

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI



**ÇANAKKALE POPÜLASYONUNDA G6PD GENİ VARYANTLARI VE KLİNİK
KORELASYONU**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Onur Recep GÜNDÜZ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Fatma SILAN

Çanakkale / 2023

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
TIBBİ GENETİK ANABİLİM DALI



ÇANAKKALE POPÜLASYONUNDA G6PD GENİ VARYANTLARI VE KLİNİK
KORELASYONU

UZMANLIK TEZİ

Dr. Onur Recep GÜNDÜZ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Fatma SILAN

Çanakkale / 2023

TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim sürecinde kendisinden teorik ve pratik anlamda çok Őey öğrendiğim, bundan sonraki uzmanlık hayatımda da kazandırdığı tecrübelerden faydalanacağım kliniğimizin idari ve eğitim sorumlusu, aynı zamanda tez danışmanı hocam Prof. Dr. Fatma SILAN'a teşekkür ederim. Uzmanlık eğitimim sürecinde tüm zorluklarda desteğini hissettiğim kardeşlerim Uğur Kemal GÜNDÜZ ve Tolga Burak GÜNDÜZ'e teşekkür ederim. Son olarak emek ve çabaları ile tüm eğitim hayatımda en büyük pay sahibi annem Zahide GÜNDÜZ'e sonsuz teşekkür ediyor ve sonsuzluğa uğurladığımız babam Abdurrahman GÜNDÜZ'ü saygı ve özlemlerle anıyorum

Dr. Onur Recep GÜNDÜZ

Çanakkale / 2023

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMALAR ve SİMGELER.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ	vii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
ÖZET.....	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Eksikliği	2
2.1.1. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Eksikliği Tanımı, Tarihçesi ve Epidemiyolojisi.....	2
2.1.2 Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Eksikliği Patofizyolojisi.....	4
2.1.3. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Eksikliği Klinik Bulguları	5
2.1.4. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Eksikliği Laboratuvar Bulguları.....	11
2.1.5. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Eksikliği Tanısı.....	13
2.1.6. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Eksikliği Ayırıcı Tanısı	15
2.1.7. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Eksikliği Tedavisi.....	18
2.2. G6PD Moleküler ve Biyokimyasal Yapısı	20
2.2.1. G6PD Geni Moleküler Yapısı.....	20
2.2.2. G6PD Enziminin Biyokimyasal Yapısı.....	23
3. GEREÇ VE YÖNTEM	25
3.1. Olguların Seçilmesi ve Etik Kurul Onayı	25
3.2. Olguların Çalışmaya Alınan Özellikleri ve Verilerin Eldesi.....	26

3.3. Kullanılan Materyal ve Metodlar	27
3.3.1. Tüm Ekzom Dizileme ve Klinik Ekzom Dizileme	27
3.3.2. Numunelerin toplanması ve DNA İzolasyonu.....	28
3.3.3. Tüm Ekzom ve Klinik Ekzom Dizileme Laboratuvar Aşamaları	28
3.4.1 Tüm Ekzom ve Klinik Ekzom Dizileme Analiz Aşamaları	33
3.4.2 G6PD Geni Sekans Analizi	33
4.BULGULAR.....	34
4.1. Non-polimorfik Olguların Klinik ve Laboratuvar bulguları	44
4.2. Polimorfik Olguların Klinik ve Laboratuvar bulguları	62
5.TARTIŞMA.....	69
6.SONUÇ.....	77
7.KAYNAKLAR	78
8.ÖZGEÇMİŞ.....	90

KISALTMALAR ve SİMGELER

G6PD	: Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz
WES	: Tüm Ekzom Sekanslama
CES	: Klinik Ekzom Sekanslama
JASP	: Jeffrey's Amazing Statical Program
ALT	: Alanin aminotransferaz
AST	: Aspartat aminotransferaz
LDH	: Laktat Dehidrogenaz
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü
PPP	: Pentoz Fosfat Yolağı
NADP	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
NAD	: Nikotinamid Adenin Dinükleotid
NGS	: Yeni nesil dizileme
ANK1	: Ankrin 1 geni
EPB42	: Eritrosit Protein 4.2
EPB3	: Eritroid Protein Band 3
SPTB	: Spektrin Beta
SPTA1	: Spektrin Alfa
HBF	: Hemoglobin F

HBA₂	: Hemoglobin A ₂
NAC	: N-asetil Sistein
EGF	: Epidermal Büyüme Faktörü
PDGF	: Platelet Kökenli Büyüme Faktörü
ATM	: Ataksi Telanjiektazi Mutasyon Geni
ÇOMÜ	: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
SUAH	: Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi
MCV	: Mean corpuscular volume
MCH	: Mean corpuscular hemoglobine
MCHC	: Mean corpuscular hemoglobine consantration
DNA	: Deoksiribonükleik asit
VCF	: Variant call format
HGMD	: Human Genome Mutation Database
QCI	: Qiagen Clinical Insight
BAM	: Binary Alingment Map
HBB	: Hemoglobin Beta
IVS	: Intervening Sequence (intron)
UTR	: Untranslated Region
ACMG	: American College of Medical Genetics

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. G6PD eksikliği dağılımı. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) çalışma grubundan alınmıştır(14).....	3
Şekil 2. G6PD, Glutasyon ve NADPH ilişkisi(15).	4
Şekil 3. G6PD eksikliğine bağlı olgunun primakin kullanımı sonrası heinz body formasyonları (sağda) ve sağlıklı bireye ait primakin kullanımı sonrası periferik yayma (solda). Ernest Beutler'in çalışmasından alınmıştır(55).....	12
Şekil 4. G6PD eksikliğine bağlı makrofaj tarafından hasarlanmış bite cell (ısırılmış hücresel) formasyonu. Van Den Broek'in çalışmasından alınmıştır (56)	12
Şekil 5. G6PD geni 5'UTR bölgesi ve Exon 1-8 sekansları. Protein sentezleyen bölgeler mavi olarak renklendirilmiştir. İntronlar gri ve UTR ise yeşil renk olarak gösterilmiştir(25).	21
Şekil 6. G6PD geni Exon 9-13 sekansları ve 3'UTR bölgesi. Protein sentezleyen bölgeler mavi olarak renklendirilmiştir. İntronlar gri ve UTR ise yeşil renk olarak gösterilmiştir(25).	22
Şekil 7. G6PD enzimi şematik gösterimi. Yapısal NADP+ domaini mavi, katalitik NADP+ domaini koyu pembe ve G6P substrat bağlayıcı domain ise sarı olarak gösterilmiştir. Monomerlerden biri yeşil diğeri açık mavi olarak gösterilmiştir(29). .	23
Şekil 8. G6PD aminoasit sekansı. Uniprot veri tabanından alınmıştır(31)	24
Şekil 9. Polimorfizm harici saptanan varyantlar ve sıklıkları.....	35
Şekil 10. Non-polimorfik varyantların exonları.....	36
Şekil 11. Sırasıyla polimorfizm saptanan erkek ve kadın hastaların yaş aralıkları.	37
Şekil 12. Sırasıyla polimorfik ve non-polimorfik vakaların yaş aralıkları ve ortalama değerleri.....	38
Şekil 13. Polimorfizm saptanan anemi olgularının hemoglobin dağılımları.....	38
Şekil 14. Non-Polimorfizm saptanan hemolitik olgularının hemoglobin dağılımları	38
Şekil 15. Hemoliz gelişen ve gelişmeyen olgulardaki mutasyonların exonları	41
Şekil 16. Non-polimorfik varyant saptanan olguların cinsiyet-hemolitik atak ilişkisi	42
Şekil 17. Polimorfik varyant saptanan olguların cinsiyet-hemolitik atak ilişkisi	42

Şekil 18. H1-H2 olgularına ait pedigri	45
Şekil 19. H3 olgusuna ait pedigri	46
Şekil 20. H4 olgusuna ait pedigri	46
Şekil 21. H5 olgusuna ait pedigri	47
Şekil 22. H6 olgusuna ait pedigri	48
Şekil 23. H7 olgusuna ait pedigri	48
Şekil 24. H8 olgusuna ait pedigri	49
Şekil 25. H9 olgusuna ait pedigri	50
Şekil 26. H10 olgusuna ait pedigri	50
Şekil 27. H11 olgusuna ait pedigri	51
Şekil 28. H12 ve H13 olgularına ait pedigri	52
Şekil 29. H14-H15-H16 olgularına ait pedigri	53
Şekil 30. H17-H18 olgularına ait pedigri	54
Şekil 31. H19 olgusuna ait pedigri	55
Şekil 32. H20 ve H21 olgularına ait pedigri	56
Şekil 33. H22 olgusuna ait pedigri	56
Şekil 34. H23 olgusuna ait pedigri	57
Şekil 35. H25 olgusuna ait pedigri.	58
Şekil 36. H26 olgusuna ait pedigri	59
Şekil 37. H27 olgusuna ait pedigri	60
Şekil 38. H28 olgusuna ait pedigri	60
Şekil 39. H29 ve H30 olgularına ait pedigri	61
Şekil 40. P1 olgusuna ait pedigri	62
Şekil 41. P6 olgusuna ait pedigri	63
Şekil 42. P12 ve P25 olgularına ait pedigri	63
Şekil 43. P13 olgusuna ait pedigri	64
Şekil 44. P22 olgusuna ait pedigri	64
Şekil 45. P26 olgusuna ait pedigri	65
Şekil 46. Howes ve arkadaşlarının literatür derlemesinden Asya ülkelerinin varyantları haritası(92)	72

TABLolar LİSTESİ

Tablo 1. Dünya Sağlık Örgütü G6PD Eksikliği klinik klasifikasyonu	6
Tablo 2. G6PD eksikliğinde 3 farklı disiplinin literatürde sık raporlanan ilaçlar ile ilgili yorumları. Youngster ve arkadaşlarının ayrıntılı literatür derlemesinden alınmıştır(39).....	10
Tablo 3. Fragmantasyon, Uç onarımı ve A-ucu takılması döngüleri.....	29
Tablo 4. Kütüphane amplifikasyon döngüleri	30
Tablo 5. Hibridizasyon yakalama döngüleri	31
Tablo 6. Yakalama sonrası amplifikasyon döngüleri	32
Tablo 7. Non-polimorfik varyant saptanan hastaların cinsiyet bağımlı ve bağımsız yaş dağılımları mod-mean-median değerleri	34
Tablo 8. Polimorfik varyant saptanan hastaların cinsiyet bağımlı ve bağımsız yaş dağılımları mod-mean-median değerleri.....	37
Tablo 9. Non-polimorfik mutasyon saptanan vakalardan hemolitik ve non hemolitik olguların hemogram parametreleri.	39
Tablo 10. Polimorfik varyant saptanan anemi vakalardan hemolitik ve non-hemolitik olgulara hemogram parametreleri	40
Tablo 11. Non-polimorfik olguların biyokimya parametreleri	43
Tablo 12. Polimorfik olguların biyokimya parametreleri.....	43
Tablo 13. Non-polimorfik hastalar listesi ve özellikleri.....	66
Tablo 14. Non-polimorfik hastalar listesi ve özellikleri devamı	67
Tablo 15. Polimorfizm saptanan anemi olgularının özellikleri.....	68

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada kliniğimizde saptanan G6PD geni varyantlarını ve klinikle olan ilişkilerini derledik. Varyantların hemogram-biyokimya parametrelerine etkisi, hemoliz etyolojisi ve varyantlarla ilişkisini inceledik. Çanakkale yöresinde saptadığımız varyantların literatür verileriyle karşılaştırmasını ve ülkemizde hangi varyantların bulunduğunu saptamayı hedefledik. Sonraki çalışmalarda ülkemizde hangi varyant/exonlara dikkat edilmesi gerektiği konusunda yardımcı olmayı amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Çalışmamıza 2018 yılından sonraki 5 sene içerisinde G6PD geninde varyant saptanan olgular dahil edilmiştir. Varyantlar yeni nesil dizileme yöntemiyle saptandı ve biyoinformatik araçlarla değerlendirildi. Yaş, cinsiyet, varyant, ekzon numarası, hemogram, biyokimya parametreleri ve klinik etyolojileri sınıflandırıldı. JASP istatistik programı yardımıyla tanımlayıcı istatistik analizleri yapıldı. Sonuçlar literatür ile mukayese edildi.

Bulgular: Çalışmada 59 hastada varyant saptandı. 30'u non-polimorfik, 29'u polimorfik olarak tespit edildi. Non-polimorfizm grubunda 10 farklı varyant saptandı. 16 Akdeniz varyantı, 3 Chatham varyantı, 2 Cairo varyantı, 3 Union varyantı, 1 Gond varyantı, 3 c.774C>T(p.D258D) varyantı, 1 c.1368C>T(p.D456D) varyantı, 1 c.120+7A>C varyantı saptanmıştır. Polimorfik grubun tamamında c.1311T>C(p.Y437Y) varyantı saptanmıştır. Non-polimorfik varyantların exonları 5,6,8,9,11,12 ve splice-site olarak tespit edildi. En sık(%53,3) exon 6 varyantı (Akdeniz) mevcuttur.

Sonuç: Çalışmamız literatür verileri ile uyumlu olarak klinikle en ilişkili varyantın Akdeniz varyantı olduğunu desteklemektedir. Diğer varyantların da ülkemizde gözlendiği ve hastaların klinik bulgular gösterebileceği saptanmıştır. Bakla tüketiminin fazla, enfeksiyonların mevsimsel olarak sık ve yeni geliştirilen ilaçların oksijen radikalleri oluşturma potansiyellerinin bilinmemesi nedeni ile tanı almamış olgular risk altındadır. Bu nedenle ülkemizde geniş yeni nesil dizileme panelleri ile sekanslanmış G6PD geninde tesadüfi saptanan patojenik varyant saptanan olgulara genetik danışma verilmesi, potansiyel risklerin hastalara anlatılması gerektiğini savunuyoruz.

Anahtar Sözcükler: G6PD eksikliği, favizm, hemolitik anemi

ABSTRACT

Purpose: We compiled the G6PD gene variants detected in our outpatient clinic and their relationships with the clinic. We examined the effects of the variants on hemogram-biochemistry parameters, the etiology of hemolysis, and their relationship with the variants. We aimed to compare the variants we detected in the Çanakkale region with literature data and to determine which variants are present in our country. We aimed to help in future studies on which variants/exons should be paid attention to in our country.

Materials and Methods: Cases with variants detected in the G6PD gene within 5 years after 2018 were included in our study. Variants were detected by

next-generation sequencing and evaluated with bioinformatics tools. Age, gender, variant, exon number, hemogram, biochemistry parameters, and clinical etiologies were classified. Descriptive statistical analyses were performed with the help of the JASP statistical program. The results were compared with the literature.

Results: A variant was detected in 59 patients in the study. 30 were detected as non-polymorphic and 29 as polymorphic. 10 different variants were detected in the non-polymorphism group. 16 Mediterranean variants, 3 Chatham variants, 2 Cairo variants, 3 Union variants, 1 Gond variant, 3 c.774C>T(p.D258D) variants, 1 c.1368C>T(p.D456D) variant, 1 c.120+7A>C variant were detected. c.1311T>C(p.Y437Y) variants were detected in the entire polymorphic group. Exons of non-polymorphic groups were identified as 5,6,8,9,11,12 and splice site. The most common (53.3%) exon 6 type (Mediterranean) is present.

Conclusion: Our study, consistent with literature data, supports that the most clinically relevant variant is the Mediterranean variant. It has been determined that other variants are also observed in our country and patients may show clinical findings. Undiagnosed cases are at risk due to high broad bean consumption, seasonal frequency of infections, and the unknown potential of newly developed drugs to create oxygen radicals. For this reason, we argue that genetic counseling should be provided to cases with a pathogenic variant detected incidentally in the G6PD gene, which has been sequenced with large next-generation sequencing panels in our country.

Key Words: G6PD deficiency, favism, hemolytic anemia

1. GİRİŞ VE AMAÇ

G6PD eksikliği dünya genelinde 400 milyon kişiyi etkileyen en sık görülen enzim defektlerinden biridir. Daha sık olarak Akdeniz ülkelerinde, Orta Doğu'da ve plasmodium enfeksiyonunun endemik olduğu coğrafyalarda gözlenmiştir. Ülkemiz de bu hastalık açısından riskli bölgelerden biri olarak bilinmektedir. Enzim defekti olan hastalar reaktif oksijen radikallerinin hasarına karşı savunmasızdır. Bu nedenle daha önce kanıtlanmış bazı etyolojilere maruz kalındığı zaman yenidoğan sarılığı, akut hemolitik anemi, kronik anemi ve diğer sistemik bulgular ile seyreden klinikler ortaya çıkmaktadır. Klinik bulgulara sarılık, halsizlik, yorgunluk, anemi, kola ve çamur rengi idrar, sırt ağrısı, karın ağrısı eşlik edebilir. Hastaların hayat boyu reaktif oksijen radikallerini ağırlaştıracak etyolojik ajanlardan uzak durması gerekmektedir.

Daha önce ülkemizde yapılan çalışmalar G6PD nin Akdeniz varyantına odaklanmış ve klinik olarak klasik G6PD klinik prezentasyonlarını inceleme üzerine yoğunlaşmıştır. Ülkemizde daha çok Akdeniz sınırı olan iller (Adana, Hatay ve Antalya) bölgesinden hastaların klinik derlemesi mevcuttur. Ayrıca İstanbul ve Ankara merkezli deneyimli büyük kliniklerin G6PD eksikliği ile ilgili değerli klinik çalışmaları mevcuttur. İtalya, Hindistan, Amerika ve Orta Doğu ülkelerini içeren kapsamlı moleküler çalışmalar mevcuttur. Türkiye'de kapsamlı moleküler çalışmalar mevcut değildir. Bu çalışmamızda Çanakkale popülasyonunda 5 yıllık retrospektif tarama ile G6PD geninin varyantlarını ve klinikle ilişkisini ortaya koymaya çalıştık. Biz bu çalışmada ülkemizde G6PD geninin diğer varyantlarını da kapsayan kapsamlı bir moleküler analiz ve klinik ilişkisini derlemeye çalıştık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Eksikliği

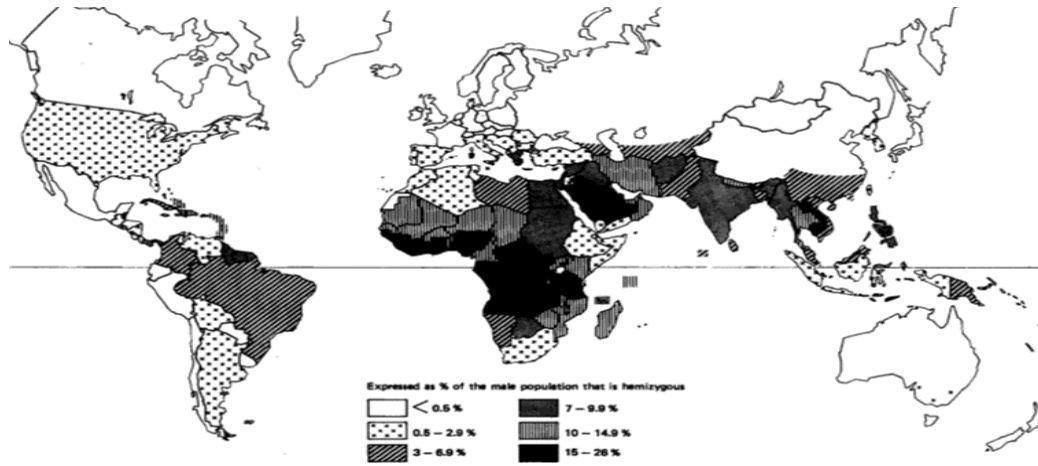
2.1.1. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Eksikliği Tanımı, Tarihçesi ve Epidemiyolojisi

G6PD enzimi kırmızı kan hücrelerinde Pentoz Monofosfat yolağında görev alan ve eritrositleri oksidatif hasara karşı koruyan hayati enzimdir. Bazı gıdalar, enfeksiyonlar, bazı ilaçlar ve kimyasallarla tetiklenen akut hemoliz, kronik hemoliz, yenidoğan hiperbilirubinemisi gibi değişken spektrumda klinikler meydana gelebilir(5,6). Anti –malaryal ilaçlar (özellikle primakin), sulfonamidler, sulfon grubu ilaçlar, metilen mavisi ve toludin mavisi gibi kimyasallar, naftalin topları, kuru bakla, oksidatif stresi arttıracak enfeksiyonlar etiyojolojiye örnek verilebilir(9). Hemolizi tetikleyen unsurlara maruz kalınmadığı dönemde asemptomatiktir. X-linked resesif patern ile kalıtımı gerçekleşir ve bu yüzden erkekler daha sık etkilenmektedir. Kadınların etkilenmesi zigosite, mozaizm derecesi ve X-inaktivasyon paternine göre gerçekleşir. Homozigot kadınlarda ve varyantı inaktif X kromozomu üzerinde olmayan kadınlarda da klinik bulgular gözlenmiştir(12). Tam eksikliği yaşam ile bağdaşmaz, eritrositlerin varlığını devam ettirebilmesi için az da olsa enzim aktivitesine ihtiyacı vardır(7).

G6PD ilk defa Otto Warburg ve Walter Christian tarafından 1932 yılında kırmızı kan hücrelerinde redoks fonksiyonlu bir enzim olarak tanımlanmıştır. 1952 yılında Paul Carson anti-malaryal bir ilaç olan primakine hassas kişilerde, 1956 yılında ise Gennaro Sansone bakla yeme öyküsü sonrası hemoliz hikayesi olan kişilerde G6PD eksikliği olduğunu saptadılar(3). Yine aynı dönemlerde bazı enfeksiyonlar sonucu duyarlı kişilerde eritrosit ömrünün kıaldığı tespit edildi. 1960'ların sonuna doğru farklı mutasyonların değişken derecede kliniklere sebep

olduğu anlaşıldı, sonraki 20 yılda ise 400'e yakın farklı biyokimyasal varyant tanımlandı(4). 1986 yılına gelindiğinde G6PD geni sekanslandı ve bundan sonraki 20 yıl içerisinde 140 farklı moleküler varyant tespit edildi(1).

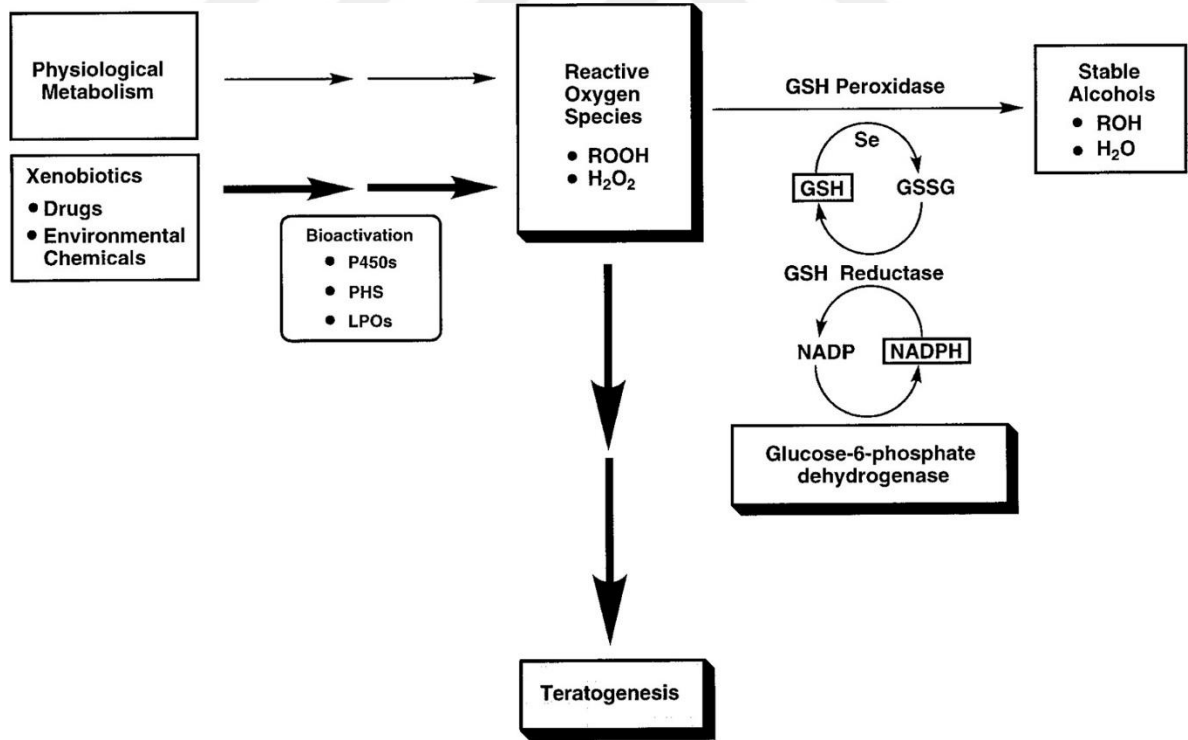
Orta Doğu, Asya, Latin Amerika ve Afrika ırklarında daha sık gözlenirken, batı toplumlarında daha nadir bulunmaktadır(2). Özellikle Kuzey Afrika ve Orta Doğu popülasyonları etkilenmiştir. Sardinya, Singapur ve Yunanistan enzim eksikliği ile hemoliz ilişkisinin ilk tanımlandığı lokasyonlar olarak bildirilmiştir(8). Adriyatik kıyısında %0.44, Yunanistan'da %3,14, İtalya'da %0.2-15, Kuzey Afrika'da %21 ve Orta Doğu'da ise %18-24 olarak bildirilmekle birlikte en yüksek frekans %65 ile Kürt-Yahudi toplumlarında gözlemlenmiştir(13). Ülkemizde yapılan çalışmalarda enzim eksikliği %0,5 olarak saptanırken Çukurova bölgesinde bu oran %8,2 olarak tespit edilmiştir(7). Ülkemizde ayrıca Diyarbakır ve çevresinde de sık görülmektedir(10).



şekil1. G6PD eksikliği dağılımı. Dünya Sağlık rgt (WHO) alışma grubundan alınmıştır(14)

2.1.2 Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Eksikliği Patofizyolojisi

G6PD hücrede glikolizi pentoz fosfat yolağına (PPP) yönlendiren hız kısıtlayıcı bir enzimdir. Glikoz-6-Fosfat G6PD enzimi ile 6-Fosfoglukonolaktone metabolize olur, reaksiyon sırasında nikotinamid adenin fosfat (NADP) indirgenir(11). Reaksiyon sonunda üretilen NADPH, çekirdeksiz eritrositlerde hayati öneme sahiptir ve bu eritrositlerde NADPH'ın yegane kaynağıdır. Glutasyon disülfid, glutasyon redüktaz enzimi ile sülfidril glutatyona indirgenirken substrat olarak NADPH kullanılır. Yeniden üretilen sülfidril glutasyon ise reaktif oksijen radikalleri ile oksitlenmeye hazırdır(3).



Şekil 2. G6PD, Glutasyon ve NADPH ilişkisi(15).

G6PD enzimi eksik olduğunda oksidan-antioksidan balansı oksidanlar lehine bozulur. Hücrenin glutatyon sülfidril üretme kapasitesindeki azalma birikmiş oksidan yükünün hücrenin başka elemanlarına yönelmesine neden olur(16). Reaktif oksijen radikalleri, bu radikallerle etkileşime açık olan lipid elemanlarla hızlıca reaksiyona girer. Lipid peroksidasyonuna uğrayana organellerin başında hücre membranı gelmektedir(17). Membranı reaktif oksijen radikalleri ile oksitlenen hücreler hızla hayati fonksiyonlarını kaybederler. Bu durumda yaşam süresi 120 gün olan eritrositler normalden çok daha kısa yaşarlar. Bu durumdan diğer hücrelerin reaktif oksijen radikallerine daha dirençli olmasının nedeni, çekirdekli hücrelerin alternatif yollar ile NADPH üretebilme kapasitesinin olmasındandır. Malik enzim, sitozolik ve mitokondriyal izositrat dehidrogenaz NADPH'ın diğer kaynaklarıdır(18).

2.1.3. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Eksikliği Klinik Bulguları

Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz eksikliği yenidoğan sarılığı, akut ve kronik hemoliz ataklarından asemptomatiğe kadar geniş spektrumda klinik değişkenlik göstermektedir. Dünya sağlık örgütü hastalığı 5 sınıfa ayırmıştır. Class I en ağır fenotipi ifade ederken Class V'e doğru klinik hafiflemektedir(19). Class I Kronik Non-Sferositik Hemolitik anemi olarak tanımlanmaktadır. G6PD enzim aktivitesi %10'un altındadır. Sporadik ve nadir türüdür. Class II de yine enzim aktivitesi %10 altındadır ancak epizodik akut hemoliz atakları ile seyreder. Akdeniz veya Asya varyantı olarak tanımlanmaktadır. Class III'te ise %10-60 enzim aktivitesi vardır ve oksidatif stres ile tetiklenen ataklar mevcuttur(20). Afrika varyantı olarak bilinir ve Kuzey Amerika kıtasında daha çok siyah ırkta saptanması Afrika'dan göç eden taşıyıcılar kaynaklı olduğunu düşündürmektedir.

TÜR	KLİNİK	ENZİM AKTİVİTESİ	PREVALANSI
Class I	Kronik Nonsferositik Hemolitik Anemi	<%10	Nadir
Class II	Akut İntermittan Hemolitik Anemi	<%10	Asya ve Akdeniz toplumlarında sık
Class III	İlaç ve Enfeksiyonla tetiklenen İntermittan Hemoliz	%10-60	Afrika ve Afroamerika toplumlarında sık
Class IV	Asemptomatik	%60-150 Normal enzim aktivitesi	Nadir
Class V	Asemptomatik.	>%150 Artmış enzim aktivitesi	Nadir

Tablo 1. Dünya Sağlık Örgütü G6PD Eksikliği klinik klasifikasyonu

G6PD varyantları;

G6PD B; Wild tip olarak bilinmekte ve beyaz ırkta görülmektedir

G6PD A; Afrika ırklarının %10-20 sinde görülmektedir. A ve B sağlıklı fenotipededir.

G6PD A-; En yaygın görülen varyant. Orta ve ağır hemoliz ile ilişkilendirilmiştir. Afrika ve Afroamerikalılarda görülen tiptir.

G6PD Akdeniz; Beyaz ırkta sık gözlenen patojenik türdür. Ağır hemoliz ile ilişkilendirilmiştir(32)

Yenidoğan sarılığı G6PD hastalarında normal popülasyonda beklenenden 2 kat daha fazla gözlenir. Bebek prematür doğum ise bulgular kernikterusa varan ağırlıkta olabilir. Ciltte ve sklerada sararma, huzursuzluk, letarji, beslenme bozukluğu, kusma ve ateş klinik bulgularıdır(2). Bu olgularda gözlenen sarılık Rh immunizasyonundan farklı olarak yaşamın 2. ve 3. günlerinde gözlenir(7). Yaşamın ilk günlerinde gözlenen sarılıkta ise genelde altta yatan mutasyon ile birlikte oksidan ajana maruziyet söz konusudur. Gilbert sendromu ile birlikte olan vakalarda daha sık gözlenmektedir. Akdeniz varyantında daha sık bildirilmiştir ancak G6PD A- varyantında da görülmektedir(24). Devam eden yıllarda mevcut olan ağır klinik tablo kronik non-sferositik hemolitik anemiye akla getirmelidir.

Akut hemolitik anemi G6PD eksikliği hastalarında en sık gözlenen klinik bulgudur. Ataklara en sık sebep enfeksiyonlardır, daha nadir olarak ilaçlar ve Vicia Faba bitkisi(23). Akdeniz varyantında daha sık gözlenmektedir(24). Hemolitik streptokoklara bağlı üst solunum yolu enfeksiyonları, viral ve bakteriyel pnömoniler, akut hepatit tabloları, E.Coli gibi gastroenterit ajanları çocuklarda hemoliz atağını tetikleyen enfeksiyonlar olabilir . Viral enfeksiyonların bakteriyel enfeksiyona göre daha çok hemolizi tetiklediği bildirilmiştir(7). Vicia faba'da ise güçlü bir oksitleyici ajan olan pirimidin β -glukozit visinin kararsız bir aglikon metaboliti olan divicine klinikten sorumlu olabilmektedir(24). Divicine ve isouromil sülfidril gruplarını oksitleyerek hücrenin antioksidan mekanizmasını sekteye uğratmaktadır. Favizme bağlı hemoliz, gıda alındıktan sonra 24-48 saat içinde meydana gelmektedir. Daha çok 2-6 yaş arası erkek çocuklar etkilenmektedir(28). Hemolizler intravasküler tiptedir. Bu nedenle ataklara splenomegali genelde eşlik etmez. Halsizlik, karın ağrısı, koyu ya da kırmızı renkli idrar ve hemoglobinüri eşlik eden semptomlardır. Hemolizin şiddetine göre bazen sarılık bulguları eşlik edebilir. Ayrıntılı anamnez alınması etyolojinin aydınlatılması için önemlidir. Hemolizin şiddetine göre akut tübüler nekroz, akut böbrek yetmezliği ve şok tablosu açısından dikkatli olunmalıdır.

Kronik non-sferositik hemolitik anemi kliniği hastalığın herhangi bir etnik gruba özgün olmayan en ağır fenotipi olarak bilinmektedir. Çok nadir raporlanmıştır. Yenidoğan sarılığı sıklıkla görölr. Hiperbilirubinemi, kronik anemi, splenomegali ile yaşamın ilk yıllarında genellikle tanı alır(36). İlimli durumlarda hemoliz extravasküler tiptedir ve hemoglobüri gözlenmez(7). Kronik anemi yaşam boyu devam edebilir ve hastalar transfüzyon bağımlısı olabilmektedir. Hemolizler enfeksiyon sırasında artar. Bu türe daha çok exon 10 içerisindeki mutasyonların neden olduğu saptanmıştır(37). Bu bölgenin N-terminal sonlarında dimerizasyonu düzenlediği bilinmektedir ve raporlanan mutasyonların dimerizasyonu bozduğu, bu yüzden enzim aktivitesinde ciddi düşüş meydana getirdiği gösterilmiştir(38).

G6PD enzim eksikliğinin dezavantajları yanında avantajlı olduğu bir durum mevcuttur. G6PD A- ve Akdeniz allellerinin plasmodium parazite karşı koruyucu olduğu saptanmıştır(24). Ayrıca hemoglobinopatiler ve anemilerde de benzer avantaj söz konusudur(52). Bu ilişki tam aydınlatılamamış olmakla beraber normalde 120 gün olan eritrosit yaşam süresinin ksalmasının plasmodiumun yaşam siklusunu ve proliferasyonunu negatif etkilediği görüşü üzerinde yoğunlaşılmıştır. Bu varyantların coğrafi dağılımları göz önüne alındığında sıtma prevalansının yoğun olduğu bölgelerle benzerlik göstermesi adaptasyon mekanizmaları ile bu varyantların meydana gelmiş olabileceği fikrini doğurmuş, yapılan çalışmalar da bunu desteklemiştir(50). G6PD Akdeniz varyantının tarımın ortadoğuda yayıldığı dönemde ortaya çıktığına dair arkeolojik kanıtlar mevcuttur. Buradan afrika kıtasına yayılan tarımsal faaliyetlerle beraber azalan ormanların yerine sulak alanların artması sonucu Anofel cinsi sivrisineklerin artması, beraberinde nüfusun artması ile plasmodiumun yaygınlaşması ve dirençli varyantların hayatta kalması sebep olarak gösterilmiştir(50). G6PD A- varyantının yaklaşık 10.000 yıl önce meydana geldiği, plasmodium falciparum ile insan ilişkisinde tarihsel süreçte pozitif seğılim ile afrika toplumlarında baskın hale geldiği saptanmıştır(51).

G6PD eksikliğinin keŖfi sırasında ve sonrasında da birçok ilaç klinik bulgulardan sorumlu tutulmuŖtur. Ancak bu konuda net bir konsensus sađlanamamıŖtır. Hematoloji, pediatri ve dahiliye disiplinlerinin refereans kaynakları birbirleri ile eliŖmektedir. Mutasyonun türü, bulunduğu exon, proteine olan etkisi, etnik köken ve altta yatan hastalık gibi birçok parametrenin kullanılan ilaca göre farklı sonuçlar doğurabileceği öngörülmektedir(2). Dapson, metiltionium klorid (metilen mavisi), nitrofurantoin, fenazopiridin, primakin, rasburikaz ve tolonium klorid kullanımları kesinlikle kontrendike olan ilaçlardır(39).

Metilen mavisi; methemoglobinemi tedavisinde kullanılır ve dŖk dozlarda NADPH bağımlı indirgenme ile methemoglobin->hemoglobin dnŖmn gerekleŖtirir. Mekanizmadan da anlaŖılacađı üzere NADPH bağımlı oksidatif stresi arttırma altta yatan nedendir. Nitrofurantoin riner sistem enfeksiyonlarında kullanılır, kesin olmamakla beraber bakteriler üzerinde enerji yolaklarını bloke ettiği dŖnlmektedir. Nitrofurantion kullanımına bağlı G6PD eksikliği olan hastalarda çok sayıda ölüm bildirilmiŖtir(40). Fenazopiridin riner koliklerde analjezik kullanımına bağlı methemoglobinemi vakaları bildirilmiŖtir(41,42). Diğer ilaçlar gibi oksidatif stresi tetiklediği gerekçesi ile G6PD hastalarında hemolizi tetiklediği dŖnlmektedir. Rasburikaz; hiperürisemi tedavisinde kullanılan rekombinant rat oksidazdır. Ürik asiti allantoina metabolize eder ve atılımını sağlar. Reaksiyon sırasında H₂O₂ oluŖturduđu saptanmıŖ, bu durumun G6PD hastalarında oksidatif stresi ve hemolitik atağı tetiklediği kanıtlanmıŖtır(43). Primakin hemolizle iliŖkisi saptanan ilk ilaçtır ve antiprotozoal amaçla kullanılır. Hemoliz ataklarından mitokondriyal elektron transport sistemlerini bloke etmesi ve oksidatif stresi arttırması sorumlu tutulmuŖtur(44). Yapılan baŖka alıŖmalarda ise hemoliz ataklarının olmadığı dönemlerde bile glutatyon seviyesinin azaldığı tespit edilmiŖtir(39). Dapson hem antibakteriyel hem antiprotozoal aktivitesi olan bir ilaçtır. Hücrede sitokrom b5 redüktaz aktivitesini azaltarak methemoglobinemiye zemin hazırlar(45,46). Toludin mavisi metilen mavisine göre methemoglobinemi

tedavisinde daha etkili ve daha az yan etkilidir. Etkilerini NADPH-bağımlı diaforaz II aracılığı ile gerçekleştirir(48). Hücre için NADPH seviyelerini değiştirdiği ve böylece methemoglobinemi ve hemoliz ataklarını tetiklediği varsayılmaktadır. İlk defa 1959 yılında bildirilmiş ve sonrasında birçok ilaç bağımlı hemolitik atak vakası tanımlanmıştır(49).

Medication	<i>Williams Hematology</i> ⁸⁾	<i>Nelson Textbook of Pediatrics</i> ⁹⁾	<i>Harrison's Principles of Internal Medicine</i> ¹⁰⁾
Acetanilid	Avoid	No contraindication	Avoid
Aspirin (acetylsalicylic acid)	No contraindication	Avoid	No contraindication
Chloramphenicol	No contraindication	Avoid	No contraindication
Chloroquine	No contraindication	Avoid	No contraindication
Dapsone	No contraindication	No contraindication	Avoid
Dapsone/chlorproguanil	No contraindication	No contraindication	Avoid
Dimercaptosuccinic acid	Avoid	No contraindication	No contraindication
Furazolidone	Avoid	No contraindication	No contraindication
Glibenclamide (glyburide)	Avoid	No contraindication	No contraindication
Isobutyl nitrite	Avoid	No contraindication	No contraindication
Methylthioninium chloride (methylene blue)	Avoid	Avoid	Avoid
Nalidixic acid (NeGram)	Avoid	Avoid	Avoid
Niridazole (ambilhar)	Avoid	No contraindication	Avoid
Nitrofurantoin (furadantin)	Avoid	Avoid	Avoid
Pamaquine	No contraindication	Avoid	No contraindication
Phenacetin	No contraindication	Avoid	No contraindication
Phenazopyridine (pyridium)	Avoid	Avoid	Avoid
Phenylhydrazine	Avoid	No contraindication	No contraindication
Primaquine	Avoid	Avoid	Avoid
Probenecid	No contraindication	Avoid	No contraindication
Mepacrine	No contraindication	Avoid	No contraindication
Sulfacetamide	Avoid	No contraindication	No contraindication
Sulfamethoxazole	No contraindication	No contraindication	Avoid
Sulfanilamide	Avoid	No contraindication	No contraindication
Sulfapyridine	Avoid	No contraindication	No contraindication
Thiazolesulfone	Avoid	No contraindication	No contraindication
Tolonium chloride (toluidine blue)	Avoid	No contraindication	No contraindication
Cotrimoxazole (trimethoprim/sulfamethoxazole)	No contraindication	Avoid	Avoid
Urate oxidase	Avoid	No contraindication	No contraindication
Vitamin K analogues	No contraindication	Avoid	No contraindication

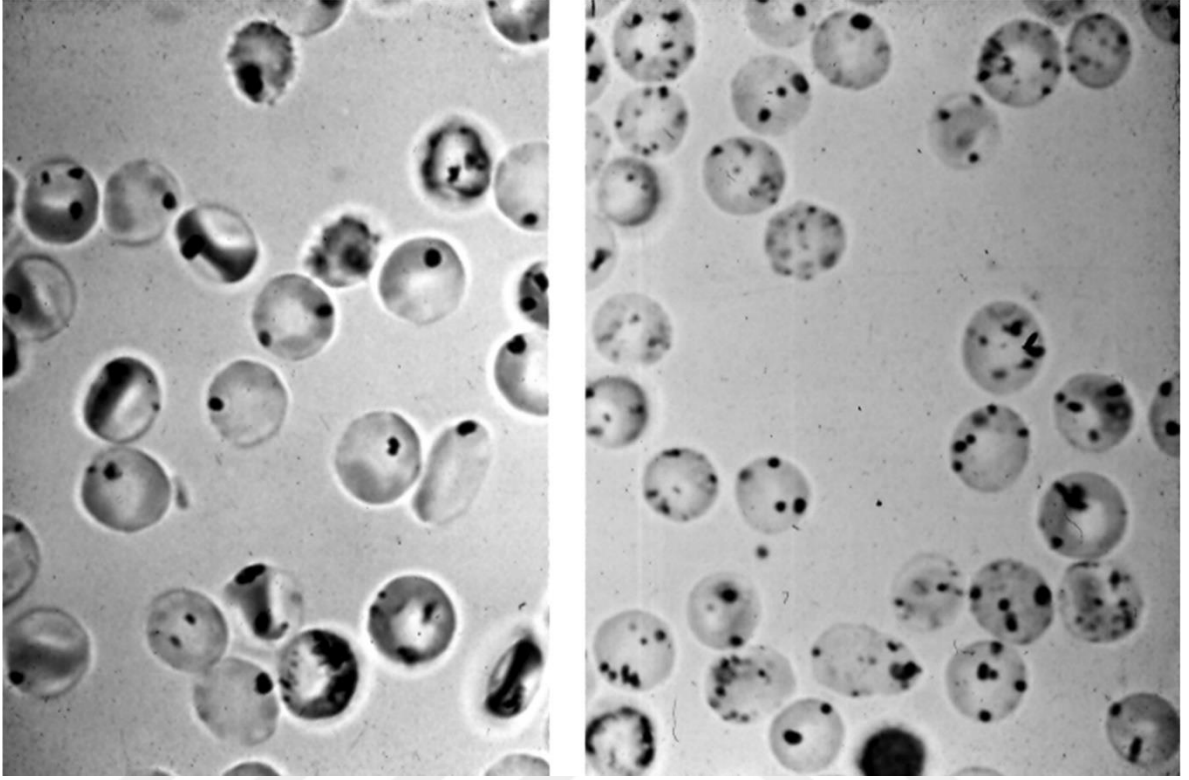
Tablo 2. G6PD eksikliğinde 3 farklı disiplinin literatürde sık raporlanan ilaçlar ile ilgili yorumları. Youngster ve arkadaşlarının ayrıntılı literatür derlemesinden alınmıştır(39)

2.1.4. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Eksikliği Laboratuvar Bulguları

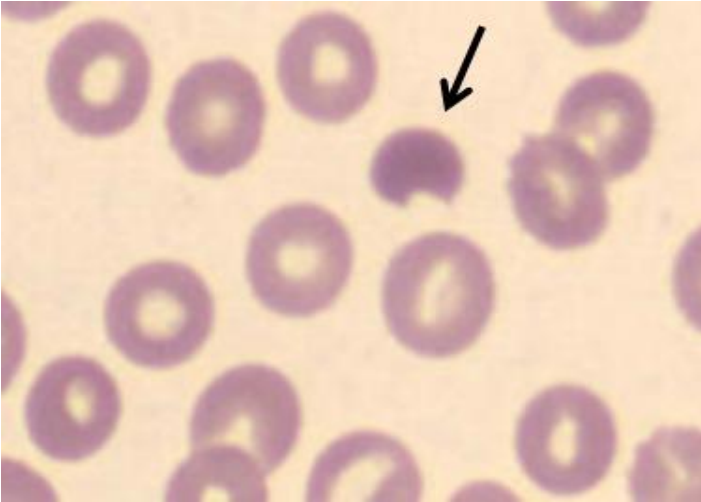
Akut hemolitik ataklarda anemi beklenen bulgudur. Tüm eritrositlerin yarısı hemolize olmadığı sürece karaciğer fonksiyonları sağlam olan bireyde sarılık gözlenmez(5). Kemik iliğinde artmış eritropoeze bağlı periferik kanda retikülositoz beklenir. Anemi normokromik ya da artmış retikülositoz nedeni ile hafif makrositik olabilir(54). Periferik yaymada eritrositlerde "heinz body" ismi verilen oksidatif hasara bağlı membranöz çökelti gözlenir. Membranı oksidatif stres nedeni ile hasarlanan eritrositlere dalakta makrofajların saldırması ile periferik yaymada ısırılmış eritrositler olarak bilinen "bite cell" (anizopoikilositoz) saptanır. Daha az hasarlanan eritrositler ise şekil değişikliği ile sferositler olarak gözlenirler. Serum haptoglobulin azalmıştır(7). İlaça bağlı hemolizde ilacın kesilmesinden 8-10 gün sonra hemogram normale dönmeye başlar(1). Laktat dehidrogenaz (LDH) enzim yüksekliği saptanır. Hemolitik atağın sebebi immun nedenlerse direkt coombs testi pozitif saptanır ancak G6PD eksikliğinde genellikle non-immun etyoloji olduğundan direkt coombs negatif saptanacaktır(53).

Kronik non-sferositik hemolitik anemide adından da anlaşılacağı üzere sferositik eritrositlerin gözlenmesi beklenmez(54). Kronik hemoliz varsa idrarda hemosiderin ve ürobilinojen saptanması beklenir. Sürekli yıkıma bağlı dokularda eritrositler kaynaklı demir birikimi gözlenebilir. Hastaların demir parametreleri açısından aralıklı olarak değerlendirilmesi gerekmektedir(36).

Yenidoğan sarılığı olan G6PD eksikliği hastalarında anemi nadiren saptanır. Hafif hemoliz durumunda retikülositozun yenidoğanın fizyolojik hemolizi olabileceği unutulmamalıdır. İndirekt hiperbilirubinemi eşlik eden laboratuvar bulgusudur. Bilirubin 95 percentil üzerinde ölçülür(5).



Şekil 3. G6PD eksikliğine bağlı olgunun primakin kullanımı sonrası heinz body formasyonları (sağda) ve sağlıklı bireye ait primakin kullanımı sonrası periferik yayma (solda). Ernest Beutler'in çalışmasından alınmıştır(55)



Şekil 4. G6PD eksikliğine bağlı makrofaj tarafından hasarlanmış bite cell (ısırılmış hüre) formasyonu. Van Den Broek'in çalışmasından alınmıştır (56)

2.1.5. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Eksikliği Tanısı

Hastalığın tanısı enfeksiyon, ilaç kullanımı veya bakla tüketimi sonrası gelişen klinik bulgular sonrasında konur. Kesin tanı için enzim düzeyinin tayini gereklidir. Enzim düzeyi tayini için kalitatif ve kantitatif testler kullanılır. Kalitatif testler sadece var/yok şeklinde sonuç verirken kantitatif testlerde enzim düzeyinin normal değere göre kıyaslaması da yapılabilmektedir. Erkekler bu hastalık için hemizigot olacağından kalitatif testler tanıya yardımcı olabilmekte iken, heterozigot kadınlarda kalitatif testler yetersiz kalmakta, kantitatif testler ile varsa enzim eksikliğinin derecesi belirlenmelidir(57).

Enzim eksikliğinin kalitatif taramasında hızlı, basit ve duyarlı “floresan spot testi” kullanılır. %20 ve altında saptanan enzim seviyelerini belirlemesi nedeni ile yarı-kantitatif test olarak da bilinmektedir(58). Hemolizatlara NAD ve G6PD eklenerek oluşan NADPH ölçümüne dayanır. Reaksiyon neticesinde ölçülen floresan ışığa analiz temelini oluşturur. Sıtmanın endemik olduğu ülkelerde primakin tedavisine başlanmadan önce floresan spot testi ile tarama yapılır(60).

Kantitatif analiz olarak tercih edilen “spektrofotometrik” yöntemde enzim seviyesi belirlenebilmekte ve kalitatif analiz ile net sonuç alınamayan vakalarda daha aydınlatıcı olmaktadır. Substrat ve kofaktör eklendikten sonra oluşan NADPH'nin 340 nm dalga boyunda spektrofotometrik ölçümüne dayanır(60). Sonuçlar IU/hemoglobin olarak birimlendirilir. 8-Aminokinolin türevi diğer bir sıtma ilacı olan tafenoquinin yarılanma ömrü primakine göre daha yüksek olduğu, olası bir hemoliz durumunda ilacın kesilmesi halinde bile hemolizin bir süre daha derinleşeceği varsayılacağı için, bu ilacın kullanımından önce floresan spot test

yerine spektrofotometrik analiz ile tarama yapılması, en az %70 enzim aktivitesi saptanmadan ilacın reçete edilmemesi önerilmektedir(61).

Hemolizin hemen ardından retikülositozlu dönemde bakılırsa genç eritrositlere bağlı olarak normal sonuç alınabilir. Bu yüzden retikülositozun kaybolduğu dönemde çalışılması gerekir. Kan transfüzyonu gerektirecek hemolitik ataklardan sonra ise 3 ay kalitatif ya da kantitatif analizler önerilmemektedir. Yenidoğanlarda da retikülosit baskınlığı nedeni ile yanlış analizlere sık rastlanmakta ve yenidoğanda hemogram parametrelerinin düzelmesinden sonra testin tekrarı önerilmektedir. Lökositlerde G6PD enzimi yüksek seviyede bulunur. Hatalı analizlerin önlenmesi için analizden önce hemolizatın beyaz kürelerden arındırıldığından emin olunmalıdır(57). Numunelerde enzimaktivitesinin kaybolmaması için, alındıktan sonra 4°C sıcaklıkta ve en geç 4 gün içinde çalışılması önerilmektedir(59).

Enzim eksikliğinin biyokimyasal metodlarla açığa çıkarılamaması mevcut testlerin yüksek yanlış pozitif ve yanlış negatif dezavantajları nedeni ile bazen mümkün olmamaktadır. Klinik bulgular ve biyokimyasal analizler ile hastalıktan şüphelenildiğinde imkan varsa genetik analizlerin yapılması önerilmektedir. X kromozomu üzerinde G6PD geninin Sanger veya yeni nesil dizileme(NGS) yöntemleriyle sekanslanması, varsa patojenik veya muhtemel patojenik varyantların açığa çıkarılması son derece önemlidir. Moleküler analizler hem maliyetin fazla olması hem de teknik personelin yetersizliği nedeni ile kitleleri taramak için uygun bir yöntem değildir(57). Moleküler analizlerin heterozigot asemptomatik kadınlarda bazen tek tanı seçeneği olduğu unutulmamalıdır. Ayrıca preimplantasyon genetik tekniklerin kullanılabilmesi için hastalık düşünülen bireylerde etyolojinin moleküler olarak aydınlatılması şarttır. Bugüne kadar 230 civarı varyant saptanmıştır. G6PD A- ve Akdeniz varyantlarının sık görüldüğü

coğrafi bölgelerde, sık görülen mutasyonlara yönelik fragman analizleri maliyet açısından iyi bir alternatif olsa da nadir saptanan varyantları saptayamayacağı unutulmamalıdır(60). Teknolojideki gelişmelerle beraber maliyetlerin yıllar içerisinde düşmesi, teknik personelin sayısının artması, diğer genetik nedenli hemolitik hastalıklarla ayırıcı tanı için hemolitik hastalıklar panellerinin yaygınlaşması gelecek yıllarda genetik analizlerin rutin taramalarda kullanılabileceği tahminini doğurmaktadır.

2.1.6. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Eksikliği Ayırıcı Tanısı

Hereditör Sferositoz: Anemi, sarılık ve splenomegali ile karakterizedir. Eritrositlerde sferositik formasyona neden olan ankrin, spektrin, band3 veya protein 4.2 defektleri neden olmaktadır(62). Sferositik eritrositler dalaktan geçerken extravasküler hemolize uğrar, splenomegali, sarılık ve safra taşları bu durumun neticesinde meydana gelir. Hemolitik krizler en sık enfeksiyonları takiben meydana gelir ve bazen aplastik krizlere kadar ilerler. Bunun sebebi enfeksiyonların retikuloendotelial sistemi uyarması ve dalakta yıkımı arttırmasıdır. Periferik yaymada hastaların 4'te 3'ünde sferositler saptanır(63). Kronik hemolizlere bağlı çocuklarda büyüme gelişme geriliği, bacak ülserleri sık rastlanan diğer bulgulardır. Hastalığa spesifik ozmotik fragilite testinde şişen hücrelerin bozuk morfoloji nedeniyle erken parçalanması incelenir. Çoğunluğu otozomal dominant olan bir grup gende meydana gelen mutasyonlar (ANK1, EPB3, EPB42, SPTA1 ve SPTB) hastalıktan sorumludur(64). G6PD eksikliğinden aile öyküsünde kadınlarında erkeklerle aynı oranda etkilenmesi, yüksek sferosit düzeyleri, splenektomiye tam yanıt ve diğer klinik bulgularla ayrılır. Klinik şüphede mutlaka moleküler testlerle tanı desteklenmelidir.

Talasemi: BetaTalasemi de tıpkı G6PD enzim eksikliği gibi Akdeniz ülkelerinde ve sıtma prevalansının yoğun olduğu coğrafyalarda dağılım gösteren genetik bir hastalıktır. Ülkemizde beta formu çok sık gözlenirken alfa talasemiye daha çok güneybatı asya ülkelerinde rastlanır. Ülkemizde 1.300.000 beta talasemi taşıyıcısı olduğu tahmin edilmektedir(66). Hemoglobin beta zincirinin eksik sentezine bağlı klinik bulgular meydana gelir. Hafif ya da ağır anemi, kronik yorgunluk, extramedüller hematopoeze bağlı hepatosplenomegali, sarılık, safra taşları, bacak ülseri, kemik deformiteleri gözlenebilir(67). Anemi genelde kronik olup, hipokrom mikrositer karakterde beklenir. Elektroforezde diğer hemoglobin zincirlerinin piklerine (HbF, HbA₂ vs.) rastlanır. Periferik yaymada G6PD eksikliği anemisi gibi anizotroz ve poikilositroz gözlenebilir. Örtüşen klinik bulguları olsa da hemoglobin elektroforez bulguları, aneminin mikrositer olması, bakla ve ilaçlarla tetiklenen atakların olmaması ile ayırıcı tanısı yapılabilmektedir.

Orak Hücreli Anemi: G6PD ve talasemi gibimalaryla ile dağılımı örtüşen resesif bir hastalıktır. Hemoglobin beta zincirindeki 6.pozisyonda glutamik asit yerine valin kodlayan tek bir nükleotid değişimi (bu mutasyon HbS üretir) hastalığın klasik tipinden sorumlu olurken, HbS ve diğer HBB geni varyantları birlikteliği farklı türlerini oluşturmaktadır(68). Oluşan bu hemoglobin türü oksijen miktarının azaldığı durumlarda oraklaşmaya meyleder ve diğer hemoglobinlerle polimerizasyona uğrar. Hipoksik ortamda kılcallarda tıkanma hastalığın klinik bulgularının çoğunun altında yatan patofizyolojidir(69). Vazookluziv ağırlı krizler, aplastik krizler ve sekestrasyon krizleri gözlenebilir. Enfeksiyon en önemli mortalite ve morbidite nedeni olarak bildirilmiştir. Hem enfeksiyonların sitokinler aracılığıyla endotelial akivasyon ile krizleri tetiklemesi, hem de krizlerden sonra enfeksiyonların savunmasız dokularda üreyebilmesi birbirini besleyen bir döngü olarak karşımıza çıkar(70). Ataklarla seyreden (özellikle enfeksiyon) hemolitik sürçler G6PD ile ayırımının yapılmasını gerektirir. Hemoglobin elektroforezinde HbS saptanması, periferik yaymada orak şeklinde hemoglobinler, G6PD eksikliğine bağlı hemolizin

aksine ağırlı krizlerin gözlenmesi ve kronik dönemde organ hasarının olması ile ayırıcı tanısı yapılır.

Otoimmün Hemolitik Anemi: Eritrosit membranına karşı antikor gelişimi veya kompleman bağlanması ile karakterize, erkek ve kadının eşit etkilendiği çok nadir hastalıklardır. Yıllık insidansı 100.000 de 1-3 olarak tahmin edilmektedir(71). İlaçlar, otoimmün hastalıklar, enfeksiyonlar etyolojiye örnek verilebilir. Ancak vakaların büyük bir kısmı idiyopatik saptanmıştır. Antikor-antijen komplekslerinin dalakta, karaciğerde yıkımı ya da kompleman aracılı mekanizma ile intravasküler hemolizi meydana gelir. Sıcak otoimmün hemolitik anemi(OHA), paroksizmal soğuk hemoglobinüri ve soğuk aglutinin sendromu klinikleri ile karşımıza çıkar(72). En önemli ayırıcı unsur otoimmün hemolitik anemi vakalarının %95 inde coombs testinin pozitif olmasıdır. Özellikle enfeksiyon ve ilaçlarla tetiklenen hemoliz atakları G6PD eksikliğinden ayırıcı tanısını gerektirmektedir. Otoimmün hemolitik anemi için Mikoplazma, Sitomegalovirus, Epstein-Barr virüs ve Hepatit C vakaları ön plana çıkarken G6PD eksikliği için daha çok E.coli, Salmonella gibi gastroenterit etkenleri, Hepatit A, bakteriyel pnömoniler sebep olabilmektedir. Yine etyolojide kullanılan ilaçların türü de hastalığın ayırıcı tanısında yardımcı olur. Penisilin, sefalosporin, levodopa, metildopa, prokainamid gibi ilaçlarla otoimmün hemolitik anemi daha çok raporlanmışken bu ilaçların G6PD etyolojisinde atakları tetikleyici etkisi olduğu bilinmemektedir(73).

Gilbert Sendromu: Dünyada ve ülkemizde yaygın bulunan bilirubin glukuronidasyon defekti ile karakterize resesif bir hastalıktır. Klinik bulguları unkonjuge bilirubin yüksekliği ve sarılık olsa da subklinik hemolizin varlığı diğer hemolitik hastalıklardan ayırıcı tanısını gerektirmektedir(74). Hastalar genelde ergenlik döneminde başlayan ılımlı sarılık kliniği ile tesadüfen tanı alır. Açlık, yoğun egzersiz, stres, enfeksiyon ve ilaçlar hiperbilirubinemiye tetiklemektedir. Gilbert

sendromu ile diğer hemolitik hastalıkların birliktelikleri hem yenidoğan sarılığını hem de hemolizi arttırdığı için, G6PD eksikliği tanısı konulan olgularda bile gilbert araştırılması önerilir(75).

Hemoglobinopatinin kalitatif ya da kantitatif olmasına göre ayırıcı tanı için yapılması gereken biyokimyasal analizler değişmektedir. İzoelektrik fokuslama, yüksek performans liqid kromatografi gibi yöntemlerle hemoglobin subgrupları da tespit edilebilmektedir(76). Ancak burda unutulmaması gereken nokta elektroforezin de kendi limitasyonlarının olduğu ve diğer hemogram ve biyokimyasal parametrelerden (demir vs.) etkilendiği, yanlış pozitif ya da yanlış negatif sonuçlara yol açabildiğidir. Nadir saptanan eritrositer enzim eksiklikleri göz önünde bulundurulmalı, otoimmün mekanizmalarla olmasa bile ilaca bağlı hemolizin meydana gelebileceği ve altta yatan başka sarılık etyolojiler mutlaka araştırılmalıdır. Bu yüzden kesin olmayan sonuçlar ya da ayırıcı tanısı yapılamayan vakalar moleküler analizlere ihtiyaç duymaktadır. Tek gen dizileme ya da daha geniş hemolitik hastalıklar panelleri ile diğer biyokimyasal ve klinik bulguların beraber değerlendirilmesi hastalık tanısının konulmasında daha sağlıklı olacaktır.

2.1.7. Glukoz-6-Fosfat Dehidrogenaz Eksikliği Tedavisi

G6PD eksikliğinin şu an için bilinen bir tedavisi yoktur. Genel kabul gören yaklaşım, oksidatif stresörlerden korunmadır. Aneminin derinleşmesi durumunda kan transfüzyonu hayat kurtarıcı olabilir. Genel kanı hemoglobin düzeyinin 7 g/dl altına düştüğünde ya da 9 g/dl altında hemoglobinüri eşlik ediyorsa transfüzyon gereklidir(7). Sık tekrar eden hemolitik vakalarda splenektomi konusunda genel bir fikir birliği sağlanamamıştır. Yenidoğan sarılığında kliniğe göre fototerapi ihtiyacı olabilir. Hastalar kernikterus açısından dikkatli takip edilmelidir. Terapötik olarak

glutasyon biyosentezinin arttırılması, NADPH üretiminin alternatif yollar ile desteklenmesi, G6PD geninin transkripsiyonunu arttıran moleküller ve G6PD enzimine direkt bağlanarak aktivasyonunu arttıran maddeler denenmiştir(20).

Askorbat: C vitamini insanda iyi bilinen antioksidanlardandır. Ancak in vivo şartlarda pro-oksidan özellikleri olduğu bilinmektedir. Yüksek doz (>6mg/gün) C vitaminin G6PD eksikliğinde akut hemolitik anemiyi tetikleyebileceği bildirilmiş, hatta ölüm raporlanmıştır(78).

N-Asetil Sistein (NAC): Glutamat ile birlikte glutasyon biyosentezinde rol alır. Redükte glutasyon miktarının artması oksidatif strese karşı hücreyi korur. Hemolitik atakları antioksidan mekanizmaların desteklenmesi ile azalttığına yönelik çalışmalar mevcuttur. G6PD eksikliğine bağlı ciddi hemolitik anemisi olan olgularda yoğun bakım ventilatör desteğini azalttığına dair yayınlar mevcuttur(79).

A-Tokoferol (E vitamini) ve Selenyum: Hücre zarını oksidatif strese karşı koruyan, yağda çözünen vitamindir. Favizmi olan hastalarda klinik üzerine net bir etkisi konulamamıştır ancak teorik olarak faydası olabileceği düşünülmektedir. Selenyum ile birlikte daha etkili olmaktadır. Favizmi olan bir grup erkek hasta üzerinde yapılan çalışmada tokoferol ve selenyum kombinasyonunun hemoglobin yaşam süresini ciddi oranda arttırdığı saptanmıştır(80).

Sodyum butirat gibi histon deasetilaz inhibitörlerinin pentoz fosfat yolunu upregüle ettiği saptanmıştır(81). Karotenoidler ve lipoik asitler tedavide denenmektedir(20). Bununla birlikte CRISPR gen düzenleme mekanizmaları son yıllarda genetik hastalıkların tedavisinde büyük umut olmaktadır.

2.2. G6PD Moleküler ve Biyokimyasal Yapısı

2.2.1. G6PD Geni Moleküler Yapısı

G6PD Geni X kromozomu uzun kolda telomere yakın bölgede / Xq28 de lokalizedir. Bu lokasyon Fragile X, Hemofili A ve renk körlüğü ile ilişkili genlerin olduğu "hot spot" bölge olarak bilinmektedir(29). 18.5Kb büyüklük, 12 intron, 13 ekzondan oluşan G6PD geni 515 aminoasitlik G6PD enzimini kodlar(21). İnsanda ürettiği transkript 2223 bazdan oluşur. NM_001360016.2 RefSeq kodu veya ENST00000393562.10transkript ID ile identifiye edilir(22). Başlangıç kodu olan "ATG", 2.exonunun içinde bulunur. 67 ile 1614 baz çiftleri arası kodlayan DNA segmenti (CDS) olarak saptanmıştır. Promoter bölgesinde -70 ile -90 baz çiftleri arasında yoğun "GC" içeriği bulunur. Klasik "TATA box" yerine ATG başlangıç kodonundan -202 baz çift uzaklıkta "ATTAAAT" regülatör bölgeyi barındırmaktadır(29). Ayrıca hücrenin iyi bilinen "housekeeping" genlerinden biridir.

G6PD geninin gen düzeyinde, transkripsiyonel, translasyonel ve posttranslasyonel düzeyde birçok regülatörü olduğu saptanmıştır. PDGF, EGF, ATM, Nrf2, Hsp27, Vitamin D, İnsülin, mTOR gibi bazı mediatör ve genler aktive ederken; Aldosteron, p53, cAMP, TNF α , gibi mediatör ve genler ise downregülasyonundan sorumludur(30).

G6PD geni OMIM veri tabanında #300908 MIM numarası ile tanımlanan X kromozomu kalıtmı "Hemolitik Anemi, Glukoz-6-Fosfat eksikliği" ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca #611162 MIM numarası ile "Malarya Direnci" ile ilişkilendirilmiştir(33).

.....cgcccccccccccccgccgattaaatggcgcggggctcagcccc

GGAAACGGTCGTACACTTCGGGGCTGCGAGCGCGGAGGGCGACGACGACGAAGCGCAG

gtaaceggccgggcgggcgccgcg.....tgtaacgagccttctccaccag

ACAGCGTCATGGCAGAGCAGGTGGCCCTGAGCCGGACCCAGGTGTGCGGGATCCTGCGGG
AAGAGCTTTTCCAGGGCGATGCCTTCCATCAGTCGGATACACACATATTCATCATCATGG
GTGCATCG

gtgagtatctccaggccccaatct.....cacacacctgtccctctgccacag

GGTGACCTGGCCAAGAAGAAGATCTACCCACCATCTG

gtaagtgtgtcccaccactgcccct.....ggttacagctgtgccctgcccctcag

GTGGCTGTTCCGGGATGGCCTTCTGCCGAAAACACCTTCATCGTGGGCTATGCCCGTTC
CCGCCTCACAGTGGCTGACATCCGCAAACAGAGTGAGCCCTTCTTCAAG

gtgggtggtgtcagggcctcccca.....gtgtctgtctgtccgtgtctccag

GCCACCCAGAGGAGAAGCTCAAGCTGGAGGACTTCTTTGCCCGCAACTCCTATGTGGCT
GGCCAGTACGATGATGCAGCCTCCTACCAGCGCCTCAACAGCCACATGAATGCCCTCCAC
CTGGGGTACAGGCCAACCGCCTCTTCTACCTGGCCTTGCCCCGACCGTCTACGAGGCC
GTCACCAAGAACATTACGAGTCCTGCATGAGCCAGAT

gtaaggcttgccgttgcccctccctt.....taacgcagctccgggctcccagcag

AGGCTGGAACCGCATCATCGTGGAGAAGCCCTTCGGGAGGGACCTGCAGAGCTCTGACCG
GCTGTCCAACCACATCTCCTCCCTGTTCCGTGAGGACCAGATCTACCGCATCGACCACTA
CCTGGGCAAGGAGATGGTGCAGAACCTCATGGTGCTGAG

gtggggccaagcctgggcccggggga.....tcctccacctgcccctcccctgag

ATTTGCCAACAGGATCTTCGGCCCATCTGGAACCGGGACAACATCGCCTGCGTTATCCT
CACCTTCAAGGAGCCCTTTGGCACTGAGGGTTCGCGGGGGCTATTTTCGATGAATTTGGGAT
CATCCG

gtgagagctctctctctctctggg.....gagctctggcctcttccgtcccag

GGACGTGATGCAGAACCACCTACTGCAGATGCTGTGTCTGGTGGCCATGGAGAAGCCCGC
CTCCACCAACTCAGATGACGTCCTGATGAGAAG

Şekil 5. G6PD geni 5'UTR bölgesi ve Exon 1-8 sekansları. Protein sentezleyen bölgeler mavi olarak renklendirilmiştir. İntronlar gri ve UTR ise yeşil renk olarak gösterilmiştir(25).

gtagggggtgcaccccagtcaccag.....attctctcccttggtttctctcag

**GTCAAGGTGTTGAAATGCATCTCAGAGGTGCAGGCCAACAAATGTGGTCCTGGGCCAGTAC
GTGGGGAACCCCGATGGAGAGGGCGAGGCCACCAAAGGGTACCTGGACGACCCACGGTG
CCCCGCGGGTCCACCACCGCCACTTTGCAGCCGTCGTCCTCTATGTGGAGAATGAGAGG
TGGGATG**

gtaggtgatgccttcgaggeccagc.....tgaggetgccctttccgcccagtag

**GGGTGCCCTTCATCCTGCGCTGCGGCAAGGCCCTGAACGAGCGCAAGGCCGAGGTGAGGC
TGCAGTTCCATGATGTGGCCGGCGACATCTTCCACCAGCAGTGCAAGCGCAACGAGCTGG
TGATCCGCGTGCAGCCCAACGAGGCCGTGTACACCAAGATGATGACCAAGAAGCCGGGCA
TGTCTTCAACCCCGAGGAGTCGGAGCTGGACCTGACCTACGGCAAAGATAACAAG**

gtgccctacagagaaggagcagtg.....cagcaagacactctctccctcag

**AACGTGAAGCTCCCTGACGCCTATGAGCGCCTCATCCTGGACGTCTTCTGCGGGAGCCAG
ATGCACTTCGTGCGCAG**

gtgaggcccagctgcccggcccctgc.....cccagccataccatgtcccctcag

**CGACGAGCTCCGTGAGGCCTGGCGTATTTTCAACCCACTGCTGCACCAGATTGAGCTGGA
GAAGCCCAAGCCCATCCCCTATATTTATGGCAG**

gtgaggaaaggggtgggggctgggga.....ctctctccaccggtcactctccag

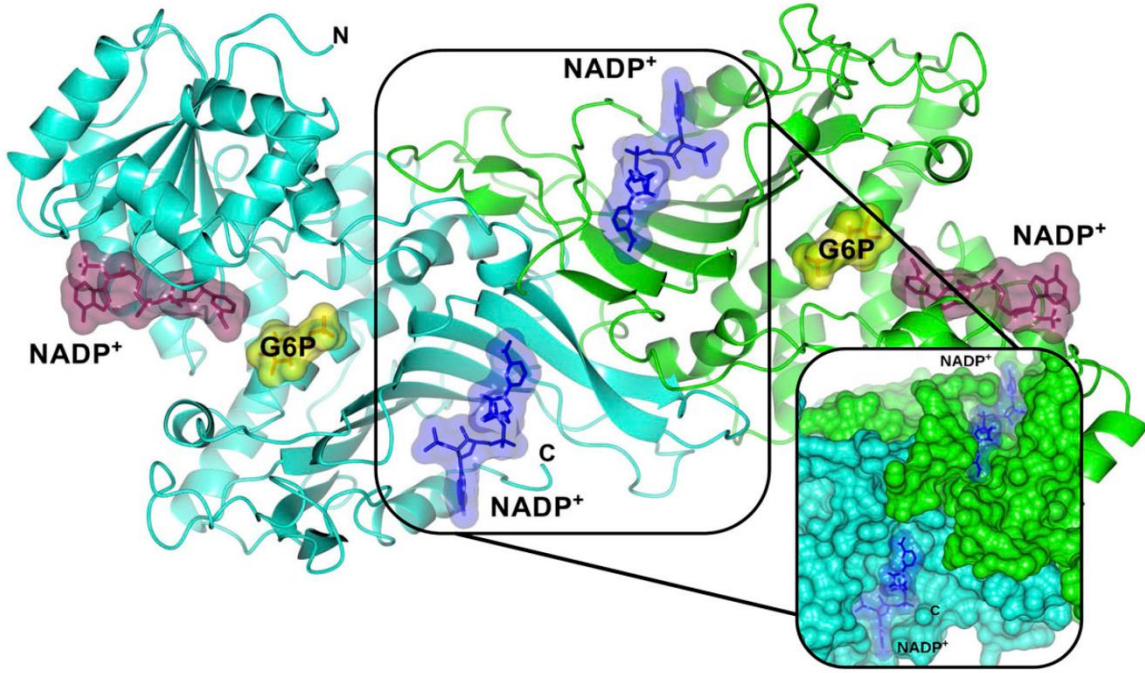
**CCGAGGCCCCACGGAGGCAGACGAGCTGATGAAGAGAGTGGGTTTCCAGTATGAGGGCAC
CTACAAGTGGGTGAACCCCAAGCTCTGAGCCCTGGGCACCCACCTCCACCCCGCCA
CGGCCACCCTCCTTCCCGCCCGCCGACCCGAGTCGGGAGGACTCCGGGACCATTGACCT
CAGCTGCACATTCTGGCCCCGGGCTCTGGCCACCCTGGCCGCCCCCTCGCTGCTGCTAC
TACCCGAGCCAGCTACATTCTCAGCTGCCAAGCACTCGAGACCATCTGGCCCTCCA
GACCCTGCCTGAGCCCAGGAGCTGAGTCACCTCCTCCACTCACTCCAGCCCAACAGAAGG
AAGGAGGAGGGCGCCATTCTGTCTGTCCCAGAGCTTATTGGCCACTGGGTCTCACTCCTG
AGTGGGGCCAGGGTGGGAGGGAGGGACGAGGGGGAGGAAAGGGGCGAGCACCACGTGAG
AGAATCTGCCTGTGGCCTTGCCCGCCAGCCTCAGTGCCACTTGACATTCTTGTACCAG
CAACATCTCGAGCCCCCTGGATGTCCCCTGTCCACCAACTCTGCACTCCATGGCCACCC
CGTGCCACCCGTAGGCAGCCTCTCTGCTATAAGAAAAGCAGACGCAGCAGCTGGGACCCC
TCCCAACCTCAATGCCCTGCCATTAATCCGCAAACAGCC**

cctctgtccccttgctcatttgctccctgaggaccacttctctg tccc.....

Şekil 6. G6PD geni Exon 9-13 sekansları ve 3'UTR bölgesi. Protein sentezleyen bölgeler mavi olarak renklendirilmiştir. İntronlar gri ve UTR ise yeşil renk olarak gösterilmiştir(25).

2.2.2. G6PD Enziminin Biyokimyasal Yapısı

İlk defa *Leuconostoc Mesenteroides* türü bakterilerde izole edilen enzimin daha sonra insan ile hemen hemen aynı homolojiye sahip olduğu anlaşılmıştır(27). Bakteriden elde edilen bilgiler insan G6PD enziminin yapısını daha ayrıntılı incelemeye olanak tanımıştır. G6PD enzimi pentoz-fosfat yolağının ilk basamağını katalize eden (aynı zamanda hız kısıtlayıcı) bir enzimdir. Glukoz-6-fosfatı D-glukono-1,5-laktone-6-fosfata dönüştürür.



Şekil 7. G6PD enzimi şematik gösterimi. Yapısal NADP⁺ domaini mavi, katalitik NADP⁺ domaini koyu pembe ve G6P substrat bağlayıcı domain ise sarı olarak gösterilmiştir. Monomerlerden biri yeşil diğeri açık mavi olarak gösterilmiştir(29).

Enzim dimer-tetramer formlarında bulunur. Dimer formu hücrede daha baskındır. Her monomer 59 kDa büyüklüğünde 515 aminoasitten oluşmaktadır. Her monomerde yapısal ve katalitik NADP+ birimleri, G6P substrat bağlayıcı bölge bölge bulunur. 31 ve 200 aminoasitleri arası N-terminal, 201 ve 515 aminoasitleri arası C-terminal olarak bilinir. N-terminaldeki $\beta+\alpha$ koenzim bağlayıcı domain katalitik NADP+ birimini ihtiva ederken, C-terminaldeki daha büyük $\beta+\alpha$ domain yapısal NADP+ birimini barındırır. G6P substrat bağlayıcı domain ise N ve C terminal uçları arasında lokalizedir. Yapısal NADP+ domaini allosterik olarak G6P bağlanmasını ve katalizini regüle eder(34). Ancak katalitik birimin diğer birimler üzerinde net bir regülasyonu kanıtlanamamıştır. G6PD enzimi ikinci bir NADP+ bağlanma bölgesine sahip bilinen tek enzimdir. Yapısal NADP+ domaini olarak bilinen bu bölgenin dimerizasyon noktasına yakın konumda olması araştırmacıları bu bölgenin önemini kavramaya teşvik etmiş ve yapılan çalışmalar enzim stabilizasyonu ve dimerizasyonunda önemli rolü olduğunu göstermiştir(35).

MAEQVALSRT	QVCGILREEL	FQGDAPHQSD	THIFIIMGAS	GDLAKKKIYP	TIWWLFRDGL	LPENTFIVGY	ARSRLTVADI
RKQSEPFKA	TPEEKLKLED	FFARNSYVAG	QYDDAASYQR	LNSHMNALHL	GSQANRLFYL	ALPPTVYEAV	TKNIHESCMS
QIGWNRIIVE	KPFGRDLQSS	DRLSNHISSL	FREDQIYRID	HYLGKEMVQN	LMVLRANRI	FGPIWNRDNI	ACVILTFKEP
FGTEGRGGYF	DEFGIIRDVM	QNHLQLMLCL	VAMEKPASTN	SDDVRDEKVK	VLKCISEVQA	NNVVLGQYVG	NPDGEGEATK
GYLDDPTVPR	GSTTATFAAV	VLYVENERWD	GVPFILRCGK	ALNERKAEVR	LQFHDVAGDI	FHQQCKRNEL	VIRVQPNEAV
YTKMMTKKPG	MFFNPEESEL	DLTYGNRYKN	VKLDPAYERL	ILDVFCGSQM	HFVRSDELRE	AWRIFTPLH	QIELEKPKPI
PYIYGSRGPT	EADELMKRVG	FQYEGTYKVV	NPHKL				

Şekil 8.G6PD aminoasit sekansı. Uniprot veri tabanından alınmıştır(31)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Olguların Seçilmesi ve Etik Kurul Onayı

Bu retrospektif çalışmamız 2023-90 başvuru numarası ile Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 06.21.2023 tarihli 2023-09/16 karar numarası ile klinik araştırmalar onayı almıştır. Araştırmaya katılan olgularla telefon ya da poliklinik şartlarında yüz-yüze görüşme gerçekleştirilmiş, olgulardan bilgilendirilmiş onam alınmıştır.

Bu çalışmamızda Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda son 5 yılda, G6PD geninde varyant tanımlanmış hastaları retrospektif olarak değerlendirdik. Olgular G6PD eksikliği ön tanısı ile kliniğimize refere edilmiş ve G6PD geninde dizileme ile varyant saptanmış ya da başka klinik nedenlerle geniş exom panelleri yapılmış tesadüfi olarak G6PD geninde varyant saptanmış hastalardır. Geniş ekzom panelleri olarak Tüm Ekzom Dizileme (WES) ve Klinik Ekzom Dizileme (CES) analizleri kullanılmıştır. G6PD ön tanısı ile refere edilen hastalardan ise G6PD tek geni yeni nesil dizileme (NGS) ile sekanslanmıştır. "Wet lab" aşamaları hizmet alımı şeklinde gerçekleştirilmiş, analizler ÇOMÜ SUAHA Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda yapılmıştır.

3.2.Olguların Çalışmaya Alınan Özellikleri ve Verilerin Eldesi

G6PD geninde varyant saptanan olguların kliniği ile uyumlu olabilecek yenidoğan sarılığı öyküsü sorgulandı. Yenidoğan sarılığının süresi ve fototerapi öyküsü sorgulandı. Enfeksiyon, bakla ve ilaçlardan sonra (klinik yaratması beklenen ilaçlar) halsizlik, yorgunluk, sarılık, hipotansiyon, karın ağrısı ya da sırt ağrısı, çamur ya da kola rengi idrar yapma öyküsü, bilinç bulanıklığı öyküsü sorgulandı. Ayrıntılı aile ağacı (pedigri) çizildi. Hastalara ait pedigrilerde sadece bu çalışmayla ilişkili kliniklere ait bilgiler verildi. Hastaların yakınlarına ait çalışmamızı ilgilendirmeyen diğer klinik bulgular pedigrilerde gösterilmedi. Hastane Bilgi Yönetim Sistemi – MiaMed yazılımı ile hastaların daha önceki hemogram ve biyokimya parametrelerine ulaşıldı. Hemoglobin, MCV, MCH, MCHC, laktat dehidrojenaz (LDH), bilirubin, alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST) parametreleri değerlendirildi.

Varyant saptanan 30 hasta “H” ile kaydedildi (H1, H2, H3...). Polimorfik varyant saptanan 29 hasta ise “P” ile kodlandı (P1, P2, P3). Olgular yaş, cinsiyet, atak etyolojisi (bakla, enfeksiyon, ilaç), göre istatistiksel olarak değerlendirildi. Hemolitik atak geçiren hastaların laboratuvar parametreleri tespit edilen varyantların türüne göre istatistiksel olarak değerlendirildi.

Verilerin istatistiksel analizinde JASP (Jeffreys's Amazing Statistics Program) 0.18.0.0 programı kullanıldı. Tanımlayıcı istatistiksel analizler ve ilişkili grafikler sunuldu. Çalışmada çıkarımsal istatistiksel analiz yöntemleri kullanılmadı.

3.3. Kullanılan Materyal ve Metodlar

3.3.1. Tüm Ekzom Dizileme ve Klinik Ekzom Dizileme

Bugün için insanlarda nükleer ve mitokondriyal DNA'da identifiye edilmiş 20.000 den fazla gen olduğu bilinmektedir. Bu genlerin exon, intron, 3'UTR, 5'UTR, promoter bölgeleri ve düzenleyici bölgeleri olduğu saptanmıştır. Tüm genler için geçerli olmasa da genel olarak genlerin exonlarının protein kodladığı ve intronlarla diğer bölgelerin düzenleyici rol oynadığı varsayılmaktadır. Mendelyan hastalıkların büyük bölümünün exonları içeren DNA segmentinde meydana gelen mutasyonlardan kaynaklandığının saptanması, eytolojisi bilinmeyen ancak mendeliyan bir genetik hastalık olduğu düşünülen olgularda tüm ekzomların sekanslanması fikrini doğurmuştur. Sekanslanan genetik içeriğin tüm DNA'nın %1-2 lik kısmını oluşturması birçok avantajı da beraberinde getirmiştir. Maliyetin düşük olması, analizin tüm genom sekanslamasına göre daha basit olması bunlardan bazılarıdır. Bu nedenlerle tüm ekzom dizileme (WES), tüm genom dizilemeye göre hem ülkemizde hem de dünyada daha yaygın kullanılan yeni nesil dizileme yöntemidir.

20.000 kimliklendirilmiş genin %60-65 kadar büyük bir kısmının henüz herhangi bir hastalıkla ilişkilendirilmemiş olması, analiz sırasında hala büyük zorluklara sebep olmaktadır. Bu nedenle aktif kodladığı proteini, proteinin vücuttaki fonksiyonlarını, transkriptlerini ve işlev kaybı/kazanımları mutasyonlarının hangi hastalıklara sebep olduğunu keşfettiğimiz genlerin sekanslanması yine maliyet ve analiz aşamasında büyük avantaj sağlamaktadır. Bu nedenle klinik ekzom sekanslama (CES) da hem ülkemizde hem de dünyada sık kullanılan yeni nesil dizileme metodlarından biri olarak güncelliğini korumaktadır.

3.3.2. Numunelerin toplanması ve DNA İzolasyonu

Tüm olgulara ait DNA kaynağı olarak periferik kan kullanıldı. Periferik kan numuneleri 4ml EDTA'lı tüplere alındı ve izolasyonlar bu tüplerden yapıldı. Qiagen EZ1&2 DNA Blood 200 µl Kit ile Qiagen EZ1 Advanced XL otomatik purifikasyon cihazında izolasyon yapıldı. Yapılan izolatların miktarı ve saflığı Thermo Fisher Scientific İnvitrogen Qubit 4 ve Implen Nanophotometer cihazlarında değerlendirildi. Numunemelere ait DNA izolatları en az 50 ng/µl yoğunluğunda ve A260/280 oranı 1,8-2,0 saflığında elde edildi. Bu oranlar yeni nesil dizileme analizleri için kabul gören DNA izolasyon değerleridir.

3.3.3. Tüm Ekzom ve Klinik Ekzom Dizileme Laboratuvar Aşamaları

Klinik ve tüm ekzom dizilemede sıralama analize uygun kütüphanelerin oluşturulması ve bunların ekzom sekanslama kitleri ile hibridizasyonu olarak ilerler. Kütüphane oluşturulurken fragmentasyon, açık uçların onarımı, A ucunun eklenmesi ve adaptör ligasyonu aşamaları uygulanır. Daha sonra kütüphane PCR ile çoğaltılır.

Fragmentasyon, açık uç onarımı ve A-ucu takılması: 50 ng saflaştırılmış DNA, nükleaz-free su ve Qiagen Buffer EB (10mM Tris ve 0.1mM EDTA içerir) pipetle karıştırıldı. Öncesinde %80'lik etanol hazırlandı. 10X FX Buffer ve 10µlQIAseq FX DNA Library Kitile (Qiagen) muamele edildi. Thermocycler cihazında 4 adımlı inkübasyona bırakıldı. Döngü sonrasında ortalama 400 baz çifti içeren ortalananmış kütüphane fragment boyutu ile sonuçlandı. Adaptör ligasyonu aşamasına beklemeden geçildi.

Adım	İnkübasyon Sıcaklığı	İnkübasyon Süresi
1	4°C	1 dakika
2	32°C	22 dakika
3	65°C	30 dakika
4	4°C	bekle

Tablo 3. Fragmentasyon, Uç onarımı ve A-ucu takılması döngüleri

Bu aşamadan önce ve diğer her adıma geçmeden önce purifikasyon aşamaları yapıldı. Agencourt AMPure XP boncukları (streptavidin bağlama sonrası için) 15°C-25°C de 30 dakika bekletildi. Daha önce hazırlanan etanolün buharlaşması sağlandı. Her aşamada işlem tekrarlandı ve süpernatant ayrıldı.

Adaptör ligasyonu: QIAseq UDI (Unique Dual-Index) ya da CDI (Combinatorial Dual-Index) Y-adaptörleri ile indexlendi. Çözülmüş adaptör plakası vorteksendi. Her adaptör kuyucuğundan 5µl alındı. Daha önceki aşamalarda elde edilen 50µl karışıma ilave edildi. 20µl DNA ligaz Buffer, 10µl DNA ligaz ve nükleaz-free su ile toplam 45µl ligasyon master mix hazırlandı. Önceki aşamadan elde edilen 55µl ile (toplam 100µl) pipetlenerek karıştırıldı. Reaksiyon 20°C de 15 dk inkübe edildi. Yeniden purifikasyon aşamaları tekrarlandı.

Kütüphanenin amplifikasyonu: Hibridizasyon ile yakalama (capture hybridization) aşamasından önce kütüphanenin çoğaltılması her zaman gereklidir. QIAseq HiFi PCR Mix ve Primer Mix kullanılmadan önce çözülüp vortekslendi. 23.5µl önceki döngüler ve purifikasyonlar sonucunda elde edilen kütüphane, 25µl HiFi Master Mix, 1.5µl Primer Mix ile oluşturulan 50µl volümündeki karışım Thermocycler cihazında 6 adımlı döngüye alındı. Bu aşamadan sonra yeniden

purifikasyon aşamaları tekrarlandı. Elde edilen kütüphanenin kalitesi QIAxcel kapiller elektroforez cihazı ile değerlendirildi.

Zaman	Sıcaklık	Döngü Sayısı
2 dakika	98°C	1
20 saniye	98°C	6
30 saniye	60°C	7
30 saniye	72°C	8
1 dakika	72°C	1
∞	4°C	bekle

Tablo 4. Kütüphane amplifikasyon döngüleri

Kütüphanenin hibridizasyonu: Diğer hastalara ait kütüphanelerle beraber oluşturulan havuzlara One-4-All Blocking Oligos (Qiagen) ve One-4-All Blocking Solution (Qiagen), Human Exome Probe Set (Qiagen) eklendi. Kabarcık kalmadığına emin olunana kadar pulse-vortex ve pulse-spin işlemleri gerçekleştirildi. Tüm havuz daha sonra SpeedVac sistemi 60°C ile buharlaştırıldı. Hibridizasyon yakalama işlemine başlamadan önce 65°C de bekletilen hızlı hibridizasyon probu hazır hale getirildi. 20µl hızlı hibridizasyon probu (Fast Hybridization Probe - Qiagen) kütüphane havuzuna ilave edildi ve pipetle karıştırıldı. 2 kere 5 saniye vortexleme ve 2 dakika inkübasyon işlemleri tekrar edildi. Daha sonra karışımdan 0.2µl PCR tüplerine ilave edildi. Daha önce oda ısısında bekletilen 30µl vapor-lock (buhar kilidi) PCR tüplerine ilave edildi. Daha önce 95°C'de bekletilen Thermocycler cihazının diğer adımları (tablo 4) uygulandı. Hibridize olan kütüphane streptavidin boncukları ile izolasyona hazır hale geldi.

Adım	İnkübasyon Sıcaklığı	İnkübasyon Süresi
1	95°C	1 dakika
2	95°C	5 dakika
3	60°C	30 dakika-4 saat
4	60°C	bekle

Tablo 5. Hibridizasyon yakalama döngüleri

Klinik ekzom sekanslama ile analizi yapılan hastalarımızda “capture hybridization” aşamasında Qiaseq Human Exome Kit yerine QIAseq xHYB Actionable Exome Panel kiti kullanıldı. Pre-capture ve post-capture aşamaları benzer şekilde devam etti.

Streptavidin boncukları ile hibridize hedeflerin yakalanması:

Streptavidin boncukları biyotin ile kuvvetli apolar bağ oluşturur. Daha önce hibridizasyon yakalama aşamasında biyotinlenen spesifik hedeflerin yakalanması prensibine dayanır. Non-spesifik hedefler ise bu aşamada purifikasyon ve yıkamalarla elimine edilir. Vortexlenerek hazır hale getirilen 100µl streptavidin bağlama boncukları 200µl bağlama sonrası hibridizasyon solüsyonuna eklendi ve pipetle karıştırıldı. Solüsyon manyetik stand üzerinde 1 dakika inkübe edildi. Süpernatant atıldı ve işlem 3 kere tekrarlandı. Daha önce hibridizasyonu tamamlanan havuz az önce hazırlanan solüsyona ilave edildi ve karıştırıldı. Tekrar manyetik stand üzerinde 1 dakika inkübasyon gerçekleştirildi ve vapor-lock dahil tüm süpernatant atıldı. 70°C 200µl wash buffer A (Qiagen) ile 5 dk inkübe edildi ve 1 dakika manyetik standda berraklaştırıldıktan sonra süpernatant tekrar atıldı. Aynı işlem 48°C 200µl wash buffer B (Qiagen) için tekrarlandı. 45µl RNAase-free su ilave edildi. Hemen post-capture amplifikasyon aşamasına geçildi.

Yakalama sonrası amplifikasyon: Manyetik boncuklara yakalanan hedeflerin Qiagen Post-Hybrid Capture PCR mix ile amplifikasyonu aşamasıdır. 22.5µl streptavidin ile yakalanmış hibridize hedefler, 25µl post-capture PCR Mix ve 2.5µl Primer Mix Illumina Library Amplification ile oluşturulan 50µl karışım yakalama sonrası PCR döngüsüne alınır.

Zaman	Sıcaklık	Döngü sayısı
2 dakika	98°C	1
20 saniye	98°C	7 döngü
30 saniye	60°C	
30 saniye	72°C	
1 dakika	72°C	1
∞	4°C	bekle

Tablo 6. Yakalama sonrası amplifikasyon döngüleri

PCR sonrası karışıma 75µl Agencourt AMPure XP boncukları ilave edildi ve pipetle karıştırıldı. 5 dakika inkübasyondan sonra %80 alkol ile 2 kere yıkama yapıldı. Manyetik stand üzerine tekrar eklendi ve işlem sonunda süpernatant atıldı. 32µl Buffer EB ve RNAase-free su ilave edildi, oda sıcaklığında 2 dk inkübe edildi. Bu işlemden sonra QIAxcel kapiller elektroforez cihazı ile kütüphanenin kalitesi ve boyut dağılımı kontrol edildi. Sekanslamaya hazır hale getirildi.

Sekanslama: Elde edilen kütüphaneler Illumina NextSeq 550 cihazına yüklendi. Dizilemeye ait veriler "FASTQ" formatında alındı. Bu aşamaya kadar olan tüm basamaklar tedarikçi firmanın direktifleri doğrultusunda gerçekleştirildi.

3.4.1 Tüm Ekzom ve Klinik Ekzom Dizileme Analiz Aşamaları

Sonuçlar Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı'nda internet bağlantısı olmayan lokal cihazlarda hasta gizliliği sağlanarak değerlendirildi. Hizmet alımı yapılan laboratuvarında aşırılmemesi sağlandı.

FASTQ formatında elde edilen veriler VCF (variant call format) ve BAM (binary alignment map) formatlarına dönüştürüldü. Qiagen Clinical Insight Interpret yazılımı ile analiz edildi ve 20x okuma derinliğine ulaşmamış bölgeler düşük okuma derinliği olarak değerlendirildi. Ekzon ve intron/ekzon sınır bölgeleri dışındaki varyantlar, sadece tek yön zincir okumasında gözlenen varyantlar filtrelendi. BAM dosyaları IGV programında değerlendirildi. Allel fraksiyonu %5'ten düşük saptanan varyantlar artefakt olarak değerlendirildi. Klinik analizlerde rutin filtrelenen polimorfik varantlar da değerlendirilmeye alındı. Saptanan varyantların patojenitesi QCI, ClinVar, HGMD, Franklin, Varsome veritabanları ve bazı in silico tahmin algoritmaları kullanılarak değerlendirildi.

3.4.2 G6PD Geni Sekans Analizi

G6PD geninde ekzon / ekzon-intron bileşkelerini çoğaltmak ve sekanslamak üzere bölgeleri kapsayan primerler kullanılarak NGS yöntemi ile sekanslama yapıldı. Sonuçlar NextGENe (Version 2.4.2.3 / SoftGenetics LLC-USA) ve Geneticist Assistant-SoftGenetics LLC-USA(Version 1.8.1.0) analiz programları kullanılarak analiz edildi.

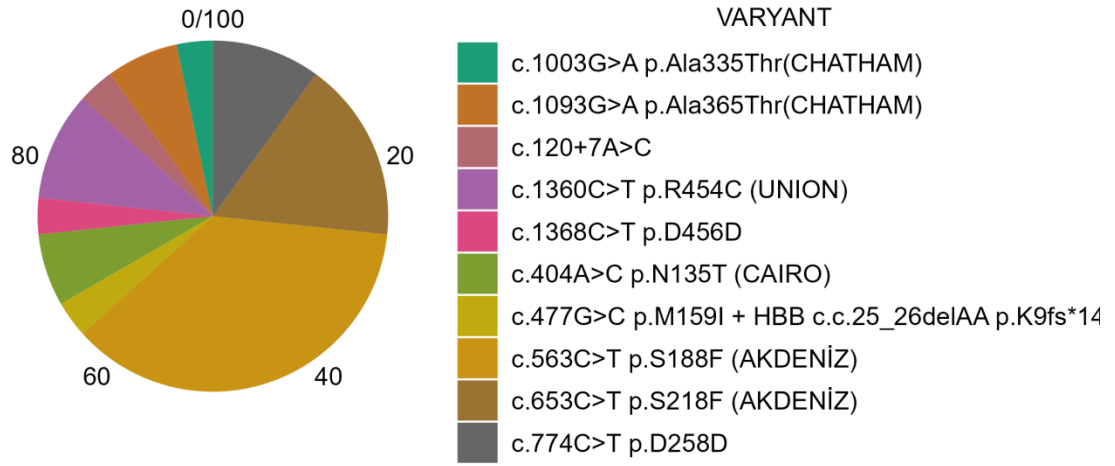
4.BULGULAR

Çalışmada toplam 59 hasta değerlendirildi. 30 hastada patojenik, muhtemel patojenik, klinik önemi belirsiz varyant, muhtemel benign veya benign varyant tespit edildi. 29 hastada ise literatürde daha önce tanımlanmış ve yaygın görülen polimorfizm tespit edildi. Polimorfizm harici varyant saptanan 30 olgunun %66.6'sı kadın, %33,3'ü ise erkektir. Yaş dağılımı 1 ile 68 arasında iken median değer 32.9 olarak tespit edildi.

YAŞ		YAŞ	
		ERKEK	KADIN
Valid	30	10	20
Mode	49.183 ^a	9.621	52.432
Median	33.000	18.500	40.500
Mean	32.933	25.100	36.850
Std. Deviation	21.414	19.232	21.823
Minimum	1.000	5.000	1.000
Maximum	68.000	50.000	68.000

Tablo 7. Non-polimorfik varyant saptanan hastaların cinsiyet bağımlı ve bağımsız yaş dağılımları mod-mean-median değerleri

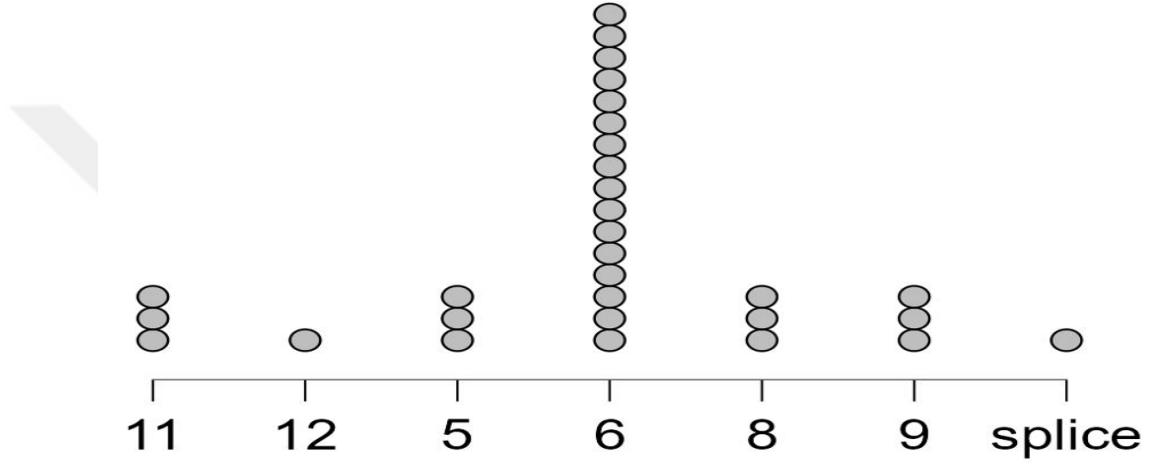
Literatür ile uyumlu olarak olgularımızda patojenik en sık “Akdeniz” varyantı saptandı. Bunun yanında “Chatham”, “Union”, “Cairo” ve “Gond” patojenik varyantları da olgularımızda saptandı.



Şekil 9. Polimorfizm harici saptanan varyantlar ve sıklıkları

Patojenik Akdeniz varyantı olan rs5030868 16 olguda saptanmıştır. 11 olguda c.563C>T p.S188F (NM_001360016.2), 5 olguda ise c.653C>T p.S218F (NM_000402.4) varyantları saptanmıştır. Bu iki varyant literatürde aynı varyant olarak bilinmektedir(82). Farklı RefSeq numaralarına sahip aynı “rs” numarası ile tanımlanmış varyantlardır. 3 olguda Chatham varyantı olarak bilinen rs5030869 saptanmıştır. Bunların 2’si c.1093G>A p.Ala365Thr (NM_000402.4), diğer olgu ise c.1003G>A p.Ala335Thr(NM_001360016.2) olarak raporlanmıştır. Akdeniz varyantında olduğu gibi bu iki varyant da literatürde aynı varyant olarak bilinmektedir(83). 2 olguda patojenik Cairo olarak bilinen rs782322505c.404A>C p.N135T (NM_001360016.2) varyantı saptandı. 3 olguda patojenik Union varyantı olarak bilinen rs398123546c.1360C>T p.R454C (NM_001360016.2) saptandı. 1 olguda literatürde çok az bildirilen “Gond” varyantı rs370918918c.477G>C p.M159I saptandı(84). Ancak aynı hastada HBB genine ait patojenik varyant da mevcuttu.

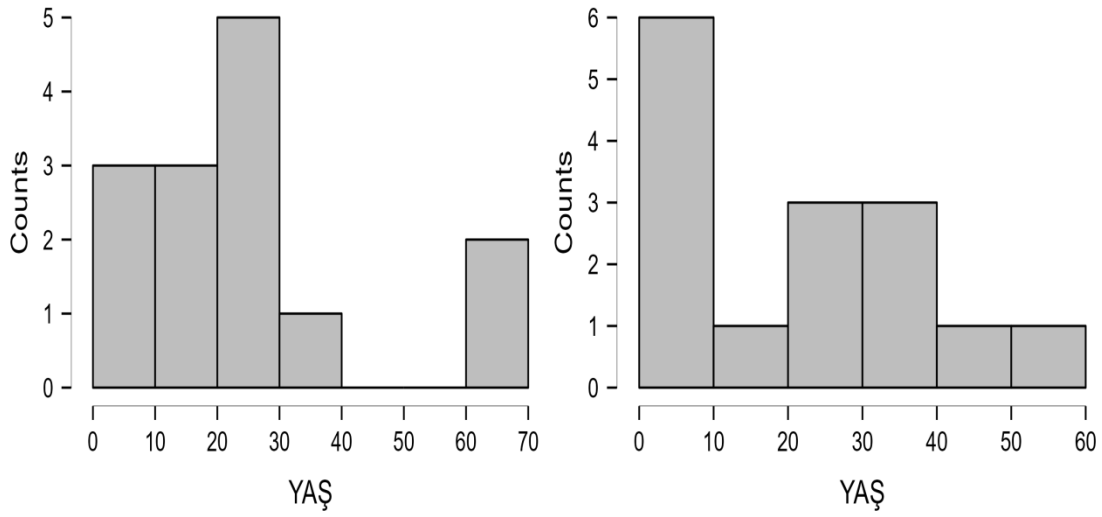
5 olguda ise protein değişim yapmayan Muhtemel Benign ve Benign varyantlara rastlandı. 3 olguda rs1252251475 c.774C>T p.D258D (NM_001360016.2), 1 olguda rs782170250 c.1368C>T p.D456D (NM_001360016.2) ve 1 olguda da splice site mutasyonu olan c.120+7A>C saptandı.



Şekil 10. Non-polimorfik varyantların exonları

Değerlendirmeye alınan hiçbir olguda “Afrika” varyantı saptanmadı. Ayrıca literatürde kronik non-sferositik hemolitik anemi ile uyumlu olacak varyant ya da daha önce belirtildiği gibi enzim dimerizasyonunu bozacak exon 10 bölgesinde mutasyon saptanmadı.

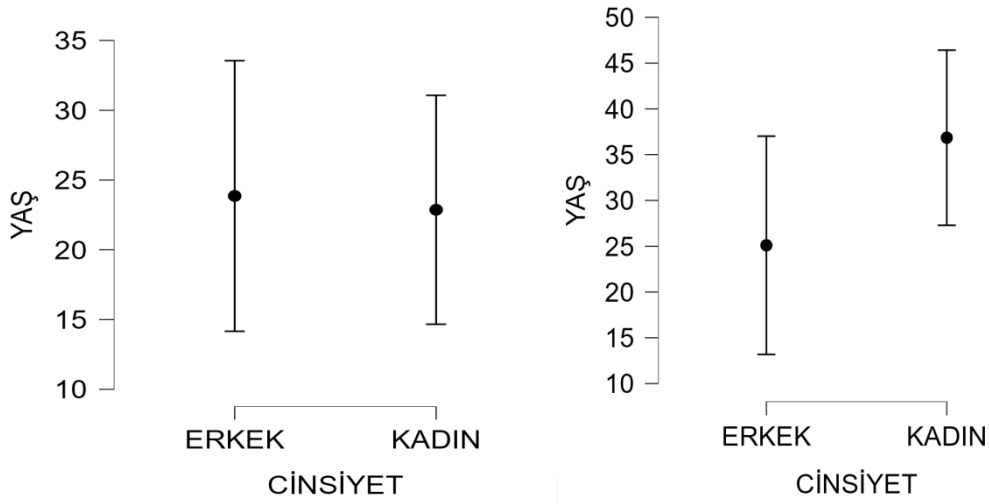
Polimorfik varyant olarak rs2230037c.1311T>C p.Y437Y (NM_001360016.2) varyantı 29 olguda saptandı. Olguların 15 i kadın (%51,72), 14’ü (%48,27) ise erkek olarak saptandı. Polimorfik olguların yaş aralığı 3 ile 62 arası olarak saptandı. Median değeri 21 olarak tespit edildi.



Şekil 11. Sırasıyla polimorfizm saptanan erkek ve kadın hastaların yaş aralıkları

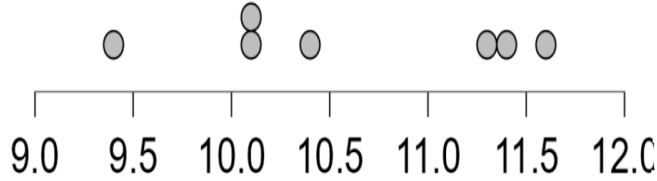
YAŞ		YAŞ	
		ERKEK	KADIN
Valid	29	14	15
Mode	10.515 ^a	15.275	8.742
Median	21.000	21.000	26.000
Mean	23.345	23.857	22.867
Std. Deviation	17.049	18.509	16.208
Minimum	3.000	4.000	3.000
Maximum	62.000	62.000	55.000

Tablo 8. Polimorfik varyant saptanan hastaların cinsiyet bağımlı ve bağımsız yaş dağılımları mod-mean-median değerleri

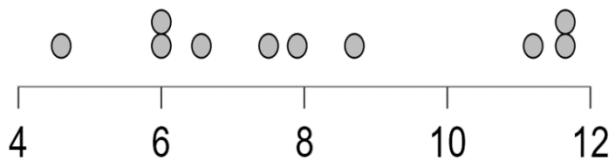


Şekil 12. Sırasıyla polimorfik ve non-polimorfik vakaların yaş aralıkları ve ortalama değerleri

29 polimorfizm saptanan olgunun 7'sinde anemi/sınırdan anemi saptanmıştır. Bunların 4'ünün sebebi enfeksiyon olarak değerlendirildi. Diğer 3 olguda gelişen aneminin sebebi bilinmemektedir. Polimorfizm saptanan olgulardaki anemiler, diğer 30 varyant saptanan olgumuza göre çok daha hafif olarak tespit edilmiştir.



Şekil 13. Polimorfizm saptanan anemi olgularının hemoglobin dağılımları



Şekil 14. Non-Polimorfizm saptanan hemolitik olgularının hemoglobin dağılımları

Non-polimorfizm saptadığımız hastaların 16'sında daha önce hemolitik atak olduğu saptanmıştır. Bunlardan 10'unun hemoliz dönemlerine ait hemogram ve biyokimya değerlerine ulaşılabildi. Diğer 6 olgunun hemolizi anamnez ile doğrulandı. 10 non-polimorfik varyantın hemolize ait dönemlerde hemoglobin değerleri 4,6 ile 11,7 g/dl arasında değişmektedir. En ağır hemolitik atak homozigot Chatham varyantı saptanan kız olguya aitti. Hemolizi olmayan olgulara ait hemoglobin değerleri 9,3 ile 15,00 g/dl arasında saptandı. Hemolizi olmayan olgulardan hemoglobini 9,3 saptanan kronik anemili olgu WHO Class I gibi görünse de aynı olguda HBB geni mutasyonu olduğu için kronik anemisi talasemi ile ilişkilendirildi. Diğer non-hemolitik olguların hemogramları normal saptandı. Olgulardan G6PD enzim seviyesi tespiti hastanemizde yapılamadığı için olguların WHO klasifikasyonu yapılamadı. Hemolitik olgulardan farklı olarak non-hemolitik olgularda MCV ve MCH parametrelerinde aşırı uç saptanan minimum değerler talasemi taşıyıcısı olguya aittir.

	HEMOGLOBİN		MCV		MCH		MCHC	
	+	-	+	-	+	-	+	-
Valid	10	12	10	12	10	12	10	12
Mode	6.812	12.529	79.960	89.085	26.129	30.157	33.372	33.080
Median	7.700	12.650	80.850	88.000	27.000	29.550	33.150	33.100
Mean	8.176	12.558	83.260	85.825	27.755	28.433	33.314	32.817
Std. Deviation	2.560	1.428	7.542	8.308	3.626	3.326	2.892	1.139
Minimum	4.600	9.300	73.900	62.600	23.300	19.000	29.900	30.300
Maximum	11.700	15.000	97.700	93.300	34.700	31.500	39.840	34.300

Tablo 9. Non-polimorfik mutasyon saptanan vakalardan hemolitik ve non hemolitik olguların hemogram parametreleri.

Polimorfizm saptanan 7 anemi olgusundan 4 tanesinde anemik dönem öncesinde enfeksiyon hikayesi mevcuttu. Bunlar hafif hemolitik atak olarak değerlendirildi. Hemolize ait hemoglobin değerleri 10,1 ile 11,6 g/dl arasında saptandı. Hemoliz olarak değerlendirilmeyen 9,4 hemoglobine ait olgunun anemisinin sebebi bilinmemektedir. Olgulara ait MCV, MCH ve MCHC değerlerinde non-polimorfik saptanan varyantlara göre farklılık saptanmadı. Aşırı uç değer tespit edilmedi.

	HEMOGLOBİN		MCV		MCH		MCHC	
	+	-	+	-	+	-	+	-
Valid	4	3	4	3	4	3	4	3
Mode	10.190	10.400	81.486	76.410	25.933	24.655	32.147	32.253
Median	10.700	10.400	80.600	76.900	26.000	24.900	32.350	32.400
Mean	10.775	10.400	79.250	79.833	26.050	26.833	32.875	33.467
Std. Deviation	0.789	1.000	4.658	5.968	2.002	3.790	1.455	2.113
Minimum	10.100	9.400	72.600	75.900	23.700	24.400	31.800	32.100
Maximum	11.600	11.400	83.200	86.700	28.500	31.200	35.000	35.900

Tablo 10. Polimorfik varyant saptanan anemi vakalardan hemolitik ve non-hemolitik olgulara hemogram parametreleri

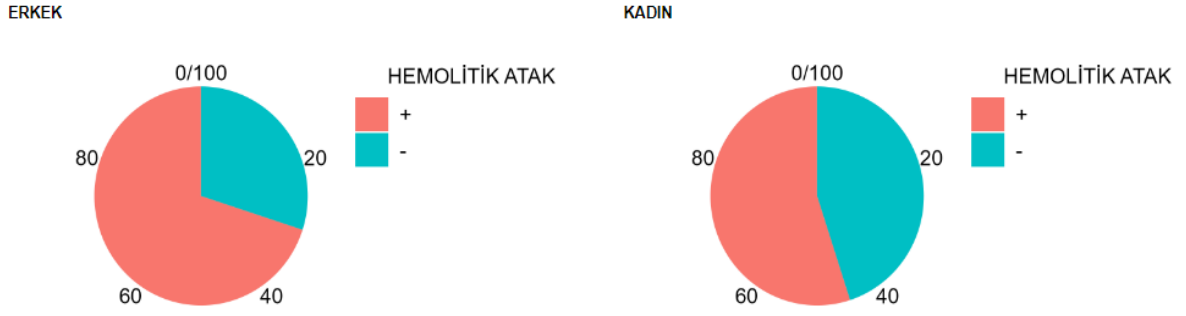
Etyolojilerin istatistiksel analizinde ise polimorfik vakalara ait hemolizlerin tamamının enfeksiyon tarafından tetiklendiği saptanmıştır. Diğer 3 olguda hemoliz kaynağı bilinmemektedir. Non-polimorfizm saptanan 30 olgunun 18'inde hemoliz gözlenmiştir. Bu olgulardan 11'inde etyoloji bakla iken 7 olguda enfeksiyon sebebiyle hemoliz gözlenmiştir. Çalışmaya alınan polimorfik ya da non-polimorfik toplam 59 olgunun hiçbirinde ilaç nedeni hemoliz gözlenmemiştir.

Exon ve atak ilişkisi incelendiğinde non-polimorfik varyantlarda 6.exonda Akdeniz varyantında sık atak gözlenmiştir. 16 Akdeniz varyantının 13'ünde hemoliz gözlemlendi. Bununla birlikte exon 9 da saptanan 3 Chatham varyantının 2'sinde hemoliz gözlenmiştir. Exon 8 ve exon 12 de saptanan protein değişimine sebep olmayan varyantlara sahip olgularımızda hemoliz ve anemi gözlenmedi. Exon 11 içinde saptanan 3 Union varyantının ise 2'sinde hemoliz gözlenirken 1 olguda hemoliz gözlenmedi. Exon 5 içinde saptadığımız Cairo varyantlarında hemoliz gözlenmezken Gond varyantı için değerlendirmelerimiz suboptimaldir. Splice site içerisindeki varyanta sahip olguda ise diğer varyantlara göre çok daha hafif bir hemolitik dönem saptanmıştır.



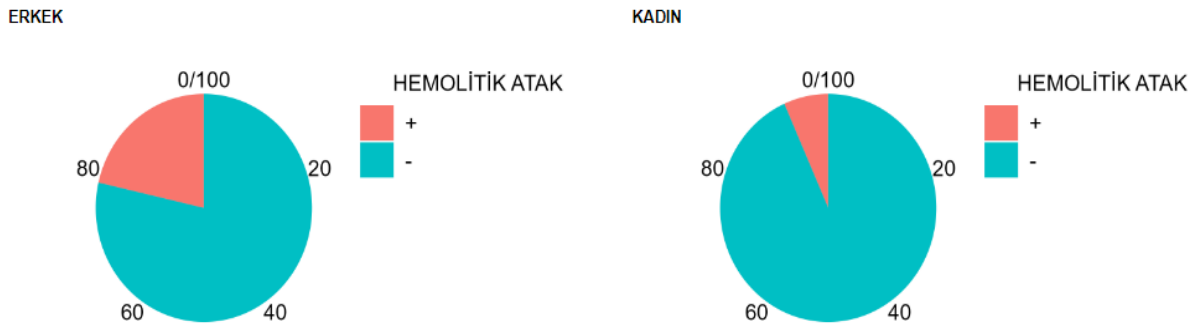
Şekil 15. Hemoliz gelişen ve gelişmeyen olgulardaki mutsasyonların exonları

Hemolitik atak öyküsü olan olguların cinsiyetlerinin istatistiksel analizinde ise 18 hemolitik olgunun 7'sinin erkek, 11'inin kadın olduğu saptanmıştır. Non-hemolitik olguların ise 3'ünü erkek, 8'inin kadın olduğu gözlenmiştir. Yani non-polimorfik varyant saptanan 10 erkek olgunun 7'sinde hemoliz gözlenmiş(%70), 20 kadın olgunun 11'inde hemoliz saptanmıştır(%55).



Şekil 16. Non-polimorfik varyant saptanan olguların cinsiyet-hemolitik atak ilişkisi

Polimorfik varyant saptanan 7 anemik olgunun 4 ünde hemoliz saptanmış, bunların 3'ü erkek 1'i kadın olarak tespit edilmiştir. 14 polimorfik varyant saptanan erkek olgunun 3'ünde(%21), 15 kadın olgunun 1'inde (%6) varyant saptanmış, erkeklerde polimorfizm durumunda daha sık hemoliz gözlenmiştir.



Şekil 17. Polimorfik varyant saptanan olguların cinsiyet-hemolitik atak ilişkisi

Non-polimorfik varyant saptanan olguların alanin-aminotransferaz (ALT), aspartat-aminotransferaz (AST), total bilirubin ve laktat dehidrogenaz (LDH) parametreleri aşağıdaki tabloda özetlenmiştir. Olgularımızın çoğundan indirekt bilirubin parametreleri çalışılmadığı için total bilirubin parametreleri çalışmamıza dahil edildi.

	ALT		AST		LDH		T. BİLİRUBİN	
	+	-	+	-	+	-	+	-
Valid	13	7	13	7	11	2	10	3
Mode	14.807	13.628	25.319	20.956	234.305	190.924	0.883	0.355
Median	19.000	14.200	25.000	25.000	292.000	178.500	1.690	0.360
Mean	33.392	18.914	35.062	28.300	497.455	178.500	2.724	0.420
Std. Deviation	34.946	10.812	34.089	15.360	604.098	17.678	3.100	0.113
Minimum	6.000	11.400	11.400	12.500	19.000	166.000	0.130	0.350
Maximum	133.000	42.200	142.000	56.900	2157.000	191.000	10.300	0.550

Tablo 11. Non-polimorfik olguların biyokimya parametreleri

Polimorfik anemik olgularda biyokimya parametreleri çok kısıtlı olduğu için hastalar hemoliz gelişen/gelişmeyen olarak ayrıldı

	ALT	AST	LDH	TOTAL BİLİRUBİN
Valid	6	6	2	2
Mode	9.799 ^a	23.485 ^a	292.887 ^a	0.380 ^a
Median	10.950	25.300	274.500	0.340
Mean	19.600	27.317	274.500	0.340
Std. Deviation	22.608	15.665	26.163	0.057
Minimum	4.700	10.000	256.000	0.300
Maximum	65.000	55.000	293.000	0.380

Tablo 12. Polimorfik olguların biyokimya parametreleri

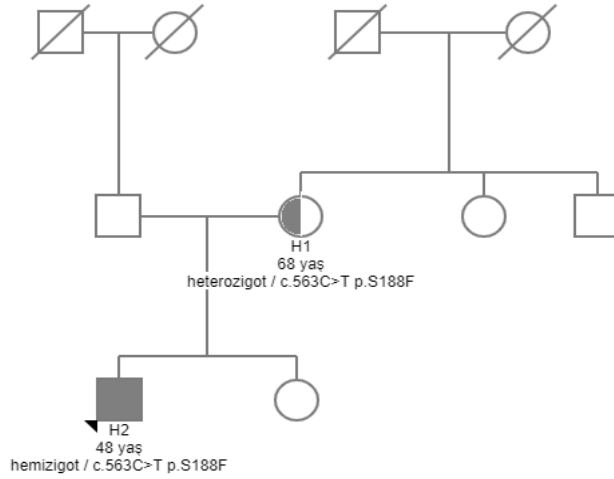
Son olarak yenidoğan sarılığı ve varyant ilişkisi değerlendirilebildiği kadar incelendiğinde Akdeniz varyantı saptanan olguların ikisinde yenidoğan sarılığı öyküsü olduğu öğrenildi. Bu oran tüm Akdeniz varyantlarının %12,5 i olarak hesaplanmıştır. Bu iki varyantta saptanan yenidoğan sarılığı diğer olgulara göre daha ağır klinik bulgular ile seyretmiştir. Yenidoğan sarılığı olgularından en uzun süren ve kan transfüzyonu ihtiyacı olan olgu Akdeniz varyantına sahiptir.

Bunun yanında 3 Chatham varyantının 2'sinde (%66,6) yenidoğan sarılığı öyküsü mevcuttur. Olgulardan 1 haftayı geçmeyen sarılık gözlenirken fototerapi ihtiyacı olmadığı öğrenildi. 3 Union varyantına sahip olgulardan yalnızca 1 tanesinde yenidoğan sarılığı gözlenmiştir. Bu olguda fototerapi ihtiyacı olurken kan transfüzyonuna ihtiyaç olmadan kliniğin gerilediği öğrenildi. Ekzon 8'de saptanan c.774C>T p.D258D varyantına sahip 3 olgunun 2'sinde yenidoğan sarılığı öyküsü alınmıştır. Bu sarılıklar 2 ve 3 gün olarak seyretmiş ve fototerapi ihtiyacı olmamıştır.

Bunun yanında polimorfizm olarak değerlendirilen olgulardan hemoliz olduğu düşünülen vakaların yalnızca 1 tanesinde 3 gün süren yenidoğan sarılığı öyküsü alındı. Bu olguda sarılığın ilerlemesi nedeni ile fototerapi ihtiyacı olduğu öğrenildi. Transfüzyon olan sarılık olgusu olmadığı öğrenildi. Diğer klinik bulgular gösterdiği düşünülen polimorfizm olgularında yenidoğan sarılığı öyküsü alınamadı. Klinik bulguları olmayan polimorfizm olgularından yenidoğan sarılığı öyküsü sorgulanamadı.

4.1. Non-polimorfik Olguların Klinik ve Laboratuvar bulguları

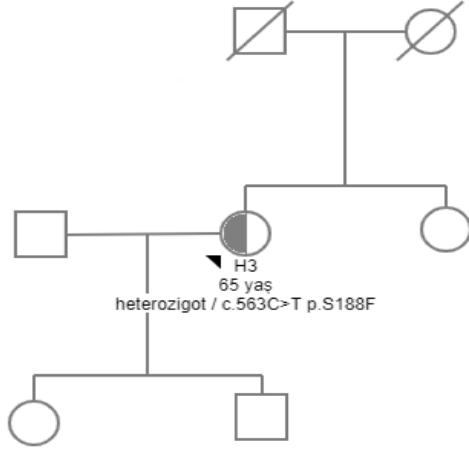
H1-H2: Anne ve oğlu favizm kliniği ile kliniğimize başvurdu. Erkek hastada 4 yaşında bakla yeme öyküsü sonrası kola rengi idrar ve anemi gelişmiş. Annesinde de 68 yaşında bakla yeme öyküsü sonrası anemi, halsizlik, sırt ağrısı ve sarılık şikayeti olmuş. Daha önceki bakla tüketimi öykülerinde benzer klinik gelişmemiş. Erkek hastada hemizigot, annesinde ise heterozigot c.563C>T (p.S188F) (NM_001360016.2) mutasyonu saptandı.



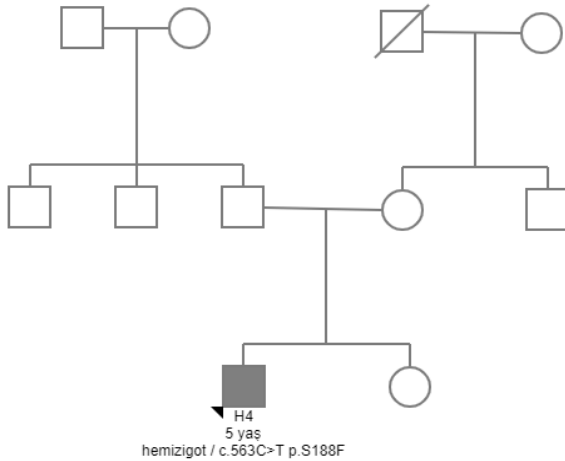
Şekil 18. H1-H2 olgularına ait pedigrisi

H3: 65 yaşında kadın hastabakla tüketimi sonrası hemoliz atağı nedeni ile refere edildi. Atak sırasında hemoglobün 6g/dl'nin altına inince transfüzyon ihtiyacı oldu. Transferazlar, LDH, bilirubin değerleri hemolitik atak ile uyumluydu. Klinik stabilizasyondan sonra yapılan sekans analizinde heterozigot c.563C>T (p.S188F) (NM_001360016.2) varyantı saptandı.

Şekil 19. H3 olgusuna ait pedigri

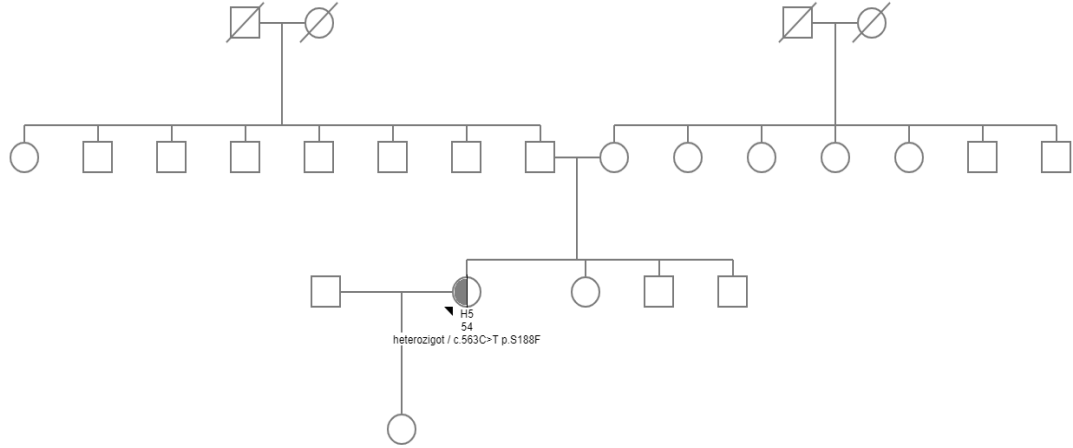


H4: Konjenital diyafragma hernisi, prematür doğum, epilepsi kliniği olan hasta sepsis nedeni ile yoğun bakıma yatırınca hemolitik atak gelişmiş. Hemoglobini 6 g/dl ye kadar düşünce transfüzyon ihtiyacı olmuş. Kliniğimizde diğer klinik bulguları nedeni ile yapılan tüm ekzom sekanslama analizinde tesadüfi olarak hemizigot c.563C>T (p.S188F) (NM_001360016.2) varyantı saptandı. Sepsis nedenli hemolitik atağın nedeni olarak değerlendirildi. Anamnezinde 1 hafta süren yenidoğan sarılığı ve fototerapi öyküsü mevcut.



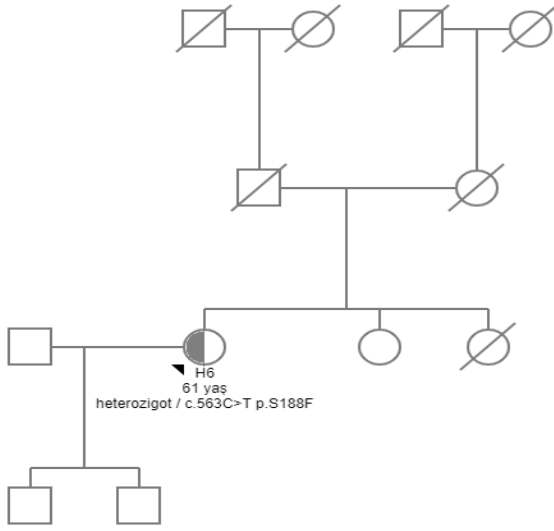
Şekil 20. H4 olgusuna ait pedigri

H5: Meme kanseri ve ailesinde multipl kanser öyküsü olan hastanın ayrıca kronik artralji, yorgunluk ve tremor şikayetleri mevcut. Mevcut klinikler nedeni ile kliniğimizde yapılan klinik ekzom sekanslama analizinde tesadüfi olarak heterozigot c.563C>T (p.S188F) (NM_001360016.2) varyantı saptandı. Hastanın özgeçmişinde daha önce bakla enfeksiyon ya da ilaçlar ile tetiklenen hemolitik atağı olmadığı öğrenildi. Rutin hemogram ve biyokimya tetkiklerinde anemiye ya da hemolizi düşündürecek bulgu saptanmadı. Aile öyküsü sorgulandığında ailede de hemolizi düşündürecek anamnez mevcut değildi.



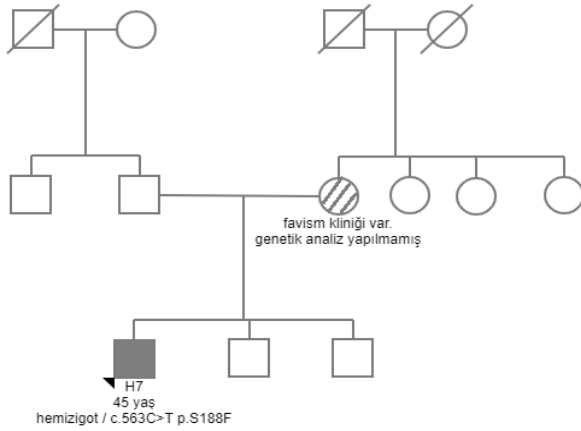
Şekil 21. H5 olgusuna ait pedigrisi

H6: Kronik inflamatuvar demiyelinizan nöropati ön tanısı ile refere edilen hastanın diğer nöropatilerle ayırıcı tanısının yapılması, tanı ve tedaviyi yönlendirici olması amacı ile kliniğimizde yapılan klinik ekzom sekanslama analizinde tesadüfi olarak heterozigot c.563C>T (p.S188F) (NM_001360016.2) varyantı saptandı. Hastanın özgeçmişinde kolesistit/kolanjit öyküsü mevcut. Geçmiş hemogram ve biyokimya analizlerinde kolesistit sırasında hemolitik atak bulguları saptandı. Hemolizin nedeni olarak enfeksiyon kaynaklı G6PD eksikliğine bağlı oksidatif stres düşünüldü.



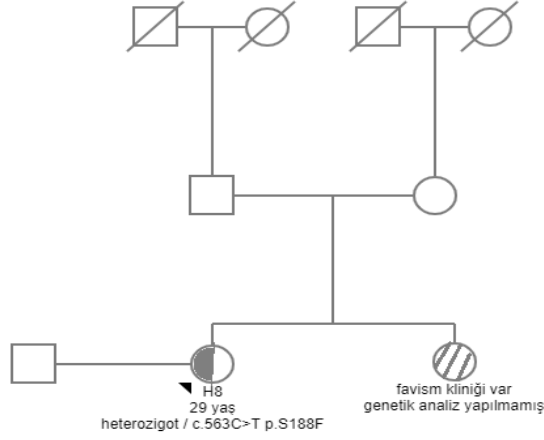
Şekil 22. H6 olgusuna ait pedigrisi

H7: Küçükken bakla yeme öyküsü sonrası anemi, karın ve sırt ağrısı, kola rengi idrar, sarılık bulguları gelişmiş. Kronik olarak hipertansiyon ve dilate kardiyomyopati kliniği mevcut. Analiz sırasında bakılan hemogram ve biyokimya parametreleri normaldi. Hemolize ait hemograma ulaşamadı. G6PD geni sekans analizinde hemizigot c.563C>T (p.S188F) (NM_001360016.2) varyantı saptandı. Annesinde de benzer klinik varmış ancak genetik analiz yapılmamış.



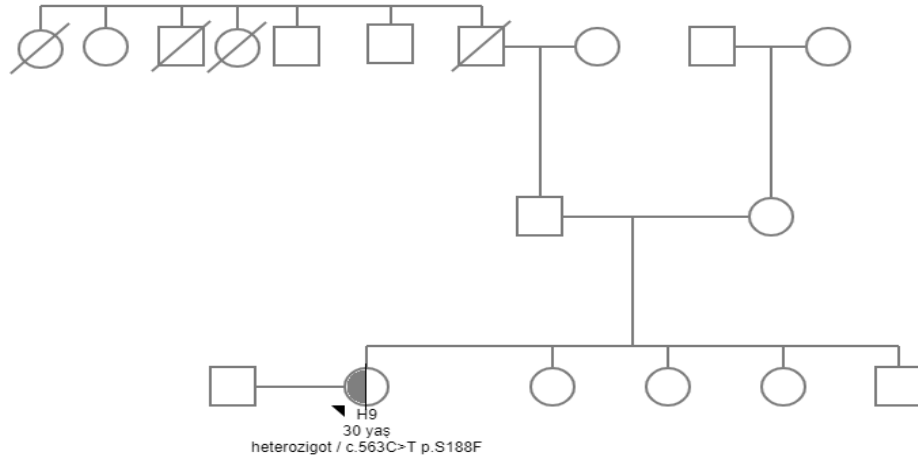
Şekil 23. H7 olgusuna ait pedigrisi

H8: Çocukken bakla yeme öyküsü sonrası rahatsızlanan hastaya favizm klinik tanısı konulmuş. Anemi, halsizlik, yorgunluk, baş dönmesi, bulantı kusma şikayeti olmuş. Anamnezinde yaklaşık 40 gün süren yenidoğan sarılığı, fototerapi ve kan transfüzyonu öyküsü olduğu öğrenildi. Kliniğimizde yapılan G6PD geni sekans analizinde heterozigot c.563C>T (p.S188F) (NM_001360016.2) mutasyonu saptandı. Hastanın kız kardeşinde de aynı klinik bulgular mevcut ancak genetik analiz yapılmamış.



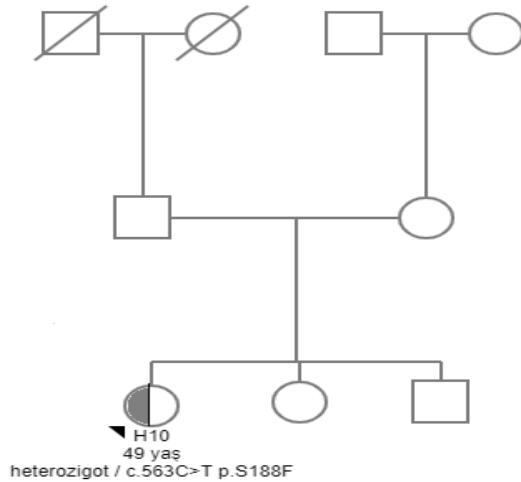
Şekil 24. H8 olgusuna ait pedigr

H9: Ailesinde multipl kanser öyküsü, kendisinde erken yaşta başlayan endometrial hiperplazi, kronik yorgunluk ve birkaç defa senkop atakları mevcut. Kliniğimizde yapılan klinik ekzom sekanslama analizinde tesadüfi heterozigot c.563C>T (p.S188F) (NM_001360016.2) varyantı saptandı. Hastanın özgeçmişini sorgulandığında daha önce piyelonefrit nedeni ile hastaneye başvurduğu ve hemolitik atak geçirdiği saptandı. Enfeksiyon kaynaklı hemoliz olduğu düşünüldü. Hemoglobin değeri 8 g/dl ye düşen hastanın enfeksiyonu kontrol altına alındıktan birkaç gün sonra normale dönmeye başladı. Ailede hemoliz benzeri klinik bulguları olan kimse olmadığı öğrenildi.



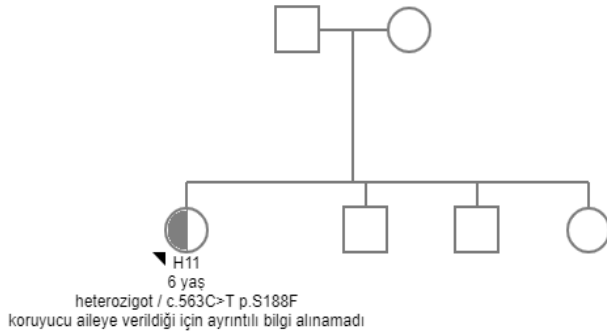
Şekil 25. H9 olgusuna ait pedigrisi

H10: Aritmi, hipertrofik kardiyomyopati ve 2.derece akrabalarında da ani kardiyak ölüm öyküsü olan hastadan yapılan tüm ekzom sekans analizinde Klinikten bağımsız tesadüfi c.563C>T (p.S188F) (NM_001360016.2) heterozigot varyantı saptandı. Anamnez derinleştirildiğinde hemolitik atağı ya da kronik anemiye düşündürecek herhangi bir bulgu saptanmadı. Aile öyküsünde favizm benzeri klinik bulguları olan kimse olmadığı öğrenildi. Rutin hemogram ve biyokimya tetkiklerinde anormallik saptanmadı.



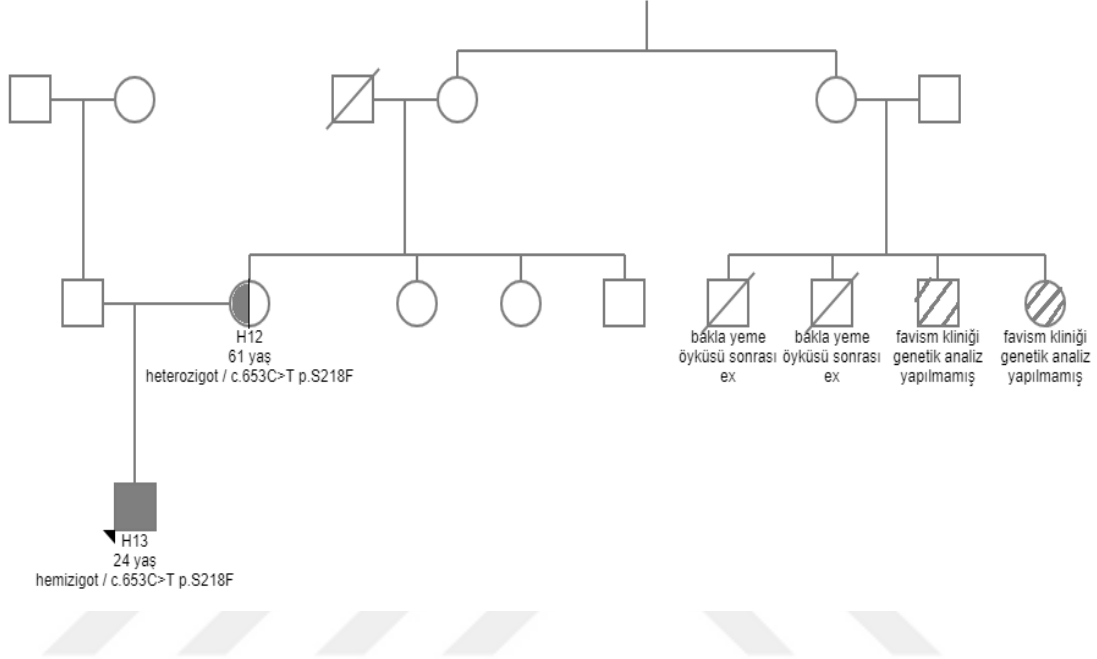
Şekil 26. H10 olgusuna ait pedigrisi

H11: Kötü obstetrik öykü ile doğan hastanın büyüme gelişme geriliği var. Mental retardasyon tanısı olan hastaya kliniğimizde yapılan tüm ekzom sekans analizinde heterozigot c.563C>T (p.S188F) (NM_001360016.2) varyantı saptandı. Hastanın daha önce hemolitik atak öyküsü yok. Aile öyküsünde de benzer şekilde enfeksiyon ilaç ya da bakla ile tetiklenen olgu olmadığı öğrenildi. 2. ve 3. derece akrabaları ile ilgili yeterli veri toplanamadı. Hemogram ve biyokimya analizleri normal olarak saptandı.



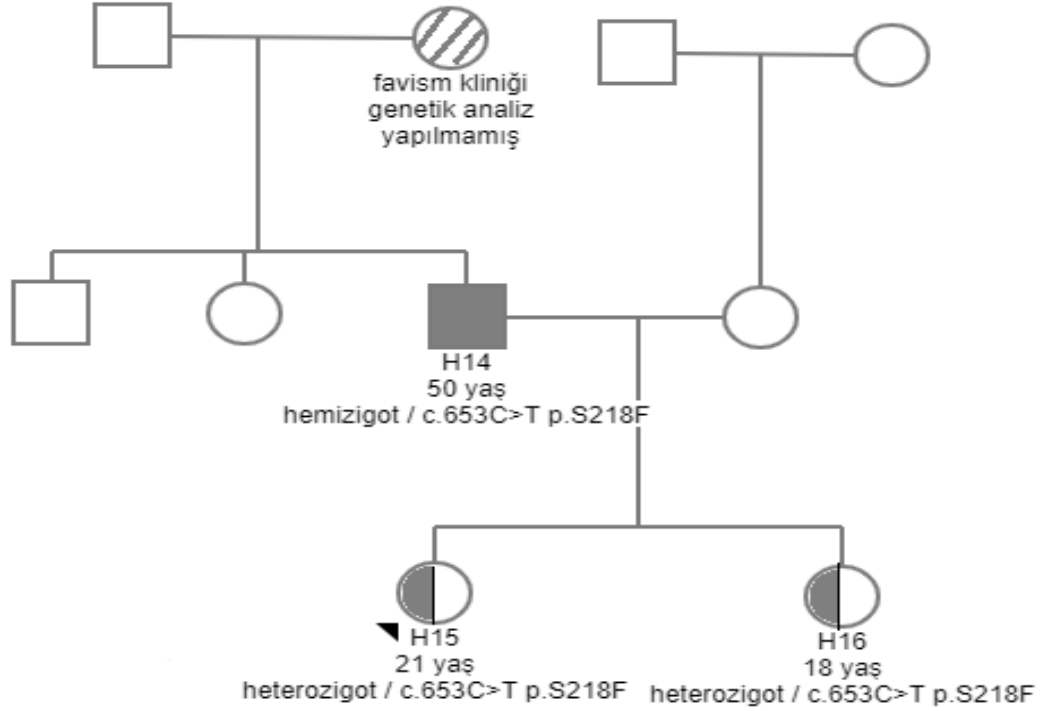
Şekil 27. H11 olgusuna ait pedigr

H12-H13: Hastada çocukluğunda bakla yeme öyküsü sonrası bulantı kusma, baş dönmesi, çamur rengi idrar yapma ve halsizlik şikayeti olmuş. Klinik olarak favizm tanısı konulmuş. Çocuğunda da benzer şikayetler olmuş. Hastalar daha önce bakla ile tetiklenen hemolitik atak geçirmişler ancak dış merkezde hemolize ait tahlilleri mevcut. Analiz sırasında aktif şikayet yoktu. Non-hemolitik dönemde incelenen hemogram ve biyokimya parametreleri normal olarak saptandı. H12 olgusunun kuzenlerinde de favizm öyküsü varmış. 2 kuzeni çocukken bakla tüketimi sonrası hastaneye kaldırılmış ve kan transfüzyonu yapılmış. 1 sene sonra diğer kardeşinde de aynı sebepten yoğun bakım yatışı olmuş. Hastaların ex olma nedenleri tam olarak bilinmiyor ancak hemoliz olduğu ve transfüzyon ihtiyacı olduğu biliniyor. Anne ve oğluna kliniğimizde yapılan G6PD geni sekans analizinde c.653C>T p.S218F (NM_000402.4) varyantların annede heterozigot oğlunda ise hemizigot olarak saptandı.



Şekil 28. H12 ve H13 olgularına ait pedigrisi

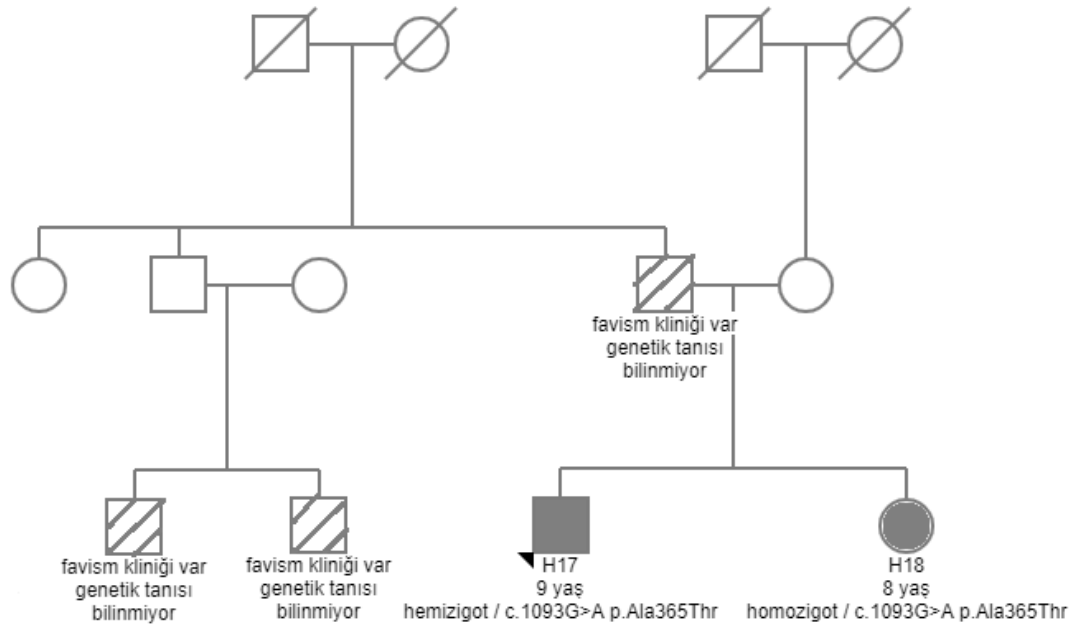
H14-H15-H16: H14 olgusunda çocukken bakla tüketimi sonrası anemi, sarılık, koyu idrar ve hastaneye yatış öyküsü olmuş. Klinik ağırlaşınca yoğun bakım yatışı ve kan transfüzyonu ile klinik tanı almış. H15 olgusunda bakla tüketimi sonrası ağır klinik bulgular H16 olgusunda daha hafif bulgular eşlik etmiş. G6PD sekans analizinde babada hemizigot, kızlarında ise heterozigot c.653C>T p.S218F (NM_000402.4) varyantı saptandı. Anamnez derinleştirildiğinde H14 olgusunun annesinde de favizm kliniği olduğu ancak daha önce hiç hastaneye yatışı ya da transfüzyonu gerektirecek kadar şiddetli hemolitik atağı olmadığı öğrenildi.



Şekil 29. H14-H15-H16 olgularına ait pedigrisi

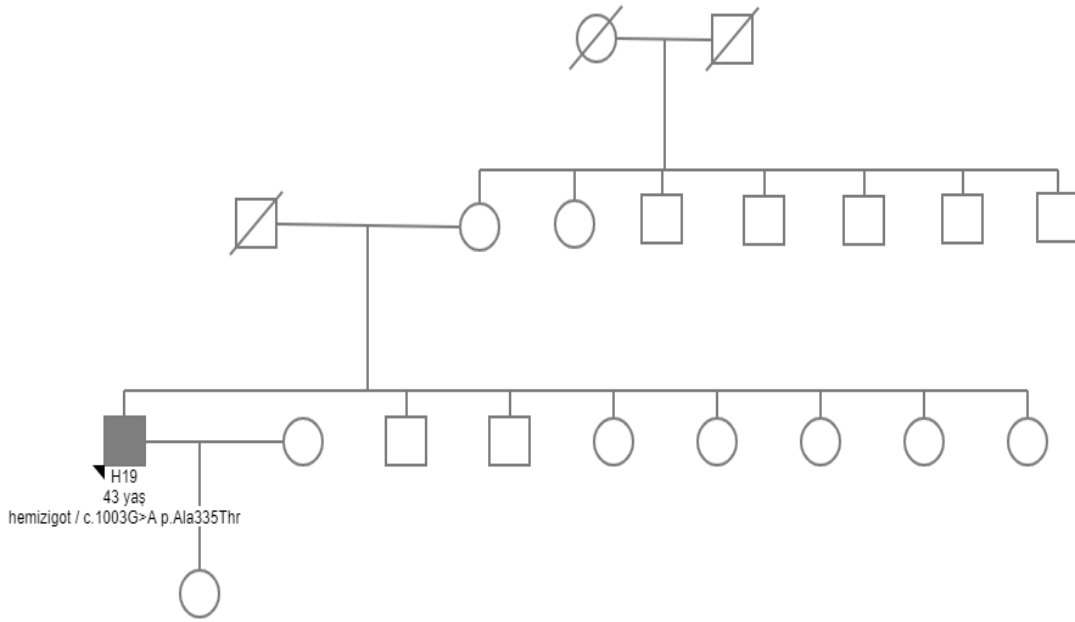
H17-H18: Favizm kliniği ile kliniğimize refere edilen kardeşlerde şiddetli hemoliz mevcuttu. Kardeşler aynı öğünde tükettikleri bakla sonrası anemi, halsizlik, yorgunluk, bulantı kusma, bilinç değişiklikleri ve çamur rengi idrar şikayeti ile acile başvurmuşlar. Yapılan hemogram ve biyokimya analizlerinde erkek kardeşte 8 g/dl nin altında, kız kardeşinde ise 5 g/dl nin altında hemoglobin saptanmış. Kız kardeşinde transfüzyon ihtiyacı olmuş. Hastaların anamnezlerinde yenidoğan döneminde yaklaşık 4-5 gün süren yenidoğan sarılığı ve fototerapi öyküsü mevcut. G6PD geni sekans analizi çalışıldı. Erkekte hemizigot, kızda ise homozigot c.1093G>A p.Ala365Thr (NM_000402.4) varyantı saptandı.

H16 ya kadar saptanan Akdeniz varyantlarının aksine hastalarda Chatham varyantı saptanmıştır. Çalışmaya alınan olgulardan homozigot saptanan tek olgu H18'dir. Çalışmaya alınan tüm olguların doğum yerleri Türkiye iken H17 ve H18 olgularının doğum yerinin Suriye/Halep olduğu öğrenildi. Anamnez derinleştirildiğinde hastaların babasında da aynı klinik olduğu ve baba tarafından kuzenlerinde de daha önce favizme bağlı hemoliz olduğu öğrenildi.



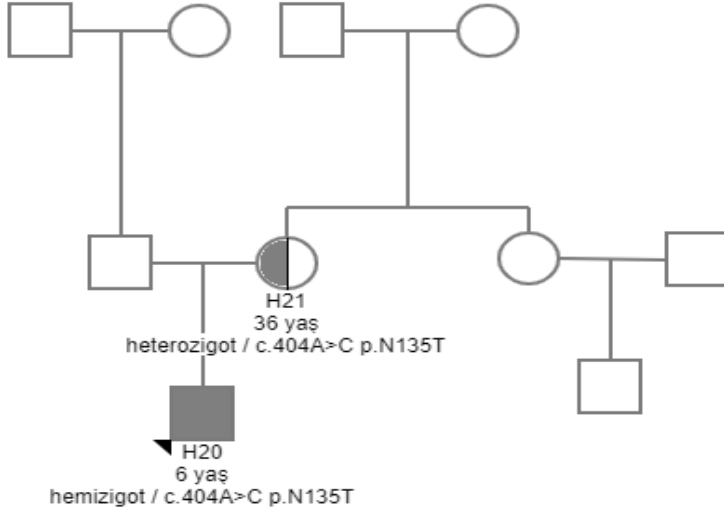
Şekil 30. H17-H18 olgularına ait pedigrisi

H19: Miyopati, kas güçsüzlüğü, yürüme ve merdiven çıkmada zorluk şikayeti olan hastadan miyopatiler ön tanısı ile klinik ekzom analizi çalışılmış ve Chatham varyantı olarak bilinen c.1003G>A p.Ala335Thr (NM_001360016.2) hemizigot varyantı saptanmıştır. Hastada daha önce hemoliz kliniği olmamış. Favizme benzer aile öyküsü yok.



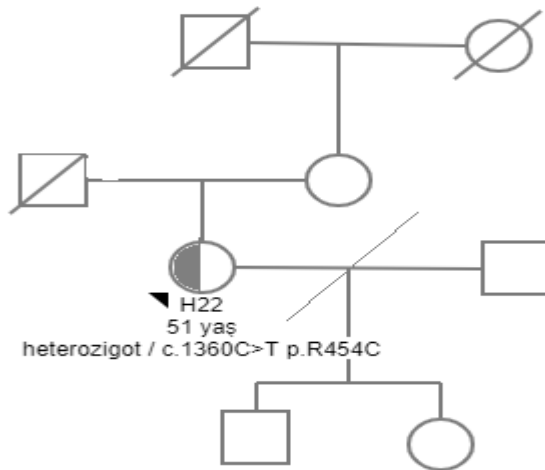
Şekil 31. H19 olgusuna ait pedigr

H20-H21: Otizm, davranış bozukluğu, konuşma geriliği ve sosyal uyum sorunları olan hastaya kliniğimizde yapılan klinik ekzom sekans analizinde klinikten bağımsız tesadüfi hemizigot c.404A>C p.N135T (NM_001360016.2) varyantı saptandı. Bu varyant Akdeniz ve Chatham varyantlarına göre daha nadir görülen Cairo varyantı olarak bilinmektedir. Hastanın klinik ekzom sekans analizi endikasyonunu oluşturan kliniği ile ilgili varyantların patojenitesinin yorumlanabilmesi için anne ve babasına yapılan segregasyon analizlerinin sonucunda annede de aynı varyant heterozigot olarak saptandı. Hastanın G6PD eksikliği ile ilgili şikayeti yok. Daha önce hemolitik atak geçirmemiş. Bakla yeme öyküsü kendisinde ve annesinde herhangi klinik bulgu gelişmemiş. Enfeksiyon ile tetiklenen anemisi olmamış. Çalışmaya alınan diğer hiçbir olguda Cairo varyantı saptanmadı. Akrabalarında da favizm benzeri klinik yok.



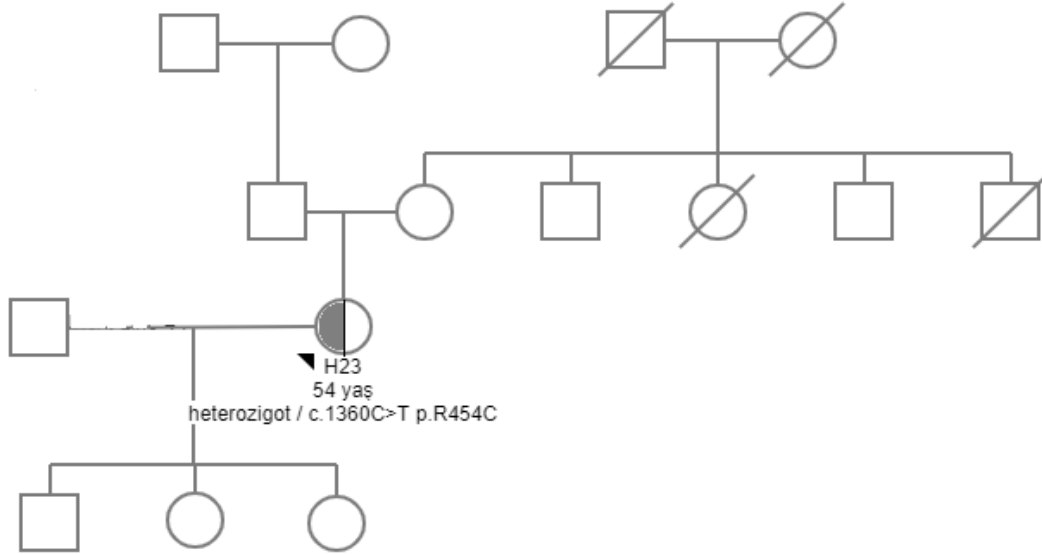
Şekil 32. H20 ve H21 olgularına ait pedigr

H22: Meme kanseri ve 10 sene önce başlayan tremor şikayeti olan hasta kliniğimize refere edildi. Hastanın ailesinde de multipl kanser öyküsü olan hastalar mevcut. Kliniğimizde yapılan tüm ekzom sekans analizinde heterozigot c.1360C>T p.R454C (NM_001360016.2) varyantı saptandı. Hastanın daha önce hemolitik atak öyküsü yok. Favizm tanısını düşündürecek klinik bulguları yok. Hastanın geçmiş hemogram ve biyokimya parametreleri normal olarak saptandı.



Şekil 33. H22 olgusuna ait pedigr

H23: Kardeşlerinde erken yaşta tanı konulmuş kanser vakaları olan ve kendisinde de prematür ovaryan yetmezlik olan hastaya kliniğimizde yapılan klinik ekzom dizi analizinde c.1360C>T p.R454C (NM_001360016.2) heterozigot varyantı saptandı. Hastanın anamnezi derinleştirildiğinde 10 sene önce acil servise karın ağrısı, sırt ağrısı ve anemi nedeni ile başvurduğu öğrenildi. Gastroenterit tanısı alan hastanın hemoglobini 8g/dl nin altına düşmüş. Diğer hemogram ve biyokimya parametreleri hemoliz ile uyumlu olarak saptandı. Hastanın transfüzyon ihtiyacı olmadan hemolizinin düzeldiği öğrenildi. Hastanın aile öyküsünde gıda, enfeksiyon ya da ilaç ile benzer klinik bulguları gelişen vaka olmadığı öğrenildi.

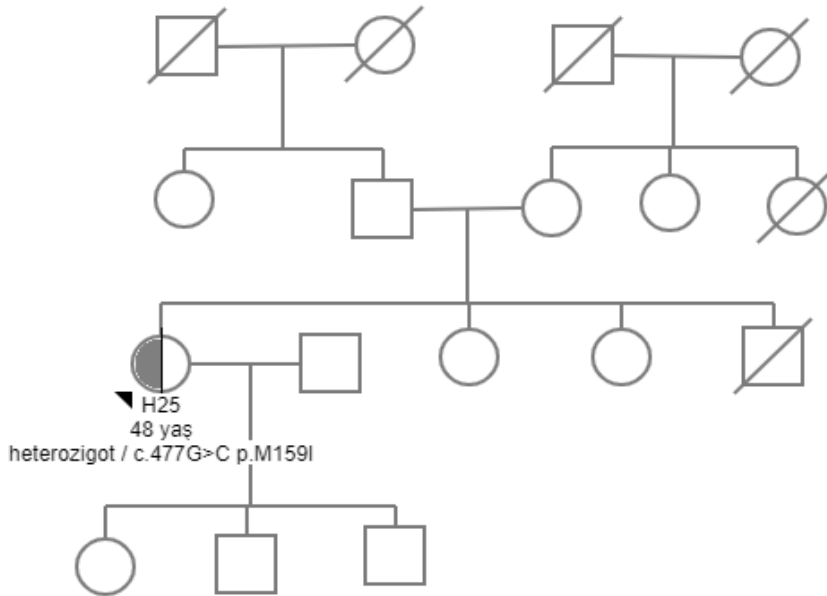


Şekil 34. H23 olgusuna ait pedigrisi

H24: Musküler distrofi / fasioskapulohumeral distrofi ön tanıları ile kliniğimize refere edilen hastadan tanı ve tedaviyi yönlendirici olması amacı ile yapılan tüm ekzom sekans analizinde klinikten bağımsız tesadüfi heterozigot c.1360C>T p.R454C (NM_001360016.2) varyantı saptandı. Hastanın daha önce hemolitik atak öyküsü olmadığı öğrenildi ancak dudaklarda sık morarma ve

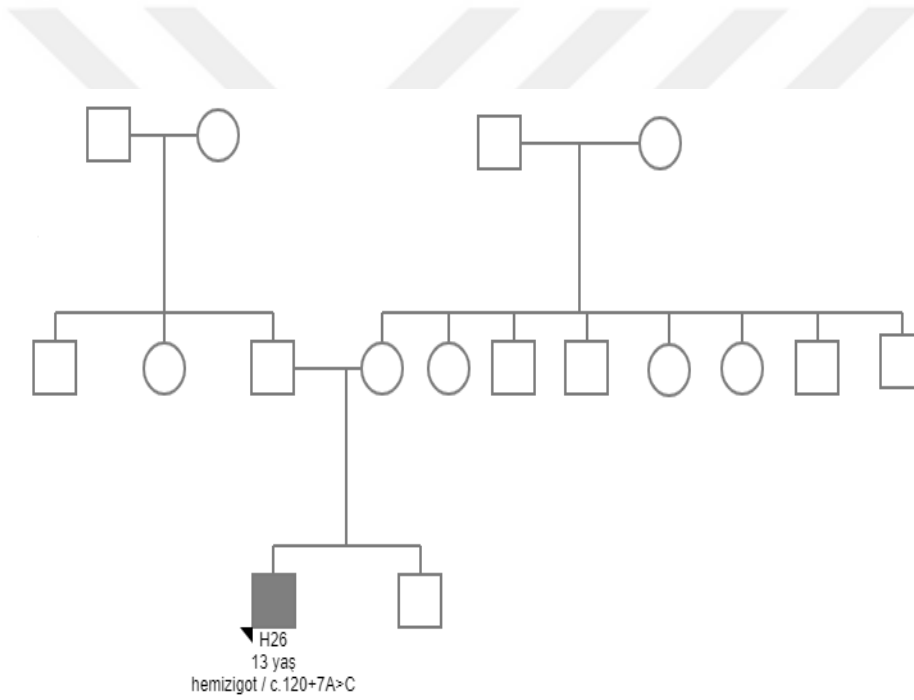
bayılma kliniği oluyormuş. Hastanın geçmiş hemogramları incelendiğinde sınırda anemisi olduğu tespit edildi. Ayrıca yenidoğan döneminde beslenememe ve dehidratasyon nedeni ile olduğu ifade edilen yaklaşık 5 gün süren sarılık öyküsü olduğu ve fototerapi uygulandığı öğrenildi. Çalışmaya alınan tüm olguların içinden kronik anemisi olan 2 olgudan biridir.

H25: Ailede multipl kanser tanıları, kendisinde kronik eklem şikayetleri, kronik ağrı ve yorgunluk, endometrial hiperplazi ve kronik anemisi olan hastadan yapılan klinik ekzom dizi analizinde heterozigot c.477G>C p.M159I (NM_001360016.2) varyantı saptandı. Bu varyant diğer patojenik varyantlara göre literatürde çok az bildirilmiştir. Çalışmamıza alınan başka herhangi bir olguda aynı varyanta rastlanmamıştır. Ancak hastada HBB geninde de patojenik varyant saptandığı için anemisinin nedeni olarak talasemi taşıyıcılığı düşünüldü.



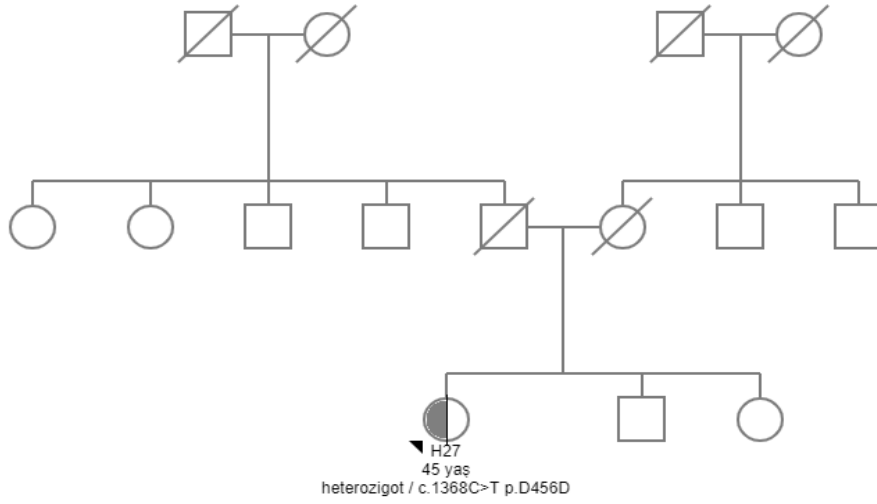
Şekil 35. H25 olgusuna ait pedigr.

H26: Genç yaşta başlayan diyabet ve sık enfeksiyon nedeni ile MODY ön tanısı ile refere edilen hastadan yapılan tüm ekzom dizileme analizinde splice site içerisinde kalan hemizigot c.120+7A>C mutasyonu saptanmıştır. Hastanın ayrıntılı anamnezinde 10 sene önce idrar yolu enfeksiyonunu takiben hafif bir anemi geliştiği saptanmıştır. Normalde rutin tetkiklerinde 14-15 g/dl seviyelerinde olan hemoglobini, enfeksiyonu takip eden hafta 11 g/dl seviyesine inmiştir. Hastanın aile öyküsünde G6PD eksikliğine ait bulgu yoktur. Çalışmamıza alınan başka herhangi bir olguda aynı varyant saptanmadı.



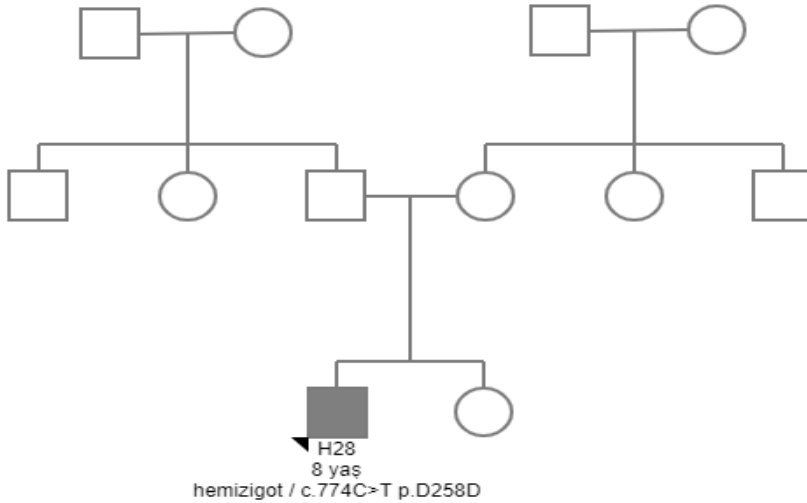
Şekil 36. H26 olgusuna ait pedigr

H27: Ailesinde multipl kanser öyküsü olan ve bu nedenle ex olan vakalar, kendisinde diyabet ve memede ele gelen kitle bulunan hastaya kliniğimizde tüm ekzom dizi analizi çalışıldı. Klinikten bağımsız tesadüfi c.1368C>T p.D456D (NM_001360016.2) heterozigot varyantı saptandı. Hastanın herhangi bir hemolitik ya da anemik bulgusu yoktur. Çalışmamıza alınan başka herhangi bir olguda aynı varyant saptanmadı.



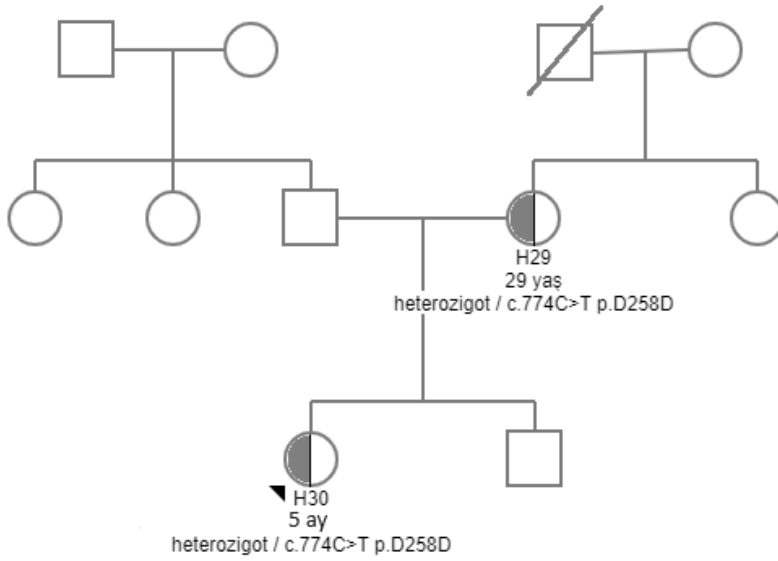
Şekil 37. H27 olgusuna ait pedigrisi

H28: İri doğum, otizm tanısı ve yaşlılarına göre boy-kilo ve baş çevresi ölçümü >90p olan olgudan kliniğimizde klinik ekzom analizi çalışılmış ve hemizigot c.774C>T p.D258D (NM_001360016.2) varyantı saptanmıştır. Yenidoğan döneminde 3 gün süren hafif sarılık öyküsü dışında favizm ilişkili klinik öyküsü bulunmamaktadır. Ailesinde de favizm düşündürecek herhangi bir olgu bulunmamaktadır.



Şekil 38. H28 olgusuna ait pedigrisi

H29-H30: Hipotonik doğum, miyopati ve Joubert sendromu ön tanısı ile kliniğimize refere edilen bebek olgudan ayırıcı tanıların yapılması, tanı ve tedaviyi yönlendirici olması amacı ile yapılan tüm ekzom sekans analizinde heterozigot c.774C>T p.D258D (NM_001360016.2) varyantı saptandı. Şikayetleri ile ilgili varyantların patojenitesinin yorumlanabilmesi yapılan segregasyon analizlerinin sonucunda annede de aynı varyant heterozigot olarak saptandı. Bebeğe daha önce hemolitik atak ya da kronik anemi öyküsü olmadığı öğrenildi. Yenidoğan döneminde 2 gün süren hafif sarılık öyküsü mevcut. Annesinde 2 sene önce covid-19 enfeksiyonu sonrası hemoglobininde 2,5 g/dl düşüş olmuş ve 11,9 g/dl ye gerilemiş olarak saptandı. Ailede anemi ya da hemolizle seyreden herhangi bir hastalık olmadığı öğrenildi.

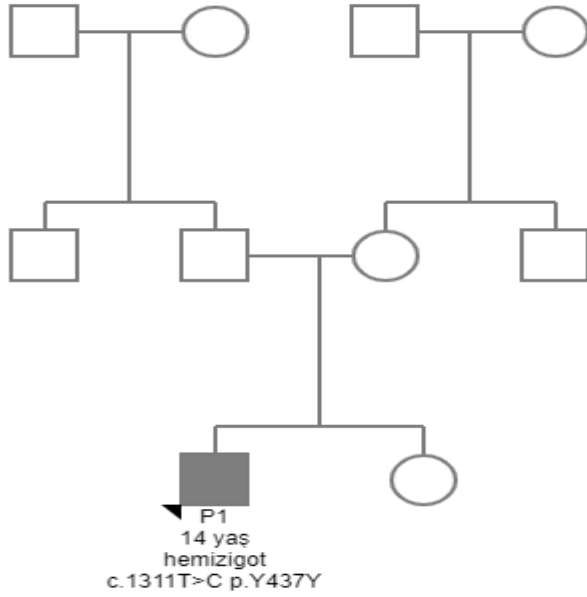


Şekil 39. H29 ve H30 olgularına ait pedigrisi

“P” harfi ile kodlanan 29 olgumuzda polimorfik c.1311T>C p.Y437Y (NM_001360016.2) varyantı mevcut olup bunlardan 7’sinde hafif anemi geliştiği saptanmıştır. Bu 7 olguya ait anamnez ve laboratuvar bulguları olgu bazında ele alındı, diğer 22 olgu ise hemogram ve biyokimya anomalisi tespit edilmediği için sadece yaş ve cinsiyet olarak istatistiksel analize dahil edildi.

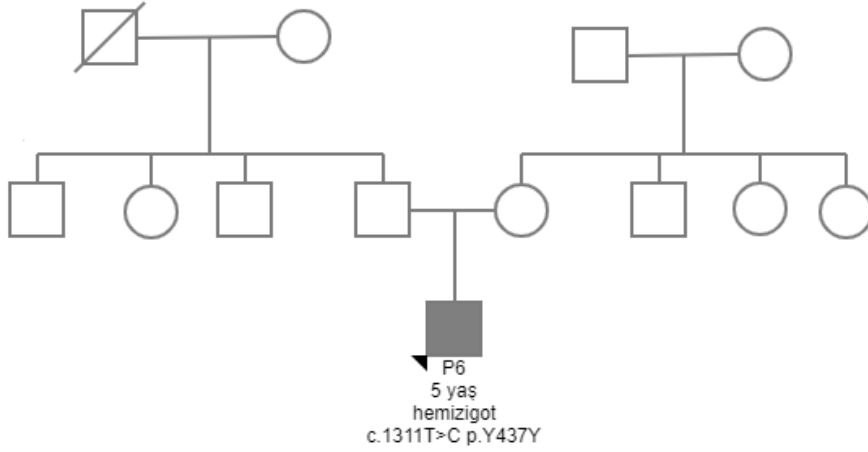
4.2. Polimorfik Olguların Klinik ve Laboratuvar bulguları

P1: Epidermoplasia Verrusiformis ve kaslarda güçsüzlük ön tanısı ile kliniğimize refere edilen hastadan yapılan tüm ekzom sekans analizinde hemizigot c.1311T>C p.Y437Y varyantı saptandı. Hastanın anamnezinde göğüs ağrısı ile acil servise başvuru yaptığı, ASYE - alt solunum yolu enfeksiyonu tanısı konulduğu öğrenildi. Enfeksiyonu sırasında bakılan hemogramın 11.3 g/dl ye kadar düştüğü öğrenildi. Anamnezde yenidoğan döneminde 3 gün süren sarılığı olduğu ve küvözde fototerapi uygulandığı öğrenildi. Ailede hemolitik atak öyküsü olan ya da kronik anemisi olan olgu olmadığı öğrenildi.



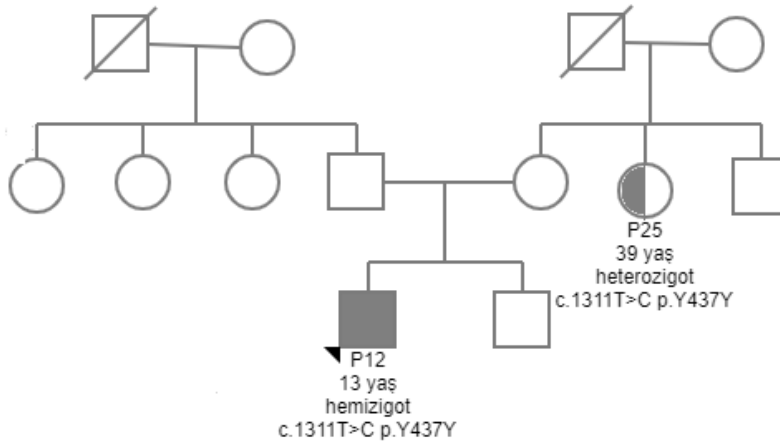
Şekil 40. P1 olgusuna ait pedigr

P6: Sağ bacağında hipertrofi nedeni ile takip edilen hastan hemihipertpfi nedeni ile refere edildi. Klinik ekzom sekans analizinde hemizigot c.1311T>C p.Y437Y varyantı saptandı. Hastanın anamnezinde proteus enfeksiyonu nedeni ile hemogramında 10,1 g/dl ye kadar düşüş olduğu öğrenildi. Aile öyküsünün olmadığı öğrenildi ve hemolitik atak benzeri semptomlar tariflemeydi.



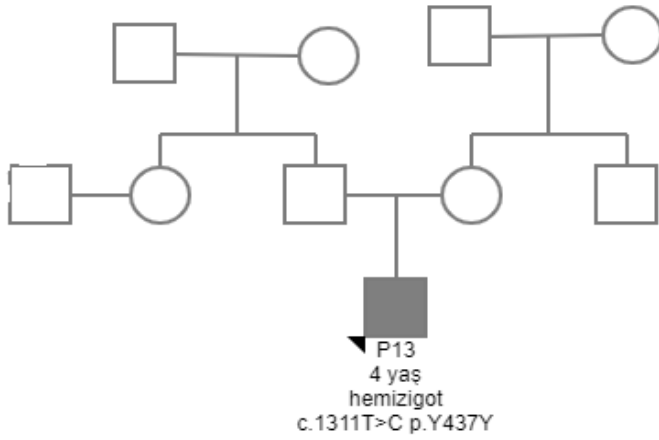
Şekil 41. P6 olgusuna ait pedigrisi

P12-P25: Boy kısalığı nedeni ile kliniğimize başvuran hastanın ailesinde de boy kısalığı öyküsü mevcut. Yaşına göre 3 persentil altında olan hastanın 140 cm altında boyu olan akrabaları mevcut. Akondroplazik görünümü olmayan hastanın yapılan tüm ekzom sekans analizinde hemizigot c.1311T>C p.Y437Y varyantı saptandı. Ayrıca teyzesinde de boy kısalığı olan hastanın teyzesinde de tesadüfi olarak polimorfik heterozigot c.1311T>C p.Y437Y varyantı saptandı. P12 olgusu karın ağrısı ve ateş nedeni ile 10 sene önce acil servise başvurmuş ve gastroenterit tanısı almış. Enfeksiyon sırasında bakılan hemogramı 11.6 g/dl olarak tespit edilmiş. P25 olgusunda ise 1 sene önce sebebi belirsiz ani başlayan anemi gelişmiş. Hemoglobin 9,4 g/dl olarak ölçülmüş. Hastalar hemolizin diğer bulgularını tariflemiyor. Ailede başka öykü yok.



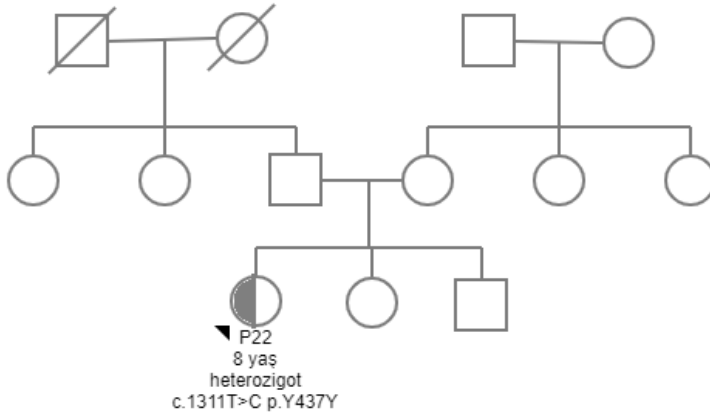
Şekil 42. P12 ve P25 olgularına ait pedigrisi

P13: Ambigus genitale ve epilepsi nedeni ile refere edilen hastadan yapılan tüm ekzom sekans analizinde hemizigot polimorfik c.1311T>C p.Y437Y varyantı klinikten bağımsız tesadüfi olarak tespit edildi. Hastanın geçmiş tetkikleri incelendiğinde 3 sene önce sebebi belirsiz sınırdan anemi olduğu saptandı. 10,4 g/dl saptanan hemograma eşlik eden bulgusu yoktu. Hastanın kendisinde ve ailesinde hemolitik atak öyküsü olmadığı öğrenildi.



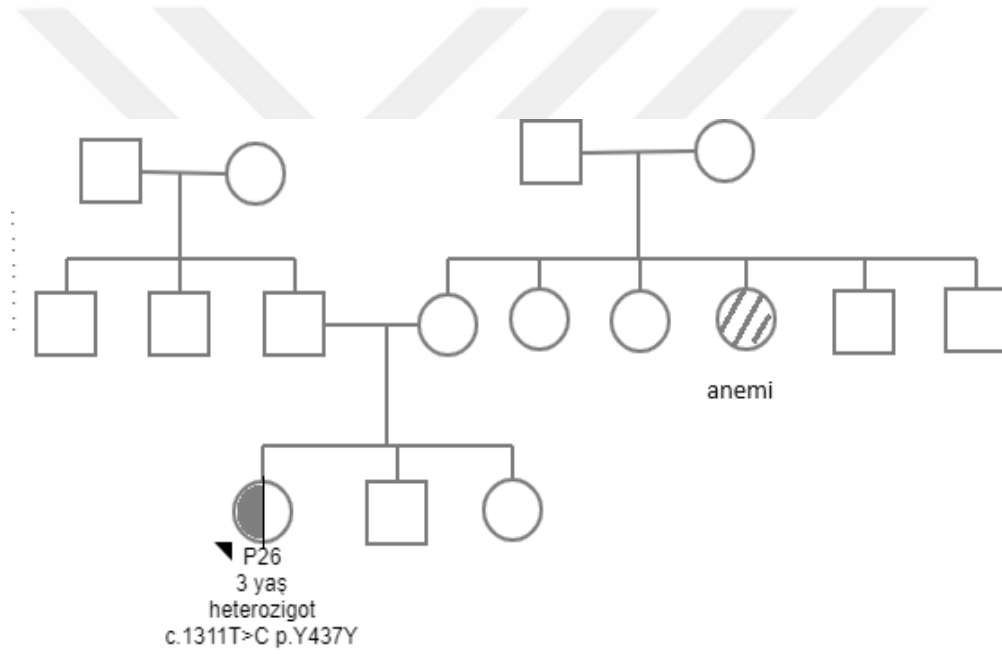
Şekil 43. P13 olgusuna ait pedigr

P22: Büyüme gelişme geriliği ve nöromotor gerilik nedeni ile refere edilen olguya yapılan klinik ekzom sekans analizinde klinikten bağımsız tesadüfi c.1311T>C p.Y437Y heterozigot varyantı saptandı. Hastanın 6 sene önce sebebi belirsiz sınırdan hemoglobin seviyesi saptandı. 11,4 g/dl saptanan hemoglobine ek klinik bulgu eşlik etmemiş. Hastanın kendisinde ve ailesinde hemoliz öyküsü yoktu.



Şekil 44. P22 olgusuna ait pedigr

P26: Nöromotor gelişim geriliği ve hipotoni nedeni ile refere edilen olgudan yapılan klinik ekzom sekans analizinde Klinikten bağımsız tesadüfi heterozigot c.1311T>C p.Y437Y varyantı saptandı. Hastanın anamnezi derinleştirildiğinde 3 sene önce covid-19 enfeksiyonu nedeni ile hastaneye yatışının olduğu öğrenildi. Enfeksiyonu takip eden 4 gün içinde hemoglobini 10,1 g/dl ye düşen hastanın bundan başka anemi öyküsü yok. Hemolitik atağı tarifleyecek klinik öyküsü yok. Hastanın teyzesinde de anemi olduğu öğrenildi. Ancak hemolitik atak benzeri bulgular tariflemiyor.



Şekil 45. P26 olgusuna ait pedigr

HASTA	CİNSİYET	YAŞ	VARYANT	EXON	HEMOGLOBİN	MCV	MCH	MCHC	ALT	AST	LDH	BİLİRUBİN	HEMOLİZ
H1	KADIN	68	ç.563C>Tp.S188F (AKDENİZ)	6	13,6	88,5	30	33,9	15	20	170	0,64	+
H2	ERKEK	48	ç.563C>Tp.S188F (AKDENİZ)	6									+
H3	KADIN	65	ç.563C>Tp.S188F (AKDENİZ)	6	6	97,7	34,7	35,5	19	142	2157	10,3	+
H4	ERKEK	5	ç.563C>Tp.S188F (AKDENİZ)	6	6,56	79,2	31,55	39,84	57,4	23,6	372	2,34	+
H5	KADIN	54	ç.563C>Tp.S188F (AKDENİZ)	6	14	84	27,9	33,1	16,3	20,7	191	0,35	-
H6	KADIN	61	ç.563C>Tp.S188F (AKDENİZ)	6	6	80,4	26,7	33,2	65	27	323	3,73	+
H7	ERKEK	45	ç.563C>Tp.S188F (AKDENİZ)	6	15	91,8	30,6	31,1	31,4	24,3	292	1,04	+
H8	KADIN	29	ç.563C>Tp.S188F (AKDENİZ)	6	13,2	91,2	30,8	33,2	13,6	11,4	137		+
H9	KADIN	30	ç.563C>Tp.S188F (AKDENİZ)	6	8,7	91,8	31,1	33,8	133	12	19	0,71	+
H10	KADIN	49	ç.563C>Tp.S188F (AKDENİZ)	6	12,4	87,8	29,1	33,2	21,8	26,5			-
H11	KADIN	6	ç.563C>Tp.S188F (AKDENİZ)	6	11,4	84,9	28,1	33,1	14	25			-
H12	KADIN	61	ç.653C>Tp.S218F (AKDENİZ)	6	11,2	73,9	24,3	32,9	35	28			+
H13	ERKEK	24	ç.653C>Tp.S218F (AKDENİZ)	6	12,7	82,3	27,1	32,9					+
H14	ERKEK	50	ç.653C>Tp.S218F (AKDENİZ)	6	12,7	93,3	30	32,2	21	25		0,34	+
H15	KADIN	21	ç.653C>Tp.S218F (AKDENİZ)	6									+
H16	KADIN	18	ç.653C>Tp.S218F (AKDENİZ)	6									+

Tablo 13. Non-polimorfik hastalar listesi ve özellikleri

HASTA	CİNSİYET	YAŞ	VARYANT	EXON	HEMOGLOBİN	MCV	MCH	MCHC	ALT	AST	LDH	BİLİRUBİN	HEMOLİZ
H17	ERKEK	9	ç.1093G>A p.Ala365Thr(CHATHAM)	9	7,9	90	27,3	30,2	12,8	40,7	642	3,29	+
H18	KADIN	8	ç.1093G>A p.Ala365Thr(CHATHAM)	9	4,6	82,4	24,6	29,9	14,5	54,5	910	4,72	+
H19	ERKEK	43	ç.1003G>A p.Ala335Thr(CHATHAM)	9									-
H20	ERKEK	6	ç.404A>Cp.N135T (CAIRO)	5	11,9	88,2	30,2	34,3	14,2	40			-
H21	KADIN	36	ç.404A>Cp.N135T (CAIRO)	5									-
H22	KADIN	51	ç.1360C>Tp.R454C (UNION)	11	12,6	93,1	31,5	33,7	12,5	16,5		0,55	-
H23	KADIN	54	ç.1360C>Tp.R454C (UNION)	11	7,5	75,5	23,3	30,9			200		+
H24	KADIN	3	ç.1360C>Tp.R454C (UNION)	11	11,7	81,2	27,4	33,8	6	29			+
H25	KADIN	48	ç.477G>Cp.M159I + HBB c.c.25_26delAA p.K9fs*14	5	9,3	62,6	19	30,3	11,4	12,5	166	0,36	-
H26	ERKEK	13	ç.120+7A>C	splice	11,6	80,5	26,6	33,1	10,4	18,3	250	0,13	+
H27	KADIN	45	ç.1368C>Tp.D456D	12									-
H28	ERKEK	8	ç.774C>Tp.D258D	8									-
H29	KADIN	29	ç.774C>Tp.D258D	8	11,9	82,2	26,9	32,8	42,2	56,9			-
H30	KADIN	1	ç.774C>Tp.D258D	8									-

Tablo 14. Non-polimorfik hastalar listesi ve özellikleri devamı

HASTA	CİNSİYET	YAŞ	VARYANT	HEMOGL OBİN	MCV	MCH	MCHC	ALT	AST	LDH	BİLİRUBİN	HEMOLİZ
P1	ERKEK	14	Ç.1311T>C p.Y437Y	11,3	83,2	26,5	31,8	9,6	17,3		11,3	enfeksiyon.
P6	ERKEK	5	Ç.1311T>C p.Y437Y	10,1	72,6	23,7	32,6	4,7	20,9	293	0,3	enfeksiyon.
P12	ERKEK	13	Ç.1311T>C p.Y437Y	11,6	79,7	25,5	32,1	12,3	29,7		0,38	enfeksiyon.
P13	ERKEK	4	Ç.1311T>C p.Y437Y	10,4	86,7	31,2	35,9					bilinmiyor.
P22	KADIN	8	Ç.1311T>C p.Y437Y	11,4	76,9	24,9	32,4	17	31			bilinmiyor.
P25	KADIN	39	Ç.1311T>C p.Y437Y	9,4	75,9	24,4	32,1	9	10			bilinmiyor
P26	KADIN	3	Ç.1311T>C p.Y437Y	10,1	81,5	28,5	35	65	55	256		enfeksiyon.

Tablo 15. Polimorfizm saptanan anemi olgularının özellikleri

5.TARTIŞMA

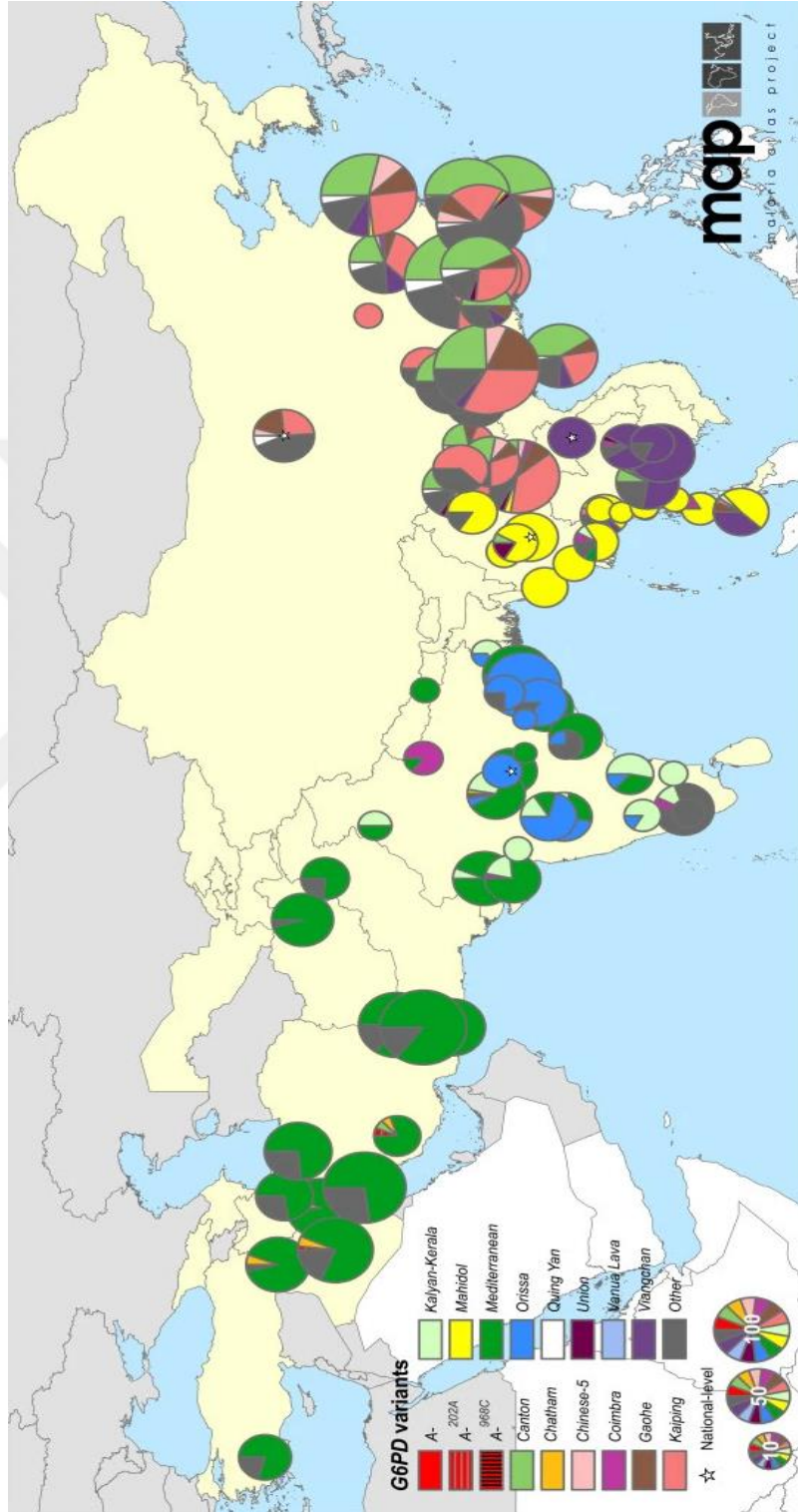
G6PD WHO class 2 ve WHO class 3 varyantlar her ne kadar bazı makalelerde polimorfik(24) olarak adlandırılrsa da bu konuda fikir birliği bulunmamaktadır. Literatürün büyük bölümünde G6PD geninde 3-4 adet polimorfik varyant olduğu yayınlanmıştır(87). Bizim alışmamızda yalnızca c.1311T>C p.Y437Y mutasyonu polimorfizm olarak ele alınmış Akdeniz varyantı non-polimorfizm olarak değerlendirilmiştir. c.1311T>C p.Y437Y mutasyonuna daha çok Hindistan/Güney Asya popülasyonunda rastlanırken Orta Asya popülasyonlarında çok daha nadir gözlenmiştir(4). He, Ying ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada c.1311T>C p.Y437Y varyantına genelde intronik bir varyant ya da G6PD Viangchan varyantının eşlik ettiği bildirilmiştir(85). Sirdah ve arkadaşları, yaptıkları çalışmada 3' UTR+357 A>G, IVS11-nt 93T>C varyantlarının 1311. nükleotiddeki polimorfizm ile ilişkili olduğunu öne sürmüştür(87). Bizim alışmamızda kullandığımız metodlar nedeni ile intronik mutasyonlar ve UTR bölgeleri sekanslanmamış, bu yüzden çalışmaya dahil edilmemiştir. c.1311T>C p.Y437Y varyantını saptadığımız hiçbir olguda Viangchan varyantı saptanmamıştır. Yine Sirdah ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada G6PD Akdeniz varyantı ve c.1311T>C p.Y437Y mutasyonlarının sıklıkları çalıştığı Filistin popülasyonunda sırasıyla 0.33 ve 0.38 olarak saptanmıştır(86). Bizim alışmamızda 16 Akdeniz varyantı saptanırken 29 tane c.1311T>C p.Y437Y varyantı saptanmış, bu çalışmanın aksine neredeyse 2 kat fark tespit edilmiştir. Mortazavi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada bu polimorfik mutasyonun Akdeniz mutasyonu ile ilişkili olduğu ve olguların bir kısmında Akdeniz muasyonu da saptandığı bildirilmiştir(88). Jablonska'nın yaptığı bir çalışmada Akdeniz mutasyonu ve c.1311T>C p.Y437Y mutasyonu 19 olgunun 17 tanesinde birlikte saptanmıştır(89). Bizim alışmamızda bu çalışmanın aksine G6PD geninde farklı 2 varyant saptanan allel bulunmamaktadır.

Cikes ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada c.1311T>C p.Y437Y sessiz mutasyonuna sahip olguların herhangi bir klinik öneminin olmadığı, enzim aktivitesinin bu mutasyona sahip kişilerde %10-50 arasında olduğu ve herhangi bir klinik bulgularının olmadığı belirtilmiştir(90). Beutler'in bir çalışmasında klinik önemi olan mutasyonlara dahil edilmemiştir(91). Bizim çalışmamızda c.1311T>C p.Y437Y mutasyonu saptanan olgulardan G6PD enzim seviyesi çalışılmamıştır. Bizim olgularımızda saptanan hafif anemilerin kesin nedeni bilinmemekle beraber ilaç kullanımları veya çevresel maruziyetler hafif hemolizlere sebep olabilir. Bu mutasyonun klinik öneminin daha sağlıklı saptanabilmesi için geniş kapsamlı prospektif çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Yenidoğan sarılığının sorgulanması G6PD eksikliğinde son derece önemlidir(4,7,8). Hastalardan yenidoğan sarılığının başlangıç günü, süresi, bilirubin seviyesi ve fototerapi ihtiyacı bilgileri sorgulanmalı, fizyolojik sarılıktan ayırt edilmelidir. Olgularımızın anamnezinde sarılık öyküleri ayrıntılı alınmamış, sarılıkların fizyolojik/patolojik ayrımı yapılamamış, sarılığın başlangıç günü ve bilirubin parametrelerine ulaşılamamıştır. Edinilen anamnez bilgileri ile değerlendirildiğinde Akdeniz varyantının yenidoğan sarılığı ile ilişkisi hemolizle olan ilişkisine göre daha zayıftır. Settin ve arkadaşlarının Mısır'da yaptığı çalışmada %11 civarında seyreden bu ilişkiyi ülkemizde biraz daha fazla olduğu (%12,5) ve çalışmada ülkemizle ilgili bildirilen raporu desteklediği saptanmıştır(105). Chatham varyantı Ortadoğu'da yenidoğan sarılığı ile araştırılan hastada tanımlanmış bir varyant olmakla beraber bu açıdan hem hastamızın hem etnik kökeni hem de klinik bulguları literatür ile uyumludur(106).

Ekzon 8'de saptadığımız c.774C>T p.D258D varyantı ile ilgili makale verisi bulunmamaktadır. Bu sessiz varyant Varsome, Franklin, QCI ve Clinvar veri tabanlarında "Muhtemel Benign" olarak yer almaktadır. H29 olgumuzda covid pnömonisini takiben gelişen çok hafif anemi bulgusu (hemoglobinde normal sınırlarda kalmakla beraber 2.5 g/dl düşüş) mevcuttur. Enzimin C terminalinde 258.aminoasit olan aspartatı kodlayan bu bölgenin yapısal NADP+ domain kusuru ya da dimerizasyon hatası yapması olasılığı araştırmaya açık bir konudur. Bununla beraber bu varyanta sahip 2 olgumuzda hafif yenidoğan sarılığı öyküsü bulunması varyantın patojenitesinin benign olmadığı yönündeki görüşlerimizi desteklemektedir.

Dünyada en sık görülen G6PD geni varyantı Akdeniz olarak bildirilmiştir. Howes ve arkadaşlarının literatür derlemesinde ülkemizde en sık varyantın Akdeniz olduğu belirtilmiştir(92). Çalışmamızda da Akdeniz varyantı literatür ile uyumlu olarak klinikten en sık sorumlu varyant olarak tespit edilmiştir. Yine aynı literatür derlemesinde belirtildiği gibi Akdeniz coğrafyasında Afrika varyantları çok nadir saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da Afrika varyantı literatür ile uyumlu olarak hiç saptanmamıştır. İtalya'da yapılan bir çalışmada mutant aleller içinde Akdeniz varyantının oranı Güney İtalya'da %63, Kuzey İtalya'da %58 olarak bildirilmiş, bizim çalışmamızda da %53,3 olarak saptanmıştır(99). Daha büyük popülasyon çalışmalarına ihtiyaç olsa da literatür ile uyumlu olduğu söylenebilir.



Şekil 46. Howes ve arkadaşlarının literatür derlemesinden Asya ülkelerinin varyantları haritası(92)

G6PD Chatham varyantı Ortadoğu'da Akdeniz varyantından sonra en sık saptanan varyant olarak raporlanmıştır(93). Çalışmamızın non-polimorfik olgularını oluşturan grubunda %10 olarak saptanmıştır. Homozigot saptanan tek olgu ve sıklıkla Suriye etnik kökenli olgularımızdasaptanan mutasyondur. En ağır hemolitik olgu homozigot Chatham varyantında saptanmış ve hemoglobin 5 g/dl altında ölçülmüştür. Akdeniz varyantlarında homozigot olgu olmaması nedeni ile mukayese yapılamamakta ancak hemizigot olgunun Akdeniz varyantlarından hemolitik dönemde farkı olmadığı gözlenmiştir. Klinik olarak farklarının saptanabilmesi için zigositesi aynı daha büyük gruplarda karşılaştırma yapmak doğru olacaktır.

Çalışmamızda 2 olguda Exon 5'de saptanan Cairo varyantında herhangi bir klinik bulgu saptanmamıştır. Literatürde Al-Sweedan ve arkadaşlarının Ürdün popülasyonunda yaptığı bir çalışmada favizm kliniği ile değerlendirilen kadın olguda homozigot Cairo mutasyonu saptanmış ancak klinik şikayetlere rağmen hemoliz saptanmamıştır(94). Reading ve arkadaşlarının çalışmasında Cairo varyantının hiperbilirubinemi ile ilişkili olduğu saptanmıştır(95). Sirdah ve arkadaşları tarafından Monte Carlo simulasyon testi kullanılarak yapılan çalışmada Cairo varyantının enzim yapısında minimal değişikliğe neden olduğu saptanmıştır. N terminal bölgede NADP+ bağlayıcı bölgenin ve enzim dimerizasyonunun çok az etkilendiği belirtilmiştir(96). Olgularımızda klinik bulgu gözlenmemesi bu çalışma ile uyumlu iken, hastaların yenidoğan dönemine ait bilgileri olmadığı için varyant ve hiperbilirubinemi ilişkisi hakkında net yorum yapılamamaktadır.

Exon 11'de saptanan Union varyantına sahip 3 olgumuzdan 1'inde enfeksiyon nedeni ile hemoliz bulguları gelişirken diğer olguda sebebi belirsiz anemi atakları ve bayılmalar mevcuttu. Literatürde bu varyanta sahip hastalarda enzim aktivitesinin normalin %10'unun altına indiği raporlanmıştır(97). Güney Asya ülkelerinde Viangchan, Akdeniz ve Mahidol varyantlarından sonra en sık gözlenen varyant olarak bildirilmiştir(98). Di Montemuros ve arkadaşlarının İtalya'da yaptığı bir çalışmada, G6PD geninde mutant allel saptanan vakalar içinde Union varyantının oranı %10 olarak bildirilmiştir(99). Yine aynı çalışmada ılımlı G6PD eksikliği ile uyumlu olduğu ve WHO Class 3 olduğu raporlanmıştır. Bizim çalışmamızda da polimorfizmler çıkarıldığında mutant alleller içinde Union varyantının oranı %10 olarak saptanmıştır. Ayrıca olgularımızda şiddetli hemoliz olmamasıyla birlikte literatür ile uyumlu olarak sonuçlanmıştır.

Splice site içerisinde yer alan c.120+7A>C varyantı ile ilgili daha önce literatürde makale verisi bulunmamaktadır. Bu varyant Franklin ve QCI veri tabanlarında "Benign" olarak bulunurken Clinvar veri tabanında 1 "Klinik Önemi Belirsiz Varyant/VUS" ve 1 "Benign" bildirim bulunmaktadır. Bu varyantı saptadığımız H26 erkek olgumuzda idrar yolu enfeksiyonunu takiben hemoglobinde 3.5 g/dl düşüş meydana gelmiş olması bu varyantı benign olarak değerlendirmemize engel olmuştur. Varyantın splice site içerisinde yer alması nedeniyle, proteinin N terminalini kodlayan mRNA transkriptinde hatalı kesime neden olduğunu düşünmekteyiz. Bu varyantın patojenitesi araştırmaya açık bir konu olmakla birlikte "VUS–Muhtemel Patojenik" olarak değerlendirilme olasılığı karşımıza çıkmaktadır. Daha kapsamlı aile ve popülasyon çalışmaları, enzim seviyesi analizleri ve transkriptom analizleri ile varyantın patojenitesi hakkında daha doğru bilgiler elde edilecektir.

Exon 12'de c.1368C>T p.D456D saptanan varyantı ile ilgili makale verisi bulunmamaktadır. Bu sessiz varyant Varsome, Franklin, QCI ve Clinvar veri tabanlarında "Muhtemel Benign" olarak yer almaktadır. Clinvar bildirimini ile ilgili klinik veri mevcut değildir. Bizim olgumuzda çalışmayı ilgilendiren klinik bulgulardan hiçbiri mevcut değildir. 45 yaş kadın hastada saptanan bu heterozigot varyant tarafımızdan da muhtemel benign olarak değerlendirilse de hemizigot bir erkek hastada değerlendirme yapmak daha doğru olacaktır.

G6PD Gond olarak saptadığımız varyant, Akdeniz, Union, Cairo ve Chatham varyantlarının aksine Clinvar, Varsome ve QCI veri tabanlarında "Klinik Önemi Belirsiz Varyant/VUS" olarak bildirilmiştir. Bu mutasyon Hindistanda daha sık gözlenmekle beraber Orta Doğu ve Akdeniz ülkelerinde son derece nadir saptanmaktadır. Bir makalede asemptomatik erkek hasta raporlanmış(100), başka bir makalede ise homozigot bir kadında methemoglobinemi ile ilişkili olabileceği raporlanmıştır(101). Bizim olgumuz ayrıca beta talasemi varyantı taşıdığı için hemogram parametreleri talasemi ile uyumluydu. G6PD eksikliği açısından değerlendirmelerimiz suboptimaldir. Varyantın patojenitesi hakkında daha sağlıklı yorum yapabilmek için enzim seviyesinin tespiti, transkriptom analizleri ve varyant saptanan başka olguların genotip-fenotip korelasyonu gerekmektedir.

Literatür derlemelerinden elde edinilen bilgilere paralel olarak çalışmamızda yeni nesil dizileme yöntemi ile saptanabilecek boyutta delesyon/duplikasyon olguları saptanmamıştır. G6PD geni Exon 10 içerisinde yer alan ve kronik non-sferositik hemolitik anemi olarak tanımlanan vakamız bulunmamaktadır(102). Ülkemizde de son derece nadir olan bu durum literatür ile uyumlu olarak saptanmıştır. Diğer ekzonlarda varyant ihtiva eden olgularda da kronik anemi lehine bulgu saptanmamıştır.

Hemolitik atağı bakla ile tetiklenen olgularda hemoliz sırasında bakılan biyokimya parametrelerinden ALT ile AST arasında enfeksiyon ile gelişen hemolitik atak olgularına göre fark olduğu saptanmıştır. Bakla ile hemoliz geliştiği saptanan olguların ALT değeri 12.8 - 35.0 IU/L arasında iken AST değerleri 11.4 - 142.0 IU/L arasında değişmektedir. Standart deviasyonu ALT için 7,78, AST için 44,63 olarak tespit edilmiştir. Bu değerler enfeksiyon ile hemoliz kliniği gelişen non-polimorfik olgularda ise ALT için 6.0 - 133.0, AST için 12,0 - 29.0 olarak hesaplanmıştır. Standart deviasyonu ise ALT için 51.42, AST için 6.89 hesaplanmıştır. Görüldüğü üzere bakla ile tetiklenen ataklarda AST değerinde normale göre daha fazla artış meydana gelmektedir. Literatürde bizim bulgularımızı doğrular nitelikte çalışma mevcuttur(103). Dorgalaleh ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada favizm olgularında ALT ye göre ve kontrol grubuna göre daha fazla artış göstermiş ancak böbrek fonksiyon testlerinde kontrol grubuna göre anlamlı sapma meydana gelmediği bildirilmiştir. Dorgalaleh ve arkadaşlarının çalışmasında bakla ve enfeksiyon nedenli hemolizler arasındaki biyokimyasal fark çalışmaya dahil edilmemiştir. Bizim çalışmamıza böbrek fonksiyon testleri dahil edilmedi. Enfeksiyona bağlı olgularda AST ve ALT arasında fark olmaması, Favizme neden olan divisin ve konvisin metabolitlerinin karaciğerde AST aracılı yollarda metabolize olduğunu düşündürmektedir ancak bu alanda daha geniş kapsamlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Varyant saptanan kadın olguların yaş mod-mean ve median değerleri erkek olgulardan daha yüksek saptanmıştır. Sadece 1 kadında homozigot, diğer tüm kadınlarda heterozigot varyant saptanmıştır. Kadınların yaş ile klinik bulguları arasında ilişki olduğu gözlenmiştir. Bu durumu çarpık X inaktivasyonunun yaş ile artması ile ilişkilendirmekteyiz(104). Bulgularımız literatür ile uyumludur.

6.SONUÇ

Bu çalışmada G6PD geninin kliniğimizde geçmişe dönük moleküler sonuçlarını ve fenotip korelasyonlarını derledik. Favizm kliniği ile değerlendirilen olgularda beklenildiği gibi en sık Akdeniz varyantı saptanmış ve fenotipik bulguları da varyant ile uyumlu bulunmuştur. Ancak hala geniş yeni nesil dizileme panelleri ile tesadüfi patojenik varyant saptanan olguların sayısı azımsanmayacak düzeydedir. Bu hastalarda hayatlarının bir döneminde enfeksiyon, bakla ya da ilaçlar ile akut hemolitik anemi, sarılık ya da diğer klinik bulgular gözlenebilmektedir. Etyolojinin bakla olmadığı hemolizlerde ise genellikle ayırıcı tanıda G6PD eksikliği akla gelmemektedir.

Yaptığımız genotip-fenotip korelasyonları büyük oranda literatür verileri ile uyumlu olsa da enfeksiyon nedenli hemolizlerde G6PD eksikliğinin araştırılmadığı farkedilmiştir. Covid-19 enfeksiyonları ile tetiklenen hemolitik anemi morbidite ve mortaliteyi arttıran bir faktör olabilir; G6PD eksikliğinin popülasyonumuzda nadir olmadığı göz önüne alınmalıdır. X'e bağlı kalıtım nedeniyle özellikle erkeklerde önemli bir risk faktörü olup Covid-19 pandemisinde mortalite ve morbiditenin erkeklerde yüksek olmasında rol oynayabilir. Ülkemizde son yıllarda plasmodium vakalarının son derece az görülmesi, primakin ve benzeri sıtma ilaçlarının çok az kullanılması nedeni ile ilaç nedenli hemolizler artık sık değildir. Çalışmamız da bunu destekler niteliktedir. Akdeniz coğrafyasında bulunduğumuz unutulmamalı, plasmodiumdan tarihsel süreçte korunmamızı destekleyen mutasyonların binlerce yıl öncesine ait olduğu göz önünde bulundurulmalıdır. Bu nedenle ACMG direktifleri doğrultusunda raporlamaktan sorumlu olduğumuz 81 genin içerisinde bulunmayan G6PD geninin, Akdeniz ve Ortadoğu coğrafyasında 82.gen olarak "Patojenik varyantlarının raporlanması zorunlu genler" statüsünde değerlendirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

7.KAYNAKLAR

1. Cappellini, M. D., & Fiorelli, G. E. M. I. N. O. (2008). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *The lancet*, 371(9606), 64-74.
2. Harcke, S. J., Rizzolo, D., & Harcke, H. T. (2019). G6PD deficiency: An update. *Jaapa*, 32(11), 21-26.
3. Luzzatto, L., Nannelli, C., & Notaro, R. (2016). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Hematology/Oncology Clinics*, 30(2), 373-393.
4. Beutler, E. (1993). Study of glucose-6-phosphate dehydrogenase: History and molecular biology. *American journal of hematology*, 42(1), 53-58.
5. Frank, J. E. (2005). Diagnosis and management of G6PD deficiency. *American family physician*, 72(7), 1277-1282.
6. Sodeinde, O. (1992). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Baillière's clinical haematology*, 5(2), 367-382.
7. Şaşmaz, İ. (2009). Glüköz 6 fosfat dehidrogenaz enzim eksikliği Derleme. *Türk Pediatri Arşivi*, 44(11), 35-38.
8. Valaes, T. (1994). Severe neonatal jaundice associated with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: pathogenesis and global epidemiology. *Acta Paediatrica*, 83, 58-76.
9. Mehta, A., Mason, P. J., & Vulliamy, T. J. (2000). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, 13(1), 21-38.
10. Say, B., Ozan D., P., Berkel, I., & Çevil, N. (1965). Erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Turkey. *Acta Paediatrica*, 54(4), 319-324.
11. Tang, B. L. (2019). Neuroprotection by glucose-6-phosphate dehydrogenase and the pentose phosphate pathway. *Journal of Cellular Biochemistry*, 120(9), 14285-14295.

12. Wang, J., Xiao, Q. Z., Chen, Y. M., Yi, S., Liu, D., Liu, Y. H., ... & Xu, X. M. (2014). DNA hypermethylation and X chromosome inactivation are major determinants of phenotypic variation in women heterozygous for G6PD mutations. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 53(4), 241-245.
13. Turan, Y. (2006). Prevalence of erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency in the population of western Turkey. *Archives of medical research*, 37(7), 880-882.
14. WHO Working Group. "Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency." *Bull WHO* 67 (1989): 601-611.
15. Nicol, C. J., Zielenski, J., Tsui, L. C., & Wells, P. G. (2000). Research Communications-An embryoprotective role for glucose-6-phosphate dehydrogenase in developmental oxidative stress and chemical teratogenesis. *FASEB Journal-Federation of American Societies for Experimental Biology*, 14(1), 111-127.
16. Nikolaidis, M. G., Jamurtas, A. Z., Paschalis, V., Kostaropoulos, I. A., Kladi-Skandali, A., Balamitsi, V., ... & Kouretas, D. (2006). Exercise-induced oxidative stress in G6PD-deficient individuals. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 38(8), 1443-1450.
17. Tang, J., Jiang, C., Xiao, X., Fang, Z., Li, L., Han, L., ... & Jiang, W. (2015). Changes in red blood cell membrane structure in G6PD deficiency: An atomic force microscopy study. *Clinica Chimica Acta*, 444, 264-270.
18. Ying, W. (2008). NAD⁺/NADH and NADP⁺/NADPH in cellular functions and cell death: regulation and biological consequences. *Antioxidants & redox signaling*, 10(2), 179-206.
19. Aksu, T. (2021). Hereditary Red Blood Cell Enzymopathies. *The Journal of Pediatric Academy*, 2(1), 9–13. Retrieved from <https://jpediatricacademy.com/index.php/jpa/article/view/120>
20. Garcia, A. A., Koperniku, A., Ferreira, J. C., & Mochly-Rosen, D. (2021). Treatment strategies for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency:

- past and future perspectives. *Trends in Pharmacological Sciences*, 42(10), 829-844.
21. Alakbarea, M., Amran, S., Shamsir, M., Ahmed, H. H., Hamza, M., Alonazi, M., ... & Ab Latif, N. (2022). Human G6PD variant structural studies: elucidating the molecular basis of human G6PD deficiency. *Gene Reports*, 27, 101634.
 22. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucore/NM_001360016.2
 23. Ruwende, C. Y. R. I. L., & Hill, A. (1998). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and malaria. *Journal of molecular medicine*, 76, 581-588.
 24. Mason, P. J., Bautista, J. M., & Gilsanz, F. (2007). G6PD deficiency: the genotype-phenotype association. *Blood reviews*, 21(5), 267-283.
 25. https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Transcript/Sequence_cDNA?db=core;g=ENSG00000160211;r=X:154517825-154547572;t=ENST00000393562
 26. Meng, Q., Zhang, Y., Hao, S., Sun, H., Liu, B., Zhou, H., ... & Xu, Z. X. (2022). Recent findings in the regulation of G6PD and its role in diseases. *Frontiers in Pharmacology*, 13, 932154.
 27. Naylor, C. E., Rowland, P., Basak, A. K., Gover, S., Mason, P. J., Bautista, J. M., ... & Adams, M. J. (1996). Glucose 6-phosphate dehydrogenase mutations causing enzyme deficiency in a model of the tertiary structure of the human enzyme.
 28. Akman, T., ÇAVDAR, C., Özcan, M. A., & PİŞKİN, Ö. (2012). Favizm sonucu gelişen akut böbrek yetmezliği: olgu sunumu ve literatür derlemesi. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(1), 45-50.
 29. Gómez-Manzo, S., Marcial-Quino, J., Vanoye-Carlo, A., Serrano-Posada, H., Ortega-Cuellar, D., González-Valdez, A., ... & Arreguin-Espinosa, R. (2016). Glucose-6-phosphate dehydrogenase: update and analysis of new mutations around the world. *International journal of molecular sciences*, 17(12), 2069.

30. Stanton, R. C. (2012). Glucose-6-phosphate dehydrogenase, NADPH, and cell survival. *IUBMB life*, 64(5), 362-369.
31. <https://www.uniprot.org/uniprotkb/P11413/entry#sequences>
32. Beutler, E. (1996). G6PD: population genetics and clinical manifestations. *Blood reviews*, 10(1), 45-52.
33. <https://www.omim.org/entry/305900?search=G6PD&highlight=g6pd>
34. Wei, X., Kixmoeller, K., Baltrusaitis, E., Yang, X., & Marmorstein, R. (2022). Allosteric role of a structural NADP⁺ molecule in glucose-6-phosphate dehydrogenase activity. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 119(29), e2119695119.
35. Raub, A. G., Hwang, S., Horikoshi, N., Cunningham, A. D., Rahighi, S., Wakatsuki, S., & Mochly-Rosen, D. (2019). Small-Molecule Activators of Glucose-6-phosphate Dehydrogenase (G6PD) Bridging the Dimer Interface. *ChemMedChem*, 14(14), 1321-1324.
36. Fiorelli, G., di Montemuros, F. M., & Cappellini, M. D. (2000). Chronic non-spherocytic haemolytic disorders associated with glucose-6-phosphate dehydrogenase variants. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, 13(1), 39-55.
37. Beutler, E., Westwood, B., Melemed, A., Dal Borgo, P., & Margolis, D. (1995). Three new exon 10 glucose-6-phosphate dehydrogenase mutations. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 21(1), 64-72.
38. McDade, J., Abramova, T., Mortier, N., Howard, T., & Ware, R. E. (2008). A novel G6PD mutation leading to chronic hemolytic anemia. *Pediatric blood & cancer*, 51(6), 816-819.
39. Youngster, I., Arcavi, L., Schechmaster, R., Akayzen, Y., Popliski, H., Shimonov, J., ... & Berkovitch, M. (2010). Medications and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: an evidence-based review. *Drug safety*, 33, 713-726.

40. Recht, J., Chansamouth, V., White, N. J., & Ashley, E. A. (2022). Nitrofurantoin and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a safety review. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 4(3), dlac045.
41. Koch, A. A., Stolzenberg, L., Pathak, P. R., Penot, A. R., Koch, A., & Hovie, J. (2023). Phenazopyridine-Induced Methemoglobinemia: A Case Report. *Cureus*, 15(1).
42. Menakuru, S. R., Dhillon, V. S., Atta, M., Mann, K., & Salih, A. (2023). Phenazopyridine-Induced Methemoglobinemia in a Jehovah's Witness Treated with High-Dose Ascorbic Acid Due to Methylene Blue Contradictions: A Case Report and Review of the Literature. *Hematology Reports*, 15(2), 325-330.
43. Hammami, M. B., Qasim, A., Thakur, R., Vegivinti, C. T. R., Patton, C. D., Vikash, S., & Kumar, A. (2023). Rasburicase-induced hemolytic anemia and methemoglobinemia: a systematic review of current reports. *Annals of Hematology*, 1-13.
44. Oğuztürk, H., Kurt, N. G., Korkut, S., & KAYIPMAZ, A. (2018). Antiprotozoal İlaçlar ve Toksikite. *Eurasian Journal of Toxicology*, 2(2), 31-34.
45. Sago, J., & Hall III, R. P. (2002). Dapsone. *Dermatologic Therapy*, 15(4), 340-351.
46. Peker, A., Kaypak, M. A., YARKICI, H., Erkul, B., Ceylan, C., & Harun, A. K. A. R. (2016). Dapson kullanımına bağlı methemoglobinemi: Olgu sunumu. *İstanbul Bilim Üniversitesi Florence Nightingale Tıp Dergisi*, 2(3), 211-213.
47. Teunis, B. S., Leftwich, E. I., & Pierce, L. E. (1970). Acute methemoglobinemia and hemolytic anemia due to toluidine blue. *Archives of Surgery*, 101(4), 527-531.
48. Wollina, U., Koch, A., & Heinig, B. (2019). Acute edema induced by toluidine blue extravasation—first report. *Wiener Medizinische Wochenschrift*, 169(1-2), 41-43.

49. MARQUEZ, A., & Todd, M. (1959). Acute hemolytic anemia and agranulocytosis following intravenous administration of toluidine blue. *American Practitioner and Digest of Treatment*, 10, 1548-1550.
50. Tishkoff, S. A., Varkonyi, R., Cahinhinan, N., Abbes, S., Argyropoulos, G., Destro-Bisol, G., ... & Clark, A. G. (2001). Haplotype diversity and linkage disequilibrium at human G6PD: recent origin of alleles that confer malarial resistance. *Science*, 293(5529), 455-462.
51. Saunders, M. A., Hammer, M. F., & Nachman, M. W. (2002). Nucleotide variability at G6pd and the signature of malarial selection in humans. *Genetics*, 162(4), 1849-1861.
52. Khim, N., Benedet, C., Kim, S., Kheng, S., Siv, S., Leang, R., ... & Ménard, D. (2013). G6PD deficiency in *Plasmodium falciparum* and *Plasmodium vivax* malaria-infected Cambodian patients. *Malaria journal*, 12(1), 1-10.
53. Elyassi, C. A. R., & Rowshan, M. H. H. (2009). Perioperative management of the glucose-6-phosphate dehydrogenase deficient patient: a review of literature. *Anesthesia progress*, 56(3), 86-91.
54. Luzzatto, L. (2006). Glucose 6-phosphate dehydrogenase deficiency: from genotype to phenotype. *Haematologica*, 91(10), 1303-1306.
55. Beutler, E. (2008). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a historical perspective. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 111(1), 16-24.
56. Van Den Broek, L., Heylen, E., & van den Akker, M. (2016). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: not exclusively in males. *Clinical case reports*, 4(12), 1135.
57. Roper, D., Layton, M., Rees, D., Lambert, C., Vulliamy, T., De la Salle, B., ... & British Society for Haematology. (2020). Laboratory diagnosis of G6PD deficiency. *A British Society for Haematology Guideline*. *Br J Haematol*.
58. Lee, H. Y., Ithnin, A., Azma, R. Z., Othman, A., Salvador, A., & Cheah, F. C. (2022). Glucose-6-Phosphate dehydrogenase deficiency and neonatal

- hyperbilirubinemia: Insights on pathophysiology, diagnosis, and gene variants in disease heterogeneity. *Frontiers in Pediatrics*, 10, 875877.
59. Ley, B., Bancone, G., Von Seidlein, L., Thriemer, K., Richards, J. S., Domingo, G. J., & Price, R. N. (2017). Methods for the field evaluation of quantitative G6PD diagnostics: a review. *Malaria journal*, 16(1), 1-9.
60. Minucci, A., Giardina, B., Zuppi, C., & Capoluongo, E. (2009). Glucose-6-phosphate dehydrogenase laboratory assay: How, when, and why?. *IUBMB life*, 61(1), 27-34.
61. Zailani, M. A. H., Raja Sabudin, R. Z. A., Ithnin, A., Alauddin, H., Sulaiman, S. A., Ismail, E., & Othman, A. (2023). Population screening for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency using quantitative point-of-care tests: a systematic review. *Frontiers in Genetics*, 14, 1098828.
62. Perrotta, S., Gallagher, P. G., & Mohandas, N. (2008). Hereditary spherocytosis. *The Lancet*, 372(9647), 1411-1426.
63. Celkan, T. (2009). Kalıtsal sferositoz Derleme. *Türk Pediatri Arşivi*, 44(11), 27-34.
64. Iolascon, A., Del Giudice, E. M., Perrotta, S., Alloisio, N., Morlé, L., & Delaunay, J. (1998). Hereditary spherocytosis: from clinical to molecular defects. *Haematologica*, 83(3), 240-257.
65. Yaprak, I. (2004). Beta talasemi tanı ve tedavisinde güncel yaklaşımlar. *Sted*, 13(2), 58-9.
66. Türk Hematoloji Derneği. "Beta talasemi tanı ve tedavi kılavuzu 2011." (2019).
67. Galanello, R., & Origa, R. (2010). Beta-thalassemia. *Orphanet journal of rare diseases*, 5, 1-15.
68. Rees, D. C., Williams, T. N., & Gladwin, M. T. (2010). Sickle-cell disease. *The Lancet*, 376(9757), 2018-2031.
69. Söylemez-Gökyer, D., & Kayaaltı, Z. (2016). Türkiye'de orak hücreli anemi dağılımı, patofizyolojisi ve demir toksisitesi. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 20(2), 92-99.

70. Booth, C., Inusa, B., & Obaro, S. K. (2010). Infection in sickle cell disease: a review. *International Journal of Infectious Diseases*, 14(1), e2-e12.
71. Liebman, H. A., & Weitz, I. C. (2017). Autoimmune Hemolytic Anemia. *The Medical clinics of North America*, 101(2), 351–359.
72. Gehrs, B. C., & Friedberg, R. C. (2002). Autoimmune hemolytic anemia. *American journal of hematology*, 69(4), 258-271.
73. Petz, L. D. (1993). Drug-induced autoimmune hemolytic anemia. *Transfusion medicine reviews*, 7(4), 242-254.
74. Watson, K. J., & Gollan, J. L. (1989). Gilbert's syndrome. *Baillière's clinical gastroenterology*, 3(2), 337-355.
75. Fretzayas, A., Moustaki, M., Liapi, O., & Karpathios, T. (2012). Eponym: Gilbert syndrome. *European journal of pediatrics*, 171, 11-15.
76. Colah, R. B., Surve, R., Sawant, P., D'souza, E., Italia, K., Phanasgaonkar, S., ... & Gorakshakar, A. C. (2007). HPLC studies in hemoglobinopathies. *The Indian Journal of Pediatrics*, 74, 657-662.
77. Akman, T., ÇAVDAR, C., Özcan, M. A., & PİŞKİN, Ö. (2012). Favizm sonucu gelişen akut böbrek yetmezliği: olgu sunumu ve literatür derlemesi. *Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 26(1), 45-50.
78. Lee, S. W. H., Lai, N. M., Chaiyakunapruk, N., & Chong, D. W. K. (2017). Adverse effects of herbal or dietary supplements in G6PD deficiency: a systematic review. *British journal of clinical pharmacology*, 83(1), 172-179.
79. Ibrahim, H., Perl, A., Smith, D., Lewis, T., Kon, Z., Goldenberg, R., ... & Williams, M. (2020). Therapeutic blockade of inflammation in severe COVID-19 infection with intravenous N-acetylcysteine. *Clinical Immunology*, 219, 108544.
80. Hafez, M., Amar, E. S., Zedan, M., Hammad, H., Sorour, A. H., El-Desouky, E. S. A., & Gamil, N. (1986). Improved erythrocyte survival with combined vitamin E and selenium therapy in children with glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency and mild chronic hemolysis. *The Journal of pediatrics*, 108(4), 558-561.

81. Makarona, K., Caputo, V., Roper, D., Costa, J., Cowan, G., Chaidos, A., ... & Karadimitris, A. (2012). Gene-Selective Histone Hyperacetylation and Enhanced Sp1 Occupancy Underpin Transcriptional Modulation of Genes of the Glycolytic-Pentose Phosphate Pathway in Response to Histone Deacetylase Inhibitors-Therapeutic Implications. *Blood*, 120(21), 977.
82. Bain, B. J., Myburgh, J., Lund, K., & Chaidos, A. (2023). G6PD deficiency in patients identified as female. *American Journal of Hematology*, 98(2), 359.
83. Singh, N., Kapadia, A. B., Sharma, P., Das, R., Jain, K., Sachdeva, M. U. S., ... & Varma, N. (2020). Molecular Characterization of G6PD Deficiency at a North Indian Centre: Implications for Diagnostic Testing Laboratories in Different Regions of India. *Indian Journal of Hematology and Blood Transfusion*, 36, 766-768.
84. Koromina, M., Pandi, M. T., van der Spek, P. J., Patrinos, G. P., & Lauschke, V. M. (2021). The ethnogeographic variability of genetic factors underlying G6PD deficiency. *Pharmacological Research*, 173, 105904.
85. He, Y., Zhang, Y., Chen, X., Wang, Q., Ling, L., & Xu, Y. (2020). Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in the Han Chinese population: molecular characterization and genotype–phenotype association throughout an activity distribution. *Scientific Reports*, 10(1), 17106.
86. Sirdah, M., Reading, N. S., Perkins, S. L., Shubair, M., Aboud, L., & Prchal, J. T. (2012). Hemolysis and Mediterranean G6PD mutation (c. 563 C> T) and c. 1311 C> T polymorphism among Palestinians at Gaza Strip. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 48(4), 203-208.
87. Sirdah, M. M., Shubair, M. E., Al-Kahlout, M. S., Al-Tayeb, J. M., Prchal, J. T., & Reading, N. S. (2017). Possible association of 3' UTR+ 357 a> G, IVS11-nt 93 T> C, c. 1311 C> T polymorphism with G6PD deficiency. *Hematology*, 22(6), 370-374.
88. Mortazavi, Y., Chopra, R., Gordon-Smith, E. C., & Rutherford, T. R. (1997). Frequency of the G6PD nt 1311 C/T polymorphism in English and Iranian

- populations: relevance to studies of X chromosome inactivation. *Journal of medical genetics*, 34(12), 1028-1029.
89. Jabłońska-Skwiecińska, E., Zimowski, J. G., Kłopocka, J., Bisko, M., Hoffman-Zacharska, D., & Zaremba, J. (1997). Erythrocyte glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Poland-a study on the 563 and 1311 mutations of the G6PD gene. *European Journal of Human Genetics*, 5(1), 22-24.
 90. Čikeš, V., Abaza, I., Krželj, V., Terzić, I. M., Tafra, R., Trlaja, A., ... & Terzić, J. (2004). Prevalence of factor V Leiden and G6PD 1311 silent mutations in Dalmatian population. *Archives of medical research*, 35(6), 546-548.
 91. Beutler, E., & Vulliamy, T. J. (2002). Hematologically important mutations: glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Blood cells, molecules, and diseases*, 28(2), 93-103.
 92. Howes, R. E., Dewi, M., Piel, F. B., Monteiro, W. M., Battle, K. E., Messina, J. P., ... & Hay, S. I. (2013). Spatial distribution of G6PD deficiency variants across malaria-endemic regions. *Malaria journal*, 12(1), 1-15.
 93. Gandomani, M. G., Khatami, S. R., Reza, S., Nezhad, K., Daneshmand, S., & Mashayekhi, A. (2011). Molecular identification of G6PD Chatham (G1003A) in Khuzestan province of Iran. *Journal of Genetics*, 90(1), 143.
 94. Al-Sweedan, S. A., & Awwad, N. (2012). Molecular characterization of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency among Jordanians. *Acta haematologica*, 128(4), 195-202.
 95. Reading, N. S., Sirdah, M. M., Shubair, M. E., Nelson, B. E., Al-Kahlout, M. S., Al-Tayeb, J. M., ... & Prchal, J. T. (2016, November). Clinical Significance of G6PD Variants among Palestinians. In *JOURNAL OF MOLECULAR DIAGNOSTICS* (Vol. 18, No. 6, pp. 952-952). 360 PARK AVE SOUTH, NEW YORK, NY 10010-1710 USA: ELSEVIER SCIENCE INC.
 96. Sirdah, M., Reading, N. S., Vankayalapati, H., & Prchal, J. T. (2021). A computational study of structural differences of binding of NADP+ and G6P substrates to G6PD Mediterranean. 563T, G6PD A- c. 202A/c. 376G,

- G6PD Cairo. 404C and G6PD Gazac. 536A mutations. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 89, 102572.
97. Yoshida, A., Baur, E. W., & Moutlsky, A. G. (1970). A Philippino glucose-6-phosphate dehydrogenase variant (G6PD Union) with enzyme deficiency and altered substrate specificity. *Blood*, 35(4), 506-513.
98. Ainoon, O., Yu, Y. H., Amir Muhriz, A. L., Boo, N. Y., Cheong, S. K., & Hamidah, N. H. (2003). Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) variants in Malaysian Malays. *Human mutation*, 21(1), 101-101.
99. Di Montemuros, F. M., Dotti, C., Tavazzi, D., Fiorelli, G., & Cappellini, M. D. (1997). Molecular heterogeneity of glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) variants in Italy. *Haematologica*, 82(4), 440-445.
100. Faiyaz-Ul-Haque, M., Zaidi, S. H. E., Hasanato, R. M., Al-Abdullatif, A., Cluntun, A., Teresita, G., ... & Bhuiyan, J. A. K. M. (2010). Genetics of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in Saudi patients. *Clinical genetics*, 78(1), 98-100.
101. Koralkova, P., Mojzikova, R., van Oirschot, B., Macartney, C., Timr, P., Corrons, J. L. V., ... & van Wijk, R. (2016). Molecular characterization of six new cases of red blood cell hexokinase deficiency yields four novel mutations in HK1. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 59, 71-76.
102. Minucci, A., Moradkhani, K., Hwang, M. J., Zuppi, C., Giardina, B., & Capoluongo, E. (2012). Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutations database: review of the "old" and update of the new mutations. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 48(3), 154-165.
103. Dorgalaleh, A., Shahzad, M. S., Younesi, M. R., Moghaddam, E. S., Mahmoodi, M., Varmaghani, B., ... & Alizadeh, S. (2013). Evaluation of liver and kidney function in favism patients. *Medical journal of the Islamic Republic of Iran*, 27(1), 17.
104. Helene Ørstavik, K. (2006). Skewed X inactivation in healthy individuals and in different diseases. *Acta Pædiatrica*, 95, 24-29.

105. Settin, A., Al-Hagggar, M., Al-Baz, R., Yousof, H., & Osman, N. (2006). Screening for G6PD Mediterranean mutation among Egyptian neonates with high or prolonged jaundice. *Haema*, 9(1), 83-90.
106. Onori, H., Poladi, D., Valizadeh, M., Fathi, A., Damandan, M., & Moradpour, R. (2020). Molecular Identification of G6PD Chatham (1003 G>A) in North-West Iran. *Jorjani Biomedicine Journal*, 8(3), 27-35.



8.ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı Soyadı : Onur Recep GÜNDÜZ

Yabancı dili : İngilizce

II- Eğitimi:

2021-2023: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

2020-2021: Adıyaman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı

2011-2017: Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesi

2007-2011: Adıyaman Anadolu Öğretmen Lisesi

III-Ünvanları:

2017: Tabip

2024: Uzman Tabip

IV- Mesleki Deneyimi:

2021-2023: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı / Asistan Hekim

2020-2021: Adıyaman Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıbbi Genetik Anabilim Dalı / Asistan Hekim

2017-2019: Sağlık Bakanlığı Türkiye Kamu Hastaneleri Kurumu Başkanlığı Muş İli Korkut İlçe Devlet Hastanesi / Pratisyen Hekim

V-Bilimsel İlgili Alanları ve Yayınları (Ulusal ya da uluslararası makale, poster, bildiri, kitap, kitap bölümü vb.)

Uluslararası Kongrelerde Sözlü Sunumları:

1-Onur Recep Gündüz, Canan Ceylan Köse, Fatma Sılan/ A rare Malpuech, Mignarelli, Michels, Carnevale Syndrome (3MC Syndrome);Novel variant in the MASP1 gene / European Biotechnology Congress 2022 5-7 Ekim 2022 Prag/Çek Cumhuriyeti

Ulusal ya da Uluslararası Kongrelerde Poster Sunumları:

1-Onur Recep Gündüz, Özden Öztürk, Haydar Bağış / The ATM gene pathogenic variant associated with ataxia-telangiectasia / 14. Ulusal Tıbbi Genetik Kongresi 20-22 Kasım 2022 E-kongre

2- Onur Recep Gündüz, Ahmet Kablan, Nihan Ecmel Akbaş, Fatma Sılan, Öztürk Özdemir / The role of balanced chromosomal translocation in the etiology of habitual abortion and the importance of traditional karyotype analysis in definitive diagnosis:Case report / 6.Uluslararası Katılımlı Erciyes Tıbbi Genetik Kongresi 16-18 Eylül 2021 Kayseri / Türkiye

3- Onur Recep Gündüz, Selda Işık Mermutlu, Canan Ceylan Köse, Fatma Sılan / A rare syndrome from Canakkale; Kindler Syndrome with loss of heterozygosity of FERMT1 gen region / 7. Uluslararası Katılımlı Erciyes Tıbbi Genetik Kongresi 26-28 Mayıs 2022 Kayseri / Türkiye