

Beta talasemi major prenatal tanı analizi yapılan üçüz olgu

Analysis of prenatal diagnosis of beta thalassemia major in the case of triplets

Hazan F¹ Dursun G² İtirli G² Yalaza C² Onay H³ Akercan F⁴ Özkınay F³¹Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Genetik, İzmir Türkiye²Ege Üniversitesi Mühendislik Fakültesi, Biyomühendislik Bölümü, İzmir, Türkiye³Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye⁴Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi, Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı, İzmir, Türkiye**Özet**

Beta talasemi, beta globin zincir sentezinin azalması ya da yokluğu ile karakterize olan kalıtsal bir kan hastalığıdır. Türkiye'de önemli bir sağlık sorunu olan beta talasemi hastalığına en sık neden olan mutasyon, HBB geni IVS I-110 (G>A) mutasyonudur. Prenatal tanı işlemi ilk basamak, her iki ebeveynin de taşıyıcı olduğunun genetik analiz ile gösterilmesidir. Hastalığın prenatal tanısında uygulanan yöntem, fetal DNA'nın polimeraz zincir reaksiyonu ile çoğaltılması ve HBB geninin mutasyon analizidir. Biz burada, üçüz gebeliği olan beta talasemi taşıyıcısı anne ve baba ile prenatal tanıda homozigot beta talasemi olduğunu gösterdiğimiz bir fetus ve heterozigot beta talasemi olan iki fetusu sunuyoruz. Hasta fetus için, selektif fetosit işlemi yapıldı. Bu aileyi, ülkemizde taşıyıcılık oranı yüksek olan beta talasemi major hastalığının, moleküler genetik yöntemlerle prenatal tanısının mümkün olduğunu vurgulamak ve üçüz gebelik gibi kompleks olgularda, etkilenmiş fetusların eliminasyonu için izlenen yolu gösterebilmek amacıyla sunuyoruz.

Anahtar Sözcükler: Beta talasemi majör, prenatal tanı, fetosit.

Summary

Beta thalassemia is a hereditary blood disease that is characterized by reduction or absence of beta-globin chain synthesis. The most common mutation, which causes beta thalassemia and is an important health problem in Turkey, was IVS I-110 in the HBB gene. The first step in prenatal diagnosis is to show through genetic analysis that both parents are carriers of the disease. The method for prenatal diagnosis of the disease is multiplying the fetal DNA by making use of the Polymerase-Chain-Reaction and mutation analysis of the HBB gene. Presented in this case study are: father and mother, both carriers of the disease, mother pregnant with triplets, one of the fetuses prenatally diagnosed to have homozygote beta-thalassemia and the other two fetuses with heterozygote beta- thalassemia. The sick fetus has been eliminated through selective feticide. This family is presented in order to emphasize the importance of prenatal diagnosis of beta thalassemia as a major disease, which has a high carrier ratio in our country, through molecular genetic analysis is possible and also to show a way to eliminate sick fetuses in complex cases such as triplet pregnancies.

Key Words: Beta thalassemia major, prenatal diagnosis, feticide.

Giriş

Talasemiler, hemoglobin yapısında bulunan globin zincirlerindeki hatalı üretime bağlı olarak ortaya çıkan anemi sendromlarıdır (1). En sık alfa ve beta talasemi görülür (2). Otozomal resesif kalıtılan beta talasemi hastalığından sorumlu olan gen, 11. Kromozom kısa kolu üzerinde lokalize (11p15.5) ve 3 ekzon, 2 intron ile 5' ve 3' düzenleyici bölgelerden oluşan HBB genidir (3).

HBB geninde, bugüne kadar 200'den fazla mutasyon tariflenmiştir (4). Beta talaseminin en sık nedeni, nokta mutasyonlarıdır (5). Nokta mutasyonları, RNA transkripsiyonunun başlamasını, RNA işlenmesini ve RNA stabilitesini önleyerek, normal RNA globin sentezini önler (6). Türkiye'de en sık, bir nokta mutasyonu olan IVS I-110 (G>A) mutasyonu (%40) görülür (7-9). Beta talasemi taşıyıcılığı, Türkiye genelinde %2 olmakla birlikte, bu oran bazı bölgelerde %10'a kadar çıkmaktadır (10,11). Akriba evliliğinin sıklığı ve yüksek doğum hızı, beklenenin üzerinde talasemi hastası çocuk doğmasının nedenidir (5,8). Henüz kesin bir tedavisi olmayan beta talasemi hastalığında genetik danışma ve

Yazışma Adresi: Filiz HAZAN

Dr. Behçet Uz Çocuk Hastalıkları ve Cerrahisi Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Tıbbi Genetik, İzmir, Türkiye

Makalenin Geliş Tarihi: 09.03.2011 Kabul Tarihi: 30.06.2011

prenatal tanı, riskli aileler için büyük önem taşımaktadır (1, 2).

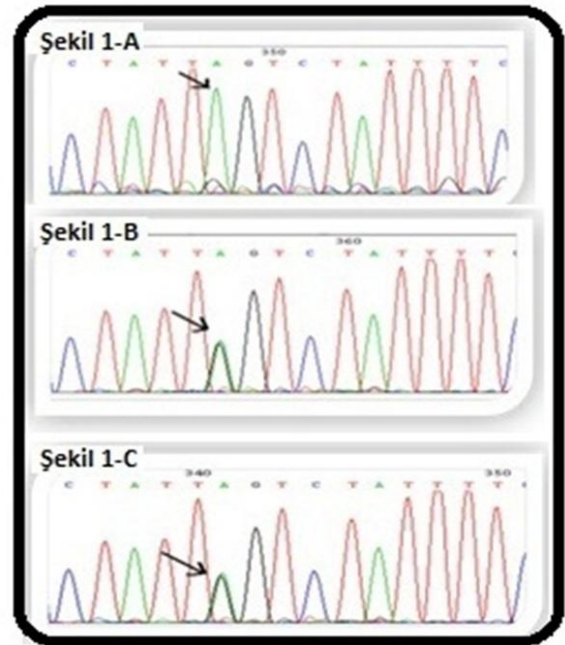
Talasemi hastalığında ilk prenatal tanı, 1975 yılında fetal kan örneğinde invitro hemoglobin zincir sentezi ile konmuştur (1). Bugün için hastalığın prenatal tanısında güncel olan, fetal DNA'nın PCR (polimeraz zincir reaksiyonu) ile çoğaltılması ve HBB geninin mutasyon analizidir (1,2). Prenatal tanıda uygulanan invaziv girişimler; koryon villus biyopsisi (CVS) (11-13 hafta), amniosentez (16-18 hafta) ve kordosentez (18-22 hafta) olmakla birlikte, erken tanıya imkan verdiği için ilk tercih edilen yöntem CVS'dir. Prenatal tanı ile beta talasemi major hastalığına sebep olan homozigot mutasyon ya da birleşik heterozigot mutasyon saptanması durumunda, gebeliğin sonlandırılması endikasyonu vardır (1).

Biz burada, üçüz gebeliği olan anne ve baba adayı ile fetuslarda, beta talasemi hastalığı prenatal tanısında yapılan işlemleri, üçüz gebelik gibi kompleks olgularda izlenen yolu gösterebilmek amacıyla sunuyoruz.

Olgular

İlk defa, 17. Gebelik haftasında beta talasemi taşıyıcılığı şüphesi ile Tıbbi Genetik polikliniğine yönlendirilen anne (27 yaş) ve baba (28 yaş) adayı arasında akrabalık yoktu. Bir sağlıklı erkek çocukları bulunmaktaydı. Gebeliği spontan gerçekleşen gebenin ilk değerlendirmesinde, fizik muayene ve rutin laboratuvar bulgularının normal olduğu saptandı. Son adet tarihine göre, 17 haftalık gebeliği olan anne adayının obstetrik ultrasonografisinde, üçüz gebelik olduğu görüldü. Trikorionik, triamniotik gebeliği olan anne adayında, Hb:10.5 g/dL, MCV: 68 μm^3 , MCH: 22 pg, RBC: 5.2 $10^6/\text{mm}^3$, HbA2: %5.6, HbF:%2.5, baba adayında Hb: 10.2 g/dL, MCV: 66 μm^3 , MCH: 25 pg, RBC: 4.9 $10^6/\text{mm}^3$, HbA2: % 4.9, HbF: % 2,8 olarak bulundu. Reverse hibridizasyon dot-blot analizi ile HBB geninde, 22 mutasyon tarama analizi ile her iki ebeveynde de heterozigot IVS I-110 (G>A) mutasyonu saptandı. Beta talasemi major hastalığı için taşıyıcı olan anne ve baba adayına, genetik danışma verildi. Fetuslarda hastalık riski olduğu belirtilerek, prenatal tanıda uygulanabilecek amniosentez işlemi ile genetik tanı yöntemleri ve olası riskler anlatıldı. Aileden alınan onam formu ile gebeliğin 18. Haftasında, amniosentez işlemi yapıldı. Her bir fetusa ait amnion sıvı materyalinden, fetal DNA elde edildi. Araştırılacak HBB gen bölgesi PCR ile çoğaltıldıktan sonra, reverse hibridizasyon dot-blot analizi ile sağ fetusta heterozigot IVS I-110 (G>A) mutasyonu, sol fetusta homozigot IVS I-110 (G>A) mutasyonu, alt fetusta heterozigot IVS I-110 (G>A) mutasyonu saptandı. Prenatal genetik tanı doğrulamak amacı ile uygulanan HBB geninin dizi analizinde de aynı sonuçlar elde edildi (Şekil-1). Heterozigot IVS I-110 (G>A) mutasyonu saptanan sağ fetus ve alt fetus DNA'ları ile anne kan DNA'sı kontaminasyon riski için,

kimerizm analizi yapıldı. Kişiler arasında farklılıklar gösteren DNA kısa tekrar bölgeleri (short tandem repeat; STR) kullanılarak yapılan kimerizm analizinde, anne ve baba adayı ile fetal DNA'ların karşılaştırması yapıldı. Anne kanı kontaminasyonu olmadığı gösterildi. Üç fetus için yapılan karyotip analizleri, normal olarak saptandı. Beta talasemi majör hastalığı saptanan fetus (sol fetus) için, etik kurulda aile onamı alınarak fetosit yapılabileceği kararı alındı ve 20. gebelik haftasında fetosit işlemi yapıldı. İşlem sırasında, sol fetustan alınan kan örneği ile homozigot IVS I-110 (G>A) mutasyonu olduğu doğrulandı.



Şekil-1: HBB gen dizi analizi sonucu. Şekil I-A: Sol fetus homozigot IVS 1.110 G>A mutasyonu. Şekil I-B: Sağ fetus heterozigot IVS 1.110 G>A mutasyonu. Şekil I-C: Alt fetus heterozigot IVS 1.110 G>A mutasyonu.

Tartışma

Beta talasemi, beta globin zincir sentezinin azalması ya da yokluğu ile karakterize olan kalıtsal bir kan hastalığıdır (4). Sıklıkla Akdeniz bölgelerinde görüldüğü için, Akdeniz anemisi olarak da adlandırılır. Türkiye'de, 35 mutasyon bildirilmiş olmakla birlikte, beta talasemi prevalansı ve mutasyon dağılımı, farklı bölgelere göre çeşitlilik göstermektedir (8,10). IVS I-110 (G>A), Türkiye'de en sık görülen mutasyondur (%40) (8-10). Mutasyon sıklığı, Orta Anadolu'da %50 olmakla birlikte Doğu ve Güneydoğu bölgelerinde %25 e düşmektedir (5). Türk popülasyonunda diğer sık görülen mutasyonlar; IVS I-6 (T>C), IVS I-1 (G>A), IVS II-745 (C>G) olarak bildirilmiştir (7,11).

Beta talasemi, tedavi maliyeti oldukça yüksek olan bir hastalıktır (11,12). Prenatal dönemde ultrasonografik

bulgusu olmayan bu hastalıkta, riskin belirlenmesi ve prenatal tanı işleminin yapılabilmesine karar vermede ilk basamak, her iki ebeveynin de taşıyıcı olduğunun gösterilmesidir (1,11). Günümüzde prenatal tanı konulabilen ve medikal abortus uygulanma endikasyonu olan bu hastalık tanısında, en çok tercih edilen invaziv girişim CVS'dir. CVS yönteminin ilk tercih edilmesinin sebebi, tanının daha erken konulabilmesine ve eğer gerekli olursa gebelik terminasyonun erken ve daha kolay gerçekleşmesine olanak sağlamasıdır (1). Diğer prenatal tanı yöntemleri, amniosentez (16-18 hafta) ve kordosentezdir (18-22 hafta) (1). Gebelik haftasına göre uygun invaziv girişim seçildikten sonra, fetal DNA elde edilir ve HBB geninin mutasyon analizi yapılacak bölgenin PCR ile çoğaltılması yapıldıktan sonra, moleküler genetik analiz yapılır. Genetik analizde ilk tercih edilen yöntem, reverse dot-blot analizidir. Prenatal tanıda, ikinci bir tanı doğrulama yöntemi olarak, HBB geninin dizi analizi yapılmaktadır (1,6). DNA dizi analizi, diğer yöntemlerle tanımlanamayan mutasyonların belirlenmesinde de en etkili yoldur (6). Tek gen hastalığı nedeniyle yapılan prenatal tanı işleminde, rutin sitogenetik analizin de yapılması, birçok merkezde uygulanmaktadır (11,13). Bir sağlıklı çocukları olan ve polikliniğimize başvurduğunda üçüz gebeliği bulunan anne ve baba adayının taşıyıcı olduğu daha önce saptanmamış ve dolayısı ile aile, daha önceki gebelikleri için genetik danışma ile bilgilendirilmemişlerdi. Türkiye'de en sık görülen HBB gen mutasyonu IVS I-110 (G>A) taşıyıcısı olan baba ve annenin ilk değerlendirmesi 17. gebelik haftasında olduğu için, prenatal tanı yöntemi olarak amniosentez yapıldı. İki farklı genetik analiz yöntemi ile beta talasemi major olduğu saptanan fetusa, selektif fetosit işlemi yapıldı ve fetosit işlemi sonrasında, alınan fetal kan ile homozigot mutasyon olduğu doğrulandı. Heterozigot IVS I-110 (G>A) mutasyonu olan diğer iki fetus için de maternal kontaminasyon olmadığı, kimerizim analizi ile gösterildi. Her üç fetus için yapılan sitogenetik analiz sonuçları normaldi.

Üçüz gebelikte, maternal ve fetal komplikasyon riski yüksektir (14). En sık maternal komplikasyonlar; preeklampsi, trombositopeni, anemi, gestasyonel diyabet, intrahepatik kolestaz olarak bildirilmiştir (14,15). Qazi ve ark. 2011 yılında yaptıkları çalışmada, çoğul gebelikte en sık neonatal komplikasyonun, düşük doğum ağırlığı ve en sık neonatal ölüm nedeninin, prematüre olduğunu bildirmişlerdir (16). Hruby ve ark. 122 üçüz gebeliği değerlendirdiklerinde, 1500 gramın altında doğum oranını %38 olarak saptamışlar ve neonatal sık görülen komplikasyonların sepsis ve/veya pnömoni (%25.5), respiratuar distres (%17.1), sarılık (%11.4) olduğunu bildirmişlerdir (14). Fetus sayısı arttıkça, prematür doğum oranı da artmaktadır (14,17). Çoğul gebeliklerde, maternal ve fetal komplikasyonları azaltmak için fetosit

işlemi yapılmaktadır (15). Ancak üçüz gebelikte fetosit işlemi hala tartışmalıdır (18). Wang ve ark. çoğul gebeliklerde 2. trimesterde selektif fetosit işlemi yaptıkları 37 gebenin ve infantların değerlendirildiği çalışmada, düşük doğum ağırlığı, prematüre, preeklampsi riskinin azaldığını göstererek, fetosit işlemi önermektedirler (17). Ancak Kadhel ve ark. 24 üçüz gebelik olgusu ve 17 üçüz gebelik iken selektif fetosit ile ikiz gebelik olarak devam ettirilen olguları değerlendirdikleri çalışmada, prematür doğum oranı ve yenidoğan yoğun bakım ünitesinde hospitalize edilme süresini, fetosit yapılan gebeliklerde düşük bulurken, ileri derece prematüre (32. haftadan önce), perinatal mortalite, erken membran rüptürü, preeklampsi, maternal postpartum hospitalizasyon süresi açısından, iki grup arasında fark saptamamışlardır (19). Leondires ve ark. 2000 yılında yaptığı çalışmada, 81 üçüz gebelik olgusu ve 46 üçüz gebelik iken selektif fetosit ile ikiz gebelik olarak devam ettirilen olguların değerlendirmesi yapılmış ve neonatal sağkalım açısından iki grup arasında fark olmadığı görülmüştür (20). Selektif fetosit komplikasyonu olarak preterm gebelik kaybı, prematür doğum, erken membran rüptürü, plasental ya da myometrial kanamalar bildirilmiştir. Daha nadir olarak plasental abrupsiyon, korioamnionit, amniotik bant sendromu görülebilmektedir (21).

Talasemi hastalığı ile birlikte Hurler, Tay-Sacks, hemofili A, spina bifida, mikrosefali gibi birçok genetik hastalıklarda da selektif fetosit uygulanabilmektedir (15). Çoğul gebeliklerde, 2. trimesterde anomali olan fetusa fetosit işlemi uygulanması, komplikasyonları azaltmakta ve fetus doğum ağırlığının artmasını sağlamaktadır (17). Brambati ve ark. dördüz gebelikte beta talasemi için yapılan prenatal genetik analizde, bir fetusta beta talasemi major saptayarak fetosit işlemi gerçekleştirmişlerdir. Taşıyıcı olan diğer üç fetusun sağlıklı bir şekilde doğumu olduğunu belirterek, çoğul gebeliklerde beta talasemi major saptanması durumunda selektif fetosit yapılması gerektiğini vurgulamaktadırlar (22). Çoğul gebeliklerde selektif redüksiyon işlemi, 10-12. haftalarda uygulanmaktadır. İşlemin daha geç uygulanması durumunda, fetal kayıp riski artmaktadır (18). Biz fetosit işlemi, fetusta beta talasemi major hastalığı saptanması nedeniyle uyguladık. Gebenin ilk doktora başvurusu, 17. Gebelik haftasında olduğu için bu olguda fetosit işlemi geç yapıldı. Fetosit işleminin komplikasyonları ve sonuçları, genetik danışma sırasında aileye anlatıldı.

Sonuç olarak, Türkiye'de önemli bir sağlık sorununu olan beta talasemi hastalığının yayılmasının kontrolü; taşıyıcıların saptanması, genetik danışma ile bilgilendirilmesi ve prenatal tanı aracılığı ile mümkündür. Çoğul gebelik olması durumunda, beta talasemi major hastalığının tanısı prenatal olarak yapılabilmekte ve selektif fetosit işlemi gerçekleştirilebilmektedir.

Kaynaklar

1. Gümrük F. Hemoglobin ve hemoglobinopatiler. In: Iliçin G, Unal S, Biberöglü K, Akalın HE, Süleymanlar G, (eds). Temel İç Hastalıkları. 1. baskı. Ankara; Güneş Kitabevi Ltd.;1996:1233-43.
2. Kutlu M, Çekmiş H, Başak M, ve ark. Talasemiler. Medical Journal of Bakırköy 2006;2(2):33-40.
3. Thein SL. β -thalassemia. In: Higgs DR, Weatherall DJ, (eds). Bailliere's Clinical Haematology. London; 1993;151-75.
4. Galanello R, Origa R. Orphanet J. Beta-thalassemia. Orphanet J Rare Dis 2010;21(1):5-11.
5. Tadmouri GO, Başak AN. β -thalassemia in Turkey: A review of the clinical epidemiological molecular and evolutionary aspects. Hemoglobin 2001;25(2):227-39.
6. Rund D, Rachmilewitz E. Pathophysiology of α - and β - thalassemia: Therapeutic implications. Sem Hematol 2001;38(4):343-9.
7. Yılmaz B, Balım Z, Özkınay F, ve ark. Beta talasemi mutasyon tiplerinin moleküler analizi. Ege Tıp Dergisi 2000; 39(3):153-7.
8. Tadmouri GO, Tuzmen S, Özçelik H, et al. Molecular and population genetic analysis of β -thalassemia in Turkey. Am J Hematol 1998;57(3):215-20.
9. Başak AN, Özçelik H, Ozer A, et al. The molecular basis of β -thalassemia in Turkey. Hum Genet 1992;89(3):315-8.
10. Arcasoy A, Canatan D. Dünyada ve Türkiye'de talasemi ve hemoglobinopatiler. In: Arcasoy A, Canatan D, Köse M, Üstündag M (eds). Hemoglobinopati ve Talasemi, Önlem-Tanı-Tedavi. Antalya: Siyah Grafik Matbaacılık Ltd. Sti.; 2002:13-7.
11. Mendilcioglu I, Yakut S, Keser I, Simsek M, Yesilipek A, Bağcı G, Luleci G. Prenatal diagnosis of β -thalassemia and other hemoglobinopathies in southwestern Turkey. Hemoglobin 2011;35(1):47-55.
12. Chern SR, Chen CP. Molecular prenatal diagnosis of thalassemia in Taiwan. Int J Gynaecol Obstet 2000;69(2):103-6.
13. Tse KY, Leung WC, Leung KY, et al. Full karyotyping, rapid aneuploidy diagnosis or both when invasive prenatal testing is performed for diagnosis of thalassaemia? Mol Hum Reprod 2006;12(1):55-9.
14. Hruby E, Sassi L, Görbe E, Hupuczı P, Papp Z. The maternal and fetal outcome of 122 triplet pregnancies. Orv Hetil 2007;148(49):2315-28.
15. Rosner F. Pregnancy reduction in Jewish law. J Clin Ethics 1990;1(3):181-6.
16. Qazi G. Obstetric and perinatal outcome of multiple pregnancy. J Coll Physicians Surg Pak 2011;21(3):142-5.
17. Wang XT, Li HY, Feng H, Zuo CT, Chen YQ, Li L, Wu ML. Clinical study of selective multifetal pregnancy reduction in second trimester. Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi 2007;42(3):152-6.
18. Lipitz S, Shulman A, Achiron R, Zalel Y, Seidman DS. Comparative study of multifetal pregnancy reduction from triplets to twins in the first versus early second trimesters after detailed fetal screening. Ultrasound Obstet Gynecol 2001;18(1):35-8.
19. Kadhel P, Olivennes F, Fernandez H, Vial M, Frydman R. Are there still obstetric and perinatal benefits for selective embryo reduction of triplet pregnancies? Hum Reprod 1998;13(12):3555-9.
20. Leondires MP, Ernst SD, Miller BT, Scott RT. Triplets: Outcomes of expectant management versus multifetal reduction for 127 pregnancies. Am J Obstet Gynecol 2000;183(2):454-9.
21. Gül A, Güngördük K, Yıldırım G, Gedikbasi A, Sargin A, Tekirdag AI, Ceylan Y. Bipolar cord coagulation in monozygotic twins discordant for major fetal anomalies. J Turkish German Gynecol Assoc 2008;9(1):24-8.
22. Brambati B, Formigli L, Tului L, Simoni G. Selective reduction of quadruplet pregnancy at risk of beta-thalassaemia. Lancet 1990; 24;336(8726):1325-6.