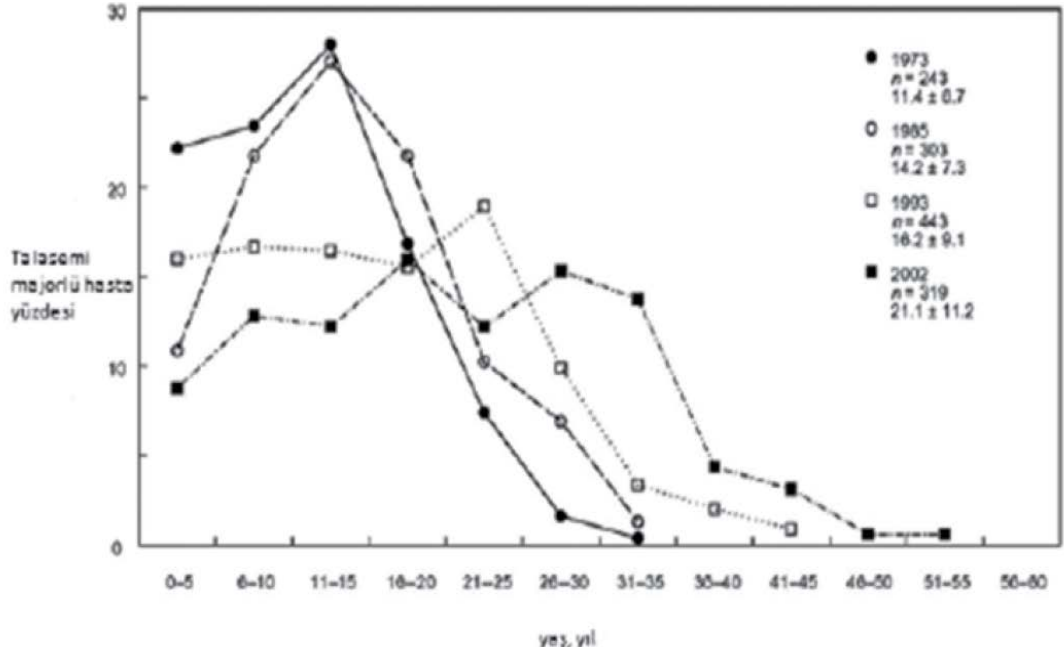
Talasemiler: Homozigot β talasemi, hemoglobin E/ β talasemi, homozigot α^0/α^+ talasemi (HbH hastalığı)

Gelecek 20 yılda klinik açıdan anlamli 900.000 dolayında talasemili doğum olacağı tahmin edilmektedir. Asya, Hindistan ve Ortadoğu bölgesi, dünyadaki talasemili bebek doğumlarının %95'ini oluşturmaktadır (Tablo 2) (28).

Tablo 2. Gelecek 20 yılda, yıllık E- β -talasemi ve β^0 -talasemi doğumları

Bölge	Yıllık E- β -talasemi, β^0 -talasemi doğumu
Güneydoğu Çin	400.000
Tayland, Hindistan, Sri Lanka, Malezya	400.000
Orta Doğu	100.000
Total	>900.000

Düzenli transfüzyon ve şelasyon tedavisiyle talasemili hastaların yaşamı uzamıştır. Akdeniz bölgelerinde etkili genetik danışmanlık programları, gelişmiş tedavi uygulamaları yanı sıra göçlerin azalması ile hastalar daha büyük yaşlara ulaşmaktadır. Yıllara göre talasemi major hastalarının yaş dağılımı incelendiğinde ortalama yaşı giderek arttığı görülmektedir (Şekil 7) (26). Özellikle son on yılda görülen büyük artış önemlidir. Son üç yılda 25 yıldan daha uzun süre yaşayan hastaların oranı önemli ölçüde artmıştır. 1973 yılında, nüfusun %2'si 25 yaşına ulaşırken, günümüzde %4 hastada 40 yıldan daha uzun süreli yaşam sağlanabilmektedir (28).



Şekil 7. Yıllara göre talasemi major hastalarının yaş dağılımı

Talasemi izlenmesi ve tedavisinde yeni gelişmeler doğrultusunda, bu hastalıkta yeterli bakımın tanımı yeniden belirlenmiştir. Önceleri genellikle bir çocuk hastalığı olarak kabul edilen talasemi, günümüzde 40 yıla yaklaşan bir ortalama yaşam süresi ile erişkinin kronik hastalığı haline gelmiştir (26).

Ülkemizde ise beta talasemi sıklığı, Arcasoy ve ekibi tarafından Anadolu genelinde %2,1 bulunur iken, Doğu Anadolu'da %0,6, Kahramanmaraş-Elbistan'da %0,9, Denizli'de %3,6, Antalya'da %2, Bursa'da %2,6, Muğla'da %3,8, Kıbrıs Türklerinde %14,3 sıklıkta bulunmuştur. Beta talasemi ile ülkemizde yapılan diğer çalışmalarda, Antakya'da 0,8-1,4, Batı Trakya'da %10,7, Van'da %2,6, Antalya'da 5,7-10,7, Çukurova'da %3, Mersin'de %1,7, Konya'da %3, Denizli'de %3,7, Kahramanmaraş'ta % 0,68, İzmir'de %2,1-3, Isparta'da %2,5, Gaziantep'te %1,8 bulunmuştur (Tablo 3) (30).

Tablo 3. Ülkemizde yapılmış olan beta talasemi çalışmaları

İl	Sıklık (%)	Yazarlar
Adana	3-13	Güvenç, Yüreğir,
Adıyaman	1,06	Genç
Antakya	0,8-1,4	Aksoy, Altay, Özsoylu,
Antalya	2-13,7	Aksoy, Bircan, Canatan
Bursa	2,6	Akar
Denizli	2,6-3,7	Keskin, Sözmen, Turan
Erzurum	0,68	Acemoğlu
Gaziantep	1,8	Gürbak
Isparta	2,5	Tunç
İzmir	2,1-4,9	Aydınok, İrken, Uysal
Kahramanmaraş	0,68-2,8	Canatan, Güler, Yüreğir,
Kayseri	2,1	Karakükçü
Konya	2-3	Güler, Turan
Mersin	1,7-2,4	Aksoy, Altay, Tosun,
Muğla	3,8	Arcasoy
Van	2,6	Aksoy
Batı Trakya	10,7	Aksoy
Doğu anadolu	0,6	Kürkçüoğlu
Türkiye	2,1	Arcasoy

Alfa-talasemi konusunda ilk veriler Arcasoy ve ark. tarafından ülke genelinde %0,25 sıklıkta olarak yayınlanmıştır. Ülke genelinde alfa talasemi konusunda birçok moleküler çalışmalar yapılmışsa da sıklık konusunda Canatan ve ark. Antalya'da yaptıkları çalışmada alfa talasemi sıklığını %2,5-6,5 olarak yayınlanmıştır. Kılınç ve ark. ile Güvenç ve ark. Adana'da yapılan taramalarda %2,9-7,5 sıklıkta olduğunu yayınlamışlardır. Ankara'da kordon kanında, gen haritalama yöntemiyle % 3,6 , Özsoylu ve ark. sıklığı kromatografik yöntemle % 4,1 olarak tespit etmişlerdir (Tablo 4) (30).

Tablo 4. Ülkemizde yapılmış olan alfa talasemi çalışmaları

İL	Sıklık(%)	Yazarlar
Adana	7,5	Güvenç, Kılınç
Antalya	2,5-6,5	Canatan
Türkiye	0,25-4,1	Arcasoy, Özsoylu

Sağlık Bakanlığı verilerine göre 31 ilde 47 merkez kurularak, 2003 yılında evlenen çiftlerin %30'u taranır iken, 2010 yılında yüzde 85'i taranmış, yeni hasta çocuk doğum sayısı 2002 yılında 272 iken, 2010 yılında 25'e düşmüştür. Türkiye'de şu anda yaklaşık 5,500 kayıtlı hasta vardır, son on yılda önleme projesi olmasaydı bu sayı 9000 olacaktı. Sonuç olarak, ülke genelinde beta-talasemi sıklığı %2,1 iken, güney sahil bölgelerinde %4,3, alfa-talasemi sıklığı %0,25-%7,5 (güney sahilinde) sıklıkta, anormal hemoglobinlerden Hb S ülke genelinde %0,3 sıklıkta iken güney sahil bölgelerinde %10 sıklıkta bulunmuştur. Son on yılda yapılan önleme programları ile hemoglobinopati hasta bebek doğumu %90 azalmıştır (30).

2.5.2. Alfa Talasemi

Alfa talasemi klinik bulgu vermeyen sessiz taşıyıcılardan, anne karnında ölüme yol açan ağır kansızlık şeklinde çok değişken bulgularla seyreden kalıtsal bir kan hastalığıdır. Çok sayıdaki alfa globin gen allellerinin değişik kombinasyonları çok çeşitli hematolojik ve klinik fenotipe yol açar. Alfa talaseminin klinik formları sessiz taşıyıcı, ağır alfa talasemi taşıyıcı, Hemoglobin H ve Hb Barts hidrops fetalis sendromu olarak tanımlanır.

Önceleri alfa talasemi mutasyonlarının fenotipi doğrudan etkilenmiş alfa globin gen sayısı ile ilişkilendirilirken (Bir gen delesyonu sessiz taşıyıcı, 2 gen delesyonu taşıyıcı, 3 gen delesyonu Hb H, 4 gen delesyonu Hb Barts Hidrops fetalis olarak değerlendirilir. Bugün fenotip ve genotipin daha karmaşık ve değişken olduğu bildirilmektedir. Fenotip çeşitleri sadece etkilenmiş alfa gen sayısına değil, alfa talasemi mutasyon tipiyle de bağlantılıdır (14).

- **Sessiz Taşıyıcı (-α/αα):** Tek bir α-globin gen delesyonundan kaynaklanır, α globin zincir sentezindeki azalma güçlükle saptanır. Yalnızca bir allel etkilendiğinde (heterozigot form) alfa+-talasemi (-α/αα) fenotipi oluşur. Tümüyle asemptomatiktir veya hafif mikrositoz ve hipokromi vardır ancak Hb elektroforezi normaldir (Hb A2 normal veya düşük, Hb F normal).

- **Ağır Alfa-Talasemi Taşıyıcılığı (-α/-α veya -/αα):** Alfa0-talasemi aynı kromozomdaki veya iki kromozomun her birindeki iki α-globin geninin delesyonunu (-α /-α veya - / αα) içerir. Her iki genetik örnek klinik olarak birbirine benzer. Alfa0 talasemiye benzer klinik oluşturan diğer moleküler mekanizmalar şunlardır:

- Alfa globin kümesindeki major düzenleyici elementlerin kaybolmasına yol açan delesyonlar

- Alfa 1 geninde delesyon yapıp alfa 2 genini de etkileyen (de novo metilasyon vb) mutasyonlar

- Alfa Globin Gen Kümesi Boyunca Oluşan Geniş Delesyonlar: Yenidoğan evresinde %5-10 Hb Barts vardır fakat 6 ay sonra kaybolur. Ağır alfa talasemi taşıyıcıları, klinik olarak normal fakat beta talasemi taşıyıcılarında görülen hematolojik bulguları, (hafif hipokrom mikrositer anemi: MCV<78fL, MCH<27pg) gösterirler. Homozigot α+ talasemili kişilerde, α0-talasemi taşıyıcılarına benzer klinik bulgular ortaya çıkar.

- **Hemoglobin H (Hb H) Hastalığı:** Orta-ağır hemolitik anemiye yol açan klinik olarak çok değişken bir grup hastalıktır. Bazı hastalarda hiç transfüzyon gereksinimi olmazken (Transfüzyona bağımlı olmayan talasemi; NTD), bazılarında aralıklı hatta düzenli transfüzyon gerekebilir (Transfüzyona bağımlı talasemi). Hb H hastalığının en sık nedeni 3 alfa

globin genindeki delesyondur ($-\alpha / -$). Hb H hastalığının en sık nedeni 3 alfa globin genindeki delesyondur ($-\alpha / -$). Diğerleri ise, $\alpha 1$ veya $\alpha 2$ geninde 2 gen delesyonu ve bir nokta mutasyonu ($\alpha T \alpha / -$) ($\alpha\alpha T / -$) veya özellikle $\alpha 2$ geninde ağır nokta mutasyonlarıdır ($\alpha T \alpha / \alpha T \alpha$) (Nondelesyonel Hb H). Hb H hastalığında yenidoğan devresinde %20-40 oranında Hb Bart's gözlenir, daha sonra bunun yerini %5-30 oranında Hb H alır. Hb H hastalığının klinik şiddeti esas olarak alfa genindeki mutasyonlara bağlı olsa da beta talasemi ve unstabil beta globin varyantları (anormal hemoglobin) birlikteliği de klinik tablonun şekillenmesinde etkilidir. Aynı alfa talasemi mutasyonuna sahip olan hastaların bazıları hafif, bazıları orta hatta bazıları ağır derecede anemiye sahip iken beta talasemi mutasyonu birlikteliğinde, alfa ve beta zincirleri arasındaki dengesizlik azaldığı için klinik hafifleyebilmektedir (Tablo 5) (14).

Tablo 5. Hb H hastalarında genotip fenotip ilişkisi

Fenotip	Klinik	Genetik: 1 ^o	2 ^o	3 ^o
Aseptomatik	Sessiz Hb H	$-- / -\alpha$ $-- / \alpha^T \alpha$	β Talasemi	
*NTDT	Delesyonel Hb H	$-- / -\alpha$	+ β globin varyantları (Hb E, Hb C...)	
*NTDT	Non-delesyonel Hb H	$-- / \alpha^T \alpha$ $-- / \alpha\alpha^T$	+ β globin varyantları (Hb E, Hb C...)	
**TDT	Transfüzyona bağımlı	$-- / -\alpha$ $-- / \alpha\alpha^T$ $\alpha^T \alpha / \alpha^T \alpha$	-	KLF-1
Hidrops Fetalis	Hb H Hidrops	$-- / \alpha^T \alpha$ $\alpha^T \alpha / \alpha^T \alpha$	-	

*NTDT: Transfüzyona bağımlı olmayan talasemi, **TDT (Transfüzyona bağımlı talasemi)

Alfa gen triplikasyonu ve heterozigot β -talasemi mutasyonu birarada olduğunda β -talasemi taşıyıcılığından daha ağır bir anemi ve Hb F yüksekliği (%2-15 arasında) gösteren talasemi intermedia tablosu görülür. Çocukta talasemi intermedia kliniği olup aile çalışmasında anne ve babadan sadece birinde β -talasemi taşıyıcılığı olması bu olasılığı düşündürmelidir (14).

Alfa-talasemide β -zinciri göreceli olarak α -zincirinden daha fazla yapılır. Fazla olan beta zincirleri tetramer yapar, hem ile bağlanır ve durağan

olmayan bir hemoglobin olan Hb H meydana gelir. Alfa talasemi taşıyıcılarında (sessiz ve ağır) Hb H sadece göbek kanında saptanırken, Hb H hastalığında periferik kanda da yüksektir ve dayanıksız bir hemoglobin olan hemoglobin H'nin eritrositler içinde çökmesine bağlı olarak hemolitik anemi gözlenir. Periferik kanda retikülosit boyası ile bu presipitasyonlar gösterilebilir (Hb H inklüzyon cisimcikleri). Kemik iliğinde ise eritroid ana hücrelerin olgunlaşma süreci normal olup diseritropoez yoktur, dolayısı ile genellikle periferik yaymada normoblast görülmez. Retikülosit sayısı ise anemiyle orantılı olacak şekilde yüksek olabilir.

Orta derecede anemiyle seyreden Hb H hastalarında artmış kemik iliği aktivitesi ve artmış oksidatif stresi düzenlemek için folik asit (5 mg/ gün), D vitamini ve E vitamini, kalsiyum ve çinko desteği verilmelidir. Ağır nondelesyonel Hb H hastalarında (Hb PNP, Hb Adana, vb.) ağır anemi olabilir. Altı yaşın altındaki ağır anemi vakalarında düzenli transfüzyon ve şelasyon tedavisi uygulanmalı, talasemi major gibi takip ve tedavi edilmelidir. Splenektomi transfüzyon ihtiyacını azaltabilir ancak ileriki yaşlarda tromboz ve vaskülopati riskini arttırdığından yalnızca seçilmiş, gerekli hastalarda uygulanmalıdır. Splenektomi öncesi H. influenza, pnömokok ve meningokok aşılı yapılmalı ve her 5 yılda bir düzenli olarak tekrarlanmalıdır. Ayrıca bu hastalara 3-5 yıl süreyle penisilin profilaksisi yapılmalıdır (penisilin V, 20 kilonun üzerinde 250 mg/gün, günde 2 kez olacak şekilde). Splenektomi sonrası trombositoz gelişeceğinden tromboz profilaksisi için aspirin (80 mg/ gün) verilmelidir. Düzenli transfüzyon almayan Hb H hastalarında enfeksiyon, ateş, oksidatif stres, gebelik durumlarında gelişen (akut hemolitik kriz nedeniyle) transfüzyon ihtiyacı olabilir. Bu sırada ciddi sarılık, hemoglobinemi, hemoglobinüri olduğunda böbrek hasarı ve akut böbrek yetmezliği gelişebilir. Bu durumda acil tedavi gerekir, iv sıvı (idrar alkali olacak şekilde) verilmeli, enfeksiyon varsa ampirik antibiyotik başlanmalı, transfüzyon yapılmalıdır. Transfüzyon almayan Hb H hastalarında anemi ve inefektif eritropoez daha az olacağından barsaktan artmış demir emilimine bağlı demir yükü daha yavaş gelişecektir. Bu hastalarda 15 yaşından önce şelasyon gerektirecek demir yükü gelişmesi beklenmez. Ancak yıllar geçtikçe gelişen demir yükü hayat kalitesini bozan hatta hayatı tehdit eden komplikasyonlara neden olabilmektedir. Bu komplikasyonların en önemlileri

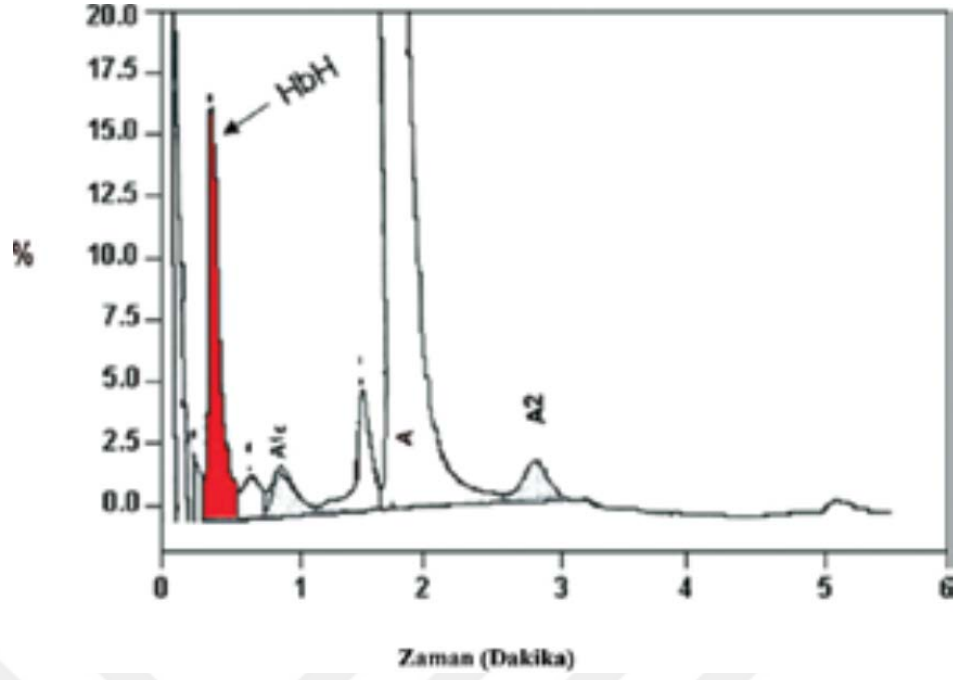
karaciğerde fibrozis, endokrin bozukluklar, pulmoner hipertansiyon olup bu komplikasyonları önlemek için gerekirse transfüzyon ve şelasyon tedavileri yapılır. Bu hastalarda diğer NTDT (Transfüzyona bağımlı olmayan talasemi) hastaları gibi vücut demir yükünü göstermede ferritinin yanı sıra MRI ile karaciğer demir yükü ölçümü önerilmektedir. Demir yükü esas olarak barsaktan artmış demir emilimine bağlı olup aralıklı yapılan transfüzyonlar da bu yükü arttırmaktadır. Ferritin >800 ng/dL veya LİC (MRI da karaciğer demir yükü) 5 mg/kg kuru ağırlık olanlarda komplikasyon riski arttığından hemen şelasyon tedavisi başlanması önerilmektedir. Çok merkezli plasebo kontrollü bir çalışmada bu hastalarda Deferasiroks 5-10 mg dozundan başlanıp 20 mg/kg'a kadar çıkılmış ve karaciğer demiri <3 mg/kg kuru ağırlığa indiğinde ilaç kesilmiştir. İlaç 2 yıl süreyle kullanıldığında ciddi bir yan etki gözlenmemiştir. Deferasiroksun transfüzyona bağımlı olmayan talasemi hastalarında (Hb H dahil) demir yükünün tedavisinde etkili ve güvenilir bir şelatör olduğuna karar verilmiştir (14).

-Hb-Bart's Hidrops Fetalis Sendromu: Dört α -globin allelinin tümünün delesyona uğraması veya inaktif olması sonucu α -globinin sentezlenemediği durumda alfa talaseminin en ağır formu olan Hb Bart's hidrops fetalis gelişir. Çift gen delesyonlu vakaların ($--/\alpha\alpha$) homozigot veya çift heterozigot olanları hidrops fetalis'e neden olacağı için yaşamaları mümkün değildir. Derin fetal anemi ve hipoksiye müdahale edilmezse gebeliğin son döneminde veya doğumdan hemen sonra bebek ölür. Etkilenen fetus HbF ve A yapmak için herhangi bir α -globin zinciri üretemez. Fetal kan başlıca Hb Bart's (γ 4) içerir. Değişken miktarda bulunan Hb Portland O2 taşıyarak bebekleri canlı tutar. Ağır intrauterin anemi kalp yetmezliğine yol açar. Belirgin hepatosplenomegali, yaygın ödem, asit, iskelet ve kardiyovasküler deformiteler gelişir. Doğumdan sonra ağır anemiye bağlı gelişen şok tedavisinde kan transfüzyonu, yaşam destek tedavisi gerekir yoksa kısa sürede bebek kaybedilir. Gebeliğin erken döneminde tanı konulursa intrauterin transfüzyonlarla gebelik takip edilip erken doğum yaptırılır. Hasta doğum sonrası düzenli transfüzyon ve demir şelasyonu ile izlenir. Gebelik sırasında maternal komplikasyonlar preeklampsi (hipertansiyon, proteinürlü ve proteinürisiz sıvı retansiyonu) polihidramnios

(amniyotik sıvının fazla olması), kanama, anemi ve sepsis gelişebilir. Literatürde bildirilen yaşayan Hb Bart's hidrops fetalis vakaları çok azdır. Bu vakalarda birlikte iskelet ve ürogenital sistem anomalileri, ağır nörolojik bozukluklar bildirilmiştir (14).

2.5.2.1. Alfa Talasemi Sendromları Tanısı

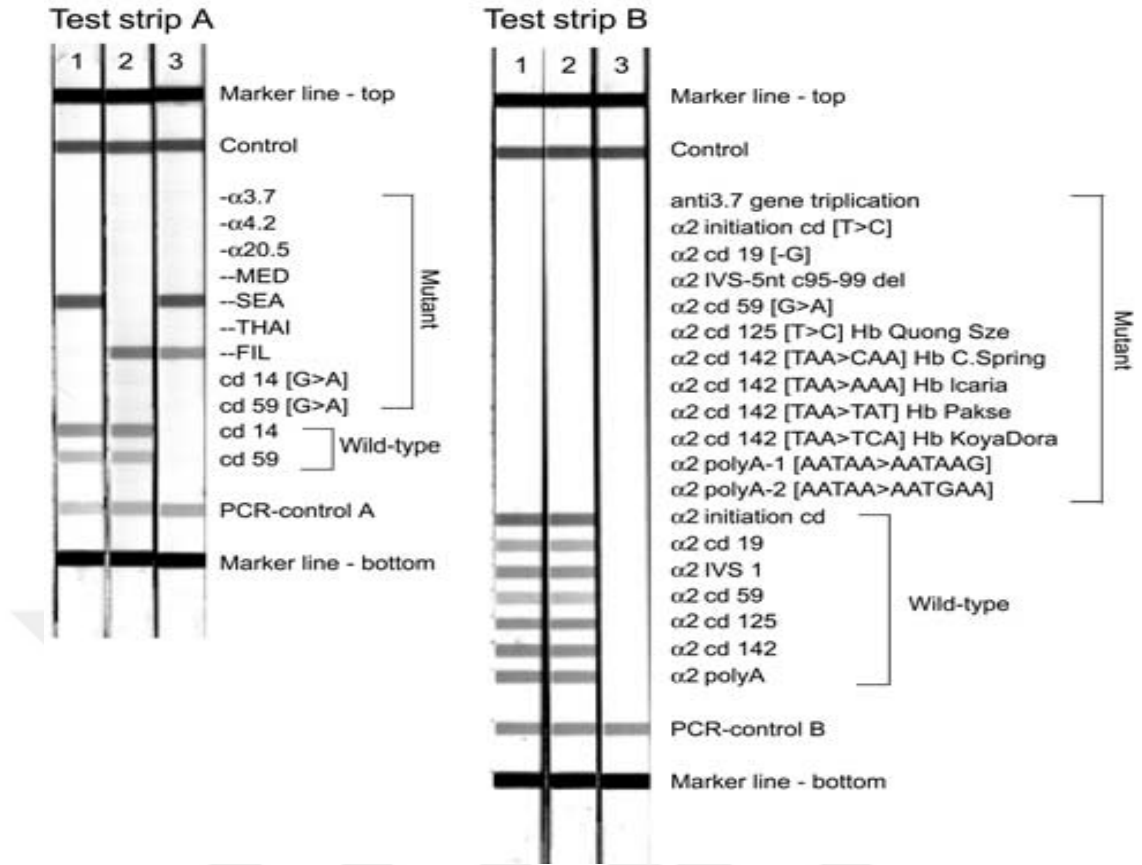
Tek gen mutasyonları klinik ve hematolojik olarak normal olduklarından moleküler çalışma olmaksızın tanınamazlar. Ağır taşıyıcılar açıklanamayan hipokrom mikrositer anemi olarak başvurulabilirler. Bu kişilerde yapılan testlerle demir eksikliği (serum demir, demir bağlama kapasitesi, ferritin ile), beta talasemi taşıyıcılığı (Hb elektroforezi ile) ve kronik hastalık anemisi dışlanmışsa moleküler testlerle alfa talasemi ayırıcı tanısı yapılır. Hb H hastaları talasemi intermedia kliniği ile başvururlar. Orta-ağır hipokrom mikrositer anemi ve retikülositoz vardır. Periferik yaymada target hücreleri, anizositoz, poikülositoz ve polikromazi saptanır. Bazı Hb H'lerde (HbCS: Hb Constan Spring gibi) eritrositlerde belirgin bazofilik noktalanma bulunur. Hb H boyasıyla (Brillant Krezil boyası) ile eritrositlerde Hb H inklüzyon cisimcikleri (Pinpon topu gibi eritrositler), hemoglobin elektroforezi ve kromatografide Hb H (%2-25 oranında) bandı görülür. Ancak bunun için taze kanda hemen Hb elektroforezi yapılmalıdır. Beklemiş kanda yapılan testte yanlış negatif sonuç saptanır (Hb H bandı olsa da saptanamaz). Yeni jenerasyon kapiller elektroforez Hb H'yi daha iyi saptar (Şekil 8) (14).



Şekil 8. Hb elektroforezinde Hb H bandı

Allel Spesifik Oligonükleotid Hibridizasyon (ASO)- Strip Testler:

Hedef dizi ile biri mutasyonlu diğeri de normal dizi için hazırlanmış iki oligonükleotid probun hibridizasyonuna dayanır. Toplumda sık görülen mutasyonlar taranır. Uygulaması kolay olan bu test taramalarda sıklıkla kullanılır. Ülkemizdeki çalışmalarda kullanılan Strip testi, 21 mutasyonu kapsamaktadır (Şekil 9). Son zamanlarda GAP-PCR ile sık görülen mutasyonların değerlendirilmesi önerilmektedir. Klinik şiddet yaşla artabileceğinden non-delesyonel mutasyonlar her 2-3 ayda bir yakından izlenmelidir. Delesyonel Hb H hastaları daha stabil olduğundan 4-6 ayda bir izlenmesi yeterlidir (14).



Şekil 9. Strip Assay ile değerlendirilen alfa talasemi mutasyonları

2.5.3. Beta Talasemi

Beta talasemi, hemoglobin sentezinde bozulmayla ilişkili olarak erişkin hemoglobin beta globin zincirinin az yapılmasına ya da yapılmamasına bağlı ortaya çıkan hastalıktır (7). Klinik olarak, β talasemide başlıca üç tablo görülür:

- Sürekli kan transfüzyonu gerektiren “talasemi majör” tablosu
- Nadir transfüzyon gerektiren “talasemi intermedia” tablosu
- Genellikle klinik bulguların olmadığı veya hafif anemi tablosunun (talasemi minor) olduğu “talasemi taşıyıcılığı” (3)

Bu sınıflandırma genotipe dayanmayan sadece klinik bulgulara göre yapılan sınıflandırmadır. Son yayınlarda moleküler düzeydeki defektleri de dikkate alarak aşağıdaki gibi bir sınıflama önerilmektedir (3):

- Talasemi majör
- Talasemi intermedia
- Talasemi minor

- Diğer hemoglobinopatiler ile birlikte olan β talasemi
 - o HbC/Beta-thalassemia
 - o HbE/Beta-thalassemia
 - o HbS/Beta-thalassemia
 - o Herediter persistan fetal hemoglobinopati ile birlikte olan β talasemi
- Otozomal dominant β talasemi
- Diğer bulgularla birlikte olan β talasemi
 - o Trikotiyodistrofi ve β talasemi
 - o X'e bağılı trombositopeni ve β talasemi

2.5.3.1. Beta Talasemide Klinik Tabloyu Etkileyen Genetik Faktörler

Globin zincir hastalıkları için genetik düzenleyiciler talasemi ve yapısal varyantlarda farklılık gösterir. Talasemide hastalık şiddetini etkileyen en önemli düzenleyici alfa veya beta globin gen mutasyonunun özelliğidir. HbVar veri tabanında globin zincir sentez azlığı veya yokluğu derecesine göre tamamen farklı klinik özelliği olan 800 talasemi mutasyonu bildirilmiştir (31). Hemoglobinopatilerde, fenotip genotip ilişkisi çok önemlidir. Kişiler aynı mutasyonu taşıdığı halde klinik seyir çok farklı olabilir. Örneğin Hb H hastalığının, klinik seyri oldukça heterojendir. Üç alfa geninin delesyonu ile oluşan Hb H hastalığı talasemi intermedia gibi bulgu verirken, aynı delesyona sahip Hb H hastalığının beraberinde beta talasemi taşıyıcılığının olması, hastalığın çok hafif seyirli olmasına yol açar. Benzer şekilde beta talasemi majorlu hastanın aynı mutasyonları taşıyan homozigot kardeşinde ek olarak ağır alfa talasemi taşıyıcılığının olması, onun beta talasemi intermedia klinik tablosunu açıklar (32).

Beta talasemili hastalarda klinik bulgular değişkenlik gösterir. Klinik tabloyu etkileyen genetik faktörler 3 ana grupta incelenmektedir (12):

- Primer modifiye edici faktörler
- Sekonder modifiye edici faktörler
- Tersiyer modifiye edici faktörler

Primer Modifiye Edici Faktörler: Bu gruba β talasemi gen bölgesinde bulunan genlerdeki mutasyonlar girer. Beta talasemi klinik

şiddetinde görülen heterojenite moleküler düzeyde olup hastalığa neden olan 200 üzerinde farklı mutasyon tanımlanmıştır. Bu mutasyonlar alfa talaseminin aksine daha çok nokta mutasyonlarıdır. IVS-1,5 genotipi şiddetli, Cd8/9 orta şiddetli, Cd41/42 ise hafif şiddette kliniğe yol açar. Şiddetli β^+ talasemi kliniğine yol açan IVS-I-110 (G-A) mutasyonu en sık mutasyon olup ülkemizde yapılan çalışmalarda sıklığı %50-57 olduğu bulunmuştur. Homozigot beta talasemi olmasına rağmen IVSI-6 (TC), IVSI-1 (G-A) ve -87(C-G) gibi daha hafif (sessiz) genotipler de vardır. Bu hastalarda daha dengeli bir globin zincir sentezi bulunur (32). β genindeki bazı mutasyonlarda globin zinciri sentezi tamamen durmaktadır. β^0 talasemi olarak adlandırılan bu tip talasemilerde klinik tablo, hemogloblin sentezinin kısmen yapılabildiği β^+ veya β^{++} talasemilere göre daha ağırdır (Tablo 6 (32)). β^0 mutasyonlar genellikle 1. ve 2. ekzonda ya da ekzon-intron sınırına yakın bölgelerde bulunan nokta mutasyonları veya küçük delesyonlar ve insersiyonlardır. Cd 6 (-A) ve Cd 8 (-AA) gibi birkaç β^0 talasemi mutasyonu, γ - globin geninin promotor bölgesindeki aktive edici bir mutasyonla bağlantı gösterdiği için, yüksek HbF üretimi nedeniyle hafif klinik tablo gösterir. β talasemide büyük delesyonlar nadirdir. Büyük delesyonlar kapsadığı gen bölgesine göre değişik bulgular gösterir. Örneğin -125'den +78'e kadar olan bazların delesyona uğradığı mutasyon 5' bölgesindeki CACCC, CCAAT ve TATA elementleri de içerir. Bu bölgede bulunan ve genlerin ekspresyonu arasındaki dengeyi sağlayan lokus kontrol bölgesi (LCR=Lokus control region) de yok olduğu için β geni ile cis durumda bulunan δ ve γ genlerinin ekspresyonu artmıştır ve bu nedenle HbA2 düzeyleri belirgin şekilde yüksek olarak bulunur. On birinci kromozom üzerindeki tüm β ve β benzeri genlerin ve LCR bölgesinin delesyona uğradığı (ϵ , γ , δ ve β) ^{0} talasemide ise hematolojik parametreler talasemi taşıyıcılığını gösterirken HbA2 düzeyleri normal olarak bulunur. Son yıllarda yapılan çalışmalarda β geninde yeni delesyon mutasyonları tarif edilmektedir. Genin 5' bölgesinde promotor bölgede ilk ekzonun önündeki 50 nükleotidi içeren bölgede oluşan veya 3' UTR'de bulunan bazı mutasyonlar "gizli mutasyon"lardır. Taşıyıcılarda bulgu vermezler. Homozigot olarak bulunduklarında taşıyanlarda beta talasemi taşıyıcılığı tablosu görüldüğü için veya ağır bir başka mutasyon ile birleşik heterozigot durumda bulunduklarında talasemi intermedia tablosu gösterdiklerinde yapılan

analizlerde saptanır. Bu mutasyonlardan bazıları: 92 C→T, -101 C→T, 5'UTR +10 -T, 5'UTR +33 C→G, IVS2 844 C→G, CAP +1 A→C, 3'UTR +6 C→G' dir. Hafif mutasyonlar, gizli mutasyonlar gibi genellikle genin 5'promotor bölgesinde, 3'UTR bölgesinde ve PoliA bölgesinde bulunur. Hafif mutasyon taşıyıcılarında hematolojik parametreler taşıyıcılığı gösterir. Bu mutasyonlar homozigot durumda genellikle talasemi intermedia tablosu yaparlar. Ağır mutasyonlarla birleşik heterozigotluk durumunda klinik tablo talasemi intermedia tablosundan, talasemi major tablosuna kadar değişkenlik gösterir. Bu mutasyonlardan bazıları: -90 C→T, -88 C→A, -88 C→T, -87 C→A, -87 C→G, -87 C→T, -86 C→G, -31 A→G, -30 T→A, -30 T→C, -29 A→G, -28 A→G (zencilerde hafif Çinlilerde ağır), 5'UTR +22 G→A, CD 19 A→G Malay, CD 24 T→A, CD 26 G→A (Hb E), CD 27 G→T Knossos, IVS1 6 T→C, 3' UTR 47 C→G, PolyA AATAAA→AACAAA, PolyA AATAAA→AATUAA, PolyA AATAAA→AATAGA, PolyA AATAAA→AATAAC' dir. Bazı β talasemi mutasyonları tek allelde bulunduklarında da hafiften ağıra değişen talasemi tablosuna neden olurlar. Bu tip otozomal dominant kalıtılan 30 kadar mutasyon tarif edilmiştir. Mutasyonlar genellikle 3. ekzondadır. Taşıyıcılığın nadir olduğu toplumlarda görülür. Sıklıkla de-novodur. Eritrositlerde alfa ve anormal β çökmesi (inklüzyonlar) vardır (5).

Tablo 6. Beta talasemide genetik düzenleyiciler

Gen Sayısı	Tanım	Fenotip ve Klinik	Genetik Düzenleyici
β/β	Normal	Normal, asemptomatik	–
$\beta^{\text{sessiz}}/\beta^N$	Sessiz taşıyıcı	Normal, asemptomatik Normal eritrosit göstergeleri	–
$\beta^{\text{sessiz}}/\beta^{\text{sessiz}}$ β^{++}/β^N β^{++}/β^N β^0/β^N $\text{Dom } \beta^{\text{Th}}\beta^N$ β^{++}/β^{++}	Taşıyıcı	Asemptomatik, hafif HM anemi	Alfa genotipi
β^{++}/β^{+} β^{++}/β^0 β^{++}/β^{++}	Talasemi intermedia	Anemik, çok düşük MCV, MCH Splenomegali, kemik değişiklikleri Değişken transfüzyon bağımlılığı	Alfa genotipi Hb F yanıtı
β^{+}/β^0 β^0/β^0	Talasemi major	Şiddetli HA, çok düşük MCV, MCH HSM, kronik transfüzyon bağımlı	Alfa genotipi Hb F yanıtı

HM: hipokrom mikrositer, HA: Hemolitik anemi, HSM: Hepatosplenomegali

Sekonder Modifiye Edici Faktörler: Diğer globin zincirlerini kodlayan genlerdeki defektler bu gruba girer. Talasemide eritrosit yıkımına neden olan en önemli patolojik olay eritrositlerin içinde α globin zincirlerinin yığılmasıdır. Bu nedenle α gen delesyonlarında α globin sentezi azalacağı için klinik tablo hafifler. α gen delesyonunun bulunduğu, $\alpha^-/\alpha\alpha$, $-/-\alpha\alpha$, $\alpha^-/-\alpha$, $\alpha^-/-$ genotipleri β talasemi ile bulunduklarında klinik tabloyu hafifletir. Triplikasyon veya quadriplikasyonları ($\alpha\alpha\alpha$, $\alpha\alpha\alpha\alpha$) klinik tabloyu ağırlaştırır. Genç eritroid hücrelerde bulunan alfa hemoglobin stabilize edici proteinin serbest alfa

globin zincirlerini serbest radikal oluşturan kimyasal reaksiyonlara katılmaktan koruyarak, talasemi fenotipini etkileyebileceği öne sürülmüşse de bu konuda daha fazla çalışmaya gerek vardır. HbF'nin yüksekliği klinik tabloyu hafifleten bir diğer nedendir. β ve δ genlerinin total delesyonunda HbF yüksekliği vardır ve klinik tablo daha iyidir. β talasemi gen bölgesinde bulunan Gy genindeki -158 C>T (Xmn1-Gy) polimorfizmi hematopoetik stresde HbF sentezini artırır. Ayrıca 6q, Xp, 8q'de γ sentezi ilgili lokusların HbF düzeyini etkileyerek fenotipi değiştirdikleri ortaya konmuştur (32).

Tersiyer Modifiye Edici Faktörler: Osteoporoz talaseminin komplikasyonlarından biridir. Talasemide görülen kemik hastalıkları etyolojisinde etkisi olabilecek 2 tip gen tanımlanmıştır. Bunlar kollajen metabolizmasında görevli COL1A1 geninde Sp1 bağlanma bölgesindeki polimorfizm ve vitamin D polimorfizmleridir. Kemik metabolizmasında görev alan VDR, ESR, Kollajen genlerindeki varyasyonlar osteoporozun gelişmesini etkiler.

Artmış demir yükü talasemide patolojik bulguların ve organ yetmezliklerinin gelişmesinde en önemli faktördür. Demir metabolizmasında rol oynayan, HFE geni, C282Y ve H63D genlerindeki polimorfizmlerin fenotipi etkilediği gösterilmiştir. Hemokromatoz mutasyonunun (HFE genindeki C282Y) beta talasemi taşıyıcılığı veya intermedia ile birlikte olduğunda demir birikimini arttırdığı gösterilmiştir. Ayrıca az transfüzyon alan hastalarda demir birikimi, demir düzenleyici protein olan hepsidin az olması nedeniyle uygunsuz baskılamasından kaynaklanabilir. GDF-15 (Growth differentiation factor) gibi eritroid düzenleyiciler veya holotransferrin ve sitokinler gibi kanda dolaşan faktörler farklı patolojik durumlarda hepsidin düzenlenmesine katkıda bulunabilir. Beta talasemi hastalarında GDF-15 düzeyleri normalin 140 katı fazladır. Aşırı büyümüş eritroid kompartmandan kaynaklanan GDF-15 fazla ekspresyonu hepsidin ekspresyonunu inhibe ederek talasemi sendromlarında demir birikimine katkıda bulunabilir.

Bilirubin metabolizması genlerindeki polimorfizmler (Örnek: UGT1 geni (TA)⁷ polimorfizmi) ve immün sistem genlerindeki (HLA, TNF, ICAM gibi) polimorfizmlerin de talasemili hastalarda morbidite ve mortaliteyi etkilediği gösterilmiştir. Gilbert hastalığı genotipi ile talasemi intermedia ve talasemi

taşıyıcılığının birlikte kalıtımı daha yüksek indirekt bilirubin düzeyleri nedeniyle daha sık safra taşı oluşumuna neden olur (32).

Talasemi majorl  hastaların çoğu kalp yetmezliği veya aritmi nedeniyle kaybedilir. Çoğu hastada kalp yetmezliği nedeni demir birikimi olmakla birlikte bazı hastalarda kalp yetmezliği nedeni pulmoner hipertansiyon olabilir. ApoE4 allelinin genç yaşta kalp yetmezliği geliştiren homozigot beta talasemi hastalarında yüksek bulunması bu durumun sol ventriküler yetmezlikte bir risk faktörü olabileceğini düşündürmektedir (33).

2.5.3.2. Beta Talasemi Sınıflandırılması

2.5.3.2.1. Sessiz Taşıyıcı

Globin sentezinde orta derecede azalma vardır. Hb A2 düzeyleri ve periferik yaymaları normal, MCV hafif düşük olabilir. Her iki ebeveynin sessiz taşıyıcı olduğu homozigot çocukta orta derecede bir anemi (Hb 6-7g/dl, nadiren transfüzyon gereksinimi) ve hepatosplenomegali görülür. Beta talasemi ta ıyıcılı ı üç farklı tipte olabilir.

-Yüksek A2 ile olan β talasemi ta ıyıcılı ı: En fazla görülen tiptir. HbA2: %3,5-8, HbF: %1-5'dir, β^+ veya β^0 mutasyonlarla olan heterozigotlar farklıdır. β^+ ta ıyıcılarda MCV ve MCH daha yüksektir. Homozigot  ocuklarında transfüzyona bağımlı anemi görülürken, bazen de talasemi intermedia fenotipi olabilir.

-Yüksek A2, yüksek F ile olan β talasemi ta ıyıcılı ı: Farklı bir varyanttır. Hem A2 hem de Hb F (%5-20) yüksektir. β gen delesyonu varken, δ ve γ genleri sağlamdır.

-Normal A2 ile olan β talasemi ta ıyıcılı ı (Talasemi minör): Sessiz ta ıyıcılardan ayrılmalıdır. Sessiz ta ıyıcılardan farkı, hipokrom mikrositer anemi oluşudur (Hb A2 seviyesi sınırd  saptanır). Hem β hem δ geni hasarlıdır (aynı kromozom veya karşı sağlam kromozomda). Ebeveynlerden biri bu tip, diğeri klasik taşıyıcı ise homozigot çocukta ağır klinik tablo görülür.

Beta talasemi ta ıyıcılı ında laboratuvar bulguları arasında eritrositoz ve mikrositozun olması, RDW'nin normal saptanması ayırıcı tanıda önemlidir. Beta talasemi ta ıyıcılı ı tanısı konarken; demir eksikliği anemisi, alfa

talasemi taşıyıcılığı ve kronik hastalık anemisinden ayırıcı tanısının yapılması gerekmektedir. Beta talasemi taşıyıcılığında herhangi bir tedavi vermeye gerek yoktur. Ancak genetik danışmanlık mutlaka verilmeli ve hasta anne, baba ve kardeşleri taşıyıcılık yönünden taranmalıdır.

2.5.3.2.2. Beta Talasemi İntermedia (Hasta, Homozigot)

Homozigot talasemidir, ancak klinik bulgular beta talasemi majör kadar ağır değildir. Enfeksiyon, cerrahi ve bazı özel stres durumları dışında Hb: 6-10g/dl düzeyindedir. İlerleyen yaşla kemik iliği genişlemesine bağlı kemik değişiklikleri görülür. Ekstramedüller hematopoez kitleleri saptanabilir. Artmış demir emilimi sonucu demir birikim bulguları görülebilir (1). Beta talasemi intermedia'nın laboratuvar bulguları arasında Hb 7-10 g/dl, MCV 50-80 fl, MCH 16-24 pg, RDW'de artış mevcuttur (13). Periferik yaymada; eritrositlerde ağır hipokromi, mikrositoz, anizositoz, poikilositoz, hedef hücreleri, polikromazi, bazofilik noktalanma ve normoblastlar, retikülosit düzeyinde hafif artış (%2-4), hemoglobin elektroforezi (HE); Hb A azalır (%10-20), HbF (%70-80) ve Hb A2 artar. Beta talasemi intermedia'nın tedavisinde büyüme-gelişme, kemik değişiklikleri ve splenomegali gelişimi yönünden izlem dışında gerekli durumlarda kan transfüzyonu, demir şelasyonu, splenektomi yapılabilir. Beta talasemi intermedia'da kan transfüzyon kararı hastaya göre verilmelidir. Egzersize tahammülsüzlük, büyüme ve gelişmede duraklama, yüzde tipik kemik değişikliği, splenomegali, hipersplenizm, ekstramedüller hematopoez, bacak ülserleri, patolojik kırıklar, kardiyak komplikasyonlar, pulmoner hipertansiyon, enfeksiyon ve gebelik dönemlerinde tranfüzyon yapılır (1).

2.5.3.2.3. Diğer Hemoglobinopatilerle Birlikte Olan β Talasemi

Hasta yapısal hemoglobinopatilerden HbE mutasyonu ile birlikte β talasemi mutasyonu taşıyor ise, klinik bulgular talasemi majordan, hafif talasemi intermedia ya kadar değişebilir. İzlem ve tedavi beta talasemide olduğu gibi yapılır.

HbC/ β talasemi hastaları genellikle semptomsuzdur. Rutin testler sırasında tesadüfen ortaya çıkar. Hafif anemi ve splenomegali ile seyreden veya ara sıra kan transfüzyonu gerektiren olgular olabilir. Periferik yaymada eritrositlerde mikrositoz ve hipokromi, düzgün kenarlı HbC kristalleri, hedef hücreleri ve görülür.

HbS/ β talasemi hastalarında klinik tablo orak hücreli anemi kliniğine benzer.

Hereditær persistan fetal hemoglobinemi, β talaseminin klinik tablosunu hafifletir. Bu olgularda, normalden talasemi intermediaya kadar değişen bulgular vardır.

HbD punjab (Hb LosAngeles)/ β -thalasemi genotipinde genellikle hafif anemi-taşıyıcı tablosu nadiren orta hemolitik anemi bulguları görülür.

Hb OArab/ β talasemi genotipinde orta derecede anemi ve splenomegali vardır.

2.5.3.2.4. Otozomal Dominant β Talasemi

Bazı β talasemi mutasyonları, heterozigot durumda, stabil olmayan ve çabuk yıkılan beta globin zincirinin sentezlenmesine ve bu zincirin eritrosit öncül hücrelerinde çökerek, inefektif eritropoeze neden olur. Olgularda talasemi fenotipi görülür.

2.5.3.2.5. Diğer Bulgularla Birlikte Olan β Talasemi

Nadir bazı olgularda genel transkripsiyon faktörü kodlayan gende (TFIIH) mutasyon olabilir. Bu olgularda saç ve tırnak bozuklukları, mental retardasyon, iktiyoz, ışığa duyarlılığın yanısıra talasemi tablosu görülür. Ayrıca X'e bağlı transkripsiyon faktörü GATA-1 kodlayan gende mutasyon olduğunda da trombositopeni ile birlikte β talasemi tablosu görülür (3).

2.5.3.2.6. Beta Talasemi Majör (Hasta, Homozigot)

Klinik bulgular genellikle 6 ay–2 yaş arasında ortaya çıkar. İlk 4-6 ayda anemi ve anemiye bağlı bulgular görülür. Hastada solukluk, büyüme geriliği

ve karında şişlik şikayetleri mevcuttur. Hafif sarılık, hepatosplenomegali tespit edilir. Kısa boy, büyük baş, belirginleşmiş abdomen inspeksiyonda göze çarpar. Maksiller hipertrofi ve hiperplazi, dental deformite, frontal ve zigomatik kemiklerde hipertrofi, uzun kemiklerde patolojik kırıklar hastalarda görülen iskelet kusurları arasındadır (1). Transfüzyon başlanmayan ağır seyirli homozigot β^0 talasemi olguları genellikle 3-4 yaşlarına kadar yaşarken homozigot β^+ talasemi olguları çocukluk çağının sonlarına kadar yaşayabilirler. Düzenli transfüzyon programı uygulanarak en düşük hemoglobin seviyesi 9,9-10,5 gr/dL arasında tutulan olgular 10-12 yaşlarına kadar normal büyüme gösterirler. Bu dönemden sonra şelasyona uyum düzeyine göre demir yüküne ikincil önemli komplikasyonlarla karşı karşıya kalırlar. İyi transfüzyon programı uygulanan olgular 10-11 yaşlarına kadar sorunsuz seyreder. Daha sonraki dönemde pubertal büyüme atağının gerçekleşmemesi ve seksüel matürasyonda gecikme saptanır. Şelasyon uyumu iyi olan olgular bu dönemde normal pubertal gelişim ve büyüme gösterirler. Yaş ilerledikçe şelatörlere ait yan etkiler kendine göstermeye başlar (7).

2.6. Beta Talasemi Major Tanısı

Beta talasemi majör'ün laboratuvar bulguları Hb <7g/dl, MCV >50 ve <70fl, MCH >12 ve <20pg ile karakterizedir (13). Ancak hemoglobin elektroforezinde genellikle HbA sentezi daha az ve HbF total hemoglobinin %80'inden fazladır. Talasemi majorda periferik yayma incelendiğinde eritrositlerde ağır mikrositoz ve hipokromik anemi yanında düşük ortalama eritrosit hacmi ve ortalama eritrosit hemoglobin miktarında azalma mevcuttur. Periferik yaymada mikrositoz, hipokromi, anizositoz, poikilositoz (gözyaşı eritrositler, uzun şekilli eritrositler), eritroblastlar (normoblast), kaba bazofilik noktalanmalar ve hedef hücreler görülür. Morfolojik bulgular talasemi tanısı konmasında tek başına yeterli değildir ve HPLC, Hb H boyası, moleküler testler gibi tetkikler ile doğrulanması gereklidir. İmmünoelektron mikroskopla yapılan incelemelerde alfa globin tetramerlerinin eritrosit sitoplazması içinde çökelerek oluşturduğu inklüzyon cisimcikleri gösterilmiştir. Geniş, tek ve yuvarlak şekilli bu inklüzyon cismine “Fessas cisimcikleri” denir. Fessas

cisimcikleri rutin çevresel kan yaymasında genellikle görülmezler sadece supravital boyamada eritroid öncül hücreleri içinde inklüzyon cisimcikleri şeklinde görülebilirler. Ancak bazen Wright boyamada çevresel kan yaymasındaki polikromatofilik eritrositler veya çekirdekli eritrositler ile kemik iliğindeki eritroblastlarda kırmızı inklüzyon cisimciği görülebilir. Eritrosit içi DNA artıklarının oluşturduğu inklüzyon cisimleri olan Howell-Jolly cisimcikleri, splenektomi sonrası çevresel kan yaymalarında izlenebilir. Hemoglobinin analizinin elektroforetik veya kromatografik tekniklerle yapılması tanının doğrulanması için gereklidir. Bugün için yaygın olarak kullanılan test yüksek performans likit kromatografi yöntemidir. Homozigotlarda HbF'nin hemoglobinin büyük kısmını oluşturduğu gösterilebilir. Beta globin zincirindeki mutasyona göre bir miktar HbA yapılmışsa, beta+ talasemi ya da hastanın transfüze edilmiş olabileceğini düşündürür. Transfüzyon öncesi yapılan değerlendirmelerde HbA saptanamaz ise β^0 , bir miktar HbA gösterilebiliyorsa β^+ talasemi denir (Tablo 7). Hb elektroforezi ve kromatografi ile talasemi ile tanısız karışıklığa yol açabilecek Hb S, C, E, O-Arab ve Lepore saptanabilir. Talasemi tanısı koymak için kemik iliği aspirasyonu gerekli değildir ancak yapılmışsa eritroid seride hiperplazi ve diseritropoez bulgularına rastlanır (7).

Tablo 7. Beta talasemide hemoglobin özellikleri (>12 ay)

Hb tipi	Normal	Talasemi sendromları		Taşıyıcı
		Homozigot β^0 talasemi	Homozigot β^+ veya Compound heterozigot β^+ / β^0 talasemi	β Talasemi minor
HbA	%96-98	0	%10-30	%92-95
HbF	<%1	%95-98	%70-90	%0,5-4
HbA2	%2-3	%2-5	%2-5	>%3,5

Talasemili hastaların biyokimyasal testleri değerlendirildiğinde, böbrek fonksiyon testlerinin normal olduğu; bilirubin, aspartat aminotransferaz ve laktat dehidrogenaz değerleri yüksekliği görülür. Alanin aminotransferaz genellikle normaldir. Eritropoetin seviyesi yüksektir ve solubl transferrin reseptör seviyesi normalden 30 kat daha fazla artış gösterebilir.

Hipersplenizm bulguları olmadığı sürece lökosit ve trombosit sayısı normal olarak bulunur (7).

2.6.1. Moleküler Genetik Analiz

Yapılan çalışmalar ile her toplumda sık görülen mutasyonlar bilinmektedir. Bu nedenle öncelikle PCR temelli testler yapılması bu mutasyonları hızla saptanmasını sağlar. Bilinen mutasyonlar arasında bulunamazsa beta globin gen sekans analizi gen üzerindeki diğer mutasyon taraması için kullanılır (6). Yeni gelişen DNA teknolojisi talasemiler ve yapısal hemoglobinopatilerin moleküler tanısında, hızlı ve yüksek doğrulukta tanı testlerinin geliştirilmesini sağlamıştır. Bu yöntemler mutasyonu doğrudan tayin eden direk yöntemler ve indirek yöntemler olarak sınıflandırılır. Direk yöntemler arasında Allel Spesifik Oligonükleotid Hibridizasyon (ASO), Amplifikasyon Refrakter Mutasyon Sistemi (ARMS), dizi analizi, gap-PCR yöntemleri sayılabilir. Denature edici Gradient Jel Elektroforezi (DGGE) ve Denature edici Yüksek performanslı Likid Kromatografi (DHPLC) yöntemleri indirek yöntemlerdir. Ayrıca son yıllarda Multiple Ligation Probe Analysis (MLPA), Quantitative Multiplex PCR of Short Fragments (QMPSF), Real-time PCR, Melting Curve Analysis (MCA) gibi yöntemler hızla kullanıma girmektedir. Moleküler tanıda yöntem/yöntemler, hastanın fenotipik bulgularına, hematolojik parametrelere ve toplumdaki sık rastlanılan mutasyonlara ve laboratuvarın özel koşullarına göre seçilir. Hemoglobinopatilerin moleküler genetik tanısında kullanılan yöntemler geleneksel olarak iki gruba ayrılmaktadır:

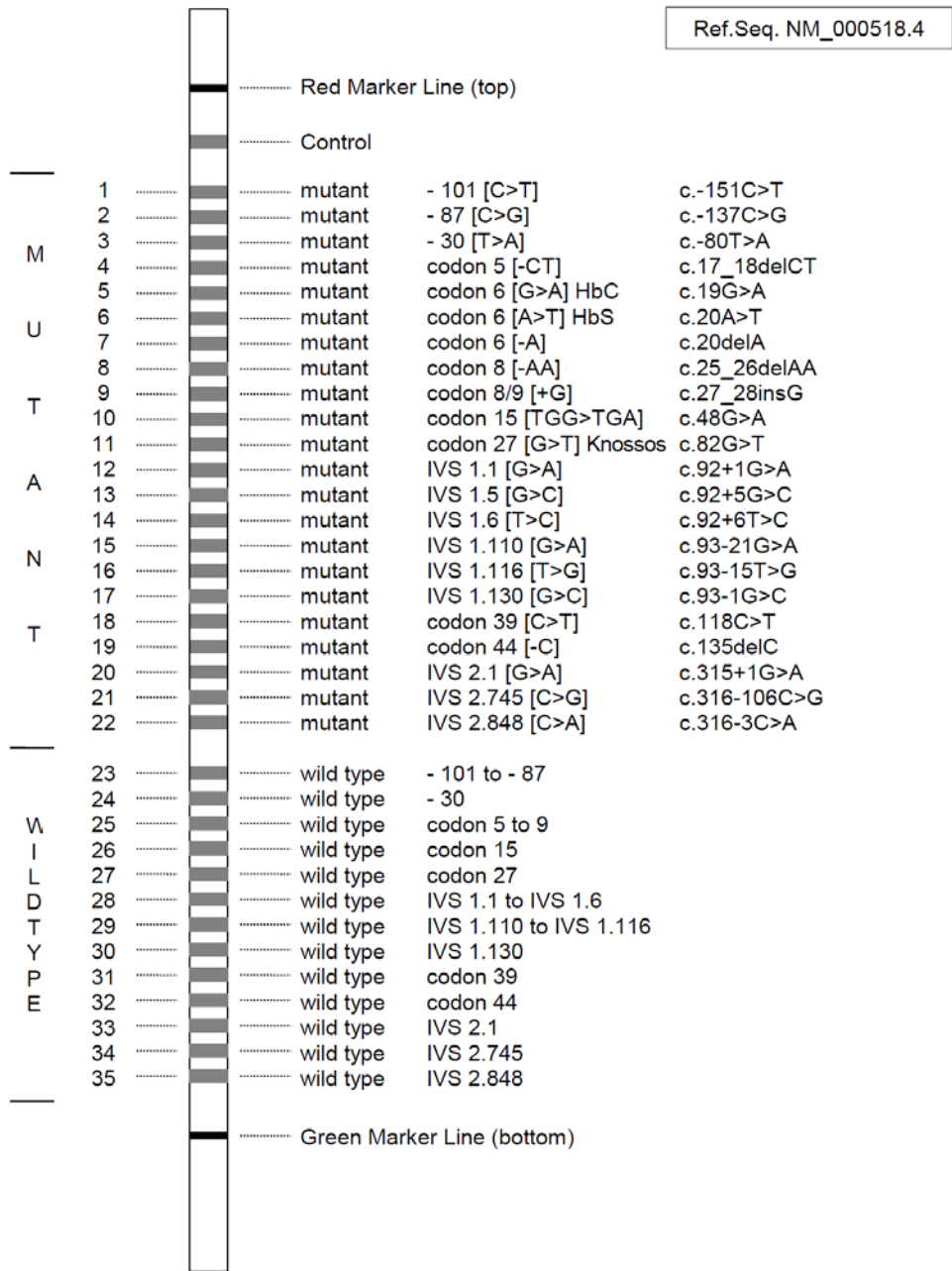
1. Direkt mutasyon tayini yapan yöntemler: Doğrudan özgün mutasyonun olup olmadığını gösterirler. Nokta mutasyonları için Allel Spesifik Oligonükleotid Hibridizasyon (ASO), Amplifikasyon Refrakter Mutasyon Sistemi (ARMS), dizi analizi gibi yöntemler, delesyonlar için de gap-PCR yöntemi bu gruba giren örneklerdir.

2. İndirek yöntemler: Belirli bir gen veya gen bölgesini, dizi değişikliği olup olmadığının anlaşılması için, tarayan yöntemlerdir. Denature edici Gradient Jel Elektroforezi (DGGE) ve Denature edici Yüksek Performanslı Likid Kromatografi (DHPLC) yöntemleri bu gruba girer. Bu

yöntemlerle mutasyonun yerinin saptanmasından sonra dizi analizi ile özgün değişikliğin ortaya konulması gerekir.

2.6.1.1. Allel Spesifik Olgonükleotid Hibridizasyon (ASO)

Bu yöntem hedef dizi ile, birisi mutasyonlu diğeri de normal dizi için hazırlanmış olan iki oligonükleotid probunun hibridizasyonuna dayanır. Tanıda ilk kullanılan yöntemlerdendir. Yöntemde, belli mutasyonların sık olarak gözlemlendiği toplumlarda “dot blot” veya “reverse dot blot” şeklinde uygulama ile homozigot, heterozigot ve normal genotipe sahip olanlar kolayca saptanabilir. Ticari olarak üretilen “reverse dot blot” yönteminin kullanıldığı kitler ile toplumlarda sık rastlanılan mutasyonların multipleks PCR ile çoğaltılan DNA’da kolayca tanımlanmasını mümkün hale getirmiştir. Bu yöntemde normal ve mutasyonlu problemler membrana emdirilmiştir. Genomik DNA ile hibridizasyon sonucunda normal ve mutant paralel bantlar değerlendirilerek tanı konur. Ülkemizde rastlanılan alfa globin ve beta globin mutasyonlarının büyük kısmını (%90-95 oranında) kapsayan ticari kitler bulunmaktadır (Viennalab StripAssay) (Şekil 10 (34)). Bu klasik metodun prensiplerine dayanan micro-array teknolojisinin kullanıldığı tanı yöntemleri de uygulanmaktadır(5).



Şekil 10. Beta talaseminin moleküler tanısında kullanılan Strip Assay. Test ile saptanabilen mutasyonlu ve normal allelleri gösteren bantlar

2.6.1.2. Amplifikasyon Refrakter Mutasyon Sistemi (ARMS)

Bu yöntemde tanı konulması istenen DNA dizisi ile tam uyum gösteren primer ile yapılan PCR reaksiyonunda başarılı olur iken, 3' ucunda dizi ile uyum göstermeyen primer ile PCR reaksiyonunun başarılı olmamasına dayanır. ARMS yöntemi için çok sayıda farklı primerler düzenlenmiştir. Bu yöntem en çok kullanılan yöntemlerden birisidir. Bilinen mutasyonların tanısında hızlı ve pratik bir test olmasına karşın her primer için ayrı

standardizasyon gerektirir ve test koşulları iyi standardize edilemediği zaman yalancı pozitif ve yalancı negatif sonuçlar gözlenebilir (5).

2.6.1.3. Gap-PCR

Delesyon tipinde mutasyonları tayin etmede ideal yöntemlerdendir. Tam olarak sınırları bilinen delesyon şeklindeki mutasyonların saptanmasında kullanılır. Delesyonun olduğu DNA bölgesinde 5' ve 3' bölgelerinde bir kısım diziye uyan primerlerle bölge çoğaltılır. Çoğalan delesyonlu DNA bölgesindeki diziler normal ile kıyaslandığında daha küçüktür. Beta talasemiye neden olabilen nadir görülen β geni delesyonları, alfa talasemiye neden olan α genlerindeki delesyonlar, δ - β talasemiler, Hb Lepore tanısında kullanımı kolay ve ucuz bir yöntemdir. Allel drop-out oluşmasına yatkın bir yöntemdir (5).

2.6.1.4. DNA Dizi Analizi

Moleküler tanı koymada en güvenilir yöntemlerdendir. Daha çok nokta mutasyonlarının sık görüldüğü ve mutasyon dağılımı geniş olan toplumlarda β globin geni analizi için bazı laboratuvarlarda ilk yöntem olarak kullanılmaktadır. Ayrıca birçok laboratuvarında, diğer ucuz ve pratik tanı yöntemleri ile gösterilemeyen mutasyonları saptamak için uygulanmaktadır. Örneklerin hazırlanması ve sonuçların okunması özel beceri gerektirir. Dizi analizinde heterozigotların saptanmasında dikkatli bir gözle analiz yapılmalıdır. Delesyonların, özellikle büyük delesyonların bulunduğu, α talasemi gibi, hemoglobin bozuklukları için uygun değildir (5).

2.6.1.5. Denature Edici Yüksek Performanslı Likid Kromatografi (DHPLC) Yöntemleri ve Gradient Jel Elektroforezi (DGGE)

PCR ürününde bilinmeyen mutasyonların olduğu bölgeleri saptamada kullanılan yöntemlerdir. Her iki yöntem de jel üzerinde mutant ve normal allelin farklı hareket etmesi prensibine dayanır. Elde edilen sonuçlara göre mutasyonun saptanmasında başlıca dizi analizi olmak üzere bir diğer

yönteme gereksinim vardır. DHPLC metodu hem bilinen hem de bilinmeyen β geni mutasyonlarını saptamada güvenilir ve yüksek duyarlılıkta, nispeten ucuz bir tekniktir (5).

2.6.1.7. Quantitative Multiplex PCR of Short Fragments (QMPSF)

Kısa ekzonik dizilerin multipleks PCR ile çoğaltılmasına dayanan yarı kantitatif bir yöntemdir. Özellikle gen içindeki delesyon ve duplikasyonların saptanmasını sağlar (5).

2.6.1.8. Real-Time PCR

Günümüzde PCR reaksiyonlarında sıcaklık döngüleri sağlayan cihazların gelişimi ve flöresan ışıma tekniklerinin kullanılması ile gen kopya ürünlerinin düzeylerini sayısal değerde ölçmek ve devam eden PCR reaksiyonuna gerçek zamanlı (real time olarak) müdahale etmek mümkün olmuştur. Bu teknoloji “flöresan kantitatif RT-PCR”, “kantitatif kinetik PCR” gibi çeşitli adlarla da isimlendirilmektedir. Hedef DNA dizisini hem çoğaltan hem de kantifiye eden bir laboratuvar yöntemidir. Hemoglobinopatilerin tanısında pratik ve güvenli bir teknik olarak rutin uygulamaya hızla girmektedir. Normal alleli ve mutasyonlu alleli gösterecek problemler farklı erime dereceleri gösterecek şekilde düzenlenir. Tek nükleotid mutasyonlarında elde edilen normal ve mutant alleli gösteren eğriler arasında genellikle 5-10 derecelik bir farklılık olur. Böylece mutant ve normal alleller kolaylıkla ayırt edilebilir.

2.6.1.9. Multiple Ligation Probe Analysis (MLPA)

Delesyon tipinde mutasyonları saptamada Southern blot, FISH ve gap-PCR gibi zaman alıcı ve zor tekniklerin yerini almaktadır. Son yıllarda hızla rutin kullanıma girmiş olan ucuz ve pratik bir yöntemdir. Hedef bölgedeki kopya sayısı değişikliklerini saptama esasına dayanır. Hedef bölgeye çok sayıda probun hibridize edildikten sonra, bu hibridize edilen problemlerin

universal-tag PCR problemleri kullanılarak kantitatif PCR ile çoğaltılmasına ve elde edilen fragmentlerin özel bilgisayar programları kullanılarak analiz edilmesine dayanır. α ve β gen bölgelerini kapsayan MLPA ticari kitleri üretilmiştir (5).

2.6.1.10. Yeni Nesil Dizi Analizi

Son yıllarda çok sayıda geni bir arada, tüm ekzonları veya tüm genomu dizileyebilen cihazlar geliştirilmiştir. Yakın gelecekte tüm globin genlerini, modifiye edici genleri bir arada dizileyerek daha ayrıntılı genomik bilgiye ulaşmak, fenotip için daha doğru öngöründe bulunmak mümkün hale gelecektir. Sonuç olarak, hemoglobinopatilerin moleküler genetik tanısında kullanılan birçok yöntem geliştirilmiş ve geliştirilmektedir. Bazen tanıda yukarıda sayılan yöntemlerden birden fazlasının kullanılması gerekebilir. Tanıda kullanılacak yöntemin/yöntemlerin saptanmasında analiz yapılacak hasta veya taşıyıcılarda fenotipik bulguların ve hematolojik parametreler ile hemoglobin elektroforezi sonuçlarının iyi değerlendirilmesinin yanı sıra toplumda sık rastlanılan mutasyonların ve her laboratuvarın özel koşullarının da dikkate alınması gerekir (5).

2.7. Beta Talasemi Majör Tedavisi

Beta talasemi majör'ün tedavisinde eritrosit transfüzyonu, demir şelasyon tedavisi, splenektomi yapılabilir. Tek küratif tedavisi ise kök hücre transplantasyonu (KHT) dur.

2.7.1. Eritrosit Transfüzyonu

Beta talasemi majör tedavisinde öncelikle eritrosit transfüzyonu uygulanır. Yapılan eritrosit transfüzyonunun amacı; doku oksijenlenmesini sağlayacak, büyümeyi engellemeyecek, kemik iliğindeki inefektif eritropoezi baskılayabilecek hemoglobin düzeyinin sağlanmasıdır. Beta talasemili hastalarda ilk transfüzyon öncesinde yapılması gereken tetkikler; belirli aralıklarla Hb ölçümü ve G6PD enzim düzey tayini, eritrosit Rh (D,C,c,E,e) ve

Kell antijenleri tayini, HBsAg, anti-HBs, anti-HCV, anti-CMV ve anti-HIV tayinidir. Hemoglobin seviyesi, enfeksiyon gibi Hb düzeyini düşürebilecek ek bir faktör olmaksızın 7 gr/dl'nin altına iner ve 1 hafta içinde kendiliğinden yükseliş göstermezse veya hemoglobin seviyesine bakılmaksızın, büyüme ve gelişme geriliği, talasemik yüz değişikliği, ilerleyici splenomegali olan hastalarda transfüzyon başlama kararı alınmalıdır. Beta talasemi majörlü hastalarda hipertransfüzyon tedavisi önerilmektedir. Hipertransfüzyon tedavisinde; transfüzyon öncesi hemoglobin düzeyinin 9-10 g/dl'nin altına indirilmeden, ortalama 12 g/dl civarında tutulması ve mümkün olduğu kadar genç eritrosit (7 günden kısa) verilmesi önerilmektedir. Transfüzyon sonrası Hb 15 g/dl'yi aşmamalıdır. Transfüzyon hızı 4-5 ml/kg/saati geçmemelidir. Özellikle kardiyak sorunu olan hastalarda volüm yükü dikkate alınmalıdır. 10-20 ml/kg olacak şekilde, 3-4 hafta aralıklarla, lökosit azaltılmış ($<1 \times 10^6$ /ünite) eritrosit süspansiyonu verilmelidir. Hastalarda transfüzyona bağlı olarak demir birikimi oluşur ve bu nedenle şelasyon tedavisi önerilir.

2.7.2. Demir Şelasyon Tedavisi

Demir şelasyon tedavisinin amacı; vücutta demir birikiminin önlenmesi, mevcut demir birikiminin azaltılması ve böylece artmış vücut demir birikimine bağlı komplikasyonların önlenmesidir (1). Demir birikimine bağlı olarak kalp yetmezliği, siroz, karaciğer kanseri, büyüme gelişme geriliği ve multiple endokrin anormallikler (hipofiz hasarı, hipogonadizm, boy kısalığı, puberte gecikmesi, diyabet, hipotiroidizm, hipoparatiroidizm) (13). Hasta düzenli transfüzyonun birinci yılını doldurduğunda ve/veya 12-15 transfüzyon sonrası ve/veya serum ferritini 1000ng/ml düzeyine ulaştığında demir şelasyonunun başlanması önerilmektedir. Beta talasemi majörlü hastalarda demir birikimi; serum ferritin düzeyinin ölçülmesi, karaciğerde demir birikiminin ölçülmesi ve kardiyak demir birikiminin ölçülmesi ile takip edilir. Ferritin, vücut demir depolarını indirek olarak gösteren, en ucuz, en kolay ve en sık kullanılan yöntemdir. Serum ferritin düzeyine en az 3 ay aralıklarla bakılması ve 500-1000 ng/ml düzeyinde tutulması önerilmektedir. Ferritinin; akut faz reaktanı olması ve bu nedenle inflamatuvar durumlardan etkilenmesi, ayrıca vücut demir birikimini indirek olarak göstermesi nedeni ile diğer yöntemlerin

uygulanamadığı durumlarda veya diğer yöntemlere paralel olarak kullanılması önerilmektedir. Karaciğer biyopsisi ile karaciğer dokusunda demir miktarının ölçülmesi; vücut demir depolarını göstermede altın standart yöntemdir. Hedef, karaciğer demirini 3-5 mgFe/g kuru karaciğer ağırlığında tutacak şekilde şelasyon tedavisini sürdürmektir. İnvaziv bir işlem olması, her merkezde kolaylıkla uygulanamaması nedeni ile pratikte önerilmemekte ve genellikle transplant öncesi hastalarda yapılmaktadır. Karaciğerdeki demir birikimi, Superconducting Quantum Interference Device (SQUID) ve Karaciğer MRI ile ölçülmektedir. SQUID; karaciğer demir yoğunluğunun doğrudan ölçümü için başarılı, non-invaziv bir teknik olmasına rağmen pahalı ve uygulanması zor bir tekniktir. Karaciğer MRI-R2; karaciğer demir birikimini indirek olarak ölçen etkili bir yöntemdir. Birçok merkezde yapılması mümkün, invaziv olmayan bir yöntem olması nedeni ile yılda bir kez ya da tedavi değişikliği yapıldığı zaman ölçülmesi önerilmektedir. Kardiyak demir birikimi Kardiyak MRI (T2*) ile ölçülür ve kalpte demir birikimini gösteren hassas bir yöntemdir. Uygulanabilen merkezlerde 10 yaşın üzerindeki hastalarda ölçüme başlanması ve düzeyin şelasyon tedavileri ile >20 ms üzerinde tutulması amaçlanmaktadır. Değeri >20 ms olan hastalarda her 2 yılda bir, 10-20 ms ise yıllık, <10 ms ise 6 aylık, kardiyak fonksiyon bozukluğu olan hastalarda ise her 3 ayda bir yapılması önerilmektedir. Beta talasemi majörlü hastalarda demir şelatör seçenekleri; Desferrioksamine (Desferal®, DFO), Deferiprone (Ferriprox®, DFP), Deferasiroks (Exjade®, DFX) ve kombinasyon tedavileridir (1). Klinik gelişim basamaklarında bir diğer demir şelatörü SP-420 (Sideris) faz-Ib, SPD-602 (Shire), Luspatercept (ACE-536) ve Sotatercept (ACE-011) için faz-II, çalışmalar sürmektedir (35). DFO 1980'lerden beri standart referans tedavi iken, DFP, özelliklev DFO'nun yetersiz, tolere edilemez ve kabul edilemez olduğu transfüzyona bağlı demir birikimi bulunan beta talasemi major olgularında şelasyon seçeneği olarak 1999'da EMEA ve 2011'de FDA onayı almıştır. DFP ile 10 yaş altı çocuklarda deneyim sınırlıdır. DFX ise 2 yaş üzeri hastaların transfüzyonel demir birikiminin tedavisinde 2005 yılında FDA ve ardından EMEA onayı almıştır. DFX için EMEA onayı >5 yaşta ilk seçenek, 2-5 yaş çocuklarda ise DFO'dan sonra 2. seçenek olarak verilmiştir. Ülkemizde her üç şelatör ilk seçenek olarak kullanılabilmek üzere onaylıdır (Tablo 8) (36).

Tablo 8. Demir şelatörlerinin özellikleri

Özellikler	Desferrioksamin	Deferipron	Deferasiroks
Şelatör: demir kompleks	Hekzadentate (1:1)	Bidentate (3:1)	Tridentate (2:1)
MA, hidro/lipofilik	559, hidrofilik	139, lipofilik	373, lipofilik
Doz	20-60 mg/kg/gün	75-100 mg/kg/gün	10-40 mg/kg/gün
Uygulama şekli	s. c., i. v. 8-12 saat infüzyon 5-7 gün/hafta	oral, 3 dozda	oral, tek dozda
Yarılma ömrü	20-30 dakika	2-3 saat	8-16 saat
Atılımı	idrar, dışkı	idrar	dışkı
LPI kontrolü ²²	evet (devamlı infüzyon ile)	evet (doz aralarında rebound)	evet
Karaciğer demirini uzaklaştırma	Evet ²³	daha az etkin ²⁶	Evet ²⁵
Labil hücre havuzuna giriş	Gecikir ²⁴	hızlı penetrasyon ve bağlanma ^{27,28}	hızlı penetrasyon ve bağlanma ^{27,28}
Kardiyak demiri uzaklaştırma	Hergün, uzamış (24 saat) infüzyon ^{25,17}	standart DFO'dan üstün ²⁹	DFO'dan üstün olma eğilimi ³⁰

-Desferrioksamin (DFO), erken çocuklukta 40 mg/kg/gün, haftada 5 gün bir pompa aracılığıyla 8-12 saat sc (subkutan) infüzyonla uygulanmasının devam eden transfüzyona bağlı demir birikimini uzaklaştırmada yeterli olduğu yapılan çalışmalarda gösterilmiştir. Çocuk büyüdükçe, kilosu ile orantılı olarak 40-50 mg/kg/gün dozların haftanın 5-7 günü uygulanması önerilmektedir. Bu uygulamanın, serum ferritin ve/veya karaciğer demir yükü temelinde DFO doz titrasyonunun yapıldığı olgularda şelatör toksisitesine neden olması beklenmemektedir. Epidemiyolojik veriler, düzenli ve yeterli DFO şelasyonunun hepatik fibrozisi ve endokrin komplikasyonların prevalansını ve kardiyak hastalık riskini azalttığı, yaşam süresini anlamlı olarak uzattığını göstermektedir. DFO'nun günlük dozunun ikiye bölünmüş dozda sc bolus enjeksiyonunun beta talasemi majörlü hastalarda benzer üriner demir atılımı sağladığı ve 1 yıl süreli prospektif karşılaştırmalı çalışmada, serum ferritin ile karaciğer demir birikiminde,

konvansiyonel uygulama ile benzer ve anlamlı azalma sağladığı gösterilmiştir. Bu yöntemin DFO kullanımına uyumu iyileştirebileceği düşünülse de lokal yan etkilerin artması nedeniyle yaygın kullanıma girmemiştir. DFO'nun lineer büyümede bozulma, ototoksisite (simetrik yüksek frekanslarda işitme kaybı), retinopati (görme keskinliğinin bozulması, görme alanı kaybı, renk körlüğü) gibi yan etkileri genellikle düşük serum ferritin seviyelerinde (50 mg/kg) ortaya çıkmaktadır. Yersinia entrokolitika enfeksiyonu, DFO sırasında ateş, boğaz ağrısı, abdominal kramp, enterokolit geliştiren olgularda düşünülmelidir. Bu olgularda hızla etkin antibiyotik başlanması, yaşamı tehdit edebilen sepsis ve şoku önleyebilir (36).

-Deferipron (DFP), standart olarak 75 mg/kg/günlük doz, üçe bölünerek uygulanır. Ancak bu dozlar ile transfüzyona bağımlı olguların %18 ile %33'ünde serum ferritin seviyeleri yükselmiştir. Bu dozlarda, karaciğer demir yükünde anlamlı düşüş bildirilmekle beraber, bir çalışmada olguların %62'sinde karaciğer demir yükünde azalma izlenmemiştir. Bu gözlemler, standart dozların transfüzyona bağımlı bir kısım olguda negatif demir dengesini sağlamada yeterli olmadığı ve daha yüksek (100 mg/kg/ gün'e kadar) şelatör dozlarına gereksinim olabileceğini göstermiştir. Kardiyak siderozisli beta talasemi major olgularında, standart DFO (43 mg/kg/gün sc haftada 5,3 gün) ve yüksek doz DFP'nin (92 mg/kg/gün) karşılaştırıldığı randomize çalışmada; DFP, karaciğer demir yükünü azaltmada daha az etkin iken, DFP'nin yüksek dozlarının, kalp demir birikimini ve ventrikül fonksiyonlarını iyileştirmede, standart DFO'dan anlamlı olarak daha etkin olduğu gösterilmiştir. Retrospektif analizler, beta talasemi majörlü olgularda yaşam sürelerinde uzama ve kardiyak morbidite ve mortalitede azalmayla DFP kullanımı arasındaki ilişkiye işaret etmektedir. DFP ile 2-10 yaş arası çocuklardaki sınırlı çalışma, DFP'nin 75 mg/kg/gün dozlarının yetersiz kaldığı olgularda, agranülositoz, trombositopeni gibi ciddi yan etkileri açısından yakın izlem ile, 100 mg/kg/güne varan dozlarda kullanımını veya DFO ile kombine uygulanmasını önermektedir. Demir yükünü kontrol altına almada DFP'nin yüksek dozlarının yeterli olamadığı ya da yüksek DFP dozlarının tolere edilemediği olgularda, günlük DFP'nin, DFO ile kombinasyonu, şelasyon etkinliğini ve uyumunu artırma yönünden potansiyel avantaj taşımaktadır.

Klinik çalışmalarda, her iki şelatör, çeşitli dozlarda (DFP; 50-100 mg/kg/gün, DFO 25-60 mg/kg/ gün) ve DFO'nun değişik sıklıkta (2-7 gün/hafta) ve infüzyon süresinde (8- 24 saat, sc veya iv) uygulanmıştır. Klinik pratikte genellikle, DFP her gün alınırken, demir birikiminin şiddetine göre DFO haftanın 2-7 günü sc uygulanmaktadır. Kardiyak hastalıkta, DFO'nun 24 saat devamlı infüzyonu, şelasyon etkinliğini maksimize etme ve toksik demiri kontrol altına almak için önerilmektedir. DFP'nin en ciddi yan etkisi hastaların %0,5-3,6 sıklıkla ortaya çıkan agranülositozdur ($ANC < 0,5 \times 10^9/L$). DFP'nin sonlandırılmasıyla nötrofil sayısı normale dönmekle beraber, yaşamı tehdit eden ciddi enfeksiyon, sepsis ve ölüm nedeni olabilmektedir. Bu nedenle, DFP tedavisinin ilk yılında, haftalık kan sayımı izlemi ile agranülositoz gelişen olgularda, şelatörün kalıcı olarak sonlandırılması önerilmektedir. Gastrointestinal yan etkiler (bulantı, kusma, karın ağrısı), artropati, karaciğer enzim artışı ve özellikle diyabetik olgularda çinko eksikliğinin gelişimi diğer yan etkileridir.

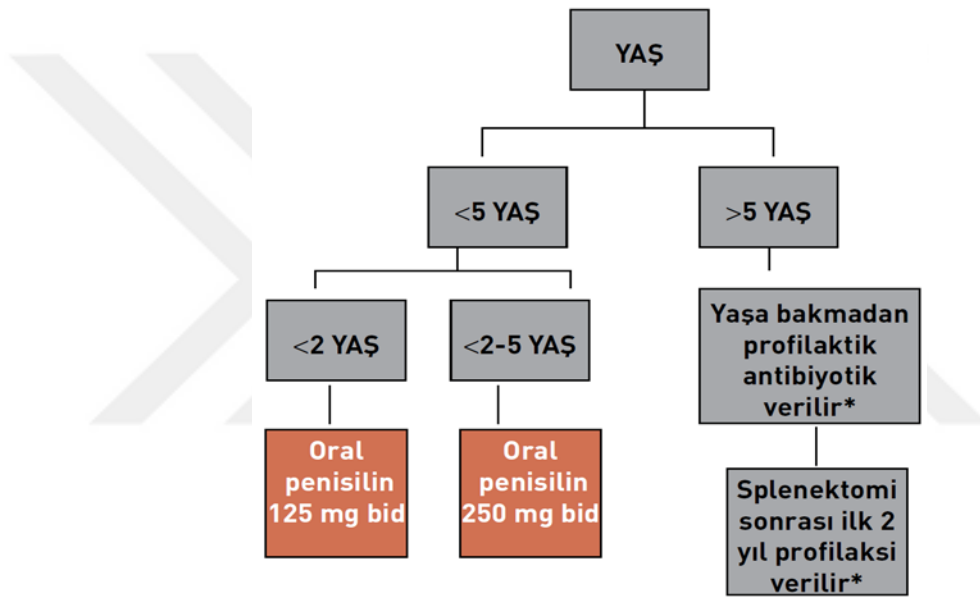
-Deferasiroks (DFX), 2 yaş üzeri transfüzyonel demir yükü olan hastaların şelasyonunda lisans aldıktan sonra, uzun süreli prospektif çalışmalara kadar geçen sürede, şelatörün klinik pratik uygulamalarıyla desteklenen geniş bir deneyim oluşmuştur. DFO'dan DFX'e geçişte, genellikle hastaya uygulanan DFO dozunun yarısı DFX başlangıç dozu olarak (örnek; DFO 40 mg/kg/gün karşılığı olarak DFX 20 mg/kg/gün) öngörülebilir. Her ne kadar başlangıç için önerilen doz 20 mg/kg/gün ise de devam eden yüksek transfüzyonel demir yükünde, negatif demir dengesini sağlamak için daha yüksek dozlara gereksinim olabilmektedir. Aylık serum ferritin izlemi ve güvenlik parametreleri dikkate alınarak, üç ay aralarla 5-10 mg/kg/gün doz ayarlamasıyla 40 mg/kg/gün dozlara kadar çıkılması önerilir. DFX ile 5 yıllık prospektif izlem, hastaların %50'sinde serum ferritin düzeylerinin $< 1000 \mu g/L$ düzeyine gerilediğini göstermiştir. Karaciğer demir yükünde en fazla düşüş 30 mg/kg/gün başlangıç dozunda gözlenmiştir. Prospektif alışmalar, masif demir birikimi olan olgularda DFX'in > 30 mg/kg/gün dozlarının (maksimum 40 mg/kg/gün) terapötik hedefe ulaşabilmek için gerekli olabildiğini desteklemektedir. Kardiyak siderozisi olmayan hastalarda, 20-30 mg/kg/gün DFX dozlarının, karaciğer demir

yükünü azaltırken, kalp demir birikimini önlediği gösterilmiştir. Buna karşın, kardiyak siderozis yanı sıra şiddetli karaciğer demir yükü bulunan hastalarda >30 mg/kg/gün (maksimum 40 mg/kg) DFX dozlarında, kalp demirinde sürekli ve anlamlı iyileşmenin yanı sıra, karaciğer demir yükünde anlamlı azalma gözlenmiştir. Kardiyak siderozisli beta talasemi majörlü olgularında, DFX (40 mg/kg/gün), DFO (50-60 mg/kg/gün için 5-7 gün/hafta) ile karşılaştırıldığında, kalp demirini iyileştirmede DFX'in DFO'dan üstün olma eğilimi değerlendirilmiştir. DFX tedavisi ile karaciğer fibrozisinin 3 yıllık izlemde beta talasemi major olgularının %83 azaldığı veya stabilize olduğu gözlenmiştir (36). Prospektif bir çalışmada DFX'in beraberinde haftanın 3-7 günü sc uygulanan DFO'nun anlamlı bir toksisite oluşturmadığı, karaciğer demir yükünde de hızlı bir azalmanın yanı sıra kardiyak sideroziste iyileşme sağladığı gözlenmiştir (37). DFX şelasyonu alan çocukların normal büyüme ve gelişmeyi sürdürdükleri prospektif çalışmalarla gösterilmiştir. Şelatörün en sık yan etkileri; gastrointestinal (bulantı, kusma, karın ağrısı, diyare) etkiler, geçici cilt döküntüsü ve karaciğer enzimlerinde dalgalanmalardır. Daha az sıklıkla, lentiküler opasite, nörosensoriyal işitme kaybı bildirilmektedir. En ciddi yan etkisi ise, DFX tedavisinin ilk aylarında beliren, ılımlı, ilerleyici olmayan serum kreatinin artışıdır. Bu yan etki genellikle kendiliğinden başlangıç seviyelerine gerilemektedir. Ancak serum kreatinin seviyelerinin bir erişkin hastada başlangıç düzeyinin >33% üzerine çıkması veya pediatrik hastada normalin üst sınır değerinin üzerine çıkması 5-10 mg/kg doz azaltılmasına gereksinim göstermektedir. Progresif yükseliş devam ederse, şelasyonun durdurulup, serum kreatinin bazal seviyelere geriledikten sonra daha düşük şelatör dozlarında başlatılması uygun olacaktır. Serum kreatinin, proteinüri ve karaciğer enzimlerinin aylık monitorizasyonu uygundur (36).

2.7.3. Splenektomi

Talasemi hastalarının çoğunda splenektomi gereksinimi olmaktadır. Transfüzyona bağımlı beta talasemi majorlu hastalarda splenektominin temel amacı kan yıkımını ve transfüzyon gereksinimini azaltmak ve bunun sonucunda da demir yüklenmesini önlemeye çalışmaktır (13). Beta talasemi majörlü olgularda splenektomi; geç hemolitik transfüzyon reaksiyonu yokken

ve eritrosit süspansiyonu kalitesi yeterliyken, transfüzyon öncesi hemoglobin değerini 9-9.5 g/dl arasında sürdürmek için gerekli yıllık kan tüketimi 250 ml/kg eritrosit süspansiyonu üzerinde olan hastalarda ve hipersplenizm bulguları olan hastalarda önerilmektedir (1). Splenektomi, çocuklarda fatal enfeksiyon riski nedeniyle erken çocukluk çağında önerilmemektedir. Bu işlem genellikle beş yaşından sonra yapılmalıdır. Splenektomiden 3-6 hafta önce pnömokok, hemofilus influenza, meningokok aşılı yapılmalı, splenektomi sonrasında ise oral ya da parenteral penisilin profilaksisi sürdürülmelidir (Şekil 11) (13).



Şekil 11. Splenektomili hastalarda kemoprofilaksi

2.7.4. Hematopoetik Kök Hücre Transplantasyonu

Talasemi major'ün günümüzdeki tek küratif tedavi yöntemi hematopoetik kök hücre transplantasyonu (HKHT)'dur (13). Hematopoetik kök hücre transplantasyonu vericinin hasta dışında birisi olması durumunda "allojenik" ve kök hücre kaynağının hastanın kendisi olması durumunda "otolog" olmak üzere temel olarak iki tipe ayrılır. Talasemi hastalığında hastalığın nedeninin hastanın kendi kök hücrelerinin talasemik eritrositler üretmesi olduğu için otolog-HKHT bir seçenek olamamaktadır. Allojenik-HKHT ile talasemi hastalığına neden olan anormal hematopoietik kök hücrelerinin tamamen yok edilmesi ve sonrasında sağlıklı veya taşıyıcı

kişilerden alınarak verilen hematopoietik kök hücreler ile yeniden ve sağlıklı olarak kan yapımının (hematopoez) sağlanması amaçlanmaktadır. Hastaya başka kişilerden verilecek olan kök hücrelerin hasta tarafından reddedilmeyerek yeniden hematopoezi sağlayabilmesi (engraftman) ve hastada immunolojik sorun (Graft Versus Host Hastalığı-GVHH) yaratmaması için verici ile alıcının doku antijenlerinin uyumlu olması önemlidir. Bu nedenle allojenik transplantasyon için en uygun verici, doku tipi uygunluğu şansı daha yüksek olabilen hastanın kardeşi olmaktadır.

Ancak HKHN gerektiren hastaların sadece yaklaşık %30'u için doku tipi tam uygun kardeş veya aile içi bir verici bulabilmek mümkün olmaktadır. Bu tür transplantasyonlar “aile içi (related)” allojenik-HKHN olarak sınıflandırılır. Aile içi uygun verici bulunamadığı takdirde de tüm dünyada günümüzde 25 milyonu aşan sayıda “kemik iliği gönüllü vericileri” veya dünyada 600 bini geçen “kordon kanı” arasından doku tipi uygun bir verici bulunmaya çalışılır. Bu tür aile dışı donörlerden uygulanan transplantlar ise “unrelated allojenik-HKHN olarak adlandırılır. Bir talasemi hastası için doku tipi uygun verici bulunduktan sonra bu kişiden transplantasyon için gerekli olan hematopoietik kök hücreler “kemik iliği”, “periferik kan” ve “kordon kanı” olmak üzere üç farklı kaynaktan elde edilebilir (38).

Günümüzdeki bilimsel verilere dayanılarak transfüzyona bağımlı tüm talasemi hastaları için şayet doku tipi tam uygun aile içi vericisi varsa demir birikimine bağlı doku hasarları gelişmeden önce çocukluk çağının erken döneminde HKHN'nin uygulanması standart bir tedavi yaklaşımı olarak önerilmektedir. Doku tipi uygun aile içi vericisi olmayan talasemi hastaları için ise aile dışı tam uyumlu vericiden HKHN uygulanması genellikle demir şelasyon tedavisine uyum sağlamayan ve kalp ve karaciğer gibi organlarda ciddi demir birikimi olduğu gösterilmiş hastalar için önerilmektedir (39). Günümüzde, aile içi vericisi olmayan tüm beta talasemi majör hastalarında akraba dışı verici ile de nakil düşünülebilmektedir.

2.7.5. Hematopoetik Kök Hücre Transplantasyonunda Graft Fonksiyonu

Allojenik kök hücre nakillerinde (Allo-KHN) hazırlık rejimini izleyen aplazi sonrası donör lenfohematopoietik hücrelerinin alıcıda yerleşmesi ve yeni kan hücrelerinin oluşması “engraftman (yamanma)” olarak isimlendirilir. Engraftmanın sağlanması, nakil sonrası erken dönemde greft fonksiyonunun değerlendirilmesi için göstergedir ve aşağıdaki kriterlerin oluşması ile gerçekleşir:

-Nötrofil engraftmanı: Parçalı nötrofil sayısının ardışık 3 gün $>500/\text{mm}^3$ (G-CSF kullanılıyorsa $>1000/\text{mm}^3$) olduğu ilk gündür.

-Trombosit engraftmanı: 7 gün trombosit desteği olmadan trombosit sayısının ardışık 3 gün $>20.000/\text{mm}^3$ ve bunu izleyen günlerde $>50.000/\text{mm}^3$ olduğu ilk gündür.

Engraftman süresi; nakil sonrası 7-21 gün arasında değişir. 21 günü aştığında “engraftman gecikmesi”, 40 günü aştığında ise “engraftman başarısızlığı” söz konusudur. Engraftman yetersizliği; erken (primer) ya da geç (sekonder) olabilir. Nakil sonrası engraftman olduktan sonra greftin kaybedilmesi; geç greft yetersizliği (greft reddi) olarak isimlendirilir. Graft reddi talasemik rekonstitüsyon (otolog geri dönüşüm) ile düzelebildiği gibi, aplazi ve pansitopeni ile de sonlanabilir (40).

2.7.5.1. Erken Greft Fonksiyonuna (Engraftman) Etki Eden Faktörler

-Hazırlık Rejimi (HR): Nakil öncesi verilen tedavilerin dozları engraftman oluşumunda rol oynar. Miyeloablatif HR'leri ile yapılan nakillerde nonmiyeloablatif (NMA) ya da yoğunluğu azaltılmış HR'li nakillere göre engraftman süresi daha uzundur.

-Kök Hücre Kaynağı (KHK): Günümüzde KHK olarak kemik iliği, çevre kanı ve kordon kanı kullanılmaktadır. Periferik kandan yapılan nakillerde nötrofil ve trombosit engraftmanı diğer KHK'larına göre daha erken (sırasıyla 2-6 gün ve 5-8 gün) olmaktadır. Bu durum çevre kanına mobilize edilmiş kök hücre ya da öncül hücre sayısının diğer KHK'daki hücrelerden daha fazla olması ile açıklanır.

-Graft'teki kök hücre (CD34+) sayısının hastanın kilosuna göre yeterli olmaması: Allo-KHN'de verilen donör kaynaklı kök hücre sayısı hastanın kilosuna göre hesaplanır. Tablo 9'da alıcıda engraftman olmasını sağlamaya yetecek hücre sayıları kök hücre kaynaklarına göre belirtilmiştir.

Tablo 9. Engraftman sağlayacak donör kaynaklı hücre sayıları

Kaynak	Volüm	T. Çekirdekli hücre sayısı	CD34+hücre sayısı	CD34+hücre sayısı	T hücre sayısı
Kemik iliği	10-20 ml/kg.	2-3x10 ⁸ /kg	2-3x10 ⁶ /kg	2-3x10 ⁶ /kg	25x10 ⁶ /kg
Çevre kanı	150-400ml.	9-10x10 ⁸ /kg	5-10x10 ⁶ /kg median: 7x10 ⁶ /kg	5-10x10 ⁶ /kg median: 7x10 ⁶ /kg	27x10 ⁶ /kg
Kordon kanı	80-160ml.	0.3x10 ⁸ /kg	median 0.2x10 ⁶ /kg	median 0.2x10 ⁶ /kg	4x10 ⁶ /kg

-Graft Versus Host Hastalığı (GVHH) ve profilaksisinde kullanılan ilaçlar: GVHH, Allo-KHN'lerinin başarısını engelleyen başlıca faktördür. GVHH'nin etkilediği başlıca organlar; deri, karaciğer, gastrointestinal sistem ve akciğerlerdir. Bununla beraber GVHH'nin kemik iliğini de etkilediğini düşündüren bir miyelosüpresyon gelişebilir. Shono ve ark. tarafından yapılan çalışmada GVHH'nin hematopoietik öncül hücreleri etkilemediği, ancak engraftmanı destekleyen kemik iliği mikroçevresinde değişiklikler oluşturduğu ileri sürülmüştür. Bu çalışmada GVHH ile ilişkili hematopoezdeki duraklamanın alloreaktif CD4+ T hücrelerinin kemik iliğindeki osteoblastik hücre kompartmanlarına (nişlere) saldırısı ile olduğu gösterilmiştir. Fas-Fas ligand etkileşimleri ile oluşan bu osteoblast harabiyeti hematopoezi destekleyen kemik iliği mikroçevresinin bütünlüğünün kaybolmasına yol açar (40). GVHH profilaksisinde özellikle uzun süreli metotreksat (+11 ve +21) kullanılmasına bağlı nötrofil engraftmanının uzadığı bilinmektedir (41).

2.7.5.2. Sekonder (Geç) Graft Fonksiyonuna Etkili Faktörler

Allo-KHN'den sonra gelişen geç sitopeniler ciddi komplikasyonlardır. Etyolojisinde; miyelotoksik ajanlar (gansiklovir, trimetoprim- sulfametaksazol, mikofenolat mofetil-MMF gibi), virus infeksiyonları, hazırlayıcı rejim, kök hücre kaynağı ve verilen CD34+ hücre sayısı gibi nakille ilişkili faktörler yer alır (40). Nakamea ve ark. HKHN yapılan 1818 hastada nakil sonrası +28.

günden sonra oluşan sitopeni nedenlerini araştırmışlardır. Bu hastaların %39'unda sitopeninin en az bir şekli oluşmuştur. Sitopeni gelişen olguların %6'sında sadece trombositopeni, %7'sinde anemi, %7'inde ise pansitopeni görülmüştür. Nakil sonrası geç dönemde gelişen nötropeni için başlıca risk faktörleri; ileri hasta yaşı (>40 yaş), alıcıda CMV(sitomegalovirüs) pozitifliği, CMV riski yüksek hastalar, akraba dışı nakiller, nonmiyeloablatif HR ile nakil, GVHH profilaksisinde MMF kullanımı ve nakledilen CD34+ hücre sayısı ($<6.4 \times 10^6/\text{kg}$) olarak belirlenmiştir (42).

Bruno ve ark. ise miyeloablatif HR'li nakillerde; akraba dışı donörden nakil, II-IV.derece akut GVHH, böbrek yetmezliği, HR'nde Busulfan+Siklofosfamid veya total vücut ışınlaması kullanımı, nakledilen CD34+ kök hücre sayısı ve infeksiyonların sekonder trombositopeni oluşturabilen etmenler olduğunu gösterdiler (43).

2.7.6. Kimerizm

Kimerizm, genetik olarak farklı olan iki hücre serisinin aynı organizmada bulunması durumunu ifade eder. Kimerizm sözcüğü Yunan mitolojisinde yer alan ve Likya'da yaşayan, aslan başlı, keçi gövdeli, şeytan kuyruklu, ağzından ateş saçan kimera "Chimera" adlı bir canavardan köken almıştır. Tıp literatüründe Kimera ilk kez 1951'de Anderson ve ark. tarafından 2 farklı zigot serisinden köken alan bir organizmayı tanımlamak için kullanılmıştır. Transplantasyonda ise ilk kez 1956'da Ford ve ark. tarafından total vücut ışınlamasından sonra hematopoietik KHT yapılan bir hayvanın taşıdığı yabancı hematopoietik sistemi tanımlamak için kullanılmıştır. Kan transfüzyonları, kök hücre nakilleri, solid organ nakilleri, in vitro fertilizasyon gibi tedavi seçeneklerinde edinsel kimerizm ortaya çıkabilir ve geçici ya da kalıcı kimeraların oluşmasına sebep olabilir.

Hematopoietik KHT'de kimerizm, Allo-KHN'den sonra donör kaynaklı lenfohematopoietik hücrelerin alıcıda bulunması şeklinde tanımlanır. Kimerizm, Allo-KHN'lerinden sonra greftin kabulü ya da reddinin takibinde yol göstericidir.

2.7.6.1. Kimerizm Tipleri

Allo-KHN'den sonra görülen kimerizm donör ve/veya alıcıdan köken alan hücrelerin varlığına göre değişik şekillerde gelişebilir. Genel olarak alıcının hematopoietik dokularında donör kaynaklı hücrelerin >%95 bulunması "Tam Kimerizm (TK)", "Complete Chimerism/Full Chimerism"; %5-95 arasında bulunması ise "Karma Kimerizm (KK)", "Mixed chimerism" olarak ifade edilir. Nakil sonrası gelişen kimerizm dinamik bir olaydır. Tam kimerik bir olgu KK hale gelebilir veya bunun tam tersi de olabilir. Karışık kimerizimli olgularda ise hastaya (alıcıya) ait otolog kök hücre miktarı artabilir ya da azabilir (Artan KK, azalan KK) ya da stabil (sabit) kalabilir. Azalan KK; ardışık ölçümlerde konakçı hücrelerinin azalması ve verici tipi hücrelerin artışı ile karakterizedir. Kullanılan yöntemle göre ardışık ölçümlerde >%5-10 azalma anlamlı olarak değerlendirilir ve olumlu bir göstergedir. Artan KK ise; ardışık ölçümlerde konakçı hücrelerinin artması ve verici tipi hücrelerin azalışı, graft kaybı ile sonuçlanabilir. Kullanılan yöntemle göre ardışık ölçümlerde >% 5-10 artma anlamlı olarak değerlendirilir ve olumsuz bir göstergedir, graft kaybını yansıtır. Artan KK bazen sadece alıcı tipi hücrelerin oluşması ile sonlanabilir (Otolog geri dönüşüm). Sabit (stabil) KK; ardışık ölçümlerde alıcı ve verici tipi hücrelerin oranının belirgin değişkenlik göstermeyip sabit dengeli kalması durumudur. Bu tipin de kalıcı (persistan) hastalık kontrolünü sağlayan ve immünoterapi gereksinimi olmaksızın devamlılık gösteren geçici tipi ile, bir süre sonra artan KK ile gelişen ve nüksle sonuçlanan formları ayırt edilmelidir. Özellikle kalıtsal hematolojik hastalıklarda talasemik sendromlar, orak hücreli anemi olgularında rastlanan bir durumdur. Bir hücre tipinde (örn; T-hücreleri) verici tipi (TK), diğerlerinde ise total ya da kısmen alıcı tipi kimerizm olması Split Kimerizm olarak isimlendirilir. Mikrokimerizm ise %0.1-0.3 arasında verici tipi hücrelerin görülmesi ile gelişen bir KK durumudur. GVHH üzerine etkili olabilir (44).

2.7.6.2. Kimerizm Tayininde Kullanılan Yöntemler

Birçok yöntem geliştirilmiştir. Ancak kullanılan yöntemler aynı temel kurala dayanır; bu kural, polimorfik genetik belirteçler ve onların ürünlerindeki

farklılıkların tayinidir. Günümüzde Polimeraz zincir reaksiyonlarının (PCR) kullanıma girmesi ile insan genomlarında bulunan kısa tekrar bölgeleri “short tandem repeats-STR” veya değişen sayıda tekrar bölgelerinin “variable number of tandem repeats-VNTR” çoğaltılması mümkün olmuştur. Alıcı ve vericide yer alan STR lokuslarındaki allel farklılıklarına göre nakil sonrası kimerizm takibi yapılabilmektedir. Bu nedenle birçok merkez ticari olarak hazırlanmış kitler kullanmaktadır. Yakın zamanda RT-PCR “Real-time PCR” (Gerçek zamanlı PCR) ile Y kromozomunda yer alan SRY geninin tespiti ile cinsiyet farklı nakillerde donör hücrelerinin 1/100.000 duyarlılıkta ölçümü mümkün olmuştur. Daha sonra RT-PCR ile SNP “Single nucleotide polymorphism” adı verilen genomdaki allellerin tespiti kimerizm analizinde kullanılmaya başlanmıştır. Bütün bu teknikler arasında halen altın standart “PCR ile STR tayini”dir (Tablo 10) (40).

Tablo 10. Kimerizm ölçüm yöntemleri

<i>Teknik</i>	<i>Olumlu yönler</i>	<i>Olumsuz yönler</i>	<i>Duyarlılık/(%)</i>	<i>Kullanılabilirlik özelliği</i>
RFLP	Bilgilendirme oranı yüksek	Zaman alıcı, zor	5-10	iyi
Sitogenetik		Zaman alıcı	5-10	az
Eritrosit antijenleri	Basit güvenli	Eritrositler sınırlı	1-6	iyi
Eritrositlerde genotipleme	mRNA kullanımı ile güncel bilgi sağlar	DNA kullanılırsa yeterince dinamik değil	değişken	iyi
Akım sitometrisi ile yapılan ölçümler	Basit, güvenli	HLA uyumsuzluğu varsa uygulanabilir, mevcut antikörlerle sınırlı	0.1	iyi
X/Y FISH	Hücre sayısı artırılarak duyarlılık artırılabilir	Cinsiyet farkı gerekli	0-1-1	az
Floresan bazlı STR-PCR	Hızlı, güvenli, otomasyon mümkün, mitokondrial DNA ile duyarlılık artırılabilir	Duyarlılık orta düzeyde	1-5	iyi
STR-PCR Hücre alt gruplarında	Duyarlılığı yüksek	Zor, pahalı	0.1-0.001	iyi
RT-PCR	Hızlı, duyarlılık yüksek	SNP ile yalancı pozitiflikler sık Y krom ile duyarlılık	0.001-0.0001	orta-iyi Giderek artıyor

2.7.6.3. Kök Hücre Nakillerinde Kimerizm Testleri İçin Örnek Seçilmesi Ve Ölçümlerin Sıklığı

Kök hücre nakillerinde kimerizm testleri için periferik kan ya da kemik iliği örnekleri kullanılabilir. Kimerizm takiplerinde genellikle önerilen periferik kan kullanımıdır. Ancak akut lösemilerde hastalık kinetiklerinin çok hızlı

değişebilmesi nedeniyle kemik iliği örneklerinin de kullanılması önerilmektedir. Bu örneklerde kimerizm analizi genellikle total çekirdekli hücrelerde yapılmakla beraber ayrıştırılmış hücrelerde (T lenfosit, NK hücreleri, CD34+ hücreler, miyeloid hücreler, dendritik hücreler gibi) çalışma yapılarak hücre serilerine özgü sonuçlar elde edilebilmektedir (Tablo 11) (45).

Tablo 11. Örnek kaynağının ve hücre ayrıştırılmasının kimerizm analizi sonuçları üzerine etkisi

Hasta Örneği	Alıcı T hücresi (%)	Kimerizm sonucu yorumu
Ayrılmamış Kemik İliği	0.6	Verici tipi
Ayrılmamış Periferik Kan	2	Karma, seri belli değil
T hücreleri	20	Karma T hücreler
Granülositler	<1	Verici tipi myeloid hücreler

Kimerizm takibi için Allo-KHN'den önce alıcının çevre kanı örneklerinden DNA izolasyonu yapılmalıdır. Nakil öncesine ait örneklerin bulunmadığı durumlarda GVHH yok ise yanak içi mukozasından, GVHH olması halinde saç ya da kıl kökünden elde edilecek DNA kullanılmalıdır. Malign kan hastalıklarında yoğunluğu azaltılmış HR'li KHN yapıldığında kimerizm tipi GVHH veya greft kaybının erken göstergesi olabilir. Bu olgularda kimerizm ölçümlerinin daha sık aralarla (her 2-4 haftada bir) yapılması önerilmektedir. Çünkü bu olgularda KK saptandığında immünosüpressif tedavi sonlandırılarak Donör Lökosit İnfüzyonu'na (DLI) başlanmalıdır. Malign olmayan kan hastalıklarında ise kimerizm genellikle nakilden sonraki 1, 2 ve 3. aylarda tayin edilmelidir (40).

2.7.6.4. Kimerizm Tayininin Allo-KHN'de Kullanılan Hazırlık Rejimine Göre Önemi

-Miyeloablatif Allo-KHN den sonra kimerizm tayini: Eğer T-hücre uzaklaştırılmadan KHN yapılmış ise hastaların çoğu nakil sonrası TK olarak bulunur. Greftin içerdiği T-hücreleri graft versus lenfohematopoiezis etkisi oluşturarak TK gelişimini sağlar. Bu olgularda nakil sonrası erken dönemde rutin kimerizm ölçümü önerilmemektedir (40). Bununla beraber Lamba ve ark.'larının çalışmasında 80 hastada ayrıştırılmamış kök hücrelerle yapılan

miyeloablatif KHN den sonra +30., +90. günler ve 12. ayda kimerizm ölçümleri yapılmış, 30. günde olguların %23'ünde, 90. günde %28'inde ve 12. ayda %14'ünde KK saptanmıştır. +30. Günde yapılan kimerizm ölçümlerinin prognoza yönelik herhangi bir bilgi vermemesine karşın +90. günde bulunan KK durumunun yüksek nüks oranları ve tüm yaşam süresinde kısalma ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada miyeloablatif Allo-KHN'den sonra +30. günde engrafman olmadığı takdirde kimerizm ölçümünün yapılması gerektiği önerilmiştir. T-hücre uzaklaştırıldığında ise sıklıkla nakil sonrası KK bulunur (46).

-Miyeloablatif olmayan (yoğunluğu azaltılmış) HR ile yapılan Allo-KHN'den sonra kimerizm tayini: Yoğunluğu azaltılmış HR ile yapılan nakillerde alıcı hematopoiezi ve immünitesi tamamen ortadan kaldırılmaz. Ancak bu tip nakillerde verici hücrelerinin reddini önleyecek ve engrafmanı sağlayacak kadar immünosupresyon oluşur ve karma hematopoietik kimerizm sağlanması hedeflenir. Miyeloablatif olmayan nakillerden sonra kimerizm takibi standart bir yaklaşımdır. Bu olgularda kimerizm takibi ile greft reddi, nüks, akut ve kronik GVHH riski taşıyan hastaların belirlenmesi ve DLI için gerekliliğin ve doğru zamanlamanın yapılması mümkün olmaktadır. Yoğunluğu azaltılmış HR'li nakillerde TK elde edilmesi kalıcı engrafman sağlanması ve uzun süreli hastalık kontrolü için gereklidir (40). Mickelson ve ark. yoğunluğu azaltılmış Allo-KHN'den sonra erken engrafman (ort. 26. gün ± 14) ve T-hücrelerinde KK gelişmesi (olguların %14'ü) bakımından miyeloablatif KHN sonuçları ile farklılık olmadığını bildirdiler. Ayrıca, T-hücre >%90 kimerizmi gösteren yoğunluğu azaltılmış HR'li nakillerde III-IV. derece akut GVHH ve yaygın kronik GVHH riskinin arttığını gösterdiler (47).

2.7.6.5. Malign olmayan hastalıklarda yapılan Allo-KHN'de kimerizm takibi

Talasemi, orak hücre hastalığı, immün yetmezlik durumları, depo hastalıkları, osteopetrozis, ağır aplastik anemi ve diğer kemik iliği yetmezliği sendromları gibi doğumsal ya da kazanılmış malign olmayan hastalıklar Allo-KHN ile tedavi edilmektedir. Bu hastalıklarda KHN'nin amacı; kalıcı ve yeterli

bir engrafman sağlamaktır. Bu nedenle alıcının hematopoietik sisteminin tamamen değişmesi gerekli değildir. Bu hastalıklarda genellikle toksik yan etkileri azaltmak için KK sağlayabilecek yoğunluğu azaltılmış HR'leri kullanılır. Ancak nakil sonrası daha geç dönemlerde >%30 alıcı hücreleri gösteren KK durumlarında ise greft yetmezliği gelişebilir (40). Malign hastalığı olmayan çocuklarda yapılan KHN'lerinden sonra kimerizm takibi ile elde edilen sonuçlar Park ve ark. tarafından bildirilmiştir. Bu çalışmada, habis olmayan hastalıklarda yapılan KHN'lerinden sonra greft yetmezliği ve reddinin sık görüldüğü ve bu durumun KK ile ilişkili olduğu bildirilmiştir. Kimerizmi etkileyen faktörler olarak; verilen CD34+ ve CD3+ hücre sayıları, kök hücre kaynağı, donör tipi, HLA uyumluluğu, nakil öncesi ferritin düzeyi ve HR'nin yoğunluğu değerlendirilmiştir. Sonuç olarak; verilen CD34+ ve CD3+ hücre sayıları yüksek ise TK gelişme olasılığının yüksek ve TK sağlayan CD34+ hücre sayısının eşik değerinin $8.35 \times 10^6/\text{kg}$ olduğu bildirilmiştir. TK'li olgularda II-IV. derece akut ve kronik GVHH gelişme sıklığı KK olanlara göre anlamlı derecede yüksek bulunmuştur (sırasıyla; %56.5 ve %13 $p < 0.01$, %47.8 ve %21.7 $p = 0.04$). Yüksek düzeyde KK (verici kimerizmi azalmış) gösteren olgularda greft yetmezliği anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p = 0.04$). Nakil öncesi ferritin düzeyinin yüksek olması ($p < 0.01$) ve infüze edilen CD34+ hücre sayısının düşük olması ($p = 0.01$) greft yetmezliğini kolaylaştıran diğer faktörlerdir. Nakil sonrası yaşam süreleri bakımından TK grup ile KK grup arasında fark bulunmamıştır. Ancak KK grubunda yer alan olgular kimerizm derecelerine göre değerlendirildiklerinde; tüm yaşam ve hastalıksız yaşam süreleri yüksek düzeyde KK olanlarda anlamlı derecede kısa bulundu. Bu olgularda ölüm nedenleri greft yetmezliği ve ikinci nakilden sonra gelişen çoklu organ yetmezliği olarak bildirilmiştir (45).

2.8. Hematopoietik Kök Hücre Transplantasyonu Komplikasyonları

2.8.1. Graf Versus Host Hastalığı (GVHH)

Allo-HKHT ile ortaya çıkan graft-versus-lösemi (GVL) ve graft-versus-tümör (GVT) etkisi, pek çok hematolojik malignitenin ortadan kaldırılmasını sağlar. Bu tedavi şekli, hazırlama tedavisinin toksisitesinden ve alloimmün

reaksiyonlardan kaynaklanan, hayatı tehdit eden bazı erken ve geç komplikasyonlara da neden olmaktadır. Pek çok farklı organ sistemini etkileyen graft-versus-host hastalığı (Graft-versus-host disease, GVHD), bu tedavinin uygulanabilirliğini kısıtlayan ve ölümcül en önemli komplikasyondur (48). GVHH, geleneksel olarak bir epitel hücre hastalığı olarak görülmüştür ve sıklıkla nakilden sonra erken dönemde gözlenen bir akut GVH fazı ve daha geç dönemlerde görülen bir kronik GVH fazı olarak iki farklı faza ayrılan tek bir hastalık gibi değerlendirilmiştir. Bu anlayış yakın zamanda tekrar gözden geçirilmiş, akut ve kronik GVHH, iki farklı hastalık olarak kabul edilmiştir. Gerçekten de sistemik skleroz ve eozinofilik fasciitis gibi otoimmün hastalıklarla benzer özellikler taşıyan kronik GVHH, akut GVHH'ndan hem klinik hem de histopatolojik olarak ayrılır. Ayrıca, GVHH gelişiminin klasik olarak bir "sitokin fırtınası" ile tetiklendiği bilinse de, ağır kronik GVH herhangi bir sitokin fırtınası gözlenmeden de gerçekleşebilir (49). Önceleri, nakil sonrası ilk 100 gün içinde ortaya çıkan GVHH "akut GVHH" olarak tanımlanmış, kronik GVH hastalığının 100.günden sonra belirti verdiği ifade edilmiştir. Ancak bu tanımlamanın hem klinik hem de patofizyolojik olarak yetersiz kaldığı görülmüş ve Amerikan Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH) tarafından tanımlanan yeni sınıflamada, geç başlangıçlı (late-onset) akut GVH ve akut ile kronik hastalığın özelliklerini aynı anda gösterebilen bir "Overlap Sendromu" na da yer verilmiştir. Özellikle, azaltılmış yoğunlukta hazırlama rejimlerinin (reduced-intensity conditioning) yaygın kullanımıyla, geç-başlangıçlı akut GVHH ve Overlap sendromunun görülme sıklığı giderek artmaktadır (48) (Tablo 12 (50)).

Tablo 12. Akut ve Kronik GVHH tanımı

<i>GvHH tipi</i>	<i>Ortaya çıkma zamanı</i>	<i>aGvHH belirtileri</i>	<i>kGvHH belirtileri</i>
aGvHH			
Klasik (alışılabilir)	≤100. gün	Evet	Hayır
İsrarlı, tekrarlayan, geç başlangıçlı	> 100. gün	Evet	Hayır
kGvHH			
Klasik (alışılabilir)	Zaman sınırı yok	Hayır	Evet
Örtüşme (Overlap) Sendromu	Zaman sınırı yok	Evet	Evet

Akut GVHH'de sağlıklı donör T hücreleri, alıcının (hastanın) antijenlerini "yabancı" olarak tanımakta, alıcının hücre ve dokularına karşı hücrel bir immün cevap başlatmaktadır. Kök hücre nakli yapıldıktan ortalama 10 ile 15 gün sonra donör kaynaklı lenfohematopoezin yeniden başlamasını takiben dolaşıma yeni giren donör kaynaklı T lenfositleri, alıcının hücrelerini ve yüzey antijenlerini "yabancı" olarak tanıyarak antijen presentasyonu, T-hücre aktivasyonu ve T-hücre proliferasyonu evrelerinden sonra alıcının antijenlerine karşı "duyarlı=sensitized" hale gelmektedir. Bu immünolojik sürece "T-Hücre Uyarımının Afferent Fazı" denilmektedir. T hücreleri bu fazın hemen ardından "yabancı" olarak nitelendirdikleri alıcı hücrelerine karşı "Efferent Fazı" başlatmaktadır. Efferent Faz'da T-Lenfositleri, sitokin salınımı, sitotoksik T-hücreleri (CTL) ve Natural Killer (NK) hücreleri sürece katılmaktadır (51). GVHH, donör T hücrelerinin alıcı üzerinde genetik olarak belirlenmiş proteinleri tanımasıyla ortaya çıkar. Bu proteinlerden en önemlilerini, yüksek düzeyde polimorfizm gösteren ve majör doku-uygunluk kompleksi tarafından kodlanan insan lökosit antijenleri (HLA) oluşturur (51). Sınıf I HLA molekülleri (HLA A, B ve C) tüm çekirdekli hücreler üzerinde, farklı yoğunluklarda bulunur. Sınıf II HLA molekülleri ise (DR, DP ve DQ) esas olarak hematopoietik hücreler (B hücreleri, dendritik hücreler ve monositler) üzerinde bulunsalar da, inflamasyon veya doku hasarında pek çok farklı hücre tipinde ekspresyonları artar. İdeal olarak, donörler ve alıcılar, HLA A, B, C ve DRB1 lokuslarında tam olarak eşleşirler. Akut GVHH'nin sıklığı ise, HLA proteinlerinin donör ve alıcıdaki uyumsuzluğunun derecesiyle doğrudan ilişkilidir (52). Kordon kanı kök hücre nakillerinde ise HLA uyumsuzluğu genellikle daha iyi tolere edilir (53). Bununla birlikte, hasta ve donör arasında tam HLA uyumluluğu olsa dahi, HLA tam uygun graft alıcılarının %40'ında yüksek doz steroid tedavisi gerektiren sistemik akut GVHH gelişir. Bu duruma ise, HLA lokusu dışında yer alan ve minör doku uygunluk antijenleri olarak adlandırılan proteinleri kodlayan genetik farklılar neden olur. HY ve HA-3 gibi bazı minör doku uygunluk antijenleri tüm dokularda eksprese edilir ve hem GVHH hem de GVL için hedef oluşturur (54). HA-1 ve HA-2 gibi diğer antijenler ise, lösemi hücrelerini de içerecek şekilde sıklıkla hematopoietik hücreler üzerinde eksprese edilir ve böylece azalmış GVH ile birlikte artmış bir GVL etkisi başlatabilir (55). Alıcı ve donörlerde GVHH sürecindeki sitokin fırtınasında rol oynayan tümör nekrotizan faktör- α (TNF α),

epitel ve endotel hasarına neden olur. Allojenik kök hücre nakli sonrasında GVHH oluşur ve lipopolisakkarid (LPS) sistemik dolaşıma geçerek IL-1, IL-8, TNF-alfa ve IL-6 gibi inflamatuvar sitokinlerin dolaşımında daha fazla artmasına neden olur (56).

- Evre-2: Donör T-Hücre Aktivasyonu ve Sitokin Salınımı: Donör T-hücrelerinin aktivasyonu akut GVHH'nin ikinci evresinde ortaya çıkar. Alıcı'da bulunan APC'ler donör T-hücrelerinin uyarımı için gerekli ve yeterlidir. MHC'deki Sınıf-I antijenlerindeki farklılıklar, CD8+ T hücrelerini ve MHC Sınıf-II antijenlerindeki antijen farklılıkları ise CD4+ T hücrelerini uyarır. HLA-identikal kök hücre nakli sonrası GVHH, minör doku uygunluk antijenlerinin uyarılması sonucu ortaya çıkar. Fare sistemlerinde bugüne kadar 50 ayrı türde minör doku uygunluk (Minor Histocompatibility Antigens "mi-HAg") genetik lokusları gösterilmiştir. İnsanda gösterilen Minör Doku Grubu Antijenleri (miHAg: HA-1,2,3,4,5)'nin çoğu Y-Kromozomunda bulunmaktadır. MiHAg'lerin hematopoietik sistem hücreleri üzerinde olması GVL reaktivitesi için potansiyel hedef antijenler olarak görülmelerini sağlamaktadır. En kuvvetli APC görevi yapan dendritik hücreler (DC), nakil öncesi ve sonrasındaki olaylar sırasında aktive olurlar, immün cevabı uyarırlar ve T hücrelerine multipl aktivasyon sinyalleri iletirler. Naive T-hücreleri sonuçta Th1 (IL-2, IFN-gama) ve Th2 sitokinleri (IL-4, IL-5, IL-10 ve IL-13) salgırlar ve optimal aktivasyon durumuna geçerler (56).

- Evre-3: Hücresel ve İnflamatuvar Etkileşimler ile Hücre Aktivasyonları: Bu evrede akut GVHH'nin organlardaki etkilerini ve patolojik süreçleri ortaya çıkaran hücresel immünolojik olaylar gelişir. IFN-gama ile tetiklenen mononükleer fagositler TNF-alfa ve IL-1 sentezleyerek ortama salgırlar. Hazırlayıcı rejimler sonrası zedelenen intestinal mukozadan dışarı kaçan Endotoksin=Lipopolisakkarid (LPS) bağırsaktaki lenfositleri ve makrofajları stimüle eder. Bu son evrede çok değişik sayıda sitotoksik efektör mekanizmalar hedef dokularda zedelenme ve patolojilerinin oluşmasına neden olur. İnflamatuvar sitokinlerin salınımı, alıcıya karşı özgül CTL aktivitesinin harekete geçmesi, NK-hücrelerinin aktivasyonu ve nitrik oksitin açığa çıkması akut GVHH'nin efektör fazının sitolitik ve zararlı etkilerini

belirlemede önemli rol oynar. CTL ve NK-hücreleri, Fas/Fas-ligand ve perforin/granzyme yollarını kullanarak hedef hücrelere litik etkiye bulunurlar. Düzeyleri giderek artan inflamatuvar sitokinler de hedef organ zedelenmesi ve lokal doku hasarının artışına katkıda bulunurlar. Mononükleer hücrelerden salınan TNF-alfa, IL-1 ve Nitrik Oksit (NO) GVHH'de deri ve bağırsak epitel hücrelerinin hasarına ve apoptozise neden olurlar (56).

2.8.1.1. Akut GVHH Semptomları

Martin ve ark. akut GVHH başlangıcında hastalarda en sık etkilenen bölgelerin %81 cilt, %54 gastrointestinal sistem ve %50 karaciğer olduğunu bildirmiştir (57). Cilt sıklıkla ilk olarak etkilenir ve donör hücre yerleşimiyle (engrafman, engraftment) eş zamanlı pruritik makülopapüler döküntüler şeklinde görülür. Erken evrede beliren kaşıntılı kırmızı renkli deri lezyonları, boyun, omuzlar, avuç içleri ve ayak tabanlarında görülür. Hastalık ilerledikçe eritemli rash giderek göğüse, sırtta ve karın bölgesine, bazen ileri evrelerde tüm vücuda yayılabilir (51). Ağır vakalarda blister ve ülserler görülebilir. Epidermis bazalinde apoptoz, diskeratoz, lenfositik ekzositoz, diskeratotik epidermal keratinositlerin etrafına yerleşen satellit lenfositler ve dermal perivasküler lenfositik infiltrasyon karakteristik patolojik bulgular arasındadır (58). Akut GVHH'de cilt tutulumundan sonra ikinci sıklıkta tutulan organ karaciğerdir. Karaciğer tutulumunun ilk ve en sık görülen belirtisi serumda direkt bilirubin, alkalen fosfataz düzeylerinde ve daha az sıklıkta transaminazlarda artış olmasıdır. Akut GVHH'nin karaciğeri tutması sonucu ortaya çıkan hiperbilirubineminin ayırıcı tanısında karaciğerin veno-oklüzif hastalığı (VOD), hiperalimentasyonun yan etkisi, nodüler rejeneratif hiperplazi, enfeksiyonlar (sitomegalovirüs, herpes simpleks, hepatit B) ve ilaç toksisitesi (siklosporin veya metotreksat) akla gelmelidir. Bu durumlarda akut GVHH'nin kesin tanısını koyabilmek için karaciğer biyopsisinin yapılması gerekli iken hastaların çoğunda trombositopeni, koagülopati veya batında asit varlığı karaciğer biyopsisinin riskini arttırmaktadır (51). Karaciğer biyopsisinde hepatik GVHH'ye ait histolojik özellikler arasında portal alanlarda lenfositik tutulum, endotelit, perikolanjit ve safra yollarında hasar sayılabilir (58). Akut GVHH'nin deri-mukoza ve karaciğerden sonra etkilediği üçüncü sistem gastrointestinal

organlar ve özellikle bağırsaklardır. İlk dönemde hastada kramp şeklinde karın ağrısı ve ishal ortaya çıkar. İshalin miktarı giderek artabilir, günde 6-8 litreye varabildiği gibi bazen kanlı bir görünümde de olabilir. Hastada ağır ishal sonucunda elektrolit kaybı görülür ve infeksiyonlar için bağırsak mukozasının bariyer görevi ortadan kalkar ve bazı hastalarda ileus görülebilmektedir. Akut GVHH'nin üst gastrointestinal sistemi tuttuğu durumlarda hastalarda iştahsızlık, hazımsızlık, gıda intoleransı, bulantı ve kusma gibi semptomlar gözlenmektedir (51). Mukozal ülserasyon kaynaklı kanama, kötü prognostik bir belirtedir. Bununla birlikte mukozanın parçalı tutulumu genellikle normal bir endoskopik görünüme yol açar. Radyolojik bulgular arasında, ince barsaklarda duvar kalınlaşması ve luminal dilatasyon (bilgisayarlı tomografide ribbon işareti) ile ileusu düşündüren hava-sıvı seviyeleri yer alır. Biyopside ise kript tabanında apoptotik cisimler, kript apseleri, yüzey epitelinde kayıp ve düzleşme görülür (59).

2.8.1.1.1. GVVHH Derecelendirmesi

GVHH'nin şiddeti, üç ana hedef organ tutulumunun ölçüsüne göre belirlenir. Glucksberg 1974 yılında ilk akut GVHH sınıflandırmasını yayınlamıştır ve bu cetvel 35 yıldır kullanılmaktadır. Her organ tutulumu 0 ile 4 (Tablo 13) arasında evrelendirilir (60).

Tablo 13. Organa Özgü Evrelendirme (Glucksberg)

<i>Evre</i>	<i>Cilt/ Makulo-papüler döküntü</i>	<i>KC/ Bilirubin</i>	<i>GI/ İshal</i>
+	<%25 vücut yüzeyi	34-50 mmol/L	> 500 mL
++	%25-50 vücut yüzeyi	51-102 mmol/L	> 1000 mL
+++	Yaygın eritrodermi	103-255 mmol/L	1500 mL
++++	Yaygın eritrodermi (+ büller ve deskuamasyon)	> 255 mmol/L s	Şiddetli karın ağrısı ± ileus

Bu evreler birleştirilerek genel bir derece hesaplamasına gidilir. Hem nesnel organ fonksiyonu hem de hastanın performans durumunun subjektif değerlendirmesi dikkate alınır (Tablo 14). Genel derecelendirme I (hafif), II (orta), III (ağır) ve IV (çok ağır) şeklindedir (60).

Tablo 14. Genel derecelendirme tablosu (Glucksberg Skalası)

<i>aGvHH Derecesi</i>	<i>Organ tutulumu derecesi</i>
I	Cilt: + ile ++
II	Cilt: + ile +++ Gut and/or liver: + Klinik performansda minimal azalma
III	Cilt: ++ ile +++ GIS ve/veya KC: ++ ile +++ Klinik performansda bariz azalma
IV	Cilt: ++ to ++++ GIS ve/veya KC: ++ to ++++ Klinik performansda aşırı azalma

Olağan transplant uygulamasında GVHH şiddeti evre 0-I, klinik olarak önemsiz ve evre II-IV klinik olarak önemli olmak üzere 2 ana grup içinde değerlendirilir. Bu uzun süredir kullanılmakta olan yıllanmış cetvelin kısıtlamaları göz önüne alınarak 1995 yılında bir Uzlaşı Çalıştayı yapılmış ve bir derecelendirme uyarlaması önerilmiştir (Tablo 15) (60).

Tablo 15. Akut GVHH derecelendirmesinin uzlaşısı konferansı

<i>Derece</i>	<i>Cilt</i>	<i>Karaciğer</i>	<i>GIS</i>
I	Evre 1–2	0	0
II	Evre 3 veya	Evre 1 veya	Evre 1
III	–	Evre 2–3 veya	Evre 2–4
IV	Evre 4 veya	Evre 4	–

Nesnel organ fonksiyonu değerlendirme ölçütleri korunmuş fakat klinik performans ilgili subjektif değerlendirmeler çıkarılmıştır. Takiben IBMTR de değişik bir sistem önerisinde bulunmuştur (Tablo 16). Yapılan karşılaştırmalı çalışmada her 2 sınıflama da benzer değişkenlik göstermişlerdir. Glucksberg

cetveli erken sağkalımı daha iyi öngörebilmiştir. IBMTR sınıflamasında hekime bağlı derecelendirme hataları veya değişkenliği unsurunun daha az olduğu görülmüştür. Her iki sistemde gözlenen en yüksek derecedeki GVHH şiddeti sağkalım üzerinde en önemli etkiye sahiptir. Ağır GVHH kötü prognozludur ve beş yıllık sağkalım III.derece için %25, IV. derece için ise %5 olarak rapor edilmiştir (60).

Tablo 16. Akut GVHH Şiddet İndeksi (IBMTR)

	<i>Cilt</i>	<i>Döküntü yaygınlığı</i>	<i>Karaciğer</i>	<i>Bilirubin</i> ($\mu\text{mol/L}$)	<i>GİS</i>	<i>İshal</i> (mL/d)
İndeks	Evre (maks.)		Evre (maks.)		Evre (maks.)	
A	1	<%25	0	<34	0	<500
B	2	%25–50 veya	1-2	34–102	1-2	550–1500
C	3	>%50 veya	3	103–255 veya	3	>1500
D	4	Büller veya	4	>255 veya	4	Ağır, ileus

2.8.1.1.2. GVHH Tedavisi

- **Birincil tedavi:** Uzun süreli sağkalımın en önemli göstergesi birincil tedavi cevabıdır. Akut GVHH'de 2 mg/kg/g dozunda metil prednizolon (MP) en iyi başlangıç tedavisidir. Bu tedavi ile birlikte kalsinörin inhibitörleri de verilir, 7-14 gün sonra tam cevap alındığı zaman yavaş azaltılarak kesilir. Tam cevap Evre II-IV aGVHH hastalarının ancak %25 (Akraba dışı) - %40 (Akraba)'ında izlenir. Alınan cevap aGVHH'nin şiddetini yansıtır, değişik organların farklı dinamiklerde olan cevapları hastadan hastaya değişir. Hastaların %60-75'inde ikincil tedavi gereksinimi olur. Yakınmaların tedavisi çok önemlidir, immünsupresan dozunda hastanın immünkompetansı mutlaka göz önünde bulundurulmalıdır. Toleransa fırsat tanınmalı ve GVL etkisi korunmaya çalışılmalıdır (60).

- GVHH'de Tedavi Cevabı:

Tam Cevap (CR): Tüm belirti ve bulguların tüm organlarda kaybolması, kurtarma rejimlerine gerek duyulmamasıdır.

Kısmi Cevap (PR): GVHH'de en az bir derece bir veya daha fazla organda gerileme, diğer organlarda da ilerleme olmamasıdır.

Karışık Cevap (MR): En az bir organda düzelme izlenirken diğer organ (larda) ilerleme veya yeni aGVHH tutulumunun olmasıdır.

Cevap yok (NR): 14 günlük tedavi sonrası cevap veya kötüleşme olmamasıdır.

İlerleme (PD): Bir veya daha fazla organ kötüleşirken, hiçbir organda gerileme izlenmemesidir.

Çok iyi parsiyel remisyon (VGPR): Döküntüde minör azalma, belirgin ama non-progressif, bilirubin stabil veya bilirubin artışında azalma, gastrointestinal yakınmaları düzeliyor veya minimal fakat stabildir.

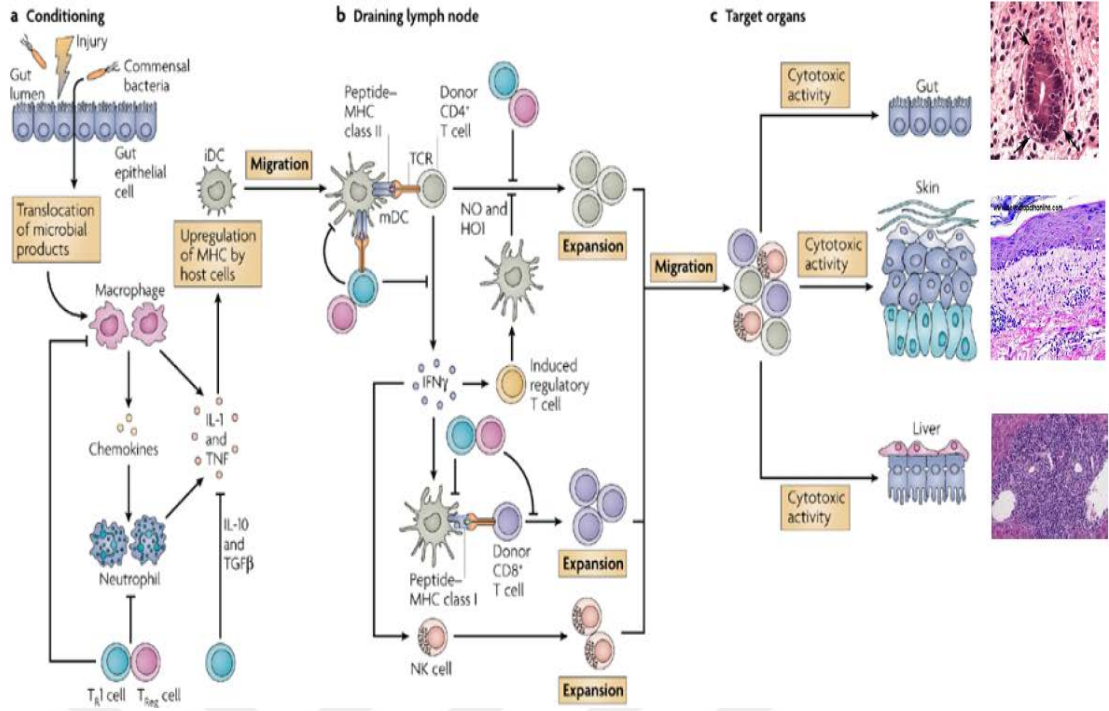
Tedavi Başarısızlığı: 3 gün içinde ilerleme (PD) veya 7 gün içinde değişiklik yok veya 14-28 gün içinde tam olmayan cevap tedavi başarısızlığı olarak değerlendirilir (60).

- **İkincil tedavi:** Başlangıç tedavisinin başarısız olduğu durumlarda ikincil tedaviler uygulanmaktadır. Aşağıda şu anda kullanılmakta olan ajanlar verilmiştir.

- Metilprednizolon (2–5 mg/kg)
 - İmmunosuppressif ilaçlar: Takrolimus, MMF, Sirolimus (eğer profilaksi için kullanılmayacaksa)
 - Oral absorbe olmayan steroidler (gastrointestinal tutulumda, özellikle üst kanal): Beklametazon, budesonid
 - Anti-timosit globulin (ATG)
 - Monoklonal antikorlar: Anti-IL-2 reseptör (CD25) antikoru: İnolinomab, basiliximab, daklizumab, denileukin difitox, Anti-TNFa antikoru: İnfliksımab, etanersept, Anti-CD52 antikoru: Alemtuzumab (Campath 1H), Anti-CD147 antikoru (anti aktive T- ve B hücreleri): ABX/CBL, Anti-CD3: Visilizumab, OKT-3
 - Pentostatin: ADA inhibitörü
 - Ekstrakorporeal foto-immunoterapi (ECP): T-hücre reaktivitesinin ve sitokin salımının engellenmesi, T-reg uyarımı
 - Mezenkimal kök hücreler: İmmünomodulator ve doku tamiri etkisi
- (60)

2.8.1.2. Kronik GVHH (kGVHH) ve Patofizyolojisi

Kronik GVHH allojenik (KHN) takiben geç dönem mortalitenin en önemli nedenlerinden biridir. Genelde KHN'den 3-12 ay sonra ortaya çıkar ve hastaların uzun dönem sonuçlarını ve yaşam kalitelerini belirleyen ana etkidir. Transplantasyonu takip eden ilk 2 yıl içinde kGVHH gelişme riski %60 civarında olup en büyük risk faktörü hikayede daha önce akut GVHH'nin olmasıdır. kGVHH olan hastalarda başlangıçta sıklıkla likenoid döküntü dediğimiz kırmızı, pembe ve gümüş renkleri karışımında, parlak, deriden kabarık cilt lezyonları görülür. İlerlemiş vakalarda cilt ve cilt altında fibrozis, eklem hareketlerinde buna bağlı kısıtlılık, göz ve ağız kuruluğu tabloya eşlik eder. Patogenezinde T hücreleri başlıca efektör hücrelerdir. Ancak ex-vivo T-depleasyonu ile yapılan transplant sonrasında hem akut hem de kronik GVHH insidansında belirgin azalma gözlenmiştir. Yapılan çalışmalarda görülmüştür ki alıcı doku (cilt, mukozalar, karaciğer, barsak vs) hücrelerindeki allojenik MHC Class II moleküllerine karşı donör CD4+ T hücre aktivasyonu ve ardından IL-2, IL-4 ve IL-10 salınımı başlıca rol oynar. Akut GVHH ve kronik GVHH'nin en önemli farkı CD8+T hücre aktivasyonunun ve IFN- γ salınımının kGVHH'da belirgin olmayışdır. kGVHH'nin klinik belirtilerinin otoimmün hastalıklara benzemesi, bazı hastalarda otoimmün antikorlara rastlanması, kGVHH'nin patogenezinde alloreaktivite dışında otoreaktivite ve timüsün da önemli olduğunu akla getirir. Nakil öncesi tedaviler, radyasyon içeren hazırlama rejimleri ve akut GVHH sebebiyle timüs hasar gördüğünden KHN'den sonra aberan timik eğitimden geçemeyen, yani normal timik delesyona uğramayan T hücre öncülleri otoreaktif hale gelirler. Bu otoreaktif T lenfositler salgıladıkları IL-10 ve IL-4 gibi sitokinler ile GVHH'nin histopatolojisinde görülen artmış kollajen birikimine neden olur (60) (Şekil 13 (61)).



Şekil 13. Kronik GVHH Patofizyolojisi

2.8.1.3. Kronik GVHH Tanısı ve Klinik Bulguları

Hastalık genelde uzun süre ve yüksek dozda sistemik immünsupresif tedavi gerektirdiğinden tanının biyopsi ile teyit edilmesi ve diğer sebepler ekarte edildikten sonra tedaviye başlanması önerilir. IBMTR/NMDP verilerine göre kGVHH için ortalama süre HLA-tam uyumlu kardeş nakillerinden sonra 4,5 ay, akraba dışı donör nakilleri için 4 aydır, %5 hastada 1 yıl sonra tanı konur. Hastalık daha ziyade cilt, ağız, karaciğer ve gözü tutar. Daha az olarak gastrointestinal sistem (GİS), akciğer, genital sistem ve eklemler etkilenirler (Tablo 17) (60).

Tablo 17. Kronik GVHH'nin klinik özellikleri

<i>Organ</i>	<i>Klinik Özellikler</i>	<i>İnceleme</i>
Cilt	Eritematöz papüller döküntü (likenoid) ya da kalın, sıkı, fragil deri (sklerodermatöz)	Klinik ve GVHD tanısını doğrulamak için biyopsi.
Tırnaklar	Vertikal kabarıklık, fragil	Klinik
Ter bezleri	Hipertermi riskine yol açarak yıkım	
Saç	Kafa derisi ve vücut kılları ince ve kırılabilir, tam ya da kısmi olarak dökülebilir.	Klinik
Gözler	Kuruluk, fotofobi, yanma. Korneal abrazyona ilerleme.	Schirmer Testi dahil olmak üzere, düzenli oftalmolojik muayene
Ağız	Kuru, baharatlı yiyeceğe, naneye ve domatese hassasiyet. Yanaklarda ve dilde liken planus eşî beyaz dantele benzer plaklar. Eritem ve ağrılı ülserler, ısıya hassasiyeti azalmış mukozal skleroderma.	Düzenli diş incelemesi (uygun infektif endokardit profilaksisi ile). Tanıda ve kötüleşme halinde viral ve fungal kültürler.
Solunum sistemi	Bronşiyolitisi Obliterans dispne, vizing, öksürük, normal BT bulguları ve belirgin obstrüktif paternde solunum fonksiyon testi (SFT) ile ortaya çıkabilir. Kronik sinopulmoner enfeksiyonlar ve/veya enfeksiyonlar da sık görülür.	FEV1, FVC, DLCO, ve helyum akciğer hacimleri dahil olmak üzere SFT. Semptomatik hastalarda BT. Anormal BT' de enfeksiyonlar ekarte edilmeli. Klinik olarak endike ise akciğer biyopsisi.
Gastrointestinal	Anormal motilite ve striktürler. Kilo kaybı.	Çiğneme çalışmaları, klinik olarak gerekirse endoskopi. Nutrisyonel inceleme.
Karaciğer	Kolestaz (artmış bilirubin, alkalen fosfataz). İzole karaciğer tutulumu histolojik konfirmasyon gerektirir.	Karaciğer fonksiyon testleri. Klinik olarak endike ise karaciğer biyopsisi.
Kas iskelet	Fasiit. Miyozit nadirdir. Osteoporoz hormonal eksikliklere, steroid kullanımına, azalmış aktiviteye bağlı gelişebilir.	Hareket alanını dökümanite etmek için periyodik fiz tedavi incelemesi. Özellikle steroid kullananlarda kemik dansitesi.
İmmün Sistem	Belirgin immün yetmezlik. Fonksiyonel aspleni. Yüksek pnömokokal sepsis, PCP ve invazif fungal enfeksiyon riski. Değişik Ig G düzeyleri.	Bütün hastaları ağır immünsuprese ve asplenik kabul et.
Hematopoietik Sistem	Sitopeniler. Zaman zaman eozinofili.	Sayımlar. Gerekirse kemik iliği aspirasyon ve biyopsisi, anti-nötrofil ve anti-platelet antikorları.
Diğer	Hemen tüm otoimmün hastalık belirtileri kronik GVHD ile ilişkili olarak tanımlanmış.	Kliniğine göre gerekenler

kGVHH sistemik immünsupresyon ile birlikte olduğundan dolayı kGVHH'ye bağlı ölümlerin çoğu enfeksiyonlara sekonderdir. Mukozal bariyerlerin bozulması, timik zedelenme, hipogamaglobulinemi, kalitatif B ve

T hücre anormallikleri bozulmuş immünitenin temel nedenlerini oluşturur. Fonksiyonel aspleni sonucu kapsüllü bakterilerle enfeksiyona yatkınlık artar. Bütün hastalar bakteriyel, viral ve fungal enfeksiyonlar açısından dikkatli monitörize edilmelidir (60). İmmünsupresif tedaviler kesilene kadar hastaların antibiyotik profilaksisi almaya devam etmeleri önerilmektedir (62).

2.8.1.4. kGVHH Klinik Derecelendirilme ve Sınıflandırma

Günümüzde en çok kullanılan Seattle klinik derecelendirme sistemi kGVHH'yi sınırlı ve yaygın diye iki gruba ayırır. Ancak bu sistem özellikle yaygın prognoz hakkında çok az bilgi verir. Biyopsi ile kGVHH'si kanıtlanmış ardışık 151 hastanın tedavi öncesi klinik ve laboratuvar özelliklerinin sağkalıma etkisini araştırdığımız çalışmanın verilerine dayanarak kGVHH için yeni bir derecelendirme ve prognostik sınıflandırma modeli geliştirilmiştir. Bu modele göre trombositopeni, yaygın cilt tutulumu (>50% vücut yüzeyi) ve akut GVHH'yi takiben gelişen kGVHH (progresif tipte başlangıç) sağkalımı olumsuz etkileyen birbirinden bağımsız risk faktörleridir. Bu veri temelinde 3 farklı prognostik grup ortaya çıkmıştır. Bu prognostik model diğer transplant merkez ve de IBMTR veri tabanlarına da uygulandı ve benzer sonuçlar elde edildi. Kronik GVHH tanısı için bu hastalığa özel en azından bir adet tanısal bulgunun (örneğin poikiloderma, sklerotik deri bulguları, ağızda gelişen likenoid değişiklikler) veya en azından kronik GVHH'yi düşündürecek ayırt edici bulgulardan birinin (örneğin tırnak atrofisi, vitiligo-benzeri depigmentasyon, bronşiyolitiz obliterans) bulunması sayılabilir. Kesin tanının hastalığın tuttuğu organ ve sistemlerden birinden alınacak biyopsi ile doğrulanması gerekir. Biyopsi raporundaki "uyumlu" veya "ekarte edilemez" tanımlamaları da tanıyı destekleyici bulguların varlığında pozitif olarak değerlendirilir. İlaç etkisi ve enfeksiyon gibi diğer sebeplerin de hikaye ve ek bulgular ışığı altında ekarte edilmesi önemlidir (60). Bu yeni tanımlamaya göre transplant sonrası 100.günden önce gelişen akut GVHH'ye klasik akut GVHH, daha sonrasında gelişene ise inatçı, tekrarlayıcı/geç başlangıçlı akut GVHH denilmiştir. Akut GVHH demek için kronik GVHH semptom ve bulgularının olmaması gerekir. Benzer şekilde kronik GVHH'de klasik kronik

GVHH ve overlap sendromu diye iki alt başlıkta tanımlanır. Overlap sendromunda hem akut GVHH hem de kronik GVHH özellikleri bulunur (62).

2.8.1.5. Kronik GVHH'nin Skorlaması

Her tutulan organ ve sistemde meydana gelen hasarın şiddetini tanımlayan, 0'dan 3'e kadar klinik derecelendirme yapılır. Buna göre;

Skor 0 = Kronik GVHD ile ilgili hiçbir semptom veya bulgunun olmaması.

Skor 1 = Günlük yaşamla ilgili fonksiyonlarda ve aktivitede önemli bir gerileme olmaması.

Skor 2 = Günlük yaşamla ilgili fonksiyonlarda ve aktivitede ciddi bir gerileme görülmekle birlikte, büyük bir sakatlık (disability) durumunun olmaması

Skor 3 = Günlük yaşamla ilgili fonksiyonlarda ve aktivitede ciddi bir gerileme ile birlikte büyük bir sakatlık durumunun var olması.

Kronik GVHD skorlaması klinikte kolaylıkla yapılabilir. Tek istenecek tetkik karaciğer fonksiyon testleridir. Akciğer fonksiyon testleri önerilir ancak skorlama sistemi için nefes darlığının ve hastanın oksijen ihtiyacının olup olmadığını değerlendirmek yeterlidir. Cilt skorlaması biraz farklılık gösterir:

Skor 1= %18 ve daha düşük vücut yüzey alanı tutulumu, hiç sklerotik bulgu yok

Skor 2= 19-50% tutulum, yüzeysel sklerotik değişiklikler (cilt elastikiyeti büyük ölçüde mevcut)

Skor 3= %50 den fazla cilt tutulum veya derin sklerotik özellikler (cildin hareket ettirilememesi).

Hastalığın şiddetinin global değerlendirmesi (hafif, orta, şiddetli) ise organ/sistem skorlarının kombinasyonu neticesi olarak ortaya çıkar ve prospektif çalışmalardan sonra bu global değerlendirmenin şimdiki "sınırlı" ve "yaygın" kronik GVHH sınıflamasının yerini alması beklenmektedir (63) (Tablo 18 (60)).

Tablo 18. Kronik GVHH'de klinik semptom ve bulguların ölçümü

<i>Organ</i>	<i>Bulgu ve Semptom</i>	<i>Ölçüm</i>
Cilt	Cilt döküntüsü (eritem)	% vücut yüzeyi (her cilt bulgusu için 9'lar cetveli kullanılarak 0-100% tutulum belirtilecek)
	Hareket ettirilebilen skleroz	
	Fikse olmuş veya cilt altı skleroz/Fasiitis	En büyük ülserin en büyük çapı (cm)
	Ülserler	0-10 hastanın rapor ettiği şiddet derecesi
	Kasıntı	
Gözler	Anestezisiz bilateral Schirmer's gözyaşı testi	Her iki gözün ortalaması (mm)
	Gözle ilgili esas şikayeti	0-10 hastanın rapor ettiği şiddet derecesi
Ağız	Eritem	Total skor 0-15
	Liken-tipi artmış keratoz	
	Ülserasyonlar	
	Mukoseller	
	Ağrı, kuruluk ve sensitivite	0-10 hastanın rapor ettiği şiddet derecesi
Hematolojik	Trombosit sayısı	sayı/mikro litre
	Eozinofil	%
Gastrointestinal	Üst GIS semptomları	0-3
	Ozefageal semptomlar	0-3
	Diyare	0-3
Karaciğer	Total serum bilirubin	mg/dl
	ALT, alkalen fosfataz	U/L
Akciğerler	Bronşiolitis obliterans sendromu	FEV1, DLCO

2.8.1.6. Kronik GVHH Tedavisi

Semptomatik hafif kronik GVHH lokal tedavilerle çoğu zaman tedavi edilir (örneğin, cilt tutulumu için topikal steroidiler, göz kuruluğu için topikal siklosporin). Global hastalık şiddeti değerlendirmesinde orta ve ağır sınıfında olan hastalarda (3 veya daha fazla organ tutulumu veya herhangi bir organda skor 2 veya daha yüksek bir tutulumun saptanması veya akciğer tutulumu olması) sistemik tedavi gereklidir. Bazı klinisyenler, sistemik tedavi kriterleri içine bilinen yüksek risk kriterlerini de (>%50 vücut yüzeyini içeren cilt tutulumu, progresif başlangıç, trombositopeni) göz önünde bulundururlar. Altta yatan hematolojik hastalığın durumu (malign veya non-malign), başta enfeksiyon olmak üzere mevcut komorbid hastalıklarda kronik GVHH'nin sistemik tedavi edilmesi kararında rol oynar. Zamanında özellikle likenoid tutulum aşamasında etkin tedavi kronik GVHH'nin ilerlemesini durdurabilir ve belirgin bir gerileme sağlanabilir (60).

2.9. Hematopoetik Kök Hücre Nakli Erken Dönem Komplikasyonları

GVHH ve engraftman yetersizliğine ek olarak mukozit, bulantı-kusma, sıvı elektrolit dengesizliği veya beslenme bozuklukları gibi çoğunlukla destek tedavi gerektiren, kalıcı olmayan ve mortalite olasılığı düşük komplikasyonların yanında hemorajik sistit, hepatik sinüzoidal obstrüksiyon sendromu, engraftman sendromu, diffüz alveoler kanama, idiyopatik pnömoni, trombotik mikroanjyopati gibi nakil prognozunu doğrudan etkileyebilecek tablolar da karşımıza çıkabilmektedir (60).

2.9.1. Hepatik Sinüzoidal Obstrüksiyon Sendromu (HSOS)

HKHN hazırlık rejimine bağlı olarak en sık etkilenen organlardan birisi karaciğerdir. Karaciğeri ilgilendiren komplikasyonlar arasında geçici enzim artışları, enfeksiyonlar-sepsis, kolestaz vd biliyer problemler, ilaca bağlı hepatik toksisite, GVHH ve hepatik sinüzoidal obstrüksiyon sendromu (HSOS) sayılabilir HSOS; ikter, sıvı retansiyonu ve ağırlı hepatomegali ile tanımlanan ve HKHN'yi izleyen ilk 35-40 gün içinde ortaya çıkan, hazırlık rejimine bağlı en ciddi karaciğer toksisitesidir (64). İlk kez Güney Afrika'da tanımlanan bu tablo pyrizolidin alkaloidleri içeren bir çaya (Senecio çayı) bağlı olarak karaciğerde terminal venüllerin tıkanması ile ortaya çıkması nedeniyle "veno-oklüzif hastalık (VOH)" olarak adlandırılmıştır. Bu tablonun daha sonra aynı maddeleri içeren farklı bitkiler nedeniyle veya bazı kemoterapötik ve diğer toksik ajanlar ve HKHN ardından da görüldüğü saptanmıştır. Daha sonra hastalık patogenezindeki esas lezyonun hepatik sinüzoidal alanı içerdiği anlaşıldığından VOH yerine HSOS deyiimi tercih edilmiştir (65). HKHN seyrinde HSOS sıklığı farklı serilerde tanı kriterleri, hazırlık rejimleri ve hastalara ait risk faktörlerindeki farklılıklar nedeniyle geriye dönük analizlerde %0 ile %70 arasında bildirilmiştir. HSOS gelişimi ile ilgili risk faktörleri Tablo 19'de özetlenmiştir. HSOS gelişimi riskini arttıran durumlardan kaçınılması önemlidir. Ayrıca hazırlık rejimi başlangıcından sonraki ilk 3-4 hafta süre ile heparin, heparin + prostaglandin E1, ursodeoksikolik asit, defibrotid gibi ajanların ve profilaktik plazma infüzyonlarının HSOS sıklığını azalttığını belirten çalışmalar vardır (60).

Tablo 19. HSOS gelişme riskini arttıran faktörler

1. Hastalık öyküsü
 - a. Önceki karaciğer hastalığı (C hepatit, fibrozis, siroz, SOS vd)
 - b. Daha önceden miyeloablatif rejim uygulanmış olmak
 - c. Karın bölgesine önceden ışınlama yapılmış olması
 - d. Önceden mylotarg kullanılmış olması
2. CMV pozitifliği veya kötü performans veya ileri yaş veya erkek
3. Akriba dışı veya HLA uyumsuz kardeşten nakil
4. HKHN'in ileri evrede/geç uygulanması
5. Hazırlık rejimi ile ilgili faktörler
 - a. Miyeloablatif rejim (ablatif olmayana göre daha risklidir)
 - b. Yüksek doz siklofosfamid varlığı
 - c. Siklofosfamidin busulfandan sonra uygulanması
 - d. Tüm beden ışınlamasında yüksek doz kullanımı
 - e. Plazma konsantrasyonuna bakılmaksızın sabit busulfan dozu kullanımı veya
 - f. İntravenöz busulfan yerine oral busulfan kullanımı
6. İlaçlar
 - a. GVHH profilaksisinde kullanılan ajanlar (MTX,Cyc-A)
 - b. Noretisteron, Ampho-B vd hepatotoksik ilaç kullanımı
7. C282Y hemokromatoz alleli taşıyıcılığı

Klasik olarak hazırlık rejiminden sonraki ilk iki haftada (siklofosfamid uygulamasından sonraki 10-20. günler) hepatomegali ve/veya sağ üst kadranda ağrısı, ödem ve asitin eşlik edebildiği kilo artışı ve ikter gözlenir. Bazı olgularda klinik belirtiler daha geç (+30. günden sonra) ortaya çıkabileceği gibi iki fazlı olgular da tanımlanır. Bazı HSOS olguları daha ağır seyreder ve karaciğer dışındaki organlarda da yetersizliğe neden olabilir. İlerleyici böbrek, kalp, solunum yetersizliği, transfüzyona dirençli trombositopeni, ensefalopati ve koma gelişebilir. Prognozla ilişkili parametreler arasında bilirübin düzeyi, kilo artış miktarı, trombosit transfüzyonu gereksinimi, enzim düzeyleri, hepatik venöz basınç gradiyenti, serum kreatinin artışı miktarı, portal ven trombozu varlığı ve oksijen saturasyonunda azalma sayılabilir. Tanı kriterleri Tablo 20'de özetlenmiştir (60).

Tablo 20. HSOS tanı kriterleri

Seattle Kriterleri (8)

Transplant sonrası ilk ay içinde aşağıdakilerin en az ikisinin varlığı
İkter
Hepatomegali ve sağ üst kadranda ağrısı
Asit ve/veya açıklanamayan kilo artışı

Baltimore Kriterleri (9)

Transplant sonrası 21. günden önce total serum bilirübinde artış ($\geq 2\text{mg/dL}$) ve aşağıdakilerden en az ikisinin varlığı
Ağrılı hepatomegali
Vücut ağırlığının %5'ini aşan kilo artışı
Asit

Modifiye Seattle Kriterleri (10)

Transplant sonrası ilk 20 gün içinde aşağıdakilerden en az ikisinin varlığı
Hiperbilirubinemi (Total serum bilirubin $\geq 2\text{mg/dL}$)
Hepatomegali veya karaciğer kaynaklı sağ üst kadranda ağrısı
Sıvı birikimi nedeni ile vücut ağırlığının %2'sini aşan kilo artışı

Abdominal doppler ultrasonografi, MRI (manyetik rezonans) gibi görüntüleme yöntemleri ile safra kesesi duvarında kalınlaşma, asit, hepatomegali, portal ven çapında artış, portal kan akımında azalma veya akım yönünde değişiklik, hepatik venlerde düzensiz sinyal artışı, hepatik arter akımında direnç artışı saptanabilir. Kesin tanı, çok yaygın kullanılmıyor olsa da karaciğer biyopsisi ile konabilir. Mevcut kanama eğilimi nedeniyle transjuguler biyopsi ve hepatik ven basınç gradiyent ölçümü görece daha az riskli tanısal girişimlerdir. Tedavide hastalığın ağırlığına göre sodyum ve sıvı kısıtlaması, analjezik, diüretik uygulaması, onkotik basınç ve hemostaz fonksiyonlarını destekleyici kan ürünleri transfüzyonu, gereğinde renal replasman tedavisi ve solunum desteği gerekebilir. Tedavide etkinliği gösterilmiş çok az ajan vardır. Bunlar arasında defibrotid ve erken dönemdeki uygun olgularda bazen etkili olabilen fibrinolitik tedavi (tPA) sayılabilir. N-asetil sistein hakkında bazı olumlu veriler vardır. Transjuguler intrahepatik portosistemik şant ve cerrahi şant girişimlerinin prognoza olumlu katkısı beklenmez. Karaciğer nakli nadir başvuru olan bir diğer yöntemdir (60).

2.9.2. Engraftman Sendromu

Nötrofil engraftmanının başladığı ilk 72-92 saat içinde ortaya çıkan, enfeksiyonla ilişkisiz ateş, vücut yüzeyinin %25'ini aşan alerjik olmayan deri

döküntüsü, sıvı birikimi, pulmoner embolizm veya kalp yetmezliği ile ilişkisiz hipoksi veya akciğer infiltrasyonu ile ortaya çıkan bir tablodur. Bu bulgular majör tanı kriterlerini de oluşturur. Diyare, kilo artışı, karaciğer, böbrek ve merkezi sinir sistemi bulguları minör tanı kriterleri olarak adlandırılır. Çalışmalar arasında tanı kriterlerindeki farklılıklar nedeniyle serilerdeki ortaya çıkış sıklığı değişkendir. Pediatrik allojenik HKHN olgularında %20-48, erişkin otolog HKHN olgularında %7-59, allojenik HKHN olgularında %28-51 arasında, miyeloablatif olmayan nakillerde yapılan bir çalışmada %10 sıklıkta görülebildiği bildirilmiştir. Hazırlık rejiminin oluşturduğu doku hasarı ve engraftte olan nötrofillerden kaynaklanan sitokinlerin patogenetik rolünden söz edilir. İleri yaş, kadın cinsiyet, HKHN için kullanılan mononükleer (CD34+) hücre miktarı, hematopoetik büyüme faktörü, amfoterisin-B kullanımı ve malign olmayan hematolojik malignite dışı hastalık tanısı ile HLA uyumsuzluğu risk faktörleri olarak tanımlanır. Tedavi amacıyla zamanında uygulanan metilprednizolon (2x1mg/kg- 3 gün, ardından azaltılarak kesilir) ile olguların %80'inden fazlasında hızla, ilk hafta içinde olumlu yanıt alınır (60).

2.9.3. Hematopoetik Kök Hücre Nakline Bağlı Trombotik Mikroanjiyopati

HKHN olgularında hazırlık rejimi, GVHH ve profilaksisinde kullanılan ajanlar (ör: siklosporin, takrolimus) ve enfeksiyonların etkisi ile oluşan endotel hasarının başlattığı TTP (Trombotik trombositopenik purpura) veya HÜS (Hemolitik üremik sendrom) benzeri tablolar trombotik mikroanjiyopati (TM) olarak adlandırılır. Endotel disfonksiyonu mikrodolaşımda trombosit agregasyonuna yol açmaktadır. HKHN olgularında ADAMTS13 düzeyi değişiklikleri TM patogenezinde anlamlı rol oynayacak düzeyde bulunmamıştır. Genel olarak Allo-HKHN olgularında %15'e varan oranlarda, otolog HKHN olgularında ise %4 sıklıkta bildirilirse de literatürde %0.5'den %76'ya kadar geniş bir oranda sıklık tanımlarına rastlanabilir. Karşılaştırmalı bir çalışmada miyeloablatif nakillerden sonra %15, miyeloablatif olmayan HKHN ardından %15 sıklıkta görüldüğü, hasta yaşı, akut GVHH varlığı, donör tipi ve hazırlık rejiminin yoğunluğu risk faktörleri oldukları belirtilmektedir. Tedaviye rağmen %60-90 arasında mortalitesi vardır. Mikroanjiyopatik hemolitik anemi (MAHA), trombositopeni, ateş (enfeksiyon

dışı), renal ve/veya nörolojik değişiklikler olarak özetlenebilecek klinik tablonun ortaya çıkışı genellikle +60. gün civarında olsa da bu süre ilk haftadan ikinci yıla kadar değişebilir. Bir de kalsinörin inhibitörlerine bağlı nefrotoksisite veya nörotoksisite ile ortaya çıkıp ilacın kesilmesi ile düzelen tipi vardır. Kalsinörlere bağlı olmayan şekli ya hazırlık rejiminden kaynaklanan renal yetersizlik, hipertansiyon, MAHA ve trombositopeni ile ya da GVHH veya enfeksiyona eşlik eden renal yetersizlik, nörolojik bozukluklar, hipertansiyon, MAHA ve trombositopeni ile ortaya çıkar ve ağır bir seyirle terminal olabilir (sonlanabilir). Tedavide fikir birliği oluşmamıştır. Hastanın kullanmakta olduğu kalsinörin inhibitörleri kesilir, yerine başka bir ajan tercih edilir. Plazma değişiminin başarısı klasik TTP'dekinden düşük (%75'e karşılık %50'den az), mortalitesi daha yüksek (%20'ye karşılık %80'den fazla) olduğundan standart tedavi olarak önerilememektedir. Sınırlı veriye dayalı olarak rituksimab, daclizumab, defibrotid veya eicosapentaenoik asit ve potansiyel olarak anti-TNF antikorlarının etkili olabileceğinden söz edilmektedir (60).

2.9.4. Hemorajik Sistit

Hematüri, dizüri, pollakiüri, suprapubik ağrı gibi semptom veya bulgularla ortaya çıkan bir komplikasyondur. HKHN olgularında profilaksi yokluğunda %70 sıklıkta, profilaksi ardından %5-35 sıklıkta bildirilmektedir. Erken veya geç başlayan iki farklı tipte hemorajik sistitten (HS) söz edilir. Bu iki tipin etyolojileri birbirinden ayrıdır. Erken başlangıçlı hemorajik sistit siklofosamid veya ifosfamid'in toksik metaboliti olan akroleinin üriner sistem toksisitesinden kaynaklanır. Genellikle HKHN'i izleyen haftalar veya aylar sonra ortaya çıkan geç HS etyolojisinde virüsler, GVHH ve geçirilmiş eski HS suçlanmaktadır. Adı geçen virüsler; BK virüs (BKV), adenovirüs ve sitomegalovirüstür. Hemorajik sistitin klinik olarak derecelendirilmesi klinik verilere dayanır (60) (Tablo 21 (8)).

Tablo 21. Hemorajik Sistit Klinik Evrelemesi

Evre	Klinik Tanım
Evre 0	İrritasyon semptomlarının olmaması
Evre 1	Mikroskopik hematüri
Evre 2	Makroskopik hematüri
Evre 3	Makroskopik hematüri ve küçük pıhtılar
Evre 4	Masif makroskopik hematüri nedeniyle idrar retansiyonu oluşumu ve/veya pıhtıları uzaklaştırmak için girişim gereksinimi

Üriner enfeksiyon dışlanması amacıyla orta akım idrar kültürü yapılır. İdrarın sitolojik incelemesi ile olguların üçte birinde anormal şekilli, hiperkromatik çekirdekli üriner epitel hücreleri görülebilir. Etken BKV ise Papanicolaou ile boyanan hücre içi inklüzyon cisimcikleri dikkat çekebilir. BKV varlığı ayrıca elektron mikroskopisi, ELISA veya virüs genomik yapısının gösterilmesi ile de ortaya konabilir. Kültür yöntemi ile gösterilmesi kolay değildir. Adenovirüs için de elektron mikroskopisi, kültür veya genomik DNA'nın polimeraz zincir reaksiyonu ve in-situ hibridizasyon ile ortaya konması gibi yöntemler tanımlanmıştır. Görüntüleme yöntemleri çok yararlı olmamakla birlikte ultrasonografi ile mesane duvarında farklı derecelerde kalınlaşma, lümen içi kitle görüntüsü gibi izlenimler tanımlanmıştır. Sistoskopi tedavi girişimlerinin parçası olarak gerekli olur ve uygulandığında tanıya da katkısı vardır. HS profilaksisi amacıyla hidrasyon, mesna ve seyrek olarak da mesane irrigasyonu uygulanır. Hafif seyirli olgular kendiliğinden düzelebilir. Trombositopeni ve varsa kanama eğilimini arttıran diğer faktörler giderilmelidir. Makroskopik hematüri varlığında hiperhidrasyon sürdürülür. Mesane irrigasyonu da tedavi yöntemleri arasında önemli yer tutar. Bazı olgularda pıhtıların temizlenmesi veya kanayan odakların koterizasyonu için sistoskopi gerekebilir. Diğer tedavi yöntemleri arasında sistemik veya lokal antifibrinolitik uygulanması, östrojenler, hiperbarik oksijen tedavisi sayılabilir. Adenovirüs ve BKV için ribavirin veya vidarabin, CMV için gansiklovir gibi antiviral ajanlar denenmiştir. Hiç bir yöntemle kontrol edilemeyen HS olgularında hipogastrik arterlerin ön dallarının ligasyonu veya embolizasyonu veya sistektomi gibi girişimlere ihtiyaç duyulabilir (60).

2.9.5. Graft Yetmezliği

Kemik iliği kaynaklı KHT sonrası 28 gün veya periferik KHN sonrası 21 günden daha fazla süren pansitopeni ve ciddi hiposellüler kemik iliği graft yetmezliği olarak tanımlanır. Primer graft yetmezliği ve geç graft yetmezliği olarak iki ana başlık halinde toplanabilecek graft yetmezliği, hem otolog hem allojenik HKHN'nin ciddi komplikasyonları arasında yer alır. Engraftmanın gecikmesi veya yeterli olmaması enfeksiyon riskini ve mortalite riskini arttırabilir. Graft yetmezliğinin sınıflandırması Tablo 22'de özetlenmiştir (8).

Tablo 22. Ziegler'in Derecelendirmesi

Klinik Durum	Klinik Grade	LDH Düzeyi	Fragmente hücreler (%)
Yok	0	Normal	1.2
Subklinik	1	Normal	1.3
Hafif	2	Artmış	1.3-4.8
Orta	3	Artmış	4.9-9.6
şiddetli	4	Artmış	9.7

Genellikle yetersiz sayıda hematopoetik progenitör hücre infüzyonu sonrası görülür. Allojenik KHN'de yeterli engraftman için en az $2 \times 10^8/\text{kg}$ çekirdekli hücre infüze edilmelidir. Umbilikal kord kanı ilişkili hematopoetik graftlar ile mononükleer hücre infüzyon dozu daha az olabilir. PKHN'de eğer 2×10^6 CD34+ hücre/kg ve daha fazlası toplanırsa graft yetmezliği nadir görülür. Splenomegali progenitör hücreleri ve olgun kan hücreleri sekestre ederek hematolojik iyileşmenin gecikmesine neden olabilir. Myelofibrozisli hastalarda myeloid düzelme yavaş, eritrosit ve trombosit düzelmesi daha uzun olduğu için engraftman gecikebilir. En önemli risk faktörlerinden birisi özellikle non-myeloablatif olmak üzere hazırlık rejimidir. Bunun dışında aplastik anemili hastalarda birinci derece akrabadan yapılan transfüzyonlar ve GVHH profilaksisi amacı ile yapılan T hücre depleasyonu diğer önemli risk faktörleri arasında sayılabilir. Transplantasyon sonrası tedavi de engraftmanı tehlikeye atabilir. Graft yetmezliği ya da pansitopeni ile seyreden zayıf graft fonksiyonu özellikle metotreksat, ATG, gansiklovir, trimetoprim-sulfametaksazol (TMP-SMX) gibi ilaçların kullanımı ile ilişkili bulunmuştur.

CMV, HSV-6 ya da mantar infeksiyonları, akut ve kronik GVHH ve nadir olarak EBV ilişkili transplant sonrası görülen lenfoproliferatif hastalık gibi transplant sonrası komplikasyonlar graft yetersizliğine neden olabilir. Akraba dışı ya da tam uyumlu olmayan donörlerle yapılmış AKHN'lerde engraftman sorunları ortaya çıkabilir. HLA-A, HLA-B ve HLA-DR antijenleri uyumlu olarak yapılan transplantede graft yetmezliği nadir görülür (%1-3). HLA uyumsuzluk derecesi arttıkça graft yetmezliği sıklığı artmaktadır. Primer graft yetmezliğinde ATG ve pentostatin ile immünsupresyonu takiben ikinci nakil denenebilirken, geç graft yetmezliğinde kimerizm durumuna göre ikinci nakil veya sadece donör lenfosit infüzyonu yapılabilir. Myelopoezisi uyaran rekombinant G-CSF ya da GM-CSF kullanımı graft yetmezliğini önleyebilir. Zayıf graft fonksiyonlu hastaların %50-60'ında hematopoietik büyüme faktörü tedavisinden 14-21 gün sonrasında myelopoezis gelişimi saptanmıştır. Myeloid büyüme faktörü trombosit sayısına etki etmeden sadece periferik kandaki lökosit sayısını arttırabilir. Rekombinant insan trombopoetini birkaç klinik çalışmada kullanılsa da trombosit sayısını iyileştirmede etkili bulunmamıştır. Kısıtlı deneyimler rekombinant eritropoetinin kullanımının transfüzyon ihtiyacını azalttığını öne sürmektedir. Graft yetmezliği oluşursa ikinci kök hücre infüzyonu yararlı olabilir (8).

2.9.6. İdiyopatik İnterstisyel Pnömoni

İdiyopatik interstisyel pnömoni tanısı tipik bulguları ve infeksiyöz nedenlerin dışlanması ile konulur. Genellikle nakil sonrası 2-7. haftalar arasında ve diğer nedenlere göre daha erken dönemde ortaya çıkar. İdiyopatik interstisyel pnömoni için GVHH, ileri yaş, transplant öncesi yoğun kemoterapi, yüksek doz siklofosamid, kan transfüzyonu, metotreksat kullanım öyküsü ve total vücut ışınlaması başlıca risk faktörleridir. Toksik nedenlerin idiyopatik interstisyel pnömonitise yol açtığı düşünülmekte ve TVI'nın yaygın kullanımının bunda etkili olduğu düşünülmektedir. Başlıca tedavi prensipleri ise sürekli O₂, infeksiyondan kaçınmaya ait genel önlemler, nütrisyon desteği ve fizik tedavidir. Yüksek doz kortikosteroid tedavide kullanılsa da etkin bir tedavisi yoktur. TNF inhibitörü etanercept ile ilgili çalışmalar henüz devam etmektedir (8).

2.9.7. Diffüz Alveolar Hemoraji

Akut pulmoner infiltratlar, hipoksemi ve bronkoskopide progresif olarak kanlı BAL ile karakterize bir klinik sendromdur. Alveolar hemorajinin infeksiyon dışı nedenlerle ortaya çıkması nedeniyle diffüz alveolar hemoraji olarak adlandırılmaktadır. Fakat özellikle transplant sonrası erken dönemde görülen infeksiyonlardan ayırımı zordur. Otolog nakillerde görülme sıklığı %2-5 iken allojenik alıcılarda bu oran %5-10 arasında seyredir. Etyopatogenezi kesin olarak bilinmese de radyoterapi ve kemoterapiye sekonder alveolar hasar ile nötrofil, sitokinler ve altta yatan infeksiyonları içeren çeşitli faktörlerin etkileşimi ile klinik tablonun oluştuğu düşünülmektedir. İleri yaş, allojenik nakil ve GVHH başlıca risk faktörleridir. Non myeloablatif ve myeloablatif rejimler benzer risklere sahiptir. Tipik olarak naklin ilk 3 ayında dispne, hipoksi ve öksürük ile ortaya çıkar. Hemoptizi çoğunlukla yoktur ve BAL ile bronkoskopi infeksiyöz nedenleri dışlamak amacıyla önerilir. Sendrom çok ciddidir ve mortalite oranı %70' den fazladır. Perengraftman döneminde oluşan alveolar hemorajinin seyri geç dönemde oluşana göre daha iyidir. Önerilen tedavi koagülopatinin düzeltilmesi ve yeterli ventilatör desteğidir. Yüksek doz kortikosteroid tedavisi hastalığın yönetiminde kullanılmış olsa da kanıtlanmış bir etkisi yoktur. Trombosit sayısı $50.000/mm^3$ 'ün üzerinde tutulmalıdır. Küçük olgu serilerinde faktör VIIa ve aminokaproik asitin kullanımının başarılı olduğu ancak geniş kapsamlı klinik çalışmalara ihtiyacı olduğu belirtilmiştir (8).

2.9.8. Alloimmünizasyon

Trombosit süspansiyonu transfüzyonları sonrası istenen düzeyde trombosit artışının sağlanamaması, hastaların tedavisinde ciddi zorluklara neden olmaktadır. Trombosit süspansiyonu transfüzyonuna yetersiz yanıt, immün veya immün olmayan nedenler sonucu olabilmektedir. İmmün olmayan nedenler içerisinde; dissemine intravasküler koagülasyon, splenomegali, ateşle birlikte infeksiyon varlığı, amfoterisin-B gibi ilaç uygulamaları yer alır. İmmün nedenlerin başında ise, trombositlerde eksprese olan HLA veya trombosit antijenlerine karşı yönelmiş olan alloantikorlar gelir.

Alloimmünizasyondan şüphelenilmeden önce, hastanın 72 saatten daha kısa süre saklanmış ABO uyumlu trombosit süspansiyonu transfüzyonuna yetersiz cevap verdiği ortaya konulmalıdır. Alloimmünizasyon genellikle transfüzyondan sonra trombosit sayısındaki artışın yeterli olmayışı ile gösterilir. Burada bakılan parametreye "düzeltilmiş sayı artışı (CCI)" denilir ve aşağıdaki gösterilen şekilde hesaplanır:

CCI: (Post tx trom.sayısı) – (Pre tx trom.sayısı) x BSA/(Transfüze edilen trombositler x 10^{11})

Transfüzyondan sonra 10 dk. ile 1 saat arasında alınan örnekten ölçülen CCI değeri $>7.5-10 \times 10^9/L$ ise veya transfüzyondan sonra 18–24. saatler arasında alınan örneklerde CCI $>4.5 \times 10^9/L$ ise alloimmünizasyon yoktur. Beklenenden düşük bir saatlik CCI değeri olan hastalarda alloimmünizasyon olasılığı yüksektir. Bir saatlik CCI değerleri yeterli, fakat 24 saatlik CCI değerleri beklenenden düşük olan hastaların ise immün olmayan olaylara bağlı refrakterlik geliştirmiş olma olasılıkları vardır. Bu hastalarda daha yüksek doz veya daha sık aralıklarla trombosit transfüzyonu yapılmalıdır. Alloimmünize hastalarda trombositlerin istenilen düzeye çıkarılması için kullanılabilecek HLA uyumlu donör trombositlerinin bulunması veya trombosit cross-match çalışılması sonrası uygun donörlerden trombosit eldesi, düzenli donasyonda bulunan kişilerin azlığı ve kayıtların düzenli olmaması nedeni ile ülkemizde zorluk oluşturmaktadır. Bu sebeple alloimmünizasyon gelişimini önleyici uygulamalar daha da önem kazanmaktadır. Alloimmünizasyonun sıklıkla kan komponentlerindeki lökositlerin yüzeyinde bulunan ve hastanın immün sistemi tarafından yabancı bir antijen olarak algılanan HLA antijenlerine karşı gelişen antikorlar nedeni ile ortaya çıkması nedeni ile lökosit filtreleri ile lökodepleksiyon, eritrosit ve trombosit transfüzyonları esnasında nakil hastalarında veya nakil adayı olan hastalarda mutlaka uygulanmalıdır. Bu şekilde lökosit filtrelerinin kullanımının alloimmünizasyon riskini azalttığı gösterilmiştir (66).

2.9.9. Enfeksiyonlar

Kök hücre nakli sonrası enfeksiyonlar sık karşılaşılan, morbidite ve mortalitenin en önemli nedeni olan komplikasyonlardır. KHN sonrası

gelişecek infeksiyon riskini ve sonucunu belirlemedeki en önemli faktörler; hastanın aldığı transplant türü ve nakil sonrası hastanın bulunduğu dönemdir. Bir hasta için infeksiyon riskini belirleyen en önemli faktör ise immünsupresyonun derecesidir. Son dönemde, uygulanan etkin antimikrobiyal profilaksiler, hazırlama rejimleri ve uygulanan graft ile ilgili değişimler infeksiyonların epidemiyolojisinde ve ortaya çıkış zamanlarında önemli değişimlere neden olmuştur. Kök hücre nakli sırasında infeksiyon için başlıca risk faktörleri mukokutanöz bariyerlerin bozulması ve santral venöz kateter uygulanmasıdır. Transplantın erken döneminde görülen infeksiyonların %30'u bakteriyel kaynaklıdır. Genellikle cilt florasından (koagülaz negatif stafilokok), orofarenks ve gastrointestinal sistemden (S. viridans, enterokoklar ve enterik gram negatif basiller) köken alır. Tablo 23'de KHN sırasında erken dönemde görülen infeksiyon etkenleri, risk faktörleri, klinikleri ve tedavileri özetlenmiştir (8).

Tablo 23. Kök Hücre Nakli Yapılan Hastalarda Erken Dönemde Görülen Enfeksiyonlar

Patojen	KHN Sonrası Risk Periyodu	Risk Faktörleri	Klinik Sendrom	Tedavi
Gram pozitif kok	1-4 hafta	Nötropeni Mukozit Santral venöz kateter Deri bütünlüğünün bozulması	Bakteriyemi	Duyarlılık testlerine göre antibiyotikler
Enterobakter spp.	1-4 hafta	Nötropeni Deri bütünlüğünün bozulması GIS mukoza harabiyeti	Bakteriyemi	Duyarlılık testlerine göre antibiyotikler
Clostridium difficile	1-8 hafta	Antibiyotikler	Kolit	Metranidazol Oral vankomisin
Candida spp.	1-4 hafta	Nötropeni Deri bütünlüğünün bozulması GIS mukoza harabiyeti	Kandidedimi Mukokutanöz Hepatosplenik	Azoller Ekinokandinler Amfoterisin
Aspergillus	1-4 hafta	HLA uyumsuzluğu	Sinüzit Pulmoner nodül veya infiltrasyonlar	Küf spesifik azoller Ekinokandinler Amfoterisin
Herpes simplex virüs	1-4 hafta	Alıcı seropozitivitesi	Orofaringeal Özefajit Viremi	Asiklovir Valasiklovir Foskarnet
CMV	>4 hafta	Alıcı veya donör seropozitivitesi HLA uygunsuzluğu Akut veya kronik GVHD	Enterit İnterstisyel pnömoni	Gansiklovir Foskarnet Valgansiklovir
VZV	>4 hafta	Alıcı seropozitivitesi Suçiçeği öyküsü HLA uygunsuzluğu Akut veya kronik GVHD Kronik immunsupresyon	Kutanöz İnterstisyel pnömoni Hepatit	Asiklovir Valasiklovir Foskarnet
EBV	>4 hafta	HLA uygunsuzluğu T hücre depleasyonu	Viremi Posttransplant lenfoproliferatif hastalık	Rituximab İmmün-supresyonun azaltılması Sitotoksik kemoterapi

2.10. Talasemide Hematopoetik Kök Hücre Transplantasyonu ve Tarihçesi

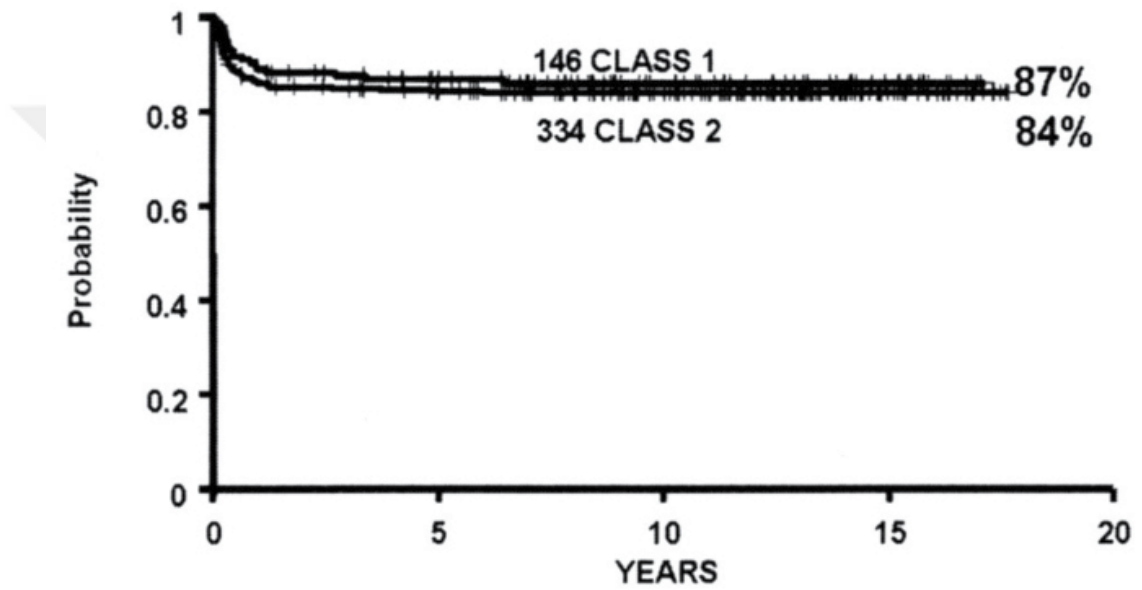
Talasemi'de ilk başarılı uygulama 1981'de Thomas ve arkadaşları tarafından Seattle, ABD'de yapılmıştır. Hiç transfüze edilmemiş, 14 aylık bir erkek hasta olan bu olguya HLA tam uygun kız kardeşinden Allojenik KİT uygulanmış ve halen devam etmekte olan uzun, hastalısız bir sürvi sağlanmıştır. İlk transplanttan iki hafta sonra Pesaro'da 14 yaşında ve 150 kez transfüzyon almış hastaya yapılan kemik iliği transplantasyonu ise graft rejeksiyonu ve rekürrens ile sonuçlanmıştır. İlk seri çalışmalar da Lucarelli ve arkadaşları tarafından Pesaro, İtalya'dan yayınlanmıştır. Talasemi için ilk başarılı transplantasyonun gerçekleştirildiği 1981 yılından sonra günümüze kadar 1003'ü İtalya'da Pesaro grubu tarafından olmak üzere tüm dünyada yaklaşık 2300'den fazla beta talasemi major hastasına HKHT uygulanmıştır (67). Öncü niteliğindeki ve hazırlama rejimi olarak Siklofosfamid (CY) + Tüm Vücut Işınlaması (TBI) kullanarak yapılan Allojenik KHT'lerde en büyük sorun graft rejeksiyonu ve erken toksisite olmuştur. 1983'ten beri ise Santos'un lösemili hastalar için önerdiği Busulfan (BU) + Siklofosfamid (CY) protokolü başarıyla kullanılmaktadır (68). Bugün talasemide, allojenik uygulamalarda, kardeş veya HLA uyumlu panel kaynaklı vericilerin kemik iliği, periferik kök hücre ve kordon kanı kaynak olarak kullanılmaktadır (10). Pesaro grubu 1981 ile 2003 yılları arasında HKHT uyguladıkları toplam 1003 hastayı değerlendirdiklerinde, HKHT sonrası 20. yılda talasemisiz yaşam oranının %71 olduğunu ve bu oranın ilk 2 yıldan sonra plato çizdiğini göstermişlerdir (69). Çok yeterli bir hasta sayısı içeren bu deneyimin en önemli sonucu HKHT'nin talasemiye tamamen kür edebilen bir tedavi yaklaşımı olduğunun kanıtlanmış olmasıdır. Ancak bu geniş hasta grubu çok farklı özellikte (özellikle yaş ve düzenli DFO kullanımı açısından) hastalardan oluştuğu için bu genel sonucun çok anlamlı olmadığı gündeme gelmiştir. Zaman içinde de talasemi hastalarında HKHT öncesi olan bazı faktörlerinin bu hastalarda HKHT'nin başarısı ile çok yakından bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Bu risk faktörlerine göre de talasemi hastaları HKHT öncesi Pesaro risk sınıflandırmasına göre farklı gruplara ayrılmışlar ve farklı olarak değerlendirilmişlerdir (39).

2.11. Pesaro Risk Sınıflandırılması

Talasemi hastalarında en fazla deneyime sahip olan Pesaro grubu doku tipi tam uygun kardeşten yapılan ilk transplantasyonların hepsinde hazırlama rejimi olarak busulfanı (BU) 14 mg/kg dozunda ve siklofosfamidi (CY) 200 mg/kg dozunda olacak şekilde (BU14CY200) kullanmıştır. Bu grup ilk 222 hastanın değerlendirmesini yaptığı zaman multivaryasyon analizinde HKHT'nin başarısı açısından 2 cm'den daha büyük karaciğer varlığı, karaciğer biyopsisinde fibrozis görülmesi ve düzensiz DFO kullanımının kötü risk faktörleri olduğunu göstermişlerdir. Düzenli DFO kullanımı ise bu grup tarafından DFO kullanımına kan transfüzyonların ilk başladığından en geç 18 ay sonra başlanması ve haftada en az 5 gün olacak şekilde 10-12 saatlik sc infüzyon olarak verilmesi olarak tanımlanmıştır. Bunun dışındaki olgular düzensiz DFO kullanmış olarak kabul edilmiştir. Bu risk faktörlerinin varlığına göre talasemi hastaları HKHT öncesi 3 ayrı risk grubuna ayrılmaktadır; hiç bir risk faktörü taşımayan hastalar sınıf I, 3 risk faktöründen 1 veya 2 tanesini bulunduran hastalar, sınıf II ve tüm risk faktörlerini taşıyan hastalar ise sınıf III olarak transplant öncesi risk açısından sınıflandırılmaktadır (70). Lucarelli ve arkadaşlarının "Pesaro kriterleri" olarak bilinen bu kriterleri hastaları transplant öncesi değerlendirme kriterleri birçok merkez tarafından uygun bulunarak günümüzde transplant öncesi sınıflama için yaygın olarak kullanılmaktadır. Hastaları transplantasyona hazırlama aşamasında (conditioning) kullanılan busulfan ve siklofosfamid dozları, bu sınıflama göz önünde tutularak belirlenmektedir. Ekim 1989 tarihine kadar, hazırlama rejimi olarak 1 ve 2. gruptaki hastalarda BU14 + CY200 kullanılırken GVHH profilaksisi olarak da önceleri Metotreksat (MTX) kullanılmış, daha sonra Siklosporin (CsA) kullanıma girmiştir. Lucarelli ve arkadaşları 1981-1998 tarihleri arasında 824 beta talasemi majorlü hastaya (Orta yaş: 10, 1-35 yaş) HLA uygun vericiden KHT yapmışlardır. Vericilerin 794'ü kardeş, 30'u anne-baba idi. 17 yıllık sürvi %75 olarak saptanmıştır (10).

2.11.1. Sınıf I ve II Risk Grubu Hastalarda HKHT Sonuçları

Pesaro grubu tarafından 1985 ile 2003 yılları arasında BU14CY200 hazırlama rejimi kullanılarak doku tipi tam uygun aile içi vericiden 17 yaş altındaki sınıf I ve II talasemi hastalarına yapılan HKHT sonuçları değerlendirildiğinde, sırasıyla talasemisiz yaşam oranı %87 ve %84 bulunurken graft rejeksiyon oranı %2 ve %3 olarak bulunmuştur (Şekil 14) (71).

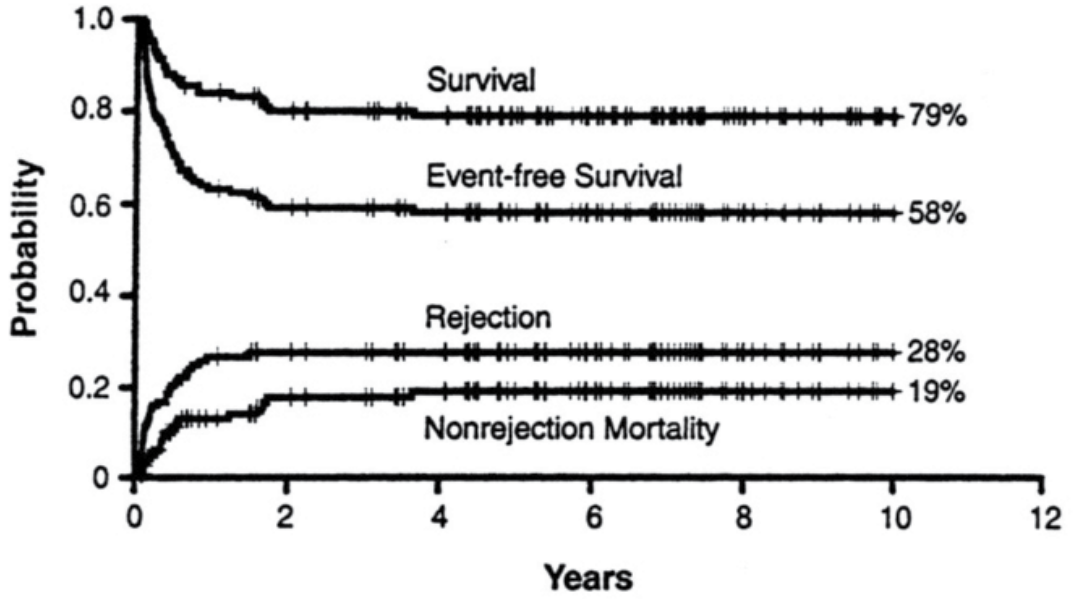


Şekil 14. Pesaro grubu tarafından BU14CY200 hazırlama rejimi kullanılarak aile içi donörlerden HKHT uygulanmış olan toplam 480 sınıf 1 ve 2 risk grubu talasemi hastasında HKHT sonrası talasemisiz-yaşam oranları

2.11.2. Sınıf III Risk Grubu Hastalarda HKHT Sonuçları

Daha yüksek risk grubu olarak kabul edilen sınıf III talasemi hastalarında BU14CY200 hazırlama rejimi kullanıldığında, sınıf 1 ve 2 hastalardan çok farklı olarak daha fazla oranda transplantasyona bağlı komplikasyonların geliştiği ve sonuç olarak da bu grup hastalarda talasemisiz yaşam oranının da çok daha düşük olduğu gösterilmiştir. Bu ilk değerlendirmeden sonra bu grup hastalara hazırlama rejimi olarak daha düşük dozda siklofosfamid verilmeye başlanmış ve bu yaklaşım ile sınıf III talasemi hastalarında HKHT sonrası genel yaşama oranı %79'a kadar

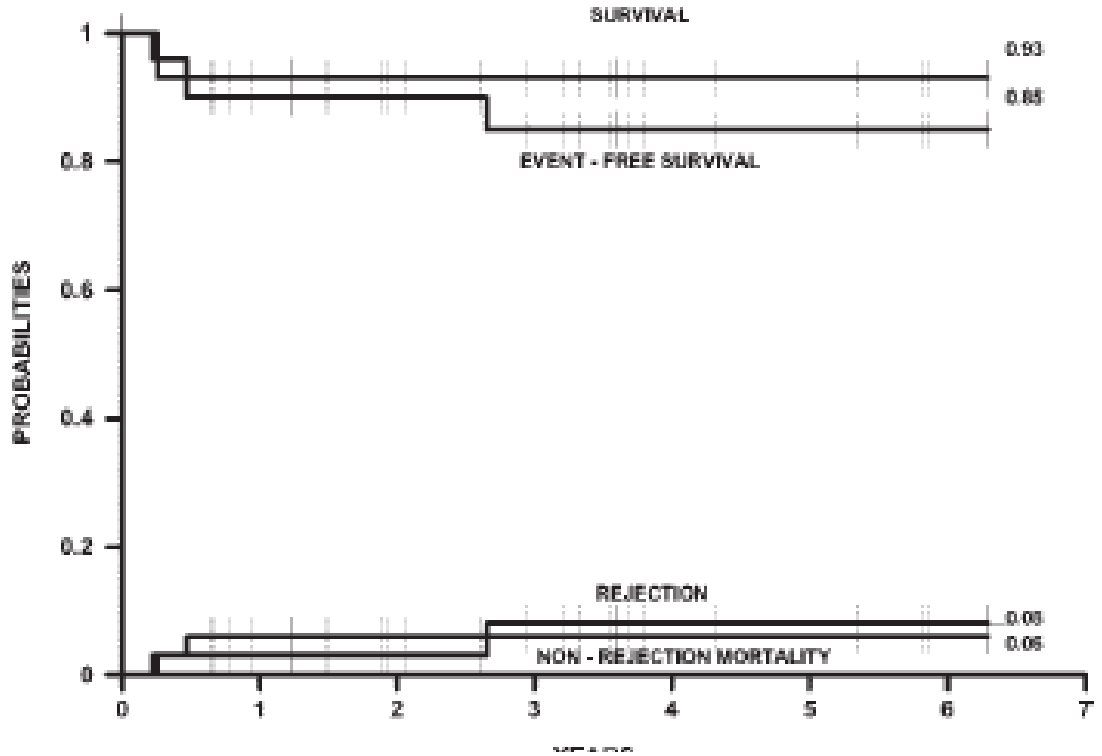
yükselmiş ancak graft rejeksiyonu %30 gibi çok yüksek oranda gerçekleşmiştir (Şekil 15) (71).



Şekil 15. Pesaro grubu tarafından BU14CY160 hazırlama rejimi kullanılarak aile içi donörlerden HKHT uygulanmış olan toplam 122 sınıf 3 risk grubu talasemi hastasında HKHT sonrası genel yaşam, talasemisiz-yaşam ve graft rejeksiyonu oranları

Aynı hazırlama rejimi ile 109 erişkin sınıf III talasemi hastalarındaki deneyimde ise genel yaşam süresi %66 olmakla birlikte daha genç hastalardan belirgin farklılık olarak graft rejeksiyonu %4 gibi oldukça düşük olmasına karşın non rejeksiyon mortalite %36 gibi çok yüksek olarak bulunmuştur (72). Elde edilen bu sonuçların üzerine sınıf III risk grubu hastalar için Pesaro grubu daha farklı bir hazırlama rejimi geliştirmiş ve 1997 yılından itibaren bunu kullanmaya başlamıştır. Bu hazırlama rejimi ile zaten demir birikimine bağlı doku hasarı olan bu hastalarda ilaca bağlı komplikasyonları arttırmadan hematopoietik sistemin ablasyonunun ve immünosüpresyonun daha fazla artırılması hedeflenmektedir. Bu amaçla bu hazırlama rejiminde (protokol 26) hidroksiüre (30 mg/kg/gün) ve azathioprine (3 mg/kg/gün) transplant öncesi -45. günden itibaren ve fludarabine (20 mg/kg/gün) -17 ile -11. günler arasında hipertransfüzyon programı ve her gün DFO ile yoğun şelasyon tedavisi eşliğinde kullanılmaktadır. Bu hastalar myeloablasyonu sağlayacak asıl hazırlama tedavisi olarak da bu tedavilerden sonra busulfan (14 mg/kg/toplam; gün -9 ile -6 arasında) ve siklofosamid (17

yaşından küçüklerde 160 mg/kg/toplam, daha büyüklerde ise 90 mg/kg/toplam; -5 ile -2 gün arasında) almaktadırlar. Bu hazırlama rejimi kullanılarak 17 yaştan küçük sınıf III risk grubu talasemi hastalarına doku tipi uygun aile içi donörlerden yapılan transplantasyonların ilk değerlendirilmesinde toplam 33 hastada genel yaşam oranının %93'e yükseldiği ve rejeksiyonun da %8'e kadar azaltıldığı görülmüştür (Şekil 16) (73). Bu ilk değerlendirmedeki görece az hasta sayısı net bir değerlendirme yapabilmek için yeterli olmamakla birlikte yeni hazırlama rejiminin (protokol 26) sınıf III risk grubu talasemi hastaları için eski hazırlama rejiminden çok daha iyi tolere edildiği ve daha etkin olduğu söylenebilir.



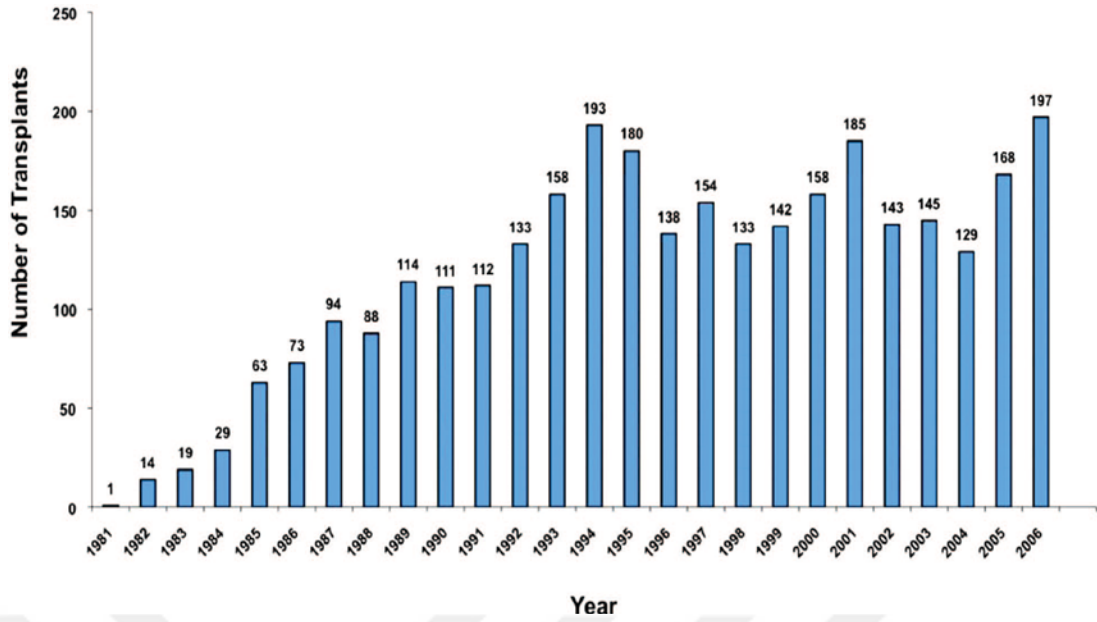
Şekil 16. Hazırlık rejimi olarak Protokol 26 kullanılan aile içi donörlerden HKHT uygulanmış olan 17 yaşından küçük toplam 33 sınıf 3 risk grubu talasemi hastasında HKHT sonrası genel yaşam, talasemisiz-yaşam ve graft rejeksiyonu oranları

Son yıllarda transplantasyon teknolojilerinin ve transplantasyon sonrası klinik bakımın geniş ölçüde gelişmesi ile birlikte literatürde oldukça başarılı sonuçlar elde edilmiştir. Dünya çapında bir çok merkez, talasemide günümüzde oldukça başarılı sonuçlarla HKHT gerçekleştirmektedir (74) (Tablo 24 (39)).

Tablo 24. Talasemi hastalarına farklı ülkelerde ve farklı merkezlerde uygulanmış olan HKHT sonuçlarının karşılaştırılması

Merkez	İtalya Pesaro 2003	İtalya 1997	UK 2003	Fransa 2013	USA 1997	İran 2005	Hindistan 2001	Hong Kong 2002	Türkiye 2012
Kaynak no	17	25	26	27	28	29	30	31	23
Hasta Sayısı	1003	102	55	108	68	90	106	44	245
Genel Yaşam	%81	%91	%95	%87	%87	%83	%66	%86	%85
Talasemisiz Yaşam	%71	%87	%82	%69	%63	%72	%59	%82	%68
Graft Rejeksiyonu	%10	%6	%13	%22	%24	%10	%6	%5	%17

HKHT hazırlama rejiminde iyileştirme için intravenöz busulfan, treosulfan, thiotepa ve fludarabine gibi ilaçlar ile çeşitli yaklaşımlar geliştirilmesinin yanı sıra transplant öncesi yoğun transfüzyon şelasyon rejimleri uygulanmaktadır. Uygulanan bu farklı rejimlerde demir ile ilgili doku hasarına sahip olmayan hastalarda, genel olarak hayatta kalma ve talasemi içermeyen hayatta kalma oranları sırasıyla %90 ve %80'den fazladır. Benzer sonuçlar, dünya çapındaki 120 merkezden, son on yılda nakil yapılan 1000'den fazla hastada retrospektif EBMT araştırması tarafından da bildirilmiştir (Şekil 17). Yüksek riskli pediatrik hastalarda dahi sağ kalım bazen %90'ı aşar, ancak genellikle bu kategorideki hastalar için uygulanan azalmış toksisite rejimi nedeniyle talasemi içermeyen sağkalım oranı %66-80 arasında değişmektedir (74).



Şekil 17. Dünyada yıllara göre talasemi nedeniyle nakil olan hastaların dağılımı

Kordon kanı da hemoglobinoopatilerde kök hücre kaynağı olarak kullanılabilir. Talasemi hastasında kordon kanı transplantasyonu ilk olarak Issaragrisil ve arkadaşları tarafından Haziran 1993'de uygulanmıştır (75). ABD'deki program 1998'de başlamış ve 1617 kordon kanının %6'sı talasemili hastalar için toplanmıştır. 96 örneğin 32'si HLA uygun bulunmuş olup 14'üne KHT yapılmıştır ve 11 hasta hastalıksız yaşamaktadır (10). Daha sonra pek çok değişik merkezde talasemi hastalarında sınırlı sayıda KKT uygulanmıştır. Avrupa Kordon Kanı Transplantasyon Kayıt Merkezi'nde (Eurocord) toplanan bu talasemide kordon kanı transplantasyon verileri 2003 yılında toplu olarak değerlendirilmiştir (76). Bu en geniş kapsamlı değerlendirmede toplam 33 talasemi major hastasına doku tipi uygun kardeşlerden kordon kanı transplantasyonu uygulanmıştır. Bu hastaların çoğu küçük yaşlarda (ortanca yaş 5 yıl) olup hepsi transplantasyon açısından düşük riskli kabul edilen (Pesaro risk sınıflandırmasına göre sınıf I=20 ve sınıf II=13) gruptandır. Hastalara verilen transplantasyona hazırlama rejimleri ve GVHH profilaksisi merkezlere göre değişiklik göstermiştir. Kordon kanı ile çekirdekli hücre sayısı ortanca değeri $5,1 \times 10^7/\text{kg}$ (1,2 - 13,0) arasında verilmiştir. Kordon kanı transplantasyonunun başarısı için çok önemli olduğu bilinen verilen çekirdekli hücre sayısının bu hastalar için genelde çok yeterli olduğu ve yeterli engraftman için önerilen $3,7 \times 10^7/\text{kg}$ ve daha az mortalite açısından önerilen $2,0 \times 10^7/\text{kg}$ değerlerinin oldukça üstünde olduğu

görülmüştür. Transplantasyon sonrası izlem süreleri görece kısa olan (4 ile 76 ay) bu hastaların ortanca izlem süresi 24 aydır. Transplantasyon sonrası bu hastaların ancak yaklaşık %90'ında myeloid ve trombosit engraftmanı gerçekleşmiş ve engraftman gerçekleşenlerin ortanca myeloid engraftman süresi 23 gün, trombosit engraftman süresi 39 gün olarak bulunmuştur. Graft-versus-host hastalığı akut olarak hastaların %11'inde kronik olarak da %6'sında gelişmiştir. Bu kısa süreli izlem süresinde hiçbir hasta kaybedilmemiş ancak hastaların %21'inde hastanın kendi talasemik hücrelerinin geri dönüşü (graft rejeksiyonu) gerçekleşmiştir. Talasemi hastalarında kordon kanı transplantasyonu ile elde edilen bu sonuçlar kemik iliği transplantasyonu ile karşılaştırıldığında KKT'nin olumsuz bir yanı olarak, engraftmanın daha az hastada (%90'a karşı %98) gerçekleştiği ve engraftman gerçekleşenlerde de, engraftman gerçekleşme süresinin hem myeloid (23 güne karşı 18) hem de trombosit (39 güne karşı 24) için daha geç olduğu görülmüştür. Ancak bu olumsuz faktöre bağlı olarak hastalardan kaybedilen olmamıştır. Kordon kanı transplantasyonunun olumlu bir yönü olarak hem akut (%11'e karşı %27) hem de kronik (%6'ya karşı %27) GVHH daha az olarak gelişmiştir. KKT sonrasında sonuçta hiç bir hastanın kaybedilmemiş olması KİT'e göre olumlu (%100'e karşı %90) gözükmeyle birlikte, KKT uygulanan hasta sayısının çok az sayıda ve izlem süresinin de çok daha kısa olması göz önüne alınmalıdır. Talasemide KKT ile ilgili olarak belki en önemli sonuç hastaların %21'inde talasemik geri dönüşün olmasıdır. Bu açıdan KKT, KİT ile karşılaştırıldığında talasemik geri dönüşün KKT sonrası düşük risk hastalar için çok yüksek olduğu (%21'e karşı %3) görülmektedir. KKT uygulanan talasemi hastaları hazırlama rejimleri ve GVHH profilaksisi açısından kendi içinde değerlendirildiğinde hazırlama rejimi olarak KİT'de standart olarak kullanılan busulfan ve siklofosfamid tedavisine thiotepa veya fludarabin eklenmesinin ve ayrıca GVHH profilaksisinde siklosporinin tek başına verilip metotreksatın kullanılmamasının KKT başarısını artırdığı görülmüştür (76). Çok yakın zamanda EBMT grubu talasemi major hastalarına yapılan toplam 259 kemik iliği transplantasyonu ile 66 kordon kanı transplantasyonunun sonuçlarını karşılaştırmıştır. Bu karşılaştırmının yapıldığı hasta gruplarından kordon kanı transplantasyonu uygulanan hastalar grubunun yaş ortalamasının daha

düşük olduğu, daha az oranda yüksek risk hasta içerdiği ve bunların daha yakın zamanda yapılmış olduğu belirtilmiştir. Talasemisiz yaşam oranları kordon kanı transplantasyonu sonrası %80 iken kemik iliği transplantasyonu sonrası %86 olarak bulunmuştur (77).

2.12.Talasemide Aile Dışı Vericilerden HKHT

Bir talasemi major hastasının doku tipi uygun kardeşi varsa hematopoietik kök hücre trasplantasyonunun kısa süre içinde hastada doku harabiyeti gelişmeden önce yapılması tartışmasız bir biçimde önerilmektedir. Ancak her talasemi hastası için doku tipi uygun bir kardeş (sağlıklı veya taşıyıcı) bulmak her zaman için mümkün değildir. Bir hasta için doku tipi uygun kardeş bulma olasılığı tek kardeş varlığında %25-30, iki kardeş varlığında %43,7 ve üç kardeş varlığında ise %57,8'dir (69). Buradan da görülebileceği gibi talasemi hastalarının çoğunun doku tipi kardeşi bulunmamaktadır. Bu nedenle talasemi hastalarının çoğu için aile dışı vericilerden HKHN gündeme gelmektedir. Talasemi gibi tıbbi tedavisinde yeni gelişmelerin olduğu, yeni oral demir şelatörlerinin kullanıma girdiği benign bir hematolojik hastalık için aile dışı donörlerden transplantasyon konusunda çok iyi düşünülerek karar verilmesi gerekmektedir. Günümüzde bu konuda giderek artmakta olan bir deneyim bulunmaktadır. İtalya'da 2005 yılında, aile dışı nakillerde deneyimli 6 merkezde toplam 68 talasemi hastasına uygulanmış olan akraba dışı donörlerden transplant sonuçları yayınlanmıştır (78). Bu çalışmaya alınan toplam 68 talasemi hastası Pesaro risk sınıflandırmasına göre 14'ü sınıf I, 16'sı sınıf II ve 38'i sınıf III risk grubu olarak değerlendirilmiştir. Tüm hastalar için donör ile doku tipi uygunluğu HLA A, B, C, DRB1 ve DQ için yüksek çözünürlüklü moleküler incelemeler yapılarak belirlenmiş ve %85'inde tam uygun (10/10), %15'inde ise 9/10 uygun donörlerden transplant uygulanmıştır. Tüm hastaların 9'da (%13,2) primer veya sekonder graft rejeksiyonu gelişmiş ve 14 hasta (%20,6) transplanta bağlı nedenlerle kaybedilmiştir. Grade II-IV akut GVHH 24 hastada (%40) ve kronik GVHH de 10 hastada (%18) gelişmiştir. Bu hastalar için yapılan Kaplan-Meier değerlendirilmesinde projekte edilen transfüzyon gerektirmeden yaşam oranı %65,8 olarak bulunmuştur (78). Risk gruplarına

göre hastalar değerlendirildiğinde ise 30 düşük risk (sınıf I ve II) hasta ve 38 yüksek risk (sınıf III) hasta için sırası ile talasemisiz yaşam oranı %80 ve %54,5, graft rejeksiyonu %20 ve %10,8 ve non-rejeksiyon mortalite oranı ise %3,3 ve %34,8 olarak bulunmuştur. Ayrıca Tayland'da yayınlanan bir araştırmada talasemi major hastaları için aile içi (n=28) ve aile dışı (n=21) vericiden uygulanan HKHN'den 2 yıl sonra talasemisiz yaşam oranlarının sırasıyla %82 ve %71 olduğu bulunmuştur (79). Bu sonuçlara dayanarak aile dışı vericiden HKHN'nin özellikle şelasyon tedavisi ile uyumsuz olan ve organ hasarı gelişmeye başlayan hastalara önerilebileceği çıkarımı yapılmıştır. Türkiye'de ise son yıllarda akraba dışı vericiden yapılan nakil sayısı artmıştır. 2017 yılında toplamda 90 talasemi majör tanılı hastaya HLA tam uyumlu akraba dışı donörden HKHN yapılmıştır (80).

2.13. Talasemide Haploidantik HKHT

Doku tipi tam uygun aile içi veya aile dışı verici bulunamayan talasemi hastaları için haploidantik HKHN bir diğer seçenektir. Haploidantik HKHN uygulamalarında son yıllar içinde çok önemli gelişmeler elde edilmiş ve çok önemli sorunlardan birisi olan GVHH önemli derecede azaltılmış olsa bile halen immün sistemin yeniden yapılanmasındaki gecikme ve buna bağlı özellikle geç dönem enfeksiyonları önemli bir sorun olmaya devam etmektedir. Bu nedenle talasemi hastaları için deneysel olarak kabul edilmesi gereken bir HKHN seçeneğidir. Yakın zaman içinde İtalya'dan Sodani ve arkadaşları haploidantik HKHN uyguladıkları 31 talasemi hastasında talasemisiz yaşam oranının %70, erken dönemde mortalitenin %7 ve graft rejeksiyonun da %23 olduğunu belirtmiştir (81).

2.14. Türkiye'de Talasemi'de Kök Hücre Nakli (KHT)

Türkiye'de 1970'li yıllardan beri bazı çocuk hastalara HKHN'nin yapıldığı bilinmekteyse de, kayıtlara geçen olgular 1988 – 2016 yılları arasında kapsamaktadır. Bu dönemde toplam 1200 kadar hastaya HKHN yapılmıştır. Türkiye'de Talasemi'de ilk kayıtlı HKHN 1988'de Gülhane Askeri Tıp Akademisi (GATA)'da uygulanmıştır. Daha önce Hacettepe Tıp Fakültesi'nde

KHT yapıldığı bilinmekteyse de kayıtlarına ulaşılammamaktadır. Türkiye’de 1991-2009 yılları arasında yapılan bir çalışmada nakil yapılan ve en az bir yıl izlenen 245 olgunun sonuçları değerlendirilmiştir. Bu çalışmaya sadece ilk transplantasyonlar dahil edilmiştir. Pesaro sınıflamasına göre değerlendirildiğinde bu çalışmadaki olguların %16.7’si düşük risk grubu (Class I), %53.1’i orta risk grubu (Class II) ve %25.7’si ise yüksek risk grubu (Class III) sınıfında olup kök hücre kaynağı olarak olguların %35.9’unda kemik iliği, %55.9’unda periferik kan, %8.2’sinde ise kordon kanı kullanılmıştır. Olguların izlem süresi 2 ile 219 ay arasında olup, ortanca izlem süresi 49 ay olarak saptanmıştır. Grade II-IV akut GVHH olguların %13.5’inde, kGVHH ise %12.5’inde gözlenmiştir. Tüm olgular değerlendirildiğinde talasemisiz yaşayan olgu oranı %68, genel yaşam ise %85 bulunmuştur. Transplantasyon ilişkili ölüm ise %7.75’tir. Sonuçları Pesaro ve diğer büyük hasta serileri ile benzerlik göstermiştir (82). 2017 yılı itibariyle ise Türkiye’de 1200 civarında HKHN yapılan talasemi majör tanılı hasta vardır (80).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Etik Kurul Onayı

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları alanında uzmanlık tezi olarak yürütülen bu çalışma ilaç dışı, kesitsel, analitik bir çalışmadır. Bu çalışmaya başlamak üzere hipotez ve gerekçeler Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'na sunulmuş ve oy birliği ile kurulun onayı alınmıştır (EK-2).

3.2. Çalışma Grubunun Oluşturulması ve Değerlendirilmesi

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalığı, Pediatrik Kemik İliği Nakil Ünitesi'nde Ocak 2005-Ocak 2017 tarihleri arasında kemik iliği nakli yapılmış olan beta talasemi majör tanılı 62 hasta ve 62 donörü bizzat telefon edilerek çalışma hakkında bilgilendirilmiş ve çağırılmıştır. Ancak 30 hasta ve 30 donör çalışmaya dahil edilmiştir. Klinik öyküleri alınarak olgu formlarına (EK-1) işlenmiş ve sonrasında hastaların kemik iliği transplantasyon öncesinde alınan venöz kan örneklerinden ve donörlerinden izole edilen DNA örneklerinden Alfa-Globin Strip Test (Vienna Lab - Labordiagnostika GmbH) kullanılarak HbA (hemoglobin A) geni mutasyonu taraması yapılmıştır. Çalışmaya katılan hasta ve donörlere herhangi bir laboratuvar incelemesi ya da radyolojik görüntüleme yapılmamıştır.

3.2.1. Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri

- Beta talasemi major tanısı almış olması
- Beta talasemi major nedeniyle kemik iliği transplantasyonu yapılmış olması
- Bilgilendirilmiş onam vermiş olması

3.2.2. Çalışmaya Alınmama Kriterleri

- Transplantasyon yapıldıktan sonra en az 6 ay süre geçmemiş olgular
- Bilgilendirilmiş onam formu vermemesi

3.2.3. Çalışmadan Çıkarılma Kriterleri ve Bu Durumda Yapılacak Uygulamalar

-Gönüllü olurlarını geri çekmeleri durumunda çalışma dışı bırakılacaktır.

Çalışmaya katılan on sekiz yaşın altındaki çocuklar ve ebeveynleri için hazırlanan bilgilendirilmiş gönüllü olur formu, çocuğun ve ailesinin onayı alındıktan sonra çocuk ve ailesi tarafından doldurulmuştur (EK-3). Erişkin hastalar için hazırlanan bilgilendirilmiş gönüllü olur formu hastaların kendileri tarafından doldurulmuştur (EK-3).

3.3. Hasta Değerlendirmesi

Çalışma başlangıcında her hasta için olgu rapor formları (ORF; EK-2) oluşturulmuş, hastaların poliklinik izlem dosyaları retrospektif olarak taranmıştır. Olguların güncel yaşı, cinsiyeti, tanı yaşı, transfüzyon başlangıç yaşı, beta talasemi majör mutasyonu, Pesaro sınıflaması, şelasyon başlama yaşı, şelatörün adı, transplantasyon öncesi başlangıç ferritin düzeyi, kök hücre nakil tarihi, kök hücre transplantasyon yaşı, transplantasyon sayısı, kemik iliği transplantasyonu sonrası gelişen komplikasyonlar (GVHH, HSOS, alloimmünizasyon, graft yetersizliği, graft reddi, donörü (kardeş, aile içi, akraba dışı), donörün cinsiyeti, verilen çekirdekli hücre sayısı olgu rapor formuna kaydedilmiştir.

3.4. Alfa Globin Strip Test

Alfa-Globin Strip testi, PCR (Polimeraz zincir reaksiyonu) ile çoğaltılmış DNA ürünlerinin belirli mutasyonlara özgü oligonükleotid problemleriyle hibritleşmesi prensibi üzerine kurulmuş reverse hibridizasyon yöntemidir. Dot-Blot hibridizasyonunda DNA örnekleri membrana sabitleştirilirken, bu yöntemde oligonükleotid problemleri membrana sabitleştirilmiş durumdadır. Test üç ana aşamadan oluşmaktadır:

- 1.Kandan DNA izolasyonu
- 2.Alfa-globin geninin biyotin ile işaretlenmiş primerlerle amplifiye edilmesi
- 3.PCR ürününün normal ve mutant problemleri paralel bantlar şeklinde taşıyan, hazır membranla hibridizasyona sokulması
- 4.Renk reaksiyonu ile görüntüleme

3.4.1. Analiz Prosedürü

-DNA İzolasyonu

-In Vitro Amplifikasyon (PCR)

PCR reaktifleri ve DNA şablonları buzdolabında saklanır. PCR cihazına yerleştirilene kadar tüm adımlar buz üzerinde gerçekleştirilir (0-4°C).

-Taq Tamponu'nda seyreltilmiş HS Taq DNA Polimeraz (kırmızı kapak) (1:15, son konsantrasyon 0.33 U /µl) hazırlanır.

-Amplifiye edilecek her numune için üç ayrı reaksiyon tüpü hazırlanır. Tüpler buz üzerine yerleştirilir.

-Her bir numune için buz üzerinde 3 final PCR reaksiyon karışımı (A1, A2, B) hazırlanır:

A1: 15 µl Amplifikasyon Karışımı A1

5 µl seyreltilmiş HS Taq DNA Polimeraz (1.66 U)

5 µl DNA

A2: 15 µl Amplifikasyon Karışımı A2

5 µl seyreltilmiş HS Taq DNA Polimeraz (1.66 U)

5 µl DNA

B: 15 µl Amplifikasyon Karışımı B

5 µl seyreltilmiş HS Taq DNA Polimeraz (1.66 U)

5 µl DNA

-Tüpleri sıkıca kapatılır ve PCR cihazı 95°C'ye ısıtılır.

-Reaksiyon tüpleri cihaza yerleştirilir ve aşağıdaki PCR döngüsü başlatılır:

PCR öncesi: 95°C/5 dak.

PCR döngüsü: 97°C/40 sn. - 64°C/40 sn. - 72°C/1: 30 dak. (3 çevrim)

97°C/40 saniye. - 58°C/40 saniye. - 72°C/1: 30 dak. (37 döngü)

Nihai uzatma: 72°C/5 dak.

-PCR ürünleri daha sonraki bir zamanda kullanılacaksa 2-8°C'de saklanabilir.

-Hibridizasyon

Örnek başına 2 test stribi kullanılır.

Su banyosu, hibridizasyon tamponu ve yıkama çözeltisi 45°C'ye ısıtılır ($\pm 0.5^\circ\text{C}$)

- Test stripleri A için (örnek başına bir strip):

-Yazma Kasetlerinde kullanılacak her şeridin alt köşesine 20 ul DNAT (mavi kapak) pipetlenir.

-Karşılık gelen DNAT damlasına 10 ul amplifikasyon ürünü A1 eklenir.

-Aynı damla içine 10 ul amplifikasyon ürünü A2 eklenir.

-Bir pipetle iyice karıştırılır (Solüsyon mavi kalacaktır).

- Test şeritleri B için (örnek başına bir strip):

-Yazma Kasetlerinde kullanılacak her şeridin alt köşesine 10 µl DNAT (mavi kap) pipetlenir.

-Karşılık gelen DNAT damlasına 10 ul amplifikasyon ürünü B eklenir.

-Bir pipetle iyice karıştırılır (Solüsyon mavi kalacaktır).

Oda sıcaklığında 5 dakika beklenir.

- Her şerit içine 1 ml Hibridizasyon Tamponu (45°C'ye ısıtılmış) ilave edilir.

Tepsiyi yavaşça çalkalanır (Mavi renk kaybolur).

- Test şeridi A veya Test şeridi B işaretli taraf yukarı gelecek şekilde (çizgiler görünür.) İlgili şeritlerin içine yerleştirilir ve tamamen batırılır.

- 30 dakika su banyosunun sallanan platformunda 45°C'de inkübe edilir.

Dökülmeyi önlemek için ılımlı sallanma frekansı (yaklaşık 50 devir/dak) ayarlanır. Sıcaklık değişimlerinden kaçınmak için su banyosunun kapağı kapalı tutulur.

- Kuluçka işleminin sonunda vakum aspirasyonu ile hibridizasyon solüsyonlarını çıkarılır.

-Yıkama

-1 ml Yıkama Çözeltisi A (45°C'ye ısıtılmış) ilave edilir ve kısa bir süre durulanır (10 saniye).

-Vakum aspirasyonu ile sıvıları çıkarılır.

-1 ml Yıkama Çözeltisi A (45°C) eklenir.

-15 dakika çalkalama su banyosunda 45°C'de inkübe edilir.

Vakum aspirasyonu ile sıvıları çıkarılır.

-1 ml Yıkama Çözeltisi A (45°C) eklenir.

-15 dakika çalkalama su banyosunda 45°C'de inkübe edilir.

Vakum aspirasyonu ile sıvıları çıkarılır.

-Renk gelişimi (oda sıcaklığı)

-1 ml Konsantre Çözelti eklenir.

-15 dakika oda sıcaklığında bir rocker veya orbital çalkalayıcıda inkübe edilir.

Vakum aspirasyonu ile sıvıları çıkarılır.

-1 ml Yıkama Çözeltisi B eklenir ve kısa bir süre yıkanır (10 saniye).

Vakum aspirasyonu ile sıvıları çıkarılır.

-1 ml Yıkama Çözeltisi B 'yi eklenir.

-5 dakika oda sıcaklığında bir rocker veya orbital çalkalayıcıda inkübe edilir.

Vakum aspirasyonu ile sıvıları çıkarılır.

-1 ml Yıkama Çözeltisi B 'yi eklenir.

-5 dakika oda sıcaklığında bir rocker veya orbital çalkalayıcıda inkübe edilir.

Vakum aspirasyonu ile sıvıları çıkarılır.

-1 ml Renkli Geliştirici eklenir.

-15 dakika oda sıcaklığında bir rocker veya orbital çalkalayıcıda inkübe edilir.

Pozitif bir reaksiyon olursa mor renk ile boyanır.

-Test stripleri damıtılmış su ile birkaç kez yıkanır.

Şeritlerin karanlıkta kurutulur ve Test Stripleri Renk Geliştirme işleminden sonra yoğun ışığa maruz bırakılmaz.

3.4.2. Sonuçların Yorumlanması

Bir numunenin genotipi A ve B stripleri ile CollectorTM levhası karşılaştırılarak belirlenir. İşlenmiş test çubukları belirtilen alanlara yerleştirilir, bunları kırmızı işaret çizgisi (üstte) ve yeşil veya mavi işaret çizgisi (alttaki) kullanarak şematik çizgiyle hizalanır ve yapışkan bantla sabitlenir.

En üstteki kontrol çizgisinin pozitif reaksiyonu, testin doğru işleyişini gösterir. Bu çizgi daima pozitif boyanmalıdır. PCR Kontrol A ve PCR Kontrol B satırlarının pozitif reaksiyonu, doğru amplifikasyon ürünlerinin varlığını gösterir. DNA şablonu yerine su içeren "negatif kontrol" haricinde bu çizgiler her zaman pozitif olarak lekelenmelidir.

3.5. Verilerin İstatistiksel Analizi

Çalışma gruplarına ait ham veriler tanımlayıcı tablolara dönüştürülmüş ve verilerin istatistiksel analizinde IBM SPSS Statistics 22.0 (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp.) paket programı kullanılarak yapılmıştır. Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, minimum, maksimum, frekans ve oran değerleri kullanılmıştır. Kategorik değişkenlerin birbiriyle olan ilişkisi Pearson ki-kare testi ve Fisher'in tam olasılık testi ile incelenmiştir. Tüm analizlerde istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak belirlenmiştir. İstatistikler Ege Üniversitesi Biyoistatistik AD'da gerçekleştirilmiştir.

4. BULGULAR

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalığı Çocuk Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi'nde Ocak 2005-Ocak 2017 tarihleri arasında kök hücre nakli yapılmış olan beta talasemi majör tanılı 62 hasta mevcuttu. Hastaların %42'si (26/62) kız, %58'i (36/62) erkekti. Hastaların tanı anındaki yaş dağılımı ve transfüzyon başlangıç yaşı ortalama $8,5 \pm 8,4$ ay idi. Hastaların %58'inde (36/62) Homozigot IVS1.110 (G-A) mutasyonu vardı. Şelasyon başlama yaşı 7 ay ile 9 yaş arasında değişmekteydi ve ortalama yaş $3 \pm 1,5$ yaş idi. Hastaların 3 tanesi (%4,8) şelatör kullanmamıştı. Şelatör kullanan hastaların %32,2'si (19/59) deferasiroks, %28,8'i (17/59) deferoksamin, %28,8'i (17/59) deferoksamin+deferasiroks, %6,8'i (4/59) deferoksamin+defepiron, %3,4'ü (2/59) defepiron kullanmaktaydı. Kök hücre transplantasyonu öncesi ferritin değeri ortalama 2296 ± 1493 ng/ml, ortanca 2296 ng/ml (256 -7829 ng/ml) idi. Pesaro Sınıflaması'na göre kök hücre nakli olan hastaların %45,2'si (28/62) Pesaro sınıf 2, %29'u (18/62) Pesaro sınıf 1, %25,8'i (16/62) ise Pesaro sınıf 3 olarak gruplandırıldı. Nakil öncesi hastaların hepsi Pesaro Sınıflaması'na uygun olarak aynı hazırlık rejimini almışlardı.

Kök hücre nakil yaşı 20 ay ile 20 yaş arasındaydı ve ortalama nakil yaşı ise $8,3 \pm 4,3$ yaş idi. Hastalara nakil sırasında verilen ürün; %53,2'sinde (33/62) kemik iliği, %25,8'inde (16/62) periferik kök hücre, %17,7'sinde (11/62) kemik iliği ve kordon kanı, %1,6 (1/62) kemik iliği+kordon kanı+periferik kök hücre, %1,6 (1/62) ise kemik iliği+periferik kandı. Vericilerin %85,5'i (53/62) kardeş, %12,9'u (8/62) akraba dışı, %1,6'sı (1/62) aile içi vericisi (baba) idi. Donörlerin %56,5'i (35/62) erkek, %43,5'u (27/62) ise kadındı. Kadın donörlerden sadece birinde 2 kez gebelik öyküsü mevcuttu. Bu hastada GVHH grade 1 cilt tutulumu, HSOS ve alloimmünizasyon gelişti ancak graft reddi olmadı. Hastalarda verilen çekirdekli hücre sayısı ortalama $4,2 \times 10^8$ /kg, CD34+ hücre sayısı ise ortalama $9,9 \times 10^6$ /kg idi. Kök hücre nakli yapılan hastaların %16,1'inde (10/62) graft reddi oldu. Graft reddi olan 7 hastaya (7/10) ikinci transplantasyon uygulandı. İkinci nakil yapılan hastalardan yalnızca birinde graft reddi oldu. Nakil yapılan ve yaşamını sürdüren hastalarda talasemisiz yaşam oranı ise %96,6 (58/60)

idi. Mortalite oranı %3,2 (2/62) idi. Bu hastalardan ilki nakilden 5 ay sonra geç aplastik rejeksiyon, ikinci hasta ise sepsis nedeniyle ex oldu. Hastaların %41,9'unda (26/62) GVHH gelişti. GVHH gelişen hastaların %50'sinde (13/26) cilt, %15,4'ünde (4/26) karaciğer, %15,4'ünde (4/26) cilt ve karaciğer, %7,7'sinde (2/26) gastrointestinal sistem (GİS), %3,84'ünde (1/26) cilt ve göz, %3,84'ünde (1/26) cilt, karaciğer ve göz, %3,84'ünde (1/26) ise cilt, karaciğer, gis ve akciğer tutulumu bulunmaktaydı. Hastaların %8,1'inde (5/62) HSOS, %16,1'inde (10/62) transfüzyon gereksinimi, %12,9'unda (8/62) alloimmünizasyon, %8,1'inde (5/62) hemorajik sistit, %21'inde (13/62) CMV reaktivasyonu, %1,6 hasta (1/62) graft yetersizliği gelişti.



Tablo 25.1. Nakil olan hastaların genel profili

NAKİL OLAN HASTALAR		Olgu Sayısı	Yüzde (%)
Cinsiyet	Kız	26	42
	Erkek	36	58
Şelasyonda kullandığı ilaç	Deferasiroks	19	30,6
	Deferoksamin	17	27,4
	Deferoksamin+Deferasiroks	17	27,4
	Deferoksamin+Defepiron	4	6,5
	Defepiron	2	3,2
	Şelatör almayan	3	4,8
Pesaro Sınıflaması	Sınıf 1	18	29
	Sınıf 2	28	45,2
	Sınıf 3	16	25,8
Nakilde verilen ürün	Kemik iliği (Kİ)	33	53,2
	Periferik kök hc (PKH)	16	25,8
	Kemik iliği+Kordon kanı (KK)	11	17,7
	Kemik iliği+Periferik kök hc	1	1,6
	Kİ+PKH+KK	1	1,6
Donör	Kardeş	53	85,5
	Akraba dışı	8	12,9
	Aile içi	1	1,6
Nakil sonrası survi	Yaşayan	60	96,8
	Ex	2	3,2
Graft reddi	Var	10	16,1
	Yok	52	83,9
Graft versus host hastalığı	Var	26	41,9
	Yok	36	58,1
Hepatik Sinüzoidal Obstrüksiyon Sendromu	Var	5	8,1
	Yok	57	91,9
Transfüzyon gereksinimi	Var	10	16,1
	Yok	52	83,9
Graft yetersizliği	Var	1	1,6
	Yok	61	98,4
Hemorajik sistit	Var	5	8,1
	Yok	57	91,9
CMV Reaktivasyonu	Var	13	21
	Yok	49	79
Alloimmünizasyon	Var	8	12,9
	Yok	54	87,1

Tablo 25.2. Nakil olan hastaların genel profili

NAKİL OLAN HASTALAR	Min(ay)	Max(ay)	Ortalama	Standart Sapma (SD)
Tanı yaşı	1	48	8,5	± 8,4
Şelasyon Başlama Yaşı	7	108	34,4	± 19,2
Transplantasyon Öncesi Ferritin	256	7829	2296	± 1493
Transplantasyon Yaşı	20	238	100	± 52

Tablo 26. Nakil olan hastalarda tanımlanan beta globulin mutasyonları

Beta Talasemi Mutasyonu	Hasta Sayısı
Homozigot IVS1.110 (G>A)	36 (%58,1)
Codon 39 (C>T)- IVS1.110 (G>A)	3
IVS1.110 (G>A)-IVS1.6 (T>C)	3
IVS1.110 (G>A)-IVS2.1 (G>A)	3
Homozigot IVS2.745 (C>G)	2
Homozigot Codon 39 (C>T)	2
Homozigot Codon 5 (-CT)	2
IVS1.110 (G>A)-IVS1.5 (G>C)	2
Codon 8/9 (+G)-IVS1.110 (G>A)	1
Codon 8/9 (+G)-IVS2.745 (C>G)	1
Codon 39 (+G)-IVS1.110(G>A)	1
Codon 39 (A+)-IVS1.110(G>A)	1
IVS1.110 (G>A)- (-87) (C>G)	1
Homozigot Codon 8 (-AA)	1
Homozigot Codon 8/9 (+G)	1
Homozigot Codon 44 c135 (-C)	1
Mutasyonu bilinmiyor	1

Graft reddi olan 10 hastanın %50'si (5/10) kız, %50'si (5/10) erkekti. Bu hastaların %10'u (1/10) eksitus oldu. Bir hastada aplastik geç rejeksiyon mevcuttu. Hastalardan 2'sinde (2/10) talasemik rekonstitüsyon oldu. Pesaro sınıflamasına göre; sınıf 1 %20 (2/10), sınıf 2 %30 (3/10), sınıf 3 %5 (5/10) oranlarında idi. Graft reddi olan hastaların %80'si (8/10) Homozigot IVS1.110 (G>A) mutasyonu taşıyordu. Bu mutasyonun graft reddine etkisi istatistiksel olarak saptanmadı ($p>0.05$). Geriye kalan iki hastanın birinde Codon8/9 (+G)-IVS2.745(C>G) mutasyonu, diğerinde ise Homozigot codon8/9 (+G) mutasyonu mevcuttu. Nakilde verilen ürün hastaların %60'ında (6/10) periferik kan, %30'unda (3/10) kemik iliği, %10'unda (1/10) kemik iliği ve kordon kanı idi. Nakil yapılan hastaların %71,4'ü (5/7) kardeş, %28,6'sı (2/7) akraba dışı dışı donördü. İkinci kez nakil yapılan hastalardan %14,2'si (1/7) graft reddi oldu. İkinci nakil sonrasında eksitus olan hasta olmadı. Hastaların hiçbirinde graft yetersizliği ve CMV reaktivasyonu gelişmedi. Hastaların %28,6'sında (2/7) HSOS, %28,6'sında hemorajik sistit, %14,3'ünde (1/7) transfüzyon gereksinimi, %14,3'ünde (1/7) alloimmünizasyon gelişti.

Tablo 27. Graft reddi olan hasta grubunun genel profili

GRAFT REDDİ OLAN HASTA GRUBU		Olgu Sayısı	Yüzde (%)
Cinsiyet	Kız	5	50
	Erkek	5	50
Pesaro Sınıflaması	Sınıf 1	2	20
	Sınıf 2	3	30
	Sınıf 3	5	50
Nakilde verilen ürün	Kemik iliği (KI)	3	30
	Periferik kök hc (PKH)	6	60
	Kemik iliği+Kordon kanı	1	10
İkinci nakilde verilen ürün	Kemik iliği	1	14,3
	Periferik kök hc	6	85,7
Donör	Kardeş	5	53,2
	Akraba dışı	2	12,9
Graft reddi	Var	1	14,3
	Yok	6	85,7
Graft versus host hastalığı	Var	3	42,9
	Yok	4	57,1
Hepatik Sinüzoidal Obstrüksiyon Sendromu	Var	2	28,6
	Yok	5	71,4
Hemorajik sistit	Var	2	28,6
	Yok	5	71,4
Transfüzyon gereksinimi	Var	1	14,3
	Yok	6	85,7
Alloimmünizasyon	Var	1	14,3
	Yok	6	85,7

Çalışmamıza katılan 30 hastanın %36,7'si (11/30) kız, %63,3'ü (19/30) erkekti. Bu hastaların tanı anındaki yaş dağılımı ve transfüzyon başlangıç yaşı ortalama $8,1 \pm 8,3$ aydı. Hastaların %63,3'ünde (19/30) Homozigot IVS1.110(G-A) mutasyonu mevcuttu. Şelasyon başlama yaşı 7 ay ile 84 ay arasında değişmekteydi ve ortalama yaş $30,2 \pm 16,9$ aydı. Hastaların %6,7'si (2/30) şelatör kullanmamıştı. Şelatör kullanan hastaların %46,4'ü (13/28) deferoksamin+deferasiroks, %32,1'i (9/30) deferasiroks, %10,7'si (3/28) deferoksamin, %10,7'si (3/28) deferoksamin+defepiron kullanmaktaydı. Kök hücre transplantasyonu öncesi ferritin düzeyi 368 ng/ml ile 5712 ng/ml arasında değişmekteydi ve ortalama ferritin değeri 1996 ± 1256 ng/ml idi. Pesaro Sınıflaması'na göre kök hücre nakli olan hastaların %36,7'si (11/30) Pesaro sınıf 1, %40'ı (12/30) Pesaro sınıf 2, %23,3'ü (7/30) ise Pesaro sınıf 3 olarak gruplandırıldı. Nakil öncesi Pesaro Sınıflaması'na uygun olarak hastaların hepsi aynı hazırlık rejimini almışlardı.

Kök hücre nakil yaşı ortalama $8,5 \pm 4,8$ yaş (29 ay ile 20 yaş) idi. Hastalara nakil sırasında verilen ürün; %50'sinde (15/30) kemik iliği, %33,3'ünde (10/30) periferik kök hücre, %10'unda (3/30) kemik iliği ve kordon kanı, %3,3 (1/30) kemik iliği+kordon kanı+periferik kök hücre, %3,3 (1/30) ise kemik iliği+periferik kandi. Hastaların vericilerinin %80'i (24/30) kardeş, %16,7'si (5/30) akraba dışı, %3,3'ü (1/30) aile içi verici (baba) idi. Donörlerin %56,7'si (17/30) erkek, %43,3'ü (13/30) ise kadındı. Verilen çekirdekli hücre sayısı ortalama 5×10^8 /kg idi. Kök hücre nakli yapılan bu hastaların %16,7'sinde (5/30) graft reddi oldu. Diğer hastaların kimerizmleri %100 idi. Graft reddi olan hastaların 3'ü (3/5) ikinci nakli oldu ve graft reddi gözlenmedi. Mortalite oranı %3,3 (1/30) idi. Bu hasta sepsis nedeniyle eksitus oldu. Hastaların %43,3'ünde (13/30) GVHH gelişti. GVHH gelişen hastaların %61,5'inde (8/13) cilt, %15,3'ünde (2/13) GİS, %7,6'sında (1/13) karaciğer, %7,6'sında (1/13) cilt, karaciğer ve göz, %7,6'sında (1/13) cilt, karaciğer, GİS ve akciğer tutulumu bulunmaktaydı. GVHH evrelendirmesine göre ise %69,2'si (9/13) grade 1, %23,2'si (3/13) grade 2, %7,6'sı (1/13) grade 3 idi. Hastaların %10'unda (3/30) HSOS, %20'sinde (6/30) transfüzyon gereksinimi, %16,7'sinde (5/30) alloimmünizasyon, %10'unda (3/30) hemorajik sistit, %16,7'sinde (5/30) CMV reaktivasyonu, %3,3'ünde (1/30) graft yetersizliği gelişti.

Tablo 28.1. Çalışmaya dahil edilen hastaların genel profili

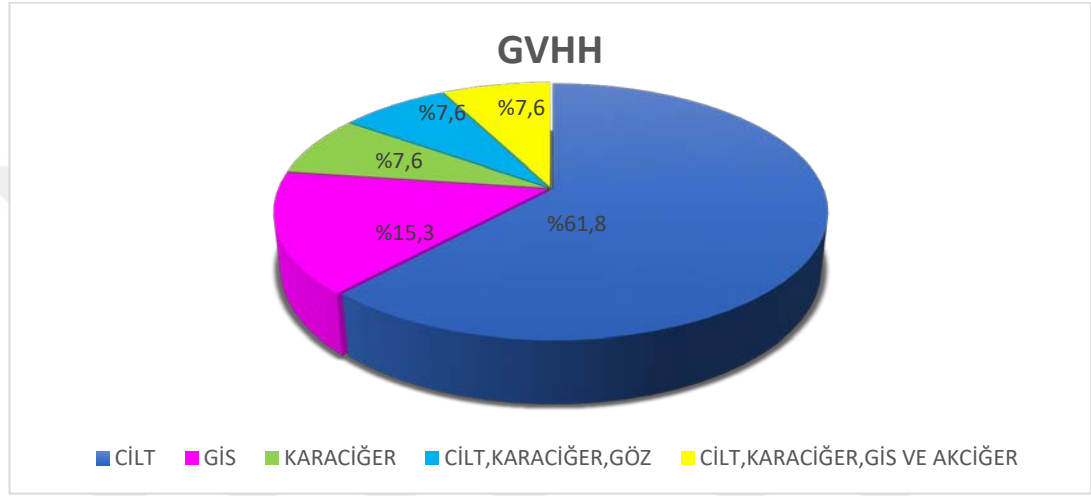
ÇALIŞMAYA DAHİL EDİLEN HASTALAR		Olgu Sayısı	Yüzde (%)
Cinsiyet	Kız	11	36,7
	Erkek	19	63,3
Şelasyonda kullandığı ilaç	Deferasiroks	9	32,1
	Deferoksamin	3	10,7
	Deferoksamin+Deferasiroks	13	46,4
	Deferoksamin+Defepiron	3	10,7
	Şelatör almayan	2	4,8
Pesaro Sınıflaması	Sınıf 1	11	36,7
	Sınıf 2	12	40
	Sınıf 3	7	23,3
Nakilde verilen ürün	Kemik iliği (Kİ)	15	50
	Periferik kök hc (PKH)	10	33,3
	Kemik iliği+Kordon kanı (KK)	3	10
	Kemik iliği+Periferik kök hc	1	3,3
	Kİ+PKH+KK	1	3,3
Donör	Kardeş	24	80
	Akraba dışı	5	16,7
	Aile içi	1	3,3
Nakil sonrası survi	Yaşayan	29	96,7
	Ex	1	3,3
Graft reddi	Var	5	16,7
	Yok	25	83,3
Graft versus host hastalığı	Var	13	43,3
	Yok	17	56,7
Hepatik Sinüzoidal Obstrüksiyon Sendromu	Var	3	10
	Yok	27	90
Transfüzyon gereksinimi	Var	6	20
	Yok	24	80
Graft yetersizliği	Var	1	3,3
	Yok	29	96,7
Hemorajik sistit	Var	3	10
	Yok	27	90
CMV reaktivasyonu	Var	5	16,7
	Yok	25	83,3
Alloimmünizasyon	Var	5	16,7
	Yok	25	83,3

Tablo 28.2. Çalışmaya dahil edilen hastaların genel profili

NAKİL OLAN HASTALAR	Min(ay)	Max(ay)	Ortalama	SD
Tanı yaşı	1	47	8,1	± 8,3
Şelasyon Başlama Yaşı	7	84	30,2	± 16,9
Transplantasyon Öncesi Ferritin	368	5712	1996	± 1256
Transplantasyon Yaşı	29	238	100	± 103

Tablo 29. Çalışmaya dahil edilen hastalarda tanımlanan beta globulin mutasyonları

Beta Talasemi Mutasyonu	Hasta Sayısı
Homozigot IVS1.110 (G>A)	19 (%63,3)
IVS1.110 (G>A)-IVS1.6 (T>C)	2
Homozigot IVS2.745 (C>G)	2
Codon39 (C>T)-IVS1.110 (G>A)	2
IVS1.110 (G>A)-IVS1.5 (G>C)	2
IVS1.110 (G>A)-IVS2.1 (G>A)	1
IVS1.110 (G>A) - (-87) (C>G)	1
Codon8/9 (+G)-IVS1.110 (G>A)	1



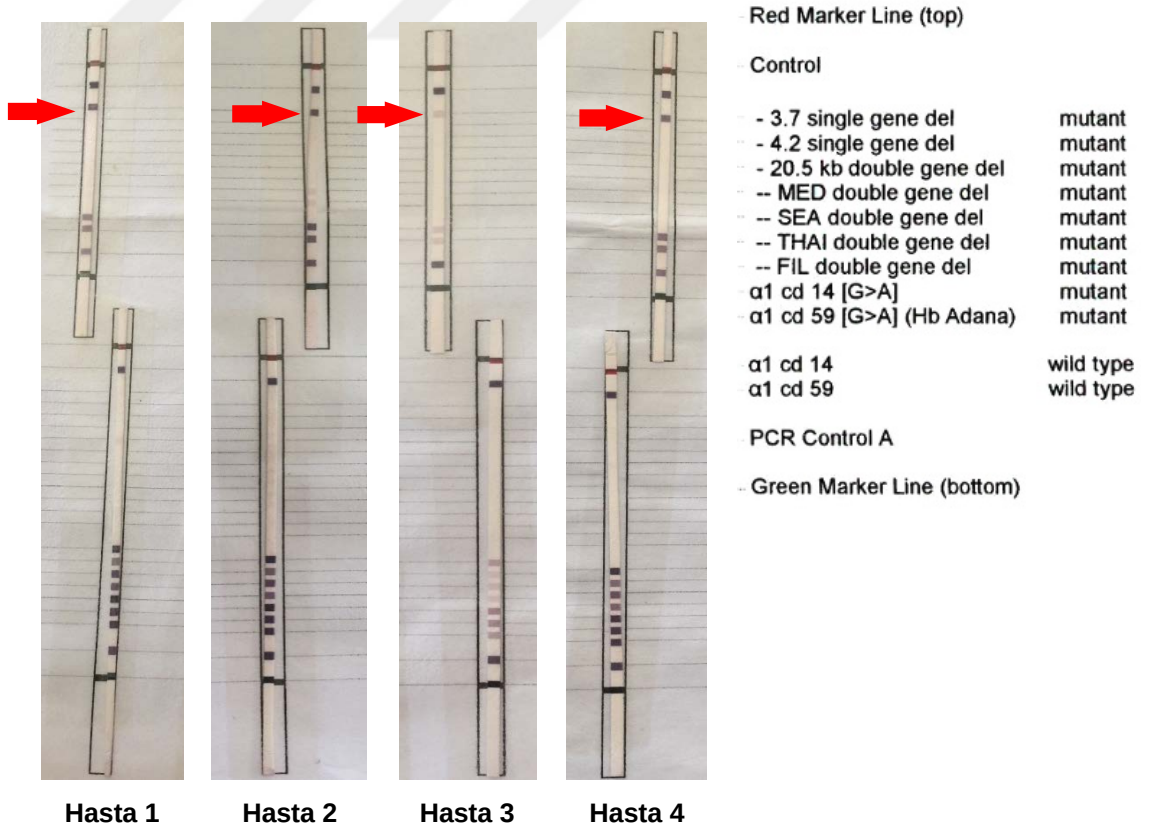
Şekil 18. Çalışmaya dahil edilen hastalarda Graft Versus Host hastalığının sistem tutulumlarına göre dağılımı

30 hasta ve donörlerinden çalışılan alfa strip test ile 2 hastada ve farklı 2 hastanın donörlerinde olmak üzere toplam 4 kişide alfa gen mutasyonu saptandı. Alfa gen mutasyonu saptanan hastaların ikisi erkek, donörlerin biri erkek, diğeri ise kadındı. Hastaların dördünde de saptanan mutasyon Heterozigot -3.7 tek gen delesyonu idi. Alfa gen mutasyonu saptanan 2 hastada Homozigot IVS1.110(G-A) mutasyonu, bir hastada Homozigot IVS2.745(C-G) mutasyonu, diğer hastada IVS1.5(G-C)-IVS1.110(G-A) mutasyonu mevcuttu. Hastalardan üçü Pesaro sınıf 2, biri Pesaro sınıf 3 idi. Bu hastalara nakilde verilen ürün iki hastada kemik iliği, bir hastada periferik kan, bir hastada ise kemik iliği+periferik kan idi. Alfa gen mutasyonu saptanan hastalarda ve donöründe alfa gen mutasyonu saptanan hastalarda graft reddi yoktu. Mortalite görülmedi. Hastaların üçünde GVHH gelişti. Graft Versus Host hastalığının sınıflamasına göre tüm hastalarda grade-1 GVHH idi. Graft Versus Host hastalığı gelişen hastaların birinde cilt, diğer hastada

GİS, diğerinde ise karaciğer tutulumu mevcuttu. Hastaların hiçbirinde GVHH dışında komplikasyon gelişmedi.

Tablo 30. Alfa gen mutasyonu saptanan hastaların genel profili

Alfa Mutasyon Pozitifliği Olanlar	1.Hasta	2.Hasta	3.Hasta (1.Donör)	4.Hasta (2.Donör)
Cinsiyet	Erkek	Erkek	Kız	Kız
Beta Talasemi Mutasyonu	Homozigot IVS2.745 (C>G)	IVS1.5(G>C)-IVS1.110(G>A)	Homozigot IVS1.110 (G>A)	Homozigot IVS1.110 (G>A)
Pesaro Sınıflaması	2	3	2	2
Verilen Ürün	Kemik iliği	Periferik kök hücre	Kemik İliği+Kordon kanı	Kemik iliği
Donör	Kardeş	Aile içi (Baba)	Kardeş	Kardeş
Mortalite	Yok	Yok	Yok	Yok
Komplikasyon	Yok	GVHH grade 1 cilt	GVHH grade 1 karaciğer	GVHH grade 1 GİS
Alfa Talasemi Mutasyonu	Heterozigot - 3.7 tek gen delesyonu	Heterozigot - 3.7 tek gen delesyonu	Heterozigot - 3.7 tek gen delesyonu	Heterozigot - 3.7 tek gen delesyonu



Şekil 19. Alfa gen mutasyonu saptanan hastalarda Alfa Globin Strip testi

Çalışmamıza dahil edilen 30 hastanın ikisinde ve 30 donörün ikisinde alfa gen mutasyonu tespit edilmiş olup alfa gen mutasyonlarının mortalite, graft reddi, graft yetmezliği, GVHH, HSOS, hemorajik sistit, transfüzyon gereksinimi, alloimmünizasyon, CMV reaktivasyonu üzerine etkisinin olmadığı saptanmıştır ($p>0.05$).

Tablo 31. Alfa gen mutasyonlarının nakil sonrası komplikasyonlara etkisi

	Hastalarda alfa gen mutasyonu (p değeri)	Donörlerde alfa gen mutasyonu (p değeri)
Mortalite	0.93	0.93
Graft reddi	0.69	0.69
Graft versus host hastalığı	0.17	0.68
Hepatik sinüzoidal obstrüksiyon sendromu	0.80	0.80
Hemorajik sistit	0.80	0.80
Transfüzyon gereksinimi	0.63	0.63
Alloimmünizasyon	0.69	0.69
Graft yetersizliği	0.93	0.93
CMV reaktivasyonu	0.69	0.69

5. TARTIŞMA

Talasemi, globin genlerinde veya düzenleyici bölgelerdeki mutasyonların neden olduğu otozomal resesif geçişli bir kan hastalığıdır. Bu mutasyonlar, hemoglobini oluşturan globin zincirlerinden birinin sentezinde azalma ile sonuçlanır. Beta talasemi majörde, α -globin zincirlerinin aşırı üretimi ile β -globin zincirinin yetersiz üretimi vardır. Üretilen serbest α -globin zincirleri, kırmızı kan hücrelerinde hemoliz olarak ineffectif eritropoeze neden olur. Bu hastalarda bulgular, hafif ya da ağır düzeyde gelişen aneminin çeşitli organlarda neden olduğu hasarlardan dolayı ortaya çıkmaktadır. Tedaviye geleneksel yaklaşım, düzenli kan transfüzyonu yoluyla hemoglobin seviyesinin düzeltilmesine dayanır. Konvansiyonel tedavi, β -talasemi majör olan hastaların yaşam kalitesini iyileştirme kapasitesine sahipken, küratif tedavisi yalnızca allojenik hematopoietik kök hücre nakli (HKHN) ile olmaktadır. Transplantasyon ile ilişkili komplikasyonlar arasında hayatı tehdit eden enfeksiyonlar, graft versus host hastalığı (GVHH), graft reddi ve graft yetmezliği gibi olaylar yer alır. Transplantasyon başarısını etkileyen birçok prognostik faktör bulunmaktadır (83). Lucarelli ve ark. 1990 yılında İtalya'da yaptığı çalışmada, 1 ile 15 yaş arasındaki beta talasemi majör tanılı olan 222 hastaya 1983-1988 yılları arasında HKHN yapılmış ve nakil sonrası survi, komplikasyonlar değerlendirilmiştir. Bu çalışmada nakil sonrası survi, graft reddi, komplikasyonlar üzerine etkili olan faktörler değerlendirildiğinde 2 cm'den daha büyük karaciğer varlığı (hepatomegali), karaciğer biyopsisinde portal fibrozis görülmesi ve düzensiz şelasyon kullanımının prognoza olumsuz etkisinin olduğu saptanmıştır. Bu faktörler "Pesaro Sınıflaması"nın temelini oluşturmuştur. Nakil yaşının prognoza etkisi değerlendirildiğinde ise transplantasyon için daha az risk taşıyan hastaların oranı artan yaşla birlikte azalmakla birlikte bunun tedavi stratejilerini nasıl etkilemesi gerektiği tam olarak açıklanamamıştır. Nakil öncesi hastanın ferritin düzeyi, hastanın almış olduğu transfüzyon sayısı, splenomegali varlığı, splenektomi yapıp yapılmadığı, karaciğerdeki demir konsantrasyonu düzeyi, hemosiderozis varlığının transplantasyon sonrası survi ve komplikasyonlara etkisi saptanamamıştır (84). Ghavamzadeh ve ark. 1998 yılında İran'da, 2,5-16 yaş arasında nakil yapılan beta talasemi majör tanılı 70 hastada yaptığı bir

çalışmada transplantasyon öncesi klinik özellikler (yaş, serum ferritin, portal fibrozis, hepatomegali ve şelasyon tedavisinin kalitesi), nakil sonrası survi ve graft reddi üzerine olan etkisi incelenmiştir. Artan yaş, portal fibrozis varlığı ve serum ferritin artışı, azalmış olasılıkla da olsa anlamlı olarak ilişkili bulunmuştur. Önceki çalışmalarda kötü prognostik faktörler olarak saptanan hepatomegali ve yetersiz nakil öncesi şelasyon tedavisi bu çalışmada değerlendirilememiştir. Ayrıca bu çalışmada, komplikasyonlarda herhangi bir artış olmaksızın, $5,5 \times 10^8$ /kg'dan fazla hücrenin nakilde verilmesinin engraftman süresini kısalttığı, transplantasyon sonrasında transfüzyon ihtiyacını azalttığı ancak akut ve kronik GVHH sıklığını ve mortaliteyi etkilemediğini göstermişlerdir (85). Bizim çalışmamızda ise nakil sonrası survi, graft reddi ve komplikasyonlar üzerine serum ferritin, Pesaro sınıflaması, verilen çekirdekli hücre sayısı, şelasyonda aldığı ilaç, şelasyon başlama yaşı, beta talasemi mutasyonunun etkisi istatistiksel olarak saptanmadı ($p > 0.05$).

Alfa gen mutasyonlarının beta talasemi hastalığının şiddeti üzerine etkisi birçok çalışmada değerlendirilmiştir. Ancak nakil olan hastalarda herhangi bir çalışma mevcut değildir. Alfa gen mutasyonları, beta talasemide sekonder modifiye edici faktörlerdendir. Beta talasemi mutasyonlarına alfa gen mutasyonları eşlik edebilir ve alfa gen sayısı hastalığın şiddeti üzerine etkili olabilir. Burada yaptığımız çalışma, nakil sonrası survi, graft reddi, komplikasyonlar üzerine etkili olabilecek olan alfa gen mutasyonlarının etkisinin araştırıldığı ilk çalışmadır.

Wainscoat ve ark 1983 yılında Kıbrıs'ta yaptığı çalışmada 30 beta talasemi ve 27 tranfüzyona bağımlı beta talasemi intermedia tanılı hastada alfa gen mutasyonları araştırılmış ve iki grup arasında belirgin farklılıklar saptanmıştır. Beta talasemi majör tanılı hastalarda daha çok tek alfa gen delesyonu gözlenirken, beta talasemi intermedia tanılı hastalarda çift ya da üç alfa gen mutasyonu saptanmıştır. Bu çalışmada, α talasemi ile homozigot beta talasemi eşzamanlılığının beta talasemi gelişimine neden olduğu gösterilmiştir (86).

Altay ve ark 1998 yılında Türkiye'de yaptıkları çalışmada alfa gen sayısındaki varyasyonların beta talaseminin fenotipik ekspresyonu üzerine olan etkilerini araştırmak amacıyla 8 aileden 11 hasta üzerinde

değerlendirme yapılmıştır. Bu çalışmada alfa talasemi ($-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$) mutasyonu ile IVS1-6 homozigot beta talasemi mutasyonunun bir arada bulunmasının özellikle HbF'yi düşürdüğü ve $\delta\beta$ -talasemi trait ile β -talasemi bileşik heterozigot mutasyonu olan hastalarda hastalığın şiddetini azaltabileceği gösterilmiştir. Beta talasemi mutasyonuna alfa gen mutasyonu triplikasyon şeklinde eşlik ediyorsa, bu durum HbF'de bir artış ile ilişkilidir ve β -trait veya β -talasemi intermedia şiddetini artırabildiği saptanmıştır (87).

Ürdün'de 2006 yılında yapılan bir çalışmada, bir ailede anne ve baba hem alfa hem de beta talasemi heterozigot mutasyona sahipti. Çocuklarından üçünde homozigot β^+ IVS1.6 talasemi mutasyonu mevcuttu. Çocuklarından ikisinde bu mutasyona ek olarak heterozigot -3.7 tek gen delesyonu mevcuttu. Bu iki çocuk, üçüncü çocuktan daha hafif bir beta talasemi kliniğine sahipti. Homozigot beta talasemi mutasyonu, heterozigot -3.7 tek gen delesyonu ile birlikte saptandığında tranfüzyon bağımlı beta talasemi majör, klinik olarak tranfüzyon bağımlı olmayan beta talasemi intermedia gibi seyretmektedir (88).

Wee ve ark 1996-2005 yılları arasında Malezya'da yaptığı bir çalışmada beta talasemi taşıyıcısı olan 161 çiftte (322 kişi) alfa gen mutasyon sıklığı %12,7 (41/322) olarak saptanmıştır. Görülen alfa gen mutasyonları; 25 hastada SEA delesyonu, 12 hastada heterozigot -3,7 tek gen delesyonu, 3 hastada Hb Constant Spring ve 1 hastada heterozigot -4.2 tek gen delesyonu saptanmıştır. İleri tetkiklerle alfa ve beta talasemi mutasyonunu birlikte taşıyan çift heterozigot olan yalnızca 5 çift doğrulanmıştır. Bu çiftlerden SEA delesyonu taşıyan çiftlerin çocuklarında hidrops fetalis, heterozigot -3,7 tek gen delesyonu ile SEA delesyonu saptanan bir çiftin çocuğunda ise beta talasemi majör saptanmıştır (89).

Sollaino ve ark 2009 yılında yaptığı bir çalışmada basit heterozigot beta talasemi mutasyonu taşıyan (β^0 39 C>T nonsense mutasyon) 10 hastada da (4 aileden seçilen 5 erkek, 5 kadın hasta) α globin geni lokusunun bir kopyası mevcuttur. Alfa gen kuadriplikasyonu olan bu hastalarda beta talasemi intermedia kliniği tespit edilmiştir. Klinik fenotipin çeşitliliğinin, globin zinciri dengesizliğinin derecesi ile korelasyon gösterdiği saptanmıştır (90).

Farashi ve ark 2015 yılında İran'da yaptığı bir çalışmada α -globin gen sayısının artmasının, hemoglobin tetramerinde α/β zincir dengesizliğine yol açtığını ve sonuç olarak β -talasemi klinik semptomlarını ağırlaştırdığı ve beta talasemi taşıyıcılarında beta talasemi intermedia kliniğine yol açtığını göstermişlerdir (91).

Shahid ve ark Pakistan'da 2014-2016 yılları arasında yaptığı çalışmada 121 hastanın %30'unda (37/121) homozigot beta talasemi ile alfa talasemi ($-\alpha^{3.7}$, $-\alpha^{4.2}$) ortak kalıtım olarak tespit edilmiştir. En sık görülen $-\alpha^{3.7}$ delesyonu (35/37) tek/çift delesyon olarak veya $-\alpha\alpha^{anti3.7}$ ile kombinasyon halinde bulunmuştur. Beta talasemi hastalarında $-\alpha^{3.7}$ delesyonu ile $-\alpha^{4.2}$ delesyonu sık saptanan kalıtsal delesyonlardır. Hemoglobinopati şüphesiyle anemiye gösteren çocukların genişletilmiş alfa talasemi genetik mutasyon paneli ile taranmalıdır (92).

İspanya'da 2016 yılında yapılan bir çalışmada büyüme gelişme geriliği ile başvuran 8 aylık bir çocukta homozigot IVS-I-110 (G>A) mutasyonu saptanmıştır. Yapılan tetkiklerde buna ek olarak heterozigot $\alpha\alpha^{anti3.7}/\alpha\alpha$ mutasyonu da saptanmıştır. Nakil için donör taraması yapılması planlamıştır. İkiz olan 5 yaşındaki erkek kardeşlerinde heterozigot IVS-I-110 (G>A) mutasyonu ile homozigot $\alpha\alpha^{anti3.7}/\alpha\alpha^{anti3.7}$ saptanmıştır. HBB geninin intron 1'deki heterozigot mutasyon IVS-I-110 (G> A), (c.93-21G> A), fonksiyonel olmayan anormal bir proteinin senteziyle sonuçlanabilir. Bu nükleotid değişimi, beta talasemi gelişimi ile bağlantılı bir mutasyon olarak tanımlanmıştır. Homozigot $\alpha\alpha^{anti3.7}/\alpha\alpha^{anti3.7}$ mutasyonu hemoglobin α -globin zincir sentezinde bir artışa neden olur ve β ve α -globin zincirleri arasındaki sentez dengesi bozulur. Bir homozigot veya heterozigot triplikasyon gösteren α -globin geninin heterozigot β -talasemi ile kombinasyonu, α - ve β -globin zincirleri arasındaki dengesizlik artacağı için bir talasemi intermedia fenotipi oluşturacaktır (83).

Çalışmamızda, alfa gen mutasyonu olan 4 kişi içinde (2 hasta ve 2 verici), hasta ve vericiler birbirinden bağımsız olarak mutasyona sahip idi. Bu mutasyonların tümünde heterozigot -3.7 gen delesyonu saptanmış olup nakil sonrası survi ve komplikasyonlar üzerine istatistiksel olarak bir etkisi saptanmamıştır. Tüm hasta grubu kendi içinde değerlendirildiğinde, kendisi veya donörlerinde alfa gen mutasyonu olan hastalarda mortalite ve graft

reddi olmamış, beklenen GVHH dışında daha ağır herhangi bir komplikasyon gelişmemiştir. Bizim olgularımız içinde alfa gen mutasyonu saptanan hastalar ile bu mutasyona sahip olan donörlerle yapılan nakillerin mutasyonu olmayan diğer hastalardaki nakillere göre daha iyi seyrettiği gözlenmiştir. Bu dört hastanın olaysız bir hazırlama rejimi dönemi geçirmesi, engraftman gecikmesinin olmaması, ağır bir GVHH ortaya çıkmaması, transplantasyon sonrası rejeksiyon gelişmemesi ve diğer komplikasyonların (HSOS, hemorajik sistit, transfüzyon gereksinimi, graft yetersizliği) görülmemesi gibi nedenlerden dolayı alfa gen mutasyonlarının, olgu sayısı az olmakla birlikte transplante edilen beta talasemi majör hastalarında pozitif bir prognostik değer taşıyabileceği, daha çok sayıda hasta içeren çalışmalarla da bu görüşün desteklenmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

1. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalığı, Pediatrik Kemik İliği Nakil Ünitesi'nde Ocak 2005 ile Ocak 2017 tarihleri arasında kemik iliği nakli yapılmış olan beta talasemi majör tanılı 30 hasta ve 30 donörü çalışmaya dahil edilmiştir.

2. Hastaların ve donörlerin, hematopoetik kök hücre nakli öncesinde alınan venöz kan örneklerinden izole edilen DNA örneklerinden Alfa-Globin Strip Test (Vienna Lab-Labordiagnostika GmbH) kullanılarak HbA (hemoglobin A) geni mutasyonu taraması yapılmıştır.

3. Çalışmamıza katılan 30 hastanın %36,7'si (11/30) kız, %63,3'ü (19/30) erkekti. Bu hastaların tanı anındaki yaş dağılımı ve transfüzyon başlangıç yaşı ortalama $8,1 \pm 8,3$ ay idi. Hastaların %63,3'ünde (19/30) Homozigot IVS1.110(G-A) mutasyonu mevcuttu.

4. Şelasyon başlama yaşı 7 ay ile 84 ay arasında değişmekteydi ve ortalama yaş $30,2 \pm 16,9$ ay idi. Hastaların %6,7'si (2/30) şelatör kullanmamıştı. Şelatör kullanan hastaların %46,4'ü (13/28) deferoksamin+deferasiroks, %32,1'i (9/30) deferasiroks, %10,7'si (3/28) deferoksamin, %10,7'si (3/28) deferoksamin+defepiron kullanmaktaydı. Kök hücre transplantasyonu öncesi ferritin düzeyi 368 ng/ml ile 5712 ng/ml arasında değişmekteydi ve ortalama ferritin değeri 1996 ± 1256 ng/ml idi.

5. Pesaro Sınıflaması'na göre kök hücre nakli olan hastaların %36,7'si (11/30) Pesaro sınıf 1, %40'ı (12/30) Pesaro sınıf 2, %23,3'ü (7/30) ise Pesaro sınıf 3 olarak gruplandırıldı. Nakil öncesi Pesaro Sınıflaması'na uygun olarak hastaların hepsi aynı hazırlık rejimini almışlardı.

6. Kök hücre nakil yaşı ortalama $8,5 \pm 4,8$ yaş (29 ay - 20 yaş) idi. Hastalara nakil sırasında verilen ürün; %50'sinde (15/30) kemik iliği, %33,3'ünde (10/30) periferik kök hücre, %10'unda (3/30) kemik iliği ve kordon kanı, %3,3 (1/30) kemik iliği+kordon kanı+periferik kök hücre, %3,3 (1/30) ise kemik iliği+periferik kandı. Hastaların vericilerinin %80'i (24/30) kardeş, %16,7'si (5/30) akraba dışı, %3,3'ü (1/30) aile içi vericisiydi. Donörlerin %56,7'si (17/30) erkek, %43,3'ü (13/30) ise kadındı.

7. Verilen çekirdekli hücre sayısı ortalama 5×10^8 /kg idi. Kök hücre nakli yapılan bu hastaların %16,7'sinde (5/30) graft reddi oldu. Graft reddi

olan hastaların 3'ü (3/5) ikinci nakli oldu ve graft reddi gözlenmedi. Mortalite oranı %3,3 (1/30) idi. Bu hasta sepsis nedeniyle eksitus oldu.

8. Hastaların %43,3'ünde (13/30) GVHH gelişti. GVHH gelişen hastaların %61,5'inde (8/13) cilt, %15,3'ünde (2/13) GİS, %7,6'sında (1/13) karaciğer, %7,6'sında (1/13) cilt, karaciğer ve göz, %7,6'sında (1/13) cilt, karaciğer, GİS ve akciğer tutulumu bulunmaktaydı. GVHH evrelendirmesine göre ise %69,2'si (9/13) grade 1, %23,2'si (3/13) grade 2, %7,6'sı (1/13) grade 3 idi.

9. Hastaların %10'unda (3/30) HSOS, %20'sinde (6/30) transfüzyon gereksinimi, %16,7'sinde (5/30) alloimmünizasyon, %10'unda (3/30) hemorajik sistit, %16,7'sinde (5/30) CMV reaktivasyonu, %3,3'ünde (1/30) graft yetersizliği gelişti.

10. Otuz hasta ve donörlerinden çalışılan alfa strip test ile 2 hastada ve farklı 2 hastanın donörlerinde olmak üzere toplam 4 kişide alfa gen mutasyonu saptandı. Alfa gen mutasyonu saptanan hastaların ikisi erkek, donörlerin biri erkek, diğeri ise kadındı. Hastaların dördünde de saptanan mutasyon Heterozigot -3.7 tek gen delesyonu idi.

11. Alfa gen mutasyonu saptanan iki hastada Homozigot IVS1.110(G-A) mutasyonu, bir hastada Homozigot IVS2.745(C-G) mutasyonu, diğeri hastada ise IVS1.5(G-C)-IVS1.110(G-A) mutasyonu mevcuttu.

12. Alfa gen mutasyonuna sahip hastalar ve vericilerle yapılan nakillerdeki olguların üçü Pesaro sınıf 2, biri Pesaro sınıf 3 idi. Bu hastalara nakilde verilen ürün iki hastada kemik iliği, bir hastada periferik kan, bir hastada ise kemik iliği+periferik kan idi.

13. Hem alfa gen mutasyonuna sahip olan hastalar, hem de donörlerinde alfa gen mutasyonu olan hastalarda graft reddi yoktu ve mortalite görülmedi.

14. Hastaların üçünde GVHH gelişti. Graft Versus Host hastalığı sınıflamasına göre tüm hastalar grade 1 idi. GVHH gelişen hastaların birinde cilt, diğeri hastada GİS, diğeri ise karaciğer tutulumu mevcuttu. Hastaların hiçbirinde GVHH dışında komplikasyon gelişmedi.

15. Çalışmamıza dahil edilen 30 hastanın ikisinde ve 30 donörün ikisinde alfa gen mutasyonu tespit edilmiş olup bu mutasyonun mortalite, graft reddi, graft yetmezliği, GVHH, HSOS, hemorajik sistit, transfüzyon

gereksinimi, alloimmünizasyon, CMV reaktivasyonu üzerine etkisinin olmadığı görülmüştür ($p>0.05$).

16. Bizim olgularımız içinde alfa gen mutasyonu saptanan hastalar ile bu mutasyona sahip olan donörlerle alfa gen mutasyonu olmayan hastalarda yapılan nakillerin diğer nakillere göre daha iyi seyrettiği gözlenmiştir.

17. Bu dört hastanın olaysız bir hazırlama rejimi dönemi geçirmesi, engraftman gecikmesinin olmaması, ağır bir GVHH ortaya çıkmaması, transplantasyon sonrası rejeksiyon gelişmemesi ve diğer komplikasyonların (HSOS, hemorajik sistit, transfüzyon gereksinimi, graft yetersizliği) görülmemesi gibi nedenlerden dolayı alfa gen mutasyonlarının transplant yapılan beta talasemi majör hastalarında, olgu sayısı az olmakla birlikte, pozitif bir prognostik değer taşıyabileceği, daha çok sayıda hasta içeren çalışmalarla desteklenmesi gerektiği kanısına varılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Talasemi Beta, Tedavi TVE. Beta talasemi tanı ve tedavi kılavuzu, Bölüm 8, 2011; 81-97.
2. Tippy M. Lanzkowsky's Manual of Pediatric Hematology and Oncology, 2016; 676-687.
3. Özkınay F. Hematolojik hastalıklar ve genetik. Tıbbi Genetik ve Klinik Uygulamalar; 315–360.
4. Weatherall DJ. Phenotype-genotype relationships in monogenic disease: lessons from the thalassaemias, 2001; 245–255.
5. Hematoloj RK. HematoLog, Hemoglobinopatilerde genetik patoloji ve moleküler tanı yöntemleri, 2014; 30-44.
6. Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia. Galanello Origa Orphanet J Rare Disease, 2010; 1–15.
7. Bilim O, Barts H. HematoLog, Beta talasemi majorde tanı, 2014; 94–98.
8. Hematoloj RK. HematoLog, Kök hücre naklinde GVHH dışı erken dönem komplikasyonlar, 2011; 95–114.
9. Azteklerinde M. Dünya'da ve Türkiye'de talasemi ve anormal hemoglobinler, 2000; 9-11.
10. Akdeniz S, Major BT, Major BT. Talasemi'de kemik iliği transplantasyonu, 1987; 231–242.
11. Onkoloji H, Antalya B, Barts H. HematoLog, Talasemide yeni tedavi yöntemleri, 2014; 214–223.
12. Canatan D. Thalassaemias and Hemoglobinopathies in Turkey. Hemoglobin 2014; 305–307.
13. Tdt T Guidelines For The Management of Transfusion Dependent, 3rd edition, 2014.
14. Barts H. HematoLog, Alfa Talasemi, 2014;117–133.
15. Hematoloj RK, Tanisi L. HematoLog, Hemoglobinopatilerin Laboratuvar Tanısı, 2014;45–54.
16. OMIM Gene Map - Chromosome: 11.

17. Human chr16:176650-177521 - UCSC Genome Browser v350 [Internet]. [cited 2017 Jun 28]. Available from: https://genome.ucsc.edu/cgi-bin/hgTracks?db=hg38&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr16%3A176650-177521&hgside=597602257_sHQ8avpiGY7np7TWuhQpF5qLkSRw
18. 12 [Internet]. [cited 2017 Jun 28]. Available from: http://mol-biol4masters.masters.grkraj.org/html/Gene_Expression_II9-Regulation_of_Gene_Expression.htm
19. Harteveld CL, Higgs DR, Petrou M, Brugiattelli M, Old J, Hurley P, et al. A-Thalassaemia. Orphanet J Rare Dis [Internet]. 2010;5(1):13. Available from: <http://ojrd.biomedcentral.com/articles/10.1186/1750-1172-5-13>
20. Modell B, Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. Bull World Health Organ. 2008;86(6):480–487.
21. Williams TN, Weatherall DJ. World distribution, population genetics, and health burden of the hemoglobinopathies. Cold Spring Harb Perspect Med. 2012;2(9):1–14.
22. Organization WH. Management of haemoglobin disorders. Rep a Jt WHO-TIF Meet Nicosia, Cyprus 2007;(November):16–18.
23. Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia. Orphanet J Rare Dis. 2010;5(1):11.
24. Vichinsky EP. Clinical Manifestations of a -Thalassemia, 2013;1–10.
25. Pearson HA, Cohen AR, Giardina PJ, Kazazian HH. The changing profile of homozygous beta-thalassemia: demography, ethnicity, and age distribution of current North American patients and changes in two decades. Pediatrics [Internet]. 1996;97(3):352–356.
26. Hematoloj RK, Hemoglob N. HematoLog, Dünya'da hemoglobinopatilerin epidemiyolojisi, 2014;1–10.
27. Lorey F. Asian immigration and public health in California: thalassemia in newborns in California. J Pediatr Hematol Oncol, 2000;22(6):564–566.
28. Vichinsky EP. Changing patterns of thalassemia worldwide. Ann N Y Acad Sci. 2005;1054(2005):18–24.
29. Lorey F, Cunningham G, Vichinsky EP, Lubin BH, Witkowska HE, Matsunaga A, et al. Universal newborn screening for Hb H disease in California. Genet Test. 2001;5(2):93–100.

30. Hematoloj RK, Hemoglob DE. HematoLog, Türkiye'de hemoglobinopatilerin epidemiyolojisi, 2014;11–22.
31. Giardine B, Borg J, Viennas E, Pavlidis C, Moradkhani K, Joly P, et al. Updates of the HbVar database of human hemoglobin variants and thalassemia mutations. *Nucleic Acids Res.* 2014;42(D1):1063–9.
32. Hematoloj RK. HematoLog. 2014;55–65.
33. Rund D, Fucharoen S. Genetic modifiers in hemoglobinopathies. *Curr Mol Med [Internet]*. 2008;8(7):600–8.
34. Med S. β -Globin StripAssay® MED 4-130 20. 2015;
35. Newer Agents for the Treatment, Weill Cornell Medical College, Sujit Sheth MD Pediatric Hematology-Oncology
36. Hematoloj RK. HematoLog, Şelasyon Tedavisi, 2014;154–67.
37. Saliba AN, Harb AR, Taher AT. Iron chelation therapy in transfusion-dependent thalassemia patients: current strategies and future directions. *J Blood Med [Internet]*. 2015;6:197–209.
38. Yazokulu T, Summerschool IT, Ankara ME, Bd PH. Talasemide transplantasyon tipleri ve uygulamaları, 81–88.
39. Hematoloj RK, Talasemide ve orak hücre anemisinde hematopoetik kök hücre transplantasyonu, HematoLog, 2014;168–187.
40. Sarg D. Graft fonksiyonu ve kimerizm, 2012;7–12.
41. Arat M. Kimerizm Tayini, (4):107–114.
42. Nakamae H, Storer B, Sandmaier BM, Maloney DG, Davis C, Corey L, et al. Cytopenias after day 28 in allogeneic hematopoietic cell transplantation: Impact of recipient/donor factors, transplant conditions and myelotoxic drugs. *Haematologica*, 2011;96(12):1838–1845.
43. Bruno B, Gooley T, Sullivan KM, Davis C, Bensinger WI, Storb R, et al. Secondary failure of platelet recovery after hematopoietic stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2001;7(3):154–162.
44. Bader P, Niethammer D, Willasch a, Kreyenberg H, Klingebiel T. How and when should we monitor chimerism after allogeneic stem cell transplantation, *Bone Marrow Transplant*, 2005;35(2):107–19.
45. Park M, Koh KN, Seo JJ, Im HJ. Clinical implications of chimerism after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children with non-malignant diseases. *Korean J Hematol*, 2011;46(4):258.

46. Lamba R, Abella E, Kukuruga D, Klein J, Savasan S, Abidi MH, et al. Mixed hematopoietic chimerism at day 90 following allogeneic myeloablative stem cell transplantation is a predictor of relapse and survival. *Leuk Off J Leuk Soc Am Leuk Res Fund, UK*, 2004;18(10):1681–1686.
47. Mickelson DM, Sproat L, Dean R, Sobecks R, Rybicki L, Kalaycio M, et al. Comparison of donor chimerism following myeloablative and nonmyeloablative allogeneic hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant [Internet]*. 2011;46(1):84–89.
48. Hematoloj RK. HematoLog 2011, Graft versus host hastalığının fizyopatolojisi, 2011;(3):125–39.
49. Massenkeil G, Nagy M, Neuburger S, Tamm I, Lutz C, le Coutre P, et al. Survival after reduced-intensity conditioning is not inferior to standard high-dose conditioning before allogeneic haematopoietic cell transplantation in acute leukaemias. *Bone Marrow Transplant*. 2005;36:683–689.
50. Holler E, Rogler G, Brenmoehl J, Hahn J, Herfarth H, Greinix H, et al. Prognostic significance of NOD2/CARD15 variants in HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation: Effect on long-term outcome is confirmed in 2 independent cohorts and may be modulated by the type of gastrointestinal decontamination, *Blood* 2006;107:4189–4193.
51. Kansu E., Stem Hücre Naklinden Sonra Görülen Graft Versus Host Hastalığı, 132–142.
52. Loiseau P, Busson M, Balere ML, Dormoy A, Bignon JD, Gagne K, et al. HLA Association with Hematopoietic Stem Cell Transplantation Outcome: The Number of Mismatches at HLA-A, -B, -C, -DRB1, or -DQB1 Is Strongly Associated with Overall Survival. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2007;13(8):965–974.
53. Cornetta K, Laughlin M, Carter S, Wall D, Weinthal J, Delaney C, et al. Umbilical cord blood transplantation in adults: Results of the prospective cord blood transplantation (COBLT). *Biol Blood Marrow Transplant*, 2005;11(2):149–160.

54. Bleakley M, Riddell SR. Molecules and mechanisms of the graft-versus-leukaemia effect. *Nat Rev Cancer*, 2004;4(5):371–380.
55. Dickinson AM, Charron D. Non-HLA immunogenetics in hematopoietic stem cell transplantation. *Curr Opin Immunol*, 2005;17(5):517–525.
56. Daniell H. NIH Public Access, 2012;76(October 2009):211–220.
57. Martin PJ, Schoch G, Fisher L, Byers V, Anasetti C, Appelbaum FR, et al. A retrospective analysis of therapy for acute graft-versus-host disease: initial treatment, *Blood* 1990;76(8):1464–1472.
58. Fujii N, Takenaka K, Shinagawa K, Ikeda K, Maeda Y, Sunami K, et al. Case report Hepatic graft-versus-host disease presenting as an acute hepatitis after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 2001;27(January):1007–1110.
59. Goker H, Haznedaroglu IC, Chao NJ. Acute graft-vs-host disease: Pathobiology and management. *Exp Hematol*, 2001;29(3):259–277.
60. Türkiye Hematoloji Derneği, 6.Ulusal Kemik İliği Transplantasyonu ve Kök Hücre Tedavileri Kongresi Konuşma Metinleri, Kök hücre transplantasyonu komplikasyonları, 2010.
61. Bench F. Mesenchymal Stem Cell Applications in the Clinics Translational Progress in the Adherent Stem Cell Space. 2013;(May).
62. Vogelsang GB. How I treat How I treat chronic graft-versus-host disease. *Blood*. 2001;97(5):1196–201.
63. Jagasia MH, Greinix HT, Arora M, Williams KM, Cheng G, Kerr H, et al. NIH Public Access. 2016;21(3):389–401.
64. Shulman HM, McDonald GB. Hepatic complications of hematopoietic cell transplantation. *Liver Immunol Princ Pract*. 2007;409–21.
65. Kumar S, Deleve LD, Kamath PS, Tefferi A. Hepatic Veno-occlusive Disease (Sinusoidal Obstruction Syndrome) After Hematopoietic Stem Cell Transplantation. *Mayo Clin Proc [Internet]*. 2003;78(5):589–98.
66. Dal HB, Uyum- NABO, Abo M., Kan ve Kemik iliği Transplantasyon Kursu, Hematopoietik Kök Hücre Transplantasyonunda Transfüzyon Desteği, 92–96.
67. Bhatia M, Walters MC. Hematopoietic cell transplantation for thalassemia and sickle cell disease: past, present and future. *Bone Marrow Transplant*, 2008;41(2):109–17.

68. Marziali M, Isgrò A, Gaziev J, Lucarelli G. Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Thalassemia and Sickle Cell Disease. Experience of Mediterranean Institute of Hematology in a Multi-Ethnic Population. *Mediterr J Hematol Infect Dis*, 2009.
69. Storb RF, Lucarelli G, McSweeney P a, Childs RW. Hematopoietic cell transplantation for benign hematological disorders and solid tumors. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* , 2003;372–397.
70. The New England Journal of Medicine Downloaded from nejm.org at TUFTS HIRSH HEALTH SCIENCES LIBRARY on July 18, 2011. For personal use only. No other uses without permission. Copyright © 1990 Massachusetts Medical Society. All rights reserved, 2011.
71. Marrow B, Giardini C, Lucarelli G. BETA-THALASSEMIA, 1999;13(5):1059–64.
72. Lucarelli G, Andreani M, Angelucci E. The cure of thalassemia by bone marrow transplantation. *Blood Rev*, 2002;16(2):81–85.
73. Sodani P, Gaziev D, Polchi P, Erer B, Giardini C, Angelucci E, et al. A new approach for bone marrow transplantation in class 3 thalassemic patients aged less than 17 years. *Blood*. 2004;104(4):1201–1203.
74. Angelucci E. Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Thalassemia Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Thalassemia: A Model of Cellular Replacement Therapy. [cited 2017 Jun 9]; 2010.
75. Issaragrisil S, Visuthisakchai S, Suvatte V, et al. Transplantation of cord-blood stem cells into a patient with severe thalassemia. *Nejm*. 1995;332(6):367–369.
76. Locatelli F, Rocha V, Reed W, Ertem M, Grafakos S, Brichard B, et al. Related umbilical cord blood transplantation in patients with thalassemia and sickle cell disease. 2003;101(6):2137–2143.
77. Locatelli F, Kabbara N, Ruggeri A, Ghavamzadeh A, Roberts I, Kong C, et al. Outcome of patients with hemoglobinopathies given either cord blood or bone marrow transplantation from an HLA-identical sibling Outcome of patients with hemoglobinopathies given either cord blood or bone marrow transplantation from an HLA-identical sibling. *Blood*. 2013;122(6):1072–1078.

78. La Nasa G, Argiolu F, Giardini C, Pession A, Fagioli F, Caocci G, et al. Unrelated bone marrow transplantation for beta-thalassemia patients: The experience of the Italian Bone Marrow Transplant Group. *Ann N Y Acad Sci.* 2005;1054:186–95.
79. Hongeng S, Pakakasama S, Chuansumrit A, Sirachainan N, Kitpoka P, Udomsubpayakul U, et al. Outcomes of Transplantation with Related- and Unrelated-Donor Stem Cells in Children with Severe Thalassemia. *Biol Blood Marrow Transplant.* 2006;12(6):683–687.
80. Kansoy S., TPHD Pediatrik KİT Ulusal Veritabanı, EBMT2015 Congress Abstract, Ulusal Kemik İliği Kök Hücre Kongresi sözel sunum 2016.
81. Sodani P, Isgrò A, Gaziev J, Paciaroni K, Marziali M, Simone MD, et al. T cell-depleted hla-haploidentical stem cell transplantation: In thalassemia young patients. *Pediatr Rep.* 2011;3(2S):34–37.
82. Yesilipek MA, Ertem M, Cetin M, Ğniz H, Kansoy S, Tanyeli A, et al. HLA-matched family hematopoietic stem cell transplantation in children with beta thalassemia major: The experience of the Turkish Pediatric Bone Marrow Transplantation Group. *Pediatr Transplant.* 2012;16(8):846–851.
83. Yus Cebrian F, Del Valle Recasens Flores M, Izquierdo Alvarez S, Parra Salinas I, Rodriguez-Vigil Iturrate C. Combination of a triple alpha-globin gene with beta-thalassemia in a gypsy family: importance of the genetic testing in the diagnosis and search for a donor for bone marrow transplantation for one of their children. *BMC Res Notes.* 2016;9(1):220.
84. The New England Journal of Medicine Downloaded from nejm.org at UNIV OF MEDICINE AND DENTISTRY OF NJ on August 14, 2012. For personal use only. No other uses without permission. Copyright © 1990 Massachusetts Medical Society. All rights reserved, 2012.
85. Ghavamzadeh A, Nasserı P, Jahani M, Baybordi I, Nateghi J, Khodabandeh A, et al. Prognostic factors in bone marrow transplantation for beta thalassemia major: experiences from Iran. 1998;(October 1997):1167–1169.
86. Wainscoat JS, Kanavakis E, Wood WG, Letsky EA, Huehns ER, Marsh GW, et al. Thalassaemia intermedia in Cyprus: the interaction of alpha and beta thalassaemia. *Br J Haematol.* 1983;53(3):411–416.

87. Altay Ç, Öner C, Öner R, Gümrük F, Mergen H, Gürgey A., Effect of α -Gene Numbers on the Expression of β -Thalassemia intermedia, β -Thalassemia and ($\delta\beta$)⁰-Thalassemia Traits, Hum Hered, 1998 May 5 [cited 2017 Aug 6];48(3):121–125.
88. Al Qaddoumi AA. Co-inheritance of alpha and beta-thalassemia in a Jordanian family. Clin Lab Sci [Internet]. 2006 [cited 2017 Aug 6];19(3):165–168.
89. Wee YC, Tan KL, Kuldip K, Tai KS, George E, Tan PC, et al. Alpha-thalassaemia in association with beta-thalassaemia patients in Malaysia: A study on the co-inheritance of both disorders. Community Genet. 2008;11(3):129–134.
90. Sollaino MC, Paglietti ME, Perseu L, Giagu N, Loi D, Galanello R. Association of a globin gene quadruplication and heterozygous β^0 thalassemia in patients with thalassemia intermedia. Haematologica. 2009;94(10):1445–1448.
91. Farashi S, Vakili S, Faramarzi Garous N, Ashki M, Imanian H, Azarkeivan A, et al. Copy number variations of six and seven α -globin genes in a family with intermedia and major thalassemia phenotypes. Expert Rev Hematol. 2015;8(5):693–698.
92. Shahid S, Nadeem M, Zahid D, Hassan J, Ansari S, Shamsi T. Alpha thalassemia deletions found in suspected cases of beta thalassemia major in Pakistani population. Pakistan J Med Sci. 2017;33(2):411–416.

EKLER

Ek 1. Olgu Rapor Formu

KEMİK İLİĞİ TRANSPLANTASYONU YAPILAN BETA TALASEMİ MAJOR TANILI HASTALARDA ALFA GEN MUTASYONLARININ ETKİSİ

OLGU NO:

TARİH:

OLGU RAPOR FORMU

Doğum tarihi:

Tanı Yaşı:

Cinsiyet:

Transfüzyon başlangıç yaşı:

Beta talasemi majör mutasyonu:

Pesaro Sınıflaması:

Şelasyon başlama yaşı:

Şelatörün adı:

Transplantasyon öncesi başlangıç ferritin düzeyi:

Kemik iliği transplantasyon tarihi:

Kemik iliği transplantasyon yaşı:

Transplantasyon sayısı:

Kemik iliği transplantasyonu komplikasyonları:

-Graft versus host hastalığı:

SİSTEM:	GRADE:
---------	--------

-Venookluziv hastalık:

VAR	YOK
-----	-----

-Transfüzyon gereksinimi:

VAR	YOK
-----	-----

-Alloimmünizasyon:

-Graft yetersizliği:

-Graft reddi:

Donör:

KARDEŞ	AİLE İÇİ	AKRABA DIŞI
--------	----------	-------------

Kemik iliği transplantasyonu %100 olan olgularda alfa mutasyonu:

Kemik iliği transplantasyonu graft reddi olan olgularda alfa mutasyonu:

Donörün cinsiyeti:

Donörlerde alfa mutasyonu:

Ek 2. Etik Kurul Onay Raporu



EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlığı 2.Kat. Erzene Ankara Cad. 35100 Bornova / İZMİR
Tel: 0 232 390 4219 - 373 78 81 Fax: 0232 390 21 34
e-mail: aetikk@mail.ege.edu.tr www.aek.med.ege.edu.tr



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Kemik İliği Transplantasyonu Yapılan Beta Talasemi Major Tanılı Hastalarda Alfa Gen Mutasyonlarının Etkisi			
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	-			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof. Dr. Savaş KANSOY			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UZMANLIK ALANI	Çocuk Onkolojisi			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Çocuk Onkolojisi Bilim Dalı			
	VARSA İDARİ SORUMLU ÜNVANI/ADI/SOYADI	-			
	DESTEKLEYİCİ	Bilimsel Araştırma Proje Fonu			
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ ÜNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. kaynaklardan destek alanlar için)	-			
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	-			
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1 ☐	FAZ 2 ☐	FAZ 3 ☐	FAZ 4 ☐
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Gözlemsel İlaç Çalışması ☐		Tıbbi Cihaz klinik Araştırması ☐		
	İn Vitro Tıbbi Tanı Cihazları İle Yapılan Performans Değerlendirme Çalışmaları ☐		İlaç Dışı Klinik Araştırma ☒		
	Diğer ise belirtiniz		Arşiv Materyali Çalışması.		
	ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER				
	TEK MERKEZ ☒		ÇOK MERKEZLİ ☐		
	ULUSAL ☒		ULUSLARARASI ☐		
	Belge Adı				
	Tarihi				
	Versiyon Numarası				
	Dili				
KARAR BİLGİLERİ	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ				
	03.03.2014				
	-				
	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐				
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU				
	03.03.2014				
	-				
	Türkçe ☒ İngilizce ☐ Diğer ☐				
	OLGU RAPOR FORMU				
	-				
SİGORTA					
☐					
ARAŞTIRMA BÜTÇESİ					
☒ İmza tarih: 18.04.2014					
DİĞER					
☐					
Karar Nu: 17-3.1/13					
Tarih: 20.04.2014					
Yukarıda başvuru bilgileri verilen klinik araştırma başvuru dosyası ve ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak koleksiyon materyalleriyle / rutin tetkik ve tedavi işlemleri sırasında elde edilmiş materyallerle yapılacak araştırma kapsamında değerlendirilmiş; araştırma giderlerinin gönüllüye ve/veya bağlı bulunduğu sosyal güvenlik kurumuna ödenmediği koşullarda araştırmaya başlanmasının etik açıdan uygun bulunduğuna oy birliği ile karar verilmiştir.					

EGE ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ÇALIŞMA ESASI		İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu, Tıbbi Cihaz Klinik Araştırmaları Yönetmeliği				
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. Ayşenur OKTAY				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Katılım (**)	İmza
Prof. Dr. Ayşenur OKTAY Başkan	Radyodiagnostik	EÜ. Tıp Fakültesi Radyoloji AD	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Aytül ÖNAL Başkan Yardımcısı	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	
Prof. Dr. Suna TOKSAVUL Üye	Protetik Diş Tedavisi	E.Ü. Diş Hek. Fakültesi Protetik Diş Tedavisi AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	

Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ayşenur OKTAY	İMZA 	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu 22	Rev. Tarihi / No.su: 28.09.2011/05	Sayfa 1/2
---	----------	----------------------------------	------------------	---------------------------------------	--------------



ARAŞTIRMA BAŞVURUSU ONAY BELGESİ

KARAR BİLGİLERİ		Karar Nu : 17-3.1/13				
Unvanı / Adı / Soyadı EK Üyeliği	Uzmanlık Dalı	Kurumu	Cinsiyeti	İlişki (*)	Kabılım (**)	İmza
Prof. Dr. Sarenur GÖKBEN Üye	Çocuk Nörolojisi	EÜ. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	TOPLANTIYA KATILMADI
Prof. Dr. Abdullah SAYINER Üye	Göğüs Hastalıkları	EÜ. Tıp Fakültesi Göğüs Hastalıkları AD	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>Abdullah Sayiner</i>
Prof. Dr. Bülent SEMERCİ Üye	Üroloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Üroloji AD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>Bülent Semerci</i>
Prof. Dr. Süheyla ALTUĞ ÖZSOY Üye	Halk Sağlığı Hemşireliği	EÜ. Hemşirelik Fakültesi Halk Sağlığı Hemşireliği AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>Süheyla Altuğ Özsoy</i>
Prof. Dr. Murat PEHLİVAN Üye	Biyofizik	E.Ü. Tıp Fakültesi Biyofizik AD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>Murat Pehlivan</i>
Prof. Dr. Çağatay ÜSTÜN Üye	Tıp Tarihi ve Etik	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıp Tarihi ve Etik AD.	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>Çağatay Üstün</i>
Prof. Dr. Şafak TANER Üye	Halk Sağlığı	E. Ü. Tıp Fakültesi Halk Sağlığı AD.	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	TOPLANTIYA KATILMADI
Doç. Dr. Ayşe EROL Üye	Tıbbi Farmakoloji	E.Ü. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>Ayşe Erol</i>
Yard. Doç. Dr. Gülsün AYGÖRMEZ UĞURLUBAY Üye	Ceza Hukuku	Serbest	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>Gülsün Aygörmaz Uğurlubay</i>
Uzm. Ecz. Ebru BEDİR Üye	Eczacı	E.U. Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji AD.	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>Ebru Bedir</i>
Uzm. Dr. Özlem EKER Üye	Ruh Sağlığı ve Hastalıkları	Serbest	K	☐ E ☒ H	☐ E ☒ H	TOPLANTIYA KATILMADI
Fatma BÜYÜKAKKUŞ Üye	Ziraat Mühendisi	Emekli	K	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>Fatma Büyükkakuş</i>
Prof. Dr. Kaan KAVAKLI Danışman***	Çocuk Hematolojisi	EÜ. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD	E	☐ E ☒ H	☒ E ☐ H	<i>Kaan Kavaklı</i>

* Araştırma ile İlişki

** Toplantıda Bulunma

*** Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanı olan Kurul Üyesi sorumlu araştırmacı olduğunda, Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik Madde 8/c bendi gereğince araştırma ile ilişkili bulunmayan Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanı dosyanın değerlendirilmesi için Kurul tarafından atanmıştır.

ASLI GİBİDİR
Sumru FESİCİOĞLU
EÜTF Klinik Araştırmaları
Etik Kurulu Sekreteri

Etik Kurul Başkanının Unvanı/Adı/Soyadı: Prof. Dr. Ayşenur OKTAY	İMZA <i>Ayşenur Oktay</i>	Araştırma Başvurusu Onay Belgesi	Belge Kodu 22	Rev. Tarihi / No.su: 28.09.2011/05	Sayfa 2/2
--	------------------------------	----------------------------------	------------------	---------------------------------------	--------------

Ek 3. Genetik Çalışmalar İçin Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu (6-12 Yaş Hastalar, 12-18 Yaş Hastalar, Donör, Ebeveyn)

GENETİK ÇALIŞMALAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (FORM 19) (6-12 yaş hastalar)

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

Bu çalışma ile kemik iliği nakli yapılan beta talasemi majör tanılı ve kemik iliği nakli olan hastaları etkileyen faktörlerin genetik (kalıtsal) nedenlerini bulmak üzere yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın ismi “Kemik İliği Transplantasyonu Yapılan Beta Talasemi Major Tanılı Hastalarda Alfa Gen Mutasyonlarının Etkisi” dir.

Senin de bu araştırmaya katılmayı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsin. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararından önce araştırma hakkında seni bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak istersen formu imzalayabilirsin.

Araştırmaya davet edilmenin nedeni beta talasemi majör tanısının (Akdeniz anemisi)??? konulmuş olması ve bu hastalık nedeniyle kemik iliği nakli yapılmış olmasıdır. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Çocuk Onkoloji Bilim Dalı, Çocuk Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi ile Tıbbi Genetik Anabilim Dalı bu hastalığın şiddetini ve nakil sonrası oluşabilecek olan sorunları etkileyen nedenleri ortaya çıkaracak bir araştırma gerçekleştirilecektir. Araştırmaya katılacak gönüllü sayısı 30 hasta ve 30 donör (verici)dür.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul edersen Dr. Gizem ÖZCAN veya onun görevlendireceği bir doktor tarafından görüşme yapılacak, sana ve ailene sorular sorulacak ve bulgular kaydedilecektir. Bu kayıtlar kimliğin belirtilmeden tıp öğrencilerinin eğitiminde veya bilimsel yayınlarda kullanılabilir. Bu amaçların dışında bu kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

Bu çalışmayı yapabilmek için her hastadan ve donörlerden (vericilerden) kemik iliği nakli öncesi alınmış olan, doku grubu uygunluğunun araştırılması amacıyla izole edilmiş DNA örnekleri kullanılacaktır. DNA örneklerinde alfa gen mutasyon taraması yapılacaktır. Senden yeniden kan alınmayacaktır.

Bu çalışmaya katılmanız için aileden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için ailene ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Yapılacak genetik testin getirebileceği olası riskler: Sana ait genetik bilginin gizli kalması için elimizden geleni yapacağız. Bu bilgiyi senin dışında birisi ile paylaşmamız sadece senin izninle olacaktır.

Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek sorun ve riskler sana ve ailene iletilecektir.

Yapılacak genetik testin getireceği olası yararlar: Bu çalışma hastalığının şiddetini ve kemik iliği nakli sonrası oluşabilecek sorunları etkileyen nedenlerin

öğrenilmesinde yararlı olacaktır. Bu çalışma ile hastalığın temelinde yatan nedenlerin öğrenilmesi ileride ilgili hastalıktan etkilenmiş çocuklara fayda sağlayacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı istemeyebilirsiniz. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında çalışmadan ayrılma hakkına sahipsiniz.

Sayın Dr. Gizem ÖZCAN tarafından Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Çocuk Onkoloji Bilim Dalı, Çocuk Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi ile Tıbbi Genetik Anabilim Dalı tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek, bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam doktor ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizli kalacağını biliyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin verilmeyeceği bana söylendi.

Çalışma sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağını biliyorum. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

Araştırma uygulamasından kaynaklı meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; Dr. Gizem ÖZCAN'ı 0 (506) 764 63 38 numaralı telefondan arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmak istemezsem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti kabul ediyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

Gönüllülerden elde edilen biyolojik materyaller üzerinde genetik araştırma yapılabilmesi için Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formunda (BGOF):

-“Kemik İliği Transplantasyonu Yapılan Beta Talasemi Majorlu Hastalarda Alfa Gen Mutasyonlarının Etkisi” çalışması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (kan, idrar vb.);

- (Gönüllü tarafından uygun olan şık işaretlenmelidir)

☐ Sadece yukarıda bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum.

☐ İleride yapılması planlanan ilgili hastalık grubu ile sınırlandırılmış araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.

☐ Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.”

şeklinde gönüllünün konu ile ilgili rızası, Etik Kurul onayı ve Sağlık Bakanlığı izni alınmak suretiyle yapılması gerekmektedir.

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ		İMZASI
ADI & SOYADI	Dr. Gizem Özcan	
TARİH		

GEREKTİĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI & SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		

GENETİK ÇALIŞMALAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (FORM 19)
(12-18 yaş hastalar)

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

Bu çalışma ile kemik iliği nakli yapılan beta talasemi majör tanılı ve kemik iliği nakli olan hastaları etkileyen faktörlerin genetik (kalıtsal) nedenlerini bulmak üzere yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmamızın ismi “Kemik İliği Transplantasyonu Yapılan Beta Talasemi Major Tanılı Hastalarda Alfa Gen Mutasyonlarının Etkisi” dir.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak istersen formu imzalayınız.

Araştırmaya davet edilmenizden nedeni size beta talasemi majör tanısının (Akdeniz anemisi)??? konulmuş olması ve bu hastalık nedeniyle kemik iliği nakli yapılmış olmasıdır. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Çocuk Onkoloji Bilim Dalı, Çocuk Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi ile Tıbbi Genetik Anabilim Dalı bu hastalığın şiddetini ve nakil sonrası oluşabilecek olan sorunları etkileyen nedenleri ortaya çıkaracak bir araştırma gerçekleştirecektir. Araştırmaya katılacak gönüllü sayısı 30 hasta ve 30 donör (verici)dür.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Dr. Gizem ÖZCAN veya onun görevlendireceği bir hekim tarafından görüşme yapılacak ve bulgular kaydedilecektir. Bu kayıtlar ileride tekrar incelenerek doğru tanı konulmasına yardımcı olacaktır. Bu kayıtlar kimliğiniz belirtilmeden tıp öğrencilerinin eğitiminde veya bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılabilir. Bu amaçların dışında bu kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

Bu çalışmayı yapabilmek için her hastadan ve donörlerden(vericilerden) kemik iliği nakli öncesi alınmış olan, doku grubu uygunluğunun araştırılması amacıyla izole edilmiş DNA örnekleri kullanılacaktır.DNA örneklerinde alfa gen mutasyon taraması yapılacaktır. Sizden yeniden kan alınmayacaktır.

Bu çalışmaya katılmanız için aileden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için aileye ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler: Size ait genetik bilginin gizli kalması için elimizden geleni yapacağız. Bu bilgiyi sizin haricinizde birisi ile paylaşmamız sadece sizin izninizle olacaktır. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek sorun ve riskler sana ve aileye iletilecektir.

Yapılacak genetik testin getirebileceği olası riskler: Genetik bilginin kullanılmasına bağlı olarak sosyal, ekonomik ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilir. Size ait genetik bilginin gizli kalacağına dair elimizden geleni yapacağız. Ancak hemen belirtmemiz gerekir ki; yaptığımız testler sizin veya ailenizin bir ferdinin ileriki bir zamanda bu genetik hastalıktan etkilenebileceğini ortaya çıkarabilir. Bu bilginin kötü yönde kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebileceği gibi, böyle bir hastalığa sahip olduğunuzu öğrenmeniz sizi psikolojik yönden de etkileyebilir. Sizin anormal bir gen taşıdığınızı saptadığımızda bulgularımızı herhangi bir ücret talep etmeden size bildireceğiz. Ancak böylesi bir bilgiyi öğrenmeyi reddetmek her zaman hakkınızdır. Yine hemen belirtmeliyiz ki; bu bilgiyi sizin

dışınızda birisi ile paylaşmamız sadece sizin izninizle olacaktır. Genetik testlerin önemli bir riski de bu testler sonucunda anne ya da babanın biyolojik kimliğinin de saptanmasıdır. Bu durumlarda gizlilik ilkesine bağlı kalınacaktır.

Yukarıda sayılanlar böylesi bir analizde yaşanabilecek potansiyel risklerdir. Ancak bunlardan en az oranda zarar görmeyi sağlamak için elimizden geleni yapacağız. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek sorun ve riskler katılımcının/hastanın kendisine ya da ebeveyni/sorumlusuna iletilecektir.

Yapılacak genetik testin getireceği olası yararlar: Böyle bir analiz ilgili genetik hastalığın nedeninin öğrenilmesinde yararlı olacaktır. Şu anda bu çalışmanın hemen size veya çocuğunuza bir fayda olarak dönüp dönmeyeceğini bilmiyoruz. Ancak ilgili hastalığın temelinde yatan nedenlerin öğrenilmesi ileride ilgili hastalıktan etkilenmiş bireylere fayda sağlayacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahiptir. Eğer örneğinizin imha edilmesine karar verirsiniz, bu isteğinizden önce üretilmiş her türlü veri ve yapılmış analiz ortadan kaldırılmayacak ama daha fazla analiz yapılmayacaktır. Aksi halde, saklama süresinin sonunda örneğin imha edilmesinden destekleyici/araştırmacı sorumludur.

Sayın Dr. Gizem ÖZCAN tarafından Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Çocuk Onkoloji Bilim Dalı, Çocuk Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi ile Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek, bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimalla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorunumun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; Dr. Gizem ÖZCAN'ı 0 (506) 764 63 38 numaralı telefondan arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.
Gönüllülerden elde edilen biyolojik materyaller üzerinde genetik araştırma yapılabilmesi için Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formunda (BGOF):

- Bu çalışma kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (kan, idrar vb.);
 - ☐ Sadece yukarıda bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum.
 - ☐ İleride yapılması planlanan ilgili hastalık grubu ile sınırlandırılmış çalışmalarda kullanılmasına izin veriyorum.
 - ☐ Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.”
- Şeklinde gönüllünün konu ile ilgili rızası, Etik Kurul onayı ve Sağlık Bakanlığı izni alınmak suretiyle yapılması gerekmektedir.
(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ		İMZASI
ADI & SOYADI	Dr. Gizem Özcan	
TARİH		

GEREKTİĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI & SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		

GENETİK ÇALIŞMALAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (FORM 19)
(DONÖR)

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

Bu çalışma ile kemik iliği nakli yapılan beta talasemi majör tanılı ve kemik iliği nakli olan hastaları etkileyen faktörlerin genetik (kalıtsal) nedenlerini bulmak üzere yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın ismi “Kemik İliği Transplantasyonu Yapılan Beta Talasemi Major Tanılı Hastalarda Alfa Gen Mutasyonlarının Etkisi” dir.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni beta talasemi majör tanısı(Akdeniz anemisi)??? konulmuş olan ve bu hastalık nedeniyle kemik iliği nakli için verici olduğunuz hastalarda oluşabilecek sorunlar için sizde de mevcut olabilecek alfa gen mutasyonlarını araştırmaktır.Kendinizde bir şikayet olmasa bile katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir.Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Çocuk Onkoloji Bilim Dalı, Çocuk Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi ile Tıbbi Genetik Anabilim Dalı bu hastalığın şiddetini ve nakil sonrası oluşabilecek olan sorunları etkileyen nedenleri ortaya çıkaracak bir araştırma gerçekleştirilecektir. Araştırmaya katılacak gönüllü sayısı 30 hasta ve 30 donör(verici) sağlıklı gönüllüdür.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Dr. Gizem ÖZCAN veya onun görevlendireceği bir hekim tarafından görüşme yapılacak ve bulgular kaydedilecektir. Bu kayıtlar ileride tekrar incelenerek doğru tanı konulmasına yardımcı olacaktır. Bu kayıtlar kimliğiniz belirtilmeden tıp öğrencilerinin eğitiminde veya bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılabilir. Bu amaçların dışında bu kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

Bu çalışmayı yapabilmek için her hastadan ve donörlerden(vericilerden) kemik iliği nakli öncesi alınmış olan, doku grubu uygunluğunun araştırılması amacıyla izole edilmiş DNA örnekleri kullanılacaktır.DNA örneklerinde alfa gen mutasyon taraması yapılacaktır. Sizden yeniden kan alınmayacaktır.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Yapılacak genetik testin getirebileceği olası riskler: Genetik bilginin kullanılmasına bağlı olarak sosyal, ekonomik ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilir. Size ait genetik bilginin gizli kalacağına dair elimizden geleni yapacağız. Ancak hemen belirtmemiz gerekir ki; yaptığımız testler sizin veya ailenizin bir ferdinin ileriki bir zamanda bu genetik hastalıktan etkilenebileceğini ortaya çıkarabilir. Bu bilginin kötü yönde kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebileceği gibi, böyle bir hastalığa sahip olduğunuzu öğrenmeniz sizi psikolojik yönden de etkileyebilir. Sizin anormal bir gen taşıdığınızı saptadığımızda bulgularımızı herhangi bir ücret talep etmeden size bildireceğiz. Ancak böylesi bir bilgiyi öğrenmeyi reddetmek her zaman hakkınızdır. Yine hemen belirtmeliyiz ki; bu bilgiyi sizin dışınızda birisi ile paylaşmamız sadece sizin izninizle olacaktır. Genetik testlerin önemli bir

riski de bu testler sonucunda anne ya da babanın biyolojik kimliğinin de saptanmasıdır. Bu durumlarda gizlilik ilkesine bağlı kalınacaktır.

Yukarıda sayılanlar böylesi bir analizde yaşanabilecek potansiyel risklerdir. Ancak bunlardan en az oranda zarar görmeyi sağlamak için elimizden geleni yapacağız. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek sorun ve riskler katılımcının/hastanın kendisine ya da ebeveyni/sorumlusuna iletilecektir.

Yapılacak genetik testin getireceği olası yararlar: Böyle bir analiz ilgili genetik hastalığın nedeninin öğrenilmesinde yararlı olacaktır. Şu anda bu çalışmanın hemen size veya çocuğunuza bir fayda olarak dönüp dönmeyeceğini bilmiyoruz. Ancak ilgili hastalığın temelinde yatan nedenlerin öğrenilmesi ileride ilgili hastalıktan etkilenmiş bireylere fayda sağlayacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz. Eğer örneğinizin imha edilmesine karar verirsiniz, bu isteğinizden önce üretilmiş her türlü veri ve yapılmış analiz ortadan kaldırılmayacak ama daha fazla analiz yapılmayacaktır. Aksi halde, saklama süresinin sonunda örneğin imha edilmesinden destekleyici/araştırmacı sorumludur.

Sayın Dr. Gizem ÖZCAN tarafından Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Çocuk Onkoloji Bilim Dalı, Çocuk Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi ile Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek, bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya "katılımcı" olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimalla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; Dr. Gizem ÖZCAN'ı 0 (506) 764 63 38 numaralı telefondan arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

Gönüllülerden elde edilen biyolojik materyaller üzerinde genetik araştırma yapılabilmesi için Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formunda (BGOF):

- Bu çalışma kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (kan, idrar vb.);

-

- ☐ Sadece yukarıda bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum.

- ☐ İleride yapılması planlanan ilgili hastalık grubu ile sınırlandırılmış çalışmalarda kullanılmasına izin veriyorum.

- ☐ Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.”

şeklinde gönüllünün konu ile ilgili rızası, Etik Kurul onayı ve Sağlık Bakanlığı izni alınmak suretiyle yapılması gerekmektedir.

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ		İMZASI
ADI & SOYADI	Dr. Gizem Özcan	
TARİH		

GEREKTİĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI & SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		

GENETİK ÇALIŞMALAR İÇİN BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU (FORM 19)
(EBEVEYN)

LÜTFEN DİKKATLİCE OKUYUNUZ !!!

Bu çalışmaya katılmak üzere davet edilmiş bulunmaktasınız. Bu çalışmada yer almayı kabul etmeden önce çalışmanın ne amaçla yapılmak istendiğini anlamanız ve kararınızı bu bilgilendirme sonrası özgürce vermeniz gerekmektedir. Size özel hazırlanmış bu bilgilendirmeyi lütfen dikkatlice okuyunuz, sorularınıza açık yanıtlar isteyiniz.

Kemik iliği nakli yapılan beta talasemi majör tanılı hastaları etkileyen faktörlerin genetik (kalıtsal) nedenlerini bulmak üzere yeni bir araştırma yapmaktayız. Araştırmanın ismi “Kemik İliği Transplantasyonu Yapılan Beta Talasemi Major Tanılı Hastalarda Alfa Gen Mutasyonlarının Etkisi” dir.

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni çocuğunuzda/ailenizin bir üyesinde beta talasemi major tanısının konulmuş olması ve kemik iliği nakli yapılmış olmasıdır. Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Çocuk Onkoloji Bilim Dalı, Çocuk Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi ile Tıbbi Genetik Anabilim Dalı bu hastalığın şiddetini ve nakil sonrası oluşabilecek olan sorunları etkileyen nedenlerini ortaya çıkaracak bir araştırma gerçekleştirecektir. Kendinizde bir şikayet olmasa bile katılımınız araştırmanın başarısı için önemlidir. Araştırmaya katılacak gönüllü sayısı 30 hasta ve 30 donördür.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Dr. Gizem Özcan veya onun görevlendireceği bir hekim tarafından görüşme yapılacak ve bulgular kaydedilecektir. Bu kayıtlar ileride tekrar incelenerek doğru tanı konulmasına yardımcı olacaktır. Bu kayıtlar kimliğiniz belirtilmeden tıp öğrencilerinin eğitiminde veya bilimsel nitelikte yayınlarda kullanılabilir. Bu amaçların dışında bu kayıtlar kullanılmayacak ve başkalarına verilmeyecektir.

Bu çalışmayı yapabilmek için her hastadan ve donörlerden kemik iliği transplantasyonu öncesi doku grubu uygunluğunun araştırılması amacıyla izole edilmiş DNA örneklerinde alfa mutasyon taraması yapılacaktır. Hasta ve donörlerden yeniden kan alınmayacaktır.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Yapılacak genetik testin getirebileceği olası riskler: Genetik bilginin kullanılmasına bağlı olarak sosyal, ekonomik ve psikolojik sorunlar ortaya çıkabilir. Size ait genetik bilginin gizli kalacağına dair elimizden geleni yapacağız. Ancak hemen belirtmemiz gerekir ki; yaptığımız testler sizin veya ailenizin bir ferdinin ileriki bir zamanda bu genetik hastalıktan etkilenebileceğini ortaya çıkarabilir. Bu bilginin kötü yönde kullanılması sizi ekonomik ve sosyal yönden etkileyebileceği gibi, böyle bir hastalığa sahip olduğunuzu öğrenmeniz sizi psikolojik yönden de etkileyebilir. Sizin anormal bir gen taşıdığınızı saptadığımızda bulgularımızı herhangi bir ücret talep etmeden size bildireceğiz. Ancak böylesi bir bilgiyi öğrenmeyi reddetmek her zaman hakkınızdır. Yine hemen belirtmeliyiz ki; bu bilgiyi sizin dışınızda birisi ile paylaşmamız sadece sizin izninizle olacaktır. Genetik testlerin önemli bir riski de bu testler sonucunda anne ya da babanın biyolojik kimliğinin de saptanmasıdır. Bu durumlarda gizlilik ilkesine bağlı kalınacaktır.

Yukarıda sayılanlar böylesi bir analizde yaşanabilecek potansiyel risklerdir. Ancak bunlardan en az oranda zarar görmenizi sağlamak için elimizden geleni yapacağız. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek sorun ve riskler katılımcının/hastanın kendisine ya da ebeveyni/sorumlusuna iletilecektir.

Yapılacak genetik testin getireceği olası yararlar: Böyle bir analiz ilgili genetik hastalığın nedeninin öğrenilmesinde yararlı olacaktır. Şu anda bu çalışmanın hemen size veya çocuğunuza bir fayda olarak dönüp dönmeyeceğini bilmiyoruz. Ancak ilgili hastalığın temelinde yatan nedenlerin öğrenilmesi ileride ilgili hastalıktan etkilenmiş bireylere fayda sağlayacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu çalışmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahipsiniz. Eğer örneğinizin imha edilmesine karar vererseniz, bu isteğinizden önce üretilmiş her türlü veri ve yapılmış analiz ortadan kaldırılmayacak ama daha fazla analiz yapılmayacaktır. Aksi halde, saklama süresinin sonunda örneğin imha edilmesinden destekleyici/araştırmacı sorumludur.

Sayın Dr. Gizem Özcan tarafından Ege Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları, Çocuk Onkoloji Bilim Dalı Çocuk Kemik İliği Transplantasyon Ünitesi ve Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir çalışmaya "katılımcı" (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu çalışmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılabileceğine inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim. Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr. Gizem Özcan'ı 05067646338 numaralı telefondan arayabileceğimi ve Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastanesi'nde ulaşabileceğimi biliyorum.

Bu çalışmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkiye herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde "katılımcı" olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

Bu formun imzalı ve tarihli bir kopyası bana verildi.

Gönüllülerden elde edilen biyolojik materyaller üzerinde genetik araştırma yapılabilmesi için Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formunda (BGOF):

-“Kemik İliği Transplantasyonu Yapılan Beta Talasemi Majorlu Hastalarda Alfa Gen Mutasyonlarının Etkisi” çalışması kapsamında alınan biyolojik örneklerimin (kan, idrar vb.);

- (Gönüllü tarafından uygun olan şık işaretlenmelidir)

- ☐ Sadece yukarıda bahsi geçen çalışmada kullanılmasına izin veriyorum.

- ☐ İleride yapılması planlanan ilgili hastalık grubu ile sınırlandırılmış araştırmalarda kullanılmasına izin veriyorum.

- ☐ Hiçbir koşulda kullanılmasına izin vermiyorum.”

şeklinde gönüllünün konu ile ilgili rızası, Etik Kurul onayı ve Sağlık Bakanlığı izni alınmak suretiyle yapılması gerekmektedir.

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

GÖNÜLLÜNÜN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

VELAYET VEYA VESAYET ALTINDA BULUNANLAR İÇİN VELİ VEYA VASİNİN		İMZASI
ADI & SOYADI		
ADRESİ		
TEL. & FAKS		
TARİH		

ARAŞTIRMA EKİBİNDE YER ALAN VE YETKİN BİR ARAŞTIRMACININ		İMZASI
ADI & SOYADI	Dr. Gizem Özcan	
TARİH		

GEREKTİĞİ DURUMLARDA TANIK		İMZASI
ADI & SOYADI		
GÖREVİ		
TARİH		