



**T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**HOMOZİGOT HBSS ERİŞKİN ORAK HÜCRE ANEMİLİ  
HASTALARDA SERUM PEDF DÜZEYLERİ İLE HSCR  
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Rana YÜKSEL  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Yrd. Doç. Dr. Sedat MOTOR**

**HATAY-2014**

**T.C.  
MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ**

**HOMOZİGOT HBSS ERİŞKİN ORAK HÜCRE ANEMİLİ  
HASTALARDA SERUM PEDF DÜZEYLERİ İLE HSCR  
ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ**

**UZMANLIK TEZİ**

**Dr. Rana YÜKSEL  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**TEZ DANIŞMANI  
Yrd. Doç. Dr. Sedat MOTOR**

**Bu tez, Mustafa Kemal Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 1307U0101 (10140) proje numarası ile desteklenmiştir.**

## TEZ ONAY SAYFASI

T.C.

MUSTAFA KEMAL ÜNİVERSİTESİ  
TAYFUR ATA SÖKMEN TIP FAKÜLTESİ  
TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI

### HOMOZİGOT HBSS ERİŞKİN ORAK HÜCRE ANEMİLİ HASTALARDA SERUM PEDF DÜZEYLERİ İLE HSCR ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İNCELENMESİ

Dr. Rana YÜKSEL

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

.....  
Prof. Dr. Ömer Faruk KÖKOĞLU  
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

.....  
Doç. Dr. Zafer YÖNDEN  
AnaBilim Dalı Başkanı

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

.....  
Yrd. Doç. Dr. Sedat MOTOR  
Tez Danışmanı

#### TEZ JÜRİSİ

1. Doç. Dr. Zafer YÖNDEN .....
2. Yrd. Doç. Dr. Sedat MOTOR .....
3. Yrd. Doç. Dr. Oğuzhan ÖZCAN .....

# I. İÇİNDEKİLER

|   |     |
|---|-----|
| I. İÇİNDEKİLER .....  | İİİ |
| II. TABLO LİSTESİ.....  | V   |
| III. ŞEKİL LİSTESİ.....   | VI  |
| IV. KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ .....                                 | Vİİ |
| V. TEŞEKKÜR.....  | İX  |
| VI. ÖZET.....   | X   |
| VII. ABSTRACT.....  | Xİ  |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ.....   | 1   |
| 2. GENEL BİLGİLER .....   | 3   |
| 2.1 ORAK HÜCRE ANEMİSİ .....  | 3   |
| 2.2 GENETİK .....   | 7   |
| 2.3 ORAK HÜCRE ANEMİSİNİN DAĞILIMI (PREVALANS) .....                      | 8   |
| 2.4 ORAK HÜCRE HASTALIĞININ SINIFLANDIRILMASI .....                       | 10  |
| 2.5 PATOFİZYOLOJİ .....   | 12  |
| 2.5.1 <i>HbS Polimerizasyonu</i> .....                                    | 13  |
| 2.5.2 <i>OHA'nin Fizyopatolojisinde Rol Alan Temel Mekanizmalar</i> ..... | 15  |
| 2.6 KLİNİK BULGULAR.....  | 24  |
| 2.6.1 <i>Hematolojik bulgular</i> .....                                   | 26  |
| 2.6.2 <i>Hematolojik Olmayan Bulgular</i> .....                           | 28  |
| 2.6.3 <i>Tanı ve Tarama</i> .....   | 34  |
| 2.6.4 <i>Laboratuvar Bulguları</i> .....                                  | 35  |
| 2.6.5 <i>Tedavi</i> .....   | 36  |
| 2.7 ORAK HÜCRE ANEMİSİ VE İNFLAMASYON.....                                | 37  |
| 2.8 C-REAKTİF PROTEİN VE YÜKSEK DUYARLIKLILIK CRP ( hSCRp) .....          | 44  |
| 2.8.1 <i>CRP'nin Yapısı ve Bağlanma Özelliği:</i> .....                   | 44  |

|        |  |    |
|--------|--|----|
| 2.8.2  | <i>CRP'nin Fonksiyonları ve Biyolojik Özellikleri</i>          | 46 |
| 2.8.3  | <i>Yüksek Duyarlılıkl CRP (hsCRP)</i>                          | 49 |
| 2.9    | <b>PİGMENT EPİTELYUM DERİVED FAKTÖR (PEDF)</b>                 | 52 |
| 2.9.1  | <i>PEDF'ün Biyokimyasal Özellikleri</i>                        | 53 |
| 2.9.2  | <i>PEDF'ün Antianjiogenik Özellikleri</i>                      | 54 |
| 2.9.3  | <i>PEDF'ün Antitümör Özelliği</i>                              | 55 |
| 2.9.4  | <i>PEDF'ün Antioksidatif Özellikleri</i>                       | 55 |
| 2.9.5  | <i>PEDF'ün Anti-inflamatuar Özelliği</i>                       | 56 |
| 2.9.6  | <i>PEDF'ün Proinflamatuvar Özelliği</i>                        | 57 |
| 2.9.7  | <i>PEDF'ün Nöroprotektif Özelliği ve Apoptozisle İlişkisi</i>  | 58 |
| 2.9.8  | <i>PEDF'ün Adipokin Özelliği</i>                               | 59 |
| 2.9.9  | <i>PEDF'ün Genel Özellikleri ve Diyabetle İlişkisi</i>         | 60 |
| 2.9.10 | <i>PEDF'ün Vasküler İnflamasyon ve Aterosklerozla İlişkisi</i> | 61 |
| 2.9.11 | <i>PEDF'ün Kardiyoprotektif Fonksiyonu</i>                     | 62 |
| 3.     | <b>GEREÇ VE YÖNTEM</b>   | 64 |
| 4.     | <b>BULGULAR</b>  | 66 |
| 5.     | <b>TARTIŞMA</b>  | 75 |
| 6.     | <b>SONUÇ VE ÖNERİLER</b>                                       | 82 |
| 7.     | <b>KAYNAKLAR</b>   | 83 |
| 8.     | <b>ÖZGEÇMİŞ</b>  | 96 |

## II. TABLO LİSTESİ

|  |    |
|--|----|
| Tablo 1: Embriyonik, fetal ve doğum sonrası sentezlenen normal hemoglobin tipleri .....                                  | 6  |
| Tablo 2: En sık görülen Hemoglobin S sendromlarının elektroforez sonuçları.....  | 7  |
| Tablo 3: Orak Hücre Hastalığının Çeşitli Tipleri .....   | 11 |
| Tablo 4: Orak hücre hastalığında yükselen, endotelial moleküller, inflamatuvar mediatörler ve akut faz reaktanları ..... | 39 |
| Tablo 5: Hasta ve kontrol grubunun demografik verilerine ait ortalamalar .....   | 66 |
| Tablo 6: Hasta ve kontrollere ait hsCRP ve PEDF verileri .....   | 69 |
| Tablo 7: Erkeklerde Hasta Grubu ve Kontrol Grubuna ait demografik veriler .....  | 71 |
| Tablo 8: Erkeklerde Hasta ve Kontrol Grubuna Ait hsCRP ve PEDF Verileri .....  | 72 |
| Tablo 9: Kadınlarda Hasta Grubu ve Kontrol Grubuna ait demografik veriler .....  | 73 |
| Tablo 10: Kadınlarda Hasta ve Kontrol Grubuna Ait hsCRP ve PEDF Verileri.....  | 74 |

### III. ŞEKİL LİSTESİ

|  |    |
|--|----|
| Şekil 1: Hemogloblin S'in aminoasit diziliminde baz değişimi .....   | 3  |
| Şekil 2: OHA'sine ait periferik yayma örneği .....   | 4  |
| Şekil 3: HbS ve Malaryanın küresel dağılımı .....  | 9  |
| Şekil 4: OHA'nin temel patofizyolojik mekanizması .....  | 13 |
| Şekil 5: Orak hücrelerde membran değişiklikleri .....  | 14 |
| Şekil 6: Orak Hücre Hastalığının Patofizyolojisi .....   | 15 |
| Şekil 7: Orak eritrositler ve endotel, subendotelyal matrix, plazma ligandları arasındaki adezyon etkileşimi ..... | 20 |
| Şekil 8: Stresle uyarılan orak hücrenin endotele adezyonu ve hücre aktivasyonu .....                               | 21 |
| Şekil 9: CRP'nin fosfokolinle kompleks oluşturması .....   | 45 |
| Şekil 10: CRP'nin yapısı ve bağlanma bölgeleri .....   | 46 |
| Şekil 11: OHA'si ve Kontrol grubunun cinsiyete göre dağılımı .....   | 67 |
| Şekil 12: OHA'si ve Kontrol grubunun yaşa göre dağılımı .....  | 67 |
| Şekil 13: OHA'si ve Kontrol grubunun ağırlığa göre dağılımı .....  | 68 |
| Şekil 14: OHA'si ve Kontrol grubunun boya göre dağılımı .....  | 68 |
| Şekil 15: OHA'si ve Kontrol grubunun BKİ göre dağılımı .....   | 69 |
| Şekil 16: hsCRP verilerinin dağılımı .....   | 70 |
| Şekil 17: PEDF verilerinin dağılımı .....  | 70 |
| Şekil 18: PEDF ve hsCRP arasındaki korelasyon .....  | 71 |

#### IV. KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

|                |  |
|----------------|--|
| $\alpha$       | Alfa   |
| $\beta$        | Beta   |
| $\delta$       | Delta  |
| $\epsilon$     | Epsilon                                      |
| $\zeta$        | Zeta   |
| $\gamma$       | Gamma  |
| AFP            | Akut Faz Protein                             |
| ATGL           | Adipoz Trigiliserid Lipaz                    |
| BKİ            | Beden Kitle İndeksi                          |
| cAMP           | Siklik Adenozin Monofosfat                   |
| COX            | Siklooksijenaz                               |
| CRP            | C Reaktif Protein                            |
| EDTA           | Etilen Diamin Tetraasetik Asit               |
| ET-1           | Endothelin-1                                 |
| Hb             | Hemoglobin                                   |
| HbA            | Erişkin Hemoglobin                           |
| HbF            | Fetal Hemoglobin                             |
| HbS            | Orak Hemoglobin                              |
| Hct            | Hematokrit                                   |
| HO-1           | Hem Oksijenaz-1                              |
| Hp             | Haptoglobin                                  |
| HJC            | Howell-Jolly Cisimciği                       |
| HT             | Hipertansiyon                                |
| hsCRP          | Yüksek Duyarlıklı CRP                        |
| iNOS           | İndüklenebilir NO Sentaz                     |
| ICAM-1         | İntersellüler Adezyon Molekülü-1             |
| IL-1           | Interlökin 1                                 |
| IL-6           | Interlökin 6                                 |
| IL-8           | Interlökin 8                                 |
| IL-10          | Interlökin 10                                |
| IL-12          | Interlökin 12                                |
| IL-18          | Interlökin 18                                |
| IFN- $\gamma$  | Interferon gama                              |
| KCC            | KCl Kotransportu                             |
| LDH            | Laktat Dehidrogenaz                          |
| LDL            | Düşük Dansiteli Lipoprotein                  |
| MCV            | Ortalama Eritrosit Hacmi                     |
| MCH            | Ortalama Eritrosit Hemoglobini               |
| MCHC           | Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu |
| MCP-1          | Monosit Kemoatraktan Protein-1               |
| NF- $\kappa$ B | Nüklear Faktör Kappa B                       |
| NIDDM          | İnsülin Bağımsız Diabetes Mellitus           |
| NO             | Nitrik Oksit                                 |
| OHA            | Orak Hücre Anemisi                           |



|          |                                   |
|----------|-----------------------------------|
| PDGF     | Platelet Derived Growth Faktör    |
| PEDF     | Pigment Epitelyum Derived Faktör  |
| PGE2     | Prostaglandin E2                  |
| PGE1     | Prostaglandin E1                  |
| PIGF     | Plasenta Growth Faktör            |
| RBC      | Eritrosit (Kırmızı Kan Hücresi)   |
| RDW      | Kırmızı Küre Dağılım Genişliği    |
| ROS      | Reaktif Oksijen Türleri           |
| TFPI     | Doku Faktörü Yolu İnhibitörü      |
| TNF-Alfa | Tümör Nekrozis Faktör Alfa        |
| VCAM- 1  | Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1 |
| VEGF     | Vasküler Endotelyal Growth Faktör |
| VLA-4    | Very-Late Activation-Antigen-4    |
| vWF      | von Willebrand Faktör             |
| WBC      | Beyaz Kan Hücreleri               |

## V. TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimim boyunca yetişmemde emeği geçen, başta bölüm başkanı saygıdeğer hocam Sayın Doç. Dr. Zafer YÖNDEN olmak üzere çok kıymetli hocalarım Prof. Dr. Ali Özcan'a, Yrd. Doç. Dr. Sedat MOTOR'a teşekkür ederim.

Seçilmesinden hazırlanışına kadar tezimin her aşamasında yardımlarını ve desteğini, asistanlığım boyunca da bilgi ve tecrübelerini esirgemeyen tez danışmanım ve saygıdeğer hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Sedat MOTOR'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, tez çalışmam sırasında yardımlarını, benden maddi-manevi desteklerini eksik etmeyen, sıkıntılı olduğum zamanlarda beni anlayışla, sabırla ve sevgiyle kucaklayan çok sevdiğim değerli eşime teşekkür ederim.

**Rana YÜKSEL**

**HATAY/2014**

## VI. ÖZET

### **Homozigot HbSS Erişkin Orak Hücre Anemili Hastalarda Serum PEDF Düzeyleri İle hsCRP Arasındaki İlişkinin İncelenmesi**

**Amaç:** Orak hücre anemisi (OHA) kronik inflamatuvar bir durum olup dünya çapındaki en yaygın, şiddetli monogenik hastalıklardan biridir. İnflamasyon, vasküler endotelyuma lökosit adezyonu ve izleyen endotel hasarı OHA'sinin patogenezinde rol almaktadır. OHA'sinde kronik inflamasyon ve intravasküler hemolizin bir sonucu olarak endotelde disfonksiyon gerçekleşir. Bu çalışmada, OHA'sinde Pigment Epithelium Derived Faktör (PEDF) seviyesi ile hsCRP gibi akut faz reaktanları arasındaki ilişkinin incelenmesi ve bu doğrultuda OHA'nın patofizyolojisinin aydınlatılması ve tedavisine katkı sağlanması amaçlanmıştır.

**Yöntem:** Çalışmaya Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi'ne 2013 yılında başvuran, 18 yaş üstü, stabil HbSS OHA'li hastalar (n=44) ve sağlıklı bireyler (n=44) dahil edildi. Tüm katılımcıların serum örneklerinde PEDF ve hsCRP düzeyleri ölçüldü.

**Bulgular:** OHA'li 44 hasta ve 44 sağlıklı kontrolün yaş, ağırlık, boy, BKİ ve bel çevresi ortalamaları birbirine benzerdi (  $p>0,05$ ). OHA'li 44 hastanın PEDF ortalamaları (  $9,1 \pm 3,8$ ) 35 kontrol hastalarının PEDF ortalamalarına göre (  $11,59 \pm 4,9$ ) anlamlı olarak daha düşüktü (  $p<0,05$ ). OHA'li 44 hastanın hsCRP seviyelerinin ortalamaları  $6,5 \pm 3,1$  44 kontrol hastalarının hsCRP seviyelerinin ortalamaları  $0,87 \pm 0,97$  idi ve OHA hastaların hsCRP seviyeleri kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksekti (  $p<0,0001$ ).

**Sonuçlar:** Orak hücre anemili hastalarda bir akut faz reaktanı olan hsCRP'nin yüksek; antianjiogenik, antioksidatif, antiinflamatuvar özelliklere sahip PEDF'nin düşük bulunması damar endotelinde gizli bir inflamatuvar yanıtı açan subklinik bir vazookluzyon varlığına işaret etmektedir. Ayrıca bu durum OHA'nın patofizyolojisinde PEDF ve hsCRP'nin subklinik inflamatuvar süreçle yakın ilişkili olduğunu göstermektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Orak Hücre Anemisi, Adipokin, PEDF, hsCRP

## VII. ABSTRACT

### **The Investigation Of Relationship Between Serum PEDF Level And hsCRP In Patient With Homozygous HbSS Sickle Cell Anemia**

**Aim:** Sickle Cell Anemia (SCA) is a chronic inflammatory disease and one of the most common and serious monogenetical disease in all over the world. Inflammation, leucocyte adesion on the vascular endothelial cell and following endothelial damage have a role in pathogenesis of SCA. As a result of chronic inflammation and intravascular hemolysis, endothelial disfunction occurs. In this experiment, the investigation of relationship between the level of Pigment Epithelium Derived Factor (PEDF) and acute phase reactants like hsCRP, in this way, lightening of the pathophysiology of SCA disease and contribution on SCA disease treatment were aimed.

**Method:** Older than 18 years old, steady state HbSS SCA patients (n= 44) who visited to Mustafa Kemal University Health Practice and Research Hospital in 2013 and healthy people (n=44) were included in this investigation. PEDF and hsCRP levels were measured in all participants' serum.

**Results:** The mean of age, weight, height, BMI and waist circumference measurements were similar between 44 SCA patients and 44 healthy controls ( $p>0,05$ ). The avarage PEDF serum levels of 44 SCA patiens ( $9,1\pm 3,8$ ) was statistically significant lower than 35 controls ( $11,59\pm 4,9$ ) ( $p<0,05$ ). The avarage hsCRP serum levels of 44 SCA patients was  $6,5\pm 3,1$ ; the avarage hsCRP serum levels of 44 controls was  $0,87\pm 0,97$ . The avarage levels of hsCRP in SCA patients' serum were statistically significant higher than controls ( $p<0,0001$ ).

**Conclusions:** The high serum level of hsCRP which is the acute phase reactant and the low serum level of PEDF which has antiangiogenetic, antioxidative, antiinflammatory characteristics show the existence of subclinical vasoocclusion which cause secret inflammatory response in vascular endothelial cells. Also these conditions show the close relationship between the PEDF, hsCRP and subclinical inflammatory process in pathophysiology of SCA.

**Keywords:** Sickle Cell Anemia, adipokine, PEDF, hsCRP

## 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Orak hücre anemisi otozomal resesif kalıtımla geçiş gösteren, birçok sistemi etkileyen kronik ve hemolitik tipte bir anemidir. En sık görülen ve prototip olarak kabul edilen hemoglobinopati,  $\beta$  globin zincirini kodlayan gende meydana gelen mutasyondan kaynaklanan kalıtsal bir hemoglobin yapı bozukluğudur (1). Dünya çapındaki en yaygın şiddetli monogenik hastalıklardan biridir (2). Hastalığın başlıca özellikleri, kronik hemolitik anemi, tekrarlayan ağrılı krizler, yaygın enfeksiyonlar, organ hasarına neden olan akut ve kronik komplikasyonlardır (3). Hemoglobin S (Hb S); beta globin zincirinin amino (-NH<sub>2</sub>) terminal ucunda altıncı pozisyonundaki asidik hidrofilik bir aminoasit olan glutamik asit yerine hidrofobik bir aminoasit olan valin aminoasidinin geçmesiyle oluşan anormal bir hemoglobindir (2). Hb S en sık olarak ekvator Afrika'sında ve Afrika kökenlilerde görülür. Türkiye, bazı Akdeniz ülkeleri (Sicilya, Güney İtalya ve Kuzey Yunanistan), Sudi Arabistan ve Hindistan' da orak hücre anemisinin sık görüldüğü bölgeler vardır. Oraklaşmış eritrositler küçük kapillerleri geçmek için gerekli şekil değiştirme yeteneğini kaybederler ve doku infarktlarına neden olabilirler. Oraklaşan eritrositler aynı zamanda endotel hücrelerine yapışarak tromboza zemin hazırlar. Tekrarlayan mikroinfarktlar oraklaşmayı ilerleten mikrovasküler yataklara sahip dokuları harap edebilir. Oksijensiz ortamda hemoglobin polimerize olarak bir araya toplanır. Polimerize olan hemoglobin hücre içinde kristalleşerek çöker. Mikro ve makrovasküler dolaşımda vazooklüzyon gelişimi sonucu dolaşım bozukluğu ve doku infarktına neden olurlar (4). Çalışmalar arttıkça vazooklüzyonunun oraklaşmış eritrositler, lokositler, endotelial hücreler, trombositler ve plazma proteinleri gibi farklı hücrelerin arasındaki etkileşimi içeren çok geniş bir mekanizması olduğunu göstermektedir. Bu etkileşimler iskemi reperfüzyon hasarına ve endotel aktivasyonuna neden olur. Ayrıca intravasküler hemolizin bir sonucu olarak NO' nun azalması endotel disfonksiyonuna neden olabilir. Vazo oklüzyon sırasında entodelyum kırmızı kan

hücreleri, lökositler ve trombositlerle etkileşime girerek OHA' nın patofizyolojisinde önemli bir rol oynar (5).

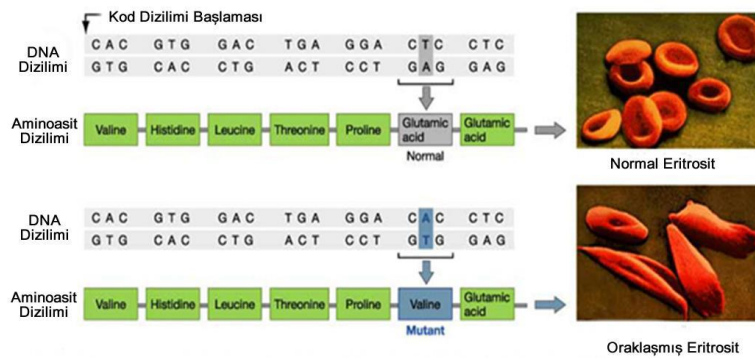
Orak hücre anemisi günümüzde kronik inflamatuvar bir durum olarak tanımlanmıştır. Mikro dolaşımdaki tıkanıklık ve de infeksiyonlar oksidatif stresi uyaran, sitokinleri ve akut faz proteinlerini üreten önemli bir faktördür (6). OHA' sinde kronik inflamasyon ve intravasküler hemolizin bir sonucu olarak endotelde disfonksiyon ve aktivasyon gerçekleşir (5). Bu endotel aktivasyonu muhtemel reperfüzyon hasarına, yapışkan eritrositler ve lökositlerin yakın etkilerine bağlıdır. OHA' sinde koagülasyon aktive olmuştur. Vazo regülasyon bozulmuştur ve kronik bir vaskulopati vardır. Ayrıca Orak hücre hastalığında kronik bir lökosit yüksekliği vardır. Lökositlerin yarı ömrü kısalmıştır. Granulositler ve monositler anormal bir şekilde aktive olmuştur (7). Yükselmiş bazal lökosit sayısı erken ölüm riskinin artmasıyla ilişkilidir ve lökositler vazookluzif olayların ortaya çıkmasında önemli bir rol oynayabilir (6). Oraklaşmış kandaki dolaşan endotel hücreleri anormal bir şekilde aktive olur ve proadheziv (VCAM, ICAM, selektin,  $\alpha\beta3$  için pozitif), prokoagulan (doku faktörü için pozitif) ve oksidatif özellik (hem-oksijenaz -1 upregüle olur) kazanır. IL6, TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$  gibi inflamatuvar mediatörler, CRP, sekretuar fosfolipaz A2, G-CSF gibi akut faz reaktanlarının seviyesi yükselir. Bu biyolojik mediatörlerin akut ağrı krizlerinde seviyeleri daha yüksekken stabil OHA' sinde genel olarak düzensiz seyretme eğilimindedirler (7).

Bu çalışma ile son üç ay kan transfüzyonu almamış ve ağrılı kriz geçirmemiş kararlı homozigot HbSS erişkin orak hücre anemili hastalar ile yaş, kilo, boy, BKİ yönünden benzer sağlıklı bireylerin serum PEDF düzeyleri, inflamatuvar belirteçler ve hsCRP gibi akut faz reaktanları arasındaki ilişkinin incelenmesi ve bu doğrultuda orak hücre hastalığının patofizyolojisinin ve tedavisinin aydınlatılmasına yönelik katkı sağlamayı amaçladık.

## 2. GENEL BİLGİLER

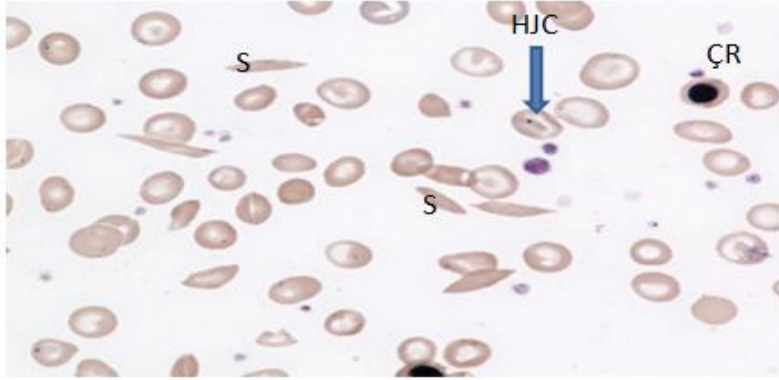
### 2.1 Orak Hücre Anemisi

Orak hücre anemisi otozomal resesif kalıtımla geçiş gösteren, birçok sistemi etkileyen kronik ve hemolitik tipte bir anemidir. En sık görülen ve prototip olarak kabul edilen hemoglobinopati,  $\beta$  globin zincirini kodlayan gende meydana gelen mutasyondan kaynaklanan kalıtsal bir hemoglobin yapı bozukluğudur (1). Hastalığın başlıca özellikleri, kronik hemolitik anemi, tekrarlayan ağrılı krizler, yaygın enfeksiyonlar, organ hasarına neden olan akut ve kronik komplikasyonlardır (3). Hemoglobin S (Hb S); beta globin zincirinin amino (-NH<sub>2</sub>) terminal ucunda altıncı pozisyondaki asidik hidrofilik bir aminoasit olan glutamik asit yerine hidrofobik bir aminoasit olan valin aminoasidinin geçmesiyle oluşan anormal bir hemoglobindir (Şekil 1). Orak hücre hastalığı akut ağrı krizleri ve ilerleyici organ hasarıyla ilişkili multisistem bir hastalıktır. Dünya çapındaki en yaygın şiddetli monogenik hastalıklardan biridir (2).



Şekil 1: Hemoglobin S'in aminoasit diziliminde baz değişimi (8)

Bu yapısal değişiklik Hb molekülünün yük dengesini değiştirdiği gibi fonksiyonel özelliklerini de pek çok açıdan etkiler ve değiştirir. Bu mutasyonun sonucu olarak yeterli oksijen olmadığı durumlarda özellikle kapiller bölgede Hb S polimerize olur ve katı kristal halinde çöker. Kırmızı kan hücreleri bikonkav disk şeklinden yarım ay benzeri orak şeklini alır (Şekil 2). Şekli bozulmuş olan kırmızı kan hücreleri dalakta erkenden yıkılır ayrıca kan akışkanlığını azaltarak özellikle küçük damarlarda tıkanıklığa yol açar (9). Orak hücreli anemide eritrositler oksijensiz ortamda orak seklene benzer bir görünüm aldıkları için bu hastalığa orak hücre anemisi denilmektedir.



**Şekil 2:** OHA'sine ait periferik yayma örneği: (S); Oraklaşmış eritrosit, (ÇR) Çekirdekli kan hücresi (hiposplenizimle ilişkili), (HJC); Howell-Jolly Cisimciği (hiposplenizimle ilişkili) (2)

**Hemoglobin ve Yapısı:** Hemoglobin (Hb) prostetik grup olarak hem içeren türe özel bir bileşik proteindir. Her eritrositte yaklaşık 300 milyon hemoglobin molekülü yer alır. Hemoglobinde protein kısmına ek olarak hem denilen ve yapıca ferroprotoporfirin olan prostetik grup bulunur. Hem aynı zamanda hemoglobinin rengini verir. Hb dört alt birimden oluştuğundan kuartern yapıya sahiptir. Hb'nin tetramerik yapısını ikişer adet bulunan iki farklı polipeptit zinciri oluşturur. Erişkin Hb'ini olan HbA'da bulunan monomerler alfa ( $\alpha$ ) ve beta ( $\beta$ ) adını alır. Erişkin kanında az miktarda olmak üzere  $\beta$  zinciri yerine gama ( $\gamma$ ) veya delta ( $\delta$ ) zinciri taşıyan Hb tipleride vardır. Alfa zincir varyantı olarak zeta ( $\zeta$ ),  $\beta$  zincir varyantı olarak epsilon ( $\epsilon$ ) zincirlerinin bulunduğu fizyolojik tiplerde bilinmektedir. Hb



molekölü dört hem ve bir globinden ibarettir. Alfa zincirini kodlayan iki ( $\alpha/\alpha$ ), beta zincirini kodlayan bir ( $\beta/\beta$ ) gen çifti bulunur. Alfa ve embriyonik alternatifi olan zeta zincir genlerinin yerleşimleri 16'ncı kromozomda, beta ve benzeri zincirlerin( gama, delta, epsilon) genleri ise 11'inci kromozomdadır. Gebeliğin beşinci haftasından itibaren hematopoez, embriyo kesesinden fetus karaciğerine geçer. Embriyoda zeta ve epsilon zincirlerinin kombinasyonundan oluşan Gover 1 Hb'ni, Gover 2 ve Portland Hb'lerinin sentezi izler. Gebeliğin 2'inci ayı tamamlandığında, mevcut Hb'nin yarısını fetal HbF oluşturur. HbA1 oluşumu 8. Hafta dolaylarında başlar, fakat 30. Haftaya kadar HbA1 miktarı toplam hemoglobinin %10'unu geçmez. Değişik zincirlerin dimerik kombinasyonlarıyla meydana gelen fizyolojik hemoglobinler Tablo 1'de görülmektedir (10) ( Tablo 1). Normal insan hemoglobininde 4 tane polipeptid zinciri ve 4 tane hem grubu bulunur. Polipeptid zincirleri 2 tane alfa ve 2 tane beta zincirinden oluşmaktadır. Erişkinlerde bulunan temel hemoglobin HbA'dır ve HbA2 miktarı çok azdır. Fötal hayat boyunca HbF düzeyi yüksektir ve doğumdan sonra eritrosit içindeki oranı azalır (11). Hemoglobin, dokulara oksijeni dağıtır ve eritrositlerin içindeki yüksek yoğunluğu eritrositin şeklini koruma ve şekil değiştirebilme yeteneğini sağlar (12). Hem molekülü meten köprüleriyle bağlı ve dört pirol halkasından oluşan porfirin iskeletine iki değerlikli demirin bağlanması ile oluşur. Dört pirol halkası birleşirken azot atomları oluşan porfirin düzleminin merkezine doğru yönelir. Bu yönelme azotların eşleşmemiş elektronlarının düzlemin merkezinde yer alan bir metalle bağlanmasını kolaylaştırır. İki değerlikli demir atomu 6 elektronla eş oluşturabilir. 4 azot atomunun elektronları ile eşleşerek porfirin halkasına bağlanan  $Fe^{+2}$ 'inin 2 koordinasyon pozisyonu açıkta kalır. Serbest hem molekülünde bu pozisyonlara su molekülleri girer. Hemoglobindeki hem polipeptiddeki histidin kalıntısının imidazol azotuna demirin boştaki koordinasyon pozisyonlarından biriyle bağlanır. Demirin boşta kalan altıncı pozisyonuna oksijen bağlanır. Hemoglobini oluşturan alfa zinciri 141, beta zinciri 146 aminoasitten oluşur. Her iki zincirde N- terminal aminoasit valindir. Uzunluğu aynı olan beta ve gama zincirlerinin sadece 10 aminoasiti farklıdır. Hem halkası, her iki zincirde proksimal histidin olarak da adlandırılan F8 histidine demirin 5. koordinasyonu ile bağlanır. Distal histidin adı verilen demirin 6. koordinasyonuna

yakındır. Oksijen ve karbonmonoksit bağlanmasının reversible olmasında bu yakınlık önem taşır. Oksijen bağlandığında distal histidinler geçici olarak biraz uzaklaşır. Hidrofobik aminoasitler, molekülün iç kısmında yer alan hem'i çevreleyerek oksijenin reversible bağlanabilmesi için gerekli ortamı sağlar. Hem'e yakın aminoasitlerden sadece histidin polar özelliktedir. Hidrofilik özellikteki F8 histidin, hem halkasının hidrofobik metil gruplarını iter. Bu etkileşim deoksi hemoglobinin dengesini sağlar. Her monomer, hidrofobik aminoasitler iç kısımda, hidrofilik aminoasitler yüzeyde kalacak şekilde katlanmıştır. Hidrofilik aminoasitlerin globinin dış yüzeyinde yer alması hemoglobinin çözürlüğünü sağlar (10).

**Tablo 1:** Embriyonik, fetal ve doğum sonrası sentezlenen normal hemoglobin tipleri (10)

| Bileşimi                | Hemoglobin                 | Yüzdesi (%) |
|-------------------------|----------------------------|-------------|
| $\alpha_2\beta_2$       | HbA <sub>1</sub> , erişkin | % 97-98,5   |
| $\alpha_2\gamma_2$      | HbF, fetal                 | % 0,2-0,7   |
| $\alpha_2\delta_2$      | HbA <sub>2</sub> , erişkin | % 1,5-3,2   |
| $\zeta_2\varepsilon_2$  | Gover I, embriyonik        |             |
| $\alpha_2\varepsilon_2$ | Gover II, embriyonik       |             |
| $\zeta_2\gamma_2$       | Portland-1, embriyonik     |             |

Günümüzdeki bilgiler 10 yaşın altındaki OHA'li çocuklarda en sık ölüm nedenin infeksiyon olduğuna, yetişkin OHA'lerde ise akut göğüs sendromu, stroke gibi vasküler komplikasyonların infeksiyondan daha fazla ölüme neden olduğu yönündedir. Ayrıca yetişkin orak hücre hastalarında renal yetmezlikte önemli bir ölüm nedeni olarak gözükmektedir. OHA'inde vasküler intima hiperplazisi inmenin en önemli nedeni olarak tanımlanmıştır ve pulmoner infarkta, hipertansiyonada katkı sağlayabilir. Vasküler intima hiperplazisi ve trombozis orak hücrelerin anormal adezyonu ve prokoagulan özellikleri ile doğrudan ilişkili olabilir (13).

## 2.2 Genetik

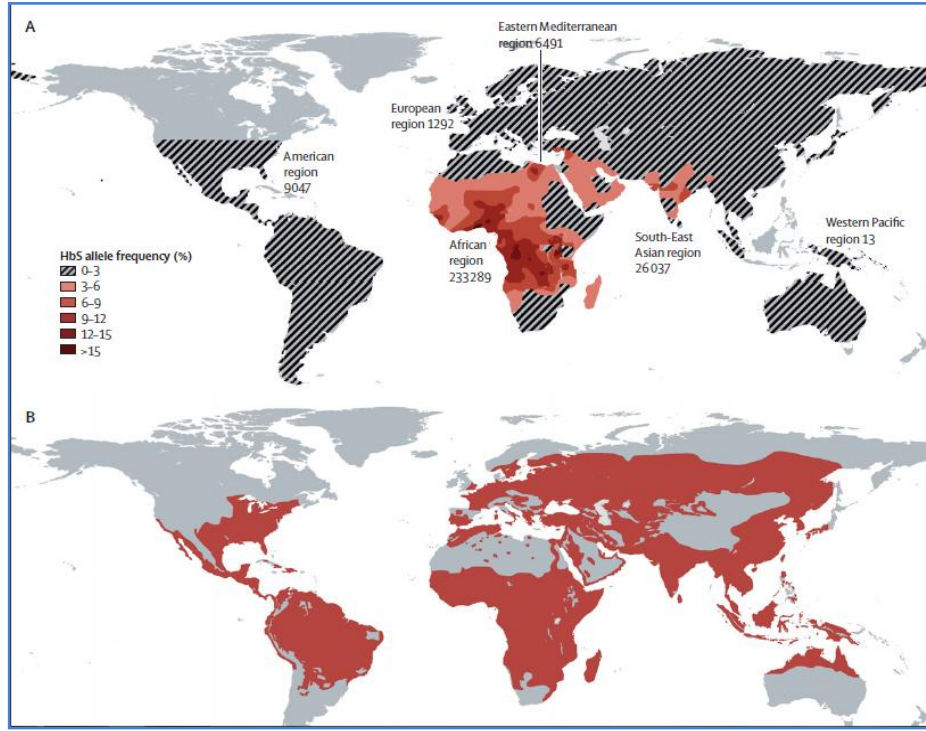
Hastalığın kalıtım şekli otozomal resesiftir. Eğer 1. kromozomun kısa kolunda  $\beta$  globulin zincirini kodlayan her iki allel gen de orak hücre anemisine özel GAG-GTG şeklinde mutasyona uğramışsa normal  $\beta$  zinciri dolayısıyla da HbA sentezlenemez ve eritrositler yüksek oranda HbS içerir. İki anormal gene sahip bu kişiler homozigot (HbSS) hastalarıdır ve hemoglobin A (HbA) sentez edemezler. Bir anormal gene sahip heterozigotlar (HbAS) ise taşıyıcıdırlar ve eritrositler %20-40 HbS içerirler (14). Orak hücre geni homozigot ve genotipi HbSS olan kişilerde hastalığın klinik bulguları görülür. Orak hücre geni heterozigot ve genotipi HbAS olan orak hücre taşıyıcıları ise normal bir hayata sahiptirler ve genellikle bulgu vermezler (9) (Tablo 2).

**Tablo 2:** En sık görülen Hemoglobin S sendromlarının elektroforez sonuçları; HbS= orak hemoglobin; HbF= fetal hemoglobin; HbC= C hemoglobin; HbA1= normal yetişkin hemoglobini; HbA2= minör yetişkin hemoglobin (15, 16)

| Hastalığın Adı                                 | Yetişkin Elektroforez Örneği (%)                     | Yenidoğan Elektroforez Örneği (%)    |
|--|--|--------------------------------------|
| Homozigot Orak Hücre Hastalığı (OHA-HbSS)      | HbS: 77-97<br>HbF: 1-20<br>HbA2: 2-3,5<br>HbA: yok   | HbF: 85-90<br>HbS: 10-15             |
| Heterozigot Orak Hücre Taşıyıcılığı (OHA-HbAS) | HbA: 60-65<br>HbS: 35-40<br>HbF: 2-20                |                                      |
| Orak Hemoglobin C Hastalığı (OHA-SC)           | HbC: 46-48<br>HbS: 46-48<br>HbA2: 2-3,5<br>HbF < 1-3 | HbF: 85-90<br>HbC: 5-8<br>HbS: 5-8   |
| Orak Beta Zero Talasemi (OHA-S $\beta^0$ Thal) | HbS: 73-95<br>HbF: 1-20<br>HbA2: 4-7                 | HbF: 85-90<br>HbS: 10-15             |
| Orak Beta Plus Talasemi (OHA-S $\beta^+$ Thal) | HbS: 60-88<br>HbF: 5-20<br>HbA1: 9-30<br>HbA2: 4-7   | HbF: 85-90<br>HbS: 5-11<br>HbA1: 4-7 |

### 2.3 Orak Hücre Anemisinin Dağılımı (Prevalans)

OHA geniş bir coğrafik dağılıma sahiptir. HbS'in oluştuğu ve çoğaldığı Afrika haplotipine özgü dört bölge (Senegal, Benin, Bantu ve Kamerun haplotip) ve bir Asya haplotipi (Arap-Hindistan haplotip) tanımlanmıştır. Bu hastalığın malaryaya karşı sağladığı koruma ve sonradan gelen göç OHA'nın dünyadaki dağılımını belirleyen iki önemli faktördür. Malaryanın tarihi insidansı ve HbS geninin sıklığı arasında jeoğrafik bir korelasyon vardır. Orak hücre geni malarya hastalığına karşı genetik bir avantaj sağlar. Bu gene sahip heterozigot taşıyıcılar Plasmodium Falciparim etkeni olduğu endemik malarya infeksiyonuna yakalanmaktan korunur. Malaryanın oldukça yaygın olduğu Orta Afrika OHA'nın en sık görüldüğü bölgelerden biridir. (Şekil 3) Son tahminler bu bölgede her yıl 230 binden fazla çocuğun doğduğu yönündedir. Bu oran Sahra Altı Afrika'daki doğumların %0,74'ünü oluşturur. Kuzey Amerika'da bu doğum sayısı 2600, avrupada 1300'dür (2).



**Şekil 3:** HbS ve Malaryanın küresel dağılımı. A; Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre tahmin edilen HbSS, HbSC ve HbS/β-thalasemiden etkilenen bireylerin kombine yıllık sayılarını ve dağılımını gösterir. B; Malaryanın kontrol altına alınmadan önceki küresel dağılımı (2)

Orak hücre anemisi İtalya'nın güney, Yunanistan'ın kuzey ve Türkiye'nin güney bölgelerini kapsayan Akdeniz çevresindeki ülkelerde, Sicilya, Orta Doğu ve Hindistan'da da yaygın olarak görülmektedir. Dünyada 200 milyon kişiden fazla orak hücre taşıyıcısı bulunmakla birlikte bu sayıya her yıl yaklaşık 200-300 bin yeni doğan birey eklenmektedir. Afrikalı ve Amerikalı çocuklarda HbSS oranı % 0.14, taşıyıcılık oranı ise; % 8' dir (17, 18).

Hemoglobinopatiler Türkiye'de çok önemli bir halk sağlığı sorunudur. Ülkemizde hemoglobinopatiler ile ilgili ilk çalışmalar, M. Aksoy tarafından 1950'li yıllarda, Çukurova bölgesinde yaşayan Eti Türklerinde yapılmıştır (19). Çavdar ve Arcasoy tarafından talasemi sıklığını gösteren ilk çalışmalar yapılmış ve Türkiye insidansı % 2,1 olarak bildirilmiştir. Bazı bölgelerde ise insidansın % 0,6-12 arasında olduğu gösterilmiştir. OHA ile ilgili olarak 2000'li yıllara kadar birçok araştırmacı tarafından epidemiyolojik, klinik ve moleküler çalışmalar yayınlanmıştır. Sağlık

Bakanlığı ve Türkiye Ulusal Hemoglobinopati Konseyi'nin verilerine göre 1999-2003 yılları arasında farklı 16 bölgede toplam 377.339 sağlıklı kişi taranmış olup beta talasemi taşıyıcı sıklığının ortalama % 4,3; HbS taşıyıcı sıklığının Adana'da % 10; Antakya'da % 10,5; Mersin'de % 13,6 olduğu rapor edilmiş ve ülkemizdeki toplam OHA olan kişi sayısının yaklaşık 1200 civarında olduğu belirtilmiştir (20, 21).

#### **2.4 Orak Hücre Hastalığının Sınıflandırılması**

Orak hücre hastalığı karakteristik klinik semptomlara neden olan tüm farklı genotiplere verilen bir ifadedir. Orak hücre anemisi ise özellikle homozigot beta S alelline sahip (HbSS) orak hücre hastalığının en yaygın görülen şeklini ifade etmektedir. Etnik kökenli Afrikalılarda Orak hücre hastalığının genel anlamda %70'i OHA'si, geri kalanların çoğu  $\beta$ S ve  $\beta$ C alelline sahip hemoglobin SC (HbSC) hastalarıdır. Orak hücre hastalığının 3. major tipi  $\beta$ S ve  $\beta$  talasemi aleline sahip HbS/ $\beta$ -talasemi hastalarıdır. Çoğu nadir görülen 10'dan daha fazla genotip tanımlanmıştır (2) (Tablo 3).

**Tablo 3:** Orak Hücre Hastalığının Çeşitli Tipleri  $\beta^0$ ,  $\beta$  globulin üretiminin olmadığını;  $\beta^+$ ,  $\beta$  globulin üretiminin azaldığını gösterir (2).

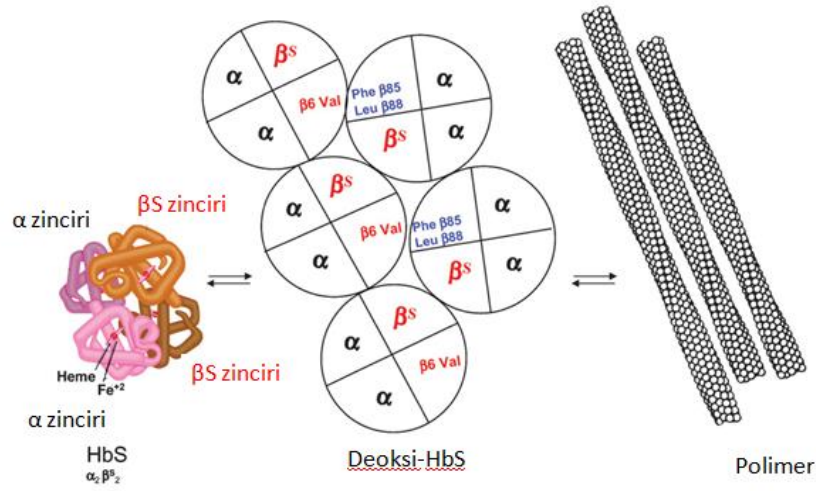
| <b>Şiddetli Orak Hücre Hastalıkları</b>   |  |
|---|--|
| HbS/S ( $\beta^6\text{Glu}>\text{Val}/\beta^6\text{Glu}>\text{Val}$ ); OHA:   | Orak hücre hastalığının en yaygın şeklidir.  |
| HbS/ $\beta^0$ talasemi:  | Doğu Akdeniz bölgelerinde ve Hindistan'da yaygın olarak görülür.   |
| Şiddetli HbS/ $\beta^+$ talasemi:   | Doğu Akdeniz bölgelerinde ve Hindistan'da yaygın olarak görülür; %1–5 HbA sentezi var.                                       |
| HbS/OArab ( $\beta^6\text{Glu}>\text{Val}/\beta^{121}\text{Glu}>\text{Lys}$ ):  | Kuzey Afrika, Ortadoğu ve Balkanlarda rapor edildi; oldukça nadir görülür.   |
| HbS/D Punjab ( $\beta^6\text{Glu}>\text{Val}/\beta^{121}\text{Glu}>\text{Gln}$ ):                                       | Kuzey Hindistan'da çoğunlukta olan ama dünya çapında da görülür.   |
| HbS/C Harlem ( $\beta^6\text{Glu}>\text{Val}/\beta^6\text{Glu}>\text{Val}/\beta$ , $\beta^{73}\text{Asp}>\text{Asn}$ ). | Elektroforetik olarak HbSC'ye benzer ancak kiliniği şiddetli, $\beta$ -globin geninde çift mutasyon var ve çok nadir görülür |
| HbC/S Antilles ( $\beta^6\text{Glu}>\text{Lys}/\beta^6\text{Glu}>\text{Val}$ , $\beta^{23}\text{Val}>\text{Ile}$ ):     | $\beta$ -globin geninde çift mutasyon var, HbC ile birlikte kalıtıldığında ağır klinikle sonuçlanır ve çok nadir görülür.    |
| HbS/Quebec-CHORI ( $\beta^6\text{Glu}>\text{Val}/\beta^{87}\text{Thr}>\text{Ile}$ ):                                    | 2 Olgu tanımlanmış, orak hücre taşıyıcısına benzer.  |
| <b>İlimli Orak Hücre Hastalığı</b>  |  |
| HbS/C ( $\beta^6\text{Glu}>\text{Val}/\beta^6\text{Glu}>\text{Lys}$ ):  | Afrika kökenlilerde orak hücre olgularının %25–30' unu oluşturur.  |
| İlimli HbS/ $\beta^+$ talasemi:   | Olguların çoğu Doğu Akdeniz bölgelerinde görülür; % 6–15 HbA sentezi var.  |
| HbA/S Oman ( $\beta^A/\beta^6\text{Glu}>\text{Val}$ , $\beta^{121}\text{Glu}>\text{Lys}$ ):                             | $\beta$ -globin geninde çift mutasyonun sebep olduğu orak hücre hastalığının baskın şekli ve çok nadir görülür.              |
| <b>Hafif Daha İlimli Orak Hücre Hastalığı</b>   |  |
| Hafif HbS/ $\beta^{++}$ talasemi:   | Afrika kökenlilerde daha çok görülür; %16–30 HbA mevcut  |
| HbS/E ( $\beta^6\text{Glu}>\text{Val}/\beta^{26}\text{Glu}>\text{Lys}$ ):   | Güneydoğu asyada HbE'nin hâkim olduğu tip ve HbSE göçle artmasına rağmen nadir görülür.                                      |
| HbA/Jamaica Plain ( $\beta^A/\beta^6\text{Glu}>\text{Val}$ , $\beta^{68}\text{Leu}/\text{Phe}$ ):                       | Orak hücre hastalığının baskın şekli; çift mutasyon hemoglobinin oksijene afinitesini azaltır.                               |
| <b>Çok Hafif Daha İlimli Orak Hücre Hastalığı</b>   |  |
| HbS/HPFH:   | $\beta$ -globin gen delesyonu büyük, kompleks ve %30 fetal hemoglobin içerir.  |
| HbS/diğer Hb varyantları:   | HbS diğer Hb varyantları ile kalıtılır ve klinik bulgular sadece aşırı hipoksi varlığında görülür.                           |

## 2.5 Patofizyoloji

OHA'nde iki ana patofizyolojik süreç iskemi reperfüzyonla birlikte vazookluzyon ve hemolitik anemidir (2) (Şekil 6).

Hemoglobin molekülünün dış yüzeyindeki aminoasitler polar özelliktedir. Farklı polaritede ve büyüklükte bir aminoasidin gelmesine yol açan mutasyonlar hemoglobinin çözünürlüğünü etkiler. Hemoglobin S, tek nokta mutasyonu ile  $\beta$  globin zincirinin 6. pozisyonunda yer alan hidrofilik glutamik asitin (GAG) hidrofobik valinle (GTG) yer değiştirmesi sonucunda yani DNA'da adenin yerine timin gelmesine bağlı olarak ortaya çıkar. HbS'in bir özelliği oksijene ilginin değişmemesidir. Molekül deoksi hale geçtiğinde bir beta zincirinin yüzeyinde yer alan hidrofobik valin R grubu, diğer beta üzerindeki bir bölgeyle hidrofobik bir etkileşime girerek globinde reversible polimerizasyona yol açar (10). Böylece HbS molekülleri deoksijene olduğu zaman, agregasyon ve polimerizasyona uğrar. Deoksijenasyonun devamı ile agregate olan HbS molekülleri eritrosit içinde uzun, helikal fibriller oluşturur (Şekil 4). Eritrositler doğal şeklini, esnekliğini kaybeder ve orak şeklini alır (22, 23). Beta zincirlerinin lif şeklinde birleşmesi, eritrositlerin biçimini değiştirerek mekanik kırılabilirliği artırır. Mutasyona uğramamış olan normal hemoglobin (HbA1) bu durumdan etkilenerek polimerizasyona katılır. Polimerize Hb'nin çözünürlüğü, sağlam Hb'nin 1/5'i kadardır. Polimerizasyonun hızı, HbS konstrasyonuyla ve deoksi haldeki konformasyonla (T hali) ilişkilidir. Bifosfoliserat konsantrasyonunun artması T halini desteklediğinden orak hücre oluşumunu artırır, HbF ise orak hücre oluşumunu engeller. Orak şeklindeki eritrositler kapillerlerden kolayca geçemediğinden, kan akımının kesintiye uğramasına ve dolayısıyla doku hipoksisine yol açar (10) .





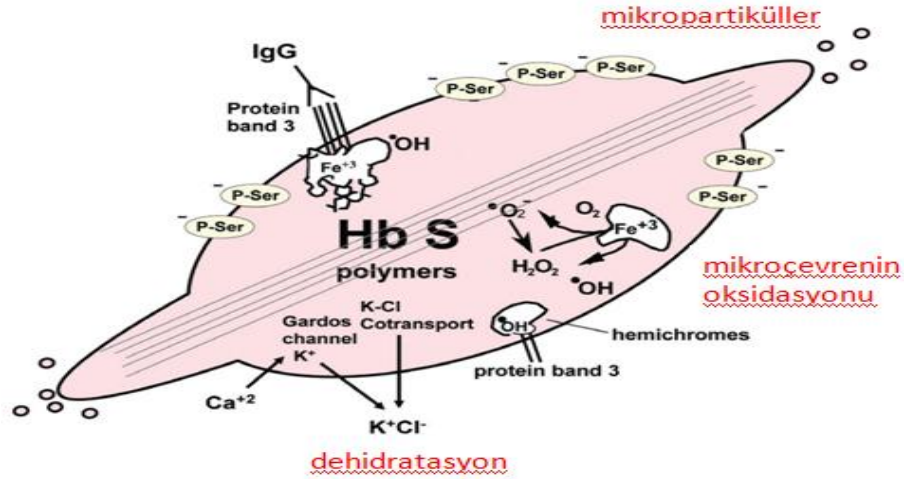
**Şekil 4:** OHA'nin temel patofizyolojik mekanizması. Düşük oksijen basıncında, deoksi-HbS polimerize olur ve deforme uzun polimer lifleri şekline dönüşür. Bu süreç hemolitik anemi ve de vazo-oklüzif olaylara yol açan temel mekanizmaları temsil eder (24).

Eğer ortam erken safhada yeterince oksijenlenirse, eritrositler tekrar eski şekillerine kavuşur. Ancak bir süre sonra eritrosit membranlarındaki hasar kalıcı hale gelir ve bu hücreler “Geri dönüşümsüz oraklaşmış hücre” veya “Irreversible sickled cells (ISCs)” olarak adlandırılır (25).

### 2.5.1 HbS Polimerizasyonu

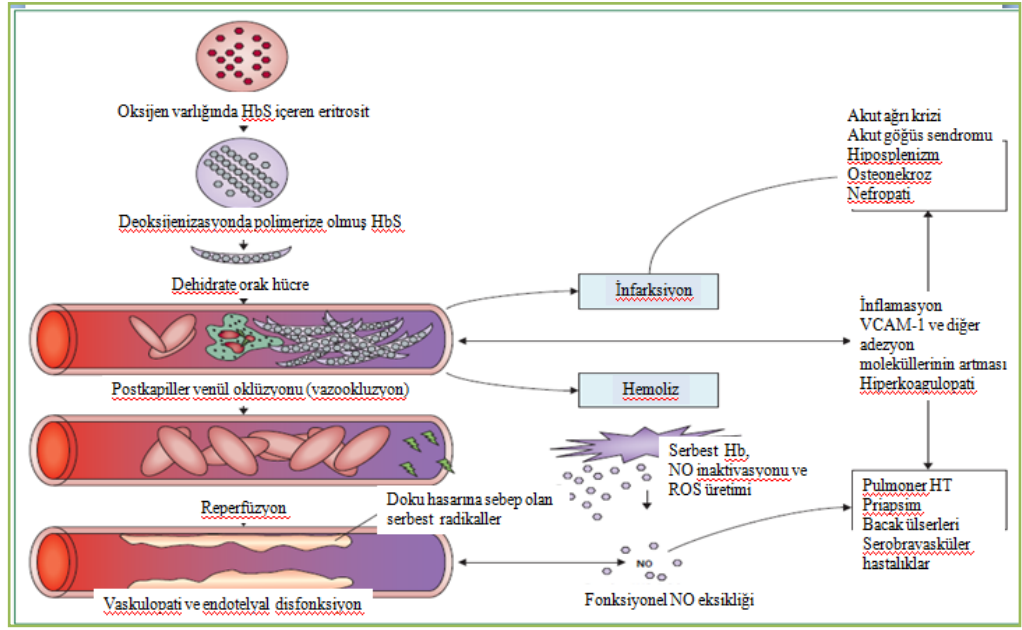
Hastalığın şiddetinin ana belirleyicisi HbS polimerizasyonun miktarı ve oranıdır (2). HbS jelasyonunun ve polimerizasyonunun en önemli fizyolojik belirleyicisi oksijendir. Hipotermi, asidoz ve dehidratasyon polimerizasyonu artırırken; oksijenizasyon HbA, HbF ve HbC gibi diğer hemoglobinler polimerizasyonu inhibe ederler (22). HbS ile birlikte Hb F'in ya da alfa talaseminin kalıtılması koruyucu bir etki oluşturur. Bundan dolayı HbF'in erişkin düzeyine ulaştığı 5-6. aya kadar hastalık bulguları görülmez. Hidroksikarbamid fetal Hb konstrasyonunu artırır böylece akut vazo-oklüzyonu önler ve hemolizi azaltır (2). HbS polimerizasyonu tüm patofizyolojik mekanizmalara neden olan birçok kaskatı başlatır. K<sup>+</sup>-Cl<sup>-</sup> ko-transport sistemi, Ca<sup>+2</sup>-bağımlı K<sup>+</sup>-kanalı (Gardos kanalı) gibi iyon kanallarının aktivasyonundan kaynaklanan katyon dengesinin bozulması

potasyum ( $K^+$ ) kaybına, hücresel dehidratasyona ve deoksi-HbS polimerizasyonun hücre içi konsantrasyonunun artmasına yol açar. Hb denatüre olmaya başlar ve membranın iç tarafında protein band 3 gibi hücre iskeleti proteinleriyle birlikte toplanır. Bu süreç hem kaybı ve oksidasyona neden olan  $Fe^{+3}$ 'ün serbest bırakılmasıyla birlikte gelişir. Hücre yüzeyinde açığa çıkan anyonik fosfotidilserinden dolayı membran lipitlerinin normal asimetrisi bozulur ve bu durum membranda prokoagulan bir yüzey oluşturur. Protein band 3 üzerinde Anti-band 3 IgG toplanır buda makrofajların eritrofagositozunu tetikler. Sonunda tüm bu membran değişiklikleri mikropartiküllerin üretimine sebep olur (24) (Şekil 5).



**Şekil 5:** Orak hücrelerde membran değişiklikleri (24)

Orak hücre hastalığının patogenezi üzerinde son zamanlarda yapılan çalışmalar oksijensiz ortamdaki HbS'in polimerizasyonu ile vazo-oklüzyon arasında oluşan patolojik durumlar üzerinde yoğunlaşmıştır. Hücresel düzeyde dehidratasyon, inflamatuvar yanıt ve reperfüzyon yaralanmaları önemli patofizyolojik mekanizmalar gibi görünmektedir (26).



**Şekil 6:** Orak Hücre Hastalığının Patofizyolojisi. Deoksijenasyonda HbS polimerize olur, eritrositler oraklaşır. Damar endoteliyle lökositler ve oraklaşmış eritrositler etkileşime girer, vazooklüzyon olur. Vazooklüzyon doku infarktına, hemolize ve inflamasyona neden olur. İnflamasyon adezyon moleküllerini artırır. Orak eritrositlerin endotele adezyonu artar vazooklüzyon giderek kötüleşir. Reperfüzyonla serbest radikaller üretilir, oksidatif hasar oluşur. Eritrositlerin yıkımıyla plazmaya serbest Hb çıkar buda NO'yu güçlü bir şekilde bağlar. Fonksiyonel NO eksikliğiyle sonuçlanır buda vaskulopatinin gelişmesini sağlar (2).

## 2.5.2 OHA'nin Fizyopatolojisinde Rol Alan Temel Mekanizmalar

### 2.5.2.1 Vazooklüzyon

Orak hücre anemisinin (OHA) fizyopatolojisinde rol oynayan en önemli faktördür. Bu vazooklüzyon hem mikrovasküler hem de makrovasküler dolaşımda olabilir. Vazooklüzyonda orak hücre polimerizasyonu, hücresel dehidratasyon, eritrosit deformabilitesi, mekanik frajilite gibi intrinsik faktörlerin yanı sıra, kan vizkositesi, beyaz kürelere, endotele, hemostatik ve vasküler nedenlere bağlı ekstrinsik mekanizmalar da önemli rol oynar (26, 27).

Vazookluziyonda ardışık iki olay gerçekleşir. İlki postkapiller venüldeki retikülositlerin endotele adezyonudur. Hipoksinin uzamasıyla orak eritrositler yayılır. Kan akımı yavaşlar. Bu ilk adım geri dönüşümsüz orak hücrelerin tutulmasına ve küçük damarlarda tam tıkanıklığa neden olan ikinci adıma yol açar (24).

Vazookluzif olaylardaki süreç HbS polimerizasyonunu gerektirmesine rağmen orak hücrelerle tıkanan damarlardaki tetikleyici olaylar genellikle inflamasyondur. İnflamasyonla birlikte yüksek HbS polimerine sahip deforme, bükülemeyen eritrositlerin yaptığı prekapiller tıkanıklık mikrovasküler vazookluziyunun oluşmasını sağlar. Eritrositlerle damar endoteli dinamik bir etkileşime girer ve mikrovasküler tıkanıklık gelişir ve normal kan akımı başladığında yani reperfüzyon olduğunda doku hasarı başlar. Bu iskemi reperfüzyon siklusu oksidatif stresse neden olur. İnflamatuvar stressde endotelial hücre adezyon moleküllerinin ve inflamatuvar sitokinlerin sentezi artar ve lökositöz olur ve bu durum vasküler okluziyona katkı sağlar (2).

### **2.5.2.2 Dehidratasyon**

Orak hücre anemisinde (OHA) oraklaşmada en önemli nedenlerden biri dehidratasyondur. Dehidratasyon sırasında Hb S göreceli olarak artar ve çok küçük artışlar bile polimerizasyonda 20-40 kat artışa yol açar. OHA'da artmış olan dehidratasyondan anormal membran transport sistemleri sorumludur (28).

K-Cl kotransport aktivitesi izozmotik durumda pH 7,4'de olgunlaşmış eritrositlerde çok düşüktür ancak eritrositlerin şişmesi, asidoz, Mg iyon depleasyonu, oksidasyon, yüksek hidrostatik basınç, sıcaklık artışı gibi birçok ajan tarafından aktive edilebilir. KCl kotransportu (KCC) sistemi ile eritrositler gerektiğinde K, Cl ve bunları izleyen su kaybıyla sıvı dengesini düzenlerler. K-Cl kotransport sisteminin anormal aktivasyonu K hücre dışına çıkmasına ve böylece hücrede dehidratasyon gelişmesine yol açar. İntraselüler Mg depleasyonunun oraklaşmış eritrositlerde KCC aktivitesini artırdığı gösterilmiştir. OHA'da KCC aktivitesi artmış olarak bulunmuştur (29, 30).

**Gardos Kanalı (Kalsiyum iyon-duyarlı potasyum iyon akış kanalı, Calcium-ion-sensitive potassium-ion-efflux channel):** Bu kanalları ilk kez 1950’li yıllarda Macar bilim adamı Dr. George Gardos tanımlamıştır, bu nedenle “Gardos” kanalları olarak bilinmektedir. Bu kanalların en büyük özelliği, intraselüler kalsiyum ( $Ca^{+2}$ ) miktarının artmasıyla hücre dışına büyük miktarda  $K^{+}$  çıkışına yol açmalarıdır. Artmış Gardos kanalı aktivitesi OHA’ sinde en önemli dehidratasyon nedenidir. Yoğun, sert, geri dönüşümsüz oraklaşmış hücreler anemi ve vazooklüzyona neden olur (31).

**Deoksijenasyonun İndüklediği Katyon Akımı:** Deoksijenasyonun indüklediği katyon akımı OHA’indeki karmaşık patofizyolojik olaylarda rol oynar. Orak hücrelerin deoksijenasyonu, hücre yapışkanlığının ( adezyon) artması, çift tabakalı membran iskeletinin ayrılması, membran katyon geçirgenliğinin artması gibi çeşitli fizyolojik ve biyokimyasal hasarlara neden olarak hücre membranının yapısının bozulmasını tetikler. KCl kotransport ve Ca-aktivated K kanalı gibi katyon transport sistemleri orak hücrelerde aşırı katyon kaybının olası mediatörleridir. Deoksijenasyonun indüklediği katyon akımında (DBKA) bu duruma uğrayan eritrositlerde membran hasarına bağlı potasyum kaybı ve sodyum kazanımı olmaktadır buda hücrede dehidratasyonla sonuçlanır. Eritrosit içinde Hb konstrasyonu artar. Deoksijene durumda HbS polimerleşmeye başlar Hb’inin oksijene ilgisi azalır ve eritrosit şekil değiştirebilme özelliğini kaybeder. Bu konudaki çalışmalar sürmekle birlikte oraklaşma sırasında oluşan Hb S spiküllerinin eritrosit iskeletinde yaptığı değişikliklerin patogenezinde rol oynadığı ileri sürülmektedir (32).

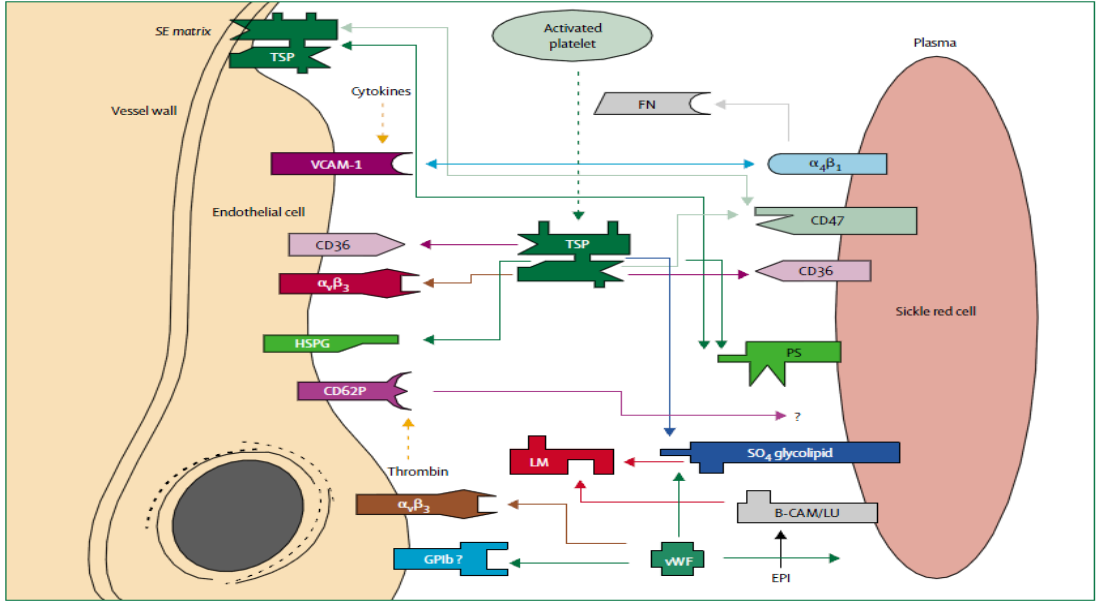
**Eritrositlerin Membranında Oksidatif Hasar:** Eritrositlerde oraklaşma başlangıçta geri dönüşümlüdür, oksijenlenme ile hücre şekli normale döner. Ancak, tekrarlayan oraklaşma atakları ile membran hasarı oluşur ve hücre dönüşümsüz olarak oraklaşarak tam oksijene olduğu zaman bile anormal şeklini korur. Orak hücre hemoglobini eritrosit membranında oksidatif hasara, hücresel dehidratasyona, normal membran fosfolipid asimetrisinin kaybolmasına ve adezyonun artmasına neden olur. HbS fibrillerinin çökmesi, sadece dönüşümsüz olarak oraklaşan hücrelerde değil,

normal hücrelerde de oksidan hasara yol açar. HbS'in jelasyon (donmuş katı) formu kan viskozitesinde değişikliklere, hücre morfolojisinde bozulmaya ve OHA'nin klinik bulgularını oluşturan organ infarktlarına yol açar. HbS jelasyonu her zaman klasik morfolojik oraklaşmaya neden olmayabilir ayrıca "holly leaf" ve "granular" şekilli kırmızı kan hücreleri (RBC) de üretilebilir (13, 27). Eritrositlerin membranında oksidatif hasar sonucu oluşan serbest radikaller, potasyum permeabilitesini artırmaktadır. Eritrositlerde oksidatif hasar devam ettikçe K<sup>+</sup>ün hücre dışına akışı giderek artar, Na hücre içine girer. Böyle bir etki oksidatif hasarın derecesine bağlı olarak OHA'da eritrositlerde ciddi dehidratasyona yol açabilir. (33). Deoksijenasyon hücre içine Ca girişini 5 kat arttırır buda veziküllerde Ca toplanması ile sonuçlanır. Ca'un hücre içine bu girişi Ca bağımlı K kanallarını aktive etmek için yeterlidir. Ca'un hücre dışına çıkmasını sağlayan Ca<sup>+2</sup> ATPaz pompasının aktivitesi azalır. Total Ca miktarı artar. Hücrenin suya geçirgenliği azalır. Na K ATPaz pompası hücre içi elektrolit dengesini koruyabilmek için daha çok çalışır ve hücre içi ATP azalır. Sonuç olarak eritrosit membranında oluşan hasara bağlı hücre içinde Na<sup>+</sup> ve Ca<sup>+2</sup> iyonları artarken, K<sup>+</sup> iyonu azalır ve aşırı K<sup>+</sup> ile su kaybı eritrositlerde ileri derecede dehidratasyona yol açar. Dehidratasyona bağlı hücre içindeki suyun azalması ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonunu (MCHC) yükseltir. Hücre dehidratasyonu intraselüler HbS konsantrasyonunu arttırır, bu da hücreyi hızla oraklaştırır (34). Oraklaşmış hücreler endotele yapışma eğilimindedir, bu da vazooklüzyon kolaylaştırır. Bu fizyopatolojik olaylar sonucunda kronik kompensatuar hemolitik anemi, ilerleyici doku ve organ hasarı ve akut ağrılı vazooklüzif kriz gelişir.

### **2.5.2.3 Artmış Orak Hücre Adezyonu**

OHA'sinde orak hücrelerin vasküler endotele adezyonu artmıştır. OHA hastalarında yapılan çalışmada hastalığın kliniği ile eritrosit adezyonu arasında güçlü bir korelasyon olduğu bulunmuştur. Eritrosit ve endotel arasındaki bu anormal etkileşim OHA'indeki mikrovasküler oklüzyonun gelişmesini sağlayan başlatıcı bir faktör olur (35). OHA'indeki eritrosit öncülü olan dolaşıma çıkan retikülositlerin

endotele adezyonunun vasküler okluzyona katkı sağlar. OHA'inde kronik hemolitik aneminin sonucu olarak retikülositlerin dolaşımdaki sayıları artar. OHA'indeki bu retikülositlerin endotele, fibronektine ve trombospodine (trombositlerden salınır) bağlanması normal eritrositler göre daha fazladır. Retikülositler üzerinde very-late activation-antigen-4 (VLA-4/ $\alpha 4\beta 1$ ) ve glikoprotein IV (CD36) olmak üzere iki adezyon molekülü flow sitometrik yöntem kullanılarak saptanmıştır. Bu iki molekül matur eritrosit üzerinde saptanmamıştır. Retikülositler olgun eritrositlere dönüşürken retikülosit üzerindeki bu resöptörler kaybedilir. Glikoprotein IV (CD36) thrombospondin ve kollagenin bağlandığı bir resöptördür. İntegrin  $\alpha 4\beta 1$ ; fibronektin ve vasküler hücre adezyon molekülü-1' e (VCAM- 1) bağlanır böylece endotel aktive olarak sitokinlerin sentezi başlar. VCAM- 1 temel olarak endotel üzerinde düşük seviyede exprese edilir. İnterlökin 1 (IL-1) ve tümör nekrozis faktör-alfa (TNF-alfa) gibi sitokinler ve endotoksinler endotel hücrelerinin yüzeyinde VCAM-1, E-selektin, interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1), glikoprotein (GP)Ib'inin ekspresyonunu ve prokoagulanların üretimini artırır. Özellikle OHA'lı çocuk hastalar infeksiyonlara karşı daha duyarlıdır. İnfeksiyon VCAM- 1'in ekspresyonunu artıran TNF-alfa gibi sitokinlerin dolaşımdaki seviyesini artırır. TNF-alfa ve akut faz reaktanlarının düzeyi OHA'lı hastalarda yüksek bulunmuştur (36, 37) (Şekil 7).

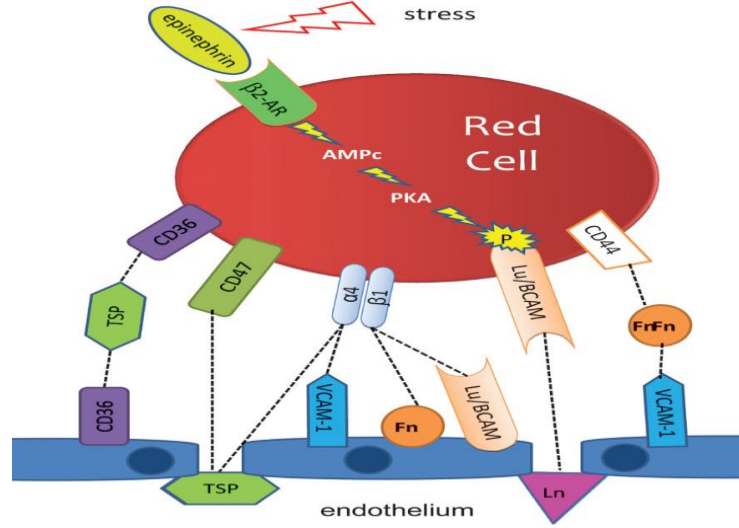


**Şekil 7:** Orak eritrositler ve endotel, subendotelyal matrix, plazma ligandları arasındaki adezyon etkileşimi. SO4 glikolipit= sulfatlanmış glikolipit; PS= fosfotidilserin; TSP= thrombospondin; FN= fibronektin; LM= laminin; VWF= von Willebrand faktör; SE matrix= subendotelyal matrix; HSPG= heparan sulfat proteoglikan; EPI=epinefrin; CD62P= P-selectin. Normal eritrositlerle karşılaştırıldığında orak eritrositler üzerindeki fosfotidilserin seviyeleri artar. Orak eritrositler anormal yapı fonksiyon aktivitesi sergiler ve üzerindeki adezyonla ilişkili moleküller artar (38).

Hipoksi ve sitokinler VCAM-1'in ekspresyonunu artırır. Hipoksi ayrıca İntegrin  $\alpha_4\beta_1$ 'in VCAM-1'e yapışmasını artırır. Özellikle İntegrin endotel hücrelerindeki vasküler adezyon molekülü (VCAM-1) ile etkileşerek artmış olan adezyonda önemli rol oynar. Orak hücreler CD47 integrin proteini ile immobilize thrombospondine bağlanır. Ayrıca çözünmüş thrombospondin eritrosit yüzeyindeki CD36 ile endotel yüzeyinde sentezlenen  $\alpha_4\beta_3$  (vitronektin reseptör), CD36, heparan sulfat proteoglikan gibi reseptörler arasında ligand oluşturarak köprü görevi görür. Eritrosit üzerine etkisi bilinmemesine rağmen von Willebrand faktör (vWF) kırmızı hücrelerin endotelyal  $\alpha_4\beta_3$  (vitronektin reseptör), glikoprotein Ib (GPIb)-IX-V kompleksiyle olan adezyonunu kolaylaştırır. Subendotelyal matrixdeki laminin orak eritrositlerdeki Lutheran kan grubu antijenlerini taşıyan B-CAM/Lu' ya güçlü bir şekilde bağlanması özellikle ilgi çekicidir. Stres durumunda epinefrin düzeyleri artar. Böylece epinefrin eritrosit yüzeyindeki reseptörüne bağlanarak hücre içi cAMP konsantrasyonunu artırır ve protein kinaz A yolunu aktive eder, B-CAM/Lu'nun



fosforilasyonuna, ekspresyonuna neden olarak bu adezyonu artırır (Şekil 8). Stres vazooklüzyonu başlatmak için potansiyel bir faktördür. Trombin endotel kontraksiyonuna ve P selektin ekspresyonunu neden olur. Tüm bu etkileşimler enfeksiyon ve inflamasyon durumunda OHA ve diğer hemolitik anemilerde vasküler komplikasyonları başlatabilir (38, 39).



**Şekil 8:** Stresle uyarılan orak hücrenin endotele adezyonu ve hücre aktivasyonu.  $\beta$ 2-AR= tip 2 adrenerjik reseptör; Fn= fibronektin; TSP= trombospondin; Ln= laminin;  $\alpha$ 4 $\beta$ 1=  $\alpha$ 4 $\beta$ 1 integrin (yâda VLA-4); PKA= Protein kinaz A (24)

Deoksijenasyondan sonra HbS polimerizasyonu hemen başlamaz. Eritrositlerin çoğu oraklaşmadan kapiller yataktan geçebilir ancak kapilleri geçme süresinin uzaması, HbS polimerizasyon zamanının azalması eritrositlerin oraklaşmasını belirleyen major faktör olabilir. OHA' de eritrositlerinin vasküler endotele anormal adezyonu kapilleri geçme süresinin uzamasına neden olur. Kapiller yatak boyunca eritrositlerin geçme süresi uzarsa deoksijenize durumda HbS polimerize olur. Oraklaşan eritrositler kan viskozitesini ve postkapiller obstrüksiyonu artırır. Akut ağrı krizi dolaşımdaki sitokinlerin artışıyla birlikte görülür. Total Hb ve deforme eritrositlerin yüzdesi ağrı krizinde azalması retikülosit sayısında artmaya buda bir sonraki ağrı krizine zemin hazırlayabilir (39).

Eritrositlerin mikrovasküler geçiş zamanının uzamasının nedenleri:

- a) Kırmızı hücrelerin vasküler endotele adezyonunun artması ve heteroselüler kümeleşmenin olması;
- b) Hücre dehidratasyonuna neden olan katyon dengesinin bozulması, geri dönüşümsüz oraklaşmış hücre ve dense hücre şekli;
- c) NO'nun azalmasına bağlı vazokonstriksiyon.

HbS polimerizasyon zamanının azalmasının nedenleri:

- a) Kırmızı hücre deoksijenasyonu;
- b) Hücre içi HbS konsantrasyonunun artması;
- c) HbF, HbA2 gibi koruyucu Hb tiplerinin azalması;
- d) pH'ın düşmesi (38).

#### **2.5.2.4 İnflamatuvar Durum ve Reperfüzyon Hasarı**

En son çalışmalar OHA'da ortaya çıkan inflamatuvar durumun ve reperfüzyon hasarının hastalığın fizyopatolojisinde önemli rol oynadığını göstermektedir. OHA'da görülen yüksek beyaz küre sayısının kronik inflamatuvar durumdan sorumlu olduğu düşünülmektedir (26).

OHA'sinde tekrarlayan enfeksiyonlar ve vaskülopati olur. Sonuç olarak lökositler ve vasküler endotel hücreler aktive edilir ve adezyon moleküllerinin ekspresyonları artar. OHA'sinde endotele ve diğer kan hücrelerine lökositlerin adezyonu vazookluzyona katkı sağlar. Lökositler tarafından yüksek seviyede adezyon moleküllerinin ekspresyonu hastalığın klinik şiddeti ile ilişkilidir. Hipoksik, enflamasyon damar yatağında oraklaşan eritrositlerin kalış süresinin uzamasına ve damar tıkanmasına yol açar (40).

Beyaz kan hücreleri ve mikrovasküler okluzyon: Beyaz kan hücreleri (WBC)'nin kırmızı kan hücrelerinden sayısı az olmasına rağmen mikrovasküler yatakta potansiyel olarak daha tıkaçıcıdır. Stabil OHA'sinde dalak fonksiyonlarının yokluğundan dolayı WBC seviyeleri kısmen artmış durumdadır ve ağırlı krizde

genellikle lökositoz görülür. Nötrofil yapışkanlığının anlamlı olarak arttığı rapor edilmiştir (13).

OHA'si kompleks, kronik inflamatuvar bir durumdur. OHA'sinde interlökün IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, CD40, TNF alfa, endotelin-1 gibi birçok inflamatuvar mediatörlerin plazma seviyesi yükselir. Bu sitokinler kırmızı kan hücreleri, entotelyal hücreler, lökositler, trombositler arasında etkileşim ve anormal adezyona sebep olurlar. İnflamasyon iskemi reperfüzyon hasarının bir sonucu olarak serbest radikaller üretir ve sitokinleri salar. OHA'si aynı zamanda koagulasyonu kronik aktive eden bir durumdur. Trombositlerin aktive olduğu, dolaşımdaki trombin ve doku faktörünün arttığı, antitrombotik olan protein S ve C seviyesinin normalden daha düşük olduğu ispat edilmiştir (15).

#### **2.5.2.5 Hemolitik Anemi**

Orak hücre hastalığının klinik bulguları küçük kan damarlarının tıkanması nedeniyle oluşan iskemik hasara ve kronik hemolize bağlıdır. Oraklaşan hücrelerin artan kırılabilirliğinden dolayı, damar içi hemoliz meydana gelir (22). Hemolizin anemiye, halsizliğe ve kolelitiyazise neden olmasının yanında ilerleyici vaskulopatinin gelişmesine katkı sağladığı gösterilmiştir. Epidemiyolojik çalışmalar kolelitiyazis, bacak ülseri, priapizim, pulmoner hipertansiyon gibi birçok komplikasyonun düşük Hb konstrasyonu ve intravasküler hemolizin artmasıyla ilişkili olduğunu belirtilmiştir. İntravasküler hemoliz boyunca Hb'nin dolaşıma salınması hastalığın önemli bir mekanizmasını oluşturur. Serbest plazma Hb'ini hidroksil ve süperoksit radikalleri gibi reaktif oksijen türlerini (ROS) üretir. Hemolizden dolayı Hem'den serbest Fe'in salınması oksidatif stresin kökenini oluşturur. Nitrik oksit (NO) genelde damar endotelinde üretilir, vazodilatasyon yapar ve trombositleri, nükleer faktör  $\kappa$ B (NF  $\kappa$ B)-bağımlı adezyon molekülü, VCAM-1, ICAM-1, ve selektini inhibe eder. İntravasküler hemoliz boyunca Hb'nin plazmaya salınması endotelyal NO sinyalini baskılar bu da endotelyal disfonksiyona ve NO direncine yol açar. Hemoliz aynı zamanda eritrosit arjinaz-1'i de plazmaya serbest

bırakır. Plazma arjinini arjinaz enzimiyle ornitine metabolize edildiği için NO için gerekli supstrat azalır. NO'nun azalmasıyla damar düz kas hücrelerinde yaptığı vazodilatasyon kaybolur ve vazokontrüksiyon gelişir. NO ve arjinin kronik azalması hemolitik hastalıklarda hiperkoagulasyon durumunun oluşmasına katkı sağlar. Vazooklüzyon boyunca OHA'sinde güçlü bir vazodilatör olan NO'nun azaldığı, vazokonstriktif olan endotelin-1'in arttığı gösterilmiştir. Birçok çalışma kandaki prokoagulan faktörler, trombosit aktivasyon seviyesi ve hemoliz oranı arasında korelasyon olduğunu göstermiştir. OHA'da fonksiyonel aspleniden dolayı eritrositlerdeki mikrovezikül sayısı artar. Mikroveziküller fosfatidilserin içerir. Fosfatidilserin ayrıca doku faktörünün bir aktivatörüdür (2, 24).

#### **2.5.2.6 Diğer Nedenler**

Bu temel mekanizmaların yanı sıra bazı etkenler de oraklaşmaya eğilimi artırır ve hastalığın kliniğinin ortaya çıkmasında önemli rol oynarlar. Bunlar; parsiyel oksijen basıncında azalma, aşırı fiziksel egzersiz, alkol, gebelik, hipotermi, emosyonel durum, kan yoğunluğunda artma, vasküler staz, oksihemoglobin eğrisinin sağa kaymasına neden olan pH azalması, hastalığa başka bir hemoglobinopatinin eşlik edip etmediği yüksek Hb S düzeyi, düşük Hb F miktarı, glukoz-6-fosfat dehidrogenaz (G6PDH) eksikliği ve 2,3 difosfogliserat düzeyinin azalmasıdır (11, 41).

#### **2.6 Klinik Bulgular**

OHA'daki klinik belirtilerin çoğunluğu kan akışkanlığının azalması ile ilgilidir. Kanın akışkanlığının azalması, eritrosit zarının katılığı, hemoglobinin polimerizasyonu ve hücre içi hemoglobin düzeyinin artışı gibi etmenlerle artmaktadır. Oraklaşmış hücrenin damar endoteline yapışkanlığının artması, dokuların perfüzyonunda azalmaya yol açar. Bu durgunluk dokuda oksijen doygunluğunun düşmesine ve daha sonra oraklaşmaya yol açan kısır döngünün

devamına neden olur. Sonuçta dalak, kemik iliği ve plasentada doku enfarktları ve fibroz görülür. Orak hücre anemisinde eritrositlerin yaklaşık 2/3'ü makrofajlar tarafından dolaşımdan uzaklaştırılır. Total hücre yıkımının 1/3'ü damar içinde olmaktadır. Oraklaşmanın düzelmesi sırasında mikroflamanların dökülmesi veya kapiller damarlardan oraklaşmış hücrelerin geçişi sırasında hemoliz gerçekleşir. Klinik bulgular: sarılık, karaciğer büyüklüğü, ilk beş yaşta dalak büyüklüğü, erişkinde otosplenektomi, kalpte özellikle mitral ve mezokardiyak odakta sistolik üfürüm, maksiler hipertrofi, büyüme ve gelişme geriliği, kısa boy, seksüel gelişmede gecikme ve gerilik olarak özetlenebilir (42).

Orak hücre anemisi olan bireyler yaşamlarının ilk altı ayında fetal hemoglobin (Hb F) varlığı nedeniyle genelde asemptomatiktir. Altıncı aydan itibaren Hb F'nin azalması ve Hb S'in artmasıyla birlikte belirtiler ortaya çıkmaya başlar. Orak hücre hastalarında anemi bulguları olmakla birlikte ağırlı kriz dönemleri dışında genellikle belirti vermezler. Erkek hastaların ortalama yaşam süresi 42, kadınların ise 48 yıldır. Fakat bu yaş sınırları hastalığın komplikasyonları ile değişkenlik gösterebilir. Oraklaşmış hücrelerin ortalama yaşam süresi 17 gündür. Aneminin şiddeti en fazla Hb S<sup>0</sup> talasemidedir. Hb S<sup>+</sup> talasemisi ve Hb SC hastalığında ılımlı bir anemi vardır ve orak hücre anemisi hastaları arasında  $\alpha$ -talaseminin eşlik ettiği bireylerde en hafif şeklinde seyreder. Hemolize ek olarak uygunsuz oranda düşük düzeydeki eritropoetin de anemiye katkıda bulunur (3). Hastalığın belirti ve bulguları çok değişik olup hematolojik ve hematolojik olmayan olarak ikiye ayrılır (41).

## **2.6.1 Hemotolojik bulgular**

### **2.6.1.1 Aplastik Kriz**

Aplastik kriz kemik iliğinde kırmızı hücre öncülerinin bulunmayışı, dolaşımdaki retikülositlerin yokluğu, Hb düzeyinde ani düşüş ile birlikte saf kırmızı hücre aplazisinin geçici atakları olarak tanımlanmıştır. Kısaca aplastik krizler eritrosit yapımının geçici olarak durmasıdır. Eritrosit üretiminin olmadığı bu evrede, hemoliz devam eder ve hayatı tehdit eden anemi gelişir. Aplastik krize neden olan viral infeksiyonların en önemlisi parvovirüs B19 infeksiyonudur. Parvovirüsün geç eritrosit öncülerinin farklılaşmasını engellediği ve hemolitik anemiler sırasında görülen geçici eritroid aplaziden sorumlu olduğu gösterilmiştir. Parvovirüs B 19, çocuklarda görülen aplastik krizlerin yaklaşık 2/3'ünden sorumlu tutulmaktadır. Fakat erişkinlerde yüksek oranda koruyucu antikörlerin bulunması sebebiyle, bu yaş grubunda krizin daha az nedenidir. Kemik iliği nekrozu aplastik krizin bir başka nedenidir ve ateş, kemik ağrısı, retikülositopeni ve lökoeritroblastik yanıt ile kendini gösterir (3, 43).

### **2.6.1.2 Hemolitik Kriz**

Hemolitik krizin karakteristik 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 eritropoetin yapımı, hemolizin düzeltilmesini sınırlar. Bu komplikasyon, hidroksiüre ve/veya rekombinant insan eritropoetini kullanılarak tedavi edilebilir. Kronik hemoliz folik asit depolarını tüketir ve potansiyel megaloblastik anemi ile sonuçlanır. Beslenme yetersizliği ile idrar yolundan demir kaybı beraberce 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 transferin düzeylerinin tespiti ile konur (3).

### 2.6.1.3 Vazooklüziv Ağrılı Kriz

Vazooklüziv, diğer deyişle ağrılı krizler genellikle hastalığın ilk belirtisidir ve yenidoğan devresinden sonra en sık karşılaşılan komplikasyondur. Ağrılı krizler genç yetişkinlerde daha sık görülmesine rağmen hem yetişkinlerde hemde çocuklarda hastaneye başvurular içinde en yaygındır. Akut vazooklüziv krizler genellikle kendi kendini sınırlaması ve kalıcı organ hasarına neden olmamasına rağmen hasta açısından en önemli komplikasyonlardan biridir. Akut ağrılı krizlerinin OHA'sinde görülme oranı yılda % 0,8, Hb S $\beta^0$  talasemilerde % 1, Hb S $\beta^+$  talasemilerde ve Hb SC'li hastalarda % 0,4'dür. Ağrılı atakların sıklığının fazla olması 20. yaştan sonra erken ölüm oranını arttırır. Hb SC hastalığıyla karşılaştırıldığında OHA'sinde düşük fetal hemoglobin, astım öyküsü, gece hipoksemisi ağrılı krizlerin görülme sıklığını arttırır (2, 44). Akut ağrılı atakları başlatıcı etkenler arasında soğuğa maruz kalma, aşırı sıcak, dehidratasyon, infeksiyon, menstruasyon veya alkol alımının yanı sıra anksiyete, depresyon, stres gibi emosyonel faktörler de sayılabilir. Başlatıcı neden hastaların % 80'inde infeksiyonlardır. Damar içi oraklaşma mikro ve makro dolaşımında 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, ekstremiteler ve karın bölgeleri en sık etkilenen bölgelerdir. Ağrının şiddeti önemsenecek kadar hafif veya katlanılamayacak kadar şiddetli olabilir. Ağrılı krizlere ateş, eklemelerde şişlik, hassasiyet, takipne, hipertansiyon, bulantı ve kusma gibi bulgular eşlik edebilir (4).

Ağrılı kriz sırasında periferik yaymada oraklaşmış hücre yoğunluğunda artma, eritrosit yıkımında artış, CRP (C reaktif protein),  $\alpha$  1-glikoprotein, transferrin gibi akut faz reaktanlarının düzeylerinde artma, serum LDH, interlökin (IL)-1, IL-6, IL-8, tümör nekrozis faktör (TNF)- $\alpha$ , substans-P gibi sitokinlerin düzeylerinde artma 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 süresini kısaltır (11, 12, 41).

## **2.6.2 Hematolojik Olmayan Bulgular**

### **2.6.2.1 Büyüme Geriliği**

Oraklaşma (sickling) sendromu büyüme ve gelişmeyi etkiler. Büyüme geriliği boydan çok vücut ağırlığını etkiler ve görülme sıklığı açısından kız ve erkek cinsiyet arasında belirgin fark yoktur. Erişkin dönemde genellikle normal boya ulaşılırken, kilo normal seviyenin altında seyreder. Yaşa göre düşük ağırlık ve boy, iskelet maturasyonunda gecikme, pubertanın gecikmesi OHA’inde kronik malnutrisyonla (yetersiz beslenme) uyumludur. Artmış metabolik gereksinimini karşılayamayan enerji alımı fiziksel ve cinsel gelişimde gecikmeye sebep olmaktadır (3, 45).

### **2.6.2.2 Kemik ve Eklem Hastalığı**

OHA’inde kemik tutulumu hem ağrılı vazookluzif krizlerde, hemde kronik ilerleyici sakatlık yapan avasküler nekroz durumunda görülen en yaygın klinik belirtilerden biridir. Orak hücre anemili hastalarda kemik iliğindeki genişleme ve tekrarlayan kemik infarktları iskelet değişikliklerine neden olur. Vertebralarda düzleşme ve aseptik nekrozlar görülebilir (46). 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 infeksiyonları düşündürür. Ağrı ve hareket kısıtlılığına yol açan femur başı osteonekrozu OHA’nın en önemli komplikasyonlarından biridir. Yüksek hematokrit ve kan viskozitesi riski artırır. Ortalama eritrosit hacmi (MCV) ve serum aspartat aminotransferaz enzimi seviyeleri avasküler nekroz ile negatif korelasyon gösterir



(47). Ortopedik problemler çocukluk çağında başlar. Kemik iliği hiperplazisi büyüme bozuklukları ve osteoporozu neden olabilir. Ayrıca osteomyelitte çok yaygın görülür ve kemik infarktından ayrımı zor olabilir. Vertebra grafisinde görülen balık ağzı anomalisi orak hücre hastalığı için karakteristiktir. Kalça ve omuz gibi ağırlık taşıyan eklemlerin avasküler nekrozu kronik ağrıya neden olur ve cerrahi müdahale gerektirebilir. OHA’inde enfeksiyonların görülme sıklığı ve protezdeki başarısızlık oranı artmıştır. Kemik iliği enfeksiyonunun teşhisi için kemik iliği aspirasyonu ve radyonükleotid görüntüleme genellikle yapılır. (48). Periost reaksiyonu da ağırlı kriz sırasında görülen bir diğer önemli komplikasyondur.

### **2.6.2.3 Genitoüriner Sistem Hastalığı**

Priapizm penisin venöz drenajının vazookluzif tıkanıklığından dolayı ağırlı ereksiyon güçlüğüdür. Erkeklerin %89’u erişkinlik döneminde en az birkez priapizm atağı geçirirler ve bu atak uzarsa cinsel güçsüzlük (impotans) oluşabilir. Orak hücre hastalarının %30’unda priapizm gelişir. Tekrarlama olasılığı %50’dir. Priapizmde korpus kaverosum oraklaşan hücrelerle tıkanmıştır, glans penis ve korpus spongiosum ise korunmuştur (11, 12).

Böbrekleri tutan vazooklüziv olaylar siktir fakat genellikle belirti vermezler. Böbrek medullasında nekroz, yan ağrısı ve kostovertebral aç hassasiyeti ile belirti verebilir. Böbrekte vasa rectanın tıkanması medullaya kan akımını zorlaştırır, distal renal tübüllerde hasar olur ve papiller nekroz ile tip IV renal tubuler asidozise neden olur. Papiller nekroz makroskopik veya mikroskopik hematüri oluşumuna neden olur. Çocukluk çağındaki en erken oluşan bulgu hipostenüridir. Hipostenüride böbrek idrarın maksimum konsantrasyonu sağlayamaz ve dehidratasyon gelişir. Son zamanlarda OHA’inde renal medüller karsinomunda görüldüğü rapor edilmiştir. Bu yüzden tüm hastalar hematüri yönünden dikkatli bir şekilde incelenmelidir. Proteinüri kronik böbrek yetmezliğinin (KBY) potansiyel bir habercisi olabilir. OHA’inde KBY %5’in üzerinde görülür. Hastalar yüksek doz eritropoetinle tedavileri gerekebilir (48).

#### **2.6.2.4 Hepatobiliyer Sistem Etkileri**

OHA'sinde vaskuler komplikasyonlardan dolayı sık sık kan transfüzyonu yapılır buda hastaların viral hepatitlere hepatit C ve B gibi yakalanma riskini arttırır, aşırı demir birikmesine ve safra kesesi taşları oluşmasına neden olur. Tüm bunlar karaciğer hastalıklarının gelişmesine katkı sağlar (49, 50). Kronik hemolizden dolayı unkonjuge bilirübün seviyesi artar. OHA'sinin genellikle son dönemlerinde siroz oldukça yaygın görülür (51). Ayrıca serum aminotransferaz (AST) seviyeleri hemolizden dolayı artmıştır. Alanin aminotransferaz (ALT) ve AST vazookluzif krizlerin neden olduğu hepatik iskemiden dolayı yükselir (52). Ağrılı krizlerde serum alkalin fosfataz yüksekliği yaygın görülür (53). OHA'sinde renal tübüler epitelyum hücrelerinden aşırı miktarda çinko atılır (54). Deforaksamin (demir bağlayıcı şelatör ajan) tedavisi de idrar ve fekal yolla çinko kaybına neden olur (55). Çinko eksikliğide hiperamonyemiye neden olur (56). Karaciğer histolojisinde proksimal sinozoidlerde dilatasyon, eritrofagositoz, Kupffer hücre hiperplazisi ve hemosiderozis görülür (57). Normal kişilere göre OHA'sinde viral hepatit görülme sıklığı artmıştır. Kronik hepatit B %0-3, kronik hepatit C %10-20 oranında görülür (58, 59). Kronik hiperbilirubinemi, safra kesesi taşları, kolelitiazis, hepatomegali OHA'da sık görülen bulgulardandır. Hastaların üçte ikisinde hepatomegali ve %75'inde safra kesesi taşları vardır. Safra kesesinde bilirubin taşları sıktır, yaş ile birlikte artar. Prevalans direkt olarak hemolizin şiddeti ile doğru ilişkilidir. Tüm hastaların yaklaşık %70'inde görülür. OHA'da görülen intrahepatik kolestaz nadir ancak ciddi bir komplikasyondur. Sık yapılan kan transfüzyonlarından dolayı hastaların tamamı viral hepatitler açısından taranmalı ve hepatit A ve B'ye karşı aşıları yapılmalıdır (3, 52).

#### **2.6.2.5 Akut Splenik Sekestrasyon Krizi**

Akut Splenik Sekestrasyon Krizi henüz otosplenektomi gelişmemiş OHA hastalarında dalağın ani ve hızlı olarak ileri derecede genişlemesi sonucu eritrosit kütlelerinin büyük bir kısmının dalakta tutulmasıdır. Akut splenik sekestrasyon krizi,

OHA hastalarında önde gelen ölüm nedenlerinden birisidir (60). Akut Splenik Sekestrasyon krizi her yaşta görülebilmesine rağmen çocuklarda daha sık görülür. En sık üst solunum yolu infeksiyonu ve akut göğüs sendromu ile birlikte görülmektedir. İlk ataktan sonra hastaların % 49'unda tekrar ettiği saptanmıştır. Karakteristik özellikleri aneminin ani olarak artışı, retikülositoz, hassas ve büyük dalak ve bazen hipovolemi bulgularıdır. Oraklaşan hücrelerin dalaktaki kan dolaşımını tıkaması hemoglobin yoğunluğunda azalma ve dalakta ani büyüme ile kendini gösterir ve hayatı tehdit edebilir. Klinik olarak hastalarda aniden başlayan halsizlik, solukluk, solunum sıkıntısı, taşikardi, hipotansiyon karın şişliği, karnın sol tarafında ağrı, kusma ve şok görülmektedir. Klinik bulgular bazen hastanın hastaneye ulaştırılmadan kaybedilebileceği kadar hızlı ilerleyebilmektedir. Dalakta trombositler de yıkılabilir ve bu durum orta derecede trombositopeni ile sonuçlanır. Bakteriyel sepsis OHA hastalarında en sık ölüm nedenlerinden biridir. İnfeksiyon insidansındaki artma konakçı immünitesindeki bozukluklardan kaynaklanmaktadır. Dalağın hem intravasküler alandaki partikülleri temizleme hem de antikor sentezleme fonksiyonları bozulmuştur. Çocukluk çağı boyunca dalakta oluşan küçük nekrozlar dalak işlevlerinin kaybolmasına neden olarak özellikle pnömokok gibi kapsüllü bakterilerin oluşturduğu infeksiyonlara karşı duyarlılığın artmasına neden olur. Yaşamın ilk 18-36 ayında sıklıkla dalak nekrozları oluşur. Bu nedenle aşılama, profilaktik penisilin uygulaması ve ilk ataktan sonra dalağın alınması önerilir (3, 12, 22, 61) .

#### **2.6.2.6 Kardiyovasküler Sistem Etkileri**

Orak hücre hastalığına özgü bir kardiyomiyopati yoktur fakat hastalarda kardiyak durumun mutlaka değerlendirilmesi gerekir. Çocukluk çağından itibaren kronik anemiye bağlı olarak kalp atım hacminde artış, kalp odacıklarında veya boyutlarında büyüme başlar. Egzersiz kapasitesinde azalmaya ve kardiyak kapasitenin 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 kardiyolojik hastalık olmaksızın kalp damarlarını orak hücrelerin tıkanması nedeniyle kalp krizi meydana gelebilir (3).

### **2.6.2.7 Akut Göğüs Sendromu**

Akut göğüs sendromu orak hücre hastalarındaki hastaneye en sık 2. başvuru nedenlerindedir. Akut göğüs sendromu akut akciğer hasarı ve en az bir akciğer segmentinde alveoler pulmoner infiltrasyonun görülmesi olarak tanımlanmıştır. İnfeksiyon, yağ embolisi, pulmoner damarlarda vazookluzyon sonucunda akut göğüs sendromu gelişir. Kliniği çeşitlilik gösterir, hastaların %13 mekanik ventilasyona ihtiyaç duyar, %3' de ölür (2). Plöretik tipte göğüs ağrısı, ateş, lökositoz, akciğerde yeni ortaya çıkan infiltrasyon, öksürük, dispne ve takipne akut göğüs sendromunun başlıca belirtileridir. Çocuklarda ateş ve öksürük daha sık görülür, akut göğüs sendromuna bağlı göğüs ağrısı nadir görülür. Akut göğüs sendromu orak hücre hastalarının yaklaşık %30'unda görülür ve erişkinlerde hastalığa bağlı ölümlerin %25'den daha fazlasından sorumludur. Bu sendromun 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 iki günden sonra görülür. Kesin tanı aracı olan anjiyografi ile akciğer damarlarındaki tıkanma gösterilebilir. Akut göğüs sendromu tanısı alan hastalar mutlaka hastaneye yatırılmalıdır. Tekrarlayan akut veya subakut pulmoner krizler sonuçta pulmoner hipertansiyon ve kor pulmonaleye yol açabilir (9, 62). Akut göğüs sendromu geniş spektrumlu antibiyotikler, bronkodilatörler ve oksijenle tedavi edilir. Hemogloblin konsantrasyonu büyük oranda azalır ya da hastanın kliniği kötüleşirse kan transfüzyonu genellikle verilir. Dexametazon kliniği düzeltebilir ve kan transfüzyon ihtiyacını azaltabilir ancak enfeksiyon gelişmesine ve tekrarlayan ağrı krizlerine neden olabileceği için kortikosteroidlerin kullanımı sınırlıdır (2).

### 2.6.2.8 Santral Sinir Sistemi Olayları

OHA'de görülen en ciddi komplikasyonlardan biridir. Hem çocuklar hem de erişkinler akut santral sinir sistemi (SSS) olayları için yüksek risk altındadır. OHA'sindeki SSS patofizyolojisinde hemolitik anemi ve NO metabolizması merkezi bir role sahiptir. Major serebral damarların oklüzyonu, intraserebral veya subaraknoid hemoraji en sık karşılaşılan olaylardır. "Moya moya" olarak adlandırılan mikroanevrizmalara rastlanabilir (63). Çocuklarda görülen inmenin en yaygın sebeplerinden biri OHA hastalığıdır. Çoğu olguda distal internal karotid ve orta serebral arterdeki etkilenmenin nedeni vaskulopati ile ilişkili olabilir. İnmenin mekanizması tam olarak belli olmamasına rağmen anemi, lökositoz, hipoksi, endotel hasarı, NO eksikliği gibi faktörler vaskülopatinin gelişmesine katkı sağlar. İnme 2-5 yaş arasında %1,02 oranında görülür. Vaskulopati çocukluk döneminde başlıyor gibi görünmektedir. Vaskulopati transkraniyel dopler taraması yapılarak erken tanısı mümkündür. Düzenli kan nakli yapılan OHA'li hastalarda HbS'i %30'un altında tuttuğu için inme riskini %90 azalttığı gösterilmiştir. İntra kranial kanama tüm yaşlarda görülür, en sıkda 20-30 yaşları arasında görülür (2).

### 2.6.2.9 Bacak Ülserleri

20-50 yaş arasında yetişkin hayatta kronik bacak ülserlerine sıklıkla rastlanır. Bacak ülserleri ya kendiliğinden gelişir yada lokal travmaların uzun sürmesi neticesinde iç ve/veya dış malleol çevresinde olmak üzere alt ekstremitte distalinde ortaya çıkar. Oraklaşmaya bağlı damarlarda tıkanıklık, venöz ve kapiller basınçta artma, ikincil bakteriyel enfeksiyonlar ve kanın O<sub>2</sub> taşıma kapasitesindeki azalma bacak ülserlerinin gelişmesine neden olmaktadır. Malleol bölgesini besleyen damarlarda kan akımı yavaş olduğundan travmaya dirençsizdir. Sekonder enfeksiyon kolaylıkla bu bölgeye yerleşebilir, sık tekrarlar ve geç iyileşir. Hastaların yaklaşık %5-10'unda görülür. Erkek hastalar ile yaşlılarda daha sık,  $\alpha$ -talasemisi olan hastalarda ve yüksek Hb F oranı olan hastalarda daha az görülür (64).

### 2.6.2.10 İnfeksiyon

Bakteriyel enfeksiyonlar OHA'li çocuklarda morbidite ve mortalitenin major nedenlerinden biridir. Dalak fonksiyonlarında bozulma, kompleman aktivasyonu, yetersiz beslenme ve doku iskemisi gibi birçok neden çocukların enfeksiyonlara hassasiyetini artırır. Stereptokokus pneumoniae, Haemophilus influenza ve atipik Salmonella türleri enfeksiyonların önemli nedenlerinden biridir. S pneumoniae, H influenzae karşı immünizasyon ve penisilin proflaksisi yapılabilir (2).

### 2.6.3 Tanı ve Tarama

Hastanın öyküsünde ırk, geldiği yöre, aile öyküsü, yakınmalarının başlangıç zamanı ve tetikleyen etkenler değerlendirilmelidir. Tam kan sayımında retikülosit yüksekliği ile giden aneminin olması, periferik kanda ise orak hücrelerin görülmesi hastalık için tipiktir. Hematolojik laboratuvar testlerinden tam kan sayımı ve periferik yaymada; Hb ve Hct düşük, eritrosit indekslerinden MCV, MCH ve MCHC normal, RDW yüksek bulunur, retikülositoz vardır, kemik iliğinde eritroid hiperplazi saptanır, oraklaşma testi pozitifdir. Şüpheli olgularda oraklaşma testi yapılmalıdır. Orak hücre hastalığının tanısı hemoglobin analizine dayanır. Bu analiz ucuz, dünya çapında ulaşılabilen elektroforez ve kromatografi teknikleri kullanılarak yapılır. Asit ve alkali pH'da yapılan elektroforezde HbS saptanır, HbA2 ve HbF'in de varlığı tayin edilmelidir. Hemoglobin elektroforezinde S bandının görülmesi tipiktir. HPLC (High-performance liquid chromatography) ve DNA analizi gibi yüksek duyarlılık testleri tanıda kullanılabilir. Aile fertlerinin ve potansiyel ebeveynlerin genotiplendirmesi genetik öğütleme yönünden öneme sahiptir. Yılda üç krizden fazla hastaneye yatış gerektiren ağırlı krizler, kronik nötrofili, splenik sekestrasyon, el-ayak sendromu öyküsü, akut göğüs sendromunun tekrarı hastalanma ve ölüm oranını arttıran etmenlerdir. Serebro vasküler olay öyküsü olan hastalar tekrarlayıcı ataklar yönünden daha yüksek riske sahiptirler ve yakından izlemi gerektirirler. Son birkaç

yıldır yapılan neonatal taramayla akut splenik sekestrasyon gibi komplikasyonların erken tespiti mümkündür. Ebeveynlerin eğitimi, kapsamlı bir tedavi ve penisilin profilaksisi ile OHA'sinin yaşam süresi uzatılabilir (2, 12, 42, 61).

#### **2.6.4 Laboratuvar Bulguları**

Orta ve ağır derecede normokrom normositik anemi görülebilir. Ortalama hemoglobin değeri 7,5 g/dL olmakla beraber 5,5 – 9,5 g/dL arasında değişmektedir. Periferik yaymada; oraklaşmış eritrositler, ovalositler, puro şeklinde hücreler ve target hücreleri görülür. Eritrositözün artması nedeniyle normoblastlarda artış ve polikromatofili olabilir. Retikülosit %8-12 arasında olup dalak fonksiyon yetersizliği nedeniyle Howell-Jolly ve pappenheimer cisimcikleri görülebilir. Eritrosit yapımı artmış, ömrü kısalmıştır. Kronik hemoliz nedeniyle, serum indirekt bilirubin düzeyi artar, haptoglobin düzeyi düşer. Granülositlerin dolaşıma geçmesiyle beyaz kürelerde artış olur (genellikle 12.000 – 15.000/mm<sup>3</sup>). Alkalen fosfataz, enfeksiyonda yükselirken vazookluzif krizlerde normal bulunur. Trombositler, dalakta göllenmenin olmaması nedeniyle 6-7 kat artabilir. Mega trombositlerdeki artış özellikle kemik iliği infarktlarında belirginleşir. Vazookluzif krizlerde, toplam trombosit sayısı ve megakaryositler azalmaktadır. Eritrosit sedimantasyon hızı (ESR); anemi, hiperfibrinojemi ve aktif enflamasyonda bile düşük bulunur. Çünkü oraklaşmış eritrositler rulo formasyonu oluşturamaz. Serum laktat dehidrogenaz (LDH), hemolizin arttığı durumlarda ve vazookluzif ataklarda yüksek bulunur. Serum alkalen fosfataz, semptomatik krizlerde yüksek ölçülebilir (65).

## 2.6.5 Tedavi

Hastalığın halen kesin tedavisi yoktur. Semptomatik tedavi yapılır. Destekleyici tedavi, semptomatik ve önleyici yaklaşımları içeren palyatif tedaviler devam etmektedir. Motivasyon ve eğitim destekleyici tedavinin temelini oluşturur. Ağrılı krizlerin tedavisi, kan transfüzyonu, organ yetmezliklerinin tedavisi septomatik tedaviyi oluşturur. Kan transfüzyonunda lökositlerden arındırılmış C, E ve Kell antijeni ile işaretlenmiş olan seçilmelidir. Exchange transfüzyon aşırı demir yükünü önlemek ve geciktirmek için yapılır. Penisilin profilaksisi, hidroksiüre önleyici terapileri oluşturur. İnmede exchange transfüzyonu yapılması tercih edilir. Gardos ve KCl ko-transport kanalını inhibe eden ajanlar kullanılmamalıdır. Kemik iliği nakli ve kord kanı transplantasyonu hastalığı iyileştirici (küratif) tedavi sağlayabilir (26). Hematopetik kök hücre nakli günümüzde tek kesin tedavi yöntemidir. Fakat yalnızca çocuklarda etkili ve güvenlidir. Orak hücre anemisi tedavisinde en belirgin ilerleme, şiddetli belirtileri olan hastalarda hidroksiürenin tedavide kullanılmasıdır. Hidroksiüre HbF miktarını arttırarak oraklaşmayı ve ağrı krizlerinin sıklığını azaltır. Akut göğüs sendromu veya yılda üçten fazla hastaneye yatış gerektiren ağrı krizleri olan hastalarda hidroksiüre verilmesi düşünülmelidir. Bu ajanın orak hücre anemisinin diğer komplikasyonları olan priyapizm ve retinopati sıklığını azalttığı da gösterilmiştir. Uzun süreli yan etkileri halen değerlendirilmektedir. Akut ağrılı krizlerin tedavisi, yoğun hidrasyon, enfeksiyon gibi alta yatan nedenlerin değerlendirilmesi ve ayaktan ve/veya ağrı pompası ile kuvvetli narkotik analjeziklerin verilmesidir (42, 66). Opiyat analjezikler ketoprofenden yarar görmeyen hastalarda şiddetli ağrının tedavisindeki ana ilaçlardan biridir. Hastaneye kabulün ve tekrarlayan ağrının son derece sık olmasından dolayı genellikle kullanılması durdurulmuş olmasına rağmen kortikosteroidler akut ağrı nöbetlerini kısaltabilir (2). OHA'sinde membran lipitlerindeki hasardan dolayı omega-3 yağ asitlerinin oranı azalır. Omega-3 yağ asitlerinin kullanımı P-selektin ekspresyonunu ve orak hücre krizlerinin sıklığını azaltır (40).



## 2.7 Orak Hücre Anemisi Ve İnflamasyon

OHA'si günümüzde kronik inflamatuvar bir durum olarak tanımlanmıştır (6). OHA'si düşük derece inflamasyon ve endotel aktivasyonunun olduğu bir hastalıktır. Kronik inflamasyon ve intravasküler hemolizin bir sonucu olarak endotelde disfonksiyon ve aktivasyon gerçekleşir (67). OHA'si temel olarak endotel aktivasyonu ile birlikte inflamatuvar bir durum olarak karşımıza çıkar. Bu durum muhtemel reperfüzyon hasarına, yapışkan eritrositler ve lökositlerin yakın etkilerine bağlıdır. OHA'sinde koagülasyon aktive olmuştur. Vazo-regülasyon bozulmuştur ve kronik bir vaskulopati vardır (7). Vazooklüzyon OHA'sinde organ disfonksiyonlarının ana sebeplerinden biridir. Çalışmalar arttıkça vazo oklüzyonunun oraklaşmış eritrositler, lökositler, endotelial hücreler, trombositler ve plazma proteinleri gibi farklı hücrelerin arasındaki etkileşimi içeren çok geniş bir mekanizması olduğunu göstermektedir. Bu etkileşimler iskemi reperfüzyon hasarına ve endotel aktivasyonuna neden olur. Ayrıca intravasküler hemolizin bir sonucu olarak NO'nun azalması endotel disfonksiyonuna neden olabilir. Vazo oklüzyon, sırasında endotelial kırmızı kan hücreleri, lökositler ve trombositlerle etkileşime girerek OHA'sinin patofizyolojisinde önemli bir rol oynar (67). Oraklaşmış kandaki dolaşan endotel hücreleri anormal bir şekilde aktive olur ve proadheziv (VCAM, ICAM, selectins,  $\alpha\beta3$  için pozitif), prokoagulan (doku faktörü için pozitif) ve oksidatif özellik (hem-oksijenaz -1 upregüle olur) kazanır. Orak hücre hastalığında kronik bir lökosit yüksekliği vardır. Lökositlerin yarı ömrü kısalmıştır. Granulositler ve monositler anormal bir şekilde aktive olmuştur (7). Yükselmiş bazal lökosit sayısı erken ölüm riskinin artmasıyla ilişkilidir ve lökositler vazooklüzif olayların ortaya çıkmasında önemli bir rol oynayabilir. Mikro dolaşımdaki tıkanıklık ve de infeksiyonlar oksidatif stresi uyaran, sitokinleri ve akut faz proteinlerini üreten önemli bir faktördür. Sitokinler OHA'deki vazooklüzif patogeneze katkı sağlayan çeşitli mekanizmalara katılır. Bunlar vasküler endotelial aktivasyon, eritrosit ve lökositlerin damar endoteline adezyonunun başlaması, damarda intima hiperplazisinin gelişmesi, trombosit aktivasyonu, endotelin-1 üretimini ve endotelial apoptozisin bozulmasını içerir (6).

Damar endoteli dokudan kanı ayıran fiziksel bir bariyer oluşturur. Çeşitli kan hücreleri ve adezyon molekülleri için resöptör taşır. Vasküler tonusu düzenler, antikoagulan ve prokoagulan arasındaki hassas dengenin korunmasına yardımcı olur. İnflamatuar yanıtta önemli bir katılımcıdır. Entotel hücrelerinin bazal durumunun bozulması halinde VCAM ve selektinler gibi adezyon molekülleri ortaya çıkar, trombomodülin ve TFPI (doku faktörü yolu inhibitörü, tissue factor pathway inhibitor) azalır, doku faktörü, von Willebrand faktör (vWF) artar ve prokoagulan bir özellik kazanır. İnflamasyon biyolojisinde eşlik eden birkaç tipik durum olur. Bu durumlar nitrotirozinle dokuların değişikliği, koagulasyon sistemin aktivasyonu, çözülmüş VCAM seviyesinin artması, bazen trombositlerin kanda yükselmesidir. Ayrıca endotel ve monositlerden kaynaklanan mikroveziküllerin sayısı artar. IL6, TNF $\alpha$ , IL1 $\beta$  gibi inflammatuar mediatörler, CRP, sekretuar fosfolipaz A2, G-CSF gibi akut faz reaktanlarının seviyesi yükselir. (Tablo 4) IL-6 akut faz yanıtının anahtar uyarıcısıdır. Bu biyolojik mediatörlerin akut ağrı krizlerinde seviyeleri daha yüksekken stabil OHA'sinde genel olarak düzensiz seyretme eğilimindedirler. Bu kişiler arası heterojeniteden dolayı olabilir. Orak farelerde lökositoz, oksidan ürünlerin artması, entotel hücrelerle lökositler arasında anormal etkileşim, akut faz reaktanlarının artması, NF- $\kappa$ B'nin aktivasyonu, damar duvarında ksantin oksidaz birikimi, endotel aktivasyonu olduğu gösterilmiştir. İnsanlar bu transgenik farelerde görülen inflammatuar fenotiple benzer özellikleri paylaşır (7).

**Tablo 4:** Orak hücre hastalığında yükselen, endotelial moleküller, inflamatuvar mediatörler ve akut faz reaktanları (7)

|              |                 |                            |
|--------------|-----------------|----------------------------|
| Hipoksi      | CRP             | Fibrinojen                 |
| Trombin      | VEGF            | Lökotrien B4               |
| TNF $\alpha$ | G-CSF           | Platelet aktivating faktör |
| INF $\gamma$ | GM-CSF          | Soluble P selektin         |
| IL1 $\beta$  | Endotelin 1     | Soluble VCAM1              |
| IL2          | 12-HETE         | Mikrovezikül               |
| IL4          | Peroksinitrit   | Sekretuar fosfolipaz A2    |
| IL6          | Serum amiloid A | Alfa 2 makro globülin      |
| IL8          | Endotoksin      | Homosistein                |
| TGF $\beta$  | PG E2           | İmmünglobülin              |
| TSP          | PG I2           | Soluble IL 2               |

**Not:** CRP, C reaktif protein; CSF, koloni stimulating faktör; 12-HETE, 12-hydroxyeicosatetraenoik asid; IL, interlökin; INF, interferon; PG, prostaglandin; TNF, doku nekrozis faktör; TGF $\beta$ , transforming growth faktör  $\beta$ ; TSP, thrombospondin; VCAM, vasküler cell adezyon molekül; VEGF, vasküler endotelial growth faktör

Bu endotel aktivasyonu ile ilişkili olarak OHA’inde dolaşımdaki endotel hücrelerinin sayısının arttığı gözlemlenmiştir. Bu endotel hücrelerinde doku faktörünün ekspresyonunun interselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1), vasküler adezyon molekülü-1(VCAM-1), E selektin gibi adezyon moleküllerinin arttığı gösterilmiştir. Sakamoto TM ve arkadaşlarını bu kanda büyüyen endotel hücrelerini model olarak in vitro bir çalışma yapmışlar. Bu çalışmada OHA’si ve sağlıklı kişilerden aldıkları periferik kandan hücre kültürü yapmışlar. OHA’inde bu endotel hücreleri adeziv ve inflamatuvar özelliklere sahiptir. SCA ve SCA’lı olmayan kişiler karşılaştırıldığında eritrositlerin kandaki bu endotel hücrelerine yapışması anlamlı olarak daha fazla bulunmuştur. SCA’daki bu endotel hücrelerinin proinflamatuvar olabileceği ve yüksek miktarda sitokin, IL-8 ürettiği bulunmuştur. IL-8 inflamasyonun olduğu bölgede endotelial hücreler ve lökositler tarafından üretilir. IL-8’in üretimi IL-1 ve TNF $\alpha$  tarafından düzenlenir. Başka bir çalışmada SCA’lı hastaların serumlarında IL-8 seviyesini yüksek tespit etmişlerdir. Bu sitokin nötrofil

aktivasyonuna neden olarak hastalığın patofiyolojisine katılır. Entotelin-1 (ET-1) inflamatuvar bir peptittir ve başlıca endotelde üretilir. Güçlü vazokontraksiyon yapar. OHA'li hastaların endotelinde ET-1 yüksek miktarda üretildiği gösterilmiştir (67).

Nötrofiller ve mononükleer hücreler sitokinler üretirler ve infeksiyon, inflamasyon da aktive olurlar. Hidroksiüre ile tedavi edilen OHA'li kişiler WBC sayısı, miyeloperoksidaz aktivitesi ve hücre adezyon özellikleri azalır. OHA'sinin patofizyolojisi ve klinik açıdan düzenlenmesinde lökositleri içeren önemli kanıtlar olmasına rağmen lökositlerin sayısının artması ile ilgili mekanizmalar açıklığa kavuşmamıştır. OHA'da mortalite ve morbiditenin işareti olan lökositoz gibi bir dizi klinik tablonun eşlik ettiği ilişkili birçok inflamatuvar durum mevcuttur. Önceki çalışmalarda Stabil OHA'sinde ve krizde TNF- $\alpha$ 'nın dolaşımdaki seviyelerinin yüksek olduğu gösterilmiştir. Stabil OHA'sinde IFN- $\gamma$ 'nın dolaşımdaki seviyesinde küçük bir artış bulunmuştur. IL-8 nötrofil aracılı akut inflamasyonda anahtar mediatördür. IFN- $\gamma$  reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşması ve salınması için ana tetikleyicilerden biri olduğu rapor edilmiştir. Bu proinflamatuvar sitokinin lokal üretimi kronik inflamatuvar durumu alevlendiren oksidatif stresde görev alabilir. C. Lanaro ve arkadaşları OHA'sinde TNF- $\alpha$  ve IL-8'in dolaşımdaki seviyelerini anlamlı bir şekilde daha yüksek olduğunu göstermişlerdir. Stabil OHA'si kontrolle karşılaştırıldığında nötrofillerdeki IFN- $\gamma$  mRNA ekspresyonunun anlamlı olarak arttığını ve başlıca inflamatuvarlardan olan PGE2'yi anlamlı olarak daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. PGE1'in de benzer şekilde aynı OHA'li kişilerde arttığı gösterilmiştir. Bundan önce de OHA'sinde kriz esnasında ve krizden sonra PGE2'nin artmış olduğu rapor edilmiştir. Prostaglandinler (PG) lipid mediatörleridir ve siklooksijenaz (COX) enzimi aracılığı ile araşidonik asitten hemen hemen tüm hücreler tarafından travmaya veya sinyal moleküllerine cevap olarak sentez edilir. PGE2 temel inflamatuvar mediatörlerden biri olarak bilinir. PGE2 cAMP bağımlı protein kinaz A aktivitesinin artmasıyla etkilerini gösterir ve fetal hemoglobin sentezini artırdığı tespit edilmiştir. Artan hücre içi cAMP düzeyi bazı koşullar altında lökosit ömrünü, nötrofil, kırmızı kan hücrelerinin (RBC) yapışkan özelliklerini artırabilir ve tüm bunlar OHA'sinin patofizyolojisine katkı sağlar. İnflamatuvar koşullar altında IL-1, IFN- $\gamma$ , NO, indüklenbilir NO sentaz (iNOS), bakteriyel

lipopolisakkaritler, ROS tarafından uyarılan COX-2 enzimi aracılığı ile PGE2 sentezlenir. COX-2 gen ekspresyonu OHA'li bireylerin mononükleer hücrelerinde ve nötrofillerinde anlamlı olarak değişmiş değildi ancak muhtemel COX-2 aktivitesinin uyarılması göz ardı edilmemelidir. iNOS enzimi doğrudan COX-2'ye bağlanabilir ve COX-2 enzim aktivitesini artırır. IL-1, TNF- $\alpha$ , bakteriyel lipopolisakkaritler, ROS gibi inflamatuvar uyarın varlığında iNOS endotel hücrelerinde ve inflamatuvar hücrelerden ekspresyon edilir. iNOS gen ekspresyonu OHA'sindeki nötrofillerde anlamlı bir şekilde artmıştır ve bu bireylerde muhtemel oksidatif stresin, inflamasyonun olduğunu yansıtır. iNOS hasara yanıt olarak endotel disfonksiyonu esnasında fonksiyonel endotelial NOS kaybını kompanse etmek için kan damarlarında up-regüle olabilir bu durum doku hasarına yol açan ROS üretimi ile ilişkili bir olasılıktır. İskemi-reperfüzyon hasarı, oksidatif stres, iltihap ve apoptozdan doku ve hücreleri koruyan indüklenebilir sitoprotektif hem oksijenaz (HO-1) enzimi hemoliz sırasında ortaya çıkan hemi parçalar. Bu enzim hem, hipoksi ve sitokinlerle transkripsiyonel seviyede uyarılır. Transgenik olarak farelerin organlarında HO-1 ekspresyonu yükselir ve C. Lanaro ve arkadaşları HO-1 gen ekspresyonu OHA'sindeki mononükleer hücreler ve nötrofillerde anlamlı olarak uyarılabildiğini bulmuşlardır. Bu OHA'sindeki organizma tarafından kullanılan anti-inflamatuvar mekanizmalarından biridir. Benzer şekilde IL-10 anti-inflamatuvar bir sitokindir ve daha önce SCA'lı hastalarda plazmada yükselmiş olarak bulunmuştur. IL-10 proinflamatuvar sitokinleri (IL- $\alpha$ , IL- $\beta$ , IL-6, IL-12, IL-18, TNF- $\alpha$ ), kemokinlerin (IL-8) üretimini sınırlandırır. IL-10 makrofajlar, dentritik hücreler, lenfositler ve lökositler tarafından üretilir. C. Lanaro ve arkadaşları hidroksiüre (HÜ) kullanan kişilerde IL-10 seviyesinin anlamlı olarak arttığını, nötrofillerde IL-10 mRNA üretiminin anlamlı olarak yükseldiğini, IL-10 gen ekspresyonu ile HbF arasında pozitif korelasyon olduğunu bulmuşlardır. HbF antiinflamatuvar IL-10'nun artmasında doğrudan bir role sahip olabilir. HÜ tedavisi bazı inflamatuvar sitokinlerin (TNF- $\alpha$ ) üretiminin azaltır, koruyucu mekanizmaları up-regüle eder ve bu hastalık üzerine faydalı etkileri gösterilmiştir (6).

**Klinik korelasyon:** Orak hücre hastalığında lökositöz mortalite ve sessiz iskemik inme, hemorajik inme, akut göğüs sendromu gibi major komplikasyonlar için bir risk oluşturur (7).

**İnflamasyonun sebepleri:** İnfeksiyon, demir yükünün artması inflamatuvar biyolojiye katkı sağlar. Orak hücrelerin anormal bir şekilde endotele yapışması hasar yanıtına sebep olur. Ayrıca kırmızı hücrelerin monositlere adezyonu inflamasyonun anahtar düzenleyicilerini doğrudan aktive ediyor gibi görünmektedir. Anemi ile olası bağlantısı monositleri doğrudan aktive eden plasenta growth faktör'ün (PIGF) eritropoetinle uyarılmasıdır (7).

**Reperfüzyon hasarının fizyolojisi:** Orak hücre hastalığında damar tıkanıklığı, oraklaşma, inflamasyonun tetiklediği olaylar tekrarlayan iskemi ve reperfüzyon döngüsüne neden olabilir. Reperfüzyon hasarı damar tıkanıklığının açılmasından kaynaklanan doku hasarı olarak tanımlanır. Reperfüzyon hasarı ATP'nin hipoksantine yıkılması, ksantin dehidrogenazın ksantin oksidaza dönüşümü ve ondan sonra tıkanan bölgeye kan akışının başlaması ve tekrar oksijenlenme sonucu süperoksit radikallerinin oluşmasını içerir. Mitokondri metabolizması ve inflamatuvar hücrelerin aktive olması, oksidatif stres, kan kaynaklı ksantin oksidazın damar duvarında birikmesi oksidan üretimine neden olarak bu mekanizmalara katkı sağlayabilir. Zararlı oksidanların üretimi proteinlerin oksidasyonuna, lipidlerin peroksidasyonuna, NF-κB'nin aktivasyonuna yol açabilir. Hipoksi- reoksijenasyona maruz kalan orak farelerde doku endotelinde doku faktörünün ekspresyonunun arttığı gözlemlenmiştir. NO sentezinin uzun süren inhibisyonu ve NO'nun azalması inflamasyona eğilimi artırır. Tüm bunlar reperfüzyon hasarına ve vasküler olayların gelişmesine neden olur (7).

**Kronik vaskülopati:** Büyük ve orta damarların duvarında intima hiperplazisi, internal elastik laminada bozulma vardır. Orak hücre hastalığında beyin, akciğer, umlikal kord, dalak, penis, böbreklerde küçük damar hastalığı vardır. Bu organlarda inme, pulmoner HT, fetal büyüme geriliği ve ölüm, otosplenektomi, priapizm, ve renal yetmezlik görülür. Aterosklerotik hastalıklarla OHA'sindeki vaskülopati

arasında benzer patofizyolojik değişiklikler görülür. Aterosklerozda inflamasyon OHA'sindeki gibi temel etyolojik faktördür. Orak vaskülopatinin tanımında aterosklerozun karakteristik yağlı çizgilenmesi belirtilmemiştir ve orak hastalar düşük kan lipitlerine sahip olma eğilimindedir. Entotel hücrelerinin IL1 $\beta$  ile uyarılması hücre membranında okside lipit ürünlerinin oluşmasına neden olur bu aterosklerozdaki erken inflamatuvar yanıtı tetikliyor gibi görünmektedir. CO'in artması ve NO'nun azalması OHA'sinde damar duvarı patobiyojisini etkileyebilir (7).

**Anjiogenik tonus:** Orak hastalığının klinik özelliklerinden anjiogenezis, artan anjiogenik tonusun katılımını içermektedir. Plazma VEGF ve PIGF düzeyleri artar. Her ikisinde proanjiogenik faktörlerdir. PIGF eritropoetin tarafından uyarılır. VEGF kronik hipoksi ve PIGF tarafından uyarılır. Eritropoietinin kendisi anjiogenezis teşvik edebilir. Anjiogenez birden fazla faktörün katıldığı çok karmaşık bir süreçtir. Orak kandaki dolaşan endotel hücrelerinde normal kanda dolaşan endotel hücrelerine göre daha az apoptozis görülür ve bu apoptotik hücreler VEGF seviyesi ile ters orantılıdır. Orak hastaların alt gruplarında telenjektazik yeni damar oluşumları eşlik eder. Bunlara 'moyamoya adı' verilir. Bu lezyonların varlığı anjiogenezisin olduğuna işaret eder (7).

Yetişkin orak hücre hastalarında pulmoner HT %32'nin üzerinde ve sol ventrikül diastolik disfonksiyonu %18'in üzerinde bulunmuştur. OHA'li hastalar anemi, kronik hemoglobin oksijen desaturasyonu, üst hava yolları tıkanıklığı, tekrarlayan vazookluzif ağrı krizler ve akut göğüs sendromundan dolayı hipoksiye maruz kalırlar. Kronik hipoksiye maruz kalan kişilerde pulmoner HT gelişme eğilimi vardır. Hiperkoagulopati, trombosit aktivasyonu, inflamatuvar yanıtın artması OHA'sinde pulmoner HT gelişmesine katkı sağlar. İL-6 ve TNF- $\alpha$  gibi inflamatuvar sitokinler, platelet derived growth faktör (PDGF) ve vasküler entotelial growth faktör (VEGF) gibi anjiogenik faktörler kardiyopulmoner komplikasyonların gelişmesine katkı sağlayabilir. OHA'da hemoliz ve hipoksi triküspüt yetmezliğini arttıran bir risk faktörüdür. Pulmoner HT pulmoner küçük damarlardaki düz kas hücreleri ve perisitlerin anormal çoğalması ile karakterizedir. PDGF anjiogenezisde damar düz

kas hücrelerini aktive eder ve düz kas hücreleri, fibroblastların çoğalmasını ve migrasyonunu uyararak pulmoner HT gelişmesini ilerletir. Ayrıca OHA'sindeki PDGF artması aktive olmuş trombositlerden salınmasına bağlı olabilir. Niu X ve arkadaşları PDGF plazma konsantrasyonu ve triküspit yetmezliğini anlamlı bir şekilde korele bulmuşlar ve stabil OHA'lerde kontrolle karşılaştırıldığında IL-8, IL-10 ve VEGF anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlardır (68).

## **2.8 C-Reaktif Protein Ve Yüksek Duyarlıklı CRP ( hsCRP)**

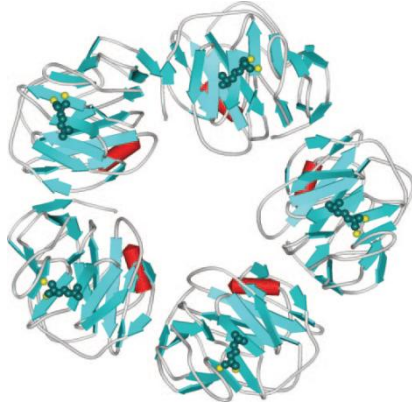
C-reaktif protein (CRP) inflamasyon markerlarından biridir. İlk kez 1930 yılında Tillet ve Francis tarafından akut enfeksiyonu olan hastalarda Streptococcus pneumonia'nın C polisakkaridine bağlanan akut faz proteini olarak tanımlanmıştır. CRP diğer akut faz proteinleri gibi mikrobiyal enfeksiyonlar, doku yaralanması, otoimmün hastalıklara yanıt olarak karaciğerden sentezlenir. İnterlökin-1beta (IL-1beta) ve IL-6 hepatositlerden CRP'nin sentezlenmesini güçlü bir şekilde uyarır (69, 70). Önceleri yalnız karaciğerden sentezlendiği düşünülürken, daha sonraları monositler, lenfositler, adipositler, aterosklerotik plaklar, koroner arter düz kas hücreleri, aort endotel hücrelerinde, Alzheimer hastalarının nöronlarında, inflamatuvar stimülasyondan (uyarılardan) sonra renal kortikal tübüler epitelinde de üretildiği bulunmuştur (70, 71).

### **2.8.1 CRP'nin Yapısı ve Bağlanma Özelliği:**

CRP dairesel pentamerik disk şeklindeki proteinlerden oluşan pentaksin grubunun bir üyesidir. CRP bir inflamasyon belirteci olmasının yanı sıra çok geniş, biyolojik özelliğe ve işleve sahiptir. Biyolojik özellikleri bağlanma yeteneğinden kaynaklanmaktadır. CRP 5 aynı protomerdan oluşan dairesel simetrik yapı oluşturan bir proteindir. Her bir altünitler (protomer) birbirlerine kovalen bağlanır. Herbir protomer tek bir polipeptit zincirden oluşan 206 aminoasitten oluşur. Bu altünitlerin moleküler ağırlıkları yaklaşık 23 000 Da'dur. 36 -78. pozisyonda 2 tane sistin



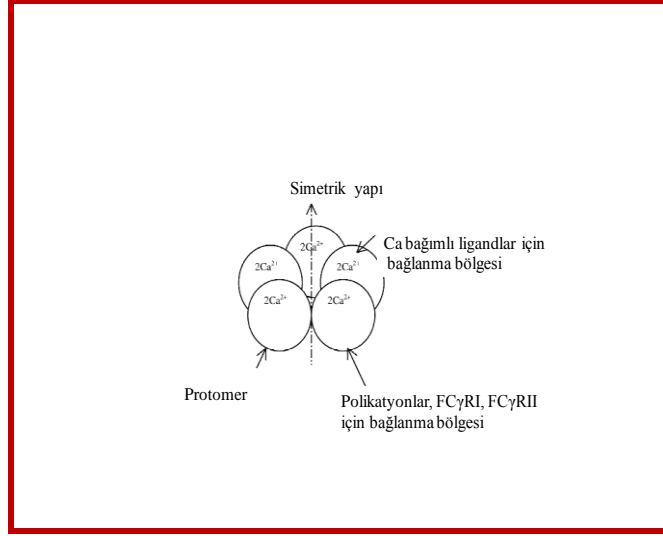
kalıntısı disülfit bağı içerir. (72). Bu protomerlerin her birinin yüzünde 2 tane  $Ca^{+2}$  dan oluşan fosfokolin için bağlanma bölgesi vardır. (Şekil 9) Fosfokolin, plazma lipoproteinleri ve hücre zarındaki fosfolipidler bakterilerin hücre duvarlarında bulunur. İnsan CRP'si membranların yapısal proteini olan fosfokolin ile kalsiyum(  $Ca^{+2}$ ) aracılı bağlanma yeteneğine sahip bir akut faz protein (AFP)'idir.  $Ca^{+2}$  iyonları fosfokolinin metil gruplarından oluşan hidrofobik kısma ve fosfat gruplarına bağlı bulunur (72, 73).



**Şekil 9:** CRP'nin fosfokolinle kompleks oluşturması; Ca iyonları sarı, fosfokolin yeşil renk ile gösterilmiştir (74).

Böylece CRP-Ca- fosfokolin (CRP-Ca-PCh) bileşimi oluşur. CRP komplemant faktör C1q ve faktör H'ya bağlanır. CRP-Ca-PCh bileşiminin C1q tarafından tanınması C3 konvertaz oluşumunu sağlar böylece klasik kompleman yolu aktive olur. Klasik kompleman yolunun aktive olmasıyla membran atak kompleksi tarafından fosfokolin içeren mikro organizmalar, ölü ve hasarlı konak hücreleri parçalanır ve fagositozise uğrar. Ayrıca CRP FC $\gamma$ RI (CD64) resöptörüne düşük afinite ile FC $\gamma$ RII (CD32) resöptörüne yüksek afinite göstererek lökositler üzerine bağlanır (75, 76). (Şekil 10) CRP çeşitli bakteri, mantar, protozoal parazitlerde bulunan kapsüller polisakkaride, kalsiyum iyonlarının varlığında fosfokolin, lesitin gibi fosfotidilkolinlere ve nükleik asitler gibi polianyonlara da bağlanabilmektedir. Bu şekilde bazı yabancı patojenleri ve hasar gören hücredeki fosfolipid bileşenlerini tanıyabilmektedir (77). CRP ayrıca histonlara, kromatinlere, küçük nüklear ribonükleotidlerde bağlanarak nüklear antijenlerin temizlenmesini sağlar (72). Son

olarak CRP'nin yüksek afinite ile Fc reseptörüne bağlandığı gösterilmiştir. Bu bağlanmanın CRP bağımlı fagositozda rol aldığı sanılmaktadır (73).



Şekil 10: CRP'nin yapısı ve bağlanma bölgeleri (72)

## 2.8.2 CRP'nin Fonksiyonları ve Biyolojik Özellikleri

Plazma yarı ömrü yaklaşık olarak 19 saattir. Plazma konsantrasyonunu belirleyen ana faktör CRP'nin sentez hızıdır. Sitokinlerin aksine uzun bir yarılanma ömrü olup, sirkadiyen değişikliğin izlenmediği kararlı bir serum konsantrasyonu sergiler (72). CRP sağlıklı kişilerde genellikle serumda 1 µg/mL daha az konsantrasyonda bulunur. İnflamasyon ve doku hasarı başladıktan sonra 24 saat içinde serum seviyesinde 1000 kata kadar artış görülebilir. Doku hasarının genişliğine ya da inflamasyonun şiddetine göre CRP seviyesinde artış olur (78). C-reaktif protein düzeyi akut inflamatuvar durumlarda veya doku hasarında geçici olarak artmakta, kronik inflamatuvar olaylarda ise sürekli yüksek değerler izlenmektedir (79). Bağışıklık sistemindeki rolü fosfokolinlere bağlanarak kompleman sistemini aktive etmektir. CRP düzeyleri akut myokard infarktüsü, stres, travma, enfeksiyon, inflamasyon, cerrahi sonrası ya da neoplastik proliferasyonda dramatik bir artış göstermektedir. Klinikte CRP tayini, organik bir hastalığın

varlığını taramak, romatoid artrit, ankilozan spondilit, infektif endokardit gibi birçok inflamatuvar hastalıkların aktivitesini saptamak, sistemik lupus eritematozus ile karışabilen enfeksiyonları tanımak, böbrek dokusu alıcılarında doku reddini saptamak, yeni doğanda septisemi ve menenjiti takip etmek amacı ile kullanılmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar CRP'nin indirek bir kardiyovasküler risk faktörü olduğunu da göstermektedir. Fonksiyonel olarak CRP, vasküler hastalıkların ilerlemesini de etkilemektedir (72).

CRP proinflamatuvar ve antiinflamatuvar etkilere sahip olan bir AFP'inidir (80).

CRP antikorlar gibi opsonizasyonu, fagositozu, inflamatuvar tepkimenin bir yanıtı olarak invaze olan hücrelerin lizisini başlatabilmektedir. Monositlerde ise inflamatuvar sitokinleri ve koagülasyon mekanizmasının başlamasında önemli bir role sahip doku faktörünü indüklemektedir (73, 77).

CRP sağlıklı kişilerde gelişebilecek kardiyovasküler olayların önemli bir prediktörüdür (öngörücüsü) ve endotelial hücrelerin aktivasyonunda önemli bir rol olarak ateroskleroz patogenezi doğrudan katılabilir. İnflamatuvar sitokinlerle uyarılan koroner arter düz kas hücrelerinde sentezlendiği gösterilmiştir. CRP ateroskleroza, vasküler inflamasyona ve kardiyovasküler komplikasyona doğrudan katılabilir. Akut faz reaksiyonunda CRP seviyesinde 100 veya 200 µg/mL kadar artış olur ancak kardiyovasküler riski tahmin etmede 1-3 µg/mL olan küçük değerler daha faydalıdır. Serum CRP düzeyleri >10 µg/mL olan hastalar otoimmün, akut enfeksiyon, travma, sistemik inflamasyon ya da malignite yönünden incelenmelidir. Akut inflamasyonu dışlamak için test 2 hafta sonra tekrar edilmelidir (70, 81).

Aterosklerozda CRP için öne sürülen ligandlar lipoproteinler iken, iskemik miyokardiyumda, fosfolipaz A2 (PLA2) ile açığa çıkan lizofosfolipidler olduğu ileri sürülmektedir. Liganda bağlanan CRP, klasik kompleman yolunu aktive etmekte, inflamasyonun güçlenmesine yol açmakta ve miyokardiyumdaki doku hasarına katkıda bulunmaktadır (80). Oksidatif stres ve infeksiyöz ajanlar damar duvarında

inflamatuvar cevap oluşturur. Bu cevapla birlikte makrofajlardan inflamatuvar sitokinler salınır. Özellikle bu proinflamatuvar sitokinlerden olan IL-6, (karaciğerdeki reseptörüne bağlanarak) CRP sentezinin başlıca uyarandır. Son zamanlarda yapılan çalışmalarda CRP'nin vasküler hücrelerdeki rolü araştırılmış, CRP'nin damar duvarındaki düz kas hücrelerinden üretilebileceği üzerinde durulmuştur. Anstabil anjina ve akut miyokard infeksiyonunda CRP seviyeleri yüksek bulunmuştur. CRP endotelial hücrelerdeki adezyon moleküllerinin ekspresyonunu indükler. Anstabil anjinada  $>3 \mu\text{g/mL}$ 'deki değerler koroner riskin arttığını gösterir. Geniş epidemiyolojik çalışmalar sağlıklı görünen kişilerde CRP'nin serum seviyelerindeki küçük artışların bile ateroskleroz ve iskemik kalp hastalık riskini arttırdığını göstermişlerdir. Benzer şekilde serum CRP seviyesi  $3,6 \mu\text{g/mL}$  olan stabil anjinada koroner olayların 2 kat artırdığı gösterilmiştir. İskemik kalp hastalığı için CRP'nin bağımsız risk faktörü olduğu yönünde birçok kanıt olmasına rağmen mekanizması hala açıklığa kavuşmamıştır. İnflamatuvar yanıtlar aterosklerozun gelişmesinde önemli bir rol oynar ve trombotik olaylara katkı sağlar. CRP komplement faktör C1q ve faktör H'ya bağlanır ve klasik kompleman yolunu aktive eder. Kompleman kompleksin lokalize olduğu aterosklerotik plaklarda CRP de vardır. CRP monositlerden eksprese edilen doku faktörünü aktive eder. Pasceri V ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada CRP'nin  $5 \mu\text{g/mL}$  yada daha yüksek konsantrasyonlarda koroner arter endotel hücrelerinde ve umlikal vende proinflamatuvar etkilere sahip olduğunu, ICAM-1, VCAM-1, ve E-selektin gibi hücre adezyon moleküllerinin ekspresyonunu arttırdığını göstermişlerdir. CRP spesifik değil, sensitive olan bir inflamasyon markırıdır. CRP seviyesi kardiyovasküler olaylarda yüksek risk ve düşük risk ayırımında faydalı bir marker olarak kullanılabilir (76, 82).

CRP'nin temel işlevi, muhtemelen hasarlı dokudan açığa çıkan, potansiyel olarak toksik, otojen substansları tanımak, onlara bağlanmak, detoksifikasyon yapmak ya da kandan uzaklaştırmaktır (83). Nötrofillerin uyarılması membran ilişkili serin proteazları aktive eder. Serin proteazlar CRP'nin aktif peptid bölümünden ayırarak parçalar. CRP opsonizasyon işlemi sırasında metabolize olmaktadır. Nötrofillerin damar duvarı dışına çıkması ve inflamasyonlu bölgeye göç etmesi entotelial hücrelerle lökositler arasında kompleks bir etkileşime neden olur.

Yüzey adezyon molekülleri sentezlenmeye başlar. CRP nötrofillere yüksek afinite ile bağlanır ve CRP nötrofillerin endotel hücrelerine adezyonunu, kemotaksisini ve nötrofillerde süperoksid oluşumunu engeller. Mononükleer hücrelerde IL-1 reseptör antagonistinin sentezini uyarır. CRP'nin antiinflamatuvar etkileri bu mekanizmalarla açıklanmaktadır (78).

### **2.8.3 Yüksek Duyarlılık CRP (hsCRP)**

C-reaktif protein düzeyleri biyokimyasal yöntemlerle taze veya donmuş plazmada kolay ve ucuz olarak ölçülebilmektedir. Sağlıklı bireylerde normal sınırlar içinde kabul edilebilen CRP değerlerinin bile aterosklerotik vasküler hastalıkların bağımsız bir belirleyicisi olabileceğinin gösterilmesi üzerine, subklinik inflamasyonu belirlemek için CRP tayininde yüksek duyarlılık yöntemleri (high sensitivity CRP-hsCRP) uygulanmaya başlamıştır. Günümüzde vasküler risk ve prognoz belirlemeye yönelik çalışmalarda hsCRP ölçümlerine başvurulmaktadır (79). Geleneksel ölçüm yöntemleri akut inflamasyonun neden olduğu (40-200 mg/L) yüksek CRP düzeylerini saptamak için uygundur. Oysa aterosklerozun subklinik inflamasyonunda aterosklerotik plaklarından salgılanan CRP miktarı bu düzeylerin çok altında olduğundan yüksek duyarlılık testlerine gerek vardır. Bugün pek çok laboratuvarında yüksek duyarlılık CRP (hs-CRP) immüno-nefelometri ya da immünoturbidimetri yöntemleri ile ölçülmektedir. Bu testler 0,1-0,2 mg/L kadar düşük düzeyleri gösterebilmektedir (84). Klinik laboratuvarlarda CRP ölçümü için tam otomatize sistemlerde kullanılan mevcut yöntemlerin saptama sınırı 3-5 mg/L ile sınırlı iken, yeni geliştirilen ultrasensitif CRP ölçüm yöntemleri 0,007 mg/L ye kadar olan CRP düzeylerini saptayabilme olanağı sağlamaktadır. BN II nefelometer cihazında ultrasensitive latex-enhanced immunoassay (Latex) yöntemi kullanılarak ölçülebilir (85). Yüksek duyarlılık CRP ölçümü, kronik, hafif inflamasyon varlığının saptanmasına olanak sağlamaktadır. 10 mg/L'nin üzerindeki değerlerin aktif koroner arter hastalığı ile ilişkisi bilinmekle birlikte, kronik hafif inflamasyonun koroner arter hastalığı patogenezindeki rolü nedeniyle, referans aralığındaki (0,01-10 mg/L) CRP konsantrasyonları da koroner arter hastalığı riskini değerlendirme açısından anlamlı

bulunmuştur (86). Enflamasyonun aterogenezdeki rolü anlaşıldıktan sonra da enflamasyon markerlerinin ölçümü ve koroner arter hastalığı (KAH) riskiyle ilişkilerini araştıran çalışmalar hız kazanmıştır. Ölçümünün kolay ve yaygın olarak yapılabilmesi nedeniyle hs-CRP, üzerinde en çok çalışılan ve kanıt elde edilen belirteç (biyomarker) olmuştur. Bugüne dek yüksek hs-CRP düzeylerinin kardiyovasküler hastalık riski artışı ile ilişkili olduğu yönünde çeşitli veriler birikmiştir. Ridker ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda hem kadınlarda hem de erkeklerde yüksek hs-CRP düzeyinin kardiyovasküler risk artışı ile ilişkili olduğu, Total Kolesterol ve HDL Kolesterol düzeyine dayanarak saptanan riske ek katkıda bulunduğu öne sürülmüştür. Aterogenez ile CRP arasındaki ilişki inflamasyon ile sınırlı değildir. CRP yüksekliği, plakta lipid birikmesini tetikleyen inflamasyonu göstermesi yanında, doğrudan etkileri ile de endotel işlev bozukluğuna yol açmaktadır (84). 2003 yılında Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezi (CDC) ile Amerikan Kalp Cemiyeti (AHA) tarafından, hs-CRP ölçümünün inflamasyonun sensitif bir göstergesi olduğu ve kardiyovasküler risk değerlendirmesinde yaş, sigara, diyabet, hipertansiyon, hiperkolesterolemi, aile öyküsü gibi kanıtlanmış risk faktörlerine ilave edilebileceği açıklanmıştır (81). Aterosklerozun başlangıç ve ilerlemesinde inflamasyonun önemi birçok çalışmada vurgulanmıştır. Koroner arter plaklarındaki makrofaj aktivasyonu arterial duvardaki kronik bir infeksiyonu yansıtabileceği gibi, aynı zamanda okside ve modifiye lipoproteinlerle, makrofajların etkileşimi sonucunda da ortaya çıkabilir. Arterial duvardaki makrofajlar tarafından aktive edilen IL-6, CRP düzeylerini önemli ölçüde etkiler. CRP'nin aterogenezde lipid komplekslerin makrofajlar tarafından opsonizasyon ve tutulumunu arttırdığı bildirilmiştir. Erken dönem plak formasyonunda dahi damar duvarında CRP'nin varlığı CRP'nin çeşitli vasküler, endotelial etkileri olduğunu düşündürmektedir. CRP'nin monositler üzerine kemotaktik etki yaptığı nötrofillere hızla bağlandığı, makrofajlar tarafından modifiye LDL'nin tutulumunu arttırdığı bildirilmiştir. Artmış plazma CRP konsantrasyonu ve bozulmuş endotelial fonksiyon arasında güçlü ilişki ortaya konmuştur. CRP'nin LDL-kolesterole nazaran kardiyovasküler olayı belirlemede daha güçlü bir risk göstergesi olduğu, bununla birlikte en iyi prognostik

bilgi için her iki parametrenin birlikte değerlendirilmesinin uygun olacağı açıklanmıştır (86).

hs-CRP ölçümleri, kardiyovasküler hastalık göstergesi olarak konvansiyonel CRP ölçümlerine göre daha güvenilir sonuçlar vermektedir. American Society for Reproductive Medicine (AHA/CDC) risk gruplarını şu şekilde belirlemiştir; 1 mg/L'nin altındaki değerler: düşük risk, 1-3 mg/L arasındaki değerler: orta risk ve 3 mg/L'nin üstündeki değerler: yüksek risk olarak sınıflandırılmıştır (87).

hsCRP miyokard infarksiyonunu, inme, periferik arter hastalıkları, akut ve stabil koroner sendromlu hastalarda tekrarlayan olaylar ve ölümler, kardiyovasküler hastalık öyküsüne sahip olmayan sağlıklı kişilerde ani ölümün tahmin edilebilmesine yarayan bir inflamasyon markerıdır. hsCRP ayrıca kolesterol seviyelerinin tümünde Framingham koroner risk skorunda, metabolik sendromun şiddetinde, kan basıncında ve tüm bunlarla birlikte subklinik ateroskleroz olmadan prognostik bir değere sahiptir. Yasojima K ve arkadaşları yaptıkları çalışmada aterosklerotik plaktaki CRP mRNA'sı, karaciğerdeki 7 katı, normal damarlardakinin ise 10 katı bulmuştur (88). İnflamasyon belirteçleri, ST elevasyonlu miyokard infarktüsü (MI) de dâhil olmak üzere akut koroner sendromlarda kardiyovasküler olayları öngörmede çok yaygın olarak kullanılmaktadır (89).

Endotelyal disfonksiyon, hipertansiyon, obezite, dislipidemi ve NIDDM gibi kardiyovasküler risk faktörlerinin genellikle bir arada görüldüğü metabolik sendrom veya insülin rezistans sendromu sıklıkla subklinik inflamasyonun bir bileşenidir. Akut faz reaktanlarının seviyesinin yükselmesi subklinik inflamasyona işaret eder ve kardiyovasküler hastalıklarla, insülin rezistans sendromu ile ilişkilidir. Kronik inflamasyon tip 2 diabet gelişmesinde bir risk faktörü olabilir. Artmış CRP düzeylerinin insülin rezistansı ve tip II Diabet gelişiminde prediktif olduğunu gösteren prospektif çalışmalar bu teoriyi desteklemektedirler. Artmış CRP düzeylerinin gelişebilecek metabolik sendromla anlamlı bir şekilde korele olduğu gösterilmiştir. Etyolojisi net gösterilememiş olmasına rağmen CRP düzeylerinin

insülin rezistans sendromunun gelişiminde prediktif öneme sahip olduğu gösterilmiştir (90, 91).

Çalışmalar göstermiştir ki hs CRP gelişebilecek kardiovasküler hastalıklar ve inme için güçlü bağımsız bir risk faktörüdür (92). HsCRP'nin ayrıca visseral obeziteli olgularda da yükseldiği gösterilmiştir. Polikistik over sendromlu obez hastalar üzerinde yapılan çalışmalarda hs-CRP değerlerinin 3 mg/L'in üzerindeki düzeylerinin kardiyovasküler hastalıklar için yüksek riski gösterdiği belirtilmiştir. hs-CRP'nin hücrel adezyondan sorumlu moleküllerin sentezini ( endotelial hücrelerden exprese edilen ICAM-1, VCAM-1 gibi) ve düşük dansiteli lipoprotein (LDL) oksidasyonunu arttırarak, ateroskleroza zemin hazırladığı ortaya konmuştur. hsCRP seviyeleri önleyici tedaviden faydalanabilecek kişilerde diagnostik bir öneme sahiptir (93).

## **2.9 Pigment Epitelyum Derived Faktör (PEDF)**

PEDF nörotrofik bir faktör olarak ilk kez retina hücre kültüründe gösterilmiştir (94). PEDF insan retinal pigment hücrelerinde sentezlenen 50 kilodalton (kDa) ağırlığında bir glikoproteindir (95). İlk defa gözde tespit edilmesine rağmen, beyin, spinal kord, plazma, karaciğer, göz, kalp, akciğer, plesenta, kemik, pankreas ve prostat gibi çeşitli organlarda da sentezlenir (96-98). PEDF'ün dolaşımdaki major kaynakları karaciğer ve adipoz dokudur (99). PEDF genellikle sekrete edilen bir protein olarak kabul edilir ancak immunohistokimyasal çalışmalarda hücre içi protein olarak da tespit edilmiştir. Tombran-Tink ve arkadaşları hücreleri alt fraksiyonlara ayırarak retinal pigment epitelyum, Y-79 retinoblastoma, NA nöroblastoma, hepatokarsinoma HepG2 hücrelerinin nükleer ve sitoplazmik bölgelerinde endojen PEDF'ün var olduğunu göstermişlerdir (100).



### 2.9.1 PEDF'ün Biyokimyasal Özellikleri

PEDF geni 17p13 insan kromozomu üzerinde bulunur. Bu gen hidrofobik, moleküler ağırlığı 46,3 kDa olan 418 aminoasit proteinini kodlar. Ancak moleküle tek karbonhidrat zincirinin ilave edilmesiyle 50 kDa ağırlığına çıkar (98). PEDF serin proteaz inhibitör (Serpın) ailesinin üyeleriyle homolog amino asit dizilerini sahiptir. Alfa-1antitripsin bir serin proteaz inhibitörüdür. PEDF alfa-1antitripsinle %27 aynı aminoasit dizilerine sahip olduğu ve yer değiştirmeler dikkate alındığında %42 homolog olduğu gösterilmiştir. Benzer şekilde alfa-2 plazmin inhibitör ve alfa-1 antikimotripsin ile sırasıyla %26 ve %27 aynı aminoasit dizilerine sahiptir. Serpin gen ailesinin 40'dan fazla üyesi bulunmaktadır. İnsan PEDF geninin serin proteaz inhibitör (serpin) gen ailesinin inhibitör olmayan bir üyesi olduğu gösterilmiştir (101). Serpinlerin çoğunun aksine PEDF bilinen proteazların hiçbirine karşı inhibitör etkiye sahip değildir (102). PEDF'ün üç boyutlu yapıya sahip olduğu belirlenmiştir. Sonuçta ortaya çıkan amino asit dizileri bir N-bağlı glikolizlenme, fosforilasyon için bölgeler, O-bağlı glikolizlenme için konsensüs dizileri içerir. Steen V ve arkadaşları PEDF'in N-terminalinde, translasyon sonrası modifikasyona uğradığını göstermişlerdir. Post-translasyonel modifikasyonlardan sonra plazma PEDF'in N-terminal piroglutamat bloke edici bir grup ve bir N-bağlantılı glikan taşıdığı görüldü. Bu piroglutamat rezidüleri olasılıkla PEDF'ün aktivitesini düzenler (103). PEDF glukozaminoglikanlar, kollejenler, Y-79 retinoblastomadaki 80 kDa ağırlığındaki yüzey reseptörlerine bağlanarak çeşitli proteinlerle etkileşime girer. PEDF, bazik ve asidik kalıntılardan yoğun asimetrik yük dağılımına sahiptir. PEDF'den türetilen peptitler yapı-işlev ilişkileri açısından izah edilmiştir. Negatif yüklü asidik PEDF kollojene bağlanır ve bu bölge nörotrofik aktiviteden yoksun antianjiogenik özellikler gösterir. Pozitif yüklü lizin, arjinin amino asitleri heparin bağlanması için, negatif yüklü aspartik asit amino asitleri kollojen bağlanması için gereklidir. Fosfarilasyon bölgesi serin amino asiti içerir ve farklı derecelerde antianjiogenik, nörotrofik aktiviteye sahiptir (98). PEDF extraselüler matriks bileşenlere bağlandığı yönde kollojenden sorumlu asidik aminoasitlerin kümelendiği ve bağlandığı heparin için pozitif yüklenmiş bir bölge açığa çıkar. Molekülün 44-121'inci aminoasitleri

boyunca antianjiogenik aktiviteye ve nöronal farklılaşmaya sahip biyolojik olarak aktif olan 2 bölgesi vardır. Lipaz bağımlı membran reseptörü (PEDF-R) retina, serebellar, motor nöronlar ve Y-79 üzerinde tespit edilmiştir. PEDF'ün nörotrofik işleve sahip bölgesi PEDF-R ile etkileşime girer. PEDF'ün apoptozisi uyaran, endotel hücre göçünü ve korneal anjiogenezisi engelleyen bölgesi endotel hücrelerin yüzeyinde bulunan PEDF-R'ünden ayrı bir reseptörle etkileşime girer (98, 100). PEDF'ün retinopatideki damar oluşumunun tam inhibisyonu için gerekli sistemik konstrasyonun yaklaşık 50 nM'm üzerinde olduğu gösterilmiştir. Steen V ve arkadaşları PEDF'ün plazmada ki işlevsel olarak konstrasyonunu 100 nM (5 µg/ml) olarak göstermişlerdir (103).

PEDF antianjiogenik, antitümörijenik, antioksidatif, antiinflamatuvar, antitrombotik, nörotrofik, nöroprotektif oldukça karmaşık özellikleri olan multifonksiyonel bir proteindir (98, 99). Bu mekanizmaların altında yatan olaylar tam olarak açık değildir ancak PEDF'in multiple yüksek afiniteye sahip ligandları ve hücre reseptörleri aracılığı ile bu mekanizmalarda rol aldığı gözükmektedir. Diabetik komplikasyonların azalmasında rol alır ve belli kanserlerin tedavisinde kullanılır (104).

### **2.9.2 PEDF'ün Antianjiogenik Özellikleri**

PEDF anjiogenezisin en güçlü endojen inhibitörlerinden biri olarak gösterilmiştir. Anjiostatin, trombospondin-1, endostatin gibi bilinen endojen anjiogenez inhibitörlerinden daha etkili bir şekilde damar oluşumunu inhibe eder. Anjiostatinden iki kat, endostatinden 7 kez daha güçlü anjiogenezis inhibitörüdür. Ayrıca VEGF, fibroblast büyüme faktörü-1, fibroblast büyüme faktörü-2 ve IL-8 gibi proanjiogenik faktörlerin varlığında bile endotel hücre göçünü inhibe eder (98). PEDF vasküler endotel büyümesini ve göçünü inhibe eder. Ayrıca anjiogenik faktörlerin sekresyonunu baskılar. Güçlü bir proanjiogenik faktör olan vasküler endotelial growth faktör (VEGF)'ü inhibe eder. Ve de Fas-Fas ligand aktivasyonu ile endotel hücre apoptozisini uyarır (99, 100). PEDF apoptozisi uyararak gözdeki

damar oluşumunu inhibe eder. Damar oluşumunun inhibisyonu endotel yüzeyindeki Fas ligandın up regülasyonu ile sağlanır. Fas-Fas ligand aktivasyonu ile anjiogenez inhibe edilir (103). Nakamura ve arkadaşları ratlarda yaptıkları çalışmada PEDF'ün G1 siklin ekspresyonunu azaltarak, siklin bağımlı kinaz inhibitörü olan p27 seviyesini arttırarak hücre siklusunu düzenlediğini göstermişlerdir. Ayrıca PEDF'ün NADPH oksidaz aracılı reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretimini baskılayarak damar düz kas hücrelerinde intima hiperplazisini baskıladığını göstermişlerdir. Damar düz kas hücrelerinin çoğalmasını ve göçünü uyaran platelet derived growth faktor-BB'yi (PDGF-BB) inhibe ettiğini göstermişlerdir. Damar hasarındaki inflamatuvar yanıtın çoğalmasını baskılayarak ateroskleroz üzerine yararlı etkileri olabileceği belirtilmiştir (105).

### **2.9.3 PEDF'ün Antitümör Özelliği**

Gözün sınırları dışında antitümör etkilere sahiptir. Bu antitümör etkileri antianjiogenezis ve proapoptozis aktivitesine bağlıdır (94). İn vivo kanser dokularında anjiogenezisi inhibe ettiği kanıtlanmıştır (103). Prostat kanseri, pankreas kanseri, nöroblastoma, gliomada düşük PEDF ekspresyonu metastaz insidansının artmasıyla ve kötü prognoz ile korelasyon gösterir. Bu korelasyon dikkate alındığında PEDF bir antianjiogenik faktör yada tümör baskılayıcı olarak kanser progresyonunda (ilerlemesinde) yer alır (98). Gözdeki anjiogenezisi dengeler ve olası tümör progresyonunu (ilerlemesini) engeller. PEDF belli kanserlerin tedavisinde kullanılmaktadır (104).

### **2.9.4 PEDF'ün Antioksidatif Özellikleri**

PEDF antioksidan özelliğe sahiptir ve bu özelliğinden dolayı tümör nekrozis faktör alfa (TNF- $\alpha$ ) ve anjiotensin 2'nin tetiklediği endotel hücre aktivasyonunu bloklar. PEDF hasarlı arterdeki NADPH oksidaz bileşenlerinin ekspresyonunu ve süperoksit üretimini baskılar (105). PEDF aracılı NADPH oksidazın baskılanmasıyla

ROS'un üretimi ve yeni gelişen intima hiperplazisi engellenir. Hidrojen peroksidin insan hepatositlerinde PEDF ekspresyonunu uyardığı gösterilmiştir (99).

### **2.9.5 PEDF'ün Anti-inflamatuar Özelliği**

PEDF önemli bir endojen antiinflamatuar olarak tanımlanmıştır. PEDF tedavisi deneysel diabette proinflamatuar sitokinlerin retinal seviyelerini azalttığı gösterilmiştir. Retina kapiller endotel hücrelerinde PEDF anlamlı bir şekilde hipoksi ile eksprese olan TNF'yi azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca retina hücrelerinde PEDF ekspresyonunun azalmasına bağlı TNF ekspresyonunu anlamlı bir şekilde artmıştır. Aküz hüümördeki PEDF seviyeleri glukomla normal kontrol karşılaştırıldığında anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir. Basıncın uyardığı iskemi- reperfüzyon hasarına bağlı PEDF yokluğunda retina ganglion hücrelerinin öldüğü gözlenmiş. Zhou X ve arkadaşları fare retina ve optik sinirlerinde PEDF transfeksiyonun TNF ve IL18 gibi sitokinleri inhibe ettiğini göstermişler. Yaşlanmış gözdeki PEDF seviyelerinin azalması glokomda subklinik inflamasyona katkı sağladığını ileri sürmektedirler (106). PEDF'ün güçlü anti-inflamatuar aktivitesi çeşitli çalışmalarla da kanıtlanmıştır. Monosit kemoatraktan protein-1, TNF- $\alpha$  gibi sitokinlerin ekspresyonunu düzenler. Makrofaj ve T hücre fonksiyonun bir mediatörüdür (99). PEDF immünmodülatör özelliklere sahiptir (104). Diabetik nefropatinin patogenezinin düşük derece inflamasyonla ilişkili olduğu toplanan kanıtlarda gösterilmiştir. Nefropatili Tip 1 ve Tip 2 diabetli hastalarda İCAM-1 (intraselüler adezyon molekül-1), MCP-1 (monosit kemoatraktan protein-1) gibi proinflamatuar sitokinlerin arttığı bulunmuştur. Sistemik ve lokal PEDF protein verilmesi yada viral vektör aracılı gen terapisinin diabetik hayvanlarda retina neovaskülarizasyonunu başarılı bir şekilde baskıladığı bulunmuştur. Diabetik retinopatide (DR) PEDF seviyelerinin azalmasının patolojik olduğu gösterilmiştir. PEDF seviyelerinin azalması veya kaybı retinal inflamasyonu arttırarak DR'nin patogenezinine katkı sağlayabilir. Wang JJ ve arkadaşları böbrekte PEDF seviyelerinin azalmasının diabetik nefropatiye işaret ettiğini göstermişlerdir. Ayrıca Tip 1 diabetli ratlara PEDF genini sentezleyen adenovirüsün sistemik uygulanmasının nefropatinin önlenmesinde

faydalı bir rolü olduğu, önemli bir şekilde albüminüriyi azalttığı ve glomerül hipertrofisini iyileştirdiği gösterildi. PEDF antiinflamatuvar aktivitesi aracılığı ile diabetik hasardan böbrek yapı ve fonksiyonlarını koruduğu ileri sürülmektedir. Wang JJ ve arkadaşları diabetik nefropati üzerine antiinflamatuvar olan PEDF'ün yaralı etkileri olup olmadığını belirlemek için çalışma yapmışlar. Diabetik ratlara PEDF sentezleyen adenovirüsü intravenöz olarak vermişler. PEDF tedavisinin TNF $\alpha$ , MCP-1, ICAM-1, ve VEGF gibi proinflamatuvar faktörlerin aşırı ekspresyonunu etkili bir şekilde baskıladığını göstermişler. PEDF güçlü bir anjiogenez inhibitörü olmasına rağmen antiinflamatuvar fonksiyonlara sahip olduğu yenilerde bulundu. Wang JJ ve arkadaşları son dönemlerde yaptıkları çalışmada endotoksin ile uyarılmış üveitli ratlarda retinal ve plazma PEDF seviyelerinin önemli bir şekilde azaldığını gösterdiler. Kültürü yapılmış retinal endotelial hücrelerde hipoksi altında PEDF anlamlı bir şekilde TNF $\alpha$  ve ICAM-1 sentezini azaltır. PEDF'ün gözde, böbrekte antiinflamatuvar bir faktör olduğu gösterilmiştir (107).

### **2.9.6 PEDF'ün Proinflamatuvar Özelliği**

PEDF'ün proinflamatuvar etkileri önceki çalışmalarda astrositler, mikroglia, serebellar granül hücre nöronlarında tanımlanmıştır. PEDF kültüre edilmiş astrositler, mikroglia ve nöronlarda IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF, granüosit koloni-stimüle eden faktör (G-CSF), iNOS gibi proinflamatuvar mediatörlerin ekspresyonunu uyarır. Chavan SS ve arkadaşları ayrıca adipositlerden sentez edilen PEDF makrofajların aktivasyonuna aracılık eden inflamasyonun bir mediatörü olarak da tanımlamışlardır. Aktive makrofajlardan TNF, IL-1 salgınır. PEDF adipoz trigiliserid lipaz (ATGL) reseptörüne bağlanarak makrofaj aktivasyonuna neden olur. Makrofaj üzerindeki ATGL reseptörünün seçici inhibisyonu PEDF ile uyarılan TNF üretimini azaltır ve PEDF konstrasyon bağımlı olarak p38'in fosforilasyonunu, mitojen aktive protein kinazı artırır. Obesite patofizyolojisi sitokin üretiminin artması, akut faz reaktanlarının yükselmesi ve inflamatuvar sinyal yollarının aktivasyonu ile karakterize olan kronik düşük derece inflamasyonla ilişkili bir hastalıktır. TNF ve IL-1'in aşırı üretimi hiperlipidemi ve insülin direnci gibi önemli metabolik değişikliklere yol açar.

Obesitede geniş yağ dokusu TNF, İL-1 üreten makrofajlar tarafından önemli bir şekilde infiltrasyona uğramıştır. İnflamatuar makrofajların aktive olması obezitenin indüklediği insülin direnci gelişmesine katkı sağladığı kanıtlanmıştır. Rekombinan PEDF ATGL resöptörü aracılığı ile sinyal oluşturarak sitokin üretmek için makrofajları aktive eder ve insülin direncine aracılık eder. Obezitenin komplikasyonları ile adipositlerde sentezlenen PEDF arasında bir bağlantı olduğu düşünülmektedir. Makrofaj kültürüne rekombinan PEDF eklendiğinde kontrasyon bağımlı TNF, İL-1 artışını uyarır ve TNF seviyesini önemli derecede artırır. Adipositlerden sentezlenen PEDF obezitede kronik inflamasyonun başlamasına ve sürdürülmesine katkı sağlar (108).

### **2.9.7 PEDF'ün Nöroprotektif Özelliği ve Apoptozisle İlişkisi**

İlk olarak PEDF retina pigment epitelyum hücrelerindeki interfotoreseptör matriks içinde üretilen nöronal farklılaşma faktörü olarak tanımlanmıştır (103). PEDF'ün nöroprotektif kapasite invitro ve invivo geniş deneysel datalarda gösterilmiştir. PEDF serebellar granül hücrelerinde, hipokampal nöronlarda ve spinal motor nöronlarda glutamatın uyardığı hücre ölümünü anlamlı bir şekilde önleyebilir. PEDF ratlarda ışık hasarından retina fotoreseptör hücrelerini korur, fotoreseptör dejenerasyonunun ilerlemesini geciktirir. Yetişkin ratlarda PEDF'ün aynı zamanda retina ganglion hücrelerindeki glutamat aracılı sitotoksiteden koruduğu ve iskeminin uyardığı retina hücre kaybını azalttığı gösterilmiştir (106). PEDF apoptozisi hem inhibe ediyor hemde uyarıyor gibi görünmektedir. PEDF hem apoptozisi uyararak hemde hücre farklılaşmasını ve yaşam süresini uzatarak hücre fonksiyonlarının önemli bir mediatörüdür. PEDF apoptozisi uyararak gözdeki damar oluşumunu inhibe eder. PEDF'ün nöronların yaşam süresini uzattığı ayrıca birçok çalışmada gösterilmiştir. Endotel hücrelerinde apoptozisi uyarmasının aksine PEDF apoptozisi engelleyerek olgunlaşmamış serebellar granül hücrelerinin hayatta kalmasını sağlar (103). PEDF'in bu nörotrofik aktivitesi serebellar granül hücrelerinin yaşam süresini uzatmasına, gelişen spinal motor nöronların farklılaşmasını ve hayatta kalmasını sağlamasına, glutamat toksitesine karşı nöronları korumasına ve hidrojen peroksit

tarafından uyarılan apoptozisi inhibe etmesine bağlıdır (102, 109). Çalışmalarda gözdeki PEDF seviyelerinin azalmasının gözün neovasküler, nörodejeneratif hastalıklarıyla ilişkili olduğunu göstermişlerdir (98).

### **2.9.8 PEDF'ün Adipokin Özelliği**

Preadipositler ve adipositler tarafından salgılanan PEDF yeni bir adipokin olarak tanımlanmıştır. PEDF primer adipositlerde en bol bulunan adipokinlerden biridir. PEDF'e SERPINF1 proteini de denmektedir. Yeni bir çalışmada PEDF için lipaz bağımlı reseptörü tanımlanmıştır. Bu SERPINF1 reseptörü önce yağ (adipoz) trigliserid lipazı (ATGL) olarak karakterize edilmiştir. ATGL yağ lipid mobilizasyonunda kritik bir öneme sahiptir. Ayrıca SERPINF1 hepatosit lipid içeriğini ATGL sayesinde düzenleyebilir. SERPINF1 geni adipoz dokuda, karaciğerde, kemik iliğinde yüksek derecede ifade edilir. Bu bulgular adipoz dokunun plazma PEDF seviyesine katkısı olduğunu desteklemektedir. Visceral yağ dokusu erkeklerde kadınlara göre daha fazla olduğundan dolayı visceral yağ dokusu plazma SERPINF1 seviyesine daha büyük katkı sağlayabilir. Bir kohort çalışmasında PEDF seviyesinin metabolik sendrom ve sentral obezite ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ping Wang ve arkadaşları plazma PEDF seviyesini erkeklerde ( $6,2\pm 2,1$  µg/ml) kadınlara göre ( $3,1\pm 1,4$ ;  $p<0.001$ ) daha yüksek bulmuşlar ve cinsiyetler arasında farklılık olduğunu göstermişlerdir. Multiple regresyon analizi yaparak visceral yağ dokusunun ötesinde cinsiyetin bağımsız bir etkiye sahip olduğunu göstermişlerdir. Plazma SERPINF1 seviyesini metabolik sendrom ve yaşla pozitif korele bulmuşlardır. Yaş ve cinsiyetin değerlendirildiği multiple regresyon analizinde cinsiyetle birlikte visceral yağ kalınlığı ve beden kütle indeksi plazma SERPINF1 seviyesini önemli bağımsız bir şekilde etkiler. Diabetik olmayan Kafkaslılarda plazma SERPINF1 seviyesi vücut adipoz dokusuyla özellikle visceral yağ dokusu ile güçlü bir şekilde ilişkilidir (94). PEDF seviyesinin artışı insülin rezistansı ve obezite ile ilişkilidir. Kilo veren bireylerde serum PEDF seviyeleri azalır. Metabolik sendromda ve tip 2 diabette PEDF seviyesi artar (110). Adipositlerden salınan PEDF kas ve yağ dokusunda inflamatuvar sinyal ve insülin

direnci ile ilişkilidir. Hücre dışı PEDF'ün etki mekanizması belirsizliğini korumaya devam etmektedir (100). PEDF metabolik sendrom ve metabolik sendromun tüm komponentleri (obezite, hipertansiyon, dislipidemi, insülin direnci, glukoz intoleransı) ile yakından ilişkilidir. Vasküler hasara ve ateroskleroza karşı koruyucu olabileceği ileri sürülmektedir (99, 111).

Raschke S. Ve arkadaşları PEDF'ü iskelet kası hücrelerinden salgılandığını bulmuş ve adipo-miyokins olarak adlandırmışlardır. Akut egzersizde PEDF seviyelerinin azaldığını bulmuşlardır. Elektrik sinyali stimülasyonu ile oluşturulan kontraksiyondan sonra mRNA seviyelerinin değişmemesine rağmen primer miyotübüllerdeki PEDF salgılanmasının arttığını bulmuşlardır. PEDF preadipositler ve adipositlerle karşılaştırıldığında miyotübüllerden daha düşük seviyede salgılanır. Kontraksiyonu düzenleyen bir miyokindir (110).

### **2.9.9 PEDF'ün Genel Özellikleri ve Diyabetle İlişkisi**

PEDF antianjiyogenik, immunmodülatör ve antiinflamatuvar özelliklere sahiptir. Ayrıca diabetik komplikasyonların azalmasında önemli bir role sahiptir. İnsülin dirençli olgularda olası bir rol alır. PEDF nörotrofik ve immunmodülatör özellikleri ile birlikte doğal anjiyogenezis inhibitörüdür. PEDF adipogenezis ve insülin rezistansında upregüle olur ve çoğunlukla matür adipositler tarafından üretilir. Hayvan modellerinde obezitenin indüklediği insülin rezistansında rol alır. PEDF kas ve karaciğerde proinflamatuvar serin treonin kinazı ve extraselüler signal regulated kinaz (ERK)'yı etkinleştirir. Nükleer faktör KB'yi aktive eder ve endotel hücrelerin ölümüne neden olan transdüksiyon kaskatını aktive eden fas ligand ekspresyonunu artırır. Rekombinan PEDF enjekte edilen zayıf farelerde insülin direnci görülür, insülin duyarlılığı azalır, adipoz dokuda ektopik lipit birikimi ile sonuçlanan lipoliz görülür. ATGL bağımlı resöptörü aracılığı ile lipolize neden olarak ve yağ asit oksidasyonunu azaltarak sistemik yağ asit metabolizmasını etkiler. 3T3-5 proadipositlerden farklılaşan olgun adipositlerde PEDF gen ekspresyonu azalır. PEDF hem pro inflamatuvar hemde anti inflamatuvar özelliklere sahiptir. PEDF çoğu



kez anjiogenezisin, nörodejenerasyon ve inflamasyonla ilişkili hastalıkların tedavisinde kullanılır. Vasküler büyüme faktörü reseptörü ile etkileşime girerek hücre apoptozisine neden olur. Diabetik nefropatide tübül hasarına karşı olasılıkla koruyucu bir rol alır. Son çalışmalarda makrofajlardan üretilen İL10'u uyararak immünmodülatör özelliğe sahip olabileceği açığa çıkmıştır. Vasküler endotelial büyüme faktörüne dayalı tümörlere karşı bir ajan olarak artan bir şekilde kullanılmaya başladı. Bundan başka PEDF prostat kanseri, nazofarinks ve mesane kanseri üzerine pozitif etkilere sahiptir. Polikistik over sendromlu, obeziteli, metabolik sendromlu hastalarda serum PEDF seviyeleri artmış olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalarda insülin direnci ile korele olduğu rapor edilmiştir. Sabater ve arkadaşları tarafından yapılan yeni bir çalışmada sağlıklı ve diabetik hastalarda PEDF düzeyleri ile insülin direnci arasında pozitif bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. Diabetik hastalarda PEDF seviyesi kontrol hastalarından anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlar. Diabetik grupta kilo kaybından sonra PEDF düzeylerinde anlamlı olarak azalma olduğunu göstermişlerdir. Kilo kaybının PEDF düzeylerini önemli derece arttırdığına dair Sabater ve arkadaşlarının önerdiğine zıt olarak Akın Ş ve arkadaşları metformin tedavisi alan ve zayıflayan diabetik hastalarda PEDF düzeylerini anlamlı olarak artmış olarak bulmuşlar (104).

### **2.9.10 PEDF'ün Vasküler İnflamasyon ve Aterosklerozla İlişkisi**

PEDF retina endotel hücrelerinin büyüme ve göçünü inhibe eder ve iskemi kaynaklı retina neovaskülarizasyonu baskılar. Diabetik hastalarda özellikle proliferatif retinopatilerde aköz hümör veya vitröz cisimde seviyeleri azalır. Bu yüzden damarsal göz hastalıklarının patogenezinde PEDF seviyesinin azalması işlevsel öneme sahiptir. PEDF antioksidatif ve antiinflamatuvar özelliğinden dolayı invitro ortamda sitokinleri, growth faktör, ileri glikasyon son ürünleri (advanced glycation end-products, AGE) kaynaklı endotelial hücre hasarı, makrofaj aktivasyonu, T hücre aktivasyonu ve platelet hiperagregasyonunu inhibe eder. Deneysel ortamda oluşturulan diabetik retinada vasküler inflamasyonu ve hiperpermeabiliteyi azalttığı, arteriyel okluzyon oluşturulan ratlarda karotid arter

tromboz oluşumunu baskıladığı ve anjioplasti yapıldıktan sonra vasküler remodeliği önlediği (yeni damar oluşumunu) rapor edilmiştir. Bu gözlemler invivo ortamda PEDF'in vasküler inflamasyon ve ateroskleroza karşı koruyucu olabileceğini ileri sürmektedir. PEDF vasküler hücreler, inflamatuvar hücreler ve adipositlerde üretilir. Nobuhiro Tahara ve arkadaşları insanlardaki aterosklerozla PEDF seviyesi arasındaki ilişkiyi incelemişler ve vasküler inflamasyon, intima media kalınlığı ile bağımsız olarak ilişkili olduğunu bulmuşlardır. PEDF seviyesinin ateroskleroza yansıtan yeni bir marker olduğunu ileri sürmektedirler. Damarlardaki morfolojik anormalliği ve aterosklerotik pilaktaki infiltrasyonu gösterebilir. Hücre kültürlerinde ve hayvan modellerinde antioksidan, antiinflamatuvar ve ateroskleroza karşı koruyucu özelliklere sahip olması dikkate alındığında ateroskleroza yanıt olarak (kompensatuvar) seviyeleri artabilir. Son dönem böbrek yetmezliğinde PEDF seviyeleri artar. Sağlıklı, ilaç kullanmayan bireylerde hs-CRP ile PEDF serum düzeyinin korele olduğu gösterilmiştir. hs-CRP aterosklerotik kardiyovasküler hastalıklarda risk sınıflandırılmasında ve sistemik düşük derece inflamasyonun en iyi karakterize edilmiş biyomarkerlarından biridir. PEDF lokal vasküler inflamasyonu tespit etmede hsCRP'den daha duyarlı olabilir (110).

### **2.9.11 PEDF'ün Kardiyoprotektif Fonksiyonu**

Ratların koroner arterlerindeki tıkaçıcı trombus oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir. PEDF'ün kardiyovasküler hastalıkların var oluşuyla yakından ilişkili olduğuna dair yeni klinik bulgular açığa çıkmıştır. Ueda ve arkadaşları akut miyokard infarktüsü geçiren rat modelinde PEDF injeksiyonunun kardiyak fibrozisi baskıladığı, dokunun yeniden yapılanmasını engellediği ve kardiyak fonksiyonları iyileştirdiğini rapor etmişler ve akut miyokard infarktüsü geçiren kişilerde PEDF'ün yeni bir tedavi olabileceğini ileri sürmektedirler. Wang F ve arkadaşları KAH'larında PEDF'ün vasküler hasar, kronik inflamasyon ve oksidatif strese yanıt olarak arttığını, KAH'lığının ilerlemesini önleyici fonksiyonlara sahip olduğunu ileri sürmektedirler. Dolaşımdaki PEDF seviyesinin metabolik sendromda (MS) daha yüksek olduğu ve MS'un her bir komponentiyle korele olduğu gösterildi. MS'un her

bir komponenti kardiyovasküler hastalıklar için bir risk faktörüdür. Araştırmacılar vasküler hasara yanıt olarak PEDF düzeyinin arttığı görüşündedir. Yeni bir çalışmada serum PEDF seviyesinin vasküler inflamasyon ve intima media kalınlığı ile bağımsız korele olduğu gösterildi. Subklinik aterosklerozun en az iki özelliği ile de ilişkili olduğu düşünülmektedir. Bu özellikler damarın morfolojik anormalliği ve plaktaki inflamasyondur. Wang F ve arkadaşları koroner anjiyografi yapılan 312 hastada serum PEDF ve koroner arter hastalığı arasındaki ilişkiyi incelemişler. MS'lu hastaların serum PEDF seviyesi (11,1 µg/mL (8.2, 14.2)) MS'u olmayan hastalara (10.1 µg/mL (7.6, 12.4)) göre anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlardı. Koroner arter hastalarında (KAH) serum PEDF seviyesi (11.0 µg/mL (8.1, 14.2)) KAH'lığı olmayanlara göre (10.3 µg/mL (8.1, 12.8)) anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlardı. Trigiliserit (TG), glomerül filtrasyon hızı (eGFR), hipoglisemik tedavi serum PEDF seviyesi ile bağımsız bir korelasyon, KAH'lığı ile pozitif korelasyon bulmuşlardı. MS'un komponentlerinden hipertirigiliseridemi ile anlamlı pozitif korelasyon bulmuşlardır. TG serum PEDF seviyesini bağımsız etkileyen bir faktör olarak tanımlandı. Dislipideminin ateroskleroz gelişmesindeki önemi bilinmektedir. Özellikle uzun dönem dislipideminin proinflamatuvar duruma eşlik eden vasküler hasara sebep olduğu gösterilmiştir. Serum PEDF seviyeleri KAH'larında hipertirigiliseridemiye yanıt olarak artması muhtemeldir. Serum PEDF seviyesi KAH'lığı ile bağımsız pozitif ilişkilidir. Artan PEDF vasküler hasara ve gelişebilecek KAH'lığına karşı koruyucu yanıt olarak rol alabilir. PEDF mikroanjiopatiye karşı koruyucu olduğunu destekleyen kanıtlar vardır. Ayrıca diabetik mikrovasküler komplikasyonlara karşı koruyucu bir faktör olduğu önerilmektedir. Ateroskleroz kronik inflamatuvar bir bozukluktur. Wang F ve arkadaşları CRP'yi serum PEDF seviyesini bağımsız etkileyen bir faktör olarak tanımlamışlar. Bu bulgular kronik inflamasyonla PEDF'ün önerilen ilişkisini desteklemektedir (99).

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

**Çalışma şekli:** Çalışmaya Hatay ili ve çevresinden Mustafa Kemal Üniversitesi Sağlık Uygulama ve Araştırma Hastanesi 2013 yılı içerisinde İç Hastalıkları polikliniğine başvuran homozigot SCA teşhisi almış 44 hasta ve Araştırma Hastanesine başvuran çalışmaya dâhil edilmeme kriterine uyan 44 sağlıklı kişi dâhil edildi. Stabil OHA'si çalışmaya dahil olan hastaların en az üç ay boyunca ağırlı kriz, priapizm, akut göğüs sendromu, inme gibi akut olayların görülmediği aseptomatik bir durum olarak tanımlandı. Gönüllülerin akut krizde olması (vazooklüziv kriz, aplastik kriz, sekestrasyon krizi gibi), onsekiz yaşın altında olması, diyabeti olan hastalar, eşlik eden hastalık veya orak hücre anemisinin komplike olması, hipertansiyonu olan hastalar, kalp yetmezliği olan hastalar, obezite, böbrek ve karaciğer testleri bozuk olan hastalar, gebelik, laktasyon, nörolojik ve/veya psikiyatrik hastalığı olanlar, ilaç bağımlılığı olan ve son üç ay içerisinde transfüzyon tedavisi almış hastalar çalışmaya dahil edilmedi. Homozigot HbSS Orak Hücre Anemisi tanısı olan, onsekiz yaş ve üzerindeki hastalar, 18 yaş ve üzerindeki sağlıklı gönüllüler çalışmaya dâhil edildi. OHA'sine yaş, kilo, boy, BKİ yönünden benzer sağlıklı gönüllüler çalışmaya dâhil edildi. Hastalar yaş, cinsiyet, boy, ağırlık, vücut kitle indeksi (VKİ), bel çevresi, menstruasyon düzeni, gonadal durum açısından ayrıntılı bir şekilde değerlendirildi. Çalışmaya katılacak kişilerden imzalı bilgilendirme ve olur formu alındı. Sabah 08:00 ile 10:30 arasında en az 12 saatten beri aç olan hastalardan vakumlu EDTA'lı ve antikoagülansız jelli tüplere venöz kan örnekleri alındı ve 10 dakika süreyle 4000 devir/dakikada de santrifüj edilip hemolizat hazırlandı, serum ve plasma kısımları 1.5 ml'lik eppendorf tüplerine ayrıldı ve çalışılmak üzere -70 derecede saklandı.

## **Yapılacak Ölçümler ve İzlenecek Parametreler**

**Pigment Epithelium Derived Faktör (PEDF) ölçümü:** Hastaların serumları kullanılarak PEDF seviyeleri Sandwich Enzim Linked Immunosorbent Assay (ELISA) yöntemi ile ölçüldü. Ölçümler için 96 numunelik BioVendor marka ticari PEDF kiti kullanıldı (Human PEDF ELISA Kit, Katalog No: RD-191114200R, Üretici Firma: Bio Vendor Research and Diagnostic Products, Candler, NC 28715, USA). Kullanılan kit prosedürüne çalışma öncesindeki inkübasyonlar yapıldıktan sonra 450nm- 630nm dalga boyunda ölçüm yapıp Human PEDF standartları ile çizilen standart eğri grafiğinden, çalışılan örneklerin PEDF konsantrasyonları hesaplandı.

**High Sensitivity CRP (hsCRP):** Çalışmada hastaların serum hsCRP düzeyleri Siemens BN II /BN Prospec system cihazında (Almanya, 2012) immünonefelometrik yöntem kullanılarak ölçüldü.

**Etik Kurul İzni:** Yürütülecek proje ile ilgili olarak Mustafa Kemal Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır. ( Karar No: 07/03/2013, 03 sayılı)

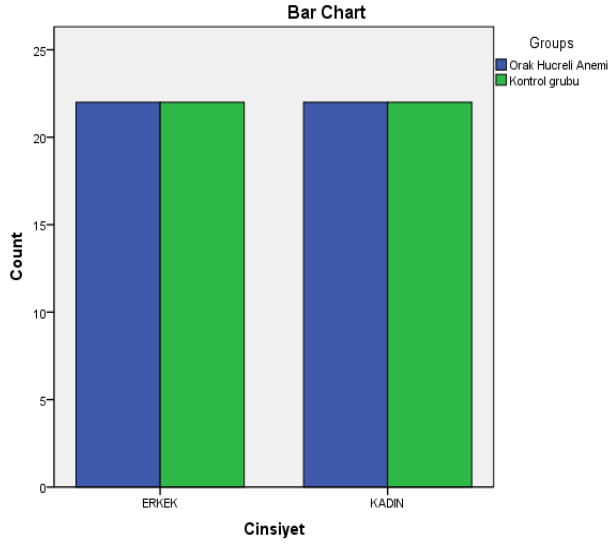
**Verilerin Değerlendirilmesi:** İstatistiksel değerlendirmeler için SPSS for Windows 18.0 (Statistical Pack age for Social Sciences) paket programı kullanıldı. Sürekli değişkenler normal dağılım yönünden Kolmogorov-Smirnov testi ile incelendi. Gruplar arası karşılaştırmalarda Students's t testi ve Mann Witney U test kullanıldı. Gruplar arası kategorik değişkenler Ki-Kare testi ile değerlendirildi. Pearson korelasyon katsayısı ile sürekli değişkenler arasındaki ilişkiler incelendi. Tüm istatistiksel veriler için  $p < 0.05$  anlamlı olarak kabul edildi ve sonuçlar % 95'lik güven aralığında değerlendirildi.

#### 4. BULGULAR

Çalışmaya 22'si kadın, 22'si erkek hasta olmak üzere 44 OHA'li hasta ve 22'si kadın, 22'si erkek olmak üzere 44 sağlıklı bireyler dâhil edildi. (Şekil 11) Yaşları 18-45 arasında değişen hasta ve kontrol olmak üzere 88 kişiden oluşmaktadır. Kontrol ve hasta grubuna ait demografik veriler Tablo 5'de bu verilerin dağılımı Şekil 12-15'de verilmiştir; hsCRP ve PEDF verileri Tablo 6'de gösterilmiştir.

**Tablo 5:** Hasta ve kontrol grubunun demografik verilerine ait ortalamalar

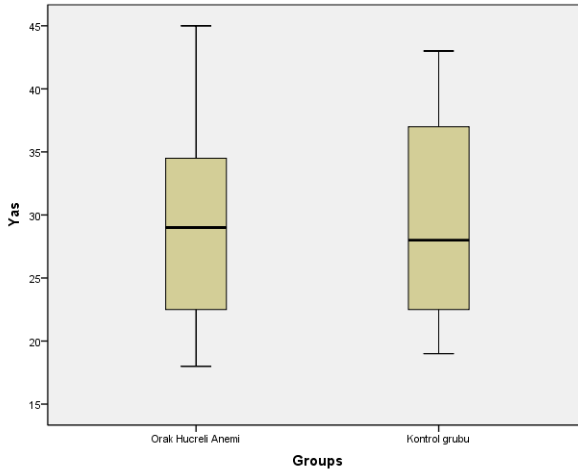
| <b>ÖZELLİK</b>                | <b>HASTA GRUBU<br/>(Ort.±S.D)</b> | <b>KONTROL GRUBU<br/>(Ort.±S.D)</b> | <b>P</b> |
|-------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|----------|
| <b>N</b>                      | 44                                | 44                                  |          |
| <b>Yaş</b>                    | 29,09±SD:7,5                      | 29,75±SD: 7,3                       | p>0,05   |
| <b>Ağırlık (kg)</b>           | 60,25±SD:10,1                     | 62,5±SD: 9,2                        | p>0,05   |
| <b>Boy (m)</b>                | 1,67±SD:0,92                      | 1,69±SD: 0,85                       | p>0,05   |
| <b>BKİ (kg/m<sup>2</sup>)</b> | 21,5±SD:2,85                      | 21,62±SD: 2,1                       | p>0,05   |
| <b>Bel Çevresi<br/>(cm)</b>   | 85,9±SD:9,05                      | 82,27±SD: 8,5                       | p>0,05   |



**Şekil 11:** OHA'si ve Kontrol grubunun cinsiyete göre dağılımı

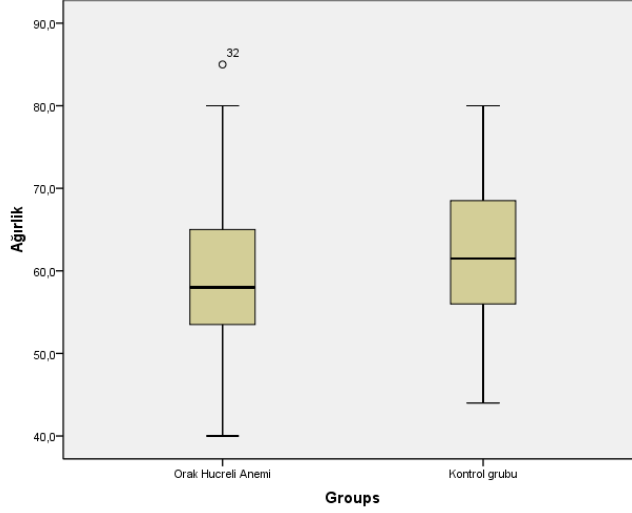
OHA'li 44 hasta ve 44 sağlıklı kontrolün yaş, ağırlık, boy, BKİ ve bel çevresi ortalamaları birbirine benzerdi.

A) OHA'li 44 hastanın yaş ortalamaları ( $29,09 \pm SD:7,5$ ) 44 kontrol hastalarının yaş ortalamaları ( $29,75 \pm SD: 7,3$ ) birbirine benzerdi ( $p=0,679$ ).



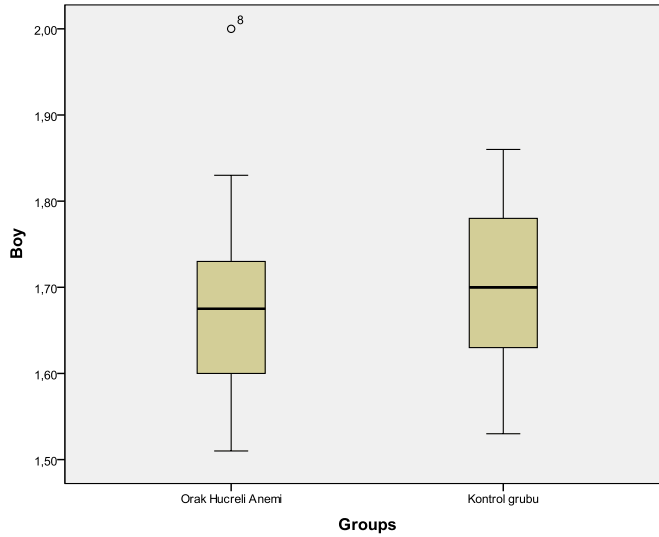
**Şekil 12:** OHA'si ve Kontrol grubunun yaşa göre dağılımı

B) OHA'li 44 hastanın ağırlık ortalamaları ( $60,25 \pm SD:10,1$ ) 44 kontrol hastalarının ağırlık ortalamaları ( $62,5 \pm SD: 9,2$ ) birbirine benzerdi ( $p=0,282$ ).



Şekil 13: OHA'si ve Kontrol grubunun ağırlığa göre dağılımı

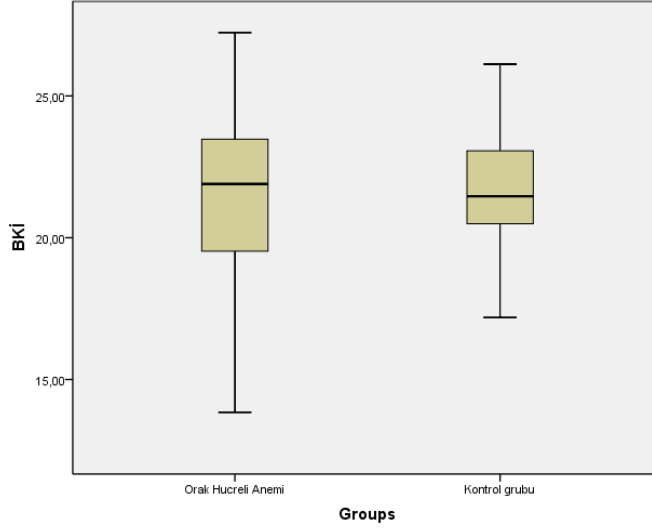
C) OHA'li 44 hastanın boy ortalamaları ( $1,67 \pm SD:0,92$ ) 44 kontrol hastalarının boy ortalamaları ( $1,69 \pm SD: 0,85$ ) birbirine benzerdi ( $p=0,200$ ).



Şekil 14: OHA'si ve Kontrol grubunun boya göre dağılımı



D) OHA'li 44 hastanın Beden Kütle İndeksi (BKİ) ortalamaları ( $21,5 \pm SD:2,85$ ) 44 kontrol hastalarının BKİ ortalamaları ( $21,62 \pm SD: 2,1$ ) birbirine benzerdi ( $p=0,817$ ).



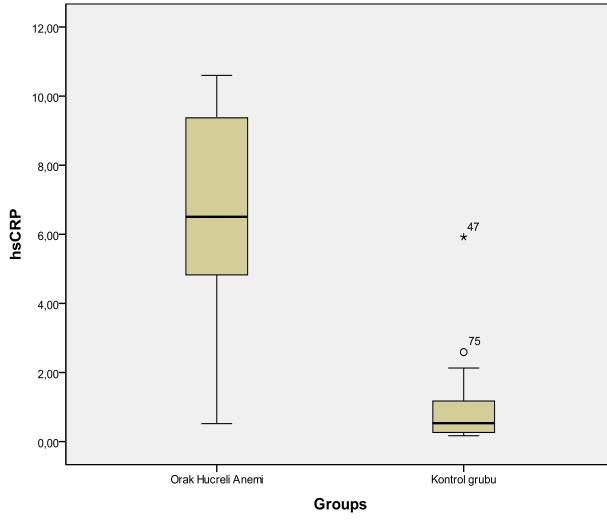
**Şekil 15:** OHA'si ve Kontrol grubunun BKİ göre dağılımı

OHA'li 44 hastanın bel çevresi ortalamaları ( $85,9 \pm SD:9,05$ ) 44 kontrol hastalarının bel çevresi ortalamaları ( $82,27 \pm SD: 8,5$ ) birbirine benzerdi ( $p=0,055$ ).

**Tablo 6:** Hasta ve kontrollere ait hsCRP ve PEDF verileri

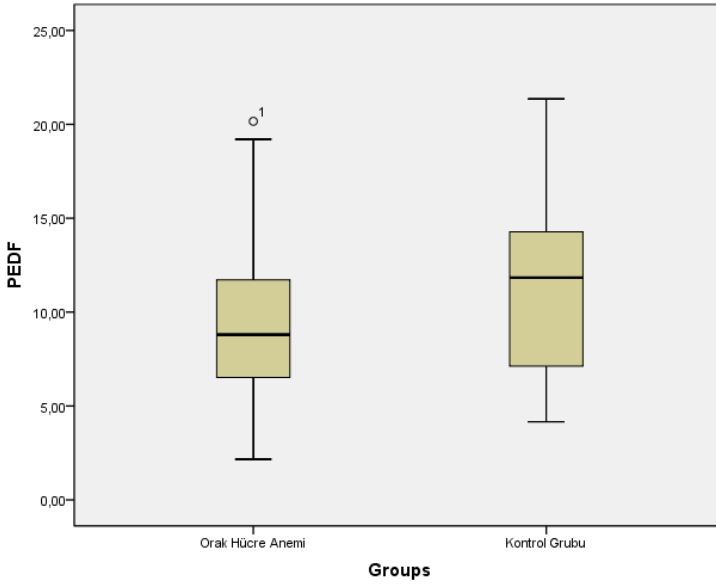
| ÖZELLİK                   | HASTA<br>(Ort.±S.D)      | KONTROL<br>(Ort.±S.D)       | P            |
|---------------------------|--------------------------|-----------------------------|--------------|
| PEDF ( $\mu\text{g/mL}$ ) | $9,1 \pm SD:3,8$<br>N=44 | $11,59 \pm SD: 4,9$<br>N=35 | $P < 0,05$   |
| hsCRP (mg/L)              | $6,5 \pm SD:3,1$<br>N=44 | $0,87 \pm SD:0,97$<br>N=44  | $P < 0,0001$ |

OHA'li 44 hastanın hsCRP seviyelerinin ortalamaları  $6,5 \pm SD:3,1$  44 kontrol hastalarının hsCRP seviyelerinin ortalamaları  $0,87 \pm SD:0,97$  idi ve OHA hastaların hsCRP seviyeleri kontrollere göre anlamlı olarak daha yüksekti ( $p < 0,0001$ ). (Şekil 16)



**Şekil 16:** hsCRP verilerinin dağılımı

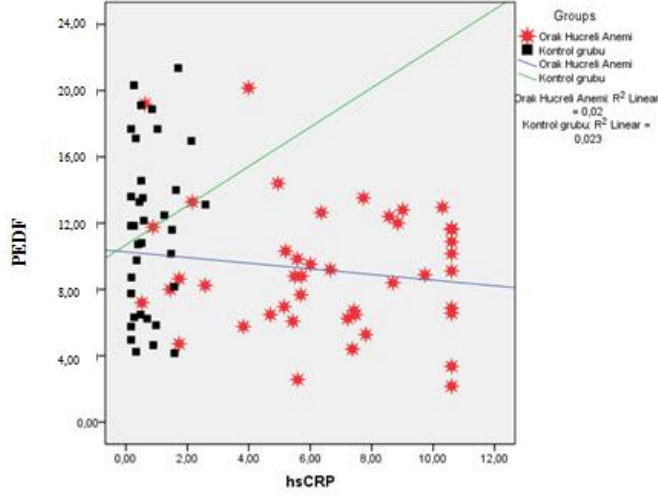
OHA'lı 44 hastanın PEDF ortalamaları ( $9,1 \pm SD: 3,8$ ) 35 kontrol hastalarının PEDF ortalamalarına göre ( $11,59 \pm SD: 4,9$ ) anlamlı olarak daha düşüktü ( $p < 0,05$ ). (Şekil 17)



**Şekil 17:** PEDF verilerinin dağılımı

79 hastanın PEDF değeri ile yaş, BKİ, ağırlık ve bel çevresi arasında korelasyon saptanmadı. 79 hastanın PEDF seviyesi hsCRP seviyesi arasında negatif

korelasyon vardı ( $p=0,025/R=-0.252$ ) ve hsCRP seviyeleri arttıkça PEDF seviyeleri azalmaktaydı. OHA'lı hasta grubu kendi içerisinde; PEDF değerleri ile hsCRP arasında korelasyon var ama önemli değildi ( $p=0,357$ ). Kontrol grubu kendi içerisinde; PEDF değerleri ile hsCRP arasında korelasyon var ama önemli değildi ( $p=0,381$ ). (Şekil 18)



**Şekil 18:** PEDF ve hsCRP arasındaki korelasyon

OHA'lı erkek hastalar ( $n=22$ ) ile sağlıklı erkeklere ( $n=22$ ) ait veriler demografik veriler Tablo 7'de gösterilmiştir.

**Tablo 7:** Erkeklerde Hasta Grubu ve Kontrol Grubuna ait demografik veriler

| ÖZELLİK          | OHA'lı ERKEK HASTA (Ort.±S.D) | SAĞLIKLI ERKEK KONTROL (Ort.±S.D) | P        |
|------------------|-------------------------------|-----------------------------------|----------|
| N                | 22                            | 22                                |          |
| Yaş              | 27,7±SD:6,7                   | 29,77±SD: 8,11                    | $p>0,05$ |
| Ağırlık (kg)     | 64±SD:10,4                    | 68,5±SD:7,75                      | $p>0,05$ |
| Boy (m)          | 1,73±SD:0,082                 | 1,76±SD:0,057                     | $p>0,05$ |
| BKİ              | 21,3±SD:2,94                  | 22,06±SD:2,26                     | $p>0,05$ |
| Bel Çevresi (cm) | 85,91±SD:11                   | 86,27±SD:7,6                      | $p>0,05$ |

OHA'li 22 erkek hastanın yaş ortalaması (27,7±SD:6,7); 22 sağlıklı erkeğin yaş ortalaması (29,77±SD:8,11) birbirine benzerdi (p=0,516). OHA'li 22 erkek hastanın boy ortalaması (1,73±SD:0,082); 22 sağlıklı erkeğin boy ortalaması (1,76±SD:0,057) birbirine benzerdi (p=0,053). OHA'li 22 erkek hastanın ağırlık ortalaması (64±SD:10,4); 22 sağlıklı erkeğin ağırlık ortalaması (68,5±SD:7,75) birbirine benzerdi (p=0,107). OHA'li 22 erkek hastanın BKİ ortalaması (21,3±SD:2,94); 22 sağlıklı erkeğin BKİ ortalaması (22,06±SD:2,26) birbirine benzerdi (p=0,432). OHA'li 22 erkek hastanın bel çevresi ortalaması (85,91±SD:11); 22 sağlıklı erkeğin bel çevresi ortalaması (86,27±SD:7,6) birbirine benzerdi (p=0,944).

OHA'li 22 erkek hastanın PEDF ortalaması (8,56±SD:2,96); 17 sağlıklı erkeğin PEDF ortalaması (12,72±SD:5,12) anlamlı olarak daha düşüktü (p<0,05). OHA'li 22 erkek hastanın hsCRP ortalaması (7,57±SD:2,97); 22 sağlıklı erkeğin hsCRP ortalaması (0,71±SD:0,57) anlamlı olarak daha yüksekti (p<0,0001). Tablo 8' da gösterilmiştir.

**Tablo 8:** Erkeklerde Hasta ve Kontrol Grubuna Ait hsCRP ve PEDF Verileri

| <b>ÖZELLİK</b>      | <b>OHA'li ERKEK HASTA (Ort.±S.D)</b> | <b>SAĞLIKLI ERKEK KONTROL (Ort.±S.D)</b> | <b>P</b>  |
|---------------------|--------------------------------------|--|-----------|
| <b>PEDF</b> (µg/mL) | 8,56±SD:2,96<br>N=22                 | 12,72±SD:5,12<br>N=17                    | P <0,05   |
| <b>hsCRP</b> (mg/L) | 7,57±SD:2,97<br>N=22                 | 0,71±SD:0,57<br>N=22                     | P <0,0001 |

OHA'li kadın hastalar (n=22) ile sağlıklı kadınlara (n=22) ait veriler demografik veriler Tablo 9'de gösterilmiştir.

**Tablo 9:** Kadınlarda Hasta Grubu ve Kontrol Grubuna ait demografik veriler

| ÖZELLİK          | OHA'li KADIN HASTA (Ort.±S.D) | SAĞLIKLI KADIN KONTROL (Ort.±S.D) | P      |
|------------------|-------------------------------|-----------------------------------|--------|
| N                | 22                            | 22                                |        |
| Yaş              | 30,50±SD:8,2                  | 29,73±SD:6,67                     | p>0,05 |
| Ağırlık (kg)     | 56,4±SD:8,6                   | 56,4±SD:6,2                       | p>0,05 |
| Boy (m)          | 1,61±SD:0,056                 | 1,63±SD:0,051                     | p>0,05 |
| BKİ              | 21,68±SD:2,8                  | 21,19±SD:1,95                     | p>0,05 |
| Bel Çevresi (cm) | 85,91±SD:6,8                  | 78,27±SD:7,5                      | p<0,05 |

OHA'li 22 kadın hastanın yaş ortalaması (30,50±SD:8,2); 22 sağlıklı kadının yaş ortalaması (29,73±SD:6,67) birbirine benzerdi (p=0,604). OHA'li 22 kadın hastanın boy ortalaması (1,61±SD:0,056); 22 sağlıklı kadının boy ortalaması (1,63±SD:0,051) birbirine benzerdi (p=0,234). OHA'li 22 kadın hastanın ağırlık ortalaması (56,4±SD:8,6); 22 sağlıklı kadının ağırlık ortalaması (56,4±SD:6,2) birbirine benzerdi (p=0,655). OHA'li 22 kadın hastanın BKİ ortalaması (21,68±SD:2,8); 22 sağlıklı kadının BKİ ortalaması (21,19±SD:1,95) birbirine benzerdi (p=0,460). OHA'li 22 kadın hastanın bel çevresi ortalaması (85,91±SD:6,8); 22 sağlıklı kadının bel çevresi ortalaması (78,27±SD:7,5) anlamlı olarak farklıydı (p<0,05).

OHA'li 22 kadın hastanın PEDF ortalaması (9,68±SD:4,48); 18 sağlıklı kadının PEDF ortalaması (10,88±SD:4,8) birbirine benzerdi (p=0,480). OHA'li 22 kadın hastanın hsCRP ortalaması (5,4±SD:3,1); 22 sağlıklı kadının hsCRP ortalaması (1,03±SD:1,25) anlamlı olarak daha yüksekti (p<0,0001). Tablo 10'de gösterilmiştir.

**Tablo 10:** Kadınlarda Hasta ve Kontrol Grubuna Ait hsCRP ve PEDF Verileri

| <b>ÖZELLİK</b>      | <b>OHA'li KADIN HASTA (Ort.±S.D)</b> | <b>SAĞLIKLI KADIN KONTROL (Ort.±S.D)</b> | <b>P</b>  |
|---------------------|--------------------------------------|--|-----------|
| <b>PEDF (µg/mL)</b> | 9,68±SD:4,48<br>N=22                 | 10,88±SD:4,8<br>N=18                     | P >0,05   |
| <b>hsCRP (mg/L)</b> | 5,4±SD:3,1<br>N=22                   | 1,03±SD:1,25<br>N=22                     | P <0,0001 |

OHA'li hastalar ve kontrol gruplarında PEDF seviyeleri cinsiyete göre farklılık göstermedi (OHA'sinde p=0,503; kontrollerde p=0,347). OHA'li hastalar da hsCRP seviyeleri cinsiyete göre anlamlı olarak farklılık gösterdi (p<0,05). OHA'li hastalarda hsCRP seviyeleri kadınlara göre erkeklerde anlamlı olarak daha yüksekti. OHA'li 44 hastanın hsCRP'nin erkeklerdeki minimum değeri:1,44 maximum değeri: 10,60 ortanca değeri: 7,64; hsCRP'nin kadınlardaki minimum değeri:0,52 maximum değeri: 10,60 ortanca değeri: 5,53 idi. Kontrol grubunda hsCRP seviyeleri cinsiyete göre farklılık göstermedi (p=0,445).

## 5. TARTIŞMA

OHA'si günümüzde kronik inflamatuvar bir durum olarak tanımlanmıştır. OHA'da mortalite ve morbiditenin işareti olan lökositoz gibi bir dizi klinik tablonun eşlik ettiği ilişkili birçok inflamatuvar durum mevcuttur (6). OHA'si düşük derece inflamasyon ve endotel aktivasyonunun olduğu bir hastalıktır. Kronik inflamasyon ve intravasküler hemolizin bir sonucu olarak endotelde disfonksiyon ve aktivasyon gerçekleşir (67). İnflamasyonun, vasküler endotele lökosit adezyonunun ve sonradan gelişen endotel hasarının OHA'sinin patogeneze katkı sağladığı ortaya çıkmaktadır (6). Sürekli tekrarlayan vazo-oklüzif krizler ve doku iskemisi OHA'sinde sürekli bir inflamatuvar yanıt oluşturur (112).

Son yıllarda, düşük dereceli sistemik inflamasyon için bir biyomarkır olan plazmadaki hs-CRP'nin kardiyovasküler ve periferik arter hastalıkları gibi damar hastalıklarının olumsuz sonuçları ile ilişkisi ve prediktif rolü üzerine araştırmalar hız kazanmıştır. hs-CRP, OHA'sinde ağrı veya vazooklüziv olaylarda hospitalizasyonu belirleyen en önemli laboratuvar göstergelerinden biri olarak ortaya çıkmaktadır (113).

Birçok çalışmada stabil OHA'sinde sitokinlerin seviyesinin artmış olduğu gösterilmiştir. Subklinik mikroyinfarktlar kronik endotel aktivasyonu ve hasarı ile birlikte orak retikülositler ve eritrositlerin vasküler endotele yapışkanlığın artmasını uyarmaktadır ve aktive endotel hücrelerinden İL-1 $\beta$ , İL-6, İL-8, TNF- $\alpha$  gibi proinflamatuvar sitokinler üretilir. Stabil OHA'li hastalarda bu sitokinlerin üretimi vazooklüzif kriz geçirmek için yeterli düzeye ulaşmamaktadır (114). İL-6, karaciğerdeki reseptörüne bağlanarak CRP sentezinin başlıca uyarandır ve CRP'nin dolaşımdaki major kaynağı karaciğer hepatositleridir (115). Pathare A ve arkadaşları yaş ortalamaları 27 olan ağrılı krizli (n=34) orak hücre hastalarında TNF-alfa ve İL-6'yı yaş ortalamaları 29 olan stabil orak hücre (n=26) hastalarına göre daha yüksek

bulmuşlar. Stabil orak hücre hastalarında IL-1beta, INF-gama'nın yaş ortalamaları 28 olan kontrolle (n=20) kıyaslandıklarında anlamlı olarak yüksek oldukları gösterilmiş. CRP düzeylerini ağırlı krizli OHA'sinde (CRP: 114,61mg/L) stabil OHA'sine (CRP:7,25mg/L) göre anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlar (114). Bizim çalışmamızdaki OHA'li hastaların (29,09) ve kontrol (29,75) grubunun yaş ortalamaları Pathare A ve arkadaşları ile benzerdi. Biz de çalışmamızda CRP'yi stabil OHA'li hastalarda (6,5mg/L) daha yüksek bulduk ve CRP düzeyleri Pathare A ve arkadaşları ile benzerdi.

Bhagat S ve arkadaşları ağırlı krizli OHA'li (n=51; CRP=11,6mg/L) ve stabil OHA'li (n=49; CRP=2,1mg/L) hastaları içeren, ortalama 20 yaşında olan, 100 kişilik hasta popülasyonun CRP düzeyini, ortalama yaşı 24 olan kontrolle (n=50; CRP=0,03mg/L) karşılaştırdıklarında daha yüksek bulmuşlar (116). Nur E ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada asemptomatik 62 HbSS/HbS $\beta$ 0-thal ve 43 HbSC/HbS $\beta$ +thal OHA'li hastalarının yaş ortalamaları sırasıyla 30 (23-38), 25 (22-36); kontrol (n=30) hastalarının yaş ortalaması 39 (28-46)'imiş. hsCRP düzeylerini asemptomatik OHA'sinde kontrole göre anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlar (117). HbSS OHA'li hastalarımızın (n=44; hsCRP=6,5mg/L) yaş ortalaması 29,09 $\pm$ SD:7,5 ve kontrollerimizin (n=44; CRP=0,87mg/L) yaş ortalaması 29,75 $\pm$ SD: 7,3' idi. Bizim çalışmamızda da Bhagat S ve arkadaşları, Nur E ve arkadaşları ile uyumlu olarak hsCRP düzeyleri stabil OHA'sinde anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur.

Krishnan S ve arkadaşları 2-20 yaş arası çocuk hastalarda yaptıkları çalışmada HbSS ve HbS $\beta$ <sup>0</sup> (n=43;5; hsCRP=2,8 mg/L) hastalarında hsCRP düzeylerini HbSC (n=22; hsCRP=0,6mg/L) ve aynı yaş kontrol grubuyla (hsCRP=0,4mg/L) kıyasladıklarında anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlar (113). Mohammed FA ve arkadaşları 1,5-16 yaş arası çocuk orak hücre hastalarında yaptıkları çalışmada vazookluzif krizli (n=104; hsCRP=31,3 mg/L) OHA'li grupta hsCRP düzeylerini stabil OHA'li (n=40; hsCRP=5 mg/L) gruba göre istatistiksel açıdan anlamlı bir şekilde daha yüksek bulmuşlar. Stabil OHA'li hastaların hsCRP düzeyleri kontrol grubuna (hsCRP<3 mg/L) göre yüksek bulunmuş (118). Iwalokun BA ve arkadaşları 18 yaşın altında unstabil OHA'li hastaların (n=23; CRP=8,5mg/L) CRP düzeyini stabil



OHA'li hastalara (n=41; CRP=4,6mg/L) göre anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlar. OHA'li (n=64; CRP=6mg/L ) hastaları kontrolle (n=41; CRP=2,3mg/L) karşılaştırdıklarında CRP düzeylerini daha yüksek bulmuşlar. Stabil OHA'li hastaların CRP düzeyi kontrol grubundan daha yüksek bulunmasına rağmen CRP düzeylerini arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamış (115). Bizim çalışmamızda hastalar ve kontroller 18 yaş ve üzerindedir. Bizde vazookluzif kriz geçiren hastalar çalışmaya dâhil edilmedi. Yalnızca stabil HbSS OHA'li hastalar çalışmaya dahil edildi. Stabil HbSS OHA'sinde (n=44; hsCRP=6,5mg/L) hsCRP düzeylerini kontrole (n=44; hsCRP=0,87mg/L) göre anlamlı olarak daha yüksek bulduk.

OHA hastalarında mikrovasküler patoloji hayati organları da etkileyebilir. hsCRP yüksekliği kardiyovasküler risk açısından prediktif önem arz etmektedir. AHA/CDC'nin belirlediği kardiyovasküler risk sınıflamasına göre hsCRP'nin 3 mg/L'nin üzerinde olması yüksek risk olarak belirlenmiştir (81). Biz de çalışmamızda hsCRP düzeylerini 6,5 mg/L bulduk. Stabil OHA'li hastalarımızın kardiyovasküler hastalık açısından yüksek risk grubunda olduğu belirlenmiştir.

OHA'sinin kronik inflamatuvar bir hastalık olduğu (119) ve bu hastalıkta akut faz reaktanlarının (CRP, serum amiloid A, alfa-1-antitripsin, serüloplazmin, alfa-1 asit glikoprotein, alfa-2 makroglobulin) artmış olduğu (120-122) önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Stabil OHA'sinde ve ağırlı krizli OHA'li hastalarda inflamasyonla ilişkili birbirinden farklı kemokin ve sitokinlerin (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-10, IL-8, İL-17, TGF- $\beta$ , MCP-1, IFN- $\gamma$ ), endotelial aktivasyonla ilişkili moleküllerin (VEGF, fibroblast büyüme faktörü), hiperkoagülasyon markerlarının (d-Dimer, doku faktörü aktivitesi) artmış olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (68, 123-126). Bu çalışmalar stabil OHA'sinde akut faz yanıtının olduğunu desteklemektedir. Biz de stabil OHA'sinde hsCRP düzeylerini inceledik ve stabil OHA'li hastaların (n=44) hsCRP seviyelerinin ortalaması 6,5 mg/L ( $\pm$ SD:3,1); kontrol grubunun (n=44) ortalaması 0,87 mg/L ( $\pm$ SD:0,97) idi. Stabil OHA'li hastaların hsCRP seviyelerini kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek bulduk (  $p < 0,0001$ ). Bizim çalışmamızda hsCRP artışı hem OHA'sinde inflamatuvar markerların (TNF- $\alpha$ , IL-6 gibi)

artmasıyla, hem de kardiyovasküler, tip 2 diabet, metabolik sendrom (127, 128) gibi hastalıklarda hsCRP artışıyla uyumlu bulundu. Stabil OHA'li hastalarda, asemptomatik dönemde, hsCRP yüksekliğinin kronik inflamasyon durumunu desteklediği, subkilinik inflamasyonun devam ettiğini gösterdiği (129) ve ilerde görülebilecek vazookluzif kriz için yüksek risk oluşturduğu öngörülmektedir (130). Bizim çalışmamızda hsCRP'nin anlamlı olarak yüksek olması, kararlı OHA'li hastalarda belirgin bir ağrılı kriz geçirilmemesine rağmen damar endotelinde bir inflamasyonun devam ettiği yönünde fikir vermekte ve hastaların subkilinik vazookluzif kriz geçiriyor gibi görüldüğü öngörülmektedir. Hastalardaki subkilinik mikrovasküler okluzyon, doku iskemisine sebep olarak dokuda nekroza sebep olabilir. Ayrıca hsCRP düzeylerinin yüksekliği OHA'sinde ateroskleroza işaret edebilir buda kardiyovasküler hastalıklar için bir risk faktörü oluşturmaktadır. Bu durum stabil OHA'li hastaların mortalitesinin artırabileceğini düşündürmektedir.

Önceki çalışmalarda OHA'lılarda hastalarda hsCRP düzeyi ile hastalığın klinik şiddeti arasında istatistiksel olarak anlamlı bir korelasyon olduğu (121, 131) gösterilmiştir. Vazookluziv krizlerin tipi, şiddeti, sıklığı ve ağrı skalası ile hsCRP seviyesi arasında pozitif korelasyon olduğu gibi artan hsCRP seviyesinin vazookluziv kriz için bağımsız bir risk faktörü olduğu da (113, 118) gösterilmiştir. Yaptığımız çalışmada hsCRP düzeylerinin yüksek olması endotelial disfonksiyonu göstererek hastalığın şiddeti ve vazookluzif krizlerle yakından ilişkili olduğunu düşündürmüştür. OHA'li hastalarda hsCRP düzeylerinin sıkı takibi yapılarak vazookluzif krizleri öngörmeye yararlı olabileceği ve OHA'sinde hsCRP düzeylerini azaltan tedavilerin klinik açıdan faydalı olabileceği öngörülmektedir.

OHA'sinde serum PEDF düzeylerini gösteren araştırılan literatürdeki ilk çalışmadır. PEDF güçlü bir anjiogenez inhibitörüdür (132) ayrıca endojen antiinflamatuvar özelliği olan bir faktör olarak tanımlanmıştır (133).

Mikrovasküler bir komplikasyon olan Diabetik retinopatide PEDF seviyelerinin azalmasının patolojik olduğu daha önceki insan ve hayvanlarda yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (134-136). Gao G ve arkadaşları retina neovaskülarizasyonunda

VEGF'ün 5 kat arttığını PEDF'ün 2 kat azaldığını göstermişlerdir. Hipoksi altında PEDF düzeyleri downregüle olur. İskeminin uyardığı retinopatide VEGF/PEDF oranının artmış olduğu gösterilmiştir (136). Stabil OHA'sinde VEGF seviyelerinin yükseldiği birçok çalışmada gösterilmiştir (68, 137). OHA'sinde oksijen yokluğunda HbS molekülleri polimerizasyona uğrar. OHA'sinin patofizyolojisinde hipoksi önemli bir rol oynar. OHA'sindeki anjiogenik ve antianjiogenik faktörlerin etkileri vasküler patobiyolojinin gelişmesine katkı sağlar. Bizim çalışmamızdaki OHA'sinde antianjiogenik olan PEDF düzeylerinin daha düşük olması hipoksi ile VEGF/PEDF oranının artması ile ilgili olabilir. OHA'sinde anjiogenezis görüldüğü bilinmektedir (138). OHA'sinde VEGF seviyesinin artması (137) ve PEDF'in azalması anjiogenez gelişmesi için bir risk faktörü olduğu ve böylece OHA'nin patogenezisine katkı sağladığı öngörülmektedir.

Wang JJ ve arkadaşları düşük derece inflamasyonla ilişkili olan diabetik nefropati üzerine antiinflamatuvar olan PEDF ile ilgili yaptıkları çalışmada diabetik ratlara PEDF sentezleyen adenovirüsü intravenöz olarak verdiklerinde PEDF tedavisinin TNF $\alpha$ , MCP-1, ICAM-1, ve VEGF gibi proinflamatuvar faktörlerin aşırı ekspresyonunu etkili bir şekilde baskıladığını göstermişler. Ratlarda yaptıkları diğer bir çalışmada mikrovasküler bir komplikasyon olan diabetik nefropatili PEDF ekspresyonunun azaldığını gösterdiler. Wang JJ ve arkadaşları son dönemlerde yaptıkları çalışmada endotoksin ile uyarılmış üveitli ratlarda retinal ve plazma PEDF seviyelerinin önemli bir şekilde azaldığını göstermişler (107, 139). Zhou X ve arkadaşları farelerde yaptıkları çalışmada subklinik inflamasyonun olduğu glom grubuyla normal kontrol grubunu karşılaştırdıklarında aköz hümörde PEDF seviyelerini anlamlı olarak azaldığını göstermişlerdir. Retina kapiller endotel hücrelerinde PEDF, hipoksi ile eksprese olan TNF'yi anlamlı bir şekilde azalttığı gösterilmiştir. Ayrıca retina hücrelerinde PEDF ekspresyonunun azalmasına bağlı TNF ekspresyonunu anlamlı bir şekilde arttığı gösterilmiştir. Zhou X ve arkadaşları fare retina ve optik sinirlerinde PEDF transfeksiyonun TNF ve IL18 gibi sitokinleri inhibe ettiğini göstermişler (106). PEDF antiinflamatuvar özelliğinden dolayı sitokinleri inhibe eder. Biz çalışmamızda 79 kişide (OHA+ kontrol) PEDF seviyesi ile hsCRP seviyesi arasında negatif korelasyon olduğunu ( $p=0,025/R=-0.252$ )

bulduk; sonuç olarak hsCRP seviyeleri arttıkça PEDF seviyeleri azalmaktaydı. Bizim çalışmamızdaki hasta sayısı azdı. Bu konuda daha fazla OHA'lı hastada çalışma yapılmalıdır. Stabil OHA'sinde kontrole göre PEDF düzeylerini anlamlı düşük, hsCRP düzeylerini anlamlı yüksek bulduk. OHA'lı hastalarda PEDF'in düşük olması hsCRP düzeylerinin yükselmesine katkı sağladığını düşünmekteyiz.

Wang F ve arkadaşları yaptıkları çalışmada Metabolik sendromlu (MS) hastaların serum PEDF seviyesi (11,1 µg/mL) MS'u olmayan hastalara (10.1 µg/mL) göre anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlar. Koroner arter hastalarında (KAH) serum PEDF seviyesi (11.0 µg/mL) KAH'lığı olmayanlara göre (10.3 µg/mL) anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlar (99). Polikistik over sendromlu (140), obeziteli (141), metabolik sendromlu(142) hastalarda serum PEDF seviyelerinin artmış olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmalarda insülin direnci ile korele olduğu rapor edilmiştir. Sabater M ve arkadaşları tarafından yapılan yeni bir çalışmada sağlıklı ve diabetik hastalarda PEDF düzeyleri ile insülin direnci arasında pozitif bir korelasyon olduğu gösterilmiştir. Tip 2 Diabetik hastalarda PEDF seviyesini kontrol hastalarına göre anlamlı olarak daha yüksek bulmuşlar. Diabetik grupta kilo kaybından sonra PEDF (34 µg/mL'den 22,5 µg/mL'ye düşmüş) düzeylerinde anlamlı olarak azalma olduğunu göstermişler. Ayrıca PEDF'ün BKİ, bel çevresi anlamlı bir şekilde pozitif ilişkili olduğunu göstermişler (143). Jenkins A ve arkadaşları da Diabetik hastalarda (PEDF=5,3µg/mL; BKİ=34,7) PEDF düzeylerini sağlıklı kişilere(PEDF=3,2µg/mL; BKİ=26,4) göre daha yüksek bulmuşlar. PEDF'ün BKİ ile pozitif korele olduğunu göstermişler (144). Bu çalışmalara zıt olarak biz 79 kişide (OHA+ kontrol) PEDF değeri ile yaş, BKİ, ağırlık ve bel çevresi arasında korelasyon saptamadık ve OHA'sinde PEDF'i kontrole göre daha düşük bulduk. Serum PEDF düzeyleri adipoz dokuda büyük ölçüde exprese edilir (140). Hastalarımızın (BKİ=21,5) ve kontrollerimiz (BKİ=21,62) obez değildi, normal kiloya sahiptiler. Serum PEDF düzeylerinin OHA'sinde düşük olması artmış metabolizma hızıyla birlikte adipoz dokunun azalmasından kaynaklanabilir.

Akın Ş ve arkadaşları 6 ay metformin tedavisi alan ve zayıflayan diabetik hastalarda PEDF düzeylerini (4,11'den 5,01'e çıkmış) anlamlı olarak artmış olarak

bulmuşlar (104). Bizim çalışmamızda Akın Ş ve arkadaşlarının ileri sürdüğü PEDF'ün antiinflamatuvar mekanizmasıyla uyumluydu.

İnflamasyonun non-spesifik bir markerı olan, adipoz dokudan salınan leptin düzeylerini çocuk ve yetişkin OHA'sinde düşük olduğunu ayrıca kriz esnasında anlamlı bir şekilde azaldığı gösterilmiş (145-147). Bizde OHA'sinde bir adipokin olan PEDF düzeylerini inceledik ve leptin düzeyleri gibi düşük bulduk. OHA'da adipositokinlerle ilgili yapılan çalışmalar sınırlıdır ve adipoz dokudan salınan adipositokinlerin OHA'sindeki etki mekanizması açıklığa kavuşmamıştır. Bu konudaki çalışmalar arttırılmalıdır.

Bizde yaptığımız çalışmada HbSS OHA'li 44 hastanın PEDF ortalamaları (9,1  $\mu\text{g}/\text{mL} \pm \text{SD}:3,9$ ) 35 kontrol hastalarının PEDF ortalamalarına göre (11,59  $\mu\text{g}/\text{mL} \pm \text{SD}: 4,9$ ) anlamlı olarak daha düşük bulduk (  $p<0,05$ ). PEDF'in damar hasarındaki inflamatuvar yanıtın çoğalmasını baskılayarak ateroskleroz üzerine yararlı etkileri olabileceği belirtilmiştir (105). Sonuçlarımız diabetik retinopati, diabetik nefropati ve üveit gibi mikrovasküler hastalıklardaki PEDF düzeylerindeki azalmayla uyumluydu. OHA'li hastalarda PEDF düzeylerinin düşük bulunması damar endotelinde subklinik bir inflamasyonun olduğuna ve damar duvarındaki hasarın devam ettiğine işaret etmektedir. PEDF anjiogenezis, nörodejenerasyon ve inflamasyonla ilişkili hastalıkların ve belli kanserlerin tedavisinde kullanılmakta(148) ve biz de OHA'sinde antiinflamatuvar olan PEDF tedavisinin faydalı olabileceğini düşünmekteyiz. OHA'sinde PEDF etki mekanizması bilinmemektedir. PEDF ile ilgili ilerde hayvan ve insan modellerinde, moleküler genetik ve hücre kültürlerinde yapılacak invivo, invitro çalışmaların OHA'sinin patofizyolojisine ve tedavisine yönelik katkı sağlayabileceğini düşünmekteyiz.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu çalışmada, orak hücre anemisinde daha önce bakılmamış bir parametre olan PEDF ve hsCRP ilişkisi değerlendirilmiştir. Çalışmamız, PEDF'ün vasküler inflamasyon ile ilişkisini gösteren orak hücre anemisinin patogenezinine ışık tutacak orijinal bir çalışmadır. Stabil OHA'sinde hsCRP ile ilgili sınırlı sayıda çalışma vardır. hsCRP ve PEDF'ün subklinik inflamasyonla yakın ilişkisini, orak hücre anemili hastalarda kronik inflamatuvar sürecin varlığını ve çalışmamızın sonuçlarını değerlendirdiğimizde, hsCRP ve PEDF'ün, vasküler patolojideki prognozun seyrine yön verici etkisinin OHA hastalarında da söz konusu olduğu sonucuna vardık. OHA'da patofizyolojisinin aydınlatılmasında, yeni bir parametre olan PEDF ve hsCRP ile ilgili moleküler genetik düzeyde daha fazla çalışma yapılmasının faydalı olacağını düşünüyoruz.

## 7. KAYNAKLAR

1. Edelstein SJ. Structure of the fibers of hemoglobin S. Texas reports on biology and medicine. 1980;40:221-32.
2. Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease. Lancet. 2010;376(9757):2018-31.
3. Embury S. Sickle cell anemia and associated hemoglobinopathies. In: Goldman L, Bennett J, editors. Cecil Textbook of Medicine. 21st ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 2000. p. 893-905.
4. Gürgey A. Orak Hücre Anemisi In: İliçin G, Ünal S, Biberöđlu K, Akalın S, Süleymanlar G, editors. Temel İç Hastalıkları. Ankara: Güneş Kitabevi 1996. p. 1243-7.
5. Sakamoto TM, Lanaro C, Ozelo MC, Garrido VT, Olalla-Saad ST, Conran N, et al. Increased adhesive and inflammatory properties in blood outgrowth endothelial cells from sickle cell anemia patients. Microvascular research. 2013.
6. Lanaro C, Franco-Penteado CF, Albuquerque DM, Saad ST, Conran N, Costa FF. Altered levels of cytokines and inflammatory mediators in plasma and leukocytes of sickle cell anemia patients and effects of hydroxyurea therapy. Journal of leukocyte biology. 2009;85(2):235-42.
7. Hebbel RP, Osarogiagbon R, Kaul D. The endothelial biology of sickle cell disease: inflammation and a chronic vasculopathy. Microcirculation. 2004;11(2):129-51.
8. Harvey RA, Ferrier DR, Karandish S. Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry, Fifth Ed. and Biochemistry Map (Medmaps) Bundle: Lippincott Williams & Wilkins. 2010.
9. Stapczynski JS, Martin GA. Hematologic Emergencies. In: Stone CK, Humphries RL, editors. Current Emergency&Treatment. 5th ed. USA: McGraw Hill Companies Inc; 2004. p. 788-823.
10. Gürdöl F. Oksijen Bađlayan Proteinler: Hemoglobin ve Miyoglobin. In: Gürdöl F, Ademoğlu E, editors. Biyokimya 2ed: Nobel Tıp Kitabevleri; 2010. p. 111-26.
11. Mary EE. Hereditary Hemolytic Anemias. In: Tintinalli JE, Kelen GD, Stapczynski JS, editors. Emergency Medicine, A Comprehensive Stuy Guide. 5th ed. North Carolina: McGraw Hill Companies Inc; 2000. p. 1382-7.

12. Beutler E. Disorders of Hemoglobin. In: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, et al., editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 14th ed. vol USA: McGraw Hill Companies Inc; 1998. p. 645-53.
13. Francis RB, Jr., Johnson CS. Vascular occlusion in sickle cell disease: current concepts and unanswered questions. *Blood*. 1991;77(7):1405-14.
14. Bunn HF, Forget BG. Sickle Cell Disease-Clinical and epidemiological aspects and molecular basis of Sickle Cell Disease In Hemoglobin. *Molecular, Genetic and Clinical Aspects*. Philadelphia: W. B. Saunders Company; 1986. p. 512
15. Redding-Lallinger R, Knoll C. Sickle cell disease--pathophysiology and treatment. *Current problems in pediatric and adolescent health care*. 2006;36(10):346-76.
16. Alkindi S, Al Zadjali S, Al Madhani A, Daar S, Al Haddabi H, Al Abri Q, et al. Forecasting hemoglobinopathy burden through neonatal screening in Omani neonates. *Hemoglobin*. 2010;34(2):135-44.
17. Serjeant GR. *Sickle Cell Disease*. 2nd ed. Oxford: Oxford University Pres; 1992.
18. Lukens JN. Hemoglobinopathies S, C, D, E and O and associated diseases. In: Lee GR, Bithel TC, Foester J, editors. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 9th ed. Philadelphia: Lea and Febiger; 1993. p. 1061-101.
19. Aksoy M, Ikin EW, Mourant AE, Lehmann H. Blood groups, haemoglobins, and thalassaemia in Turks in southern Turkey and Eti-Turks. *British medical journal*. 1958;2(5102):937-9.
20. Canatan D, Kose MR, Ustundag M, Haznedaroglu D, Ozbas S. Hemoglobinopathy control program in Turkey. *Community genetics*. 2006;9(2):124-6.
21. Arcasoy A, Canatan D. Dünyada ve Türkiye'de talasemi ve hemoglobinopatiler. In: Arcasoy A, Canatan D, Köse M, Üstündag M, editors. *Hemoglobinopati ve Talasemi, Önlem-Tanı-Tedavi*. Antalya-Türkiye: Siyah Grafik Matbaacılık Ltd Sti; 2002. p. 13-7.
22. Dover GJ, Platt OS. Sickle cell disease In: Nathan DG, Orkin SH, Ginsburg D, Look AT, editors. *Hematology of Infancy and Childhood* 6 th ed. Philadelphia: W. B. Saunders; 2003. p. 790-841.
23. Aster CJ. Red cell and bleeding disorders. In: Kumar V, Fausto N, Abbas A, editors. *Robbins and Cotran Pathologic basis of Disease*. 7 th ed: Elsevier Academic Pres; 2005. p. 628-32.



24. Odievre MH, Verger E, Silva-Pinto AC, Elion J. Pathophysiological insights in sickle cell disease. *The Indian journal of medical research*. 2011;134:532-7.
25. Nagel RL. Origin and dispersion of sickle gene. In: Embury SH, Hebbel RP, Mohandas N, Steinberg SH, editors. *Sickle Cell Disease: Basic Principles and Clinical Practice*. New York: Raven Press 1994.
26. Ballas SK. Sickle cell anaemia: progress in pathogenesis and treatment. *Drugs*. 2002;62(8):1143-72.
27. Bunn HF. Pathogenesis and treatment of sickle cell disease. *The New England journal of medicine*. 1997;337(11):762-9.
28. Güvenç B. Potasyum klorür kotransportu ve volüm düzenleyici mekanizmalar I. *Normal Eritrosit ÇÜTF Arşiv Dergisi* 1998;7(1):36-46.
29. Bize I, Guvenc B, Robb A, Buchbinder G, Brugnara C. Serine/threonine protein phosphatases and regulation of K-Cl cotransport in human erythrocytes. *The American journal of physiology*. 1999;277(5 Pt 1):C926-36.
30. Bize I, Guvenc B, Buchbinder G, Brugnara C. Stimulation of human erythrocyte K-Cl cotransport and protein phosphatase type 2A by n-ethylmaleimide: role of intracellular Mg<sup>++</sup>. *The Journal of membrane biology*. 2000;177(2):159-68.
31. Gardos G. The function of calcium in the potassium permeability of human erythrocytes. *Biochimica et biophysica acta*. 1958;30(3):653-4.
32. Joiner CH. Deoxygenation-induced cation fluxes in sickle cells: II. Inhibition by stilbene disulfonates. *Blood*. 1990;76(1):212-20.
33. Sugihara T, Rawicz W, Evans EA, Hebbel RP. Lipid hydroperoxides permit deformation-dependent leak of monovalent cation from erythrocytes. *Blood*. 1991;77(12):2757-63.
34. Hebbel RP. Beyond hemoglobin polymerization: the red blood cell membrane and sickle disease pathophysiology. *Blood*. 1991;77(2):214-37.
35. Hebbel RP, Boogaerts MA, Eaton JW, Steinberg MH. Erythrocyte adherence to endothelium in sickle-cell anemia. A possible determinant of disease severity. *The New England journal of medicine*. 1980;302(18):992-5.
36. Joneckis CC, Ackley RL, Orringer EP, Wayner EA, Parise LV. Integrin alpha 4 beta 1 and glycoprotein IV (CD36) are expressed on circulating reticulocytes in sickle cell anemia. *Blood*. 1993;82(12):3548-55.

37. Gee BE, Platt OS. Sickle reticulocytes adhere to VCAM-1. *Blood*. 1995;85(1):268-74.
38. Stuart MJ, Nagel RL. Sickle-cell disease. *Lancet*. 2004;364(9442):1343-60.
39. Swerlick RA, Eckman JR, Kumar A, Jeitler M, Wick TM. Alpha 4 beta 1-integrin expression on sickle reticulocytes: vascular cell adhesion molecule-1-dependent binding to endothelium. *Blood*. 1993;82(6):1891-9.
40. Okpala I. Leukocyte adhesion and the pathophysiology of sickle cell disease. *Current opinion in hematology*. 2006;13(1):40-4.
41. Canatan D, . Orak Hücre Anemisi. XXX Ulusal Hematoloji Kongresi, 7 Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu İstanbul-Türkiye2003. p. 93-9.
42. Antmen B. Orak Hücre Anemisi *Türk Ped Arşivi*. 2009;44(Özel sayı 1):39-42.
43. Saarinen UM, Chorba TL, Tattersall P, Young NS, Anderson LJ, Palmer E, et al. Human parvovirus B19-induced epidemic acute red cell aplasia in patients with hereditary hemolytic anemia. *Blood*. 1986;67(5):1411-7.
44. Platt OS, Thorington BD, Brambilla DJ, Milner PF, Rosse WF, Vichinsky E, et al. Pain in sickle cell disease. Rates and risk factors. *The New England journal of medicine*. 1991;325(1):11-6.
45. Singhal A, Davies P, Wierenga KJ, Thomas P, Serjeant G. Is there an energy deficiency in homozygous sickle cell disease? *The American journal of clinical nutrition*. 1997;66(2):386-90.
46. Almeida A, Roberts I. Bone involvement in sickle cell disease. *British journal of haematology*. 2005;129(4):482-90.
47. Milner PF, Kraus AP, Sebes JI, Sleeper LA, Dukes KA, Embury SH, et al. Sickle cell disease as a cause of osteonecrosis of the femoral head. *The New England journal of medicine*. 1991;325(21):1476-81.
48. Claster S, Vichinsky EP. Managing sickle cell disease. *BMJ*. 2003;327(7424):1151-5.
49. Ebert EC, Nagar M, Hagspiel KD. Gastrointestinal and hepatic complications of sickle cell disease. *Clinical gastroenterology and hepatology : the official clinical practice journal of the American Gastroenterological Association*. 2010;8(6):483-9; quiz e70.
50. Banerjee S, Owen C, Chopra S. Sickle cell hepatopathy. *Hepatology*. 2001;33(5):1021-8.

51. Sheehy TW. Sick cell hepatopathy. *Southern medical journal*. 1977;70(5):533-8.
52. Johnson CS, Omata M, Tong MJ, Simmons JF, Jr., Weiner J, Tatter D. Liver involvement in sickle cell disease. *Medicine*. 1985;64(5):349-56.
53. Brody JI, Ryan WN, Haidar MA. Serum alkaline phosphatase isoenzymes in sickle cell anemia. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 1975;232(7):738-41.
54. Yuzbasiyan-Gurkan VA, Brewer GJ, Vander AJ, Guenther MJ, Prasad AS. Net renal tubular reabsorption of zinc in healthy man and impaired handling in sickle cell anemia. *American journal of hematology*. 1989;31(2):87-90.
55. Silliman CC, Peterson VM, Mellman DL, Dixon DJ, Hambidge KM, Lane PA. Iron chelation by deferoxamine in sickle cell patients with severe transfusion-induced hemosiderosis: a randomized, double-blind study of the dose-response relationship. *The Journal of laboratory and clinical medicine*. 1993;122(1):48-54.
56. Brewer GJ, Hill GM, Dick RD, Prasad AS, Cossack ZT. Interactions of trace elements: clinical significance. *Journal of the American College of Nutrition*. 1985;4(1):33-8.
57. Bauer TW, Moore GW, Hutchins GM. The liver in sickle cell disease. A clinicopathologic study of 70 patients. *The American journal of medicine*. 1980;69(6):833-7.
58. DeVault KR, Friedman LS, Westerberg S, Martin P, Hosein B, Ballas SK. Hepatitis C in sickle cell anemia. *Journal of clinical gastroenterology*. 1994;18(3):206-9.
59. Hasan MF, Marsh F, Posner G, Bellevue R, Dosik H, Suatengco R, et al. Chronic hepatitis C in patients with sickle cell disease. *The American journal of gastroenterology*. 1996;91(6):1204-6.
60. Seeler RA. Deaths in children with sickle cell anemia. A clinical analysis of 19 fatal instances in Chicago. *Clinical pediatrics*. 1972;11(11):634-7.
61. Wang W, Lukens JN. Sick cell anemia and other sickling syndromes. In: Lee RG, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM, editors. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 10th ed. Middle East Edition, Baltimore: Williams and Wilkins Company; 1999. p. 1347-97.
62. Vichinsky EP, Styles LA, Colangelo LH, Wright EC, Castro O, Nickerson B. Acute chest syndrome in sickle cell disease: clinical presentation and course. *Cooperative Study of Sickle Cell Disease*. *Blood*. 1997;89(5):1787-92.
63. Wang WC. The pathophysiology, prevention, and treatment of stroke in sickle cell disease. *Current opinion in hematology*. 2007;14(3):191-7.

64. Koshy M, Entsuah R, Koranda A, Kraus AP, Johnson R, Bellvue R, et al. Leg ulcers in patients with sickle cell disease. *Blood*. 1989;74(4):1403-8.
65. Kümi M, Kılınç Y, Etiz L. Hematological findings in the milder and severe forms of sickle cell disease *Çukurova Üniv Tıp Fak Der*. 1982;7(4):349-52.
66. Charache S, Dover GJ, Moyer MA, Moore JW. Hydroxyurea-induced augmentation of fetal hemoglobin production in patients with sickle cell anemia. *Blood*. 1987;69(1):109-16.
67. Sakamoto TM, Lanaro C, Ozelo MC, Garrido VT, Olalla-Saad ST, Conran N, et al. Increased adhesive and inflammatory properties in blood outgrowth endothelial cells from sickle cell anemia patients. *Microvascular research*. 2013;90:173-9.
68. Niu X, Nourai M, Campbell A, Rana S, Minniti CP, Sable C, et al. Angiogenic and inflammatory markers of cardiopulmonary changes in children and adolescents with sickle cell disease. *PLoS One*. 2009;4(11):e7956.
69. Tillett WS, Francis T. Serological Reactions in Pneumonia with a Non-Protein Somatic Fraction of Pneumococcus. *The Journal of experimental medicine*. 1930;52(4):561-71.
70. Calabro P, Willerson JT, Yeh ET. Inflammatory cytokines stimulated C-reactive protein production by human coronary artery smooth muscle cells. *Circulation*. 2003;108(16):1930-2.
71. Kuta AE, Baum LL. C-reactive protein is produced by a small number of normal human peripheral blood lymphocytes. *The Journal of experimental medicine*. 1986;164(1):321-6.
72. Abliz H, Meinders A. C-reactive protein: history and revival. *European journal of internal medicine*. 2002;13(7):412.
73. Szalai AJ, Agrawal A, Greenhough TJ, Volanakis JE. C-reactive protein: structural biology and host defense function. *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC*. 1999;37(3):265-70.
74. Black S, Kushner I, Samols D. C-reactive Protein. *The Journal of biological chemistry*. 2004;279(47):48487-90.
75. Agrawal A, Shrive AK, Greenhough TJ, Volanakis JE. Topology and structure of the C1q-binding site on C-reactive protein. *J Immunol*. 2001;166(6):3998-4004.

76. Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*. 2000;102(18):2165-8.
77. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *The New England journal of medicine*. 1999;340(6):448-54.
78. Zouki C, Beauchamp M, Baron C, Filep JG. Prevention of In vitro neutrophil adhesion to endothelial cells through shedding of L-selectin by C-reactive protein and peptides derived from C-reactive protein. *The Journal of clinical investigation*. 1997;100(3):522-9.
79. Yıldırım A. Yeni bir risk faktörü olarak yüksek duyarlılık C-reaktif protein (hsCRP). *Türk Kardiyol Dern Arş - Arch Turk Soc Cardiol* 2005;33(6):360-71.
80. Lagrand WK, Visser CA, Hermens WT, Niessen HW, Verheugt FW, Wolbink GJ, et al. C-reactive protein as a cardiovascular risk factor: more than an epiphenomenon? *Circulation*. 1999;100(1):96-102.
81. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO, 3rd, Criqui M, et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation*. 2003;107(3):499-511.
82. Biasucci LM, Liuzzo G, Grillo RL, Caligiuri G, Rebuffi AG, Buffon A, et al. Elevated levels of C-reactive protein at discharge in patients with unstable angina predict recurrent instability. *Circulation*. 1999;99(7):855-60.
83. Genç S. Plazma Proteinleri. In: Gürdöl F, Ademoğlu E, editors. *Biyokimya Nobel Tıp Kitabevleri*; 2010. p. 491-511.
84. Yılmaz Y, Ongen Z. [The importance of non-lipid risk factors: a review focusing on C-reactive protein]. *Türk Kardiyoloji Dernegi arsivi : Turk Kardiyoloji Derneginin yayin organidir*. 2009;37 Suppl 4:7-13.
85. Rifai N, Tracy RP, Ridker PM. Clinical efficacy of an automated high-sensitivity C-reactive protein assay. *Clinical chemistry*. 1999;45(12):2136-41.
86. Altekin E, Önvural B. Kardiyovasküler hastalıklarda bir risk faktörü olarak C-reaktif proteinden yararlanım *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*. 2004;24:57-61.
87. Anand SS, Razak F, Yi Q, Davis B, Jacobs R, Vuksan V, et al. C-reactive protein as a screening test for cardiovascular risk in a multiethnic population. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2004;24(8):1509-15.

88. Bassuk SS, Rifai N, Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: clinical importance. *Current problems in cardiology*. 2004;29(8):439-93.
89. Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, Grillo RL, Rebuffi AG, Pepys MB, et al. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina. *The New England journal of medicine*. 1994;331(7):417-24.
90. Han TS, Sattar N, Williams K, Gonzalez-Villalpando C, Lean ME, Haffner SM. Prospective study of C-reactive protein in relation to the development of diabetes and metabolic syndrome in the Mexico City Diabetes Study. *Diabetes care*. 2002;25(11):2016-21.
91. Festa A, D'Agostino R, Jr., Tracy RP, Haffner SM. Elevated levels of acute-phase proteins and plasminogen activator inhibitor-1 predict the development of type 2 diabetes: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes*. 2002;51(4):1131-7.
92. Tsimikas S, Willerson JT, Ridker PM. C-reactive protein and other emerging blood biomarkers to optimize risk stratification of vulnerable patients. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006;47(8 Suppl):C19-31.
93. Blake GJ, Ridker PM. Inflammatory bio-markers and cardiovascular risk prediction. *Journal of internal medicine*. 2002;252(4):283-94.
94. Wang P, Smit E, Brouwers MC, Goossens GH, van der Kallen CJ, van Greevenbroek MM, et al. Plasma pigment epithelium-derived factor is positively associated with obesity in Caucasian subjects, in particular with the visceral fat depot. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 2008;159(6):713-8.
95. Tombran-Tink J, Chader GG, Johnson LV. PEDF: a pigment epithelium-derived factor with potent neuronal differentiative activity. *Experimental eye research*. 1991;53(3):411-4.
96. Karakousis PC, John SK, Behling KC, Surace EM, Smith JE, Hendrickson A, et al. Localization of pigment epithelium derived factor (PEDF) in developing and adult human ocular tissues. *Molecular vision*. 2001;7:154-63.
97. Tombran-Tink J, Barnstable CJ. PEDF: a multifaceted neurotrophic factor. *Nature reviews Neuroscience*. 2003;4(8):628-36.
98. Ek ET, Dass CR, Choong PF. Pigment epithelium-derived factor: a multimodal tumor inhibitor. *Molecular cancer therapeutics*. 2006;5(7):1641-6.
99. Wang F, Ma X, Zhou M, Pan X, Ni J, Gao M, et al. Serum pigment epithelium-derived factor levels are independently correlated with the presence of coronary artery disease. *Cardiovascular diabetology*. 2013;12:56.

100. Anguissola S, McCormack WJ, Morrin MA, Higgins WJ, Fox DM, Worrall DM. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) interacts with transportin SR2, and active nuclear import is facilitated by a novel nuclear localization motif. *PLoS One*. 2011;6(10):e26234.
101. Steele FR, Chader GJ, Johnson LV, Tombran-Tink J. Pigment epithelium-derived factor: neurotrophic activity and identification as a member of the serine protease inhibitor gene family. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1993;90(4):1526-30.
102. Houenou LJ, D'Costa AP, Li L, Turgeon VL, Enyadike C, Alberdi E, et al. Pigment epithelium-derived factor promotes the survival and differentiation of developing spinal motor neurons. *The Journal of comparative neurology*. 1999;412(3):506-14.
103. Petersen SV, Valnickova Z, Enghild JJ. Pigment-epithelium-derived factor (PEDF) occurs at a physiologically relevant concentration in human blood: purification and characterization. *The Biochemical journal*. 2003;374(Pt 1):199-206.
104. Akin S, Aksoy DY, Cinar N, Aydin K, Karaagaoglu E, Ariyurek M, et al. Pigment epithelium-derived factor increases in type 2 diabetes after treatment with metformin. *Clinical endocrinology*. 2012;77(6):852-6.
105. Nakamura K, Yamagishi S, Matsui T, Yoshida T, Takenaka K, Jinnouchi Y, et al. Pigment epithelium-derived factor inhibits neointimal hyperplasia after vascular injury by blocking NADPH oxidase-mediated reactive oxygen species generation. *The American journal of pathology*. 2007;170(6):2159-70.
106. Zhou X, Li F, Kong L, Chodosh J, Cao W. Anti-inflammatory effect of pigment epithelium-derived factor in DBA/2J mice. *Molecular vision*. 2009;15:438-50.
107. Wang JJ, Zhang SX, Mott R, Chen Y, Knapp RR, Cao W, et al. Anti-inflammatory effects of pigment epithelium-derived factor in diabetic nephropathy. *American journal of physiology Renal physiology*. 2008;294(5):F1166-73.
108. Chavan SS, Hudson LK, Li JH, Ochani M, Harris Y, Patel NB, et al. Identification of pigment epithelium-derived factor as an adipocyte-derived inflammatory factor. *Mol Med*. 2012;18:1161-8.
109. Shao H, Schvartz I, Shaltiel S. Secretion of pigment epithelium-derived factor. Mutagenic study. *European journal of biochemistry / FEBS*. 2003;270(5):822-31.
110. Raschke S, Eckardt K, Bjorklund Holven K, Jensen J, Eckel J. Identification and validation of novel contraction-regulated myokines released from primary human skeletal muscle cells. *PLoS One*. 2013;8(4):e62008.

111. Tabur S, Torun AN, Sabuncu T, Turan MN, Celik H, Ocak AR, et al. Non-diabetic metabolic syndrome and obesity do not affect serum paraoxonase and arylesterase activities but do affect oxidative stress and inflammation. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 2010;162(3):535-41.
112. Brittain JE, Parise LV. Cytokines and plasma factors in sickle cell disease. *Current opinion in hematology*. 2007;14(5):438-43.
113. Krishnan S, Setty Y, Betal SG, Vijender V, Rao K, Dampier C, et al. Increased levels of the inflammatory biomarker C-reactive protein at baseline are associated with childhood sickle cell vasocclusive crises. *British journal of haematology*. 2010;148(5):797-804.
114. Pathare A, Al Kindi S, Alnaqdy AA, Daar S, Knox-Macaulay H, Dennison D. Cytokine profile of sickle cell disease in Oman. *American journal of hematology*. 2004;77(4):323-8.
115. Iwalokun BA, Iwalokun SO, Hodonu SO, Aina OA, Omilabu S. A study on the association between parvovirus B19 infection, serum tumour necrosis factor and C-reactive protein levels among Nigerian patients with sickle cell anaemia. *Singapore medical journal*. 2012;53(11):726-31.
116. Bhagat S, Patra PK, Thakur AS. Association of Inflammatory Biomarker C-Reactive Protein, Lipid Peroxidation and Antioxidant Capacity Marker with HbF Level in Sickle Cell Disease Patients from Chattisgarh. *Indian journal of clinical biochemistry : IJCB*. 2012;27(4):394-9.
117. Nur E, van Beers EJ, Martina S, Cuccovillo I, Otten HM, Schnog JJ, et al. Plasma levels of pentraxin-3, an acute phase protein, are increased during sickle cell painful crisis. *Blood cells, molecules & diseases*. 2011;46(3):189-94.
118. Mohammed FA, Mahdi N, Sater MA, Al-Ola K, Almawi WY. The relation of C-reactive protein to vasoocclusive crisis in children with sickle cell disease. *Blood cells, molecules & diseases*. 2010;45(4):293-6.
119. Lee SP, Ataga KI, Orringer EP, Phillips DR, Parise LV. Biologically active CD40 ligand is elevated in sickle cell anemia: potential role for platelet-mediated inflammation. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2006;26(7):1626-31.
120. Singhal A, Doherty JF, Raynes JG, McAdam KP, Thomas PW, Serjeant BE, et al. Is there an acute-phase response in steady-state sickle cell disease? *Lancet*. 1993;341(8846):651-3.
121. Hedo CC, Aken'ova YA, Okpala IE, Durojaiye AO, Salimonu LS. Acute phase reactants and severity of homozygous sickle cell disease. *Journal of internal medicine*. 1993;233(6):467-70.



122. Bourantas KL, Dalekos GN, Makis A, Chaidos A, Tsiara S, Mavridis A. Acute phase proteins and interleukins in steady state sickle cell disease. *European journal of haematology*. 1998;61(1):49-54.
123. Walter PB, Fung EB, Killilea DW, Jiang Q, Hudes M, Madden J, et al. Oxidative stress and inflammation in iron-overloaded patients with beta-thalassaemia or sickle cell disease. *British journal of haematology*. 2006;135(2):254-63.
124. Keikhaei B, Mohseni AR, Norouzirad R, Alinejadi M, Ghanbari S, Shiravi F, et al. Altered levels of pro-inflammatory cytokines in sickle cell disease patients during vaso-occlusive crises and the steady state condition. *European cytokine network*. 2013;24(1):45-52.
125. Qari MH, Dier U, Mousa SA. Biomarkers of inflammation, growth factor, and coagulation activation in patients with sickle cell disease. *Clinical and applied thrombosis/hemostasis : official journal of the International Academy of Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2012;18(2):195-200.
126. Key NS, Slungaard A, Dandele L, Nelson SC, Moertel C, Styles LA, et al. Whole blood tissue factor procoagulant activity is elevated in patients with sickle cell disease. *Blood*. 1998;91(11):4216-23.
127. Nesto R. C-reactive protein, its role in inflammation, Type 2 diabetes and cardiovascular disease, and the effects of insulin-sensitizing treatment with thiazolidinediones. *Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association*. 2004;21(8):810-7.
128. Ridker PM. High-sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease. *Circulation*. 2001;103(13):1813-8.
129. Stuart J, Stone PC, Akinola NO, Gallimore JR, Pepys MB. Monitoring the acute phase response to vaso-occlusive crisis in sickle cell disease. *Journal of clinical pathology*. 1994;47(2):166-9.
130. Akinola NO, Stevens SM, Franklin IM, Nash GB, Stuart J. Subclinical ischaemic episodes during the steady state of sickle cell anaemia. *Journal of clinical pathology*. 1992;45(10):902-6.
131. Makis AC, Hatzimichael EC, Stebbing J, Bourantas KL. C-reactive protein and vascular cell adhesion molecule-1 as markers of severity in sickle cell disease. *Archives of internal medicine*. 2006;166(3):366-8.

132. Dawson DW, Volpert OV, Gillis P, Crawford SE, Xu H, Benedict W, et al. Pigment epithelium-derived factor: a potent inhibitor of angiogenesis. *Science*. 1999;285(5425):245-8.
133. Zhang SX, Wang JJ, Gao G, Shao C, Mott R, Ma JX. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) is an endogenous antiinflammatory factor. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2006;20(2):323-5.
134. Boehm BO, Lang G, Volpert O, Jehle PM, Kurkhaus A, Rosinger S, et al. Low content of the natural ocular anti-angiogenic agent pigment epithelium-derived factor (PEDF) in aqueous humor predicts progression of diabetic retinopathy. *Diabetologia*. 2003;46(3):394-400.
135. Ogata N, Nishikawa M, Nishimura T, Mitsuma Y, Matsumura M. Unbalanced vitreous levels of pigment epithelium-derived factor and vascular endothelial growth factor in diabetic retinopathy. *American journal of ophthalmology*. 2002;134(3):348-53.
136. Gao G, Li Y, Zhang D, Gee S, Crosson C, Ma J. Unbalanced expression of VEGF and PEDF in ischemia-induced retinal neovascularization. *FEBS letters*. 2001;489(2-3):270-6.
137. Solovey A, Gui L, Ramakrishnan S, Steinberg MH, Hebbel RP. Sick 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(11):3824-30.
138. Prengler M, Pavlakis SG, Prohovnik I, Adams RJ. Sick cell disease: the neurological complications. *Annals of neurology*. 2002;51(5):543-52.
139. Wang JJ, Zhang SX, Lu K, Chen Y, Mott R, Sato S, et al. Decreased expression of pigment epithelium-derived factor is involved in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Diabetes*. 2005;54(1):243-50.
140. Yang S, Li Q, Zhong L, Song Y, Tian B, Cheng Q, et al. Serum pigment epithelium-derived factor is elevated in women with polycystic ovary syndrome and correlates with insulin resistance. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2011;96(3):831-6.
141. Crowe S, Wu LE, Economou C, Turpin SM, Matzaris M, Hoehn KL, et al. Pigment epithelium-derived factor contributes to insulin resistance in obesity. *Cell metabolism*. 2009;10(1):40-7.
142. Chen C, Tso AW, Law LS, Cheung BM, Ong KL, Wat NM, et al. Plasma level of pigment epithelium-derived factor is independently associated with the development of the metabolic syndrome in Chinese men: a 10-year prospective study. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2010;95(11):5074-81.

143. Sabater M, Moreno-Navarrete JM, Ortega FJ, Pardo G, Salvador J, Ricart W, et al. Circulating pigment epithelium-derived factor levels are associated with insulin resistance and decrease after weight loss. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2010;95(10):4720-8.
144. Jenkins A, Zhang SX, Gosmanova A, Aston C, Dashti A, Baker MZ, et al. Increased serum pigment epithelium derived factor levels in Type 2 diabetes patients. *Diabetes research and clinical practice*. 2008;82(1):e5-7.
145. Iwalokun BA, Iwalokun SO, Hodonu SO, Aina AO, Agomo PU. Serum levels of leptin in Nigerian patients with sickle cell anaemia. *BMC blood disorders*. 2011;11:2.
146. Buchowski MS, Simmons LA, Chen KY, Flakoll PJ, Mellen BG, Turner EA. Plasma leptin association with body composition and energy expenditure in sickle cell disease. *Journal of the American College of Nutrition*. 2000;19(2):228-36.
147. Hibbert JM, Hsu LL, Bhatena SJ, Irune I, Sarfo B, Creary MS, et al. Proinflammatory cytokines and the hypermetabolism of children with sickle cell disease. *Exp Biol Med (Maywood)*. 2005;230(1):68-74.
148. Manalo KB, Choong PF, Dass CR. Pigment epithelium-derived factor as an impending therapeutic agent against vascular epithelial growth factor-driven tumor-angiogenesis. *Molecular carcinogenesis*. 2011;50(2):67-72.

## 8. ÖZGEÇMİŞ

24 Mart 1985 tarihinde Konya'nın Bozkır ilçesinde dünyaya geldi. İlkokulu Ahırlı ilköğretim okulunda okudu. Lise eğitimini 2000-2003 yılları arasında Karaman Milli Piyango Fen Lisesinde tamamladı. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakültesinde 2003 yılında tıp eğitimine başladı. Tıp fakültesinden 1 Temmuz 2009'da mezun oldu ve 1 Ekim 2009'de Konya'ya bağlı Güneysınır İlçe Hastanesinde 3 ay süre ile mecburi hizmet görevini yerine getirdi. 12 Ocak 2010'da Mustafa Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalında araştırma görevlisi doktor olarak çalışmaya başlamış olup halen burada görevine devam etmektedir.