

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ**  
**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**HEMATOKRİT DEĞERLERİ İLE ERİTROSİT SEDİMENTASYON  
HIZI ARASINDAKİ İLİŞKİNİN İN VİTRO ARAŞTIRILMASI**

**Fatih ÇELİK**

**Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Danışman**

**Dr. Öğr. Üyesi Fatih KARA**

**2020-KARS**

TC  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Fatih ÇELİK tarafından hazırlanmış olan "Hematokrit Değerleri ile Eritrosit Sedimentasyon Hızı Arasındaki İlişkinin in vitro Araştırılması" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy birliği ile kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 31/01/2020

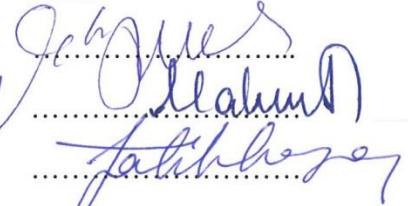
Adı Soyadı: Fatih ÇELİK

İmza:

Başkan: Prof. Dr. AHMET KIZILDIRAK

Üye: Prof. Dr. Mahmut KARAPEHLİVAN

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Fatih KARA

İmza: 

Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../... gün ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Enstitü Müdürü

## ÖNSÖZ

Bu çalışmanın yapılmasına danışman olarak katkı sunan Dr. Öğr. Üyesi Fatih KARA'ya, lisansüstü eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerini benden esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Ayla ÖZCAN'a, Tıbbi Biyokimya Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Mahmut KARAPEHLİVAN'a, Doç. Dr. Fehmi ODABAŞOĞLU'na, Dr. Öğr. Üyesi Fadime ATALAY'a, Dr. Öğr. Üyesi Tolga KASACI'ya ve tıbbi biyokimya bölümünün diğer tüm çalışanlarına ve tezimi değerlendirerek görüş ve önerileri ile çalışmaya değer katan Sayın Prof. Dr. Ahmet KIZILTUNÇ'a teşekkür ederim.

Fatih ÇELİK

## İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER .....	ii
KISALTMALAR VE SİMGELER .....	iv
TABLO LİSTESİ.....	v
ŞEKİL LİSTESİ.....	vi
RESİM LİSTESİ.....	vii
ÖZET.....	viii
SUMMARY .....	ix

## BİRİNCİ BÖLÜM

GİRİŞ VE AMAÇ .....	1
GENEL BİLGİLER.....	1
1. Akut Faz Reaktanları.....	1
1.1. Negatif Akut Faz Reaktanları.....	2
1.1.1. Albumin .....	2
1.1.2. Transtiretin (Prealbumin) .....	2
1.1.3. Transferrin.....	3
1.1.4. Retinol bağlayıcı protein .....	3
1.1.5. Transkörtin .....	3
1.2. Pozitif Akut Faz Reaktanları.....	4
1.2.1. C-Reaktif Protein .....	4
1.2.2. Seruloplazmin .....	5
1.2.3. Alfa-2-Makroglobulin .....	5
1.2.4. Fibrinojen .....	5
1.2.5. Alfa-1 Antitripsin .....	5
1.2.6. Haptoglobin.....	6
1.2.7. Hepsidin .....	6
1.2.8. Ferritin.....	6

1.2.9. Prokalsitonin .....	7
1.2.10. Kompleman Sistemi .....	7
1.2.11. Serum Amiloid A .....	8
2. Eritrosit Sedimentasyon Hızı (ESR) .....	8
2.1. Tarihçe.....	8
2.2. Eritrosit Sedimentasyonunun Aşamaları.....	9
2.3. ESR Ölçüm Yöntemleri .....	10
a. Westergren Metodu .....	10
b. Wintrobe Metodu .....	10
c. Santrifüjlü Metotlar .....	11
d. Westergren Metodunun Modifikasyonları .....	11
e. Fotometrik Reoloji Metodu .....	12
f. Kapiller Fotometrik-Kinetik Teknoloji.....	12
g. Zeta Sedimentasyon Oranı .....	12
2.4. ESR'yi Etkileyen Faktörler.....	15
a. ESR'yi Artıran Sebepler .....	15
b. ESR'yi Azaltan Sebepler .....	16
2.4.1. Plazma ile İlişkili Faktörler .....	17
2.4.2. Eritrosit ile İlişkili Faktörler .....	17
a. Hematokrit ve ESR Arasındaki İlişki .....	17

## İKİNCİ BÖLÜM

<b>MATERYAL VE METOT</b> .....	18
--------------------------------	----

## ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

<b>BULGULAR</b> .....	19
-----------------------	----

## DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

<b>TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....	23
--------------------------------	----

<b>KAYNAKLAR</b> .....	25
------------------------	----

**KISALTMALAR VE SİMGELER**

**AAT:**  $\alpha$ -1 antitripsin

**AFP:** akut faz protein

**AGP:**  $\alpha$ 1-asit glikoprotein

**APR:** acute phase response

**CRP:** C-reactive protein

**ESR:** eritrosit sedimentasyon hızı

**IL-1:** interlökin-1

**SAA:** serum amiloid A

**SAP:** serum amiloid P

**MAP:** major akut faz proteini

**LBP:** lipopolisakkarit-bağlayıcı protein

**NO:** nitrik oksit

**RBP:** retinol bağlayıcı protein

**CBG:** kortikosteroid bağlayıcı globulin

**MAK:** membran atak kompleksi

**MBL:** mannoz bağlayıcı lektin

**MASP:** mannose-binding lectin-associated serine protease

**EDTA:** Ethylene diamine tetra aceticacid

**TABLO LİSTESİ**

**Tablo 1.** ESR ölçümü yapan bazı cihazların kullanmış oldukları yöntemler.....13

**Tablo 2.** Numunelerin hematokrit değerleri ve bunlara karşılık gelen ESR sonuçları.....20



**ŞEKİL LİSTESİ**

<b>Şekil 1.</b> Farklı hematokrit değerleri elde etmek için yapılan işlemler.....	18
<b>Şekil 2.</b> Hematokrit ve ESR'nin korelasyon grafiği.....	21
<b>Şekil 3.</b> Dört farklı hematokritte ESR değerleri.....	22



## RESİM LİSTESİ

<b>Resim 1.</b> Rulo ve sfer formasyonu.....	9
--	---



## ÖZET

Eritrosit sedimantasyon hızı (ESR) testinin amacı, kandaki akut faz tepkisini indirekt olarak analiz etmektir. Bununla birlikte, eritrositlerin sedimantasyonu birçok faktörden etkilenen oldukça karmaşık bir süreçtir. Hematokrit, akut faz yanıtı ile birlikte eritrosit sedimantasyonunu etkileyen ana faktörlerden biridir. Bu nedenle, hematokrit değişiklikleri eritrosit sedimantasyon analizi ile akut faz yanıtının değerlendirilmesinin önündeki en büyük engel olarak görülmektedir. Çalışmanın amacı, hematokrit değerleri ile ESR arasındaki ilişkiyi in vitro olarak araştırmak ve hematokritin eritrosit sedimantasyonu üzerine etkisini ortadan kaldırarak ESR'nin değerlendirilmesine izin veren bir yöntem geliştirmektir.

Çalışmada 10 gönüllüden 10'ar mL tam kan numunesi alındı. Hematokritin farklı yüzdelerini elde etmek için, otolog plazma ve tam kan örnekleri belirli oranlarda karıştırıldı. Elde edilen tüm örneklerde ESR seviyeleri ölçüldü.

Hematokrit ve ESR düzeyleri arasında anlamlı negatif bir korelasyon olduğu görüldü ( $r = -0.456$ ,  $p = 0.003$ ). Tüm hastalarda hematokrit azaldıkça ESR değerleri de arttı. Lineer regresyon analizinde hematokrit ve ESR arasında anlamlı ( $t = -3.158$ ,  $p = 0.003$ ) negatif ( $-0.745$ ) bir ilişkinin olduğu tespit edildi. Bu ilişki için basit doğrusal regresyon formülü  $ESR = 52.58 - (0.745 \times \text{hematokrit})$  idi.

Sonuç olarak, bu çalışma, hematokritteki her 1 puanlık azalmanın ESR'de 0.745'lik bir artışa yol açabileceğini göstermektedir. Bu matematiksel ilişki, hematokritin azalmış veya artmış olduğu durumlarda, hematokritin etkisinden arındırılmış ESR değerleri elde etmek için kullanılabilir. Bununla birlikte, bu sonucun pratik olarak uygulanabilir olup olmadığını belirlemek için klinik araştırmalarla test edilmesi gerektiği açıktır.

## SUMMARY

The aim of the erythrocyte sedimentation rate (ESR) test is to analyze indirectly the acute phase response in the blood. However, the sedimentation of erythrocytes is a complex process that is affected by many factors. Hematocrit is one of the main factors affecting erythrocyte sedimentation together with the acute phase response. Therefore, hematocrit changes are seen as the biggest obstacle to the evaluation of acute-phase response through erythrocyte sedimentation analysis. The aim of the study is to investigate the relationship between hematocrit values and ESR in vitro and to develop a method that permits evaluating the ESR by eliminating the effect of the hematocrit on erythrocyte sedimentation.

Approximately 10 mL of whole blood samples were taken from each of the 10 volunteers for this study. To obtain different percentages of hematocrit, autologous plasma and whole blood samples were mixed in certain ratios. ESR levels were measured in all samples.

There was a significant negative correlation between hematocrit and ESR levels ( $r = -0.456$ ,  $p = 0.003$ ). ESR values increased as hematocrit decreased in all patients. There was a significant ( $t = -3.158$ ,  $p = 0.003$ ) negative ( $-0.745$ ) relationship between hematocrit and ESR in linear regression analysis. The simple linear regression formula for this relationship was  $ESR = 52.58 - (0.745 \times \text{hematocrit})$ .

This study showed that each 1-point decrease in hematocrit (%) could lead to an increase of 0.745 in ESR (mm/hour). This mathematical relationship can be used to obtain ESR values that are free of the effect of the hematocrit when the hematocrit is reduced or increased. However, it is clear that this result should be tested by clinical trials to determine whether it is practically feasible.

## GİRİŞ VE AMAÇ

Eritrosit sedimentasyonu birçok faktörün etkisinde gerçekleşen, bununla birlikte temel olarak kandaki akut faz cevabını indirekt olarak gözlemleyebilmek amacıyla analiz edilen kompleks bir süreçtir. Kandaki akut faz cevabı, fibrinojen gibi bazı plazma proteinlerini artırmakta, bu proteinler de eritrosit sedimentasyonunu hızlandırmaktadır.

Hematokrit, plazma proteinlerinin dışında eritrosit sedimentasyonu üzerinde etkili temel faktördür. Bu nedenle hematokrit değişiklikleri, eritrosit sedimentasyon analizi üzerinden akut faz cevabının değerlendirilmesinin önündeki en büyük engel olarak görülmektedir.

Bu çalışmanın amacı, gönüllülerden alınan kanlarda, otolog plazma kullanılarak farklı hematokrit seviyeleri elde etmek ve yapılan sedimentasyon hızı ölçümleri ile elde edilen farklı hematokrit düzeylerini karşılaştırarak hematokrit ile sedimentasyon hızı arasındaki matematiksel ilişkiyi *in vitro* incelemektir.

## GENEL BİLGİLER

### 1. Akut Faz Reaktanları

İnflamasyona, enfeksiyona, travmaya, doku enfarktüsüne ve neoplazilere eşlik eden serum protein konsantrasyonlarındaki artış (ya da azalış) akut faz cevabı (acute phase response, APR) olarak isimlendirilmektedir. Bu durum ilk kez pnömokokkal pnömoninin akut fazında serum C-reaktif protein (CRP) seviyelerindeki artışla keşfedilmiştir. İsminde her ne kadar "akut faz" ifadesi olsa da, kronik hastalıklarda da akut faz cevabı tespit edilebilmektedir. Akut faz cevabı CRP'de olduğu gibi direkt veya eritrosit sedimentasyon hızında (ESR) olduğu gibi indirekt olarak değerlendirilebilir. Bir proteinin akut faz proteini (AFP) olarak isimlendirilebilmesi için, akut faz cevabı oluşturan durumda serum konsantrasyonlarının en az %25 oranında artması ya da azalması gerekmektedir. Buna göre söz konusu proteinler ya pozitif akut faz reaktanı ya da negatif akut faz reaktanı ismini alır. Pozitif akut faz reaktanları arasında CRP, seruloplazmin, serum amiloid A (SAA), fibrinojen, alfa-1

antitripsin (AAT), haptoglobin, hepsidin, ferritin, prokalsitonin, kompleman C3, C4 ve C5,  $\alpha$ 2-makroglobulin,  $\alpha$ 1-asit glikoprotein (AGP), protrombin, plazminojen, faktör 8, von-Willebrand faktör, IL-1 reseptör antagonisti, antikimotripsin, serum amiloid P (SAP), major akut faz proteini (MAP) ve lipopolisakkarit-bağlayıcı protein (LBP) sayılabilir. Albumin, transferrin, transtiretin, retinol bağlayıcı protein ve transkortin ise negatif akut faz reaktanlarıdır. (Jain ve ark. 2011, Markanday 2015, Ricklin ve ark. 2016, Korkmaz ve ark. 2017, Dhama ve ark. 2019, www.uptodate.com, Acute phase reactants, Erişim tarihi: 24 Aralık 2019).

## 1.1. Negatif Akut Faz Reaktanları

### 1.1.1. Albumin

Albumin, karaciğer tarafından üretilen ve onkotik basıncın sürdürülmesi, yağ asitleri, safra asitleri, kolesterol ve metal iyonları gibi çeşitli maddelerin kanda taşınması, serbest oksijen radikallerinin temizlenmesi ve antiplatelet etki gibi birçok fizyolojik fonksiyonu icra eden önemli bir plazma proteindir. Akut faz cevabı esnasında serum albumin seviyeleri azalır. Hem albumin hem de prealbuminin beslenme durumunu yansıtan belirteçler olduğu öne sürülmüşse de, bunun normal kişilerde değil, sadece aşırı açlık durumlarında geçerli olduğu anlaşılmıştır. (Sitar ve ark. 2013, Lee ve ark. 2015, Kim ve ark. 2017, Styskel ve ark. 2019).

### 1.1.2. Transtiretin (Prealbumin)

Transtiretin, başlıca karaciğer ve koroid pleksus tarafından sentezlenen tetramerik bir proteindir. 1942 yılında, plazma elektroforezi sırasında albumin bandının önüne göç ettiği görülen proteine prealbumin adı verilmiştir. Daha sonra bu proteinin tiroit hormonlarını bağlayabildiği anlaşılmış ve tiroksin bağlayan prealbumin (thyroxine-binding prealbumin, TBPA) ismi kullanılmaya başlanmıştır. Bu proteinin aynı zamanda retinol-bağlayıcı proteine de bağlandığının belirlenmesi üzerine, hem tiroksin hem de retinol taşınmasındaki görevine binaen 1981 yılında transtiretin ismi önerilmiştir. Akut faz cevabı esnasında karaciğerde (koroid pleksusta değil) transtiretin geni down-regüle edilmekte ve bu yüzden serumda transtiretin konsantrasyonları azalmaktadır. (Richardson 2009, Vieira ve Saraiva 2014).

### 1.1.3. Transferrin

Bağırsaklarda demir emilimi başlıca duodenum ve proksimal jejunumda gerçekleşmektedir. Hem, hem taşıyıcı protein (heme carrier protein, HCP1) tarafından, serbest demir (ferröz demir,  $Fe^{+2}$ ) ise divalent metal transporter 1 (divalent metal transporter-1, DMT-1) tarafından taşınır. Hücre içerisinde demir ferritin tarafından depolanır. Demir, enterositlerden ferroportin (FPN1) tarafından eksporte edilir ve transferrin tarafından kanda taşınır. Hepsidin varlığında ferroportin hücre içerisine alınarak parçalanmakta ve demirin kana geçişi bloke olmaktadır. Transferrin ferrik ( $Fe^{+3}$ ) formdaki demiri taşımaktadır. Bu nedenle, kanda taşınması için seruloplazmin gibi ferroksozidazlar tarafından demirin ferröz formdan ferrik forma yükseltgenmesi gerekmektedir. Transferrin karaciğer tarafından üretilir ve plazmada demir taşınmasından sorumlu ana proteindir. Demir bağlanmış transferrin, transferrin reseptörlerine bağlanarak hücre içerisine alınır. Ardından demir bu kompleksten ayrıştırılır ve transferrin-reseptör kompleksi yeniden hücre yüzeyine döner. (Anderson ve Frazer 2005, Waldvogel-Abramowski ve ark. 2014).

### 1.1.4. Retinol bağlayıcı protein

Retinol bağlayıcı protein (RBP), plazmada retinol taşıyıcısı olarak görev yapar. Akut inflamatuvar hastalıklar esnasında, inflamasyonun süresi ve şiddetiyle orantılı olarak, karaciğerde RBP sentezi baskılanır. (Ingenbleek, 2018).

### 1.1.5. Transkortin

Transkortin (kortikosteroid-bağlayıcı globulin, CBG), karaciğerde üretilir ve dolaşımdaki kortizolün %80-90'ını bağlar. Diğer kortikosteroidleri ise daha az oranda bağlar. IL-6, CBG'yi azaltan bir sitokindir. (Meyer ve ark. 2016, Verbeeten ve Ahmet, 2018).

## 1.2. Pozitif Akut Faz Reaktanları

### 1.2.1. C-Reaktif Protein

CRP, başlıca karaciğer hücrelerinin yanı sıra düz kas hücreleri, makrofajlar, endotelial hücreler, lenfositler ve adipositler tarafından sentez edilen bir homopentamerik akut faz proteinidir (native CRP, nCRP, pCRP). Pentamerik protein (nCRP) birbirine non-kovalent olarak bağlı 5 alt ünitenin siklik diskoid tarzda birleşmesiyle oluşur. Bu işlem hücrelerin endoplazmik retikulumlarında meydana gelir. Söz konusu pentamerik yapıya sahip olan CRP ve benzeri proteinler pentaksinler olarak adlandırılır. nCRP, üretildikten sonra inflamasyon ya da infeksiyon bölgesinde geri dönüşümsüz olarak kendisini oluşturan beş eşit monomerine ayrışabilir (monomerik CRP, modifiye CRP, mCRP). Her bir mCRP ünitesi 206 amino asit uzunluğundadır. nCRP ve mCRP farklı reseptörlere bağlanır ve farklı işlevler gösterir. nCRP, klasik kompleman yolunu aktive eder, fagositozu indükler, apoptozu uyarır ve nötrofil platelet etkileşimini baskılar. Diğer taraftan, mCRP kemotaksisi uyararak dolaşımdaki lökositleri inflamasyon bölgesine çeker, apoptozu geciktirebilir ve platelet nötrofil etkileşimini artırır. nCRP mCRP'ye göre daha fazla antiinflamatuvar aktiviteye sahiptir. Günümüzde, nCRP'nin pro- ve anti-inflamatuvar özelliklere sahip olduğu, mCRP'nin ise güçlü proinflamatuvar özellikler göstererek inflamasyonu şiddetlendirdiği kabul edilmektedir. nCRP nitrik oksit (NO) üretimini inhibe ederken, mCRP NO üretimini indükler. Piyasada mCRP için antikolar ticari olarak elde edilebilir durumda olmadığı için, mCRP izoformlarını inceleyen çalışma sayısı azdır. CRP, ilk kez 1930 yılında *Pneumococcus* enfeksiyonunun akut fazındaki bir hastanın serumunda Tillet ve Francis tarafından keşfedilmiş ve *Pneumococcus* bakterisinin kapsüler (C) polisakkaridiyle reaksiyonundan dolayı bu şekilde isimlendirilmiştir. IL-6 gibi inflamatuvar sitokinlerin etkisiyle başlıca karaciğer hücrelerinde CRP geninin transkripsiyonel induksiyonu meydana gelir. (Sproston ve Ashworth 2018, Wu ve ark. 2015).

### **1.2.2. Seruloplazmin**

Seruloplazmin kan plazmasındaki temel bakır bağlayıcı proteindir ve başlıca karaciğer tarafından üretilir. Karaciğer hücrelerinin dışında, böbrek, meme bezi, plasenta, koroid pleksus ve makrofajlar tarafından da seruloplazmin üretilir. 1046 amino asitten oluşan ve aynı zamanda karbohidrat üniteleri de içeren bu glikoprotein her bir tanesi toplam altı bakır atomunu taşır. Total plazma bakırının %40-70'i seruloplazmin tarafından taşınır. Akut faz cevabı esnasında plazma seruloplazmin seviyeleri artar. Seruloplazminin demir ve bakır homeostazisi ve serbest radikal oluşumunun önlenmesi gibi birçok işlevi vardır. Seruloplazminin temel işlevinin bakır metabolizmasından daha ziyade demir metabolizmasıyla ilişkili olduğu düşünülmektedir. (Linder 2016, Wang and Wang 2019).

### **1.2.3. Alfa-2-Makroglobulin**

Alfa-2-makroglobulin, insanlarda ve birçok başka memelideki başlıca alfa-makroglobulin olup, tetramerik bir yapıya sahiptir. Başlıca karaciğer tarafından üretilir ve proteaz inhibitörü olarak bilinir. Akut faz cevabı sırasında konsantrasyonları artar ve enfeksiyon ya da zehirlenme durumunda toksinlere karşı organizmayı korur. (Cuellar ve ark. 2016, Garcia-Ferrer ve ark. 2017, Cater ve ark. 2019).

### **1.2.4. Fibrinojen**

Fibrinojen koagulasyondan sorumlu, heksamerik yapıda çözünebilir bir glikoproteindir. Karaciğer tarafından üretilir ve inflamatuvar hadiselerle cevap olarak sentezi indüklenir. Koagulasyon sürecinde, bir seri reaksiyonla trombin tarafından çözünemez formdaki fibrine dönüştürülür ve fibrin de plateletlerce oluşturulan tıkaç stabilize eder. (Soria ve ark. 2019, Pieters ve Wolberg 2019).

### **1.2.5. Alfa-1 Antitripsin**

AAT, güçlü bir proteinaz (başlıca elastaz) inhibitörü ve bir akut faz proteini olarak bilinir. Aynı zamanda antiinflamatuvar etkileri de vardır. Başlıca karaciğer hücreleri olmak üzere, nötrofiller, monositler, endotelial hücreler ve epitelyal hücreler AAT üretir. AAT eksikliği kronik akciğer hastalığına, erken başlangıçlı

amfizeme ve karaciğer sirozuna yol açabilir. (Crossley ve ark. 2019, Pye ve Turner 2019, Jezela-Stanek ve Chorostowska-Wynimko 2019).

### **1.2.6. Haptoglobin**

Haptoglobin bir akut faz proteini olup bir hafif (alfa) bir de ağır (beta) zincirden oluşur. Başlıca karaciğerde üretilir, ayrıca yağ hücreleri, nötrofiller, makrofajlar ve nöronlarda da haptoglobin sentezi tespit edilmiştir. Haptoglobin, serbest hemoglobine yüksek affinite ile bağlanarak detoksifikasyon sağlar. Haptoglobinin yarılanma ömrü 3.5 gün iken, haptoglobin-hemoglobin kompleksinin yarılanma ömrü sadece 10-30 dakika kadardır. (Dalan ve Lih Ling 2018, Griffiths ve ark. 2019).

### **1.2.7. Hepsidin**

Hepsidin, karaciğer tarafından üretilen bir akut faz proteindir. Ferroportin ve hepsidin arasındaki etkileşim demir homeostazında merkezi bir rol oynar. Hepsidin membrandaki ferroportine bağlanarak onun hücre içine alınıp parçalanmasına neden olur. Böylece, enterositlerden, makrofajlardan ve hepatositlerden demir çıkışını bloklar. Vücudun demir depolarındaki artış, bir dizi moleküler mekanizma ile karaciğerde hepsidin üretimini artırır. Benzer şekilde inflamasyon sırasında da hepsidin üretimi artar. Hipoksi ve eritropoez ise hepsidin üretimini baskılar. (Hawula ve ark. 2019, Pagani ve ark. 2019)

### **1.2.8. Ferritin**

Hücrel ferritin ağır ve hafif zincirden oluşan bir proteindir. Ferritinin ağır zinciri ferroksohidraz aktivitesine sahiptir ve  $Fe^{+2}$ 'yi  $Fe^{+3}$ 'e çevirerek depolanma için uygun hale getirir. Hücrel ölüm veya makrofajlardan sekrete edilme sonucu serumda da bir miktar ferritin bulunur. Serum ferritini, hücrel ferritin aksine neredeyse sadece hafif zincirden oluşur ve demir bakımından fakirdir. Bununla birlikte, vücuttaki demir depoları ile serumdaki ferritin düzeyleri arasında güçlü bir korelasyon vardır. Serum ferritini bir akut faz reaktanıdır ve inflamasyon varlığında düzeyleri artar. (Kernan ve Carcillo 2017, Dignass ve ark. 2018).

### 1.2.9. Prokalsitonin

Prokalsitonin tiroidin medüler C bezleri tarafından üretilen kalsitonin öncülü bir proteindir ve 116 amino asitten oluşur. 32 amino asit içeren kalsitonin, başlangıçta prokalsitonin olarak sentezlenir. Normalde serumda çok düşük miktarlarda prokalsitonin bulunur ve genellikle yaygın bakteriyel enfeksiyonlarda serum prokalsitonin seviyeleri oldukça yükselir. (Creamer ve ark. 2019, Hamade ve Huang 2020).

### 1.2.10. Kompleman Sistemi

Kompleman (C) kaskadı, doğal immun sistemin bir parçası olup, konakçıyı patojenlerden korumayı hedefler. Kompleman sisteminin üyeleri karaciğer tarafından üretilir ve pozitif akut faz reaktanları arasında yer alır. Kompleman kaskadı üç farklı yolla başlatılabilir: klasik yol, alternatif yol, mannoz-bağlayıcı lektin yolu. Klasik yolda, antijen-antikor kompleksi tarafından C1 aktive edilir. Bunun üzerine C4, C4a ve C4b'ye, C2 de C2a ve C2b'ye parçalanır. C4bC2b kompleksi C3 konvertaz aktivitesi gösterir ve C3'ü C3a ve C3b'ye parçalar. C4bC2bC3b, C5 konvertaz aktivitesi gösterir ve C5'i C5a ve C5b'ye parçalar. C5b ortak yol ile C6, C7, C8 ve C9 ile birleşerek membran atak kompleksini (MAK) oluşturur. MAK, hücre membranında delikler açarak hücrenin parçalanmasına sebep olur. Alternatif yol, C3'ün C3a ve C3b'ye ayrılması ile başlar. C3b, faktör B'ye bağlanır. Faktör B, faktör D tarafından Ba ve Bb bileşenlerine ayrılır. Bb, C3b ile bağlı kalır ve bu kompleks (C3bBb) C3 konvertaz aktivitesi gösterir. Alternatif C3 konvertaz C3'ü parçalayarak daha fazla C3a ve C3b'nin ortaya çıkmasını sağlar. C3bBbC3b kompleksi C5 konvertaz aktivitesine sahiptir. C5 konvertaz aktivitesi ile C5, C5a ve C5b'ye ayrılır. Bu aşamadan sonra ortak yol geçerlidir. Lektin yolu ise, klasik yolla benzerlik gösterir. Burada lektin, mikroorganizmaların karbohidrat ünitelerine bağlanır ve MASP (mannose-binding lectin-associated serine protease) ile kompleks oluşturur. Aktive MASP'lar C1 ile yapısal benzerlik gösterir ve C4'ü, C4a ve C4b'ye, C2'yi ise C2a ve C2b'ye parçalar. Bundan sonraki aşamalar klasik yolla aynıdır. C3a ve C5a, kendi reseptörleri yoluyla inflamatuvar cevabın oluşmasına katkıda bulunur. (Germolec ve ark. 2018, Andrighetto ve ark. 2019).

### **1.2.11. Serum Amiloid A**

Bir akut faz reaktanı olan serum amiloid A (SAA), başlıca karaciğerde sentezlenir ve klinik laboratuvarlarda serum seviyeleri inflamasyonun bir belirtici olarak kullanılır. (Zhang ve ark. 2019).

## **2. Eritrosit Sedimentasyon Hızı**

ESR, plazmada asılı duran eritrositlerin antikoagulanlı dikey bir tüpe yerleştirildiklerinde oda sıcaklığında gösterdikleri çökme hızı (milimetre/saat) olarak tanımlanır. Basit ve ucuz bir test olan ESR, akut faz cevabının indirekt bir göstergesidir. Belli bir hastalık için tanısız olmayıp, yüksek çıktığı durumlarda genellikle daha ileri incelemeler gerekmektedir. Ayrıca kronik bir hastalığın seyrinin takip edilmesinde de kullanılabilir. (Bedell ve Bush 1985, Bray ve ark. 2016, Kawthalkar 2018, www.uptodate.com, Acute phase reactants, Erişim tarihi: 24 Aralık 2019).

### **2.1. Tarihçe**

1897 yılında Polonyalı hekim Edmund Faustyn Biernacki (1866-1911) eritrosit sedimentasyonunun kişiden kişiye değişebildiğini ve fibrinojenin yüksek olduğu durumlarda eritrositlerin daha hızlı çöktüğünü belirlemiştir. 1917 yılında Polonyalı hekim Ludwig Hirschfeld sıtmal hastalarda eritrosit sedimentasyonundaki artışı rapor etmiştir. İsveçli hematolog Robert Sanno Fahraeus 1918 yılında gebelerde gebe olmayanlara göre eritrosit sedimentasyonunun yüksek olduğunu tespit etmiş ve 1921 yılında ESR'yi bir gebelik testi olarak önermiştir. Aynı yıl (1921) İsveçli bir dahiliyeci olan Alf Vilhelm Albertsson Westergren (1891-1968) akciğer tüberkülozu olan hastaları değerlendirmek için eritrosit sedimentasyonunun kullanılabilirliğini göstermiştir. Westergren aynı zamanda kendi ismiyle anılacak olan ESR ölçüm yönteminin de standartlarını belirlemiştir. (Biernacki 1897a, Biernacki 1897b, Hirschfeld 1917, Fahraeus 1918, Fahraeus 1921, Westergren 1921, Westergren 1926, Kucharz 1988, Zlonis 1993, Grzybowski ve Sak 2011, Kucharz 2017).

## 2.2. Eritrosit Sedimentasyonunun Aşamaları

Eritrosit sedimentasyonu üç aşamada meydana gelir: rulo ve sfer formasyonu (lag fazı) (Resim 1), hızlı çökme, yavaş çökme. Rulo ve sfer formasyonu 10 dakika kadar sürer; önce eritrositler madeni para gibi bir araya gelerek kümelenir (rulo formasyonu), ardından eşit boyutlu sferler oluşturur. Sferler, eritrositler ve onları birbirine bağlayan makromoleküllerden oluşur. Sferlerin çapı ya hematokritin azalmasıyla ya da plazma protein konsantrasyonunun artmasıyla artar. Lag fazının yavaş gerçekleşmesi ESR'yi azaltacaktır. Rulo ve sfer oluşumu yüzey alanına nispetle ağırlığın artmasına yol açar ve bu da hızlı çökmeyi tetikler. Sfer çapı ne kadar fazla ise çökme de o kadar hızlı olacaktır. Normalde rulo ve sfer oluşumu eritrositlerin negatif yükleri tarafından kısıtlanır. Negatif yükün kaynağı siyalik asitlerin (başlıca; N-asetil nöraminik asit, NANA) karboksilat gruplarıdır. Nöraminidazla in vitro muamele edilen eritrositler hızla agregre olur. Yüksek molekül ağırlıklı ve asimetric karakterde olan plazma proteinleri (fibrinojen ve immunglobulinler gibi) eritrosit agregasyonunu artırır. Hızlı çökme fazında, sedimentasyon hızı nispeten sabittir. Bu evre yaklaşık olarak 40 dakikada tamamlanır. Yavaş çökme fazı, hızlı çökme fazının ardından gerçekleşir ve bir saatlik ESR ölçümünün yaklaşık olarak son 10 dakikasına tekabül eder. (Bedell ve Bush 1985, Fabry 1987, Kawthalkar 2018).



**Resim 1.** Rulo ve sfer formasyonu

### 2.3. ESR Ölçüm Yöntemleri

#### a. Westergren Metodu

ESR ölçümünde altın standart yöntem Westergren metodudur. Özellikle ESR'nin yüksek olduğu durumlarda Westergren yöntemi oldukça hassastır. Bu yöntemde 200 mm'ye kadar derecelendirilmiş 300 mm uzunluğunda düz, açık uçlu, iç çapı 2.5 mm'den daha az olmayan, temiz ve kuru bir cam pipet kullanılır. %3.8'lik trisodyum sitrat dihidrat ile hastadan alınan kan 1:5 oranında karıştırılır (Yani 4 birim kana karşılık 1 birim sodyum sitrat solüsyonu kullanılmaktadır.). Numune sıfır çizgisine kadar doldurulur. Pipet, kendisini hareketsiz ve dikey konumda tutacak bir standın üzerine yerleştirilir. Bu şekilde bir saat boyunca eritrositlerin çökmesi için beklenir ve bir saatin sonunda eritrositlerin çökme mesafesi mm cinsinden okunur. Test oda sıcaklığında ve kan alma işlemini takiben 2 saat içerisinde yapılır. 1977 yılında, ICSH (International Council for Standardization in Haematology) ve NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) cam yerine plastikten yapılmış pipetlerin kullanımı ya da antikoagulan olarak EDTA kullanımı gibi, Westergren metoduyla ilişkili kabul edilebilir modifikasyonları belirlemiştir. (Westergren 1926, Bedell ve Bush 1985, Olshaker ve Jerrard 1997, Grzybowski ve Sak 2011, Kratz ve ark. 2017, Kawthalkar 2018).

#### b. Wintrobe Metodu

Westergren yönteminden sonra en bilinen ESR ölçüm yöntemi Wintrobe yöntemidir. Bu yöntem Linzenmeier, Cutler, Lindow Adam, Smith ve Rourke Ernstene yöntemleri gibi başka tarihi yöntemlere göre daha fazla uygulama alanı bulmuştur. Wintrobe tüpü, Westergren tüpünden daha kısa olup 110 mm kadardır. İç çapı yaklaşık 3 mm'dir. ESR'nin düşük olduğu durumlarda Wintrobe yönteminin daha güvenilir olduğu ifade edilmektedir. Bununla birlikte, ölçüm tüpünün kısa olmasından ötürü yavaş çökme fazına daha erken ulaşılacağı için, yüksek ESR seviyelerinin olduğu durumlarda hatalı şekilde daha düşük okumalar yapılabilir. Antikoagulan olarak EDTA ya da oksalat kullanılır. (Wintrobe ve Landsberg 1935, Bedell ve Bush 1985, Olshaker ve Jerrard 1997, Kratz ve ark. 2017, Kawthalkar 2018).

### **c. Santrifüjlü Metotlar**

Daha küçük örnek volümleri ve daha kısa test süreleri ile yapılabilmesi, santrifüje dayalı ESR ölçüm yöntemlerinin temel avantajlarıdır. Bu yöntemde, öncelikle, EDTA'lı numune iyice altüst edilerek içerisinden küçük hacimde bir kan örneği heparinize kapiller tüpe aktarılır. Daha sonra 3 dakika süreyle 1500-2000 rpm'de santrifüj işlemi yapılır. Bu esnada bir infrared (kızılötesi) lazer ile eritrosit-plazma ara yüzeyi izlenerek çoklu optik ölçümler yapılır. Bu sayede sedimentasyon eğrisinin lineer (doğrusal) parçası belirlenir ve elde edilen veri, mm/saat cinsinden ESR sonucu elde edebilmek için yazılım algoritmasında işlenir. Bu yöntemin Westergren yöntemi ile arasındaki uyumun özellikle düşük ESR seviyelerinde iyi olmayabileceği ve numunelerin işlem öncesi iyice altüst edilmesine ihtiyaç duyulduğu için teknisyen hataları açısından riskler taşıdığı öne sürülmüştür. (Shelat ve ark. 2008).

### **d. Westergren Metodunun Modifikasyonları**

ESR testini pratikte daha kullanışlı hale getirmek için, 15-30. dakikalarda ölçülen ESR değerleri üzerinden bir saatlik ESR değerlerinin matematiksel olarak tahmin edildiği birtakım hesaplamalı yöntemler geliştirilmiştir. Bunlar manuel Westergren ESR yönteminin modifikasyonlarıdır. (Shteinshnaider ve ark. 2010, Kratz ve ark. 2017).

Kapiller tüp ve kapiller kan örneği kullanılarak yapılan mikro-ESR yönteminde, daha az kan örneği ile ESR sonucu elde edilebilmektedir. Bu yöntemde, bir lanset yardımıyla 4 damla kapiller kan numunesi (yaklaşık olarak 0.2 mL), önceden 1 damla (yaklaşık olarak 0.05 mL) 31.3 g/L'lik trisodyum sitrat konulmuş lam üzerine alınır. Antikoagulan ile kapiller kanın hava kabarcığı oluşmaksızın karışması sağlanır. Daha sonra bu karışım, heparinsiz mikrohematokrit tüpüne -tüp 30-45 derece (veya daha küçük) açıyla tutularak- alınır. Bu işlem sırasında hava kabarcığı çekilmemesine dikkat edilir. Kapiller tüp doldurulduktan sonra, üzeri parmakla kapatılarak kan çekme işlemi sonlandırılır. Son olarak, kapiller tüpler macunlu özel bir raka dikey olarak yerleştirilir. Oda sıcaklığında tutulan örneklerde,

bekleme süresinin sonunda çökme miktarı özel bir cetvelle değerlendirilir. (Barrett BA ve Hill 1980, Hashemi ve ark. 2015).

#### **e. Fotometrik Reoloji (Photometric Rheology) Metodu**

Reoloji (akış bilimi), maddelerin akışını ve biçiminin bozulmasını (deformasyonunu) inceler. Fotometrik reoloji yönteminde, 100 mikrolitre kadar bir EDTA'lı kan numunesinde, 20 saniye gibi çok kısa bir sürede, mikro-akış hücreleri yardımıyla eritrositlerin kinetik özellikleri değerlendirilir. Bu sayede eritrosit sedimentasyonunun en erken fazı (rulo formasyonu) hakkında bilgi toplanır. Bu bilgi ESR sonuçları üretmek için kullanılır. Fotometrik reoskop (photometrical rheoscope) olarak da bilinen bu yöntemle elde edilen ESR değerleri, numunenin altüst edilme durumu, sıcaklık ve hematokrit gibi değişkenlerden etkilenmez. (Boğdaycioğlu ve ark. 2015, www.alcorscientific.com, iSED Advanced Rheology Technology, Erişim tarihi: 24 Aralık 2019).

#### **f. Kapiller Fotometrik-Kinetik Teknoloji (Capillary Photometric-Kinetic Technology)**

Fotometrik kapiller durdurulmuş akış kinetik analizi (photometrical capillary stopped flow kinetic analysis) ya da kısaca kapiller fotometri teknolojisi (capillary photometry technology) olarak da bilinen bu yöntemde, EDTA'lı tam kan örnekleri kullanılır ve 20 saniye içerisinde lazerle çoklu (1000 kez) optik dansite (650 nm'de) okumaları yapılarak eritrositlerin agregasyonunun kinetiği değerlendirilir. Ölçümler 37 °C'de yapılır. Sonuçlar, hematokritten etkilenmez ve Westergren ESR yöntemindeki ile önemli ölçüde koreledir. (Douglas ve Randolph 2007, Kawthalkar 2018, AYTEKİN 2018, www.alifax.com, Test1 Capillary Photometry Technology, Erişim tarihi: 24 Aralık 2019).

#### **g. Zeta Sedimentasyon Oranı**

1972 yılında Bull ve Brailsford tarafından geliştirilmiştir. Kapiller tüpteki kanın yüksek hızlı vertikal santrifüjü esasına dayanır. Anemiden etkilenmez ve normal aralığı erkeklerde ve kadınlarda benzerdir. (Bull ve Brailsford 1972).

Aşağıdaki tabloda (Tablo 1) ESR ölçümü yapan bazı cihazların kullanmış oldukları yöntemlere ilişkin çeşitli açıklamalar sunulmuştur.

**Tablo 1.** ESR ölçümü yapan bazı cihazların kullanmış oldukları yöntemler (Kratz ve ark. 2017).

<b>Cihaz</b>	<b>Üretici</b>	<b>Yöntem</b>
ESR STAT PLUS	HemaTechnologies, Lübnan	25 mikrolitrelik EDTA'lı kanın santrifüjü. Eritrosit-plazma ara yüzeyinin çok sayıda optik okuması yapılarak ESR belirlenir. 5 dakika içerisinde 3 ESR sonucu verilebilir. Westergren yöntemi ile önemli ölçüde koreledir.
Excyte M	Vital Diagnostics, ABD	Numuneler, 120 mm'lik plastik vakumlu tüplerde sodyum sitratla dilüe edilir. 30 dakikada sedimentasyon ölçümü yapıp, matematiksel olarak 1 saatlik Westergren ESR sonucuna uyarlanır.
iSED	Alcor Scientific Inc., ABD	Eritrositlerin agregasyonunu ölçmek için "fotometrik reoloji (photometric rheology)" yöntemi kullanılır. Sonuçlar Westergren yöntemi ile korele edilir.
Microtest 1	Alifax S.r.l., İtalya	"Kapiller fotometrik kinetik teknoloji (capillary photometric-kinetic technology)" kullanılır. Numune bir kapiller tüpe yerleştirilip eritrositlerin sedimentasyonuna neden olan "durdurulmuş akış (stopped-flow)" yöntemi ile hızlandırılır. 20 saniye içinde elde edilen sonuç, Westergren değerlerine dönüştürülür.
Roller 20LC	Alifax S.r.l.,	"Kapiller fotometrik kinetik teknoloji (capillary photometric-kinetic technology)" kullanılır. Dilüe edilmemiş EDTA'lı kanın

	İtalya	küçük bir volümü kapiller bir tüpe yerleştirilip eritrositlerin sedimentasyonuna neden olan "durdurulmuş akış (stopped-flow)" yöntemi ile hızlandırılır. Elde edilen sonuçlar, Westergren değerlerine dönüştürülür.
Sedimatic 100	Analysis Instrument AB, İsveç	Sitratlı vakumlu bir tüpte eritrositlerin sedimentasyonu ölçülür.
Sediplast ESR	Polymedco, ABD	Manuel Westergren ve modifiye Westergren yöntemi.
Sedisystem	Becton Dickinson, ABD	Seditainer ESR tüpleri, bir rak sistemine yerleştirilir. Örnekler homojenize edilir. Başlangıçtaki hücre tabakası seviyesi ve 20 dakika sonra okunan final sedimentasyon düzeyi bir kamera yardımıyla ölçülür. Klasik Westergren yöntemi ile korele etmek için elde edilen sonuçlar polinomial ekstrapolasyon ile dönüştürülür.
Seditainer	Becton Dickinson, ABD	Kan, antikoagulan içeren, kapalı, vakumlu ve silikonize 100 mm'lik bir cam tüpe alınır.
Starrsed	R&R Mechatronics, Hollanda	Sitratla dilüe olmuş tam kan örnekleri konulan özel tüplerle ESR ölçümü yapılır. 30 dakikalık ölçüm sonucu, 1 saatlik değerlere dönüştürülür.
ESR-Auto Plus	Streck, ABD	30 dakikada yapılan sedimentasyon ölçümü, 1 saatlik Westergren ESR değerine matematiksel olarak uyumlu hale getirilir.
Test 1	Alifax S.r.l., İtalya	"Kapiller fotometrik kinetik teknoloji (capillary photometric-kinetic technology)" kullanılır. Dilüe edilmemiş EDTA'lı kanın

		küçük bir volümü bir kapiller tüpe yerleştirilip eritrositlerin sedimentasyonuna neden olan "durdurulmuş akış (stopped-flow)" yöntemi ile hızlandırılır. Elde edilen sonuç, Westergren değerlerine dönüştürülür.
Ves-Matic CUBE 200	Diesse Diagnostica Senese, İtalya	EDTA'lı standart tüpler kullanılır. 20 dakikalık çökme sonucu elde edilen değerler, Westergren birimine dönüştürülür.

Yukarıdaki metotların dışında da, birçok eski ve yeni ESR ölçüm yöntemi söz konusudur. Kullandıkları tüplerin uzunluğu, iç çapı ve derecelendirme seviyesi; kullanılan antikoagulanın türü, konsantrasyonu ve miktarı ile referans aralıkların farklılık gösterdiği Linzenmeier, Zeckwer-Goodell, Cutler ve Rourke-Ernstene yöntemleri tarihsel metotlar arasında sayılabilir (Zeckwer ve Goodell 1925, Ham ve Curtis 1938, Hynes ve Whitby 1938, Collins ve ark. 1939). Alexy ve ark. tarafından kan vizkozitesi ölçümüne dayalı yöntem ise yeni metotlara örnek olarak verilebilir (Alexy ve ark. 2009).

## 2.4. ESR'yi Etkileyen Faktörler

### a. ESR'yi Artıran Sebepler

Başka pozitif akut faz reaktanlarına benzer şekilde, ESR de lokalize ya da sistemik inflamatuvar ve enfeksiyöz hastalıklarda, travmada, doku iskemisi ya da hasarında ve malign hastalıklarda artar. Bazı aksi yönde sonuç bildirmiş çalışmalar olsa da, yaşla birlikte ESR değerlerinin de arttığı bilinmektedir. Ayrıca kadınlarda erkeklere göre ESR değerleri daha yüksek olma eğilimindedir. Bu nedenle referans aralığının üst limiti olarak; erkekler için  $\text{yaş}(\text{yıl})/2$  ve kadınlar için  $[\text{yaş}(\text{yıl})+10]/2$  formülü önerilmiştir. Buna göre, aynı yaştaki bir erkeğine göre kadın için ESR referans üst limiti 5 mm/saat kadar yüksek olacaktır. Anemik kişilerde ESR'nin daha yüksek olduğu gözlemlenmiştir. Bu durum, eritrositlerin çökmesini başka eritrositlerin zorlaştırdığı şeklinde yorumlanmıştır. Kadınlarda ESR'nin daha yüksek çıkma eğilimi, kısmen de olsa, onların daha düşük hematokrite sahip olma eğilimleri

ile açıklanabilir. Makrositoz da ESR'yi artıran bir faktördür. Daha büyük hücrelerin daha küçük bir yüzey/hacim oranına sahip olması ve bu yüzden kütleyle oranla daha az negatif yük taşımalarının ESR'yi artırdığına inanılır<sup>1</sup>. ESR, son dönem böbrek hastalarında ve nefrotik sendromlu hastalarda da artmaktadır ve bu artış hemodiyalizden etkilenmez. Obez kişilerde ESR değerleri muhtemelen adipoz dokudan salınan IL-6 gibi sitokinlerin etkisiyle artar. Teknik bir faktör olarak ölçüm yapılan ortamın sıcaklığı arttıkça ESR'nin de arttığı bulunmuştur. Ayrıca deney tüpünün eğik olması sonuçları etkileyecektir. Sadece 10°'lik bir eğim bile ESR'yi 2 katına çıkarabilir. Sitrat miktarının olması gerekenden fazla olması, ESR'nin yüksek ölçülmesine yol açar. Test sırasında tüpün sallanması (mesela santrifüj yapılan masadaki vibrasyonun etkisiyle) eritrositlerin daha hızlı çökmesine yol açar. (Miller ve ark. 1983, Brigden 1998, Brigden 1999, Jurado 2001, Herold 2014, Kawthalkar 2018, Taşkın ve ark. 2019, www.uptodate.com, Acute phase reactants, Erişim tarihi: 24 Aralık 2019).

### **b. ESR'yi Azaltan Sebepler**

Eritrositlerde şekil bozukluğu olması kümeleşmeyi dolayısıyla ESR'yi azaltır. Anizositoz, sferositoz, akantositoz, mikrositoz ve poikilositoz varlığında, polisitemide ve orak hücre hastalığında ESR azalmaktadır. Ayrıca aşırı lökositoz, aşırı derecede artmış serum safra tuzları, kalp yetmezliği, hipofibrinojenemi ve kaşeksi ESR'yi azaltan diğer sebepler arasında sayılabilir. Düşük ortam sıcaklığında yapılan analizlerde ve pıhtılı ve iki saatten fazla beklemiş örneklerde de ESR seviyeleri olduğundan daha düşük ölçülecektir. Pıhtılaşmanın ESR'yi azaltmasının sebebi fibrinojenin tüketilmesidir. Sitrat miktarının olması gerekenden az olması, ESR'nin de düşük ölçülmesine yol açar. Ölçüm yapılan tüpte hava kabarcıkları olması eritrosit sedimentasyonunu yavaşlatır. (Bedell ve Bush 1985, Brigden 1998, Batlivala 2009, Herold 2014, Kawthalkar 2018, www.uptodate.com, Acute phase reactants, Erişim tarihi: 24 Aralık 2019).

<sup>1</sup> Basit bir açıklama bir hücreyi küre şeklinde hayal ederek getirilebilir: Bir kürenin yüzey alanı  $4 \pi r^2$ 'dir. Hacmi ise  $4/3 \pi r^3$ 'tür. Bu durumda yüzey alanı/hacim oranı  $3/r$  olur; dolayısıyla, yarıçap arttıkça (yani hücre büyüdükçe) yüzey/hacim oranı azalacaktır.

### 2.4.1. Plazma ile İlişkili Faktörler

Eritrositler negatif olarak yüklüdür ve bu nedenle birbirlerini itme eğilimindedir. Bu durum zeta potansiyeli olarak adlandırılır. Zeta potansiyeli eritrositleri ayrı tutmaya yardım eder. Fibrinojen ve immunglobulinler gibi büyük ve asimetrik akut faz proteinlerinin varlığında eritrosit agregasyonu dolayısıyla çökme hızı artacaktır. Bu moleküller iki eritrosit arasında köprü kurar; bu nedenle belli bir büyüklüğe (uzunluğa) sahip olmaları gerekir. Pozitif olarak yüklü makromoleküller, siyalik asit rezidüleri ile etkileşerek, eşit boyutlu sferler yerine amorf agregatlar oluşturduklarından dolayı sedimentasyon için -önceden öne sürülenin aksine- uygun değildir. ESR artışıdaki temel faktörün akut inflamasyonda fibrinojen, kronik inflamasyonda ise immunglobulinler olduğu ifade edilmektedir. Albumin ise ESR'yi azaltır. (Jan ve Chien 1973, Fabry 1987, Reinhart ve Nagy 1995, Reinhart 2006, Kawthalkar 2018).

### 2.4.2. Eritrosit ile İlişkili Faktörler

Eritrositlerin büyüklüğü, şekli ve sayısı ESR'yi etkiler. Anizositoz, sferositoz, akantositoz ve mikrositoz varlığında, polisitemide ve orak hücre hastalığında ESR azalır. Orak hücreler ve sferositler rulo oluşturamaz. (Giavarina 2006, Kawthalkar 2018, www.uptodate.com, Acute phase reactants, Erişim tarihi: 24 Aralık 2019).

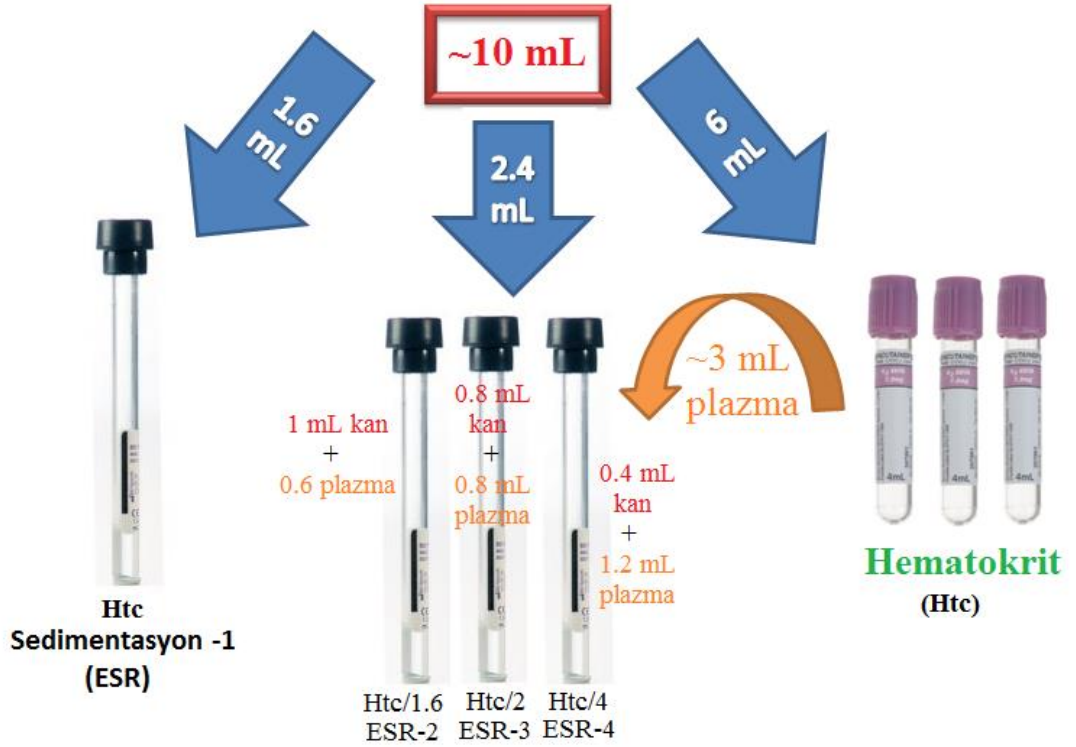
#### a. Hematokrit ve ESR Arasındaki İlişki

Karıştırılmayan eritrosit süspansiyonları, rulo oluşumunu takiben aynı ebatta stabil, sferik agregatlar oluşturur ve bu aşamanın ardından çökme fazı başlar. Söz konusu sferlerin çapı, kanın hematokrit değeriyle ters orantılıdır. Hematokrit azaldıkça (anemide olduğu gibi), sferlerin çapı ve dolayısıyla çökme hızı artar. Hematokrit arttıkça hem çökme fazına geçiş için beklenen süre uzar hem de sferlerin çapı azaldığı için çökme hızı azalır. (Fabry 1987).

Bu tezin amacı, otolog plazma kullanılarak farklı hematokrit seviyeleri elde edilmiş kanlarda ESR ölçümleri yaparak ve bu sayede hematokrit ile ESR arasındaki matematiksel ilişkiyi inceleyerek, hematokrit ve ESR seviyelerinin klinik uygulamada birlikte değerlendirilmesini sağlayabilecek bir yöntem geliştirebilmektir.

## MATERYAL VE METOT

Bu araştırmaya Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'nun 03.04.2019 tarih ve 05 numaralı oturumunda alınan 08 no.lu uygunluk kararı ile başlandı. Bu araştırma için 10 gönüllünün her birinden yaklaşık olarak 10'ar mL tam kan numunesi alındı. Alınan 10 mL kanın 1.6 mL'si ilk ESR ölçümü (ESR-1) için kullanıldı. 6 mL'si 3 adet hemogram tüpüne konularak hem hematokrit ölçümü için kullanıldı, hem de 3000 rpm'de 15 dakika süreyle santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Ayrışan plazmalar, takip eden dilüsyon işlemleri için kullanıldı. Farklı hematokrit yüzdeleri elde edebilmek için, birinci ESR tüpüne 1 mL kan ve 0.6 mL otolog plazma (hematokrit/1.6; ESR-2), ikinci ESR tüpüne 0.8 mL kan ve 0.8 mL otolog plazma (hematokrit/2; ESR-3) ve üçüncü ESR tüpüne 0.4 mL kan ve 1.2 mL otolog plazma (hematokrit/4; ESR-4) konuldu (Şekil 1).



Şekil 1. Farklı hematokrit değerleri elde etmek için yapılan işlemler.

Hematokrit ölçümleri ABX Pentra DX 120 (Horiba, Japonya), ESR ölçümleri SDM-100 (Berkhun, Türkiye) cihazı ile yapıldı.

Verilerin normal dağılıma uyup uymadığı Kolmogorov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Dilüsyon işlemlerinden sonra elde edilen hematokrit ve ESR değerleri arasındaki korelasyon analizi Pearson testi ile yapıldı. Hematokrit ile ESR arasındaki matematiksel ilişkiyi anlamak için lineer regresyon analizi yapıldı.

## BULGULAR

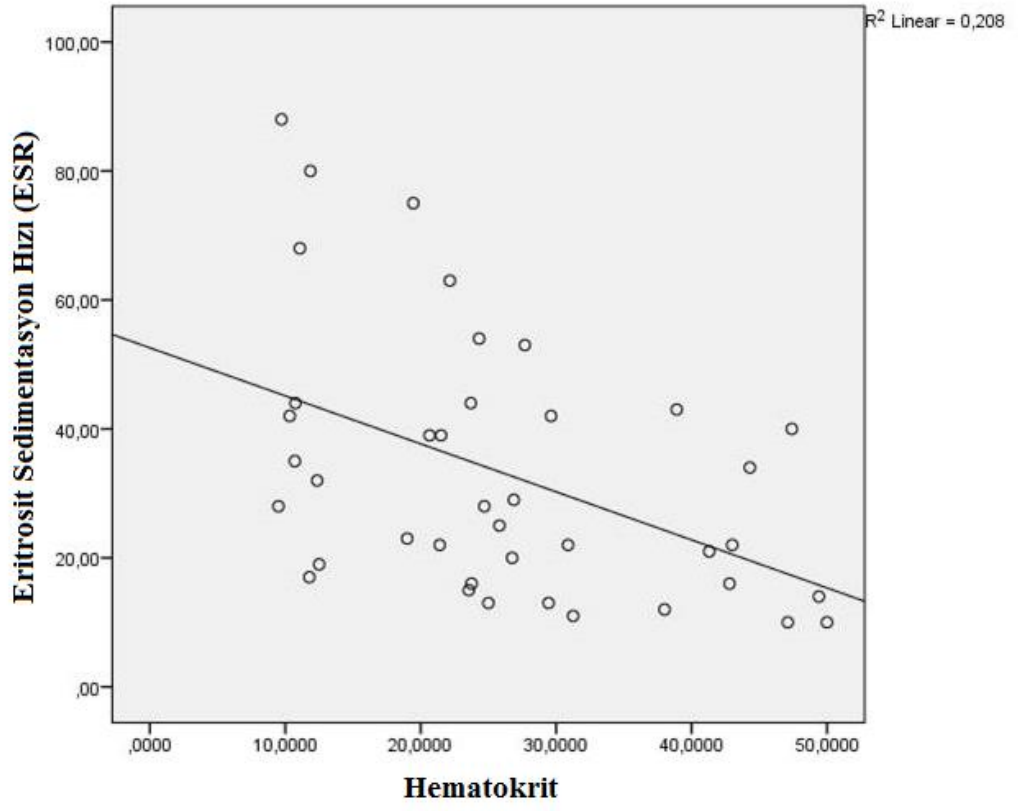
Elde edilen tüm veriler Tablo 1'de sunulmuştur. Gönüllülerin dilüsyon işlemlerinden önceki ilk hematokrit değerleri, %38.0-%50.0 arasında değişiyordu (ortanca: 43.7; ortalama  $\pm$  standart sapma:  $44.2 \pm 4.2$ ). Gönüllülerin dilüsyon işlemlerinden önceki ilk ESR değerleri ise 10-43 mm/saat arasında idi (ortanca: 18.5; ortalama  $\pm$  standart sapma:  $22.2 \pm 12.5$ ). Dilüsyon işlemlerinden sonra elde edilen hematokrit ve ESR değerleri normal dağılıma uyuyordu. Bu iki parametre arasında anlamlı negatif bir korelasyon vardı ( $r=-0.456$ ,  $p=0.003$ ) (Şekil 2). Şekil 3'te dört farklı hematokritte (hematokrit, hematokrit/1.6, hematokrit/2, hematokrit/4) ESR'lerin aldıkları değerler görülmektedir. Tüm hastalarda hematokrit azaldıkça, ESR değerleri artmıştır. Lineer regresyon analizinde hematokrit ile ESR arasında anlamlı ( $t=-3.158$ ,  $p=0.003$ ) negatif ( $-0.745$ ) bir ilişki vardı. Bu ilişki için basit doğrusal regresyon formülü  $ESR = 52.58 - (0.745 \times \text{Hematokrit})$  idi. Buna göre hematokritteki 10 puanlık azalma, ESR'de 7.45'lik bir artış anlamına gelmektedir.

İdeal hematokrit değerini %40 kabul edersek, örneğin; hematokrit değeri %24 ve ESR değeri 54 mm/saat olan anemik bir kişide,  $40 - 24 = 16$  ve  $16 \times 0.745 = 11.92$  şeklindeki hesaplamaları yaparak, hematokrite göre düzeltilmiş (hematokritin etkisinden arındırılmış) ESR değerini  $54 - 11.92 = 42.08$  bulabiliriz. 10 numaralı gönüllüdeki değerlere bakılacak olursa, bu örneğin in vitro gerçekleştiği görülmektedir (Tablo 2).

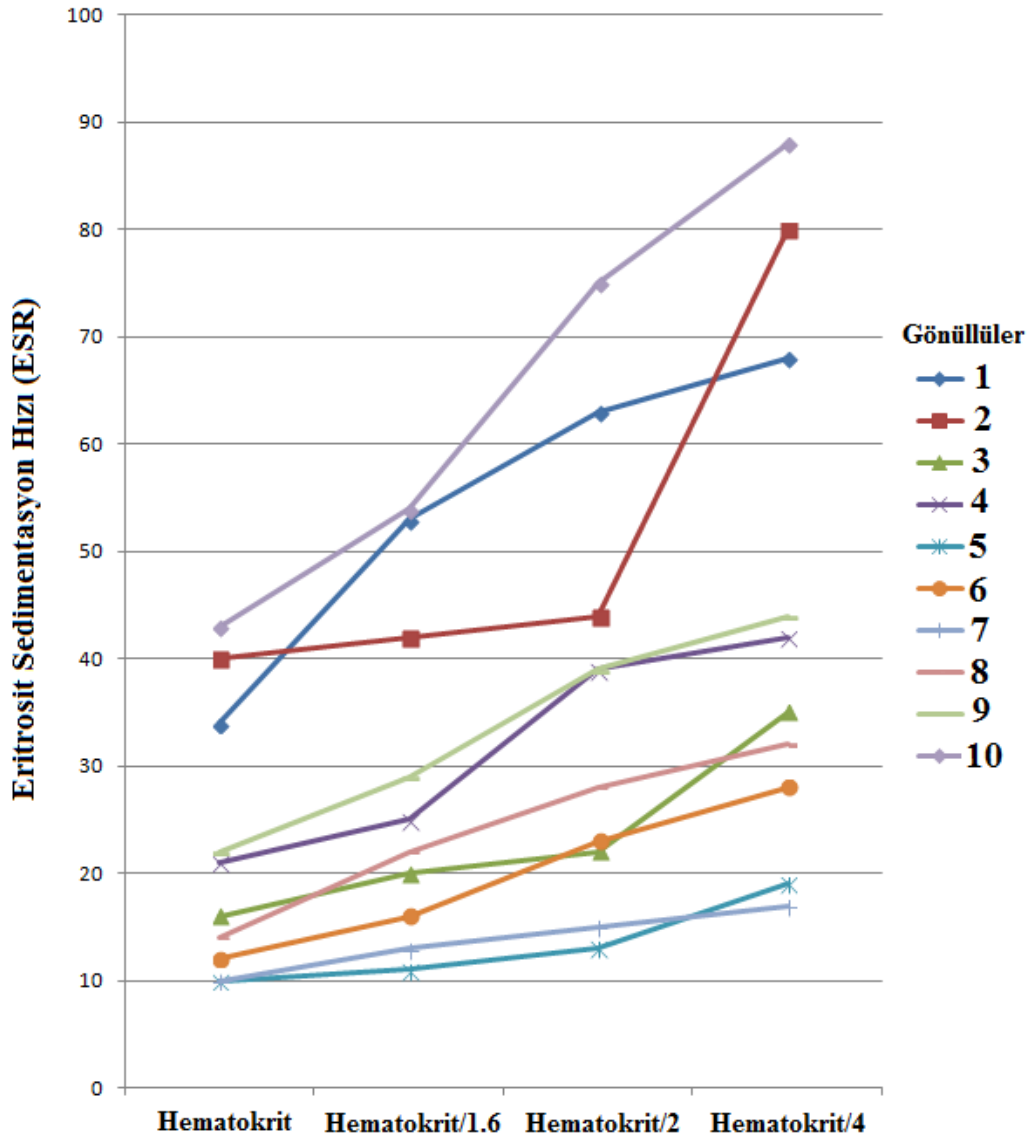
**Tablo 2.** Numunelerin hematokrit değerleri ve bunlara karşılık gelen ESR sonuçları.

Gönüllü	Hematokrit	Eritrosit Sedimentasyon Hızı (ESR)
1	<b>44,3*</b>	34
1	27,6875	53
1	22,15	63
1	11,075	68
2	<b>47,4*</b>	40
2	29,625	42
2	23,7	44
2	11,85	80
3	<b>42,8*</b>	16
3	26,75	20
3	21,4	22
3	10,7	35
4	<b>41,3*</b>	21
4	25,8125	25
4	20,65	39
4	10,325	42
5	<b>50*</b>	10
5	31,25	11
5	25	13
5	12,5	19
6	<b>38*</b>	12
6	23,75	16
6	19	23
6	9,5	28
7	<b>47,1*</b>	10
7	29,4375	13
7	23,55	15
7	11,775	17
8	<b>49,4*</b>	14
8	30,875	22
8	24,7	28
8	12,35	32
9	<b>43*</b>	22
9	26,875	29
9	21,5	39
9	10,75	44
10	<b>38,9*</b>	43
10	24,3125	54
10	19,45	75
10	9,725	88

\*Ölçülmüş hematokrit değerleri. Diğer hematokrit değerleri, ölçülen değer üzerinden dilüsyon faktörü dikkate alınarak hesaplanmıştır.



Şekil 2. Hematokrit ve ESR'nin korelasyon grafiği.



Şekil 3. Dört farklı hematokritte ESR değerleri.

## TARTIŞMA VE SONUÇ

ESR, başlıca inflamatuvar hastalıkların tanı ve takibinde kullanılabilen ucuz ve basit bir laboratuvar testidir. Bu test, tekrar tekrar kullanılabilen stant ve okuma cetveli mevcut ise, sadece antikoagulanlı sedimentasyon tüpünün maliyeti ile yapılabilir. Dikey konumda tutulan tüpte, bir saatin sonunda meydana gelen çökmenin seviyesi, uzun bir eğitim sürecine ve tecrübeye ihtiyaç duyulmaksızın kolay bir şekilde çıplak gözle değerlendirilebilir. Dolayısıyla, bu son derece basit ve ucuz testin, klinik laboratuvarlarda kullanımını geliştirmeye yönelik çalışmalar önem arz etmektedir.

Eritrosit sedimentasyonu başlıca üç aşamada gerçekleşmektedir: İlk aşamada eritrositler önce rulo, ardından sferler oluşturarak bir araya gelmektedir. İkinci aşamada sferler sabit bir hızla çökmekte ve son aşamada da çökme hızı azalarak sifıra yaklaşmaktadır. Bu süreci etkileyen başlıca iki faktör vardır: fibrinojen gibi plazma proteinleri ve hematokrit. Büyük ve asimetric plazma proteinleri, eritrositler arasında köprüler kurarak rulo ve sfer oluşumunu tetiklemektedir. Akut faz cevabı sırasında böyle plazma proteinlerinin düzeyleri arttığından, ESR de yüksek çıkmaktadır. Bu nedenle ESR, akut faz cevabının indirekt bir belirteci olarak kabul edilmektedir. Hematokrit ise sfer çapı üzerinde belirleyicidir. Hematokrit azaldıkça, sfer çapı artmakta ve buna bağlı olarak ESR yükselmektedir. Hematokritin ESR üzerindeki belirgin etkisi, ESR sonuçlarının inflamatuvar hastalıklarda yorumlanmasını güçleştirmekte, klinisyenlerin bu teste olan güvenini azaltmaktadır. (Fabry 1987, Taşkın ve ark. 2019).

Bu çalışmada, hematokrit değerleri ile ESR arasındaki ilişki in vitro araştırılmıştır. Yapılan analiz, hematokritteki her 1 puanlık azalmanın, ESR'de 0.745'lik bir artışa yol açabileceğini göstermiştir. Bu matematiksel ilişki, hematokritin azaldığı veya arttığı durumlarda, hematokritin etkisinden arındırılmış ESR değerleri elde etmek için kullanılabilir.

Gram boyama tekniğini de geliştirmiş olan Danimarkalı doktor Hans Christian Joachim Gram (1853-1938), 1928 yılında, hematokritle ESR arasındaki ilişkiyi gösteren ve hematokrit seviyelerinin etkisinden arındırılmış ESR sonucu elde

edebilmeye yarayan bir grafik (Gram's chart) hazırlamıştır (Gram 1928). Gram'ın aksine, sıratlı kan yerine heparinize kan kullanan Rourke ve Ernstene, 1930 yılında bir başka grafik önermiştir (Rourke ve Ernstene 1930). 1933 yılında Walton, grafik metotlarına bir alternatif olarak, tüpe plazma ekleyip çıkararak, tespit edilen eritrosit sayısını test öncesi normal seviyeye getirmeyi amaçlayan bir yöntem önermiştir (Walton 1933). Ancak hem pratik açıdan uygulama zorluğu hem de hematokrit yerine eritrosit sayısını esas alması nedeniyle eleştirilmiştir (Gibson 1937). 1950 yılında Richard Terry, aneminin ESR'yi artırmadığını ve anemide ESR'yi düzeltmeye çalışmanın doğru olmadığını iddia etmiştir (Terry 1950). 1952 yılında Poole ve Summers, anemik eritrositlerin sedimentasyon üzerinde hafif bir geciktirici etkiye sahip olduğunu, oysa anemik plazmanın belirgin bir hızlandırıcı etki gösterdiğini öne sürmüştür (Poole ve Summers 1952). 1970'lere gelindiğinde, anemik durumlarda ESR'nin yorumlanması için birçok değişik yöntem ileri sürülmüş olmasına rağmen, klinisyenlerin genellikle kendi muhakemelerine dayanarak ESR sonuçlarını yorumladıkları anlaşılmaktadır (Bull ve Brecher 1974). 1976 yılında Pawlotsky ve ark.  $\Sigma$  ESR adı verilen bir yöntem geliştirmiştir (Pawlotsky ve ark. 1976). Bu yöntem %35'lik sabit bir değere hematokritin manuel olarak ayarlanması esasına ve çoklu sedimentasyon ölçümlerine (20., 30., 40. ve 50. dakikalarda) dayanmaktaydı. Söz konusu metot, klinik değeri iyi olmasına rağmen kompleksliği nedeniyle yaygın uygulama alanı bulamamıştır (Pawlotsky ve ark. 2004). 1987 yılında Fabry, numunedeki hematokrit azaldıkça sfer çapının arttığını ve böylece sedimentasyonun hızlandığını göstermiştir (Fabry 1987). Yaptığı deneysel çalışmalara dayanarak Fabry, hematokritin %10-50 aralığında olduğu durumlarda, hematokriti %40'a ayarlayarak "düzeltilmiş sedimentasyon" sonucu elde etmeye yarayan bir formül önermiştir: Düzeltilmiş Sedimentasyon =  $[\text{Ölçülen Sedimentasyon} \times (55-40)] / (55 - \text{Ölçülen Hematokrit})$ . Örneğin hematokriti 25.8 ve ESR'si 80 olarak ölçülen bir hastanın düzeltilmiş sedimentasyon sonucu yaklaşık olarak 41 olacaktır. Borawski ve Mysliwiec,  $\text{ESRxHematokrit}/45$  formülünü kullanarak elde ettikleri hematokrite göre düzeltilmiş ESR (Hct-corrected ESR) değerlerinin, inflamasyonu olan hastaları olmayanlardan ayırmada daha başarılı olduğunu rapor etmişlerdir (Borawski ve Mysliwiec 2001). Bu formül yakın zaman önce yapılan bir araştırmada da kullanılmıştır (Choi ve ark. 2015).

Sonuç olarak, hematokritin etkisinden arındırılmış ESR değerleri elde edebilme çabası, aradan geçen bir asırlık süreye ve bu zaman zarfında yapılan sayısız araştırmaya rağmen, üzerinde herkesin uzlaşmaya vardığı bir neticeye hala ulaşabilmiş değildir. Bizim çalışmamız, hematokritteki her 1 puanlık azalmanın, ESR'de 0.745'lik bir artışa yol açabileceğine işaret etmektedir. Bu basit matematiksel ilişki, anemi veya polisitemi durumlarında ESR değerlerinin yorumlanmasına yardımcı olabilir. Bununla birlikte, elde edilen sonuçların daha kapsamlı araştırmalarla desteklenmesi ve pratik açıdan uygulanabilir olup olmadığının anlaşılabilmesi açısından klinik çalışmalarla test edilmesi gerektiği açıktır.

### **KAYNAKLAR**

Alexy T, Pais E, Meiselman HJ: A rapid method to estimate Westergren sedimentation rates. *Rev Sci Instrum*, 80(9):096102, 2009.

Anderson GJ, Frazer DM: Hepatic iron metabolism. *Semin Liver Dis*, 25(4):420-432, 2005.

Andrighetto S, Leventhal J, Zaza G, Cravedi P: Complement and complement targeting therapies in glomerular diseases. *Int J Mol Sci*, 20(24):E6336, 2019.

Aytekin M: The current use and the evolution of erythrocyte sedimentation rate measurement. *MBSJHS*, 4(1):17-23, 2018.

Barrett BA, Hill PI: A micromethod for the erythrocyte sedimentation rate suitable for use on venous or capillary blood. *J Clin Pathol*, 33(11):1118-1120, 1980.

Batlivala SP: Focus on diagnosis: the erythrocyte sedimentation rate and the C-reactive protein test. *Pediatr Rev*, 30(2):72-74, 2009.

Bedell SE, Bush BT: Erythrocyte sedimentation rate. From folklore to facts. *Am J Med*, 78(6 Pt 1):1001-1009, 1985.

Biernacki E: Die spontane Blutsedimentierung als eine wissenschaftliche praktisch-klinische untersuchungsmethode. *Dtsch Med Wschr*, 23:769-772, 1897a.

Biernacki E: Samoistna sedymentacja krwi, jako naukowa i praktycznokliniczna metoda badania. *Gazeta Lekarska*, 17:962-968, 996-1004, 1897b.

Boğdaycioğlu N, Yilmaz FM, Sezer S, Oğuz E: Comparison of iSED and Ves-Matic Cube 200 erythrocyte sedimentation rate measurements with Westergren method. *J Clin Lab Anal*, 29(5):397-404, 2015.

Borawski J, Mysliwiec M: The hematocrit-corrected erythrocyte sedimentation rate can be useful in diagnosing inflammation in hemodialysis patients. *Nephron*, 89(4):381-383, 2001.

Bray C, Bell LN, Liang H, Haykal R, Kaiksow F, Mazza JJ, Yale SH: Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein measurements and their relevance in clinical medicine. *WMJ*, 115:317–321, 2016.

Brigden M: The erythrocyte sedimentation rate. Still a helpful test when used judiciously. *Postgrad Med*, 103(5):257-262, 272-274, 1998.

Brigden ML: Clinical utility of the erythrocyte sedimentation rate. *Am Fam Physician*. 60(5):1443-1450, 1999.

Bull BS, Brailsford JD: The zeta sedimentation ratio. *Blood*, 40(4):550-559, 1972.

Bull BS, Brecher G: An evaluation of the relative merits of the Wintrobe and Westergren sedimentation methods, including hematocrit correction. *Am J Clin Pathol*, 62(4):502-510, 1974.

Cater JH, Wilson MR, Wyatt AR: Alpha-2-macroglobulin, a hypochlorite-regulated chaperone and immune system modulator. *Oxid Med Cell Longev*, 2019:5410657, 2019.

Choi JW, Fujii T, Fujii N: Corrected neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) level adjusted by the scoring system of an inflammation index for screening renal dysfunction in patients with systemic inflammation. *Ann Clin Lab Sci*. 45(3):248-255, 2015.

Collins DH, Gibson HJ, Race J, Salt HB: The erythrocyte sedimentation test: a wide-bore tube method using oxalated blood and permitting correction of the result to a standard red-cell volume. *Ann Rheum Dis*, 1(4):333-358, 1939.

Creamer AW, Kent AE, Albur M: Procalcitonin in respiratory disease: use as a biomarker for diagnosis and guiding antibiotic therapy. *Breathe (Sheff)*, 15(4):296-304, 2019.

Crossley D, Stockley R, Sapey E: Alpha-1 antitrypsin deficiency and accelerated aging: a new model for an old disease? *Drugs Aging*, 36(9):823-840, 2019.

Cuellar JM, Cuellar VG, Scuderi GJ:  $\alpha(2)$ -Macroglobulin: autologous protease inhibition technology. *Phys Med Rehabil Clin N Am*, 27(4):909-918, 2016.

Dalan R, Lih Ling G: The protean role of haptoglobin and haptoglobin genotypes on vascular complications in diabetes mellitus. *Eur J Prev Cardiol*. 25(14):1502-1519, 2018.

Dhama K, Latheef SK, Dadar M, Samad HA, Munjal A, Khandia R, Karthik K, Tiwari R, Yatoo MI, Bhatt P, Chakraborty S, Singh KP, Iqbal HMN, Chaicumpa W, Joshi SK: Biomarkers in stress related diseases/disorders: diagnostic, prognostic, and therapeutic values. *Front Mol Biosci*, 6:91, 2019.

Dignass A, Farrag K, Stein J: Limitations of serum ferritin in diagnosing iron deficiency in inflammatory conditions. *Int J Chronic Dis*, 2018:9394060, 2018.

Douglas SE, Randolph TR: Development of a micro-ESR system with potential for in-home use. *Clin Lab Sci*, 20(1):12-19, 2007.

Fabry TL: Mechanism of erythrocyte aggregation and sedimentation. *Blood*, 70(5):1572-1576, 1987.

Fahraeus R: The suspension-stability of the blood. *Acta Med Scand*, 55:1-228, 1921.

Fahraeus R: Über die Ursachen der verminderten Suspensionsstabilität der Blutkörperchen während der Schwangerschaft. *Biochem Z*, 89:355-364, 1918.

Garcia-Ferrer I, Marrero A, Gomis-Rüth FX, Goulas T:  $\alpha(2)$ -Macroglobulins: structure and function. *Subcell Biochem*, 83:149-183, 2017.

Germolec DR, Shipkowski KA, Frawley RP, Evans E: Markers of inflammation. *Methods Mol Biol*, 1803:57-79, 2018.

Giavarina D, Capuzzo S, Pizzolato U, Soffiati G: Length of erythrocyte sedimentation rate (ESR) adjusted for the hematocrit: reference values for the TEST 1 method. *Clin Lab*, 52(5-6):241-245, 2006.

Gibson HJ: Discussion on the effects of physical treatment on the arneth count and sedimentation rate in rheumatic conditions. *Proc Roy Soc Med*, 31:309-330, 1937.

Gram HC: Über die correction der senkungsreaktion für den einfluss des zellvolumenprocentes (haemoglobin) und über die normalen grenzen der senkungsreaktion. *Acta Med Scandinav*, 68:108-122, 1928.

Griffiths S, Clark J, Adamides AA, Ziogas J: The role of haptoglobin and hemopexin in the prevention of delayed cerebral ischaemia after aneurysmal subarachnoid haemorrhage: a review of current literature. *Neurosurg Rev*, 2019.

Grzybowski A, Sak J: Edmund Biernacki (1866-1911): discoverer of the erythrocyte sedimentation rate. On the 100th anniversary of his death. *Clin Dermatol*, 29(6):697-703, 2011.

Ham TH, Curtis FC: Sedimentation rate of erythrocytes: Influence of technical erythrocyte and plasma factors and quantitative comparison of five commonly used sedimentation methods. *Medicine (Baltimore)*, 17(4):447-517, 1938.

Hamade B, Huang DT: Procalcitonin: where are we now? *Crit Care Clin*, 36(1):23-40, 2020.

Hashemi R, Majidi A, Motamed H, Amini A, Najari F, Tabatabaey A: Erythrocyte sedimentation rate measurement using as a rapid alternative to the Westergren method. *Emerg (Tehran)*, 3(2):50-53, 2015.

Hawula ZJ, Wallace DF, Subramaniam VN, Rishi G: Therapeutic advances in regulating the hepcidin/ferroportin axis. *Pharmaceuticals (Basel)*, 12(4):E170, 2019.

Herold G: *Herold's Internal Medicine*, 2<sup>nd</sup> ed. Lulu, Germany. p. 403, 2014.

Hirszfeld L: Uber ein neues Blutsymptom bei Malariakrankheit. *Correspondenz-Blatt fur Schweizer Arzte*, 47:1007-1012, 1917.

Hsu E, Moosavi L: *Biochemistry, Antithrombin III*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL). 2019.

Hynes M, Whitby LEH: Correction of the sedimentation-rate for anemia. *Lancet*, 2:249-251, 1938.

Ingenbleek Y: The retinol circulating complex releases hormonal ligands during acute stress disorders. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 9:487, 2018.

Jain S, Gautam V, Naseem S: Acute-phase proteins: As diagnostic tool. *J Pharm Bioallied Sci*, 3(1):118-27, 2011.

Jan KM, Chien S: Role of surface electric charge in red blood cell interactions. *J Gen Physiol*, 61(5):638-654, 1973.

Jezela-Stanek A, Chorostowska-Wynimko J: Beyond the lungs: Alpha-1 antitrypsin's potential role in human gestation. *Adv Clin Exp Med*, 28(9):1257-1261, 2019.

Jurado RL. Why shouldn't we determine the erythrocyte sedimentation rate? *Clin Infect Dis*, 33(4):548-549, 2001.

Kawthalkar SM: *Essentials of Clinical Pathology*, 2<sup>nd</sup> ed. India, JP Medical Ltd. p. 243-246, 2018.

Kernan KF, Carcillo JA: Hyperferritinemia and inflammation. *Int Immunol*, 29(9):401-409, 2017.

Kim S, McClave SA, Martindale RG, Miller KR, Hurt RT: Hypoalbuminemia and clinical outcomes: What is the mechanism behind the relationship? *Am Surg*, 83(11):1220-1227, 2017.

Korkmaz HI, Krijnen PAJ, Ulrich MMW, de Jong E, van Zuijlen PPM, Niessen HWM: The role of complement in the acute phase response after burns. *Burns*, 43(7):1390-1399, 2017.

Kratz A, Plebani M, Peng M, Lee YK, McCafferty R, Machin SJ, International Council for Standardization in Haematology (ICSH): ICSH recommendations for modified and alternate methods measuring the erythrocyte sedimentation rate. *Int J Lab Hematol*, 39(5):448-457, 2017.

Kucharz EJ: Sesquicentennial of the birth of Edmund Faustinus Biernacki, a discoverer of the erythrocyte sedimentation rate. *Reumatologia*, 55(1):24-28, 2017.

Kucharz EJ: The forgotten contribution of Dr. Edmund Faustyn Biernacki (1866-1911) to the discovery of the erythrocyte sedimentation rate. *J Lab Clin Med*, 112(2):279-280, 1988.

Lee JL, Oh ES, Lee RW, Finucane TE: Serum albumin and prealbumin in calorically restricted, nondiseased individuals: a systematic review. *Am J Med*, 128(9):1023.e1-22, 2015.

Linder MC: Ceruloplasmin and other copper binding components of blood plasma and their functions: an update. *Metallomics*, 8(9):887-905, 2016.

Markanday A: Acute phase reactants in infections: Evidence-based review and a guide for clinicians. *Open Forum Infect Dis*, 2(3):ofv098, 2015.

Meyer EJ, Nenke MA, Rankin W, Lewis JG, Torpy DJ: Corticosteroid-binding globulin: a review of basic and clinical advances. *Horm Metab Res*. 48(6):359-371, 2016.

Miller A, Green M, Robinson D: Simple rule for calculating normal erythrocyte sedimentation rate. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 286(6361):266, 1983.

Olshaker JS, Jerrard DA: The erythrocyte sedimentation rate. *J Emerg Med*, 15(6):869-874, 1997.

Pagani A, Nai A, Silvestri L, Camaschella C: Hepcidin and anemia: a tight relationship. *Front Physiol*, 10:1294, 2019.

Pawlotsky Y, Bourel M, Lenoir P, Hany Y, Lorcy M, Kerbaol M: Sedimentation rate and sigma sedimentation rate in internal medicine. *Ann Med Interne (Paris)*, 127(8-9):689-702, 1976.

Pawlotsky Y, Goasguen J, Guggenbuhl P, Veillard E, Jard C, Pouchard M, Perdriger A, Meadeb J, Chales G.  $\Sigma$  ESR: An erythrocyte sedimentation rate adjusted for the hematocrit and hemoglobin concentration. *American Journal of Clinical Pathology*, 122:802-810, 2004.

Pieters M, Wolberg AS: Fibrinogen and fibrin: An illustrated review. *Res Pract Thromb Haemost*, 3(2):161-172, 2019.

Poole JC, Summers GA: Correction of ESR in anaemia; experimental study based on interchange of cells and plasma between normal and anaemic subjects. *Br Med J*, 1(4754):353-356, 1952.

Pye A, Turner AM: Experimental and investigational drugs for the treatment of alpha-1 antitrypsin deficiency. *Expert Opin Investig Drugs*, 28(10):891-902, 2019.

Reinhart WH, Nagy C: Albumin affects erythrocyte aggregation and sedimentation. *Eur J Clin Invest*, 25(7):523-528, 1995.

Reinhart WH: Erythrocyte sedimentation rate--more than an old fashion? *Ther Umsch*, 63:108-112, 2006.

Richardson SJ: Evolutionary changes to transthyretin: evolution of transthyretin biosynthesis. *FEBS J*, 276(19):5342-5356, 2009.

Ricklin D, Reis ES, Mastellos DC, Gros P, Lambris JD: Complement component C3 - The "Swiss Army Knife" of innate immunity and host defense. *Immunol Rev*, 274(1):33-58, 2016.

Rourke MD, Ernestine AC. A method for correcting the erythrocyte sedimentation rate for variations in the cell volume percentage of blood. *J Clin Invest*, 8(4):545-559, 1930.

Shelat SG, Chacosky D, Shibutani S: Differences in erythrocyte sedimentation rates using the Westergren method and a centrifugation method. *Am J Clin Pathol*, 130(1):127-130, 2008.

Shteinshnaider M, Almozni-Sarafian D, Tzur I, Berman S, Cohen N, Gorelik O: Shortened erythrocyte sedimentation rate evaluation is applicable to hospitalised patients. *Eur J Intern Med*, 21(3):226-229, 2010.

Sitar ME, Aydin S, Cakatay U: Human serum albumin and its relation with oxidative stress. *Clin Lab*, 59(9-10):945-952, 2013.

Soria J, Mirshahi S, Mirshahi SQ, Varin R, Pritchard LL, Soria C, Mirshahi M: Fibrinogen  $\alpha$ C domain: Its importance in physiopathology. *Res Pract Thromb Haemost*, 3(2):173-183, 2019.

Sproston NR, Ashworth JJ: Role of c-reactive protein at sites of inflammation and infection. *Front Immunol*, 9:754, 2018.

Styskel B, Natarajan Y, Kanwal F: Nutrition in alcoholic liver disease: an update. *Clin Liver Dis*, 23(1):99-114, 2019.

Taşkın E, Çelik S, Yavuz DM, Kara F: Investigation of relationship between erythrocyte sedimentation rate and erythrocyte indices. *Kafkas J Med Sci*, 9(2):87-89, 2019.

Terry R: Erythrocyte sedimentation in anaemia. *Br Med J*, 2(4692):1296-1299, 1950.

Verbeeten KC, Ahmet AH: The role of corticosteroid-binding globulin in the evaluation of adrenal insufficiency. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 31(2):107-115, 2018.

Vieira M, Saraiva MJ: Transthyretin: a multifaceted protein. *Biomol Concepts*, 5(1):45-54, 2014.

Waldvogel-Abramowski S, Waeber G, Gassner C, Buser A, Frey BM, Favrat B, Tissot JD: Physiology of iron metabolism. *Transfus Med Hemother*, 41(3):213-21, 2014.

Walton ACR: The erythrocyte sedimentation test: a clinical and experimental study. *Quart J Med*, 2(1):79-116, 1933.

Wang B, Wang XP: Does ceruloplasmin defend against neurodegenerative diseases? *Curr Neuropharmacol*, 17(6):539-549, 2019.

Westergren A: Studies of the suspension stability of the blood in pulmonary tuberculosis. *Acta Med Scand*, 54:247-282, 1921.

Westergren A: The technique of the red cell sedimentation reaction. *Am Rev Tuber*. 14(1):94-101, 1926.

Wintrobe MM, Landsberg JW: A standardized technique for the blood sedimentation test. *Am J Med Sci*, 189:102-115, 1935.

Wu Y, Potempa LA, El Kebir D, Filep JG: C-reactive protein and inflammation: conformational changes affect function. *Biol Chem*, 396(11):1181–1197, 2015.

Zeckwer IT, Goodell H: Sedimentation rate of erythrocytes. *Am Jour Med Sc*, 160:209, 1925.

Zhang Y, Zhang J, Sheng H, Li H, Wang R: Acute phase reactant serum amyloid A in inflammation and other diseases. *Adv Clin Chem*, 90:25-80, 2019.

Zlonis M: The mystique of the erythrocyte sedimentation rate. A reappraisal of one of the oldest laboratory tests still in use. *Clin Lab Med*. 13(4):787–800, 1993.