



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
Türkiye Halk Sağlığı Kurumu

HEMOGLOBİNOPATİ TANI REHBERİ

ANKARA - 2016

Bakanlık Yayın No : 978-975-590-620-1

ISBN : 1042

THSK Yayın Komisyonu

Uzm. Dr. Hasan IRMAK

Doç. Dr. Nazan YARDIM

Dr. Kanuni KEKLİK

Dr. Yıldırım CESARETLİ

Dr. M. Bahadır SUCAKLI

Bu rehber, T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Tüketici ve Çalışan Güvenliği Başkan Yardımcılığı, Halk Sağlığı Laboratuvarları Daire Başkanlığı tarafından hazırlanmış ve bastırılmıştır. Her türlü yayın hakkı Türkiye Halk Sağlığı Kurumuna aittir. Kaynak gösterilmeden kısmen dâhi olsa alıntı yapılamaz, çoğaltılamaz ve yayımlanamaz. Ücretsizdir. Parayla satılamaz.



T.C.
SAĞLIK BAKANLIĞI
Türkiye Halk Sağlığı Kurumu

HEMOGLOBİNOPATİ TANI **REHBERİ**

ANKARA - 2016

Editör

Dr. Edibe Nurzen BOZKURT
Türkiye Halk Sağlığı Kurumu, Halk Sağlığı Lab. Daire Başkanı

***Bilimsel Çalışma Grubu ve Yazarlar**

Prof. Dr. Abdullah ARPACI, Adıyaman Üniv. Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya AD.
Doç. Dr. Mustafa Kemal BAŞARALI, THSK Tüketici ve Çalışan Sağlığı Başk. Yrd.
Doç. Dr. Tamer Cevat İNAL, Çukurova Üniv. Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya AD.
Prof. Dr. Gürbüz POLAT, Mersin Üniv. Tıp Fak. Tıbbi Biyokimya AD.
Uz. Dr. Gülhan ŞAHİN, Adana HSL Biyokimya Uzmanı

***Katkıda Bulunanlar Kurum Başkanlığı Çalışanları**

Bio. Vildan BALCI İNAN
Dr. Ferda GÜLTOP
Kim. Müh. İ. Belkıs ÖZÇALIK

*Soyadına göre alfabetik olarak sıralanmıştır.

Önsöz

Türkiye Halk Sağlığı Kurumu olarak kalite politikamız, halk sağlığının korunması ve koruyucu sağlık hizmetlerinin vatandaşlarımız için ulaşılabilir olmasıdır.

Hemoglobinopatiler ülkemizde kalıtsal kan hastalıkları arasında en sık görüleni olup sadece ülkemizde değil dünyada da önemli bir halk sağlığı sorunudur. Dünyada bu alanda yapılmış çalışmalar 19. yüzyıla uzanırken, ülkemizde ilk çalışmalar 1950'li yıllarda başlamıştır. Hemoglobinopatiler, ülkemizin özellikle güney ve batısında önemli bir sağlık sorunu olmakla birlikte evlilik, iş ve diğer nedenlerle insanların doğup büyüdüğü coğrafyanın dışında yaşamaları, bu durumun ülkenin herhangi bir bölgesinde de ortaya çıkmasına neden olmaktadır.

Ülkemizde 30.12.1993 tarihinde 3960 sayılı Kalıtsal Kan Hastalıkları ile Mücadele Kanununun çıkarılması ile hemoglobinopati ile mücadele yasal dayanak temelinde hız kazanmıştır. Bu kapsamda riskin yüksek olduğu bölgelerde taramalar yapılmış, konu ile ilgili eğitimler verilmiş, muhtemel hastalıklı doğumların önlenmesi yönünden prenatal tanının önemi üzerinde durulmuştur.

Bu rehberle bilimsel veriler ışığında, riskli bölgelerde evlilik öncesi yapılan tarama testlerinin sonuçlarının değerlendirilmesi ve yorumlanmasında, algoritmalar çerçevesinde biyokimya uzmanlarımıza yol gösterilmesi hedeflenmiştir.

Bu rehberin hazırlanmasına katkıda bulunan tüm kişi ve kurumlara teşekkür eder, sağlıklı günler temenni ederim.

Doç. Dr. Mustafa Kemal BAŞARALI
Türkiye Halk Sağlığı Kurumu
Tüketici ve Çalışan Güvenliği Başkan Yardımcısı

Bu rehber birinci basamakta hizmet veren biyokimya uzmanlarına yönelik hazırlanmıştır. Rehberin hazırlanmasındaki amaç; HPLC ve hemoglobin elektroforezi ile elde edilen verilerin, tam kan sayımı, demir-ferritin vb. testlerle birlikte değerlendirilebilmesini sağlayarak biyokimya uzmanlarına yol göstermektir. Rehberde verilen algoritmalar ve referans değerler uluslararası standartlar göz önünde bulundurularak hazırlanmıştır. Ancak unutulmamalıdır ki, halen dünyada HbA₂'nin standardizasyonu ile ilgili çalışmalar devam etmektedir. Aynı zamanda, her uzman verileri değerlendirirken kendi laboratuvarının analitik performansını ve kullandığı analizörlerin teknik özelliklerini göz önünde bulundurmalıdır.

İÇİNDEKİLER

TABLolar	v
ŞEKİLLER	v
ALGORİTMALAR	v
KISALTMALAR ve SİMGELER	vi
1. HEMOGLOBİNOPATİ TARİHÇESİ	1
2. TÜRKİYE'DE HEMOGLOBİNOPATİ	1
3. İNSAN HEMOGLOBİNLERİ	2
4. HEMOGLOBİN GENLERİ	3
5. BİRİNCİ BASAMAKTA HEMOGLOBİNOPATİ TANISINDA KULLANILAN YÖNTEMLER	4
5.1. Tam Kan Sayımı	4
5.2. HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)	4
5.3. Kapiller Elektforez	4
6. TIBBİ LABORATUVARLARDA KALİTE KONTROL	4
6.1. İç Kalite Değerlendirme	4
6.1.1. Kontrol Ölçümleri	4
6.1.2. Westgard Kuralları	4
6.1.3. Kuralların Yorumlanması	4
6.1.4. Kalite Kontrol Protokolü	4
6.1.5. Sık Karşılaşılan Sorular	4
6.1.6. İç Kalite Kontrol Yetersizliği	6
6.2. Dış Kalite Değerlendirme	6
6.2.1. Sistemin İşleyişi	6
6.2.2. DKD Verilerinin Analizi	6
6.2.3. Kabul Edilebilir Aralığın Belirlenmesi	7
7. TAM KAN SAYIMINDA HATA KAYNAKLARI VE KALİTE KONTROLÜ	7
8. ANORMAL HEMOGLOBİNLER	8
9. TÜRKİYE'DE SIK GÖRÜLEN ANORMAL HEMOGLOBİNLER	9
10. TALASEMİLER	11
10.1. Beta Talasemiler	11
10.1.1. Beta Talasemilerde Klinik Sınıflandırma	14
10.1.2. Beta Talasemi Taşıyıcılarında (BTT) Laboratuvar Bulguları	15
10.1.3. Beta Talasemi İntermedia (BTİ)	17
10.1.4. Beta Talasemi Majör (BTM)	18
10.2. Alfa Talasemiler	18

10.2.1. Coğrafik Dağılım	19
10.2.2. Klinik Özellikler	19
10.2.3. Adlandırma	20
10.2.4. Alfa Talasemi Görünümleri	20
10.2.5. Alfa Talasemilerde Laboratuvar İncelemesi	21
10.2.6. Laboratuvar İnceleme Stratejisi	23
11. PRENATAL TANI	25
12. OLGULAR.....	25
13. ÖRNEK RAPOR FORMATLARI	32
14. KAYNAKLAR.....	36

TABLolar, ŞEKİLLER VE ALGORİTMALARIN İÇERİKLERİ

Tablo 1. Tam kan sayımında interferans görölen durumlar.....	8
Tablo 2. Talasemi taşıyıcılığında ayırıcı tanı.....	15
Tablo 3. Kan sayımında kullanılan parametreler.....	16
Tablo 4. Heterozigot beta-talasemi: genotip-fenotip modifikasyonlar.....	17
Tablo 5. BTİ ve BTM ayırıcı tanısı.....	17
Tablo 6. Alfa-talasemili yetişkinlerde eritrosit indeksleri.....	21
Tablo 7. Alfa talasemide görölen Hb tiplerinin dağılımı (>12 Ay).....	22
Tablo 8. Alfa talasemide fenotip-genotip ilişkisi.....	23
Şekil 1. Doğum öncesi ve sonrası sentezlenen globin zincirleri.....	3
Şekil 2. Embriyonik, fetal ve yetişkin hemoglobinleri ve genleri.....	3
Şekil 3. Hemoglobin molekölü	12
Şekil 4. β- talasemi mutasyon çeşitleri.....	13
Şekil 5. Dünya β-Talasemi moleköler haritası.....	14
Şekil 6. Alfa globin gen kümesi ve delesyonları.....	19
Şekil 7. Hemoglobinopati tanısal algoritması.....	24
Şekil 8. Hemoglobin H. 1. Alkali elektroforez, 2. Kapiller elektroforez.....	24
Algoritma 1: Yetişkin Bireyin Hemoglobin Elektroforezinde Anormal Hemoglobin varlığında.....	10
Algoritma 2. β- talasemi taşıyıcılığı algoritması.....	16

KISALTMALAR ve SİMGELER

BTİ	: Beta Talasemi İntermedia
BTM	: Beta Talasemi Majör
BTT	: Beta Talasemi Taşıyıcı
CV	: Varyasyon Katsayısı
DKD	: Dış Kalite Değerlendirme
dL	: Desilitre
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
EDTA	: Etilen Diamin Tetra Asetik Asit
FEP	: Serbest Eritrosit Protoporfirini
fL	: Femtolitre
g	: Gram
Hb	: Hemoglobin
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
İKK	: İç Kalite Kontrol
L	: Litre
MCH	: Ortalama Eritrosit Hemoglobini
MCHC	: Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu
MCV	: Ortalama Eritrosit Hacmi
mm	: Milimetre
OPSpecs	: Operasyon Spesifikasyon Grafikleri
pg	: Pikogram
RDW	: Eritrosit Hacmi Genişliği
RNA	: Ribo Nükleik Asit
SD	: Standart Sapma
SDI	: Standart Sapma İndeksi
TDBK	: Total Demir Bağlama Kapasitesi
TS	: Transferrin Saturasyonu
α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gama
δ	: Delta
ε	: Epsilon
ζ	: Zeta

1. HEMOGLOBİNOPATİ TARİHÇESİ

Hemoglobinopatilerin tarihçesi 1800'lü yıllara dayanmaktadır. von Jaksch 1889 yılında anemisi, splenomegalisi ve lökositozu olan çocuğu "anemia infantum pseudo-leukemia" olarak tanımlamıştır. Bu klinik durumun lösemiye bağlı olmadığı tespit edilerek "von Jaksch anemisi" olarak tanımlanmıştır. 1910 yılında Herrick tarafından Orak Hücreli Anemi tanımlanmış, talasemi terimini ise 1932 yılında Whipple ve Bardford yayınlarında kullanmıştır. "Thalassa" deniz anlamına gelmekte olup "Thalassaemia" deniz anemisi anlamına gelmektedir. 1972'ye kadar gelinen süreçte, talaseminin Mendelian genetik geçişi, talasemi ve orak hücre anemisi dağılımının sıtma dağılımı ile aynı olduğu, hemoglobin elektroforezinde anormal hemoglobinlerin varlığı, anormal hemoglobinler ve beta talasemilerin birlikteliği ile ilgili çeşitli çalışmalar yayımlanmıştır. 1972 yılında Kan ve arkadaşları tarafından orak hücreli anemide prenatal tanı çalışmaları yapılmıştır. 1960-1980 yılları arasında ise alfa, beta, gama ve delta globinlerin farklı genlerde olduğu ile ilgili çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ), Herediter Hastalıklar Programı başkanı Bernadette Model ve ekibi 1980'li yıllarda veri toplamaya başlamış, Afrika, Amerika, Avrupa, Orta Doğu Bölgesi, Güney Doğu Asya Bölgesi ve Batı Pasifik bölgesi olmak üzere 6 bölgeden veri toplamışlardır. Hemoglobin bozukluklarının dünya genelinde %5 sıklıkta olduğunu, özellikle Afrika'da daha sık görüldüğünü göstermişlerdir.

Talasemi ve orak hücre anemisinin dünya üzerindeki dağılımı ile ilgili olarak "malaria hipotezi" günümüzde en kabul gören hipotezdir. Bu hipotezin temelini, sıtmanın yoğun olarak görüldüğü bölgelerde, orak hücreli çocuk taşıyıcılarda paraziteminin daha az görülmesi, *P. falciparum* ile enfekte yetişkinlerde sıtma hastalığının gözlenmiyor oluşu ve Doğu Afrika'da orak hücre gen sıklığı ile sıtma endemisinin paralellik göstermesi oluşturmaktadır.

Dünya Talasemi Federasyonu 1987 yılında kurulmuş olup Türkiye Talasemi Federasyonu 2006 yılında bu federasyona üye olmuştur.

2. TÜRKİYE'DE HEMOGLOBİNOPATİ

Hemoglobinopatiler ülkemizde en sık görülen kalıtsal kan hastalıkları arasında yer almakta olup ülkemizin özellikle güney ve batısında önemli bir sağlık sorunudur. Türkiye'de beta talasemi taşıyıcı sıklığı %2,1 olup yaklaşık 1.300.000 taşıyıcı ve 4500 civarında hasta bulunmaktadır. Taşıyıcı sıklığı göz önünde bulundurulduğunda, her yıl 300-400 hasta çocuğun dünyaya gelmesi beklenmekte olup bu durum aileleri ve toplumu maddi-manevi zarara uğratmaktadır.

Türkiye'de hemoglobinopatiler ile ilgili ilk çalışmalar 1950'li yıllarda Prof. Dr. Muzaffer Aksoy tarafından başlatılmıştır. 1970'li yıllardan buyana talasemi ve anormal hemoglobinler ile ilgili çalışmalar sürmektedir. Türk toplumunda ilk moleküler çalışmalar Prof. Dr. Nejat Akar ve arkadaşları tarafından yayımlanmıştır. En sık gözlenen anormal hemoglobinlerin profili ve yaygınlığı çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir.

Hemoglobinopati ile mücadele amacıyla 30.12.1993 tarihinde 3960 sayılı Kalıtsal Kan Hastalıkları ile Mücadele Kanunu çıkarılmıştır. 1994-2000 yılları arasında İl Hıfzıssıha Kurul kararları ile İzmir, Muğla, Antalya, Mersin ve Hatay'da evlenecek çiftlere hemoglobinopati taraması zorunlu hale getirilmiştir. 23.06.2000 tarihinde kayıt, tarama, eğitim, prenatal tanı ve

konvansiyonel tarama amacıyla “Ulusal Hemoglobinopati Konseyi” kurulmuş ve bu konsey, Sağlık Bakanlığı Ana-Çocuk Sağlığı ve Aile Planlaması Genel Müdürlüğü ve Tedavi Hizmetleri Genel Müdürlüğü ile koordineli çalışmalar yapmaya başlamıştır. Sağlık Bakanlığı tarafından Kalıtsal Kan Hastalıkları ile Mücadele kanununa bağlı olarak 24.10.2002 tarihinde Kalıtsal Kan Hastalıklarından Hemoglobinopatiler ile Mücadele ve Kontrol Programı ile Tanı ve Tedavi Merkezleri Yönetmeliği yayımlanmıştır. Toplumdaki taşıyıcıların belirlenmesi amacıyla hemoglobinopatilerin yoğun olarak görüldüğü illerde evlilik öncesi bireylerin hemoglobin analizi yapılmaya başlanmıştır.

Hemoglobinopatiler ile mücadelede taşıyıcıların belirlenmesi, bilgilendirilmesi ve gerek duyulduğunda prenatal tanı merkezlerine yönlendirilmesine önem veren Sağlık Bakanlığı'nın çalışmaları günümüzde de devam etmektedir. Türkiye Halk Sağlığı Kurumu'nun 08.10.2014 tarihli ve 57.10.98/117.02 sayılı yazısı gereği, Halk Sağlığı Laboratuvarı (HSL) bünyesinde bulunan talasemi laboratuvar hizmetlerinin aynen devam etmesi, diğer hemoglobinopati tanı merkezleri içinde yer alan laboratuvar çalışmalarının da biyokimya uzmanı olan illerde çalışan personel, cihaz ve ekipmanı ile birlikte halen yürütmekte oldukları iş ve işlemlerin HSL'ye 31.12.2014 tarihine kadar devredilmesi işlemlerinin gerektiği belirtilmiştir. Ayrıca, Halk Sağlığı Laboratuvarları bünyesinde sonuçların değerlendirilmesinde görevli biyokimya uzmanlarına yönelik eğitim faaliyetleri düzenlenmiştir.

3. İNSAN HEMOGLOBİNLERİ

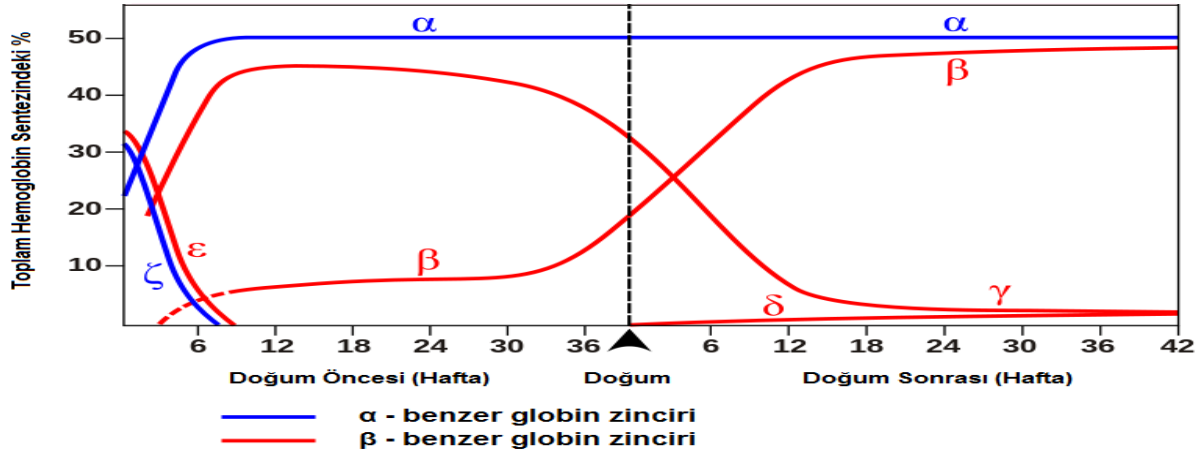
Sağlıklı bir bireyin doğum öncesi ve sonrasında görülen normal hemoglobinleri HbA, HbA₂, HbF, Hb Gower I, Hb Gower II ve Hb Portland'dır (Şekil 1).

HbA: Yetişkinlerde bulunan hemoglobin olup, 2 α ve 2 β polipeptid zincirinden oluşmaktadır. Normal erişkinlerde bulunan hemoglobinin % 95-97'si HbA'dır.

HbA₂: Doğumdan yaklaşık olarak 12 hafta sonra sentezlenen bu Hemoglobin, 2 α ve 2 δ polipeptid zinciri içermektedir. Normal erişkinlerdeki hemoglobinin %2-3'ünü oluşturmaktadır.

HbF: Fetusta ve yenidoğanda sentezlenen başlıca hemoglobindir. 2 α ve 2 γ polipeptid zincirinden oluşmaktadır. Gebeliğin ilerleyen haftalarında fetusta HbF düzeyi giderek azalırken HbA artış göstermektedir. Sağlıklı bir yenidoğandaki Hb'nin yaklaşık % 80'i HbF, % 20'si ise HbA şeklindedir. HbF düzeyi 6 aylık bebekte % 5'in altına, 3-4 yaşında ise % 1'in altına düşerek yetişkinlerdeki düzeyine iner.

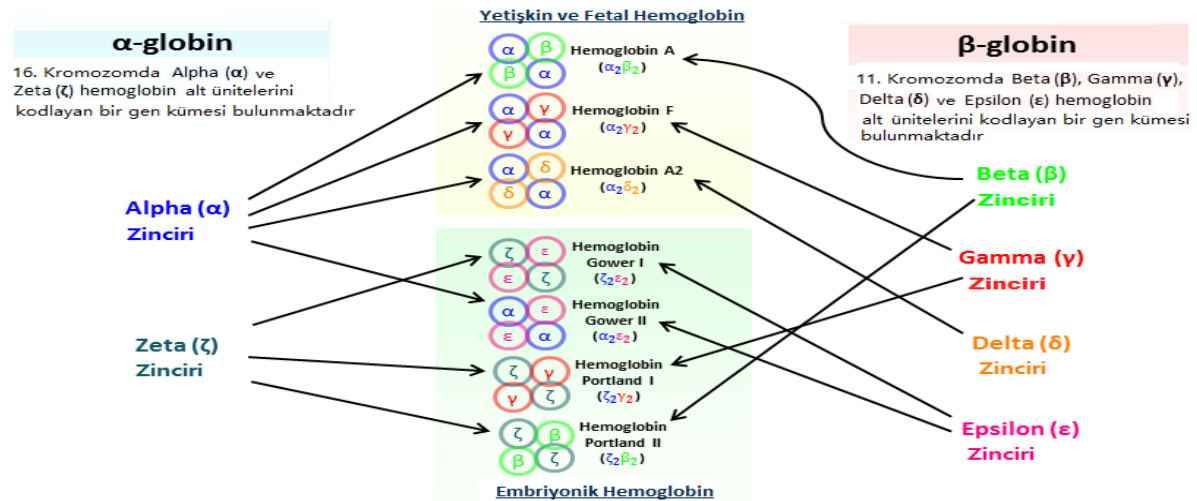
Hb Gower I, Hb Gower II ve Hb Portland: Gebeliğin ilk 3 ayı içerisinde fetusta bulunan embriyonik hemoglobinlerdir. 13 haftalık fetusta embriyonik Hb'ler kaybolmuştur ve fetusta yoğun olarak HbF bulunur. Hb Gower I; 2 ζ ve 2 ϵ , Hb Gower II; 2 α ve 2 ϵ , Hb Portland ise; 2 ζ ve 2 γ polipeptid zincirinden oluşmaktadır.



Şekil 1. Doğum öncesi ve sonrası sentezlenen globin zincirleri

4. HEMOGLOBİN GENLERİ

Hemoglobinin globin kısmındaki polipeptid zincirlerinin sentezlenmesinde α -, β -, γ -, δ -, ϵ - ve ζ - globin genleri olmak üzere 6 gen rol oynamaktadır. ζ - ve α -globin genleri 16. kromozomda ϵ -, γ -, δ - ve β - globin genleri ise 11. kromozomda lokalizedir (Şekil 2). Globin genleri Mendel kurallarına uygun olarak aktarılmakta olup, kodominantırlar. Alfa benzer genlerinden ζ - geni ve beta benzer genlerinden ϵ - geni fetal dönemin ilk haftalarında etkin olup, bu globin genlerinin zeta geninin alfaya, epsilonun gamaya ve onun da beta genine geçiş süreci çok iyi bilinmemektedir. Fetal dönemde γ -geni ve α -geni kombinasyonu, fetal hemoglobini (HbF) oluşturmaktadır. Gebeliğin son haftalarına doğru γ -globin zincirinin sentezi azalmaya başlar, β -globin zincir sentezi artar ve normal yetişkin hemoglobini (HbA; $\alpha_2\beta_2$) üretimi başlar. δ -geni ise çocuklarda ve yetişkinlerde çok az miktarda δ -polipeptid zinciri sentezlenmesini sağlamaktadır. δ -globin geninin ürünü olan 2δ -polipeptid zinciri, 2α -polipeptid zinciri ile birleşerek HbA₂'yi oluşturur.



Şekil 2. Embriyonik, fetal ve yetişkin hemoglobinleri ve genleri

5. BİRİNCİ BASAMAKTA HEMOGLOBİNOPATİ TANISINDA KULLANILAN YÖNTEMLER

5.1. Tam Kan Sayımı

Ülkemizde çeşitli marka ve modellerde kan sayım cihazı kullanılmaktadır. Bu cihazların hepsinin ortak özelliği, tam kan sayımı ve farklılaşmış lökosit parametrelerini çalışıyor olmalıdır. Kan sayım cihazları impedans, radyo dalga ve optik saçılma yöntemleriyle ölçüm yapmaktadır. Tam kan sayımı sonuç belgelerinde, genellikle kan değerleri için erişkin referans değerleri gösterilmekte olup çocuklarda eritrosit ve lökosit değerlerinin yaş ve cinsiyetle değişkenlik gösterdiği gözardı edilmemelidir. Trombosit değerleri ise yaşla fazla değişkenlik göstermeyip 150-400 bin/ mm³ aralığındadır.

5.2. HPLC (Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi)

Bu cihazlarla standart basınç altında kromatografik yöntemle belli zamanlarda ayrıştırılan hemoglobin pikleri ve varsa anormal hemoglobinler değerlendirilir. Cihazın uygun koşullarda çalıştığı kontrolü çok önemlidir. HbF ve HbA₂ kalibrasyon zamanları önerilen periyotlarda yapılmalı; HbF, HbA, HbA₂ pikleri uygun zamanlarda (retention time) elde edilmeli ve çalışma sırasında yeteri kadar alan (total area) taranmış olmalıdır. Dış ve iç kalite kontrol uygulanarak hasta sonuçları değerlendirilebilir. Cihazların çalışma formatı kullanma kılavuzlarında belirtilmelidir.

5.3. Kapiller Elektroforez

Örnekteki komponentlerin büyüklük ve yük farklılıklarına göre ayrılmasını sağlayan güçlü bir analitik metottur. Bu metod ile yüksek elektrik akımında ve uygun elektrolit ortamında içi silika kaplı kapillerlerden numunelerin yürütülmesi ve komponentlerinin ayrımı yapılır. Elektroosmotik akım sağlanan kapillerler içerisinden, öncelikle pozitif yüklü küçük moleküller katoda göç ederken, nötr moleküller ve negatif yüklü moleküller daha sonra katoda ulaşır.

Tüm analitik yöntemlerde, cihaz bakımları periyodik olarak yapıldığı, kalite kontrol programları dikkatli bir şekilde uygulandığı sürece, son derece güvenilir sonuçlar elde edilmektedir. Sonuçlar raporlanmadan önce dikkatlice değerlendirilmeli ve hataya neden olabilecek durumlar varsa gerekli düzeltmeler yapıldıktan sonra raporlama yapılmalıdır.

6. TIBBİ LABORATUVARLARDA KALİTE KONTROL

6.1. İç Kalite Değerlendirme

İç ve dış kalite değerlendirmesinde amaç; laboratuvarın günlük analitik performansını izlemek ve hasta sonucuna yansıtılabilecek olası hataları önceden belirlemektir.

İç Kalite Kontrolde beklenimiz, yöntemler veya sistemler herhangi bir problem içerdiğinde uyarısın ki buna “doğru alarm” ancak yöntem sorunsuz çalışırken her hangi bir uyarı vermesin; bunu da “yanlış alarm” olarak değerlendiriyoruz.

Bu amaca uygun olarak içinde belirli konsantrasyonlarda analit içeren serum havuzları kullanılır. Kontrol Materyalleri kalibratör olmayıp, bu amaçla kullanılamaz, hasta örneği gibi

analiz edilmeli, dayanıklı olmalı, küçük hacimlerde bulunmalı, 2 veya 3 konsantrasyon düzeyi kullanılmalı, ticari firmalardan alınıyorsa aynı "lot" numaralı olmalıdır. Levey-Jennings grafiklerinin oluşturulması için ya üretici firmanın belirlediği ortalama değerler ve standart sapma ya da kullanıcı laboratuvarın belirlediği ortalama değerler ve standart sapma değerleri kullanılır.

6.1.1. Kontrol Ölçümleri

20 gün süre ile çalışılır, elde edilen sonuçların ortalama ve standart sapma (SD) değerleri hesaplanır. Grafik üzerinde y eksenine ortalama ve +/- 3 sd değerleri; x eksenine ise kontrol sayısı veya zaman (gün) işlenir.

İki değişik konsantrasyon için hazırlanır. Her analitik çalışmada her iki düzeydeki kontrol örneği de çalışılarak elde edilen sonuçlar işlenir. Kontrol örneklerinin hangi sıklıkta kullanılacağına, iş yüküne ve koşullarına göre, her laboratuvar kendisi karar verir.

Çok-Kurallı Kalite Kontrolü bir dizi karar verme kriterini (kontrol kuralını) içeren ve analitik sonuçların kontrol altında olup olmadığını değerlendirmeye yarayan bir işlemdir. Çok kurallı kalite kontrolü ile analiz sırasında oluşacak hatalar yakalanabildiği gibi hatanın tabiatı ve kaynağı da anlaşılabilir.

6.1.2. Westgard Kuralları

- 1_{2s} kuralı : Kontrol sonucunun + veya - yönde 2 SD'yi aşması
- 1_{3s} kuralı : Bir kontrol sonucunun + veya - yönde 3 SD'yi aşması
- 2_{2s} kuralı : 2 ardışık kontrol sonucunun aynı yönde 2 SD'yi aşması
- R_{4s} kuralı : 2 ardışık kontrol sonucu toplamının 4 SD'yi aşması
- 4_{1s} kuralı : 4 ardışık kontrol sonucunun aynı yönde 1 SD'yi aşması
- 10_x kuralı : Son 10 ardışık kontrol sonucunun ortalamasının aynı yönünde bulunması

6.1.3. Kuralların Yorumlanması

Bu kontrol kuralları terminolojisi artık tüm laboratuvarlarda standart hale gelmiştir. Kuralların yorumlanmasını güçleştiren olay, birden fazla kontrol düzeyi kullanıldığı durumlarda, kuralların tüm kontrol düzeylerine nasıl uygulanacağı konusudur.

6.1.4. Kalite Kontrol Protokolü

1. 1_{2s} uyarı kuralıdır. Uyarı varsa diğer kurallar her iki kontrol düzeyinde değerlendirilecektir.
2. 1_{3s} kuralını her iki düzeyde de inceleyin. 2_{2s} ve R_{4s} kuralını hem materyal içi hem de materyaller arası değerlendirin.
3. 4_{1s} kuralını hem aynı materyalde son 4 ölçüm olarak hem de materyaller arasında son ikişer ölçüm olarak değerlendirin.
4. 10_x kuralını materyaller arası son beşer ölçüm ve materyal içi son 10 ölçüm olarak değerlendirin.

6.1.5. Sık Karşılaşılan Sorular:

1. Her zaman çoklu kuralları kullanmalı mıyım?

Hayır. Bu tamamen kullandığınız yöntemin analitik performansı ve kaç düzey kontrol kullandığınıza bağlıdır.

2. Diğer kurallara geçmeden önce 1_{2s} kuralını uyarı olarak kullanmak zorunda mıyım?

Hayır. Genellikle manuel takip yapılan uygulamalarda (bilgisayar desteği yoksa) bu kuralın uyarı olarak kullanılması avantaj sağlar.

3. Her hangi bir kural ihlali nedeniyle bir önceki kontrol sonucu ret edilmişse, bu değeri bir sonraki değerlendirmede kullanmalı mıyım?

Hayır. Yeni kontrol değerleri kullanılır ve eski hatalı sonuçlar değerlendirmeye alınmaz. Kural ihlaline bakılarak probleme yol açan hatanın tipi belirlenebilir:

1_{3s} ve R_{4s} kural ihlalleri genellikle rastgele hata; 2_{2s}, 4_{1s} ve 10_x ihlalleri ise sistematik hata lehine bulgulardır. Hatanın tipine göre problemin kaynağını bulunabilir: bu bozuk kit, süresi geçmiş kit, kalibrasyon bozukluğu, pipetleme hatası vb. gibi.

6.1.6. İç Kalite Kontrolün Yetersizliği

İKK, mevcut durumdan olan sapmaları yakalar. Uzun zaman diliminde oluşan sistematik hatalar gözden kaçabilir. Mutlaka dış kalite değerlendirme programları ile beraber kullanılmalıdır. Birbirlerinin alternatifi olarak kullanılamazlar.

İKK da tüm kuralların bir arada kullanılması gerekmez. Her laboratuvar, her bir test için, kendi bias ve CV'sini hesaplayarak hangi kuralı kullanacağını belirleyebilir. Bunun için OPSpecs grafikleri kullanılarak maksimum hata yakalama kapasitesi ve en düşük yanlış ret olasılığı olan kural seçilebilmektedir.

6.2. Dış Kalite Değerlendirme

İç ve Dış kalite değerlendirme birbirini tamamlayan bir bütünün iki parçası olup, birbirlerinin yerine kullanılamazlar. İKK bir laboratuvarın **günlük** analitik performansını izlemeye kullanılırken, DKD laboratuvarların performanslarını birbirleriyle karşılaştırarak **geriye dönük** değerlendirme yapılmasına olanak sağlar. İKK'de bir yöntem oluşturulduğunda doğru kabul edilen bazal durum ile o günkü performansı karşılaştırılır. DKD'de doğru kabul edilen bu bazal gidiş diğer yöntemlerle ve aynı yöntemi kullanan diğer laboratuvarların performansı ile karşılaştırılır. DKD, öncelikle oluşturulmuş ve kabul edilerek uygulamaya sokulmuş olan kalite performansını diğer laboratuvarlarla karşılaştırmak suretiyle değerlendiren bir sistemdir.

6.2.1. Sistemin İşleyişi

Konsantrasyonu bilinmeyen analitlerin bulunduğu materyal tüm laboratuvarlara gönderilir. Her hangi bir hasta örneği gibi çalışılır. Sonuçlar, DKD programını yürüten kuruluşa geri yollanır. Tüm katılımcı laboratuvarların verileri analiz edilir. Analiz raporları düzenli aralıklarla geri gönderilir. Laboratuvar performansını diğer laboratuvarlarla karşılaştırır.

6.2.2. DKD Verilerinin Analizi

İlk yıllarda elde edilen veriler, “doğru” sonuçlar ürettiği kabul edilen referans laboratuvarın verileri ile karşılaştırılarak değerlendirme yapılmıştır. 1960'larda “tüm katılımcı laboratuvar sonuçlarının ortalaması doğruyu yansıtır” düşüncesiyle denk grup (peer group) kavramı ortaya atılmıştır. Bugün DKD programlarında veri analizinde “tüm katılımcılar-tüm yöntemler ortalaması” olarak adlandırılan yöntem kullanılmaktadır. DKD örneklerinde değerlendirmeyi yönlendirmek için hedef değerler tanımlanmalıdır. Hedef değerlerin belirlenmesi; referans yöntemleri ile referans yöntemle karşılaştırılmış belirgin hatası olmayan yöntemlerle, tüm katılımcılar-tüm yöntemler ortalaması veya denk grupların ortalaması ile yapılabilir.

6.2.3. Kabul Edilebilir Aralığın belirlenmesi

Hedef değeri belirlenmesinden sonraki aşama hedef değere yakınlıklarına göre laboratuvar sonuçlarının değerlendirilmesidir. En basit değerlendirme yollarından birisi standart deviasyon indeksi (SDI) kullanılmasıdır:

$$SDI = \frac{\text{Sonuç} - \text{Hedef Değer}}{\text{Grup SD}}$$

(SD:Tüm grubun veya denk grubun standart sapması)

SDI parametresinde ifade -3, -2, -1, 0, 1, 2, 3 SDI ve ara katları şeklindedir. Sonuçlar; “kabul edilebilir” ± 2 SDI; “iyileştirilmesi gerekli” ± 3 SDI $> x > \pm 2$ SDI ya da “kabul edilemez” $x > \pm 3$ SDI şeklinde değerlendirilir. Kabul edilemez sonuçlarda mutlaka düzeltici-önleyici faaliyetler yapılmalıdır.

Sonuç olarak, DKD analitik yöntemlerin performanslarının objektif olarak değerlendirildiği bir sistemdir. İKK ve DKD birbirlerini tamamlarlar. İKK, analitik metodların günlük kesinlik ve doğruluk izlemleri için gereklidir. DKD, analitik metodlarda uzun soluklu doğruluğun sağlanması için önemlidir. Klinik laboratuvarlarda DKD ve İKK birlikte kullanılmalıdır.

7. TAM KAN SAYIMINDA HATA KAYNAKLARI ve KALİTE KONTROLÜ

7.1. Preanalitik Evre Hata Kaynakları

1. Uygunsuz teknik
2. Turnikenin uzun süre uygulanması
3. Kapiller kan alımı sırasında parmağın sıkılması
4. Postür ve kas aktivitesi
5. Kullanılan antikoagülan *etilen diamin tetra asetik asit* (EDTA)
6. Kanın antikoagülan ile yeterli miktarda karışmaması (kan alındıktan sonra 5-10 kere yavaşça alt-üst edilmeli)
7. Uzun süre beklemiş örnekler (EDTA'lı tüpe alınan kan 20°C'de 5 saat, 4°C'de 24 saat saklanabilir)
8. Trombosit kümelerinin oluşması
9. Fizyolojik Faktörler

7.2. Fizyolojik Faktörler

Doğumdan sonraki ilk iki günde retikülosit sayısı % 3 ila 7 arasındadır. İkinci günden sonra azalmaya başlar ve ilk hafta sonunda % 1-3 düzeylerine iner. Hemoglobun ve hematokrit düzeyleri de doğumdan hemen sonra en yüksek düzeylerdedir. Normal yeni doğan MCV düzeyleri (104-118 fL) erişkinle (80-96 fL) karşılaştırıldığında belirgin olarak daha yüksektir. Eritrosit indeksleri kadın ve erkekte hemen hemen aynıdır. Hemoglobun düzeyleri erkeklerde 1-2 g/dL kadar daha yüksektir. Bu farkın temel nedeninin androjenlerin eritropoietik üretim

üzerine etkisi olduğu düşünülmektedir. Östrojenlerin eritropoez üzerine hafif de olsa baskılayıcı bir etkisi vardır. Eritrosit sayısı ve hematokrit de erkeklerde bir miktar daha yüksektir.

Hemoglobin düzeyleri sabahları en yüksek, gün içinde gittikçe düşerek akşam üzeri en düşük seviyelerine ulaşır. Sabah-akşam farklılığı % 8-9 kadar olabilir. Yüksek rakımda yaşamak hemoglobin, hematokrit ve eritrosit sayılarını etkiler; deniz seviyesinde yaşayanlara oranla daha yüksektir. Anoksik uyarıya bağlı olarak eritropoietin üretiminin tetiklenmesi nedeniyle gerçekleşir. Sigara içenlerde de hafif bir eritrositoz gözlenir.

Lökositlerdeki diüurnal varyasyon özellikle nötrofillerde belirgindir. Sabahları ve istirahatte en düşük, akşamları ise en yüksek düzeydedir. Ancak bu değişim kişiden kişiye çok farklılıklar gösterir. Egzersiz lökositozu uyarır; özellikle nötrofil sayısında artış gözlenir. Irksal farklılık da mevcuttur, örneğin Afrika kökenlilerde nötrofil düzeyleri beyaz ırka göre daha düşüktür. Sigara kullananlarda lökosit sayısı kullanmayanlara oranla bir miktar daha yüksektir.

7.3. İnterferanslar

Tablo 1. Tam kan sayımında interferans görülen durumlar

Parametre	Artma	Azalma
Lökosit	Kriyoglobulinler Heparin Monoklonal proteinler Çekirdekli eritrositler Eritrositlerin Parçalanmaması	Pıhtılaşma
Eritrosit	Kriyoglobulinler Dev plateletler Yüksek WBC	Pıhtılaşma Hemoliz (<i>in vitro</i>) Mikrositik hücreler
Hemoglobin	Hiperbilirubinemi Hiperlipemi Monoklonal protein Karboksi Hb (> %10)	Pıhtılaşma
Hematokrit	Dev platelet Hiperglisemi Yüksek WBC Plazma sıkışması	Pıhtılaşma Hemoliz
MCV	Hiperglisemi	Hemoliz

8. ANORMAL HEMOGLOBİNLER

Hemoglobin üretiminden sorumlu alfa, beta, gama, delta genlerindeki mutasyonlardan, yapısal değişikliğe neden olanlar anormal (varyant) hemoglobinleri, hemoglobin sentezinde azalma veya yokluğa neden olanlar ise talasemi sendromlarını ortaya çıkarmaktadır. Günümüzde 1000'nin üzerinde anormal hemoglobin bildirilmiştir. Bunların büyük bir kısmı heterozigot durumda bulgu vermediği için sıklıkla tarama çalışmalarlarıyla saptanır. Delta gen mutasyonları sonucu gelişen anormal hemoglobinler, HbA₂ düzeyinde düşüklük ile karakterize olduğundan, herhangi bir bulgu vermez.

Anormal hemoglobinlerden bazıları yapısal özelliklerinden ötürü polimerleşme (HbS), kristalleşme (HbC) veya dayanıksız olmaları nedeniyle hemolitik anemiye neden olurlar. Oksijen affinitesinde artış gösteren anormal hemoglobinler eritropoezi artırırken, affinitede azalmaya neden olanlar ise siyanoz ile kendini gösterir. Bazı hemoglobin varyantları (HbE) ise talasemik fenotip göstermektedir.

Hemoglobin elektroforezinin yenidoğan ve erişkindeki görünümü farklıdır. Erişkin hemoglobin elektroforezinde, HbA'nın görülmediği, tek bir band/pik gösteren olgular büyük olasılıkla anormal hemoglobin yönünden homozigottur (HbSS, HbEE, HbCC, HbDD gibi). Bununla birlikte eşlik eden talasemi (beta veya alfa) söz konusu olabilir (Bknz. algoritma 1).

9. TÜRKİYE'DE SIK GÖRÜLEN ANORMAL HEMOGLOBİNLER

Bunların başlıcalarını HbS, HbE, HbD, HbC ve HbO Arab oluşturmaktadır.

1. Hemoglobin S (HbS): Hemoglobin S, beta globin zincirinde 6. pozisyondaki glutamik asidin valinle yer değiştirmesiyle ($\beta 6 \text{ Glu} \rightarrow \text{Val}$) ortaya çıkmaktadır. Anormal Hemoglobinler içinde Türkiye'de en sık görülen hemoglobin tipi HbS'tir. Türkiye genelinde sıklık %0,37-0,6 arasında iken, özellikle Çukurova bölgesinde bazı yörelerde bu sıklık %3-44 arasında saptanmıştır. Orak hücre hemoglobinini genetik olarak homozigot durumda taşıyan hastalar için orak hücre anemisi terimi kullanılır. Otozomal çekinik (resesif) geçiş gösteren bu hastalıkta hasta birey doğması için her iki ebeveynin de taşıyıcı olmaları gerekir.

Orak hücre hemoglobinini homozigot veya heterozigot durumda taşıyan kişilerde veya diğer hemoglobinlerle birlikte taşıyan kişilerde görülen bulguların oluşturduğu tabloya "orak hücre sendromları" adı verilmektedir. Bir ebeveynen HbS, diğerinden bir başka hemoglobinopati (örneğin beta talasemia veya HbC) kalıtılması sonucu birçok orak hücre sendromu oluşabilmektedir. Bu sendromlardan en sık görülenleri HbSC hastalığı, HbS/Beta talasemi, HbS/D^{Punjab}, HbS/O^{Arab}, HbS/E'dir. Klinik bulgular eşlik eden mutasyona göre değişmektedir.

2. Hemoglobin C (HbC): HbC varyantı, β -globin polipeptid zincirinde 6. pozisyondaki glutamik asit yerine lizin amino asitinin ($\beta 6 \text{ Glu} \rightarrow \text{Lys}$) geçmesiyle oluşmaktadır. Bu değişiklik eritrositin dikdörtgen şeklinde deforme olmasına ve kristalleşerek çökmesine neden olmaktadır. HbC taşıyıcısı olan HbC/A heterozigot bireylerde önemli bir klinik belirti görülmez iken, HbC/C homozigot bireylerde kronik hemolitik anemi ve splenomegali görülmektedir. HbS/C heterozigot bireylerinde ise "hemoglobin SC hastalığı" görülür. Bu hastalar orak hücre sendromundaki klinik tabloyu gösterirler.

3. Hemoglobin E (HbE): Hb E'de β -globin polipeptid zincirinde 26. pozisyondaki glutamik asit yerine lizin amino asiti ($\beta 26 \text{ Glu} \rightarrow \text{Lys}$) geçmiştir. Bu değişim hemoglobinin daha az sentezlenmesine neden olduğundan fenotipik olarak talasemik bulgular vermektedir. Hb A/E heterozigot bireylerde hafif bir anemi görülür iken Hb E/E homozigot bireylerde, orta derecede anemi görülmekte olup, eritrositlerin ömrü biraz kısalmıştır.

4. Hemoglobin D (HbD): Elektroforetik göçlerine dayanılarak HbD olarak adlandırılan birkaç varyant bulunmaktadır. HbD'ler alkali selüloz asetat elektroforezinde Hb S ile birlikte, asidik sitrat agar elektroforezinde ise HbA ile birlikte göç etmektedirler. HbD'nin en yaygın görülen formu, Hb D-Punjab'dır. Bu varyant Hindistan'ın Punjab bölgesinde ve Pakistan'da yaygın olarak görülmektedir. HbD-Punjab'ta, β -polipeptid zincirinin 121. pozisyondaki glutamik asit yerine glisin amino asiti ($\beta 121 \text{ Glu} \rightarrow \text{Gln}$) geçmiştir. HbA/D heterozigot ve HbD/D homozigot

genotipli bireylerde herhangi bir semptom görülmemektedir. Hb S/D genotipli bireylerde orak hücre sendromu görülmektedir.

5. Hemoglobin O Arab: HbO Arab beta globin zincirinin 121. pozisyonundaki glutamik asit yerine lizin gelmesi ile oluşmaktadır. Amerikan zencileri, Araplar, Sudanlılar, Bulgarlar gibi farklı etnik gruplarda ve Türk halkı ile Kıbrıs Türklerinde bildirilmiştir.

Algoritma 1: Yetişkin Bireyin Hemoglobin Elektrofrezinde Anormal Hemoglobin varlığında:

1. Hemoglobin elektrofrezinde HbA ve HbS birlikteliği:

- **HbS %40-50:** HbA olarak tanımlanan bölgede görünen band/pik'in HbA olduğundan emin olunmalı. HbS düzeyi HbA'dan yüksek ise; HbA üretimi yüksek olan HbS β^+ talasemi olabilir.
- **HbS > %50:** HbS β^+ göz önünde bulundurulmalıdır. Bu hastalar genellikle düşük MCH ile kendini gösterir. Bazı HPLC sistemlerinde HbS piklerinden biri HbA penceresinde görünebilir. Bu durum HbSS'li olgunun HbS β^+ olarak değerlendirilmesine neden olabilir. Alkali pH'da yapılacak sellüloz asetat elektrofrezini ayırıcı tanıda yardımcı olabilir.
- **HbS <%30 ve MCH <25 pg:** HbS'e eşlik eden alfa talasemi veya demir eksikliği anemisinin eşlik ettiği orak hücre anemisi taşıyıcısıdır.

2. Hemoglobin elektrofrezinde HbA ve HbC birlikteliği: HbC ile aynı yerde görülebilen anormal hemoglobinlerin olduğu göz önünde bulundurulmalıdır, kesin tanı genetik analiz ile konmaktadır.

- **HbC düzeyi %40-50:** HbA bandında görünen pik HbA'ya ait ise kişi büyük olasılıkla HbC taşıyıcısıdır.
- **HbC >%50:** HbC β^+ göz önünde bulundurulmalıdır. Bu bireylerde MCH genellikle 27 pg'ın altındadır.
- **HbC <%35:** HbC'ye eşlik eden alfa talasemi veya demir eksikliği anemisi sorgulanmalıdır.

3. Hemoglobin elektrofrezinde HbA ve HbD birlikteliği: HbD'nin elektrofrezdeki pozisyonu kullanılan sisteme bağlıdır. Bazı sistemler HbD^{Punjab}'in önünde ortaya çıkan HbA₂'yi düzeyini düşük ölçmektedir. Bu durum hücre indisleri göz önünde bulundurulduğu sürece sorun teşkil etmemektedir. HbD'nin birkaç tipi olup kesin tanı genetik analiz ile konmaktadır.

- **HbD %40-50:** HbA bandında görünen pik HbA'ya ait ise kişi büyük olasılıkla HbD taşıyıcısıdır.
- **HbD > %50:** HbD β^+ göz önünde bulundurulmalıdır. Bu bireylerde MCH genellikle 27 pg'ın altındadır.
- **HbD <%30 ve MCH <25 pg:** HbD'ye eşlik eden alfa talasemi veya demir eksikliği anemisi olabilir.

4. Hemoglobin elektrofrezinde HbA ve HbE birlikteliği: Birçok yöntemde HbE piki HbA₂'nin olduğu yerde görünmektedir.

- **HbE %35-50:** Analizörün HbA pozisyonunda verdiği band/pikin HbA'ya ait olduğundan emin olunmalı, HbA'ya ait ise büyük olasılıkla HbE taşıyıcısıdır.
- **HbE > %50:** HbE β^+ göz önünde bulundurulmalıdır. HbE taşıyıcılarında MCH değeri genellikle <27pg olduğundan, eritrosit indislerini tek başına değerlendirmemek gerekir. Fenotipik olarak HbE β^+ 'lı bireylerde hemoglobin düzeyleri azalmış olmakla birlikte HbF düzeyi >% 4'tür.

- **HbE <%25 ve MCH <25 pg:** HbE'ye eşlik eden alfa talasemi veya demir eksikliği anemisi olabilir. Alfa talasemi birlikteliği şüphesi varsa mutasyonun büyüklüğü ve kişinin eşinde olası alfa talasemi taşıyıcılığı sorgulanmalıdır.

5. Hemoglobin elektroforezinde HbA ve HbO^{Arab} birlikteliği: HbO^{Arab} farklı analizörlerde farklı pozisyonlarda görünmekle birlikte genellikle HbC'nin önünde pik vermektedir.

- **HbO^{Arab} %40-50:** Analizörün HbA pozisyonunda verdiği band/pikin HbA'ya ait olduğundan emin olunmalı, HbA'ya ait ise büyük olasılıkla H O^{Arab}'tır.
- **HbO^{Arab} >%50:** HbO^{Arab}/β⁺ talasemi irdelenmelidir. Bu bireylerde MCH genellikle 27pg'in altındadır.
- **HbO^{Arab} <%30 ve MCH <25 pg:** Eşlik eden alfa talasemi veya demir eksikliği anemisi olabilir. Alfa talasemi birlikteliği şüphesi varsa mutasyonun büyüklüğü ve kişinin eşinde olası alfa talasemi taşıyıcılığı sorgulanmalıdır.

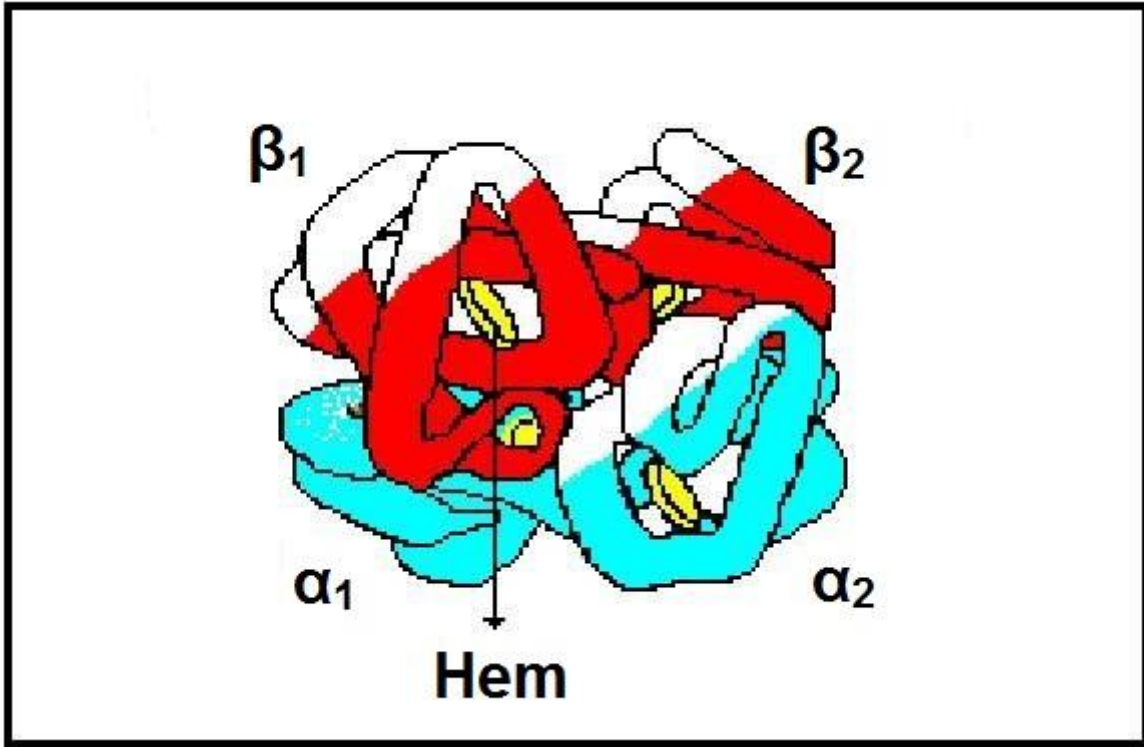
6. Bireyin hemoglobin elektroforezinde tanımlanamayan band görülmesi: Kişi genetik analiz için ileri bir merkeze yönlendirilmelidir.

10. TALASEMİLER

10.1. BETA TALASEMİLER

Talasemiler, otozomal resesif geçiş gösteren, hemoglobin zincirlerinden birinin veya birkaçının hasarlı sentezi sonucu gelişen hipokrom, mikrositer anemi ile karakterize heterojen bir grup hastalıktır. Talasemi, α, β, γ, δ olarak tanımlanan hemoglobin zincirinin veya zincirlerinin az üretilmesi veya hiç üretilmemesi ile oluşur.

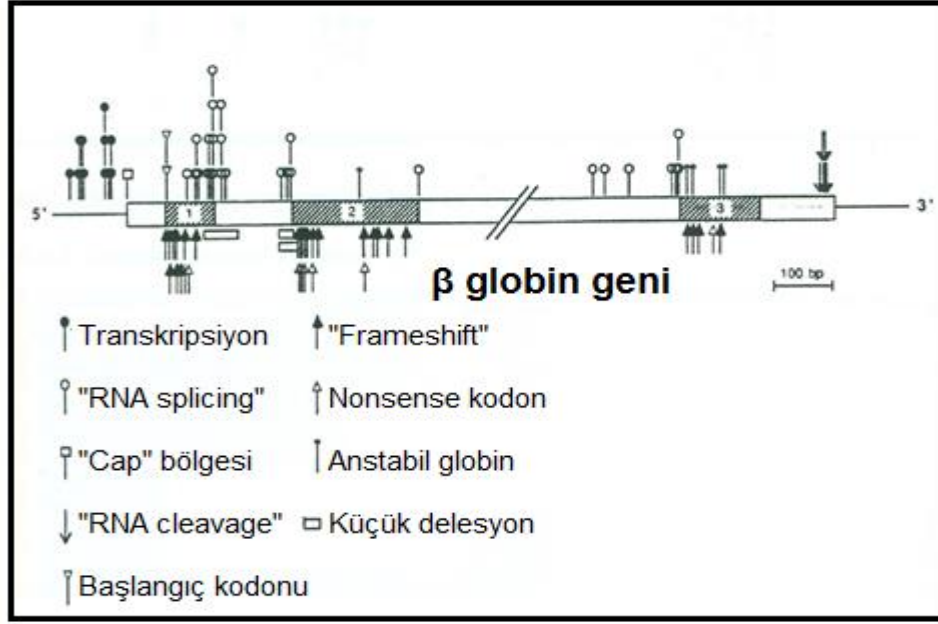
Hemoglobin, dört globin zinciri, hem denilen ferröz demir içeren tetrahidropirol halkası içeren bir proteindir. Oksijenin dokulara taşınması, karbondioksit ve protonların atılması, kan pH tamponlanması gibi çok önemli görevleri olduğundan üzerinde en çok çalışılan moleküldür (Şekil 3). Hemoglobin bozukluklarına hemoglobinopati denilerek 1.000 den fazla hastalık tanımlanmıştır. Bunlardan biri ve en sık görüleni olan talasemilerden; alfa zincir yapımı azlığı alfa talasemiye, beta zincir yapımı azlığı beta talasemiye neden olmaktadır. Beta zincir yapımı hiç yoksa β⁰, beta zincir yapımı az da olsa yapılıyorsa β⁺ talasemi adı verilmektedir. Dünya nüfusunun %3'ü beta talasemi taşıyıcısıdır. Ülkemizde β talasemi taşıyıcılığı %2 olarak belirtilmekte olup halk sağlığı sorunudur. Çukurova, Akdeniz kıyı şeridi, Ege ve Marmara bölgelerinde talasemi taşıyıcılığı çok daha sık görülmekte olup bazı yerleşim bölgelerinde taşıyıcılık %10'ları geçmektedir. Türkiye'de yaklaşık 1.300.000 beta talasemi taşıyıcı ve 4000 civarında beta talasemi hastası vardır. Otozomal resesif kalıtılan β- talasemide, 300' ün üzerinde genetik mutasyon saptanmıştır. Bazı tiplerinin kliniği ağırdır.



Şekil 3. Hemoglobin molekülü

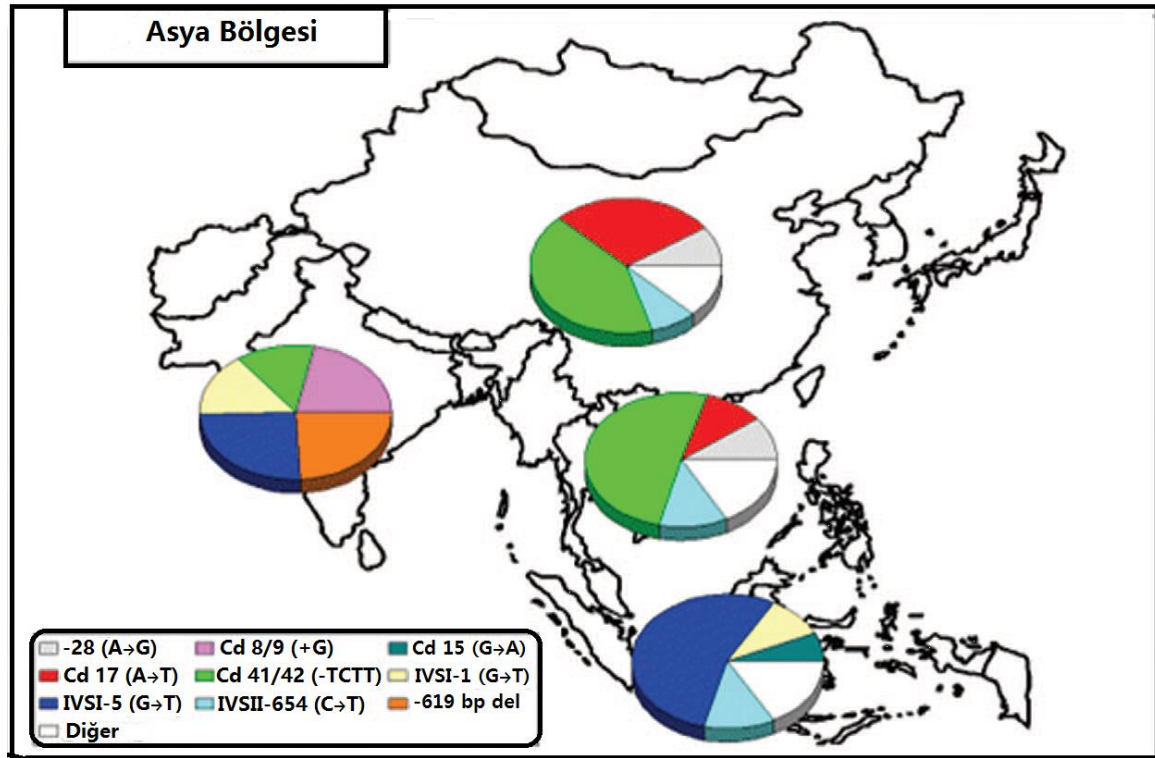
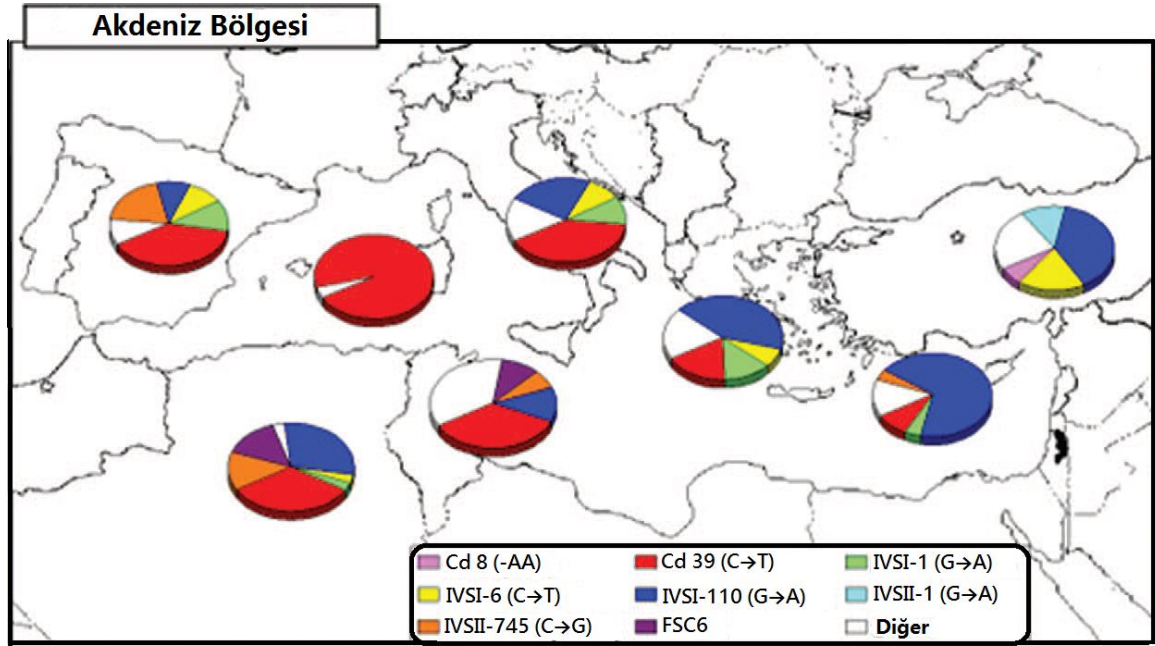
Aslında, kliniğin ağırlaşmasına neden olan alfa/nonalfa zincir globin protein sentezindeki bozukluğun oranına ve/veya β -globin zincir stabilitesini bozan mutasyonlara bağlıdır. Eğer oran yüksekse, hücrelerde alfa globin çökmesi daha çok olacak ve eritrosit hücre öncülerinin prematür bozukluğu kliniği ağırlaştıracaktır. Bazı mutasyonlar β -globin zincir sentezini tamamen ortadan kaldırır (fenotip β^0 talasemi), diğer grupta ise %5-30 oranında β globin sentezi vardır (β^+ fenotip). β^0 talasemide HbA sentezi yoktur. β^0 talasemi de söz konusu mutasyonun izin verdiği ölçüde HbA vardır.

Mutasyonlar; beta globin zincirini belirlediği gibi bununla ilgili olarak klinik tipi ile de yakın ilişkilidir. Son otuz yılda talasemi ve anormal hemoglobinlerin genetik tanısına ilişkin çok çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. 1980'lerin ikinci yarısından itibaren PCR'nin (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) devreye girmesi ile teknolojik olanakları yüksek merkezlerde, hayata geçirilen bu yöntemler rutin kullanıma alındı. Genellikle; gen kodlayıcı bölgeleri ile ekson-intron sınırındaki, evrim boyunca korunmuş bölgeleri hedef alan mutasyonlar β^0 talasemiye, promotor bölgesinde, intronların iç kısmında ve genin poli A sinyali civarında olan mutasyonlar β^+ talasemiye neden olmaktadır. Bu mutasyonlar; transkripsiyon, inisiasyon, RNA kırılması, RNA prosesing, RNA modifikasyonu, translasyon, anstabil globin gibi sınıflandırılır (Şekil 4). Bazı mutasyonlar talasemik hemoglobinler olarak adlandırılan anormal hemoglobinleri oluşturmaktadır (HbE, HbD-Los Angeles, HbC, HbO-Arab gibi).



Şekil 4. β- talasemi mutasyon çeşitleri

β talasemide mutasyonlar genellikle nokta mutasyonu şeklindedir. Delesyon, frameshift mutasyonlar çok az görülür. Moleküler yapıda bu kadar çeşitliliğe rağmen, bazı coğrafik bölgeler-ülkeler bazında mutasyonlardan ancak birkaçı bulunmakta, hatta İtalya Sardinya adası gibi coğrafyalarda bir mutasyon görülen tüm mutasyonların %95'ini (codon 39 gibi) oluşturmaktadır (Şekil 5). Ancak Türkiye'de durum biraz karışıktır. Türk toplumunda 30'u aşkın mutasyon tanımlanmış olup, bu geniş moleküler çeşitlilik, hastalığı önleme stratejisini ve programlarını önemli ölçüde güçleştirmektedir. IVS-I-110 Türkiye'de en sık rastlanan β-talasemi mutasyonudur (%40); bunu IVS-I-6, FSC-8, IVSI-1, IVS-II-745, IVS-II-1, Cd39, -30 ve FSC-5 mutasyonları takip etmektedir. IVS-I-110'un Türkiye genelinde %40 olan sıklığı, Orta Anadolu'da %50'yi aşmakta, buna karşılık Doğu ve Güney Doğu Anadolu'da %25'lere düşmektedir. Türkiye'nin coğrafi bölgeleri, mutasyon sıklığı ve mutasyon çeşitliliği açısından kıyaslandığında, ülke nüfusunun %50'sini barındıran Batı Anadolu ve Akdeniz bölgelerinin, Türkiye genelindeki dağılımla uyumlu olduğu, buna karşılık Kuzey, Güney ve Doğu Anadolu bölgelerinin daha az heterojen olduğu ve kendilerine özgü mutasyonlar içerdiği görülür (-30, -87, FSC8/9, IVS-II-745 gibi). Bu moleküler yapıya göre klinik sınıflandırma yapılır.



Şekil 5. Dünya β -Talasemi moleküler haritası

10.1.1. Beta Talasemilerde Klinik Sınıflandırma

1. Sessiz Taşıyıcı: Hematolojik olarak normal
2. Talasemi minör (taşıyıcı, heterozigot): Hafif hipokrom mikrositer anemi
3. Talasemi intermedia (hasta, homozigot): Transfüzyon ihtiyacı olmayan
4. Talasemi majör: Transfüzyona bağımlı

1. Sessiz Taşıyıcılık; Globin sentezinde orta derece azalma (en sık -101 promotör mutasyon) vardır. HbA₂ düzeyleri normal ve periferik yaymaları normal, MCV hafif düşük olabilir. Her iki ebeveyn sessiz taşıyıcı olduğu homozigot çocukta orta derece anemi (Hb 6-7 g/dL), nadiren transfüzyon gereksinimi ve hepatosplenomegali görülür.

2. β - Talasemi Minör (taşıyıcılığı): Üç tiptir.

a. Yüksek A₂ taşıyıcılığı; en fazla görülenidir. HbA₂: %3,5-8, HbF: %1-5. β^+ veya β^0 mutasyonlarla olan heterozigotlar farklıdır. β^+ taşıyıcılarda MCV ve MCH daha yüksektir. Homozigot çocuklarında transfüzyona bağımlı anemi görülürken bazen de talasemi intermedia fenotipi olabilir.

b. Yüksek A₂, yüksek F ile olan β -talasemi taşıyıcılığı; Farklı bir varyanttır. Hem A₂ hem de HbF (%5-20) yüksektir. β gen delesyonu varken δ ve γ genleri sağlamdır. Hiper anstabil proteinler, heterozigot β - talasemi ile birlikte üç ya da dört α - globin gen birlikte olabilir.

c. Normal A₂ ile olan β -talasemi taşıyıcılığı; Sessiz taşıyıcılardan farklı olarak hipokrom mikrositer anemi saptanır (A₂ sınırdadır). Hem β hem de δ geni hasarlıdır (aynı ya da karşı kromozomda). Demir eksikliği, δ , β , γ talasemiler birlikte olabilir. Bazı ılımlı β - talasemi mutasyonlarında da görülebilir. Ebeveynlerin biri bu tip, diğeri klasik taşıyıcı ise doğacak hasta çocukta ağır klinik tablo görülebilir.

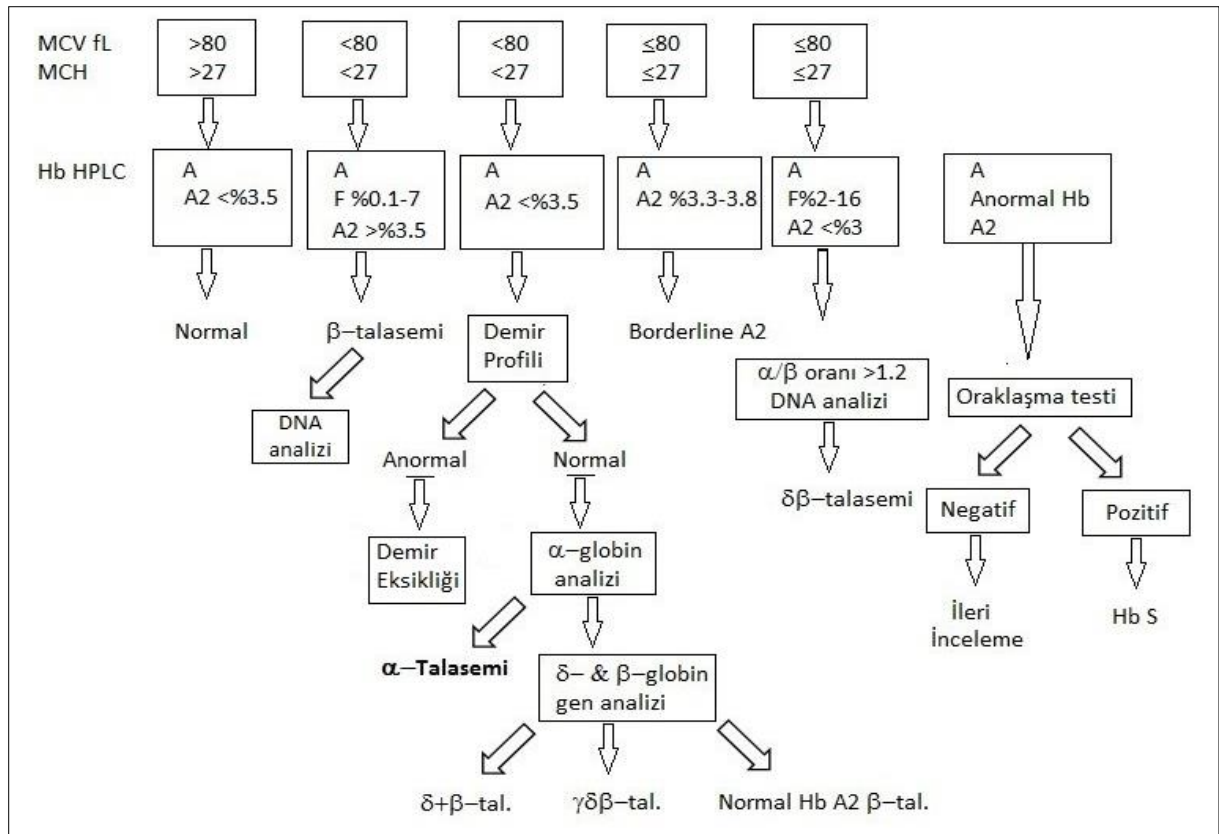
10.1.2. Beta Talasemi Taşıyıcılarında (BTT) Laboratuvar Bulguları

Eritrositöz ve mikrositözün olması, RDW'nın normal veya düşük saptanması ayırıcı tanıda önemlidir. BTT tanısı koyarken; demir eksikliği anemisi, alfa talasemi taşıyıcılığı ve kronik hastalık anemisinden ayırıcı tanısı yapılmalıdır (Tablo 2).

Tablo 2. Talasemi taşıyıcılığında ayırıcı tanı

	Demir Eksikliği Anemisi	Talasemi Taşıyıcılığı		Kronik Hastalık Anemisi
		Beta	Alfa	
Hemoglobin (g/dL)	3-10	9-11	10-12	8-11
Serum Ferritin	Düşük	Yüksek	Yüksek	Düşük/Yüksek
Serum Demir	Düşük	Yüksek	Yüksek	Düşük
TDBK	Yüksek	Normal/Düşük	Normal	Düşük
TS	Düşük	Yüksek	Yüksek/Normal	Düşük
FEP	Hafif Yüksek	Normal	Normal	Yüksek
HbA ₂	Düşük/Normal	Yüksek	Normal	Normal
Kemik İliğinde Sideroblast (%30-50)	Azalmış	Normal	Normal	Azalmış (%5-20)

β -Talasemi taşıyıcılığında; Laboratuvar olarak Kan sayımı ve HPLC ya da kapiller elektroforez kullanılarak algoritma 2 takip edilebilir.



Algoritma 2. beta- talasemi taşıyıcılığı algoritması

Tablo 3. Kan sayımında kullanılan parametreler

MCV	$= \frac{\text{Hct} \times 10}{\text{RBC}}$ fL	Ortalama Eritrosit Hacmi
MCH	$= \frac{\text{Hb} \times 10}{\text{RBC}}$ pg	Ortalama Eritrosit Hemoglobini
MCHC	$= \frac{\text{Hb}}{\text{Hct}} \times 100$ g/dL	Ortalama Eritrosit Hemoglobin Yoğunluğu
RDW		Eritrosit Dağılım Genişliği
Serum Demiri		K: 50-70 µg/dL E: 65-175 µg/dL
Total Demir Bağlama Kapasitesi		250-425 mg/dL
% Saturasyon	$= \frac{\text{Serum Demiri} \times 100}{\text{TDBK}}$	
Ferritin		K: 10-120 ng/mL E: 20-250 ng/mL

Kan sayımında kullanılan parametreler; MCV, MCH ve diğerleri yukarıdaki gibi açıklanır (Tablo 3).

Beta talasemi taşıyıcılığının fenotip genotip ilişkisi; alfa – beta – delta – gama talasemi birliktelikleri ve bunların mutasyon tipleri (sessiz, hafif, ciddi, vb.) ya da demir eksikliği anemisi ile ilişkisi açıklanmıştır (Tablo 4).

Tablo 4. Heterozigot beta-talasemi: genotip-fenotip modifikasyonlar

Fenotip	Genotip
Normal kan sayımı	<ul style="list-style-type: none"> Alfa ve beta talasemi etkileşimi
Normal HbA ₂ düzeyi	<ul style="list-style-type: none"> Demir eksikliği- Delta ve beta talasemi birlikteliği Bazı orta dereceli beta talasemi mutasyonları Gama- delta beta-talasemi
Normal kan sayımı ve hafif yüksek HbA ₂ (sessiz)	<ul style="list-style-type: none"> Hafif beta-talasemi mutasyonları Alfa-globin genin üç / dört kopyalı üretimi
Ciddi heterozigot Beta talasemi	<ul style="list-style-type: none"> Hiperanstabil hemoglobin Heterozigot Beta talasemiye eşlik eden Alfa-globin gen üç/ dört kopyalı üretimi

10.1.3. Beta Talasemi İntermedia (BTİ)

Homozigot talasemidir, ancak klinik bulgular Beta talasemi majör (BTM) kadar ağır değildir. Enfeksiyon, cerrahi ve bazı özel stres durumları dışında Hb: 6-10 g/dL düzeyindedir. İlerleyen yaşla kemik iliği genişlemesine bağlı kemik değişiklikleri görülür. Ekstramedüller hematopoez kitleleri saptanabilir. Artmış demir emilimi sonucu demir birikim bulguları görülebilir.

BTİ’de laboratuvar bulguları: Hct, eritrosit sayısı ve eritrosit indekslerinde (MCV, MCH, MCHC) azalma, RDW’de artış, periferik yaymada; eritrositlerde ağır hipokromi, mikrositoz, anizositoz, poikilositoz, hedef hücreleri, polikromazi, bazofilik noktalanma ve normoblastlar, retikülosit düzeyinde hafif artış (%2-4) görülür. Hemogloblin elektroforezinde ise HbA’da azalma (%10-20), HbF (%70-80) ve HbA₂’de artma gözlenir. Moleküler tanı (DNA-PCR) yöntemleri, Anne ve babada BTT’nin gösterilmesi tanıya yardımcıdır. Tablo 5’de BTİ ile BTM ayırıcı tanısı görülmektedir.

Tablo 5. BTİ ve BTM ayırıcı tanısı

	Beta Talasemi Majör	Beta Talasemi İntermedia
Tanı (yıl)	<2	>2
Hb (g/dL)	<7	8-10
Hepatomegali/Splenomegali	Ağır	Hafif-Orta
HbF (%)	>50	>10-50
HbA ₂ (%)	<4	≥4
Ebeveynler	Her ikisinde de HbA ₂ yüksek beta talasemi	Biri veya her ikisi atipik taşıyıcı
Mutasyon tipi	Ağır	Hafif/sessiz

10.1.4. Beta Talasemi Majör (BTM)

Klinik bulgular genellikle 6 ay–2 yaş arasında ortaya çıkar. İlk 4-6 ayda anemi ve anemiye bağlı bulgular görülür. Hasta soluktur, büyüme geriliği ve karında şişlik mevcuttur. Hafif sarılık, hepatosplenomegali tespit edilir. Kısa boy, büyük baş, belirginleşmiş abdomen inspeksiyonda göze çarpar. Maksiller hipertrofi ve hiperplazi, dental deformite, frontal ve zigomatik kemiklerde hipertrofi, uzun kemiklerde patolojik kırıklar hastalarda görülen iskelet kusurları arasındadır.

BTM'de laboratuvar bulguları: Beta talasemi intermedia ile aynıdır. Ancak hemoglobin elektroforezinde genellikle HbA sentezi daha az ve HbF total hemoglobinin %80'inden fazladır.

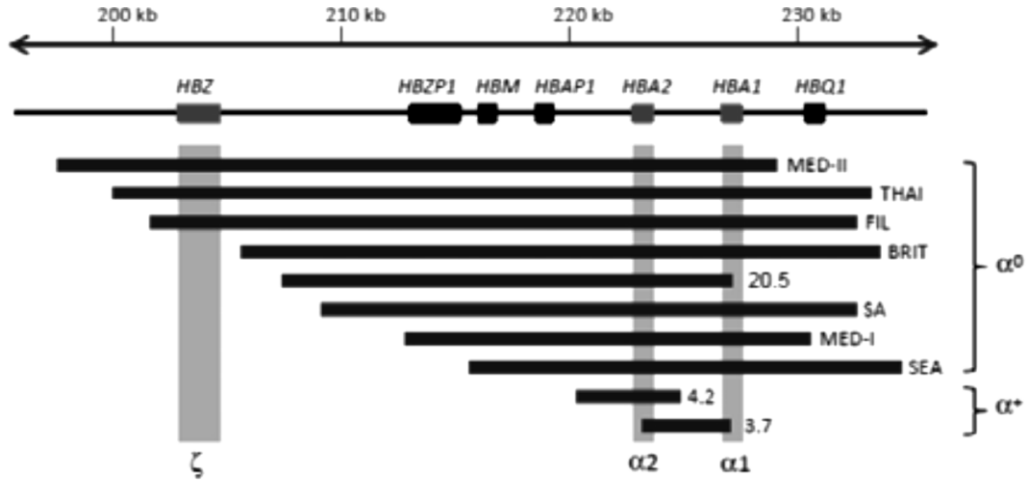
BTİ ve BTM de genellikle klinik belirtiler erken ortaya çıktığı ve hasta yakınları tarafından kolaylıkla fark edilebildiği için tanı kolaydır. Tanı koyma BTT'de sıkıntılıdır. Çoğunlukla klinik belirti yoktur.

10.2. ALFA TALASEMİLER

Alfa talasemiler, α -globin zinciri sentezinde azalmayla karakterizedir. En sık görülen kusur delesyoneldir, non-delesyonel kusurlar da tanımlanmıştır. α globin genini ilgilendiren 500'ü aşkın mutasyon yayınlanmıştır. Moleküler kusurlar iki gruba ayrılır:

1. Delesyonlar: Alfa talasemide en sık rastlanılan durumdur. Delesyonların genişliği önemlidir ve klinik fenotipi etkilemektedir.
2. Nokta mutasyonları: Alfa talasemide nadirdir.

Alfa globin gen kümesinde 2 alfa globin geni (alfa1 ve alfa2) bulunur. Alfa 2 geninin alfa 1 geninden daha fazla alfa globin zinciri oluşturduğu gösterilmiştir. Alfa talasemi sendromlarında etkilenen alfa globin genine ve sayısına göre alfa globin zinciri yapımı azalır ve klinik tablo da etkilenen gen sayısına göre değişir. Eğer delesyon ya da mutasyon gen ekspresyonunu tümünden ortadan kaldırıyorsa alfa0 talasemi, ekspresyonu azaltıyorsa alfa+ talasemi olarak adlandırılır. Bir başka ifadeyle alfa0 talasemi genellikle iki α -globin geni delesyonu ya da disfonksiyonunun sonucudur ve alfa+ talasemi genellikle bir α -globin geni delesyonu ya da disfonksiyonunun sonucudur (Şekil 6). Homozigotluğu α -talasemi trait hematolojik fenotipiyle sonuçlanır.



Şekil 6. Alfa globin gen kümesi ve delesyonları

10.2.1. Coğrafik Dağılım

Dünya popülasyonundaki α -talasemi dağılımı sıtmanın yaygınlığına uymakta olup sıtma ile sürekli ya da bir zamanlar etkilenen Güneydoğu Asya, Afrika, Akdenizi çevreleyen ülkelerde ve Ortadoğu'da yüksek sıklıkta bulunmaktadır. Heterozigot olguların malaryaya karşı dayanıklı olduğu ileri sürülmüştür.

α^0 talasemi çok sıklıkla Akdeniz ülkeleri ve Asya popülasyonlarında bulunmakta, Afrika ve Ortadoğu ülkelerinde daha az görülmektedir. Bununla birlikte α^+ talasemi büyük sıklıkla Batı Afrika, Akdeniz, Ortadoğu ve Güneydoğu Asya'da görülmektedir. Türkiye'de HbH'nin oranı % 3.6 olarak bildirilmiştir. Adana ve çevresinde yenidoğan bebeklerden kordon kanı alınarak kromatografik yöntemle yapılan tarama çalışmasında alfa talasemi taşıyıcılık oranı %3.3 olarak bulunmuştur. Ülkemizde en sık görülen gen kusurları -3,7 kb delesyonu, -20,5 kb delesyonu, MED 1 delesyonu ve poliadenilasyon 2 mutasyonları olarak bildirilmektedir. Adana bölgesinde 12 farklı genotip bildirilmiş olup, en sık görülen -3.7 delesyonu görülmekte ve bunu sırasıyla -20.5 kb, -17.4 kb (MED I) ve -26.5 kb (MED II) delesyonları izlemektedir. Ülkemizde 20,5 kb'lik delesyonun homozigotluğuna bağlı Hb Bart's hidrops fetalis olguları tanımlanmıştır.

10.2.2. Klinik Özellikler

Alfa talaseminin klinik olarak önemli fenotipleri hemogloblin Bart's hidrops fetalis ve Hb H hastalığıdır. Alfa talasemi hastalıklarının ciddiyeti α -globin zincir kusuru kapsamına bağlıdır.

Hb Bart's sendromu: α -talasemiyle ilişkili en ciddi klinik durumdur. Etkilenmiş fetuslar ya doğumda ya da doğumdan hemen sonra ölür. Hb Bart'slı kırmızı hücreler aşırı yüksek oksijen afinitesine sahiptir ve etkin doku oksijenlenmesi yetersizdir. Klinik özellikler ciddi anemi, belirgin hepatosplenomegali, diffüz ödem, kalp yetmezliği ve ekstramedüller eritropoездir. Gelişim anormallikleri de bildirilmektedir. Gebelik sırasındaki maternal komplikasyonlar; preeklampsi (hipertansiyon, ödem ve proteinüri), polihidramniyoz (aşırı amniyotik sıvı) veya oligohidramniyoz (azalmış amniyotik sıvı), antepartum hemoraji ve prematür doğumdur.

HbH hastalığı: HbH hastalığı fenotipik olarak değişkendir. Her ne kadar klinik özellikler genellikle yaşamın ilk yılında gelişse de; yetişkinliğe kadar görülmeyebilir veya asemptomatik bireylerde rutin hematolojik analiz sırasında tanı konabilir. Bireylerin çoğunluğu mikrositik anemi, dalak büyümesi, daha az sıklıkta karaciğer büyümesi, hafif sarılık ve bazen hafif-orta derecede belirgin fasiyal özellikleri etkileyen talasemi benzeri iskelet değişiklikleri gösterir. HbH'lı bireylerin çoğunluğu minör rahatsızlığa sahipken, bazıları düzenli kan transfüzyonu gerektirecek kadar ciddi etkilenmeye sahiptir. Çok nadir olgularda hidrops fetalis bulunur. Demir yüklenmesi sık değildir, fakat yaşlı bireylerde tekrarlayan kan transfüzyonları ve artan demir emiliminin sonucu olarak oluştuğu bildirilmektedir. Gebelik HbH hastalıklı kadınlarda olasıdır, bununla birlikte transfüzyon gerektiren kötü giden anemi de bildirilmektedir.

10.2.3. Adlandırma

Alfa talasemiler, her kromozom 16'daki iki α -globin genlerinde yapılan globin miktarına göre sınıflandırılır:

- Bir kromozom üzerindeki her iki α -globin geni delesyona uğradığında ($--/\alpha\alpha$) ya da inaktive olduğunda α^0 talasemi olarak adlandırılır. Eskiden α^0 talasemi, α -talasemi 1 olarak adlandırılırdı.
- Bir kromozom üzerinde bir gen delesyona uğradığında ya da mutasyonla inaktive olduğunda α^+ talasemi olarak adlandırılır. Daha önceleri α -talasemi 2 olarak adlandırılırdı. Non-delesyonel mutasyonların varlığı $\alpha^{ND}\alpha/\alpha\alpha$ veya $\alpha^T\alpha/\alpha\alpha$ şeklinde gösterilir.

10.2.4. Alfa Talasemi Görünümleri

Alfa talasemiler iki taşıyıcı durumuna (sessiz taşıyıcı ve α -talasemi trait) ve iki klinik olarak anlamlı duruma (HbH hastalığı ve Hb Bart's hidrops fetalis) sahiptir

Sessiz Taşıyıcı ($-\alpha/\alpha\alpha$) :

Tek bir α -globin gen delesyonundan kaynaklanır, α globin zincir sentezindeki azalma güçlükle saptanır. Çünkü tek gen delesyonuna karşın üç sağlam gen bulunduğundan farkedilebilir anormallik bulunmaz ve sessiz taşıyıcı durumu olarak adlandırılır. Yalnızca bir allel etkilendiğinde (heterozigot form) alfa⁺-talasemi ($-\alpha/\alpha\alpha$) fenotipi oluşur. Tümüyle asemptomatiktir veya hafif mikrositoz ve hipokromi vardır ancak Hb elektroforezi normaldir (Hb A₂ normal veya düşük, Hb F normal).

Alfa-Talasemi Trait ($-\alpha/-\alpha$ veya $--/\alpha\alpha$):

Alfa⁰ talasemi aynı kromozomdaki veya iki kromozomun her birindeki iki α -globin geninin delesyonunu ($-\alpha/-\alpha$ veya $--/\alpha\alpha$) içerir. Her iki genetik örnek klinik olarak birbirine benzer. Demir eksikliğine benzer şekilde hafif hipokromik, mikrositik anemili minör klinik bir durumdur.

Hemoglobin H (HbH) Hastalığı ($--/-\alpha$):

Hafif-orta derecede (nadiren ciddi) mikrositer hipokrom hemolitik anemi ve hepatosplenomegalili bir bebek veya çocukta şüphelenilmelidir. Hafif talasemik kemik değişiklikleri etkilenmiş bireylerin yaklaşık üçte birinde görülür. Hb Bart's sendromunun aksine, HbH hastalığı yetişkinliğe dek yaşamla uyumludur. Hb H hastalığı dört α -globin allelin üçünün delesyonu ya da işlev bozukluğunun bir sonucudur.

Hemoglobin Bart's Hidrops Fetalis (Hb Bart's) Sendromu (--/--):

En ciddi alfa-talasemi şekli olup ABO ya da Rh kan grubu uyumsuzluğu olmaksızın yaygınlaşmış ödem, asit, plevral ve perikardiyal efüzyon ve ciddi hipokromik anemiyle karakterizedir. Genellikle gebeliğin 22-28 haftalarında ultrasonografiyle saptanır ve 13-14 haftalık gebelikte artmış ense kalınlığı, olası plasental kalınlık, artmış serebral media arter hızı ve artmış kardiyotorasik oran varlığında riskli gebelikten kuşkulandırılabilir. Yenidoğan döneminde ölüm neredeyse kaçınılmazdır. Dört α -globin alleli delesyona uğramış ya da işlevselliğini yitirmiştir (etkisizleştirilmiştir).

Hemolitik Anemi Gelişme Mekanizması

Alfa-talasemide α -globin zincir yapımı değişen derecelerde azalmış ya da yapılamamakta olduğundan hücre içinde normalde eşleşeceği β -globin zinciri normal düzeyde yapıldığından göreceli olarak α -zincirinden daha fazla yapılır. Eşleşemeyen fazla miktardaki beta zincirleri kendi aralarında tetramer oluşturur ve hem ile bağlanır. Bu tetramer unstabil bir hemoglobin olan Hb H'ı meydana getirir. Alfa talasemi taşıyıcılarında Hb H sadece göbek kanında saptanırken, Hb H hastalığı olan bireylerin periferik kanında yüksektir ve dayanıksız olduğundan eritrositler içinde çöker ve hemolitik anemiye yol açar.

10.2.5. Alfa Talasemilerde Laboratuvar İncelemesi

a. Eritrosit Morfolojisinin Değerlendirilmesi

Kan sayımı hemoglobinopati ayırımında kullanılan testlerin başında gelmektedir. Eritrosit indeksleri alfa talasemi varlığı ve klinik ayrımları hakkında ilk ipuçlarını verir. Eritrosit indeksleri sessiz taşıyıcılarda genellikle normal, α -talasemi traitte ve HbH hastalığında mikrositik anemiye ve Hb Bart's sendromunda aşırı retikülositoz ve megaloblastoid eritropoezin sonucu olarak makrositozu gösterir (Tablo 6).

Tablo 6. Alfa-talasemili yetişkinlerde eritrosit indeksleri

Eritrosit indeksleri	NORMAL		ETKİLENMİŞ		TAŞIYICI	
	Erkek	Kadın	Hb Bart's	HbH hastalığı	α -talasemi trait (--/ $\alpha\alpha$ veya - α - α)	α -talasemi sessiz taşıyıcı
MCV (fL)	89.1±5.01	87.6±5.5	136±5.1	Çocuk: 56±5 Yetişkin: 61±4	71.6±4.1	81.2±6.9
MCH (pg)	30.9±1.9	30.2±2.1	31.9±9	18.4±1.2	22.9±1.3	26.2±2.3
Hb (g/dL)	15.9±1.0	14.0±0.9	3-8	E: 10.9±1.0 K: 9.5±0.8	E: 13.9±1.7 K: 12.0±1.0	E: 14.3±1.4 K: 12.6±1.2

Retikülositoz hemolitik anemilerde karşılaşılan bir durumdur. Klinik durumun ağırlığına göre retikülosit sayısında artış olacağı beklenen bir durumdur. Retikülosit sayısı Hb Bart's Sendromunda değişkenlik göstermekle birlikte; sayı %60'dan fazla olabilir. HbH hastalığında ise orta derecededir ve sayı %3-6 olabilir.

Periferik yayma eritrosit indekslerine yansıyan eritrosit morfolojik değişikliklerini değerlendirmede başvurulan bir testtir. Periferik yayma incelemesi alfa talasemi varlığı ve

klirik ayırımı hakkında önemli bulguların saptanmasını sağlar. Taşıyıcılarda periferik yayma örneklerinde düşük MCV, MCH, ve mikrositoz, hipokromi gibi eritrosit morfolojik değişiklikleri görülebilir. Ancak eritroblastlar görülmez. HbH Hastalığında mikrositoz, hipokromi, anizositoz, poikilositoz (gözyaşı damlası ve uzamış hücre) ve nadiren çekirdekli eritrositler (eritroblastlar gibi) görülür. Hb Bart's sendromunda ise büyük, hipokromik eritrositler ve ciddi anizopoikilositoz bulunur.

Eritrosit inklüzyon cisimleri α -globin eksikliğinden dolayı eşleşemeyen non- α -globin zincirlerinin hücre içinde çökmesiyle oluşmakta olup, supravital boyama incelemesi ile gösterilebilmektedir. HbH inklüzyonları (β_4 tetramer) HbH hastalığı olan bireylerin taze kan yaymalarının %1 brilliant cresyl mavisi ile 4-24 saatlik inkübasyonu sonucu eritrositlerinde %5-80 oranında gösterilebilir. Nadir sayıda inklüzyonlu hücre α -talasemi trait ve sessiz taşıyıcılarda da saptanabilir.

b. Hemoglobin Analizi

Kalitatif ve kantitatif hemoglobin analizi için hemoglobinleri ayırıştırarak tiplerini tayin etme yöntemleri kullanılmaktadır. Bu amaçla kullanılan başlıca yöntemler; elektroforez, HPLC, izoelektrik odaklama gibi tekniklerdir. Bu yöntemlerle Hb tipleri yanı sıra, oransal miktarları da belirlenir.

Alfa talasemiyle ilişkili hemoglobinler içerisinde yetişkin hemoglobini HbA, embriyonel hemoglobin Hb Portland ve alfa talasemiye özgü hemoglobinler (HbH ve Hb Bart's) bulunmaktadır. HbA₂'nin düzeyi β -talaseminin tersine normal ve hatta HbH hastalığında daha belirgin olmak üzere düşüktür. Alfa talasemiyle ilişkili Hb tipleri:

- Hemoglobin A (HbA) : İki α -globin ve iki β -globin zinciri ($\alpha_2\beta_2$)
- Hemoglobin H (HbH) : Dört β -globin zinciri (β_4)
- Hemoglobin Bart's (Hb Bart's) : Dört γ -globin zinciri (γ_4)
- Hemoglobin Portland : İki ζ -globin ve iki γ -globin zinciri ($\zeta_2\gamma_2$)

Alfa talasemide görülen Hb tiplerinin dağılımı α -talasemi tipine göre değişiklik göstermektedir (Tablo 7).

Tablo 7. Alfa talasemide görülen Hb tiplerinin dağılımı (>12 ay)

Hemoglobin Tipi	Normal	Etkilenmiş		Taşıyıcı	
		Hb Bart's (hydrops fetalis) sendromu	HbH Hastalığı	Alfa talasemi trait	Alfa talasemi sessiz taşıyıcı
HbA (%)	96-98	0	60-90	96-98	96-98
HbF (%)	<1	0	<1.0	<1.0	<1.0
Hb Bart's (%)	0	85-90	2-5	0	0
HbH (%)	0	0	0.8-40	0	0
HbA ₂ (%)	2-3	0	<2.0	1.5-3.5	2-3.5

c. Moleküler İnceleme

Alfa talasemiyle ilişkili iki gen α_1 -globin zincirini kodlayan *HBA1* ve α_2 -globin zincirini kodlayan *HBA2*' dir. Kromozom 16 kısa kolunun telomerik bölgesinde embriyonik dönemde yapılan ζ -globin ve regülatör element HS-40'ı kodlayan gen kümesinde yerleşiktirler.

Tek α -globin gen delesyonu (α^+ -talasemi mutasyonları):

İki kromozom 16 arasında resiprokal rekombinasyon ya 3.7 kb ya da 4.2 kb kısmın delesyonuna yol açar. Oluşan bu iki delesyon sırasıyla 3.7 kb delesyon ($-\alpha^{3.7}$) ve 4.2-kb delesyon ($-\alpha^{4.2}$) olarak gösterilir. Bu iki yaygın delesyona ilaveten nadir tek gen delesyonları da bildirilmektedir.

Bir kromozomda her iki α -globin gen delesyonu (α^0 -talasemi mutasyonları):

Yaklaşık 6-300 kb arası değişen ve her iki α -globin genini ortadan kaldıran 20'den çok delesyon bildirilmektedir. En sık olanlar $-\text{SEA}$, $-\text{FIL}$, $-\text{MED}$ ve $-\text{20.5}$ ' dir ve homozigotluk durumunda Hb Bart's sendromuyla sonuçlanır. Fenotip-genotip ilişkisi Tablo 8'de gösterilmiştir.

Tablo 8. Alfa talasemide fenotip-genotip ilişkisi.

Fenotip	α -gen sayısı	α/β globin sentetik oranı	Haplotip	Genotip
Normal	4	1.0	α, α	$\alpha\alpha/\alpha\alpha$
Sessiz taşıyıcı	3	0.8	$\alpha^+\alpha$	$-\alpha/\alpha\alpha$
2 gen del. – α^0 - talasemi	2	0.6	$\alpha^0\alpha$ veya α^+, α^+	$--/\alpha\alpha$ veya $-\alpha/-\alpha$
Hemoglobin H hastalığı	1	0.3	α^0, α^+	$--/-\alpha$
Hidrops fetalis	0	0	α^0, α^0	$--/--$

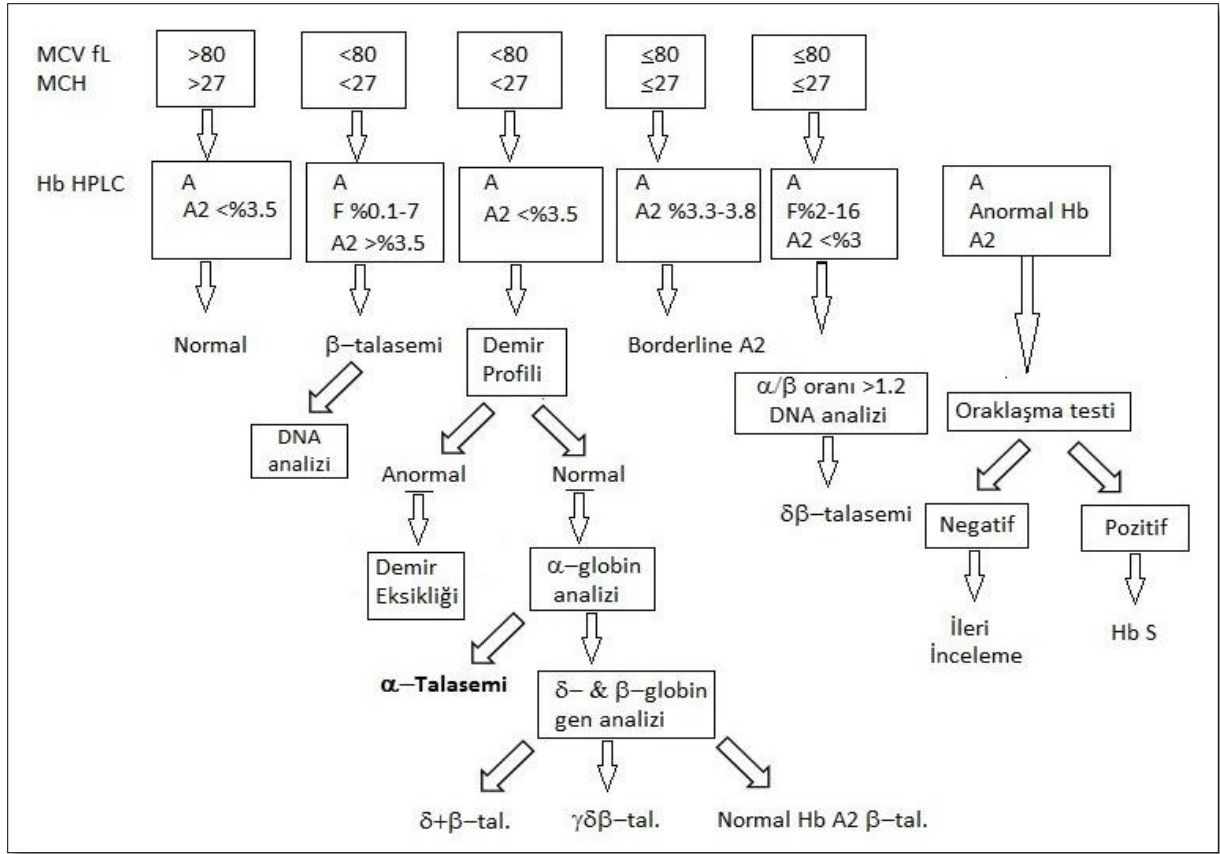
10.2.6. Laboratuvar İnceleme Stratejisi

Alfa talasemi laboratuvar inceleme stratejisi tarama ve doğrulama testlerinin uygulanmasına ve uygulama sırasına dayanır. Bu testlerin alfa talasemi kliniğine dair sonuçları ve yorumlanması yukarıda anlatılmıştır.

Alfa talasemi laboratuvar incelemesinde kullanılan testler:

1. Alfa talasemiden kuşku edildiğinde aşağıdaki tarama testleri kullanılır:
 - Eritrosit indeksleri
 - Periferik yayma
 - Eritrosit supravital boyama
 - Kalitatif ve kantitatif hemoglobin analizi
2. Tanıyı doğrulamak için moleküler inceleme yapılır.
 - Yaygın *HBA1* ve *HBA2* delesyonlarını ve *HBA2* missense mutasyonu saptayabilen hedeflenmiş mutasyon analizi ilk olarak yapılmalıdır.
 - Bir α -globin delesyonu belirlenmemişse ve α -talasemi kuşkusu yüksekse *HBA1* *HBA2* dizi analizi yapılmalıdır.

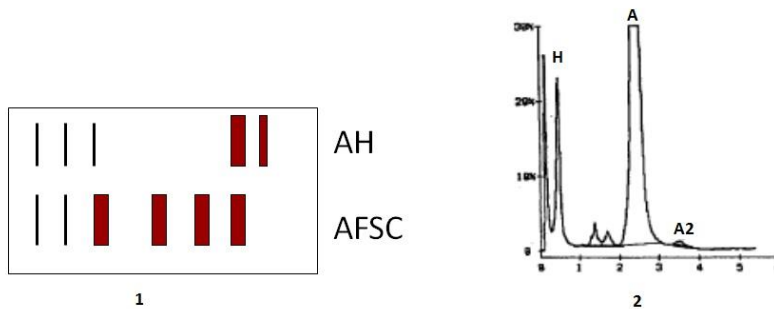
Bu testlerin kullanımı hemoglobinopatilerin tanı ve ayırıcı tanısı için geliştirilen tanısal bir algoritmayla kolaylaşmaktadır (Şekil 7).



Şekil 7. Hemoglobinopati tanısal algoritması.

Sessiz taşıyıcılardaki tek gen delesyon veya mutasyonları klinik ve hematolojik olarak normal gördüklerinden moleküler inceleme olmaksızın saptanamazlar. Alfa talasemi traitler (ağır taşıyıcılar) açıklanamayan hipokrom mikrositer anemi ile gelebilirler. Bu bireylerde yapılan testlerle demir eksikliği (serum demir, serum demir bağlama kapasitesi ve ferritin düzeyleri), beta talasemi taşıyıcılığı (Hb elektroforezi, HPLC) ve kronik hastalık anemisi dışlanmışsa moleküler testlerle tanı konulur.

Hb H hastaları orta-ağır hipokrom mikrositer anemi ve retikülositoz ile başvururlar. Periferik yaymada target hücreleri, anizositoz, poikülositoz ve polikromazi görülür. Brilliant Krezil boyasıyla eritrositlerde Hb H inklüzyon cisimcikleri, hemoglobin elektroforezi ve kromatografide % 1-40 oranında Hb H bandı görülür. Hb elektroforezi taze kanda hemen yapılmalıdır. Hb A'dan daha hızlı hareket eden Hb H'nin varlığı gösterilebilir (Şekil 8). Kapiller elektroforez Hb H'yi daha iyi gösterebilir.



Şekil 8. Hemoglobin H. 1. Alkali elektroforez, 2. Kapiller elektroforez.

11. PRENATAL TANI

Mortalite ve morbiditesi yönünden önemli bir halk sağlığı problemi olan hemoglobinopatilerin eradikasyonunda prenatal tanı, dünyada önerilen en yaygın yöntemdir. Taşıyıcı bireylerin tespit edilmesi yönünden eşlerden en az biri mutlaka hemoglobinopatiler yönünden taranmalıdır. Hasta çocuk doğumu yönünden riskli çiftlere (taşıyıcı-taşıyıcı, taşıyıcı-hasta) genetik danışmanlık verilerek prenatal tanı merkezlerine yönlendirilmelidir. Ülkemizin genetik heterojenitesi göz önünde bulundurulduğunda, gebelik öncesi ebeveynlerin moleküler mutasyonlarının saptanmış olması sürecin daha sağlıklı ilerlemesini sağlayacaktır.

Anormal hemoglobinli olgularda prenatal tanı kararına varılırken bireylerin hemoglobin profili ortaya konarak prenatal tanı gerekliliğine karar verilir. Alfa talasemili olgularda, Hb Bart's hidrops fetalisli çocuk doğurma riski olan, her ikisi de moleküler incelemeyle α^0 taşıyıcısı olduğu gösterilen çiftlerin olması durumunda yapılabilir. Non-delesyonel Hb H formları da hidrops fetalis riski taşıdığından özellikle daha önce etkilenmiş çocuğu olan riskli çiftlerde prenatal tanı yapılmalıdır.

Prenatal tanıda genetik materyalin eldesi için en çok tercih edilenden en az tercih edilene doğru; koryonik villus örnekleme, kordosentez, amniyosentezdir. Koryonik villus örnekleme, gebeliğin erken dönemlerinde (10-12 hafta) transservikal veya transabdominal katater aracılığı ile yapılır. İşlem deneyimli kişiler tarafından yapıldığı sürece fetal kayıp riskinin anlamlı bir yüksekliği bildirilmemiştir. Gebeliğin 18-20. haftalarında fetal kan direkt kordosentez yöntemi ile alınmaktadır Bu yöntemle fetal hemoglobin profili incelenerek olası hastalık durumu öngörülmeye çalışılır. Bu yöntem özellikle gebeliğin ilerleyen haftalarında, moleküler bozukluğu ortaya konamamış hastalarda tercih edilmektedir. Amniyosentez ise gebeliği 16-20. haftalarında yapılmakta olup, diğer iki yöntemle göre daha az tercih edilmektedir. Maternal kandan fetal DNA eldesi ile moleküler genetik analizlerin yapılabilmesi ile ilgili çalışmalar devam etmekte olup, henüz rutin uygulamaya geçilememiştir.

Son yıllarda ülkemizde preimplantasyon genetik tanı (PGD) ve in vitro fertilizasyon, anormal hemoglobinler ve talasemilerde kullanılmaktadır. Bu yöntemde in vitro ortamda geliştirilen embriyonun moleküler genetik analiz yapılarak hasta olmayan embriyolar implante edilmektedir. Ülkemizde kısıtlı sayıda merkezde bu işlem uygulanmakta olup, özellikle etik, legal ve sosyal nedenlerle abortusa gidilemeyen riskli gebeliklerde aileler tarafından tercih edilebilmektedir.

12. OLGULAR

OLGU 1. Eritrosit İndekslerinde belirgin yükseklik olduğu zaman ne yapmalıyım?

36 yaşında erkek, HIV olduğu biliniyor. Hasta daha önce de defalarca hastaneye başvurmuş. Bu seferki başvurusu hiponatremi ve şiddetli anemisi ile ilgili.

İlk sonuçları aşağıdaki şekilde:

• WBC	2.3	(4.8 – 10.8)	$10^9/L$
• RBC	2.02	(4.7 – 6.1)	$10^{12}/L$
• Hb	7.8	(14 – 18)	g/dL
• Hct	19.0	(42 – 52)	%
• MCV	102.5	(80 – 96)	fL*
• MCH	38.8	(27 – 31)	pg*
• MCHC	41.1	(32 – 36)	%*

- RDW 14.5 (11.5 – 14.5) %
- Platelet 85 (150 – 350) 10⁶/L

Bu örnekte Hb ve Hct oranında problem var ($7.8 \times 3 = 23.4 \pm 3 = 20.4-26.4$). Ayrıca eritrosit indekslerinde anormal bir yükseklik var. Bu sonuçlara göre en olası sonuç soğuk aglütininlerin bulunması. Bunlar çoğunlukla IgM şeklindedir. Bu aglütininler genellikle ileri yaşta gözlenir. Bu antikolar eritrositlere bağlanarak cihazın ortalama eritrosit hacmini yüksek okumasına neden olurlar. Normal vücut ısısında bu özellik kaybolur.

Reynould Fenomeni ve akrosiyanoz eşlik edebilir. Soğukta yaşayanlarda hemolitik anemi krizleri daha siktir. Bu aglütininler primer anemi sebebi olabilir ya da primer bir hastalığa sekonder gelişebilirler:

- İnfeksiyöz mononükleoz
- Mikoplazma
- Sitomegalovirus
- Malaria
- Hepatit
- HIV

Böyle bir durumda emin olmak için ne yapılabilir?

Örneği belirli bir süre (30 dk) 37 C°'de bekletip tekrar çalışın. Sonuçları karşılaştırın, gerekirse bir 30 dakika daha bekletebilirsiniz. 30 dakika bekletildikten sonraki sonuçlar şu şekilde çıkıyor:

<u>Test</u>	<u>Önceki</u>	<u>Sonraki</u>	
WBC	2.3	2.2	10 ⁹ /L
RBC	2.02	2.69	10¹²/L
Hb	7.8	7.8	g/dL
Hct	19.0	22.9	%
MCV	102.5	85.1	fL
MCH	38.8	29.0	pg
MCHC	41.1	34.1	%
RDW	14.5	20.4	%
Platelet	85	87	10 ⁶ /L

Yeni ölçümde MCV düzeyi 85.1 fL olarak bulunuyor. Soğuk aglütininlerin varlığına dikkat edilmezse yanlış sonuçlar rapor edilebilir.

OLGU 2. Hastanın iki sonucu arasında fark var, ne yapılmalı?

Hastaneye yatalı 70 saat olmuş bir hastanın CBC sonuçları şu şekilde:

	<u>Cumartesi</u>	<u>Pazar</u>	
WBC	18.1	13.7	10 ⁹ /L
RBC	3.55	4.94	10 ¹² /L
Hb	11.4	15.4	g/dL
Hct	32.1	44.5	%
MCV	90.3	90.1	fL
MCH	32.0	32.0	pg
MCHC	35.4	34.7	%
RDW	13.0	12.1	%
Plt	152	261	10 ⁶ /L

24 saat içinde bu değişikliğin nedeni ne olabilir?

İki olası durum üzerinde durulması gerekir:

1. Olay medikal bir sebeple açıklanabilir mi?
2. Pre-analitik bir sebep olabilir mi?

Özellikle WBC, RBC, Hb ve Hct değerlerinde belirgin farklılık var. En sık düşünülmesi gereken medikal açıklama hastaya kan transfüzyonu yapıp yapılmadığıdır. Bu hastaya transfüzyon yapılmamış, ayrıca ilk sonuçlarına bakılırsa transfüzyon gerektirecek bir hasta değil. Kat aranıyor ve Cumartesi kanı gönderilen hastanın aynı gün taburcu olduğu öğreniliyor. Yanlış hastadan kan gönderildiği tespit ediliyor.

OLGU 3. Hemoglobin düzeyinde tutarsızlık!!

50 yaşında erkek hasta acil servise göğüs ağrısı, nefes darlığı ve sıkışma hissi ile başvuruyor. Bekletilmeden müdahale ediliyor ve kardiyak enzimler, troponin, CBC, kolesterol ve trigliserit istemi yapılıyor.

Sadece CBC sonuçları üzerinde duralım:

WBC	12.0	10 ⁹ /L
RBC	4.83	10 ¹² /L
Hb	15.0	g/dL
Hct	39.0	%
MCV	84	fL
MCH	31	pg
MCHC	39	%
Plt	340	10 ⁶ /L

Sorun nedir?

Hb – Hct arasında uyum yok

$Hb \times 3 \pm 3 = Hct$

Uyumsuz gibi duran hemoglobin –belirgin yüksek-

Örnek santrifüj edildiğinde belirgin olarak lipemik olduğu saptanıyor. Lipemi, hemoglobin ölçümü ile interferens verir. Doğal olarak Hb'e bağlı hesaplamaları da etkiler (MCH ve MCHC).

Düzeltilici faaliyet ne olmalı?

Lipemi için düzeltme iki yolla yapılır:

1. Plazma kör düzeltmesi

Örnek çevrilir, plazmadan bir miktar alınır, ve cihazda hemoglobin değeri ölçülür. Bu değer sonucun düzeltilmesinde kullanılır.

Düzeltilmiş Hb = İlk Hb değeri – (plazma Hb körü x [1 – ilk hct değeri/100])

$$\text{ÖR/ Hb} = 15.5 \quad \text{Hct} = 39/100 = 0.39$$

$$\text{Plazma Hb körü} = 3$$

$$15.5 - (3 \times [1 - 0.39]) = 13.7$$

Daha sonra diğer Hb bağlı indekslerin de yeni değere göre hesaplanması gerekir.

2. Lipid yerine dilüent koyma yöntemi: Tam kan santrifüj edilir. Plazma kısmı dikkatlice alınarak yerine eşit miktarda saline solüsyonu eklenir. Bu basamaklar çok kritiktir; pipetlemeye çok dikkat etmek gerekir. Doğru yapılırsa rbc sayısında çok bir değişiklik olmaması gerekir. Karıştırılır ve ölçüm tekrarlanır.

CBC sonuçlarında delta check problemi olursa nasıl bir yol izlenmeli?

Özellikle WBC, RBC, Hb, Hct ve MCV sonuçlarına dikkat edin. Cihaz üzerindeki “flag” leri dikkate alın. LBYS uyarı veriyorsa dikkate alın, CBC tüpünü kontrol edin (hasta ismi, miktar vs), pıhtı kontrolü yapın, örneği tekrar çalışın, sistemin yeterli miktarda çektiğinden emin olun, hastanın transfüzyon öyküsünü kontrol edin, katı arayarak örneğin nasıl alındığını sorgulayın.

OLGU 4.

38 yaşında kadın olgunun tarama sırasında aşağıdaki laboratuvar inceleme verilerine sahip olduğu görülüyor.

RBC	3,4 x 10 ⁶ /μL
Hb	8,0 g/dL ↓
Hct	23,8 % ↓
MCV	70 fL ↓
MCH	23 pg ↓
MCHC	33 gHb/dL
RDW	21,2 %
Ferritin	45 ng/mL

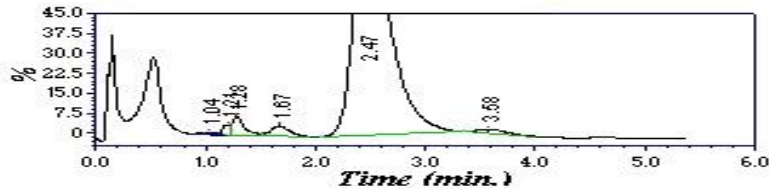
Sorular:

1. Bu olguda kalitatif ve kantitatif hemoglobin incelemesi olarak neler yapılır?
2. Eritrosit morfolojisinin değerlendirmesi için başka hangi testler yapılabilir ve sonucu nasıldır?
3. Ferritin düzeyi neden istenmiştir?
4. En olası tanı ne olabilir?
5. Bu durumun moleküler incelemesi sonuçları ne olabilir?

Yanıtlar:

1. MCV ve MCH düşüklüğü olgunun hemoglobinopati yönünden incelemesini gerektirmektedir. Kalitatif olarak hemoglobin elektroforezi yapılır. Alkali elektroforezle anormal hemoglobin varlığı gösterilir. Alkali elektroforezle aynı yere göç etmeleri nedeniyle ayırt edilemeyen hemoglobinler için asit elektroforez yapılması gerekir. Bu olguda anormal hemoglobin varlığı beklenmemektedir. Ancak taze kan örneği ile hemen elektroforetik inceleme yapılabilirse hızlı hareket eden Hb H bandı görülecektir. Kapiller elektroforez ya da HPLC ile hemoglobin kromatografisi yapılırsa HbA₂ düzeyi yardımcı olacaktır.

Bu olgudaki HPLC ile yapılan hemoglobin kromatografi sonucu:



Peak Name	RT	Area	Area %	Concentration
F	1.04	5003		0.2
Unknown	1.21	23895	1.1	1.1
P2	1.28	52890	2.3	
P3	1.67	45246	2.0	
Ao	2.47	2119474	93.2	
A2	3.58	27304		1.3*

Total Area: 2273812

Grafikten de anlaşılacağı üzere Hb A₂ düzeyi %1.3'tür.

2. Eritrosit morfolojisi ile ilgili kan sayımı sonuçları mikrositik ve hipokromik eritrositlerin varlığına işaret etmektedir. Bunu periferik yayma örneğiyle gösterebilir ve doğrulayabiliriz. Bu olguda periferik yaymada mikrositoz, hipokromi, anizositoz, poikilositoz (gözyaşı damlası ve uzamış hücre) ve nadiren çekirdekli eritrositler (eritroblastlar gibi) görülür.
3. Olguda MCV ve MCH düşüklüğü ve HbA₂ düzeyinin yüksek bulunmaması nedeniyle hipokromik mikrositer anemi ayırıcı tanısı gereği demir eksikliğinin dışlanması gerekir. Bu amaçla serum demiri, serum demir bağlama kapasitesi ve ferritin düzeyi incelemesi yapılır. Olguda ferritin depo demiri göstergesi olarak başvurulmuş bir testtir ve referans aralığında bulunmuştur.
4. Olgu MCV ve MCH düşüklüğü, HPLC ile yapılan hemoglobin kromatografisinde HbA₂ düşüklüğü, demir durumunun normal oluşu nedeniyle α -talasemi olarak değerlendirilmelidir. HbA₂ düzeyindeki %2'nin altındaki değer ve eritrosit morfolojisi bulguları HbH hastalığını göstermektedir.
5. Hb H hastalığı dört α -globin allelin üçünün delesyonu ya da işlev bozukluğunun bir sonucudur. Bir fonksiyonel α -globin geni vardır ve genotip $--/\alpha$, $--/\alpha^* \alpha$ ya da $--/\alpha \alpha^*$ şeklinde olabilir. α^* nondelesyonel α -globin gen mutasyonunu göstermektedir. $\alpha^* \alpha / \alpha^* \alpha$ nondelesyonel α -talasemi homozigot olgular da Hb H hastalığı kliniği sergileyebilir.

OLGU 5. Aile taraması için başvurmuş 43 yaşındaki kadın hasta özgeçmişinde sarılık hastası olduğunu belirtmiş olup, tam kan sayımı, HPLC verileri aşağıda belirtildiği gibidir:

Olgu 5 Tam Kan Sayımı

Tetkik Adı	---	Sonuç	Ünite	Normal Değerler	Tetkik Adı	---	Sonuç	Ünite	Normal Değerler
WBC		7.76	$\times 10^3/\mu\text{L}$	4.8 - 10.8	RBC		4.68	$\times 10^6/\mu\text{L}$	4.2 - 6.1
HGB	L	11.6	g/dL	12 - 18	HCT	L	34.1	%	37 - 52
MCV	L	72.8	fL	80 - 99	MCH	L	24.8	pg	27 - 31
MCHC		34.0	g/dL	31.5 - 37	RDW	H	14.8	%	11.5 - 14.5
PLT		248	$\times 10^3/\mu\text{L}$	130 - 400	MPV		8.6	fL	7.2 - 11.1
PCT		0.21	%	0.12 - 0.36	PDW		47.3	%	25 - 65
LY#		2.33	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.9 - 5.2	MO#		0.40	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.16 - 1
NE#		4.76	$\times 10^3/\mu\text{L}$	1.9 - 8	EO#		0.08	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0 - 0.8
BA#		0.03	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0 - 0.2	MO%		5.2	%	3.4 - 9
NE%		61.4	%	40 - 74	EO%		1.0	%	0 - 7
BA%		0.3	%	0 - 1.5	LY%		30.1	%	19 - 48

Olgu 5 HPLC verileri:

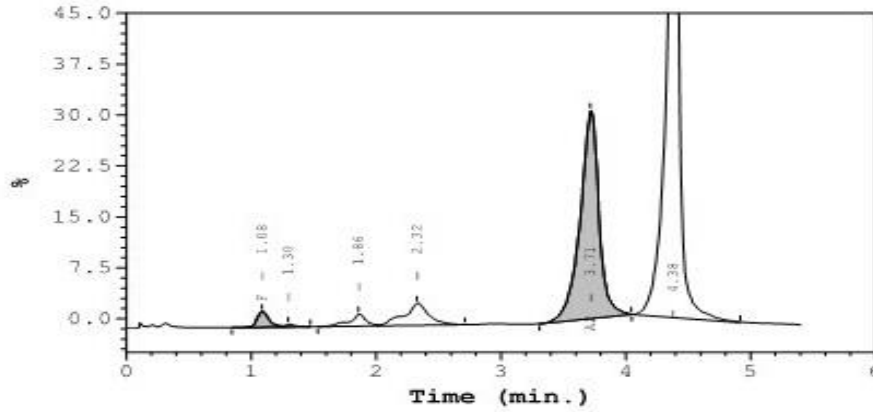
Peak Name	Calibrated Area %	Area %	Retention Time (min)	Peak Area
F	1.6*	---	1.08	28388
P2	---	0.2	1.30	3925
P3	---	1.6	1.86	30382
A0	---	4.5	2.32	83988
A2	30.7*	---	3.71	592433
S-window	---	60.0	4.38	1110052

Total Area: 1,849,168

F Concentration = 1.6* %
A2 Concentration = 30.7* %

*Values outside of expected ranges

Analysis comments:



Hastanın bulguları değerlendirildiğinde tam kan sayımında hafif bir anemi tablosu görülmektedir. HPLC analizinde ise HbS % 60 (>%50), HbA₂ %30,7 (>%10) oranında gözlenmiştir. HbE elektroforetik özelliğinden ötürü HPLC sistemlerinde HbA₂ ile aynı yerde görünmekte olup, ayırımında HbA₂ düzeylerin %10'dan büyük olamayacağı göz önünde bulundurulmalıdır. Bu bulgular birlikte değerlendirildiğinde hastanın rapor sonucunun yorum kısmına "Orak Hücre Sendromu (HbS/E?)" yazılmış ve hasta moleküler genetik analiz için ileri merkeze yönlendirilmiştir.

OLGU 6. Evlilik öncesi tarama merkezine başvuran özgeçmişinde herhangi bir hematolojik hastalık öyküsü ve aile öyküsü olmayan 21 yaşındaki erkek hastanın tam kan sayımı ve HPLC verileri aşağıda belirtildiği gibidir:

Olgu 6. Tam Kan Sayımı

Tetkik Adı	---	Sonuç	Ünite	Normal Değerler	Tetkik Adı	---	Sonuç	Ünite	Normal Değerler
WBC		8.52	x10 ³ /μL	4.8 - 10.8	RBC	H	6.50	x10 ⁶ /μL	4.2 - 6.1
HGB		13.6	g/dL	12 - 18	HCT		41.8	%	37 - 52
MCV	L	64.3	fL	80 - 99	MCH	L	20.9	pg	27 - 31
MCHC		32.5	g/dL	31.5 - 37	RDW	H	15.2	%	11.5 - 14.5
PLT		167	x10 ³ /μL	130 - 400	MPV		7.4	fl	7.2 - 11.1
PCT		0.12	%	0.12 - 0.36	PDW		36.7	%	25 - 65
LY#		2.83	x10 ³ /μL	0.9 - 5.2	MO#		0.50	x10 ³ /μL	0.16 - 1
NE#		4.61	x10 ³ /μL	1.9 - 8	EO#		0.39	x10 ³ /μL	0 - 0.8
BA#		0.05	x10 ³ /μL	0 - 0.2	MO%		5.9	%	3.4 - 9
NE%		54.1	%	40 - 74	EO%		4.6	%	0 - 7
BA%		0.6	%	0 - 1.5	LY%		33.2	%	19 - 48

Olgu 6. HPLC verileri

Peak Name	Calibrated Area %	Area %	Retention Time (min)	Peak Area
Unknown	---	0.0	0.98	672
F	0.2	---	1.08	4442
Unknown	---	0.9	1.26	21251
P2	---	3.0	1.36	69372
P3	---	3.6	1.79	81649
Ao	---	63.3	2.48	1451054
A2	3.8*	---	3.70	99131
S-window	---	24.6	4.39	564226

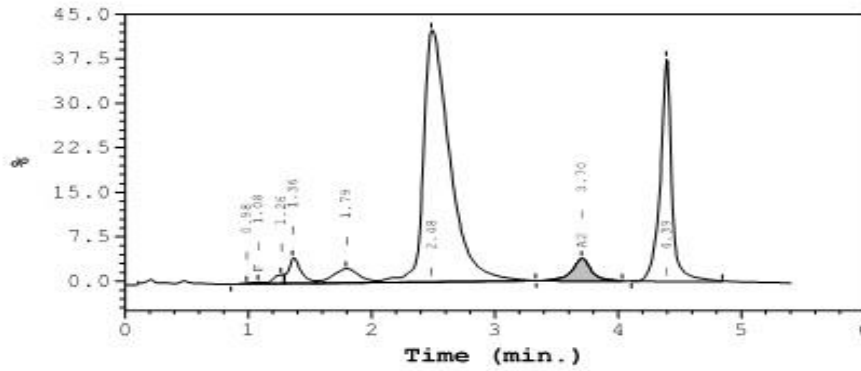
Total Area: 2,291,797

F Concentration = 0.2 %

A2 Concentration = 3.8* %

*Values outside of expected ranges

Analysis comments:



Hastanın verileri değerlendirildiğinde; MCV, MCH değerlerinin düşük olduğu, RBC ve RDW değerlerinin sınırda bir yükseklik gösterdiği, HbA₂ değerinin > %3.5 olduğu (%3.8) görülmektedir. Bu bulgular ışığında hastanın rapor sonucunun yorum kısmına “HbA₂ yüksek Beta Talasemi Taşıyıcısı?” yazılarak, kişinin eş adayından tarama amacıyla numune talep edilmiştir.

13. ÖRNEK RAPOR FORMATLARI

(Laboratuvarlar, ihtiyaçları ve koşulları çerçevesinde sunulan örnek raporları güncelleyip değiştirebilirler)

Örnek Rapor Formatı 1:

1.1. Tam Kan Sayımı için örnek



T.C. Sağlık Bakanlığı

..... HALK SAĞLIĞI MÜDÜRLÜĞÜ
..... HALK SAĞLIĞI LABORATUVARI

T.C. Kimlik No	:	Barkod Numarası	:
Hasta Adı	:	Bölüm Adı	:
Cinsiyet	:	Doktor Adı	:
Doğ. Tarihi	:		

Örnek Numarası :

HEMATOLOJİ

NUMUNE : KAN

İstem Tarihi : 29.02.2016 15:10
Kabul Tarihi : 01.03.2016 12:30

Numune Alma Tarihi : 01.03.2016 08:36

İşlem Tarihi : 01.03.2016 13:31
Onay Tarihi : 01.03.2016 13:31

Parametre Ad	Sonuç	Durum	Referans Aralığı
WBC	8.44		4.8 - 10.8 x10 ³ /µL
RBC	4.60		4.2 - 6.1 x10 ⁶ /µL
HGB	13.6		12 - 18 g/dL
HCT	39.4		37 - 52 %
MCV	85.7		80 - 99 fL
MCH	29.6		27 - 31 pg
MCHC	34.5		31.5 - 37 g/dL
RDW	15.2	H	11.5 - 14.5 %
PLT	233		130 - 400 x10 ³ /µL
MPV	10.6		7.2 - 11.1 fl
PCT	0.25		0.12 - 0.36 %
PDW	47.0		25 - 65 %
LY#	3.04		0.9 - 5.2 x10 ³ /µL
MO#	0.50		0.16 - 1 x10 ³ /µL
NE#	4.50		1.9 - 8 x10 ³ /µL
EO#	0.16		0 - 0.8 x10 ³ /µL
BA#	0.03		0 - 0.2 x10 ³ /µL
MO%	5.9		3.4 - 9 %
NE%	53.3		40 - 74 %
EO%	2.0		0 - 7 %
BA%	0.4		0 - 1.5 %
LY%	36.0		19 - 48 %

ONAYLAYAN

Tib. Biy. Uzm.

AÇIKLAMA :

Not : Bu bir tarama sonucudur. Kesin tanı DNA analizi ile konur.

Örnek Rapor Formatı 2 (Hemoglobinopati Tanı ve Tedavi Merkezi Bünyesinde hizmet verenler için):

2.1. Tam Kan Sayımı için örnek

T.C.
VALİLİĞİ
HALK SAĞLIĞI MÜDÜRLÜĞÜ
KALITSAL KAN HASTALIKLARI
HEMOGLOBİNOPATİ TANI MERKEZİ

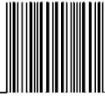
Sayı : 2016 /

Raporlama Tarihi:

Konu : Evlenme Adayları

İlgili Makama

Merkezimize başvurarak evlenmek üzere nikah akitlerini gerçekleştirmek istediğini beyan eden aşağıda kimliği ve adresi yazılı şahsın kalıtsal kan hastalıkları yönünden incelenmesi yapılmıştır.
Bilgi ve gereğini arz ederim.



Sorumlu Doktor

16003500 T.C. Kimlik No :	Doğum Tarihi :
Adı Soyadı :	Cinsiyeti :
Barkod No :	Baba Adı :
Adresi :	Doğum Yeri :
	Telefonu :

HEMATOLOJİ		NUMUNE : KAN	
İstem Tarihi : 29.02.2016 15:10	Numune Alma Tarihi : 01.03.2016 08:36	İşlem Tarihi : 01.03.2016 13:31	Onay Tarihi : 01.03.2016 13:31
Kabul Tarihi : 01.03.2016 12:30			

Parametre	Sonuç	Ünite	Referans Değerler	Parametre	Sonuç	Ünite	Referans Değerler
WBC	4.90	x10 ³ /µL	4.8 - 10.8	RBC	5.79	x10 ⁶ /µL	4.2 - 6.1
HGB	15.9	g/dL	12 - 18	HCT	49.3	%	37 - 52
MCV	85.2	fL	80 - 99	MCH	27.5	pg	27 - 31
MCHC	32.3	g/dL	31.5 - 37	RDW	12.9	%	11.5 - 14.5
PLT	260	x10 ³ /µL	130 - 400	MPV	7.5	fl	7.2 - 11.1
PCT	0.20	%	0.12 - 0.36	PDW	41.0	%	25 - 65
LY#	1.84	x10 ³ /µL	0.9 - 5.2	MO#	0.27	x10 ³ /µL	0.16 - 1
NE#	2.60	x10 ³ /µL	1.9 - 8	EO#	0.09	x10 ³ /µL	0 - 0.8
BA#	0.03	x10 ³ /µL	0 - 0.2	MO%	5.5	%	3.4 - 9
NE%	53.0	%	40 - 74	EO%	1.9	%	0 - 7
BA%	0.6	%	0 - 1.5	LY%	37.5	%	19 - 48

ONAYLAYAN

Tib. Biy. Uzm.

AÇIKLAMA :

Not : Bu bir tarama sonucudur. Kesin tanı DNA analizi ile konur.

2.2. Hemoglobin elektroforezi (HPLC veya Kapiller Elektroforez) için örnek (Hemoglobinopati Tanı ve Tedavi Merkezi Bünyesinde hizmet verenler için):

T.C.
VALİLİĞİ
HALK SAĞLIĞI MÜDÜRLÜĞÜ
KALITSAL KAN HASTALIKLARI
HEMOGLOBİNOPATİ TANI MERKEZİ

Raporlama Tarihi:

2016 / Barkod veya İşlem No

T.C. Kimlik No	:	Doğum Tarihi	:
Adı Soyadı	:	Cinsiyeti	:
Barkod No	:	Telefonu	:
Adresi	:			

HEMATOLOJİ			NUMUNE : KAN		
İstem Tarihi	: 29.02.2016 15:10	Numune Alma Tarihi	: 01.03.2016 08:36	İşlem Tarihi	: 01.03.2016 13:31
Kabul Tarihi	: 01.03.2016 12:30			Onay Tarihi	: 01.03.2016 13:31

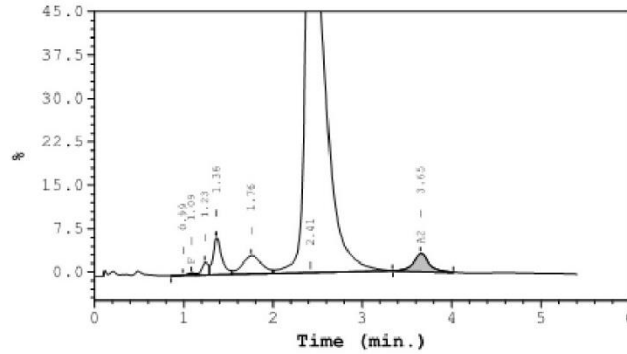
Patient Data		Analysis Data	
Sample ID:	16003500	Analysis Performed:	29/02/2016 08:40:10
Patient ID:		Injection Number:	1006
Name:		Run Number:	123
Physician:		Rack ID:	0004
Sex:		Tube Number:	8
DOB:		Report Generated:	29/02/2016 08:56:08
Comments:		Operator ID:	

Peak Name	Calibrated Area %	Area %	Retention Time (min)	Peak Area
Unknown	---	0.0	0.99	826
F	0.3	---	1.09	6420
Unknown	---	1.0	1.23	27174
P2	---	3.5	1.36	93366
P3	---	4.0	1.76	107153
Ao	---	87.9	2.41	2346491
A2	3.2	---	3.65	86906

Total Area: 2,668,335

F Concentration = 0.3 %
A2 Concentration = 3.2 %

Analysis comments:



ONAYLAYAN
Tıb. Biy. Uzm.

AÇIKLAMA :

Not : Bu bir tarama sonucudur. Kesin tanı DNA analizi ile konur.

KAYNAKLAR

1. Dönbak L. İnsan Hemoglobin (Hb) Varyantları. KSÜ. Fen ve Mühendislik Dergisi, 8(2)-2005
2. Çürük MA. Anormal hemoglobinler ve talasemiler. Çukurova Üniversitesi Basımevi, Adana, 2005:4.
3. Gürgey A. Anormal Hemoglobinler. Hematolog, 2014:4-1
4. Antmen B. Türk Ped Arşivi 2009; 44 Özel Sayı: 39-42
5. Özbaş S. Hemoglobinopati Tanı Merkezleri. 5. Uluslararası Talasemi Yaz Okulu. 2008: 25-28
6. Westgard JO. Internal quality control: planning and implementation strategies. Annals of Clinical Biochemistry [Ann Clin Biochem], 2003 Nov; Vol. 40 (Pt 6), pp. 593-611.
7. Westgard JO. Charts of operational process specifications ("OPSpecs charts") for assessing the precision, accuracy, and quality control needed to satisfy proficiency testing performance criteria. Clinical Chemistry [Clin Chem], 1992 Jul; Vol. 38 (7), pp. 1226-33.
8. Westgard JO. Charts of operational process specifications ("OPSpecs charts") for assessing the precision, accuracy, and quality control needed to satisfy proficiency testing performance criteria. Clinical Chemistry [Clin Chem], 1992 Jul; Vol. 38 (7), pp. 1226-33.
9. Klee GG, Westgard JO. Quality Management. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE (eds). Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 5th ed. St Louis: Elsevier,2012:163-203
10. Miller WG. Quality Control. In: McPherson RA, Pincus MR (eds). Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 22nd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2012:119-134.
11. Vajpayee N, Graham SS, Bem S. Basic Examination of Blood and Bone Marrow. In: McPherson RA, Pincus MR (eds). Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 22nd ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2012:509-535.
12. Worthington D. Sickle Cell and Thalassemia Handbook for Laboratories. 2012 Erişim:https://www.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/398702/LabHandbook2012Edition3v2.pdf. Erişim tarihi: 16.09.2015.
13. Cansın D. Dünyada ve Türkiye'de Talasemi ve Anormal Hemoglobinler. Talasemi Federasyonu Türkiye. Erişim: <http://www.talasemifederasyonu.com.tr/pdf/tani/1cansinTani.pdf>. Erişim tarihi: 07.10.2015
14. Kaya Z. Tam Kan Sayım Çıktılarının yorumlanması. Dicle Medical Journal, 2013; 40(3):521-528. Erişim: <http://www.diclemedj.org/upload/sayi/28/Dicle%20Med%20J-01715.pdf>. Erişim tarihi: 10.02.2016
15. The management of sickle cell disease. 4th ed. 2002:7-14. Erişim: https://www.nhlbi.nih.gov/files/docs/guidelines/sc_mngt.pdf. Erişim tarihi: 12.09.2015
16. Arpacı A, Çoker C, Habif S, Telci A, Tuncel P. Elektorofrez Kurs Kitabı. İstanbul: Türk Klinik Biyokimya Derneği. İstanbul-Türkiye, 01 Şubat 2008: 40-53.
17. Cao A, Galanello R. Beta-thalassemia. Genetics in Medicine. 2010;12(2):61-76.
18. Başak An. β -Talasemi'de Moleküler Tanı ve Yöntemleri. Erişim: <http://www.talasemifederasyonu.com.tr/pdf/tani/beta.pdf>. Erişim tarihi: 15.12.2015
19. Beta talasemi tanı ve tedavi kılavuzu. Türk Hematoloji Derneği, 2011;8. Erişim: <http://www.thd.org.tr/thdData/Books/94/bolum-viii-beta-talasemi-tani-ve-tedavi-kilavuzu.pdf>. Erişim tarihi: 06.12.2015
20. Weatherall DJ. The Thalassemias: Disorders of Globin Synthesis. Ch. 47. In:Kaushansky K, Lichtman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligsohn U, Prchal JT. Williams Hematology. 8th Ed. McGrawHill. 2010:828-871.
21. Borgna-Pignatti C, Galanello R. Thalassemias and Related Disorders: Quantitative Disorders of Hemoglobin Synthesis. Ch. 38. In: Greer JP, Foerster J, Rodgers GM, Paraskevas F, Glader B, Arber DA, Means RT. Wintrobe's Clinical Hematology. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia. 2009, p1084-1131.

22. Origa R, Moi P, Galanello R et al. Alpha Thalassemia. NCBI Bookshelf. Erişim: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1435/>. Erişim tarihi: 05.01.2016
23. Ünal ř, Gümrük F. The Hemalotological and Molecular Spectrum of α -Thalasseмии in Turkey: The Hacettepe Experience. Turkish Journal of Hematology. 2015; 32: 135-143.
24. Polat G, Yüregir GT, Aksoy K. Detection of deletional alpha thalassemia in Çukurova. Ann Med Sci 1998; 7: 14-17.
25. Polat G, Çürük MA, Yüregir GT, Aksoy K. Deletional alpha thalasseмии in Çukurova. Ann Med Sci 1999; 8: 22-25.
26. Polat G. Alfa Talasemili Bir Ailenin Mutasyon Tiplerinin Moleküler Düzeyde İncelenmesi. Uzmanlık Tezi. Adana. 1995.
27. Karakař Z. Alfa Talasemi. HematoLog. Türk Hematoloji Derneği. 2014; 4.1:117-133.
28. Talasemi ve Homoglobinoopatilerde Prenatal Tanı. Özyüncü Ö, Beksaç MS. Erişim: <http://www.talasemifederasyonu.com.tr/pdf/tani/cansinTedavi-9pdf.pdf>. Erişim tarihi: 15.02.2016.

Konuyla İlgili Web Sayfaları

1. http://the-healthcare.org/hemoglobin/normal-hemoglobin-variants/#hemoglobin_a2. Erişim tarihi: 07.10.2015
2. https://en.wikipedia.org/wiki/Hemoglobin#/media/File:Postnatal_genetics_en.svg. Erişim tarihi: 07.10.2015
3. http://www.talasemifederasyonu.com.tr/?page_id=63. Erişim tarihi: 07.10.2015
4. <http://globin.bx.psu.edu/cgi-bin/hbvar/counter>. Erişim tarihi: 07.10.2015

Bakanlık Yayın No : 978-975-590-620-1

ISBN : 1042