

# Talasemi Tedavisinde Alternatif Yöntem: “Moleküler Baskılama”

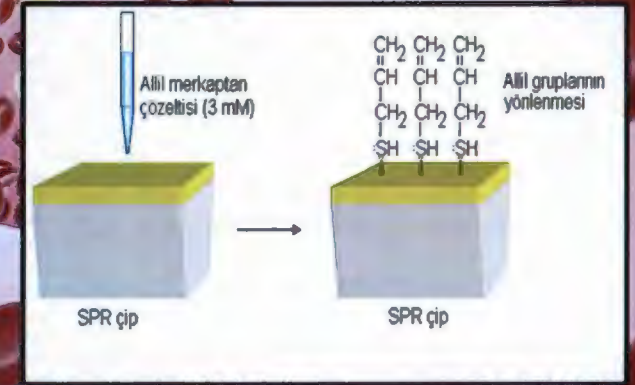
Akdeniz Anemisi(Talasemi) hastalığında kandan demir iyonlarının uzaklaştırılmasında alternatif bir yöntem olarak karşımıza çıkıyor.

Prof. Dr. Adil Denizli,  
Doç. Dr. Handan Yavuz  
Hacettepe Üniversitesi  
Fen Fakültesi Kimya Bölümü

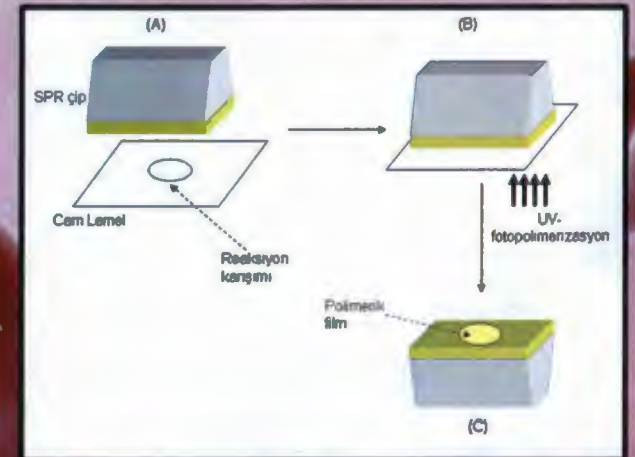
Dünyada en yaygın görülen genetik hastalık olan Akdeniz Anemisi her yıl yaklaşık 40 bin kişiyi tehdit ediyor. Bu hastalıkla mücadele edebilmek için her geçen gün yeni yöntemler geliştiriliyor. Bunlardan biri de Popüler Bilim Ocak sayısında ilk bölümünü yayınladığımız “moleküler baskılama” yöntemi. Moleküler baskılanmış polimerler, kandan bu hastalığa neden olan demir iyonlarının seçici olarak uzaklaştırılmasında önemli bir alternatif olarak gündeme gelmiştir.

## SPR Çiplerinin Hazırlanması

Grubumuzca yapılan araştırmalarda Hepatit B teşhisi için Hepatit B yüzey antitibi (HBsAb) baskılanmış SPR-temelli teşhis kiti hazırlanmış ve bu kitlele antiHBsAb pozitif insan plazmasından HbsAb bağlanması incelenmiştir. Moleküler baskılanmış teşhis kiti oluşturmak için çip yüzeyinin hazırlanması aşağıda şematik olarak gösterilmiştir.



1. SPR çiplerin alil merkaptan ile modifiye edilmesi ve alil grupların yönlendirilmesi

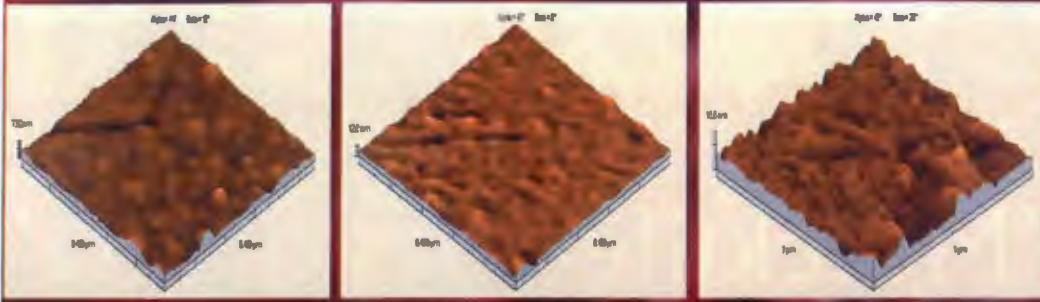


2. SPR çip yüzeyinde polimerik film hazırlanması.

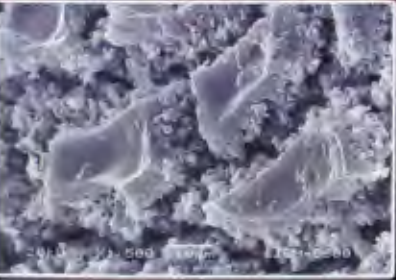
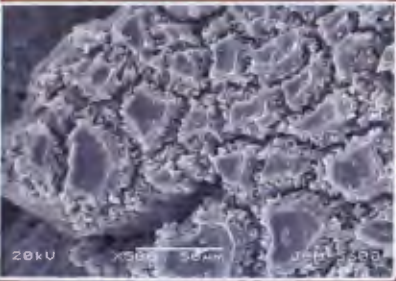
(A) lamele üzerine reaksiyon karışımı damlatılır (2.5 µL);

(B) SPR çip cam lamele üzerine yerleştirilir ve alttan UV-ışık uygulanır;

(C) cam lamele film oluşmuş SPR çip yüzeyinden ayrılır.



Atomik Kuvvet Mikroskop Görüntüleri (a) Altın çip yüzeyi; (b) alil merkaptan modifikasyonu; (c) polimerizasyondan sonra yüzey.



HBsAb baskılanmış polimerik yapının SEM fotoğrafları

Bu çalışma kapsamında SPR çip yüzeyinde HBsAb baskılanmış polimerik filmler hazırlanmıştır. Hazırlanan SPR temelli kit ile HBsAb arasındaki etkileşimleri incelemek için anti-HBsAb pozitif insan plazması kullanılmıştır. SPR sinyali ile antitibi derişimi arasındaki ilişkinin belirlenebilmesi için HBsAb pozitif insan plazması farklı oranlarda (1/1-1/100 arasında) seyreltilmiştir. Hazırlanan HBsAb baskılanmış-SPR sensörün ticari kitlerle karşılaştırılması için plazma örneklerinin anti-HBsAb derişimleri ELIZA ile de ölçülmüştür. Her iki yöntem ile elde edilen sonuçlar birbirine çok yakındır.

Bu sonuçlar, SPR-çip sensörün yüzde 99.7 doğrulukta 0-100 mIU aralığında plazmada anti-HBsAb'yi teşhis edebildiğini göstermektedir.

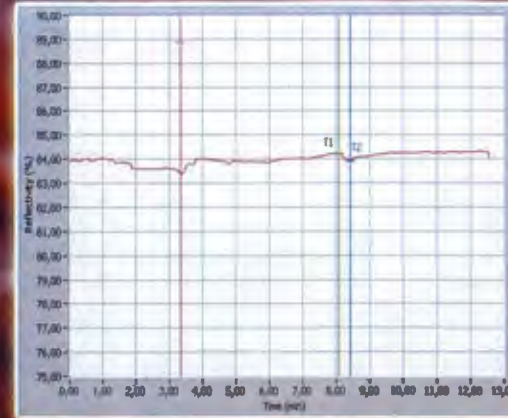
HBsAb baskılanmış SPR sensörlerin özgülüğünü göstermek amacıyla, anti-HBsAb negatif insan plazması ile çalışıldığında SPR sensörden herhangi bir sinyal alınmamıştır.

#### Tedavi Amaçlı Moleküler Baskılama:

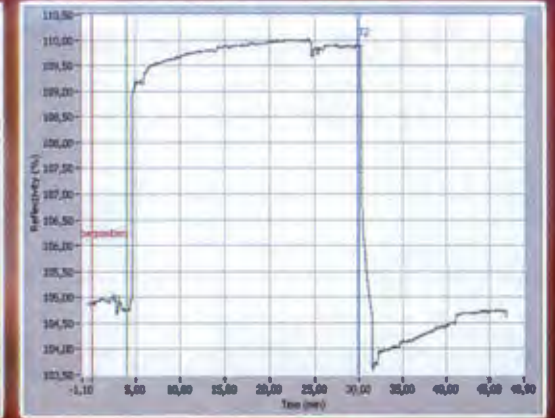
##### Talasemi Hasta Plazmasından Demir Uzaklaştırılması

Demir, elektron aktarımı, oksijen taşınması ve DNA sentezi gibi çok sayıda biyolojik işlemde yaşamsal öneme sahip bir elementtir. Besinlerden yetersiz demir alınması demire bağlı enzimatik tepkimelerin gerçekleşmesini engeller. Fizyolojik pH değerinde demir hidroksitlerin çözmesi, demirin hayvanlar ve diğer organizmalarca alınıp kullanılmasını güçleştirmektedir, bu nedenle, demirin çözünür, ve biyolojik olarak kullanılabilir şekilde kompleksleştirilip taşınması için doğa özel sistemler geliştirmiştir. Ayrıca, demir potansiyel toksisitesi nedeniyle de kompleksleştirilmelidir. Hücre içerisinde çok az miktarlarda bile serbest veya zayıf bağlanmış demirin verdiği zararlar bilinmektedir.

İnsan vücudunda 3-5 gram civarında demir bulunur. Demir dengesi, temel olarak demirin emiliminin düzenlenmesi ile sağlanır. Normal olarak günde 1-2 mg demir emilir ve aynı miktarda demir de boşaltım yoluyla organizmadan atılır. Ne yazık ki, insan demir dengesini sağlamakta güçlük çeken tek canlıdır ve hem demir eksikliği hem de demir fazlalığı kolaylıkla oluşabilir. Dünya nüfusunun yaklaşık yüzde 30'u anemidir ve yılda 40 binin üzerinde çocuk talasemi majör hastası olarak doğmaktadır.



HBsAb baskılanmış SPR çipinin kontrol sensogramları.



Anti-HBsAb pozitif insan plazması ile HBsAb baskılanmış SPR çipi arasındaki etkileşimlere ait sensogramları.

Talasemi (Akdeniz Anemisi) Dünya üzerinde en yaygın genetik hastalık olarak kabul edilmekte ve 150 milyon insanın talasemik fenotipe sahip olduğu bilinmektedir. Kansızlığın (anemi) oluşmasının nedeni; kanda bulunan alyuvarların (eritrositlerin) yapısını oluşturan "HEMOGLOBİN" yapısının kusurlu olmasıdır.

#### Hastalık 2 şekilde görülür:

**1. Talasemi Major:** Hastalığın ağır seyreden şeklidir. Genellikle, bebekler 6 aylık olunca, aniden ağır bir kansızlık oluşur ve bu nedenle kalp yetmezliği gelişir. Kalp yetmezliği; sık sık kan nakli ile önlenir. Kan nakli yapılmazsa, hastanın yaşam süresi çok kısadır. Kan nakli yetersiz yapılırsa; kemik iliğinin aşırı kan yapımı nedeniyle kemiklerde kırılmalar görülür. Çocuğun yüz şekli değişir, Alın ve elmacık kemikleri dışa doğru çıkar, burun kökü çöker, üst dişler öne fırlar. Kafa dört köşe olur, boy kısa kalır, çocuk ergenlik çağına giremez. Dalak ve karaciğer büyür, myokardit (myokardın iltihaplanması), kalp yetmezliği gibi kalp sorunları çocuğun daha ileri yaşlarda ölümüne neden olur. Kalp sorunlarına, kan nakilleriyle vücutta biriken fazla miktardaki demir neden olur.

**2. Talasemi Minör:** Talasemi Major'e göre çok daha hafif seyreder. İnsanlardaki tek bulgu; sadece kansızlıktır (tüm kansızlıklar talasemi değildir). En çok görülen kansızlık çeşidi olan "demir eksikliği anemisi" bu hastalıkla karıştırılmamalıdır. Bu hastalıkta da hastalar genelde halsizlikten şikayetçilerdir.

**Türkiye'de her yıl yaklaşık 750 bebek Akdeniz Anemisi ile doğuyor.**



(A) Kontrol

Her yıl yaklaşık üç yüz bin bebek hemoglobinopatili olarak doğmaktadır. Akdeniz havzasından Ortadoğu'ya Hindistan, Burma ve Güneydoğu Asya'ya kadar uzanan ve Dünya Talasemi Kuşağı olarak adlandırılan geniş bir bölgede bu hastalık yaygındır. Ülkemiz Dünya Talasemi Kuşağı içerisinde yer almaktadır. Taşıyıcılık oranı ülke genelinde yüzde 2.7 olmakla birlikte Akdeniz, Ege, Marmara bölgelerinde bu oran daha yüksektir.

Bu hastalığın tek tedavi yolu demir fazlalığı ile sonuçlanan, sık ve sürekli kan nakilleridir. Türkiye'de 5 bin civarında hasta bebek hemen her ay kan nakli yaptırmak zorundadır. İyi tedavi edilmeyen hastalarda yüz kemiklerinde değişiklikler, demir birikimine bağlı olarak da kalp, karaciğer, pankreas gibi organlarda bozukluklar ortaya çıkmaktadır. Araştırmalara göre bir hastanın yıllık maliyeti 10 bin dolar civarındadır. Ülkemiz doğum oranına göre de her yıl 700-750 yeni hasta beklenmektedir.

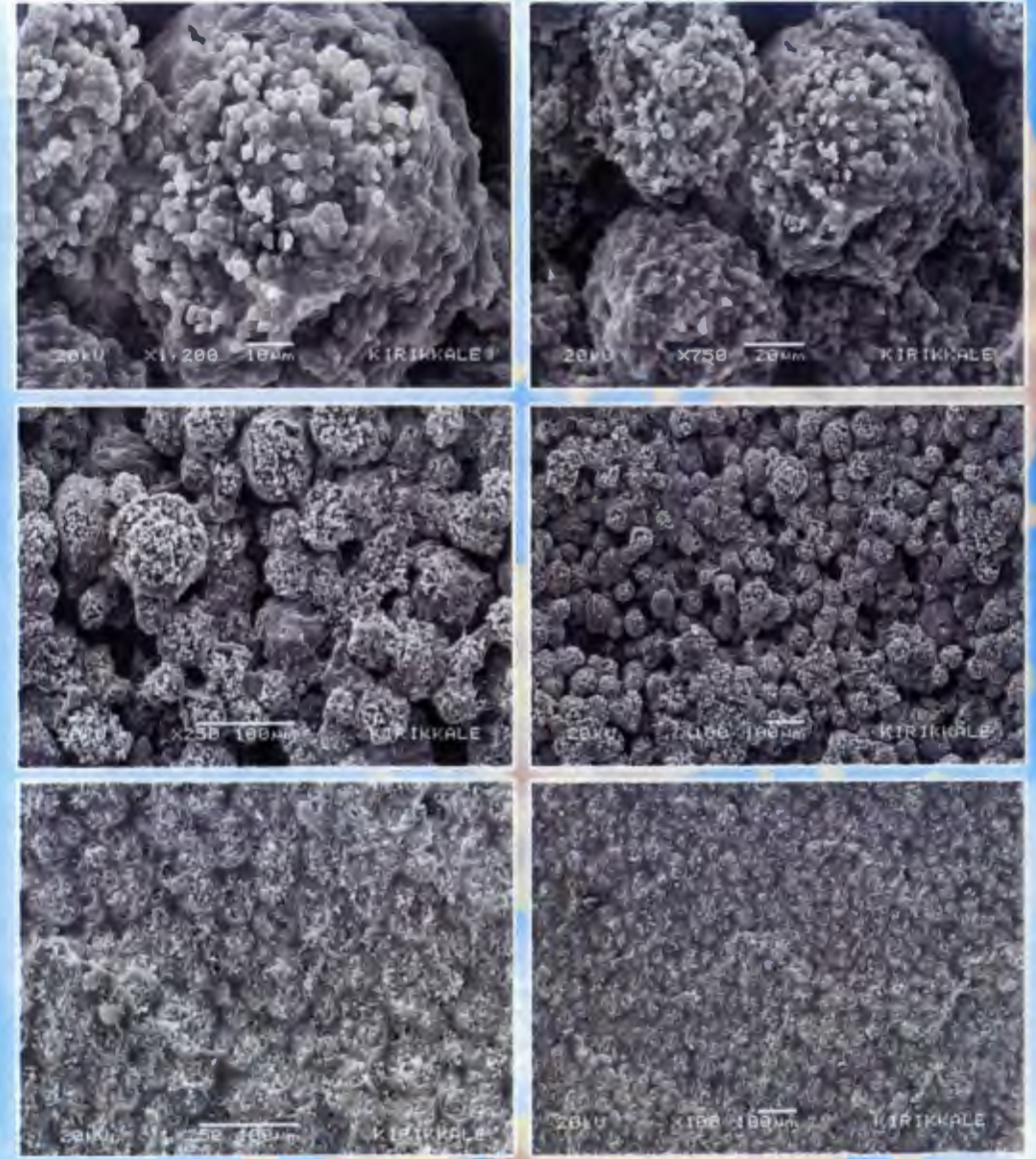
Demir tabletlerinin yanlışlıkla fazla alınmasıyla ortaya çıkan akut demir zehirlenmesi, demir fazlalığına bir diğer örnektir. İnsanlar için öldürücü doz vücut ağırlığı başına 200-250 mg'dır.

Demir fazlalığının giderilmesi için, tek yöntem "şelasyon" tedavisidir. Şelat oluşturan kimyasalların demir fazlalığının tedavisinde olduğu kadar, çok sayıda hastalığın tedavisinde de (kanser, sıtma ve serbest

radikallerin verdiği zararlar gibi) kullanıldığı bilinmektedir. Günümüzde bu amaçla kullanılan tek ilaç, desferriksamin B (DFO)'dır. Ancak bu ilaç, pahalı olması, uzun süreli infüzyon gerektirmesi, emiliminin düşük olması ve potansiyel toksisitesi gibi önemli dezavantajlara sahiptir.

Moleküler baskılanmış polimerler, kandan demir iyonlarının seçici olarak uzaklaştırılmasında önemli bir alternatif olarak gündeme gelmiştir. Bu kapsamda araştırma laboratuvarlarımızda Fe(III) iyonları baskılanmış monolitik kolonlar hazırlanmış ve talasemi hasta plazmasından demir iyonlarının seçici olarak uzaklaştırılması incelenmiştir.

MIP'e kandan Fe(III) adsorpsiyonu hızla gerçekleşmiş ve yaklaşık 50 dakikada MIP monolitdeki aktif bölgelerin doygunluğa ulaşmasıyla adsorpsiyon dengeye ulaşmıştır. Kronik diyalizde ortalama tedavi süresi yaklaşık 2-5 saattir. Tedavinin hızlı gerçekleşmesi oldukça önemlidir. Bu süre insan plazmasından demiri uzaklaştırmada ekstrakorporal tedavi için yeterli gözükmektedir. MIP monolitin plazmadan maksimum adsorpsiyonu 0.15 mg/g olarak gerçekleşmiştir. Plazmadan yarışmalı adsorpsiyon çalışmaları sonucunda Fe<sup>3+</sup> baskılanmış polimerin, Fe<sup>3+</sup> iyonlarına Ni<sup>2+</sup> iyonlarına göre 114.1 kat, Cd<sup>2+</sup> iyonlarına göre 193.7 kat daha seçici olduğunu göstermektedir.●



(B) Fe<sup>3+</sup> baskılanmış polimerlerin optik fotoğrafları