

## İki Hemoglobin H'lı olgu ve Alfa Talasemi'de prenatal tanı ve preimplantasyon genetik tanıya bakış

*Two cases with Hemoglobin H and overview to prenatal diagnosis and preimplantation genetic diagnosis in Alfa Thalassemia*

Akif Ayaz\*, Metin Eser\*\*

\*Adana Numune Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Genetik Tanı Merkezi, Adana, Türkiye

\*\*Aydın Devlet Hastanesi, Genetik Tanı Merkezi, Aydın, Türkiye

### Özet

Alfa talasemi,  $\alpha$ -globin zincirinin kusurlu sentezi ile ortaya çıkan, yaygın görülen bir tek gen hastalığıdır. Hastalığın ağır formlarından biri olan Hb H hastalığı üç  $\alpha$ -globin geninin etkilenmesi ile ortaya çıkar. HbH hastalarda splenomegali, gelişme geriliği, çeşitli düzeylerde sarılık, ayakta ülser, sık enfeksiyon öyküsü, safra kesesi taşı gibi bulgular görülebilir. Hb H hastalığında klinik spektrumun geniş olması nedeniyle alfa talasemi taşıyıcı ebeveynlere verilecek genetik danışma zordur. Bu yüzden genotip fenotip ilişkisinin daha da netleşmesi için bu konuda çok sayıda çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Biz de bu amaçla 2 Hb H hastalıklı olgunun ve ailesinin klinik, hematolojik ve genotipik bulgularını paylaştık.

*Pam Tıp Derg 2018;11(1):85-88*

**Anahtar sözcükler:** Hb H hastalığı, prenatal tanı, preimplantasyon genetik tanı

### Abstract

Alpha thalassaemia is a common monogenic disease caused by the defective synthesis of  $\alpha$ -globin chains. Hb H disease, one of the severe forms of the disease, is caused by the influence of three  $\alpha$ -globin genes. In patient with Hb H disease, findings such as splenomegaly, growth retardation, jaundice at various levels, ulcers on foot, frequent infection, and bile stones may be seen. Because clinical spectrum of Hb H disease is widespread, genetic counseling for alpha thalassaemia carriers is difficult. To clarify genotype phenotype association, thus, a large number of studies are needed. For this purpose, we present clinic, hematologic and genotypic findings of two patients having Hb H disease with their family.

*Pam Med J 2018;11(1):-85-88*

**Key words:** HB H disease; prenatal diagnosis; preimplantation genetic diagnosis

### Giriş

$\alpha$ -Talasemi,  $\alpha$ -globin zincirinin yetersiz sentezlenmesi ile ortaya çıkan, yaygın görülen bir tek gen hastalığıdır.  $\alpha$ -Globin gen kümesi dört kopya  $\alpha$ -globin geninden oluşmaktadır ve 16. kromozomun kısa kolunda (16p13.3) lokalizedir.  $\alpha$ -Talasemi kliniği, etkilenen sıklıkla da delesyona uğrayan gen sayısı ile ilişkilidir. Bir  $\alpha$ -globin geninin fonksiyon görmemesi, bireylerin "sessiz taşıyıcı" olmasına sebep olurken, iki  $\alpha$ -globin genindeki mutasyon " $\alpha$ -talasemi taşıyıcılığı" ile sonuçlanır. Hastalığın daha ağır formları ise, üç  $\alpha$ -globin geninin etkilenmesi ile

sonuçlanan "Hemoglobin H" ve dört  $\alpha$ -globin geninin etkilendiği "Hemoglobin Bart's Hidrops Fetalis" hastalığıdır [1].

$\alpha$ -talasemi sessiz taşıyıcılığı ve  $\alpha$ -talasemi taşıyıcılığı genellikle asemptomatiktir ve spesifik tedavi gerektirmez. HbH hastalığı ise, klinik olarak değişkenlik göstermekle birlikte, hastalarda splenomegali, gelişme geriliği, çeşitli düzeylerde sarılık, ayakta ülser, sık enfeksiyon öyküsü, safra kesesi taşı gibi bulgular görülebilir [2-4]. Hemoglobin Bart's Hidrops Fetalis'ten etkilenmiş bireyler ise, ya gebeliğin son döneminde uterusu ya da

Akif Ayaz

Yazışma Adresi: Adana Numune Training and Research Hospital, Department of Medical Genetics, Adana  
e-mail: akcayaz26@gmail.com

Gönderilme tarihi: 31.03.2017

Kabul tarihi: 21.06.2017

doğumdan sonraki birkaç saat içinde ölürlür. Hastalığın ağır formlarında intrauterin kan transfüzyonu ve postnatal hematopoetik kök hücre transplantasyonu bazı vakalarda başarılı olmasına rağmen, hala etkili bir tedavisi bulunmamaktadır [3]. Bu yüzden taşıyıcılık tespit edilen ebeveynlerin prenatal tanı ve Preimplantasyon Genetik Tanı (PGT) endikasyonu açısından değerlendirilmesi gerekmektedir. Fakat  $\alpha$ -globin geninde tanımlanmış çok sayıda mutasyonların bulunması, bu mutasyonların tiplerindeki ve gen ifadenmesindeki farklılıklar, birleşik (compound) heterozigotluk ile ilgili yorum zorlukları, modifiye faktörler ve diğer faktörler prenatal tanı ya da PGT endikasyonlarını belirlemeyi güçleştirmektedir. Biz de bu makale ile  $\alpha$ -globin geninde birleşik (compound) heterozigotluk tespit edilen aralarında akrabalık bulunmayan 2 olgunun ve ailelerindeki diğer bireylerin hematolojik ve klinik verilerini paylaşarak, bu olguları prenatal tanı ve PGT açısından değerlendirdik.

## Olgu Sunumu

### Olgu 1

Asemptomatik 11 aylık kız hastanın rutin kontrollerinde hipokrom mikrositik anemi tespit edilmiş. Hastanın ayrıntılı anamnezi ve fizik muayenesinde iştahsızlık, sık enfeksiyon öyküsü ve solukluk dışında bulguya rastlanmadı. Batın USG'si normal olarak değerlendirilmiş.

Olgunun 8 aylık iken yapılan biyokimyasal testlerinde demir ve ferritin düzeyi düşük; folik asit ve vitamin B12 düzeyi normal olarak tespit edilmiştir. Bir dönem vitamin B12, demir, çinko ve folik asit gibi tedaviler başlanmasına rağmen, anemisinin düzelmemesi ve hemoglobin elektroforezinin normal saptanması üzerine,  $\alpha$ -globin gen mutasyonu Revers dot blot (RDB) ve Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification (MLPA) yöntemi ile çalışıldı. Hasta  $-_{MED}/_{-3.7}\alpha$  olarak saptandı. Hemogram ve hemoglobin elektroforezinde hipokromi ve mikrositoz dışında özellik bulunmayan anne ve babada, sırasıyla  $-_{MED}/\alpha\alpha$  ve  $-_{3.7}\alpha/\alpha\alpha$  olarak saptandı. Proband, anne ve babasının bulguları tablo 1'de özetlenmiştir. Probandın ebeveynleri tarafından yazılı onam alınmıştır.

### Olgu 2

4 yaşında erkek olgu, rutin kontrol hemogramında hipokrom mikrositik özellik saptanması üzerine  $\alpha$ -talasemi ön tanısıyla Genetik Tanı Merkezi'ne konsulte edilmiş. Anamnezi ve fizik muayenesinde iştahsızlık ve solukluk dışında bulgu yoktu. Vitamin B12, çinko, demir ve folik asit düzeyleri daha önce normal olarak saptanmış. 3 Ay önce yapılan batın USG'si de normal olarak yorumlanmış. Hastanın  $\alpha$ -talasemi moleküler testleri RDB ve MLPA yöntemi ile çalışıldı ve  $\alpha^{5nt}\alpha^{5nt}/_{-3.7}\alpha$  olarak saptandı. 10 yaşındaki kız kardeşinin hemogramında hipokrom mikrositik anemi

**Tablo 1.** Hastaların hemogram, Hb elektroforezi ve genotip özellikleri

	1. Aile			2. Aile			
	Proband (15ay)	Anne	Baba	Proband (4 yaş)	Anne	Baba	Kardeş
Hb	8	11	13.7	10,8	11.4	11.9	10,5
MCV	52	67.7	85.1	61.1	80.1	82.3	61.9
MCH	14.7	20.9	26.1	19	24.2	25.3	19.5
MCHC	28.2	30.8	30.7	31	30.2	30.7	31.5
RBC	5.46	5.26	5.24	5.7	4.71	4.69	5.38
HbA	82.2	83.5	84.5	81.1	82.7	83.1	83.2
HbA2	1.7	2.4	2.6	3.4	2.2	2.9	2.8
HbF	3.2	0.9	0.5	0.7	0.5	0.5	1.7
Kan transfüzyonu	-	-	-	-	-	-	-
Genotip	$-_{MED}/_{-3.7}\alpha$	$-_{MED}/\alpha\alpha$	$-_{3.7}\alpha/\alpha\alpha$	$\alpha^{5nt}\alpha^{5nt}/_{-3.7}\alpha$	$\alpha^{5nt}\alpha^{5nt}/\alpha\alpha$	$-_{3.7}\alpha/\alpha\alpha$	$\alpha^{5nt}\alpha^{5nt}/_{3.7}\alpha$

saptanması üzerine  $\alpha$ -globin gen testi yapıldı ve kardeşi ile benzer mutasyonlar tespit edildi. Hemogram ve hemoglobin elektroforezinde sadece hipokrom mikrositik özellik gösteren annenin RDB ve MLPA ile  $\alpha^{5nt}\alpha^{5nt}/\alpha\alpha$ ; babanın da  $^{-3.7}\alpha/\alpha$  olarak saptandı. Proband, kardeşi, anne ve babasının bulguları Tablo 1'de özetlenmiştir. Probandın ebeveynleri tarafından yazılı onam alınmıştır.

### Tartışma

Hb H hastalığında ( $---/\alpha$ ) sadece fonksiyonel bir  $\alpha$  geni vardır ve hastalık farklı  $\alpha$ -globin geni mutasyonlarının etkileşimi ile ortaya çıkar. Hastalığın kliniği ve laboratuvar özellikleri; Hb düzeyi 8-10 g/dL arasında seyreden orta şiddette bir anemi, MCV değeri 55-65 fL arasında seyreden mikrositoz, hipokromi, poikilositoz, sarılık, polikromatofil ve hedef RBC varlığı, sarılık ve splenomegalidir [4, 5]. Fakat özellikle Hb düzeyi 8 g/dL'nin altında seyreden, transfüzyon bağımlı birçok Hb H hastalıklı olgular da bildirilmiştir. Gen ifadenmesinin bu derecede farklı seyretmesinin en önemli sebeplerinden biri  $\alpha$ -globin genindeki mutasyonların çeşitliliğidir. Bu durum Hb H hastalıklı çocuk sahibi olma ihtimali bulunan çiftlere verilecek genetik danışmayı zorlaştırmaktadır.  $\alpha$ -Talasemi taşıyıcısı çiftlerde prenatal tanı ve PGT endikasyonlarını netleştirebilmek için daha fazla literatür bilgisine ihtiyaç duyulmaktadır. Biz de bu makale ile Hb H hastalığına sahip 2 olgunun ailedeki diğer bireyler ile birlikte klinik, hematolojik ve  $\alpha$ -globin geni mutasyon analizi verilerini bildirdik.

Annesinde MED çift gen delesyonu heterozigot; babasında  $^{-3.7}$  tek gen delesyonu heterozigot; kendisinde de bu iki mutasyonun birlikte tespit edildiği olgu 1'in 15 aylık iken yapılan hemogram testinde anemisinin kritik bir eşikte olduğu gözlemlendi. Olgunun 15 aylık özgeçmişinde transfüzyon öyküsü yok. Fakat kilosu 3p'nin altında, boyu 25-50p aralığında yer almaktadır. Olgu 1'in hemogram özellikleri Bozdoğan ve ark. [6] tarafından bildirilen  $---/\alpha$  genotipine sahip 24 olgunun MCV, Hb ve RBC değerleri ile uyumlu görülmesine rağmen, özellikle MCV ve Hb düzeyleri minimum değerlere daha yakındır. MCH, MCHC değerleri ise, minimum değerden daha düşük olarak tespit edilmiştir. Olgu 1'in 10 aylık hemogram özelliklerinin 15 aylık döneme göre daha düşük olduğu bilinmektedir. Yaş ile birlikte bu değerlerin

daha önce bildirilen bu 24 olgunun değerleri ile daha uyumlu bir seviyeye gelmesi öngörülebilir. Khosravi ve ark.'nın [7] bildirdiği  $---/\alpha$  genotipli olgunun RBC, MCV ve MCH düzeyleri de olgu 1'den daha ılımlı görülmektedir. Fakat olgunun yaşı ve Hb düzeyi bildirilmemiştir.

Annesinin genotipi  $\alpha^{5nt}\alpha^{5nt}/\alpha\alpha$ ; babasının genotipi  $^{-3.7}\alpha/\alpha$  olarak saptanan 4 yaşındaki olgu 2'de her iki mutasyon bir arada tespit edilmiştir. Aynı zamanda 10 yaşındaki kız kardeşinde de her iki mutasyonun bir arada olduğu tespit edilmiştir. Anamnez ve muayenelerinde transfüzyon, gelişme geriliği, splenomegali, bacak ülserleri gibi bulgular yer almamaktadır. Olgu 2'nin hemogram özellikleri Bozdoğan ST ve ark. [6] tarafından bildirilen  $\alpha^{5nt}\alpha^{5nt}/\alpha\alpha$  genotipli 8 olgunun MCV, MCH, MCHC, Hb ve RBC değerleri ile uyumlu görülmesine rağmen, özellikle Hb düzeylerinin minimal değerlere daha yakın olduğu görülmektedir. Olgu 2'nin aynı genotipe sahip ablasının Hb düzeyi ise minimal değerden biraz altında olduğu görüldü.

PGT talasemide dünya çapında birçok IVF (In Vitro Fertilizasyon) merkezinde yaygın olarak kullanılmaktadır. PGT, genetik bir hastalık taşıyan çiftleri, invaziv prenatal tanı ve gebeliğin sonlandırılması gibi durumlara maruz bırakmadan, çiftlerin etkilenmemiş çocuk sahibi olmasına olanak tanımaktadır [8]. Fakat  $\alpha$ -talasemide mutasyonların çeşitliliği, gen ifadenmesindeki farklılıklar gibi nedenlerden dolayı prenatal tanı ve PGT'ye yönlendirilecek aileler konusunda farklı yaklaşımlar bulunmaktadır. Bireylere prenatal tanı ve PGT önerirken, bir çok hekim kriter olarak transfüzyon bağımlı talasemili çocuk sahibi olma olasılığını göz önünde bulundurmaktadır [9]. Olgu 1'in anamnezinde transfüzyon öyküsü olmamasına rağmen hemogramlarında anemisinin derin seyrettiği görülmüş ve gelişme geriliği tespit edilmiştir. Ayrıca olgunun henüz 15 aylık olması nedeniyle, özellikle transfüzyon bağımlılığının yaşla veya enfeksiyon, kronik hastalıklar gibi ek durumlarla birlikte değişebileceği unutulmamalıdır [10].  $---/\alpha$  Genotipli bireylerle ilgili literatürde genel olarak daha iyi klinik seyir bildirilmiş olmakla birlikte, prenatal tanı ve PGT önerisi noktasında daha fazla literatür bilgisine ihtiyaç olup, anne baba adaylarının modifiye edici faktörler açısından da kapsamlı değerlendirilmesi gerekmektedir. Olgu 2'nin hematolojik verileri ve klinik özellikleri

ise, literatürde bildirilen  $\alpha^{5nt} \alpha^{5nt/-3.7} \alpha$  genotipli olguların verileri ile uyumlu olarak saptanmıştır. Bu bilgiler ışığında  $\alpha^{5nt} \alpha^{5nt/-3.7} \alpha$  genotipli çocuk sahibi olma ihtimali bulunan ebeveynlere, literatürde bildirilmiş aynı genotipli vakalar ile birlikte değerlendirildiğinde, prenatal tanı ve PGT önerilmeyebilir [6].

Sonuç olarak, Hb H hastalıklı çocuk sahibi olma ihtimali olan ebeveynlerde saptanan *HBA* geni mutasyonlarının türü, prenatal tanı ve PGT kararını etkileyebilen en önemli faktörlerden biri olarak bilinmelidir.  $\alpha$ -Talasemi taşıyıcılığı saptanan bireylere daha doğru bir genetik danışma verilebilmesi için,  $\alpha$ -globin gen mutasyonlarının fenotip ile ilişkisini detaylandırarak daha kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır. Biz de bu iki ailenin verilerini paylaşarak literatüre katkı sağlamayı amaçladık.

**Çıkar İlişkisi:** Yazarlar çıkar ilişkisi olmadığını beyan eder.

#### Kaynaklar

1. Singer ST. Variable clinical phenotypes of alpha-thalassemia syndromes. *Sci World J* 2009;9:615-625.
2. Weatherall DJ. Thalassaemia: The long road from bedside to genome. *Nat Rev Genet* 2004;5:625-631.
3. Yi JS, Moertel CL, Baker KS. Homozygous alpha-thalassemia treated with intrauterine transfusions and unrelated donor hematopoietic cell transplantation. *J Pediatr* 2009;154:766-768.
4. Chui DHK, Fucharoen S, Chan V. Hemoglobin H disease: Not necessarily a benign disorder. *Blood* 2003;10:791-800.
5. Cançado RD. Talassemias a. *Rev Bras Hematol Hemoter* 2006; 28:81-87.
6. Bozdogan ST, Yuregir OO, Buyukkurt N, Aslan H, Ozdemir ZC, Gambin T. Alpha-Thalassemia mutations in Adana Province, Southern Turkey: Genotype-phenotype correlation. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2015;31:223-228.
7. Khosravi A., Jalali-Far M, Saki N, et al. Evaluation of  $\alpha$ -Globin gene mutations among different ethnic groups in Khuzestan Province, Southwest Iran. *Hemoglobin*. 2016;40:113-117.
8. Sermon K, Van Steirteghem A, Liebaers I. Preimplantation genetic diagnosis. *Lancet* 2004;363:1633-1641.
9. Viprakasit V. Alpha-thalassemia syndromes: from clinical and molecular diagnosis to bedside management. *EHA Hematol Educ Program* 2013;7:329-338.
10. Cunningham MJ. Update on Thalassaemia: Clinical Care and Complications. *Hematol Oncol Clin North Am* 2010;24:215-227.