



TC  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI ve HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ORAK HÜCRE HASTALIĞINDA KEMOKİN AİLESİNİN  
BİR ÜYESİ OLAN FRAKTALKİNİN SERUM DÜZEYİ ve  
GEN İFADESİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Özlem ÖZDEMİR  
UZMANLIK TEZİ

DANIŞMAN  
Doç. Dr. Selma ÜNAL

MERSİN – 2012



**TC  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI ve HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ORAK HÜCRE HASTALIĞINDA KEMOKİN AİLESİNİN  
BİR ÜYESİ OLAN FRAKTALKİNİN SERUM DÜZEYİ ve  
GEN İFADESİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Dr. Özlem ÖZDEMİR  
UZMANLIK TEZİ**

**TEZ DANIŞMANI  
Doç. Dr. Selma ÜNAL**

**Bu tez, BAP-TF DTB (ÖÖÇ) 2011-5 TU kodlu proje olarak Mersin  
Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir.**

**MERSİN – 2012**

## TEŞEKKÜR

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları uzmanlık eğitimim süresince eğitimime katkıda bulunan tüm hocalarıma, tezimi hazırlarken her türlü desteğini ve emeğini esirgemeyen tez danışmanım Sayın Doç. Dr. Selma ÜNAL'a saygı, sevgi ve teşekkürlerimi sunarım. Ayrıca Biyoloji Anabilim Dalı'ndan Sayın Yrd. Doç. Dr. Ahmet Ata ÖZÇİMEN'e, Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Sayın Doç. Dr. Bahar TAŐDELEN'e ve Arş. Gör. Dr. Didem DERİCİ'ye, Biyokimya Anabilim Dalı hoca ve çalıőanlarına, Farmakoloji Anabilim Dalı'dan Sayın Prof. Dr. Kansu BÜYÜKAFŐAR'a, Çocuk Hematoloji Bilim Dalı Sekreteri Sayın Aslı DURUKAN'a desteklerinden dolayı teşekkür ederim.

Deneylerimiz için kan örneği veren tüm sevgili çocuklara ve ailelerine teşekkür ederim.

Hayatımın her aőamasında bana güç veren, en başta sevgili annem ve babam olmak üzere kardeőlerim Utku, Hüseyin, Aylin'e, yaőamıma renk kattığı için kızım Defne'ye sonsuz teşekkür ederim...

Dr. Özlem ÖZDEMİR

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	6
<b>ABSTRACT</b> .....	7
<b>1. GİRİŞ VE AMAÇ</b> .....	8
<b>2. GENEL BİLGİLER</b> .....	10
2.1 Orak Hücre Hastalığı.....	10
2.1.1. Tarihsel Gelişim.....	10
2.1.2 Genetik.....	12
2.1.3 Görülme Sıklığı ve Coğrafi Dağılım.....	12
2.1.4 Patofizyoloji.....	14
2.1.5 Klinik Bulgular.....	19
2.1.6 Tanı.....	25
2.1.7 Doğum Öncesi Tanı.....	27
2.1.8 Tedavi.....	27
2.2 İnflamasyon.....	35
2.2.1 Orak Hücre Hastalığı ve İnflamasyon.....	35
2.2.2 Sitokinler.....	40
2.2.3 Kemokinler.....	42
2.2.4 Fraktalkin.....	43
<b>3.GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	50
3.1 Hastalar.....	50
3.2 Laboratuvar.....	51
3.3 İstatistiksel Değerlendirme.....	59
<b>4.BULGULAR</b> .....	60
<b>5.TARTIŞMA</b> .....	73
<b>6.SONUÇLAR</b> .....	79
<b>7.KAYNAKLAR</b> .....	83
<b>8.SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	98
<b>9. TABLOLAR DİZİNİ</b> .....	100
<b>10. ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	101
<b>11.ÖZGEÇMİŞ</b> .....	102
<b>12.EKLER</b> .....	103

## ÖZET

### ORAK HÜCRE HASTALIĞINDA KEMOKİN AİLESİNİN BİR ÜYESİ OLAN FRAKTALKİNİN SERUM DÜZEYİ VE GEN İFADESİNİN ARAŞTIRILMASI

**Amaç:** Orak hücre hastalığında sitokin ve kemokinler üzerine yapılmış çok fazla çalışma mevcuttur. Bu çalışmada, inflamatuvar bir hastalık olan orak hücre hastalığında kemokin ailesinin bir üyesi olan fraktalkinin hastalık patogenezindeki rolünü araştırmayı amaçladık.

**Gereç ve yöntemler:** Çalışmaya 87 orak hücre hastalıklı ve 55 sağlam çocuk alındı. Hastaların tam kan sayımı, C-reaktif protein, tümör nekrozis faktör-alfa, interferon-gamma, fraktalkin serum düzeyi ve fraktalkin gen ifadesi için kan örnekleri alındı. Elde edilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

**Bulgular:** Orak hücre hastalıklı grupta serum fraktalkin düzeyi ve fraktalkin gen ifadesi değerleri kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksek bulundu ( $p<0,05$ ). Fraktalkin gen ifadesi ile tümör nekrozis faktör-alfa arasında yapılan korelasyon analizine göre istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı ilişki saptandı ( $p<0,05$ ). Serum fraktalkin ile interferon-gamma arasında ve fraktalkin gen ifadesi ile interferon-gamma arasında yapılan korelasyon analizine göre istatistiksel olarak negatif yönde anlamlı ilişki saptandı ( $p<0,05$ ). Ayrıca hastalar, damar tıkaçıcı kriz tablosunda olup olmama açısından gruplara ayrıldığında, fraktalkin gen ifadesi ile hastalık aktivitesi arasında da istatistiksel olarak anlamlı ilişki tespit edildi ( $p<0,05$ ).

**Sonuç:** Fraktalkinin serum düzeyi ve gen ifadesinin hem damar tıkaçıcı krizli hem de durağan orak hücre hastalığında artmış olması bu molekülün orak hücre hastalığında görülen inflamasyon patogenezinde rolü olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca damar tıkaçıcı krizi olan hastalarda fraktalkin gen ifadesinin daha da artmış olması, tümör nekrozis faktör-alfa ile fraktalkin gen ifadesi arasında pozitif korelasyon olması bu düşüncemizi desteklemektedir. Orak hücre hastalığı ile fraktalkin arasındaki ilişkiyi irdeleyen ilk çalışma olması çalışmamızın önemini artırmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Orak hücre hastalığı, inflamasyon, fraktalkin, sitokin

## ABSTRACT

### EXAMINATION OF SERUM LEVEL AND GENE EXPRESSION OF FRACTALKINE, A MEMBER OF THE CHEMOKINE FAMILY, IN SICKLE CELL DISEASE

**Objective:** There are numerous studies on cytokines and chemokines in sickle cell disease. We aimed in the present study to examine the role of fractalkine, a member of chemokine family, in the disease pathogenesis of sickle cell disease which is an inflammatory disease and to contribute to the literature by our findings.

**Materials and Methods:** 87 children with sickle cell disease and 55 healthy children were enrolled in the study. Complete blood count, hemoglobin electrophoresis, C-reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, interferon-gamma, serum level of fractalkine, and blood samples for gene expression of fractalkine were studied. The data obtained were statistically compared.

**Results:** Serum fraktalkin level and fraktalkin gene expression values were significantly higher in sickle cell disease group compared to control group ( $p < 0.05$ ). Correlation analysis between Fraktalkin gene expression and tumor necrosis factor-alpha showed a significant positive correlation ( $p < 0.05$ ). correlation analyses between serum fraktalkin and interferon-gamma, and fraktalkin gene expression and interferon-gamma showed statistically significant negative correlations ( $p < 0,05$ ). Furthermore, there was a significant correlation between fraktalkin gene expression and disease activity when patients were classified by having a vaso-occlusive crisis ( $p < 0,05$ ).

**Conclusion:** An increased serum fraktalkin level and gene expression in both vaso-occlusive crisis and stable forms of sickle cell disease suggests that this molecule may be involved in the pathogenesis of inflammation observed in sickle cell disease. Furthermore, an even more fraktalkin gene expression in patients with vaso-occlusive crisis and a positive correlation between tumor necrosis-alpha and fraktalkin gene expression both support our hypothesis. Being the first study on the relationship between sickle cell disease and fraktalkin increases the importance of our study.

**Keywords:** Sickle cell disease, inflammation, fraktalkin, cytokine

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Orak hücre hastalığı (OHH), beta ( $\beta$ ) geninin 6. kodonundaki adenin (GAG) yerine timin (GTG) geçmesi sonucu, glutamik asit yerine valin sentezlenmesi ve sonuçta hemoglobin (Hb) S üretilmesi ile karakterize bir hemoglobinopatidir.<sup>1</sup> HbS'nin özelliği deoksi durumda çözünürlüğünün azalmasıdır. Oksijensiz HbS, hücreye özel orak şeklini veren uzun ve sert yapılara polimerize olma eğilimindedir. HbS'nin polimerizasyonu geri dönüşümlüdür. Oraklaşan eritrositler oksijen altında tekrar eski hallerine dönebilirler. Ancak tekrarlayan oraklaşmalar hücrenin yapısını değiştirir ve sonunda eritrositler kalıcı olarak orak hücrelere dönüşür. Sert yapılı orak hücreler küçük kan damarlarını tıkararak doku infarktlarına neden olup, aynı zamanda endotel hücrelerine yapışarak tromboza zemin hazırlarlar. En sık görülen infarkt alanları dalak, kemik, kemik iliği, böbrek medullası, mezenterik ve pulmoner damarlardır. Ayrıca oraklaşan eritrositlerin, kan hücreleri ve adezyon molekülleri için reseptör görevi yaparak inflamatuvar cevabın oluşmasında ve normal hemostazın devamının sağlanmasında önemli fonksiyonları vardır. Bu nedenle OHH inflamatuvar bir hastalıktır.<sup>1</sup>

OHH' da inflamasyon, damar tıkaçıcı krizlerin gelişmesinde önemli rol oynamaktadır. Oraklaşmış eritrositlerin, farklı in vitro modellerde endotel hücreleri ile uyarılması halinde, adezyon molekülleri olan vasküler endotel adezyon molekülü (VCAM-1), intraselüler adezyon molekülü (ICAM-1) ve E-selektin'i artırdığı belirlenmiştir.<sup>2</sup> Deneysel çalışmalar, oraklaşmış eritrositlerin vasküler endotel hücrelerine, endotel hücrelerinin yüzeyinde bulunan adeziv molekül VCAM-1'e bağlanan integrin kompleksi  $\alpha 4\beta 1$  sayesinde bağlandığını göstermiş ve endotel hücrelerinin aktivasyonu ile, aktive olmuş lökositlerden salınan tümör nekrozis faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ), Interlökin-1 (IL-1), Interlökin-8 (IL-8) gibi inflamatuvar sitokinlerin bu etkileşimi daha da arttırdığı belirtilmiştir.<sup>3,4</sup> Yapılan çalışmalarda orak retikülositler üzerindeki  $\alpha 4\beta 1$  integrin reseptörünün IL-8 tarafından aktive edilebildiği ve IL-8'in inflamasyon alanındaki endotel hücreleri ve lökositler tarafından üretildiği gösterilmiştir. IL-8 üretimi IL-1 ve TNF- $\alpha$  tarafından düzenlenmektedir.<sup>4,5</sup> Ayrıca OHH' da kriz dönemi dışında da endotel hücre aktivasyonu ve sitokin yapımı gösterilmiştir. OHH' da sitokin ve kemokinlerin rolü üzerine çok fazla çalışma yapılmıştır.<sup>5,6</sup>

Fraktalkin (Fkn); inflamasyona eşlik eden endotel hücrelerinden salınan bir kemokindir. Sitotoksik hücrelerin göçü, kemotaktik fonksiyonları, TNF- $\alpha$  modülasyonu gibi görevleri bulunmaktadır. Daha önce yapılan farklı çalışmalarda, Fkn'nin inflamatuvar hastalıklarla ilişkisi araştırılmış ve kemokinin inflamatuvar hastalıkların patogeneğinde rol alabileceği iddia edilmiştir.<sup>7,8</sup>

Çalışmamızın amacı, inflamasyon ve endotel değişikliklerinin hastalık patogeneğinde rol oynadığı bilinen OHH'da, Fkn gen ifadesi ve serum düzeyinin klinik bulguların gelişmesindeki rolünün araştırılmasıdır. OHH'da Fkn gen ifadesi ve serum düzeyindeki değişikliklerin gösterilmesi ve bu değişikliklerin klinik bulgular ile ilişkilendirilmesi, hastalığın patogenezi ve tedavisine önemli katkılar sağlayacaktır. Ayrıca, hastalarda görülen damar tıkaçıcı krizlerin değişkenliği ile Fkn gen ifadesi ve serum düzeyindeki değişikliklerin ilişkilendirilmesi hastalığın prognozuna yeni bir ışık tutacaktır.

Daha önce literatürde benzer bir çalışmaya rastlanmayan bu konuda, hem literatüre önemli katkıda bulunulacak hem de OHH ve inflamatuvar sistem arasındaki bu karmaşık ilişkiye farklı bir açıdan bakarak ışık tutulmaya çalışılacaktır.



## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Orak Hücre Hastalığı

Orak hücre hastalığı, kalıtsal geçişli ve birçok sistemi etkileyen bir hastalık olup kırmızı kan hücrelerinin değişikliğe uğramış HbS içermesi nedeniyle ortaya çıkan klinik bir durumdur. Hastalığın temel özellikleri tekrarlayan ağrılı ataklar, uzun süreli hemolitik anemi, akut ve kronik süreçte organ işlev bozukluğudur.

Hemoglobin, dokulara oksijeni dağıtır ve eritrositlerin içindeki yüksek yoğunluğu eritrositin şeklini koruma ve şekil değiştirebilme yeteneğini sağlar. Normal insan hemoglobininde 4 tane polipeptid zinciri ve 4 tane hem grubu bulunur. Polipeptid zincirleri 2 tane  $\alpha$  ve 2 tane  $\beta$  zincirinden oluşmaktadır. Erişkinlerde bulunan temel hemoglobin HbA'dır ve HbA2 miktarı çok azdır. Fetal hayat boyunca HbF düzeyi yüksektir ve doğumdan sonra eritrosit içindeki oranı azalır.

HbS,  $\beta$  globin zincirinin amino (-NH<sub>2</sub>) ucunda 6. pozisyondaki glutaminin valin aminoasidi ile yer değiştirmesiyle; baz düzeyinde GAG (Guanin-Adenin-Guanin) yerine GTG (Guanin-Timin-Guanin) gelmesiyle oluşur. Bu mutasyonun sonucu olarak oksijensiz HbS polimerize olur ve katı kristal halinde çöker. Eritrositler bikonkav disk şeklinden yarım ay benzeri orak şeklini alır. Şekli bozulmuş olan hücreler özellikle küçük damarlarda tıkanıklığa yol açar.

#### 2.1.1. Tarihsel Gelişim

Afrikalılar çok eski yıllardan bu yana OHH'yı farklı kabilelerde "tekrarlayan ağrı" ya karşılık gelen değişik adlarla tarif etmişlerdir. Ganalı bir ailenin 1670 yıllarına giden soy ağacında hastalıklı bireyler tanımlanmıştır.<sup>9</sup>

1904 yılında, Dr. James Herrick, kanında "uzamış ve orak şekilli eritrositler" görülen ilk OHH vakasını bildirmiştir.<sup>10</sup>

1915'de bildirilen 3. orak hücre vakasının, ebeveynlerinden birinin kanında da anormal orak hücreler gösterilmiş ve hastalığın kalıtsal olabileceği düşünülmüştür.<sup>11</sup>

1927'de Hahn ve Gillespie oksijen yokluğunda oraklaşma olduğunu ve tekrar oksijen verilmesiyle eritrositlerin normal şeklini kazandığını bildirmiş ve bozukluğu eritrositlere değil, hücre içindeki Hb'ye bağlamıştır.<sup>12</sup>

1939'da Diggs ve Bibb orak hücre morfolojisini detaylı bir biçimde tanımlamış, oksijenlenmeye rağmen geri dönüşsüz oraklaşmış hücrelerin var olduğunu belirtmişlerdir.<sup>13</sup>

1946'da tıp fakültesi öğrencisi olan Sherman normal eritrositlerin değil, sadece orak eritrositlerin, oksijensiz bırakıldığında "ışığın çift kırınım" özelliğini gösterdiğini keşfetmiş, böylece oksijen azlığının Hb yapısını değiştirdiğini ileri sürmüştür. Bu, orak Hb'nin, oksijensiz ortamda düzenli bir yapı kazandığına da ilk kanıttır.<sup>14</sup>

1948'da Pauling ve arkadaşları, HbS'nin elektroforetik hareketliliğinin HbA'dan farklı olduğunu göstermiş ve bunu globin zincirindeki yük değişimine bağlamışlardır. Böylece OHH, bir proteindeki bozukluktan kaynaklandığı anlaşılan "ilk moleküler hastalık" olmuştur.<sup>15</sup>

1950'de Haris; oksijensiz HbS solüsyonlarında geri dönüşümlü katı-jel değişimini tanımlayarak katı HbS polimerlerinin patolojideki rolünü açıklamıştır.<sup>16</sup>

Perutz ve Mithicson; oksijensiz HbS'nin solüsyonda çözünürlüğünü kaybettiğini bildirmiştir.<sup>17</sup>

1956 'da Ingram ve Hunt; HbS dizisini belirleyerek altıncı pozisyondaki glutamik asitin valinle yer değiştirdiğini ve her bir Hb molekülü başına iki negatif yükün kaybedildiğini bulmuşlardır. Böylece HbS'nin elektroforez ve çözünürlük bozukluklarını açıklığa kavuşturmuşlardır.<sup>18</sup>

1959'da Perutz, Hb'nin 3 boyutlu yapısını tanımlamıştır.<sup>19</sup>

1984 yılında lösemili bir çocuğa yapılan kemik iliği nakli sonrasında, eşlik eden OHH da tamamen iyileşmiş. Bu durumun fark edilmesi üzerine OHH'nin tedavisine yönelik kemik iliği nakli çalışmaları hız kazanmıştır.<sup>20</sup>

1995 yılında Dr. Samuel Charache'ın yürüttüğü "Çok Merkezli, Hidroksiüre'nin OHH'da Kullanımı" araştırmasıyla hidroksiüre OHH'nin yan etkilerini önleyebilen ilk ve tek ilaç olarak duyurulmuştur.<sup>21</sup>

### 2.1.2. Genetik

OHH'da, hasta ve taşıyıcılar ile normal bireylerin Hb'leri arasındaki elektroforetik ve kimyasal farklılıkların gösterilmesi, OHH'nın moleküler bir hastalık olduğunu ortaya koymuştur.<sup>16</sup> HbS ile normal Hb karşılaştırıldığında 'hem' grupları arasında bir fark olmadığı görülmüştür. İki Hb tipi arasındaki fark, globinden kaynaklanmaktadır.<sup>22</sup>

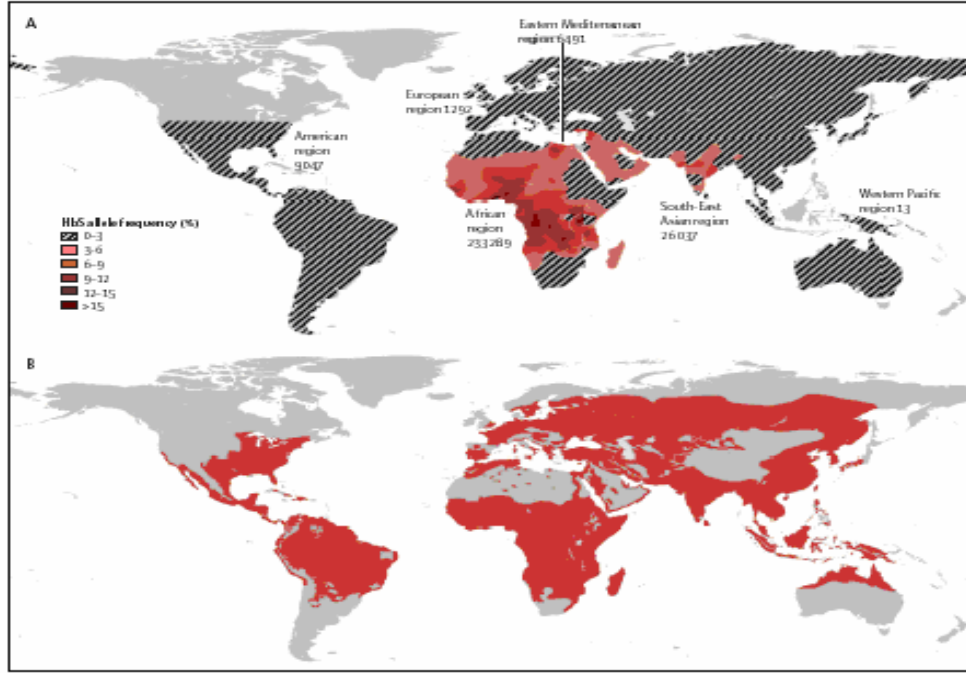
OHH otozomal resesif geçiş göstermektedir. Eğer 11. kromozomun kısa kolunda  $\beta$  globin zincirini kodlayan her iki allel gende, OHH'ya özel GAG-GTG (Guanin-Adenin-Guanin-Guanin-Timin-Guanin) şeklinde mutasyona uğramışsa normal  $\beta$  zinciri dolayısıyla da HbA sentezlenemez ve eritrositler yüksek oranda HbS içerir. Sadece mutant zincir sentezleyebilen bu kişiler homozigotlardır (HbSS). Bir anormal gene sahip heterozigotlar (HbAS) ise taşıyıcıdır ve eritrositler % 20-40 oranında HbS içerir. Taşıyıcılar hastalık belirtilerini göstermez, ancak tetkik ve taramalar sırasında tesadüfen anlaşılırlar.

Orak hücre geninin  $\beta$  talasemi geni veya HbC gibi diğer hemoglobinopati genleri ile birlikte bulunması, farklı OHH tiplerinin görülmesine neden olmaktadır. Örneğin; HbA<sub>2</sub>'nin %3-5 arasında olduğu ve daha hafif seyirli klinik bulgulara yol açan orak hücre- $\beta$  talasemi tablosu görülebilir. Bu tür orak hücre- $\beta$  talasemi hastalarının klinik özelliklerini,  $\beta$  geni mutasyonunun tipi ve HbA miktarı belirlemektedir. OHH ile birlikte görülen diğer heterozigot durumlar ise; orak hücre-hemoglobin C (SC) hastalığı, orak hücre-hemoglobin O (Arab), orak hücre-hemoglobin Lepore (Boston) ve orak hücre-hemoglobin D (Punjab)'dir.<sup>23-27</sup>

### 2.1.3 Görülme Sıklığı ve Coğrafi Dağılım

Yapılan çalışmalarda bugüne kadar 700 anormal hemoglobin tanımlanmış olup bunlardan yaklaşık 2/3'ünün klinik olarak önemli olduğu gösterilmiştir. Dünyada hemoglobinopatilerin sıklığının % 5,1 olduğu tahmin edilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde yenidoğan siyahi bebeklerde orak hücre taşıyıcılığı % 8-10 iken; Batı Afrika'da oran % 25-30'a kadar çıkmaktadır. Afrika'da her yıl OHH olan ortalama 120.000 bebek dünyaya gelmektedir. Bir halk sağlığı sorunu olan anormal hemoglobinlerin başlıcaları HbS, HbE, HbD, HbC ve Hb-Arab'dir.<sup>28,29</sup>

Orak hücre mutasyonunun oluşması ve hastalığın malaryaya karşı sağladığı koruma, hastalığın dünyadaki dağılımını belirleyen iki önemli faktördür. HbS heterozigot bireylerin Plasmodium falciparum malarya parazitiye karşı, HbA taşıyanlardan daha dirençli olduğu ve bu bireylerde hastalığın daha hafif seyrettiği saptanmıştır. Bu durum biyolojik direnç ve çevre arasındaki ilişkiye bir örnek olup dengelenmiş polimorfizm olarak bilinir. Malaryanın oldukça yaygın olduğu Orta Afrika, OHH'nin en sık görüldüğü bölgelerden biridir (Şekil 1). Karaibler, Orta ve Güney Amerika, Akdeniz Bölgesi (Türkiye ve Yunanistan'ı içine alan), Ortadoğu ve Hindistan hastalığın sık görüldüğü bölgelerdir.<sup>29,30</sup>



**Şekil 1. HbS ve sıtmanın dünyadaki dağılımı**

- (A) HbSS, HbSC ve HbS/Beta talasemili hastaların yıllık toplam sayılarını göstermektedir (Wodell ve Darlison'un çalışmasından uyarlanmıştır). Cavalli-Sforza ve ark.'nın yapmış olduğu çalışmadan elde edilen sonuçlarla harita güncellenmiştir.<sup>31,32</sup>
- (B) Sıtmanın, sıtma kontrol programından önceki küresel dağılımı gösterilmiştir. (Lysenko ve Semashko ile Hay ve ark.'nın çalışmalarından uyarlanmıştır)<sup>33,34</sup>

Ülkemizde yapılan tarama çalışmaları; OHH'nin bazı bölgelerde daha sık olduğunu göstermektedir. Çukurova Bölgesi, OHH'nin en sık bulunduğu yöredir. HbS özellikle Eti-Türkü olarak adlandırılan etnik grupta yüksek olarak

bulunmaktadır.<sup>35-37</sup> Sağlık Bakanlığı ve Ulusal Hemoglobinopati Konseyi'nin verilerine göre taşıyıcı sıklığının Adana'da % 10, Antakya'da % 10,5, Mersin'de % 13,6 ve ülkemizdeki toplam OHH olan kişi sayısının yaklaşık 1200 civarında olduğu belirtilmiştir.<sup>38,39</sup> Ayrıca hastalığın Antalya'da % 2,5, Diyarbakır'da % 0,5, Muğla'da % 0,5 sıklıkta görüldüğü bildirilmiştir.<sup>40</sup>

#### 2.1.4. Patofizyoloji

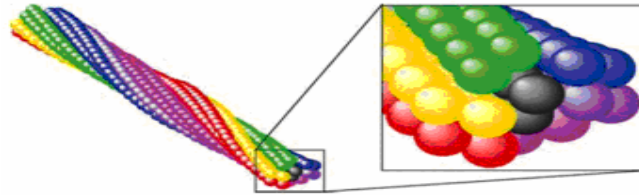
##### Orak Hemoglobin ve Polimerizasyon

HbS, tek nokta mutasyonu ile  $\beta$  globin zincirinin 6. pozisyonunda yer alan glutamik asitin valinle yer değiştirmesi sonucu yani Deoksiribonükleik asit (DNA)'de adenin yerine timin gelmesine bağlı olarak (GAG – GTG) ortaya çıkar. Küçük bir genetik değişiklik moleküler dengeyi önemli ölçüde etkiler.

Oksijenini bırakan, oksijensiz HbS molekülünün çözünürlüğü azalır, buna karşılık viskozitesi artar, oksijensiz HbS tetramerleri kendi aralarında etkileşerek polimer lifçikleri oluşturur, bunlar da lifler halinde biraraya gelirler.

Temel polimer yapısında; iki sarmallı lifçik yer alıp bunlardan yedi tanesi birleşerek lif yapısını oluşturur. Tetramerin iki  $\beta_6$ val'inden bir tanesi komşu HbS tetramerindeki F heliks hidrofobik cebinde yer alan  $\beta_{85}$ phe ve  $\beta_{88}$ leu amino asitleri ile etkileşime girerek polimerizasyonu başlatmaktadır.<sup>41</sup>

HbS polimer zincirinin yapısı Şekil 2' de gösterilmektedir.

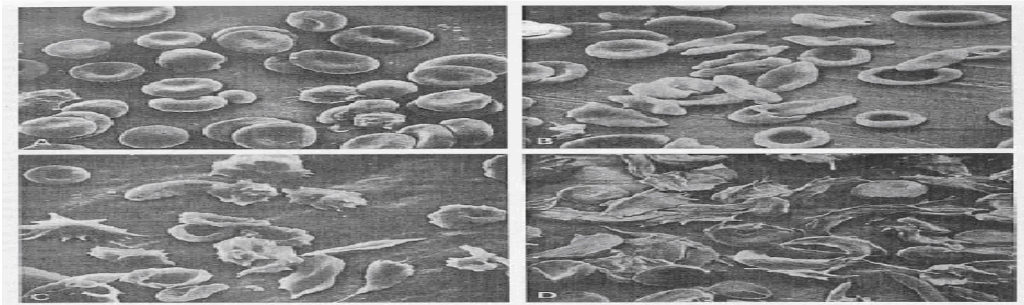


**Şekil 2. HbS'nin polimer yapısı.**<sup>41</sup>

Her top bir molekül Hb'i temsil eder.

Oksijensizliğin süre ve şiddetine bağlı olarak Hb tetramerleri farklı biçimlerde polimerize olmakta ve orak biçimli eritrositlere dönüşmektedirler.

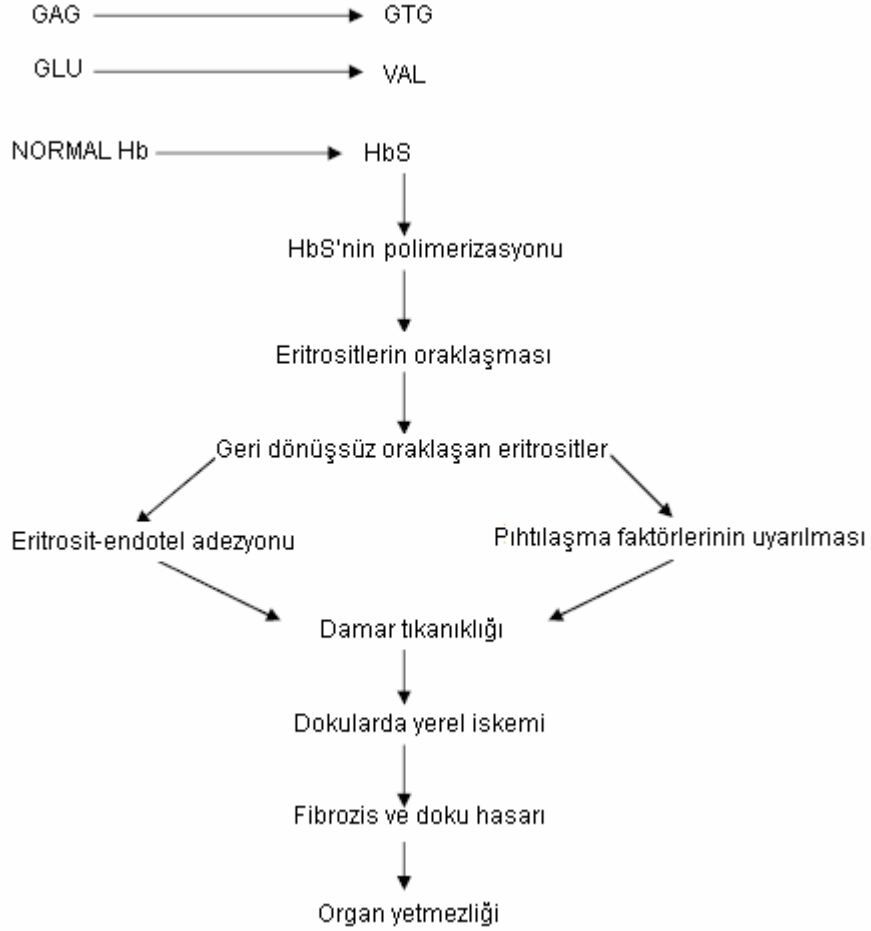
Orak şeklini alan eritrositler dolaşımın akışkanlığını azaltarak kan akımını yavaşlatırlar. Bu da özellikle küçük damarlarda tıkanıklık ve oksijensiz ortam oluşmasına yol açar. Genellikle yeniden oksijenlenme ile orak eritrositler eski biçimini kazanırken, bir kısmı ise hücre membranlarında oluşan kalıcı hasar nedeniyle normal şekline dönebilirler. Bu hücreler damar tıkanıklığına yol açarak dokularda hipoksi oluşturup ağrılı kriz ve organ nekrozuna, sonuçta akut ve kronik doku harabiyetine neden olmaktadır.<sup>1</sup> Hücrelerin geri dönüşsüz oraklaşmasındaki mekanizmalar tam olarak anlaşılamamıştır. Her bir hasta için dönüşsüz oraklaşmış hücre sayısı genellikle sabittir ve esas olarak kansızlık derecesiyle ilişkilidir. Bu hücre sayısı hastanın krizleriyle ilişkili olmadığı gibi ağrı atağı gibi durumların da bir belirleyicisi değildir. Periferik yaymada geri dönüşsüz oraklaşmış hücrelerin (GDO) saptanması OHH'nin tanısının konulmasında çok önemlidir. Tüm OHH genotiplerinde GDO görülürken, orak hücre taşıyıcılarında GDO görülmez. Oksijensizliğin derecesine göre orak şekline dönen eritrositlerin periferik yayma görünümü Şekil 3' de gösterilmiştir.



**Şekil 3. OHH'da eritrositlerin elektron mikroskopik görünümü.**<sup>42</sup>

- A. Oksijenlenmiş kanda normal kırmızı küreler arasında bir tane mikrosferosit görünümü
- B. Şekilleri bozulmaya başlayan oval görünümlü kırmızı küreler
- C. Kısmi oksijensizlik durumunda keskin sınırlı, çıkıntılı filamentli hücreler
- D. Tam oksijensizlik durumunda keskin sınırlı, uzun yüzeyli yarım ay şeklindeki eritrositler

OHH patogenezi üzerine son zamanlarda yapılan çalışmalar oksijensiz ortamdaki HbS'nin polimerizasyonu ile damar tıkanıklığı sırasında oluşan patolojik durumlar üzerinde yoğunlaşmıştır. Hücresel düzeyde sıvı kaybı, inflamatuvar yanıt ve yeniden kanlanma hasarı önemli patofizyolojik mekanizmalar gibi görünmektedir.<sup>43</sup> Şekil 4' de OHH'nin fizyopatolojisi özetlenmiştir.



**Şekil 4. OHH'nın fizyopatolojisi<sup>28</sup>**

### **Oraklaşmayı Etkileyen Faktörler**

Bazı durumlar oraklaşmaya eğilimi artırmaktadır. Bunlar; enfeksiyonlar, parsiyel oksijen basıncında azalma, sıvı kaybı, aşırı fiziksel egzersiz, alkol, gebelik, vücut ısısının artışı, kan yoğunluğunda artma, oksihemoglobin disosiyasyon eğrisinin sağa kaymasına neden olan pH azalması, yüksek HbS, düşük fetal hemoglobin (HbF) miktarı, glikoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PD) eksikliği ve 2,3 difosfogliserat düzeyinin azalmasıdır.<sup>28,44</sup>

#### **a) Hücre İçi Hemoglobin Tipleri ve Yoğunlukları**

OHH patogenezinde birincil olay oksijensiz HbS'nin polimerizasyonudur. Bu olayda en önemli faktör hücre içi Hb tipleri ve yoğunluklarıdır. Eritrosit içindeki HbS yoğunluğu ile oraklaşmaya yatkınlık arasında bir ilişki mevcuttur. Kişiler arasında farklılık olmakla beraber taşıyıcıların eritrositlerinde HbS<%50'dir ve geri kalan ise HbA'dır. Böylece heterozigot kişilerdeki

eritrositler ciddi hipoksi durumları dışında oraklaşma göstermez. Normal HbA'dan başka diğer hemoglobinler de HbS polimerizasyonunu etkiler. Örneğin; HbF, HbS polimerizasyonunu baskılar. Bundan dolayı HbF'nin erişken düzeyine ulaştığı 5-6. aya kadar hastalık bulguları görülmez (Tablo 1).

**Tablo 1. Normal ve orak hücre hastalarındaki hemoglobin tiplerinin karşılaştırılması** <sup>44</sup>

Fenotip	Hemogloblin Tipi	Yüzdesi(%)	Genotip
Normal erişkin	HbA	96-98	2 $\alpha$ 2 $\beta$
	HbF	0,5-0,8	2 $\alpha$ 2 $\gamma$
	HbA <sub>2</sub>	1,5-3,2	2 $\alpha$ 2 $\delta$
Orak hücre taşıyıcısı (Heterozigot)	HbAS	HbA: 60-65	2 $\alpha$ 1 $\beta$ 1 ortak
		HbS: 35-40	
		HbF: 2-20	
Orak hücre hastalığı (Homozigot)	HbSS	HbS: 80-90	2 $\alpha$ 2 ortak
		HbF: 2-20	
		HbA <sub>2</sub> : 2-4	
		HbA: yok	

### b) Damarsal Göllenme

Eritrositlerin düşük oksijen basıncına maruz kalma süresi oraklaşma için önemli bir faktördür. Belirgin eritrosit şekil bozukluğu ve sertliği için 2-4 dakika gereklidir, ama eritrositler venöz dolaşımında normalde 10-15 saniye kalırlar. Böylece, eritrositlerin oraklaşması, kan akımının yavaşladığı mikrovasküler yataklarla sınırlıdır. Bu durum, OHH'da en sık etkilenen organ olan dalak ve kemik iliğinde gerçekleşmektedir. Damar yatağının diğer kısımlarının tıkalı ataklarda etkilenmesinde inflamasyon ve eritrosit yapışkanlığında artış rol oynar. İnflamasyonlu dokuda kan akımı yavaşlar, lökosit ve eritrositin aktif endotele yapışması ile sıvı sızıntısı olur. Sonuçta inflamasyonlu damar yatağından eritrositlerin daha uzun sürede geçişine bağlı olarak, oraklaşmaya yatkınlık önemli derecede artar. Oraklaşma olunca, azalan akışkanlık daha çok göllenme ve oraklaşmaya yol açar. Sonunda doku hasarı ve ağırlı kriz gibi klinik tablolar ortaya çıkar.



### c) Sıcaklık

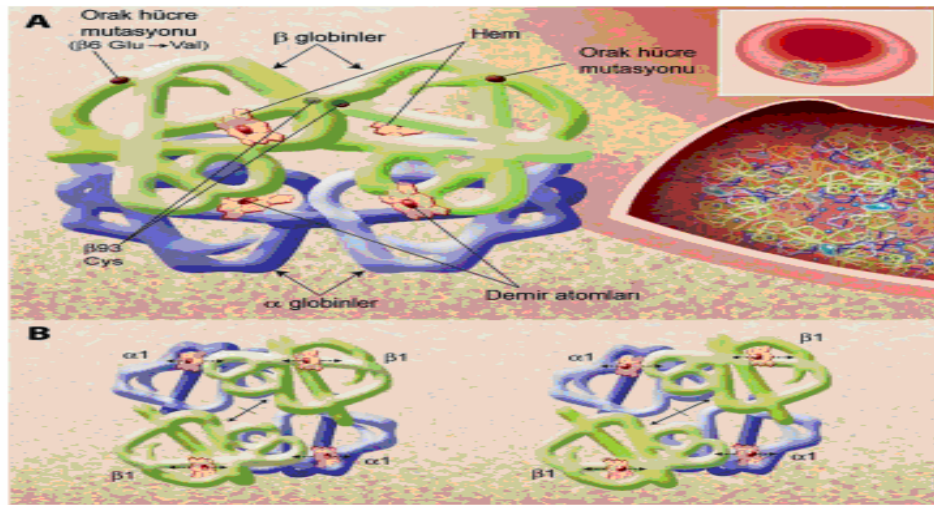
Düşük sıcaklık damar daralmasından dolayı oraklaşmaya eğilimi artırır.

### d) Asidoz

Hidrojen ( $H^+$ ) iyonları oksijen ( $O_2$ ) disosiyasyon eğrisini sağa kaydırır yani pH'da azalma Hb'nin  $O_2$ 'ye ilgisini azaltır. Oksijensiz durumdaki HbS çöktüğünden  $O_2$  yüzdesi değişmese bile, düşük pH eritrositlerin oraklaşmasını artırır. Alkaloz ise oraklaşmayı geciktirir ancak dokulara  $O_2$  salınımı bozulur.

### e) Deoksijenasyon

HbS içeren eritrositlerde oraklaşma için en önemli faktör deoksijenasyon (oksijen kaybı)'dır. Anestezi, solunum cihazına bağlanma, akciğer veya kalp bozuklukları sırasında hipoksi gelişir ve buna bağlı olarak oraklaşma artar (Şekil 5).



Şekil 5. Hemoglobinin üç boyutlu gösterimi <sup>45</sup>

A. HbS mutasyonunun yerleşimi

B. Oksijenli ve oksijensiz formdaki Hb

### f) Hemoglobin Derişimi

HbS polimerizasyon hızı hücrenin ortalama alyuvar hemoglobin derişimi (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration =MCHC) ile ilişkilidir. MCHC >30 ise HbS çökmeye meyillidir. Eritrosit hacminin artmasına neden olan bir ajan MCHC'yi azaltarak oraklaşmayı geciktirebilir. Hem damarsal göllenme hem de hipertonisiteyle sonuçlanan sıvı kaybı, MCHC artımına yol açar, oraklaşmayı

kolaylaştırır. Yüksek HbS yoğunluğu, oksijensiz durumunda çökme ve polimerizasyon ihtimalini artırır.

### **g) Enfeksiyon**

Damar tıkaçıcı kriz enfeksiyonlarla tetiklenir. Enfeksiyon oraklaşmayı artırır. Ateş, kusma, ishal; sıvı kaybına sebep olur. Beslenmenin azalması asidoza neden olur. Pnömonide hipoksi gelişebilir. Enfeksiyonlu HbS'lilerde krizlerin varlığından bilinmeyen başka faktörler de sorumlu tutulabilir.

### **2.1.5. Klinik Bulgular**

OHH'da anemi bulguları olmakla birlikte ağrılı kriz dönemleri dışında genellikle belirti vermezler. Erkek hastaların ortalama yaşam süresi 42, kadınların ise 48 yıldır. Fakat bu yaş sınırları hastalığın yan etkileri ile değişkenlik gösterebilir.<sup>1</sup>

Oraklaşmış hücrelerin ortalama yaşam süresi 17 gündür. Aneminin şiddeti en fazla HbS-β<sup>0</sup> talasemindedir. HbS-β+talasemisi ve HbSC hastalığında ılımlı bir anemi vardır ve OHH hastaları arasında α-talaseminin eşlik ettiği bireylerde en hafif şekilde seyreder. Hemolize ek olarak uygunsuz oranda düşük düzeydeki eritropoetin de anemiye katkıda bulunur.<sup>1</sup>

Hastalığın belirti ve bulguları çok değişik olup hematolojik ve hematolojik olmayan olarak ikiye ayrılır.<sup>28</sup>

## **1. Hematolojik bulgular**

### **a) Aplastik kriz**

Aplastik krizler eritrosit yapımının geçici olarak durmasıdır. Aplastik krizin karakteristik özellikleri arasında kemik iliğinde kırmızı hücre öncülerinde ve retikülosit sayısında azalma ile birlikte Hb düzeylerinde ani düşüş yer alır. Kırmızı hücre üretiminin olmadığı bu evrede hemoliz devam eder ve anemi şiddetlenir. Bu ataklar sadece birkaç gün sürer. Parvovirüs B19, çocuklarda görülen aplastik krizlerin yaklaşık 2/3'ünden sorumludur. Fakat erişkinlerde yüksek oranda koruyucu antikörlerin bulunması sebebiyle, bu yaş grubunda krizin daha az nedenidir. Kemik iliği nekrozu aplastik krizin bir başka nedenidir. Ateş, kemik ağrısı, retikülosit düşüklüğü ve lökoeritroblastik yanıt ile kendini gösterir.

### **b) Hemolitik kriz**

Hemolitik krizin belirgin özellikleri arasında anemide ani alevlenme, indirekt bilirubin (IB), Laktat dehidrogenaz (LDH) ve retikülosit düzeylerinde artış bulunmaktadır. Kronik olan ve giderek kötüleşen anemi; yeni başlayan böbrek yetmezliği, folik asit veya demir eksikliğine bağlı olabilir. Böbrek yetmezliğinde yetersiz eritropoietin yapımı, hemolizin düzelmesini sınırlar. Bu yan etki, hidroksiüre ve/veya rekombinant insan eritropoietini kullanılarak tedavi edilebilir. Kronik hemoliz, folik asit depolarını tüketir ve potansiyel megaloblastik anemi ile sonuçlanır. Beslenme yetersizliği ve idrar yolundan demir kaybı demir eksikliğine neden olabilir. Demir eksikliğinin tanısının konulması, hemolize bağlı olarak yükselen serum demir düzeyleri nedeniyle engellenebilir. Teşhis sıklıkla düşük serum ferritin düzeylerinin veya yükselmiş serum transferrin düzeylerinin tespiti ile konur.<sup>1</sup>

### **c) Damar tıkaçıcı kriz**

Damar tıkaçıcı krizler, genellikle ağrılı krizler şeklinde kendini gösterir ve yenidoğan dönemi dışında en sık karşılaşılan kriz tipidir. Hastaların 1/3'ü hayatı boyunca nadiren ağrı yaşar, 1/3'ü yılda 2-6 kez, 1/3'ü ise yılda 6'dan fazla kez ağrıya bağlı olarak hastaneye yatışı yapılmaktadır. Ağrılı atakların sıklığının fazla olması 20. yaştan sonra ölüm oranını artırır. Akut ağrılı ataklarda başlatıcı etkenler; soğuğa maruz kalma, sıvı kaybı, enfeksiyon, stres, menstruasyon veya alkol alımı olabilir. Başlatıcı neden hastaların %80'inde enfeksiyonlardır. Damar içi oraklaşma küçük damarlarda tıkanmaya yol açar, sonuçta iç organ ve yumuşak doku nekrozları gelişir. Nekroz kendisini yaygın kemik, eklem ve kas ağrıları ile gösterir. Ağrı vücudun herhangi bir bölgesini etkilemekle birlikte sırt, göğüs bölgesi, karın bölgesi, kol ve bacaklar en sık etkilenen bölgelerdir. Ağrının şiddeti önemsenmeyecek kadar hafif veya katlanılamayacak kadar şiddetli olabilir. Ağrılı krizlere ateş, eklemelerde şişlik, hassasiyet, takipne, hipertansiyon, bulantı ve kusma gibi bulgular eşlik edebilir.

Ağrılı kriz sırasında periferik yaymada oraklaşmış hücre yoğunluğunda artma, eritrosit yıkımında artış, C-reaktif protein (CRP),  $\alpha$ 1-glikoprotein, transferrin gibi akut faz reaktanlarının düzeylerinde artma, LDH, IL-1, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ , Substans-P gibi sitokinlerin düzeylerinde yükseklik ve serum akışkanlığında azalma görülebilir. Yılda üç kez ve daha fazla sayıda hastaneye

yatış gerektiren tekrarlayıcı krizlerin olması etkilenimin fazla olduğunu gösterir ve erişkin yaşta yaşam süresinin kısaltır.<sup>28,44,46</sup>

## **2. Hematolojik olmayan bulgular**

### **a) Büyüme geriliği**

Büyüme geriliği boydan çok vücut ağırlığını etkiler. Görülme sıklığı açısından kadın veya erkek arasında belirgin bir fark yoktur. Erişkin dönemde genellikle normal boya ulaşılır fakat kilo normal seviyenin altında seyreder.<sup>1</sup>

### **b) Kemik ve eklemler üzerine etkileri**

Orak hücre krizi sırasında sıklıkla yaygın kemik hassasiyeti görülür. Genellikle hassasiyet dışında muayene bulgusu yoktur. Fakat kırmızılık, ısı artışı ve şişlik olması sellülit veya osteomyelit gibi enfeksiyonları düşündürür. Hareket zorluğu ile birlikte kalçada ağrının olması femur başı nekrozunun bir belirtisi olabilir. Kemik nekrozu osteomyelit benzeri belirtilerle kendini gösterebilir ayrıca vertebralarda baskı kırılmalarına neden olabilir. Vertebra grafisinde görülen balık ağzı anomalisi OHH için belirgindir.<sup>47</sup>

Çocukluk döneminde hastalığın en erken belirtilerinden biri de daktilitis (el-ayak sendromu)'tir. Bu durum, periost inflamasyonu ile ilişkili kemik iliği nekrozuna bağlı oluşmaktadır. El ve ayakta ağrılı şişlikler, kızarıklık ve ısı artışı görülür. Kemik nekrozları direkt grafilerde görülmeyebilir, en iyi manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ile tespit edilir.<sup>1,48</sup>

### **c) Genitoüriner sistem üzerine etkileri**

OHH'nin % 30'unda priapizm gelişir. Tekrarlama olasılığı % 50'dir. Priapizmde corpus cavernosum oraklaşan hücrelerle tıkanmıştır, glans penis ve corpus spongiosum ise korunmuştur.<sup>44,46</sup>

Böbrekleri tutan damar tıkaçıcı olaylar sıklıkla görülür fakat genellikle belirti vermezler. Böbrek medullasında nekroz, yan ağrısı ve kostovertebral açı hassasiyeti ile belirti verebilir. Böbrekte vasa rectanın tıkanması medullaya kan akımını zorlaştırır ve papiller nekroz ile renal tübüler asidozise neden olur. Papiller nekroz makroskopik veya mikroskopik hematüri oluşumuna neden olur ve böbreğin yoğunlaştırma yeteneğinin bozulmasına yol açar. Çocukluk çağında en erken belirti hipostenürüdür. OHH veya taşıyıcılığı olup hematürisi olan

hastalara ultrasonografi (USG) veya MRG yardımı ile ileri tetkikler yapılarak yaşamı tehdit edici durumlar dışlanmalıdır.<sup>47</sup>

#### **d) Karaciğer ve dalak etkilenimi**

Dalak sekestrasyonu çocuklarda daha sık meydana gelir. Belirgin özellikleri aneminin ani olarak artışı, retikülosit yüksekliği, hassas ve büyük dalak görülmesidir. Oraklaşan hücrelerin dalaktaki kan dolaşımını tıkaması; Hb yoğunluğunda azalma, dalakta ani büyüme ile kendini gösterir ve hayatı tehdit edebilir. Taşikardi, hipotansiyon, solukluk, halsizlik ve karında dolgunluk görülür. Dalakta trombositler de yıkılabilir ve bu durum orta derecede trombosit düşüklüğü ile sonuçlanır. Çocukluk çağı boyunca dalakta oluşan küçük nekrozlar dalak işlevlerinin kaybolmasına neden olarak özellikle pnömokok gibi kapsüllü bakterilerin oluşturduğu enfeksiyonlara karşı duyarlılığın artmasına neden olur. Yaşamın ilk 18-36 ayında sıklıkla dalak nekrozları gelişir. Bu nedenle aşılama, profilaktik penisilin uygulaması ve ilk ataktan sonra dalağın alınması önerilir.<sup>1,44,46</sup>

OHH'nin % 30-70'inde uzun süreli hemolize bağlı safra kesesi taşlarının oluşması nedeniyle safra yolu hastalıkları sıktır. Hastalarda karaciğer büyüklüğü ve fonksiyon bozukluğu vardır. Bunun sebepleri, oraklaşmış hücrelerin karaciğerde birikmesi ve sık kan verilmesine bağlı demirin fazla yüklenmesidir. Artan demir yükü karaciğerde sentrilobüler parenkimal atrofi, periportal fibrozis, hemosideroz ve sonuçta siroz oluşumuna neden olabilir. Sık yapılan kan naklinin yan etkisi olarak özellikle Hepatit C enfeksiyonu yüksek oranda görülebilir.<sup>1</sup>

#### **e) Kalp ve akciğer üzerine etkileri**

OHH'ya özgü bir kardiyomiyopati yoktur. Fakat hastalarda kardiyak durumun mutlaka değerlendirilmesi gerekir. Çocukluk çağından itibaren süregelen anemiye bağlı olarak kalp atım hacminde artış, kalp odacıklarında veya boyutlarında büyüme başlar. Egzersiz ve kardiyak kapasitesinin giderek azalmasına rağmen kalp yetmezliği belirtileri genelde görülmez. Fakat hipertansiyon, kan hacminde aşırı yüklenme veya aneminin artması gibi durumlar sebebiyle kalp yetmezliği ortaya çıkabilir. Bu nedenle sıvı tedavisi yapılırken dikkatli olunmalıdır. Ayrıca hastalarda kalp damar hastalığı

olmaksızın, kalp damarlarını orak hücrelerin tıkanması nedeniyle kalp krizi geliştiği bildirilmiştir.<sup>1</sup>

Akciğer damarlarında oluşan damar tıkanıklığı sonucunda akut göğüs sendromu (AGS) gelişir. AGS OHH'nın yaklaşık %30'unda görülür ve erişkinlerde hastalığa bağlı ölümlerin %15'inden sorumludur. Solunumla artan göğüs ağrısı, ateş, lökosit yüksekliği, akciğerde yeni ortaya çıkan infiltrasyon, öksürük, nefes darlığı ve takipne AGS'nin başlıca belirtileridir. Bu hastalık tablosunun pnömoni veya akciğer embolisinden ayırımı çok güç olabilir. Ağır olgularda akciğer fonksiyonları hızla bozulur ve ciddi hipoksi ile solunum yetmezliği gelişebilir. Akciğerdeki infiltrasyonlar göğüs grafisi ile 2 günden sonra görülür. Kesin tanı aracı olan anjiyografi ile akciğer damarlarındaki tıkanma gösterilebilir. AGS tanısı alan hastalar mutlaka hastaneye yatırılmalıdır. Tekrarlayan akut veya subakut pulmoner krizler sonuçta pulmoner hipertansiyon ve kor pulmonaleye yol açabilir.<sup>44,46,48</sup>

#### **f) Nörolojik sisteme etkileri**

Tüm OHH'nın % 15-25'inde nörolojik yan etki gelişir. Çocukluk çağında serebral nekroz, erişkinlerde serebral kanama daha sık görülür. Diğer yan etkiler arasında, geçici iskemik atak, konvülsiyon, baş ağrısı, menenjit, denge bozukluğu, işitme kaybı ve subaraknoid kanama sayılabilir.<sup>28,44,46</sup>

İnme; ana serebral, intraserebral damarların tıkanıklığı veya subaraknoid kanamaya bağlı olarak gelişen OHH'lı çocuk ve genç erişkinlerin % 6-17'sinde bildirilen ciddi bir yan etkidir. OHH'ya bağlı gelişen serebrovasküler olaylardan en sık karşılaşılanı sessiz iskemilerdir.<sup>49</sup>

Genelde yaygın beyaz cevher iskemisi olarak MRG bulgusu veren sessiz iskemilerin yaşa bağlı olmayan sıklığı %10-30 arasındadır. Erişkin OHH hastalarının %24'ü 45 yaş civarında inme geçirmektedir. İlk üç yıl içinde tekrarlama oranı %90'lara çıkmaktadır.<sup>50,51</sup>

Sürekli kan transfüzyonu sayesinde tekrarlama oranı %46-91'den %10'nun altına düşer. Yıllık inme geçirme riski %10 iken uygun tedaviyle bu oran % 90 oranında azaltılabilmektedir.<sup>52,53</sup> Hastaların %33'ü organ yetmezliğine yakalanmayarak 5. dekada kadar yaşayabilir; ancak bu hastaların %22' si 5. dekada inme nedeniyle hayatını kaybetmektedir.<sup>54</sup>

Hemolitik anemi, beslenme yetersizliği, süreğen enfeksiyonlar inme riskini arttıran faktörler arasındadır. HbF düzeyi % 8' den düşük olgularda riskin arttığı bildirilmektedir. Daha önce geçici iskemik atak geçirenlerde, Hb düşük olanlarda, sık veya yakın zamanda AGS geçirenlerde ve sistolik kan basıncı yüksek olan kişilerde risk fazladır.<sup>55,56</sup>

Genelde yaygın olarak kortikal ve subkortikal geçiş bölgesinde küçük lezyonlar görölmesine rağmen akut demyelinizasyon ve venöz sinüs trombozu olguları da bildirilmiştir. Yüzeysel ya da derin serebral venler ve sıklıkla sigmoid sinüs etkilenir.<sup>55</sup>

Klinik bulgular baş ağrısından komaya kadar geniş bir yelpazede görülebilir. Ani başlayan hemiparezi, afazi, havale, duyu kaybı ve bilinç değişikliği gibi klinik bulgulara yol açar.<sup>57</sup>

OHH'da inmenin önceden tahmin edilmesinde ve inme yönünden risk altındaki hastaların belirlenmesinde transkranyal doppler ultrason (TKDU) yardımcı tanı aracıdır.<sup>58</sup> TKDU herhangi bir bulgusu olmayan OHH'lı çocuklarda karotik arterde veya orta serebral arterlerdeki daralmayı erken dönemde göstermeye yarayan bir tekniktir. İnme tablosu oluşmamış OHH hastalarında TKDU'da saptanan geniş arterlerde akım hızının 200 cm/sn' den daha yüksek olması üç yıl içinde inme geçirme riskinin %40 artabileceğine işaret eder.<sup>59</sup> Serebral arterdeki akım hızı 200cm/sn üzerinde olan, ancak hiçbir klinik bulgusu olmayan OHH'lı hastalara yapılacak sürekli kan nakli tedavisi ile inme riskinin azalacağı bildirilmektedir. Kan nakli tedavileri ile TKDU bulgularının normale döndüğü gösterilmiştir.<sup>53</sup> OHH'sı olan 2-16 yaşındaki bütün çocukların TKDU ile taranması önerilmektedir. İlk TKDU'su normal olanlarda yılda bir, riskli hastalara ise her 6 ayda bir TKDU yapılmalıdır.<sup>60</sup>

### **g) Göz etkilenimi**

Gözde meydana gelen yan etkileri arasında, retinada nekroz, retinal ayrılma, vitröz kanama, ilerleyici retina hastalığı sayılabilir. Bu nedenle yıllık göz muayenesi sağlık bakımının bir parçasıdır. Retina hastalığı tanısında en iyi yöntem floresan anjiyografidir.<sup>42</sup>

Ani görme kaybı ile belirti veren santral retinal arter tıkanıklığı acil bir durumdur ve hekim tarafından hızla değerlendirilip acil kan nakli yapılmalıdır.<sup>47</sup>

**h) Bacak ülserleri** Genellikle travmaya bağlı oluşan bacak ülserleri malleolusun iç veya dış tarafında, sıklıkla da iki taraflı oluşur. Bacak ülserleri iyileşmeye dirençlidir ve ayrıca dokuda iltihabın ilerlemesi sonucu osteomyelite yol açabilir. Bacak ülserleri 10 yaşından önce nadiren oluşur. Tekrarlayan oraklaşma atakları ülserlerin gelişimi ve devamlılığına katkıda bulunur. İyileşmesi için haftalar gerekebilir.<sup>42,44,46</sup>

### **ı) Enfeksiyonlar**

Ciddi bakteriel enfeksiyonlar OHH'da temel hasarlanma ve ölüm nedenidir. Çocukluk çağında dalak işlevlerinin kaybolması hastalarda H. influenza ve S. pnömonia gibi kapsüllü bakteri enfeksiyonlarına eğilimi artırır. En önemli ölüm nedeni ise fırsatçı patojenlere bağlı sepsis ve menenjitir. Çocuklarda sepsis ve menenjitin en sık sebebi S. pnömonia'dır. Bu enfeksiyonla beraber aplastik kriz, yaygın damar içi pıhtılaşma gelişebilir ve % 20-50 oranında ölüm görülebilir.

H. influenza tip b, bakteriyemi ve sepsisin 2. sık nedeni olup daha ileri yaştaki çocukları etkiler. S. pnömonia'ya göre daha hafif seyrederek fakat ağır olgularda ölümcül olabilir. Daha ileri yaşlardaki hastalarda idrar yolu enfeksiyonları ve bakteriyemi daha çok E. coli ve diğer gr (-) bakterilere bağlı meydana gelir. OHH'da sık görülen enfeksiyon olan pnömonilere en sık Mycoplasma pnömonia nedeni olur. Damar tıkaçıcı krizlerde açıklanamayan 38°C veya daha yüksek ateş, bakteriyel enfeksiyonlar açısından değerlendirilmeyi gerektirmektedir. Yaşa, enfeksiyonun yerine ve etkene göre antibiyotik tedavisi başlanmalıdır.

### **2.1.6. Tanı**

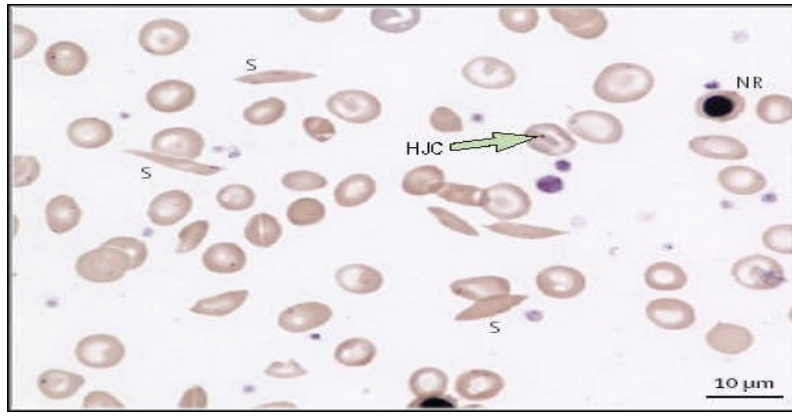
Hastanın öyküsünden etnik köken, geldiği yöre, aile öyküsü, yakınmalarının başlangıç zamanı ve tetikleyen etkenler değerlendirilmelidir. Bebeklik döneminde HbS oranı artıp HbF düştükçe OHH bulguları ortaya çıkmaya başlar. Fizik muayenede solukluk, sarılık, dalak büyüklüğü, enfeksiyon bulguları, organ ve iskelet sistemindeki şekil bozuklukları değerlendirilmelidir.

OHH'daki hemolitik anemi; hematokrit, Hb ve eritrosit düzeylerinde hafif ve orta düzeye kadar düşmeye yol açar. Bazal Hb düzeyi 6-9 gr/dl iken retikülositlerin oranı % 3-15 arasındadır. Haptoglobulin düzeyleri de



düşmüştür.<sup>28</sup> OHH'da eritrosit ömrü kısalmışken (yaklaşık on gün) eritrosit üretimi 4-5 kat artmıştır. Lökosit sayısı artabilir (12000-20000/mm<sup>3</sup>). Trombosit sayısı yüksek, sedimentasyon hızı düşüktür. Karaciğer fonksiyon testlerinde bozulma, bilirubin yüksekliği ve hipergamaglobinemi görülebilir.

Periferik yayma orak şekilli hücrelerin görülmesine imkan verdiği için değerlidir. OHH'nın periferik kan yayma bulguları çeşitlidir; yaymada orak hücrelerin yanı sıra polikromazi, hedef hücreler, dalak fonksiyon bozukluğunu gösteren Howell-Jolly Cisimcikleri ve mikrositoz görülebilir. Eritrositler talasemi ve demir eksikliği eşlik etmedikçe normokromdur (Şekil 6)



**Şekil 6. OHH'da periferik kan yayması<sup>42</sup>**

S : Geri dönüşümsüz şekilde oraklaşmış hücreleri,

NR : Çekirdekli hale gelmiş eritrositleri,

HJC : Howell-Jolly cisimciğini temsil etmektedir.

Periferik yaymada 3. ayın sonunda GDO hücreleri belirmeye başlar ve 4. ayda hemolitik anemi ortaya çıkar. Bu dönemde yapılan hemoglobin elektroforezi, çözünürlük testi ve periferik yayma tanı koymaya yardımcı olabilir.<sup>42</sup> Daha ileri yaşlardaki çocuklar ve yetişkinlerde amaç taşıyıcı veya hasta olanların ayrılmasıdır.

Oraklaşma testi (diğer adıyla metabisülfid çözünürlük testi veya quick testi) ile HbS olduğu gösterilebilir ancak bu test ile HbSS, HbAS, HbS- $\beta$  talasemi ve HbSC ayırt edilemez. Bu nedenle tanı için hb elektroforezi gereklidir.

### **2.1.7. Doğum öncesi tanı**

Günümüzde OHH için var olan tedavi yöntemlerinin yetersiz kalması nedeniyle doğum öncesi dönemde tanısının konulması önem kazanmıştır. Bu nedenle hastalığın önlenmesinde genetik danışmanlık önemlidir. Anne ve babanın herikisi de OHH ise çocuklarda homozigot SS olma olasılığı % 25'tir. Hastalığın doğum öncesi tanısı hamileliğin ilk üç ayında yapılan koryon villuslarından alınan fetal hücrelerde genetik değişikliğin gösterilmesi ile mümkündür. Fetusun homozigot SS olduğu gösterilirse ailenin isteği ile gebelik sonlandırılabilir.

DNA bazlı testlerin gelişmesiyle beraber hamileliğin ikinci 3. ayında amniyosentez yoluyla fetal DNA testleri yapılmaya başlanmıştır. Günümüzde hamileliğin 8-10. haftalarında koryon villuslarından alınan örneklerle fetal DNA çalışmaları yapılarak tanı konmaktadır.

### **2.1.8. Tedavi**

Günümüzde tedavi başlıca; koruyucu tedavi ve yan etkilerin tedavisi olmak üzere iki noktada yoğunlaşmaktadır. Hastalığın tedavisi kısaca şöyle özetlenebilir.

1. Koruyucu önlemler
2. Enfeksiyonların tedavisi
3. Transfüzyon tedavileri
4. Kriz ve yan etkilerin tedavisi
5. Hemoglonin F yapımını artıran ajanlar
6. Şelasyon tedavisi
7. Kök hücre nakli
8. Cerrahi tedaviye hazırlık

#### **1.Koruyucu Önlemler**

Damar içi oraklaşmayı önleyecek güvenli bir tedavi bulunana kadar yan etkileri önlemeye ve geciktirmeye çalışmak, tedavinin önemli bir yönünü oluşturur. Ateş, sıvı kaybı, asidoz, oksijenlenme azlığı ve soğuk ağırlı krizleri aktive ettiğinden dolayı bu durumların önlenmesi gerekir.

Özellikle ateşli hastalık döneminde, idrar miktarı ve hesaplanamayan kayıplar göz önünde bulundurularak sıvı desteği sağlanmalıdır.

Folik aside her zaman ihtiyaç olduğundan, folik asit ilaçları düzenli şekilde kullanılmalıdır.

## 2.Enfeksiyonların tedavisi

OHH'lı hastalarda ateş ve enfeksiyonlar hastaneye en sık başvuru nedenleri arasında yer almaktadır. Ateşi olan her OHH'lı hasta enfeksiyon yönünden ayrıntılı olarak değerlendirilmeli ve enfeksiyon varlığı dışlanana kadar parenteral geniş aralıklı 3. kuşak sefalosporinlerle (seftriakson) tedavi edilmelidir. Ateşi olan her OHH'lı hasta acil olarak kabul edilmeli ve Tablo 2' de ki bulguları olan hastalar da hastaneye yatırılarak tedavi edilmelidir. Her hastaya tanıdan itibaren penisilin profilaksisi başlanmalı, pnömokok ve H. influenza aşılarının yapılması önerilmelidir. Protein konjüge pnömokok aşısı sağlıklı çocuklarda olduğu gibi OHH'lı hastalara 2, 4, 6 ve 12-15. aylarda önerilmeli, bebek 24 aylık olduğunda ise tek doz 23 valanlı pnömokok aşısı yapılmalıdır. Ayrıca her 3-5 yılda bir bu aşının tekrarı önerilmelidir.

**Tablo 2. Ateşi olan OHH'lı hastalarda hastaneye yatırılarak izleme önerileri<sup>60</sup>**

3 yaş altında ve ateşi 38.6 C° üzerinde olan tüm OHH'lı hastalar
Ateşi 40 C° üzerinde olan tüm OHH'lı hastalar
Septik görünüm
Peteşi ve purpura varlığı
Hipotansiyon
Santral venöz kateter varlığı
<u>Aşağıdaki akut komplikasyonların varlığına bağlı belirtilerin olması;</u>
-Pulmoner komplikasyonlar
-Aplastik kriz
-Sekestrasyon krizi
-İnme yada diğer nörolojik bozukluklar
-Priapizm
Geçirilmiş streptokokus pnömoniye bağlı bakteriyemi öyküsü
Daha önceki Hb düzeyine göre düşüklük
Beyaz küre sayısının $30 \times 10^9/L$ üzerinde yada $5 \times 10^9/L$ altında olması
Trombosit sayısının $150 \times 10^9/L$ altında olması

### 3. Kan nakli tedavisi

Hastalığa bağlı gelişen yan etkilerin hem tedavisi hem de önlenmesi için kullanılan tedavi yöntemlerinden biridir. Kan nakli tedavisi; basit kan nakli, uzun süreli basit kan nakli, kısmi ya da tam kan değişimi şeklinde yapılabilir. Hastalarda genellikle Hb düzeyi 7 gr/dl altına düşmedikçe kan nakli yapılmaması ve hiperviskoziteye neden olmamak için de Hb düzeyinin 10 gr/dl üzerine çıkarılmaması önerilmektedir.

Bütün yeni tanı almış OHH'lı hastaların eritrosit alt gruplarına bakılmalıdır. Orak hücre taşıyıcısı olmayan vericiden alınmış, filtrelenmiş ve en fazla 5 günlük olan ürünler kullanılmalı ve mümkün olduğu kadar C,c,E,e, Kell ve Kidd (JkA, JkB) antijenleri uygun olan ürünler seçilmelidir. Tablo 3'de OHH'lı hastalarda kan nakli önerileri belirtilmiştir.

Tablo 3. OHH'da kan nakli önerileri<sup>60</sup>

	Basit Transfüzyon	Kronik Basit Transfüzyon	Kan Değişimi
Önerilen Durumlar	Semptomatik anemi Akut nörolojik bulgu Akut göğüs sendromu Akut Çoklu organ yetmezliği Cerrahi öncesi Akut splenik yada hepatik sekestrasyon Sepsis ve menenjit	İnmenin önlenmesi Tekrarlayan akut göğüs sendromu yada çoklu organ yetersizliğinin önlenmesi Böbrek yetersizliği ve anemisi olan ve eritropoetin tedavisine cevap vermeyenler Pulmoner hipertansiyon yada kronik hipoksi Kronik kalp yetersizliği	Akut nörolojik bulgu Ağır akut göğüs sendromu Akut çoklu organ yetersizliği Cerrahi öncesi Hipervolemi ve hiperviskoziteden kaçınmak Demir birikimini azaltmak
Tartışmalı Durumlar	Kontrast madde kullanımından önce Ciddi göz komplikasyonları	Tekrarlayan ciddi ağrılı kriz atakları İyileşmeyen bacak ülserleri Tekrarlayan priapizm	Akut priapizm

## 4. Kriz ve Yan Etkilerin Tedavisi

### Akut Göğüs Sendromu Tedavisi

AGS, ABD (Amerika Birleşik Devletleri)'de OHH'ya bağlı en sık ölüm sebebidir. Hastaların takibi yoğun bakımda yapılmalıdır. Tedavisi; yakın takip ile sıvı verilmesi, oksijen verilmesi ve ağrının kontrol edilmesidir. Pnömoni ile ayırıcı tanı yapılmaya kadar S. pnömonia ve M. Pnömonia'yı kapsayan geniş aralıklı antibiyotik tedavisi başlanmalıdır. Şiddetli olgularda kan nakli ile hematokrit düzeyi % 30'un üzerinde olacak şekilde kan verilmeli, parsiyel oksijen basıncı 90'ın altına düştüğünde kan değişimi yapılmalıdır.<sup>61,62</sup>

### Ağrılı Krizlerin Tedavisi

Öncelikle ağrıyı oluşturabilen faktörlerden (soğuk, asidoz, enfeksiyon, sıvı kaybı, düşük oksijen, aşırı egzersiz, psikolojik ve fiziksel stres, yüksek irtifada bulunmaktan kaçınma ve hasta eğitimi sağlanmalıdır.

Ağızdan alınan ağrı kesici ilaçlar ile kontrol altına alınabilen ve ağızdan sıvı alımının yeterli olduğu ağrılı krizler evde tedavi edilmelidir. Hastanın ağrıları parenteral tedavi gerektiriyorsa ve/veya ağızdan sıvı alamıyorsa ve birlikte hastalığın yan etkisi mevcutsa hastaneye yatırılarak izlenmelidir. Tüm hastalara yatak istirahati önerilmelidir.<sup>63</sup>

Hastaların ağrı şiddetine göre (Tablo 4, 5, 6);

1. Hafif ağrıda; Narkotik olmayan ağrı kesici +yardımcı tedaviler
2. Orta şiddette ağrıda; zayıf narkotik veya düşük doz kuvvetli narkotik ± narkotik olmayan+ yardımcı tedaviler
3. Şiddetli ağrıda; kuvvetli narkotik + narkotik olmayan ağrı kesici + yardımcı tedaviler önerilmelidir. (yardımcı tedaviler; trankilizanlar, laksatifler, antihistaminikler, psikoterapiden oluşmaktadır)

**Tablo 4. Narkotik olmayan ağrı kesiciler<sup>60</sup>**

ASA (Aspirin)	10 mg/kg/4 saatte bir ağızdan
Asetaminofen	10-15 mg/kg/4 saatte bir ağızdan
İbuprofen	5-10 mg/kg/6-8 saatte bir ağızdan
Naproksen	5 mg/kg/12 saatte bir ağızdan
İndometazin	1-3 mg/kg/gün 3-4 dozda ağızdan

**Tablo 5. Zayıf narkotik ağrı kesiciler<sup>60</sup>**

Kodein	0,5-1 mg/kg/4 saatte bir ağızdan
Oksikodon	0,05-0,15 mg/kg/ 4 saatte bir
Tramadol	50kg>50-100 mg, 3 saat sonra tekrarlanır

**Tablo 6. Kuvvetli narkotik ağrı kesiciler<sup>60</sup>**

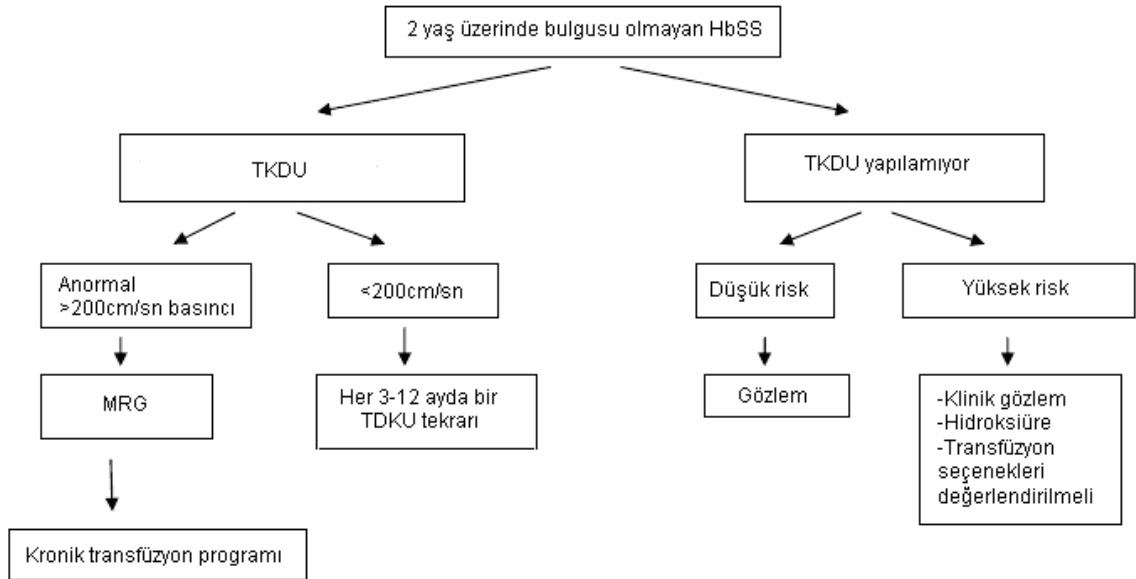
<p>Morfin: Damar içi, kas içi, cilt altı, ağızdan kullanımı mümkündür. 0,1-0,15 mg/kg/3 saatte bir iv, maksimum doz; 7,5-10 mg (Birlikte parasetamol veya NSAİD başlanır. 2 doz morfin ile ağrısı kontrol altına alınamayan hasta hastaneye yatırılır) iv devamlı infüzyon tedavisi; 0,04 mg/kg /saat, 8 saatte bir 0,02 mg/kg artırılarak en fazla 0,1 mg/kg, idame tedavisi, 0,05 mg/kg/3-4 saatte bir Hasta kontrollü analjezi; bazal infüzyon; 0,01-0,04 mg/kg/saat , Bolus doz: 0,01- 0,04 mg/kg. Kilitli kalma süresi: 6-10 dk.</p>
---

Kan nakli veya kan değişimi; diğer tedavi yöntemlerine cevap alınamıyorsa özellikle sık tekrarlayan ağrılı krizlerde düşünülebilir.

## Akut Santral Sinir Sistemi Olaylarının Tedavisi

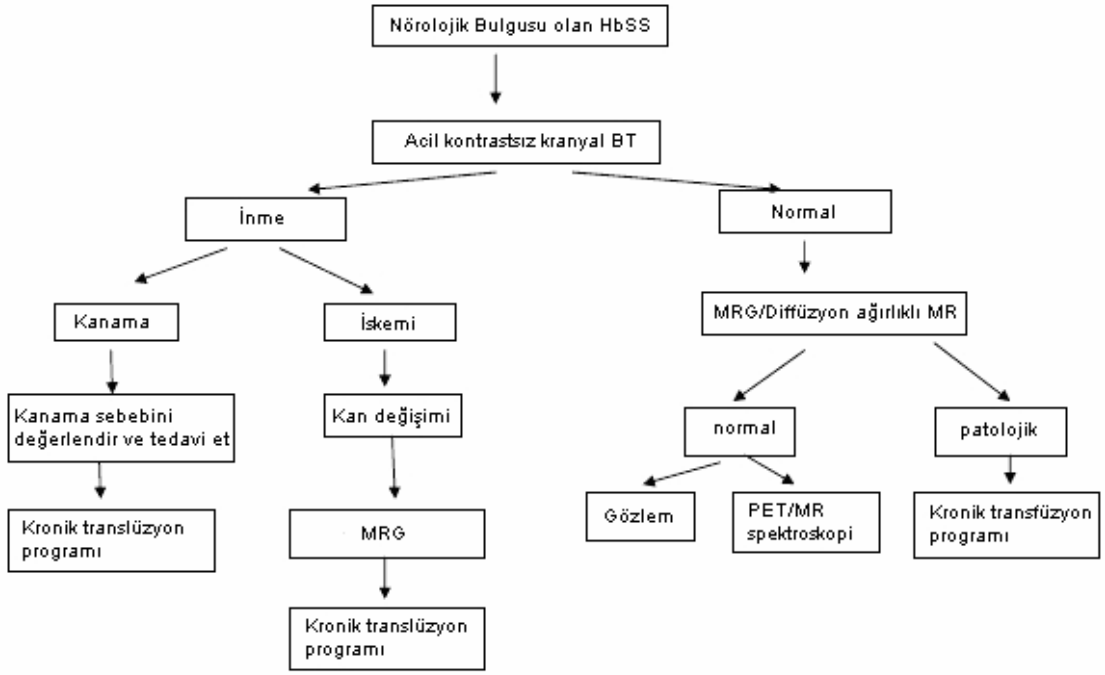
OHH'lı çocuklarda inme geliştiğinde en iyi tedavi yöntemi hemen kan değişimi yaparak HbS oranını azaltmaktır. Kan nakilleri ile arteryal O<sub>2</sub> basıncı artırılarak oraklaşma azaltılır. Kan nakli ile HbS seviyesi % 30' un altına indirildiğinde inme riski %10-20 arasında azalmaktadır.<sup>55</sup> Tekrarlayan kan nakli uygulamaları ile büyük damarlarda ortaya çıkabilecek olan daralma ve diğer hemodinamik değişiklikler egellenebilir. Hidroksiüre kullanımının da inme tedavisinde yeri olabileceği belirtilmektedir.<sup>64</sup>

Şekil 7 ve şekil 8' de OHH'da akut santral sistemi olaylarına yaklaşım şeması bulunmaktadır.



**Şekil 7. Nörolojik bulgusu olmayan OHH'da akut santral sinir sistemi olaylarına yaklaşım<sup>60</sup>**

HbSS: Orak hemoglobin USG: Ultrasonografi MRG: Manyetik Rezonans Görüntüleme  
TKDU:Transkranyal Doppler Ultrason



**Şekil 8. Nörolojik bulgusu olan OHH’da akut santral sinir sistemi olaylarına yaklaşım<sup>60</sup>**

BT: Bilgisayarlı Tomografi PET: Pozitron Emisyon Tomografisi

### **Dalak Sekestrasyon Krizi Tedavisi**

Basit kan nakli yapılarak hastanın sıvı açığı düzeltilmeli ve dokulara oksijen gidişi artırılmalıdır. Tekrarlayan vakalarda splenektomi düşünülebilir.

### **Priapizm Tedavisi**

Ağrı kesici, ılık pansuman ve sıvı tedavisi uygulanmalı. Dört saatten uzun süren hastalarda intrakavernozal aspirasyon ve  $\alpha$  agonistler verilebilir. Devam eden vakalarda basit kan nakli ya da kan değişimi önerilebilir. 12-24 saatten uzun süren ergenlik sonrası vakalarda şant operasyonu düşünülebilir.

### **5. Hemoglobin F yapımını artıran ajanlar**

Günümüzde bu amaçla klinikte kullanılan tek ilaç hidroksiüre'dir. Başlangıç dozu 10-15 mg/kg/gündür. Üç ayda bir 5 mg/kg/günlük artışlar ile en yüksek doz olan 35 mg/kg/güne kadar çıkılabilir. En önemli yan etkisi kemik iliği baskılanması olup yakın kan sayımı ile takip yapılmalıdır. Tedaviden 4-12 hafta sonra HbF düzeyinde %5-15 ve Hb düzeyinde 1 g/dl artış beklenebilir. İki yaş



üzerindeki HbSS ve HbSB olan hastalarda hidroksiüre başlanması önerilen ya da hastaya göre karar verilmesi gereken durumlar Tablo 7' de özetlenmiştir.

**Tablo 7. Hidroksiüre tedavisi başlama önerileri<sup>60</sup>**

Hidroksiüre başlanması önerilen durumlar	Hastaya göre karar verilmesi gereken durumlar
-Daktilit ve ağrılı krizlerin varlığı, -AGS varlığı, -Hemoglobin ve HbF düzeyindeki düşüklük, -Beyaz küre ve LDH düzeyinde yükseklik, -Anormal TKDU varlığı	-Anormal beyin MRG (sessiz infarkt), -Nörobilişsel fonksiyonlarda bozukluk, -Büyüme ve gelişme geriliği,

## 6. Şelasyon Tedavisi

OHH'lı hastalarda kan nakli tedavileri giderek artan oranlarda kullanılmaya başlanmıştır. Tekrarlayan kan nakilleri sonucunda vücut demir yükü artacak ve karaciğer, kalp ve endokrin organlarda demir birikimi olacaktır. Şelasyon tedavisinin amacı organizmayı artan demir yükünün zararlı etkilerinden korumaktır. Şelasyon tedavisine; karaciğer demiri 7 mg/kg kuru karaciğer ağırlığının üzerinde olduğu zaman ya da kan nakli miktarı 120 mL eritrosit/vücut ağırlığı üzerinde ve ferritin düzeyi 1000 ng/mL üzerinde olduğu durumlarda başlanması gerektiği bildirilmektedir. Günümüzde kullanılan üç demir şelatörü bulunmaktadır. Desferoksamin damar içinden veya cilt altı verilirken, defarosioks ve deferibron ağızdan kullanılabilen ilaçlardır.<sup>65</sup>

## 7.Kök Hücre Nakli

Belirgin organ hasarı olmayan küçük çocuklarda doku uygunluk antijeni (HLA= Human Lökosit Antijen) uygun kardeşlerden yapılan kök hücre nakli oldukça yüksek oranda başarı sağlamaktadır.<sup>66</sup>

Aşağıdaki yan etkilerin varlığında kök hücre nakli önerilebilir;

-İnme veya 24 saatten uzun süren nörolojik bulgu

-Anormal beyin MRG ve anjiyografisi ile birlikte nöropsikolojik fonksiyon bozukluğu,

- Tekrarlayan AGS,
- Evre I veya II orak hücre akciğeri,
- Tekrarlayan damar tıkalıcı krizler veya tekrarlayan priapizm,
- Orak hücre nefropatisi (Glomeruler filtrasyon hızı %30-50)

## **8. Cerrahi Tedaviye Hazırlık**

Cerrahi operasyon öncesi ve sonrasında oraklaşmayı artıracak etkenlerden uzak durulmalı (hipoksi, hipotermi, sıvı kaybı vs.) Bütün OHH'lı hastalara cerrahi öncesinde Hb düzeyini 10 gr/dl üzerine çıkaracak ve HbS düzeyini %30'un altına düşürecek şekilde basit kan nakli ya da kan değişimi önerilmelidir.

İleri düzey gen tedavileri geliştirilerek klinik kullanımda yerlerini alana kadar OHH'nın yan etkilerine yönelik en önemli tedavi basamağı birincil ve ikincil korumadan ibarettir.

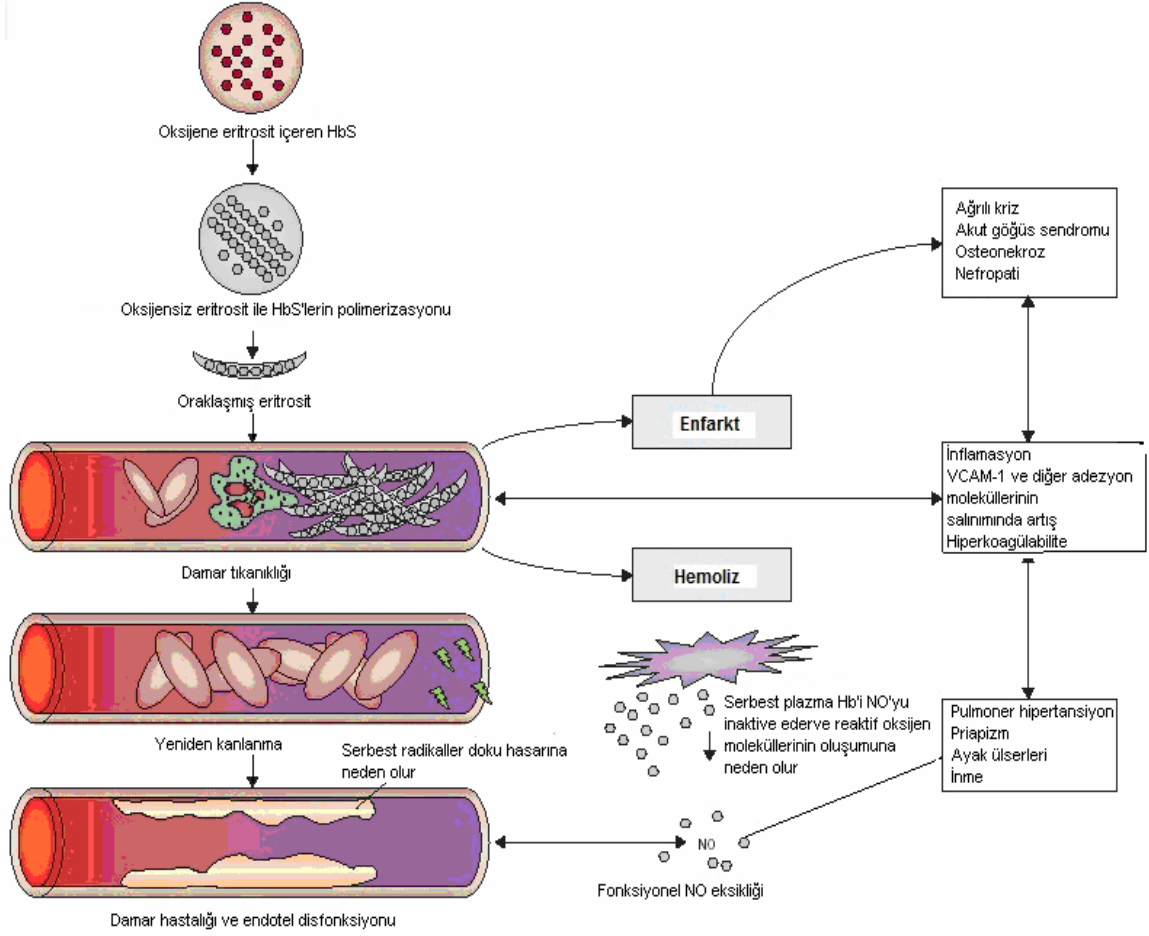
## **2.2. İnflamasyon**

### **2.2.1. Orak Hücre Hastalığı ve İnflamasyon**

Doğal ve kazanılmış bağışıklığa ait mekanizmaların birlikte kullanıldığı bir immün reaksiyon olan inflamasyon, patojenlere karşı konakçı savunmasında hayati önem taşır. İnvazif patojene yanıt olarak nötrofil ve makrofaj gibi inflamatuvar hücrelerin birikimi, patojenin fagositozu sonrası çeşitli sitokin ve kemokinlerin salgılanması ve bu moleküllerin lenfositleri aktive ederek kazanılmış bağışıklık yanıtı başlatması ile yerleşen inflamasyon; enfeksiyona yol açan patojenin ortadan kaldırılmasıyla ya da patojenin ortadan kaldırılamadığı durumlarda, uzun süreli inflamatuvar yanıtların başlatılmasıyla sonlanır.

Daha önce yapılan çalışmalarda, OHH'nın patofizyolojisinde inflamasyonun önemli rolü olduğu belirtilmiştir<sup>67-69</sup> (Şekil 9). OHH'da uzun süreli inflamasyon bulguları olmakla beraber, hasta krize girdiğinde akut inflamasyon bulguları alevlenir.<sup>68</sup> OHH'da uzun süreli hemoliz sonucu açığa çıkan hücre içeriği plazmanın kimyasal bileşimini değiştirmekte ve inflamatuvar bir ortam hazırlamaktadır.<sup>69</sup> Lökosit sayısında artış, lökosit yarı ömründe kısalma, granülosit ve monositlerin anormal aktivasyonu, pıhtılaşma sisteminin aktivasyonu, çözünebilir VCAM düzeylerinin yükselmesi, trombosit

sayısında artış görülmesi OHH'nın inflamatuvar hastalık olduğunu kanıtlamaktadır.<sup>70,71</sup> Hüresel aktivasyon, uzun süreli olarak artmış inflamatuvar belirteçlerin (IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  gibi), akut faz reaktanların (CRP, G-CSF, sekretuar fosfolipaz A2 gibi) seviyeleri ile de uyumludur. Bu biyolojik belirteçler hasta ağırlı kriz tablosu dışında iken bile anormal olabilir, hatta akut ağırlı krizdekenden daha yüksek bile bulunabilir.<sup>72</sup>



**Şekil 9. OHH'nın patofizyolojisi<sup>67</sup>**

OHH'da HbS polimerizasyonu, hiperviskozite, damar tıkanıklığı, hemoliz ve endotelial disfonksiyon gösterilmektedir. Oksijensizlik, HbS polimerizasyonuna neden olur, bu durum da eritrositleri oraklaştırır. Damar tıkanmaları, orak eritrositlerin lökositlerle ve vasküler endotelle olan etkileşimi sonucu meydana gelir. Bu damar tıkanmaları infarktlara, hemoliz ve inflamasyona neden olur, inflamasyon salınan adezyon moleküllerinin sayısını artırır, oraklaşmış eritrositlerin vasküler endotele yapışma eğilimini artırır ve bütün bunlar damar tıkanmalarını artırarak döngüyü devam ettirir. İskemik dokunun yeniden kanlanması serbest radikal oluşturur ve doku hasarına neden olur. Hasarlanmış eritrositler, plazma içerisine serbest hemoglobin salar. Bu serbest Hb nitrik okside yüksek oranda bağlanır, fonksiyonel nitrik asit eksikliğine neden olur ve damarsal hasar oluşmasına yol açar.

HbS: Orak hemoglobin, NO: Nitrik oksit, VCAM: Vasküler hücre adezyon molekülü

## I. Reperfüzyon Hasarı Patofizyolojisi

OHH'da damar tıkaçıcı krizlerde oraklaşmanın geri dönüşümlü olması ve inflamasyon-başlatıcı özelliği nedeniyle; iskemi ve reperfüzyon (yeniden kanlanma) döngüleri sürekli tekrarlamaktadır. Yeniden kanlanma hasarı olarak bilinen bu olay yeniden kanlanma sürecinde tıkanıklığın kaybolması ile meydana gelen doku hasarı olarak tanımlanabilir.

İnflamasyonda; proteinlerin oksidasyonu, lipid peroksidasyonu ile zararlı oksidan ürünler ortaya çıkar. Bu süreçte; salınan sitokinler tarafından, aktivasyonun gerçekleşmesiyle birlikte tıkanıklık sonrası inflamatuvar süreç başlayabilir. Olaylar dizisi: ATP'nin hipoksantine yıkımı, ksantin dehidrogenaz'ın ksantin oksidaza dönüştürülmesi ve oksijenli kan akımının tekrar gelmesi ile süperoksid radikallerinin üretilmesi şeklindedir.<sup>73-75</sup>

OHH'da, yeniden kanlanma hasarını göstermek amacıyla OHH'lı fareler ile deney yapılmış, fareler geçici olarak hipoksiye (%8-11 oksijen) maruz bırakılıp, daha sonra oda havasına yerleştirilmiş. Bu durumda, normal farelerde sadece hipoksik stres artışı meydana gelirken; orak hücreli farelerde ise geçici oraklaşma oranlarında artış ve buna bağlı olarak (özellikle beklenmeyen bölgelerde) damar tıkanıklığı ile iskemide artış meydana gelmiştir.<sup>76</sup>

## II. Kronik Damar Hastalığı

OHH'da uzun süreli damar hastalığı mevcuttur. En sık tutulum; Willis Poligonu'nun orta-büyük boyutlu damarlarındadır. Bu damarlarda; intimal hiperplazi, proliferatif değişiklikler ve internal elastik lamina yırtılması gelişimine yatkınlık söz konusudur.<sup>77,78</sup> OHH'lı hastaların beyinlerindeki küçük damarlarda da damar hastalığı gelişimi söz konusudur. Ayrıca benzer patolojik değişiklikler akciğerde gelişerek pulmoner hipertansiyona, umbilikal kordda gelişerek fetal büyümenin gerilemesine ve ölümüne, dalakta gelişerek otosplenektomiye, peniste gelişerek priapizme ve böbreklerde gelişerek böbrek yetmezliğine neden olabilir.<sup>79,80</sup>

## III. Anjiyogenezis

Uzun süreli inflamasyonda anjiyogenezis artmıştır. OHH'da plazma vasküler endotelial büyüme faktörü ve plasenta büyüme faktörü artmıştır. Bu iki madde de, proanjiyojenik faktörlerdir. Plasenta büyüme faktörü, artmış

eritropoetin seviyeleri aracılığıyla vasküler endotelial büyüme faktörü ise hem uzun süreli hipoksi ile hem de plasenta büyüme faktörü tarafından uyarılabilir. Eritropoetin kendisi de anjiyogenezise neden olmaktadır.<sup>81-83</sup>

#### **IV. Pıhtılaşma Sisteminin Aktivasyonu**

Endotel, normalde pıhtılaşma sisteminin düzenlenmesine yardımcı olan trombojenik olmayan bir yüzey içerir.<sup>84,85</sup> OHH'lı hastalarda özellikle ani ağrılı krizler esnasında pıhtılaşma sistemi daima aktive olmaya meyillidir. Bu durumun gelişmesinde; ciddi trombin üretimi, trombositlerin uyarılması, fibrinolizis ve antitrombotik yapıların tüketimi rol oynamaktadır. Pıhtılaşma sisteminin tetikleyicisi olan doku faktörü; OHH'da monositlerden ve endotel hücrelerinden anormal şekilde salınmaktadır.<sup>86,87</sup>

#### **V. Nitrik Oksit eksikliği**

OHH'da hem damar genişletici hem de damar daraltıcı faktörlerin artmasından dolayı damar gerginliğinde dengesizlik mevcuttur. Endotel hücreleri, vazoaaktif maddeleri (Nitrik Oksit, prostasiklin, endotelin-1 gibi) salgılayarak OHH patofizyolojisinde rol oynamaktadır.<sup>88</sup> Endotel tarafından salınan Nitrik Oksit (NO) 'in damar koruyuculuğu gibi çok önemli biyolojik rolü mevcuttur. Örneğin; NO, trombosit ve lökosit adezyonunu inhibe eder, düz kas proliferasyonunu azaltır ve endotel hücrelerinden VCAM-1, IL-6 ve doku faktörü salınımını azaltmaktadır.<sup>89,90</sup>

OHH'da, azalmış NO biyoyararlanımını mevcuttur. Bu durum plazma Hb'si tarafından tüketilme, yeniden kanlanma hasarı nedeniyle ciddi miktarda süperoksid radikali oluşumu ya da damar duvarındaki ksantin oksidaz aktivasyonu, miyeloperoksidaz aktivitesi ve hatta endotelial NO sentaz enziminin oksidatif olarak ayrışması gibi bir çok farklı nedenle gelişmiş olabilir. NO eksikliğinde endotelial yapıda bozulma meydana gelebilir ve endotel hasarı gelişebilir.<sup>91,92</sup>

#### **VI. Oraklaşmış Eritrositlerin Adezyonunun Mekanizması**

OHH'daki damar tıkanıklığını başlatıcı faktörlerden biri; orak eritrositlerin damar endoteline anormal adezyonudur (yapışma).<sup>93</sup> Orak eritrositler, oksijenlenmiş olmalarına rağmen damar endotel hücrelerine anormal şekilde

yapışırlar.<sup>94,95</sup> Damar tıkaçıcı krizlerin klinik olarak şiddeti ile eritrositlerin endotele yapışkanlık derecesinin ilişkili olduğu gösterilmiştir.<sup>96</sup>

Hücre dışı çalışmalarda da damar tıkanıklığının başlangıcında orak hücrelerin damar endoteline yapıştığı gösterilmiştir.<sup>96</sup> OHH' da adezyonu etkileyen faktörler aşağıdaki gibi belirtilmiştir:

1. Orak hücre alt popülasyonu (alt tipi)
2. Endotel hücresinin kaynağı (kökeni, tipi)
3. Sitoadhezif (hücreye adezyon kuvvet gösteren) ligandlar
4. Hücre membran reseptörleri.

Orak hücrelerin, retikülositlerin ve lökositlerin endotelial membrana bağlanması; endotelial adezyon molekülleri tarafından yönlendirilen bir süreçtir. OHH' lı hastaların kanlarında sICAM-1 ve sVCAM-1 gibi endotelial adezyon molekülü oranlarının arttığı gösterilmiştir.<sup>2</sup> Çözünebilir moleküllerden olan sICAM-1, sVCAM-1 ve selektinlerin artması anormal endotelial aktivasyona ve endotel hasarına neden olmaktadır.<sup>2,3</sup>

Orak eritrositlerin uyarılmamış endotele yapışmasında yüksek molekül ağırlıklı Von Willebrand Faktör, glikoprotein Ib, integrin, trombospondin, CD36, sülfatlanmış glikanlar, fibronektin, laminin ve CD44 gibi çeşitli moleküller aracılık etmektedir. Endotel aktivasyonu veya hasarı olduğunda, orak eritrositlerin adezyon mekanizmasına trombositler ve polimorfonükleer lökositler de katılmaktadır.<sup>97</sup>

Dolaşımdaki tıkanıklar, enfeksiyonlar, hemoliz; akut faz reaktanları ve sitokinlerin üretimini önemli oranda uyarmaktadır. Orak eritrositlerin damar endoteline geri dönüşümlü olarak yapışması ile birlikte uzun süreli endotel aktivasyonu ve hasarı oluşur. Bunun sorumlusu da aktive endotel hücrelerinin ürettiği proinflamatuvar sitokinler (IL-1b, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$ ) dir.<sup>4,5</sup> Enfeksiyonlar ya da diğer herhangi bir inflamatuvar süreçte üretilen proinflamatuvar sitokinler akut faz reaktanlarının uyarılmalarına neden oldukları gibi, lökosit ve eritrositlerin aktive olmuş endotele yapışmalarını da uyarabilirler. Bu durum da ağırlı damar tıkaçıcı krizlerin gelişmesine yol açar.<sup>98,99</sup>

Sitokinler gibi proinflamatuvar faktörlerin, damar tıkaçıcı krizlerin patofizyolojisinde rolleri olduğu düşünülse de, rollerinin ne olduğu tam olarak bilinmemektedir.<sup>6</sup> Sitokinler hasarlanmış endoteli aktive edebilir, damar tonus

ve geçirgenliğini değiştirebilir, prokoagölan-antikoagölan dengeyi bozabilir ve lökosit kaçağı gibi değişikliklere neden olabilirler.<sup>100</sup>

OHH, inflamatuvar bir hastalıktır ve damar tıkayıcı kriz esnasında dolaşımdaki sitokemokin düzeyleri artış göstermektedir.<sup>6</sup>

### **2.2.2. Sitokinler**

Sitokinler; doğal ve çok özel immün yanıt oluşumunda rol oynayan, immün sistem hücrelerinin karşılıklı ilişkilerini düzenleyen çözüner peptid ve glikoprotein yapısında maddelerdir. Bunlar, lenfositler tarafından salgılandıkları zaman lenfokinler, monosit ve makrofajlar tarafından salgılandığında ise monokinler, lökositler tarafından salgılandıkları zaman ise interlökin olarak adlandırılmaktadır.

Hücreler arası sinyal proteini olan sitokinler, immün ve inflamatuvar yanıt oluşumu, hematopoez ve yara iyileşmesi gibi farklı birçok biyolojik olayın düzenlenmesinde rol alırlar. Değişik uyarılara cevap olarak salınan sitokinlerin, hedef hücrelerin büyüme, farklılaşma, aktivasyon ve doku onarımında önemli biyolojik rolleri vardır.<sup>101,102</sup>

İmmün ve inflamatuvar olaylara katılan hücrelerin etkinliklerinin artırılması, uyarılması sitokinler aracılığı ile olur.<sup>103</sup> Bazı dokularda birbirleriyle aynı etkili olabilen sitokinler, başka dokularda zıt etki de gösterebilmekte ve birbirlerini inhibe edebilmektedirler. Sitokinler, hücrelerin çevresel koşullarına göre farklı etkiler gösterebilmektedir. Bir sitokin değişik tip hücreler tarafından yapılabilir ve değişik tip hücreler üzerine etki gösterebilir, başka sitokinlerin sentezlenmesini uyarabilir ya da engelleyebilir. Bir sitokinin aynı hedef hücre üzerinde farklı etkileri olabilir. Birden fazla sitokin aynı etkiyi gösterebilir.<sup>104</sup>

### **Sitokinlerin sınıflandırılması**

#### 1- Elgert'in aile gruplarına göre sitokinler:

İnterlökinler: IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-14, IL-15.

Kemokinler: CXC, CC, XC, CXC3

İnterferonlar: IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ , IFN- $\gamma$ .

Sitotoksik/immün düzenleyici/büyüme faktörleri:

TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , TGF- $\beta$ .

Koloni uyarıcı faktörler (Hematopoietik büyüme faktörleri):

G-CSF, GM-CSF, M-CSF, IL-3, IL-7.

## 2- Fonksiyonlarına göre sitokinler;

Doğal immüniteye aracılık edenler: Tip I interferonlar, TNF, IL-1, IL-6, Kemokinler.

Lenfosit aktivasyonu, çoğalma ve farklılaşmasını düzenleyenler: IL-2, IL4, TGF- $\beta$ , IL-13, IL-17.

İnflamatuar yanıtı düzenleyenler: IFN- $\gamma$ , lenfotoksin, IL-5, IL-10, IL-12

Hematopoezi uyaranlar: C-Kit ligand (stem cell factor), IL-3, IL-7, G-CSF, GM-CSF, M-CSF, IL-7, IL-9, IL-11

**Tümör Nekroz Faktör:** TNF, mononükleer fagositer hücrelerce salgılanan TNF sistemik ve bölgesel inflamasyonda rol alan temel sitokinlerden birisidir. TNF'nin aynı reseptöre bağlanan iki farklı formu vardır: TNF- $\alpha$  (kaşektin) ve TNF- $\beta$  (lenfotoksin). İki arasındaki en önemli fark kaynaklandıkları hücrelerin farklı olmasıdır. TNF- $\alpha$  monosit/makrofaj ve Kupffer hücrelerinden, TNF- $\beta$  ise aktive T lenfositlerinde yapılır. Bu ikisinin genleri 6. kromozomun kısa kolunda bulunur.

TNF- $\alpha$  direk antiviral etki, immünomodülatör aktivite, virüsle enfekte hücrelere sitotoksik etki ile apoptoz ve çok sayıda biyolojik fonksiyonlarla birlikte inflamasyon ve hücrel immün cevapta önemli role sahip olduğu bilinmektedir.<sup>105</sup>

TNF- $\alpha$ 'nın genel sistemik etkileri:

**a.** TNF- $\alpha$ , endojen pirojendir. Ateşin nedeni, hipotalamik hücrelerin aşırı prostoglandin sentezlemesidir.

**b.** TNF- $\alpha$ , mononükleer fagosit hücreleri ve damar endotelinden; IL-1 ve IL-6, hepatositlerden ise akut faz proteinlerinin sentezlenmesini uyarır.

**c.** TNF- $\alpha$ , damar endotelinin prokoagülan ve antikoagülan fonksiyonlarında değişiklikler yaparak pıhtılaşma sistemini aktive eder.

**d.** TNF- $\alpha$ , uzun süre verildiğinde kemik iliğinde kök hücre bölünmesini baskılayarak lenfopeni, immün yetmezlik ve kaşeksi gelişmesine yol açabilir.

TNF- $\alpha$ , osteoblastik alkalin fosfataz aktivitesini, osteoklastların kemik rezorpsiyonunu, fibroblast ve sinoviyal hücrelerin çoğalmasını uyarır. Aşırı



miktarda TNF- $\alpha$  salınımı dolaşım yetmezliği ve yaygın damar içi pıhtılaşma ile ölüme sebep olabilir.<sup>105</sup>

**İnterferon (IFN):** Önemli bağışıklık sistemini düzenleyici ve antiproliferatif etkileri yanında hedef hücrede metabolik aktivite ve gen ifadesi düzenleme özelliği olan bir sitokindir. Aktif T helper (TH) hücreleri, CD8+sitotoksik T hücreleri ve Natural-Killer (NK) hücrelerinden salgılanır. Antijenle uyarılmış hücrelerce, IL-2 ile eş güdümlü olarak üretilmektedir. Hedef hücrelerde metabolik aktiviteyi ve gen ifadesini artırarak etki ettiği bilinmektedir. IFN'ler IL-2'nin salınımını değişik uyarılarla inhibe ederken, NK hücre aktivitesini arttırmırlar.<sup>106</sup>

Başlıca iki tip IFN tanımlanmıştır:

- Tip 1 IFN:  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\omega$  gibi antiproliferatif ve antiviral etkili olanlar.
- Tip 2 IFN:  $\gamma$  ise bağışıklık sistemini düzenleyici bir sitokindir.

Tip 1 IFN'lerin en güçlü uyarıcısı viral enfeksiyonlardır. Birincil olarak olarak lökositlerden salınan IFN- $\alpha$ 'nın, monosit/makrofajların aktivasyonunu, NK hücre aktivitesini ve sitotoksik T lenfositin aktivitesini arttırdığı in vitro olarak gösterilmiştir. Fibroblastlar, IFN- $\beta$  salarlar. Az miktarda IFN- $\beta$  ise lökositlerden salınmaktadır.<sup>108</sup>

Klinik olarak Tip 1 IFN'ler, kan hastalıkları, hepatit B ve C enfeksiyonlarında ve multipl sklerozda tedavide yalnız başına veya kombine olarak kullanılmaktadır.<sup>107</sup>

Tip 2 IFN veya immüne IFN olarak da adlandırılan IFN- $\gamma$  polipeptid yapısındadır. T hücreler, B hücreler, NK hücreler, makrofajlar ve diğer hücrelerin farklılaşmasını ve aktivasyonunu kapsayan inflamatuvar ve immün cevabın bütün fazlarında rol aldığı bilinmektedir. Genelde, TH<sub>1</sub> lenfositlerden salınmasına rağmen CD8+ hücreler, NK hücrelerden de salınabilmektedir. IFN- $\gamma$  makrofajların güçlü aktivatörü olmasına rağmen nötrofilleri de aktive edebilir ve NK hücrelerin sitolitik aktivitesini de uyarabilir. TH<sub>1</sub> hücrelerin aktivitesini artırırken, TH<sub>2</sub> hücrelerin aktivitesini inhibe eder.<sup>106</sup>

### 2.2.3. Kemokinler

Kemokinler, küçük (8-14 kDa) temel proteinlerden oluşan, çeşitli işlevleri olan geniş bir ailedir. İlk tanımlanan kemokin IL-8 (CXCL8)'dir. Kemokinler,

amino ucuna yakın sistein bölgesinin pozisyonuna göre C, CC, CXC ve CX3C olmak üzere 4 alt aileye ayrılır. Hedef hücrelerindeki G-protein eşli hücre yüzey reseptörüne bağlanarak aktivite gösterir.<sup>108</sup>

Kemokin ve kemokin reseptörlerinin, inflamasyon sırasında dolaşımdan dokulara lökosit trafiğindeki rolleri bilinmektedir. Selektin, integrin, kemokin gibi maddeler endotel ve lökosit arasındaki iletişimde yer alırlar. Lökositlerin sıkı bağlanması, yer değiştirmesi görevleri yanında kemokinler; hücre göçünde derişime bağılı olarak doğrudan etkilidir. Fizyolojik derişimlerde, lökosit kemotaksisi; kemik iliğı, kan, dokular ve lenfoid organlar arasında devam eden bir hücre trafiğı şeklinde gerçekleşir. Olgun dendritik hücrelerin, T ve B hücrelerin yerleşimi veya dolaşımı; lenfatik kanallar, endotelyal venüller, ikincil lenfoid organlar tarafından sentezlenen CCL19, CCL21, CCL13 ile düzenlenmektedir. Olgunlaşma sırasında dendritik hücreler lenfatik damarlarca üretilen CCL19, CCL21'e cevap olarak T hücre alanlarına göç ederler. CCR7 ile karakterize olgunlaşmamış T hücreleri CCL19 ve CCL21 etkisiyle lenf nodlarına hareket eder. Benzer şekilde, CXCR 5 eksprese eden B hücreleri de foliküler stromal hücreler tarafından üretilen CXCL13'ün yönlendirmesiyle lenfoid organlara göçünü tamamlar.<sup>108</sup>

Homeostatik fonksiyonların yanısıra, kemokinler; inflamasyonla seyredenler başta olmak üzere geniş bir hastalık yelpazesinde lökosit kemotaksisinde rol alırlar. Kemokinler, dokularda lökosit toplanması ve aktivasyonundan sorumlu tutulur. İnfiltrate eden hücrenin tipi, yakındaki hücrelerde üretilen kemokin tipi ve burada bulunan reseptör ile ilişkilidir. Romatoid artrit (RA) sinovyal dokulardaki belirgin monosit ve T hücre infiltrasyonunda CCL2, CCL3, CCL5 sorumlu tutulurken, psöriyaziste deriye Th1 hücre göçünde CXCL9, CXCL10, CXCL11'in etkili olduğu bildirilmiştir. Kemokin ve reseptörleri, inflamatuvar hastalıkların yanısıra ateroskleroz, astma, bakteriyel pnömoni, akut respiratuvar distress sendromu, bakteriyel ve viral menenjit, sarkoidoz, lepra, tümör biyolojisi ve çeşitli nörolojik hastalıkların patogeneğinde rol oynar.<sup>109</sup>

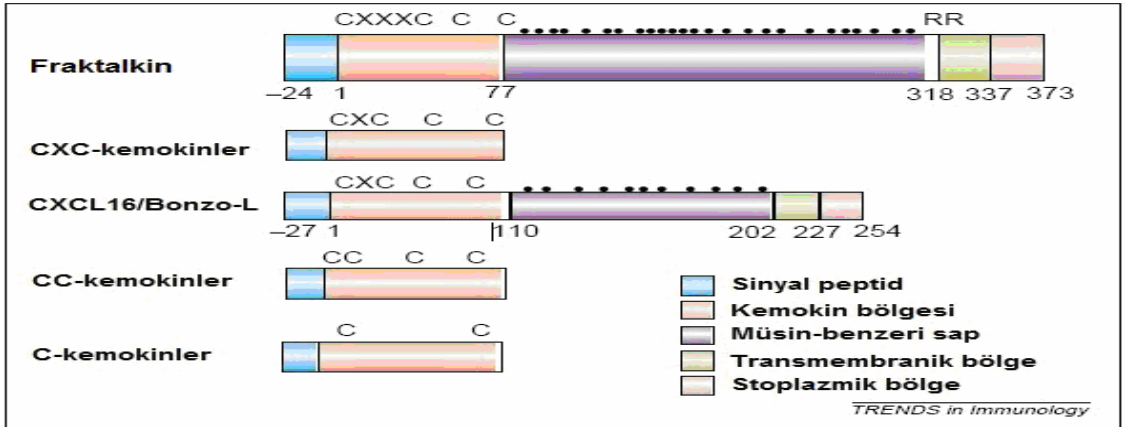
#### **2.2.4. Fraktalkin**

CX3C-kemokin ailesinin tanımlanmış tek üyesi Fkn'dir. Fkn; proinflamatuvar sitokinlerce endotel hücreleri tarafından salındığı ve hem

kemoatraktan hem de adeziv fonksiyonlara sahip olduğu için; lökositlerin inflame dokuya doğru olan göçünden sorumlu tutulmaktadır.<sup>110-112</sup> Fkn molekülü 373 aminoasitten oluşmaktadır. Fkn çok fazla etki alanı içermektedir ve yapısal olarak diğer kemokinlerden farklıdır (Şekil 10).

Fkn iki ayrı formda bulunur. Biyolojik aktivitelerine göre yapılmış bir sınıflamadır. Membrana-bağlı protein, inflamasyona eşlik eden endotelden salınan ilk yapı olup monositlerin ve T lenfosit hücrelerinin inflamasyon bölgesine gelmesinde rol oynamaktadır. Çözünebilir formu ise; geleneksel kemokinler gibi davranır, kemotaksisin güçlü bir uyarıcısıdır. Hem kemotaksis, hem de adezyon olayları, G-protein kenetli CX3CR1 reseptörü tarafından yönetilir.<sup>111</sup>

Çözünebilir Fkn, ağırlıklı olarak membran-proksimal bölgede bulunan TNF- $\alpha$  konverting enzim ile oluşan proteolizis aracılığıyla salınır.<sup>113,114</sup> Çözünebilir Fkn formu, monositler, NK hücreleri ve T hücreleri için etkili kemotaktik aktivite gösterir. Membran bağlı Fkn'nin salınımı, TNF- $\alpha$ , IL-1 ve IFN- $\gamma$  gibi inflamatuvar sitokinler tarafından kolayca uyarılabilir.<sup>115</sup>



**Şekil 10. Fraktalkinin yapısı**<sup>111</sup>

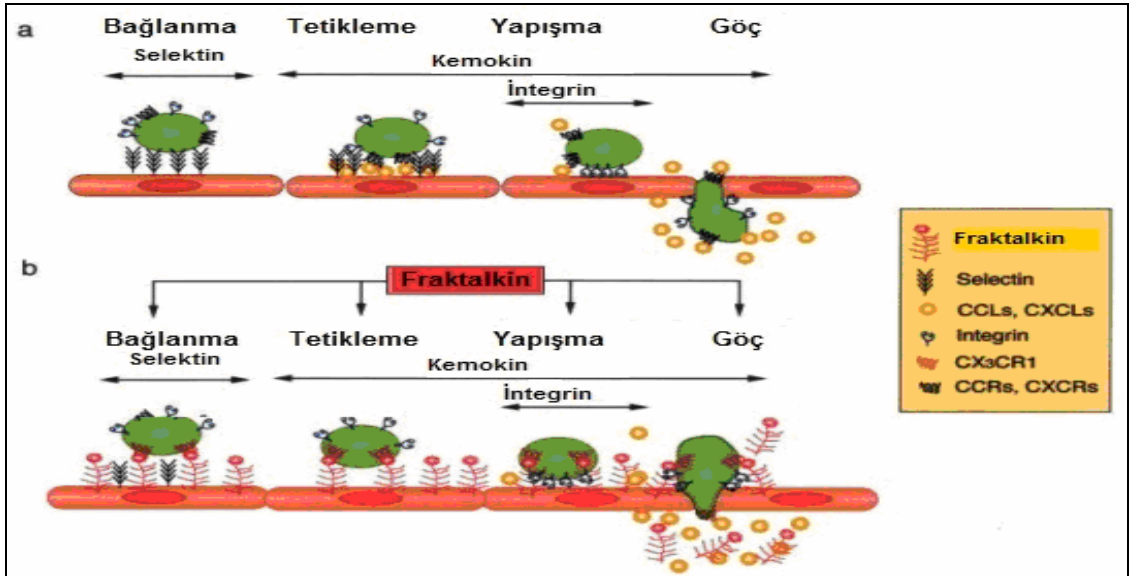
Fkn, çoklu etki alanları içeren 373 aminoasitten oluşmuş geniş bir protein dizisidir ve yapısından dolayı CXC-, CC- ve C-kemokinlerden ayrılır. Sinyal peptidi ile başlayan Fkn, bir tane N-terminal kemokin etki alanı (rezidü 1-76), bir tane üçlü rezidü (CX3C), bir müsin-benzeri sap (rezidü 73-317), O-glikozillenmiş serin ve tirozin rezidüleri, transmembran etki alanı (rezidü 318-336) ve intraselüler etki alanı (rezidü 337-373) içermektedir.

### Fraktalkinin Adeziv Fonksiyonu

Kemokinler, adezyon molekülleri ile birlikte; vücudun sağlıklı ya da hasarlanmış bölgelerine doğru gidecek olan lökosit alt tiplerini uygun şekilde düzenlemekten sorumludurlar.<sup>116</sup> Lökosit göçündeki klasik yolakta ilk basamak,

lökositler ve endotel arasında oluşan geçici ve selektin tarafından yönlendirilen etkileşimlerdir. Daha sonra; lökositler üzerindeki integrinler, bölgesel olarak üretilen kemokinler tarafından aktive edilir. Glikozaminoglikanlar üzerinde bulunan integrinlerin tetikleme ile lökositler ve endotel hücreleri arasındaki adezyon gerçekleşir. Daha sonra lökositler damar dışına çıkar (Şekil 11a). Bütün kemokinler, çözünebilir moleküller olarak üretilirler. Bu sayede hücre yüzeyindeki proteoglikanlarla ve glikozaminoglikan gibi doku matriks komponentleri ile etkileşirler.<sup>117</sup> Ardından kemokinler ve lökositlerin üzerindeki özel reseptörler arasındaki bu etkileşim, G-proteini bağımlı bir mekanizma ile adezyon moleküllerinin aktivasyonunu tetikler.<sup>118</sup>

Fkn'de; kemokin etki alanı; müsün-benzeri bir sap ile hücrenin üstündedir ve bu sayede adezyon molekülü benzeri bir davranış sergiler. Böylece; proteoglikanlar ve diğer adezyon molekülleri ile ilişki kurulmasına gerek kalmayabilir (Şekil 11b).



**Şekil 11. Klasik ve Fkn-ilişkili adezyon yollarının şematik modelleri.**<sup>117</sup>

Kandan periferik dokuya lökosit göçü, olayların ilk aşamasını oluşturmaktadır.

**a)** Klasik yolağı göstermektedir. İlk olay; geçici, zayıf ve selektin-ilişkili bağlanmadır. (**Bağlanma**). Daha sonra lökositler üzerindeki integrinler, glikozaminoglikanlar üzerinde bulunan kemokinler tarafından aktiflenir (**Tetiklenme**). Bu olaylar sonucunda, lökositler ve endotel hücreleri arasındaki ilk adezyon gerçekleşir (**Yapışma**). Son olarak lökositler, kemokin gradyentine yanıt olarak endotel tabakaları arasında göç eder (**Transmigirasyon**).

**b)** Fkn-ilişkili yolağı göstermektedir. Fkn, endotel hücrelerinden, membran bağımlı form olarak salınır. Lökositleri, selektin ve integrin-bağımsız olarak yakalar. Fkn ve CX3CR1 arasındaki etkileşimler integrin aviditesini artırabilir ve bu durum adezyon ile sonuçlanır. Daha sonra lökositler damar dışına çıkar ve kemokin gradyentine bağlı olarak dokuya geçer. Fkn, dolaşımdaki lökositlerin damar dışına çıkmasını, başlangıç bağlanma aşaması ve sonuçtaki transmigirasyon aşaması üzerinden kolaylaştırabilir.

Fkn'nin, monositler üzerinde de etkileri olduğu bilinmektedir. Daha önceki çalışmalar Fkn'nin monosit göçünü indüklediğini; CD14+ monositlerin CX3CR1 salgılarını bildirmişlerdir.<sup>110,112</sup> Fkn/CX3CR1 sistemi; hücre adezyonunu arttırarak ve CX3CR1-salgılayan monositlerin göçünü kolaylaştırarak damarsal yaralanma ve doku hasarının patogenezinde rol oynamaktadır.<sup>117</sup>

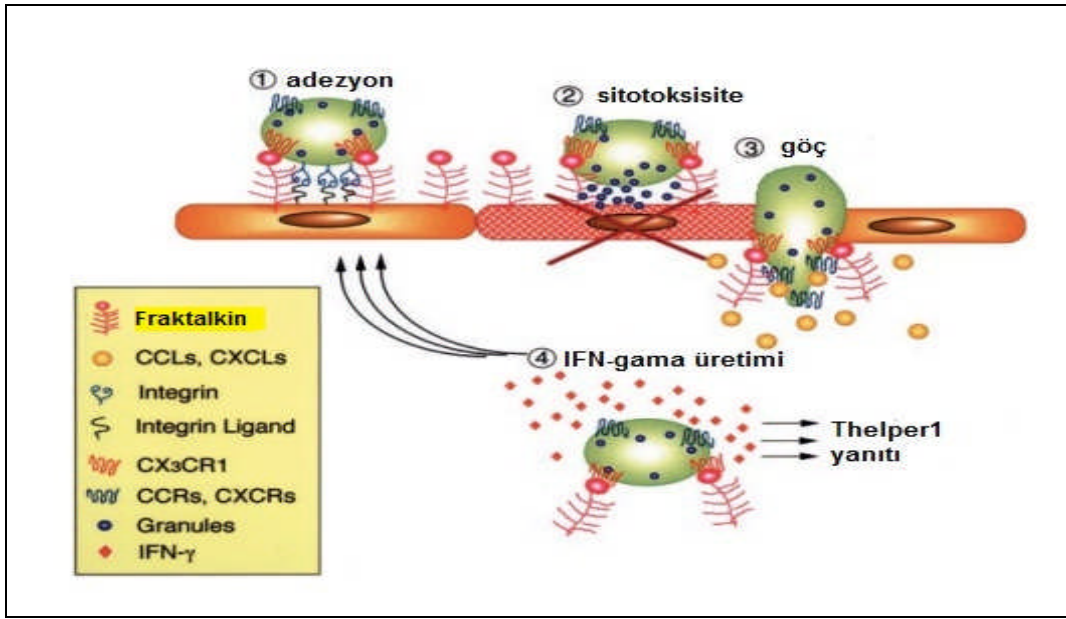
### **Fraktalkin ve Sitotoksikite**

Sitotoksik lenfositlerin artmış aktivasyonu, damarsal hasara neden olduğu için, bu durumda endotel hücrelerinden Fkn salınımı da görülebilir. Fkn'nin inflamasyon bölgesinde salgılanması ile NK hücreleri aktive olur. Hemen hemen bütün CD16+ NK hücreler, CX3CR1 salgırlar. Bu da; bu hücrelerin, Fkn'nin önemli bir biyolojik hedefi olduğunu göstermektedir (Örneğin; kemotaksis, adezyon ve aktivasyon).

### **Fraktalkin ve İnflamasyon**

Daha önceki çalışmalarda Fkn'nin kemotaktik fonksiyonuna ek olarak, membran bağımlı Fkn'nin diğer kemokinlere etki ederek CX3CR1-salınımlı lenfositlerin göçlerine yardımcı olduğu belirtilmiştir. Membran-bağılı Fkn varlığında; CD8+T hücrelerinin ve NK hücrelerinin ikincil kemokinlere doğru göçü, anlamlı şekilde artmıştır. Böylece; inflame olmuş endotelden salınan Fkn; sitotoksik etkili hücreler (yani CX3CR1-salan hücreler) için damarsal kontrol kapısı görevi görebilir.<sup>119,120</sup>

NK hücreleri, doğal bağışıklıkta önemlidir. Çünkü IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , Granülosit-makrofaj koloni-stimüle edici faktör (GM-CSF), IL-3, IL-5, IL-10 ve IL-15 gibi sitokinlerin üretilmesinden sorumludur.<sup>119</sup> Membran-bağılı Fkn ile NK hücrelerinin uyarılması ya da NK hücrelerinin, Fkn salınan hücrelerle birlikte kültürlenmesi; IFN- $\gamma$  üretimini ciddi şekilde tetiklemektedir.<sup>120</sup> Bu durum, TH<sub>1</sub> yanıtında endotel hücreleri üzerinden Fkn salınımının önemli bir rolü olduğunu düşündürmüştür. IFN- $\gamma$  aynı zamanda endotel hücrelerinden Fkn salınımını da uyarmaktadır<sup>110,112</sup> (Şekil 12). Fkn/CX3CR1 sistemi, birçok klinik hastalık için önemli bir bileşendir. Bu hastalıklardan bazıları; Ateroskleroz, kardiyovasküler hastalıklar, greft reddi, böbrek hastalıkları ve solunum sistemi hastalıklarıdır.



**Şekil 12. Fkn'nin biyolojik fonksiyonları**<sup>117</sup>

- 1-CX3CR1 ve integrinlerin, Fkn ve integrin ligandlarının ko-ekspresyonları ile birbirlerine geçmelerini sağlayabilir, böylece ilk adezyon sağlanmış olur.
- 2-NK hücreleri, CD8+T hücreleri ve  $\gamma$ - $\theta$  T hücreleri gibi CX3CR1-salan sitotoksik etkili hücreler, sitoplazmik granüller içermektedir. Bu hücreler membran-bağımlı Fkn ya da aktive olmuş reseptörler tarafından aktiflenirse, komşu endotel hücrelerine zarar verirler.
- 3-Membran-bağımlı Fkn, CX3CR1-salan hücrelerin dokuya doğru migrasyonunu sağlayan diğer kemokinlerin etkilerini artırabilir.
- 4-CX3CR1-salan hücrelerin transmigrasyonu, Fkn tarafından aktiflenmeleri, IFN- $\gamma$  üretimini sağlayabilir ve Th1 yanıtı oluşmasına yol açabilir. IFN- $\gamma$  aynı zamanda endotel hücreleri üzerindeki Fkn'nin salınımını da artırır, bu durum parakrin-etkili geri besleme sistemi olduğunu göstermektedir

### Ateroskleroz ve Kardiyovasküler Hastalıklar

Fkn/CX3CR1 sisteminin aterosklerozda ve koroner damar hastalıklarında rolü mevcuttur.<sup>121,122</sup> Aterosklerotik lezyonları olan insanlarda yapılan çalışmalarda, damarların hepsinde olmasa da çoğunda yüksek oranda Fkn mesajcı ribonükleik asit (mRNA) gen ifadesinin artmış olduğu gözlenmiştir. Aterosklerotik koroner arter hastalığı gibi, diyabetik hastaların damarlarında da, özellikle intima tabakasının derinlerinde artmış Fkn salınımı olduğu gösterilmiştir.<sup>123,124</sup>

Dolaşımdaki monositler, aterosklerotik lezyonları oluşturan köpük hücrelerinin öncülleridir ve kemokinler, kandan damar duvarına doğru oluşan monosit göçünün yönlendirmesinde önemli rol oynamaktadırlar.<sup>125</sup>

### **Allograft Reddi**

Fkn/CX3CR1 sistemi, greft reddinde önemli bir rol oynamaktadır. Dolaşımdaki lökositlerin nakil organına doğru girişi ile karakterize ciddi bir hücresele bağışık yanıt, allogreft reddinin özelliğidir.<sup>126</sup> Yapılan bir çalışmada; özellikle kardiyak allogreft reddinde Fkn salınımının anlamlı şekilde arttığı, bu artışın da baskın olarak damarsal dokular ile damar endotelinde olduğunu belirtilmiştir. Ayrıca alıcı bireylerin anti-CX3CR1 blokör antikörlerle tedavisi, allogreftin ömrünü anlamlı şekilde uzatmaktadır.<sup>127</sup>

### **Böbrek Hastalığı**

İnsanlardaki böbrek hastalıkları (glomerülonefritler, renal tümörler ve böbrek nakilleri) ve hayvan modellerindeki böbrek hastalıkları için Fkn'nin rolü olduğunu öne süren birçok çalışma mevcuttur. Örneğin; makrofaj inflamatuvar protein-II'ye benzeyen, aynı zamanda CC-, CXC- ve CX3C-kemokin reseptörlerine karşıt aktiviteleri olan bir viral kemokin, kreşent glomerülonefriti olan bir fare modelinde lökosit infiltrasyonlarını ve proteinüriyi anlamlı şekilde azaltmaktadır.<sup>128,129</sup> Fkn salınımı ve CD16+NK gibi CX3CR1-salan hücrelerin varlığı, bir çok böbrek hastalığı tipi için ortak özelliktir. Feng ve arkadaşları; çalışmalarında anti-CX3CR1 antikör tedavisinin anlamlı şekilde lökosit infiltrasyonunu azalttığını, kreşent formasyonu oluşmasını önlediğini ve böbrek fonksiyonlarının gelişimine katkı sağladığını bildirmişlerdir. Bu sonuçlar da; glomerülonefriti olan hastaların patogenezlerinde Fkn ve CX3CR1-salan hücrelerin rolü olduğuna dair kanıtlar olarak öne sürülmektedir.<sup>130</sup>

### **Solunum sistemi hastalıkları**

Kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH) ve pulmoner arter hipertansiyonu (PAH) gibi kronik akciğer hastalıklarında uzun süreli inflamasyon durumu mevcuttur. Bu kronik akciğer hastalıklarında görülen yapısal hasarın en önemli nedeni lökositlerin damar endoteline göçleridir. İnfamatuvar bir kemokin olan Fkn, inflamatuvar akciğer hastalıkları ile ilişkilidir. Membrana bağılı Fkn, CX3CR1 reseptörünü salan mononükleer lökosit alt tiplerini yakalamak için bir adezyon molekülü gibi davranır. Çözünebilir Fkn, CX3CR1+ lökositleri kemoatrate ve aktive eder. CX3CR1+ lökositler şunlardır: CD8+, CD4+,  $\gamma$ - $\theta$  T lenfositler, NK hücreler, dendritik hücreler ve

monosit/makrofajlar. CX3CR1+ lökositlerin akciğer damar endoteline göçü ve yapışması, akciğer damar duvarları ve parankiminde mononükleer hücre birikimine yol açar. İnfiltrate olmuş CX3CR1+ immün hücreler, belirteç salınımı yaparak hasarı indükleyebilir, proliferasyonu uyarabilir ve/veya inflamatuvar hücreleri kemoatrakte edebilir. Bütün bunların sonucunda, inflamatuvar akciğer hastalıklarındaki yapısal yıkım ve yeniden şekillenme olayları meydana gelir.<sup>131-133</sup>

İnflamatuvar akciğer hastalarının bronkoalveolar lavaj sıvılarında Fkn'nin arttığı gösterilmiştir.<sup>134,135</sup>

Buradan yola çıkarak, çalışmamızda; patogenezinde inflamasyonun rol oynadığı OHH'da, damar tıkaçıcı krizlerde daha önce araştırılmamış bir kemokin olan Fkn molekülünün serum düzeyi ile gen ifadesinin hastalıkla olası ilişkisini ortaya koymayı amaçladık.



### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma için Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Komitesi'nden onay alındı (08.12.2011 tarihli 2011/80 sayılı ). Çalışmaya katılan bireyler, çalışma konusunda bilgilendirilerek, aydınlatılmış onamları alındı.

#### 3.1. Hastalar

Aralık 2011 ile Ocak 2012 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Çocuk Hematoloji BD tarafından OHH tanısı ile izlenen 87 hasta çalışmaya dahil edildi. Kontrol grubu olarak, hasta grubu ile yaş ve cinsiyet dağılımı uyumlu 55 sağlıklı çocuk incelendi.

#### Çalışmaya alınma kriterleri

1. 1-17 yaş arasındaki çocuk hastalar
2. OHH tanısı almış hastalar
3. Normal mental- motor gelişime sahip hastalar
4. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD Çocuk Hematoloji BD'da izlenmesi

#### Çalışmaya alınmama kriterleri:

1. Son bir ay içinde damar tıkaçıcı kriz geçirmiş ve/veya kan nakli yapılmış hastalar
2. Düzenli takipte olmaması
3. OHH dışında, tanısı konmuş uzun süreli inflamatuvar bir hastalık olması

#### **Orak Hücre Hastalıklı Grup**

Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Çocuk Hematoloji BD'da OHH tanısı ile izlenen 58'i (% 64,5) erkek, 29'u (% 35,5) kız toplam 87 OHH'lı çocuk çalışmaya dahil edildi ve bu hastalar Grup I olarak isimlendirildi.

Çalışma sırasında damar tıkaçıcı krizi olan hastalar Grup IA (n=32), olmayanlar Grup IB (n=55) olarak değerlendirildi.

Hastalar öykü ve fizik muayene ile değerlendirildikten sonra yıllık transfüzyon sıklığı, yıllık ağrılı kriz sıklığı, geçirilmiş AGS, şelasyon ve

hidroksiüre tedavisi alımı, uzun süreli kan değişimi uygulanım durumu sorgulanarak kaydedildi.

### **Kontrol Grubu**

55 sağlam çocuk çalışmanın kontrol grubunu oluşturmaktadır. Kontrol grubu çeşitli nedenlerle Genel Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran, sistemik hastalığı ve anemisi bulunmayan, ilaç kullanmayan normal mental-motor gelişime sahip sağlıklı çocuklar arasından seçildi. Kontrol grubunda yer alan 55 çocuğun 28'i (% 50,9) erkek, 27'si (% 49,1) kızdı ve bu grup Grup II olarak isimlendirildi.

Çalışmaya alınan tüm bireylerden; tam kan sayımı, CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn serum düzeyi ve Fkn gen ifadesi incelemeleri için tam kan ve serum örnekleri alındı.

### **3.2. Araç-Gereçler ve Laboratuvar Yöntemleri**

Tüm vakaların tam kan sayımı, CRP incelemeleri, Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi Merkez Biyokimya Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Çalışmaya katılanların tam kan sayımı incelemeleri, Sysmex XT 2000 İ (Roche Diagnostics firması) cihazında çalışılmıştır.

Serum CRP düzeyleri, partikül yüzeyi genişletilmiş immünotürbidimetrik metot kullanılarak Cobas İntegra 800 (Roche Diagnostics firması) cihazı ile saptanmıştır.

#### **3.2.1. Fraktalkin gen ifadesi ölçümü**

Fkn gen ifadesi için kullanılan yöntemler aşağıda sıralanmıştır.

Çalışmaya katılan bireylerden etilen diamin tetra asetik asit (EDTA)' lı tüplere alınan tam kandan lenfositler izole edilerek Mersin Üniversitesi Fen ve Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Laboratuvar'larında High pure RNA izolasyon kiti kullanılarak, total RNA'lar saflaştırıldı ve -80°C de saklandı. Saflaştırma işlemi tamamen sonlandıktan sonra komplementer DNA (cDNA) sentez çalışması yapıldı.

Niceliksel revers transkriptaz yönteminde değerlendirilmeleri için, RNA'lardan cDNA sentezlendi. Saflaştırılan total RNA'lar -80°C' den çıkarılıp,

Transcriptor First Strand cDNA sentezi ile termal cycler tek döngüde gerçekleştirildi.

OHH'lı hasta grubundan ve sağlıklı populasyondan alınan kan örneklerinde, Fkn gen ifadesini niceliksel gerçek zamanlı Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) ile ölçmek için, hedef gene ve referans genine (beta actin) özgü primerler ve UPL-probe#56 ile Taq-Man hidroliz problemleri kullanılarak amplifikasyon gerçekleştirilmiştir.

Genlerin ifade düzeylerini belirleyebilmek için, niceliksel revers transkriptaz RT-PCR tekniği Light Cyclers cihazında yapılmıştır. Fkn (CX3CL1) genine özgü primer çiftleri UPL probe # 56 kullanılarak Mersin Üniversitesi Biyokimya Laboratuvarlarında, LC-480 cihazında kantitatif ifade olarak ölçüldü.

Fkn geninin, OHH'lı ve sağlıklı populasyondan alınan kan örnekleri üzerindeki etkilerini belirlemek üzere  $\Delta\Delta CT$  ve  $2^{-\Delta\Delta CT}$ 'de elde edilen veriler, bağımsız iki veya daha fazla grubun karşılaştırılması şeklinde değerlendirilmiştir.

#### **a) Lenfosit ayrıştırılması**

EDTA'lı tüp içerisinde bulunan kanların lökosit sayısı ölçülmüştür. Lökosit sayısı 1000 ile çarpılıp bulunan sonuç 3 milyon eritrosit sayısına bölünmüştür ( $3000000/WBC \times 1000 =$  bulunan sonuç kadar kan alınır). Kanlar eppendorf tüp içerisine konulup üzerine 900µL Red Blood Cell Lysis Buffer solüsyonu eklenmiştir. 10 dakika karıştırıcıda oda sıcaklığında bekletildikten sonra 13000 xg devirde 30 saniye santrifüj edilmiştir. Dipte oluşan lökosit çökeltisine dokunmadan üstteki berrak kırmızı sıvı pipetle toplanıp atılmıştır. Lökosit çökeltisi üzerine tekrar 900µL Red Blood Cell Lysis Buffer eklendikten sonra 13000 xg devirde 30 saniye santrifüj edilmiştir. Tekrar üstteki sıvı pipetle atılmıştır. Kalan lökosit çökeltisinin üzerine 200 µL serum fizyolojik eklenip 13000 xg devirde 30 saniye santrifüj edilmiştir. Üstteki sıvı pipetle toplanıp atılmıştır. Pellet üzerine 200 µL PBS (fosfat buffer salin) eklenerek çökelti süspanse hale getirildikten sonra hücreler RNA ayrıştırılması yapılanaya kadar -20°C derin dondurucuda muhafaza edilmiştir.

## **b) Total RNA Saflaştırması**

Hasta ve sağlıklı gruptan alınan kan örneklerinden lenfosit ayrıştırması yapıldıktan sonra total RNA'lar saflaştırılmıştır. Total RNA saflaştırması Roche Diagnostics firmasından temin edilen 'High Pure RNA İsolation kit kullanım talimatına uygun olarak yapılmıştır.

### Çalışma solüsyonlarının hazırlanması

Wash buffer I (Yıkama tamponu I)+20 µl absolut etanol

Wash buffer II+40 µl absolut etanol

DNaz I → 550 µl elüsyon tamponu ile hazırlandı ve alikvatlanarak - 20°C de saklandı.

Derin dondurucudan çıkarılan tüpler 15 sn. vortekslenmiştir. Filtreli tüpler, toplama tüplerinin içine yerleştirilip, 15 sn. 8000 rpm'de santrifüj edilmiştir. Filtreli tüpten toplama tüpüne akan sıvı boşaltılıp aynı toplama tüpü yeniden kullanılmıştır. Steril tüplere 10 µl DNaz I, 90 µl de DNaz inkübasyon tamponundan eklenerek karışım hazırlanmıştır. Hazırlanan solüsyondan her örnek için 100 µl eklenip, 15 dk. oda sıcaklığında (20-25°C) inkübe edilmiştir. Her tüpe 500 µl yıkama tamponu-I eklenmiştir. Tüpler 15 sn. 8000 devirde santrifüj edilip ardından filtrasyon tüpleri atılmıştır. Her tüpe 500 µl yıkama tamponu II konulup yeniden 15 sn. 8000 devirde santrifüj edilmiştir. Tüpler boşaltıldıktan sonra her tüpe 200 µl wash tamponu II eklenip 2dk. 13000 devirde santrifüj edilmiştir. Toplama tüpleri atılarak, filtreli tüpler eppendorf tüplere yerleştirilmıştir. Tüplere 80 µl elüsyon tamponu eklenip 1 dk. 8000 devirde santrifüj edilmiştir. Tüpler -80 derin dondurucuya saklanmıştır.

## **c) cDNA Sentezi**

Çalışmamız sırasında tüm aşamalar buz üzerinde gerçekteştirilmıştir. RNA örnekleri -80°C derin dondurucudan çıkartılıp, buzları çözdürülmüştür. Örnekler kısa süreli olarak santrifüj edilmiştir. 1.5 ml'lik tüplere, Roche Diagnostics firmasından temin edilen 'Transcriptor High Fidelity cDNA Sentez Kiti'nde belirtilen ajanlardan, belirtilen miktarlar eklenerek Karışım-I hazırlanmıştır.

#### KARIŞIM-I İçeriği

Total RNA .....	5	µl
Random Hexamer.....	2	µl
H2O .....	6	µl
Toplam .....	13	µl

Revers transkriptaz kontrol reaksiyonuna paralel olarak negatif kontrol hazırlanmıştır. Negatif kontrolde, PCR tüpüne RNA örneği yerine aynı miktarda su kullanılmıştır. Karışım-I, daha önceden 65°C'de ısıtılmış hot mix'te 10 dakika bekletilmiştir. Bu aşamadan sonra tüpler tekrar soğutulmuştur ve ardından karışım-II hazırlanmıştır.

#### KARIŞIM-II İçeriği

Transcriptor reverse transcriptase reaction buffer .....	4	µl
Protector RNase inhibitor.....	0.5	µl
Deoksinükleotid mix .....	2	µl
Transcriptor reverse transcriptase .....	0.5	µl
Toplam .....	7	µl
TOPLAM KARIŞIM= Karışım-I + Karışım-II = 13 µl + 7 µl = 20 µl		

PCR tüpleri yavaş yavaş pipetaj edilmiştir. Tüpler termal cyler cihazına kapakları kapalı bir şekilde yerleştirilerek bir döngü olacak şekilde 25 °C'de 10 dakika, 50°C'de 60 dakika ve 85°C'de 5 dakika inkübe edilmiştir. PCR aşamasından sonra tüpler -20°C derin dondurucuda muhafaza edilmiştir. İkinci grup için de, karışımlar hazırlanmıştır.

#### **d) RT- PCR Ölçümü**

Sentez edilen cDNA örneklerinin niceliksel ölçümü Mersin Üniversitesi Biyokimya Laboratuvar'larında gerçekleştirilmiştir.

Genlerin niceliksel ölçümü 'Roche Diagnostics' firmasından önceden temin edilen 'LightCycler 480 II' Real-Time PCR cihazında gerçekleştirilmiştir.

#### **Fkn genine özgü primerlerin hazırlanışı:**

Lyoflize halde olan primerler beraberinde gelen sulandırma talimatında yazılı olan miktar ile sulandırılmıştır. Böylece ana stok hazırlanmıştır ve

100 µM'lık derişim elde edilmiştir. Ana stoktan ara stok oluşturmak için (primerleri don-çöz yapmamak için) 100 µM'lık primerler 10 µM'a seyreltilmiştir. Bu işlem sırasında 100 µM'lık primerden 10 µl alınmıştır ve üzerine 90 µl su eklenerek 100 µl'ye tamamlanmıştır.

*Fkn genine özgü probların hazırlanışı:*

Prob olarak UPL Probe #56 (Roche Marka) kullanılmıştır ve kullanıma hazır halde gelmektedir.

LightCycler 480 Probe Master Kit içerisinde çıkan ve hazır halde bulunan master mix'den 10 µl alınıp, tepkime karışımına eklenerek master karışım hazırlanmıştır. Referans gen olarak hazır halde gelen UPL β-actin housekeeping gen (Roche Marka) kullanılmıştır.

Light Cyclus PCR 480 uyumlu 96'lık well plate'lere sırasıyla aşağıdaki kimyasallar yüklenmiştir.

Master.....	10 µl
H <sub>2</sub> O .....	2 µl
Forward .....	1 µl
Reverse .....	1 µl
Prob .....	1 µl
cDNA .....	5 µl
Toplam	20 µl

96'lık Well plate'e kimyasallar Fkn ve β-aktin için ayrı ayrı yüklenmiştir. Yükleme işleminden sonra 96'lık well plate Light Cyclus 480 II cihazına yerleştirilip örneklerin niceliksel ölçüm miktarları belirlenmiştir.

### **3.2.2. ELISA yöntemi**

#### **a. Serum Fraktalkin düzeyi**

Fkn'nin invitro olarak serum, plazma, hücre kültürlerinde niceliksel ölçümü için enzim linked immunosorbent assay (ELISA) (Ray BioR İnsan fraktalkin ELISA kit, Ray Biotech) tekniği kullanılmıştır.

Deneyin bu aşaması Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Merkez Biyokimya Laboratuvarı'nda gerçekleştirilmiştir.

Çalışmaya katılan hasta ve sağlıklı bireylerden 5 ml periferik kan örneği alınarak 10 dakika 5000 devirde santrifüj edildi ve serumları ayrıldı. Serum örnekleri analize kadar -20°C'de saklandı.

Bu yöntemde kullanılan kuyucuklar insan Fkn'si için özel antikorlarla kaplıdır. Yöntem; standart ve örneklerin bu kuyucuklara pipetlenmesi sonrası, Fkn içeren örneklerin kuyucuktaki immobil antikor aracılığıyla bağlanması esasına dayanır.

#### **Kullanılan Reaktifler:**

1. 96 kuyucuklu anti human Fkn ile kaplı mikropate (Madde A)
2. Yıkama Solusyonu (Madde B)
3. Standartlar (Madde C) Rekombinant insan Fkn
4. Assay diluent A (Madde D) %0,09 sodyum azid koruyucusu içeren 30 ml hayvan serumu. Standart / Örnek (serum yada plazma) için diluent.
5. Assay diluent B (Madde E) 15 ml 5X konsantre buffer. Standart / Örnek (idrar yada hücre kültürleri) için diluent.
6. Deteksiyon Fkn antikor (Madde F): 2 şişe biyotin ile işaretli Anti insan Fkn'si
7. HRP streptavidin (Madde G): 8 µl, 16,000X konsantre edilmiş HRP konjuge streptavidin
8. TMB one step substrat solusyonu (Madde H) Buffer içinde 12 ml 3,3',5,5' tetrametil benzidine (TMB)
9. Bitirme solüsyonu (Madde I) 8 ml 2 M sulfirik asit

### **Solüsyonların Hazırlanması**

Tüm kullanılacak solüsyon ve serum örnekleri kullanılmadan önce oda sıcaklığına ( 22°C) getirilmiştir. Serum örnekleri assay dilüent A ile dilüe edildi. Standartların hazırlanması; rekombinant insan Fkn'si olan C şişesine 200 µl assay diluent A'dan eklenerek 200ng/ml standardı hazırlandı. C şişesinden 150 µl Fkn standardı 350 µl assay diuent A içeren bir tüpe eklenerek 60 ng/ml'lik stok standart solüsyon elde edildi. Herbirine 400 µl assay dilüent A konulmuş tüpler hazırlanıp stok standart solüsyonu kullanılarak aşağıda gösterildiği gibi dilüsyon serileri oluşturuldu ve sonunda assay dilüent A ile sıfır standardı elde edildi.

20 ml wash buffer konsantresi distile su ile karıştırılarak 400 ml wash buffer hazırlandı. Deteksiyon antikor konsantresi, assay diluent B kullanılarak 80 kat dilüe edildi. HRP Streptavidin konsantresi assay diluent B ile 16,000 kat dilüe edildi.

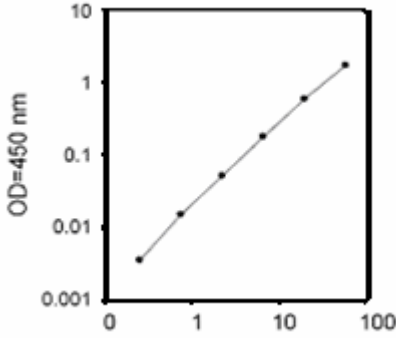
Yukarıda anlatıldığı gibi hazırlanmış her bir standart ve örnekten uygun kuyucuklara 100 µl konularak oda sıcaklığında 2,5 saat inkübe edildi. Daha sonra her bir kuyucuk 300 µl wash buffer ile doldurularak 4 kez yıkandı. Son yıkamadan sonra aspire edilerek kuyucuklardan sıvılar iyice boşaltıldı ve plaka temiz kağıt havluların üzerine ters çevrilerek kapatıldı. Bir sonraki aşamada biyotin ile işaretli antikordan 100 µl kuyucuklara eklenip 1 saat oda sıcaklığında inkübe edildi. Bir önceki aşamadaki gibi dört kez yıkama yapıldı. Yukarıda anlatıldığı gibi hazırlanmış streptavidin solüsyonundan 100 µl her bir kuyucuğa eklenerek 45 dakika inkübe edildi ve yıkama tekrarlandı. Kuyucuklara 100 µl TMB one step substrat solüsyonu eklenerek 30 dakika oda sıcaklığında ve karanlıkta inkübe edildi. Son olarak 50 µl bitirme solusyonu kuyucuklara eklenip, kuyucuklardaki reaksiyon sonlandırıldı. Fkn konsantrasyonu spektrofotometrik olarak belirlendi. Absorbanslar 450 nm'de okutuldu. (BioTek)

### **Sonuçların Hesaplanması**

Her bir standart, kontrol ve serum örneğinin ortalama absorbans değeri hesaplanıp, bundan sıfır standart optik dansite çıkarıldı. Sigma plot yazılımı kullanılarak x ekseninde standart konsantrasyon ve y ekseninde absorbans değerinin olduğu eğri ortaya çıkarıldı. Standartlar kullanılarak standart eğri elde



edilmesinden sonra, Fkn konsantrasyonu bilinmeyen örneklere ait Fkn düzeyleri standart eğriye göre hesaplandı.



Şekil13. İnsan fraktalkin konsantrasyonu (ng/ml)

### Duyarlılık

Bu ölçüm tekniğiyle minimum saptanabilen Fkn dozu 300 pg/ml'den daha düşüktür.

### Özgüllük

İnsan Angiogenin, BDNF, BLC, ENA-78, FGF-4, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-11, IL-12 p70, IL-12 p40, IL-13, IL-15, IP-10, G-CSF, GM-CSF, IFN- $\gamma$ , Leptin, MCP-1, MCP-2, MCP-3, MDC, MIP-1 $\alpha$ , MIP-1 $\beta$ , MIP-1 $\delta$ , PARC, PDGF, RANTES, SCF, TARC, TGF- $\beta$ , TIMP-1, TIMP-2, TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$ , TPO, VEGF gibi test edilen sitokinlerle çapraz reaksiyon göstermemektedir.

### b. Serum TNF- $\alpha$ ve IFN- $\gamma$ düzeyleri

Derin dondurucudaki (-70 °C) üst sıvı örnekleri çıkarılarak TNF- $\alpha$  ve IFN- $\gamma$  sitokinlerinin düzeyleri ELISA yöntemi ile firmanın önerileri doğrultusunda kit içerisindeki talimatlara uygun şekilde belirlenmiştir (Biosource).

Üst sıvı örnekleri ve sitokinlere ait standartlar 96 kuyucuklu mikropatlarda uygun kuyucuklara yerleştirildikten sonra inkübasyon tamponu ile inkübe edilmiştir.

Daha sonra kuyucuklara Biotin konjugat konulup, plaklar oda ısısında tekrar inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon sonrası kuyucuklar yıkama solüsyonu ile yıkanmıştır ve Streptavidin- Peroxidase (HRP) solüsyonu eklenmiştir.

Oda ısısında inkübasyonu takiben, plaklar tekrar yıkama solüsyonu ile yıkanmıştır.

Son aşamada kuyucuklara Kromojen solüsyonu konulup, plaklar oda ısısında inkübasyona bırakılmıştır.

Kuyucuklarda oluşan reaksiyon Stop solüsyonu ile durdurulmuştur. Kuyucuklarda oluşan absorbans değerleri, ELISA okuyucusunda 450 nm'de okutularak değerlendirilmiştir (BioTek).

Standart eğri, her plak için uygun olan sitokin standartları ile oluşturulmuştur. Örneklere ait sitokin düzeyleri, standart eğri üzerinde işaretlenerek pg/ml cinsinden belirlenmiştir.

### **3.3. İstatistiksel Değerlendirme**

Çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde kategorik veriler frekans ve yüzde cinsinden, sürekli veriler ise verinin dağılım şekline göre ortalama±standart sapma ya da ortanca değer (yüzdeler) cinsinden özetlenmiştir. Çalışmada aykırı değerler mevcut olduğundan ve ortanca değer aykırı değerlerden etkilenmediğinden çalışmanın istatistiksel değerlendirmesi ortanca değerlere göre yapılmıştır. Değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shapiro Wilk testi ile test edilmiştir. Normal dağılım göstermeyen sürekli değişkenlerin grup karşılaştırılmasında Mann whitney U testi kullanılmıştır. İki'den fazla grup karşılaştırılmalarında normal dağılım göstermeyen sürekli değişkenlerin karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi kullanılmıştır. Farklılığın hangi gruplardan kaynaklandığını tespit etmek için Dunn testi uygulanmıştır. Sürekli değişkenler arasındaki ilişki için spearman korelasyon katsayısı hesaplanmıştır.  $p < 0,05$  istatistiksel anlamlılık düzeyi olarak kabul edilmiştir. İstatistik analizler SPSS v.11.5 paket programı ile gerçekleştirilmiştir.

#### 4. BULGULAR

Çalışmaya 58'i (% 64,5) erkek, 29'u (% 35,5) kız, yaşları 1-17 yaş arasında değişen (ortalama:  $11,2 \pm 3,8$  yıl ) toplam 87 OHH hastası alındı (Grup I).

Hastaların 32'sinde çalışmaya dahil edildikleri sırada damar tıkayıcı kriz mevcuttu. Bu hastalar Grup IA (ortalama:  $11,00 \pm 4,16$  yıl; 16 kız, 16 erkek) olarak değerlendirildi.

55 hastada çalışma sırasında damar tıkayıcı kriz yoktu ve bu hastalar Grup IB (ortalama:  $11,43 \pm 3,66$  yıl; 19 kız, 36 erkek) olarak sınıflandırıldı.

55 sağlıklı çocuk kontrol grubu (ortalama:  $11,29 \pm 4,2$  yıl; 27 kız, 28 erkek) olarak ayrıldı. Grup II olarak isimlendirildi.

Hastaların 63'ü (%72) HbSS, 24'ü (%28) HbS $\beta$  olarak tiplendirildi.

Hastaların 24'ünde (% 38) splenektomi öyküsü mevcuttu. 11 (%12,6) hastada inme atağı geçirme öyküsü vardı.

78 (% 89,6) hasta hidroksiüre, 9 hasta (%10,3) çalışma sırasında şelasyon tedavisi alıyordu. 21 hasta (%24,1) uzun süreli kan değişimi programındaydı.

Hastaların 22'sinin (%25,2) AGS geçirme öyküsü mevcuttu.

Hastalar yaş, cinsiyet, OHH tipi, hidroksiüre ve şelasyon tedavisi alımı AGS, splenektomi, inme öyküleri yönünden karşılaştırıldığında Grup IA ile Grup IB arasında anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla  $p=0,620$ ,  $p=0,116$ ,  $p=0,363$ ,  $p=0,618$ ,  $p=0,82$ ,  $p=0,355$ ,  $p=0,932$ ,  $p=0,104$ ).

Tablo 8'de hasta grupların demografik ve klinik özellikleri gösterilmektedir.

**Tablo 8. Hasta grupların demografik ve klinik özellikleri**

		<b>Grup IA</b> n=32	<b>Grup IB</b> n=55	<b>p</b> <b>değeri</b>
<b>Yaş (Yıl)</b>		11,00 ± 4,16 (1-17)	11,43 ± 3,66 (1-17)	0,620
<b>Cinsiyet</b>	Kız	16 (%50) kız	19 (%34,5) kız	0,116
	Erkek	16 (%50) erkek	36 (%65,5) erkek	
<b>OHH tipi</b>	HbSS	25 (%78) HbSS	38 (%69) HbSS	0,363
	HbSβ	7 (%22) HbSβ	17 (%31) HbSβ	
<b>Hidroksiüre tedavisi alımı</b>	Var	28 (%87,5)	50 (%91)	0,618
	Yok	4 (%12,5)	5 (%9)	
<b>Şelasyon tedavisi alımı</b>	Var	3 (%9,4)	6 (%10,9)	0,820
	Yok	29 (%90,6)	49 (%89,1)	
<b>AGS öyküsü</b>	Var	9 (%28,1)	13 (%23,6)	0,355
	Yok	23 (%71,9)	42 (%76,4)	
<b>Splenektomi öyküsü</b>	Var	9 (%28,1)	15 (%27,3)	0,932
	Yok	23 (%71,9)	40 (%72,7)	
<b>İnme öyküsü</b>	Var	7 (%22)	4 (%7,3)	0,104
	Yok	25 (%78)	51 (%92,7)	

Grup IA: Damar tıkaçıcı krizi olan OHH hasta grubu

Grup IB: Damar tıkaçıcı krizi olmayan OHH hasta grubu

Grup II: Kontrol grubu

OHH: Orak hücre hastalığı

AGS: Akut göğüs sendromu

Hastalar lökosit sayısı yönünden karşılaştırıldığında; lökosit sayısı, Grup IA'da Grup IB ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p<0,001$ ). Benzer şekilde Grup IB'nin değerleri kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksekti ( $p<0,001$ ) (Tablo 9).

Serum CRP değerleri karşılaştırıldığında; Grup IA ve Grup IB'nin Grup II'ye (Tablo 9). Benzer şekilde Grup IA'nın ise Grup IB'ye göre serum CRP düzeyi anlamlı derecede yüksekti ( $p<0,001$ ) (Tablo 9)

Serum TNF- $\alpha$  değerleri karşılaştırıldığında Grup IA ve Grup IB'nin değerleri kontrol grubuna, Grup IA'nın değerleri Grup IB'ye göre anlamlı oranda yüksek bulundu ( $p<0,001$ ) (Tablo 9).

IFN- $\gamma$  değerleri bakımından Grup IA ile Grup IB, Grup IB ile Grup II, Grup IA ile Grup II arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut değildi ( $p=0,05$ ) (Tablo 9).

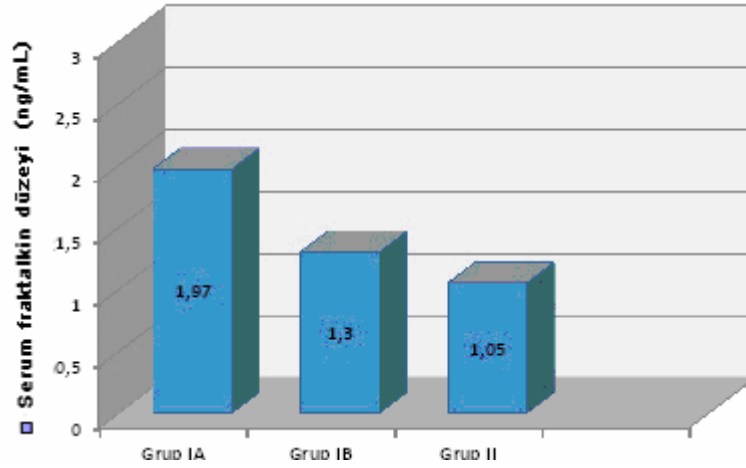
Grup IA'nın serum fraktalkin (sFkn) değerleri Grup II'ye göre, ayrıca Grup IB'nin sFkn değerleri Grup II'ye göre anlamlı derecede yüksek bulundu. Grup IA ile Grup IB arasında sFkn değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut değildi (Sırasıyla  $p_1=0,01$ ,  $p_2=0,023$ ,  $p_3=0,154$ ) (Tablo 9) (Şekil 14).

Fkn gen ifadesi Grup IA'da Grup IB ve kontrol grubuna göre, Grup IB'de Grup II'ye göre anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p<0,001$ ) (Tablo 9) (Şekil 15).

**Tablo 9. Damar tıkalıcı krizi olan ve olmayan OHH hastaları ile kontrol grubunun lökosit, CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn serum düzeyi ve Fkn gen ifadesi değerleri açısından karşılaştırılması**

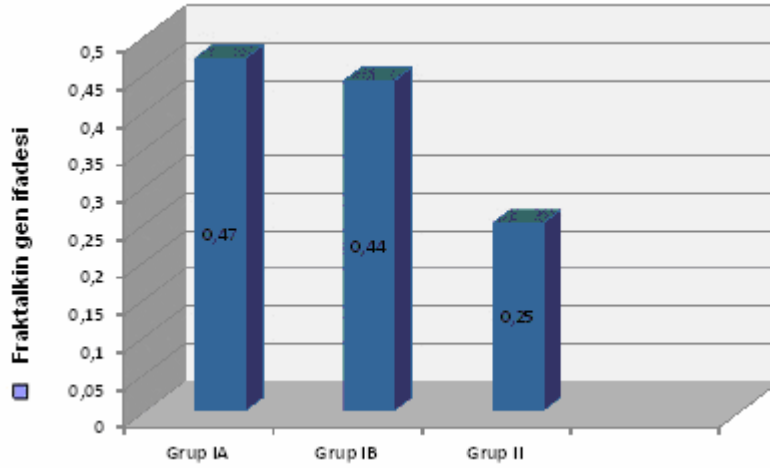
	<b>Grup IA</b> (n=32) Ortanca[Çeyreklikler]	<b>Grup IB</b> (n=55) Ortanca[Çeyreklikler]	<b>Grup II</b> (n=55) Ortanca[Çeyreklikler]	<b>p değeri</b>
<b>Lökosit</b> ( $\mu$ /dL)	13586 [9192-19467]	12710 [11210-15000]	7770 [6870-10430]	p1<0,001 p2<0,001 p3<0,001
<b>CRP</b> (mg/L)	7,00 [3,12-21,50]	3,50 [2,10-6,50]	1,50 [0,50-3,00]	p1<0,001 p2<0,001 p3<0,001
<b>TNF-<math>\alpha</math></b> (pg/mL)	5,71 [3,30-13,16]	5,54 [4,06-13,00]	2,85 [2,02-4,00]	p1<0,001 p2<0,001 p3<0,001
<b>IFN-<math>\gamma</math></b> (pg/mL)	0,66[0,52-0,18]	0,66[0,52-1,17]	1,14 [0,61-1,27]	0,05
<b>sFkn</b> (ng/mL)	1,97 [0,70-4,13]	1,30 [0,59-3,13]	1,05 [0,61-1,79]	p1=0,010 p2=0,023 p3=0,154
<b>Fkn gen ifadesi</b>	0,47 [0,20-4,45]	0,44 [0,27-0,53]	0,25 [0,17-0,34]	p1<0,001 p2<0,001 p3<0,001

Grup IA: Damar tıkalıcı krizi olan OHH hasta grubu  
 Grup IB: Damar tıkalıcı krizi olmayan OHH hasta grubu  
 Grup II: Kontrol grubu  
 p1: Grup IA ile Grup II arasında  
 p2: Grup IB ile Grup II arasında  
 p3: Grup IA ile Grup IB arasında  
 CRP : C-reaktif protein  
 TNF- $\alpha$ : Tümör nekrozis faktör-alfa  
 IFN- $\gamma$ : İnterferon-gamma  
 sFkn: Serum fraktalkin  
 n=Hasta sayısı



**Şekil 14. Damar tıkaçıcı krizi olan ve olmayan OHH hastaları ile kontrol grubunun serum fraktalkin düzeyi değerleri açısından karşılaştırılması**

Grup IA: Damar tıkaçıcı krizi olan OHH hasta grubu  
 Grup IB: Damar tıkaçıcı krizi olmayan OHH hasta grubu  
 Grup II: Kontrol grubu



**Şekil 15. Damar tıkaçıcı krizi olan ve olmayan OHH hastaları ile kontrol grubunun fraktalkin gen ifadesi değerleri açısından karşılaştırılması**

Grup IA: Damar tıkaçıcı krizi olan OHH hasta grubu  
 Grup IB: Damar tıkaçıcı krizi olmayan OHH hasta grubu  
 Grup II: Kontrol grubu

Çalışmaya dahil edilen 87 hastanın 8'i (% 9,1 ) son bir yıl içinde hiç damar tıkaçıcı kriz geçirmezken, 59'u (% 67,8 ) son bir yılda 1-5 kez, 20'si (% 22,9 ) ise 5-10 kez damar tıkaçıcı atak geçirmişti.

Yıllık damar tıkaçıcı kriz sıklığı açısından değerlendirilerek oluşturulan gruplar incelendiğinde; son bir yılda hiç damar tıkaçıcı kriz geçirmeyen grupla

1-5 kez atak geçiren grup arasında ve hiç atak geçirmeyen grupla ile 5-10 kez atak geçiren grup arasında sFkn değerleri bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir fark mevcuttu ( $p_1=0,03$ ,  $p_2=0,027$ ) (Tablo 10).

Son bir yılda 1-5 kez atak geçiren grupla 5-10 kez atak geçiren grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ( $p=0,157$ ) (Tablo 10).

Serum CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn gen ifadesi değerleri bakımından son bir yılda hiç damar tıkalıcı kriz geçirmeyen grupla, 1-5 kez atak geçiren grup ve 5-10 kez atak geçiren grup arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu (sırasıyla  $p=0,097$ ,  $p=0,469$ ,  $p=0,188$ ,  $p=0,157$ ). (Tablo 10).

**Tablo 10. Serum CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn ve Fkn gen ifadesi değerleri ile damar tıkalıcı kriz sıklığının karşılaştırılması**

	<b>Damar Tıkalıcı Kriz Geçirmeyen</b> (n=8) Ortanca [Çeyreklikler]	<b>1-5 Damar Tıkalıcı Kriz</b> (n=59) Ortanca [Çeyreklikler]	<b>5-10 Damar Tıkalıcı Kriz</b> (n=20) Ortanca [Çeyreklikler]	<b>p değeri</b>
<b>CRP (mg/L)</b>	3,50 [2,50-12,25]	3,90 [2,00-8,30]	7,00 [3,50-22,00]	0,097
<b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/mL)</b>	4,89 [3,70-10,30]	5,80 [3,89-11,26]	5,62 [3,77-12,11]	0,469
<b>IFN-<math>\gamma</math> (pg/mL)</b>	1,12 [0,73-1,18]	0,65 [0,52-1,18]	0,62 [0,49-1,16]	0,188
<b>sFkn (ng/ml)</b>	0,63 [0,49-1,30]	1,66 [0,69-3,42]	1,97 [0,70-4,58]	$p_1=0,030$ $p_2=0,027$ $p_3=0,157$
<b>Fkn gen ifadesi</b>	0,39 [0,23-0,63]	0,43 [0,26-0,63]	0,49 [0,33-2,12]	0,157

P1: Son bir yılda hiç kriz geçirmeyen grupla 1-5 kez damar tıkalıcı kriz geçiren grup arasında  
P2: Son bir yılda hiç kriz geçirmeyen grupla 5-10 kez damar tıkalıcı kriz geçiren grup arasında  
P3: Son bir yılda 1-5 damar tıkalıcı kriz geçiren grupla 5-10 kez kriz geçiren grup arasında  
CRP : C-reaktif protein  
TNF- $\alpha$ : Tümör nekroz faktör-alfa  
IFN- $\gamma$  : İnterferon-gamma  
sFkn : Serum fraktalkin düzeyi  
n: Hasta sayısı



OHH'da splenektomi yapılan ve yapılmayan hastalar CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn serum düzeyi ve Fkn gen ifadesi yönünden ayrı ayrı değerlendirildiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Sırasıyla p=0,524, p=0,913, p=0,447, p=0,792, p=0,150) (Tablo 11).

**Tablo 11. Serum CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn düzeyi ve Fkn gen ifadesi değerleri ile splenektomi durumunun karşılaştırılması**

	<b>Splenektomi yapılan</b> n =24 Ortanca [Çeyreklikler]	<b>Splenektomi yapılmayan</b> n =63 Ortanca [Çeyreklikler]	<b>p değeri</b>
<b>CRP (mg/L)</b>	4,50 [3,19-9,75]	3,90 [2,10-12,00]	0,524
<b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/mL)</b>	5,71 [4,09-11,89]	5,62 [3,83-13,20]	0,913
<b>IFN-<math>\gamma</math> (pg/mL)</b>	0,63 [0,52-1,15]	0,67 [0,52-1,19]	0,447
<b>sFkn (ng/ml)</b>	1,21 [0,59-4,08]	1,67 [0,70-3,13]	0,792
<b>Fkn gen ifadesi</b>	0,51 [0,25-1,60]	0,43 [0,24-0,60]	0,150

CRP : C-reaktif protein  
TNF- $\alpha$ : Tümör nekrozis faktör-alfa  
IFN- $\gamma$  : İnterferon-gamma  
sFkn : Serum fraktalkin düzeyi  
n : Hasta sayısı

OHH'da şelasyon tedavisi alan ve almayan hastalar serum CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn ve Fkn gen ifadesi yönünden ayrı ayrı değerlendirildiğinde aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (Sırasıyla p=0,395, p=0,856, p=0,289, p=0,976, p= 0,215) (Tablo 12).

**Tablo 12. CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn serum ve Fkn gen ifadesi değerlerinin şelasyon tedavisi alım durumu ile karşılaştırılması**

	<b>Şelasyon tedavisi alan</b> n=9 Ortanca [Çeyreklikler]	<b>Şelasyon tedavisi almayan</b> n=78 Ortanca [Çeyreklikler]	<b>p değeri</b>
<b>CRP (mg/L)</b>	6,00 [4,29-9,50]	3,90 [2,50-12,00]	0,395
<b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/mL)</b>	7,56 [3,45-20,13]	5,62 [3,94-13,05]	0,856
<b>IFN-<math>\gamma</math> (pg/mL)</b>	0,58 [0,50-1,14]	0,67 [0,52-1,18]	0,289
<b>sFkn (ng/ml)</b>	2,12 [0,59-3,46]	1,61 [0,66-3,41]	0,976
<b>Fkn gen ifadesi</b>	0,57 [0,26-122,39]	0,43 [0,24-0,65]	0,215

CRP : C-reaktif protein  
TNF- $\alpha$ : Tümör nekroz faktör-alfa  
IFN- $\gamma$ : İnterferon-gamma  
sFkn: Serum fraktalkin düzeyi  
n : Hasta sayısı

Hidroksiüre tedavisi alan ve almayan OHH'lı hastalar CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn serum düzeyi ve Fkn gen ifadesi yönünden ayrı ayrı değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi (sırasıyla p=0,862, p=0,111, p=0,431, p=0,053, p=0,867) (Tablo 13).

**Tablo13. CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn serum düzeyi ve Fkn gen ifadesi ile hidroksiüre tedavisi alım durumunun karşılaştırması**

	<b>Hidroksiüre tedavisi alan</b> n=78 Ortanca[Çeyreklikler]	<b>Hidroksiüre tedavisi almayan</b> n=9 Ortanca [Çeyreklikler]	<b>p değeri</b>
<b>CRP (mg/L)</b>	4,00[2,50-10,50]	4,00 [2,75-19,50]	0,862
<b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/mL)</b>	5,88 [4,05-13,05]	3,73[3,03-10,43]	0,111
<b>IFN-<math>\gamma</math> (pg/mL)</b>	0,65 [0,52-1,17]	1,13 [0,56-1,30]	0,431
<b>sFkn (ng/ml)</b>	1,67 [0,67-3,64]	0,80 [0,46-1,75]	0,053
<b>Fkn gen ifadesi</b>	0,44 [0,24-0,69]	0,44 [0,29-0,68]	0,867

CRP : C-reaktif protein  
TNF- $\alpha$ : Tümör nekrozis faktör-alfa  
FN- $\gamma$ : İnterferon-gamma  
sFkn: Serum fraktalkin düzeyi  
n : Hasta sayısı

Kronik kan değişimi tedavisi uygulanan ve uygulanmayan hastalar serum CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn ve Fkn gen ifadesi yönünden değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı (sırasıyla p=0,616, p=0,302, p=0,878, p=0,810, p=0,170) (Tablo 14).

**Tablo 14. CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn serum düzeyi ve Fkn gen ifadesi ile kronik kan değişimi uygulanım durumunun karşılaştırılması**

	<b>Kronik kan değişimi tedavisi uygulanan</b> n=21 Ortanca [Çeyreklikler]	<b>Kronik kan değişimi tedavisi uygulanmayan</b> n=66 Ortanca [Çeyreklikler]	<b>p Değeri</b>
<b>CRP (mg/L)</b>	4,00 [2,30-7,00]	4,00 [2,50-12,00]	0,616
<b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/mL)</b>	6,27 [4,02-24,97]	5,54 [3,86-9,75]	0,302
<b>IFN-<math>\gamma</math> (pg/mL)</b>	0,65 [0,52-1,17]	0,67 [0,51-1,17]	0,878
<b>sFkn (ng/ml)</b>	1,48 [0,61-3,28]	1,66 [0,66-3,86]	0,810
<b>Fkn gen ifadesi</b>	0,35 [0,15-0,76]	0,45 [0,28-0,69]	0,170

CRP:C-reaktif protein  
TNF- $\alpha$ : Tümör nekroz faktör-alfa  
IFN- $\gamma$ : Interferon-gamma  
sFkn: Serum fraktalkin düzeyi  
n : Hasta sayısı

İnme atağı geçiren ve geçirmeyen hastalar CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn serum düzeyi ve Fkn gen ifadesi yönünden değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmedi (sırasıyla  $p=0,180$ ,  $p=0,736$ ,  $p=0,342$ ,  $p=0,563$ ,  $p=0,400$ ) (Tablo 15).

**Tablo 15. CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn serum düzeyi ve Fkn gen ifadesi ile inme atağı durumunun karşılaştırılması**

	<b>İnme atağı geçiren</b> n=11 Ortanca [eyreklikler]	<b>İnme atağı geçirmeyen</b> n=76 Ortanca [eyreklikler]	<b>p değeri</b>
<b>CRP</b> (mg/L)	3,10 [1,35-7,50]	4,00 [3,00-12,00]	0,180
<b>TNF-<math>\alpha</math></b> (pg/mL)	6,22 [3,64-17,15]	5,58 [3,91-12,78]	0,736
<b>IFN-<math>\gamma</math></b> (pg/mL)	0,63 [0,51-0,84]	0,67 [0,52-1,18]	0,342
<b>sFkn</b> (ng/ml)	1,67 [1,01-3,74]	1,59 [0,65-3,43]	0,563
<b>Fkn gen</b> <b>İfadesi</b>	0,31 [0,18-1,17]	0,44 [0,27-0,66]	0,400

CRP: C-reaktif protein  
TNF- $\alpha$ : Tümör nekroz faktör-alfa  
IFN- $\gamma$ : İnterferon-gamma  
sFkn: Serum fraktalkin düzeyi  
n: Hasta sayısı

AGS atağı geçiren ve geçirmeyen hastalar CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn serum düzeyi ve Fkn gen ifadesi yönünden değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı (Sırasıyla  $p=0,960$ ,  $p=0,164$ ,  $p=0,904$ ,  $p=0,517$ ,  $p=0,688$ ) (Tablo 16).

**Tablo 16. CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn serum düzeyi ve Fkn gen ifadesi ile AGS durumunun karşılaştırılması**

	<b>AGS atağı geçiren</b> n=22 Ortanca [eyreklikler]	<b>AGS atağı geçirmeyen</b> n=65 Ortanca [eyreklikler]	<b>p değer</b>
<b>CRP (mg/L)</b>	4,0 [2,75-8,65]	4,0 [2,50-12,00]	0,960
<b>TNF-<math>\alpha</math> (pg/mL)</b>	7,14 [4,88-16,95]	5,21 [3,8-13,1]	0,164
<b>IFN-<math>\gamma</math> (pg/mL)</b>	0,62 [0,51-1,16]	0,66 [0,51-1,17]	0,904
<b>sFkn (ng/ml)</b>	1,41 [0,58-3,28]	1,73 [0,66-3,64]	0,517
<b>Fkn gen ifadesi</b>	0,46 [0,11-0,71]	0,43 [0,27-0,65]	0,688

AGS: Akut göğüs sendromu  
CRP: C-reaktif protein  
TNF- $\alpha$ : Tümör nekroz faktör-alfa  
IFN- $\gamma$ : İnterferon-gamma  
sFkn: Serum fraktalkin düzeyi  
n : Hasta sayısı

Lökosit sayısı ile TNF- $\alpha$  arasında yapılan korelasyon analizine göre istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı ilişki mevcuttu ( $r=0,394$ ,  $p<0,001$ ).

Lökosit sayısı ile sFkn arasında yapılan korelasyon analizine göre istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı bir ilişki saptandı ( $r=0,176$ ,  $p=0,037$ ).

Lökosit sayısı ile Fkn gen ifadesi arasında yapılan korelasyon analizine göre istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ( $r=0,133$ ,  $p=0,116$ ).

Serum CRP düzeyi ile sFkn arasında yapılan korelasyon analizine göre istatistiksel olarak anlamlı ilişki mevcut değildi ( $p=0,059$ ).

Serum CRP düzeyi ile Fkn gen ifadesi arasında yapılan korelasyon analizine göre istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktu ( $p=0,0769$ ).

sFkn ile IFN- $\gamma$  arasında yapılan korelasyon analizine göre negatif yönde anlamlı ilişki mevcuttu ( $r=-0,650$ ,  $p<0,001$ ).

Fkn gen ifadesi ile IFN- $\gamma$  arasında yapılan korelasyon analizine göre istatistiksel olarak negatif yönde anlamlı bir ilişki saptandı ( $r=-0,218$ ,  $p=0,009$ ).

sFkn ile TNF- $\alpha$  arasında yapılan korelasyon analizine göre istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı ( $r=0,120$ ,  $p=0,155$ ).

Fkn gen ifadesi ile TNF- $\alpha$  arasında yapılan korelasyon analizine göre istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı bir ilişki tespit edildi ( $r=0,176$ ,  $p=0,036$ ).

OHH tipleri arasında (HbSS, HbSB) serum CRP, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , Fkn ve Fkn gen ifadesi yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ( $p=0,736$ ).

## 5. TARTIŞMA

OHH; hemoliz, hayatı tehdit edebilen yan etkiler ve çeşitli organlarda süregelen hasar ile sonuçlanan kalıtsal bir kan hastalığıdır. Eritrositlerin içinde normal erişkin HbA yerine HbS olması hastalığa ait bulguların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. OHH kalıtsal bir hemolitik anemi olmakla birlikte, daha önce yapılan çalışmalarda, OHH'nın patofizyolojisinde inflamasyonun da önemli rolü olduğu belirtilmiştir. OHH'da süregelen inflamasyon bulguları olmakla beraber, hasta krize girdiğinde inflamasyon bulguları alevlenir.<sup>68</sup>

OHH'da büyük ve küçük damarların tıkanıklığı sonucu gelişen doku hasarına bağlı olarak inflamatuvar yanıt başlamaktadır.<sup>136,137</sup> İnflamatuvar yanıt; eritrositler, endotel ve lökositler arasındaki etkileşimleri içermektedir. Bu etkileşimler adezyon molekülleri ve T hücrelerinden salgılanan sitokinler tarafından düzenlenmektedir. Dolayısıyla damar tıkaçıcı krizin başlaması, gelişmesi ve bağışıklık yanıtı oluşumunda sitokinler rol oynamaktadır.<sup>138</sup>

Ağrılı krizdeki hastalarda inflamatuvar ve proinflamatuvar sitokin düzeylerinin araştırıldığı çeşitli çalışmalar bulunmaktadır.<sup>6,9</sup> Ağrılı krizi olan 27 ve durağan 20 OHH'lı hasta üzerinde yapılan bir çalışmada, durağan ve kriz anındaki OHH'lı hastalarda lökosit, nötrofil yüzdeleri ve sitokin (IL-2, IL-4, IL-10) seviyesi sağlıklı kontrol grubuna oranla anlamlı düzeyde yüksek bulunmuş.<sup>139</sup>

Çalışmamızda da, inflamasyona bağlı olarak; lökosit değerlerinin OHH'lı grupta, kontrol grubuna göre anlamlı şekilde yüksek olduğu gözlemlendi. Bu artış damar tıkaçıcı krizi olan Grup IA hastalarında daha belirgindi ( $p<0,001$ ). Enfeksiyon bulgusu olmadan lökosit değerlerinin bu şekilde artmış olması OHH'nın inflamatuvar bir hastalık olduğunu desteklemektedir.

Yapılan çalışmalarda; OHH'da damar tıkaçıcı kriz sırasında, serum lökosit sayısının, CRP düzeyinin, E-selektin, ICAM-1, VCAM-1 ve sitokin (IL-6, TNF- $\alpha$ ) salınımının artmış olduğu belirtilmektedir.<sup>140-142</sup>

Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak, CRP değerlerinin durağan OHH'da (Grup IB) kontrol grubundaki sağlıklı çocuklara göre anlamlı olarak arttığı ve bu artışın damar tıkaçıcı krizi olan hastalarda (Grup IA) daha belirgin olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,001$ ). CRP düzeyindeki bu artış OHH'nın inflamatuvar bir hastalık olduğunun ayrı bir göstergesi olarak düşünülmektedir.



Daha önce, OHH'da IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$ 'nın inflamasyondaki rolünün araştırıldığı çeşitli çalışmalar mevcuttur.

Michaels ve ark.'nın yaptığı çalışmada, ağrılı krizde substans P ve IL-8 düzeylerinin belirgin olarak arttığı, ancak TNF- $\alpha$  düzeyinde değişiklik olmadığı belirtilmiştir.<sup>144</sup>

Benzer olarak yapılan bir çalışmada da, ağrılı krizde endotelin-1 ve PGE<sub>2</sub> düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak arttığı, TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 düzeylerinde ise artış olmadığı tespit edilmiştir<sup>145</sup>

Farklı bir çalışmada ise; durağan OHH'da proinflamatuvar sitokinlerin (IL-1b, IL-6, IL-8, TNF- $\alpha$  ) düzeylerinde artış olduğu tespit edilmiştir<sup>46</sup>

Pathare ve ark.'nın yaptığı çalışmada, OHH olup ağrılı kriz ile başvuran hastalarda TNF- $\alpha$  ve IL-6'nın normal kişilere göre belirgin olarak arttığı, inflamatuvar mediatörlerin orak şeklini almış eritrositlerin damar endoteline yapışmasını artırarak kan akımını bozduğu ve iskemik ataklara neden olduğu bildirilmiştir.<sup>143</sup> Benzer olarak yapılan diğer çalışmalarda da proinflamatuvar bir sitokin olan TNF- $\alpha$  seviyesinin sepsis, RA ve Crohn Hastalığı (CH)'nda olduğu gibi durağan ve kriz döneminde bulunan OHH'da da artmış olduğu gösterilmiştir.<sup>146,147</sup>

Çalışmamızda serum TNF- $\alpha$  seviyesinin, hem damar tıkaçıcı krizdeki hem de durağan OHH hastalarında kontrol grubuna göre anlamlı oranda arttığı saptandı (p<0,001). Literatürle uyumlu olan bu bulgu da, OHH'nın patogenezinde inflamasyonun rol oynadığını göstermektedir.

IFN- $\gamma$  ve serbest oksijen türlerinin OHH'da damar tıkaçıcı krizlerin gelişmesinde önemli rolü olduğu daha önceki çalışmalarda tespit edilmiştir.<sup>148,149</sup> Kriz durumunda bulunan OHH hastalarının IFN- $\gamma$  serum düzeyi durağan OHH hastalarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bir yükseklik tespit edilmiş, ayrıca IFN- $\gamma$  mRNA gen ifadesi açısından değerlendirildiğinde durağan OHH grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı yükseklik bulunmuştur.<sup>150,151</sup>

Benzer olarak Pathy ve ark. ile Pathare ve ark.'nın yaptıkları çalışmalarda da durağan OHH hastalarının kontrol grubuna göre daha yüksek IFN- $\gamma$  düzeyine sahip oldukları tespit edilmiştir.<sup>143,151</sup>

237 OHH hastası ve 43 kontrol bireyi ile yapılan bir diğer çalışmada ise inflamasyon esnasında IL-8, IL-6, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  ve RANTES düzeylerinin OHH'da kontrol grubuna göre arttığı gözlemlenmiştir.<sup>151</sup>

Çalışmamızda; daha önce yapılan bu çalışmaların aksine IFN- $\gamma$  seviyesi OHH hasta grupları ile kontrol grubu arasında anlamlı fark göstermedi ( $p=0,05$ ). Bu sonuç ile birlikte, OHH'daki inflamatuvar süreçte IFN- $\gamma$ 'nın yerinin tartışmalı olabileceği düşünülmektedir.

Daha önce OHH patogenezinde inflamasyonun rolünü aydınlatmak amacıyla pek çok çalışma yürütülmüş ve yapılan bu çalışmalarda OHH patogenezinde sitokin ve kemokinlerin rol oynadığı vurgulanmıştır. Bu çalışmaların yanı sıra her geçen gün yeni bir inflamatuvar mediatör kullanılarak yapılan çalışmalarla, OHH patogenezi aydınlatılmaya çalışılmaktadır. Araştırılmaya açık mediatörlerden biri de Fkn'dir.

Fkn, inflamatuvar ve immun hücrelerin endotel hücreler ile ilişkisini düzenleyen, inflame endotel hücrelerinde ifade edilen, CX3CR1 kemokin ailesinin en önemli üyelerinden biridir.

Daha önce yapılan pek çok çalışmada, inflamatuvar hastalıklarda Fkn düzeyinin artmış olarak tespit edilmesi; inflamatuvar bir hastalık olan OHH'da da Fkn seviyesinin artmış olabileceğini düşündürmektedir. Ancak, OHH'da gelişen inflamasyonda Fkn önemini vurgulayan bir çalışmaya literatürde rastlanmamıştır.

Fkn'nin inflamasyondaki rolü; daha önce sistemik lupus eritematozis (SLE), PAH, RA, kolorektal kanser, CH, allerjik hastalıklar ve koroner ateroskleroz gibi farklı hastalık gruplarında incelenmiştir<sup>121,152,153,154,155</sup>

SLE hastalarında yapılan bir çalışmada; aktif hastalık grubunda, aktif olmayan hasta ve kontrol grubuna göre, aktif olmayan hastalarda ise kontrol grubuna göre sFkn düzeyinde anlamlı derecede artış saptanmıştır. Çalışmada ayrıca; aktif SLE hastalarında Fkn mRNA gen ifadesi diğer iki gruba göre yüksek derece anlamlı bulunurken, aktif olmayan SLE hastaları ve kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık saptanmamıştır.<sup>156</sup>

Benzer olarak Yajima ve ark.'nın, SLE'li hastaları aktif/aktif olmayan diye ayırmadan yaptıkları çalışmalarında, SLE grubunda kontrol grubuna göre daha yüksek sFkn düzeyleri tespit etmişlerdir.<sup>153</sup>

Perros ve ark.'nın PAH'lı ratlar üzerinde yaptıkları çalışmaya göre, pulmoner arter lezyonlarından köken alan inflamatuvar hücrelerin yüksek oranda Fkn salınımı sağladığı, ayrıca damar düz kası hücrelerinin de artmış CX3CR1 salınımına neden olduğu iddia edilmiştir. Bunun yanında, Fkn'nin düz kas

hücrelerinde çoğalmaya neden olduğu, bu nedenle de PAH patogenezinde önemli bir rol oynadığı düşünülmektedir.<sup>156</sup>

RA patogenezinde, Fkn'nin rolü olabileceğini öne süren çeşitli yayınlar mevcuttur. RA hastalarının periferik kan hücrelerinde akım sitometri analizi yapılarak, Fkn'nin özellikle CD4+ T hücrelerinde Th1 tip sitokin profili ile ifade edildiği ve RA hastalarının sinovyumunda, makrofaj, dendritik hücreler, endotelial hücrelerinde de üretildiği gösterilmiştir.<sup>157,158</sup>

Matsunowa ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada RA hastaları; vaskülit olmayan, eklem dışı bulguları olup vaskülit histopatolojik olarak kanıtlanmamış ve eklem dışı bulguları olup vaskülit kanıtlanmış vakalar olarak üç gruba ayrılmıştır. Hastaların aktif ve aktif olmayan dönemde sFkn seviyelerinin yanısıra Fkn ve CX3CR1 gen ifadeleri incelenmiştir. sFkn seviyeleri RA hastalarında kontrollere göre ve vaskülit olan RA hastalarında vaskülitik yan etkisi olmayanlara göre daha yüksek olarak saptanmıştır. İmmunohistokimyasal analizle de sFkn seviyeleri vaskülitik arterlerdeki endotelial hücrelerde yüksek bulunmuştur. Ayrıca CX3CR1 mRNA gen ifadesi aktif vasküler tutulumu olan RA hastalarında diğer gruplara göre daha yüksek saptanmıştır. sFkn seviyesi ile CRP, RF ve hastalık aktivite skoru arasında istatistiksel olarak önemli korelasyon tespit edilmiştir.<sup>159</sup>

CH'da yapılan bir çalışmada; inflamasyonlu barsak kısmında Fkn mRNA gen ifadesinin inflame olmayan kolon mukozasına göre anlamlı olarak yüksek olduğu tespit edilmiştir.<sup>160</sup>

55 allerjik astım veya rinitli ve 19 sağlıklı birey ile yapılan bir çalışmada sFkn seviyesinin hasta grupta kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunduğu ayrıca aynı çalışmada 16 allerjik astımlı hastanın bronkoalveolar lavaj ve bronşial biyopsi örneğinde Fkn gen ifadesinde artış tespit edildiği belirtilmektedir.<sup>161</sup>

Yapılan başka bir çalışmada ise; ateroskleroz üzerine etkili olduğu bilinen Fkn'nin inflamasyona eşlik eden endotelial hücrelerde ifade edilerek, reseptörü aracılığıyla lökosit adezyon ve göçünü uyardığı gösterilmiştir. Akut koroner sendromlu hasta ve sağlıklı kontrol bireylerinde Fkn gen polimorfizminin analiz edildiği bir çalışmada ise, CX3CR1 I249 heterozigotluğunun akut koroner sendrom riskini arttıran bir belirteç olduğu ve aterosklerotik hastalıkların patogenezinde rol oynadığı ifade edilmiştir.<sup>162</sup>

Çalışmamızda, damar tıkaçıcı krizi olan OHH'da sFkn düzeyi ve Fkn gen ifadesi kontrol grubuna göre; durağan OHH'da da kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek saptandı ( $P<0,05$ ). Bu sonuçla birlikte Fkn molekülünün OHH'da görülen inflamasyon patogenezinde rol alabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca Fkn gen ifadesinin damar tıkaçıcı krizi olan hastalarda daha da yüksek olması bu molekülün damar tıkaçıcı kriz sırasında görülen akut inflamasyonda da rolü olabileceğini düşündürmektedir. Yıllık damar tıkaçıcı kriz sıklığı fazla olan hastalarda da bu artışın belirgin olması, bu görüşümüzü desteklemektedir.

Yapılan bir çalışmada; vaskülitik hastalıklarda TNF- $\alpha$  düzeyinin arttığı, TNF- $\alpha$ 'nın Fkn salınımını uyardığı, dolayısıyla TNF- $\alpha$  başta olmak üzere bozulmuş sitokin regülasyonunun, Fkn salınımı üzerinden RA ve vaskülitte neden olabileceği öne sürülmüştür.<sup>159</sup>

Sukkar ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, insan havayollarında bulunan düz kas hücreleri tarafından üretilen Fkn ve CX3CR1'in; IFN- $\gamma$  ve TNF- $\alpha$  tarafından uyarıldığını belirtmektedirler.<sup>163</sup>

Çalışmamızda; TNF- $\alpha$  ile sFkn düzeyi arasında korelasyon analizine göre anlamlı bir ilişki saptanmadı ( $r=0.120$ ,  $p=0.155$ ). Bunun yanında TNF- $\alpha$  ile Fkn gen ifadesi arasında korelasyon analizine göre pozitif yönde anlamlı ilişki mevcuttu ( $r=0,176$ ,  $p=0,036$ ). Bu sonuçla birlikte, sFkn düzeyinin belirlenmesinde TNF- $\alpha$ 'nın tek başına değil, başka moleküller ile birlikte görev yapabileceğini düşünmekteyiz. TNF- $\alpha$  ile Fkn gen ifadesi arasında pozitif bir korelasyonun olması, bu iki molekülün OHH'da görülen inflamasyon patogenezinde rol oynayabileceğini desteklemektedir.

NK hücreleri tarafından üretilen IFN- $\gamma$  Th1 polarizasyonunda önemlidir. Membranöz formdaki Fkn ile uyarılan NK hücrelerinin ciddi miktarda IFN- $\gamma$  ürettiği gösterilmiştir ki bu, endotel hücrelerince salınan Fkn'nin Th1 cevabının gelişmesindeki rolünü göstermektedir. IFN- $\gamma$  ayrıca endotel hücrelerinde Fkn sentezini de artırır, yani endotel hücrelerinde parakrin bir geri besleme sistemi mevcuttur.<sup>164</sup>

Çalışmamızda literatürden farklı olarak, IFN- $\gamma$  ile sFkn ve Fkn gen ifadesi arasında negatif bir korelasyon saptadık. IFN- $\gamma$  düzeyinin hem durağan hem de damar tıkaçıcı krizli hastalarda anlamlı oranda artmamış olması, sFkn düzeyinin IFN- $\gamma$  salınımını baskılayabileceğini düşündürmektedir.

Çalışmamızda, daha önce OHH'da hiç çalışılmamış olan, önemli bir kemoatraktan olup son zamanlarda inflamasyondaki etkileri üzerinde durulan Fkn'nin, OHH etyopatogenezindeki yerini araştırmayı amaçladık. Sonuç olarak; Fkn'nin serum düzeyi ve gen ifadesinin hem damar tıkaçıcı krizli hem de durağan OHH'da artmış olması bu molekülün OHH'da görülen inflamasyon patogenezinde rolü olabileceğini düşündürmektedir. Bu konuda yapılan ilk çalışma olması çalışmamızın önemini artırmakta ancak daha fazla çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

## 6. SONUÇLAR

Aralık 2011 ile Ocak 2012 tarihleri arasında Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Çocuk Hematoloji BD tarafından OHH tanısı ile izlenen 87 hasta (% 61,2) ve 55 sağlıklı çocuk (% 38,7) çalışmaya alındı. Demografik özellikleri, klinik bulguları, laboratuvar verileri karşılaştırmalı olarak değerlendirildi ve şu sonuçlar elde edildi:

1. Çalışmaya 58'i (% 66,6) erkek, 29'u (% 33,4) kız, yaşları 1-17 yaş arasında değişen (ortalama:  $11,2 \pm 3,8$  yıl) toplam 87 OHH hastası alındı ( Grup I).
2. 87 OHH hastasının 32'sinde çalışmaya dahil edildikleri sırada ağrılı kriz mevcuttu. Bu hastalar Grup IA (ortalama:  $11,00 \pm 4,16$  yıl; 16 kız, 16 erkek) olarak değerlendirildi.
3. 87 OHH hastasından 55 hastada çalışma sırasında ağrılı kriz yoktu ve bu hastalar Grup IB (ortalama:  $11,43 \pm 3,66$  yıl; 19 kız, 36 erkek) olarak sınıflandırıldı.
4. 55 sağlıklı çocuk kontrol grubu (Grup II, ortalama:  $11,29 \pm 4,2$  yıl; 27 kız, 28 erkek) olarak değerlendirildi.
5. OHH'lı 87 hastanın 63'ü (%72) HbSS, 24'ü (% 28) HbSβ idi.
6. Hastaların 78'i (%89,6) hidroksiüre, 9'u (%10,3) şelasyon tedavisi alıyordu.
7. 24 (% 27,5) hastada splenektomi, 22 (% 25,2) hastada AGS, 11 (%12,6) hastada inme geçirme öyküsü mevcuttu.
8. OHH hastaları içinde yılda 1-5 kez damar tıkalıcı kriz atağı geçiren hasta sayısı 59 (% 67,8), 5 -10 atak geçiren hasta sayısı 20 (% 22,9) ve damar tıkalıcı kriz atağı geçirmeyen hasta sayısı 8 (%9,2) idi.
9. Lökosit sayısı açısından gruplar karşılaştırıldığında; Grup IA'nın değerleri Grup IB ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p < 0,001$ ). Ayrıca Grup IB'nin değerleri de kontrol grubuna göre anlamlı oranda yüksekti ( $p < 0,001$ ).
10. Serum CRP değerleri Grup IA'da Grup IB ve Grup II'ye göre anlamlı olarak yüksek bulundu ( $p < 0,001$ ).
11. Grup IA ve Grup IB'nin serum TNF-α değerleri kontrol grubuna

göre, ayrıca Grup IA'nın serum TNF- $\alpha$  değerleri Grup IB'ye göre anlamlı olarak yüksek saptandı (  $p<0,001$ ).

12. Serum IFN- $\gamma$  düzeyi açısından karşılaştırma yapıldığında Grup IA ile Grup IB, Grup IB ile Grup II ve Grup IA ile Grup II arasında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut değildi ( $p=0,05$ ).
13. Son bir yılda 5-10 kez damar tıkalıcı atak geçiren grupta hiç atak geçirmeyen gruba göre, 1-5 kez atak geçiren grupta hiç atak geçirmeyen gruba göre sFkn değerleri anlamlı olarak yüksek saptandı (Sırasıyla  $p=0,027$ ,  $p=0,03$ ).  
Son bir yılda 5-10 kez damar tıkalıcı kriz geçiren grup ile 1-5 kez damar tıkalıcı kriz geçiren grup sFkn değerleri bakımından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p=0,157$ )
14. Son bir yılda hiç damar tıkalıcı kriz geçirmeyen, 1-5 atak ve 5-10 atak geçiren OHH hastaları serum CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  ve Fkn gen ifadesi değerleri bakımından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p>0,05$ ).
15. Splenektomi yapılan ile yapılmayan gruplar CRP, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , Fkn serum düzeyi ve Fkn gen ifadesi açısından ayrı ayrı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p>0,05$ ).
16. Hidroksiüre tedavisi alan ve almayan hastalar CRP, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , Fkn serum düzeyi ve Fkn gen ifadesi açısından ayrı ayrı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p>0,05$ ).
17. Şelasyon tedavisi alan ve almayan hastalar CRP, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , Fkn serum düzeyi ve Fkn gen ifadesi açısından ayrı ayrı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ( $p>0,05$ ).
18. AGS öyküsü olan ve olmayan hastalar CRP, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , Fkn serum düzeyi ve Fkn gen ifadesi açısından ayrı ayrı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark mevcut değildi ( $p>0,05$ ).
19. İnme öyküsü olan ve olmayan hastalar CRP, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , Fkn

serum düzeyi ve Fkn gen ifadesi açısından ayrı ayrı karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p>0,05$ ).

20. Kronik kan değişimi tedavisi uygulanan ve uygulanmayan hastalar serum CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn ve Fkn gen ifadesi yönünden değerlendirildiğinde istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ( $p>0,05$ )
21. Grup IA ve Grup IB'nin sFkn değerleri Grup II'ye göre anlamlı derecede yüksek bulundu (Sırasıyla  $p=0,01$ ,  $p=0,023$ ).
22. sFkn değerleri bakımından Grup IA ile Grup IB arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p=0,154$ ).
23. Fkn gen ifadesi Grup IA'da Grup IB ve Grup II'ye göre, Grup IB'de Grup II'ye göre anlamlı derecede yüksek bulundu ( $p<0,001$ ).
24. Lökosit sayısı ile TNF- $\alpha$  arasında yapılan korelasyon analizine göre istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı bir ilişki mevcuttu ( $r=0,394$ ,  $p<0,001$ ).
25. Lökosit sayısı ile sFkn arasında yapılan korelasyon analizine göre istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı bir ilişki saptandı ( $r=0,176$ ,  $p=0,037$ ).
26. Lökosit sayısı ile Fkn gen ifadesi arasında istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktu ( $r=0,133$ ,  $p=0,116$ ).
27. Serum CRP düzeyi ile sFkn arasında yapılan korelasyon analizine göre istatistiksel olarak anlamlı ilişki mevcut değildi ( $p=0,059$ ).
28. Serum CRP düzeyi ile Fkn gen ifadesi arasında yapılan korelasyon analizine göre istatistiksel olarak anlamlı ilişki yoktu ( $p=0,0769$ ).
29. sFkn ile IFN- $\gamma$  arasında yapılan korelasyon analizine göre istatistiksel olarak negatif yönde anlamlı ilişki mevcuttu ( $r=-0,650$ ,  $p<0,001$ ).
30. Fkn gen ifadesi ile IFN- $\gamma$  arasında yapılan korelasyon analizine göre istatistiksel olarak negatif yönde anlamlı bir ilişki bulundu ( $r=-0,218$ ,  $p=0,009$ ).
31. sFkn ile TNF- $\alpha$  arasında yapılan korelasyon analizine göre istatistiksel olarak anlamlı ilişki bulunmadı. ( $r=0,120$ ,  $p=0,155$ )



- 32.** Fkn gen ifadesi ile TNF- $\alpha$  arasında yapılan korelasyon analizine göre istatistiksel olarak pozitif yönde anlamlı bir ilişki saptandı ( $r=0,176$ ,  $p=0,036$ ).
- 33.** OHH tipleri arasında (HbSS, HbSB); CRP, IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$ , Fkn serum ve Fkn gen ifadesi değerleri yönünden istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktu ( $p=0,736$ ).

## KAYNAKLAR

1. Embury SH. Sickle cell anemia and associated hemoglobinopathies. Cecil Textbook of Medicine. 21st Edition, Philadelphia: WB Saunders Company 2000; 893–905.
2. Lanaro C, Franco-Penteado CF, Albuquerque DM, et al. Altered levels of cytokines and inflammatory mediators in plasma and leukocytes of sickle cell anemia patients and effects of hydroxyurea therapy, J. Leukoc. Biol 2009; 235–242.
3. Livia EM, Pericles MD, Jussara R, et al. Up-regulation of NADPH oxidase components and increased production of interferon-gamma by leukocytes from sickle cell disease patients, American Journal of Hematology 2008; 83:41–45
4. Nawroth PP, Bank I, Handley D, et al. Tumor necrosis factor/cachectin interacts with endothelial cell receptors to induce release of interleukin-1. J Exp Med 1986; 163:1363–1367.
5. Mantovani A, Sozzani A, Vecchi A, et al. Cytokine activation of endothelial cells: new molecules for an old paradigm. Thromb Haemost 1997; 78:406–414.
6. Awogu AU. Leukocyte counts in children with sickle cell anaemia usefulness of stable state values during infections. West Afr J Med 2000;19:55–58.
7. Zakia A, Sahar SZ, Radwa S. Serum Levels of Soluble Fractalkine in Active Systemic Lupus Erythematosus and its Relation to Disease Activity and Renal Impairment. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 2010; 4: 1070-1075
8. Tomer A, Gideon P, Avner T, et al. Delta chemokine (fractalkine) A novel mediator of pulmonary arterial hypertension in children undergoing cardiac surgery. Cytokine 2010; 52:143–145
9. Konotey-Ahulu FI. The sickle cell diseases. Clinical manifestations including the "sickle crisis". Arch Intern Med 1974;133: 611-619.
10. Savitt TL. The second reported case of sickle cell anemia. Va Med Q 1997; 124:84-92.

11. Cook JE, Meyer J. Severe anemia with remarkable elongated and sickle shaped red blood cells and chronic leg ulcers. *Arch Intern Med* 1915; 16:644-651.
12. Hahn E, Gillespie E. Sickle cell anemia. Report of a case greatly improved by splenectomy. Experimental study of sickle cell formation. *Arch Intern Med* 1927; 39:233-254.
13. Diggs L, Bibb J. The erythrocyte in sickle cell anemia: morphology, size, hemoglobin content, fragility and sedimentation rate. *JAMA* 1939; 112:695-700.
14. Sherman I. The sickling phenomenon, with special reference to the differentiation of sickle cell anemia from the sickle cell trait. *Bull John Hopkins Hosp* 1946; 67:309-324.
15. Pauling L, Itano HA, Singer SJ. Sickle cell anemia a molecular disease. *Science* 1949; 110:543-548.
16. Harris J.W. Studies on the destruction of red blood cells. VIII. Molecular orientation in sickle cell hemoglobin solutions. *Proc Soc Exp Biol Med* 1950; 75:197-201.
17. Perutz MF, Mitchison JM. State of haemoglobin in sickle-cell anaemia. *Nature* 1950; 166:677-679.
18. Ingram VM. Gene mutations in human haemoglobin: the chemical difference between normal and sickle cell haemoglobin. *Nature* 1957; 180: 326-328.
19. Muirhead H, Perutz MF. Structure of Haemoglobin. a Three-Dimensional Fourier Synthesis of Reduced Human Hemoglobin at 5-5 Å Resolution. *Nature* 1963; 199:633-638.
20. Johnson FL, Look AT, Gockerman J, et al. Bone-marrow transplantation in a patient with sickle-cell anemia. *N Engl J Med* 1984; 311:780-783.
21. Charache S, Terrin ML, Moore RD, et al. Design of the multicenter study of hydroxyurea in sickle cell anemia. Investigators of the Multicenter Study of Hydroxyurea. *Control Clin Trials* 1995; 16: 432-446.

22. Schroeder WA, Kay LM, Wells IC, et al. Amino acid composition of hemoglobins of normal negroes and sickle cell anemics. *Journal of Biological Chemistry* 1950;187:221- 40.
23. Marotta CA, Wilson JT, Forget BJ, et al. Human  $\beta$  globulin Messenger RNA III. Nucleotide sequences derived from complementary DNA. *Journal of Biological. Chemistry* 1977; 252:5040- 51.
24. Kaplan E, Zuelzer WW, Neel JW. A new inherited abnormality of hemoglobin and its reactions with sickle cell hemoglobin. *Blood* 1951; 6: 1240- 59.
25. Hunt JA, Ingram VM. A terminal peptid sequence of human hemoglobin? *Nature* 1959; 184: 640- 641.
26. Ramot R, Fisher S, Remex D. Hemoglobin O in Arab family. Sickle cell hemoglobin O Arab trait. *British Medical Journal* 1960;1262- 64.
27. Stamatoyannopoulos G, Fessas P. Observation on hemoglobin 'Pylos'. The hemoglobin Pylos-hemoglobin S combination. *Journal of laboratory and clinical medicine* 1963; 62: 193- 200.
28. Canatan D. Orak Hücre Anemisi. XXX. Ulusal Hematoloji Kongresi, 7. Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu. İstanbul-Türkiye 2003; 93–99.
29. World Health Organisation. WHO Guidelines for control hemoglobin disorders. Control of hereditary diseases. WHO. Geneva 1996; 94,1
30. Dover G, Platt O. Sickle cell disease. *Hematology of Infancy and Childhood*. Saunders Company, Philadelphia 2003; 790- 841.
31. Cavalli-Sforza LL, Menozzi P, Piazza A. The history and geography of human genes. New Jersey, USA: Princeton University Pres 1994;1088.
32. Wodell B, Darlison M. Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators. *Bull World Health Organ* 2008; 86: 480–87.

33. Lysenko AJ, Semashko IN. Geography of malaria. A medico-geographic profile of an ancient disease [in Russian]. Moscow, Russia: Academy of Science 1968; 25–146.
34. Hay SI, Guerra CA, Tatem AJ, et al. The global distribution and population at risk of malaria: past, present, and future. *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 327–36.
35. Arpacı A, Aksoy K, Dikmen N. Çukurova’da orak hücre anemisi ve talassemi taraması. XXII. Ulusal Hematoloji Kongresi, İstanbul 1991;115.
36. Gümrük F, Altay Ç. Orak hücre anemisi. *Katkı* 1995; 16: 327-345.
37. Kılınç Y, Akmanlar N, Kümi M ve ark. The incidences of and thalassemsias in cord blood of newborns from Çukurova Province. *Med Bull İstanbul Medical Faculty* 1992; 25: 9- 14.
38. Arcasoy A, Canatan D. Dünyada ve Türkiye’de talasemi ve hemoglobinopatiler. *Ulusal Hemoglobinopati Konseyi-Sağlık Bakanlığı, 2. baskı. Antalya-Türkiye* 2003;11-19. 66
39. Canatan D, Kose MR, Ustundag M, et al. Hemoglobinopathy Control Program in Turkey. *Community Genet* 2006; 9:124-126.
40. Eraslan S. Beta Talaseminin Moleküler Tanısı. *Düzen Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi, Ankara-Türkiye* 2005.
41. Eaton WA, Hofrichter J. Sick cell hemoglobin polymerization. *Adv Protein Chem* 1990; 40:63-279
42. Wang W, Lukens JN. Sick cell anemia and other sickling syndromes. *Wintrobe’s Clinical Hematology. 10th Ed, Middle East Edition, Baltimore: Williams and Wilkins Company* 1999;1347–1397.
43. Ballas SK. Sick Cell Anaemia, Progress in Pathogenesis and Treatment. *Drugs*, 2002; 62:1143–1172.
44. Mary EE. Hereditary Hemolytic Anemias North Carolina: McGraw Hill Companies Inc 2000; 1382–1387.
45. Schechter AN. Hemoglobin research and the origins of molecular medicine. *Blood* 2008;112: 3927-3938.

46. Beutler E. Disorders of Hemoglobin. Harrison's Principles of Internal Medicine. 14th Ed, vol USA: McGraw Hill Companies Inc 1998; 645–653.
47. Claster S, Vichinsky EP. Managing sickle cell disease. BMJ, 2003; 327:1151-1155
48. Stapczynski JS, Martin GA. Hematologic Emergencies. In: Stone CK, Humphries RL Eds. Current Emergency&Treatment. 5th Ed, USA: McGraw Hill Companies Inc 2004; 788-823.
49. Milbauer LC, Wei P, Enestein J. Genetic endothelial System biology of sickle stroke risk. Blood 2008; 111: 3872- 3879.
50. Verduzco LA, Nathan DG. Sickle cell disease and stroke. Blood 2009; 114:5117- 5125.
51. Pegelow CH, Macklin EA, Moser FG, et al. Longitudinal changes in brain magnetic resonance imaging findings in children with sickle cell disease. Blood 2002; 15:3014- 318.
52. Adams RJ. Lessons from the Stroke Prevention Trial in sickle cell anemia J Child Neurol 2000; 15, 5.
53. Adams RJ, McKie VC, Brambilla D. Stroke Prevention Trial in Sickle Cell Anemia. Controlled Clinical Trials 1997; 1:110–129.
54. Platt OS, Brambilla DJ, Rosse WF, et al. Mortality In Sickle Cell Disease-Life Expecancy and Risk Factors for Early Death. N EnglJ Med 1994; 9:1639- 1644.
55. Kirkham FJ . Therapy Insight: stroke risk and its management in patients with sickle cell disease. Nature Clinical Practise Neurology 2007; 3: 264-268.
56. Dowling NM, Quinn CT, Rogers ZR. Acute Silent Cerebral Infarction in Children with Sickle Cell Anemia. Pediatr Blood Cancer 2010; 54:461–464.
57. Ciurea SO, Thulborn KR, Gowhari M. Dural Venous Sinus Thrombosis in a Patient With Sickle Cell Disease: Case Report and Literature Review. Am J Hematol. 2006; 81:290–293.
58. Platt O. Prevention and management of stroke in sickle cell anemia. American Society of Hematology, Education Program book 2006; 12:54-62

59. Frempong KO, Weiner J, Sleeper LA. Cerebrovascular Accidents in Sickle Cell Disease: Rates and Risk Factors. *Blood* 1998; 91: 288–294.
60. Türk Hematoloji Derneği. Orak Hücre Anemisi Tanı Tedavi Kılavuzu 2011
61. Needleman JP, Benjamin LJ, Sykes JA. Breathing Patterns During Vaso-occlusive Crisis of Sickle Cell Disease. *Chest* 2002; 122:43-46.
62. Emere U, Miller ST, Rao SP, et al. Alveolar-arteriel oxygen gradient in acute chest syndrome of sickle cell disease. *J. Pediatr* 1993; 123:272-275.
63. Piomelli S, Seamen C, Ackerman K. Planning an Exchange transfusion in patients with sickle cell syndromes. *Am J Pediatr Hematology-Onkology*. 1990; 12: 268.
64. Switzer JA, Hess DC, Nichols FT. Pathophysiology and treatment of stroke in sickle cell disease : prezent and future. *Lancet Neurol* 2006; 5:501-512
65. Harmatz P, Butensky E, Quirolo K et al. Severity of iron overload in patients with sickle cell disease receiving chronic red blood cell transfusion therapy. *Blood* 2000; 96:76-79
66. Vermylen C, Cornu G. Bone marrow transplantation for sickle cell disease: The European experience. *Am J Pediatr Hematology Oncol* 1994; 16: 18.
67. Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease, *Lancet* 2010; 376: 2018–31
68. Redding-Lallinger R, Knoll C. Sickle cell disease pathophysiologyand treatment. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 2006; 36:346–376
69. Platt O.S. Sickle cell anemia as an inflammatory disease. *J Clininvest* 2000; 106:337–338.
70. Steinberg MH, Mohandas N. Laboratory values. In: *Sickle Cell Disease: Basic Principles and Clinical Practice* New York: Raven 1994; 469–484.

71. Boggs DR, Hyde F, Srodes C. An unusual pattern of neutrophil kinetics in sickle cell anemia. *Blood* 1973; 41:59–65.
72. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999; 340:448–454.
73. Granger DN, Korthuis RJ. Physiologic mechanisms of postischemic tissue injury. *Annu Rev Physiol* 1995; 311–332.
74. Grisham MB, Granger DN, Lefer DJ. Modulation of leukocyte-endothelial interactions by reactive metabolites of oxygen and nitrogen: Relevance to ischemic heart disease. *Free Radic Biol Med* 1998; 25:404–433.
75. De Caterina R, Libby P, Peng HB, et al. Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J Clin Invest* 1995; 96:60–68
76. Kaul DK, Hebbel RP. Hypoxia/reoxygenation causes inflammatory response in transgenic sickle mice but not in normal mice. *J Clin Invest* 2000; 106:411–420.
77. Hillery CA, Panepinto JA. Pathophysiology of stroke in sickle cell disease. *Microcirculation* 2004; 11:195–208.
78. Prengler M, Pavlakis SG, Prohovnik I, et al. Sickle cell disease: the neurological complications. *Ann Neurol* 2002; 51:543–552
79. Koshy M, Thomas C, Goodwin J. Vascular lesions in the central nervous system in sickle cell disease (neuropathology). *J Assoc Acad Minority Phys* 1990; 1:71–78.
80. Rothman SM, Fulling KH, Nelson JS. Sickle cell anemia and central nervous system infarction: Neuropathological study. *Ann Neurol* 1986; 20:684–690.
81. Solovey A, Gui L, Ramakrishnan S, et al. Sickle cell anemia as a possible state of enhanced anti-apoptotic tone: survival effect of vascular endothelial growth factor on circulating and unanchored endothelial cells. *Blood* 1999; 93:3824–3830.
82. Perelman N, Selvaraj SK, Batra S, et al. Placenta growth factor activates monocytes and correlates with sickle cell disease severity. *Blood* 2003; 102:1506–1514.



83. Ribatti D, Presta M, Vacca A, et al. Human erythropoietin induces a pro-angiogenic phenotyp in cultured endothelial cells and stimulates neovascularization in vivo. *Blood* 1999; 93:2627–2636.
84. Preissner KT, Nawroth PP, Kanse SM. Vascular protease receptors: Integrating haemostasis and endothelial cell functions. *J Pathol* 2000; 190:360–372
85. Silverstein RL. The vascular endothelium. In: *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates* (Jl Gallin and R Snyderman, Eds. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins 1999; 207–225.
86. Kurantsin-Mills J, Ofosu FA, Safa TK, et al. Plasma factor VII and thrombinantithrombin III levels indicate increased tissue factor activity in sickle cell patients. *Br J Haematol* 1992; 81:539–544.
87. Tomer A, Harker LA, Kasey S, et al. Thrombogenesis in sickle cell disease. *J Lab Clin Med* 2001; 137:398–407
88. Nath KA, Katusic ZS, Gladwin MT. The perfusion paradox and vascular instability in sickle cell disease. *Microcirculation* 2004; 11:179–193.
89. De Caterina R, Libby P, Peng H-B, et al. Nitric oxide decreases cytokine-induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduce endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J Clin Invest* 1995; 96:60–68
90. Fiorucci S, Mencarelli A, Meneguzzi A, et al. NCX-4016 (NO-aspirin) inhibits lipopolysaccharide-induced tissue factor expression in vivo: role of nitric oxide. *Circulation* 2002;106:3120–3125.
91. Aslan M, Ryan TM, Adler B, et al. Oxygen radical inhibition of nitric oxidedependent vascular function in sickle cell disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98:15215–15220
92. Landmesser U, Dikalov S, Price SR, et al. Oxidation of tetrahydrobiopterin leads to uncoupling of endothelial cell nitric oxide synthase in hypertension. *J Clin Invest* 2003; 111:1201–1209.

93. Belcher JD, Bryant CJ, Nguyen J, et al. Transgenic sickle mice have vascular inflammation, *Blood* 2003; 3953–3959
94. Hebbel RP, Yamada O, Moldow CF, et al. Abnormal adherence of sickle erythrocytes to cultured vascular endothelium. Possible mechanism for microvascular occlusion in sickle cell disease. *J Clin Invest* 1980; 65:154–160.
95. Hoover R, Rubin R, Wise G, et al. Adhesion of normal and sickle erythrocytes to endothelial monolayer cultures. *Blood* 1979; 54:872–877
96. Hebbel RP, Boogaerts MA, Eaton JW, et al. Erythrocyte adherence to endothelium in sickle-cell anemia. A possible determinant of disease severity. *N Engl J Med* 1980; 302:992-995
97. Brittain, Parise L.V. Cytokines and plasma factors in sickle cell disease. *Curr Opin Hematol* 2007; 14:438–443.
98. Bourantas KL, Dalekos GN, Makis A. Acute phase proteins and interleukins in steady state sickle cell disease. *Eur J Haematol* 1998; 61:49–54.
99. Belcher JD, Bryant CJ, Nguyen J. Transgenic sickle mice have vascular inflammation. *Blood* 2003; 101:3953–3959
100. Belcher JD, Marker PH, Weber JP. Activated monocytes in sickle cell disease: Potential role in the activation of vascular endothelium and vasoocclusion. *Blood* 2000; 96:2451–2459.
101. Roitt I, Brostoff J, Male D. *Immunology. International Edition: Mosby and WB Saunders.* 2001; 119-129.
102. Abbas KA, Lichtman AH, Pober JS. *Cellular and Molecular Immunology. USA:Saunders Company.* 2000; 235-269
103. Kılıçturgay K. *İmmünolojiye Giriş. 2.Basım. Bursa: Güneş Kitabevi,* 1991; 1-150.
104. Onat T, Emerk K, Sözmen E. *İnsan Biyokimyası.* 2002; 12:557-569
105. Makhatadze NJ. Tumor necrosis factor locus: genetic organization and biological implications. *Human Immunology* 1998; 59:571-579.

106. Oppenheim JJ, Ruscetti FW. Cytokines. Medical Immunology. 10 .baski.International Edition: Mc Graw-Hill Companies. 2001; 148-166
107. Szekanecz Z, Koch AE, Kunkel SL. Cytokines in rheumatoid arthritis:Potential targets for pharmacological intervention. Drugs and Aging 1998; 12:377-399.
108. Savarin C, Ransohoff R. Chemokines and chemokine receptors in neurological disease:Raise, retain or reduce? The Joournal of the American Society for Experimental Neurotherapeutics 2007;4:590-601
109. Bajetto A, Bonavia R, Barbero S, et al. Chemokines and their receptors in the central nervous system. Frontiers in Neuroendocrinology 2001;22:147-184
110. Bazan JF, Bacon KB, Hardiman G, et al. A new class of membrane-bound chemokine with a CX3C motif. Nature 1997; 385:640– 644.
111. Pan Y, Liloyd C, Zhou H, et al. Neurotactin, a membrane-anchored chemokine upregulated in brain inflammation. Nature 1997; 387:611– 617.
112. Imai T, Hieshima K, Haskell C, et al. Identification and molecular characterization of fractalkine receptor CX3CR1, which mediates both leukocyte migration and adhesion. Cell 1997; 91:521–530.
113. Garton KJ, Gough PJ, Blobel CP, et al. Tumor necrosis factor-converting enzyme (ADAM17) mediates the cleavage and shedding of fractalkine (CX3CL1). J Biol Chem 2001; 276:37993–38001.
114. Tsou CL, Haskell CA, Charo IF. Timor necrosis factor-converting enzyme mediates the inducible cleavage of fractalkine. J Biol Chem 2001; 276:44622– 44626
115. Goda S, Imai T, Yoshie O, et al. CX3C-chemokine, fractalkine enhanced adhesion of THP-1 cells to endothelial cells through integrin dependent and independent mechanisms. J Immunol 2000; 164: 4313– 4320.

116. Kunkel EJ, Butcher E. Chemokines and the tissue-specific migration of lymphocytes. *Immunity* 2002; 16:1– 4.
117. Umehara H, Bloom ET, Okazaki T, et al. Fractalkine and vascular injury. *Trends Immunol* 2001; 22:602– 607.
118. Gerard C, Rollins BJ. Chemokine and disease. *Nat Immunol* 2001; 2:108– 115
119. Seaman WE. Natural killer cells and natural killer T cells. *Arthritis Rheum* 2000; 43:1204– 1217.
120. Yoneda O, Imai T, Inoue H, et al. Membrane bound form of fractalkine induces IFN- production by NK cells: a role for Th1 response. *Eur J Immunol* 2003; 33:53–58.
121. Alexander WR. Cytokine receptor CX3CR-1 and fractalkine: new factors in the atherosclerosis drama? *Circ Res* 2001; 89:376–377
122. Cybulsky MI, Hegele RA. The fractalkine receptor CX3CR1 is a key mediator of atherogenesis. *J Clin Invest* 2003; 111:1118– 1120.
123. Greaves DR, Hakkeinen T, Lucas AD, et al. Linked chromosome 16q13 chemokines, macrophage-derive chemokine, fractalkine, and thymus -and activation- regulated chemokine, are expressed in human atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21:923–929.
124. Wong BWC, Wong D, McManus BM. Characterization of fractalkine (CX3CL1) and CX3CR1 in human coronary arteries with native atherosclerosis, diabetes mellitus, and transplant vascular disease. *Cardiovasc Pathol* 2002;11:332–338.
125. Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis: the road ahead. *Cell* 2001; 104: 503–516.
126. Nelson PJ, Krensky AM. Chemokines, chemokine receptors, and allograft rejection. *Immunity* 2001;14:377–386
127. Robinson LA, Nataraj C, Thomas DW, et al. A role for fractalkine and its receptor. (CX3CR1) in cardiac allograft rejection. *J Immunol* 2000; 165:6067–6072.
128. Chen S, Bacon KB, Li L, et al. In vivo inhibition of CC and

CX3C chemokine-induced leukocyte infiltration and attenuation of glomerulonephritis in Wistar-Kyoto (WKY) rats by vMIP-II. *J Exp Med* 1998; 188:193–198.

129. Furuichi K, Wada T, Iwata Y, et al. Upregulation of fractalkine in human crescentic glomerulonephritis. *Nephron* 2000; 87:314–320.
130. Chakravorty SJ, Cockwell P, Girdlestone J, et al. Fractalkine expression on human renal tubular epithelial cells: potential role in mononuclear cell adhesion. *Clin Exp Immunol* 2002; 129: 150– 159.
131. McComb JG, Ranganathan M, Liu XH, et al. CX3CL1 up-regulation is associated with recruitment of CX3CR1+ mononuclear phagocytes and T lymphocytes in the lungs during cigarette smoke-induced emphysema. *Am J Pathol* 2008; 173: 949-961.
132. Alber SM, Di YP, Otterbein SL, et al. Comprehensive gene expression profiles reveal pathways related to the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 14895-14900
133. Balabanian K, Foussat A, Dorfmueller P, et al. CX(3)C chemokine fractalkine in pulmonary arterial hypertension. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 165: 1419-1425.
134. Imaizumi T, Matsumiya T, Fujimoto K, et al. Interferon-gamma stimulates the expression of CX3CL1/fractalkine in cultured human endothelial cells. *Tohoku J Exp Med* 2000; 192: 127-139.
135. Moatti D, Vele O, Nemerson Y. Induction of fractalkine by endothelial cells under shear stress. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2004; 15:197.
136. Ballas SK. The sickle cell painful crisis in adults: phases and objective signs. *Hemoglobin* 1995; 19:323-333.
137. Ballas SK, Mohandas N. Pathophysiology of vaso-occlusion. *Hematol Oncol Clin North Am* 1996; 10:1221-1239.
138. Duits AJ, Schnog JB, Lard L. Elevated IL-8 levels during sickle cell crisis. *Eur J Haematol* 1998; 61:302-305.

139. Bolanle OP, Geoffrey CO, Joseph OH, et al. Pattern of serum cytokine expression and T-cell subsets in sickle cell disease patients in vaso-occlusive crisis. *Clin Vaccine Immunol* 2010;17: 602–608.
140. Singhal A, Doherty IF, Raynes IG, et al. Is there an acute-phase response in steady-state sickle cell disease? *Lancet* 1993; 341:651–653.
141. Monnet D, Diallo I, Sangare A, et al. Clinical value of C-reactive protein, alpha 1-glycoprotein acid and transferrin assay in homozygous sickle cell disease. *Bull Soc Pathol Exot* 1993; 86:282–285
142. Moore C, Ehlayel M, Inostroza J, et al. Increased circulating levels of soluble HLA class I heterodimers in patients with sickle cell disease. *J Natl Med Assoc* 1998; 90:157–163
143. Pathare A, Kindi SA, Alnaqdy A, et al. Cytokine profile of sickle cell disease in Oman. *Am J Hematol* 2004; 77: 323-328.
144. Michaels LA, Frempong KO, Zhao H, et al. Serum levels of Substance P are elevated in patients with sickle cell disease and increase further during vaso-occlusive crisis. *Blood* 1998; 92: 3148
145. Lanaro C, Franco-Penteado CF, Albuquerque DM, et al. Altered levels of cytokines and inflammatory mediators in plasma and leukocytes of sickle cell anemia patients and effects of hydroxyurea therapy *J Leukoc Biol* 2009; 85:235-242
146. Okamoto H, Hoshi D, Kiire A, et al. Molecular targets of rheumatoid arthritis *Inflamm. Allergy Drug Targets* 2008; 7:53-66
147. Marcal LE, Dias-da-Motta PM, Rehder J, et al. Up-regulation of NADPH oxidase components and increased production of interferon- $\gamma$  by leukocytes from sickle cell disease patients *Am J Hematol* 2008; 83:41-45
148. Schroecksadel K, Frick B, Winkler C, et al. Crucial role of interferon- $\gamma$  and stimulated macrophages in cardiovascular disease *Curr Vasc Pharmacol* 2006; 4:205-213

149. Conran N, Almeida C, Lanaro C, et al. Inhibition of caspase-dependent spontaneous apoptosis via a cAMP-protein kinase A dependent pathway in neutrophils from sickle cell disease patients *Br J Haematol* 2007; 139:148-158
150. Clark I A. How TNF was recognized as a key mechanism of disease *Cytokine Growth Factor Rev* 2007; 18:335-343
151. Raghu pathy R, Haider MZ, Azizieh F, et al. Tumor necrosis factor- $\alpha$  is Undetectable in the plasma of SS patients with elevated HbF. *Am J Hematol* 2000; 64:91–94.
152. Xiaomei Niu, Mehdi Nouraie, Andrew Campbell, et al. Angogenic and inflammatory markers of cardiopulmonary changes in children and adolescents sickle cell disease *PLoS One* 2009; 4: 7956.
153. Yajima N, Kasama T, Isozaki T, et al. Elevated levels of soluble fractalkine in active systemic lupus erythematosus: Potential involvement in neuropsychiatric manifestations. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 1670-5.
154. Blashke S, Koziolk M, Schwarz A, et al. Proinflammatory role of fractalkine (CX3CL1) in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30:1918-27
155. Odai T, Matsunowa M, Takahashi R, et al. Correlation of CX3CL1 and CX3CR1 levels with response to infliximab therapy in patients with rheumatoid arthritis . *J Rheumatol* 2009; 36:1158-65.
156. Perros F, Dorfmueller P, Souza R, et al. Fractalkine induced smooth muscle proliferation in pulmonary hypertension. *Eur Respir J* 2007; 29:937–43
157. Blashke S, Koziolk M, Schwarz A, et al. Proinflammatory role of fractalkine in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2003; 30:1918-27
158. Sallustro F, et al. The role of chemokine receptors in primary, effector and memory immune responses. *Annu Rev Immunol* 2000; 18: 593–620

- 159.** Matsunowa M, Isozaki T, Odai T, et al. Increased Serum levels of soluble fractalkine correlate with disease activity In rheumatoid vasculitis. *Arthritis Rheum* 2006; 46:1422-7
- 160.** Dimberg J, Dienus O, Lalfgren S, et al. Polymorphism of Fractalkine receptor CX3CR1 and plasma levels of its ligand CX3CL1 in colorectal cancer patients. *Int J Colorectal Dis* 2007; 22:1195-200
- 161.** Anne-Cécile R, Stephen JT, Gilles G, et al. The CX<sub>3</sub>C chemokine fractalkine in allergic asthma and rhinitis. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2003; 112: 1139-1146
- 162.** Niessner A, Marculescu R, Kvakan H, Haschemi A, et al. Fractalkine receptor polymorphism V249I and T280M as genetic risk factors of restenosis *Thromb Haemost*. 2005;94:1251-1256
- 163.** Sukkar MB, Issa R, Xie S, et al. Fractalkine/CX3CL1 production by human airway smooth muscle cells: induction by IFN-gamma and TNF-alpha and regulation by TGF-beta and corticosteroids. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 287:230–40.
- 164.** Umehara H, Tanaka M, Sawaki T et al. Fractalkine in rheumatoid arthritis and allied conditions. *Mod Rheumatol* 2006; 16: 124-130



## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

<b>ABD</b>	: Amerika Birleşik Devletleri
<b>AGS</b>	: Akut Göğüs Sendromu
<b>α</b>	: Alfa
<b>ATP</b>	: Adenozin Trifosfat
<b>β</b>	: Beta
<b>CC</b>	: Cysteine- Cysteine
<b>DSÖ</b>	: Dünya Sağlık Örgütü
<b>cDNA</b>	: Komplementer Deoksiribonükleik Asit
<b>CH</b>	: Crohn Hastalığı
<b>CRP</b>	: C-reaktif protein
<b>CXC</b>	: Cysteine-X amino acid-Cysteine
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>Fkn</b>	: Fraktalkin
<b>γ</b>	: Gamma
<b>GAG</b>	: Guanin-Adenin-Guanin (Adenin)
<b>G6PD</b>	: Glikoz-6-fosfat dehidrogenaz
<b>G-CSF</b>	: Granülosit Koloni Stimulan Faktör
<b>GDO</b>	: Geri Dönüşsüz Orak Hücre
<b>GTG</b>	: Guanin-Timin-Guanin (Timin)
<b>H<sup>+</sup></b>	: Hidrojen iyonu
<b>Hb</b>	: Hemoglobin
<b>HbA</b>	: Erişkin hemoglobin
<b>HbF</b>	: Fetal hemoglobin
<b>H. influenzae</b>	: Haemophilus Influenzae
<b>HLA</b>	: Human Leukocyte Antigen; Doku uygunluk antijeni
<b>ICAM</b>	: İntersellüler Adezyon Molekülü
<b>IL</b>	: İnterlökin
<b>IFN</b>	: İnterferon
<b>İB</b>	: İndirek Bilirubin
<b>iV</b>	: İntravenöz
<b>İM</b>	: İntramuskuler
<b>K.pneumoniae</b>	: Klebsiella pneumoniae
<b>KOAH</b>	:Kronik obstrüktif akciğer hastalığı
<b>LDH</b>	: Laktat Dehidrogenaz
<b>LPS</b>	: Lipopolisakkarit
<b>MCHC</b>	: Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration; Ortalama eritrosit hemoglobin derişimi
<b>MRG</b>	: Manyetik Rezonans Görüntüleme
<b>mRNA</b>	: Mesajcı Ribonükleik Asit
<b>NK</b>	: Natural Killer
<b>NO</b>	: Nitrik Oksit
<b>OHH</b>	: Orak Hücre Hastalığı
<b>OHKAH</b>	: Orak Hücre Kronik Akciğer Hastalığı
<b>O<sub>2</sub></b>	: Oksijen molekülü
<b>PAH</b>	: Pulmoner Arter Hipertansiyonu
<b>PBS</b>	: Fosfat buffer salin
<b>PDGF</b>	: Platelet Derived Growth Factor.

<b>RA</b>	: Romatoid Artrit
<b>RNA</b>	: Ribonükleik Asit
<b>RT-PCR</b>	: Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu
<b>sFkn</b>	: Serum fraktalkin düzeyi
<b>SLE</b>	: Sistemik Lupus Eritematozis
<b>S. pneumoniae</b>	: Streptococcus pneumoniae
<b>TH</b>	: T- Helper (Yardımcı hücre)
<b>TKDU</b>	: Transkranyal Doppler Ultrason
<b>TNF</b>	: Tümör Nekrotizan Faktör
<b>USG</b>	: Ultrasonografi
<b>VCAM</b>	: Vasküler Hücre Adezyon Molekülü

## TABLolar DİZİNİ

<b>Tablo No</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1.</b> Normal ve OHH hemoglobin tiplerinin karşılaştırılması.....	17
<b>Tablo 2.</b> Ateşi olan OHH'lı hastalarda hastaneye yatış önerileri.....	28
<b>Tablo 3.</b> OHH'lı hastalarda kan nakli önerileri.....	29
<b>Tablo 4.</b> Narkotik olmayan ağrı kesiciler.....	31
<b>Tablo 5.</b> Zayıf narkotik ağrı kesiciler.....	31
<b>Tablo 6.</b> Kuvvetli narkotik ağrı kesiciler.....	31
<b>Tablo 7.</b> Hidroksiüre tedavisi başlama önerileri.....	34
<b>Tablo 8.</b> Hasta grupların demografik ve klinik özellikleri .....	61
<b>Tablo 9.</b> Damar tıkaçıcı krizi olan ve olmayan OHH hastaları ile kontrol grubunun lökosit, CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn serum düzeyi ve Fkn gen ifadesi değerlerinin karşılaştırılması.....	63
<b>Tablo 10.</b> CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn serum ve Fkn gen ifadesi değerleri ile damar tıkaçıcı kriz sıklığının karşılaştırılması.....	65
<b>Tablo 11.</b> CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn serum ve Fkn gen ifadesi değerleri ile splenektomi durumunun karşılaştırılması.....	66
<b>Tablo12.</b> CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn serum ve Fkn gen ifadesi değerlerinin şelasyon tedavisi açısından karşılaştırılması.....	67
<b>Tablo 13.</b> CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn serum düzeyi ve Fkn gen ifadesi ile hidroksiüre tedavisi alım durumunun değerlendiril.....	68
<b>Tablo 14.</b> CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn serum düzeyi ve Fkn gen ifadesi ile kronik kan değişim uygulanım durumunun karşılaştırılması .....	69
<b>Tablo 15.</b> CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn serum düzeyi ve Fkn gen ifadesi ile inme atağı durumunun karşılaştırması.....	70
<b>Tablo 16.</b> CRP, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , Fkn serum düzeyi ve Fkn gen ifadesi ile AGS durumunun karşılaştırması .....	71

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil No</b>	<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil 1.</b> HbS ve sıtmanın dünyadaki dağılımı.....	13
<b>Şekil 2.</b> HbS'nin Polimer Yapısı.....	14
<b>Şekil 3.</b> OHH'da Eritrositlerin Elektron Mikroskopik Görünümü.....	15
<b>Şekil 4.</b> OHH'nın Fiziopatolojisi.....	16
<b>Şekil 5.</b> Hemoglobinin üç boyutlu gösterimi.....	18
<b>Şekil6.</b> OHH'da periferik kan yayması.....	26
<b>Şekil 7.</b> Nörolojik Bulgusu Olmayan OHH'da Akut Santral Sinir Sistemi Olaylarına Yaklaşım .....	32
<b>Şekil 8.</b> Nörolojik Bulgusu Olan OHH'da Akut Santral Sinir Sistemi Olaylarına Yaklaşım .....	33
<b>Şekil 9.</b> OHH'nın Patofizyolojisi .....	36
<b>Şekil 10.</b> Fraktalkin'in yapısı .....	44
<b>Şekil 11.</b> Klasik ve Fkn -ilişkili Adezyon Yolların Şematik Modelleri.....	45
<b>Şekil 12.</b> Fraktalkin'in Biyolojik Fonksiyonları.....	47
<b>Şekil 13.</b> İnsan fraktalkin konsantrasyonu (ng/ml) .....	58
<b>Şekil 14.</b> Damar tıkaçıcı krizi olan ve olmayan OHH hastaları ile kontrol grubunun sFkn değerleri açısından karşılaştırılması.....	64
<b>Şekil 15.</b> Damar tıkaçıcı krizi olan ve olmayan OHH hastaları ile kontrol grubunun sFkn gen ifadesi değerleri açısından karşılaştırılması.....	64

## ÖZGEÇMİŞ

**Adı Soyadı** : Özlem ÖZDEMİR  
**Doğum Tarihi –Yeri** : 20.12.1978- Antakya/HATAY  
**Medeni Durumu** : Bekar  
**Adres** : Bahçe Mah. Emek Apt. Kat.4  
No.13 MERSİN  
**Telefon** : (0324)3374300 -1652\ 0 505 268 5736  
**E-posta** : drozlem2002@hotmail.com  
**Mezun Olduğu Tıp Fakültesi** : Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi  
**Görev Yerleri** : Yayladere MSO-BİNGÖL  
: Kumlu MSO-HATAY  
**Yabancı Dil** : İngilizce

EK-1

ORAK HÜCRE HASTALIKLI HASTA DEĞERLENDİRME FORMU

ÇALIŞMA SIRA NO :	TARİH :
HASTA PROTOKOL NO :	TİPİ : SS SB

ADI SOYADI :	DOĞUM YERİ:
CİNSİYETİ :	DOĞUM TARİHİ:
BOY :	KİLO :
TANI YAŞI :	
ADRES	TELEFON Ev Cep

HEMATOLOJİK ÖLÇÜMLER

Hb	TNF ALFA
Htc	İFN GAMMA
CRP	FRAKTALKİN
BEYAZ KÜRE DÜZEYİ:	HEMOGLOBİN ELEKTROFOREZİ
TROMBOSİT:	

HASTALIK KRİZ İZLEMİ

KRİZ TİPİ	TOPLAM
SEKESTRASYON	
AKUT GÖĞÜS SENDROMU	
İNME	

SON 1 YILDAKİ TRANSFÜZYON SIKLIĞI		
SON 1 YILDAKİ AĞRILI KRİZ SIKLIĞI		
KAN DEĞİŞİMİ PROGRAMI	VAR : YOK:	NEDENİ: SÜRE :
KULLANDIĞI İLAÇLAR		DOZ:
FİZİK MUAYENE		

KONTROL GRUBU DEĞERLENDİRME FORMU
-----------------------------------

ADI- SOYADI	
TARİH:	
ÇALIŞMA SIRA NO	
HASTA NO	
DOĞUM TARİHİ	
DOĞUM YERİ	
TELEFON	

BOY	
KİLO	
HASTALIK ÖYKÜSÜ	ANEMİ VAR YOK ENFEKSİYON VAR YOK MENTAL RETARDASYON VAR YOK DİĞER: