



T.C.

YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ

DURSUN ODABAŞ TIP MERKEZİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**ÇOCUK HEMATOLOJİ POLİKLİNİĞİMİZDE TAKİP EDİLEN BETA
TALASEMİ MAJÖR HASTALARINDA RENAL FONKSİYON
BOZUKLUĞUNUN VE BETA TALASEMİ MAJÖRDE İDRAR NEUTROFİL-
GELATİNASE ASSOCIATED LİPOCALİN DÜZEYİNİN
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Serdar ŞAHİN

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Yrd. Doç. Dr. Kamuran KARAMAN

VAN-2017

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim ve tez çalışmam sırasında bilgi ve deneyiminden yararlandığım, yoğun çalışma temposuna rağmen benden emeğini, ilgisini esirgemeyen danışman hocam sayın Yrd.Doç.Dr. Kamuran Karaman'a saygılarımı sunar ve teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca yetişmemde katkıları olan hocalarım; Prof. Dr.Oğuz Tuncer, Prof. Dr. Ahmet Faik Öner ve Yrd:Doç.Dr. Mecnun Çetin'e teşekkür ederim.

Tez çalışmamda; hem proje aşamasında hem de istatistiksel analiz konusunda bana sürekli destek veren ve her türlü yardımını esirgemeyen Yrd.Doç.Dr. Ahmet Ufuk Kömüroğlu'na teşekkür ederim.

Tabi ki de zorlu asistanlık sürecinde her zaman yanımda olan eşime ve hayatıma güzel anlamlar katan çocuklarıma teşekkür eder ve mutluluklar dilerim...

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR VE SİMGELER	v
TABLO DİZİNİ.....	vii
ŞEKİL DİZİNİ.....	vi
ÖZET	9
ABSTRACT	11
1. GİRİŞ VE AMAÇ	13
2. GENEL BİLGİLER.....	14
2.1. HEMOGLOBİNİN YAPISI VE ÖZELLİKLERİ	14
2.1.1. HEMOGLOBİNİN GENETİK KONTROLÜ	15
2.1.2. NORMAL HEMOGLOBİNLER.....	16
2.2. TALASEMİNİN TANIMI	17
2.2.1. PATOFİZYOLOJİ	17
2.2.2. EPİDEMİYOLOJİ	20
2.2.3. TÜRKİYE’DE BETA TALASEMİ.....	21
2.2.4. SINIFLANDIRMA VE KLİNİK ÖZELLİKLER.....	21
2.2.5. ALFA TALASEMİ	22
2.2.6. BETA TALASEMİ	23
2.2.6.1. BETA TALASEMİNİN SINIFLAMASI.....	26
2.2.6.2. BETA TALASEMİ MAJÖR TANISI.....	32
2.2.6.3. BETA TALASEMİ MAJÖRDE TEDAVİ.....	33
2.2.6.4. KOMPLİKASYONLAR.....	39
2.2.6.5. PROGNOZ	44
2.2.6.6. TARAMA.....	44
2.2.6.7. GENETİK DANIŞMANLIK	44
2.3. NGAL	45
2.3.1. LİPOKALİN AİLESİ.....	45
2.3.2. NGAL SENTEZİ VE YAPISI	46
2.3.3. NGAL MOLEKÜLÜNÜN SALGILANMASI	48

2.3.4. NGAL'İN FONKSİYONLARI.....	49
2.3.5. NGAL'İN İLİŞKİLİ OLDUĞU HASTALIKLAR	50
2.4. SİSTATİN C.....	54
2.5. BETA-2 MİKROGLOBULİN.....	56
3. MATERYAL VE METOD	57
3.1. ÜRE KREATİNİN VE B2M ÖLÇÜMÜ.....	58
3.2.FERRİTİN ÖLÇÜMÜ	58
3.3. NGAL ÖLÇÜMÜ.....	58
3.4. SİSTATİN C ÖLÇÜMÜ.....	61
4. BULGULAR	65
5. TARTIŞMA.....	73
6. SONUÇLAR.....	79
7. KAYNAKLAR.....	81
8. ÖZGEÇMİŞ.....	100

KISALTMALAR VE SİMGELER

ABH	: Akut Böbrek Hasarı
ABY	: Akut Böbrek Yetmezliği
ACTH	: Adrenokortikotropik Hormon
ALP	: Alkale Fosfataz
CA	: Karbonhidrat Antijen
CEA	: Karsinoembriyonik Antijen
Cyc-C	: Sistasin C
DFO	: Deferoksamin
DFP	: Deferipron
DFX	: Deferasiroks
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
Fe+2	: Ferröz Demir
Fe+3	: Ferrik Demir
GFR	: Glomerüler Filtrasyon Hızı
GMCSF	: Granülosit Monosit Koloni Uyarıcı Faktör
Hb	: Hemoglobin
HbA	: Hemoglobin A
HbA2	: Hemoglobin A2
HbC	: Hemoglobin C
HbE	: Hemoglobin E
HbF	: Hemoglobin F
HbH	: Hemoglobin H
HbS	: Hemoglobin S
HBV	: Hepatit B Virüs

HCT	: Hematokrit
HCV	: Hepatit C Virüs
HIV	: İnsan İmmün Yetmezlik Virüsü
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
MCH	: Ortalama Eritrosit Hemoglobini
MCV	: Ortalama Eritrosit Hacmi
NGAL	: Neutrofil Jelatinaz İlişkili Lipocalin
NTBI	: Transferine Bağlanmayan Demir
RDW	: Kırmızı Küre Dağılım Genişliği
TA	:Tansiyon Arteriyel
TD-βTM	: Transfüzyon Bağımlı Beta Talasemi Majör
VA	:Vücut Ağırlığı
ve ark.	: ve arkadaşları
α	: Alfa
β	: Beta
β2M	: Beta 2 Mikroglobulin
βTI	: Beta Talasemi İntermedia
βTM	: Beta Talasemi Majör
γ	: Gamma
δ	: Delta
ε	: Epsilon
ζ	: Zeta

TABLO DİZİNİ

Tablo.1: Yaşa göre hemoglobin dağılımları.....	15
Tablo.2: Türkiye’de bildirilmiş β talasemi taşıyıcılığı	21
Tablo.3: Türkiye’de en sık görülen β -talasemi mutasyonları	25
Tablo.4: Dünya’da sık görülen β talasemi mutasyonları.....	26
Tablo.5: Talasemi majör ve talasemi intermedia ayırıcı tanısı.....	29
Tablo 6: Demir şelatörlerinin özellikleri, kullanım dozu ve şekli	37
Tablo 7:NGAL standartlarının hazırlanması.....	58
Tablo8:Sistatin-C standartlarının hazırlanması.....	61
Tablo 9:Gruplar arası boy,VA ve kan basıncı değerleri.....	66
Tablo 10: Gruplar arası parametreler.....	67
Tablo 11: Çalışma grubunda parametreler arası korelasyon.....	70
Tablo 12: Kontrol grubunda parametreler arası korelasyon.....	70

ŞEKİL DİZİNİ

Şekil.1 : Hemoglobinin tetramer yapısı.....	14
Şekil.2 : Farklı zincir tipleri ile hemoglobin tipleri.....	15
Şekil 3 : Hemoglobin α ve β zincir sentez bölgelerinin şematik gösterimi.....	16
Şekil 4 : Beta-talasemide patofizyoloji	19
Şekil 5 : Talaseminin periferik yayma bulguları.....	31
Şekil 6 : Otozomal resesif kalıtılan talaseminin şematik gösterimi.....	32
Şekil 7 : Lipokalin fold yapısı.....	46
Şekil 8 : NGAL'in biyolojisi ve tübüler hasar ile ilişkisi.....	47
Şekil 9 : NGAL (24p3)'in hematopoetik kanserlerdeki rolü.....	52
Şekil 10: Sistatin C (Cyc-C)'nin yapısı.....	56
Şekil 11: Numune, antibadi ve streptavidin HRP sonrası playtın görünümü..	59
Şekil 12: Chromogen Reagent A ve B eklendikten sonra playtın görünümü..	60
Şekil 13:Stop solüsyonu eklendikten sonra playtın görünümü.....	60
Şekil 14: Numune, antibadi ve streptavidin HRP sonrası playtın görünümü..	62
Şekil 15: Chromogen Reagent A ve B eklendikten sonra playtın görünümü..	63
Şekil 16:Stop solüsyonu eklendikten sonra playtın görünümü.....	63
Şekil 17: Gruplar arası, yaş ve cinsiyet dağılımı.....	65
Şekil 18:Gruplar arası yaş dağılımı.....	65
Şekil 19:Gruplar arası parametreler.....	67
Şekil 20: Gruplar arası NGAL düzeyi.....	68
Şekil 21: Gruplar arası Sitatin-C düzeyi.....	68
Şekil 22: Gruplar arası β 2-Mikroglobulin ve kreatinin düzeyleri.....	69
Şekil 23: Gruplar arası üre düzeyi.....	69
Şekil 24:Çalışma grubunda NGAL ve ferritin arasındaki pozitif korelasyon..	71

Şekil 25:Çalışma grubunda NGAL ve sistatin-c arasındaki korelasyon.....72

Şekil 26:Kontrol grubunda NGAL ve β 2M arasındaki korelasyon.....72



ÖZET

Amaç:

Talasemi majör, tüm dünyada önemli bir sağlık sorunu olup, yüksek maliyetli tedavi gerektiren bir hastalıktır. Hastaların çoğu ikinci dekatta tedaviye bağlı komplikasyonlar nedeniyle kaybedilmektedir. Son yıllarda kullanıma giren yeni tedavi rejimleri ve tedaviye bağlı komplikasyonların dikkatli bir şekilde izlenmesiyle hastaların beklenen yaşam süreleri artmaktadır. Düzenli kan transfüzyonları nedeniyle kalp, karaciğer ve böbrek gibi hayati organlarda ilerleyici demir birikimi görülmektedir. Bu çalışmada hastanemizde izlenmekte olan beta talasemi majörlü hastalarda düzenli kan transfüzyonunun böbreklerde meydana getirdiği ve henüz böbrek yetmezliği bulguları oluşmadan erken böbrek hasarının saptanması için son zamanlarda çeşitli çalışmalarda bir belirteç olarak kullanılabileceği öne sürülen NGAL düzeyinin değerlendirilmesi ve erken böbrek hasarı belirteçlerinden kabul edilen β 2M ile sistatin-c ile karşılaştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem:

Çalışmamızda Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematoloji ve Onkoloji bölümünde beta talasemi majör tanısı ile izlenmekte olup, kan transfüzyon programında yer alan 37 hasta çalışma grubunu ve Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Genel Çocuk Polikliniğine başvuran kronik herhangi bir hastalığı olmayan yaş ve cinsiyet bakımından çalışma grubu ile benzer özellikler gösteren 37 çocuk kontrol grubunu oluşturdu. Beta Talasemi majör hastası olup böbrek taşı, herediter renal familiyal hastalık öyküsü, aktif enfeksiyon, diabetes mellitus, sistemik hipertansiyon, hidronefroz, üriner reflü, tiroid veya paratiroid fonksiyon bozukluğu olan hastalar, çalışma dışı bırakıldı. Çalışma ve kontrol grupları prospektif olarak incelendi. Çalışma grubundan transfüzyon öncesi kan ve idrar örnekleri, kontrol grubundan ise başvuru anında kan ve idrar örnekleri alındı. Alınan kan ve idrar örnekleri 4000 devir/dk, 10 dakika santrifüj edildikten sonra -80°C 'de saklandı.

Bulgular:

Çalışmamıza 37 hasta (24 erkek,13 kız) ve 37 çocuk (kronik hastalığı bulunmayan 14 erkek,23 kız) dahil edildi. Çalışma grubunda NGAL ($680,034\pm 29,501$

ng/ml) ve sistatin-c (42,549±4,328 ng/ml) düzeyleri kontrol grubundan (NGAL; 579,322±29,985 ng/ml ve sistatin-c 27,498±3,323 ng/ml) anlamlı olarak (NGAL p:0,019 ve sistatin-c p: 0,008) yüksek bulunmuştur. Kontrol grubunda kreatinin(0,597±0,0155 mg/dl) düzeyi çalışma grubundan (0,471±0,0157 mg/dl) anlamlı olarak (p<0,001) yüksekti. β 2M ve üre düzeyleri gruplar arasında anlamlı fark göstermemektedir (çalışma grubu; β 2M: 0,269±0,012 mg/l, kontrol grubu β 2M: 0,307±0,035 mg/l, p: 0,316 ve çalışma grubu üre: 26,84±1,677 mg/dl kontrol grubu üre: 26,54±0,962 mg/dl, p: 0,878). Gruplar arasında yaş ve cinsiyet bakımından anlamlı bir fark yoktu (Yaş: çalışma grubu; 8,47± 0,76 yıl ve kontrol grubu; 9,39 ±0,44 yıl, p: 0,282). Kontrol grubunda boy ve vücut ağırlığı çalışma grubuna göre daha yüksekti ve bu durum istatistiksel olarak anlamlıydı (kontrol grubu ortalama boy: 138,78 cm, çalışma grubu ortalama boy: 112,70 cm p<0,001 ve kontrol grubu ortalama VA: 36,06 kg, çalışma grubu ortalama VA: 21,06 kg p<0,001). Gruplar arasında kan basıncı değerleri arasında anlamlı fark yoktu (sistolik kan basıncı çalışma grubu/kontrol grubu 100/104 mmHG diastolik kan basıncı çalışma grubu/kontrol grubu 66/68 mmHG ve p: 0,112 ve p: 0,248). Hem çalışma hem de kontrol grubunda kreatinin; boy ve vücut ağırlığı ile pozitif koreleydi. Çalışma grubunda β 2M ve NGAL arasında negatif korelasyon bulunmaktadır. Çalışma grubunda kreatinin ve yaş arasında pozitif korelasyon bulunmaktadır. Çalışma grubunda üre; β 2M ve kreatinin ile pozitif koreledir. Çalışma grubunda NGAL, ferritin ile pozitif koreledir. Kontrol grubunda yaş, üre ile negatif korelasyon gösterirken, kreatinin ile pozitif korelasyon göstermektedir.

Sonuç:

Beta talasemi majör hastalarında düzenli kan transfüzyonuna bağlı olarak böbrek hasarı oluşabilmektedir. Bu hastalarda idrar NGAL düzeyi erken böbrek hasarı açısından bir belirteç olarak düşünülebilir. Bulgularımız bu konuda yapılacak geniş ölçekli çalışmalar için yol gösterici olabilir.

Anahtar kelimeler: Talasemi majör, transfüzyon, NGAL, beta-2mikroglobulin, sistatin-c

ABSTRACT

Aim: Thalassemia major is a worldwide healthcare problem requiring high cost medical treatment. Patients usually die of treatment associated complications in the second decade. However, improvements in treatment and meticulous follow-up strategies for treatment associated complications have led to an increase in expected life span of the patients. Regular transfusions cause progressive iron deposition in critical organs such as heart, liver and kidneys. In this study, we aimed to investigate the effects of regular blood transfusion on the kidneys in patients with beta thalassemia major, and assessment of the NGAL level suggested to be used as a marker in recent studies for the detection of early renal damage before the onset of renal insufficiency and was aimed to compare with β 2M and cystatin-c which are accepted by early renal damage markers.

Patients and Methods: In our study, we were followed up with beta thalassemia major in Department of Pediatrics, Department of Pediatric Hematology and Oncology at Yüzüncü Yıl University Medical Faculty, the study group consisted of 37 patients included in the blood transfusion program and the control group consisted of 37 children with similar characteristics to the study group in terms of age and sex without any chronic illnesses admitted to the Department of Child Health and Diseases of the Yüzüncü Yıl University Medical Faculty, General Child Polyclinic. Patients with Beta Thalassemia major disease who had; kidney stones, hereditary renal familial disease, active infection, diabetes mellitus, systemic hypertension, hydronephrosis, urinary reflux, thyroid or parathyroid function were excluded. The study and control groups were examined prospectively. Blood and urine specimens were taken from the study group before transfusion and blood and urine specimens were taken from the control group at the time of application. Blood and urine specimens were stored at -80°C after centrifugation for 10 minutes at 4000 rpm.

Results: The study included 37 patients (24 male, 13 female) and 37 children (14 male, 23 female without chronic disease). NGAL ($680,034 \pm 29,501$ ng/ml) and cystatin-c ($42,549 \pm 4,328$ ng/ml) levels were significantly higher in the study group than in the control group (NGAL, $579,322 \pm 29,985$ ng/ml and cystatin-c $27,498 \pm 3,323$ ng/ml NGAL p:0,019 and Cystatin-C p: 0,008). In the control group, creatinine

($0,597 \pm 0,0155$ mg/dl) level was significantly higher than the study group ($0,471 \pm 0,0157$ mg/dl) ($p < 0,001$). β 2M and urea levels did not differ significantly between groups (study group: β 2M: $0,269 \pm 0,012$ mg/l control group β 2M: $0,307 \pm 0,035$ mg/l, $p: 0,316$ and study group urea: $26,84 \pm 1,677$ mg/dl control group urea: $26,54 \pm 0,962$ mg/dl, $p: 0,878$). There was no significant difference in age and sex between the groups (Age: study group, $8,47 \pm 0,76$ years, control group: $9,39 \pm 0,44$ years, $p: 0,282$). Body height and body weight were higher in the control group than in the study group, and this was statistically significant (mean control group height: 138,78 cm, mean height of the study group: 112,70 cm $p < 0,001$ and control group mean body weight: 36,06 kg, study group mean body weight: 21,06 kg $p < 0,001$). There was no significant difference between the blood pressure values of the groups (systolic blood pressure study group / control group 100/104 mmHG diastolic blood pressure study group / control group 66/68 mmHG and $p: 0,112$ and $p: 0,248$). Creatinine was positively correlated with height and body weight in both study and control groups. There is a negative correlation between β 2M and NGAL in the study group. There is a positive correlation between NGAL and ferritin in study group. There is a positive correlation between creatinine and age in the study group. Urea in the study group; correlates positively with β 2M and creatinine. In the control group, age showed a negative correlation with urea and positive correlation with creatinine.

Conclusion: In Beta Thalassemia major patients renal damage can occur due to regular blood transfusion. Urinary NGAL levels in these patients may be considered as a marker for early renal injury. Our findings may provide guidance for large-scale studies in this area.

Keywords: Thalassemia major, transfusion, NGAL, beta-2mikroglobulin, cystatin-c

1. GİRİŞ ve AMAÇ:

Beta (β) talasemi majör β globin zincirinin, homozigot ya da çift heterozigot mutasyonlarına bağlı olarak yokluğu (β^0) veya azlığı, eritrositlerde alfa (α) globin zincir fazlalığı ve zincir oranlarında dengesizlik ile karakterize ağır bir klinik tabloya neden olan otozomal resesif geçişli bir hastalıktır (1).

Hastalığın sıklığı akraba evliliği ile artmaktadır. Ülkemizde β talasemi taşıyıcılığı sıklığı % 2'dir. Talasemi ülkemizde en sık akdeniz bölgesinde görülmekte olup, taşıyıcı sıklığı % 0,7 ile % 13,1 arasında değişmektedir. Ülkemizde β talasemiden sorumlu olan 45'ten fazla farklı mutasyon bildirilmiştir (2).

Eritrositlerde α globin zincir fazlalığına bağlı olarak, membran hasarı, hemoliz, kemik iliğinde inefektif eritropoez ve bunların sonucu olarak anemi görülmektedir. Anemiye bağlı olarak eritropoetin üretiminin artması sonucunda ekstramedüller hematopoez gelişmektedir. Ekstramedüller hematopoez nedeniyle hastalarda burun kökünde basıklık, mongoloid yüz görünümü gibi iskelet-yüz değişiklikleri ve hepatosplenomegali görülmektedir (3).

Talasemi majörlü hastalarda hastalığa veya tedaviye bağlı olarak gelişen endokrin, metabolik, immünolojik ve enfeksiyöz komplikasyonların yakın takibi sağkalım ve hastaların hayat kalitesi üzerinde oldukça etkindir. Demir birikimi sonucu; büyüme geriliği, hipotiroidizm, hipoparatiroidizm, diabetes mellitus, adrenal yetmezlik, osteoporoz, kardiyak fonksiyon bozukluğu, gonadal yetersizlik ve böbrek yetmezliği gibi komplikasyonlar gelişebilmektedir. Hastalığın ana tedavisini oluşturan düzenli eritrosit transfüzyonu sonucu meydana gelen demir birikiminin yol açtığı komplikasyonlar, talasemi majörlü hastalarda baş edilmesi gereken başlıca problemlerdir (4, 5).

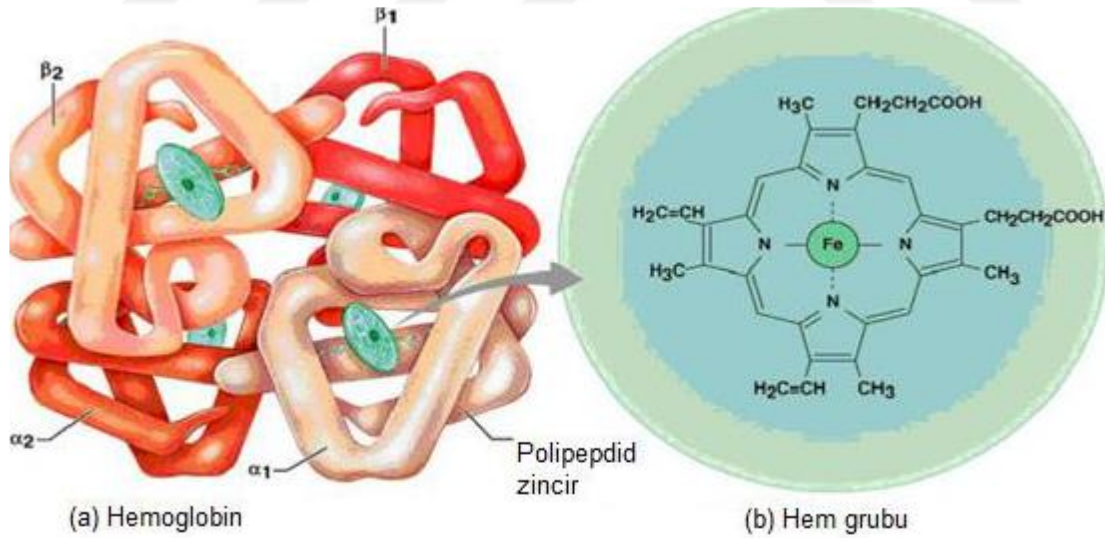
Beta talasemi hastalarında böbrek tutulumu ile ilgili sınırlı çalışma bulunmaktadır. Bizim çalışmamızın amacı transfüzyona bağımlı beta talasemi majörlü (TD- β TM) pediatrik hastalarda böbrek fonksiyon bozukluğunu glomerüller ve tübüler disfonksiyonların konvansiyonel ve erken belirteçlerini araştırmaktır. Neutrofil-jelatinaz

ile ilişkili lipokalin (NGAL), akut böbrek hasarının erken teşhisinde ortaya çıkan bir biyogösterge niteliğindedir ve aynı zamanda artmış idrar NGAL, kronik böbrek hastalığının iyi bir belirteçidir. Biz beta talasemi majör hastalarında idrar NGAL düzeyini; üre, kreatinin, beta-2 mikroglobulin ve sistatin-c düzeyi ile korelasyonunu göstermeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hemoglobinin Yapısı ve Özellikleri :

Hemoglobin (Hb), oksijenin (O₂) akciğerden dokulara, karbondioksitin (CO₂) dokulardan akciğerlere taşınmasını sağlayan bir protein olup en yüksek oranda eritrositlerde bulunur (6, 7). Hb, globin ve hemden oluşan 64.400 dalton ağırlığında tetramer yapıda olup iki çift özdeş olmayan polipeptid zinciri (α -benzeri, β -benzeri) ve dört molekül hemden oluşur (8, 9). Tüm Hb'lerde hem grubu aynı yapıdadır. Bu grup, ortasında Fe⁺² bulunan, yan zincirlere sahip, birbirine metil köprüleriyle bağlanmış 4 pirok halkasından oluşmaktadır (10) (Şekil 1). Normal bir erişkinde, hemoglobin A (HbA), hemoglobin F (HbF) ve hemoglobin A₂ (HbA₂) olmak üzere 3 farklı Hb tipi bulunur (11).



Şekil 1. Hemoglobinin tetramer yapısı (10)

Farklı zincir tipleri ile farklı hemoglobin tipleri oluşur (Şekil 2). Sağlıklı erişkinde hemoglobin elektroforezinde >% 95 HbA ($\alpha_2\beta_2$), % 2-3,5 HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$) ve <% 2 HbF ($\alpha_2\gamma_2$) bulunur (1).

Yaşa göre değişen farklı hemoglobin tiplerinin dağılımları Tablo 1’de gösterilmiştir (12). Embriyonik Hb’ler gebeliğin 3-10. haftalarında yolk sakta üretilen eritrositlerin içerisinde ilk üretilen hemoglobin tipidir. Embriyonik Hb’ler, $\zeta 2\epsilon 2$ (Gower I), $\alpha 2\epsilon 2$ (Gower II), $\zeta 2\gamma 2$ (Portland) gibi yukarıda adı geçen farklı globin genlerinin tetramerler oluşturarak bir araya gelmesi sonucu oluşur. Gebeliğin ikinci trimesterinden sonra epsilon zincirleri görülmez. Kord kanında Hb Portland az da olsa tespit edilebilir (1). Fötal Hb (Hb F) ($\alpha 2\gamma 2$), fetus ve yenidoğanın major hemoglobindir (Şekil 2). Postnatal yaklaşık 3. ayda HbA dominant olmaya başlar. Bu durum γ ve β globin genleri arasında “switch” yani dönüşüm göstermesi sonucunda gerçekleşmektedir. Hemoglobin F sıklıkla yaşamın ikinci yılında % 2’nin altına iner. Erişkindeki başlıca hemoglobin olan HbA ($\alpha 2\beta 2$) doğumdan kısa bir süre sonra HbF’in yerini alır (13).

Hemoglobinin Adı	Yapısı	Dönem
Hemoglobin Portland	$\zeta 2\gamma 2$	Embriyonik Dönem
Hemoglobin Gower 1	$\zeta 2\epsilon 2$	Embriyonik Dönem
Hemoglobin Gower 2	$\alpha 2\epsilon 2$	Embriyonik Dönem
Hemoglobin F	$\alpha 2\gamma 2$	Fetal Dönem
Hemoglobin A2	$\alpha 2\delta 2$	Erişkin hemoglobini
Hemoglobin A	$\alpha 2\beta 2$	Erişkin hemoglobini

Şekil 2. Farklı zincir tipleri ile hemoglobin tipleri (7)

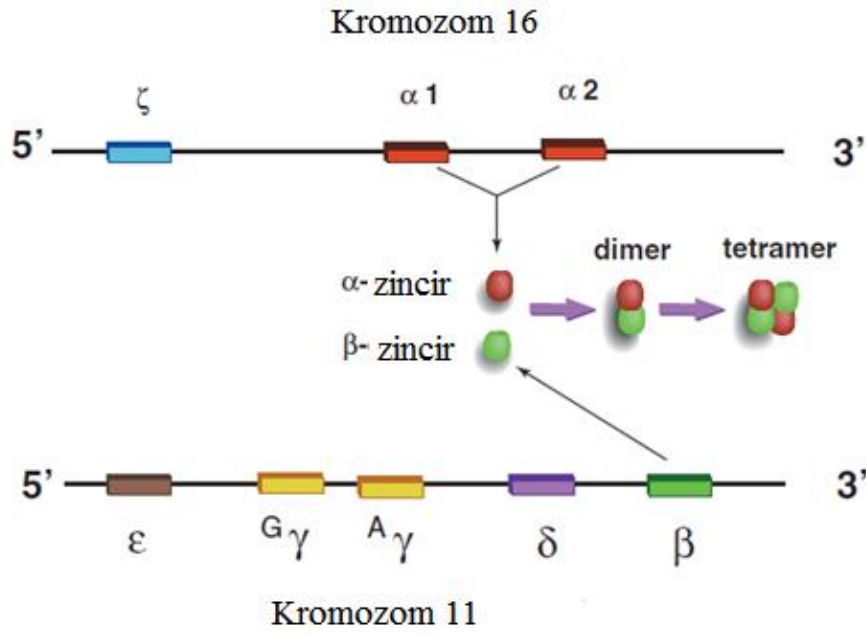
Tablo 1. Yaşa göre hemoglobin dağılımları (12)

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

2.1.1. Hemoglobinin Genetik Kontrolü :

Hemoglobin sentezi 2 multigen kümesi tarafından kontrol edilir (14). İnsanda Hb molekülünün globin kısmında 6 farklı polipeptid zinciri tanımlanmıştır. Bunlar α , β , γ , δ , ϵ ve ζ polipeptid zinciri olarak adlandırılmıştır. Alfa globin geni 16. kromozomda

çift olarak kodlanmıştır. Non α zincir; β , γ , δ 11. kromozomda kodlanmıştır (Şekil 3). Böylelikle hücrelerde 4 α ve 2 β globin zinciri vardır. Alfa zinciri 141, β zinciri 146, δ zinciri 39, γ zinciri 10 aminoasitten oluşmaktadır (15). Talasemiler Hb'deki bozuk zincire göre adlandırılırlar ve α -talasemi ve β -talasemi olmak üzere 2 hastalık grubuna ayrılmaktadır. Alfa globin etkilenmişse α talasemi, β globin etkilenmişse β talasemi olarak adlandırılır (15, 16).



Şekil 3. Hemoglobin α ve β zincir sentez bölgelerinin şematik gösterimi (17)

2.1.2. Normal Hemoglobinler:

HbA: Yetişkinlerde bulunan Hb olup, 2α ve 2β polipeptid zincirinden oluşmaktadır. Normal erişkinlerde bulunan Hb'in % 96-98'i HbA'dır (18).

HbA2: Doğumdan yaklaşık olarak 12 hafta sonra sentezlenen bu Hb, 2α ve 2δ polipeptid zinciri içermektedir. Normal erişkinlerdeki Hb'in yaklaşık %3-4'ünden daha azını oluşturmaktadır (18).

HbF: Fetüste ve yenidoğanda sentezlenen başlıca Hb'dir. 2α ve 2γ polipeptid zincirinden oluşmaktadır. İlerleyen hamilelikle fetüste HbF düzeyi giderek azalırken Hb A artış göstermektedir. Yenidoğandaki Hb'nin yaklaşık % 80'ni HbF, % 20'si ise HbA şeklindedir. HbF, 6 aylık bebekte % 5'in altına, 3-4 yaşında ise % 1'in altına düşerek yetişkinlerdeki seviyeye gelir (18).

Hb Gower I, Hb Gower II ve Hb Portland: Gebeliğin ilk 3 ayı içerisinde fetüste bulunan embriyonik Hb'lerdir. 13 haftalık fetüste embriyonik Hb'ler kaybolmuştur ve fetüste yoğun olarak HbF bulunur. Hb Gower I; 2 δ ve 2 ϵ , Hb Gower II; 2 α ve 2 ϵ , Hb Portland ise; 2 δ ve 2 γ polipeptid zincirinden oluşmaktadır (18).

2.2. Talaseminin Tanımı:

Talasemiler hemoglobin molekülünü oluşturan globin zincirlerinden bir veya daha fazlasının defektif sentezlenmesi sonucu normal hemoglobin sentezinin kısmi azaldığı veya tamamen kaybolduğu dünya üzerinde sık görülen bir grup heterojen otozomal resesif geçişli herediter hematolojik bir hastalıktır. Etkilenen globin zincirine göre alfa, beta, gama ve delta talasemiler olarak sınıflandırılırlar (19). 1889 yılında ilk kez Von Jaksch; anemi, splenomegali ve lökositozu olan bir erkek çocuğunu 'anemia infantum pseudoleucemia' olarak tanımladı. Bu klinik durum 'Von Jaksch Anemisi' olarak tanı alan ve anemi, splenomegali, hepatomegali bulguları olan beş çocukta bildirilmiştir. 1925'te Thomas Cooley tarafından 5 çocukta mongoloid görünümü, kafatası genişlemesi, tuhaf yüz kemikleri gibi klinik özellikler bu orijinal tanımı ile birlikte hastalık 'Cooley Anemisi' olarak adlandırılmıştır. 1932'de George Whipple ve Lesley Bradford inceledikleri vakaların akdeniz civarı ülkelerden geldiğini saptadıkları hastalığa yunanca deniz anlamına gelen -thalassemia- adını vermişlerdir. Daha sonra bu hastalığın yalnız akdeniz ülkeleri toplumlarında olmadığı diğer toplumlarda da bulunduğu tespit edilmiştir (20, 21).

2.2.1. Patofizyoloji:

Gelişimin her evresinde α ve β benzeri globinlerin üretilmesi bir denge halindedir. β -globin genindeki mutasyonlar, β zincirinin hiç yapılmamasına veya yeteri kadar yapılamamasına neden olmaktadır. Bu durumda α zincir yapımı normal hızda devam ettiği için α zincir lehine bir zincir dengesizliği meydana gelir (Şekil 4) (22, 23). Normal hemoglobin üretimi için, iki globin zinciri ve hem kısmından oluşan dengeli hemoglobin tetramerlerinin oluşumu gereklidir. Embriyo, fetus ve erişkinde alfa (α) veya beta (β) benzeri globin zincirleri sentezlenmektedir. α benzeri zincirlerin (zeta [ζ] ve α) sentezi 16. kromozomun kısa kolunda, β benzeri zincirlerin (epsilon [ϵ], gama [γ], delta [δ] ve beta) sentezi ise 11. kromozomun kısa kolunda bulunan gen tarafından kontrol edilir. Embriyonik dönemde $\zeta_2\epsilon_2$, fetal hayatta ise $\alpha_2\gamma_2$ (fetal hemoglobin)

hakimdir. Doğumdan sonra fetal hemoglobin giderek azalırken erişkin tip olan $\alpha_2\beta_2$ (hemoglobin A1) ve $\alpha_2\delta_2$ (hemoglobin A2) sentezlenir (24). Normal erişkinde hemoglobinin %96'sını HbA1, % 2,5–3,5'ünü HbA2 ve % 1'inden azını HbF oluşturmaktadır (25, 26). Talasemi majör patogenezinde en önemli belirleyiciler biriken alfa globin zincir fazlalığına bağlı olarak gelişen anemi ve inefektif eritropoez, buna bağlı ortaya çıkan kemik iliği genişlemesi, artan gastrointestinal demir emilimi ve iskelet deformiteleridir. α/β globin zincirlerdeki dengesizliğin derecesi mutasyon tipine göre değişiklik göstermektedir. Talasemi majörde günümüze kadar 200'den fazla mutasyon bildirilmiştir. Bu mutasyonların çoğu gen içi nokta mutasyonlarıdır. Hastaların klinik seyrinde morbidite ve mortaliteyi etkileyen bir diğer önemli faktör ise anemi nedeniyle yoğun transfüzyon tedavilerinin sebep olduğu demir birikimi ve bunun sonucunda gelişen organ hasarı ve yetmezlikleridir (27, 28).

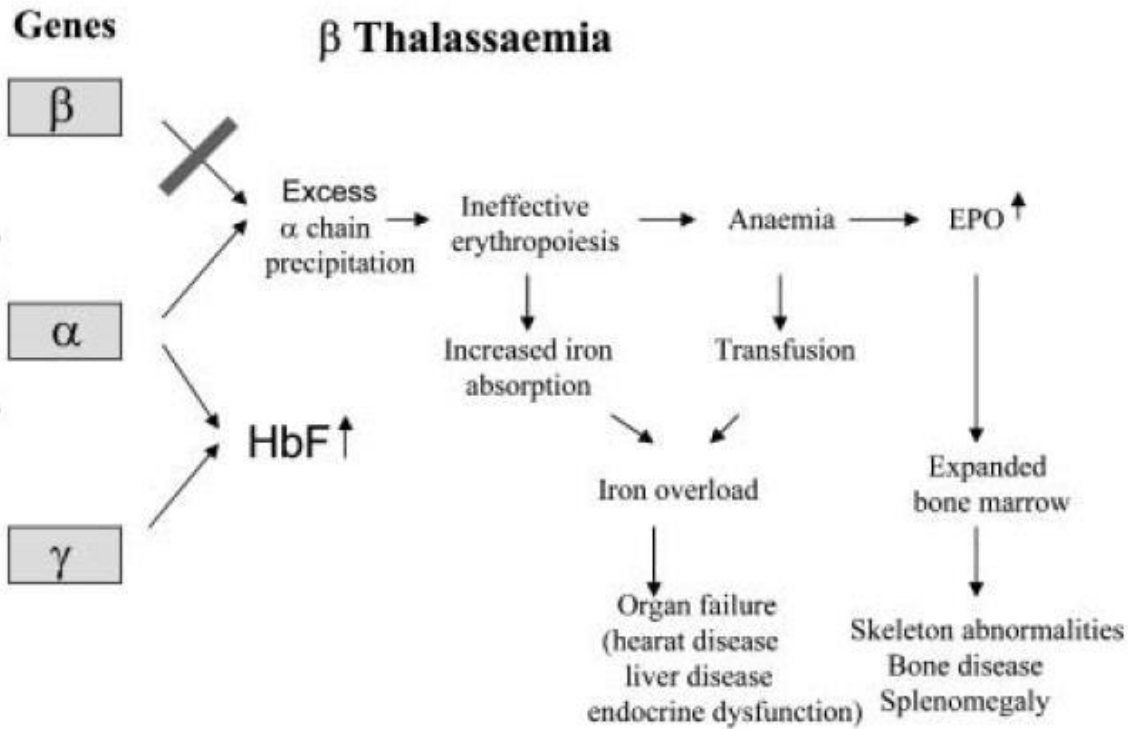
Demir toksisitesi başlıca demirin redoks reaksiyonlarını katalize edebilme özelliğinden kaynaklanır. Normal hücresel reaksiyonlar sonucu oluşan oksijen radikalleri olan superoksit (O_2^-) ve hidrojen peroksit (H_2O_2), organizmanın uzaklaştırma kapasitesinin üzerine çıktığında oksidatif stress görülür. Oksijen radikalleri demire bağımlı fenton reaksiyonu ile hücresel hasara sebep olan serbest oksijen radikallerine dönüşebilmektedir (27).

Hidroksi radikalleri (OH^-) DNA ve protein gibi makromoleküllere zarar verir. Ayrıca hücre membranındaki lipidlerin peroksidasyonunu da artırır. Lizozomlar ve hücre içi diğer yapılar lipid peroksidasyonuna oldukça hassastırlar. Sonuç olarak lizozom membranının hasar görmesi sonucunda hücre ölümü meydana gelir. Demirin tüm bu zararlı etkileri serbest halde bulunmasına bağlıdır. Demir serbest halde olmayıp proteinlere bağlı olarak bulunduğu takdirde oksijen radikallerinin oluşması engellenmektedir (27).

β talasemi majörde hem artmış intestinal demir emilimi, hem de yapılan transfüzyonlara bağlı olarak aşırı demir yükü oluşmaktadır. Bu durumda kanda demiri taşıyan protein olan transferin, tamamen doyumluğa ulaşır. Transferine bağlanmayan demir (non transferin bound iron-NTBI) zayıf olarak albumin, sitrat, aminoasit veya diğer küçük moleküllere bağlanır ve transferine bağlı olan demirden farklı davranışlar gösterir. Karaciğer, endokrin organlar, böbrek, kalp, akciğer gibi hematopoetik olmayan

dokuların NTBI'ya afinitesi mevcuttur. Yapılan çalışmalar sonucunda NTBI aracılığıyla demirin ilk olarak karaciğer ve pankreasta birikmeye başladığı saptanmıştır. NTBI hücreler için yüksek düzeyde toksiktir. Plazmada NTBI varlığı fenton reaksiyonu ile serbest hidroksi radikallerinin oluşması ile sonuçlanır. Özellikle kalp hücreleri NTBI'nın yaratacağı zedelenmeye karşı son derece hassastır. Bu sebeple β TM'li hastalarda demir birikimini engellemek amacıyla NTBI'nın şelasyon tedavisiyle uzaklaştırılması oldukça önemlidir (27).

Gen delesyonu veya mutasyonu sonucunda, globin zincir sentezinin yokluğu veya azalması ile sonuçta normal hemoglobin sentezi azalır. Eşleşmemiş, normal yapımı devam eden globin zincirlerinin çökmesi, eritrositlerin membran özelliklerini değiştirir ve intramedüller alanda erken yıkılmalarına neden olur. Sonuçta inefektif eritropoez meydana gelir ve derin anemi gelişir (29).



Şekil 4. Beta-talasemide patofizyoloji (30)

2.2.2. Epidemiyoloji:

Talasemiler Akdeniz ve Güneydoğu Asya'da en sık rastlanılan tek gen bozukluğu olup tüm dünya nüfusunun % 4,8'ini etkiler. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ) tarafından 1980'li yıllardan itibaren Hb bozuklukları ile ilgili veriler toplanmaya başlanmıştır. DSÖ verilerine göre Hb bozuklukları dünya genelinde %5 sıklıkta görülürken, 269 milyon talasemi taşıyıcısı olduğu bunların da 80 milyonunun beta talasemi taşıyıcısı olduğu tahmin edilmektedir (21). Yılda üçyüzbinden fazla hasta, birkaç milyon taşıyıcı çocuk dünyaya gelmektedir (31). Talasemi çeşitli ülkelerde ve aynı ülkenin farklı bölgelerinde dağılım bakımından heterojenite göstermektedir. Heterozigotların malaryanın ciddi formlarına karşı selektif direncinin olması nedeniyle beta talasemi sıklığı özellikle malaryanın sık görüldüğü Asya, Akdeniz ve Orta Doğu bölgelerinde artmıştır (32). Ancak son yıllardaki göçler nedeniyle tüm dünyada önemli bir klinik durum haline gelmiştir. Türkiye'de yapılan çalışmalarda beta talasemi taşıyıcı sıklığının % 2–3 arasında olduğu, bölgelere göre ise sıklığının %0,6–13 arasında değiştiği saptanmıştır (33, 34).

Talasemi insidansının en yüksek olduğu yer Güney Avrupa, Kuzey Afrika, Ortadoğu, Güneydoğu Asya ve Hindistan'ı içine alan bölgedir. Avrupa'da talasemi insidansı % 1,5'tir. Afrika'da, Ortadoğu'da, Güneydoğu Asya'da özellikle Plasmodium falciparum'un yaygın olarak görüldüğü yerlerde görülmektedir. Bu nedenle bu bozukluğun Plasmodium falciparum'dan korunmaya yönelik bir adaptasyon olduğu düşünülmektedir (20). Gelişmekte olan ülkelerde beslenme şartlarının iyileşmesi ve enfeksiyon kontrolünün daha iyi olmasına bağlı azalan çocukluk çağı ölümleri nedeniyle etkilenmiş çocuk sayısı artmakta, gelişmiş ülkelerde ise doğum hızının azalması ve koruyucu programlar nedeniyle hasta sayısı azalmaktadır. Ayrıca son iki dekada hastalığın patofizyolojisinin daha iyi anlaşılması, başarılı prenatal tanı ve destek bakımındaki gelişmeler ile morbidite azaltılarak yaşam süresinin uzatılması mümkün olmuştur (35).

2.2.3. Türkiye’de Beta Talasemi :

Türkiye’de ilk talasemi vakaları 1940 yılında Prof. Dr. S. Tavat ve Prof. Dr. E. Frank tarafından bildirilmiştir. Beta talasemi insidansına yönelik ilk çalışma Aksoy ve Lehmann tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada Akdeniz bölgesinde yaşayan 240 hastanın kan örnekleri kağıt elektroforez yöntemi ile çalışılmış ve insidans % 0,4 olarak bulunmuştur. Fakat bu çalışmanın gerçek insidansı yansıtmadığı düşünülmektedir (36). Ülkemizde taşıyıcılık oranları bazı bölgelerde %10’ları geçmektedir. Taşıyıcılığın en fazla olduğu il Antalya’dır. Akdeniz, Ege ve Trakya bölgeleri taşıyıcılığın en fazla olduğu bölgelerdir. Değişik bölgelerde farklı yıllarda yapılan epidemiyolojik çalışmalarda talasemi taşıyıcılığı İzmir’de %2,7, Antalya’da %5.7, Denizli’de % 3.6, Adana’da % 3.9, Batı Trakya göçmenlerinde ise %10.8 olarak bildirilmektedir. Bu nedenle β -talasemi toplum sağlığını tehdit eden bir sorun olarak değerlendirilmelidir (37). 2000 yılında kurulan Ulusal Hemoglobinopati Konseyi’nin Hemoglobin Kontrol Programı adında yayınladığı rapora göre Türkiye’de 2008 yılında 5451 talasemi hastası olup bunların 3329’u beta talasemi major hastasıdır (Tablo 2) (38).

Tablo 2. Türkiye’de bildirilmiş β talasemi taşıyıcılığı (38)

İl	β talasemi taşıyıcılığı sıklığı
Adana	% 3 - 13
Antakya	% 0,8 - 1,4
Antalya	% 2-13,7
İzmir	% 2,1-4,9
Mersin	% 1,7 - 2,4
Van	% 2,6

2.2.4. Sınıflandırma ve Klinik Özellikler :

Talasemiler hatalı üretilen globin zincirine göre sınıflandırılır. En sık görülen ve en önemli olanlar α ve β talasemilerdir. Daha az görülenler ise $\delta\beta$ talasemi ve $\gamma\delta\beta$ talasemilerdir. Beta talasemilerde artan α globin zincirlerinin, alfa talasemilerde artan β globin zincirlerine göre daha az soluble olmaları nedeniyle, β talasemilerdeki eritrosit membran hasarlanması daha fazla olmakta, bu da hastalıkların şiddeti açısından klinik farklılıklara neden olmaktadır (25, 26).

2.2.5. Alfa Talasemi :

Normalde her ebeveynden gelen iki tane olmak üzere toplam 4 α globin geni bulunmaktadır. α talaseminin fenotipik bulguları mevcut α genlerinin sayısı ile ilişkilidir. Alfa talaseminin 4 subtipi vardır. Bu tipler globin genindeki kayıp veya yokluğun sayısı ile belirlenir. Bir gen defektif ya da yoksa sessiz taşıyıcıdır. Semptomları yoktur ve tedavi gerektirmez. İki gen defektli ya da yoksa α talasemi minör ya da α talasemi triat denilir hafif bir anemi vardır ve tedavi gerekmez. Üç gen de defektli ya da yok ise HbH hastalığı denilir. Hafiften şiddetli anemiye kadar değişken şekilde anemi olur. Şiddetli formlarda kan transfüzyonu gerekebilir. Dört gen defektli ise ya da tamamen yoksa Hb barts denilir. Bu durumda ya bebekte hidrops fetalis ve ölü doğum görülür ya da doğumdan kısa süre sonra ölür (16, 39).

Alfa talasemide α globin geninde nokta mutasyondan daha çok delesyonlar görülmektedir. En az 40 tane farklı delesyon bulunduğu bildirilmektedir (17, 39). En sık rastlanan 3,7 ve 4,2 kb delesyonlarıdır. Ülkemizde en yaygın 3,7 kb delesyonu görülmektedir (39).

1. Sessiz α Taşıyıcısı (- α / $\alpha\alpha$): Alfa geninin birinde mutasyon vardır. Yenidoğan döneminde kord kanında % 2-5 oranında Hb Barts (γ_4) tespit edilir. Bu hastalar klinik ve hematolojik olarak tamamen normaldirler. Tam kan sayımında ortalama eritrosit hacmi (MCV) ve ortalama eritrosit hemoglobini (MCH) değerleri normal aralıktadır. Periferik yaymada hafif mikrositoz ve hipokromi görülebilir. Yenidoğan dönemi dışında bu bireyler ancak in- vitro Hb zincir sentezi veya DNA çalışmaları ile tespit edilebilirler (1).

2. α Talasemi Taşıyıcısı (--/ $\alpha\alpha$) ya da (- α / α): İki alfa geninde mutasyon vardır. Beta talasemi taşıyıcılarında görülen hematolojik bulgulara benzer bulgular gözlenir. Hipokrom mikrositer eritrositler mevcuttur. Yenidoğan döneminde Hb Barts % 3-8 oranında bulunur ve 6 aydan sonra kaybolur. Tam kan sayımında MCV ve MCH değerleri düşüktür. Periferik kan yaymasında, hipokromi, mikrositoz, anizositoz, polikromazi görülebilir. Demir eksikliği ve β talasemi taşıyıcılığı dışlanan hastada genetik çalışmalar ile tanısı konulabilir (40).

3. HbH Hastalığı(--/ α): Üç alfa geninde delesyon mevcuttur. HbH hastalığında klinik bulgular talasemi intermedia veya ondan daha da hafif bir tabloya yol açar. Genel olarak

bu hastalara yirmili yaşlarda geç olarak tanı konur. Hafif splenomegali, safra taşı ve sarılık görülmesi nedeniyle genellikle gastroenteroloji bölümlerine başvurlar. Hemoglobin elektroforezinde % 20-40 oranında Hb Barts tespit edilir. Sonrasında Hb Barts yerini % 5-30 oranında HbH'ye (β_4) bırakır. Hemoglobin değerleri genellikle 7-11 g/dl civarındadır. Hastaların adölesan ve gebelik döneminde transfüzyon ihtiyaçları olabilir. Talasemi intermediaya benzeyen veya ondan daha hafif seyreden bir klinik tabloya yol açar. Hipokromi ve mikrositoz görülür. Talasemik yüz görünümü, hepatosplenomegali, bacak ülserleri, indirekt hiperbilirubinemi görülebilir (41).

4. Alfa Talasemi Majör (--/--): Dört alfa geninde kısmi/tam delesyon veya fonksiyon kaybı sonucu oluşur. Doğumda majör hemoglobin, Hb Barts olup az miktarda HbH ve Hb Portland olabilir. Hidrops fetalis nedeniyle bu bebekler sıklıkla intrauterin hayatta kaybedilirler (1). Alfa talasemilerin % 90'ında delesyon, % 10'unda ise nokta mutasyonlar sorumlu olup en sık rastlanan 3,7 ve 4,2 kb büyüklükteki delesyonlardır (1). 5 kb'den daha büyük delesyonlarda iki alfa geni de delesyona uğramaktadır. En sık görülen büyük delesyonlar; __SEA, __MED, __FIL delesyonlarıdır. Tek poli (A) bölgesindeki nokta mutasyonlar sessiz talasemi gibi bulgu verirken, homozigot şekli Hb H fenotipinde daha ağır kliniğe yol açar (42).

2.2.6. Beta Talasemi :

Beta talasemiler, beta globin genindeki mutasyonlar nedeniyle oluşmaktadır. Bugüne kadar yüzlerce mutasyon tanımlanmıştır. En sık görülen 20 mutasyon tüm mutasyonların yaklaşık % 80'inden fazlasını oluşturur. Alfa talasemilerde delesyonel mutasyonlar görülürken, beta talasemide genellikle 11. kromozomdaki beta globin geninde nokta mutasyonlar görülür (1). Tetramerik bir protein olan insan erişkin Hb'inin β zincirini kodlayan β globin geni, 11. kromozomun kısa kolu üzerinde (11p), β globin gen kümesi içinde yer almaktadır. 3 ekson, 2 intron ile 5' ve 3' düzenleyici bölgelerden oluşan bu gendeki mutasyonlar orak hücreli anemi, β talasemi ya da diğer anormal Hb'lere neden olmaktadır (43).

Beta talasemi, otozomal resesif geçişli bir hastalık olup nadir olarak otozomal dominant kalıtılan β talasemiler de rapor edilmektedir. Hastalığın spektrumu, asemptomatik kişilerden şiddetli anemiye kadar değişkenlik göstermektedir. Sık akraba

evliliği ve doğum hızı yüksekliği nedeniyle Türkiye’de beklenenin üzerinde β talasemili çocuk doğmaktadır (44).

Ülkemizde beta talasemi taşıyıcılığı sıklığı % 2,1’dir. Bu sıklık dünya genelinde % 5,1’dir. Akdeniz’e kıyısı olan illerimizde bu oran çok daha yüksektir (45, 46, 47).

Günümüzde β globin geninde 200’den fazla mutasyonun bulunduğu belirtilmektedir. Beta talasemi mutasyonları oldukça çeşitlidir ve genin değişik bölgelerine yayılmıştır. Bu mutasyonlar promotor bölge mutasyonları, RNA işleme (splicing) mutasyonları, mRNA’nın 5’ucuna CAP 3’ucuna poli A kuyruğunun eklenmesi ile ilişkili mutasyonlar, dur kodonuna neden olan nonsens mutasyonlar ya da çerçeve kayması mutasyonları olarak sınıflandırılabilir. β talasemide genin büyük bir kısmının kaybına neden olan mutasyonlar nadirdir. Eğer bir tane hatalı β globin geni varsa β talasemi minör veya β talasemi taşıyıcısı, iki gende hatalı ise β talasemi majör hastalığı meydana gelir (48, 43).

Ülkemizde talasemi mutasyonları çok heterojendir ve toplam 35’in üzerinde mutasyon olduğu bilinmektedir. Mutasyonların dağılımı büyük farklılıklar göstermez (48). IVS-I-110 Türkiye’de en sıklıkla rastlanan β -talasemi mutasyonudur (%40); bunu IVS-I-6, FSC-8, IVSI-1, IVSII-745, IVS-II-I, Cd39,-30 ve FSC-5 mutasyonları takip etmektedir (49). Hastalarda $\beta 0$ ya da $\beta +$ mutasyonlar olmak üzere kliniği değiştiren iki farklı mutasyon grubu vardır (1).

1. $\beta 0$ Talasemi: β globin zincir sentezinin hiç olmadığı gruptur. $\alpha 4$ tetramerleri stabil olmayıp kemik iliğinde eritrositlerin hemolizine neden olur. Homozigotlarda talasemi major kliniği görülür (41).

2. $\beta +$ Talasemi: Az miktarda β globin zinciri sentezi vardır. Homozigot ya da bileşik heterozigot hastalarda HbA yapımı normalin altında olup talasemi intermedia fenotipine neden olur. Klinik farklılıklar α talasemilerde fonksiyonel genlerin sayısı nedeniyle oluşurken, β talasemide mutasyonların çeşitliliği nedeniyle oluşur. Birçok mutasyonda β globin geni hiç eksprese edilemez iken bazı mutasyonlarda β globin geninde azalmış ekspresyon mevcuttur (41).

Ayrıca hastaların klinik şiddetini belirleyen tek etken β globin miktarı olmayıp, α ve β globin proteinlerinin sentezindeki dengesizlik de bunda etkilidir. Homozigot veya heterozigot β talasemi hastalarında ek olarak α globin geni mutasyonu da mevcut

ise zincirler arası dengesizlik azalır ve klinik daha hafif seyreder. Türkiye’de ve dünyada sık görülen mutasyonlar aşağıda gösterilmiştir (Tablo 3 ve Tablo 4) (50, 51).

Tablo 3. Türkiye’de en sık görülen β -talasemi mutasyonları (50)

Mutasyon	Tip	Türkiye'deki Genel Dağılımı %
IVS-I-110(G-A)	b+	39,3
IVS-I-6(T-C)	b+	10,1
FSC-8(-AA)	b0	5
IVS-I-1(G-A)	b0	5
IVS-II-745(C-G)	b+	4,7
IVS-II-1 (G-A)	b0	3,8
Cd 39(C-T)	b0	3,1
30 (T-A)	b+	2,2
FSC-5(-CT)	b0	1,3
FSC-8/9(+G)	b0	1,3

Tablo 4. Dünya’da sık görülen β talasemi mutasyonları (51)

Popülasyon	B mutasyon
Hindistan	-619 del
Akdeniz	-101 CTT
Kuzey Afrika	-88 CTT
Japonya	-31 ATG
Güneydoğu Asya	-28 ATC
Doğu Asya	IVS-nt GTA
Çin	IVS-nt 654 CTT
Akdeniz	IVS-nt 745 CTT

2.2.6.1. Beta Talasemi Sınıflaması

1. β talasemi

- Sessiz β talasemi taşıyıcılığı
- β talasemi taşıyıcılığı
- β talasemi intermedia
- β talasemi majör

2. Beta talasemiye eşlik eden anomal hemoglobinler

- Hb S/ β talasemi
- Hb E/ β talasemi
- Hb C/ β talasemi

3. Herediter persistan fetal Hb ve β talasemi

4. Otozomal dominant β talasemi

Sessiz β Talasemi Taşıyıcılığı: Tipik olarak HbA2 düzeyi normaldir (% 2-3,5). Kırmızı küre indeksleri sıklıkla normal izlenen bu hastalarda, hafif mikrositoz bulunabilir (52). Altta yatan moleküler bozukluk, bu hastalarda β globin sentezinde hafif bir azalma ile sonuçlanabilir. Bu şekilde sessiz taşıyıcılığa neden olan mutasyonlar arasında -101 promotor ve +1 cap site Inr bölge mutasyonları gösterilebilir (1).

β Talasemi Taşıyıcılığı (Talasemi Minör): β globin genlerinden biri mutasyona uğramıştır. Tipik olarak hemoglobin elektroforezinde HbA2 düzeyi artmıştır (% 3,5-8)

(51). Demir eksikliği anemisinde, HbA2 düşerek, β talasemi taşıyıcılığı tanısını maskeleyebilir. Folik asit ya da vitamin B12 eksikliğinin yol açtığı megaloblastik anemilerde ise HbA2 yüksek bulunabilir (1).

Beta talasemi taşıyıcı hastalarında hafif anemi, MCV <80fl, MCH <27pg, RDW normaldir. Periferik kan yaymalarında hipokromi, mikrositoz, bazofilik noktalanma, “target” hücreleri görülebilir. β talasemi taşıyıcılığı ve demir eksikliği birbirinden ayırt edilmelidir. β talasemi taşıyıcılarında mikrositoz daha derindir. Otomatik kan sayımı cihazlarında eritrosit indekslerinin ölçümü, taramada sık kullanılan birinci basamak testidir. Taşıyıcılarda Hb ve Hct değerleri yaş sınırına göre biraz düşük bulunabilir. Eritrosit sayısı genellikle artmış olup (>5 milyon/mm³), ortalama eritrosit hacmi (MCV=mean corpuscular volume) ve ortalama eritrosit hemoglobini (MCH=mean corpuscular Hb) yaşa göre her zaman düşük olması kuraldır. Genetik bozukluk eritrositlerin tümünü etkilediğinden, tüm eritrositler hipokromik ve mikrositiktir. Demir eksikliğinde ayırt etmede kullanılan Mentzer indeksi (MCV/eritrosit sayısı) 13 ten küçüktür. Sonuçların yorumu yapılırken yaş grubu göz önünde bulundurulmalıdır (11).

Toplumumuzda 6 ay–5 yaş arası çocuklarda demir eksikliği anemisi de sık rastlandığından, talasemi taşıyıcılığının, demir eksikliği ile birlikte görüldüğü vakalarda HbA2 normal veya düşük bulunabilir. Böyle bir durumda öncelikle demir eksikliği tedavi edilmeli, daha sonra elektroforez tekrarlanmalıdır (39).

Ayrıca β talasemi taşıyıcılarında hafif eritrositoz varken, demir eksikliği anemisinde yapım eksikliği nedeniyle kırmızı küre düşüktür. Kırmızı küre dağılım genişliği (RDW) sıklıkla talasemi taşıyıcılarında normal, demir eksikliğinde artmıştır. Ancak RDW talasemi taşıyıcılarında da artabileceğinden güvenilir bir ayırıcı değildir (53).

Hb elektroforezi vakaların %90'ından fazlasında HbA2'nin %3,4'ten %7'ye kadar yükseldiğini gösterir ve bu bulgu tanı koydurucudur. Vakaların %50'sinde HbF'de %2–6 arasında hafif artış görülür. Az sayıda vakada ise HbA2 düzeyi normal, ancak HbF %5–15 oranlarında artmıştır. Periferik kan yaymalarında eritrositlerde hipokromi, mikrositoz, anizositoz, poikilositoz, target cell ve bazofilik noktalanma olabilir (48). Kemik iliği incelemesinde hafif derecede eritroid hiperaktivite görülebilir. Eritrosit ömrü hafif derecede kısalmıştır (39).

Talasemi İntermedia: Hemoglobin değerleri 6-10 gr/dl düzeyindedir. HCT, MCV, MCH değerlerinde azalma, RDW'de artış görülür. Hemoglobin elektroforezinde HbA düşük (% 10-20), HbF yüksektir (% 70-80) (53).

Bu hastalarda altta yatan moleküler defekt β^+ veya sessiz beta talasemi mutasyonlarının homozigot veya bileşik heterozigot beraberliğidir (52).

Talasemi intermedia hastalarının kliniği heterojendir. Genellikle transfüzyon gereksinimi olmayan orta düzeyde anemi görülür. Erişkin hayata kadar tamamen asemptomatik de olabilirler (41). Kliniği daha ağır seyreden hastalar ise 2-6 yaş arasında tanı alırlar ve aralıklı kan transfüzyonu ihtiyacı olabilir. Bazı hastalarda ağır anemi, büyüme gelişme geriliği, hipersplenizm ve düzenli kan transfüzyonu ihtiyacı görülebilir (54).

Aneminin derecesi hipersplenizm, enfeksiyon veya folat eksikliği gibi nedenlerle ağırlaşmakta ve çok değişkenlik göstermektedir. Genellikle eritrosit transfüzyonuna ihtiyaç yoktur. Parvovirus veya diğer enfeksiyonlara bağlı aplastik krizler olabilmekte ve buna bağlı olarak hayatı tehdit eden anemi görülebilmektedir (48).

İnefektif eritropoeze bağlı splenomegali, artmış demir emilimi sonucu demir birikimi bulguları, artmış eritropoetik aktiviteye bağlı kemik ekspansiyonu ve folik asit eksikliği, doku oksijenizasyonunda azalma ve doku frajilitesindeki artışa bağlı olarak bacak ülserleri görülebilir. Ayrıca kronik anemiye bağlı büyüme gelişme geriliği, hipogonadizm, diabetes mellitus, hipotiroidi, hipoparatiroidi, ürik asit artışına bağlı ürik asit nefropatisi klinik tabloya eşlik edebilir (41, 54).

Talasemi intermedialı hastalarda genotip analizi yapmak önemlidir, böylece hafif hastalığın tanısı erken konularak düzenli kan transfüzyonlarının verilmesi önlenebilir. Genetik ve çevresel faktörlere bağlı genotipe göre fenotipi tahmin etmek halen zordur (55).

Periferik kan yayması bulguları ve eritrosit indeksleri β talasemi majörde olduğu gibidir. Ancak Hb elektroforezinde HbA, HbF ve HbA2 seviyeleri değişkenlik göstermektedir. Talasemi intermedia hastalarının bazılarında büyüme, gelişme ve seksüel maturasyon normaldir. Erişkin yaşa kadar ulaştıklarında talasemi intermedialı hastalarda kardiyomegali, osteoporoz, kemik kırıkları, artrit, splenomegali ve hipersplenizm gibi komplikasyonlar gelişebilmektedir. Bu komplikasyonlar talasemi

majördeki gibi Hb seviyesini normal düzeylerde idame ettirilip, endojen eritropoezi baskılayacak şekilde transfüzyon programları ile önlenmektedir (48). Tablo 5'te beta talasemi majör ve beta talasemi intermedianın klinik ve laboratuvar olarak farkları gösterilmektedir.

Tablo 5. Talasemi majör ve talasemi intermedia ayırıcı tanısı (55)

Klinik	Talasemi Majör	Talasemi intermedia
Hb düzeyi (gr/dl)	6-7	8-10
KC/dalakta büyüme	Ağır	Orta-ağır
Hematolojik		
HbF (%)	>50	10-50 (% 100 olabilir)
HbA2 (%)	<4	>4
Genetik		
Ebeveyn	Her iki taşıyıcıda HbA2 (artmış)	1 ya da 2 atipik taşıyıcı HbF (artmış), sınırda HbA2
Moleküler		
Mutasyon tipi	Ağır	Hafif/sessiz
Eşlik eden α talasemi	Yok	Var

Beta Talasemiye Eşlik Eden Anormal Hemoglobiner: Ülkemizde en sık anormal hemoglobin- β talasemi birliktelikleri, S/ β , D/ β , E/ β ve C/ β şeklindedir. Bunların içinde klinik olarak önemli olanlar sıklıkla S/ β ve E/ β talasemilerdir (45, 56).

Hereditör Persistan Fötal Hb ve β Talasemi: Hemoglobin F yüksekliği ile karakterizedir. HBG1 ve HBG2 genlerinde nokta mutasyon veya β globin geninde delesyonlar sonucu oluşmaktadır (1).

Otozomal Dominant β Talasemi: Hastalar sıklıkla talasemi intermedia kliniğine sahiptir. Hafif veya orta derece anemi görülen bu hastaların periferik yaymasında belirgin hipokromi, mikrositoz, bazofilik noktalanma görülür. Kemik iliğinde eritrosit öncüllerinde inklüzyon cisimcikleri saptanır. Mutasyonların çoğu de-novo mutasyon şeklinde olduğundan ebeveynlerin her ikisinin de normal olması bu tanıyı ekarte ettirmez (51).

Beta Talasemi Majör :

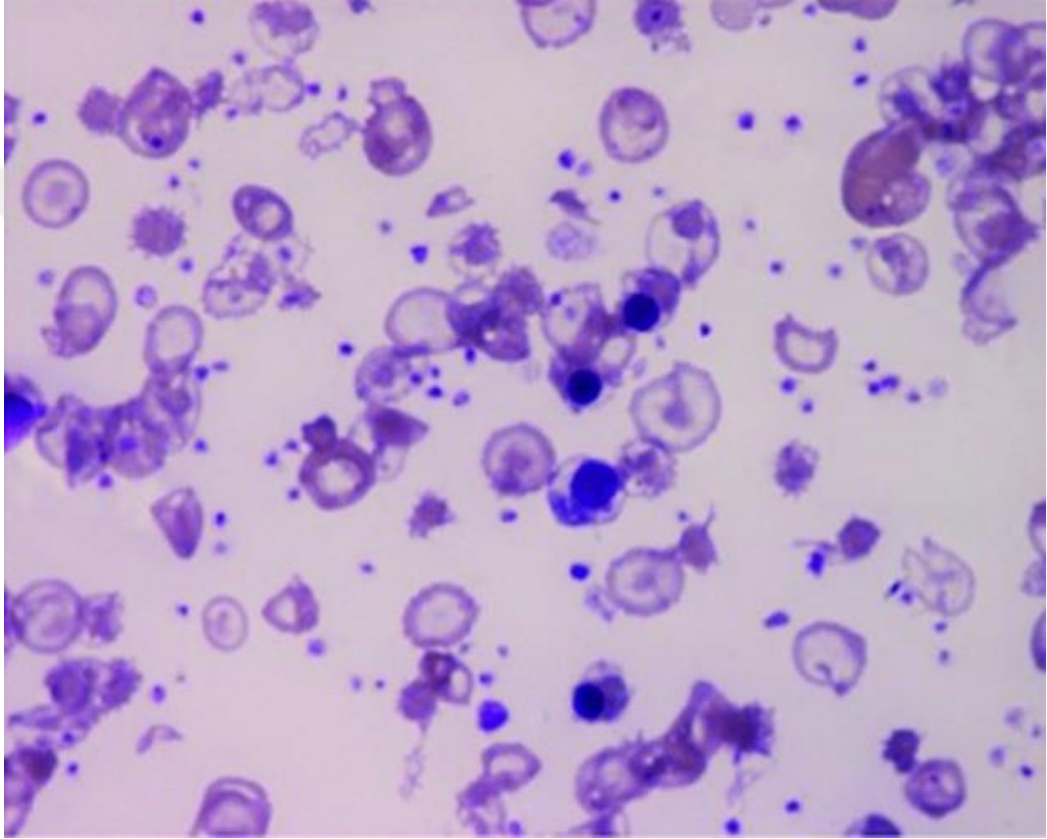
Talasemi majörlü hastalarda anne ve baba taşıyıcıdır, çocuğa geçen iki globin geni de defektlidir. Bu hastalarda klinik belirtiler 6 ile 24 hafta arasında ortaya çıkmaktadır. β -talasemi major hastası bebekler doğumda HbF yüksekliği nedeniyle asemptomatiktirler. γ globin zincir yapımı hayatın ilk 4-6 ayı içinde hızlı bir şekilde azalır ve hastalarda anemi gelişir. 4-6. aylarında anemi ve anemiye bağlı semptomlar görülür. Etkilenen infantlarda zamanla solukluk, beslenme problemleri, diyare, irritabilite, karaciğer ve dalak büyümesinin neden olduğu ilerleyici abdominal distansiyon meydana gelir. Uygun tedavi yapılmayan hastalarda hepatosplenomegali, büyüme geriliği, solukluk, sarılık, genu valgum, bacak ülserleri, ekstremitelerde hematom ve kemik iliği genişlemesi sonucunda iskelet değişiklikleri görülür. Bacaklarda uzun kemiklerde deformiteler ve tipik kraniofasial değişiklikler (frontal ve zigomatik kemikler belirgin, maxilla hipertrofik görünümde, üst dişler öne doğru fırlamış) meydana gelebilir (57, 51, 39).

Hastalarda hemen daima şiddetli hipokrom (MCH düşüklüğü) ve mikrositer (MCV düşüklüğü) anemiye RDW artışı eşlik etmektedir. Retikulosit sayısı artmıştır, hipersplenizm gelişmesine bağlı lökopeni ve trombositopeni vardır. Kan yaymasında: anizositoz, çok sayıda normoblast ve poikilositoz, hedef hücreler, polikromazi, bazofilik noktalanma görülür. HbF ve HbA2 artmıştır ve kemik iliğinde folat azlığına bağlı megaloblastik değişiklikler görülebilir. Osmotik frajilite azalmıştır ve serum ferritini artmıştır (57, 17, 51).

Hastalar büyüdükçe büyüme gelişme geriliği, maksiller bölge kemiklerinde belirginleşme, frontal kemiklerde çıkıntı ile “talasemik yüz” olarak tanımlanan spesifik yüz görünümü oluşur. Humerus ve femur gibi uzun kemiklerin epifiz hattının erken birleşmesi sonucu kemikler kısalır. Kafa kemiklerinde belirgin olarak gözlenen değişiklikler, artan hematopoetik doku aktivitesi nedeniyle medullanın kemik aleyhine genişlemesinden kaynaklanır (58).

Kemik değişiklikleri, başlıca yüzde olmak üzere kostalar, ekstremitelerin küçük kemikleri ve uzun kemiklerde görülebilir. Ekstremitelerin uzun ve küçük kemiklerinde korteksin incilmesi ve osteoporoz görülmesi sıktır. Bu durum patolojik kırıklarla sonuçlanabilir (59, 60).

Hemolitik aneminin diğerk laboratuvar bulguları; laktat dehidrogenaz (LDH) artışı, indirek hiperbilirubinemi, idrarda ürobilinojen artışı ve haptoglobin düzeyinde azalmadır. Bu vakalarda, transfüzyon öncesinde yapılan Hb elektroforezde, HbA'nın hiç olmaması ve mevcut Hb'nin tama yakınının HbF olması, homozigot β^0 talasemi; HbF yanısıra, %10-20 kadar da HbA varlığı homozigot β^+ talasemi tanısı koydurur (17, 61). Periferik kan yaymasında hipokromi, mikrositoz, anizositoz ve poikilositoz görülebilir (Şekil 5).

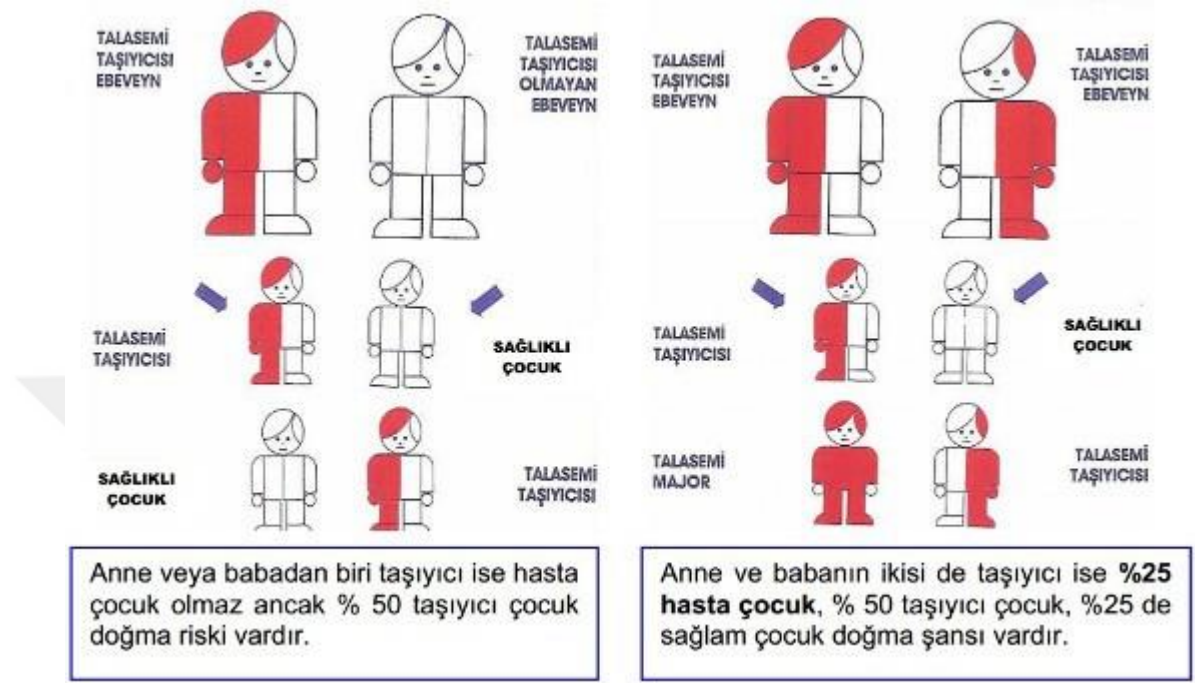


Şekil 5. Talaseminin periferik yayma bulguları (62)

Erken tanı alan düzenli kan transfüzyonu programındaki hastalar 10-11 yaşına kadar asemptomatik seyrederler. Daha sonrasında hastaların kliniği kullandıkları şelatör tedavinin etkinliğine göre değişir. Etkin şelasyon tedavisi almayan hastalarda demir birikimine bağlı olarak hepatik, endokrin, kardiyak ve pulmoner komplikasyonlar görülmektedir (63).

β^0 TM tanılı hastaların Hb değerleri 3-7 g/dl arasında değişmektedir. Belirgin splenomegalisi olan hastalarda hipersplenizme bağlı olarak Hb değerleri daha da

düşebilir. Kemik iliği aspirasyonu incelemesinde ağır eritroid hiperplazi gözlenmektedir (64). Şekil 6’da otozomal resesif kalıtılan beta talaseminin kalıtım şekli gösterilmiştir.



Şekil 6. Otozomal resesif kalıtılan talaseminin şematik gösterimi (65)

2.2.6.2. β -Talasemi Majör Tanısı :

1. Klinik tanı :

β TM’de genellikle şiddetli mikrositik anemi, hafif sarılık ve hepatosplenomegalisi olan iki yaştan küçük bebekler kliniği oluşturmaktadır. BTI’da benzer ancak daha hafif klinik bulgular ile daha geç yaşlarda oluşmaktadır. Taşıyıcılar genellikle asemptomatiktir, fakat bazen hafif anemik olabilir (18).

2. Hematolojik tanı :

RBC indeksi mikrositer anemi göstermektedir. β TM’de Hb: <7 g/dL, MCV: 50-70 fL, MCH: 12-20 pg düşüklüğü ile karakterizedir. β TI’da Hb: 7-10 g/dL, MCV: 50-80 fL, MCH: 16-24 pg seviyesi ile karakterizedir. β TM’de artan HbA2 düzeyi ile MCV ve MCH düşüklüğü ile karakterizedir (18, 66).

3. Periferik kan yayması :

Etkilenen bireylerde, eritrositte morfolojik değişiklikler (mikrositoz, hipokrom, anizositoz, poikilositoz) ve nükleotidli eritrositler (örn. Eritroblastlar) görülmektedir. Eritroblastların sayısı anemi derecesi ile ilişkili olup ve splenektomi sonrası önemli ölçüde artar. Taşıyıcılarda, etkilenen bireylerden daha az şiddetli olarak eritrositte morfolojik değişiklikler görülmektedir. Taşıyıcılarda, normalde eritroblastlar görülmez (18).

4. Elektroforez veya HPLC :

Beta talasemide Hb varyant, hastalığın türüne göre değişir. β^0 -talasemi homozigotta; HbA yok iken, HbF: % 92-95'i oranında görülür. β^+ -talasemi homozigot ve β^+/β^0 birleşik heterozigotta; HbA: %10-30 ve HbF: % 70-90 düzeyinde görülür. HbA2 düzeyi β -talasemi homozigotlarda değişkendir (18).

5. Moleküler genetik analiz :

Her popülasyonda sınırlı sayıda mutasyonların sıklığı büyük ölçüde moleküler genetik testi kolaylaştırmıştır. β globin geninde görülen mutasyonlar sıklıkla PCR tabanlı prosedürlerle tespit edilir (67). Etkilenen toplumda, en yaygın olarak kullanılan yöntemler; prob seti veya primerler kümesi ile reverse dot blot analizi veya primer-spesifik amplifikasyondur. Eğer bu yöntemlerle mutasyon tespit edilemiyorsa; β globin gen dizi analizi kullanılabilir (18).

2.2.6.3. Beta Talasemi Majörde Tedavi :

Talasemi majörde tedavinin temeli düzenli yapılan eritrosit süspansiyonu transfüzyonudur. Demir bağlayıcı tedavi (şelasyon), splenektomi, hematopoetik kök hücre nakli de diğer ana tedavi şekilleridir (68). 1960'lı yıllarda talasemili hastaların tedavisinde bilinen tek etkin tedavi yaklaşımı Hb 6-8 gr/dl civarında tutacak kan transfüzyonlarıydı. 1970'li yıllarda Wolman ve daha sonra Piomelli tarafından hastaların Hb düzeylerinin 6-8 gr/dl yerine daha yüksek düzeylerde tutulması şeklinde transfüzyon rejimleri ile inefektif eritropoezin baskılandığı ve buna bağlı komplikasyonların önlenebileceği şeklinde transfüzyon rejimleri gündeme gelmiştir (44).

1. Transfüzyon :

Transfüzyon aslında geçici bir transplantasyon biçimidir. Pek çok yabancı antijenin ve canlı hücrenin alıcıya nakline neden olur. Transfüzyonun amacı; doku oksijenlenmesini sağlayacak, büyümeyi engellemeyecek, kemik iliğindeki inefektif eritropoezi (kozmetik deformiteler ve patolojik fraktürlere neden olur) baskılayabilecek Hb düzeyinin sağlanması ve gastrointestinal demir emiliminin azaltılmasıdır (68, 69).

Kan transfüzyonu ile derin anemi düzeltilir, dokulara, işlevlerini sağlıklı sürdürebilmeleri için yeterli oksijen sağlanmış olur. İdeal bir kan transfüzyonu için hastanın ABO ve Rh grupları (olanaklı ise subgrupları da) uygun, yedi günden fazla beklememiş, viral belirteçleri (HBV, HCV, HIV) çalışılmış eritrosit süspansiyonu kullanılmalıdır (70).

Talasemi majörlü hastalarda transfüzyon tedavisine; teşhis konulduktan sonra Hb düzeyi 7 gr/dl altına düştüğünde başlanması gerekmektedir. Hipertransfüzyon uygulaması transfüzyon öncesi Hb' i 9–10 gr/dl arasında tutmak için kullanılmaktadır. Hastanın pretransfüzyon hemoglobin değeri; 9,5 g/dl' nin altında, transfüzyon sonrası 13,5 g/dl üzerinde olmamalı, ortalama 10-12 g/dl' de tutulmalıdır. Transfüzyon sonrası Hb haftada 1 gr/dl düştüğü için 3–4 haftada bir 15 ml/kg eritrosit süspansiyonunun transfüzyonu gerekmektedir. Transfüze edilecek olan eritrosit süspansiyonun hematokriti %75 civarında ise, Hb düzeyini 1 gr/dl artırmak için 3 ml/kg eritrosit süspansiyonu gerekir. Transfüzyon sırasında lökositlerden arındırılmış eritrosit süspansiyonu kullanılır. Hipertransfüzyon sonucu büyüme ve gelişme artar, ekstremiteler hematopoez azalır, yüz ve iskelet anormallikleri azalır, barsaktan aşırı demir emilimi azalır, splenomegali ve hipersplenizm gelişmesi azalır, komplikasyonlar azalır ya da daha geç ortaya çıkar (17, 69).

2. Şelasyon Tedavisi :

Vücudumuzdaki biriken demirin atılması için düzenleyici bir mekanizma yoktur. Aşırı demir yüklü olgularda, transferrinin demir taşıma kapasitesi dolmakta ve transferine bağlı olmayan demir (serbest demir, non-transferrin bound iron, NTBI) oluşmaktadır. Parankimal hücrelerdeki demir (labil demir havuzu) artınca, bir korunma mekanizması olarak, transferrin demirinin hücre içine girişi engellenir. Ancak NTBI'nin

hücrelere girişi devam eder. Böylece labil demir havuzunun kontrol edilemez genişlemesi, oksiradikal oluşumunu başlatarak demir toksisitesine neden olur (71).

Her ünite kan transfüzyonu ile 200–250 mg demir vücuda alınır. Bir hastanın yılda ortalama 25–30 ünite kan aldığı düşünülürse her yıl ortalama 4,5–5,5 gr demir yüklenmesi olacaktır. Demir şelasyonu, düzenli transfüzyon 1. yılını doldurduğunda ve/veya 12 – 15 transfüzyon sonrasında ve/veya serum ferritin 1000 µg/L düzeyine ulaştığında başlatılır. Demir şelasyon tedavisinin amacı, demir yükünü, toksik etkisinin olmadığı, güvenli doku demir seviyelerinde sürdürmek ve bu amaca ulaşıncaya kadar aşırı demiri detoksifiye ederek, organizmayı demir toksisitesinden korumaktır (71).

İdeal demir şelatörü; Fe+3 afinitesi ve spesifitesi yüksek, metabolizması yavaş, şelasyon etkinliği yüksek, doku penetrasyonu iyi, demirin geri salınımına izin vermeyen, negatif demir dengesini sağlayan, sadece aşırı demiri uzaklaştıran, demir bağımlı enzim sistemleriyle etkileşmeyen, toksik olmayan, yan etkileri kabul edilebilir ve tolerabilitesi iyi, kullanımı kolay demir şelatörüdür (72, 73).

Deferoksamin (DFO) :

Deferoksamin (DFO) demire yüksek afinitesi olan heksavalan bir hidroksilamindir. Demire 1:1 oranında bağlanır. DFO hücrelerin içine girer, demiri bağlar. DFO hidrofilik ve büyük moleküler ağırlıklı bir şelatördür. Bu nedenle oral emilimi yoktur. Plazma klirensi çok hızlıdır. Standart uygulama şekli subkutan ya da uzun süreli infüzyon yoluyla. DFO idrarla ve feçes yolu ile atılır (72).

DFO 40–60 mg/kg/gün haftada 5 gece 8–10 saat süreyle elektronik pompalar aracılığıyla cilt altına infüze edilir. Demir yükü çok yüksek olan seçilmiş vakalarda DFO 100 mg/kg/gün (maks. 10 g/gün) gibi yüksek dozlarda damar yoluyla verilebilir. Amaç serum ferritin düzeyini 1000 ng/ml'ye yakın tutmaktır. Ferritin düzeyi her 3–6 ayda bir ölçülmelidir (17).

Desferoksaminin komplikasyonları:

1. İnfüzyon yerinde şişlik, kaşıntı, kızarıklık
2. Anafilaktoid reaksiyonlar

3. Göz üzerine toksik etkiler(Katarakt, görme alanı ve görme keskinliğinde azalma, gece körlüğü)

4. İşitme kaybı

5. Metafizyal displazi

Desferoksamin uzun süre ya da yüksek dozda verildiğinde ya da yeterli aşırı demir yükü olmadan DFO verildiğinde toksik etkiler daha fazla görülür. Ayrıca, verilen desferoksamin miktarına göre atılabilir demir yetersiz olduğunda DFO toksisitesi artabilir (17).

Deferipron (DFP) :

Deferipron iki dişli (bidentate) bir demir şelatörüdür. En önemli avantajı oral yolla alınabilmesidir. Lipofilik bir molekül olduğundan hücre içine girişi oldukça iyidir. DFO ile kombine tedavi şeklinde kullanılabilir. Deferipronun yüksek dozlarının etkisiz kalması halinde DFO ile kombine tedavi seçilebilir. En sık yan etkisi bulantı ve kusmadır. En ciddi yan etkisi ise agranülositozdur. Karaciğer fonksiyon testlerinde bozukluk, artralji ya da artrit görülebilir (72).

Nitekim çalışmalar, DFP'nun DFO ile kombine kullanılması ile demir yükünün daha etkin uzaklaştırılabildiğini göstermektedir (74).

İngiltere ve İtalya gibi çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalar DFP'un, kardiyak demiri uzaklaştırarak kalp fonksiyonlarını düzeltmede subkutan DFO tedavisine üstün olduğunu göstermiştir (75). DFP ; 75-100 mg/kg/g bölünmüş dozlarda (8 saat aralarla), ana öğünlerle, bol su ile alınması ve her gün kullanılması önerilir. DFP'nin 75 mg/kg/gün dozda başlanması önerilmektedir. Bu dozların demir yükünü kontrol altına almada yetersiz bulunması halinde doz 100 mg/kg/g'e yükseltilebilir. DFP yüksek dozlarında (100 mg/kg), tolerabilite ve yan etki açısından standart doz (75 mg/kg) uygulamadan farklı bulunmamıştır (76).

Deferasiroks (DFX) :

Deferasiroks tridentat (üç dişli) bir demir şelatörü olup, bir demir molekülünü bağlamak için 2 molekül DFX gerekmektedir. Oral alımından sonra yarılanma ömrü 8-16 saat olup, demirin büyük oranda dışkı ile atılımını sağlar. Günde tek doz oral olarak

kullanımı ile şelasyon etkinliği 24 saat sürdürülebilir. Karaciğerdeki, retikuloendotelial sistemdeki ve kardiyak demiri mobilize eder (72).

Deferasirox (DFX), 1998'den beri Faz I ve Faz II klinik çalışmalarda kullanılmakta olup kasım 2005'te, 2 yaş üzerindeki hastaların demir şelasyonun da kullanılmak üzere FDA onayı almıştır. Mart 2006'da ülkemizde ruhsatlı oral demir şelatörü olarak klinik kullanımdadır. Deferasirox için önerilen başlangıç dozu, mevcut demir yükünü korumada 20 mg/kg/gün ve negatif demir dengesini sağlamada 30 mg/kg/gündür. Şiddetli demir birikiminin bulunduğu ve bu demirin hızla uzaklaştırılması gerekli durumlarda, doz 40 mg/kg/gün'e kadar arttırılabilir. Günlük tek doz oral kullanımı ile 24 saat şelasyon etkinliği sağlayan, güvenli ve hasta uyumunu destekleyen bir şelatör olarak klinik uygulamada cazip bir seçenektir (75).

Deferasirox tedavisinin yan etkileri karın ağrısı, bulantı, kusma, ishal, kabızlık, raş, böbrek ve karaciğer fonksiyon testlerinde bozulmadır (77). Tablo 6'da demir şelatör ilaçlarının kullanım şekli ve özellikleri gösterilmiştir.

Tablo 6. Demir şelatörlerinin özellikleri, kullanım dozu ve şekli (72)

	DFO	DFP	DFX
Mol.Ağr.(Kd)	657	139	373
Şelasyon özelliği	Hekzadentate	Bidentate	Tridentate
Doz	30-60 mg/kg	75-100 mg/kg	20-40 mg/kg
Kullanım şekli	sc veya iv 8-12 saatlik infüzyon 5-7 g/hafta	oral günde 3 kez	oral günde bir kez
Yarı ömrü	8-10 dakika	1,5-4 saat	8-16 saat
Atılım şekli	%40-60 fekal	%90 üriner	%90 fekal

3. Splenektomi :

Yetersiz transfüzyon alan, sürekli orta derecede anemisi olan hastalarda ekstramedüler eritropoeze bağlı olarak dalak büyür ve zamanla hipersplenizm gelişir (1). βTM'de etkin transfüzyon rejimi ile splenomegali ve hipersplenizm gelişimini

geciktirmek önemlidir. Böylece splenektomi yaşamın 2. dekadı ve hatta sonrasında ertelenebilmektedir. Postsplenektomi enfeksiyon riski nedeniyle 5 yaş öncesinde splenektomi yapılmamalıdır (72).

Splenektomi, hipersplenizm gelişen hastalarda transfüzyon ihtiyacını azaltır ve genellikle hipersplenizme bağlı transfüzyon ihtiyacı arttığında uygulanır. Splenektomiden en az 2 hafta önce polivalan pnömokok ve meningokok aşısı verilmesi gerekir. Hastaya önceden Hemophilus influenzae aşısı yapılmamışsa yapılmalıdır. Splenektomiyi takiben gelişecek özellikle pnömokok enfeksiyon riskini azaltmak için profilaktik olarak aylık benzatin penisilin veya oral penisilin 250 mg günde iki kez verilir (17).

Splenektomi endikasyonları : 1. Kan transfüzyon ihtiyacının ilk ihtiyaca göre %50 ya da daha fazla artması 2. Yıllık eritrosit transfüzyon ihtiyacının 250 ml/kg/yıl üzerinde olması. 3. Hipersplenizm bulgularının olması (17).

4. Hematopoetik Kök Hücre Nakli :

Hematopetik kök hücre nakli talasemi majörlü hastalar için günümüzdeki tek kuratif tedavi seçeneğidir. Kök hücre naklinde temel amaç inefektif talasemik eritropoeze yol açan hücreler yerine normal eritropoez potansiyeline sahip hücreleri yerleştirerek hemolitik anemiyi ve transfüzyon ilişkili komplikasyonları engellemektir (78).

HLA tam uygun kardeş vericisi mevcut hastalarda, ciddi komplikasyonlar gelişmeden kemik iliği transplantasyonu erken dönemde yapılırsa sonuçlar yüz güldürücüdür. Başarı oranı % 58-91 arasında bildirilmektedir (79).

Kök hücre nakli yapılan hemoglobinopatili hastaların uzun süreli izlemlerinde ortaya çıkabilecek hastalıkları ile ilgili komplikasyonların yanı sıra kök hücre nakline bağlı komplikasyonlar nedeniyle hastaların düzenli takip edilmesi gereklidir (44).

Fetal Hb (HbF) yapımının artırılması için ilaç kullanımı, defektif genler yerine somatik gen tedavi yaklaşımları deneysel aşamalarda olan tedavi yaklaşımlarıdır (80, 44).

5. Destek Tedavisi: 1. Folik asit hipertransfüzyon yapılan hastalarda gerekmez, transfüzyon yapılmayan veya düşük transfüzyon rejimi uygulanan hastalara günlük 1 mg ağızdan verilir.

2. Hepatit B aşısının bütün hastalara yapılması gerekir.

3. Konjestif kalp yetmezliği varsa dijital ve diüretikler verilmelidir.

4. Endikasyon varsa tiroksin, büyüme hormonu, östrojen, testosteron gibi hormonlar yerine konulmalıdır.

5. Safra taşı varsa kolesistektomi yapılmalıdır.

6. Koryon villüs örnekleme ya da amniosentez yapılarak genetik inceleme ve antenatal teşhis yapılması gerekir.

7. Osteoporoz varsa tedavi edilmelidir (17).

2.2.6.4. Komplikasyonlar

1. Hipersplenizm :

Dolaşma geçen α zincir inklüzyonları ihtiva eden olgunlaşmış eritroid seri hücreleri yaşam sürelerini tamamlamadan, özellikle dalağın mikrosirkülasyonundan geçerken harap olur. Anormal eritroid seri hücreleri daima dalak tarafından dolaşımdan kaldırıldığı için dalak hipertrofiye uğrar. Böylece gelişen splenomegali anemiye katkısı olan plazma volümünün artışına ve hipersplenizme neden olur (48).

Hasta bir süre sonra daha fazla kana gereksinim duyar. Çok çalışan dalak lökositler ve trombositler gibi diğer kan komponentlerini de tüketerek hipersplenizme yol açabilir. Dalak bu şekilde vücuda zarar vermeye başladığı zaman splenektomi gerekir (81).

2. Kolelitiazis :

Kolelitiazis, hemolitik hastalıkların iyi bilinen bir komplikasyonudur. Kronik hemoliz, çocuklarda %20 oranında safra kesesi taşı oluşumuna neden olur. Kolelitiazis, kolanjit, safra yollarında tıkanıklık ve pankreatit gibi ciddi komplikasyonlar yapabilmektedir. Yaş arttıkça, kolelitiazis olasılığı da artmaktadır. Buna rağmen, her talasemi majör hastasında kolelitiazis görülmemesi, farklı mekanizmaların da etkili

olabileceğini düşündürmüştür. Ülkemizde talasemili hastalarla yapılan iki çalışmada kolelitiazis %8,4–11,8, safra kesesi çamuru %29,4–34,9 oranında bulunmuştur (82).

3. Kardiyak Komplikasyonlar :

Talasemi majörlü olgular anemi, transfüzyona bağlı enfeksiyon, demir birikimi ve şelasyonda uygulanan ajanlara bağlı nedenlerle ciddi kardiyak etkilenmeye maruz kalmaktadırlar (83).

Düzenli kan transfüzyonları ve etkin şelasyon tedavisi ile kardiyak nedenli ölümlerde azalma olduğu görülmüştür. Ancak etkili transfüzyon ve şelasyon tedavisine rağmen talasemiden ölümlerin en sık nedeni kardiyak komplikasyonlardır (84).

Aşırı demir birikiminin yol açtığı kardiyak komplikasyonlar; perikarditler, aritmiler ve miyokard disfonksiyonudur. Kalpte demir birikimi hipertrofiye, genişlemeye ve miyokardiyal fibrozise sebep olmaktadır. Miyokarda demir birikiminden dolayı oluşan kalp yetmezliği sıklıkla 20’li yaşlarda ortaya çıkar. Ölümlerin % 70’i demir yükünün yol açtığı kardiyak dekompanseasyon sonucudur (85).

Kardiyak yetmezliğin belirtilerinden biri elektrokardiyografide (EKG) PR mesafesi uzamasıdır. T dalgası anormallikleri geç bir bulgudur. Daha ileri yaşlarda ve demir yükü fazla olanlarda daha sık görülür (56). Ritm bozuklukları sıklıkla ikinci dekada atriyal ekstrasistollerle başlamaktadır. İkinci dekadın ortalarında ventriküler ekstrasistoller ortaya çıkabilir ve sıklığı giderek artar (86).

Bazı çalışmalarda serum ferritin düzeyinin 2500 mg/L altında olduğunda, talasemili hastalarda kalpten ölüm riskinin az olduğu bildirilmesine rağmen, ferritin düzeyi bu değerin altında olan birçok hastanın kalp yetersizliğinden öldüğü de bildirilmektedir (83).

Serum ferritini ve karaciğer demiri kardiyak demir birikimini göstermede iyi bir gösterge değildir. T2* MR non invaziv, miyokardiyal demir birikimini gösteren güvenli ve etkin bir görüntüleme yöntemidir. Miyokarda demir yüklenmesinin erken tanısı hastaların kardiyak komplikasyonlardan kaybedilmesinin önlenmesinde önemlidir (87).

Klinik bulgu verdikten sonra kalpte geri dönüşümsüz değişiklikler oluştuğu için hastalar sıklıkla kısa sürede kaybedilmektedir. Kalp yetmezliği gelişen hastaların yarısından fazlasında yetmezlik geliştikten sonra beklenen yaşam süresi 3 aydan azdır

ve üçte biri mortal seyreder (88). Bu nedenle tanının subklinik evrede konulması oldukça değerli olacaktır ve 10 yaşını geçmiş tüm hastalarda düzenli aralıklarla telekardiyografi, ekokardiyografi, 24 saatlik elektrokardiyografi monitorizasyonu, egzersiz radyonüklid sineanjiografi, yıllık kardiyak T2* MRG ile kardiyak durum değerlendirilmesi oldukça önemlidir (89, 90).

4. Hepatik Komplikasyonlar :

Hem ekstramedüller hematopoeze hem de hemosiderozise bağlı karaciğerde büyüme görülebilir. Karaciğer demir dengesinin sağlanmasında önemli bir organdır. Vücuttaki demirin 1/3'ü karaciğerde yer almaktadır. Karaciğer transfüzyonel hemosideroziste hedef organlardan biridir. Karaciğerdeki demirden yola çıkarak toplam vücut demir yükü tahmin edilebilir. Karaciğerdeki demirin % 98'i hepatositlerde depolanır. Demir yükü hepatosit hasarı, fibrozis ve sirozla sonuçlanır. Transfüzyon sonucu gelişen viral hepatitler, kronik karaciğer hastalığı gelişmesine sebep olur. Demir yükü fazla olan hastalarda antiviral tedavinin etkinliği azalmakta, enfeksiyonla ilişkili siroz ve hepatosellüler kanser görülme yaşı daha erken yaşlara kaymaktadır (91).

5. Endokrin Komplikasyonlar :

Hemoglobinopatiler içinde endokrin komplikasyonların en sık görüldüğü hastalık grubunu talasemiler oluşturmaktadır. Talasemili olguların özellikle 10 yaşından sonra mutlaka endokrin komplikasyonlar açısından aralıklarla taranması önerilmektedir. Endokrin komplikasyonlarla ilişkili en önemli risk faktörü aşırı demir yükünün yarattığı patolojilerdir (92).

6. Büyüme Geriliği :

Büyüme geriliği ve puberte gelişmemesi talasemi majörlü hastalarda karakteristiktir. Hastalarda transfüzyon rejimleri özellikle erken yıllarda büyümedeki bozulmayı düzenler. Hastaların çoğunda sağlıklı yaşlıları gibi hedef boya tam olarak ulaşma nadirdir. Talasemi majörlü hastalardaki büyüme geriliğinin sebepleri; multipl endokrin anomaliler, DFO tedavi etkisi, anemi olarak düşünülse de çelişkili sonuçlar bildirilmiştir (93).

Bu hastalarda boy kısalığının nedenleri arasında kronik aneminin neden olduğu kronik hipoksemi, artmış eritropoez nedeni ile artmış kalori ihtiyacı ve beslenme azlığı

ön sırada gelmektedir. Talasemi majörlü hastalarda artmış demir yükünün hipotalamo-hipofizer düzeyde yaptığı toksisite sonucu büyüme hormonu eksikliği, hipotiroidi, puberte gecikmesi, hipogonadizm nedeniyle pubertal büyüme hamlesinin yapılamaması ve psikososyal faktörler boy kısalığında etkenler arasında sayılmaktadır (92).

7. Puberte:

Gecikmiş puberte sıklıkla ön hipofiz bezinde demir birikimine bağlı hipogonadotropik hipogonadizm nedeniyle olur. Düzgün şelasyon alınmaması gecikmiş puberteye neden olabilmektedir. Kızlarda primer ve sekonder amenore sık görülse de, ağır demir yüküne rağmen over fonksiyonlarının korunduğu görülmüştür. Erkeklerde bazal testosteron düzeyi düşük olsa da, insan koryonik gonadotropin hormon cevabı genellikle normaldir (19).

8. Hipotroidizm :

Talasemi majörlü vakalarda demirin indüklediği hasara karşı tiroid aksının gonadal aksın daha az duyarlı olduğu, aksın santral komponentinde hasar gelişmeden önce tiroid bezinin kendisinde hasar oluşmadığı ve değişik serilerde vakaların %1,7-60'ında tiroid fonksiyon bozukluğu görüldüğü rapor edilmiştir. Her ne kadar değişik serilerde farklı oranlar bildirilmiş ise de, talasemi majörde belirgin hipotroidizm görülme sıklığının nispeten düşük olduğu, subklinik hipotroidizmin ise daha sık görüldüğü bilinmektedir. Tiroid fonksiyon bozukluğu ile yaş, transfüze edilen kan miktarı, karaciğer fonksiyon bozukluğu ve demir yüklenmesi arasında etkileşim bulunduğu ve bunların tiroid hasarından sorumlu olabileceği kaydedilmiştir (5, 94).

9. Hipoparatiroidizm :

Patogenez olarak artmış demir yükünün paratiroid bezlerde serbest radikalleri arttırması, bununda mitokondriyal ve lizozomal membran hasarına neden olarak paratiroid bezlerde toksik etki yapması sonucu parathormon sekresyonunun bozulmasıdır (92). Talasemi majörlü vakalarda görülme sıklığının %0,22-2,5 arasında olduğu rapor edilmiştir. Yapılan çalışmalarda talasemi majörlü vakalarda alkalin fosfataz (ALP), fosfor (P) değerlerinin aynı yaş grubundaki sağlıklı çocuklarda anlamlı derecede yüksek olduğu tespit edilmiştir (5).

10. Diyabet :

Talasemi majörlü vakalarda glukoz metabolizmasında kalıtsal bir defekt bulunmadığı, diyabet mellitus görülme nedeninin insülin direnci ve insülin eksikliğinin kombine etkisi sonucu olduğu, insülin eksikliğinin ise muhtemelen β hücrelerinin tükenmesi ve pankreas adacık hücrelerinde demir depolanması sonucu geliştiği kaydedilmiştir. Diyabet mellitusun özellikle sık transfüzyon yapılan talasemi majörlü vakalarda ortaya çıktığı ve görülme sıklığının %0,6–5 arasında değiştiği bildirilmiştir (5).

11. Adrenal Yetmezlik:

Demir birikimi en sık mineralokortikoidlerin sentezlendiği zona glomerulozada görülmekte olup, zona fasikülata da etkilenebilmektedir. Yaşça küçük hastalarda bazal glukokortikoid ve adrenokortikotropik hormon (ACTH) cevabı sıklıkla normal bulunsa da daha ileri yaşlarda provokatif testlerde cevap azalmıştır (19).

12. İskelet Değişiklikleri:

Talasemi majör tanısıyla izlenmekte olan hastalardaki iskelet değişiklikleri kemik iliği kavitesinin genişlemesi ve kemik korteksinin incelmesi nedeniyle oluşmaktadır. Düzenli transfüzyon alan hastalarda hemoglobin değerlerinin normale yakın düzeylerde tutulabilmesi ile eritropoez baskılanmakta ve kemik anormallikleri geri dönüşümlü olabilmektedir (95). Ancak transfüzyon nedeni ile artmış serum demirinin sinoviyumda ve eklem kıkırdaklarında birikmesi sonucunda da iskelet değişiklikleri oluşabilmektedir (96).

En erken değişiklikler el ve ayaklarda olup metakarp, metatars ve falankslarda dikdörtgen ve konveks bir görüntü ile karakterizedir. Radyolojik olarak uzun kemiklerde kortekste incelmeye ve medüller kavitede genişleme görülür. En belirgin değişiklikler kafa ve yüz kemiklerinde görülür, kafatasında diploe boşluklarında genişleme ve trabekülalarda vertikal düzleşme görülebilir. Ayrıca tipik kaba yüz olarak tanımlanan “*talasemik yüz görünümü*” maksillada ileri derecede genişleme, üst kesici dişlerin daha belirgin olması ve orbitaların ayrık olması ile karakterizedir (97, 98).

Tedavisi yetersiz olgularda %90'lara varan oranda görülürken, çok iyi tedavi edilen olgularda bile sıklık %40–50 olarak bildirilmiştir (92). Artmış demir yükü, kemik

iliği ekspansiyonu nedeniyle oluşan kortikal incelme, şelatör ajanların kalsiyum (Ca), P (fosfor) emilimine yaptıkları olumsuz etkiler yanında bu olgularda sıklıkla görülebilen hipogonadizm ve hipoparatiroidi talasemililerde osteoporoz nedenlerini oluşturmaktadır (4).

2.2.6.5. Prognoz:

Hastalığın seyri, hastanın uygun transfüzyon ve demir şelasyon tedavisi alıp almamasına bağlıdır. Uygun transfüzyon ve şelasyon tedavisi almayan hastalarda hayat beklentisi 5 yaşın altındadır. Bu hastalar genellikle anemi, kalp yetmezliği, karaciğer yetmezliğinden kaybedilir. Talasemi majorlü hastalarda en sık ölüm nedeni kalp yetmezliğidir (48).

Kan transfüzyonları ile Hb düzeyi normal düzeylerde tutularak kalpteki büyüme azaltılabilir. Fakat tekrarlayan transfüzyonlara bağlı olarak hayatın ikinci on yılında kardiyak hemosiderozis sonucu kardiyak problemler ön safhaya geçmekte, aritmi ve dirençli kalp yetmezliğinden dolayı hastalar kaybedilmektedir (48).

2.2.6.6. Tarama:

Mortalite ve morbiditesi yüksek olan talasemi majörün eradikasyonunda dünyaca önerilen en yaygın yöntem prenatal tanıdır. Evlilik öncesi tarama; hemoglobinopati yönünden riskli olan bölgelerde, talasemili bebek doğumunu önlemek amacıyla, zorunlu olarak yapılması gerekli bir tarama şeklidir. Tarama testinin güvenilir ve pratik olması tercih edilmelidir. Bu nedenle HPLC (High performance Liquid Chromatography), varyant Hb analizi ya da elektroforez analizi yöntemlerinin kullanılması uygun olacaktır (99).

2.2.6.7. Genetik Danışmanlık :

Hastalığın eradikasyonu için hastalığın insidansının yüksek olduğu bölgelerde, evlenecek olan çiftlerin talasemi taşıyıcılığı açısından taranmaları ve taşıyıcı saptananların eğitimi, genetik danışma ve prenatal tanı hakkında bilgi verilmesi önemlidir. Konferanslar, seminer ve kongreler ile insidansın yoğun olduğu bölgelerdeki halk ve tıp mensupları bilgilendirilmelidir. Beta talasemili çocuk doğumları; talasemi taşıyıcılarının bulunması ve taşıyıcı olduğu bilinen evliliklerde hamileliğin ilk döneminde prenatal tanı merkezlerine başvurularını sağlamak ile önlenir (48).

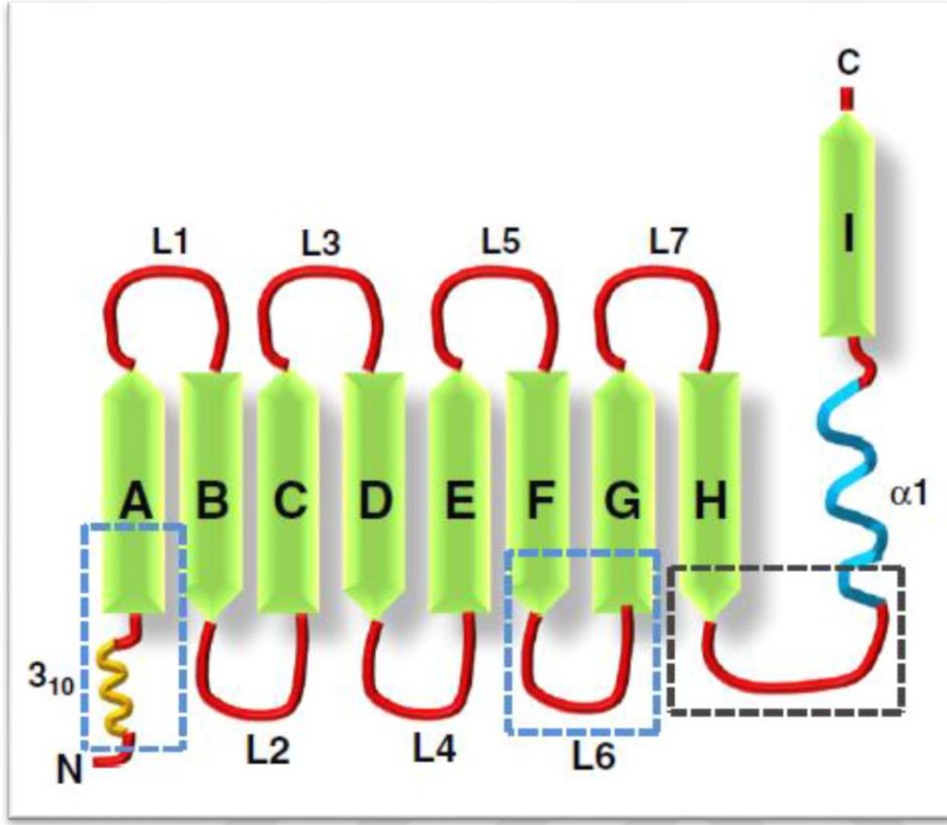
2.3. Nötrofil Jelatinaz İlişkili Lipokalin (NGAL) :

Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL), lipokalin protein ailesinin bir üyesidir. Bu grubun üyeleri, küçük ve hidrofobik molekülleri bağlama özelliği olan ve hücre homeostazında rol oynayan ekstraselüler proteinlerdir (100).

Glikoproteinler, birçok hastalığa karşı vücudun savunmasında önemli rol oynamaktadırlar. Bağışıklık hücrelerinin duvarlarındaki antijenik belirleyicilerin yapısal komponentleri olmalarından dolayı glikoproteinlerin vücutta önemli fonksiyonları vardır. Dolaşımdaki glikoproteinler benign ve malign hastalıkların tanınmasında ve progresyonlarının takibinde biyobelirteç olarak sıklıkla kullanılırlar. Örneğin; pankreas kanserlerinde CA19-9 (karbonhidrat antijen 19-9), multiple solid tümörlerde CEA (karsinoembriyonik antijen) ve over kanserlerinde CA 125 (karbonhidrat antijen 125). Bu glikoproteinlerin çoğunluğu büyük moleküllerdir. Ancak, sağlığın korunmasında ve hastalıklarla etkili mücadelede önemli olan glikoproteinleri salgılayan küçük bir protein ailesi vardır. Bu protein ailesi Lipokalinler olarak adlandırılır. Bu ailenin prototipi Neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) veya lipokalin 2 veya 24p3'dir. Son yıllarda çeşitli benign ve malign hastalıklarda biyobelirteç olarak ortaya çıkmıştır. Ayrıca, kültür hücrelerinde ve sıçan modellerinde yapılan çalışmalar hem sağlıklı insanlarda hem de hastalarda bu molekülün çok önemli rolleri olduğunu ortaya koymuştur (101).

2.3.1. Lipokalin Ailesi :

Lipokalinler, hücrelerden salgılanan, taşıyıcı ve iletilen görevleri olan lipofilik moleküllerden farklılaşarak oluşmuş küçük bir protein ailesidir. Son yıllarda bu protein ailesinin hücre bölünmesinin regülasyonunda, hücre farklılaşmasında ve hücrelerin adezyonunda olmak üzere farklı fonksiyonlarının olduğu da ortaya konmuştur. Diğer protein aileleri de aminoasit dizilimlerinin benzerliği temelinde sekonder ve tersiyer yapıları ile birlikte 'lipokalin fold' olarak adlandırılırlar. Lipokalin fold, Şekil 7'de şematik olarak gösterilmiştir (101). Birbirlerine hidrojen bağı ile bağlı sekiz adet beta tabakanın oluşturduğu paralel olmayan silindirik beta yapılarından meydana gelen bu moleküler yapı, bu şekilde spesifik ligandlara bağlanabilen fincan şekilli boşluk yapısıyla sonuçlanır (102).

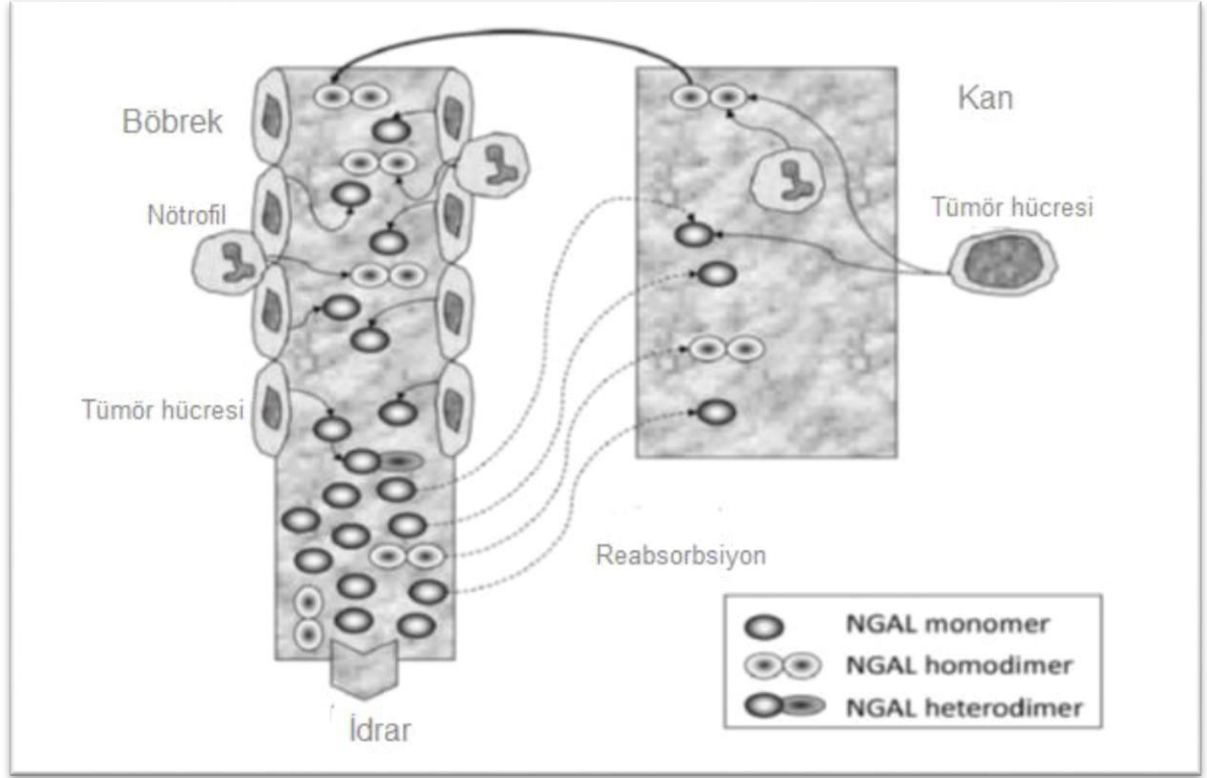


Şekil 7. Lipokalin fold yapısı (101)

2.3.2. Nötrofil Jelatinaz İlişkili Lipokalin (NGAL) Sentezi ve Yapısı :

Human neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL), neutrophil glucosaminidase-associated lipocalin, 24p3, oncogene 24p3, p25, migration stimulating factor inhibitor (MSFI), human neutrophil lipocalin (HNL), α 1-microglobulin related protein, siderocalin veya uterocalin olarak da bilinir (103). Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin 178 aminoasitten oluşan, 22 kDa ağırlığında, glikasyondan sonra 25 kDa ağırlığına ulaşan bir proteindir (104). Kodlanması 9q34.11 kromozom lokusunda yer alan bir gen tarafından olur. Bu gen en az beş fonksiyonel transkript üreten yedi ekzon içermektedir. Üç farklı moleküler formu vardır. Bunlar 22 kDa ağırlığında olan monomerik, 45 kDa ağırlığında olan homodimer (iki NGAL monomerinin dimerizasyonu), 135 kDa ağırlığında olan heterodimer (monomer ile 92kDa ağırlığındaki diğer ismi jelatinaz B olan matris metalloproteinaz 9 ile birleşimi) formdur (105, 106). Monomerik form tübüler hücrelerden sentezlenirken (bir kısmı

nötrofiller), homodimer form nötrofillerden sentezlenir. Heterodimer formun bir kısmı da böbreklerden sentezlenir (Şekil 8) (107).



Şekil 8. NGAL'in biyolojisi ve tübüler hasar ile ilişkisi (107)

İlk olarak NGAL proteini simian virüs-40 ile enfekte primer fare böbrek hücrelerinde 24p3 lokalizasyonunda tespit edilmiştir (108). Daha sonra insandaki homolog proteini nötrofillerin spesifik granüllerinde de bulunmuştur (109). İnsan nötrofil jelatinazına kovalent bağlanması ile keşfedildiği için, NGAL adını almıştır. Lipokalin 2, siderokalin, onkogen protein 24p33, uterokalin, alfa-2 mikroglobulin ilişkili protein, NGAL'in sinonim isimleridir (110).

Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin, nötrofillerde tip 4 kollajenaz (matrix metalloproteinaz) ile kovalent bağlı olarak bulunmaktadır. Bu sayede degradasyondan korunduğu düşünülmektedir (100). Bu protein proteazlara karşı dirençlidir, parçalandığında N-asetil-glukozaminidaz ve beta 2 mikroglobuline metabolize olur.

Fizyolojik şartlarda, diğer küçük moleküller gibi lipokalinler de glomerüllerden filtre olmakta, tamamına yakını proksimal tübüldeki fırçamsı kenarda eksprese olan megalin reseptörleri aracılığıyla absorbe edilmekte ve endositoz ile hücre içine alınmaktadır (110).

Düşük molekül ağırlığı ve degradasyona dirençli yapısı nedeniyle kolayca ekskrete olarak idrarda saptanır (100). Sonuçta, sağlıklı bireylerde idrarda düşük miktarda (~5ng/ml) bulunmaktadır (110).

Spesifik hücre reseptörleri ile NGAL'in hücrel aktiviteyi sağlanmaktadır. İki tip hücrel reseptör tanımlanmış olup; birisi 24p3R (beyin tipi organik katyon taşıyıcı), diğeri ise esas olarak renal tübüler hücrelerin yüzeyinde bulunan megalin reseptörü olup, NGAL'in endositozunda ve hücrel trafiğinde esas role sahiptirler (110). Bunlara ilave olarak, NGAL'in biyolojik aktiviteyi araştırma aşamasında olan hepatosit büyüme faktör, gelatinase B ve ekstraselüler protein kinazlar gibi diğeri bazı reseptörler ve ligandlarla da etkileşimi kanıtlanmıştır (100).

2.3.3. NGAL Molekülünün Salgılanması:

NGAL salgılanmasının kontrolü hakkında ilk araştırmayı Axelsson ve arkadaşları yapmışlardır. 1995 yılında NGAL proteininin nötrofillerden elde edilmesinden sonra in vitro ortamda yapılan çalışmalarda hematopoetik sitokin granülosit monosit koloni uyarıcı faktörün (GM-CSF) nötrofillere verilmesiyle nötrofillerde NGAL sentezinin salgılanmasının güçlü bir şekilde uyarıldığı gösterilmiştir (111). Aynı zamanda düşük miktarlarda böbrek, prostat, akciğer, timus, karaciğer, solunum ve sindirim yolu epitelinde, ayrıca postpartum uterus dokusu ve ek gıdaya geçiş döneminde meme dokusunda olduğu gibi involusyona uğrayan dokularda da eksprese edildiği gösterilmiştir (112).

NGAL'nin salgılanması, interlökin-1 (IL-1 α ve β), IL-17, IL-22, insulin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1), transforming büyüme faktörü alfa (TGF- α), epidermal büyüme faktörü (EGF) ve tümör nekrozis faktör alfa (TNF- α) gibi çeşitli sitokinler ve büyüme faktörleri tarafından uyarılır (113, 114).

Cabec ve arkadaşları ilk olarak NGAL'nin miyeloperoksidaz enzimi ile birlikte azürofilik nötrofil granüllerinde lokalize olduğunu belirtmişlerdir (115).

Stres altındaki hücrelerde NGAL sentezi meydana gelmektedir. Enfeksiyon, inflamasyon (aktive nötrofillerin sekonder granüllerinden sentezlenir), iskemi ve neoplastik transformasyon NGAL ekspresyonunun arttığı durumlardır (116).

2.3.4. NGAL' in Fonksiyonları:

1. Hücre İçi Demir Depolarının Düzenlenmesi ve Bakteriyostatik Fonksiyonu:

Hücre içine yalnız protein yapısında (Apo-NGAL) ya da demir bağlayıcı sideroforlar ile kompleks halinde (Holo-NGAL) alınıp alınmadığına bağlı olarak NGAL'in hücre içi aktivitesi, değişiklik göstermektedir. Kompleks halinde (Holo-NGAL), endozomal veziküllerin içine alındıktan sonra sitoplazmik alana göç etmekte, siderofor-demir kompleksi açığa çıkmakta ve demir bağımlı spesifik yollar aktive olmaktadır. Protein yapı ise, ya degrade olmakta ya da tekrar hücre dışına atılmaktadır. Tersine, Apo-NGAL ise hücre içine alındıktan sonra hücrel demiri bir mıknatıs gibi çekmekte ve ekstraselüler aralığa yönlendirmektedir. Sonuçta hücrel demir havuzunun tüketimine yol açmakta olduğu apoptozise ve antibakteriyel etkisine aracılık ettiği düşünülmektedir (117).

Bakterilerden üretilen formil peptidlere, lipopolisakkaritlere ve katekolat tip ferrik (Fe+3) sideroforlar içeren küçük lipofilik substantlara NGAL'in bağlanabildiği belirtilmiştir. Bakterilerin büyümeleri için demir gerektiği için, NGAL demir depolarını tüketerek bakterilerin büyümesini engeller (bakteriyostatik etki). Bundan dolayı doğal immun sistemin efektör moleküllerinden biri gibi fonksiyon yapabilir. Bu bulguların biyolojik anlamlılığı genetik olarak modifiye farelerde gösterilmiştir. Yapılan çalışmada NGAL geni eksik olan farelerin, kontrol grubuna göre gram (-) bakteri enfeksiyonlarına daha duyarlı oldukları ve sepsiste mortalite oranlarının daha yüksek olduğu gösterilmiştir (118).

2. İnflamasyon ve Nötrofil Kemotaksisindeki Fonksiyonu :

Nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalinin proinflamatuvar bir molekül olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur. Akciğer inflamasyonu olan fare modelleri üzerinde yapılan araştırmada proinflamatuvar uyarılara maruz kaldıktan sonra serum NGAL mRNA ve proteininin güçlü bir şekilde arttığı bulunmuştur (119).

İnflamasyonda NGAL'in işlevsel rolünü açıklamak için çeşitli hipotezler öne sürülmüştür. Akut ya da kronik inflamasyonda (örn. bronşiyal astım) inflamasyon bölgelerinde granülositlerin biriktiği ve bu granülositlerin apoptozisi sonrası, NGAL içeren salgı granüllerinin serbest kaldığı ve bu şekilde lokal doku hasarına aracılık ettiği yönündedir (101).

3. Antioksidan Fonksiyonu :

İnsan embriyosu böbrek hücrelerinde NGAL'in aşırı ekspresyonu sonucunda, antioksidan enzimler olan süperoksit dismutaz ve hem oksijenazın mRNA ve protein düzeylerinde bir upregülasyon ile birlikte nüleer faktör kappa-b ekspresyonunda azalma olduğu saptanmıştır. Ayrıca, ektopik NGAL eksprese eden hücrelerin in vitro olarak hidrojen peroksidin sitotoksik etkilerine karşı daha dirençli olduğu bulunmuştur (120).

Bir antioksidan olarak NGAL'in rolünün altında yatan mekanizma, şimdiye kadar belirlenen tek NGAL bağlayıcı siderofor olan katekolün, NGAL yokluğunda Fe+3 bağlaması ve azaltması (Fenton reaksiyonu) yoluyla son derece aktif hidroksil serbest radikal oluşumunu hızlandırması, ardından ortama NGAL ilave edildiği zaman, bu reaksiyonun inhibisyonu olabilir (120).

2.3.5. Nötrofil Jelatinaz İlişkili Lipokalin (NGAL)'in İlişkili Olduğu Hastalıklar :

Yapılan çeşitli çalışmalarda NGAL proteininin; kalp yetmezliği, ateroskleroz, böbrek yetmezliği, inflamatuvar hastalıklar (pankreatit, psöriazis), metabolik hastalıklar (gestasyonel diyabet, preeklampsi), çeşitli solid ve hematolojik kanser ile ilişkili olduğu ve bu hastalıklarda ekspresyonunun değiştiği saptanmıştır (121-124).

1. İnflamatuvar Hastalıklarda NGAL Salınımı :

Psöriazisli hastaların cildinde atopik dermatitli ve ekzemalı hastalara oranla daha yüksek oranda NGAL molekülü bulunur. Keratinositlerin diferansiyasyon derecesi ile NGAL salınımı arasında negatif korelasyon gözlemlenmiştir (125). Periodontitlerde hastaların alveolar doku örneklerinde nötrofiller içinde artmış miktarda NGAL olduğu görülmüştür (126).

2. İskemik Hastalıklarda NGAL Salınımı :

Dokulardaki kan akımının azalması veya tamamen ortadan kalkması sonucu hipoksiden nekroza kadar değişen derecelerde meydana gelen doku hasarlanmaları

NGAL seviyesinde belirgin artışlarla ilişkilidir. NGAL seviyelerinde artışla ilgili iki önemli iskemik hastalık serebrovasküler olaylar ve miyokard enfarktüsüdür (127).

Aterosklerotik plağı olan hastalarda plazma NGAL seviyeleri yükselmiştir ve bu durum özellikle stabil olmayan plakların varlığında daha belirgindir. Makrofajların, endotel hücrelerinin ve düz kas hücrelerinin yoğun olarak bulunduğu plaklarda NGAL salınımı daha güçlü olmaktadır. NGAL salınımı proinflamatuvar sitokinler olan IL-6 ve IL-8'in salındığı fibröz plaklarda daha yüksektir (128).

3. Metabolik Hastalıklarda NGAL Salınımı :

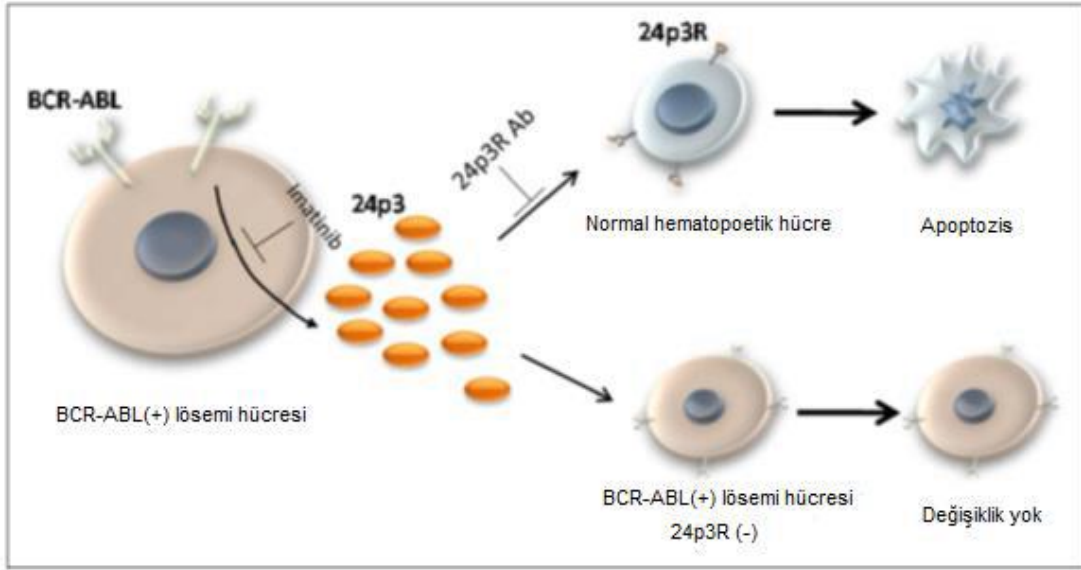
Metabolik hastalıklar, ciddi morbidite oranları ile ilişkili hastalıklardır. Son yıllarda bu hastalıkların prevalansında önemli artış olmuştur. Diyabet hastalığında NGAL salgılanması değişiklik göstermektedir. İnsanlarda 26 saat üzerinde sürekli insulin infüzyonu ile plazma NGAL seviyeleri artmaktadır (129). Gestasyonel diyabeti olan hastalarda da plazma NGAL düzeyleri yükselmektedir (130). Pre-eklampsi hastalığında da NGAL düzeyleri yükselmektedir (130, 131). Diyabet hastalığı, kronik inflamasyon ve mikrovaskülopati ile ilişkilidir. Artmış plazma NGAL seviyelerinin diyabet hastalığının patogenezinin katkısının olup olmadığı halen incelenmektedir (131).

4. İlaçlar ve İntoksikasyonlarda NGAL Salınımı :

İlaçların ve alkol, metamfetamin, fensiklidin gibi toksik maddelerin alımı NGAL salgılanmasıyla ilişkilidir (132, 133). Hepatotoksik ajanların alımından sonra NGAL salınımı artmaktadır. Hayvanlarda yapılan bir çalışmada, serum ve karaciğer NGAL protein seviyelerinin karaciğer hasarının şiddeti ile doğru orantı gösterdiği belirtilmiştir (134). NGAL salınımının artışı özellikle hepatositlerde, safra kesesi epitel hücrelerinde ve böbrek proksimal tubüler epitel hücrelerinde gösterilmiştir. Burada böbreğin proksimal tubül epitel hücrelerinden salgılanan NGAL'nin glomerüler filtrat kaynaklı olduğu öngörülmektedir (134).

5. Solid Malign Tümörlerde NGAL Salınımı :

Deri, tiroid, meme, over, endometrium, kolon, akciğer, karaciğer, safra kanalı, özofagus, mide ve pankreas gibi birçok organ malign tümörlerinde NGAL molekülünün salındığı rapor edilmiştir (135-146).



Şekil 9. NGAL (24p3)'in hematopoetik kanserlerdeki rolü (101)

6. Renal Hastalıklarda NGAL Salınımı :

Akut böbrek hasarında radyolojik kontrast madde kullanımından cerrahi sonrası stres cevabına kadar geniş bir yelpazede böbreklerden NGAL salınımının arttığı gösterilmiştir (147, 148).

Akut böbrek hasarı olan yoğun bakım hastalarının yaklaşık %6'sı diyaliz veya böbrek transplantasyonu olmak üzere renal replasman tedavisine gereksinim duyarlar. Mortalite oranı bu hasta grubunda %60'lara kadar çıkmaktadır. Gerçekte akut böbrek hasarının erken tanısı sensitivitesi düşük olan kreatinin belirteci ile sınırlıdır (149). Daha önce 109 hasta ile yapılan tek merkezli prospektif bir çalışmada renal replasman tedavisi alan akut böbrek hasarlı hastalarda serum NGAL seviyeleri belirgin derecede yüksek olarak bulunmuştur. Bu çalışmaya göre serum NGAL düzeyleri akut böbrek hasarının şiddeti ile pozitif korelasyon göstermektedir ve artmış NGAL seviyeleri 28 günlük artmış mortaliteyi bağımsız olarak öngören bir faktördür (149). Bir başka çalışmada, NGAL seviyelerinin devam eden renal replasman tedavileri sırasında değişiklik göstermediğini ortaya koymuştur (150).

Kontrast nefropatili hasta grubu ile yapılan bir diğer çalışmada ise serum kreatinin seviyelerinin kontrast ajanın enjeksiyonundan 6-24 saat sonrasında yükseldiği,

idrarda ve plazma NGAL seviyelerinin ise 2 saat sonrasında anlamlı olarak yükseldiği bulunmuştur. Aynı çalışmada kontrast nefropatide plazma NGAL'nin tanısal cut-off değerinin 100 µg/L olabileceği öne sürülmüştür (104).

Hayvan modeli çalışmalarda, böbrek hasarında oluşan NGAL'in kaynağının iskemik böbrek tübül hücreleri olduğu görülmüştür (151). Ancak, böbrek hastalıkları dışında idrarda tespit edilen NGAL proteininin nereden kaynaklandığı tam olarak açıklığa kavuşmamıştır. Bu konuda öne sürülen mekanizmalardan birisi, NGAL'in sistemik dolaşımında inflamatuvar hücrelerden salındığı ve glomerüllerde filtrasyona uğradığıdır (152). NGAL'nin nötrofil ve makrofajlardan salındığını ve idrarda NGAL ile serum nötrofil miyeloperoksidaz seviyeleri arasında kuvvetli pozitif korelasyon olduğunu ortaya koyan tek merkezli ama büyük bir hasta grubuyla yapılmış çalışma mevcuttur (153).

Kronik böbrek hastalıkları, glomerüler filtrasyon oranında azalmanın eşlik ettiği veya etmediği albuminuri olarak tanımlanmaktadır. Kronik böbrek hastalıklarında da böbrek dokusu, kan ve idrarda NGAL seviyelerinde önemli artışlar olur (154, 155).

NGAL'in kronik böbrek hastalıklarındaki kullanım alanları ve avantajları açısından da veriler mevcuttur. İdrarda NGAL düzeyleri rezidüel böbrek fonksiyonu, serum kreatinin düzeyi ve otozomal dominant polikistik böbrek hastalıklarındaki kist büyüklüğü ile korele gözükmektedir. Brunner ve ekibinin yaptığı kohort çalışmasında 35 çocukluk başlangıçlı SLE vakasında böbrek tutulumunun aktivitesi ile idrarda NGAL düzeyleri arasında güçlü bir korelasyon mevcutmuş (156). Benzer başka bir çalışmada SLE aktivitesi ile idrarda NGAL düzeyleri aynı şekilde uyumluydu (157). Bu çalışmada serum NGAL düzeyleri ile anlamlı bir oran saptanmadı (157). Başka bir çalışmada İdiopatik glomerulonefritli proteinürik hastalarda idrardaki NGAL düzeyi proteinüri miktarı ile uyum göstermişti (158).

Daha önce beta talasemi majör hastalarında böbrek hasarının gösterilmesi açısından yapılan çeşitli çalışmalar mevcuttur. Beta talasemi majörlü pediyatrik hastalarda glomerüler ve tübüler disfonksiyonların yüksek sıklığı bulunmaktadır ve böbrek patolojileri özellikle de pretransfüzyonel düşük hemoglobin seviyeleri ile ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle, tüm hastalar için idrarda NGAL gibi renal disfonksiyonun erken belirteçlerinin rutin kullanımı önerilmektedir (159).

Şen ve ark.'nın yaptığı başka bir çalışmada üriner NGAL'in β TM hastalarında böbrek hasarını izlemek için güvenilir gösterge olarak düşünülebileceğini göstermektedir (160).

2.4. Sistatin C :

Gamma(γ)–trace yada post- γ globulin olarak adlandırılan sistatin c nonglikolize, 122 aminoasit içeren, 13 kDa ağırlığında, düşük molekül ağırlıklı bir protein olup, sistein proteinaz inhibitörlerinden sistatin süper ailesinin bir üyesidir (161-166).

İnsan sistein proteinazları peptid ve proteinlerin hücre içi katabolizmasında, prohormonların proteolitik prosesinde, kollajen katabolizmasında ve normal dokunun malign hücrelerle penetrasyonunda önemli rol oynar. Sistatin c ölü hücrelerden sızan hücre içi enzimlerin bağ dokusunu hasarlamasını engeller. İnflamatuvar olaylarda kuvvetli bir düzenleyici olan sistatin c'nin viral ve bakteriyel enfeksiyonlara karşı da savunmada rol oynadığı düşünülmektedir (167, 168).

İlk olarak 1961'de Clausen, normal serebrospinal sıvıda alkalın özellikte bir protein gösterdi ve bunu γ -CSF olarak isimlendirdi. Aynı yıl tubuler proteinurisi olan hastaların idrarında post- γ globulin proteini tanımlandı. 1962'de ise serebro-spinal sıvı, kan, idrar, asit ve plevra sıvısında gamma elektroforetik mobilitesi olan bir protein gösterildi. 1984'te yeni bir sistein proteinaz inhibitörü (insan sistatini) izole edildi ve insan γ -trace proteiniyle aynı özellikleri olduğu belirtildi. İnsan sistatini tavuk yumurtası beyazı ve memelilerdeki sistatin a ve b moleküllerine benzerliklerinden dolayı sistatin c olarak isimlendirilmiştir. İnsan sistatin ailesi bilinen 12 protein içerir (167, 169).

Sistatin c, hemen hemen tüm vücut sıvılarında fizyolojik PH'da pozitif yüklü, isoelektrik noktası 9,3 olan temel bir mikroproteindir. Sistatin c'nin tüm nukleotid sekansı ortaya konmuş ve 20 no'lu kromozomda yerleştiği belirlenmiştir. Tüm vücut sıvılarında yer almasına rağmen serebrospinal sıvı ve seminal plazmada yüksek konsantrasyonda, kolostrum, asit mayi, tükürük ve plevral sıvıda düşük konsantrasyonda bulunur. Plasenta bariyerini geçemez ve 1-50 yaşları arasında serum düzeyi sabittir. Normal plazma konsantrasyonu 1.0 mg/l, aralığı ise 0.6- 2.5 mg/l dir (169).

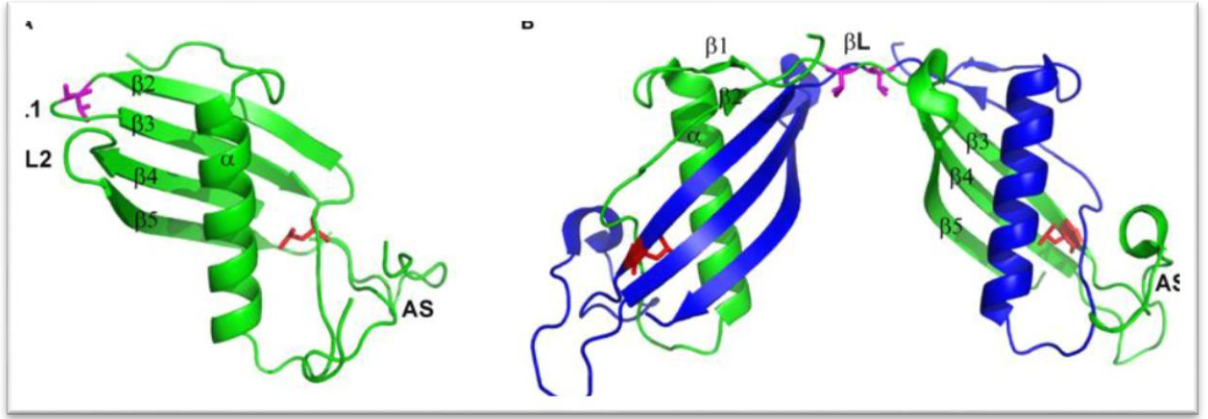
Sistatin c, vücuttaki tüm çekirdekli hücrelerde, sabit bir hızda sentezlenir. Sentezinden sorumlu gen, 20. kromozom üzerindedir. Bütün ekstrasellüler sıvılarda,

katapsin B, H, K, L ve S gibi papain süper ailesi sistein proteazların, dönüşümlü non-kovalent yarışmalı inhibitörüdür (170, 171, 168). Kısaca patojenlerden salgılanan ekzojen veya lizozomlardan açığa çıkan endojen proteazlardan, organizmayı koruma görevini üstlenmiştir (171). Sistatinler, endojen ve ekzojen sistein proteaz aktivitesini düzenler. Sistein proteazların, zarar verici proteolitik etkilerini düzenlemede ve lokal olarak sınırlamada rol oynadıklarına inanılmaktadır (172, 173). Sistatin c'nin, inflamatuvar süreçte kuvvetli bir düzenleyici olabileceği ve viral, bakteriyel enfeksiyonlara karşı savunmada rol oynadığı iddia edilmektedir. Hem kemotaktik, hemde kemokinetik etkisi olduğu görülmüştür (172).

Sistatin c, lökosit kemotaksisini, fagositozunu modüle etmekte ve böylece inflamatuvar süreçte düzenleyici rol oynadığı öne sürülmektedir (167, 172, 174). Sistemik dolaşımında sistatin c, sabit hızla üretilmekte ve elimine edilmektedir. Serum düzeyleri, yaş, cinsiyet, inflamatuvar ve immünolojik süreçler, vücut kas kitlesi gibi diğer faktörlerden etkilenmemektedir (175, 170, 167).

Çocuklarda 2 yaşına kadar artış gösteren böbrek matürasyonuna paralel şekilde, yaşamın ilk gününde en yüksek konsantrasyonda olan serum sistatin c düzeyi sonraki aylarda hızla düşer. Pretermelerde term bebeklere göre düzeyi daha yüksektir. Kreatininin aksine transplasental geçiş görülmez. Bu nedenle yenidoğanlarda hatta fetuslarda bile GFR için daha faydalı bir gösterge olabileceği düşünülmektedir (176). Bir yaşından sonra serum düzeyi sabit kalır; kreatininin ise çocukluk çağında yaşla birlikte artmaya devam eder. Sağlıklı bireylerde düzeyi yaklaşık 1 mg/l'dir. Vücut kitlesi, yaş ya da cinsiyetten etkilenmez. Fakat sigara, yüksek CRP, steroid kullanımı ve tiroid bozukluklarından etkilenebilir (177, 178, 179).

Tubuler sekresyonu yoktur. Normal renal fonksiyonlarda idrardaki miktarı önemsenmeyecek kadar düşüktür (0.033–0.29 mg/l) (173, 166, 174). Renal tubuler disfonksiyonu olanlarda özellikle defektif reabsorbsiyona bağlı olarak idrardaki miktarı artar (180, 181, 182). Şekil 10'da CYC-C'nin yapısı şematize edilmiştir (182).



ŞEKİL10. Sistatin C (Cyc-C)'nin yapısı (182)
(L, β , α , AS yapısal alt birimleri göstermektedir.)

2.5. Beta-2 Mikroglobulin :

Beta-2 Mikroglobulin (β 2M), 11.800 dalton moleküler ağırlığında, küçük non-glikolize bir proteindir. 25. ve 81. pozisyonlar arasında disülfid köprüsü olan 100 aminoasitten meydana gelir (183).

Beta-2 Mikroglobulin birçok çekirdekli hücrenin yüzeyinde bulunan class-I majör doku-uygunluk antijenlerinin hafif zinciri olarak tanımlanmıştır. β 2M, bütün çekirdekli hücrelerde sentez edilir. HLA'nın metabolizması ve parçalanması sonrası β 2M ağır zincirden ayrılarak serbest şekilde ekstrasellüler alana geçer, bunun dışında serbest olarak da salgılanır (184). β 2M plazmada, serumda, idrarda, tükürükte, serebrospinal sıvıda ve plevral sıvı gibi tüm vücut sıvılarında bulunur (184).

Beta-2 Mikroglobulin atılımı böbreklerle olur. Serbest β 2M'in % 95'i glomerüler membrandan geçer. Membrandan geçerek filtre edilen β 2M' in % 99,9 gibi büyük bir kısmı proksimal tubulus hücreleri tarafından endositoz yolu ile absorbe edilir. Absorbe edilen veziküller, lizozomlar ile birleşir ve β 2M bu lizozomal enzimler tarafından aminoasitlerine ayrılır (185). Beta-2 Mikroglobulin'in hemen tamamı glomerüler filtrasyon ile atılır. Glomerüler filtrasyon hızı (GFR) azaldığı zaman β 2M'in böbrekle atılımı da azalır ve serum β 2M seviyesi orantılı olarak artar. Glomerüler filtrasyon hızının ve serum β 2M düzeyinin normal olduğu durumlarda üriner β 2M atılımının artması, proksimal tubuler hasarın göstergesidir (185).

Serum β 2M, GFR için çok duyarlı bir indekstir. Serum β 2M, serum kreatinine ve hatta kreatinin klerensine oranla daha hassas ve doğru olarak glomerüler filtrasyon hızını göstermektedir (185). β 2M, normal plazma konsantrasyonu 1,1-2,7 ng/l arasında değişiklik göstermektedir. Serum konsantrasyonu kas kitlesinden ve yaştan bağımsızdır. Ayrıca bu değerler erkeklerde ve kadınlarda değişmez. Glomerüler filtrasyon hızını azaltan renal hastalıklarda, dializdeki hastalarda, kronik inflamatuvar hastalıklarda, karaciğer veya malign hastalığı, özellikle multipl myeloma, B hücreli lenfoma ve kronik lenfositik lösemisi olanlarda belirgin artış göstermektedir (186-188).

3. MATERYAL VE METOD:

Bu çalışma Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematoloji ve Onkoloji bölümünde tanı alan ve takibi yapılan yaşları 2-18 yıl arasında değişen toplam 37 Beta Talasemi Majör hastası üzerinde 01.05.2017-31.08.2017 tarihlerinde prospektif olarak yapılmıştır. Etik kurul uygunluk onayı 04.04.2017 tarih, B.30.2.YYU.0.01.00.00/16 numara ile Yüzüncü Yıl Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurul Başkanlığı'ndan alındı. Çalışmamız Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, Çocuk Hematoloji ve Onkoloji bölümünde beta talasemi majör tanısı ile takip edilmekte olan ve bu nedenle düzenli eritrosit süspansiyon replasmanı yapılan hastalarda prospektif olarak yapıldı. Beta Talasemi majör hastası olup böbrek taşı, herediter renal familial hastalık öyküsü, aktif enfeksiyon, diabetes mellitus, sistemik hipertansiyon, hidronefroz, üriner reflü, tiroid veya paratiroid fonksiyon bozukluğu olan hastalar, çalışma dışı bırakıldı. Kontrol grubunu; kronik bir hastalığı olmayıp Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı genel çocuk polikliniğine başvuran, fizik muayene ve laboratuvar testlerinde herhangi bir patoloji saptanmayan ve çalışma grubu ile yaş yönünden benzer olan gönüllü çocuklar oluşturmaktaydı.

Verilerin Toplanması:

Çocuk hematoloji polikliniğimizde beta talasemi majör tanısı ile takip edilen hastalardan kanda üre, kreatinin, sistatin-c ve ferritin düzeyleri bakılması için transfüzyon öncesi venöz kan örnekleri alındı. Kontrol grubundaki çocuklardan ise başvuru anında venöz kan örnekleri alındı. Üre, kreatinin ve ferritin değerleri hemen

çalışılırken, sistatin-c için alınan kan örnekleri 4000 devir /dk da 10 dakika santrifüj edildikten sonra serumları ayrıldı. Elde edilen serumlar ependorf tüplere konularak çalışma gününe kadar -80 °C’de saklandı. Benzer şekilde idrarda beta-2 mikroglobulin ve NGAL düzeyleri bakılması amacıyla hasta ve kontrol grubundaki çocuklardan alınan sabah ilk idrarlar ependorf tüplere konularak çalışma gününe kadar -80 °C’de saklandı.

3.1. Üre, Kreatinin ve Beta-2 mikroglobulin Ölçümü:

Üre, kreatinin ve β 2M YYU Dursun Odabaş Tıp Merkezi Biyokimya laboratuvarında Architect C16200 otoanalizöründe ticari kitler kullanılarak çalışıldı.

3.2. Ferritin Ölçümü:

YYU Dursun Odabaş Tıp Merkezi Biyokimya laboratuvarında Immulite 2000 XPI immunassay system otoanalizöründe ticari kitler kullanılarak çalışıldı.

3.3. NGAL Ölçümü:

Çalışma gününe kadar -80 °C’de ependorf tüplerde saklanan idrar örneği çözüldü ve NGAL düzeyi Eastbiopharm marka (Cat.No: CK-E10253) ELİSA kiti kullanılarak Biotekelx800 marka ELİSA okuyucuda, üretici firmanın prospektifte belirtilen talimatlarına göre çalışıldı (Tablo 7).

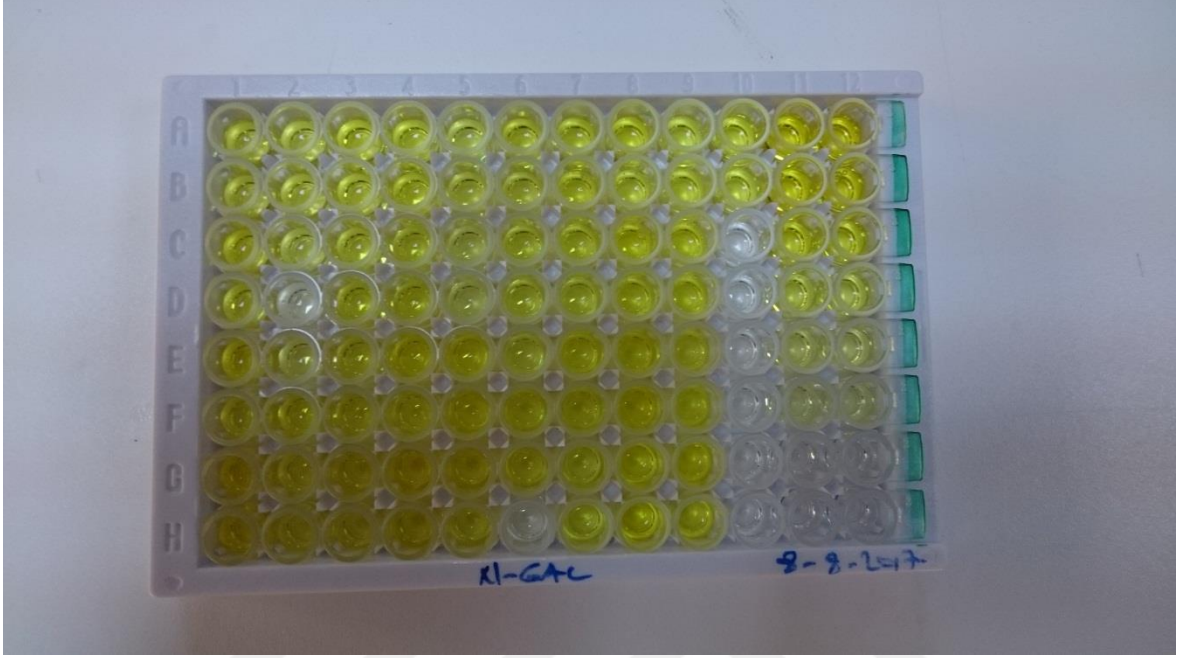
Tablo 7. NGAL standartlarının hazırlanması

Standart no	Konsantrasyon	İşlem
Standart no:5	1600 ng/ml	120 μ l orijinal standart+120 μ l standart dilüsyon
Standart no:4	800 ng/ml	120 μ l standart no:5+120 μ l standart dilüsyon
Standart no:3	400 ng/ml	120 μ l standart no:4+120 μ l standart dilüsyon
Standart no:2	200 ng/ml	120 μ l standart no:3+120 μ l standart dilüsyon
Standart no:1	100 ng/ml	120 μ l standart no:2+120 μ l standart dilüsyon

NGAL çalışma prensibi;

a-İlk 6 kuyucuğa 50 μ l standart eklenmiş ve üzerine 50 μ l streptavidin HRP eklendi. Örnek kuyucuklarına 40 μ l örnek, daha sonra 10 μ l NGAL antibadi ve 50 μ l

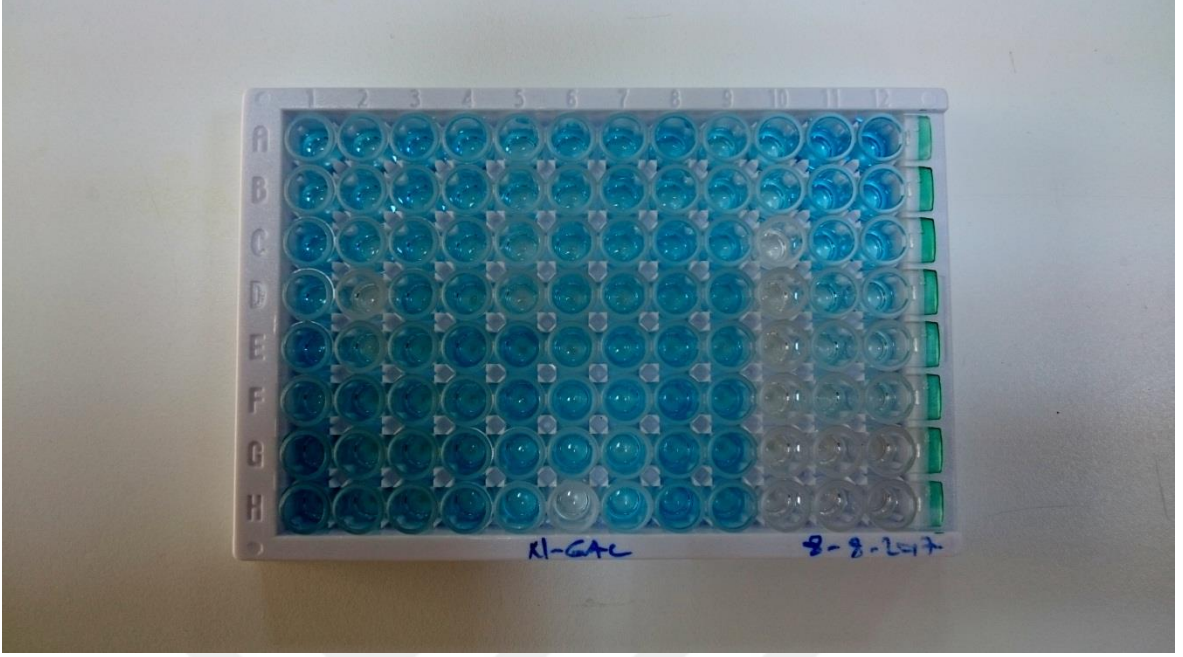
streptavidin HRP eklendi (Şekil 11). Playt yavaşça çalkalandı üzeri kapatılarak 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi.



Şekil 11. Numune, antibadi ve streptavidin HRP sonrası playtın görünümü

b- İnkübasyondan sonra yıkama işlemi yapıldı. Yıkama işlemi için yıkama solüsyonu distile su ile 30 kat sulandırıldı. 250 ml solüsyonu ile kuyucuklar yıkandı ve bu işlem 5 defa tekrarlandı.

c- Yıkama işleminden sonra her iki kuyucuğa 50 µl Chromogen Reagent A ve daha sonra Chromogen Reagent B eklendi (Şekil 12). Bu işlemden sonra 37 °C'de 10 dakika inkübasyon yapıldı.



Şekil 12. Chromogen Reagent A ve B eklendikten sonra playtın görünümü

d-İnkübasyondan sonra her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu (Şekil 13).



Şekil 13. Stop solüsyonu eklendikten sonra playtın görünümü

e-450 nm dalga boyunda her bir kuyucuğun absorbanası ölçüldü. Standart konsantrasyonları ve optik dansitelerine göre Curve Expert 1.4 programı kullanılarak lineer regresyon standart grafiği çizildi. Bu grafiği kullanarak örnek optik dansitelerine göre örneklerin konsantrasyonları hesaplandı.

3.4. Sistatin-c Ölçümü:

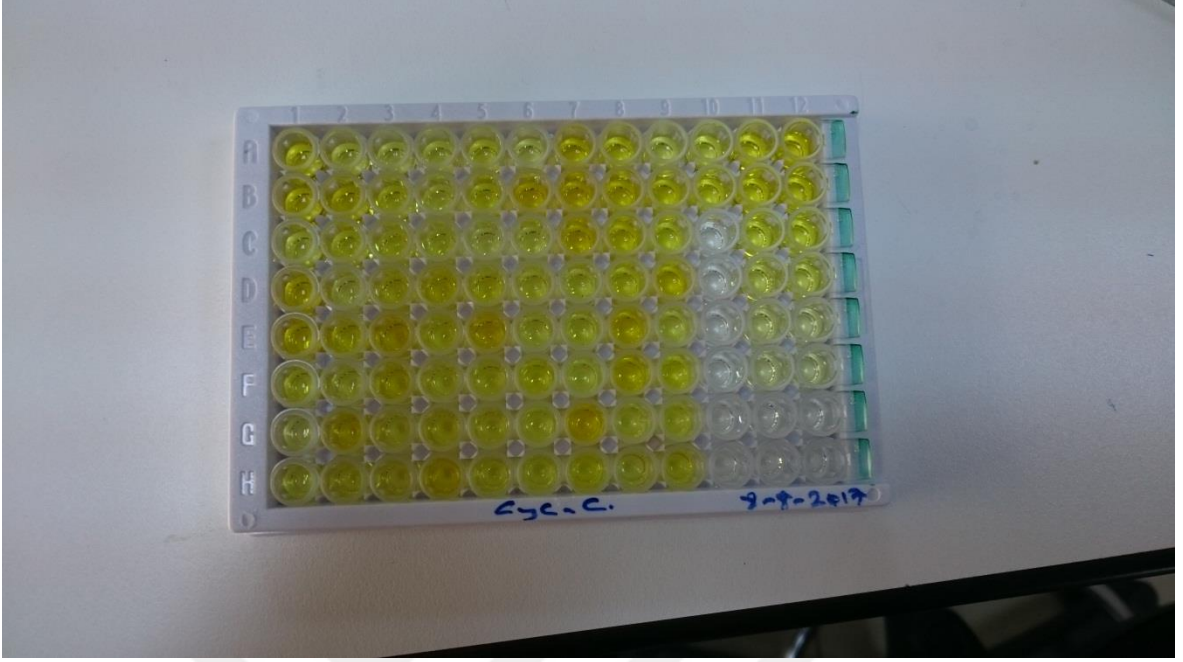
Çalışma gününe kadar -80 °C’de ependorf tüplerde saklanan serum çözündü ve sistatin-c düzeyi Eastbiopharm marka (Cat.No: CK-E10685) ELİSA kiti kullanılarak Biotekelx800 marka ELİSA okuyucuda, üretici firmanın prospektifte belirtilen talimatlarına göre çalışıldı (Tablo 8).

Tablo 8. Sistatin-C standartlarının hazırlanması

Standart no	Konsantrasyon	İşlem
Standart no:5	64 ng/ml	120 µl orijinal standart+120 µl standart dilüsyon
Standart no:4	32 ng/ml	120 µl standart no:5+120 µl standart dilüsyon
Standart no:3	16 ng/ml	120 µl standart no:4+120 µl standart dilüsyon
Standart no:2	8 ng/ml	120 µl standart no:3+120 µl standart dilüsyon
Standart no:1	4 ng/ml	120 µl standart no:2+120 µl standart dilüsyon

Sistatin-c çalışma prensibi;

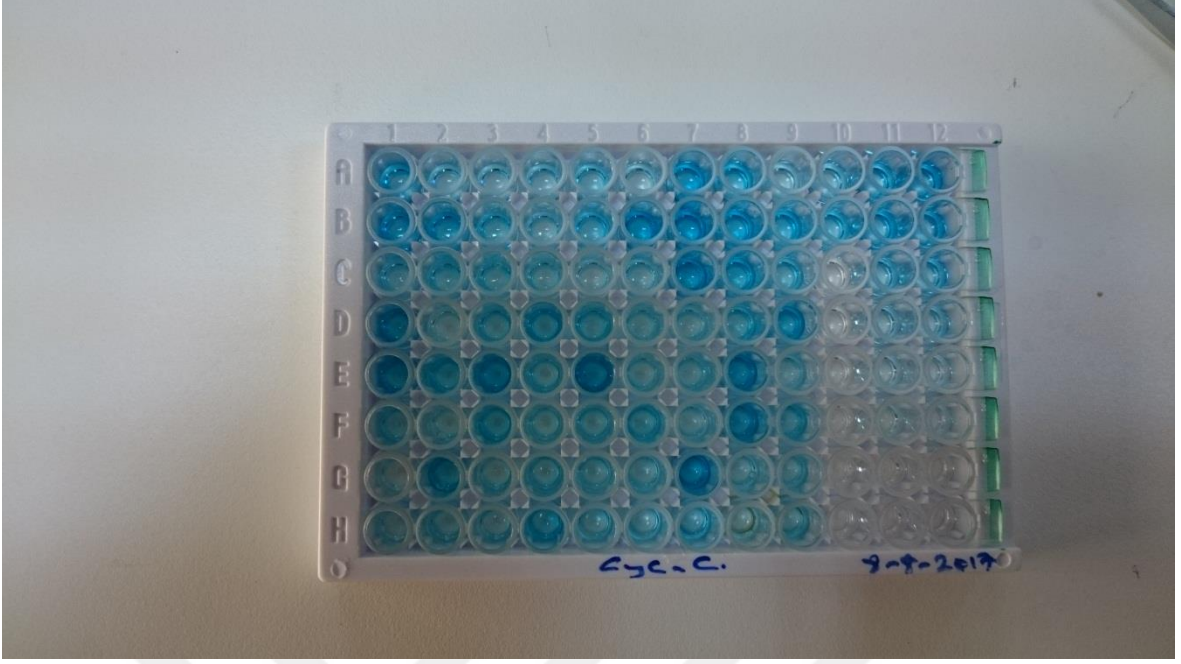
a-İlk 6 kuyucuğa 50 µl standart eklenmiş ve üzerine 50 µl streptavidin HRP eklendi. Örnek kuyucuklarına 40 µl örnek, daha sonra 10 µl NGAL antibadi ve 50 µl streptavidin HRP eklendi (Şekil 14). Playt yavaşça çalkalandı üzeri kapatılarak 37 °C’de 60 dakika inkübe edildi.



Şekil 14. Numune, antibadi ve streptavidin HRP sonrası playtın görünümü

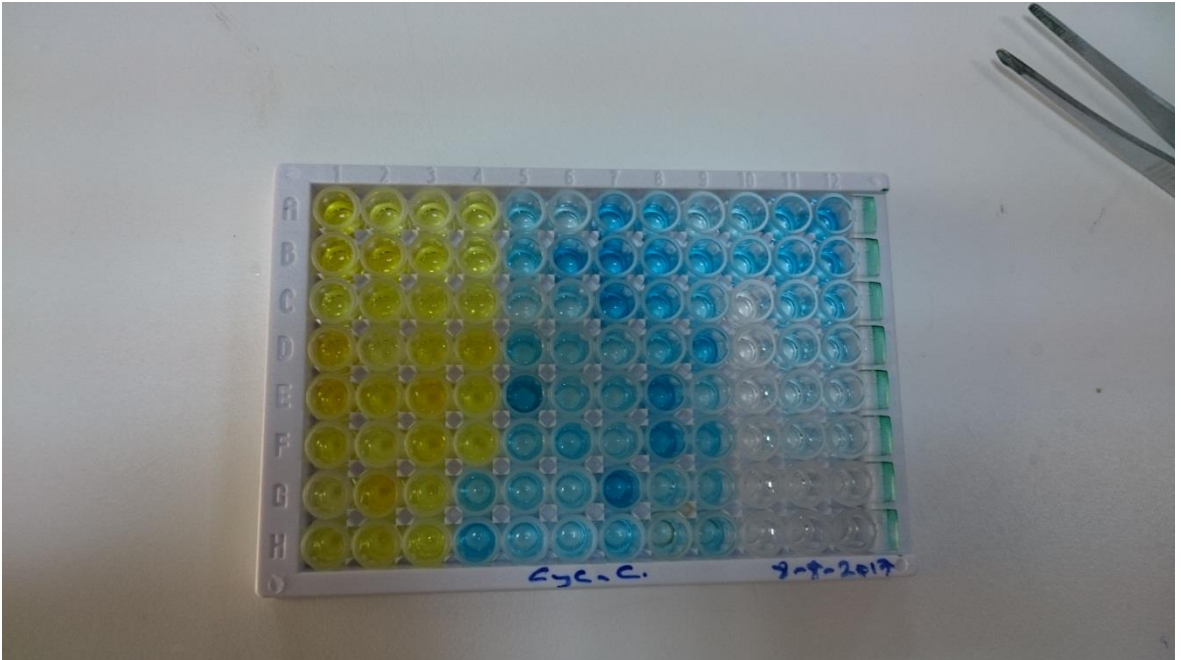
b- İnkübasyondan sonra yıkama işlemi yapıldı. Yıkama işlemi için yıkama solüsyonu distile su ile 30 kat sulandırıldı. 250 ml solüsyonu ile kuyucuklar yıkandı ve bu işlem 5 defa tekrarlandı.

c- Yıkama işleminden sonra her iki kuyucuğa 50 µl Chromogen Reagent A ve daha sonra Chromogen Reagent B eklendi (Şekil 15). Bu işlemden sonra 37 °C'de 10 dakika inkübasyon yapıldı.



Şekil 15. Chromogen Reagent A ve B eklendikten sonra playtın görünümü

d-İnkübasyondan sonra her bir kuyucuğa 50 µl stop solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu (Şekil 16).



Şekil 16. Stop solüsyonu eklendikten sonra playtın görünümü

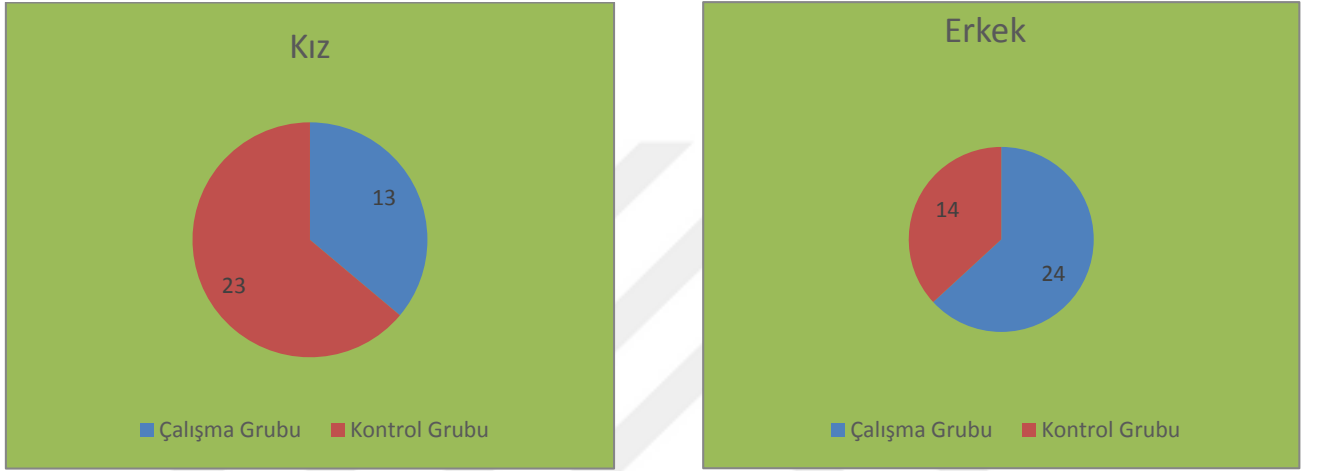
e-450 nm dalga boyunda her bir kuyucuğun absorbanası ölçüldü. Standart konsantrasyonları ve optik dansitelerine göre Curve Expert 1.4 programı kullanılarak lineer regresyon standart grafiği çizildi. Bu grafiği kullanarak örnek optik dansitelerine göre örneklerin konsantrasyonları hesaplandı.

İstatistiksel Yöntemler:

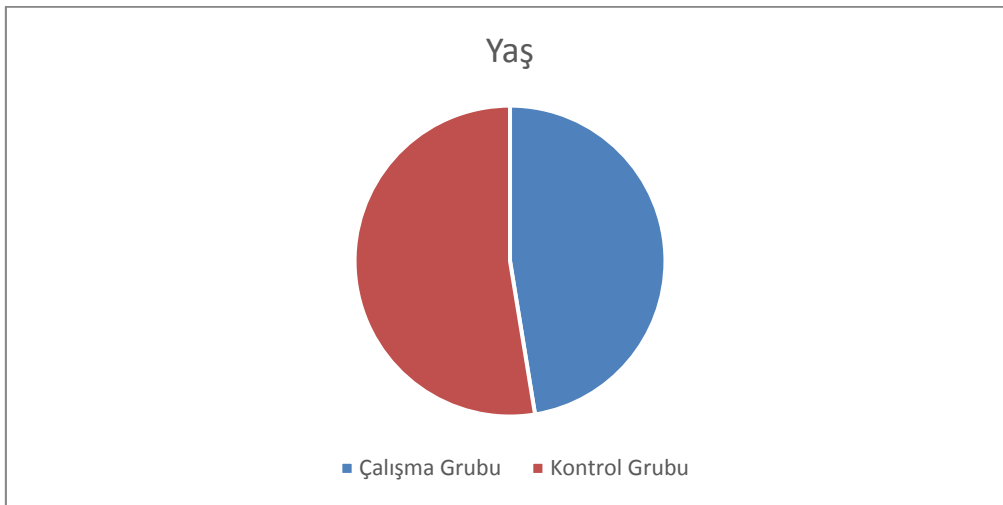
Verilerin analizi SPSS22 (Statistical Package for Social Sciences, SPSS Inc. Chicago Illinois, USA) istatistik paket programı kullanılarak yapıldı. Değerler ortalama \pm standart hata olarak verildi. Bu değişkenler arasındaki ilişkiyi belirlemede tek yönlü varyans analizi ANOVA kullanıldı ve $p < 0.05$ ten daha küçük değerler anlamlı olarak kabul edildi. Gruplardaki değişkenler arasındaki ilişkileri belirlemede Pearson korelasyon analizi kullanıldı.

4. BULGULAR:

Çalışma grubunda düzenli eritrosit transfüzyonu alan beta talasemi majörlü 37 hastanın 24'ü (%64.8) erkek, 13'ü (%35.2) kızdı. Hastaların yaşları 2 ile 18 yıl (ortanca $8,47 \pm 0,76$ yıl) arasında değişiyordu. Kontrol grubundaki 37 çocuğun 14'ü (%37,8) erkek, 23'ü (% 62,2) kız olup yaşları 2 ile 15 yıl (ortanca $9,39 \pm 0,44$ yıl) arasındaydı. Gruplar arasında cinsiyet ve yaş açısından istatistiksel fark yoktu (Şekil 17 ve Şekil 18).



Şekil 17. Gruplar arası cinsiyet dağılımı



Şekil 18. Gruplar arası yaş dağılımı

Kontrol grubunda boy ve vücut ağırlığı çalışma grubuna göre daha yüksekti ve bu durum istatistiksel olarak anlamlıydı (kontrol grubu ortalama boy: 138,78 cm, çalışma grubu ortalama boy: 112,70 cm $p<0,001$ ve kontrol grubu ortalama VA: 36,06 kg, çalışma grubu ortalama VA: 21,06 kg $p<0,001$). Gruplar arasında kan basıncı değerleri arasında anlamlı fark yoktu (sistolik kan basıncı çalışma grubu/kontrol grubu 100/104 mmHG diastolik kan basıncı çalışma grubu/kontrol grubu 66/68 mmHG ve $p: 0,112$ ve $p: 0,248$). Hem çalışma hem de kontrol grubunda kreatinin boy ve vücut ağırlığı ile pozitif koreleydi (Tablo 9).

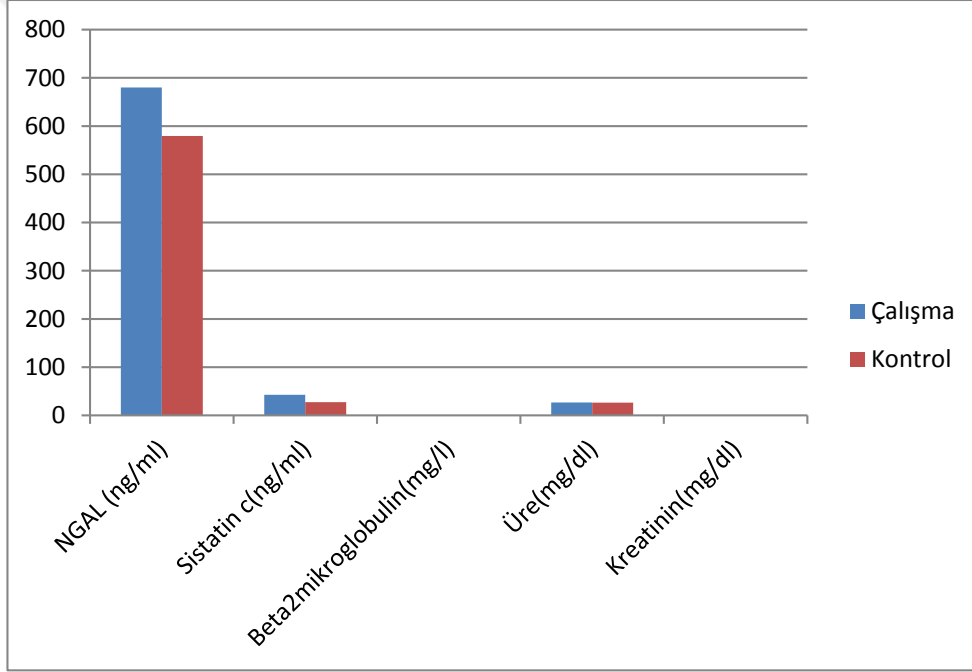
Tablo 9. Gruplar arası boy, VA ve kan basıncı değerleri

Gruplar		Ortalama	Std. Deviation	Std. Error Mean	p
VA(kg)	Çalışma Grubu	21,064865	12,8241789	2,1082820	<0,001
	Kontrol Grubu	36,062162	13,8855911	2,2827771	<0,001
Boy(cm)	Çalışma Grubu	112,70	25,495	4,191	<0,001
	Kontrol Grubu	138,78	22,289	3,664	<0,001
Sistolik TA(mmHg)	Çalışma Grubu	100,57	10,274	1,737	0,112
	Kontrol Grubu	104,12	7,831	1,343	0,111
Diastolik TA(mmHg)	Çalışma Grubu	66,00	8,117	1,372	0,248
	Kontrol Grubu	68,06	6,684	1,114	0,249

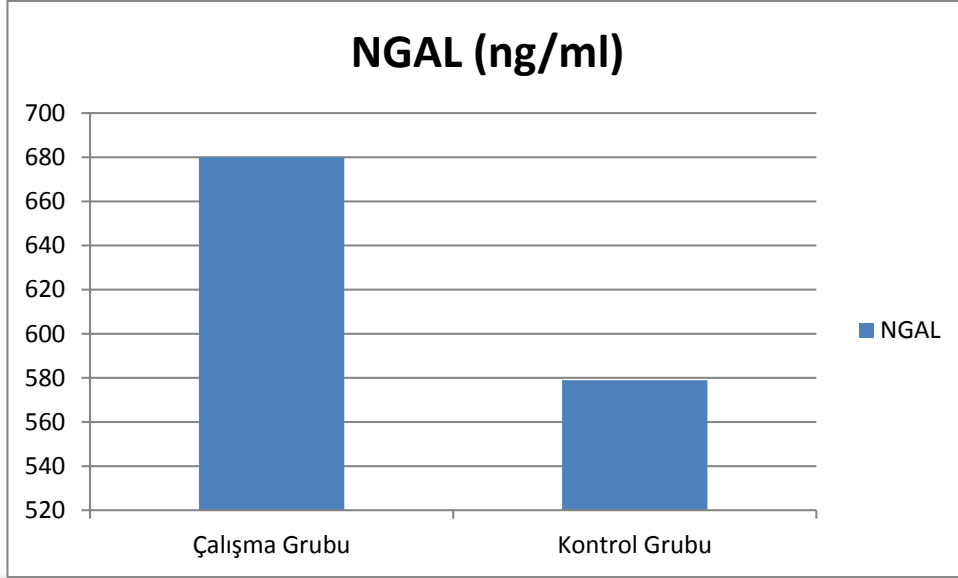
Çalışma grubunda NGAL (680,034±29,501 ng/ml) ve Sistatin-c (42,549±4,328 ng/ml) düzeyleri kontrol grubundan (NGAL; 579,322±29,985 ng/ml ve Sistatin-c 27,498±3,323 ng/ml) anlamlı olarak (NGAL $p:0,019$ ve Sistatin-C $p: 0,008$) yüksek bulunmuştur. Gruplar arası parametreler Tablo 10 ve Şekil 19’da gösterilmektedir.

Tablo 10. Gruplar arası parametreler

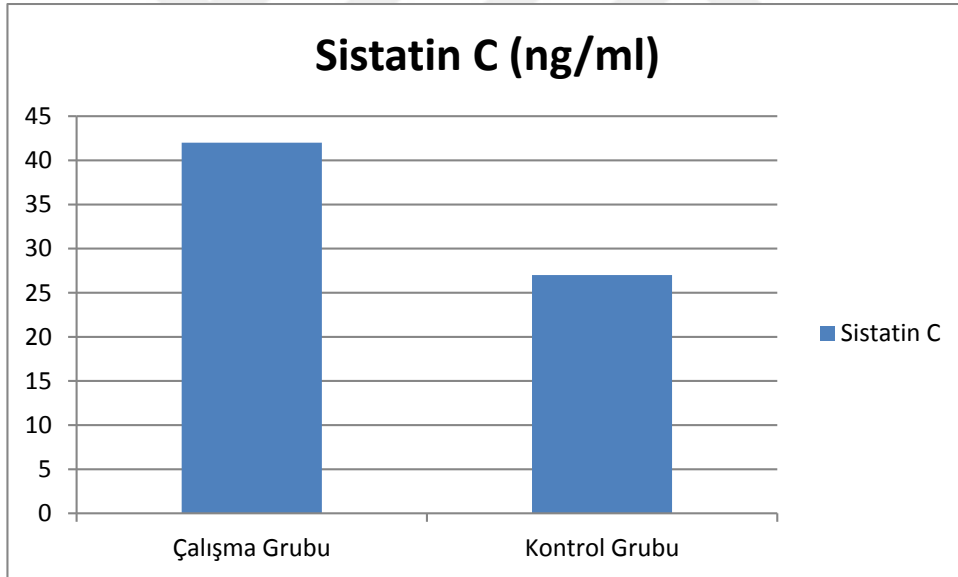
	Çalışma Grubu	Kontrol Grubu	p
NGAL(ng/ml)	680,034±29,501	579,322±29,985	0,019
Sistatin C(ng/ml)	42,549±4,328	27,498±3,323	0,008
β2-Mikroglobulin(mg/l)	0,269±0,012	0,307±0,035	0,316
Kreatinin(mg/dl)	0,471±0,0157	0,597±0,0155	<0,001
Üre(mg/dl)	26,84±1,677	26,54±0,962	0,878



Şekil 19. Gruplar arası parametreler



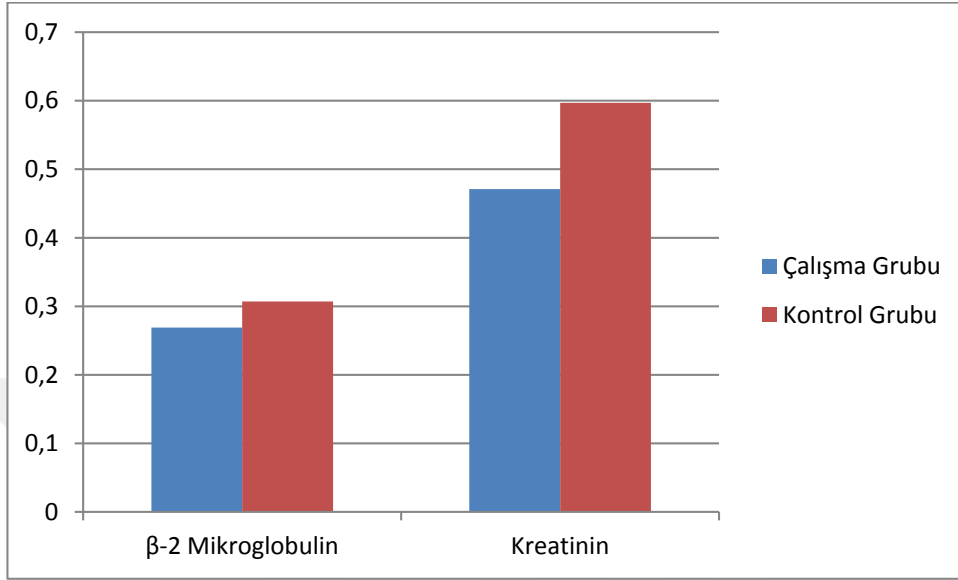
Şekil 20. Gruplar arası NGAL düzeyi



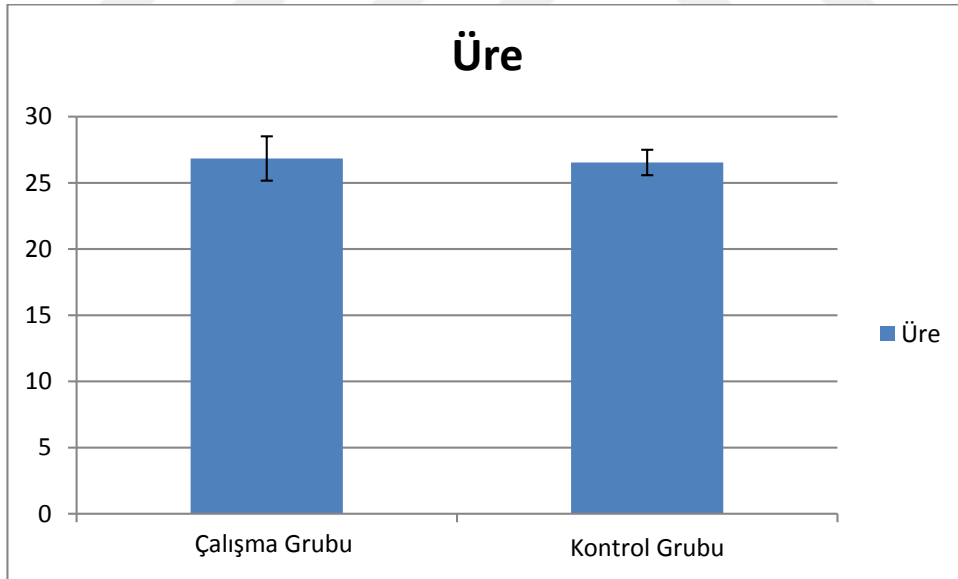
Şekil 21. Gruplar arası Sistatin-C düzeyi

Kontrol grubunda kreatinin ($0,597 \pm 0,0155$ mg/dl) düzeyi çalışma grubundan ($0,471 \pm 0,0157$ mg/dl) anlamlı olarak ($p < 0,001$) yüksekti. β 2M ve üre düzeyleri gruplar arasında anlamlı fark göstermemektedir (çalışma grubu; β 2M: $0,269 \pm 0,012$ mg/l kontrol

grubu β 2M: $0,307 \pm 0,035$ mg/l, p: 0,316 ve çalışma grubu üre: $26,84 \pm 1,677$ mg/dl kontrol grubu üre: $26,54 \pm 0,962$ mg/dl, p: 0,878).



Şekil 22. Gruplar arası β 2-Mikroglobulin ve kreatinin düzeyleri



Şekil 23. Gruplar arası üre düzeyi

Tablo 11. Çalışma grubunda parametreler arası korelasyon

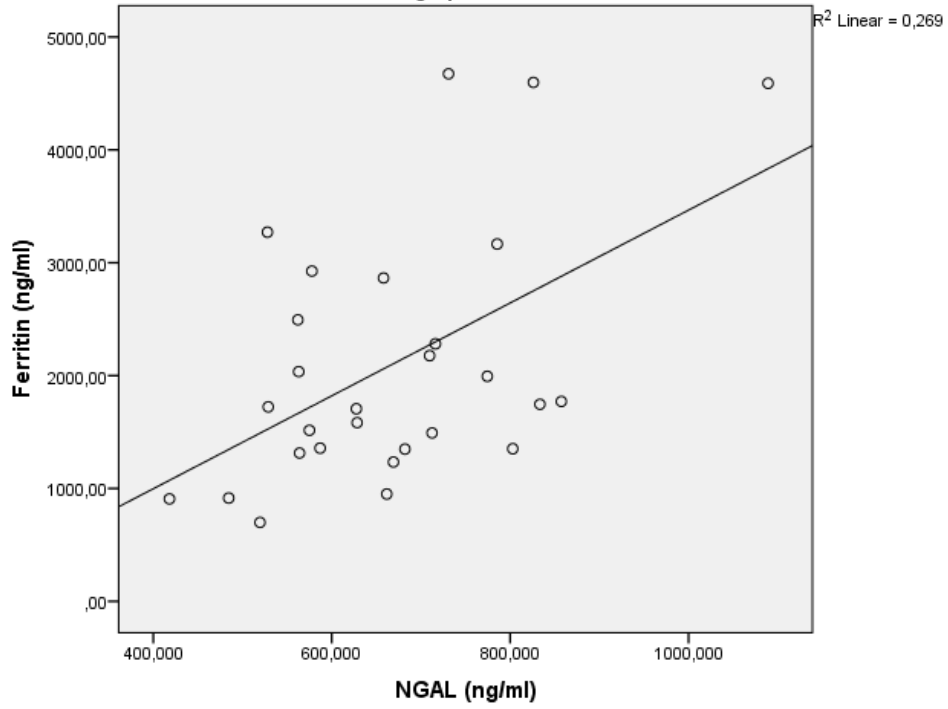
		NGAL(ng/ml)	Yaş(yıl)	sistatinc(ng/ml)	β2m(mg/l)	üre(mg/dl)	kreatinin(mg/dl)
NGAL(ng/ml)	r	1	-,200	,227	-,407*	-,222	-,132
	p		,250	,204	,015	,200	,451
Yaş(yıl)	r	-,200	1	-,266	-,073	,173	,715**
	p	,250		,122	,668	,306	,000
Sistatinc(ng/ml)	r	,227	-,266	1	-,206	-,218	-,076
	p	,204	,122		,235	,209	,664
β2M(mg/l)	r	-,407*	-,073	-,206	1	,366*	,166
	p	,015	,668	,235		,026	,327
Üre(mg/dl)	r	-,222	,173	-,218	,366*	1	,345*
	p	,200	,306	,209	,026		,036
Kreatinin(mg/dl)	r	-,132	,715**	-,076	,166	,345*	1
	p	,451	,000	,664	,327	,036	

Çalışma grubunda β2-Mikroglobulin ve NGAL arasında negatif korelasyon bulunmaktadır. Çalışma grubunda kreatinin ve yaş arasında pozitif korelasyon bulunmaktadır. Çalışma grubunda üre; β2-Mikroglobulin ve kreatinin ile pozitif koreledir. Çalışma grubunda NGAL ile sistatin c arasında korelasyon bulunmamaktadır. Çalışma grubunda ferritin düzeyi ile NGAL arasında pozitif korelasyon bulunmaktadır.

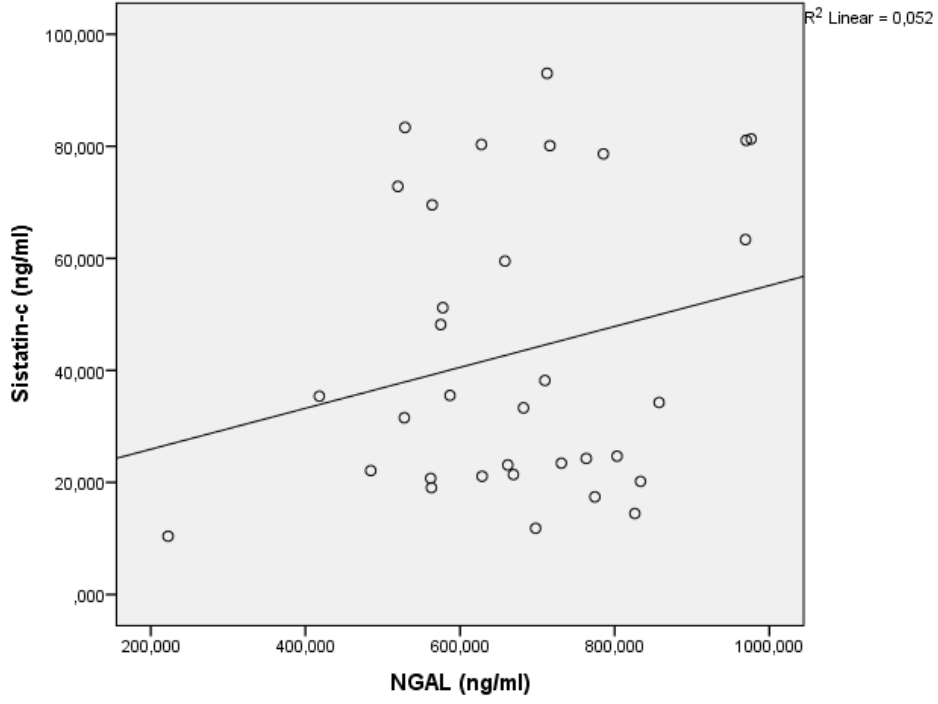
Tablo 12. Kontrol grubunda parametreler arası korelasyon

		NGAL(ng/ml)	Yaş(yıl)	sistatinc(ng/ml)	β2M (mg/l)	Üre(mg/dl)	Kreatinin(mg/dl)
NGAL(ng/ml)	r	1	-,075	,098	,163	-,292	,079
	p		,662	,600	,350	,084	,647
Yaş(yıl)	r	-,075	1	,132	-,308	-,332*	,697**
	p	,662		,471	,068	,045	,000
sistatinc(ng/ml)	r	,098	,132	1	,080	-,025	,081
	p	,600	,471		,668	,892	,661
β2M (mg/l)	r	,163	-,308	,080	1	,164	-,306
	p	,350	,068	,668		,338	,069
Üre(mg/dl)	r	-,292	-,332*	-,025	,164	1	-,047
	p	,084	,045	,892	,338		,780
kreatinin(mg/dl)	r	,079	,697**	,081	-,306	-,047	1
	p	,647	,000	,661	,069	,780	

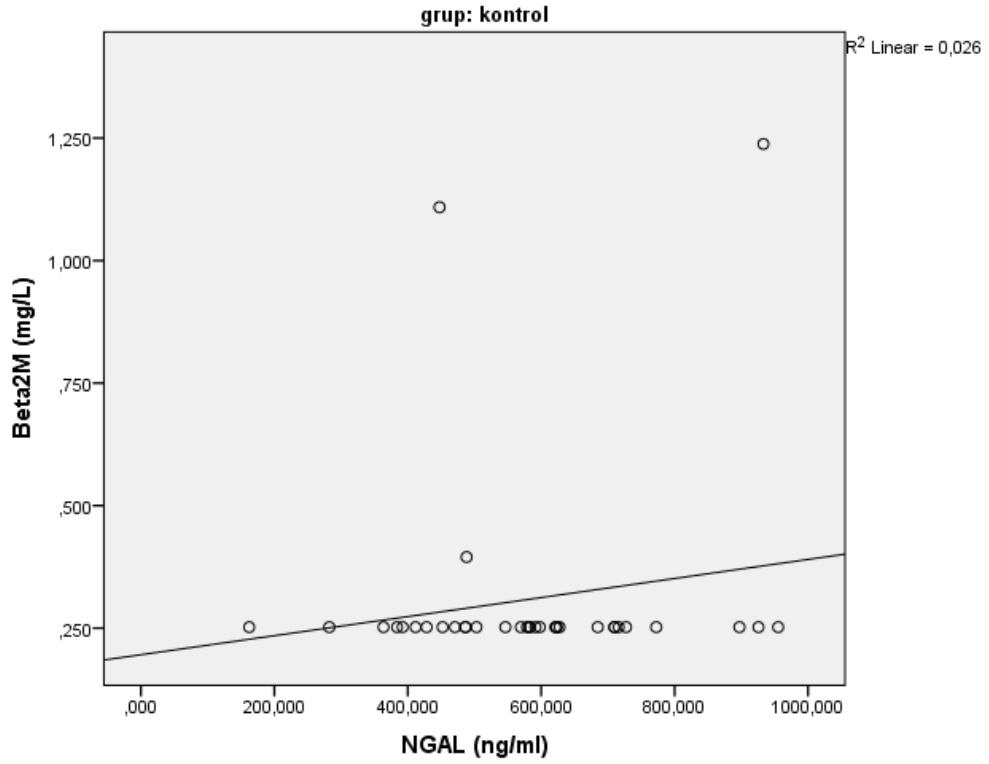
Kontrol grubunda yaş, üre ile negatif korelasyon gösterirken, kreatinin ile pozitif korelasyon göstermektedir. Kontrol grubunda NGAL ve β 2M arasında pozitif korelasyon bulunmaktadır.



Şekil 24. Çalışma grubunda NGAL ve ferritin arasındaki pozitif korelasyon



Şekil 25. Çalışma grubunda NGAL ve sistatin-c arasındaki korelasyon



Şekil 26. Kontrol grubunda NGAL ve β 2M arasındaki korelasyon

5. TARTIŞMA:

Talasemi hastalığı hemoglobin molekülünü oluşturan globin zincirlerinden bir veya daha fazlasının defektif sentezlenmesi sonucu normal hemoglobin sentezinin kısmi azaldığı veya tamamen kaybolduğu dünya üzerinde sık görülen bir grup heterojen otozomal resesif geçişli herediter hematolojik bir hastalıktır. Etkilenen globin zincirine göre alfa, beta, gama ve delta talasemiler olarak sınıflandırılırlar (19).

Talasemi majör ülkemizin coğrafik konumu, akraba evliliği oranı ve doğum hızının yüksek oluşu gibi nedenlerle sık görülmektedir. Ülkemizde talasemi taşıyıcılığı sıklığı % 1'dir (52). Birçok ilde evlilik öncesinde talasemi taşıyıcılığı açısından yapılan tarama testlerine rağmen talasemi halen önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir (52). Talasemi hastalarında 200'den fazla nokta mutasyon saptanmıştır. Farklı mutasyonlar sonucunda talasemi hastalarında çok geniş klinik spektrum görülebilmektedir (52). Hastalığın tedavisinde en temel hedeflerden birisi de talasemi majörlü hasta çocukların doğmasını engellemektir. Bu amaçla taşıyıcı ailelerin ve bireylerin saptanarak evlilik öncesi genetik danışmanlık verilmesi çok önemlidir (189).

Beta talasemi majör, günümüzde düzenli transfüzyon ve şelasyon tedavileri ile mortalitesinde ve morbiditesinde belirgin azalma görülen, hematopoetik kök hücre nakli ile küratif tedavisi yapılabilen ve gelecekte gen tedavisi ile prognozunda daha ileri başarılar beklenen bir hastalıktır. Günümüzde hastalığın tek kesin tedavisi allojeneik kemik iliği naklidir (189). Ancak transplantasyon yapılmış olgularda da hem primer hastalığa, hem de transplantasyona sekonder komplikasyonlar görülebilmektedir. Hazırlayıcı rejimde kullanılan sitotoksik ajanlar, transplantasyon sırasında açığa çıkan sitokinler, araya giren enfeksiyonlar, olguların transplantasyon sonrası yaklaşık iki yıl kadar bağışıklık sisteminin baskılanması, beslenme bozuklukları, psikolojik stres gibi faktörler nedeniyle büyüme-gelişme geriliği başta olmak üzere pek çok endokrin fonksiyon bozukluğu görülebilmektedir (190, 191). Günümüzde kemik iliği nakli dışında kalıcı bir tedavisi olmayan β TM' de hastalar genellikle aşırı demir yükünün kalp komplikasyonları sonucu 30 yaşından önce ölmektedirler (18).

Uygun tedavi seçenekleri ile talasemi majörlü hastaların beklenen hayat süreleri uzamış, bunun yanı sıra yeni komplikasyonlar ortaya çıkmıştır (192). Kan transfüzyonlarına bağlı olarak ortaya çıkan demir birikiminin görüldüğü bir diğer organ

ise böbreklerdir (159). Talasemili çocukların uzun süreli sağkalımı; yaşam beklentisi ve yaşam kalitesi önemli ölçüde iyileşmiştir. Bu, kısmen düzenli kan transfüzyonlarını içeren iyileştirilmiş tedavi rejimleri ve demir şelasyon tedavisine atfedilir. Bununla birlikte, daha önce fark edilmemiş komplikasyonların ve hastalığın eşlik eden hastalıklarının ortaya çıkmasına olanak sağlamıştır (193).

Lipokalin protein ailesinin bir üyesi olan nötrofil jelatinaz ilişkili lipokalin (NGAL), küçük ve hidrofobik molekülleri bağlama özelliği olan ve hücre homeostazında rol oynayan ekstraselüler proteinlerdendir (100). NGAL aktifleştirilmiş nötrofiller tarafından salınan 25 kDa'lık bir lipokalin demir taşıyan bir proteindir (194). NGAL proteininin; kalp yetmezliği, ateroskleroz, böbrek yetmezliği, inflamatuvar hastalıklar, metabolik hastalıklar, malignite ile ilişkili olduğu ve bu hastalıklarda ekspresyonunun değiştiği saptanmıştır (121). NGAL'in son yıllarda akut böbrek hasarını göstermede ve ABH oluştuktan sonra 2-6. saatlerde yükseldiğini bildiren çalışmalar mevcuttur (195). NGAL böbreklerde proksimal tüp, distal tüp ve henle kulbunun epitelyal hücrelerden eksprese edilir. Renal tübüler hasarda seviyesi artar. İdrarda NGAL atılımı, NGAL tekrar emilimini bozan veya NGAL sentezini arttıran proksimal tübüler hasar olduğunda ortaya çıkar. NGAL, akut böbrek hasarı ile çarpıcı bir şekilde yükselir (194).

Padhy ve ark. yaptıkları çalışmada perkutan koroner anjiyografi sonrası ABH gelişen hastalarda serum NGAL düzeyinin 4. saatte belirgin şekilde yükseldiğini ve tedavinin ardından ortalama 48 saatte normal değerlere gerilediğini saptamışlar (196). Serum ve idrar NGAL düzeylerini kontrast madde nefropatisinin erken tanısındaki rolüne dikkati çeken başka bir çalışmada Lacquaniti ve ark. akut böbrek hasarı açısından anlamlı olarak yüksek bulmuştur (197). Literatürde yapılan başka bir çalışmada ise ABH'da idrar NGAL düzeyinin; kreatinin ve plazma NGAL düzeyinden önce yükseldiği saptanmış ve erken ABH tanısı için değerli olduğu düşünülmüştür (198). Koyner JL ve ark. tarafından yoğun bakım ünitesindeki akut böbrek yetmezliği tanısı ile takip edilen hastalarda NGAL' in geleneksel ve diğer yeni biyobelirteçlerden daha üstün olduğu saptanmıştır (199). Ralib A ve ark. yaptığı çalışmada ABY hastalarının acil servise başvurudan sonraki 6-24 saat aralığında NGAL'in yükseldiğini saptamış ve ABY tanısını acil serviste koyabilmiştir. Bu çalışmada NGAL düzeyinin 24. saat pik değerinin bağımsız olarak 30 günlük mortaliteyi ve diyaliz ihtiyacını

belirlediği gösterilmiştir. NGAL diğer biyobelirteçlerle karşılaştırıldığında mortalite ve diyalizi en iyi tahmin eden biyobelirteç olarak görülmüştür (200).

Beta talasemi majörlü çocuklarda böbrek tutulumu ile ilgili bazı çalışmalar değişen derecelerde böbrek tübül bozukluğunu göstermiştir (201). Söz konusu bu çalışmada β TM hastalarında kronik anemi, demir birikimi, belirli demir şelatörlerin çökmesi ve muhtemel toksisitesi böbrek tutulumunun altında yatan etyolojiler olarak düşünülmüştür (201). Kronik böbrek hasarlanması ile normal fonksiyon arasındaki farkları göstermede biyobelirteçler ölçülebilir biyolojik moleküllerdir. Bazı yeni idrar biyolojik belirteçleri, erken akut böbrek hasarında test edilmiştir. Bu belirteçlerin artan seviyeleri, subklinik renal hasar göstergesi olabilir ve bu yeni belirteçler, böbrek hasarının ve prognozunun erken değerlendirilmesinde kullanılabilir. Bu biyolojik belirteçler çeşitli böbrek yaralanmalarında tübül hücreler tarafından ölçülebilir proteinler olarak üretilir ve salgılanır. Renal tübül hasarlanmayı göstermede kullanılan belirteçlerden biri de NGAL olarak düşünülebilir (202). Yapılan bir çalışmada NGAL; lupus nefriti, IgA nefropatisi ve idrar yolu enfeksiyonu gibi ABH olmayan hastalarda da yükselmiştir (203).

Beta talasemi majör hastalarının böbrek fonksiyonlarının değerlendirilmesinde laboratuvar değerlerinde bozulma olmadan klinik olarak erken fark edilmesi önemlidir, çünkü böbrek fonksiyon bozukluğu birçok kısa ve uzun vadeli etkiyle ilişkilendirilebilir. Hastaların sonuçlarını iyileştirmede erken böbrek hasarını tanımak optimum bakım için kritik öneme sahip olabilir. Bundan dolayı talasemide böbrek tutulumunun erken ve güvenilir bir biyogöstergesini tanımlamak çok önemlidir (160). Daha önce beta talasemi majör hastalarında böbrek hasarının gösterilmesi açısından yapılan çeşitli çalışmalar mevcuttur. Beta talasemi majörlü pediyatrik hastalarda glomerüler ve tübül disfonksiyonların yüksek sıklığı bulunmaktadır ve böbrek patolojileri özellikle de pretransfüzyonel düşük hemoglobin seviyeleri ile ilişkilendirilmektedir. Bu nedenle, talasemi majör hastalarında idrar NGAL düzeyi gibi renal disfonksiyonun erken belirteçlerinin rutin kullanımı önerilmektedir (159). Yine Şen ve ark.'nın yaptığı başka bir çalışmada üriner NGAL'in β TM hastalarında böbrek hasarını izlemek için güvenilir gösterge olarak düşünülebileceğini göstermektedir (160). Bizde bu nedenle çalışmamızda talasemi majör hastalığının ve tedavide kullanılan düzenli kan transfüzyonunun neden olduğu demir birikiminin böbrekler üzerine olan etkilerinin

daha iyi saptanması ve β TM' de oluşabilecek böbrek hasarını erken belirlemek istedik. Bu amaçla böbrek yetmezliğinin geleneksel göstergeleri olarak kullanılan üre, kreatinin; erken böbrek hasarını göstermede kullanılan sistatin-c ve beta-2 mikroglobulini literatürde çok sayıda hastalıkta erken biyobelirteç olarak kullanımının yararlı olacağı düşünülen NGAL ile karşılaştırdık.

Şen ve ark.'nın β TM'li çocuk hastalarda yaptıkları bir çalışmada serum üre ve kreatinin değerlerinin normal sınırlar içinde olduğu ve kontrol grubuyla benzer düzeylerde olduğu görülmüştür (160). Aldudak ve ark.'nın yaptığı başka bir çalışmada ise serum üre ile beraber potasyum, fosfor ve ürik asit düzeylerinin beta talasemi majör hastalarında yüksek olduğu bulunmuştur (204). Başka bir araştırma, β TM 'li çocuklarda kontrollere kıyasla kreatinin düzeylerinin daha yüksek olduğunu gösterdi (193). Mohkam ve ark. talasemi hastalarında yüksek serum kreatinin düzeyi bildirmiştir (205). Buna karşılık, birkaç yazar β TM hastalarında normal serum kreatinin düzeyi tespit etmiştir (204). Literatürde β TM hastalarında büyüme geriliği ile ilgili birçok araştırma mevcuttur. Soliman ve ark. beta talasemi majör hastaları ve sağlıklı çocuklarla yaptıkları bir çalışmada büyüme geriliği oranını β TM hastalarında anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır (206). Gomber ve ark. talasemi majörlü hastalarda boy kısalığının 10 yaşından sonra anlamlı olarak oluştuğunu tespit etmişler ve boy kısalığı oranının ilk 10 yaşta %35,4 iken 10 yaş sonrası bu oranın %75 olduğunu bildirmişlerdir (207). Bizim çalışmamızda serum üre, değerinde her iki grup arasında anlamlı fark bulunmasa da, (p: 0,878) kontrol grubunda kreatinin değeri çalışma grubuna göre istatistiksel olarak yüksek bulundu (p<0,001). Biz bunun nedenini kontrol grubundaki hastaların büyüme persentillerinin normal sınırlarda seyretmesi ve β TM hastalarındaysa büyüme gelişme geriliği olması sebebiyle kas kitlesinin azlığı ve kreatinin değerinin kas kitlesinden etkilenmesine bağladık.

Nishida ve ark. yaptıkları bir çalışmada çeşitli etiyolojilerden gelen kronik böbrek hastalığı olan pediyatrik hastalarda üriner NGAL düzeylerinde anlamlı bir artış tespit etmiştir ve bu artışın proteinüri ile doğru orantılı olduğunu söylemişlerdir (208). Şen ve arkadaşları talasemi majörlü 52 çocuk hastada yaptıkları çalışmada üriner NGAL düzeyini yüksek saptamıştır ve üriner NGAL düzeyinin böbrek fonksiyon bozukluğunun taranmasında bir biyolojik belirteç olarak potansiyel sunduğunu ve böylelikle gelecekte böbrek fonksiyonlarında bozulma olasılığı bulunan hastaları

belirlemede kullanılabileceğini öne sürmüşlerdir (160). Roudkenar ve ark.'nın 25 yetişkin ve 9 çocuk β TM hastasında yaptıkları çalışmada yetişkin beta talasemi majör hastalarının normal örneklerle karşılaştırıldığında NGAL salgılanmasında artış olduğu ancak pediatrik hastalarda artış olmadığını gözlemlemişler (209). Özek ve ark. yaşları 5-19 yıl arasında değişen 53 β TM hastası ve yaşları 3.5-18 yıl arasında değişen 47 sağlıklı çocukta yaptıkları çalışmada β TM hastalarında böbrek glomerüler ve tübüler disfonksiyonun sıklığını ve artmış idrar NGAL düzeylerini tespit etmişler (159). Biz çalışmamızda bizden önceki çalışmalarla benzer olarak yaşları 2-18 yıl arasında değişen 37 β TM hastasında idrar NGAL seviyesinin kontrol grubundaki yaşları 2-15 yıl arasında değişen 37 sağlıklı çocuğa göre istatistiksel olarak anlamlı derecede artmış olduğunu gördük (p:0.019).

Schardjin ve ark. yaptıkları bir çalışmada renal proksimal tübül fonksiyonunun bozulmasının, normalde proksimal tübüler hücreler tarafından reabsorbe olan idrar β 2M atılımında artışa neden olduğunu göstermişler (210). Kaminska ve ark. tekrarlayan idrar yolu enfeksiyonu, reflü nefropatisi ve çeşitli nedenlerle oluşan renal hasarda idrar β 2M atılımının arttığını bildirmişler ve renal hasarın erken değerlendirilmesinde ayrıca renal fonksiyonların erken teşhisinde idrar β 2M seviyesinin ölçülmesini önermişlerdir (211). Shlipak ve ark. yaptıkları çalışmada renal fonksiyonları değerlendirmede sistatin-c'nin iyi bir belirteç olduğunu göstermişler (212). Yapılan başka bir çalışmada serum sistatin-c düzeyinin özellikle glomerüler filtrasyonun değerlendirilmesinde daha erken bir belirteç olduğu vurgulanmıştır (213). Biz yaptığımız çalışmada erken böbrek hasarını göstermede belirteç olarak kullanıma giren sistatin-c ve beta-2 mikroglobulin düzeylerini de ölçtük. Sistatin-c yi kanda çalışırken β 2M ise idrarda çalıştık. Kontrol grubu ile kıyaslandığında sistatin-c düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulurken (p: 0,008), beta-2 mikroglobulin düzeyinde anlamlı bir fark elde etmedik (p: 0,316).

Çok sayıda transfüzyon yapılan hastalarda, uygun ve yeterli şelasyon tedavisi verilmezse ya da şelasyon tedavisinde başarısızlık olursa serum ferritin düzeyi artmaktadır. Literatürde yapılan birçok çalışma gibi Roudkenar ve ark. yaptıkları çalışmada talasemi majör hastalarında ferritin düzeyini normal örneklerle kıyasladığında daha yüksek bulmuşlar ve NGAL düzeyi ile ferritin arasında pozitif korelasyon olduğunu tespit etmişler (209). Kim ve ark. yaptıkları başka bir çalışmada serum NGAL

ile ferritin düzeyi arasında anlamlı artış olduğunu göstermişler (214). Yine yapılan başka bir çalışmada serum ferritin düzeyi ile NGAL düzeyi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur (215). Biz de yaptığımız bu çalışmada literatürdeki bir çok çalışmayla uyumlu olarak serum ferritin değeri ile NGAL arasında anlamlı pozitif korelasyon bulduk. Hastalarımızın tamamı demir şelatörü olarak oral deferasiroks kullanmaktaydı.

Literatürde yapılan birçok çalışma gibi biz de çalışmamızda beta talasemi majör hastalarında demir birikimine bağlı olarak böbreklerde pratikte rutin olarak kullanılan böbrek yetmezliği belirteçlerinden üre ve kreatinin yükselmeden önce erken biyobelirteç olarak kullanılması düşünülen idrar NGAL'de yükseklik ve talasemi majör hastalarında subklinik böbrek hasarlanması tespit ettik. Bu hastalarda böbrekte oluşabilecek komplikasyonları erkenden tespit etmede ve önlemede bir veya daha fazla biyobelirtecin kullanılması; hastalarda oluşabilecek morbidite ve mortaliteyi azaltmak açısından faydalı olacaktır. Hastaların düzenli eritrosit transfüzyonu ve şelasyon tedavisi gibi erken böbrek hasarlanması açısından da yakın izlemde tutulması yaşam kalitesi ve standartlarında artış sağlayacaktır.

6. SONUÇLAR:

1. Bu çalışmada 37 beta talasemi majör hastası ve 37 sağlıklı çocuk değerlendirilmiştir.

2. Çalışma ve kontrol grubunda yaş ve cinsiyet açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (p:0,282).

3. Çalışma ve kontrol grubunda sistolik ve diastolik kan basıncı değerleri açısından anlamlı bir fark yoktu (p:0,248 ve p:0,112)

4. Kontrol grubunda çalışma grubuna göre VA ve boy açısından anlamlı bir fark mevcuttu (p<0,001 ve p<0,001)

5. Çalışma grubunda idrar NGAL düzeyi kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulundu (p:0,019).

6. Çalışma grubunda serum sistatin c düzeyi kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulundu (p:0,008)

7. Çalışma grubunda idrar β 2M ve serum üre düzeyleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark bulunmadı (p:0,316 ve p:0,878).

8. Kontrol grubunda serum kreatinin düzeyleri çalışma grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulundu (p<0,001). Biz bunu kontrol grubuna kıyasla çalışma grubundaki hastalarda büyüme gelişme geriliği nedeniyle kas kitlesinin az olması ve kreatinin değerinin kas kitlesinden etkilenmesine bağladık.

9. Çalışma grubundaki hastalarda serum ferritin düzeyi ile idrar NGAL düzeyi arasında pozitif korelasyon bulundu. Hastalarımızın tamamı demir şelatörü olarak oral deferasiroks kullanmaktaydı.

10. Çalışma grubunda β 2M ve NGAL arasında negatif korelasyon bulunmaktaydı.

11. Kontrol grubunda yaş, üre ile negatif korelasyon gösterirken, kreatinin ile pozitif korelasyon göstermektedir.

12. Çalışma grubunda β 2-Mikroglobulin ve NGAL arasında negatif korelasyon bulunmaktadır.

13.Çalışma grubunda kreatinin ve yaş arasında pozitif korelasyon bulunmaktadır.

14. Çalışma grubunda üre; β 2-Mikroglobulin ve kreatinin ile pozitif koreledir.

15. Hem çalışma hem de kontrol grubunda kreatinin boy ve VA ile pozitif koreleydi.

Sonuç olarak düzenli kan transfüzyonu alan beta talasemi majör hastalarında subklinik böbrek hasarı oluşmaktadır. Bu hasarı göstermede idrar NGAL düzeyi bir biyobelirteç olarak kullanılabilir. Ancak bunun için kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.



7. KAYNAKLAR:

1. Cunningham M. The Thalassemias. In: *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood* (Nathan David G., IV Samuel Lux, Look A. Thomas, Ginsburg David, Orkin Stuart H., Fisher David E.). Philadelphia: WB Saunders. 2009; 1015-106
2. Keser I. Hemoglobinopatilerde moleküler çalışmalar. *Türkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2007; 3: 9.
3. Martin A, Thompson A. Thalassemias. *Pediatr Clin North Am* 2013; 60: 1383-91.
4. Baytan B, Sağlam H, Erdol Ş, Beyazit AN, Ozgur T, Gunes AM. ve ark. Talasemi majorlu vakalarda endokrin komplikasyonların değerlendirilmesi. *Güncel Pediatri* 2008;6:58-65
5. Güler E, Patıroğlu T, Çaksen H, Özdemir MA, Kurtoğlu S, Kendirci M, Talasemi Majörlü Vakalarda Endokrin Komplikasyonların Değerlendirilmesi. *Türk Pediatri Arşivi* 1999;34:4
6. Kennelly PJ, Rodwell VW. Proteins: Myoglobin & hemoglobin. Ed. Murray RK, Bender DA, Botham KM, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA. pp. 43-50, Harper's Illustrated Biochemistry, The McGraw-Hill Companies, China, 2009.
7. Champe PC, Harvey RA, Ferrier DR. Lippincott's Illustrated Reviews Serisinden: Biyokimya. 3. Baskıdan Çeviri Ed: Ulukaya E. s. 25-42, Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul, Türkiye, 2007
8. Higgs DR. Gene regulation in hematopoiesis: new lessons from thalassemia. *Hematol Educ Program Am Soc Hematol Am Soc Hematol Educ Program*. 2004;1-13.
9. Ho PJ, Thein SL. Gene regulation and deregulation: a beta globin perspective. *Blood Rev*. 2000;14(2):78-93.
10. Dönbak L, İnsan Hemoglobin (Hb) Varyantları. *KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi* 2005;8:13-22
11. Karaman S, Apak H, Talasemi Minör Tanısındaki Zorluklar. *Türk Ped Arş*. 2009;44: 24-26

12. Hoffman R. Thalassemia syndromes in hematology basic principles an practice In: *Hematology : basic principles and practice* (R Hoffman), 3 edn. Philadelphia. 2000; 485-509.
13. Salomon-Andonie J, Miasnikova G, Sergueeva A *et al.* Effect of congenital upregulation of hypoxia inducible factors on percentage of fetal hemoglobin in the blood. *Blood* 2013; 122: 3088-9.
14. Douglas RH, Gene Regulation in Hematopoiesis: New Lessons from Thalassemia. American Society of Hematology Education Program Book 2004;1:1-13
15. Clarke G. M, Higgins T. N, Laboratory Investigation of Hemoglobinopathies and Thalassemias. *Clinical Chemistry* 2000;46:8 1284–1290
16. Grampurohit ND, Kadam SS, Thorat RM, Thalassemia: A Review. *International Journal of Pharma Research and Development* 2010;2:101-108
17. Lanzkowsky P, Manuel of Pediatric Hematology and Onkology 4. Edition 2005
18. Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia. *Orphanet J Rare Dis.* 2010;5:11.
19. Andrews NC, Ullrich CK, Fleming MD. Disorders of iron metabolism and sideroblastic anemia. In: *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood* (Nathan DG Orkin SH), 7 edn. Philadelphia. 2009; 1054-74.
20. Higgs DR, Thein SL, Wood WG. Human haemoglobin. In: *The Thalassaemia Syndromes* (Whetherall DJ Clegg JB). Oxford: Blackwell Science. 2001; 65-120.
21. Başak N. Beta Talasemide moleküler tanı ve yöntemleri. In: *Talasemi ve Hemoglobinopatiler Tanı ve Tedavi* (Canatan D Aydınok Y). Antalya: Talasemi Federasyonu. 2007; 49-60.
22. Thein SL. Genetic modifiers of beta-thalassemia. *Haematologica.*2005;90(5):649-60.
23. Higgs DR, Engel JD, Stamatoyannopoulos G. Thalassaemia. *Lancet.* 2012;379(9813):373–83.

24. Tezcan G. Talasemi Major'lü Olgularda Kalp Hızı Değişkenliğinin Değerlendirilmesi. Uzmanlık Tezi, 2004, Antalya.
25. DeBaun M, Vichinsky E. Hemoglobinopathies. In: Kliegman RM, Behrman RE, Jenson HB, Stanton BF, editors. Nelson Textbook of Pediatrics. 18th ed. Philadelphia, Pennsylvania: Saunders Elsevier; 2007.p.2025–32.
26. Winichagoon P, Fucharoen S, Chen P, Wasi P. Genetic factors affecting clinical severity in beta-thalassemia syndromes. *J Pediatr Hematol Oncol* 2000; 22: 573-80.
27. Andrews NC, Ullrich CK, Fleming MD. Disorders of iron metabolism and sideroblastic anemia. In: *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood* (Nathan DG Orkin SH), 7 edn. Philadelphia. 2009; 1054-74.
28. Orkin SH, Kazazian HH. The mutation and polymorphism of the human beta-globin gene and its surrounding DNA. *Annu Rev Genet* 1984; 18: 131-71.
29. Weatherall DJ. Pathophysiology of thalassaemia. *Baillieres Clin Haematology* 1998; 11: 127-46
30. Birgens H, Ljung R. The thalassaemia syndromes. *Scand J Clin Lab Invest.* 2007;67(1):11–25.
31. Lo L, Singer ST. Thalassemia: current approach to an old disease. *Pediatr Clin of North America* 2002; 49: 1165-91
32. Flint J, Harding RM, Boyce AJ, Clegg JB. The population genetics of the haemoglobinopathies. *Baillieres Clin Haematol* 1998; 11: 1-51.
33. Guler E, Karacan M. Prevalence of beta-thalassemia and sickle cell anemia trait in premarital screening in Konya urban area, Turkey. *J Pediatr Hematology Oncology* 2007; 29: 783-5.
34. Gurbak M, Sivasli E, Coskun Y, Bozkurt AI, Ergin A. Prevalence and hematological characteristics of beta-thalassemia trait in Gaziantep urban area, Turkey. *Pediatr Hematol Oncol* 2006; 23: 419-25.

35. Weatherall DJ, Clegg JB. The Thalassemia Syndromes. Blackwell Science, Oxford, United Kingdom, 2001: 237-84.
36. Aksoy M. The history of beta-thalassemia in Turkey. *Turk J Pediatr* 1991; 33: 195-7
37. Hemoglobinopati ve Talasemi Eds: A Arcasoy, D Canatan, MR Köse, M Üstündağ. Ulusal Hemoglobinopati konseyi, 2. Baskı. 2003;11-19.
38. Canatan D, et al. Hemoglobinopathy prevention program in Turkey. *Thalassemia Reports* 2011; 1(s2):e4.
39. Ünal S, Alfa Talasemi Sendromları Türkiye Klinikleri Hematoloji Onkoloji talasemi özel sayısı 2010;3(1):18-22
40. Higgs DR. Alpha thalassemia: An Overview. In: *Current Views on Thalassemia* (Roath Stuart). Switzerland: Harwood Academic Publisher. 1992; 31-40.
41. Musallam KM, Rivella S, Vichinsky E *et al.* Non-transfusion-dependent thalassemias. *Haematologica* 2013; 98: 833-44.
42. Fucharoen S, Viprakasit V. Hb H disease: clinical course and disease modifiers. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009: 26-34.
43. Gülbay G, Yeşilada E, Aydoğdu İ, Özgen Ü, Otlu G. Malatya'da Beta-Talasemi Mutasyonları. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 2009;16: 209-212
44. Gümrük F. Hemoglobinopatilerin Tanı ve Tedavisinde Yenilikler. *Türk Hematoloji Derneği 9. mezuniyet sonrası eğitim kursu* 2006: 62-4.
45. Cavdar AO, Arcasoy A. The incidence of -thalassemia and abnormal hemoglobins in Turkey. *Acta Haematol* 1971; 45: 312-8.
46. Modell B, Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bull World Health Organ* 2008; 86: 480-7.
47. Kocak R, Alparslan ZN, Agrıdag G *et al.* The frequency of anaemia, iron deficiency, hemoglobin S and beta thalassemia in the south of Turkey. *Eur J Epidemiol* 1995; 11: 181-4.

48. Kutlu M, Çekmiş H, Başak M, Osman N, Açıkgöz Ö, Sevindir İ, Özcan Z. Ö, Talasemiler. *Bakırköy Tıp Dergisi* 2006;2:33-40
49. Ünal Ş, Beta Talasemi Kliniği ve Tanısı. *Türkiye Klinikleri Hematoloji Onkoloji talasemi özel sayısı* 2010;3(1):14-7
50. Başak AN, Talasemi Moleküler Genetiği Temel Moleküler Hematoloji Kursu erişim: www.thd.org.tr/doc/kurs_pdf/nazlibasak.pdf
51. Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia: Orphanet J Rare Dis. *Journal of Continuing Education Topics & Issues* 2010; 21: 5-11.
52. Rund D, Rachmilewitz E. Beta-thalassemia. *N Engl J Med* 2005; 353: 1135-46.
53. Cappellini, Cohen A, Eleftheriou A *et al.* In: *Guidelines for the Clinical Management of Thalassaemia*, 2nd Revised edn. Nicosia (CY). 2008.
54. Weatherall DJ. The definition and epidemiology of non-transfusion-dependent thalassemia. *Blood Rev* 2012; 26 Suppl 1: S3-6.
55. Canan V. Talasemi İntermedia İzlemi Ve Komplikasyonlarının Yönetimi. 5. Uluslararası Talasemi Yazokulu erişim: <http://www.talasemifederasyonu.org.tr/pdf/5utyobilimsel/9komplikasyon.pdf>
56. Akar N. Thalassaemia Sendromları. In: *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Kitaplar Serisi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları*. 1997; 325-43.
57. Neyzi O, Eruğrul T, *Pediatric* 4. Baskı 2010 Nobel Tıp Kitapları Cilt:2 s(1306-1307)
58. Lanskowsky P. Hemoglobinopathies. In: *Manual of Pediatric Hematology and Oncology* (Lanzkowsky Philip). California, USA: Academic Press. 2011; 200-47.
59. Izadyar S, Fazeli M, Izadyar M *et al.* Bone mineral density in adult patients with major thalassaemia: our experience and a brief review of the literature. *Endokrynol Pol* 2012; 63: 264-9.
60. Chatterjee R, Shah FT, Davis BA *et al.* Prospective study of histomorphometry, biochemical bone markers and bone densitometric response to

pamidronate in beta-thalassaemia presenting with osteopenia-osteoporosis syndrome. *Br J Haematol* 2012; 159: 462-71.

61. Aydınok Y. Talasemi Merkezlerinde Tanıya Yönelik Kullanılan Yöntemler. 5. Uluslararası Talasemi Yazokulu

62. Fucharoen S, Weatherall DJ. The hemoglobin E thalasseмииs. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012; 2.

63. Gibbons R, Higgs DR, Olivieri NF *et al.* The β thalassaemias. In: *The Thalassaemia Syndromes* (Weatherall DJ Clegg JB). Oxford: Blackwell Science. 2001; 287-356.

64. Barbara JB. The α , β , δ and γ thalasseмииs and related conditions. In: *Haemoglobinopathy Diagnosis* (BJ Bain). Oxford: Blackwell Publishing. 2001; 49-112.

65. Başak AN, Talasemi Moleküler Genetiği. erişim: sakur.uludag.edu.tr/dosya/FR-HYE-04-416-01.pdf

66. Galanello R, Melis MA, Ruggeri R, Addis M, Scalas MT, Maccioni L, et al. Beta 0 thalasseमीa trait in Sardinia. *Hemoglobin*. 1979;3(1):33–46.

67. Vrettou C, Traeger-Synodinos J, Tzetzis et al. Rapid screening of multiple beta-globin gene mutations by real-time PCR on the LightCycler: application to carrier screening and prenatal diagnosis of thalasseमीa syndromes. *Clin Chem*. 2003;49(5):769–76.

68. Karakaş Z, Talasemide Transfüzyon Tedavisi. *Türkiye Klinikleri Hematoloji Onkoloji talasemi özel sayısı* 2010;3(1):50-7

69. Canatan D. Talasemi Transfüzyonunda Prensipler erişim: www.talasemifederasyonu.org.tr/pdf/tani/cansinTedavi-12.pdf

70. Işın Y. Beta talasemi tanı ve tedavisinde güncel yaklaşımlar. *Sted*, 2004; 13:58-9.

71. Aydınok Y, Talasemide Demir Yüğü Ve Şelasyon Talasemi Ve Hemoglobinopatiler. Erişim: www.talasemifederasyonu.org.tr/pdf/tani/cansinTedavi-17.pdf

72. Aydınok Y. Talasemide demir yüğü ve şelasyon. In: *Talasemi ve hemoglobinopatiler tanı ve tedavi*. 2007; 159-73.

73. Güven Ş, Erdoğan M. Talasemi majorda demir şelasyon sağaltımı. *Bakırköy Tıp Dergisi* 2007; 4: 125-9.

74. Aydınok Y. Talasemide Demir Şelasyonu. 35. Ulusal Hematoloji Kongresi erişim: www.thd.org.tr/html/35thd/Yeşim%20AYDINOK.pdf
75. Ağaoğlu L, Talasemide Yaşam. Türkiye Klinikleri Hematoloji Onkoloji talasemi özel sayısı 2010;3(1):9-13
76. Pennell DJ, Berdoukas V, Karagiorga M *et al.* Randomized controlled trial of deferiprone or deferoxamine in beta-thalassemia major patients with asymptomatic myocardial siderosis. *Blood* 2006; 107: 3738-44.
77. Işık P, Yaralı N, Bay, A, Özmen S, Tunç B Type-I Hypersensitivity Reaction Secondary to Deferasirox Intake Uluslararası Hematoloji-Onkoloji Dergisi 2010;10:1
78. Angelucci E, Baronciani D. Allogeneic stem cell transplantation for thalassemia major. *Haematologica* 2008; 93: 1780-4.
79. Sodani P, Gaziev D, Polchi P *et al.* New approach for bone marrow transplantation in patients with class 3 thalassemia aged younger than 17 years. *Blood* 2004; 104: 1201
80. Gümrük F, Talasemi İntermedia erişim: www.talasemifederasyonu.org.tr/pdf/tani/cansinTedavi-27.pdf
81. Talasemi Major Erişim: sakur.uludag.edu.tr/dosya/FR-HYE-04-416-09.pdf
82. Balcı Y.I, Demirlenk S, Balın S, Özerler Ö Talasemi Hastalarında abdominal Ultrasonografi Bulguları Adü Tıp Fakültesi Dergisi 2009;10(1):7 – 10
83. Olgar Ş, Talasemide Kardiyak Komplikasyonlar ve Yönetimi. Türkiye Klinikleri Hematoloji Onkoloji talasemi özel sayısı 2010;3(1):80-4
84. Kremastinos DT, Farmakis D, Aessopos A *et al.* Beta-thalassemia cardiomyopathy: history, present considerations, and future perspectives. *Circ Heart Fail* 2010; 3: 451-8.
85. Yang G, Liu R, Peng P *et al.* How Early Can Myocardial Iron Overload Occur in Beta Thalassemia Major? *PLoS ONE* 2014;
86. Olivieri NF, Nathan DG, MacMillan JH *et al.* Survival in medically treated patients with homozygous beta-thalassemia. *N Engl J Med* 1994; 331: 574-8.
87. Anderson LJ, Holden S, Davis B, Prescott E, Charrier CC, Bunce NH, Cardiovascular T2-star (T2*) magnetic resonance for the early diagnosis of myocardial iron overload. *European Heart Journal* 2001;22:2171–2179

88. Pepe A, Meloni A, Rossi G *et al.* Cardiac complications and diabetes in thalassaemia major: a large historical multicentre study. *Br J Haematol* 2013; 163: 520
89. Li D, Dhawale P, Rubin PJ *et al.* Myocardial signal response to dipyridamole and dobutamine: demonstration of the BOLD effect using a double-echo gradient-echo sequence. *Magn Reson Med* 1996; 36: 16-20.
90. Kremastinos DT, Tsetsos GA, Tsiapras DP *et al.* Heart failure in beta thalassaemia: a 5-year follow-up study. *Am J Med* 2001; 111: 349-54.
91. Rachmilewitz EA, Giardina PJ. How I treat thalassaemia. *Blood* 2011; 118: 3479
92. Sangün Ö, DüNDAR B, Talasemide Endokrin Komplikasyonlar ve Yönetimi. Türkiye Klinikleri Hematoloji Onkoloji talasemi özel sayısı 2010;3(1):85-95
93. Fuchs GJ, Tienboon P, Khaled MA, *et al.* Nutritional Support And Growth In Thalassaemia Major. *Archives Of Disease In Childhood* 1997;76:509-512
94. Shamsirsaz AA, Bekheirnia R, Kamgar M, Pourzahedgilani N, Bouzari N, Habibzadeh M, *ve ark.* Metabolic And Endocrinologic Complications In Beta-Thalassaemia Major: A Multicenter Study In Tehran. *BMC Endocrine Disorders* 2003;3:4 1472-6823
95. Orvieto R, Leichter I, Rachmilewitz EA *et al.* Bone density, mineral content, and cortical index in patients with thalassaemia major and the correlation to their bone fractures, blood transfusions, and treatment with desferrioxamine. *Calcif Tissue Int* 1992; 50: 397-9.
96. Tyler PA, Madani G, Chaudhuri R *et al.* The radiological appearances of thalassaemia. *Clin Radiol* 2006; 61: 40-52.
97. Lukens JN. The thalassemiyas and related disorders: quantitative disorders of hemoglobin synthesis. In: *Wintrobe's Clinical Hematology* (Lee GJ, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, GM Rodgers). Baltimore: Williams Wilkins. 1999; 1405-48.
98. Gilfillan CP, Strauss BJ, Rodda CP *et al.* A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of intravenous zoledronic acid in the treatment of thalassaemia-associated osteopenia. *Calcif Tissue Int* 2006; 79: 138-44
99. Özkınaf F, Talasemi ve Hemoglobinopatilerin Moleküler Tanı Yöntemleri. Türkiye Klinikleri Hematoloji Onkoloji talasemi özel sayısı 2010;3(1):35-9

100. Kjeldsen L, Johnsen AH, Sengelov H, Borregaard N. Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *J Biol Chem* 1993;268:10425-32.
101. Chakraborty S, Kaur S, Guha S, Batra SK. The multifaceted roles of neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) in inflammation and cancer. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2012; 1826: 129–169.
102. Mussap M, Degrandi R, Fravega M, Fanos V. Acute kidney injury in critically ill infants: the role of urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL). *J. Matern. Fetal Neonatal Med*. 2010; 23 (Suppl. 3): 70-72.
103. Flower DR. Experimentally determined lipocalin structures. *Biochim. Biophys. Acta* 2000; 1482: 46–56.
104. Bolignano D, Donato V, Coppolino G, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a marker of kidney damage (review). *Am J Kidney Dis* 2008; 52(3):595-605.
105. Cai L, Rubin J, Han W, et al. The origin of multiple molecular forms in urine of HNL/NGAL. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010;5:2229-35.
106. Lippi G, Plebani M. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL): the laboratory perspective. *Clin Chem Lab Med* 2012;50:1483-7.
107. Lippi G, Aloe R. Neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL): Analytical issues (Review). *Ligand Assay* 2013;18(4):332-6.
108. Hraba-Renevey S, Turler H, Kress M, Salomon C, Weil R. SV40- induced expression of mouse gene 24p3 involves a post-transcriptional mechanism. *Oncogene* 1989;4(5):601-8.
109. Triebel S, Blaser J, Reinke H, et al. 25 kDa alpha 2-microglobulin related protein is a component of the 125 kDa form of human gelatinase. *FEBS Lett* 1992;314:386–8.
110. Liu Q, Ryon J, Nilsen-Hamilton M. Uterocalin: a mouse acute phase protein expressed in the uterus around birth. *Mol Reprod Dev* 1997;46(4):507-14.
111. Axelsson L, Bergenfeldt M, Ohlsson K. Studies of the release and turnover of a human neutrophil lipocalin. *Scand. J. Clin. Lab. Invest*. 1995; 55: 577–588.

112. Cowland JB, Borregaard N. Molecular characterization and pattern of tissue expression of the gene for neutrophil gelatinase-associated lipocalin from humans. *Genomics* 1997;45(1):17-23.
113. Cowland JB, Sorensen OE, Sehested M, Borregaard N. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is up-regulated in human epithelial cells by IL-1 beta, but not by TNF-alpha. *J.Immunol.* 2003; 171: 6630–6639.
114. Landro L, Damas JK, Flo TH, et al. Decreased serum lipocalin-2 levels in human immunodeficiency virus-infected patients: increase during highly active anti-retroviral therapy. *Clin. Exp. Immunol.* 2008; 152: 57–63.
115. Le C, Calafat VJ, Borregaard N. Sorting of the specific granule protein, NGAL, during granulocytic maturation of HL-60 cells. *Blood* 1997; 89: 2113-2121.
116. Soni SS, Cruz D, Bobek I, et al. NGAL: a biomarker of acute kidney injury and other systemic conditions. *Int. Urol. Nephrol.* 2010;42(1):141-50.
117. Devireddy LR, Gazin C, Zhu X, Green MR. A cell surface receptor for lipocalin 24p3 selectively mediates apoptosis and iron uptake. *Cell* 2005;123:1293-1305.
118. Flo TH, Smith KD, Sato S, et al. Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. *Nature* 2004;432:917-21.
119. Andre E, Stoeger T, Takenaka S, et al. Inhalation of ultrafine carbon particles triggers biphasic proinflammatory response in the mouse lung. *Eur Respir J* 2006;28;275–85
120. Bao G, Clifton M, Hoette TM, et al. Iron traffics in circulation bound to a siderocalin (NGAL)-catechol complex. *Nat Chem Biol* 2010;6:602–9.
121. Yndestad A, Landro L, Ueland T, et al. Increased systemic and myocardial expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in clinical and experimental heart failure 1. *Eur Heart J* 2009;30:1229–36.
122. Hemdahl AL, Gabrielsen A, Zhu C, et al. Expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in atherosclerosis and myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:136–42.
123. Parikh CR, Devarajan P. New biomarkers of acute kidney injury. *Crit Care Med* 2008;36(4):159-65.

124. Landro L, Damas JK, Flo TH. Decreased serum lipocalin-2 levels in human immunodeficiency virus-infected patients: increase during highly active anti-retroviral therapy. *Clin Exp Immunol* 2008;152:57–63.
125. Mallbris L, O'Brien KP, Hulthen A, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is a marker for dysregulated keratinocyte differentiation in human skin. *Exp. Dermatol.* 2002; 11: 584-591.
126. Van Dyke TE, Schweinebraten M, Cianciola LJ, Offenbacher S, Genco RJ. Neutrophil chemotaxis in families with localized juvenile periodontitis. *J. Periodontal Res.* 1985; 20: 503-514.
127. Nagai Y, Kitagawa K, Sakaguchi M. et al. Significance of earlier carotid atherosclerosis for stroke subtypes. *Stroke* 2001; 32: 1780–1785.
128. Boekhorst BC, Bovens SM, Hellings WE, et al. Sluijter JP Molecular MRI of murine atherosclerotic plaque targeting NGAL: a protein associated with unstable human plaque characteristics, *Cardiovasc. Res.* 2011; 89: 680–688
129. Tan BK, Adya R, Shan X, et al. Ex vivo and in vivo regulation of lipocalin-2, a novel adipokine, by insulin. *Diabetes Care* 2009; 32: 129–131.
130. D'Anna R, Baviera G, Giordano D. First trimester serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin in gestational diabetes. *Diabet Med* 2009;26:1293–5.
131. D'Anna R, Baviera G, Giordano D. Second trimester neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a potential prediagnostic marker of preeclampsia. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica* 2008;87:1370-3.
132. Bykov I, Junnikkala S, Pekna M, Lindros KO, Meri S. Effect of chronic ethanol consumption on the expression of complement components and acute-phase proteins in liver. *Clin. Immunol.* 2007; 124: 213–220.
133. Ouchi Y, Kubota Y, Ito C. Serial analysis of gene expression in methamphetamine- and phencyclidine-treated rodent cerebral cortices: are there common mechanisms? *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2004; 1025: 57–61.
134. Adler M, Hoffmann D, Ellinger-Ziegelbauer H, et al. Assessment of candidate biomarkers of drug-induced hepatobiliary injury in preclinical toxicity studies, *Toxicol. Lett.* 2010; 196: 1–11.

135. Nacht M, Ferguson AT, Zhang W, et al. Combining serial analysis of gene expression and array technologies to identify genes differentially expressed in breast cancer. *Cancer Res.* 1999; 59: 5464–5470.
136. Bauer M, Eickhoff JC, Gould MN, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is a predictor of poor prognosis in human primary breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 2008; 108: 389–397.
137. Santin AD, Zhan F, Bellone S, et al. Gene expression profiles in primary ovarian serous papillary tumors and normal ovarian epithelium: identification of candidate molecular markers for ovarian cancer diagnosis and therapy. *Int. J. Cancer.* 2004; 112: 14–25.
138. Cho H, Kim JH. Lipocalin2 expressions correlate significantly with tumor differentiation in epithelial ovarian cancer. *J. Histochem. Cytochem.* 2009; 57: 513–521
139. Miyamoto T, Kashima H, Suzuki A, et al. Shiozawa T. Laser-captured microdissection-microarray analysis of the genes involved in endometrial carcinogenesis: stepwise up-regulation of lipocalin2 expression in normal and neoplastic endometria and its functional relevance. *Hum. Pathol.* 2011; 42: 1265–1274.
140. Bousserouel S, Kauntz H, Gosse F, et al Raul F. Identification of gene expression profiles correlated to tumor progression in a preclinical model of colon carcinogenesis. *Int. J. Oncol.* 2010; 36: 1485–1490.
141. Furutani M, Arai S, Mizumoto M, Kato M, Imamura M. Identification of a neutrophil gelatinase-associated lipocalin mRNA in human pancreatic cancers using a modified signal sequence trap method. *Cancer Lett.* 1998; 122: 209–214.
142. Galamb O, Gyorffy B, Sipos F, et al. Inflammation, adenoma and cancer: objective classification of colon biopsy specimens with gene expression signature. *Dis. Markers* 2008; 25: 1–16.
143. Linnerth NM, Sirbovan K, Moorehead RA. Use of a transgenic mouse model to identify markers of human lung tumors. *Int. J. Cancer* 2005; 114: 977–982.
144. Wang HJ, He XJ, Ma YY, et al. Expressions of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in gastric cancer: a potential biomarker for prognosis and an ancillary diagnostic test. *Anat. Rec.* 2010; 293: 1855–1863.

145. Alpizar YA, Ramirez BS, Fernandez DR, et al. Vaccination dispenses with emulsification to elicit HER1-specific anti-proliferative effects. *Hum. Vaccin.* 2009; 5: 158–165.
146. Argani P, Rosty C, Reiter RE, et al. Discovery of new markers of cancer through serial analysis of gene expression: prostate stem cell antigen is overexpressed in pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res.* 2001; 61: 4320–4324.
147. Bachorzewska-Gajewska H, Malyszko J, Sitniewska E, et al. Could neutrophil gelatinase-associated lipocalin and cystatin C predict the development of contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary interventions in patients with stable angina and normal serum creatinine values? *Kidney Blood Press. Res.* 2007; 30: 408–415.
148. Bennett M, Dent CL, Ma Q, et al. Urine NGAL predicts severity of acute kidney injury after cardiac surgery: a prospective study. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2008; 3: 665–673.
149. Kumpers P, Hafer C, Lukasz A, et al. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin at inception of renal replacement therapy predicts survival in critically ill patients with acute kidney injury. *Crit. Care* 2010; 14: R9.
150. de Geus HR, Betjes MG, Bakker J. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin clearance during veno-venous continuous renal replacement therapy in critically ill patients. *Intensive Care Med.* 2010; 36: 2156–2157.
151. Mishra J, Ma Q, Prada A, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2003; 14: 2534–2543.
152. Hvidberg V, Jacobsen C, Strong RK, et al. The endocytic receptor megalin binds the iron transporting neutrophil gelatinase-associated lipocalin with high affinity and mediates its cellular uptake. *FEBS Lett.* 2005; 579: 773–777.
153. Parikh CR, Coca SG. Acute kidney injury: defining prerenal azotemia in clinical practice and research. *Nat. Rev. Nephrol.* 2010; 6: 641–642.
154. Stenvinkel P. Chronic kidney disease: a public health priority and harbinger of premature cardiovascular disease. *J. Intern. Med.* 2010; 268: 456–467.
155. Viau A, El KK, Laouari D, et al. Lipocalin 2 is essential for chronic kidney disease progression in mice and humans. *J. Clin. Invest.* 2010; 120: 4065–4076.

156. Brunner HI, Mueller M, Rutherford C. ve ark. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of nephritis in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2006; 54:2577–2584
157. Suzuki M, Wiers KM, Klein-Gitelman MS ve ark. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of disease activity in pediatric lupus nephritis. *Pediatr Nephrol.* 2008; 23:403–412
158. Bolignano D, Coppolino G, Campo S. ve ark. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is associated with severity of renal disease in proteinuric patients. *Nephrol Dial Transpl.* 2008; 23:414–416
159. Gulcihan Ozek , Özgür Carti , Erkin Serdaroğlu , et al *Blood* 2014 124: 4049;
160. Velat Şen, Aydın Ece, Ünal Uluca et al. Urinary early kidney injury molecules in children with beta-thalassemia major, *Renal Failure*, 37:4, 607-613,
161. Al Suwaidi J, Reddan DN, Williams K, Pieper KS, Harrington RA, Califf RM, et al. Prognostic implications of abnormalities in renal function in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* 106: 974-80, 2002.
162. Januzzi JL, Cannon CP, DiBattiste PM, et al. Effects of renal insufficiency on early invasive management in patients with acute coronary syndromes (The TACTICS-TIMI 18 Trial). *Am J Cardiol* 90: 1246- 9, 2002.
163. Koenig W, Twardella D, Brenner H, Rothenbacher D. Plasma concentrations of cystatin C in patients with coronary heart disease and risk for secondary cardiovascular events: more than simply a marker of glomerular filtration rate. *Clin Chem* 51: 321-7, 2005.
164. Hillege HL, Verhave JC, Bakker SJL, Gansevoort RT, van Veldhuisen DJ, DeJong PE, et al. Cystatin C, a novel marker for mortality in the general population, New Orleans, Louisiana, USA. March 7–10, 2004 [Abstract]. *J Am Coll Cardiol* 43: 519A, 2004.
165. Shlipak M, Fried L, Seliger S, Newman A, Siscovick D, Stehman-Breen C. Cystatin-C and mortality risk in elderly adults. *J Am Soc Nephrol* 15: 354-5, 2004.
166. Sarnak M, Stehman-Breen C, Fried L, Jenny NS, Psaty B, Newman A, et al. Cystatin-C as a risk factor for incident heart failure in older adults. *J Am Soc Nephrol* 15: 125-30, 2004.

167. Randers E, Erlandsen EJ. Serum cystatin C as an endogenous marker of renal function—review. *ClinChemLabMed*37: 389-95, 1999.
168. Grubb A. Diagnostic value of analysis of cystatin C and protein HC in biological fluids. *ClinNephrol*38: 20-7, 1992.
169. Filler G, Bokenkamp A, Hofmann W, Briccon TL, Martinez- Bru C, Grubb A. Cystatin C as a marker of GFR- history, indications, and future research. *Clin Biochemistry*38: 1-8, 2005.
170. Laterza OF, Price CP, Scott MG. Cystatin C: An improved estimator of glomerular filtration Rate *Clin Chem* 2002; 48: 699-707.
171. Mares J, Stejskal D, Vavroušková J, Urbánek K, Herzig R, Hlustík P. Use of cystatin C determination in clinical diagnostics. *Biomed Pap Med* 2003; 147(2): 177-80.
172. Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG. Serum cystatin C measured by automated immunoassay: a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. *Kidney Int* 1995; 47(1):312-8.
173. Mussab M, Ruzzante N, Varognolo M, Plebani M. Quantitative automated particle-enhanced immunonephelometric assay for the routine measurement of human cystatin C. *Clin Chem Lab Med* 1998; 36(11): 859-65.
174. Newman D. More on cystatin C. *Clin Chem* 1999; 45(5): 718-9.
175. Krause MW, Shah SV, Çeviri: Sipahioğlu. Böbrek Hastalığı Olan Hastaya Yaklaşım. Andreoli TE, Carpenter CJC, Griggs RC, Benjamin IJ. Andreoli and Carpenter's *Cecil Essentials of Medicine 7 th Edition*. Çeviri Editörü: Selçuk Mıstık: 2008;278-284.
176. Soergel M, Kirchstein M, Busch C, et al. Oscillometric twenty-four-hour ambulatory blood pressure values in healthy children and adolescents: a multicenter trial including 1141 subjects. *J Pediatr* 1997; 130:178-184.
177. Langlois V. Laboratory evaluation at different ages In: Geary DF, Schaefer F (Eds). *Comprehensive Pediatric Nephrology*. Mosby Elsevier, Philadelphia 2007: 39-54.
178. Andersen TB, Eskil-Jensen A, Frøkiaer J, Brøchner-Mortensen J. Measuring glomerular filtration rate in children; can cystatin C replace established methods? A review. *Pediatr Nephrol* 2009; 24(5):929-41.

179. Phan V, Brophy PD, Fleming GM. Acute renal failure: Prevention causes, and investigation In: Geary DF, Schaefer F (Eds). *Comprehensive Pediatric Nephrology*. Mosby Elsevier, Philadelphia 2007:607-627.
180. Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Hüsing J, et al. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int* 2004; 66:1115-1122.
181. Butler EA, Flynn FV. The occurrence of post-gamma protein in urine: a new protein abnormality. *J Clin Pathol* 1961;14:172-8.
182. Uchida K, Gotoh A. Measurement of cystatin C and creatinine in urine. *Clin Chim Acta* 2002; 323:121-128.
183. Berggard B, Björck L, Cgen R, Logdberg L. B-2 Microglobulin. *Scand J Clin. Lab. Invest.* 1980; 40:13-25.
184. Jantusch BA, Criss VR, O'Donnell R. Association of Lewis blood group phenotypes with urinary tract infection in children. *J Pediatr.* 1994;124:863-868.
185. Yorulmaz F, Yorulmaz S, Gökaya J. Klinik Tıpta Beta-2 Mikroglobulinin Rolü Nedir? *Türkiye Klinikleri.* 1990;10:25-29.
186. Thomas L. Beta 2 Microglobulin. In: Thomas L, ed. *Clinical Laboratory Diagnostics*. Frankfurt: ThBooks Verlagsgesellschaft, 1998:685-8
187. Bethea M, Forman DT. Beta 2-microglobulin: its significance and clinical usefulness. *Ann Clin Lab Sci* 1990;20:163-8
188. Tomlinson PA Low molecular weight proteins in children with renal disease. *Pediatr Nephrol.* 1992 Nov;6(6):565-71.
189. Kızıler A.R, Aydemir B, Kurtoğlu E, Uğur A, Beta Talasemi Minörlü Hastalarda Eser Element ve Oksidatif Hasar İlişkisi. *Fırat Tıp Dergisi* 2009;14(1): 28-32
190. Tauchmanová L, Sella C, Rosa GD, Pagano L, Orio F, Lombardi G, et al. High prevalence of endocrine dysfunction in long-term survivors after allogeneic bone marrow transplantation for hematologic diseases. *Cancer* 2002; 95: 1076-84.
191. Sanders JE. Growth and development after hematopoietic cell transplant in children. *Bone Marrow Transplant* 2008; 41: 223-7.
192. Kızır V, Balakan O, Süner A, ve ark. Trombus Gelişen Splenektomili Türk Hematoloji-Onkoloji Dergisi 2005;2:15

193. Naderi M, Sadeghi-Bojd S, Valeshabad AK, et al. A prospective study of tubular dysfunction in pediatric patients with Beta thalassemia major receiving deferasirox. *Pediatr Hematol Oncol*. 2013;30(8):748–754.
194. Fassett RG, Venuthurupalli SK, Gobe GC, et al. Biomarkers in chronic kidney disease: A review. *Kidney Int*. 2011;80(8):806–821.
195. Devarajan P, Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a promising biomarker for human acute kidney injury. *Biomark Med* 2010;4(2):265-80.
196. Padhy M et al. Serum neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) and cystatin C as early predictors of contrast-induced acute kidney injury in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Clin Chim Acta*. 2014. pii: S0009-8981(14)00172-7.
197. Lacquaniti et al. Can Neutrophil Gelatinase-associated Lipocalin help depict early contrast-material induced Nephropathy? *Radiology*. 2013; 267(1):86-93
198. Zappitelli M, Washburn K. K, Arkan A. A, Loftis L et al. Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early marker of acute kidney injury in critically ill children: a prospective cohort study. *Crit Care* 2007;11(4):R84
199. Koyner JL, Bennett MR, Worcester EM et al. Urinary cystatin C as an early biomarker of acute kidney injury following adult cardiothoracic surgery. *Kidney Int*. 2008; Oct;74(8):1059-69
200. Ralib A, Pickering JW, Shaw GM, Than MP, George PM ve Endre ZH. The clinical utility window for acute kidney injury biomarkers in the critically ill. *Critical Care*. 2014; Nov; 18:601
201. Ponticelli C, Musallam KM, Cianciulli P, et al. Renal complications in transfusion-dependent beta thalassemia. *Blood Rev*. 2010; 24(6):239–244
202. McCullough PA, Bouchard J, Waikar SS, et al. Implementation of novel biomarkers in the diagnosis, prognosis, and management of acute kidney injury: Executive summary from the tenth consensus conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI). *Contrib Nephrol*. 2013;182(1):5–12.

203. Goldstein SL, Devarajan P. Progression from acute kidney injury to chronic kidney disease: A pediatric perspective. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2008;15(3):278–283.
204. Aldudak B, Karabay Bayazit A, et al. Renal function in pediatric patients with beta thalassemia major. *Pediatr Nephrol.* 2000;15(1–2):109–112.
205. Mohkam M, Shamsian BS, Gharib A, et al. Early markers of renal dysfunction in patients with beta thalassemia major. *Pediatr Nephrol.* 2008;23(6):971–976.
206. Soliman AT, elZalabany M, Amer M, Ansari BM. Growth And Pubertal Development In Transfusion-Dependent Children And Adolescents With Thalassaemia Major And Sickle Cell Disease: A Comparative Study. *J Trop Pediatr* 1999;45(1):23-30
207. Gomber S, Dewan P Physical Growth Patterns and Dental Caries in Thalassaemia Indian Pediatrics 2006;43:1064-1069
208. Nishida M, Kawakatsu H, Okumura Y, et al. Serum and urinary NGAL levels in children with chronic renal diseases. *Pediatr Int.* 2010;52(4):563–568.
209. Mehryar Habibi Roudkenar, Raheleh Halabian, et al. October 17, 2007; accepted December 10, 2007 (ARCMED-D-07-00486).
210. Rushton HG. The evaluation of acute pyelonephritis and renal scarring with Technetium 99m- dimercaptosuccinic acid renal scintigraphy: evolving concepts and future directions. *Pediatr Nephrol.* 1997; 11:108-120.
211. Kamińska A, Jung A, Olszewski S, Muszyńska J, Dadas E: Beta-2 microglobulinuria in children with vesico-ureteral reflux and recurrent urinary tract infections. *Pol Merkur Lekarski.* 2000; 8:240-241.
212. Shlipak MG, Mattes MD, Peralta CA. Update on cystatin C: incorporation into clinical practice. *Am J Kidney Dis.* 2013 Sep;62(3):595-603
213. Stevens LA, Coresh J, Schmid CH, Feldman HI, Froissart M, Kusek J et al. Estimating GFR using serum cystatin C alone and in combination with serum creatinine: a pooled analysis of 3,418 individuals with CKD. *Am J Kidney Dis.* 2008 Mar;51(3):395-406.

214. Kim IY et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin is associated with iron status in anemic patients with pre-dialysis chronic kidney disease. *Clin Exp Nephrol*. 2017 Apr 7. doi: 10.1007/s10157-017-1409-6

215. Mabrouk I Ismail et al. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) as a Biomarker of Iron Deficiency in Hemodialysis Patients *Austin J Nephrol Hypertens*. 2015;2(2): 1036.



8. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Serdar ŞAHİN
Doğum Tarihi ve Yeri : 27.09.1983/ MARDİN
Medeni Durumu : Evli
Adres : Yüzüncü Yıl Üniversitesi Prof.Dr.Dursun Odabaş Tıp
Merkezi Tuşba/VAN
Mezun olduğu Tıp Fakültesi : Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi
Görev Yerleri : Diyarbakır Çocuk Hastalıkları Hastanesi
Hani 2 nolu ASM
Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı
ve Hastalıkları Bölümü
Yabancı Diller : İngilizce

*KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	Çocuk Hematoloji Polikliniğimizde takip edilen Beta Talasemi Majör hastalarında renal fonksiyon bozukluğunun ve Beta Talasemi Majörde idrar Neutrofil - gelatinase associated lipocalin (NGAL) düzeyinin değerlendirilmesi
VARSA ARAŞTIRMANIN PROTOKOL KODU	Yok
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:02
	Tarih: 04.04.2017
Yrd.Doç.Dr. Kamuran KARAMAN sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezde gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu/oy birliği ile karar verilmiştir.	

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU

ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:	Prof.Dr. Oğuz TUNCER

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilişki		Katılım *		İmza
			E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Oğuz TUNCER	Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Yrd.Doç.Dr. Şükran SEVİMLİ	Tıp Tarihi ve Etik	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr. Sıddık KESKİN	İstatistik Uzmanı	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr. Hakkı ŞİMŞEK	Kardiyoloji	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr. Hüseyin GÜDÜCÜOĞLU	Tıbbi Mikrobiyoloji	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.A.Faruk KIROĞLU	KBB	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd.Doç.Dr. Abbas ARAS	Genel Cerrahi	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd.Doç.Dr. Celaleddin SOYALP	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd.Doç.Dr. Numan ÇİM	Kadın Hastalıkları ve Doğum	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd.Doç.Dr. Ramazan ÜSTÜN	Fizyoloji	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Yrd.Doç.Dr. Ersoy ÖKSÜZ	Farmakoloji Uzmanı	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Lütfü POLAT	Eczacı	Van Polat Eczanesi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	
Nazlı AKTAŞ	Avukat	Yüzüncü Yıl Üniversitesi Hukuk Müavirliği	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Özge Burak DEĞER	Sağlık Mesleği Mensubu Olmayan Üye	Van Sanayici ve İş Kadınları Derneği	E <input type="checkbox"/>	K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	
Adnan SELÇUK	Sağlık Mesleği Mensubu Olmayan Üye	Van İş Geliştirme Merkezi	E <input checked="" type="checkbox"/>	K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/>	H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input checked="" type="checkbox"/>	H <input type="checkbox"/>	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkan Yardımcısı
Unvanı/Adı/Soyadı: Yrd.Doç.Dr.Şükran SEVİMLİ
İmza:

Not: Etik kurul başkanının her sayfada imzasının olması gerekmektedir.