

## TALASEMİ MAJÖR VE İNTERMEDIA HASTALARINDA HBS1L-MYB RS4895441 GEN POLİMORFİZMİNİN KLİNİĞE ETKİSİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

### THE EVALUATION OF THE CLINICAL EFFECT OF HBS1L-MYB RS4895441 GENE POLYMORPHISMS IN THALASSEMIA MAJOR AND INTERMEDIA PATIENTS

Özgür CARTI<sup>1</sup>, Yöntem YAMAN<sup>2</sup>, Gülcihan ÖZEK<sup>3</sup>, Hüseyin ONAY<sup>4</sup>,  
Berna Atabay<sup>5</sup>, Canan VERGİN<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Çocuk Hematoloji Onkoloji Bilim Dalı, Aydın

<sup>2</sup>Medipol Üniversitesi Medipol Mega Hastanesi, Çocuk Hematoloji Bilim Dalı, İstanbul

<sup>3</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Çocuk Kemik İliği Nakil Ünitesi, İzmir

<sup>4</sup>Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İzmir

<sup>5</sup>Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Hematoloji Kliniği, İzmir

<sup>6</sup>Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Çocuk Hematoloji Onkoloji Kliniği, İzmir

**Anahtar Sözcükler:** Beta talasemi, genetik iyileştirici, fetal hemoglobin, talasemi majör, talasemi intermedia

**Keywords:** Beta thalassemia, genetic modifier, fetal hemoglobin, thalassemia majör, thalassemia intermedia

Yazının alınma tarihi: 28.01.2019,

Kabul tarihi: 15.06.2019,

Online basım: 08.10.2019

## ÖZ

**Giriş:** Beta talasemiler en sık gözlenen otozomal resesif hastalıklardan biridir. Beta talasemilerde klinik özellikler son derece değişkendir. Hastalık ciddiyetini belirleyen ana faktörler, hastalığa neden olan mutasyonun kendisi (HBB gen mutasyonu) ve  $\alpha/\gamma$  globulin zinciri üretme kapasitesidir. Bu çalışmada HbF düzeyindeki değişikliklerle ilişkili olduğu gösterilmiş 6q23.3 üzerindeki HBS1L-MYB interjenik bölgesindeki değişikliklerin kliniğe etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Talasemi majör ve intermedia tanısıyla izlenen 87 hasta çalışmaya alındı. Tanı yaşı, ilk transfüzyon yaşı, tanı dönemindeki kan sayımı verileri, HbF düzeyleri, splenektomi durumu, yıllık eritrosit transfüzyon miktarı (ml/kg/yıl), transfüzyonel demir yükü (mg/kg/gün), çalışma anındaki ferritin değerleri kaydedildi. HBS1L-MYB rs4895441 gen polimorfizmi PCR-RFLP yöntemi ile çalışıldı. Beta globin gen mutasyonu,  $\alpha$  globin gen mutasyonu, HBS1L-MYB rs4895441 gen polimorfizminin kliniğe etkisi ve talasemi intermedia kliniğini tahmin ettirici etkisi incelendi.

**Bulgular:** HBS1L-MYB rs4895441 lokusunda en az bir G aleli taşıyan hastalarda ortalama tanı yaşı daha geç ve HbF düzeyleri daha yüksek saptandı. İyileştirici alellerin talasemi intermediayı tahmin ettirici etkisini değerlendirmek için yapılan lojistik regresyon analizinde HBS1L-MYB rs4895441 polimorfizminin Tİ ile ilişkili olduğu saptandı.

**Sonuç:** Gelecekteki tüm genom dizileme çalışmalarının, hastalık ciddiyetini değiştiren polimorfizmleri daha iyi tanımlaması muhtemel olsa da; bu çalışmanın sonuçları, HBS1L-MYB rs4895441 polimorfizminin daha geç tanı yaşı ve talasemi intermedia kliniğini öngörmede yardımcı olabileceğini göstermiştir.

## SUMMARY

**Introduction:** Beta thalassemia is one of the most common autosomal recessive diseases. The clinical features of beta thalassemia are highly variable. The main factors that determine the severity of the disease are the mutation itself (HBB gene mutation) and the  $\alpha/\gamma$  globulin chain production capacity. The aim of this study was to investigate the effect of changes in the HBS1L-MYB intergenic area on 6q23.3 which was shown to be associated with changes in HbF level.

**Materials and Method:** 87 thalassemia major and intermedia patients were enrolled in the study. Age of diagnosis, first transfusion age, blood count data at the time of diagnosis, HbF level, history of splenectomy, amount of erythrocyte transfusion (ml/kg/year), transfusional iron load (mg/kg/day), and ferritin level were examined. HBS1L-MYB rs4895441 gene polymorphism was studied by PCR-RFLP method. Beta globulin gene mutation,  $\alpha$  globulin gene mutation, the effect of HBS1L-MYB rs4895441 gene polymorphism on the manifestation of the disease and the predicting the thalassemia intermedia manifestation were investigated.

**Results:** Patients with at least one G allele in the HBS1L-MYB rs4895441 locus had a higher mean age of diagnosis and higher HbF levels. HBS1L-MYB rs4895441 polymorphism was found to be related to TI in the logistic regression analysis performed in order to assess the healing alleles in predicting thalassemia intermedia.

**Conclusion:** Although it is likely that the future genome sequencing studies will better describe the polymorphisms that alter the severity of disease, this study has shown that the HBS1L-MYB rs 4895441 polymorphism is related with higher age of diagnosis and may help in predicting thalassemia intermedia clinic.

## GİRİŞ

Beta talasemiler en sık gözlenen otozomal resesif hastalıklardan biridir. Beta talasemiler,  $\beta$  globin zincir sentezinin yokluğu ya da azalması ile ortaya çıkan aşırı  $\alpha$  globin zincirinin eritroid prekürsörlerde presipitasyonu ve inefektif eritropoezle karakterize hastalıklardır. Beta talasemilerin klinik görünümü son derece heterojendir; ciddi transfüzyon bağımlı anemiden, transfüzyon bağımlı olmayan talasemi intermedia ve asemptomatik taşıyıcılık durumuna kadar değişebilmektedir. Beta talasemi sendromlarında klinik ciddiyetin esas patofizyolojik belirleyicisi,  $\alpha/\alpha$  olmayan globin zincir dengesizliğinin boyutudur. Bu nedenle, globin zincir dengesizliğini azaltan herhangi bir durum klinik tabloyu iyileştirecektir. Fenotipin iyileşmesinden sorumlu en önemli mekanizmalar ılımlı ya da sessiz  $\beta$  talasemi alelleri,  $\alpha$  talasemi birlikteliği ve artmış  $\gamma$  globin zincir üretimi ile ilgili genetik belirleyicilerdir (1). Azalmış  $\beta$  zincir üretimini kompanse eden yetişkin hayatta devam eden yüksek HbF seviyeleri daha hafif hastalık fenotipi ile ilişkilidir (2). HbF'deki değişikliklerin %20-50'sinden sorumlu üç ana HbF 'Quantitative Trait Locus' (QTL) belirlenmiştir. Bunlardan birincisi -158 C>T XmnI polimorfizmidir. Diğer ikisi 6q23.3 üzerindeki HBS1L-MYB interjenik bölgesi ve 2p16.1 üzerindeki BCL11A genindeki değişikliklerdir. Her ikisi de doğrudan yetişkin hayatta fetal gen susturulması ya da hücre proliferasyon ve diferansiasyonunda yer almaktadırlar (3, 4, 5). Günümüzde uygulanan Yeni Nesil Dizi Analizi (Genom Wide Assosiation Study, [GWAS]) gibi

yeni DNA analiz yöntemleri ile fenotipik çeşitlilik ve tedavi yanıtını etkileyen gen ya da gen varyantlarının sayısının artması beklenmektedir.

Talasemi majör (TM) ve talasemi intermedia (TI) ayrımı klinik kriterler temelinde yapılmaktadır (1). Genetik değiştiricilerin saptanması talasemi tipinin erken öngörülmesinde yardımcı olabilir. Genotip ile fenotip tahmini daima tam olmamakla beraber elde edilen bilgiler uygun hastalık yönetiminin planlanması (hematopoetik kök hücre nakli gibi), yeterli genetik danışma sağlanmasında kullanılabilir ve yeni tedavi hedeflerinin belirlenmesini sağlayabilirler.

Bu çalışmada talasemi majör ve talasemi intermedia tanılı 87 hastada, HbF düzeyinin belirlenmesinde önemli faktörlerden bir tanesi olan HBS1L-MYB interjenik bölgesinde bulunan rs4895441 polimorfizminin, beta talasemi majör ve intermedia hastalığını modifiye eden diğer faktörlerle (HBB genindeki mutasyonun çeşidi, HBA geninde mutasyon varlığı) birlikte klinik özelliklere etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi ile Tepecik Eğitim Araştırma Hastanesi'nde izlenmekte olan TM veya TI tanılı 87 hasta çalışmaya alındı. Hastaların tıbbi kayıtları geriye dönük olarak değerlendirildi. Hasta dosyalarından demografik özelliklerin yanı sıra ilk transfüzyon yaşı, tanı dönemindeki kan sayımı verileri, splenektomi durumu, yıllık eritrosit transfüzyon miktarı

(ml/kg/yıl), transfüzyonel demir yükü (mg/kg/gün), çalışma anındaki ferritin değerleri kaydedildi. Transfüzyonel demir yükü, hastanın bir yıl içinde kilogram vücut ağırlığı başına aldığı eritrosit süspansiyonunun hacmi ve ortalama hematokrit değerleri kullanılarak hesaplandı.

Hastaların beta talasemi (HBB geni) mutasyonları, alfa talasemi (HBA1 ve HBA2 genleri) mutasyon verileri dosya kayıtlarından elde edildi. Hastaların beta talasemi mutasyon analizleri 22 mutasyonun tarandığı  $\beta$ -Globin Strip Assay Med TM ve HBB geni dizi analizi ile, alfa talasemi mutasyon analizleri 21 mutasyonun tarandığı  $\alpha$ -Globin Strip Assay TM ile çalışıldı. Beta globin strip test ile mutasyonu belirlenemeyen hastalarda DNA dizi analizi çalışıldı. HBS1L-cMYB rs4895441 gen polimorfizmi, EÜTF Tıbbi Genetik bölümünde Polimeraz Zincir Reaksiyonu – Restriksiyon Fragmanı Uzunluk Polimorfizmi (PCR-RFLP, "Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism") yöntemiyle çalışıldı.

**İstatistiksel değerlendirme:** Hasta karakteristikleri için tanımlayıcı istatistikler yapıldı. Sürekli veriler ortanca değer ve sınırlar verilerek, kategorik veriler sayı ve yüzde ile ifade edildi. Kategorik değişken karşılaştırmaları Fisher Ki-kare analizi kullanılarak yapıldı. Parametrik olmayan değişkenler iki bağımsız grup arasında Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. Kategorik değişkenlerin bağımlı değişken ile ikili ilişkileri Fisher Ki-kare testi ile değerlendirildi, anlamlı ilişkili bulunan bağımsız değişkenlerin bağımlı değişken üzerine etkisi lojistik regresyon

analizi ile değerlendirildi, anlamlılık ve odds oranları saptandı. İstatistiksel olarak  $p < 0.05$  değeri anlamlı kabul edilmiştir. Bütün veriler Sosyal Bilimler için İstatistiksel Paketi (SPSS) versiyon 17.0 kullanılarak analiz edilmiştir.

**Etik kurul onayı:** Bu araştırma, Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Etik Kurulu'ndan B-10-4-ISM-4-35-65-72 sayı ile onay alınarak ve Helsinki Deklarasyonu Kuralları'na uygun olarak çalışılmıştır.

## BULGULAR

Çalışmaya 59 talasemi majör, 28 talasemi intermedia tanısıyla izlenen toplam 87 hasta alındı. Hastaların ortanca yaşı 137 ay (17-324), E/K oranı 43/44 idi. Hastaların karakteristik özellikleri Tablo 1'de özetlenmiştir.

Talasemi major hastalarının hepsi düzenli kan transfüzyon programındaydı. Talasemi intermedia grubunda 9 (%31) hastanın hayatı boyunca  $\leq 2$  transfüzyon gereksinimi olmuştu, 8 (%29) hastanın yılda üçten az transfüzyon ihtiyacı oluyordu, 11 (%40) hasta ise çeşitli nedenlerle düzenli kan transfüzyon programına alınmıştı. Henüz demir yükü oluşmamış ve yaşı küçük olan bir hasta hariç tüm TM hastaları demir şelasyon tedavisi almaktaydı. Talasemi intermedia grubunda 14 kişi (%50) şelasyon tedavisi almaktaydı.

Çalışmaya alınan hastalar arasında en sık görülen  $\beta$  talasemi mutasyonu homozigot IVS1-110 (G>A) mutasyonuydu. Tablo 2'de gruplarda saptanan tüm mutasyonlar özetlenmiştir.

**Tablo 1.** Talasemi majör ve talasemi intermedia tanılı hastaların klinik ve demografik özellikleri

	TM (n: 59)	Tİ (n: 28)
Erkek (n)	31	12
Kız (n)	28	16
E/K	1,1	0,75
Çalışmaya alındığında ortanca yaş, ay (sınırlar)	129 (17-222)	140 (64-324)
Ortanca tanı yaşı, ay (sınırlar)	10 (2-60)	55 (13-114)
Tanıda ortanca Hg, g/dL (sınırlar)	5,9 (1,9-9,4)	7,5 (4,5-9,5)
Ferritin (ng/dl)	1170 (320-4678)	437 (112-3250)
Transfüzyonel demir yükü, mg/kg/gün (sınırlar)	0,39 (0,23-0,65)	0,09 (0-0,44)
Ortanca ilk transfüzyon yaşı, ay (sınırlar)	10 (2-42)	57 (24- 112)
Düzenli transfüzyon alanlar (n)	59	11
Şelatör kullananlar (n)	58	14
Splenektomi uygulananlar (n)	7	10

**Tablo 2.** Hastalarda görülen  $\beta$  talasemi mutasyonları

Beta talasemi mutasyonu	TM+TI n (%)	TM n (%)	TI n (%)
IVSI-110(G>A) homozigot	27 (31)	23 (39)	4 (14)
Cd 8 (-AA)homozigot	8 (9)	3 (5)	5 (18)
IVSI-110(G>A)+IVSI-6(T>C)	7 (8)	4 (7)	3 (11)
IVSII-1 (G>A) homozigot	5 (6)	2 (3)	3 (11)
IVSII-745(C>G) homozigot	4 (5)	4 (7)	0
IVSI-6(T>C) homozigot	4 (5)	1 (2)	3 (11)
IVSI 110 (G>A) / Cd 8 (-AA)	3 (3)	2 (3)	1 (3)
IVSI-110(G>A) / Cd 39(C>T)	2 (2)	2 (3)	0
Cd 39 (C>T) homozigot	2 (2)	1 (1)	1 (3)
IVSI-5(G>C)homozigot	2 (2)	2 (3)	0
IVSI-110(G>A) / IVSI-1(G>A)	2 (2)	2 (3)	0
IVSI-1(G>A) / IVSII-1 (G>A)	2 (2)	1 (2)	1 (3)
$\beta$ nt-28 (A>G) homozigot	2 (2)	1 (2)	1 (3)
IVSI-110 (G>A)/ IVSII-1 (G>A)	2 (2)	1 (2)	1 (3)
IVSI-110(G>A)/-88 (C>A)	1 (1)	1 (2)	0
IVSI-110(G>A) / IVSII-745(C>G)	1 (1)	1 (2)	0
IVSI-5(G>C) / IVSI-1 (G>A)	1 (1)	1 (2)	0
IVSI-110(G>A) / Cd 74/75(-C)	1 (1)	1 (2)	0
Cd 8 (-AA)/ -30 (T-A)	1 (1)	0	1 (3)
IVSII-1(G>A) /-30 (T>A)	1 (1)	1 (2)	0
Cd-15 (G>A) homozigot	1 (1)	1 (2)	0
Cd-8 (-AA)/ Cd-5 (-/+)	1 (1)	1 (2)	0
Cd-44 (-C)/ -30 (T>A)	1 (1)	0	1 (3)
Cd-44 (-C) homozigot	1 (1)	1 (2)	0
Cd 39 (C>T)/ Cd 6 (-A)	1 (1)	1 (2)	0
IVSI-110(G>A) / Cd 44 (-C)	1 (1)	0	1 (3)
IVSII-745(C>G)/ Cd 22 (G>A)	1 (1)	0	1 (3)
Cd 8-9 (+G)/ bilinmeyen	1 (1)	0	1 (3)
Toplam	87 (100)	59 (100)	28 (100)

**Tablo 3.** Hastalarda saptanan HBS1L-MYB rs 4895441 polimorfizmleri ve en az bir G aleli taşıma durumları

	HBS1L-MYB rs 4895441			HBS1L-MYB rs 4895441	
	AA n (%)	AG n (%)	GG n (%)	G aleli taşımayan (AA) n (%)	G alelini taşıyan (AG+GG) n (%)
Talasemi major (n=59)	35 (59)	19 (32)	5 (9)	35 (59)	24 (41)
Talasemi intermedia (n=28)	10 (36)	15 (54)	3 (10)	10 (36)	18 (64)

Talasemi majör ve intermedia tanılı hastalarda saptanan HBS1L-MYB rs4895441 polimorfizmleri ve en az bir G aleli taşıma durumları tablo 3'te görülmektedir. HBS1L-MYB rs4895441 polimorfizmi açısından değerlendirildiğinde; TM ve Tİ hasta grupları arasında AA, AG ya da GG aleli taşıma açısından istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı (p:0,129). Hastalar HBS1L-MYB rs4895441 en az bir G aleli taşıma durumlarına göre incelendiğinde; TM grubu hastaların %41'i, Tİ grubu hastaların ise %64'ü G alelini homozigot ya da heterozigot olarak taşımaktaydı. Her iki grup arasındaki G aleli taşıma açısından gözlenen fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu (p<0.05).

Tüm hastaların HBS1L-MYB rs4895441 polimorfizm sonuçlarına göre klinik özellikleri (ortalama tanı yaşı, tanı hemoglobin değeri, HbF düzeyleri, ilk transfüzyon yaşı ve transfüzyonel demir yükü değerleri) tablo 4'te verilmiştir. Tanı yaşı, tanı hemoglobin değeri, ilk transfüzyon yaşı ve transfüzyonel demir yükü arasında AA, AG ya da GG aleline sahip olma açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık gözlenmedi. Ancak HbF düzeyleri için gruplar arasındaki farklılık istatistiksel olarak anlamlı sınıra yakın bulundu (p: 0,053). Hastaların klinik özellikleri HBS1L-MYB rs4895441 lokusunda G aleli varlığına göre incelendiğinde, en az bir G aleli taşıyan grupta ortalama tanı yaşı daha geç ve HbF düzeyleri daha yüksek saptandı. Bu farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü (p<0.05).

Her bir talasemi intermedia tanılı hastanın  $\beta$  talasemi mutasyonu, alfa talasemi mutasyonu ve HBS1L-MYB rs4895441 polimorfizm sonuçları tablo 5'te özetlenmiştir.

Beta talasemilerde, HBB genindeki ılımlı  $\beta^+$  mutasyonlar,  $\alpha$  talasemi mutasyonu ve HBS1L-MYB rs4895441 polimorfizminin Tİ ile ilişkisi ve Tİ için taşıdığı risk oranları tablo 6'da verilmiştir. İyileştirici alellerin talasemi intermediayı tahmin ettirici etkisini değerlendirmek için yapılan lojistik regresyon analizinde HBS1L-MYB rs4895441 polimorfizminin Tİ ile ilişkili olduğu saptandı (p<0.05).

#### TARTIŞMA

Beta talasemiler,  $\beta$  globin zincir sentezinin azalması ya da yokluğu ile karakterize otozomal resesif kalıtılan herediter anemilerdir. Klinik olarak çok heterojen bir hastalık grubudur. Fenotipi belirleyen en önemli faktör, hastalığa neden olan  $\beta$  globin gen mutasyonunun kendisidir. Ayrıca  $\alpha$  talasemi birlikteliği ve artmış  $\gamma$  globin zincir üretimi ile ilgili genetik değişiklikler fenotipin iyileşmesine katkıda bulunmaktadır (1).

Beta talaseminin genetik heterojenitesi nedeniyle,  $\gamma$  globin zincir üretimini etkileyen genetik değişiklikler farklı popülasyonlarda çalışılmıştır. Beta talasemili kişilerde -158 C>T XmnI polimorfizmi HbF seviyelerinin düzenlenmesinde büyük bir rol oynamaktadır, HbF düzeyindeki %13-15'lik değişimden sorumlu olabilmektedir. BCL11A lokusu ve HBS1L-MYB interjenik bölgesinde yerleşmiş çoklu genetik değişikliklerin HbF ekspresyonunun düzenlenmesinde rol oynadığı, Kuzey Avrupa, Afrikalı Amerikan, Brezilya ve Sardunya popülasyonlarında gösterilmiştir. Avrupalılarda BCL11A lokusundaki polimorfizmlerin %15 HbF değişimini, HBS1L-MYB interjenik bölgesindekilerin ise %19 HbF değişimini açıklayabileceği gösterilmiştir (7).

**Tablo 4.** Hastaların HBS1L-MYB rs 4895441 polimorfizm sonuçlarına göre klinik özellikleri

	HBS1L-MYB rs 4895441			p	HBS1L-MYB rs 4895441		p
	AA	AG	GG		AA	AG+GG	
Tanı yaşı, ay (ortalama)	21	36	25	0,106	21	34	<0,05
Tanı Hb, g/dL (ortalama)	6,09	6,5	6,9	0,599	6,09	6,5	0,441
Tanı HbF, % (ortalama)	49,8	65,2	69,4	0,053	49,8	66	<0,05
İlk transfüzyon yaşı, ay (ortalama)	23	34	27	0,198	23	32	0,072
Transfüzyonel Fe yükü, mg/kg/gün (ortalama)	0,33	0,28	0,26	0,273	0,33	0,28	0,122

**Tablo 5.** Talasemi intermedia hastalarının  $\beta/\alpha$  talasemi mutasyonu ve HBS1L-MYB rs 4895441 polimorfizm sonuçları

	HBB mutasyonu	İlimli $\beta^0/\beta^+$ mutasyonu	Alfa talasemi mutasyonu	HBS1L-MYB polimorfizmi
1	IVSI-110(G>A) homozigot	$\beta^+/\beta^+$	$-\alpha 3,7/\alpha\alpha$	AG
2	IVSI-110(G>A) homozigot	$\beta^+/\beta^+$	$-\alpha 3,7/\alpha\alpha$	AG
3	IVSI-110(G>A) homozigot	$\beta^+/\beta^+$	-	AG
4	IVSI-110(G>A) homozigot	$\beta^+/\beta^+$	-	AG
5	Cd 8 (-AA)homozigot	$\beta^0/\beta^0$	-	AA
6	Cd 8 (-AA)homozigot	$\beta^0/\beta^0$	-	AA
7	Cd 8 (-AA)homozigot	$\beta^0/\beta^0$	-	AG
8	Cd 8 (-AA)homozigot	$\beta^0/\beta^0$	-	AG
9	Cd 8 (-AA)homozigot	$\beta^0/\beta^0$	$-\alpha 3,7/\alpha\alpha$	<b>GG</b>
10	IVSI-110(G>A)+IVSI-6(T>C)	$\beta^+/\beta^+$	-	AG
11	IVSI-110(G>A)+IVSI-6(T>C)	$\beta^+/\beta^+$	-	AG
12	IVSI-110(G>A)+IVSI-6(T>C)	$\beta^+/\beta^+$	-	AG
13	Cd 39 (C>T) homozigot	$\beta^0/\beta^0$	-	<b>GG</b>
14	IVSII-1 (G>A) homozigot	$\beta^0/\beta^0$	-	AG
15	IVSII-1 (G>A) homozigot	$\beta^0/\beta^0$	-	AG
16	IVSII-1 (G>A) homozigot	$\beta^0/\beta^0$	$-\alpha 3,7/\alpha\alpha$	AA
17	IVSI-110 (G>A) / Cd 8 (-AA)	$\beta^+/\beta^0$	-	AG
18	IVSI-6(T>C) homozigot	$\beta^+/\beta^+$	-	AA
19	IVSI-6(T>C) homozigot	$\beta^+/\beta^+$	-	AA
20	IVSI-6(T>C) homozigot	$\beta^+/\beta^+$	-	AA
21	IVSI-110(G>A) / IVSII-1(G>A)	$\beta^+/\beta^0$	-	AA
22	IVSI-1(G>A) / IVSII-1 (G>A)	$\beta^0/\beta^0$	-	AG
23	$\beta$ nt-28 (A > G) homozigot	-	-	AA
24	Cd 8 (-AA) / -30 (T-A)	$\beta^0/\beta^+$	-	<b>GG</b>
25	IVSII-745(C>G) / Cd 22 (G>A)	$\beta^+/\beta^0$	-	AG
26	Cd 8/9 (+G) / bilinmeyen	$\beta^+/-$	$-\alpha 3,7/\alpha\alpha$	AA
27	Cd 44 (-C) / -30 (T>A)	$\beta^0/\beta^+$	-	AG
28	IVSI-110(G>A) / Cd 44 (-C)	$\beta^+/\beta^0$	-	AA

**Tablo 6.** Kliniği iyileştirici alellerin talasemi intermedia ile ilişkisi

	TM (n=59)	Tİ (n=28)	Çok değişkenli analiz	
			OR	%95 CI (p)
İlimli $\beta^+$ talasemi mutasyonu	7 (%12)	8 (%29)	1,73	0,603-4,984 (0,308)
Alfa talasemi mutasyonu	4 (%7)	5 (%18)	3,351	0,781-14,371 (0,104)
HBS1L-MYB rs4895441	24 (%40)	18 (%64)	2,625	1,034-6,662 (0,042)

HBS1L bir G proteini/elongasyon faktörüdür, MYB ise eritroid transkripsiyon faktörüdür. Farelerde HBS1L ve MYB arasındaki bozulma, MYB ekspresyonunu baskılamakta ve HbF seviyelerinde artışla sonuçlanmaktadır (8). HBS1L-

MYB interjenik bölgesinde farklı polimorfizmler belirlenmiştir (9,10). HBS1L-MYB interjenik bölgesindeki rs4895441 polimorfizminin HbF seviyeleri ile ilişkili olduğu yaygın olarak bildirilmiştir (11,12). Genetik değiştiricilere dayalı

tahminlerin, çeşitli beta globin genotipleri olan hasta kohortlarında talasemi major ya da intermedia tipini öngörebileceği gösterilmiştir (13). Bizim çalışmamızda HBS1L-MYB rs4895441 polimorfizminin sıklığı TM grubunda 24/35 (%40), T1'da 18/28 (%64) saptanmış olup iki grup arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

HBSL1 ve MYBgenleri arasındaki interjenik bölgedeki değişiklikler, anemik olmayan kişilerdeki HbF ekspresyonundaki değişkenlikle ilişkili polimorfizmleri ortaya koymak için tasarlanan yeni nesil dizi analizi çalışmalarında belirlenmiştir (14). Sağlıklı kişilerin yanısıra beta talasemilerde de HbF seviyelerindeki çeşitlilik çalışmalarda bildirilmiştir (10,11,15). Çalışmamızda HBS1L-MYB rs4895441 polimorfizmini taşıyanlarda ortalama HbF seviyesi %66, bu polimorfizmi taşımayanlarda ise %49.8 bulunmuştur. İki grup arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görülmüştür.

Danjou ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, beta talaseminin klinik ciddiyetinin öngörülmesinde genetik değiştiricilerin rolü, ilk transfüzyon yaşı değerlendirilerek araştırılmıştır (16).  $\beta^0$  talasemi hastalarında -158C>T XmnI polimorfizmi,  $\alpha$  gen defekti, BCL11A rs1427407 ve rs10189857 polimorfizmi, HBS1L-MYB interjenik bölgesindeki rs9399137, rs4895441 ve rs6904897 polimorfizmlerinin daha geç ilk transfüzyon yaşı ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Çalışmada bakılan tüm negatif tahmin ettiricileri taşıyan hastaların %50'si, hayatın ilk 100 gününde ilk transfüzyonunu almış ve %99'unda hayatın ilk bir yılından önce düzenli transfüzyon gereksinimi başlamıştır. Oysa tüm pozitif tahmin ettiricileri taşıyan hastalarda 10 yaştan önce transfüzyon olasılığının sadece % 0.6 olduğu bulunmuştur. Çalışılan polimorfizmlerin hastalık ciddiyeti üzerindeki etkisi gösterilmiştir ve beta talasemi hastalarında transfüzyona başlama kararında bu genetik değişikliklerin katkısının olabileceği belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda HBS1L-MYB rs4895441

polimorfizminin ilk transfüzyon yaşına etkisi gösterilememiş ancak bu polimorfizmi taşıyanlarda ortalama tanı yaşının daha büyük (34 ay/21 ay,  $p<0.05$ ) olduğu belirlenmiştir. Diğer klinik özellikler tanı hemoglobini, düzenli transfüzyon alma durumu ve transfüzyonel demir yükü ile ilişkisi saptanmamıştır.

Beta globin gen kümesindeki ılımlı  $\beta^+$  mutasyonu,  $\alpha$  talasemi mutasyonu ve HBS1L-MYB rs4895441 polimorfizminin varlığının T1 ile ilişkisi değerlendirildiğinde; T1 hasta grubunda ılımlı  $\beta^+$  mutasyonu ve alfa talasemi taşıyıcılığının bulunma oranlarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı. HBS1L-MYB rs4895441 polimorfizminin oranı ise istatistiksel olarak anlamlı daha yüksek bulundu ( $p:0.042$ ). Ancak bu iyileştirici olduğu düşünülen özelliklerin T1 için risklerinin değerlendirmek üzere lojistik regresyon analizi uygulandığında T1 için anlamlı bir riske sahip olmadıkları görüldü. Bu sonuçların talasemi intermedia hasta grubunun küçüklüğünden kaynaklanmış olabileceği düşünülmüştür.

Badens ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada T1 riskini  $\beta^+$  mutasyonunun 5.3 kat, alfa talasemi taşıyıcılığının 13.4 kat arttırdığı belirlenmiştir (17). HbF seviyelerini yükseltmek klinik iyileştirici etkisi bilinen -158XmnI polimorfizminin T1 riskini 9.2 kat, BCL11A rs 11886868 ve HBS1L-MYB rs 9399137 polimorfizminin ise 3.8 kat arttırdığı belirlenmiştir.

## SONUÇ

Beta talasemilerde klinik hastalık ciddiyeti son derece değişkendir. Genetik değiştiriciler ile fenotip tahmini, uygun hastalık yönetiminin planlanması, transfüzyona başlama kararının verilmesi, genetik danışma sağlanması ve yeni tedavi hedeflerinin belirlenmesinde önemli rol oynayabilir. HbF ilişkili iyileştirici lokusların ve fonksiyonel mekanizmaların anlaşılması için daha büyük hasta gruplarında çalışmaların gerektiği düşünülmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Galanello R, Perseu L, Satta S, Dematris FR, Campus S. Phenotype-genotype correlation in  $\beta$ -thalassemia. *Thalassemia Reports* 2011; 1(s2):e6.
2. Thein SL, Menzel S, Lathrop M, Garner C. Control of fetal hemoglobin: New insight emerging from genomics and clinical implications. *Hum Mol Genet* 2009; 18(R2): R216-23.

3. Thein SL, Menzel S, Peng X, Best S, Jiang J, Close J et al. Intergenic variants of HBS1L-MYB are responsible for a major quantitative trait locus on chromosome 6q23 influencing fetal hemoglobin levels in adults. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007;104(27): 11346-51.
4. Menzel S, Garner C, Gut I, Matsuda F, Yamaguchi F, Heath S et al. A QTL influencing F cell production maps to a gene encoding a zinc-finger protein on chromosom 2p15. *Nat Genet* 2007;39(10): 1197-9.
5. Galarneau G, Palmer CD, Sankaran VG, Orkin SH, Hirschhorn JN, Lettre G. Fine-mapping at three loci known to affect fetal hemoglobin levels explains additional genetic variation. *Nat Genet* 2010;42(12): 1049-51.
6. Modell B, Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bull World Health Organ* 2008; 86(6): 480-7.
7. Lai Y, Chen Y, Chen B, Zheng H, Yi S, Li G, et al. Genetic variants at BCL11A and HBS1L-MYB loci influence Hb F levels in Chinese Zhuang  $\beta$  thalassemia intermedia patients. *Hemoglobin* 2016; 40(6): 405-410.
8. Suzuki M, Yamazaki H, Mukai HY, Motohashi H, Shi L, Tanabe O et al. Disruption of the Hbs1l-Myb locus causes hereditary persistence of fetal hemoglobin in a mouse model. *Mol Cell Biol* 2013; 33(8): 1687-95.
9. Thein SL. Genetic modifiers of  $\beta$ -thalassemia. *Haematologica* 2005; 90(5): 649-60.
10. Danjou F, Anni F, Galanello R. Beta-thalassemia: From genotype to phenotype. *Haematologica* 2011; 96(11): 1573-5.
11. Lettre G, Sankaran VG, Bezerra MA, Araujo AS, Uda M, Sanna S et al. DNA polymorphisms at the BCL11A, HBS1L-MYB, and  $\beta$ -globin loci associate with fetal hemoglobin levels and paincrises in sickle cell disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105(33): 11869-74.
12. Uda M, Galanello R, Sanna S, Lettre G, Sankaran VG, Chen V et al. Genome-wide association study shows BCL11A associated with persistent fetal hemoglobin and amelioration of the phenotype of beta-thalassemia. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008; 105(5): 1620-5.
13. Danjou F, Francavilla M, Anni F, Satta S, Demartis FR, Perseu L et al. A genetic score for the prediction of beta-thalassemia severity. *Haematologica* 2015; 100(4): 452-7.
14. Farrell J, Sherva R, Chen Z, Luo H, Chu BF, Ha SY et al. A 3-bp deletion in the HBS1L-MYB intergenic region on chromosome 6q23 is associated with HbF expression. *Blood* 2011; 117(18): 4935-45.
15. Musallam KM, Sankaran VG, Cappellini MD, Duca L, Nathan DG, Taher AT. Fetal hemoglobin levels and morbidity in untransfused patients with  $\beta$ -thalassemia intermedia. *Blood* 2012; 119(2): 364-7.
16. Danjou F, Anni F, Perseu L, Satta S, Dessi C, Lai ME et al. Genetic modifiers of  $\beta$ -thalassemia and clinical severity as assessed by age at first transfusion. *Haematologica* 2012; 97(7): 989-93.
17. Badens C, Joly P, Agouti I, Thuret I, Gonnet K, Fattoum S et al. Variants in genetic modifiers of b-thalassemia can help to predict the major orinter media type of the disease. *Haematologica* 2011; 96(11): 1712-4.

## Sorumlu yazar

Özgür CARTI (Dr. Öğr. Üye.)  
Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi  
Çocuk Hematoloji Onkoloji Bilim Dalı  
AYDIN  
Tel (iş): 444 1 256/2835  
Tel (cep): 0 505 314 57 68  
E -posta: drozgurumac@yahoo.com  
ORCID: 0000-0002-7604-6481

Yöntem YAMAN (Dr. Öğr. Üye.) ORCID:0000-0002-9710-8653  
Gülcihan ÖZEK (Uzm. Dr.) ORCID:0000-0001-7111-4214  
Hüseyin ONAY (Prof. Dr.) ORCID:0000-0002-0584-8866  
Berna ATABAY (Uzm.Dr.) ORCID: 0000-0003-2830-0964  
Canan VERGİN (Doç. Dr.) ORCID:0000-0002-4995-3852