

Hataydaki α -Talasemi Genotipleri ve α -Talasemi Genotip Frekansı

The Genotypes of α -Thalassemia and Genotypes Frequencies of α -Thalassemia in Hatay

Özgür Aldemir¹, Müzeyyen İzmirli²

¹Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Ana Bilim Dalı, Hatay, Türkiye

²Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji Ana Bilim Dalı, Hatay, Türkiye

Özet

Amaç: Dünyada çok yaygın olarak görülen α -talasemi, hemoglobindeki α -globin zincirinin eksikliği ya da azalması ile karakterize olan bir hastalıktır. α -globin geni 16. kromozomun kısa kolu üzerinde (16p 13.3) bulunur ve delesyon ve tek nokta mutasyonu şeklinde ($\alpha^{3.7}$, α^{MED} , α^{COD8} (-AA), $\alpha 2$ IVS 1-5nt, $\alpha 2$ poly A1 mutasyonları) mutasyonlar içerir. Biz bu çalışmada Hatay bölgesindeki α -talasemi gen mutasyonlarının frekansını belirlemeyi amaçladık.

Yöntem: Bu amaçla, 2012-2013 tarihleri arasında Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD'a gelen α -talasemili 407 hasta tarandı. α -globin geninin moleküler analizi multipleks PCR (Polimeraz Zincir Reaksiyonu) temelli α -globin Strip Assay yöntemi (Vienna Lab Diagnostics, Vienna, Austria) ile gerçekleştirildi.

Bulgular: Buna göre, bölgemizdeki $\alpha^{3.7}$, α^{MED} , α^{COD8} (-AA), $\alpha 2$ IVS 1-5nt, $\alpha 2$ poly A1 mutasyonlarının frekansları sırası ile %29.48, %5.16, %0.25, %0.25, %0.25 şeklinde bulunmuştur.

Sonuç: Sonuç olarak, mutasyonların görülme sıklığı etnik kökenden ve coğrafik bölgelerden etkilenmektedir. Hatay bölgesi de kendine has bir etnik kökene sahiptir ve bu yüzden α -talasemi gen mutasyonları frekansları da kendine has bir özelliكتedir.

AnahtarKelimeler: α , -talasemi, α -globin, Hatay, Türkiye

Abstract

Objective: α -thalassemia, characterized by a decreased or lack of synthesis of α -globin chains of hemoglobin, is very common disease in the world. α -globin gene is located at the short arm of chromosome 16 (16p 13.3) and contains mutations including deletions and single point mutations ($\alpha^{3.7}$, α^{MED} , α^{COD8} (-AA), 1-5nt IVS $\alpha 2$, $\alpha 2$ poly A1 mutations). In this study, we aimed to determine the frequency of α -thalassemia gene mutations in Hatay region.

Method: To do so, study population who referred to Medical Genetic Department of Mustafa Kemal University, Medical School for either detection of α -thalassemia gene mutations between 2012-2013, 407 individuals with α -thalassemia gene mutations were included to the study. Molecular screening of the α -globin gene was carried out by an α -globin strip assay (Vienna Lab Diagnostics, Vienna, Austria) which is based on multiplex PCR (Polymerase Chain Reaction) for specific amplification.

Results: According to this, it has found that the frequencies of $\alpha^{3.7}$, α^{MED} , α^{COD8} (-AA), 1-5nt IVS $\alpha 2$, $\alpha 2$ poly A1 mutations are 29.48%, 5.16%, 0.25%, 0.25%, 0.25%, respectively.

Conclusion: Consequently, the frequency of mutation affects ethnic background and geographic locations. Hatay region also has a unique origin and so, the frequencies of α -thalassemia gene mutations has unique characteristic.

Keywords: α , -thalassemia, α -globin, Hatay, Turkey

Giriş

Talasemi, kanın önemli bir molekül olan hemoglobin (Hb) zincirinin anormal bir yapıya sahip olması neticesinde ortaya çıkan bir hastalık grubudur. Hb molekülü α (alfa), β (beta), γ (gama) ve δ (delta) olarak tanımlanan globin zincirlerinden meydana gelir ve bu zincirlerin az üretilmesi ya da hiç üretilmemesi talasemiye neden olur (1). α -talasemi, talasemi türlerinden yalnızca bir tanesidir ve otozomal resesif olarak kalıtılır. Fenotipi çok değişkenlik göstermekle birlikte, mikrositik hiperkromik anemi ile karakterizedir (2). Hemoglobindeki α -globin zincirinin eksikliği ya da azalması ile karakterize edilen α -talasemide, hastalığın en hafif formuna tek gen heterozigot (α -/ α), en ağır formuna ise iki gen homozigot ($--/--$) mutasyonları neden olur. α -talasemi 1 homozigotları ($--/--$) hiç α -globin zinciri taşımadığından, bu hastalar hidrops fetalis kliniği ile ölürlü (3).

Genetik olarak, normal sağlıklı her bireyde dört adet α -globin geni vardır ve bu durum $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ şeklinde ifade edilir. Bu durum 16. kromozomun kısa kolu üzerinde (16p 13.3) olan iki $\alpha 1$ ve iki $\alpha 2$ geni tarafından kodlanır ve her ebeveyninden bir haplotip ($\alpha\alpha$) alınır (4). $\alpha 1$ ve $\alpha 2$ genlerinin önünde genlerin çalışma hızını belirleyen birer adet HS40 bölgesi bulunur. $\alpha 1$ geni (HBA1) $\alpha 2$ genine göre (HBA2) iki-üç kat daha az globin zinciri üretir ve bu yüzden HBA2 geninde oluşan delesyonlar neticesinde klinik tablo daha belirgin olur. Genlerde, regülatör olarak görev yapan HS40 bölgesinde oluşan delesyonlar, α -globin zincir üretimini bozar (5). Bu gen üzerinde en sık gözlenen mutasyonlar $-\alpha^{3.7}$ delesyonu, $\alpha 2$ poliadenilasyon (AA-TAAA>AATAAG) ve $\alpha 2$ IVS1 5-bp mutasyonlarıdır. α -talasemide delesyon tarzı mutasyonlar, tek nokta mutasyonlarından (Single point

polymorphism: SNP) daha fazla görülmektedir (6).

Hastalığın dünya popülasyonunda görülme sıklığı değişken olmakla birlikte, Arap ülkelerinin çoğunluğunda daha sık karşılaşılmaktadır. Bu ülkelerde, α -talasemi frekansı %1'den %64'e kadar değişmektedir. Arap ülkelerinin içinde en yüksek frekans gösteren grup ise Körfez ülkesidir (7).

Çalışmamızda Hatay yöresindeki α -talasemi gen mutasyonlarının frekansını belirlemeyi amaçladık. Bu amaçla 2012-2013 tarihleri arasında Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD'ya gelen hastalar genetik olarak taranarak α -talasemi açısından değerlendirilmiştir.

Materyal ve Metod

Bu çalışmada, Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD'ya, 2012-2013 yılları arasında gelen, evli yada evli olmayan toplam 407 birey taranmıştır. İlk olarak, çalışma grubundan EDTA'lı tüplere 2'er ml kan alınmış ve bu kanlardan DNA, ticari bir kit aracılığı ile (Roche Diagnostic Corporation, Germany) izole edilmiştir. α -globin geni ise moleküler olarak multiplex bir PCR yöntemi olan α -globin Strip Assay (Vienna Lab Diagnostics, Vienna, Austria) ile taranmıştır. Çalışmada polikliniğimize gelen hastalar, geriye dönük olarak taranmıştır ve Helsinki Bildirisine uygunluğu Mustafa Kemal Üniversitesi Etik Kurul'u tarafından onaylanmıştır.

Bulgular

Hatay yöresinde 2012 ve 2013 yılları arasında Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD polikliniğine gelen α -talasemi hasta skalası tablo 1'de verilmiştir. Bu tabloda, mutasyonlar α -globin geninin 4 allel olması göz önünde bulundurularak, homozigot sağlam ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$), tek gen bakımından heterozigot ($\alpha/\alpha;\alpha\alpha/\alpha-$), iki gen bakımından heterozigot ($\alpha/\alpha-;--/\alpha\alpha$) ve homozigot mutant ($--/--$) olarak sınıflandırılmıştır. Bu dönemde tarama için gelmiş 407 hastadan 263'ünün hiçbir mutasyon taşımadığı ve homozigot sağlam ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$) genotipte olduğu belirlenmiştir. $\alpha^{3.7}$ mutasyonu

bakımından heterozigot ($\alpha/\alpha\alpha;\alpha\alpha/\alpha-$)^{3.7} hasta sayısının 100, homozigot mutant ($--/--$)^{3.7} hasta sayısının ise 20 olduğu tespit edilmiştir. MED geni değerlendirildiğinde ise, 13 hastanın iki gen bakımından heterozigot ($\alpha/\alpha-;--/\alpha\alpha$)^{MED}, 8 hastanın homozigot mutant ($--/--$)^{MED} olduğu ortaya çıkmıştır. α -globin geninde görülen diğer mutasyonlar olan $\alpha 2$ poly A, $\alpha 2$ IVS 1-5nt, COD8(-AA) mutasyonları heterozigot olarak 1'er hastada görülmüştür. Toplamda 407 hasta taranmış, bunların 120'sinin $\alpha^{3.7}$ mutasyonu, 21'inin α^{MEDI} geni, geri kalanlarında diğer mutasyonları eşit olarak taşıdığı belirlenmiştir.

Tartışma

Hatay, Türkiye'de bulunduğu konum olarak oldukça önem arzeden bir yerdedir. Akdeniz, Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu'ya yakın olması ve bir sınır şehri olması nedeni ile gen havuzu Türkiye popülasyonundan oldukça farklılık göstermektedir. Suriye ile toprak yakınlığı ve akrabalık ilişkilerinin olması ve bu yöredeki insanların oldukça fazla olarak akraba evliliği yapması gen mutasyonlarının, özellikle hemoglobinopatilerdeki gen defektlerinin birikmesi söz konusu olmuştur (8). Bu yüzdendir ki bölgede diğer kan hastalıkları ile birlikte talasemiler de çok sık gözlenmektedir. Talasemilerin bir türü olan α -talasemi frekansında oldukça yüksektir. Bu nedenle, biz Hatay'da 2012-2013 yılları arasında polikliniğimize baş vuran hastalardaki α -talasemi frekansını ve bu talasemilerin hangi tip olduklarını belirlemeyi amaçladık. Çalışmamızda $\alpha^{3.7}$, α^{MEDI} , α -5nt, $\alpha 2$ Poly A1, COD8(-AA) mutasyonları olmak üzere, 5 farklı gen mutasyonu tespit ettik. Bu çalışmada, 407 bireyde, 7 farklı genotip tespit edildi. Mutasyonlardan en sık gözlenen $\alpha^{3.7}$ gen mutasyonu idi (%29.48). Hatay yöresinde yapılmış ve 2012 yılından önce çalışılmış bir çalışmada, bu mutasyonu Güneşçar ve ark. %76.3 olarak bildirmişlerdir (8). Ancak bu çalışmada verilen $\alpha^{3.7}$ mutasyon frekansı, sadece α -talasemi mutasyonu görülen bireylerdeki orandır. Bizim çalışmamızda da sadece α -talasemi mutasyonu taşıyanlar içinde $\alpha^{3.7}$ gen mutasyonu değerlendirildiğinde, son iki yıldaki $\alpha^{3.7}$ gen mutasyon frekansının %69,4 olduğu görüldü. Adana'da Çürük ve ark. larının yaptığı çalışmada bu oran %59.3, Ankara'da Öner ve ark.larının yaptığı çalışmada ise %28 olarak belirtilmiştir (9-10).



Tablo 1. α -talasemi gen mutasyon spektrumu

α -talasemi	$\alpha^{3.7}$ mutasyonu	α^{MED} mutasyonu	$\alpha 2$ poly A1	$\alpha 2$ IVS 1 -5nt	α^{COD8} (-AA)	Toplam
Homozigot Sağlam $\alpha\alpha/\alpha\alpha$						263
Tek gen Heterozigot $\alpha-/ \alpha\alpha$ $\alpha\alpha/\alpha-$	100		1	1	1	103
İki gen Heterozigot $\alpha-/ \alpha- --/\alpha\alpha$		13				13
Homozigot Mutant $--/--$	20	8				28
Toplam %	120 %29.48	21 %5.16	1 %0.25	1 %0.25	1 %0.25	407

$\alpha^{3.7}$ gen mutasyonu için Sütçü ve ark. Isparta bölgesinde bir tarama yapmış ve bu mutasyonun frekansını %5.55 olarak bildirmişlerdir (11). Bu mutasyonun dünyadaki frekansına bakacak olursak; Tunus'ta %22.5, Birleşik Arap Emirliklerinde %28.4, İran'da %42.5, Ürdün'de %43, İsrail'de %51, Umman'da %58.3, Suudi Arabistan'da %64 ve Güney Kıbrıs'ta %72.8'dir (12-19). β -talasemi için genetik olarak benzerlik gösterdiğimiz Mısırda, burada α -talasemi mutasyonu frekansının çok az olması nedeni ile benzerlik göstermiyoruz (20). Diğer ülkelerde α -talasemi^{3.7} mutasyonunun durumu; Akdeniz'de bir ada ülkesi olan Sicilya'da %46.94, İspanya'da %52.41, Hollanda'da %58.2, Brezilya'da %10.7'dir (21-24).

Çalışmamızda, α -talasemi $\alpha 2$ IVS-5nt sadece 1 (%0.25) hastada görülmektedir. Ankara için bu oran %8, Adana için %4.6, Isparta için ise %5.55 olarak bildirilmiştir (9,11-12). Hatay popülasyonu gibi gen havuzu kapalı olan İsrail'de bu mutasyonun frekansı %11.1, komşumuz olan İran'da %7.1 olarak görülmektedir (15,17). Bizim çalışmamızda α -talasemi poly A1 ve COD8 (-AA) mutasyonları da 1 (%0.25) hastada görülmüştür. İranda α -talasemi poly A1 mutasyonu için bu frekans %3.5 olarak bildirilmiştir (15).

α -talasemi^{MED} ikili gen delesyonu bizim çalışmamızda %5.16 olarak bulunmuştur. Bu mutasyon frekansı, Adana'da ki çalışmada %9.55 bulunmuştur (9). Ankara için α -talasemi^{MED}

mutasyonu %20 sıklık oranı ile görülmektedir (10). Isparta'da ise Sütçü ve ark.nın yaptığı çalışmada bu oran %27.7 olarak bildirilmiştir (11). Kıbrıs Türklerinde α -talasemi^{MED} mutasyonu frekansı %40, İran'da %8.8 olarak rapor edilmiştir (14,25).

Çalışmamızda, Hatay bölgesindeki α -talasemi 2012-2013 yılları arasında polikliniğimize başvuran hastalardaki α -talasemi mutasyon türleri ve frekansları belirtilmiştir. Çalışmanın Hatay yöresinde yapılmasından ve Hatay'ın kendi etnik kökeni açısından diğer bölgeler ile farklılıklar göstermesinden dolayı, α -talasemi mutasyonlarının frekansı dünya ile farklılıklar göstermekle birlikte Türkiyede ki diğer bölgeler ile de farklılıklar göstermektedir. Çalışma, mutasyon taramasına yönelik bir çalışma olduğu için, elde edilen verilerin daha güvenilir olabilmesi için çalışmanın devam ettirilmesine ihtiyaç vardır. Böylece, gelecekte α -talasemi mutasyonları frekansları için, daha tutarlı verilerin verilmesi mümkün olacaktır.

Kaynaklar

1. Hartevelde Cornelis L. and Higgs Douglas R. α -thalassaemia. Orphanet J of Rare Diseases. 2010;5(13):1-21.
2. Higgs DR. The molecular basis of α -thalassaemia. Cold Spring Harb Perspect Med 2013; doi: 10.1101/cshperspect.a011718.
3. Vichinsky EP. Clinical manifestations of α -thalassaemia. Cold Spring Harb Perspect Med 2013; doi: 10.1101/cshperspect.a011742.



4. Higgs DR, Vickers MA, Wilkie AO, Pretorius IM, Jarman AP, Weatherall DJ. A review of the molecular genetics of the human α -globin gene cluster. *Blood* 1989;73:1081-1104.
5. Lal A, Goldrich ML, Haines DA, Azimi M, Singer ST, Vichinsky EP. Heterogeneity of hemoglobin H disease in childhood. *N Engl J Med* 2011;364(8):710-8.
6. Flint J, Harding RM, Clegg JB, Boyce AJ. Why are some genetic diseases common? Distinguishing selection from other processes by molecular analysis of globin gene variants. *Hum Genet* 1993;91:91-117.
7. Flint J, Harding RM, Boyce AJ, Clegg JB. The population genetics of the haemoglobinopathies. *Baillieres Clin Haematol* 1998;11:1-51.
8. Celik MM, Gunesacar R, Oktay G, Duran GG, Kaya H. Spectrum of α -thalassemia mutations including first observation of - (FIL) deletion in Hatay Province, Turkey. *Blood Cells Mol Dis* 2013;51(1):27-30.
9. Cürük MA. Hb H (Beta4) Disease in Cukurova, Southern Turkey. *Hemoglobin* 2007;31:265-271.
10. Oner C, Gürgey A, Oner R, Balkan H, Gümrük F, Baysal E, Altay C. The molecular basis of Hb H disease in Turkey. *Hemoglobin* 1997;21:41-51.
11. Sutcu R, Aylak F, Kocak H, Sipahi T, Vural H, Delibas N. The investigation of distribution of hereditary alpha-thalassemia mutations in Isparta reservoir. *Eur J Basic Med Sci* 2011;1:28-32.
12. Siala H, Ouali F, Messaoud T, Bibi A, Fattoum S. α -Thalassaemia in Tunisia: some epidemiological and molecular data. *J Genet* 2008;87:229-234.
13. El-Kalla S, Baysal E. Alpha-thalassemia in the United Arab Emirates, *Acta Haematol* 1998;100:49-53.
14. Hadavi V, Jafroodi M, Hafezi-Nejad N, Moghadam SD, Eskandari F, Tarashohi S, Pourfahim H, Oberkanins C, Law HY, Najmabadi H. Alpha-thalassemia mutations in Gilan Province, North Iran. *Hemoglobin* 2009;33(3):235-41.
15. Abu Ghoush MW. Subtypes of alpha thalassemia diagnosed at a Medical Center in Jordan. *TAF Prev Med Bull* 2008;7:373-376.
16. Oron-Karni V, Filon D, Shifrin Y, Fried E, Pogrebjisky G, Oppenheim A, Rund D. Diversity of alpha-globin mutations and clinical presentation of α -thalassemia in Israel. *Am J Hematol* 2000;65:196-203.
17. Hassan SM, Hamza N, Jaffer Al-Lawatiya F, Jaffer Mohammed A, Hartevelde CL, Rajab A, Giordano PC. Extended molecular spectrum of beta- and α -thalassemia in Oman. *Hemoglobin* 2010;34:127-134.
18. Hellani A, Fadel E, El-Sadadi S, El-Sweilam H, El-Dawood A, Abu-Amero KK. Molecular spectrum of alpha-thalassemia mutations in microcytic hypochromic anemia patients from Saudi Arabia. *Genet Test Mol Biomarkers* 2009;13:219-221.
19. Kyriacou K, Kyri K, Kalogirou E, Vasiliades P, Angastiniotis M, Ioannou PA, Kleanthous M. Hb Bart's levels in cord blood and alpha-thalassemia mutations in Cyprus. *Hemoglobin* 2000;24:171-180.
20. Novelletto A, Hafez M, Di Rienzo A, Felicetti L, Deidda G, el Morsi Z, al-Tonbary Y, el-Ziny M, Abdel-Gelil N, Terrenato L. Frequency and molecular types of deletional alpha-thalassemia in Egypt. *Hum Genet* 1989;81(3):211-3.
21. Di Bella C, Salpietro C, La Rosa M, Cuppari C, Piraino B, Cutri MR, Rigoli L. Identification of alpha-thalassemia mutations in subjects from Eastern Sicily (Italy) with abnormal hematological indices and normal Hb A2. *Ann Hematol* 2006;85:829-831.
22. Villegas A, Ropero P, González FA, Anguita E, Espinós D. The thalassemia syndromes: molecular characterization in the Spanish population. *Hemoglobin* 2001;25:273-283.
23. Hartevelde KL, Losekoot M, Heister AJ, van der Wielen M, Giordano PC, Bernini LF. Alpha-thalassemia in The Netherlands: a heterogeneous spectrum of both deletions and point mutations. *Hum Genet* 1997;100:465-471.
24. Souza AE, Cardoso GL, Takanashi SY, Guerreiron JF. Alpha-thalassemia (3.7 kb deletion) in a population from the Brazilian Amazon region: Santarém, Pará State. *Genet Mol Res* 2009;8:477-481.
25. Baysal E, Kleanthous M, Bozkurt G, Kyri A, Kalogirou E, Angastiniotis M, Ioannou P, Huisman TH. Alpha-thalassaemia in the population of Cyprus. *Br J Haematol* 1995;89:496-499.

