

Araştırma Makalesi

Mersin Univ Sağlık Bilim Derg 2022;15(2):320-327

doi:10.26559/mersinsbd.1111602

Beta talasemi hastalarında immatür granülosit sayısı kemik iliği aktivasyonunu değerlendirmede pratik bir belirteç olabilir mi?

 Banu İnce Durhan¹,  Feryal Karahan¹,  Aydan Akdeniz²,  Selma Ünal¹

¹Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Hematoloji Bilim Dalı, Mersin, Türkiye

²Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Hematoloji Bilim Dalı, Mersin, Türkiye

Öz

Amaç: Çalışmamızda çocuk ve erişkin beta talasemi major ve intermedia hastalarımızın immatür granülosit ve immatür granülosit yüzdelerinin kemik iliği aktivasyonlarını değerlendirmede pratik bir belirteç olarak kullanılıp kullanılmayacağını araştırmayı amaçladık. **Yöntem:** Ocak 2017-Aralık 2021 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk ve Erişkin Hematoloji kliniğinde takipli 38 Beta talasemi major ve 12 Beta talasemi intermedia hastasının yaş, hemoglobin (gr/dl), hematokrit, beyaz küre sayısı ($\times 10^3/\mu\text{L}$), trombosit değeri ($\times 10^3/\mu\text{L}$), immatür granülosit sayısı ($\times 10^3/\mu\text{L}$), immatür granülosit yüzdesi (%), ferritin değeri (ng/mL), şelasyon durumu, transfüzyon sıklığı ve düzeni, son bir yıldaki ortalama hemoglobin düzeyi gibi parametreleri incelendi. Düzenli transfüzyon alan ve almayan hastalar immatür granülosit sayısı, yüzdesi ve diğer parametreler açısından karşılaştırıldı. **Bulgular:** Hastalar çocuk ve erişkin olarak gruplandırıldığında; çocuk hastalarda son bir yıldaki hemoglobin düzeyi daha yüksek iken erişkinlerde beyaz kan hücresi, immatür granülosit ve trombosit sayısının anlamlı olarak daha yüksek olduğu görüldü ($p<0.05$). Çocuk hastaların daha düzenli transfüzyon aldığı gözlemlendi. Düzensiz transfüzyon alan hastalarda son bir yıldaki ortalama hemoglobin düzeyinin anlamlı oranda daha düşük ancak immatür granülosit düzeyi, trombosit ve beyaz küre sayısının daha yüksek olduğu görüldü ($p<0.05$). Son bir yıldaki ortalama hemoglobin düzeyi arttıkça ortalama immatür granülosit sayısı ve yüzdesinin azaldığı saptandı. **Sonuç:** Çalışmamızda immatür granülosit sayısı ve yüzdesi, total beyaz küre ve trombosit sayısının düzensiz transfüzyon alan hastalarda istatistiksel açıdan anlamlı olacak şekilde yüksek olması ve son bir yıldaki ortalama hemoglobin düzeyi azaldıkça immatür granülosit ve immatür granülosit yüzdesinin artması bu hastalarda kemik iliğindeki hematopoezin aktif olduğunu düşündürdü. Bu nedenle beta talasemili hastalarda inflamatuvar aktivitenin derecesini ve transfüzyon etkinliğini değerlendirmede hemen her merkezde bakılabilen immatür granülosit ve immatür granülosit yüzde parametrelerinin kullanılabilirliğini düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Beta talasemi, inflamasyon, immatür granülosit, nötrofil

Yazının geliş tarihi: 09.05.2022

Yazının kabul tarihi: 10.06.2022

Sorumlu Yazar: Banu İnce Durhan, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Hematoloji Bilim Dalı, Mersin. Tel: 0324 2410000-24108, E-posta: banuince_@hotmail.com

Can immature granulocyte count be a practical marker for evaluating bone marrow activation in beta thalassemia patients?

Abstract

Aim: In our study, we aimed to investigate whether the immature granulocyte and immature granulocyte percentages of our pediatric and adult beta thalassemia major and intermedia patients could be used as a practical marker in evaluating bone marrow activation. **Method:** Between January 2017 and December 2021, 38 Beta thalassemia major and 12 Beta thalassemia intermedia patients who applied to Mersin University Faculty of Medicine Pediatric and Adult Hematology Department were included in the study, hemoglobin (gr/dl), hematocrit, white blood cell count ($\times 10^3/\mu\text{L}$), platelet count ($\times 10^3/\mu\text{L}$), immature granulocyte count ($\times 10^3/\mu\text{L}$), immature granulocyte percentage, ferritin (ng/mL), chelation status, transfusion frequency and order, mean hemoglobin level in the last year were recorded. Patients who received and did not receive regular transfusion were compared in terms of immature granulocyte and other parameters. **Results:** When the patients were grouped as children and adults; mean hemoglobin levels in the last year were higher in children but white blood cell, immature granulocyte and platelet counts were significantly higher in adults ($p < 0.05$). It was seen that those who received regular transfusion were mostly pediatric patients. The mean hemoglobin level in the last year was significantly lower in those who received irregular transfusion, but immature granulocyte level, platelet and white blood cell count were higher ($p < 0.05$). It was observed that as the mean hemoglobin levels in the last year increased, the mean immature granulocyte count and immature granulocyte percentage decreased. **Conclusion:** In our study, immature granulocyte count and percentage, white blood cell and platelet count were found to be statistically significantly higher in patients with irregular transfusion and the increase in immature granulocyte and percentage parameters of immature granulocyte as the mean hemoglobin level in the last year decreased, suggesting that hematopoiesis in the bone marrow is active in these patients. We think that immature granulocyte and immature granulocyte percentage parameters, which can be measured in almost every center, can be used to evaluate the degree of inflammatory activity and transfusion efficiency in patients with beta thalassemia.

Keywords: Beta thalassemia, inflammation, immature granulocyte, neutrophil

Giriş

Beta talasemi (BT) hemoglobinin beta zincir sentezinin hiç olmaması ya da azalması ile karakterize, farklı şiddette kronik anemi ile seyreden hemoglobinopatiler grubundan otozomal resesif kalıtsal bir hastalıktır. Hem beta talasemi major (BTM) hem de beta talasemi intermedia (BTI) beta globin zincirinde homozigot ya da çift heterozigot mutasyondan kaynaklanır. BT; hastaların transfüzyon gereksinimine göre transfüzyona bağımlı ve transfüzyona bağımlı olmayan talasemiler olarak iki grupta sınıflandırılmaktadır, BTM düzenli transfüzyona bağımlı grup ve BTI düzenli transfüzyon almadan normal büyüme ve gelişmelerini sürdüren, transfüzyona bağımlı olmayan gruptur. Bozuk hemoglobin (Hb) sentezi ve kemik iliğinde eritrosit

öncüllerinde harabiyet (inefektif eritropoez) ve hemolizden dolayı hastalarda anemi, kemik değişikliklerine yol açan extramedullar hematopoez, büyüme gelişme geriliği ve demir yükü görülür. BT'de bağırsaklarda demir emiliminde artış olması ve tedavide uygulanan tekrarlayıcı transfüzyonlar vücutta demir yükünün artışına neden olur ve demir şelasyon tedavisi gerektirir. Şelasyon tedavisinde yetersiz kalırsa artmış demir yükü ile ilişkili hepatik, kardiyak ve endokrin yan etkiler ortaya çıkar.¹ Yapılan bazı çalışmalarda da BTM'lu hastaların fagositik hücreler ve doğal öldürücü (NK) hücrelerin immun yanıtında ve işlevselliğinde azalma, T ve B lenfosit sayılarında ve serum immünoglobulinlerinde artış gibi immün sistemle ilişkili anormalliklerin de görülebileceği bildirilmiştir.²⁻⁴ BT'li

hastalarının enfeksiyonlara daha yatkın olmasında esas olarak demir ilişkili kronik inflamasyon, oksidatif hasar ve anormal nötrofil işlevinin rol aldığı düşünülmektedir.⁵

Hematoloji pratiğinde öncelikle beyaz kan hücreleri, kırmızı kan hücreleri ve trombositlerin sayısını görmek için istenen tam kan sayımı testinde bu parametreler dışında ortalama platelet hacmi (MPV), kırmızı kan hücrelerinin dağılım genişliği (RDW), immature granülosit sayısı (IG) ve immatür granülosit yüzdesi (%IG) gibi bazı parametrelere de bakılmaktadır. Bu parametrelerin hematolojik ve nonhematolojik bazı hastalıklarda prognostik önemi olduğu gösterilmiştir.⁶⁻⁸

Immatür granülositler tam kan sayımında kolaylıkla bakılabilen olgunlaşmamış granülositlerdir. Promiyelosit, miyelosit ve metamiyelosit hücrelerinin toplamını ifade eder ve sayıca artış olması enfeksiyon ya da inflamatuvar bir durum karşısında artmış kemik iliği aktivasyonunu göstermektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalarda bu hücrelerin inflamasyonla ilişkisi araştırılmış ve özellikle inflamatuvar hastalıkların prognozunu belirlemede rol alabileceği ileri sürülmüştür.⁹⁻¹²

Çalışmamızda hem çocuk hem de erişkin BTM ve BTI'li hastalarımızın IG ve IG yüzdelerinin hastaların kemik iliği aktivasyonunu değerlendirmede pratik bir belirteç olarak kullanılıp kullanılmayacağını değerlendirmek amacı ile hastaların IG ve IG yüzdelerinin transfüzyon durumları, demir birikimleri ile ilişkisini araştırdık.

Yöntem

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesinde Çocuk Hematoloji ve Erişkin Hematoloji polikliniklerinde 01.01.2017-01.12.2021 tarihleri arasında takibe gelen, 12 BTI ve 38 BTM hastası çalışmaya dahil edildi.

Hasta dosyaları ve sistemdeki veriler üzerinden hastaların; transfüzyon öncesi Hb (gr/dl), hematokrit değeri (Hct), beyaz küre sayısı ($\times 10^3/\mu\text{L}$), trombosit sayısı ($\times 10^3/\mu\text{L}$), IG sayısı ($\times 10^3/\mu\text{L}$), IG yüzdesi (%), ferritin değeri (ng/mL), aldığı şelatör ilaç,

transfüzyon sıklığı ve düzeni, son bir yıldaki ortalama Hb düzeyi bilgilerine ulaşıldı. Splenektomili hastalar ve aktif enfeksiyonu olanlar çalışmaya dahil edilmedi. Her 3-4 haftada bir transfüzyon öncesi Hb düzeyini 9.5-10 gr/dl'de tutulacak şekilde yapılan transfüzyonlar düzenli transfüzyon olarak kabul edildi. Tam kan sayımı XN-1000, Sysmex Corp. Kobe, JAPAN cihazında yapıldı. Helsinki Deklerasyonu prensiplerine uygun olarak yapılan çalışma Mersin Üniversitesi Etik Kurulu tarafından onaylandı (sayı:12.01.2022;2022/28).

Tanımlayıcı istatistikler kategorik ve sürekli değişkenler için tablo haline getirildi. Sürekli değişkenler normal dağılım gösterenler ve normal dağılım göstermeyen veriler için sırasıyla ortalama±standart sapma (SD) ve medyan ve nicelikler arası aralık olarak tablolaştırıldı. Kategorik veriler için sayı ve yüzde değerleri verildi ve kategorik değişkenlerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren veriler için ki-kare testi, normal dağılım göstermeyen veriler için Mann-Whitney testi ve korelasyon analizleri için Pearson korelasyon testi uygulandı. $p<0.05$ tüm sonuçlar için istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

Çalışmadaki toplam 50 hastanın ortalama yaşı 22.8 ± 11.2 (2-53 yıl), otuzu erkek (%60) ve 20'si kız idi (%40). 24 hasta (%48) 18 yaş altındayken, 26 hasta (%52) erişkindi. 38 hasta (%76) BTM, 12 hasta (%24) ise BTI nedeni ile izlenmekteydi. Hastaların 26'sı (%52) düzenli transfüzyon alırken 24'ü (%48) düzensiz transfüzyon almaktaydı. Hastaların son bir yıldaki ortalama Hb seviyesi 8.4 ± 0.9 gr/dl idi (6.3-10 gr/dl). BTI'li hastaların hiçbiri düzenli transfüzyon almazken BTM'li hastaların sadece %68.4'ü düzenli transfüzyon alıyordu. 39 hasta (%78) şelatör tedavisi alırken 11 hasta (%22) almıyordu.

Hastaların son bir yıldaki transfüzyon sayısı, ortalama ferritin düzeyi, şelasyon kullanımı BTM hastalarında BTI hastalarına göre istatistiksel olarak anlamlı olacak şekilde yüksek iken ($p<0.05$); beyaz küre sayısı, IG, trombosit sayısı ve son bir yıldaki Hb düzeyi parametreleri açısından anlamlı bir fark yoktu (Tablo 1).

Tablo 1. Beta talasemi major ve intermedia hastalarında yaş, transfüzyon sayısı ve laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması (n=50)

	BTM (n=38)	BTI (n=12)	p
Yaş (yıl)*	21.05±10.10	28.33±13.37	0.05
Hb (g/dL)*	8.5±1.3	8.0±0.72	0.21
Htc (%)*	25.8±3.69	24.7±2.83	0.34
BK (x10 ³ /μL)**	11200 (6585-15995)	9700(7037-17145)	0.86
Trombosit (x10 ³ /μL)*	603.68± 277.6	840.08± 564.57	0.18
IG (x10 ³ /μL) *	0.17± 0.27	0.20±0.21	0.77
IG %*	1.13±1.22	1.74±1.47	0.16
Ferritin (ng/ml)*	1091.8±663.6	456.16±331.2	0.003
Son bir yıldaki ortalama Hb düzeyi (g/dL)*	8.4±0.97	8.4±0.69	0.97
Düzenli transfüzyon sayısı n(%)*	16.9±4.33	2.66±4.29	0.001

Hb: Hemogloblin; Htc: Hematokrit; IG: Immatür granülosit; BK: Beyaz küre sayısı, *Ortalama±SD; **Ortanca (Q1-Q3)

Hastalar çocuk ve erişkin olarak gruplandırıldığında; çocuk hastaların daha düzenli transfüzyon aldığı, son bir yıldaki Hb düzeyinin daha yüksek olduğu (p<0.05), ancak beyaz küre, IG ve trombosit sayısının

çocuklara göre erişkinlerde istatistiksel açıdan anlamlı olarak daha yüksek olduğu görüldü (p<0.05). Ortalama ferritin düzeyinde iki grup arasında anlamlı fark yoktu (Tablo 2).

Tablo 2. Çocuk ve erişkin BT 'li hastaların transfüzyon sayısı ve laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması (n=50)

	BT'li Çocuk Hastalar (n=24)	BT'li Erişkin Hastalar (n=26)	p
Yaş (yıl) *	13.08±5.38	31.76±6.93	
Hb (g/dL) *	9.05±0.95	7.8±1.14	0.001
Htc (%)*	26.7±3.07	24.5±3.59	0.02
BK (x10 ³ /μL)**	9180(6400-11240)	14055(8230-18455)	0.01
Trombosit (x10 ³ /μL) *	536.58±272.36	774.73±422.11	0.02
IG (x10 ³ /μL) *	0.09±0.06	0.26±0.34	0.01
IG %*	0.99±0.76	1.54±1.61	0.12
Ferritin (ng/ml) *	1005.62±822.73	878.07±465.51	0.50
Son bir yıldaki ortalama Hb düzeyi (g/dL) *	9.06±0.4	7.95±0.92	0.001
Düzenli transfüzyon sayısı n(%)*	20 (% 83.3)	6 (% 23.1)	0.0001

Hb: Hemogloblin; Htc: Hematokrit; IG: Immatür granülosit; BK: Beyaz küre sayısı, *Ortalama±SD; **Ortanca (Q1-Q3)

Düzenli transfüzyon alan ve almayan hastalar karşılaştırıldığında; düzensiz transfüzyon alanların daha çok erişkin hastalar olduğu, son bir yıldaki ortalama Hb düzeyinin düzensiz transfüzyon alanlarda anlamlı oranda daha düşük, ancak IG düzeyi, trombosit ve beyaz küre sayısının daha

yüksek olduğu görüldü (p<0.05). Ortalama ferritin değeri düzenli transfüzyon alan grupta anlamlı oranda yüksek idi (p<0.05) (Tablo 3).

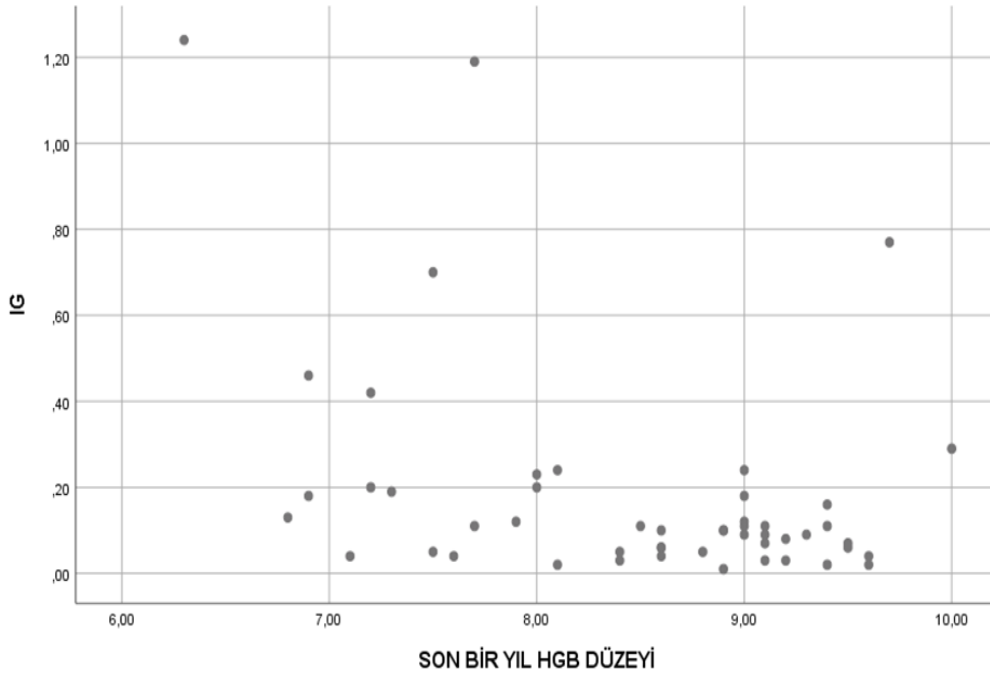
Korelasyon analizlerinde hastalarda son bir yıldaki ortalama Hb düzeyi arttıkça ortalama IG değeri ve IG yüzdesinin azaldığı

saptandı (Şekil 1-2).

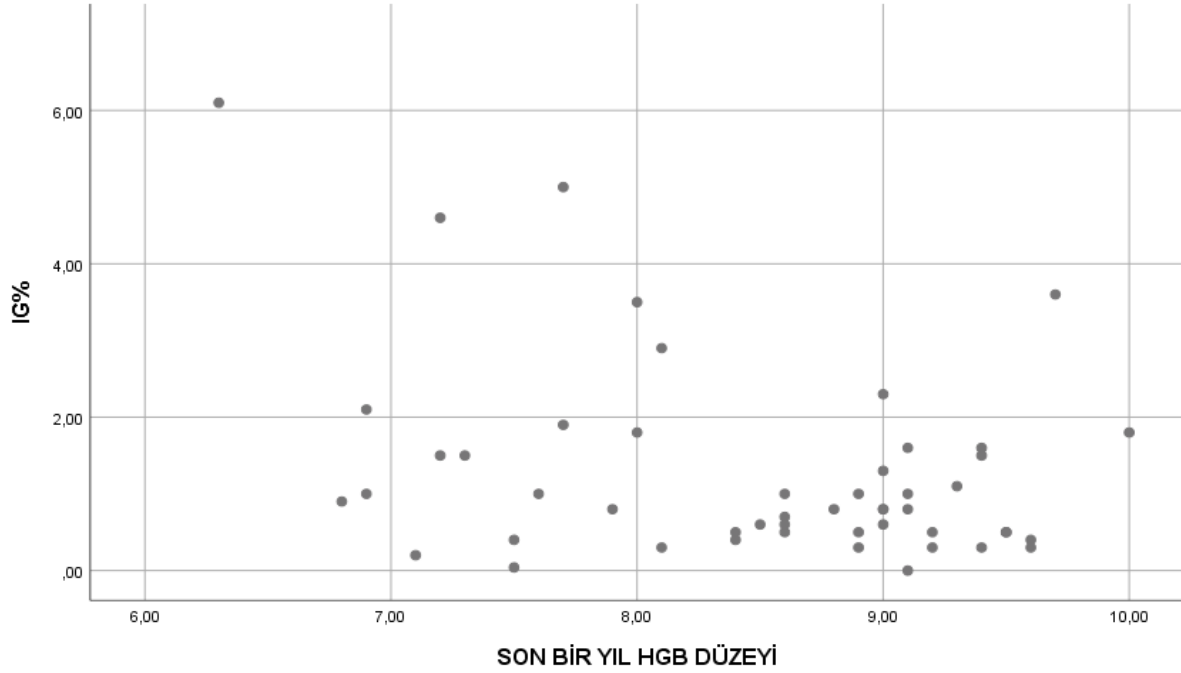
Tablo 3. Düzenli transfüzyon alan ve almayan BT'li hastaların yaş, transfüzyon sayısı ve laboratuvar parametrelerinin karşılaştırılması (n=50)

	Düzenli transfüzyon alan BT'li hastalar (n= 26)	Düzensiz transfüzyon alan BT'li hastalar (n=24)	p
Yaş (yıl)*	16.84±9.19	29.25±9.75	0.001
Hb (g/dL)*	9.11±0.92	7.7±1.04	0.001
Htc (%)*	26.91±2.96	24.16±3.55	0.004
BK (x10 ³ /µL)**	8645(6322-13875)	13740(9210-17695)	0.02
Trombosit sayısı (x10 ³ /µL)*	550.69±263.46	779.29±441.39	0.02
IG (x10 ³ /µL) *	0.08±0.06	0.29±0.34	0.005
IG %*	0.82±0.60	1.77±1.64	0.01
Ferritin (ng/ml) *	1168.61±744.5	690.87±444.44	0.009
Son bir yıldaki transfüzyon sayısı n(%)*	19.50±1.7	7.08±5.77	
Son bir yıldaki ortalama Hb düzeyi (g/dL)*	8.9±0.61	7.97±0.9	0.001

Hb: Hemogloblin; Htc: Hematokrit; IG: Immatür granülosit; BK: Beyaz küre sayısı, *Ortalama±SD; **Ortanca (Q1-Q3)



Şekil 1: Son bir yıldaki ortalama hemoglobin düzeyi ile immature granülosit arasındaki ilişki



Şekil 2: Son bir yıldaki ortalama hemoglobin düzeyi ile immature granülosit yüzdesi arasındaki ilişki

Tartışma

Çalışmamızda hem çocuk hem de erişkin BTM ve BTI hastalarında, IG sayısı ve IG %'nin kemik iliği aktivasyonunu değerlendirmede pratik bir belirteç olarak kullanılıp kullanılmayacağını değerlendirmek amaçlandı. Çalışmamızda erişkin BT ve düzensiz transfüzyon yapılan BT'li hastalarda IG sayısı ve IG %'ni istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek bulduk. Düzensiz transfüzyon alanların daha çok erişkin hastalar olduğu görülmekle birlikte hastalarda son bir yıldaki ortalama Hb düzeyi azaldıkça IG ve IG %'nin arttığını tespit ettik. Bu sonuçla birlikte düzensiz transfüzyon alan hastalarda inefektif eritropoez yeteri kadar baskılanamadığı için kemik iliğinin aktif olduğu ve buna paralel olarak IG salınımının da arttığı düşünüldü. Çalışmamızda sadece IG sayısı ve yüzdesi değil, total beyaz küre ve trombosit sayısı da düzensiz transfüzyon alan hastalarda ve erişkin hastalarda istatistiksel açıdan anlamlı olacak şekilde yüksek bulundu. Bu sonuç da düzensiz transfüzyon yapılan BT'li hastalarda kemik iliğindeki hematopoezin aktif olduğu düşüncesini destekledi.

Beta talasemi hastalarında doğal

bağışıklık sisteminde doğuştan itibaren çeşitli anormalliklerin olduğu özellikle nötrofillerin kusurlu olduğu ve bu nedenle yaşamı tehdit eden bakteriyel enfeksiyonlara artmış eğilim olduğu bilinmektedir.¹³⁻¹⁴ BT'li hastalarda nötrofillerde oluşan en önemli problem nötrofil maturasyonunda bozulma olmasıdır.¹⁵⁻¹⁶ Pillay ve ark.¹⁷ (2010) talasemi hastalarında fonksiyonel olarak aktif CD 16 olgun nötrofillerin göreceli olarak azalıp yerine enfeksiyonlarla mücadelede daha az fonksiyonel olan immatür CD 16 nötrofillerinin arttığını göstermiştir. İmmatür CD 16 nötrofillerde kemotaksis, mikrobial ajanı tanıma ve öldürmede önemli olan nötrofil reseptörlerinde down regülasyon olduğu bildirilmiştir.¹⁸

Beta talasemide oksidatif stress patofizyolojide temel bir rol oynar. Normal fizyolojide oksidan ve antioksidanlar arasında olması gereken denge BT' de bozulmuştur. Düzensiz Hb yapısı ve demir yükü oksidatif strese en fazla neden olan durumlardır. Hastalarda eritrositler, lökositler ve plateletler oksidatif strese maruz kalır. Lökositlerin etkilenmesi tekrarlayan enfeksiyonlara, trombositlerin etkilenmesi de hiperkoagülopatiyeye neden olur. Yine oksidatif stres BT'li hastalarda,

kalp, karaciğer ve endokrin organlarda organ hasarı gelişmesine de katkıda bulunur.¹⁹⁻²⁰ Reaktif oksijen türleri (ROS), esas olarak hücre solunumun yan ürünleri olarak üretilen oksidanlardır, indirgenmiş glutatyon ise antioksidanlara bir örnektir. ROS, eritroid öncüllerinin çoğalması ve farklılaşması dahil olmak üzere birçok fizyolojik süreçte düzenleyici olarak kullanılır.²¹ Buttari ve ark.²² (2020) yaptıkları çalışmada eritroid öncüllerindeki çoğalma ve farklılaşmada etkin olan ROS 'un BT' li hastalarda IG' den daha az oranda salındığı bildirilmiş ve bu hastalarda oksidan-antioksidan dengenin bozulabileceği belirtilmiştir.

Beta talasemili hastalarda demir yükünde artış olması da oksidatif stres ve inflamasyonu tetikleyen bir faktör olarak bilinmektedir.²³⁻²⁴ Ancak, çalışmamızda IG sayısı ve yüzdesi ile ferritin düzeyi arasında korelasyon saptayamadık. Bu sonuç, hastalarımızın büyük bir kısmının şelasyon tedavisine uyumunun iyi olduğu ve demir yüklerinin belirgin olmaması ile ilişkili olabileceğini düşündürdü. Ancak oksidatif hasarı ve sistemik inflamasyonu gösteren diğer belirteçlerin bakılamaması ve organ hasarı ile IG sayısı arasındaki ilişkinin değerlendirilmemiş olması çalışmamızı kısıtlayan faktörlerdir.

Sonuç: Sonuç olarak BT' li düzensiz transfüzyon yapılan erişkin hastalarda IG sayısı ve IG %' sinin yüksek olması, bu hastalarda ineftif eritropoezin aktif olduğunu düşündürmektedir. BT'li hastaların transfüzyon etkinliğini değerlendirmede hemen her merkezde bakılabilen, kolay ve ucuz olan IG, IG % parametrelerinin kullanılabilirliğini düşünmekteyiz.

Yazar Katkıları: Araştırma ile ilgili fikir oluşturma: SÜ, AA, BİD; çalışma dizaynı: SÜ, BİD, AA araştırmanın yürütülmesini organize etmek: BİD, SÜ; deneyin yapılması: BİD; verilerin toplanması ve analizi: BİD, AA, FK, SÜ; literatür taraması: SÜ, BİD, FK; makale yazımı: BİD, SÜ.

Çıkar çatışması: Yazarlar arasında çıkar çatışması yoktur.

Mali destek: Çalışmanın yapılması ve makalenin yazım süresince herhangi bir kişi veya kurumdan maddi destek alınmamıştır.

Teşekkür: Araştırmamızın istatistiğini yapan Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik ve Tıbbi Bilişim Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Prof. Dr. Gülhan Orekici Temel'e teşekkür ederiz

Kaynaklar

1. Taher AA, Khaled M, Musallam K, Cappellini MD. β -Thalassemias: Review article. *N. Engl. J. Med.* 2021; 384(8): 727-743
2. Quintiliani L, Mastro Monaco A, Giuliani E, et al. Immune profile alterations in thalassaemic patients. *Boll Ist Sieroter Milan.* 1983; 62(6): 524-530.
3. Dwyer J, Wood C, McNamara J, et al. Abnormalities in the immune system of children with beta-thalassaemia major. *Clin Exp Immunol.* 1987; 68(3): 621-629.
4. Khalifa AS, Maged Z, Khalil R, et al. T Cell functions in infants and children with beta-thalassaemia. *Acta Haematol.* 1988; 79(3): 153-156.
5. Vento S, Cainelli F, Cesario F. Infections and thalassaemia. *Lancet Infect Dis.* 2006; 6(4): 226-233.
6. May JE, Marques MB, Reddy VV, Gangaraju R. Three neglected numbers in the CBC: The RDW, MPV, and NRBC count. *Cleve Clin J Med.* 2019; 86(3) :167-172.
7. Orfanu AE, Popescu C, Leuştean A, et al. The Importance of haemogram parameters in the diagnosis and prognosis of septic patients. *J Crit Care Med.* 2017; 3(3): 105-110.
8. Danise P, Maconi M, Barrella F, et al. Evaluation of nucleated red blood cells in the peripheral blood of hematological

- diseases. *Clin Chem Lab Med.* 2012; 50(2):357–360.
9. Park JS, Kim JS, Kim YJ, Kim WY. Utility of the immature granulocyte percentage for diagnosing acute appendicitis among clinically suspected appendicitis in adult. *J Clin Lab Anal.* 2018; 32(7):e22458.
 10. Narcı H, Berkeşoğlu M, Üçbilek E, Ayrik C. The usefulness of the percentage of immature granulocytes in predicting in-hospital mortality in patients with upper gastrointestinal bleeding. *Am J Emerg Med.* 2021; 46: 646-650.
 11. Güngör A, Göktuğ A, Tekeli A, et al. Evaluation of the accuracy of immature granulocyte percentage in predicting pediatric serious bacterial infection. *Int J Lab Hematol.* 2021; 43(4): 632-637.
 12. Karahan F, Ünal S, Topçu DB, Öztaş Y, Bozlu G. The role of immature granulocyte percentage in predicting acute chest syndrome and the severity of the vaso-occlusive crisis in sickle cell disease. *The Turk J Pediat.* 2022; 64(1): 92-97.
 13. Rahav G, Volach V, Shapiro M, et al. Severe infections in thalassaemic patients: Prevalence and predisposing factors. *Br J Haematol.* 2006; 133(6): 667–674.
 14. Ricerca BM, Girolamo A, Rund D. Infections in thalassemia and hemoglobinopathies: Focus on therapy-related complications. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2009;1(1): e2009028.
 15. Skoutelis AT, Lianou E, Papavassiliou T, et al. Defective phagocytic and bactericidal function of polymorphonuclear leucocytes in patients with β -thalassaemia major. *J Inf Secur.* 1984; 8(2):118–122.
 16. Matzner Y, Goldfarb A, Abrahamov A, et al. Impaired neutrophil chemotaxis in patients with thalassaemia major. *Br J Haematol.* 1993; 85(1) :153–158.
 17. Pillay J, Ramakers BP, Kamp VM, et al. Functional heterogeneity and differential priming of circulating neutrophils in human experimental endotoxemia. *J Leukoc Biol.* 2010; 88(1) :211–220.
 18. Leliefeld PHC, Pillay J, Vrisekoop N, et al. Differential antibacterial control by neutrophil subsets. *Blood Adv.* 2018; 2(11): 1344–1354.
 19. Fibach E, Dana M. Oxidative stress in β -Thalassemia. *Molecular Diagnosis & Therapy.* 2019; 23:245–261.
 20. Siwaponanan P, Siegers J.Y, Ghazali R, et al. Reduced PU.1 expression underlies aberrant neutrophil maturation and function in β -thalassemia mice and patients. *Blood.* 2017; 129(23): 3087-3099.
 21. Dröge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 2002; 82(1) :47–95.
 22. Buttari B, Profumo E, Caprari P, et al. Phenotypical and functional abnormalities of circulating neutrophils in patients with β -thalassemia. *Annals of Hematology.* 2020; 99(10): 2265–2277.
 23. Wessling RM. Iron homeostasis and the inflammatory response. *Annu Rev Nutr.* 2010; 30:105-122.
 24. Hershko C. Iron loading and its clinical implications. *Am J Hematol.* 2007; 82(S12): 1147–1148.