

TALASEMİ İNTERMEDİA GENETİĞİ

Doç. Dr. İbrahim KESER

Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, 07070 Antalya, Türkiye
e-mail : keser@akdeniz.edu.tr

ABSTRACT

Thalassemia is the most common disease among hemoglobinopathies in Turkey as well as in the worldwide. Mutations found in Turkish beta-thalassemia patients constitutes a heterogeneous group, which is mostly composed of point mutations and only in very rare cases, a deletion or an insertion causes affected or carrier phenotypes. More than 40 mutations were found for beta-globin gene in the Turkish populations. Thalassemia is divided into the two main group as Beta-thalassemia (BT) and alpha-thalassemia (AT). BT is also classified into the three subgroups; BT-major, BT-minor, and BT-intermedia. Beta-thalassemia intermedia (B-TI) is a term used to define a group of patients with β -thalassemia in whom the clinical severity of the disease is somewhere between the mild symptoms of the β -thalassemia trait and the severe manifestations of β -thalassemia major. B-TI shows both clinic and genetic heterogeneity. B-TI has homozygote and/or compound heterozygote alleles of different mutations such as beta-globin gene silent, mild, and severe mutations, delta-beta ($\delta\beta$) thalassemia, gamma-delta-beta ($\gamma\delta\beta$) thalassemia, HPFH (herediter persistance fetal hemoglobin). Also the genes (modifier genes) that role play in the metabolism (skeletal structure, endocrin, iron, vitamine-D, and so on) are important for the phenotype of B-TI. The purpose of this study was to analyze the relation between the genotype and phenotype in both general B-TI and Turkish patients with B-TI living in Antalya, Turkey. A total of 35 patients with B-TI were evaluated for mutations and their clinical findings. Eight different mutations [-30 (T-A), Cod 3 (+T), Cod 8(-AA), Cod 39 (C-T), IVS1.6 (T-C), IVS1.110 (G-A), IVS2.1 (G-A), IVS2.745 (C-G)] were found in our study. The IVS1.6 (T-C) was the commonest beta-mutation, occurring in both homozygous state in five patients and compound heterozygous state in eight patients. The IVS2.1 (G-A) was the second beta-mutation in eight patients as homozygous state in two patients. In a family with beta-thalassemia, two sibs were compound heterozygote for IVS2.1 (G-A) and IVS1.110 (G-A). One of them was female with beta-TI, while other was male with beta-thalassemia major. In addition, our findings were compared with literature and the mutation profile in beta-TI patients was differently found in our population than others. In conclusion, our data suggest that modifier genes should be screened together with beta-globin gene mutations in patients with beta-thalassemia intermedia to give correct genetic counseling and to provide the effective treatment.

Keywords: Beta-thalassemia intermedia, genetic, globin gene, mutation, Antalya

Talasemi dünyada en sık görülen ve aynı zamanda önlenebilen kalıtsal bir kan hastalığıdır. Eski Yunanca'da " Thalassa" kelimesi "deniz" ve "Emia" kelimesi "anemi (kansızlık) anlamına, "Thalassaemia" ise "Akdeniz anemisi" anlamına gelir. Akdeniz bölgesinde ve göçlerle yayılarak dünyanın bir çok ülkesinde görülen kalıtsal kan hastalığıdır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün verilerine göre, tüm dünyada 266 milyon hemoglobinopati taşıyıcısının bulunduğu vurgulanmaktadır. Talasemi, dünyada olduğu gibi Türkiye'de de en önemli sağlık problemlerinden birisi olup, Türkiye'deki taşıyıcı sıklığı yaklaşık olarak %2,1 ve 4000-5000 dolayında da hasta bireyin bulunduğu bilinmektedir.

Talasemi genellikle alfa-talasemi ve beta-talasemi olmak üzere iki ana başlık altında sınıflandırılmaktadır. Türkiye'de beta-talasemi başta Akdeniz olmak üzere Ege, Trakya ve Güneydoğu bölgelerinde daha yaygın bulunmaktadır. Türkiye'de beta-talasemiye sebep olan 40'dan fazla farklı hem yaygın hem de seyrek görülen etkili ve sessiz mutasyon saptanmıştır. Beta-talasemi de başlıca üç grup altında incelenir:

Beta-talasemi taşıyıcılığı (B-TT); hafif anemi bulguları olmasına karşın sağlıklı, ancak hastalığı taşıma durumunu ifade eder. Taşıyıcı bireyler, bu taşıyıcılığı %50 oranında çocuklarına aktararak onların taşıyıcı olmalarına neden olurlar. Taşıyıcı anne ve taşıyıcı baba evlendiklerinde ise, her iki taşıyıcı genin de çocuğa aktarılması durumunda talasemi majör (hasta) çocuk doğacaktır. Bu durumunda, her gebelikte hasta çocuk doğma oranı %25'dir.

Beta-talasemi majör (B-TM); hastalığın klinik olarak ağır formudur. Hasta bireyler, alyuvarların hızlı yıkımlarına bağlı olarak genellikle 3-4 haftada bir kan alma ihtiyacı duyarlar.

Beta-talasemi intermedia (B-TI) ise; beta-talasemi minor ile beta-talasemi major arasındaki klinik fenotip ile karakterize edilir. Kısaca B-TI'lı hastalar, klinik ve hematolojik olarak talasemi minordan ağır, talasemi majörden hafif bir tabloya sahiptirler. Geliştirilen biyokimyasal genetik ve moleküler genetik tekniklerle TI çok daha iyi tanımlanmıştır. Moleküler genetik temeldeki heterojenite klinik heterojeniteye neden olmaktadır. Tüm talasemide olduğu gibi, TI'da da klinik heterojeniteyi etkileyen modifiye edici genler (modifier genes) işe karışmaktadır. Bu nedenle TI'nin tedavi ve takibinin iyi yapılabilmesi için diğer testlerin yanında mutlaka moleküler genetik ve biyokimyasal genetik testlerin de yapılması gerekmektedir.

Farklı toplumlardaki B-TI grubu hastaların moleküler genetik temelindeki değişikliklerin (mutasyonların) belirlenmesi ile geniş bir mutasyon heterojenitesi ortaya çıkmıştır. Beta-talasemi intermedia'ya neden olan moleküler patolojiler, beta-globin genindeki hafif ve/veya sessiz mutasyonların homozigot veya bileşik heterozigot (compound heterozygote) formlarıdır. Beta-globin geninin bu mutasyonları ile birlikte, beta-globin geni dışında delta-beta ($\delta\beta$) talasemi, gamma-delta-beta ($\gamma\delta\beta$) talasemi, HPFH (herediter persistance fetal hemoglobin), beta gen lokusundaki geniş delesyonlar, alfa gen yapısı ve sayısındaki değişiklikler de TI fenotipin ortaya çıkışında rol oynayan önemli moleküler patolojilerdir. Beta-talasemi intermedia'nın klinik tablosunun ortaya çıkışında sadece globin genlerinin moleküler patolojilerindeki heterojenite değil, aynı zamanda bireyin bu klinik farklılıklarını ortaya çıkaran modifiye edici genlerin de etkisi büyüktür. Talasemi bugüne kadar mendeliyan kalıtım çerçevesinde tek gen defektine bağlı hastalık olarak bilinmesine karşılık, bazı genetik mekanizmaların işe karışmasıyla kompleks bir hastalık konumuna yükselmiştir. Örneğin; aynı anne-babadan olan iki kardeşin genotipleri aynı olmasına karşın (IVS.I.110 / IVS.II.1), kardeşlerden biri talasemi major, diğeri ise talasemi intermedia kliniğine sahiptir. İşte burada bireyin bireysel genomik yapısı devreye girmekte, ya major kliniği yaratan nedenler ya da intermedia kliniğini yaratan genler işe karışmaktadır. İşe karışan ve beklenen ve genel klinik bulguları değiştiren bu genler "modifiye edici genler" olarak isimlendirilmektedirler. Beta-talasemide, B-TI'da bu genlerin daha çok demir metabolizmasında, kemik metabolizmasında, endokrin, trombofili, infeksiyon, beslenme gibi tüm sistemik proseslerde işe karışan genler olduğu ve genlerdeki değişikliklerin klinik tabloyu modifiye etmede önemli rol oynadıkları görülmektedir. Dolayısıyla, B-TI moleküler genetik patolojiye bağlı olarak, alfa gen yapısı ve sayısı, demir metabolizmasındaki farklılıklarla bazı komplikasyonların talasemi majördeki kadar ağır, bazen de çok hafif olarak seyrettiğini görmekteyiz.

Beta-talasemi intermedia'da işe karışan moleküler patolojiler:

1-Beta-talasemi mutasyonu; homozigot veya bileşik heterozigot (compound heterozygote)

- a.Sessiz beta-talasemi mutasyonları
- b.Hafif beta-talasemi mutasyonları
- c.Yüksek fetal hemoglobin (HbF)
-Xmnl polimorfizmi

- Beta-globin promotör mutasyonları
- Trans etkili HPFH determinantları
- 2-Beta-talasemi heterozigot mutasyonu
 - a.Alfa gen kopya fazlalığı
 - b.Dominant beta-talasemi mutasyonları
- 3-Beta-talasemi heterozigot-Anormal hemoglobin (Hb)
 - a.HbE
 - b.Hb Tyne
 - c.Hb Lepore
- 4-Deltabeta (" ")-talasemi, HPFH

Ayrıca B-TI fenotipinin değişkenliğinde işe karışan modifiye edici genler ve mekanizmalar arasında alfa hemoglobin stabilize eden protein (AHSP)'nin rolü, demir, kemik ve bilirubin metabolizmasında işe karışan genlerdeki tek nükleotid polimorfizmleri (SNP), bireyin yaşadığı ortam ve çevresel faktörler (beslenme, sağlık bakım hizmetleri gibi) etkili olmaktadır.

Beta-talasemi intermedia'da işe karışan ve bugüne kadar bildirilen beta-globin gen mutasyonları ise lokalizasyon ve fonksiyonlarına göre; sessiz (silent) beta-talasemi mutasyonları (-101C-T, -92 C-T, 5'-UTR, 3'-UTR), ılımlı (mild) β^+ mutasyonlar transkripsiyonel mutasyonlar: CACCC kutusu (-90C-T, -88 C-T, -88 C-G, -86 C-T, -86C-G), TATA kutusu (-31A-G, -30T-A, -29A-G). Ayrıca alternatif splicing (kırılma): Cod 19 A-C, Cod 24 T-A, Cod 27G-T, konsensus splicing: IVS1-6 T-C, poli(A) bölgesi (AA~~C~~AAA, AAT~~G~~AA), ılımlı (mild) β^0 mutasyonlar ;çerçeve kayması (frameshift) Cod6 -A ve Cod8 -AA, splicing noktası mutasyonu; IVSII-1 G-A sıralanabilir.

Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi Talasemi Tanı, Tedavi ve Araştırma Ünitesi, Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Moleküler Genetik Laboratuvarı ve Antalya Devlet Hastanesi Talasemi Merkezi arasındaki multidisipliner çalışma ile 35 B-TI'lı hasta hem klinik hem de genetik olarak araştırıldı. Yapılan çalışmalar sonucunda B-TI'da işe karışan sekiz farklı mutasyon: [-30 (T-A), Cod 3 (+T), Cod 8(-AA), Cod 39 (C-T), IVS1.6 (T-C), IVS1.110 (G-A), IVS2.1 (G-A), IVS2.745 (C-G)] bulundu. IVS1.6 (T-C) hem homozigot hem de bileşik heterozigot formda en sık görülen mutasyon oldu. IVS2.1 (G-A) ise ikinci en sık görülen mutasyondur. Çalışılan beta-talasemili bir ailedeki iki çocuktan erkek olanı B-TM, diğeri kız B-TI idi ve her ikisi de IVS1.110 (G-A) / IVS2.1(G-A) genotipine sahiplerdi. Ayrıca COL1A1 geni Sp1 transkripsiyon faktörü bağlanma bölgesindeki G-T değişiminin B-TM'li hastalarda BMD (bone mineral density) üzerine etkili olduğunun bir araştırmamızda ortaya çıkması, ss genotipinin talasemi hastalarında kemik metabolizmasında önemli olduğunu gösterdi. Bunun gibi demir, bilirubin, folik asit, vitamin-D, vitamin-E, trombofilii, ürik asit, endokrin metabolizmasında ve enfeksiyon-immün sistemde rol oynayan genlerin mutasyonları ve SNP'lerinin belirlenmesi, hem talasemi hem de B-TI'nın tedavisinde yol gösterici olacaktır.

Sonuç olarak, B-TI'nın genotip-fenotip ilişkisinin sadece globin genlerinde aranmaması, tamamlayıcı olarak modifiye edici genlerin de rollerinin açıklanması gerektiği ortaya çıkmaktadır. Genetik ve klinik heterojenitesi yüksek olan talasemide, özellikle talasemi intermedyalı ailelerde doğru genetik danışma vermek için daha detaylı ve kapsamlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

KAYNAKLAR

1. Weatherall DJ, Clegg JB. The Thalassemia Syndromes, 4th Ed. Blackwell Science, Oxford, 2001.
2. Thein SL. Genetic insights into the clinical diversity of beta thalassemia. Br J Haematol, 124:264-274, 2004.
3. Eleftheriou A. About Thalassemia. (2004) Çeviri: Canatan D., Aydınok Y., "Talasemi Hakkında Herşey" RETMA Yayınevi, 2005.
4. Altay C, Gurgey A. Beta-thalassemia intermedia in Turkey. Ann N Y Acad Sci, 612:81-9, 1990.

5. Gurgey A, et al. Molecular heterogeneity of beta-thalassemia intermedia in Turkey. *Acta Haematol.* 81(1):22-7, 1989.
6. Karimi M, et al. Beta-thalassemia intermedia from southern Iran: IVS-II-1 (G-->A) is the prevalent thalassemia intermedia allele. *Hemoglobin*, 26(2):147-54, 2002.
7. Gumruk F, et al. Beta-thalassemia intermedia associated with homozygosity for the -87 (C-->T) mutation in a Turkish family. *Hemoglobin*, 24(1):23-9, 2000.
8. Adekile A, et al. Mutations Associated with Beta-Thalassemia intermedia in Kuwait. *Medical Principles and Practice*;14 (Suppl. 1):69-72, 2005.
9. Keser I, Kayıslı OG, Yesilipek A, Ozes N, Luleci G. Hb Antalya: a new unstable variant leading to chronic microcytic anemia and high HbA2. *Hemoglobin*, 25: 369-73, 2001.
10. Keser I, Sanlioglu AD, Manguoglu E, Guzeloglu Kayisli O, Nal N, Sargin F, Yesilipek A, Simsek M, Mendilcioglu I, Canatan D, Luleci G. Molecular analysis of beta-thalassemia and sickle cell anemia in Antalya. : *Acta Haematol.*111(4):205-210, 2004.
11. Keser I, Manguoglu E, Kayisli O, Yesilipek A, Luleci G. Combination of Hb Knossos [Cod 27 (G-T)] and IVSII-745 (C-G) in a Turkish Patient with Beta-Thalassemia Major, *Genetic Testing*, 11(3):228-230, 2007.