



**T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ORAK HÜCRE HASTALIĞINDA ERİTROSİTLERİN İNTRAVASKÜLER
HEMOLİZİ İLE KLİNİK BULGULAR ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
İNCELENMESİ**

DR. NAZIM YILDIRIM

UZMANLIK TEZİ

**DANIŞMAN
PROF. DR. SELMA ÜNAL**

MERSİN – 2019



**T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ORAK HÜCRE HASTALIĞINDA ERİTROSİTLERİN İNTRAVASKÜLER
HEMOLİZİ İLE KLİNİK BULGULAR ARASINDAKİ İLİŞKİNİN
İNCELENMESİ**

**DR. NAZIM YILDIRIM
UZMANLIK TEZİ**

**DANIŞMAN
PROF. DR. SELMA ÜNAL**

**Bu tez, BAP 2018-1-TP3-2867 kodlu proje olarak
Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi
tarafından desteklenmiştir**

MERSİN – 2019

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim süresince bana yön veren, tez konumun belirlenmesinde ve sonrasında sonuna kadar destek olan tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Selma ÜNAL'a, Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı'ndan Sayın Prof. Dr. Yeşim ÖZTAŞ'a ve asistanı Dr. Ahmet YALÇINKAYA'ya Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı'ndan Doc. Dr. Semra ERDOĞAN'a ve Biyokimya Anabilim Dalı hoca ve çalışanlarına, Prof. Dr. Ali DELİBAŞ'a ve Dr. Feryal KARAHAN'a,

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda asistanlığım süresince yetişmemde emeği olan ve eğitimimde katkıları bulunan tüm değerli hocalarıma,

Eğitim dönemimin daha kolay geçmesini sağlayan sevgili asistan arkadaşlarıma ve tüm hastane personeline,

Hayatım boyunca hep yanımda olan, eğitim yaşantım boyunca maddi ve manevi desteklerini hiç esirgemeyen, bugünlere gelmemde büyük emekleri olan canım anneme, babama ve kardeşlerime,

Hayatıma girdiğinden beri kocaman yüreği ile beni hiç yalnız bırakmayan, tüm sıkıntılı anlarımda yanımda olan eşime ve dünyaya geldiğinden beri hayatımı değiştiren, dünyama renk katan biricik kızım Mevsim Şura ve oğlum Attila Talha' ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

DR. NAZIM YILDIRIM

İÇİNDEKİLER

ÖZET	5
ABSTRACT	6
1. GİRİŞ VE AMAÇ	7
2. GENEL BİLGİLER	9
2.1 Orak Hücre Hastalığı	9
2.1.1. Genetik	10
2.1.2. Görülme Sıklığı ve Coğrafi Dağılım	11
2.1.3. Patofizyoloji	12
2.1.3.1. Moleküler mekanizmalar	12
2.1.3.2. Hücresel mekanizmalar	12
2.1.4. Oraklaşmayı Etkileyen Faktörler	13
2.1.5. Klinik Bulgular	16
2.1.6. Hastalık şiddeti ve prognoz	23
2.1.7. Tanı	24
2.1.8. Doğum öncesi tanı	26
2.1.9. Tedavi	26
2.1.10. Kriz ve Komplikasyonların Tedavisi	32
2.1.11. Hematopoetik Kök Hücre Nakli (HSCT)	33
2.1.12. Gen Tedavisi	35
2.1.13. Hbs Polimerizasyonunu Önlemeyi Hedefleyen Tedaviler	36
2.2. Orak hücre hastalığı ve hemoliz	40
2.2.1. Hemoglobin ve Hemin Temizleyici Proteinlerinin Fizyolojisi	44
3. GEREÇ VE YÖNTEM	49
3.1. Hastalar	49
3.2. Biyokimyasal Yöntem	50
3.3. İstatistiksel Değerlendirme	51
4. BULGULAR	52
5. TARTIŞMA	61
6. SONUÇLAR	67
7. KAYNAKLAR	71
8. SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	95
9. ŞEKİLLER DİZİNİ	97
10. TABLOLAR DİZİNİ	98

ÖZET

Çalışmamızda orak hücre hastalıklı (OHH) hastalarımızda; damar tıkalıcı kriz (DTK) patogeneğinde önemli rol oynayan damar içi hemoliz ile ilişkili parametreleri incelemek ve bu parametrelerin klinik bulgularla ilişkisini araştırmayı amaçladık.

Çalışmaya 2-24 yaş arasında 31 OHH'lı çocuk ve genç erişkin dahil edildi. OHH'lı bireyler bir yıllık izleme alındı ve DTK'ya giren ve hastaneye yatması gereken hastalardan, yatışın ilk gününde tam kan sayımı, laktat dehidrogenaz (LDH), c-reaktif protein (CRP), nitrit/nitrat (NO_x), hemin, hemopeksin (Hpx), haptoglobulin (Hp) ve asit sfingomyelinaz (AS) düzeyleri bakılması amacıyla kan örnekleri alındı. Daha sonra bu hastalar durağan dönemlerinde polikliniğe çağırılarak aynı testler tekrarlandı. Elde edilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Çalışmamızda OHH'lı hastaların Hb düzeylerini, DTK sırasında durağan döneme göre belirgin olarak düşük saptadık ($p=0,047$). Beklenilenin aksine DTK grubunda serum hemin düzeyinde bir artış saptayamadık. Buna karşın hemini plazmadan parçalayarak uzaklaştıran protein olan Hpx'in DTK grubunda durağan döneme göre belirgin olarak azaldığını ($p=0,003$) ve bu azalmanın yatışın 3. gününde daha belirgin olduğunu tespit ettik. Yarı ömrü çok kısa olduğu için NO metaboliti olan NO_x kullanılan çalışmamızda; DTK'lı grupta durağan döneme göre anlamlı oranda düştüğünü gözlemledik ($p=0,007$).

Damar içi hemolizin DTK gelişimindeki rolünü araştırdığımız çalışmamızda, literatürde belirtildiği gibi, hemoliz belirteçlerinin DTK döneminde durağan döneme göre anlamlı oranda farklı olduğunu tespit ettik. Akut göğüs sendromlu (AGS) hastalarda hemoglobin (Hb) ve NO düzeylerindeki düşüşün daha belirgin olması nedeni ile bu grupta hemolizin patogeneşte daha ön planda olabileceğini düşünmekteyiz. Çalışmamız damar içi hemolizin klinik bulgularla ilişkisinin araştırıldığı ilk çalışma olması nedeniyle oldukça önemlidir.

Anahtar Kelimeler: Hemin, hemoliz, hemopeksin, orak hücreli anemi, sfingomyelinaz.

ABSTRACT

Investigation Of The Relationship Between Intravascular Hemolysis and Clinical Findings Of Eritrocytes In Sickle Cell Disease

In this study, we aimed to investigate the parameters associated with intravascular hemolysis that play an important role in the pathogenesis of vaso-occlusive crisis (VOC) and to investigate the relationship between these parameters and clinical findings in patients with sickle cell disease (SCD).

Thirty-one children and young adults aged 2-24 years with SCD were included in the study. Individuals with SCD were followed up for one year and complete blood count, lactate dehydrogenase (LDH), C-reactive protein (CRP), nitrite/nitrate (NOx), hemin, hemopexin (Hpx), haptoglobin (Hp) and acid sphingomyelinase (AS) levels were measured at first day of hospitalization from blood samples of patients who had VOC and required hospitalization. Later, these patients were called to the outpatient clinic during the stable periods and the same tests were repeated. The obtained data were compared statistically.

In our study, we found that Hb levels of patients with SCD were significantly lower during VOC than in stable period ($p=0.047$). Contrary to expectations, we did not detect an increase in serum hemin levels in the VOC group. On the other hand, we found that Hpx, the protein that cleaves the hemin from plasma, is significantly decreased in the VOC group compared to the stable period ($p=0.003$) and this decrease is more pronounced on the 3rd day of hospitalization. In our study, NOx which is a NO metabolite was used because of its short half-life; and we observed a significant decrease in NOx levels in the VOC group compared to the stable period ($p=0.007$).

In our study, we investigated the role of intravascular hemolysis in the development of VOC, we found that hemolysis markers were significantly different in VOC period compared to stable period and these results are consistent with literature. We believe that hemolysis may be more prominent in the pathogenesis of ACS patients because of the decrease in Hb and NO levels in this group. This study is very important because it is the first study to investigate the relationship between intravascular hemolysis and clinical findings.

Key words: Hemin, hemolysis, hemopexin, sickle cell anemia, sphingomyelinase

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Orak hücre anemisi dünyada en sık görülen hemoglobinopatilerden biridir. Hemolitik anemiye bağlı olarak sarılık, solukluk, karaciğer ve dalak büyüklüğü görülürken, klinik bulguları asıl ortaya çıkaran hastalığa bağlı krizlerdir. Oraklaşmış eritrositler damarlarda ince tıkanıklıklar yaratarak doku iskemisi geliştirirler. Oksijensizlik, HbS polimerizasyonuna neden olur, bu durum da eritrositleri oraklaştırır. Damar tıkanmaları, orak eritrositlerin lökositlerle ve vasküler endotelle olan etkileşimi sonucu meydana gelir. Bu damar tıkanmaları infarktlara, hemoliz ve inflamasyona neden olur. İnflamasyon endotelden salınan adezyon moleküllerinin sayısını ve oraklaşmış eritrositlerin vasküler endotele yapışma eğilimini artırır. Bütün bu olaylar damar tıkanmalarını arttırarak döngüyü devam ettirir. İskemik dokunun yeniden kanlanması serbest radikalleri oluşturur ve doku hasarına neden olur.

Hem; oksijen ve elektron transferinde merkezi bir rol oynayan bir demir-protoporfirin kompleksidir; miyoglobin ve Hb gibi çeşitli proteinlerin yapısında mevcut olan önemli bir fonksiyonel gruptur. Bu nedenle hem; oksijen taşınımı, ilaç metabolizması, solunum ve sinyal iletiminde kritik öneme sahiptir.¹ Serbest hem, parçalanmış eritrositlerden salınan Hb'den açığa çıkar; bakteriyel enfeksiyonlar, hemolitik anemi ve hemoglobinopati gibi çeşitli patolojik hallerde açığa çıkma oranı artar.¹ Plazma proteinleri olan Hp ve Hpx, sırasıyla Hb ve hem'i bağlayarak kandan temizleme görevlerini üstlenirler.² Ne yazık ki, bu koruyucu mekanizmalar birçok patolojik durumda işlev göremez hale gelir ve Hpx tamamen tükenir. Buna bağlı olarak, serbest hem'i bağlayacak Hpx olmadığından, çok yüksek seviyelerde serbest hem oluşur.^{1,3} Hemoliz sonrası serbestleşen hem molekülünün okside olmasıyla hemin molekülü oluşur.¹

Aşırı miktarda artmış serbest hem, oksidatif stres ve hücre hasarına yol açan reaktif oksijen moleküllerini oluşumunu katalizler.^{1,4,5} Ayrıca serbest hem lipofiliktir ve vasküler endotelin lipid membranlarında interkalasyon yapabilir. Bu iki süreç, endotel hücre aktivasyonu ile sonuçlanır. Aktifleşmiş endotel hücreleri, lökositleri endotele alır ve endotele zarar veren, vasküler geçirgenliği arttıran bir inflamatuvar yanıt başlatır.⁴

Hemoliz sırasında, demir iyonları, hem ve Hb; kan damarları için zararlı güçlü oksidatif reaksiyonlar gösterir. Hem ve Hb'e karşı fizyolojik koruma, makrofajlar ve hepatositler tarafından hem'in temizlenmesine aracılık eden

dolaşımdaki Hpx ve Hp tarafından sağlanır.^{6,10,11} Bu temizleme sistemi, OHH'da hemoliz ile kesintiye uğrar ve plazmada hem ve Hb birikimine yol açar bu da vasküler hasarın şiddetini artırır.^{6,7,8}

Orak hücre hastalığında vasküler hasar; böbreklerde dahil olmak üzere birden fazla organda kronik iskemik hasara yol açar.^{11,12,13} Bu durum kronik iskemi, yetersiz vazodilatasyon, eritrosit tuzaklanması ve hemoliz ile ortaya çıkan DTK'larla ilişkilidir.^{9,14,15} OHH'daki vasküler hasarın mekanizması tartışmalıdır ve endotelin-1 aşırı üretimi ile Hb'nin temizlenememesine bağlı olarak NO biyoyararlanımındaki azalmaya bağlı olabileceği düşünülmektedir.^{16,17,18,19} Vasküler hasar, azalmış vazodilatasyon, eritrosit tuzaklanması ve hemolizdeki artışa bağlı OHH'lı hastalarda DTK'lar ortaya çıkar.^{9,14,15}

Son veriler, Hb'nin, nitriti NO'ya indirgeme yeteneğine sahip olduğunu ve insanlarda vazodilatasyonu tetiklediğini göstermektedir.²⁰ Hb nitrit redüktaz aktivitesi için optimal reaksiyon hızı sağlayarak eritrositlerin hipoksik dokuya NO verilmesini ve böylece bölgesel kan akışını iyileştirmesine neden olur.^{21,22,23}

Sfingolipitler, sfingoid bazların omurgasını içeren bir lipid sınıfıdır. Hücresel süreçlerde farklı roller oynarlar ve hücre zarlarının önemli bileşenleridirler. Memeli plazma zarının %10'unu içeren sfingomyelin (SM), hidrolize edici enzim olan AS ile ayrışır.²⁴ Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, membran eğriliği ve eritrositlerde mekanik bükülme gerilimlerinde ki artışlar, AS'yi aktive eder, böylece SM azalır ve seramid artar.²⁵ Seramid üretimi, çok çeşitli hücresel süreçler üzerinde doğrudan etkiye sahiptir ve inflamasyonun kilit düzenleyicileri olan sfingosin ve sfingosin 1-fosfat gibi metabolitlerin üretimini değiştirir.²⁶⁻³⁰ Ayrıca AS; lipid mikrodoman oluşumu, membran kırılabilirliği, vezikülasyon ve mikropartikül oluşumunda rol oynamaktadır.^{31,32}

Çalışmamızda OHH'lı hastalarımızda; DTK patogenezinde önemli rol oynayan damar içi hemoliz ile ilişkili parametreleri incelemek ve bu parametrelerin klinik bulgularla ilişkisini araştırmayı amaçladık. OHH'lı hastalarda eritrosit hemoliz parametreleri düzeyindeki değişikliklerin gösterilmesi ve bu değişikliklerin DTK ile ilişkilendirilmesi, hastalığın patogenezinin aydınlatılmasına ve yeni geliştirilecek tedavilere önemli katkılar sağlayacaktır.

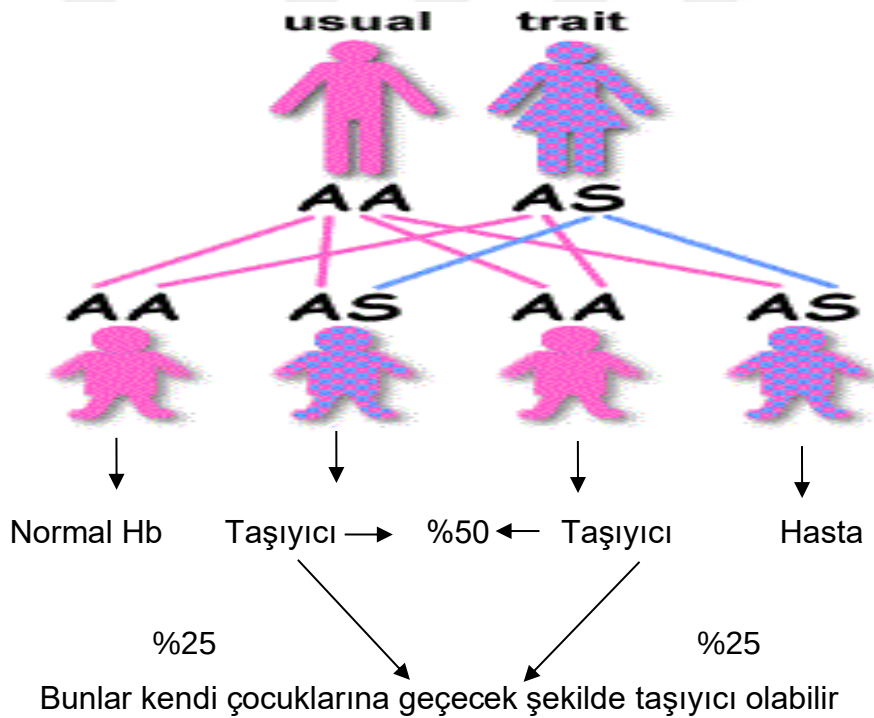
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Orak Hücre Hastalığı

OHH, kalıtsal geçişli ve birçok sistemi etkileyen bir hastalık olup kırmızı kan hücrelerinin değişikliğe uğramış HbS içermesi nedeniyle ortaya çıkan klinik bir durumdur. Hastalığın temel özellikleri tekrarlayan ağrılı ataklar, kronik hemolitik anemi, akut ve kronik organ işlev bozukluğudur.³³ HbS, β -globin zincirinin amino (-NH₂) ucunda 6. pozisyondaki glutaminin valin aminoasidi ile yer değiştirmesiyle; baz düzeyinde GAG (Guanin-Adenin-Guanin) yerine GTG (Guanin-Timin-Guanin) gelmesiyle oluşur.³⁴ Bu mutasyonun sonucu olarak oksijensiz HbS polimerize olur ve katı kristal halinde çöker. Eritrositler bikonkav disk şeklinden yarımay benzeri orak şeklini alır. Şekli bozulmuş olan hücreler dalakta erkenden yıkılır ayrıca kan akışkanlığını azaltarak özellikle küçük damarlarda tıkanıklığa yol açar.³⁵ Hb, dokulara oksijeni dağıtır ve eritrositlerin içindeki yüksek yoğunluğu eritrositin şeklini koruma ve şekil değiştirebilme yeteneğini sağlar.³⁶ Normal insan Hb'inde 4 tane polipeptid zinciri ve 4 tane hem grubu bulunur ve 2 tane alfa ve 2 tane β zincirinden oluşmaktadır. Erişkinlerde bulunan temel hemoglobin HbA'dır ve HbA₂ miktarı ise çok azdır. Fötal hayat boyunca HbF düzeyi yüksektir ve doğumdan sonra eritrosit içindeki oranı azalır.³⁵ Hemoglobinopatiler anormal hemoglobin sentezi ile sonuçlanan değişikliklerin sonucunda oluşur. Hemoglobinopatiler 5 temel grupta incelenmekte olup bunlar içinde en sık rastlanılanı talasemiler (globin zincir sentez bozukluğu) ve orak hücre sendromlarıdır (yapısal hemoglobinopatiler). Bir globin zincirinin aminoasit sırasını değiştiren mutasyon sonucu OHH'nın da içinde bulunduğu yapısal hemoglobinopatiler oluşur ve bu da Hb'nin fizyolojik özelliklerini değiştirerek hastalığın tipik klinik belirtilerini oluşturur. Hastalığın ayrıca birleşik formları da bulunur. Bunlar'ın başlıcaları S- β talasemi, S- α talasemi, S-C ve S-D hastalığıdır.^{33,36} 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 genelde belirti vermezler.³⁷

2.1.1. Genetik

Orak hücre mutasyonu homozigot ya da heterozigot durumda olabilir. Heterozigot durumdaki kişi anne ya da babanın sadece birinden mutasyona uğramış geni almaktadır ve eritrositlerde HbA ile birlikte HbS de bulunmaktadır. Bu durum orak hücre taşıyıcılığı olarak adlandırılmaktadır. Taşıyıcılar hastalık belirtilerini göstermez, ancak tetkik ve taramalar sırasında tesadüfen anlaşılırlar. Homozigot durumda ise anne ve babanın her ikisinden de mutasyona uğramış gen alınarak OHH söz konusu olmaktadır. Genotip olarak orak hücre taşıyıcısı (HbAS) olan ebeveynler %25 olasılıkla OHH'lı hasta çocuğa sahip olma riski taşımaktadır. Böyle anne ve babadan genotipi normal olan (HbAA) çocuk doğma olasılığı ancak %25'tir (Şekil 1).³⁸ OHH otozomal resesif geçiş göstermesi nedeniyle akraba evliliklerinde oldukça sık karşılaşılan bir durumdur.



Şekil 1. Orak hücre anemisinin kalıtım modeli.

Orak hücre geninin β talasemi geni veya HbC gibi diğer hemoglobinopati genleri ile birlikte bulunması, farklı OHH tiplerinin görülmesine neden olmaktadır. Örneğin; HbA₂'nin %3-5 arasında olduğu ve daha hafif seyirli klinik bulgulara yol açan orak hücre- β talasemi tablosu görülebilir. Bu tür orak hücre- β talasemi hastalarının klinik özelliklerini, β geni mutasyonunun tipi ve HbA miktarı belirlemektedir. OHH ile birlikte görülen diğer heterozigot durumlar ise; orak

hücre-hemoglobin C (SC) hastalığı, orak hücre-hemoglobin O (Arab), orak hücre-hemoglobin Lepore (Boston) ve orak hücre-hemoglobin D (Punjab)'dır.³⁹⁻⁴⁰

2.1.2. Görülme Sıklığı ve Coğrafi Dağılım

Son yıllarda bebeklerin yenidoğan taraması, penisilin profilaksisi, kapsüllü organizmalara karşı aşılama, transkranial doppler (TKD) taraması (inme riski altındaki çocukları tanımlamak ve transfüzyonla tedavi etmek için), ve yoğun destek tedavileriyle hastaların yaşam süresi ve yaşam kaliteleri artmıştır.⁴¹⁻⁴³ HbSS ve Hb β^0 olan hastalar da hidroksiüre tedavisinin erken başlanmasıyla da, özellikle DTK'ları azaltarak yaşam süresinin uzamasına katkı sağladığı düşünülmektedir.⁴⁴

Amerika Birleşik Devletleri'nde (ABD) 90,000 ila 100,000 OHH hastası olduğu tahmin edilmektedir ve erişkin döneme kadar sağkalım neredeyse tama yakındır.⁴⁵⁻⁴⁶ Küresel olarak, HbSS'li bebeklerin yaklaşık üçte ikisi Nijerya'da, Kongo Cumhuriyeti'nde veya çocukluk ölümlerinin yüksek seyrettiği Hindistan'da doğmaktadır.⁴⁷ 2050 yılına gelindiğinde, gelişmekte olan ülkelerde yenidoğan taraması , penisilin profilaksisi ve artan aşılama oranları ile, 5 milyon kadar OHH'lı hastanın ölümünün önlenebileceği raporlanmıştır.⁴⁷ 2010 yılında, dünya çapında homozigot OHH'lı yenidoğan sayısı 305.800 iken. 2050 yılına kadar bu sayının yaklaşık 400.000'e ulaşması beklenmektedir.⁴⁷ Hastalarda yaşam süresinin artması ile birlikte OHH'nın geç dönem komplikasyonları ve kronik organ hasarları ileri yaş gruplarında önemli sorun olarak karşımıza çıkmaktadır.

Ülkemizde yapılan tarama çalışmaları; OHH'nın bazı bölgelerde daha sık olduğunu göstermektedir. Çukurova Bölgesi, OHH'nın en sık bulunduğu yöredir. HbS özellikle Eti-Türkü olarak adlandırılan etnik grupta yüksek olarak bulunmaktadır.^{48,49} Sağlık Bakanlığı ve Ulusal Hemoglobinopati Konseyi'nin verilerine göre taşıyıcı sıklığının Adana'da %10, Antakya'da %10,5, Mersin'de %13,6 ve ülkemizdeki toplam OHH olan kişi sayısının yaklaşık 1200 civarında olduğu belirtilmiştir. Ayrıca hastalığın Antalya'da %2,5, Diyarbakır'da %0,5, Muğla'da %0,5 sıklıkta görüldüğü bildirilmiştir.⁵⁰

2.1.3. Patofizyoloji

2.1.3.1. Moleküler Mekanizmalar

Eritrositlerin içindeki HbS konsantrasyonu, hangi eritrositlerin oraklaşacağını büyük ölçüde belirler. HbS'in eritrosit konsantrasyonu 30 g/dL'ye yaklaştığında, hücre içinde yarı-katı bir jel oluşur.⁵¹ De-oksijene durumda HbS polimerize olarak eritrositlerin sertleşmesine ve uçlara doğru uzamasına neden olur.⁵² Bu oluşum, doğrudan komşu β -globin zincirindeki 85. ve 88. pozisyonundaki fenilalanin ve lösin rezidüleri arasındaki hidrofobik cebe bağlanan valin rezidüleri ile oluşturulur. Oksijene durumda, bu polimerler parçalanır.

HbS'nin polimerizasyonu, oksijene olan afiniteyi azaltır ve böylece molekülün oksijensiz formunu stabilize eder. Bu nedenle, oksijen ve HbS konsantrasyonu, HbS polimerlerinin oluşumunda ve parçalanmasında kritik bir rol oynar. Deoksijenlenmiş HbS, en kolay şekilde kendisiyle ve çok daha az oranda da HbA ile polimerize olur. HbS; 2 hemoglobin varyantı arasındaki yaklaşık 20 yüzey amino asit farkından dolayı, en az fetal hemoglobin (HbF) ile polimerize olur. Bu bulgular, in vivo ortamda HbA (eritrosit transfüzyonu gibi) ve HbF (hidroksiüre gibi) konsantrasyonunu artıran, böylece polimerizasyon ve jel oluşumunu inhibe eden tedavi arayışlarının gerekçesini oluşturmaktadır.^{53,54}

2.1.3.2. Hücresel Mekanizmalar

HbS'nin polimerizasyonu, OHH'nın olmazsa olmazı olmasına rağmen, eritrosit zarı değişiklikleri hastalığın klinik bulgularının çoğunu yönlendirir.⁵⁵ Değişiklikler, eritrosit zarının hem lipid hem de protein bileşenlerini etkiler ve orak eritrositlerin lökositler, trombositler ve vasküler endotel ile etkileşimlerini değiştirir. Lipidlerin bileşimi; deoksijenasyonun membran kaybına neden olduğu için önemli ölçüde değişir. Eritrosit kaynaklı mikropartiküllerin dolaşımda artması ve dış lipid tabakası üzerinde negatif yüklü fosfatidil serin varlığının da artmış olması, bu verileri desteklemektedir.⁵⁵ Bu kritik değişimin, protrombinin trombine dönüşümünü ve trombotik olayların oranını arttırdığı düşünülmektedir.⁵⁵ Aynı zamanda, E-selektin, P-selektin ve VHAM (Vasküler hücre adezyon molekülü) dahil olmak üzere birkaç adezyon molekülünün düzenlenmesi gibi, endotel hücrelerinde anahtar protein değişiklikleri meydana gelir.⁵⁶ Bu moleküller yakın zamanda OHH semptomlarının azaltılmasında potansiyel farmasötik hedefler

olarak kullanılmıştır. Bu gözlemlere dayanarak, orak eritrositler, normal eritrositlerden 2 ila 10 kat daha fazla endotele yapışır ve OHH'da gözlenen vaskülopatiye katkıda bulunurlar.⁵⁷

Membran hasarı ayrıca hastalığa eşlik eden patolojik intravasküler ve ekstravasküler hemolize de katkıda bulunur. İntravasküler hemoliz, deforme olmuş eritrositler mikrovasküler alandan geçerken meydana gelen kayma kuvvetleri vasıtasıyla zaten zarar görmüş bir zarın daha da parçalanmasıyla provoke edilir. Ayrıca, eritrosit membranında protein bandı 3'ün kümelenmesi, hem immünoglobulin G'nin (IgG) anormal birikmesine neden olur hem de eritrosit yüzeyinde komplemanın birikimine yol açar, böylece kompleman aracılı eritrosit yıkımı da gerçekleşir.⁵⁸ Ekstravasküler hemolize; hasarlı eritrositleri tanıyan ve bunları dolaşımdan çıkaran splenik makrofajlar, doku makrofajları ve monositleri aracılık eder.⁵⁹ Kronik hemoliz sonucu açığa çıkan serbest Hb NO'yu bağlayarak, vazokonstrüksiyon ve vaskülopatiye katkıda bulunur.

HbS polimerizasyonu, oraklaşmış eritrositlerin viskozitesini artırması, anormal hücrelerin endotele yapışmasının artması, oksidatif stres ve enflamasyonun hepsi OHH'nın en önemli klinik bulgusu olan DTK'ları ortaya çıkarmaktadır. OHH'da beyaz küre (BK) yüksekliği, artmış platelet aktivasyonu veya endotelden artmış von willebrand faktör salınımı gibi birçok faktörde DTK gelişimine katkıda bulunabilmektedir.⁶⁰ Gerçekten de, OHH hastalarında artmış BK sayısı, mortalite artışı, sessiz beyin enfarktüsü, hemorajik inmeler ve AGS ile ilişkilendirilmiştir.⁶¹⁻⁶⁴ Bu katkıda bulunan faktörlerin herbiri ile, OHH'lı hastaların, C-reaktif protein (CRP), eritrosit sedimentasyon hızı (ESH) ve artan inflamatuvar sitokinler gibi yüksek inflamatuvar biyobelirteçler ile kronik bir enflamasyon durumunda olduğunun düşünülmesi sürpriz olmayacaktır.⁶⁵

2.1.4. Oraklaşmayı Etkileyen Faktörler:

Bazı durumlar oraklaşmaya eğilimi arttırmaktadır. Bunlar; enfeksiyonlar, parsiyel oksijen basıncında azalma, sıvı kaybı, aşırı fiziksel egzersiz, alkol, gebelik, vücut ısısının artışı, kan yoğunluğunda artma, oksihemoglobin disosiasyon eğrisinin sağa kaymasına neden olan pH azalması, yüksek HbS, düşük HbF miktarı, glikoz-6-fosfat dehidrogenaz eksikliği ve 2,3 difosfogliserat düzeyinin azalmasıdır.^{34,35}

a) Hücre İçi Hemoglobin Tipleri ve Yoğunlukları

OHH patogeneğinde birincil olay oksijensiz HbS'nin polimerizasyonudur. Bu olayda en önemli faktör hücre içi Hb tipleri ve yoğunluklarıdır. Eritrosit içindeki HbS yoğunluğu ile oraklaşmaya yatkınlık arasında pozitif ilişki mevcuttur. Kişiler arasında farklılık olmakla beraber taşıyıcıların eritrositlerinde HbS<%50 ve geri kalan ise HbA'dır. Böylece heterozigot kişilerdeki eritrositler ciddi hipoksi durumları dışında oraklaşma göstermez. Normal HbA'dan başka diğer Hb'ler de HbS polimerizasyonunu etkiler. Örneğin; HbF, HbS polimerizasyonunu baskılar. Bundan dolayı HbF'nin erişkin düzeyine ulaştığı 5-6. aya kadar hastalık bulguları görülmez. Normal bireyler, orak hücre taşıyıcıları ve OHH'daki Hb elektroforez sonuçları (Tablo 1)'de gösterilmiştir.⁶⁶

Tablo 1. Normal bireyler, orak hücre taşıyıcıları ve OHH'daki Hb elektroforez sonuçları.

Fenotip	Hemoglobin Tipi	Yüzdesi (%)	Genotip
Normal erişkin	HbA	96-98	2 α 2 β
	HbF	0,5-0,8	2 α 2 γ
	HbA2	1,5-3,2	2 α 2 δ
Orak hücre taşıyıcılığı (heterozigot)	HbAS	HbA: 60-65 HbS: 35-40 HbF: 2-20	2 α 1 β 1 orak
Orak hücre hastalığı (homozigot)	HbSS	HbS: 80-90 HbF: 2-20 HbA2: 2-4 HbA: yok	2 α 2 orak

b) Damarsal Göllenme

Eritrositlerin düşük oksijen basıncına maruz kalma süresi oraklaşma için önemli bir faktördür. Belirgin eritrosit şekil bozukluğu için 2-4 dakika gereklidir, ama eritrositler venöz dolaşımda normalde 10-15 saniye kalırlar. Böylece, eritrositlerin oraklaşması, kan akımının yavaşladığı mikrovasküler yatakla sınırlıdır. Bu durum, OHH'da en sık etkilenen organ olan dalak ve kemik iliğinde

gerçekleşmektedir. Damar yatağının diğer kısımlarının tıkalı ataklarda etkilenmesinde inflamasyon ve eritrosit yapışkanlığında artış rol oynar. İnflamasyonlu dokuda kan akımı yavaşlar, lökosit ve eritrositin aktif endotele yapışması ile sıvı sızıntısı olur. Sonuçta inflamasyonlu damar yatağından eritrositlerin daha uzun sürede geçişine bağlı olarak, oraklaşmaya yatkınlık önemli derecede artar. Oraklaşma olunca, azalan akışkanlık daha çok göllenme ve oraklaşmaya yol açar. Sonunda doku hasarı ve ağrılı kriz gibi klinik tablolar ortaya çıkar.

c) Sıcaklık

Düşük sıcaklık damar daralmasından dolayı oraklaşmaya eğilimi artırır.

d) Asidoz

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

e) Deoksijenasyon

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

f) Hemoglobin Derişimi

HbS polimerizasyon hızı hücrenin ortalama alyuvar Hb derişimi (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration =MCHC) ile ilişkilidir. MCHC >30 ise HbS çökmeye meyillidir. Eritrosit hacminin artmasına neden olan bir ajan MCHC'yi azaltarak oraklaşmayı geciktirebilir. Hem damarsal göllenme hem de hipertensiyonla sonuçlanan sıvı kaybı, MCHC artımına yol açar, oraklaşmayı kolaylaştırır. Yüksek HbS yoğunluğu, oksijensiz durumda çökme ve polimerizasyon ihtimalini artırır.

g) Enfeksiyon

Damar tıkaçıcı kriz enfeksiyonlarla tetiklenir. Enfeksiyon oraklaşmayı artırır. Ateş, kusma, ishal ve sıvı kaybına sebep olur. Enfeksiyon sırasında beslenmenin azalması asidoza neden olurken, pnömoniye bağlı gelişen hipoksi oraklaşmayı artırır.

2.1.6. Klinik Bulgular

Orak hücre hastalığı anemi, hemoliz, hayatı tehdit edebilen akut komplikasyonlar ve çeşitli organlarda kronik hasarlar ile sonuçlanabilen karmaşık bir hastalıktır. OHH hastalarında anemi bulguları olmakla birlikte DTK dönemleri dışında genellikle belirti vermezler. OHH'da klinik bulgular ciddi hemoliz ve hemolitik anemi tarafından uyarılan dengesiz mekanizmalar ile birçok doku ve organı ilgilendiren yaygın damar tıkanıklığı ve doku beslenmesindeki bozukluğa bağlı olarak oluşmaktadır.⁶⁷

Orak hücre hastalarında klinik semptomların başlama zamanı değişkenlik göstermektedir. OHH'lı çocuklar doğumda anemik değildir. OHH'nın fetal ve erken postnatal devrede klinik olarak belirmemesi, oraklaşmayı önleyen yeterli miktarda HbF varlığına bağlıdır. HbF düzeyinin düşmesi ile beraber 4. ayda anemi, 6. aydan sonra splenomegali fark edilmeye başlar.⁶⁸ İlk DTK, olguların yaklaşık yarısında yaşamın 6-12. ayında, büyük çoğunluğunda 6 yaştan önce, çok azında ise yetişkin yaşta klinik bulgu verebilir.^{69,70}

Bulgular genotip ve haplotipler arasında değişkenlik gösterir. HbS- β^0 talasemisinde anemi diğer tiplere göre şiddetli seyreder. HbS- β^+ talasemi ve HbSC hastalığında ılımlı bir anemi vardır. OHH'ya α -talaseminin eşlik ettiği bireylerde anemi en hafif şekilde seyreder.⁷⁰

Hastalığın belirti ve bulguları çok değişken olup akut krizler ve kronik organ hasarları olmak üzere iki gruba ayrılır.³⁶

A) Akut Sorunlar

1) Akut Damar Tıkaçıcı, Ağrılı Olaylar

Orak hücre hastalığının en belirgin klinik bulgusu akut, damar tıkaçıcı, ağrılı olaylardır. Bu olaylar acil tedavi ve hastaneye yatma sebeplerinin başında gelir. Mikrovasküler sistemdeki tıkanıklık yerel ağrı ve inflamasyona yol açar. Oraklaşmış eritrositlerin mikrosirkülasyondan geçiş hızını azaltan etkenler

eritrositlerin endotele adezyonuna, eritrosit dehidratasyonuna ve vazomotor disregölasyona yol açarak damar tıkanıklığı oluşturur. Bu tıkanıklık özellikle kemik iliğinde görülür ve kemikte nekroza yol açabilir. Damar tıkanıklığı sonucunda açığa çıkan enflamatuar sitokinler aferen sinir uçlarını uyarak ağrıya neden olurlar.

Akut ağrılı olaylar HbF düzeyinin düşmesiyle orantılı olarak genellikle 6. aydan sonra görölmeye başlar.⁷¹ Üç yaşın altında genellikle el veya ayak parmaklarında görülür ve daktilit diye adlandırılır.⁷² Daha büyük çocuklarda, adolesanlarda ve erişkinlerde uzun kemikler, kostalar, sternum, vertebralar veya pelvisde olabilir. Bazen birden fazla kemik etkilenir. Cooperative Study of Sick Cell Disease 1978 ve 1988 yılları arasında 4082 hastayı takip etmiş ve hastaların %39'unda, 10 yıl boyunca hiç ağrılı kriz olmadığını, %1'inde ise yılda 6 kereden fazla ağrılı kriz olduğunu göstermiştir.⁷³

2) Akut Göğüs Sendromu

Orak hücreli anemide mortalitenin en önde gelen ve hastaneye yatırılmanın 2. sıklıktaki nedeni akut göğüs sendromudur(AGS). AGS'nin klinik bulguları göğüs ağrısı, öksürük, ateş, hipoksi, solunum sıkıntısı ve akciğer filminde beliren yeni lezyonlardır.⁷⁴ Tanı koymak için bütün bu bulguların aynı anda görülmesi gerekmez. Özellikle akciğer filmi lezyonları klinik bulguları 24-48 saat geriden takip eder. AGS çocuklarda 3 kat daha fazla görülür ancak erişkinlerde daha ağır seyreder. AGS'nin %50'si hastaneye akut ağrı krizi ile yatırılmış hastalarda gelişir. AGS nedenleri pnömoni, kemik iliğinden yağ embolisi, in situ oraklaşmaya bağlı olarak akciğer enfarktı ve pulmoner embolidir. Hastaların %50'sinden fazlasında etkenin ne olduğu bulunamaz. Enfeksiyöz etkenler arasında klamidy, mikoplazma, respiratuvar sinsityal virus, S. aureus, S. pneumonia, M. hominis, parvovirus ve rinovirus başta gelmektedir.

3) İnme

Cooperative Study of Sick Cell Disease (CSSCD) verilerine göre akut iskemik inme 20 yaşın altındaki çocukların %11'inde, 45 yaşın altındaki erişkinlerin de %24'ünde görölmektedir.⁷⁵ Transkraniyel dopler (TKD) taraması ile inme riski yüksek olanların kronik transfüzyon tedavisine başlanmasından sonra, çocuklardaki inme riski %2-3'e düşmüştür. İnme ile gelen hasta stabilize

edildikten sonra beyin tomografisi ile kanama olup olmadığına bakılmalıdır. Ondan sonra basit transfüzyon veya kan değişimi yapılarak HbS yüzdesi %30'un altına düşürülmeye çalışılır. İlk tedavi olarak kan değişimi yapılan hastaların tedaviye daha iyi cevap verdikleri gözlenmiştir.⁷⁶ Bu hastalar akut dönemden sonra sadece klinik izleme alınır, tekrar inme geçirme riski %70'dir.

4) Priapizm

Priapizm penisin istenmeyen, ağrılı, devamlı ereksiyonudur. Erkeklerin %5-45'inde görülür. OHH'da priapizmin nedeni penis venlerindeki damar tıkanıklığıdır. Üç saatten uzun süren olaylara "uzun" (prolonged), 3 saatten az fakat birkaç dakikadan uzun süren olaylara aralıklı (stuttering) priapizm denir. Uzun süren vakaların ürolojik aciliyeti vardır. Tekrarlayan vakalar fibrozis ve empotansa yol açabilirler. İdrarla dolu mesane, uzun süreli cinsel temas, travma, enfeksiyonlar ve ilaçlar (kokain, alkol, psikotropik ilaçlar, sildenafil, testosteron) priapizm gelişimini tetikleyen etmenler arasındadır.

5) Akut Hematolojik Olaylar

a) Aplastik Kriz

Aplastik kriz, akut hematolojik olayların en sık görülenidir. Genellikle çocuklukta ve ateşli bir hastalık ertesinde belirir. Bu krizlerin çoğu parvovirus B19 enfeksiyonuna bağlıdır.⁷⁷ Bu virüs kemik iliğindeki eritroid kolonilere direkt sitotoksik etki yaparak akut olarak Hb'nin düşmesine neden olur.

b) Dalak Sekestrasyonu

Dalak sekestrasyonunun bulguları akut büyüyen bir dalak, Hb'de 2 gram veya daha fazla bir düşüş ve artan eritropoezdir. Genellikle trombositopeni de görülebilir. Sıklıkla 3ay-5yaş arası çocuklarda görülür. Hipovolemik şok ve hatta ölüme yol açabilir.

6) Enfeksiyonlar

Orak hücre hastalığında dalak tekrarlanan damar tıkanıklığına bağlı olarak fonksiyonunu kaybeder. Howell-Jolly cisimleri, eritrosit "pit"leri hastanın periferik yaymasında 6-12 ay arasında görülmeye başlar. Buna bağlı olarak orak hücreli anemisi olan çocuklarda enkapsüle bakteriler özellikle S. pneumonia ile

enfeksiyon hızı, genel popölasyona göre çok yüksektir. Erken tanı, penisilin profilaksisi ve S. pneumonia'ya karşı geliştirilen aşılar sayesinde bu enfeksiyonlar %80'in üstünde azalmıştır. Ancak yine de özellikle dirençli suşlarla enfeksiyonlar görölmektedir.

B) Kronik Sorunlar

1) Büyüme ve Gelişme

Orak büyüme ve gelişmeyi ciddi şekilde etkiler. Hastalarda iki yaşına gelmeden ağırlık ve boy geriliği belirginleşir.⁷⁸ Erişkinler genelde beklenen boya ulaştıkları halde, kiloları düşüktür. Bunun da hızlı eritrosit dönüşümü nedeniyle artan metabolik ihtiyaca bağlı olduğu düşünülmektedir. Puberte de gecikir. Menarş toplum genelinden 2-3 yıl sonra görülür. Erkek ve kızların Tanner V evresine ulaşmaları median 17,3 ve 17,6 yaşlarında olur.

2) Kemik ve Eklemler

a) Osteopeni: Osteopeni veya düşük kemik mineral dansitesi (KMD) %30-80 arasında görülür ve genellikle lumbar vertebraları etkiler. Artmış hemoliz, HbF düzeyi, yaş, cinsiyet, seks hormonları, vücut kitle indeksi (VKİ) ve ağırlı krizlerin sayısı KMD ile orantılıdır. OHH'lı bireylerde osteopeniyi tetikleyen etmenler; hipogonadizm, geciken büyüme ve gelişme, artan hemoliz nedeniyle artan kemik iliği hacmi, vitamin D ve mikronutrient eksikliği, tekrarlayan kemik infarktları, kronik enflamasyon ve sedanter hayat tarzıdır. Transfüzyona bağlı hemosideroz da kemikleri etkiler. Çocukluktan başlayarak yeterince kalsiyum ve vitamin D alınmasını sağlamak, ağırlık-kaldırıcı egzersizler tedavide önerilir. Ayrıca hipogonadizm ve büyüme hormonu eksikliğinin erken tanı ve tedavisi önemlidir.

b) Avasküler nekroz: Avasküler nekroz, orak hücreli anemide sık görülen bir komplikasyondur. Son çıkan yayınlarda HbSS hastalığı olan çocukların (ortalama yaş 9,8) %26'sında ve erişkinlerin (ortalama yaş 26,7) %49'unda tanımlanmıştır. Özellikle femur başı, humerus başı ve vertebralarda görülür.

c) Radyografik değişiklikler: Kemiklerdeki bir diğer karakteristik değişiklik ise omurgalarda görülen "balık ağzı" deformitesidir. Omurgaların orta bölümleri vertebral arterlerdeki kronik iskemik olaylar nedeniyle yeterince beslenemez ve çöker. Kenarlar ise apofizyel arterler tarafından beslenir ve sağlam kalır. Bu da filmlerde balık ağzı görüntüsüne yol açar.

3) Merkezi Sinir Sistemi

a) Sessiz enfarktlar ve nörokognitif eksiklikler: OHH'lı çocukların %20'sinde sessiz beyin enfarktları görülebilir.⁷⁹ Bu enfarktlar klinik bulgular oluşturmazken nörokognitif eksikliklere yol açabilirler. Nörokognitif defektler en çok inme, sonra sessiz enfarktlı çocuklarda görülmekle birlikte, manyetik rezonans görüntülemesi (MRG) normal olan çocuklarda bile görülür. En çok etkilenen alanlar görsel-motor bağlantı, dikkat, konsantrasyon, aritmetik, hafıza ve okumadır. Benzer şekilde HbSS hastalığı olan erişkinlerde de artan yaş ve aneminin derecesi ile bağlantılı olarak zeka puanında azalma gözlenmiştir. Kronik transfüzyon ve hidroksiürenin sessiz enfarkt ve nörokognitif eksiklikler üzerine etkileri araştırılmaktadır.

b) Moya-moya sendromu: İnme geçiren hastalarda vasküler patolojinin ilerlemesine bağlı olarak görülen bir durumdur. Major serebral arterlerin tıkanması sonucu oluşan kollateraller duman görünümünü andırır ve Japonca'da moya-moya diye adlandırılmıştır. Bu hastalarda tekrar geçici iskemik atak veya inme geçirme riski çok yüksektir. Özellikle performans zeka puanında düşüş görülür. Bu hastalarda kronik transfüzyon tedavisinin yanısıra tek veya çift taraflı serebral arter anastomozları denenmiş ve az sayıda çocukta başarılı sonuç vermiştir.

4) Pulmoner Hipertansiyon

Pulmoner hipertansiyon (PHT) erişkin hastaların %6-33'ünde görülür ve morbidite ve mortalitenin önemli etmenlerinden biridir.⁸⁰ Tanı sağ kalp kateterizasyonu ile ölçülen ortalama pulmoner arter basıncının (PAP) ≥ 25 mmHg olması ile konur. Fakat kateterizasyon invaziv bir test olduğu için tarama için uygun bir yöntem değildir. Onun yerine peak/sistolik PAP'ı tahmin edebilmek için ekokardiografi ile ölçülen triküspid regurjitasyon jet hızı (TRJV) kullanılmıştır. Ancak TRJV PHT olgularının %25-33'ünü doğru olarak tahmin eder. Yine de yüksek TRJV olan hastaların, mortalitesi yüksektir ve bu ölçüm tekniğinin diğer kardiyak/endotelial risk faktörlerine bağlı artmış PAP'ını ölçtüğü düşünülmektedir. PHT'si olan hastaların prognozu çok kötüdür ve mortalite yüzdesi tanıdan sonraki 2-3 yıl içinde %40-50'dir.

5) Karaciğer ve Safra Kesesi

Orak hücre hastalığı'nda; hemoliz, viral enfeksiyonlar, ilaçlar ve transfüzyona bağlı hemosideroz hepatobilier hastalıklara yol açabilirler.

a) Safra kesesi taşları: Hastalar 18 yaşına geldiklerinde %30'unda safra kese taşları olabilir. Asemptomatik vakalara cerrahi önerilmez. Ancak kolesistit gelişirse cerrahi endikasyonu vardır. Taşlar koledok kanalı tıkanmasına da yol açabilirler.

b) İntrahepatik kolestaz/hepatopati: Hastalar sağ üst kadranda ağrısı, hepatomegali ve ciddi düzeyde hiperbilirubinemi (>50 mg/dL; çoğu direkt bilirubin) ile gelir. Hafif vakalar (bilirubin 10-30 mg/dL, hepatik disfonksiyon ve koagülopati yok ise) yakından takip edilir. Ağır vakalarda exchange transfüzyon gerekebilir.

c) Hepatit: Viral ve otoimmün hepatit görülebilir.

6) Orak Hücre Nefropatisi

a) Tubuler defektler: Medullanın hipertonic ortamı eritrositlerin oraklaşması ve tortulaşması için ideal bir ortam oluşturmaktadır. Bu da idrarda konsantrasyon bozukluğuna yol açar. Çocuklarda 6-12 aydan itibaren hipostenüri görülür. Bu kısmen kronik transfüzyon tedavisi ile düzelebilir. Bu konsantrasyon bozukluğu büyük miktarda sıvı alımına ve sonuç olarak enürezise yol açar. Kısmi distal renal tubuler asidifikasyon nedeniyle idrar asidifikasyonu bozulur. Ayrıca potasyum atılım defekti ve hiperkalemi, artmış fosfat geri Emilimi ve artmış ürik asit atılımı da tarif edilmiştir.

b) Hematüri: Sık görülen problemlerden biri de hematüridir. Ağrısız hematürinin en sık nedeni papiller nekrozdur. Hastalarda, poststreptokokal glomerulonefrit, renal medullar karsinom veya hemoglobinopatiye bağlı olmayan nedenlerden ayırıcı tanı yapılmalıdır.

c) Hiperfiltrasyon: Glomerüler filtrasyon hızı çocuklukta beklenenden yüksektir. Yaş arttıkça, adolesan dönemde normal değerlere düşer.

d) Nefrotik sendrom: Adolesan ve erişkinlerde nefrotik sendrom görülebilir. En sık görülen patolojik bulgu glomerüler hipertrofi ve fokal segmental glomerülosklerozdur. Membranoproliferatif ve immün kompleks nefropati de görülebilir. Enalapril glomerüler kapiller hipertansiyonu düzelterek proteinüriyi azaltır.

e) Hipertansiyon: CSSCD çalışmasından edinilen verilere göre OHH'lı bireylerin tansiyonu genel topluma göre düşüktür. HbSS hastalığı olanlarda hipertansiyon yüzdesi (%2-6), ABD'de yaşayan siyah ırktaki bireylerde(%28) göre çok azdır. Fakat aralıklı hipertansiyon felç ve mortalite için risk faktörüdür.

f) Böbrek yetmezliği: OHH'lı hastaların %4'ünde görülen böbrek yetmezliği erişkin mortalitesinin önemli nedenlerinden biridir. Median başlangıç yaşı 23'tür ve tanıdan sonraki hayatta kalabilme süresi 4 yıldır. Tedavi diğer nedenlere bağlı böbrek yetmezliğindeki gibi; hemodiyaliz, peritoneal diyaliz ve böbrek transplantasyonu.

7) Göz etkilenimi

Orak Hücre Hastalığı, gözde vasküler yatağı ve ilgili yapıları tuttuğu için potansiyel görme kaybına yol açabilir.⁸¹⁻⁸³ OHH'da göz tutulumu ön ve arka segmentte olabilirken, retina bulguları proliferatif ve non-proliferatif olarak ikiye ayrılır. OHH'ya bağlı tanımlanmış 5 seviye proliferatif retinopati bulunmaktadır.⁸⁴⁻⁸⁶ OHH'daki göz bulguları, yaşam süresi arttıkça artmaktadır. Bu yüzden hastalar özellikle 10 yaşından sonra yılda bir kez olacak şekilde düzenli olarak göz muayenesine tabi tutulmalıdır.

8) Bacak Ülserleri

Genellikle travmaya bağlı oluşan bacak ülserleri malleolusun iç veya dış tarafında, sıklıkla da iki taraflı oluşur. Bacak ülserleri tedaviye dirençlidir ve dokuda iltihabın ilerlemesi sonucu osteomyelite de yol açabilir. Bacak ülserleri 10 yaşından önce nadiren oluşur. Tekrarlayan DTK'lar ülserlerin gelişimi ve devamlılığına katkıda bulunur. İyileşmesi için haftalar gerekebilir.⁷¹⁻⁷³

9) Enfeksiyonlar

Ciddi bakteriyel enfeksiyonlar, OHH'da temel hasarlanma ve ölüm nedenidir. Çocukluk çağında dalak işlevlerinin kaybolması, hastalarda H. influenza ve S. pnömonia gibi kapsüllü bakteri enfeksiyonlarına eğilimi artırır. Hastalarda en önemli ölüm nedeni ise, fırsatçı patojenlere bağlı sepsis ve menenjitir.

Çocuklarda sepsis ve menenjitin en sık sebebi S. pnömonia'dır. Bu enfeksiyonla beraber aplastik kriz, yaygın damar içi pıhtılaşması gelişebilir ve

%20-50'si oranında ölüm görülebilir. H. influenza tip b, bakteriyemi ve sepsisin ikinci sık nedeni olup daha ileri yaştaki çocukları etkiler. S. pnömonia'ya göre daha hafif seyreder fakat ağır olgularda ölümcül olabilir. Daha ileri yaşlardaki hastalarda idrar yolu enfeksiyonları ve bakteriyemi daha çok E.coli ve diğer gr(-) bakterilere bağlı meydana gelir. OHH'da sık görülen enfeksiyon olan pnömonilere en sık Mycoplasma pnömonia neden olur. DTK'lar da açıklanamayan 38°C veya daha yüksek ateş, bakteriyel enfeksiyonlar açısından değerlendirilmeyi gerektirmektedir. Yaşa, enfeksiyonun yerine ve etkene göre antibiyotik tedavisi başlanmalıdır.

2.1.6. Hastalık Şiddeti ve Prognoz

Orak hücre hastalığı, hemen hemen her sistemi etkileyen, iyi tanımlanmış komplikasyonları olan sistemik bir hastalıktır. Bununla birlikte, HbS'nin polimerizasyonu, OHH'nın klinik heterojenitesini açıklamak için yetersizdir. Genotip-fenotip ilişkilendirme çalışmaları, OHH'da görülen komplikasyonları modüle edebilen kalıtsal, genetik değiştiricileri tanımlamıştır. Bunlardan en çok çalışılanı, fetal Hb'in kalıtsal olarak kalıcı hale gelmesidir. Bu da, bilinen birkaç alel aracılığı ile, normalde doğumdan kısa bir süre sonra gerçekleşmesi gereken bir süreç olan, fetal Hb'in erişkin forma dönüşünün engellenmesidir. Bu genotipe sahip bireylerde, her orak eritrosit yaklaşık %20 HbF'ye sahiptir ve bu hastalar ya asemptomatiktir veya yaşamları boyunca hafif hematolojik bulgular gösterebilmektedir.⁸⁷ Alfa-talaseminin eş zamanlı kalıtımı da, HbS konsantrasyonunu azaltarak bazı komplikasyonları hafifletir.⁸⁸ Daha yeni çalışmalar, diğer genler ile OHH'nın spesifik alt tipleri arasındaki ilişkiyi tanımlamış veya onaylamıştır. Örneğin, UDP-glukuronosiltransferazları(UGT) kodlayan ve dolayısıyla bilirubinin konjüge edilmesinden sorumlu olan UGT1A1 polimorfizmleri, OHH'da kolelitiazis riski ile güçlü bir şekilde ilişkilendirilmiştir.⁸⁸

Son on yılda, OHH'lı hastalarda beklenen yaşam süresi; yenidoğan taraması, bağışıklık çalışmaları, enfeksiyonun daha iyi tespiti ve tedavisi ile hidroksiüre gibi modifiye edici ilaçların etkisiyle belirgin bir şekilde artmıştır.⁸⁹ Ancak, bu kadar kapsamlı bakımın olduğu bölgelerde dahi erken çocukluk döneminde ki ölümler önemli bir sorun olmaya devam etmektedir.

Amerika Birleşik Devletleri'ndeki bebeklerde ve küçük çocuklarda, son 20 yılda ölüm oranları ciddi şekilde azalmıştır. Bu azalmadaki en büyük pay, %68 düşüş ile 0-3 yaş arası çocuklara aittir.⁹⁰ Aşılamadaki iyileşmeler, özellikle pnömokok aşısı ve profilaktik/terapötik antibiyotikler, muhtemelen bu artmış hayatta kalma oranlarına büyük katkı sağlamaktadır. Bugün ABD'de OHH'lı çocukların %94'ü erişkinlik çağına kadar hayatta kalmaktadır.⁸⁹

Her ne kadar erişkin çağa kadar bu çocukların sağ kalım oranlarında artış olsa da, OHH'lı bireyler, akranlarına kıyasla daha genç yaşta ölürlər. Genel ortalama sağkalım süresi 58 yıldır. Yaşamın ikinci ve üçüncü on yıllarındaki ergenler ve genç yetişkinler, OHH ile ilişkili komplikasyon oranlarının yüksek olması ve sağlık bakım maliyetlerinin yüksek olması nedeniyle önemli bir morbidite oranına sahiptir.⁹¹ Hastaların en sık ölüm nedeni sırasıyla kardiyak, solunumsal, renal, enfeksiyöz, nörolojik, gastrointestinal ve hepatobiliyer hastalıklardır.⁹² Lökositoz, böbrek yetmezliği, AGS'nin tekrarlayan atakları, düşük HbF konsantrasyonu, şiddetli anemi, daha yüksek hemoliz oranları ve 1 yaş öncesi daktilit gibi bulgular, olumsuz sonuçlar için anahtar belirleyici faktörler olarak görünmektedir.^{93,94}

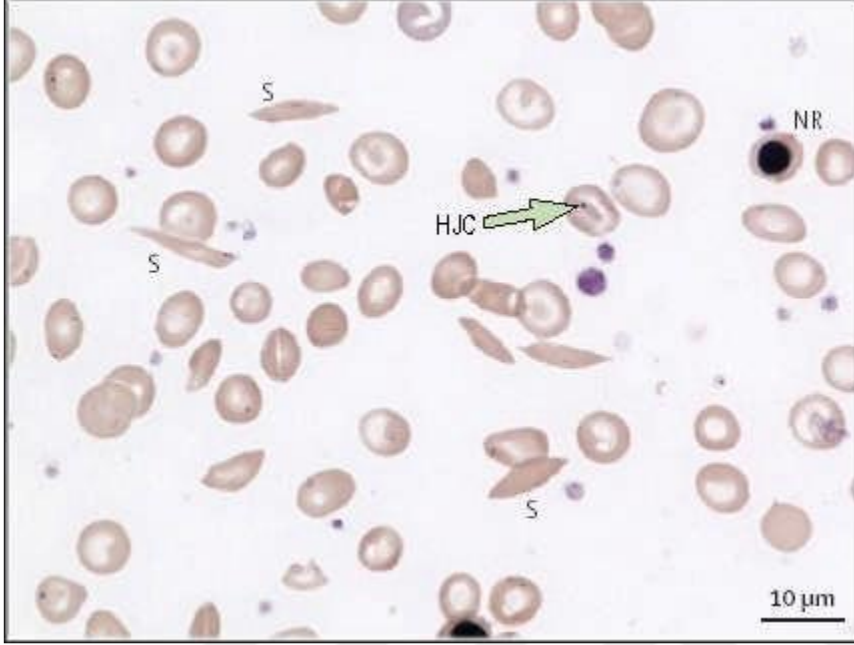
2.1.7. Tanı

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

Orak hücre hastalığındaki hemolitik anemi; Hb, hematokrit ve eritrosit düzeylerinde hafif ve orta düzeye kadar düşmeye yol açar. Bazal Hb düzeyi 6-9 gr/dl iken retikülositlerin oranı %3-15 arasındadır. Hp düzeyleri de düşmüştür. OHH'da eritrosit ömrü kısalmışken (yaklaşık on gün) eritrosit üretimi 4-5 kat artmıştır. Lökosit sayısı artabilir (12.000-20.000/mm³). Trombosit sayısı yüksek, sedimentasyon hızı düşüktür. Karaciğer fonksiyon testlerinde bozulma, bilirubin yüksekliği ve hipergamaglobinemi görülebilir.

Periferik yayma orak şekilli hücrelerin görülmesine imkan verdiği için değerlidir. OHH'nın periferik kan yayması bulguları çeşitlidir; yaymada orak

hücrelerin yanı sıra polikromazi, hedef hücreler, dalak fonksiyon bozukluğunu gösteren Howell-Jolly Cisimcikleri ve mikrositoz görülebilir. Eritrositler talasemi ve demir eksikliği eşlik etmedikçe normokromdur (Şekil 2).⁹⁵



Şekil 2. Orak hücre hastalığında periferik kan yayması.

S: Geri dönüşümsüz şekilde oraklaşmış hücreleri,

NR: Çekirdekli hale gelmiş eritrositleri,

HJC: Howell-Jolly cisimciğini temsil etmektedir.

Periferik yaymada 3. ayın sonunda geri dönüşsüz oraklaşmış hücreleri belirmeye başlar ve 4. ayda hemolitik anemi ortaya çıkar. Bu dönemde yapılan hemoglobin elektroforezi, çözünürlük testi ve periferik yayma tanı koymaya yardımcı olabilir.⁹⁶ Daha ileri yaşlardaki çocuklar ve yetişkinlerde amaç, taşıyıcı veya hasta olanların ayrılmasıdır.

Oraklaşma testi (diğer adıyla metabisüfit çözünürlük testi veya quick testi) ile HbS olduğu gösterilebilir ancak bu test ile HbSS, HbAS, HbS- β^0 talasemi ve HbSC ayırt edilemez. Bu nedenle tanı için Hb elektroforezi ve genetik tanı gereklidir.

2.1.8. Doğum Öncesi Tanı

Günümüzde OHH için var olan tedavi yöntemlerinin yetersiz kalması nedeniyle doğum öncesi dönemde tanısının konulması önem kazanmıştır. Bu nedenle hastalığın önlenmesinde genetik danışmanlık önemlidir. Anne ve babanın her ikisi de OHH taşıyıcısı ise çocuklarda homozigot SS olma olasılığı %25'tir.

Hastalığın doğum öncesi tanısı, hamileliğin ilk üç ayında yapılan koryon villuslarından alınan fetal hücrelerde, genetik değişikliğin gösterilmesi ile mümkündür. Fetusun homozigot SS olduğu gösterilirse ailenin isteği ile gebelik sonlandırılabilir. DNA bazlı testlerin gelişmesiyle beraber hamileliğin 3. ayında amniyosentez yoluyla fetal DNA testleri yapılmaya başlanmıştır. Günümüzde hamileliğin 8-10. haftalarında koryon villuslarından alınan örneklerle fetal DNA çalışmaları yapılarak tanı konmaktadır.

2.1.9. Tedavi

a) Enfeksiyonların Önlenmesi

Fonksiyonel aspleni erken yaşta ortaya çıkabilir ve hastaların kapsüllü organizmalara bağlı gelişebilecek enfeksiyon riski ile karşı karşıya kalabilir. Sonuç olarak, 5 yaşından küçük tüm çocuklar için gerekli aşılardan yaptırılması ve rutin profilaktik penisilin tedavisi ile korunmasının sağlanması, bu enfeksiyonlarla ilişkili kötü sonuçları önlemek için çok önemlidir. OHH'lı tüm hastalar *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* ve *Haemophilus influenza* tip B'ye karşı ayrıca diğer tüm standart aşılarla ek olarak hepatit B virüsü ve mevsimsel influenzaya karşı aşılanmalıdır.⁹⁷⁻⁹⁹ Hastaları eğitmek de aynı derecede önemlidir. Her yaştan hastaların ve ailelerinin tıbbi bakıma başvurmaları için gerekli eşik değerleri, örneğin 38,5⁰'den yüksek ateş durumlarının bakteriyel enfeksiyon riskini gösterebileceğini bilmesi önemlidir.¹⁰⁰

b) Transfüzyon Tedavileri

HbS konsantrasyonunun, OHH'lı hastalarda DTK ve vaskülopatilerin gelişimindeki anahtar rolü göz önüne alındığında, eritrosit transfüzyonları yaşam kalitesini ve süresini artırma potansiyeline sahiptir. Transfüzyonlar, HbA konsantrasyonunu artırmak ve donör eritrositleri ile seyreltme yoluyla HbS

konsantrasyonunu azaltmak suretiyle işe yarar sonuçlar vermektedir.¹⁰¹ Bir transfüzyonun uygulanması aynı zamanda endojen eritropoietin üretimini baskılar ve HbS içeren yeni eritrositlerin oluşumunu da azaltır.¹⁰²

Transfüzyon endikasyonları (Tablo 2)'de özetlenmiştir. Genel olarak, yaşamı tehdit eden komplikasyonlar için birinci basamak tedavi olarak veya semptomlara göre, düzenli olarak programlanan aralıklarla eritrosit transfüzyonu uygulanmaktadır. Profilaktik olarak verilecek transfüzyonlarda, HbS düzeyinin ne olacağı daha önce hiç prospektif olarak çalışılmamış bir konu olsa da amaçlar; HbS'nin toplam Hb'nin %30'unun altında tutulması ve aynı zamanda hastayı hiperviskozite riskine sokmadan oksijen taşıma kapasitesini artıracak bir Hb konsantrasyonunun elde edilmesidir.¹⁰³⁻¹⁰⁵

Tablo 2. Orak hücre hastalığında transfüzyon tedavisi endikasyonları.

Klinik Komplikasyon	Transfüzyon Yöntemi
Akut iskemik inme	Basit veya kan değişim transfüzyonu ^b
Transkraniyal Doppler çalışmalarında yüksek hızların ardından primer inme önleme	Kronik basit veya kan değişim transfüzyonu ^c
İkincil inme önleme	Kronik basit veya kan değişim transfüzyonu ^c
Akut göğüs sendromu	Basit veya kan değişim transfüzyonu
Akut anemi Akut splenik sekestrasyon Akut hepatik sekestrasyon Akut aplastik kriz	Basit transfüzyon
Akut multi organ yetmezliği	Basit veya kan değişim transfüzyonu ^b
Akut intrahepatik kolestaz	Basit veya kan değişim transfüzyonu ^b
Genel anestezi öncesi	Basit veya kan değişim transfüzyonu ^b
Gebelikte akut orak veya obstetrik komplikasyon	Basit veya kan değişim transfüzyonu ^b
Tartışmalı endikasyonlar	
Tekrarlayan akut göğüs sendromu	Kronik basit veya kan değişim transfüzyonu ^c
Tekrarlayan vazo-tıkalıcı bölüm	Kronik basit veya kan değişim transfüzyonu ^c
Pulmoner hipertansiyon	Kronik basit veya kan değişim transfüzyonu ^c
Göreceli kontrendikasyonlar	
Komplike olmayan vazo-tıkalıcı bölüm	-
Priapizm	-
Tekrarlayan splenik sekestrasyon	-
Komplike olmayan gebelik	-
Bacak ülserleri	-
Cerrahi olmayan avasküler nekroz	-

- a- Akut basit veya kan değişim transfüzyonu yapıp yapılmamasına karar verilmesi aciliyete, hastanın genel hemoglobin seviyesine, eritrosit süspansiyonu mevcudiyetine ve mevcut uyumlu eritrosit süspansiyonu ünitelerinin sayısına vb. bağlı olabilir.
- b-Kronik basit veya kan değişim transfüzyonunun yapıp yapılmamasına karar verilmesi hastanın demir yüklenme durumuna ve tercihine bağlı olabilir.
- c- Ameliyat öncesi Orak Hücre Hastalığı çalışmasında Transfüzyon Alternatiflerine göre, orta risk ameliyatlari geçiren homozigot hemoglobin S (Hb SS) hastaları, advers riskini en aza indirmek ve 10 g / dL toplam hemoglobin seviyesine ulaşmak için preoperatif olarak transfüze edilmelidir.
- Profilaktik transfüzyon rejiminin uygulanması kararı verildikten sonra, eritrositler basit bir transfüzyon veya kan değişim transfüzyonu olarak verilebilir. Basit transfüzyon, hastanın kendi kanını almadan bir veya daha fazla eritrosit ünitesinin verilmesini içerir. Bu transfüzyon yöntemi, oksijen taşıma kapasitesini arttırmak için hiperviskozite riski düşük olan hastalarda gelişen akut anemi atakları sırasında kullanılabilir. Buna karşın, Hb'nin taban çizgisine yakın olduğu bir hasta için, basit transfüzyon HbS'yi klinik olarak anlamlı derecede düşürmeyebilir ve hastayı hiperviskozite riskine sokabilir.¹⁰³
- Kan değişim transfüzyonu, hastanın kanının alınmasına ve yerine allojenik eritrositlerin koyulmasına dayanır. Bu müdahale, HbS konsantrasyonunun toplam Hb'nin %30'undan az olması gibi bir hedefe hızlıca ulaşmayı sağlar. Yoğun bakım koşullarında ya da ağır hastalığı olanlarda, exchange transfüzyon; her zaman basit transfüzyona tercih edilir, çünkü HbS'yi çok daha etkili bir şekilde düşürür.^{106,107} Primer veya sekonder inme profilaksisi gibi sebeplerle kronik transfüzyon programındaki hastalar için, aşırı demir yükünü ve hiperviskoziteyi azaltmak için kan değişim transfüzyonu tercih edilebilir. Hastanın kan hacminin total değişimi, manuel olarak veya eritrosit aferez ile yapılabilir. Eritrosit aferez daha büyük kan hacimlerinin değiş tokuşunda daha etkili bir yaklaşımdır ve böylece HbS konsantrasyonunu daha hızlı azaltır. Ancak eritrosit aferez; uzman personel, diyaliz kateteri veya 2 geniş delikli periferik intravenöz kateter gibi ekipmanlar gerektirir.¹⁰⁸⁻¹⁰⁹
- Eritrosit transfüzyonları hayat kurtarıcı nitelikte olsa da, beraberinde bazı riskleri de getirir. OHH'ya spesifik komplikasyonlar arasında daha yüksek allo-

immünizasyon oranları ve aşırı demir yükü gibi durumlar sayılabilir. Transfüze edilen OHH hastalarının %6-85 kadarı allo-immünizedir.^{119,128} En sık gözlenen allo-antikorlar, Rh antijenlerine (C ve E) ve Kell antijenlerine karşı gelişenlerdir.^{122,128} Sık transfüzyonlar, donörler ve alıcılar arasındaki farklı kan grubu genetiği, kronik inflamasyon veya henüz tanımlanamamış bir immüno-regulator elemanın eşzamanlı kalıtımı gibi sebeplerin, bu yüksek düzeydeki allo-immünizasyona katkı sağladığı düşünülmektedir.^{110,111}

Alloimmünize hastalar daha kötü sonuçlara sahip olma eğiliminde olduğundan, alloimmünizasyon oranını azaltmak için transfüzyonda, sıklıkla C, c, E, e ve Kell için genişletilmiş fenotip eşleşmesi kullanılır.¹¹²⁻¹¹⁵ Bununla birlikte, genişletilmiş fenotip eşleşmesi alloimmünizasyonu tamamen sonlandıramamıştır, bu yüzden birçok kan merkezi, OHH'lı hastalar ve potansiyel donörler için eritrosit veya Rh genotipleme gibi diğer testleri çalışmaktadır.^{110,116,117}

c) Demir Şelasyonu

Her bir eritrosit ünitesi ile vücuda 200 ila 250 mg elementer demir yüklenmekte ve aşırı demir yükü oluşması riski yükselmektedir. Bu aşırı demir yükü hepatik, kardiyak veya endokrin bozukluğa yol açarak, belirgin morbiditeye neden olabilir. Bu durum, transfüzyon-bazlı herhangi bir tedavi rejimine ek olarak demir şelasyon tedavisinin önemini vurgulamaktadır.¹¹⁸⁻¹²¹

Kronik olarak transfüze edilen hastalarda karaciğer demir birikimi düzenli olarak ölçülmelidir. Serum ferritin düzeyi, vücut demir depolarının kaba bir ölçüsünü verir ve tipik olarak üç ayda bir ölçülür. Ferritinin demir depolarını tahmin etmedeki doğruluğu, OHH hastalarında sık rastlanan kronik enflamasyonla karıştırılabilmektedir. Karaciğer biyopsisi demir yükünü ölçmek için altın standart bir yöntemdir, ancak invazivdir ve bu nedenle kantitatif R2* veya T2* MRG gibi daha yeni, invaziv olmayan tekniklerin kullanımı gündeme gelmiştir.^{122,123} Dokularda demir birikimine bağlı olarak gelişme geriliği, hipogonadizm, insülin bağımlı DM, hipotiroidizm ve hipoparatiroidizm gibi önemli endokrin sorunlar oluşmaktadır.¹²⁴

Karaciğerde demir konsantrasyonu; karaciğer biyopsisi veya kantitatif MRG ile ölçülen kuru demir ağırlığı 7 mg Fe/g sınırını aştığında, şelasyon tedavisi

düşünülebilir.¹⁰³ Serum ferritini şelasyonun etkinliğini izlemek için kullanılabilir. Kardiyak MRG çalışmalarına dayanarak, miyokardiyal demir yükünün, talasemiden daha yüksek serum demir konsantrasyonlarında ortaya çıktığını söylemek mümkündür.¹²⁵

Şu anda dünyada ticari olarak ulaşılabilen deferoksamin, deferipron ve deferasiroks isimli üç adet demir şelatörü bulunmaktadır. Sonuç olarak, her bir şelatörün yerel deneyimi, mevcudiyeti, maliyeti, hastanın yaşı, ilaç yan etkileri ve hasta komorbiditeleri hangi hastaya hangi ajanın başlanacağı kararını büyük ölçüde belirlemektedir. Tipik olarak deferoksamin iyi tolere edilse de, günlük deri altı infüzyonu gerektirir, bu da hastaların uzun süreli olarak yönetimlerini zorlaştırabilmektedir. Dolayısıyla, potansiyel yan etkiler konusunda uyarılar olmasına rağmen, deferipron ve deferasiroks, hastalar tarafından genellikle uzun vadede tercih edilmektedir.^{126,127}

d) Hidroksiüre

Fetal hemoglobinin OHH şiddetini azalttığı gözlemlendikten sonra, hidroksiürenin farmakolojik etkileri araştırılmıştır. Hidroksiüre, HbF düzeyini artırır. Bunu erişkinlik dönemine kadar Y-zinciri sentezini devam ettirebilecek eritroid öncüllerini uyararak ve eritrosit sentezinin artmasının gerekmediği zamanlarda da kemik iliğinde sessiz kalarak yapmaktadır.¹²⁸ Hidroksiüre'nin çok merkezli bir çalışmasında, hidroksiüre kullanımının DTK oranını yaklaşık %50 oranında azalttığı bildirilmiştir.¹²⁹ Ayrıca, plaseboya kıyasla, hidroksiüre kullanan hastalarda toplam Hb ve HbF'de artış, AGS, transfüzyon gereksinimi ve mortalite insidansında da azalma olduğu gösterilmiştir.¹²⁹⁻¹³² Ek çalışmalarda da ilacın iyi tolere edilebildiği ve yıllar boyunca kullanan hastalarda güvenli olduğu da raporlanmıştır.^{130,131}

Her ne kadar hidroksiüre, başlangıçta klinik denemelere HbF'yi arttırdığı için girmiş olsada, devam eden araştırmalar, hidroksiüre'nin çoklu mekanizmalar yoluyla OHH'nin komplikasyonlarını en aza indirdiğini göstermektedir. Yapılan çalışmalarda hidroksiürenin NO sentezini arttırdığı ve böylece akciğer kan akışını düzelterek OHH'lı hastalarda pulmoner hipertansiyon riskini azaltabileceği bildirilmektedir.¹³³⁻¹³⁷ Ayrıca eritrositlerin ortalama korpüsküler hacmini (MCV) artırarak, hücresel deforme edilebilirliği ve kanın akışını iyileştirdiği

gösterilmiştir.^{138,140} Son olarak, hidroksiüre'nin nötrofil sayısı, trombosit sayısı ve eritrosit adezyon molekülü ekspresyonunu azaltarak kronik inflamasyon ve tromboz riskini azalttığı düşünülmektedir.^{129,139}

Hidroksiüre, 12 aylık süre içinde 3 veya daha fazla ağrı atağı olan OHH'lı yetişkin hastalar için endikedir. Bununla birlikte, etkinlik ve güvenlik verileri, AGS ve semptomatik anemi öyküsü olan erişkinlerde de kullanımı bazı kaynaklarda önerilmektedir.¹⁴¹ İnme sonrası kronik eritrosit transfüzyonu yapılamadığı durumlarda hidroksiüre'nin kabul edilebilir olduğu gösterilmiştir.^{141,142}

Hidroksiüre kullanımında mevcut kanıtlar, bir protokolü diğerine göre üstün bulup önermese de, etkinlik ve güvenliği sağlamak için standart bir protokolün uygulanması şiddetle tavsiye edilmektedir.¹²⁹ Uzman görüşlerine dayanan bir protokole göre, fertilité danışmanlığı ve temel laboratuvar testlerinden (tam kan sayımı, kantitatif HbF ölçümü, tam metabolik panel ve kadınlar için gebelik testi) sonra 15 mg/kg olacak şekilde başlanır, ve maksimum tolere edilen doza kadar arttırılır.¹²⁹

Doz ayarlama sürecinde 4 haftada bir tam kan sayımı ile birlikte retikülosit sayısı takip edilmeli, stabil doza ulaştıktan sonra ise takip süresi 2-3 ayda bir olacak şekilde hedef düzenlenmelidir. Her tedavi protokolünde, kan değerlerine göre hangi düzeye kadar hidroksiüre tedavisine devam edileceği belirlenmelidir, örneğin 2000/mL mutlak nötrofil sayısı veya 80.000/mL'den düşük trombosit sayısı olunca tedavinin kesilmesi gerektiği belirtilmelidir. Eğer toksisitelerden ötürü hidroksiüre kesilirse, hasta bazal seviyeye döndüğünde, öncekinden daha düşük bir dozda (örneğin %20 veya 5 mg/kg'dan daha az) ilaca yeniden başlanmalıdır. Maksimum doz tipik olarak 35 mg/kg'dır, ancak hasta özelliklerine ve tıbbi bakıma erişime bağlı olarak, minimum etkili doz veya sabit doz stratejileri kullanılmıştır.¹⁴³ Klinik yanıt ancak günlük düzenli ilaç kullanımı ile 3-6 ay sonra ortaya çıkabilir. Bu yüzden tekrar tekrar kantitatif HgF ölçümü yapılabilir ve HbF artmasa bile hidroksiüreye devam edilmelidir.¹²⁹ Hidroksiüre, hastanede yatış ve hastalıklar sırasında da devam etmelidir.¹²⁹

2.1.10. Kriz ve Komplikasyonların Tedavisi

A) Akut Göğüs Sendromu Tedavisi

Bütün AGS olan OHH'lı hastalar hastanede yatırılarak izlenmelidir. İntravenöz hidrasyon yapılmalıdır. Günlük total sıvı idamenin 1-1.5 katını geçmemeli ve aşırı hidrasyondan kaçınılmalıdır. Analjezikler ile hastanın ağrısı azaltılmalıdır. Ancak ilk tercih olarak narkotik ajanlar verilmemelidir. Hipoksi ile ilişkili olarak çoklu organ yetmezliğini önlemek için oksijen satürasyonunu %94'ün üzerinde tutacak şekilde oksijen verilmelidir. Sefalosporinler ve makrolid olmak üzere, atipik enfeksiyonları da kapsayacak şekilde geniş aralıklı antibiyotik tedavisi başlanmalıdır.¹⁴²

Ağır anemisi, hipoksisi olan ya da solunum sıkıntısı artan hastalarda transfüzyon düşünülmelidir. Basit kan transfüzyonu ve kısmi eritrosit değişimi kanın oksijen taşıma kapasitesini arttırmaktadır.¹⁴²

B) Ağrılı Krizlerin Tedavisi

Öncelikle ağrıyı oluşturabilen faktörlerden (soğuk, asidoz, enfeksiyon, dehidratasyon, düşük oksijen, aşırı egzersiz, psikolojik ve fiziksel stres, yüksek irtifada bulunmak) kaçınılmalıdır ve hasta eğitimi sağlanmalıdır. Oral analjezikler ile kontrol altına alınabilen ve oral sıvı alımının yeterli olduğu komplikasyonsuz ağrılı krizler evde tedavi edilmelidir. Hastanın ağrıları parenteral tedavi gerektiriyorsa ve/veya ağızdan sıvı alamıyorsa ve birlikte komplikasyon mevcutsa, hastaneye yatırılarak izlenmelidir. Tüm hastalara yatak istirahati önerilmelidir.¹⁴²

Ağızdan yeteri kadar sıvı alamayan hastalara 5-10 ml/kg, 1 saatte olacak şekilde sıvı yüklemesi yapıp daha sonra günlük idame sıvısının 1-1,5 katı kadar sıvı 23 saatte verilmelidir. Hipoksiyi önlemek için oksijen verilmelidir.¹⁴²

Hastaların ağrı şiddetine göre;

1. Hafif ağrıda; narkotik olmayan analjezikler ve yardımcı tedaviler,
2. Orta şiddette ağrıda; zayıf narkotik veya düşük doz kuvvetli narkotik analjezikler, narkotik olmayan analjezikler ve yardımcı tedaviler,
3. Şiddetli ağrıda; kuvvetli narkotik analjezikler, narkotik olmayan analjezikler ve yardımcı tedaviler önerilmelidir.

Yardımcı tedaviler; trankilizanlar, laksatifler, antihistaminikler, antiemetikler ve psikoterapiden oluşmaktadır.

Kan transfüzyonu veya kan değişimi; diğer tedavi yöntemlerine cevap alınamıyorsa ve özellikle sık tekrarlayan ağrılı krizlerde düşünülebilir.¹⁴²

C) Santral Sinir Sistemi Olaylarının Tedavisi

İskemik inme durumunda kan değişimi ile HbS %30'un altına düşürülmelidir. Hipervizkositeye neden olmamak için Hb değerinin 10 gr/dl'nin üzerine çıkarılmasından kaçınılmalıdır. İnme tekrarını önlemek amacıyla birkaç yıl için HbS düzeyini düşürecek kronik düzenli kan transfüzyonu yapılmalıdır. Transkraniyal doppler ultrasonografi ile izlem yapılmalıdır.¹⁴²

Konvülsiyonlar için sedasyon, oksijen desteği, ağrı için analjezikler, hemipleji gibi durumlarda fizik tedavi faydalı olabilir. Hemoraji olan hastalarda ulaşılabilen anevrizmaların ligasyonu şeklinde cerrahi tedavi yapılabilir.¹⁴²

D) Splenik Sekestrasyon Krizi Tedavisi

Basit transfüzyon yapılarak hastanın volüm açığı kapatılmalı ve dokulara oksijen gidişi arttırılmalıdır. İlk krizden sonra genellikle 4 ay içinde tekrarlamaya eğilimlidir. Tekrarlayan vakalarda splenektomi düşünülebilir.¹⁴³

E) Priapizm Tedavisi

Analjezik, ılık pansuman ve sıvı tedavisi ilk tercihlerdir. Dört saatten uzun süren hastalarda intrakavernozal aspirasyon ve α -agonistlerin verilmesi, devam eden vakalarda basit transfüzyon veya kan değişimi önerilebilir, 12-24 saatten uzun süren ergenlik sonrası vakalarda şant operasyonu düşünülebilir.¹⁴²

2.1.11. Hematopoetik Kök Hücre Nakli (HSCT)

Allojenik HSCT, mevcut hematopoetik kök hücreleri allojenik donörden alınan hücrelerle değiştirerek orak Hb üretimini ortadan kaldırır ve OHH'yı iyileştirir. Hematopoetik kök hücre nakli, iyileşmenin yararları nakille ilişkili toksisitelerin risklerinden daha ağır basarsa ve uygun bir donör mevcutsa yapılmalıdır. HSCT'nin yararları arasında fizyolojik normal eritropoez, son-organ hasarının önlenmesi ve OHH ile ilişkili morbidite ve mortalitenin azalması sayılabilir.¹⁴⁴

Hematopoetik kök hücre nakli ile ilgili endişeler arasında hasta seçimi (yaş, hastalık şiddeti ve son organ hasarına bağlı olarak), kısa süreli toksisite riski (enfeksiyon, posterior geri dönüşümlü ensefalopati sendromu, ölüm), greft yetmezliği, uzun süreli yan etki olasılığı (greft-vs-host hastalığı [GVHD], infertilite, etkili ve minimal-toksik hazırlık rejiminin seçimi (miyeloablatif vs. non-miyeloablatif) ve sınırlı bir donör havuzu gibi etkenler sayılabilir.¹⁴⁴⁻¹⁴⁶

Hematopoetik kök hücre nakli için uygunluğu tanımlamak zordur ve kişiselleştirilmiş fayda - risk analizlerine dayanır. Yaş, başarılı bir HSCT'nin güçlü bir belirleyicisidir. Çocuk hastalarda, miyeloablatif rejimlerle eşleştirilmiş kardeş donör transplantları başarılı olmuştur.^{147,148} Dünya çapındaki bir kohorttan HLA-özdeş 1000 kardeş HSCT alıcısı üzerinde yapılan çalışmada yaş, mortalite için önemli bir risk faktörü olarak tespit edilmiştir. 16 yaşından büyük hastaların genel sağkalımı %80 iken, 16 yaşından küçüklerde 5 yıllık genel sağkalım %95 olarak tespit edilmiştir (P <0.01).^{149,150} 2014 yılında, uluslararası bir uzman paneli, kontrollü bir çalışma ortamında akraba olmayandan yapılan yada haplo-identical HSCT'nin; inme, tekrarlayan DTK (yılda > 2 atak), tekrarlayan priapizm, bozulmuş nöropsikolojik fonksiyon, evre I veya II orak hücreli akciğer hastalığı, AGS, orak nefropati, bilateral proliferif retinopati, osteonekroz veya transfüzyona bağlı alloimmünizasyon gibi OHH'nın ciddi komplikasyonları olan hastalarda göz önünde bulundurulmasını önermişlerdir.^{151,152} Panel aynı zamanda semptomatik hastalara, mevcut HLA-özdeş kardeş kök hücrelerden veya HLA-özdeş kardeş kord kanından okul öncesi yaşa kadar erken dönemde transplant teklif edilmesini önermiştir.

Uygun bir donörün mevcudiyeti, nakil için uygun hastalarda HSCT için ön şarttır ve tedavinin önünde büyük bir engeldir. ABD'de OHH'lı hastaların sadece %10 ila %20'si uygun bir kardeş, uygun akraba olmayan donör veya korunmuş kord kanına sahiptir.¹⁴⁵ Bu nedenle, HSCT'ye son zamanlardaki yaklaşımlar, akraba olmayan donörler kullanarak donör havuzunu genişletmeye odaklanmaktadır.¹⁵³⁻¹⁵⁵ Uygun ve akraba-olmayan donör alıcısı çocuklarda 1. ve 2. yıl sağkalım oranları sırasıyla %76 ve %69 karşılık gelen toplam sağkalım oranları da sırasıyla %86 ve %79'dur.^{153,156} Çok merkezli bir çalışmada (STRIDE [Hematopoetik Kök Hücre Hastalığı Olan Genç Yetişkinler İçin Hematopoetik Kök Hücre Tedavisi Çalışması]), şiddetli OHH'sı olan 22 yetişkin olguda; greft

yetmezliđi olmaksızın 1 yıllık olaysız ve genel sađkalım % 95 gibi yüksek bir oranda saptanmıřtır, bu hastalarda GVHD oranları da oldukça dūřuktdur.¹⁵⁷ řu anda, kordon kanı bađıřları OHH'da kullanılamayacak kadar risklidir (SCURT [Orak Hūcre Akraba Dıřı Donōr Nakli Denemesi] alıřması).^{158,159} Haploidentical HSCT, ocuklarda ve yetiřkinlerde deneysel ařamadađır. Kemik iliđi veya periferik kan hūcresi ile hazırlanan miyeloablatif olmayan transplantları arařtıran 2 çalıřma řuan yūrdūlmektedir.¹⁶⁰ Haploidentical HSCT daha yūksek transplant morbiditesi ve greft yetmezliđi ile iliřkilidir, ancak donōr havuzunu önemli olūde geniřletme potansiyeli nedeniyle bu yaklařım sūrdūrūlmeye devam etmektedir.^{149,154}

Miyeloablatif olmayan stratejilerin optimizasyonu ve donōr havuzunun geniřletilmesi stratejileri, HSCT'nin kullanılabilirliđini arttırabilir. Bu nedenle, hastanın bařlangıç OHH deđerlerinin ve HSCT risklerinin rutin olarak deđerlendirilmesi gereklidir.¹⁵⁰ İnfertilite, HSCT uygulanan būtdūn hastaların karřı karřıya olduđu bir risktir.¹⁶¹ Tedavi öncesi çok kūūk çocuklar için bile, dođurganlıđın korunması önerilmelidir.

2.1.12. Gen Tedavisi

Gen tedavisi, OHH tedavisinin “Kutsal Kase”sidir ve uzun zamandan beri kesin bir tedavi olarak aranmaktadır. 2017 yılında Ribeil ve ark. HbSS hastalıđı olan 13 yařında bir çocuđın gen tedavisi ile tedavi edildiđini bildirmiřlerdir.¹⁶² Bu heyecan verici olay, ilk kez bir oraklařma karřıtı β-globin varyantının (bA-T87Q) bir hastaya bařarılı bir řekilde transfer edildiđini gōstermiřtir. In situ gen mutagenesi gibi son teknolojik atılımlar, HbS mutasyonunu silerek veya HbF ūretiminin bir repressōrūnū susturmak suretiyle HbF ūretimini artırarak genetik manipūlasyon (gen ekleme, silme veya modifikasyon) için fırsatlar yaratmaktadır.^{163,164}

Gen tedavisi; fare çalıřmalarından sonra, homozigot veya řiddetli deđerken OHH'lı eriřkinlerde lentiviral vektōr kullanarak gen tedavisini inceleyen 2 klinik çalıřma devam etmektedir (NCT02247843, NCT02186418).^{165,166} Bu tedavinin dayanıklılıđını ve gūvenliđini anlamak için daha fazla çalıřmaya ihtiyaç vardır. Manipūle edilen otolog kōk hūcrelerin infūzyonunu takiben miyeloablatif kondisyon rejimi de bir çalıřmada incelenmektedir.¹⁶⁷

HSCT'ye göre gen terapisinin en büyük avantajı, otolog kök hücreleri kullanma yeteneğidir, böylece donörleri belirleme ihtiyacını ortadan kaldırır. Bununla birlikte, HSCT gibi, gen tedavisi de radyasyona ve kemoterapiye maruz kalmayı gerektirir. Lentiviral transfer bugüne kadar karsinogenez veya mutajenez ile ilişkilendirilmemiştir, ancak bu riski yeterince değerlendirmek için uzun vadeli çalışmalara ihtiyaç vardır.^{168,169}

2.1.13. Hbs Polimerizasyonunu Önlemeyi Hedefleyen Tedaviler

A) Antioksidan tedaviler

1) L-glutamin

L-glutamin nikotinamid adenin dinükleotidi (NAD) için bir amino asit öncüsüdür ve antioksidan-redükte NAD'ın oluşumu için gereklidir. NAD üretimi OHH hastalarında yeterli olmakla birlikte, eritrosit glutatyon ve glutamin seviyeleri belirgin şekilde azalmaktadır.^{170,171} Bu azalma, orak eritrositlerde artan oksidan yüküne ve daha yüksek L-glutamin tüketimine bağlanmıştır.¹⁷² Azalmış L-glutamin seviyeleri, NAD redoks potansiyelinin düşmesine neden olur ve eritrosit bütünlüğünü bozar, hemolizi artırır ve NO'yu tüketir. Glutamin tükenmesi hemoliz için bir biyobelirteçtir ve OHH'lı hastalarda bağımsız olarak pulmoner hipertansiyon ile ilişkilidir.¹⁷⁰

L-glutamin'in OHH'daki etkisi incelenmiştir, ancak yaşa ve genotipe spesifik popülasyonlardaki faydalarını ve uygulanabilirliğini doğrulamak için, hakemli dergilerde yayınlanacak ek kanıtlara ihtiyaç vardır. OHH'lı 7 yetişkin hastada yapılan bir çalışmada, 4 hafta boyunca L-glutamin tedavisinden sonra, eritrositlerin redüksiyon potansiyeli ve enerji seviyelerinde subjektif iyileşme olduğu gözlenmiştir.¹⁷³ 2005 yılında yapılan, OHH'lı 9 yetişkinin kesitsel ve prospektif bir çalışmasında, L-glutamin tedavisinin, eritrositlerin endotel hücrelerine adezyonunun azalmasına yol açtığı tespit edilmiştir.^{173,174} 2014 yılında randomize, plasebo kontrollü, çift-kör faz 3, L-glutamin çalışması, HbSS ve HbS β^0 talasemi olan 230 hastada (5-58 yaş) yapılmıştır.¹⁷⁵ Bu çalışmanın sonuçlarına göre L-glutamin alan hastaların 48 haftalık çalışma süresi boyunca daha az ağırlı atak geçirdiğini (3 atak vs. 4 atak; P=0.08), hastanede kalış süresinin azaldığını (6.5 gün vs. 11 gün; P=0.022), AGS gelişiminde azalma görüldüğünü (%11.9 vs. %26.9; P=0.06) ve randomizasyondan ilk krize kadar

geçen sürenin daha uzun olduğu (87 gün vs. 54 gün; $P<0.01$) gösterilmiş. Bu tedavi etkisinin hidroksiüre kullanımından bağımsız olduğu bildirilmiştir.¹⁷⁶

2) N-asetilsistein

N-asetilsistein (NAC) solunumsal hastalıklarda mukolitik olarak kullanılan bir antioksidan madde olup, homozigot OHH'lı hastalarda yoğun hücreleri ve geri dönüşümsüz orak hücre formasyonunun oluşumunu azaltmaktadır.¹⁷⁷ NAC, sitoplazmada L-sisteine dönüştürülür ve bu, glutatyon seviyelerini artırır. 15 yaşından büyük 21 OHH'lı hastanın faz 2 çalışmasında; NAC glutatyon seviyelerini düzeltmiş, yoğun hücre oluşumunu azaltmış ve ağırlı kriz sayısında istatistiksel olarak anlamsız da olsa bir düşüşe yol açmıştır.¹⁷⁸

3) α -Lipoik Asid ve L-asetilkarnitin

Güçlü antioksidan özelliğe sahip α -lipoik asit ve asetil-L-karnitin'in kombinasyonu, hemoglobinopatili 14 hastaya (OHH'lı 11 ve HbH'lı 3 hasta) verilmiş ve redükte glutatyonin durumunu 3 haftada belirgin şekilde iyileştirmiştir.¹⁷⁹

4) Diğer Antioksidan Ajanlar

Arap sakızı, omega-3 yağ asitleri ve kurkumin'in OHH'daki oksidatif stresi azalttığı bildirilmektedir, ancak bugüne kadar yaygın klinik uygulanabilirliğe ulaşmadığı düşünülmektedir.¹⁸⁰

B) Hücresel Adezyonun İnhibisyonu

Eritrosit-endotel ve lökosit-endotel etkileşimlerini hedef alan çok sayıda yeni adezyon inhibitörü ajan geliştirilmektedir.

1) P-Selektin İnhibitörleri

P-selektin, lökosit ve eritrositin vasküler endotele yapışmasına aracılık eder ve OHH'lı hastalarda damar-tıkanmasına katkıda bulunur.¹⁸¹ P-selektin endotel hücre granüllerinde depolanır ve histamin, trombin, endotoksin, peroksit veya hipoksi ile uyarıldığında hücre yüzeyine salınır.¹⁸¹ Bir transgenik fare modelinde, P-selektinin bloke edilmesi veya tükenmesi eritrosit ve lökosit

yapışmasını azaltmıştır.¹⁸² Crizanlizumab (SEG101), P-selektine bağlanan ve P-selektinin dolaşımdaki lökositler üzerindeki glikoprotein 1 ile etkileşimini bloke eden bir monoklonal antikordur. (Faz II, Çok Merkezli, Randomize, Plasebo Kontrollü, Çift Kör, 12 Aylık Bir Çalışma ile Orak Hücreli ve Orak Hücre-İlişkili Ağrı Krizi olan Hastalarda, Hidroksiüre Tedavisi alan veya almayan Gruplarda SelG1'in Güvenliğini ve Etkinliğini Değerlendirme Çalışması) (SUSTAIN) sonuçlarına göre; plaseboya kıyasla yüksek doz crizanlizumab (5 mg/kg), yıllık kriz oranını %45.3 azaltmaktadır ($P<0.01$).¹⁸³ Yıllık kriz oranındaki azalma, hidroksiüre almayan hastalarda alanlara kıyasla daha yüksek olduğu saptanmıştır (sırasıyla %50 vs. %32.1 daha düşük). SUSTAIN çalışması, 16-65 yaşları arasındaki hastaları ve tüm OHH genotiplerini içermektedir, ancak çalışma hastalarının sadece %70'inde HbSS saptanmıştır. Bu nedenle çocuk hastalarda kullanımı ele almak ve genotip ile etkinliği değerlendirmek için ek çalışmalara ihtiyaç vardır. Yan etkiler tedavi ve plasebo grupları arasında benzer düzeyde saptanmıştır.

2) Pan-selektin İnhibitörleri

Sentetik bir pan-selektin inhibitörü olan Rivipansel (GMI-1070), Berkeley orak hücre farelerinde hücre-hücre etkileşimlerini ve adezyonu inhibe ederek uzamış sağkalım ile ilişkilendirilirken; OHH'lı 73 erişkinde test edildiğinde ise intravenöz opioid kullanımında anlamlı bir düşüş (plaseboya kıyasla %83 daha düşük opioid kullanımı) saptanmıştır.^{184,185}

C) Diğer Yapışma Önleyici (Anti-Adeziv) Tedaviler

1) İntravenöz İmmünoglobulin

Orak hücreli bir fare modelinde intravenöz immünoglobulin, eritrosit-nötrofil ve nötrofil-endotelial yapışma etkileşimlerini inhibe etmiş ve mikro dolaşımda kan akışını ve sağkalımı iyileştirmiştir.^{186,187}

2) Heparin

Heparin, anti-inflamatuardır ve P-selektin aracılı eritrosit adezyonunu önler.¹⁸⁸ Randomize, çift-kör bir çalışma, düşük moleküler ağırlıklı heparin olan

tinzaparinin ciddi kanama komplikasyonları olmadan DTK süresini azalttığını bildirmiştir.¹⁸⁹

3) Propranolol

Faz 1 doz yükseltme çalışmasında, propranolol ile tedavi edilen homozigot OHH'lı hastalardan elde edilen eritrositler sağlıklı farelere infüze edildiğinde propranolol, orak eritrosit adezyonunu doza bağlı bir şekilde azalttığı gösterilmiştir.¹⁹⁰ Maksimum inhibisyon, 40 mg dozda sağlanmıştır ve önemli bir yan etkisi bildirilmemiştir.¹⁹⁰ Çift kör cross-over bir faz 2 çalışmasından elde edilen sonuçlar, plaseboya kıyasla propranol ile tedavi edilen homozigot OHH hastalarında E-selektin, P-selektin, hücreler arası adezyon molekülü 1 ve vasküler hücre adezyon molekülü 1 de dahil olmak üzere ölçülen çözünebilir biyobelirteçlerin seviyelerinin azaldığını ortaya koymuştur, ancak bu düşüşlerin istatistiksel olarak anlamlı olmadığı bildirilmiştir.¹⁹¹

4) Anti-Platelet Tedavi

Aktive trombositler OHH'da, hücreler arası yapışmaya katılarak DTK gelişimine katkıda bulunmaktadır.¹⁹² Prasugrel, adenozin difosfat ile modifiye edilmiş trombosit aktivasyonunu ve agregasyonunu, P2Y12 sınıf adenozin difosfat reseptörlerine geri dönüşümsüz olarak bağlanarak inhibe eden üçüncü nesil bir tienopiridindir. Trombosit İnhibisyonunun DTK Üzerine Belirleyici Etkileri (DOVE) çalışması, faz 3, çift kör, plasebo kontrollü bir çalışma olup; HbSS'li 2-17 yaş arası çocuk ve ergenlerde prasugrel'in etkilerini araştırmıştır. DOVE çalışması, prasugrel tedavisi ile DTK'ların azalmadığını bildirmiştir.¹⁹³ Bir faz 1 çalışmasında, başka bir antiplatelet ajan ve trombosit glikoprotein $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ antagonisti olan eptifibatid, trombosit agregasyonunu inhibe etmiş ve inflamatuvar mediatörleri olumlu şekilde değiştirmiştir.¹⁹⁴

Faz 2 plasebo-kontrollü bir çalışma, DTK'ları olan OHH'lı 13 hastada eptifibatid'in güvenli olduğunu bildirmiştir ancak iyileşme sürelerinde veya hastaneden taburcu olma sürelerinde herhangi bir iyileşme bulunamadığı raporlanmıştır.¹⁹⁵ Sekonder bir analiz, eptifibatidin, trombosit agregasyonunu, trombosit salınımını ve P-selektin ekspresyonunu inhibe ettiğini ve trombosit-lökosit agregatlarını ve inflamatuvar belirteçleri azalttığını göstermiştir.¹⁹⁶

2.2. Orak Hücre Hastalığı ve Hemoliz

Hemoliz durumunda eritrositlerden Hb açığa çıktığında, normalde eritrosit içinde mevcut olan antioksidan madde etkilerinden yoksun olan serbest Hb, içinde bulunduğu damarlarda ve maruz kalan diğer dokularda oksidatif hasara yol açabilir.¹⁹⁷ Hb'yi ve reaktif ferrik protoporfirin-IX grubunu (hemin) nötralize etmek için, özel plazma tutucu proteinler toksik kısımları sınırlandırır ve bunları hem-oksijenazların hemin'i daha az toksik metabolitlere parçalayabileceği kompartmanlara geçirir. Diğer moleküler ve indirgeyici maddeler bu koruyucu fizyolojiye katkıda bulunur. Bununla birlikte, bu temizleme ve detoksifikasyon sistemleri; OHH, kan transfüzyonu, sıtma veya sepsis gibi intravasküler hemoliz yapan sebepler tarafından bozulduğunda; Hb ve hemin, damar ve organ fonksiyon bozukluğunu tetikler ve ters klinik etkilere yol açar. Ekstrasellüler Hb ve hemin, hastalık süreçlerinin çok bileşenli tetikleyicileridir.

Aşırı düzeydeki serbest Hb ile ilişkili olumsuz klinik etkiler, Hb molekülünün çeşitli spesifik yapısal ve biyokimyasal özelliklerine bağlanabilir ve aşağıda gösterilen karşılıklı etkileşime giren 4 mekanizmadan kaynaklanır:

- (1) Hb'nin damar dışına çıkması; Hb ve hemin'in dokulardaki olumsuz etkilerini açığa çıkarabilmelerinin temel şartıdır;
 - (2) Nitrik oksit ve oksidatif reaksiyonlar;
 - (3) Serbest hemin salınımı;
 - (4) Hemin'in moleküler sinyalleşme etkileri;
- (Şekil 3)'de özetlenmiştir.

Mekanizma 1: Hb'nin Damar Dışına Çıkması

Hemoliz sonrasında Hb, düşük konsantrasyonlarında baskın dimer durumu ile, tetramer ve alfa/beta-alt ünite heterodimerlerin dinamik bir dengesinde bulunur. Alfa/beta-dimerler protein translokasyonu ve korunmasız anatomik bölgelere (örneğin böbrekler ve damar duvarı) erişime izin veren nispeten küçük moleküler boyuta (32 kDa) sahip maddelerdir. Dokuların Hb'e maruz kalması, en çok masif intravasküler hemoliz sonrası hemoglobinüri ile seyreden vakalarda belirgindir, Hb endotel bariyerleri arasından subendotelial ve perivasküler boşluklara ve lenf sıvısına geçebilir.^{198,199}

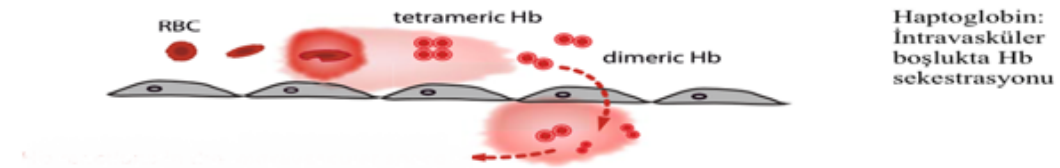
Mekanizma 2: Nitrik Oksit ve Oksidan Reaksiyonlar

İkinci bir Hb toksisite mekanizması, Hb'nin ekstrasvazasyon sonrasında dokulara pro-oksidatif etkisidir. NO ve fizyolojik anti oksidanlar (örneğin, hidrojen peroksit ve lipid peroksit) Hb reaksiyonlarına karşı en kapsamlı çalışanlardır. NO tüketimi ve ardından Hb oksidasyonu 2 reaksiyonla gerçekleşir:

(1) NO'nunoksi-Hb ile di-oksijenasyonu, bunun sonucunda nitrat ve ferrik Hb (Hb-Fe³⁺) oluşur.

(2) Deoksi-Hb'nin demir-nitrozilasyonu, bu da NO'nun serbest olmayan ferröz Hb'ye (Hb-Fe²⁺) doğrudan demir bağlaması ile oluşur.

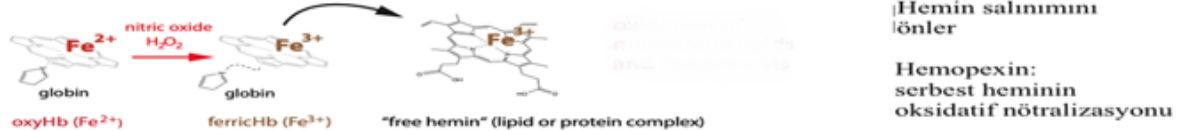
Mekanizma 1: Hb'nin Damar Dışına Çıkması



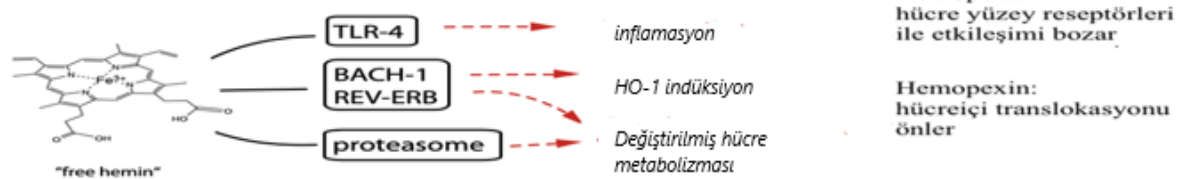
Mekanizma 2: NO ve Oksidan Reaksiyonlar



Mekanizma 3: Hemin Salınımı ve Transferi



Mekanizma 4: Hemin Moleküler Sinyalleşme Etkisi



Şekil 3. Serbest Hb'nin patofizyolojik etkileri.

Bu reaksiyonların biyokimyası ve patofizyolojisi konusundaki mevcut anlayış, büyük ölçüde Hb bazlı oksijen taşıyıcıları (HBOC) ve bunların hemodinami üzerindeki iyi anlaşılmış olumsuz etkilerinin çalışılmasından türetilmiştir.^{200,201}

Serbest Hb'nin NO'yu tüketmesi, masif hemoliz sırasında (orta-yüksek plazma serbest Hb seviyelerine neden olan) veya HBOC infüzyonu sırasında ortaya çıkan akut hipertansif yanıtı açıklamak için yaygın olarak kabul edilen bir hipotezdir.^{202,203}

Vazodilatörün tükenmesine ek olarak, Hb-NO reaksiyonlarının bir başka sonucu da doku parankiminde Hb-Fe³⁺ oluşması olabilir. Hb-Fe³⁺'ün dokularda birikmesi, hemin salınımını ve/veya hemin tarafından sürdürülen ve ikincil toksisiteye neden olan diğer proteinlere/lipitlere hemin transferini teşvik edebilir.

Hemoglobin reaksiyonunun peroksitlerle oluşan biyokimyası, 40 yıldan uzun süredir araştırılmaktadır ancak bu reaksiyonların Hb'nin ve hemin kaynaklı patofizyoloji için önemi hala zayıf bir şekilde tanımlanabilmiştir.²⁰⁴ Oksidatif Hb reaksiyonlarının, Hb toksisitesinin önemli bir belirleyicisi olabileceği varsayımı, inflamasyon ve iskemi-reperfüzyon sırasında nispeten büyük miktarlarda peroksitlerin oluştuğu ve hücre dışı boşluğa salındığı gözlemlerine dayandırılmıştır. İn vitro koşullar altında, peroksit ile Hb reaksiyonu Hb-Fe³⁺, ferril Hb (Hb-Fe⁴⁺) gibi daha yüksek okside demir türleri ve ilişkili radikallerin oluşmasına neden olur.^{205,206}

Bu reaksiyonların nihai sonucu, Hb kendini imha etmesi (self-destrüksiyon), hemin kaybı ve globin zinciri çapraz bağlama ve en nihayetinde doku hasarının gelişmesidir.²⁰⁷ Bu reaksiyonların hastalık durumlarına olası etkisinin sınırlı ve dolaylı deneysel kanıtlara dayandığına dikkat edilmelidir, bu nedenle in vivo hemoliz sırasında önemli miktarlarda Hb-Fe⁴⁺ ve radikallerin üretilip üretilmediği ve hastalığa katkıda bulunup bulunmadıkları belirsizliğini korumaktadır. Sürekli in vivo olarak nicelendirilebilen tek oksitlenmiş Hb türü; Hb-Fe'nin yapısal olarak çarpık bir şekli olan Hb-Fe³⁺ ve hemikromdur. İn vitro biyokimyasal gözlemler ve in vivo bulgular arasındaki eşitsizlik, in vivo koşullarda oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları arasındaki kayma nedeniyle olabilir.²⁰⁸ Çok miktarda küçük molekül ve enzimatik indirgeyicilerin mevcudiyeti, daha yüksek oksidasyon durumundaki Hb türlerinin ve Hb türevli radikallerin stabilitesini saptanamayan seviyelere indirgeyebilir. İnamoleküler Hb çapraz bağları, porfirin-globin kovalent eklentileri ve globin zinciri amino asit oksidasyonları; Hb-Fe⁴⁺ formasyonu için taşıyıcı belirteçler olarak tanımlanmıştır. Bunun gibi modifikasyonlar subaraknoid kanama sonrası spinal sıvıdan ve

idrardan elde edilen Hb'de bulunmuştur, bu da peroksidatif reaksiyonların in vivo Hb toksisitesine katkıda bulunabileceğini göstermektedir.^{209,210}

Mekanizma 3: Hemin Salınımı ve Transferi

Hb toksisitesinin üçüncü bir mekanizması ise bir önceki bölümde açıklanan oksidatif reaksiyonların ana ürünü olan Hb-Fe³⁺'ten hemin salınmasıdır. Hemin salınımı, reaktif porfirinin hücre zarlarına veya çözünür plazma proteinlerine ve lipidlerine transferine izin verir. Ayrıca, moleküler sinyalleşme etkileşimleri için bir ligand olarak serbest hemin'i sağlar. Hidrofobik bir molekül olarak, plazma içinde önemli miktarlarda serbest, monomerik hemin bulunması olası değildir. Bu nedenle, düşük afiniteli hemin proteini (örneğin, hemin-albümin) şeklinde transfer edilen hemin veya hemin-lipid kompleksleri, hemin salınımının en muhtemel fizyolojik son ürünleridir. Protein veya lipid ortamına bağlı olarak, serbest demir-protoporfirin bir ara madde olarak işlev görebilir ve alıcı molekülü reaktif son ürüne dönüştürebilir. Hemin salınımının en belirgin toksik son ürünü, okside düşük yoğunluklu lipoproteindir (oxLDL).²¹¹ LDL oksidasyonu ve ilişkili inflamatuvar aktiviteler, Hb'nin vasküler hasara neden olma yeteneğinin kritik bir örneğidir.^{212,213}

Mekanizma 4: Hemin Moleküler Sinyalleşme Etkisi

Hemin seçici olarak birkaç reseptöre, transkripsiyon faktörüne ve enzime bağlanabilir; böylece hücre aktivasyon durumunu, gen transkripsiyonunu ve metabolizmasını değiştirebilir. En iyi tanımlanmış etkileşim; hemin'in, hemoksijenaz 1 (HO-1)'in transkripsiyonunu düzenleyen transkripsiyonel baskılayıcı Bach-1'e ve artmış hücre içi hemin seviyelerine adaptif yanıt için gerekli olan diğer antioksidan enzimlere bağlanmasıdır.²¹⁴ Hemin ayrıca sirkadiyen ritmi, glukoz metabolizmasını ve adipogenezini düzenleyen nükleer hormon reseptörü REV-ERB'nin bir ligandıdır.²¹⁵

Özetle, hücre dışı Hb'nin kesin patofizyolojisi, spesifik bir klinik durumda Hb/hemin maruziyetinin zamanlamasına, miktarına ve doku lokalizasyonuna bağlıdır. Büyük ölçüde yukarıdaki bölümlerde tartışılan 4 mekanizma ile açıklanan kümülatif etkilerden kaynaklanabilir. Örneğin, intravasküler hemolizden sonra serbest Hb'nin en belirgin etkisi sistemik ve pulmoner hipertansiyondur. Kan basıncında akut yükselmelere neden olan mekanizmalar, subendotelial

boşluklara Hb geçişi, damar duvarı içindeki lokal NO tükenmesi ve ardından gelişen damar tıkanıklığıdır.²¹⁶⁻²¹⁹

Aşağıdaki bölümlerde bahsedileceği üzere, Hb ve hemin toksisitesinin 4 mekanizmasının hepsi, doğal temizleyici proteinler olan Hp ve Hpx ile azaltılmaktadır.

2.2.1. Hemoglobin ve Hemin-Temizleyici Proteinlerinin Fizyolojisi

Hafif-orta şiddetteki hemoliz sırasında, temizleyici proteinler, reseptörler ve enzimlerin oluşturduğu bir ağ, hücre dışı Hb ve heminin detoksifikasyonunu gerçekleştirir. Birincil temizleme yolu, karaciğer parankimi veya makrofajlarına taşınması, porfirin'in hem-oksijenazlar aracılığı ile bilirubin, karbon monoksit ve demire yıkımı mekanizmalarını içerir.

A) Haptoglobülin ve Orak Hücre Hastalığı

Hp, serbest Hb'nin biyokimyasal ve fizyolojik profilini temelden değiştirir.²²⁰ Büyük molekül olarak Hb, Hb:Hp kompleksi içinde bağlandığında; Hb, intravasküler boşluk içinde tutulur ve endotel tabakası boyunca translokasyonunun önlenmiş olduğu görülür. Bu basit mekanizma, Hb ve/veya peroksitlerle serbest Hb'nin potansiyel olarak ters biyokimyasal reaksiyonlarını vasküler duvar gibi en duyarlı anatomik alanlardan uzak tutar.

Yeni in vitro deneyler; Hp'nin, Hb'nin oksidatif reaksiyonlarını da değiştirebileceğini göstermektedir. Hp, bağlı Hb-Fe³⁺'ün redoks potansiyelini azaltır ve Hb-Fe⁴⁺'ün yüksek oksidasyon durumunu dengeler.^{221,222} Yakın zamanda serbest Hb: Hp kompleksinin kristal yapısı, globin oksidasyonunun birincil hedefi olan kritik amino asitlerin korunmasına bazı yapısal temeller sağlamıştır. Bu korumanın bir sonucu olarak; Hb, Hb:Hp kompleksinden serbestleştirildiği zaman, protein bozulması ile globin oksidasyonu meydana gelmez.²²³ Kompleksin yapısal stabilitesi, temizleyici reseptörleri tarafından proinflamatuvar Hb yıkım ürünlerinin birikmesini önleyebilir.^{210,224} Ek olarak; hemin Hb: Hp kompleksinde sağlam bir şekilde bulunur; Hpx, lipoproteinler ve albümin gibi hemin alıcılarına geçemez. Bu nedenle, hemin transferinin önlenmesi, Hp'nin membran lipidlerinin ve plazma lipoproteinlerin Hb kaynaklı oksidasyonuna karşı koruduğu ve serbest hemin birikimini önlediği bir başka önemli mekanizmadır.

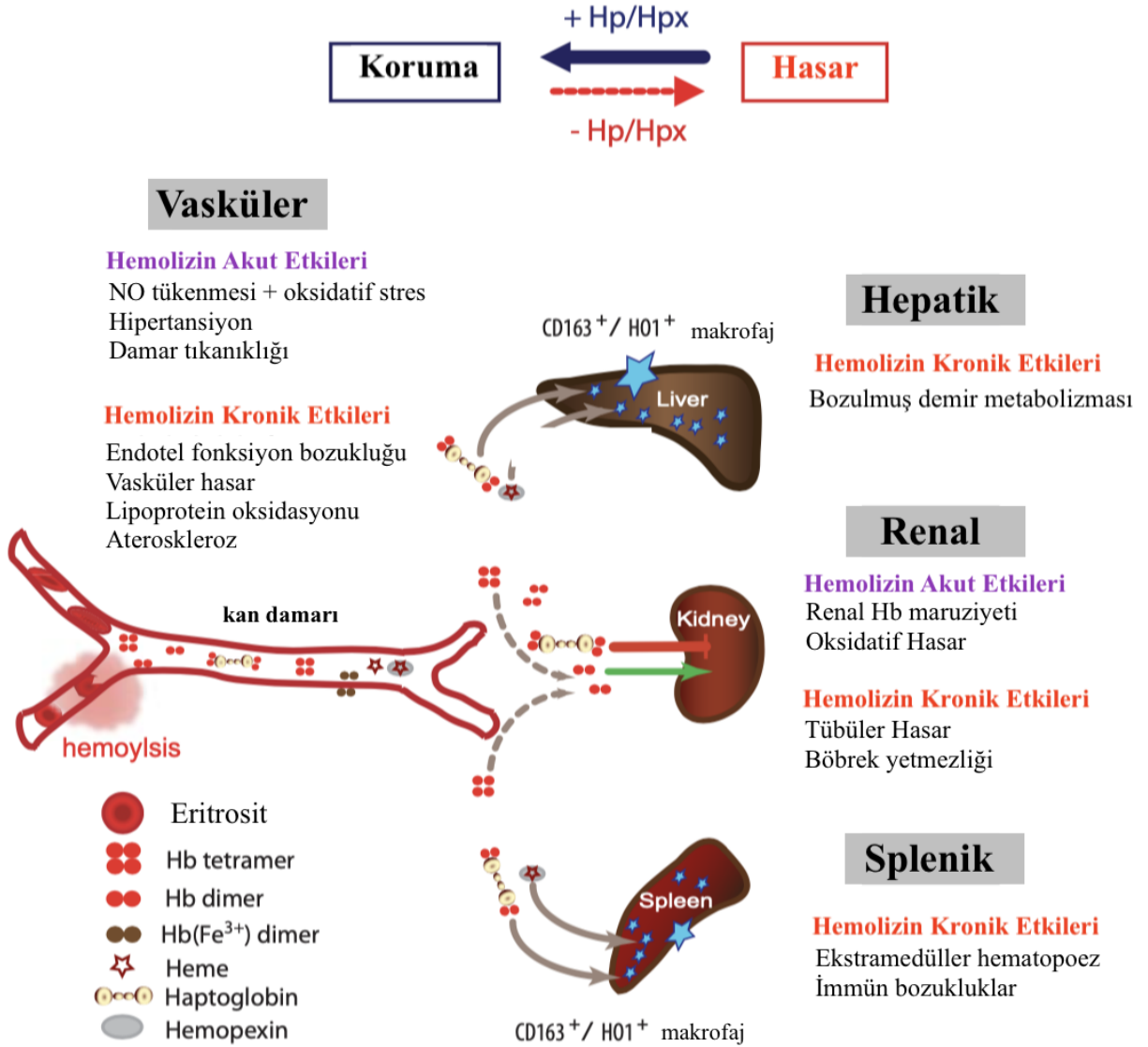
B) Hemopeksin ve Orak Hücre Hastalığı

Hemopeksin, Hb-Fe³⁺'ten hemin salınımına bağlı gelişen intravasküler hemolize karşı ikinci savunma hattını oluşturan bir hemin bağlayıcı plazma glikoproteinidir. Hemin'e bağlanan birçok protein mevcuttur; albümin ve lipoproteinler olan LDL/HDL bunlara örnektir. Bununla birlikte Hpx, oksidatif olarak inert bir hekza-koordinat konformasyonunda 1:1 stokiometri içeren bir kompleks yapısında, porfirini sekestre eden en etkili hemin bağlayıcı proteindir.²²⁵⁻²²⁹ Plazma ve dokularda Hpx'in en önemli işlevi, duyarlı lipoproteinlerin oksidatif modifikasyonlara karşı korunması ve toll like receptör-4 (TLR-4) gibi hücre yüzeyi reseptörleri ile hemin etkileşimlerini sınırlandırmasıdır.^{215,225,230} Hpx çıkarılmış fareleri kullanan hemin maruziyeti modellerinde, temizleyici proteinler; hemin ilişkili endotel hücre aktivasyonu, karaciğerde damar tıkanıklığını ve böbrek hasarını azaltmıştır.^{218,231}

Haptogloblin seviyeleri gibi, Hpx plazma seviyeleri de genellikle intravasküler hemoliz durumunda tükenmekte, bu da plazma proteinin takviyesinin hastalara bazı faydalar sağlayabileceğini düşündürmektedir.²³²

C) Hemoglobin ve Hemin Temizleyici Reseptörler

Endositik reseptörler, dolaşımdaki biyokimyasal olarak inert Hb:Hp ve hemin: Hpx komplekslerini dolaşımdan temizler. İn vitro ve ex vivo deneyler, sırasıyla makrofajların ve periferik kan monositlerinin, temizleyici reseptör CD163'ün bağlanması yoluyla Hb:Hp komplekslerini temizleyen primer hücre tipleri olduğunu göstermiştir.²³³⁻²³⁷ Son zamanlarda yapılan çalışmalar, Hb:Hp kompleksi için CD163'ün bağlanma özgüllüğünün önemli ölçüde farklılıklar sergilediğini, dolayısıyla insanlarda ve bazı laboratuvar hayvanlarında temizleme mekanizmalarının eşğinin önemli ölçüde değişebileceğini göstermektedir.²³⁸ Bu nedenle, insan çalışmaları için, Hb:Hp kompleksinin farmakokinetiğini, akut, aralıklı ve kronik hemoliz sırasında tek veya tekrarlanan Hp uygulamasının koşullarına uyan farklı intravasküler konsantrasyonlarda tanımlamak kritik öneme sahip olacaktır. Hemin-Hpx kompleksi, hepatosit üzerindeki LDL reseptör-ilişkili protein (LRP)/CD91'e bağlanır ve HO-1 tarafından hemin yıkımı gerçekleştirilir.^{239,240}



Şekil 4. Hb klirens kompartmanlarının şematik özeti ve intravasküler hemoliz ile ilişkili olabilecek başlıca akut ve kronik patolojiler. Hb ve hemin temizleyici proteinlerin bulunması Hp ve Hpx, fizyolojik dengeyi doku hasarından korumaya doğru kaydırır.

Haptoglobulin ve Hpx komplekslerinin akut ve kronik intravasküler hemoliz sırasında reseptörleriyle birlikte tükenmesi, şekil 4'de belirtilen patofizyolojik sonuçları ortaya çıkarır.

D) Nitrik oksit ve Orak Hücre Hastalığı

Orak hücre hastalığı NO rezervini azaltan kronik bir enflamatuvar durumdur. NO normalde endotel tarafından üretilir ve bazal damar tonisitesini düzenler, trombosit ve yapışma moleküllerini inhibe eder, reaktif oksijen türlerinin (ROS) seviyelerini azaltır. NO'nun OHH'daki potansiyel önemi, son on yılda yapılan araştırmalara konu olmuştur. NO'nun azalmasının, OHH patofizyolojisinde önemli bir mekanizma olduğu kabul edilmektedir.²⁴¹

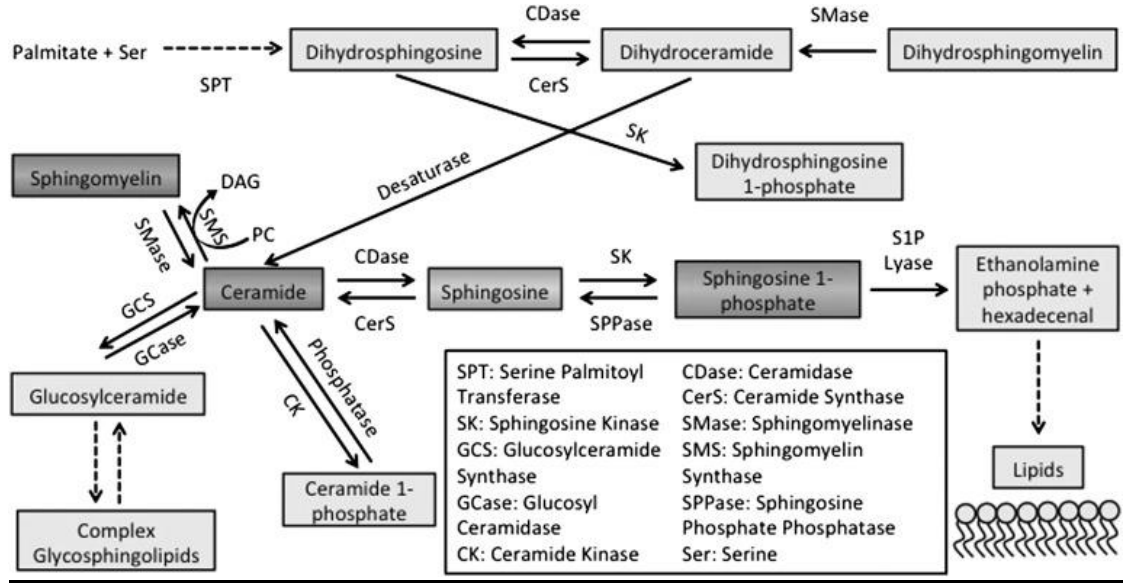
Özellikle OHH hastalarında DTK ve AGS dönemlerinde NO öncüsü L-argininin serum seviyeleri azalır; bu seviyeler ağırlı krizle ters orantılıdır. Hemolitik süreç, yüksek miktarlarda serbest Hb, hem ve arginaz salınımına neden olur. Hidrofobik hem, endotel hücrelerinin plazma zarına girer ve demir salınır, bu da ROS'nin salınmasına neden olur ve hücrelere zarar verir.²⁴¹ Plazmada salınan arginaz; L-arginini, üre ve ornitine dönüştürmede etkilidir. Plazma L-ornitindeki artış, hücresel bölmelerde düşük L-arginin alım seviyeleri ile rekabet eder buda pulmoner hipertansiyon ve ROS üretimi ile sonuçlanabilir.²⁴²

Sonuç olarak, NO metabolizmasının analizi, OHH hastalarının patogenezi anlamada oldukça önemli bir yer tutmaktadır.²⁴³

E) Asid Sfingomyelinaz ve Orak Hücre Hastalığı

Sfingolipitler, sfingoid bazların omurgasını içeren bir lipid sınıfıdır. Hücresel süreçlerde farklı roller oynarlar ve hücre zarlarının önemli bileşenleridir. Memeli plazma zarının %10'unu içeren sfingomyelin (SM), hidrolize edici enzim AS ile ayrışır (Şekil 5).²⁴ Son zamanlarda yapılan çalışmalarda, membran eğriliği ve eritrositlerde mekanik bükülme gerilimlerindeki artışlar, AS'yi aktive eder, böylece SM azalır ve seramid artar.²⁵ AS; lipid mikrodoman oluşumu, membran kırılabilirliği, vezikülasyon ve mikropatikül oluşumunda rol oynamaktadır.^{31,32} OHH ve diğer hemolitik anemilerde membran lipidlerinin oryantasyonu çalışılmış olmasına rağmen, sfingolipidlerin değişmiş dağılımının ve metabolizmasının sonuçları büyük ölçüde keşfedilmemiştir.

Orak eritrositler, membran stresi, inflamasyon ve sfingolipid metabolizması arasındaki ilişki için özellikle ilginç bir model sistemdir. AS, endotel ve miyeloid hücrelerinden salınır, kronik inflamasyon gibi durumlarda salınımı artar.²⁴⁴⁻²⁴⁷



Şekil 5. Sfingolipid metabolizması: sfingolipid üretimi, serin palmitoil transferaz aracılı serin ve palmitoil CoA'nın reaksiyonuyla başlar. Sfingolipitler, birçok geri dönüşümlü ve geri dönüşümsüz reaksiyonda metabolize edilir. Seramid, sfingolipid metabolizma ağının merkezindedir ve sırayla sfingoizin ve S1P üretimi ile sonuçlanan SM'nin hidrolizinden kaynaklanır.²⁴

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma için Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul Komitesi'nin onayı alındı (78017789/050.01.04/529310 sayılı). Çalışmaya katılan bireyler, çalışma konusunda bilgilendirilerek, aydınlatılmış onamları istendi.

3.1. Hastalar

Çalışmanın hasta grubu; 25.09.2017-25.09.2018 tarihleri arasında, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji Bilim Dalı Kliniğine DTK ile başvuran 2-24 yaş arasındaki OHH'lı çocuklardan dahil etme kriterleri göz önüne alınarak seçildi.

OHH'lı Hastalar için Çalışmaya Dahil Edilme Kriterleri:

- 1) >2 yaş <24 yaş arasındaki OHH 'lı,
- 2) Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji BD da düzenli takip edilen,
- 3) Çalışmaya katılmaya gönüllü olan ve bilgilendirilmiş gönüllü olur formunu dolduran,
- 4) Çalışma öncesinde son bir ayda eritrosit transfüzyonu almamış,
- 5) Çalışma sırasında bilinen inflamatuvar bir hastalığı olmayan hastalar

OHH' lı Hastalar için Çalışmaya Alınmama Kriterleri:

- 1) <2 yaş >24 yaş OHH' lı,
- 2) Çalışma öncesinde son bir ayda eritrosit transfüzyonu almış,
- 3) Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji BD da düzenli takipte olmayan,
- 4) OHH dışında bilinen başka bir inflamatuvar hastalık olması
- 5) Çalışma sırasında enfeksiyon ve/veya inflamatuvar bir hastalığı olan hastalar.

Damar tıkalıcı kriz ile acil servise başvuran ve yatırılarak izlenmesi gereken toplam 31 OHH'lı hasta çalışmaya dahil edildi. Hastaların 20'si (%64,5) erkek, 11'i (%35,5) kızken, başvuru sırasında 22'sinde ağırlı kriz 9'unda AGS saptandı. Hastalardan yatışının 0. ve 3. günlerinde çalışılmak üzere tam kan sayımı, CRP, NOx, Hp, Hpx, AS ve hemin için kan örnekleri alındı, benzer şekilde

durağan dönemde (DTK dan en az 3 ay sonra) tekrar kan örnekleri alındı ve saklandı.

Çalışmaya dahil edilen bütün OHH'lı hastaların; öykü ve fizik muayeneleri değerlendirildikten sonra, yıllık transfüzyon ve DTK sıklığı, şelasyon ve hidroksiüre tedavisi alımı sorgulandı.

Ayrıca hastalar serviste yattıkları dönemde klinik olarak izlendi, Wong-Baker FACES ağrı skalası kullanılarak günlük ağrı düzeyleri değerlendirildi, ağrı tedavisi için kullanılan ilaçlar not edildi ve yatış süreleri kayıt altına alındı.

3.2. Biyokimyasal Yöntem

Hastalara ait venöz kanlar; NO_x, Hpx, AS ve hemin için 4 ml kan EDTA'lı tüplere alınarak Mersin Üniversitesi Araştırma Hastanesi Tıbbi Biyokimya laboratuvarına getirildi. Alınan kan örnekleri alındıktan 15 dakika sonra 10 dakika 4000 rpm'de santrifüj edildi, serumları ayrıldı, alikotlandı ve analiz gününe kadar -80°C'lik derin dondurucuda saklandı. Önceden santrifüj edilip hazırlanmış ve ölçüm gününe kadar -80 derecede muhafaza edilmiş olan serum örnekleri çalışma günü, oda ısısına gelene kadar bekletildikten sonra Hacettepe Tıp Fakültesi Biyokimya laboratuvarında analiz edildi;

Nitrit/nitrat: Nitrat/Nitrit kolorimetrik assay kiti ile ölçülmüştür. İki aşamalı reaksiyonla önce nitrat, nitrat redüktaz yardımıyla, nitrite dönüştürüldü. Griess reaktifi eklenerek nitrit, koyu mor azo bileşiğine dönüştürüldü. Oluşan kromoforun absorbansı 540 nm'de ölçülerek, standart eğri yardımıyla NO_x konsantrasyonu hesaplandı.

Hemopeksin: Serum düzeyleri kit kullanılarak (Cloud-Clone Corp. ABD) ELISA (Enzim bağlı immünoassay) yöntemiyle ölçülmüştür. Mikroplaka hemopeksine spesifik antikorla kaplanmıştır. Standart ve örnekler eklendikten sonra biyotinle konjüğe edilmiş hemopeksin antikoruna eklenip, kit prensibinde açıklanan ardışık işlemlerle oluşturulan renk 450 nm'de okundu. Kalibrasyon eğrisi yardımıyla örneklerle ait hemopeksin konsantrasyonu hesaplandı.

Asit Sfingomyelinaz: Serum düzeyleri kit kullanılarak (Cloud-Clone Corp. ABD): ELISA yöntemiyle ölçüldü. Mikroplaka asit sfingomyelinaza spesifik antikorla kaplanmıştır. Standart ve örnekler eklendikten sonra biyotinle konjüğe edilmiş AS antikoruna eklendi. Kit prensibinde açıklanan ardışık işlemlerle oluşturulan renk 450

nm'de okundu. Kalibrasyon eğrisi yardımıyla örnekler ait AS konsantrasyonu hesaplandı.

Hemin: Kit (Biovision) kullanılarak kolorimetrik yöntemle ölçülmüştür. Hemin varlığında peroksidaz aktivitesiyle renksiz probun, 570 nm'de absorbans veren renkli bileşiğe dönüşmesi esasına dayanır. Hemoliz sonrası serbestleşen hem molekülünün, ferrik (Fe+3) duruma okside olmasıyla hemin molekülü oluşur. 5-60 pg aralığında çok düşük düzeylerde hemin miktarını ölçmek mümkündür. Bu nedenle serbest hem düzeylerini değerlendirebilmek için hemini kullandık.

CRP düzeyleri immünotürbidimetrik yöntem ile Cobas Integra 800 cihazı (Roche Diagnostics Mannheim, GmbH) ile çalışıldı. Hemoglobin ölçümleri EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinden aynı gün Sysmex XN-1000 cihazında impedans yöntemi ile çalışıldı.

3.3. İstatistiksel Değerlendirme

İstatistiksel analiz: sürekli ölçümlere ait normallik kontrolleri Shapiro Wilk testi ile test edilmiştir. Tekrarlı ölçümler arasındaki farklılıklar Repeated measures testinden yararlanılarak, gruplar arası karşılaştırmalar ise Student t testinden yararlanılarak analiz edilmiştir. Tanımlayıcı istatistikler olarak ortalama ve standart sapma değerleri verilmiştir. İstatistik anlamlılık olarak $p < 0.05$ alınmıştır.

4. BULGULAR

OHH'lı Bireylerin Demografik ve Klinik Bulguları

Çalışmaya dahil edilen 20 ($16,8 \pm 5,1$) erkek, 11 ($15,5 \pm 3,7$) kız toplam 31 hastanın yaş ortalaması $16,4 \pm 4,7$ yılı (yaş aralığı:4-24 yıl). OHH'lı bireylerin 18'i(%58,1) HbSS, 13'ü(%41,9) HbS β^0 genotipe sahipti (Tablo 3).

Hastaların son bir yılda ortalama $3,5 \pm 2,6$ DTK geçirme öyküsü vardı. Son bir yıl içinde 6 (%20) hasta hiç DTK geçirmezken, 1-5 arası geçiren 14 (%45) hasta, 5 ve üzeri DTK geçiren hasta sayısı ise 11(%35)'di.

Hastaların son bir yılda ortalama $1,3 \pm 1,9$ transfüzyon öyküsü vardı. Hastaların tamamı hidroksiüre ve folbiol kullanmaktaydı. Hiçbir hastanın kronik transfüzyon öyküsü yoktu.

Tablo 3. Orak Hücreli Hastalarımızın Klinik ve Demografik Verileri.

OHH'lı hastalar (n=31)	
Yaş(yıl, ortalama)	$16,4 \pm 4,7$ (4-24)
Cinsiyet (%)	
Erkek	20 (64.5)
Kız	11 (35.5)
Genotip (%)	
HBSS	18 (58.1)
HBS β^0	13 (41.9)
Kriz sayısı*	$3,5 \pm 2,6$ (0-9)
Transfüzyon*	$1,3 \pm 1,9$ (0-7)

*= son bir yıldaki kriz ve transfüzyon sayısını belirtir.

Hastalar servise yatırıldıklarında 22 hastada sadece ağrılı kriz, 9 hastada da ise AGS vardı. Ağrılı kriz geçiren hastaların yaş ortalaması $15,7 \pm 4,2$ olarak saptandı bu hastalardan 12'si erkek 10'u ise kızdı. AGS geçiren hastaların yaş ortalaması $18,0 \pm 5,7$ ve 8'i erkek, 1'i ise kız hastaydı.

Hastaların DTK sırasında ortalama $6,1 \pm 6,7$ gün hastanede yattığı gözlemlendi. Ağrılı kriz geçiren hastaların ortalama yatış süreleri $4,2 \pm 2,1$ iken, AGS'li hastaların $10,8 \pm 11,1$ 'di.

Ağrılı kriz geçiren hastalar son bir yılda ortalama $3,9 \pm 2,5$ DTK geçirirken, AGS'li hastalar ortalama $2,78 \pm 3,03$ DTK geçirmiştir.

Ağrılı kriz geçiren hastaların son bir yılda ortalama $1,6 \pm 2,2$ transfüzyon öyküsü varken, AGS'li hastaların ortalama $0,44 \pm 0,73$ transfüzyon öyküsü vardı (Tablo 4).

Tablo 4. Ağrılı kriz ve akut göğüs sendromu olan hastaların demografik ve klinik verileri.

	Ağrılı kriz grubu (n=22)	Akut göğüs sendromu grubu (n=9)
Yaş (yıl, ortalama)	$15,7 \pm 4,2$ (7-24)	$18,0 \pm 5,7$ (4-24)
Cinsiyet (%)		
Erkek	12 (54.5)	8 (88.9)
Kız	10 (45.5)	1 (11.1)
Genotip (%)		
HBSS	13 (59.1)	5 (55.6)
HBS β^0	9 (40.9)	4 (44.4)
Kriz sayısı*	$3,9 \pm 2,5$ (0-8)	$2,78 \pm 3,03$ (0-9)
Transfüzyon*	$1,6 \pm 2,2$ (2-12)	$0,44 \pm 0,73$ (0-2)

*= son bir yıldaki kriz ve transfüzyon sayısını belirtir.

Hastaların tamamına servise yattıkları dönemde IV sürekli ve hasta kontrolü analjezi olacak şekilde morfin tedavisi başlanmış ve hastaların ağrı skalalarına göre doz ayarlaması yapılmıştır.

Tablo 5. Hastaların hemoliz ve inflamasyon parametleri sonuçlarının karşılaştırılması.

		0.gün	3.gün	Durağan dönem	P
Hemoglobin (µ/dl)	Ağrılı kriz geçiren (n=22)	8,96 ±1.2	8,66 ± 1,1	9,03± 1,2	0,407
	Akut göğüs sendromu (n=9)	8,77 ± 1,2	8,41 ± 1,0	10,04 ± 1,0 [†]	0,025
	P	0,703	0,652	0,043	
	Toplam (n=31)	8,90± 1,2	8,58±1,0*	9,32±1,2 [†]	0,047
Beyaz küre (µ/dl)	Ağrılı kriz geçiren (n=22)	13.201,82±6.751,0	9.977,50±4.230,2	9.860,45±3.776,3	0,122
	Akut göğüs sendromu (n=9)	22.286,67±13.815,6	19.343,33±15.068,4	12.318,89±3.798,2	0,131
	P	0,019	0,191	0,111	
	Toplam (n=31)	15.839,3±10.018,7	13.099,4±9.949,8*	10.574,1±3.887,9*	0,026
Trombosit (µ/dl)	Ağrılı kriz geçiren (n=22)	417.954,5±143.751,5	376.916,67±146.587,5	445.545,45±223.507,6	0,316
	Akut göğüs sendromu (n=9)	395.666,6±127.711,5	379.833,3±121.229,3	762.222,2±283.469,0	0,068
	P	0,689	0,967	0,002	
	Toplam (n=31)	411.483,8±137.551,1	377.888,89±135.012,8*	537.483,8±278.832,7 [†]	0,045
LDH (U/l)	Ağrılı kriz geçiren (n=22)	620,9±236,2	529,3±152,7	533,7±217,1	0,080
	Akut göğüs sendromu (n=9)	1.044,4±1.332,2	809,6±359,5	392,1±128,8	0,083
	P	0,370	0,118	0,079	
	Toplam (n=31)	743,8±742,0	622,7±267,5	492,6±204,1* [†]	0,028
Asid Sfinyonyelinaz (ng/ml)	Kriz geçiren(n=22)	341,62±74,5	394,50±40,8	310,56±65,4 [†]	0,047
	Akut göğüs sendromu (n=9)	309,55±61,3	315,55±96,8	293,19±75,7	0,382
	P	0,267	0,105	0,530	
	Toplam (n=31)	332,001±71,352	366,640±74,063	305,35±67,8 [†]	0,019
Hemopeksin (ug/ml)	Ağrılı kriz geçiren (n=22)	418,49±251,1	289,72±126,1	416,97±113,7	0,058
	Akut göğüs sendromu (n=9)	316,08±139,7	279,56±124,2	436,90±126,1	0,056
	P	0,263	0,875	0,685	
	Toplam (n=31)	387,77±226,2	286,13±121,6*	422,47±115,3 [†]	0,003
Hemin (µM)	Ağrılı kriz geçiren (n=22)	70,95±35,4	77,69±45,1	76,41±40,3	0,949
	Akut göğüs sendromu (n=9)	68,79±42,1	42,70±25,1	66,81±37,5	0,278
	P	0,885	0,099	0,545	
	Toplam (n=31)	70,32±36,7	66,02±42,3	73,62±39,1	0,712
		0.gün	3.gün	Durağan dönem	P
Nitrit/nitrat (µM)	Ağrılı kriz geçiren (n=22)	36,41±20,05	31,342±10,1	39,01±22,5	0,685

	Akut göğüs sendromu (n=9)	29,90±11,1	31,258±10,7	37,61±14,7 [†]	0,007
	P	0,371	0,987	0,865	
	Toplam (n=31)	34,45±17,9	31,31±10,0	38,59±20,2	0,338
Haptoglobin (g/l)	Ağrılı kriz geçiren(n=12)	0,01 ± 0,01	0,07 ± 0,2	0,101±0,3	0,382
	Akut göğüs sendromu (n=5)	0,01±0,01	0,07±0,1	0,074±0,1	0,733
	P	0,138	0,991	0,998	
	Toplam (n=31)	0,04±0,1	0,07±0,2	0,061±0,2	0,317
CRP (mg/l)	Ağrılı kriz geçiren (n=22)	20,2±31,0	4,0±2,3		0,02
	Akut göğüs sendromu(n=9)	98,1±96,9	3,6±2,2		<0,01
	P	0.042	0,64		
	Toplam(n=31)	42,3±66,8	3,9±2,2		0,03

*: 0.gün ile olan farklılıkları †: 3.gün ile olan farklılıkları göstermektedir.

Hemoglobin parametresi incelendiğinde;

Hastaların (n=31) durağan dönemdeki ortalama Hb değerleri 9,32±1,2 µ/dl, yatışının 0. gününde 8,90±1,2 µ/dl ve yatışının 3. gününde 8,58±1,0 µ/dl olarak saptandı. 0. gün değerlerinin 3. güne göre (p=0,032) ve durağan dönem değerlerinin 3. güne göre (p=0,033) istatistiksel olarak yüksek olduğu saptandı.

Hastalar gruplara ayrıldığında;

Ağrılı kriz geçiren hastalar (n=22) için; durağan dönemdeki ortalama Hb değerleri 9,03±1,2 µ/dl, yatışının 0. gününde 8,96±1,2 µ/dl ve yatışının 3. gününde 8,66±1,1 µ/dl olarak bulundu.

AGS'li hastalar (n=9) için; durağan dönemdeki ortalama Hb değerleri 10,04±1,0 µ/dl, yatışının 0. gününde 8,7±1,2 µ/dl ve yatışının 3. gününde 8,41±1,0 µ/dl olarak saptandı.

AGS'li hastaların Hb değerleri açısından değerlendirildiğinde 0.gün ile 3.gün arasında (p=0,111) ve 0.gün ile durağan dönem arasında (p=0,062) farklılık yokken sadece 3.gün değerlerinin durağan döneme göre istatistiksel olarak yüksek (p=0,025) olduğu saptandı.

Ağrılı kriz geçiren hastalarla AGS'li hastaların durağan dönemdeki Hb değerleri karşılaştırıldığında, AGS'li hastaların ortalama Hb değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek olduğu gözlemlendi (p=0,043).

Beyaz küre bakımından incelendiğinde;

Hastaların (n=31) durağan dönemdeki ortalama BK değerleri 10.574,19±3.887,9 µ/dl, yatışının 0.gününde 15.839,35±10.018,7 µ/dl ve yatışının 3.gününde 13.099,44±9.949,8 µ/dl olarak saptandı. 0. gün değerlerinin 3. güne (p=0,032) ve 3. gün değerlerindeki durağan (p=0,033) döneme göre istatistiksel olarak yüksek olduğu gözlemlendi.

Hastalar gruplara ayrıldığında;

Ağrılı kriz geçiren hastalar (n=22) için; durağan dönemdeki ortalama BK değerleri 9.860,4±3.776,3 µ/dl, yatışının 0. gününde 13.201,82±6.751,0 µ/dl ve yatışının 3. gününde 9.977,50±4.230,2 µ/dl olarak saptandı.

AGS'li hastalar (n=9) için; durağan dönemdeki ortalama BK değerleri 12.318,89±3.798,2 µ/dl, yatışının 0.gününde 22.286,67±13.815,6 µ/dl ve yatışının 3.gününde 19.343,33±15.068,4 µ/dl olarak saptandı.

0.gün alınan BK ölçümlerinin AGS'li hastalarda ağrılı kriz geçirenlerle oranla istatistiksel olarak yüksek olduğu gözlemlendi (p=0,019).

Trombosit sonuçları incelendiğinde;

Hastaların (n=31) durağan dönemdeki ortalama trombosit değerleri 537.483,87±278.832,7 µ/dl, yatışının 0.gününde 411.483,87±137.551,1 µ/dl ve yatışının 3.gününde 377.888,89±135.012,8 µ/dl olarak saptandı. 0.gün değerlerinin 3.güne (p=0,01) ve durağan dönem değerlerindeki 3.güne göre istatistiksel olarak yüksek olduğu (p=0,026) gözlemlendi.

Hastalar gruplara ayrıldığında;

Ağrılı kriz geçiren hastalar (n=22) için; durağan dönemdeki ortalama trombosit değerleri 445.545,45±223.507,6 µ/dl, yatışının 0. gününde 417.954,55±143.751,5 µ/dl ve yatışının 3. gününde 376.916,67±146.587,5 µ/dl olarak bulundu.

AGS'li hastalar (n=9) için; durağan dönemdeki ortalama trombosit değerleri 762.222,22±283.469,0 µ/dl, yatışının 0.gününde 395.666,67±127.711,5 µ/dl ve yatışının 3.gününde 379.833,33±121.229,3 µ/dl olarak saptandı.

Durağan dönemdeki AGS'li hastaların trombosit ölçümleri ağrılı kriz geçiren hastalardan istatistiksel olarak yüksek bulundu (p=0,002).

LDH sonuçları incelendiğinde;

Hastaların (n=31) durağan dönemdeki ortalama LDH değerleri $492,61 \pm 204,1$ U/l, yatışının 0.gününde $743,87 \pm 742,0$ U/l ve yatışının 3.gününde $622,78 \pm 267,5$ U/l olarak saptandı. 0. gün değerlerinin durağan (p=0,015) döneme ve 3.gün değerlerindeki durağan döneme (p=0,042) göre istatistiksel olarak yüksek olduğu saptandı.

Hastalar gruplara ayrıldığında;

Ağrılı kriz geçiren hastalar (n=22) için; durağan dönemdeki ortalama trombosit değerleri $533,73 \pm 217,1$ U/l, yatışının 0. gününde $620,91 \pm 236,2$ ve yatışının 3. gününde $529,33 \pm 152,7$ U/l olarak saptandı.

AGS'li hastalar (n=9) için; durağan dönemdeki ortalama trombosit değerleri $392,11 \pm 128,8$ U/l, yatışının 0.gününde $1.044,44 \pm 1.332,2$ U/l ve yatışının 3.gününde $809,67 \pm 359,5$ olarak saptandı.

Ağrılı kriz geçiren hastalar ile AGS'li hastalar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunmadı.

Asid sfingomyelinaz parametresi incelendiğinde;

Hastaların (n=31) durağan dönemdeki ortalama AS değerleri $305,35 \pm 67,8$ ng/ml, yatışının 0.gününde $332,00 \pm 71,3$ ng/ml ve yatışının 3.gününde $366,64 \pm 74,0$ ng/ml olarak saptandı. 3. gün değerlerin durağan dönemden istatistiksel olarak yüksek olduğu gözlenmiştir (p=0,018).

Hastalar gruplara ayrıldığında;

Ağrılı kriz geçiren hastalar (n=22) için; durağan dönemdeki ortalama AS değerleri $310,56 \pm 65,4$ ng/ml, yatışının 0. gününde $341,62 \pm 74,5$ ng/ml ve yatışının 3. gününde $394,50 \pm 40,8$ ng/ml olarak bulundu.

AGS'li hastalar (n=9) için; durağan dönemdeki ortalama AS değerleri $293,19 \pm 75,7$ ng/ml, yatışının 0.gününde $309,553 \pm 61,3$ ng/ml ve yatışının 3.gününde $315,55 \pm 96,8$ ng/ml olarak bulundu.

Ağrılı kriz geçiren grupta tekrarlanan AS ölçümleri arasında anlamlı farklılık bulunmuştur (p=0,047). Farklılık incelendiğinde ise 3.gün değerlerinin durağan döneme oranla istatistiksel olarak yüksek olduğu gözlemlendi (p=0,018).

Hemopeksin parametresi incelendiğinde;

Hastaların (n=31) durağan dönemdeki ortalama Hpx değerleri 422,47±115,3 ug/ml, yatışının 0.gününde 387,77±226,2 ug/ml ve yatışının 3.gününde 286,13±121,6 ug/ml olarak saptandı. 0.gün değerleri 3.güne(p=0,002), 3. gün değerleride durağan döneme (p=0,007) oranla istatistiksel olarak yüksek olduğu gözlemlenmiştir.

Hastalar gruplara ayrıldığında;

Ağrılı kriz geçiren (n=22) hastalar için; durağan dönemdeki ortalama Hpx değerleri 416,97±113,7 ug/ml, yatışının 0. gününde 418,49±251,1 ug/ml ve yatışının 3. gününde 289,72±126,1 ug/ml olarak bulundu.

AGS'li hastalar (n=9) için; durağan dönemdeki ortalama Hpx değerleri 436,90±126,1 ug/ml, yatışının 0.gününde 316,08±139,7 ug/ml ve yatışının 3.gününde 279,56±124,2 ug/ml olarak bulundu.

Ağrılı kriz geçiren ile AGS'li hastalar arasında Hpx düzeyleri açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Hemin parametresi incelendiğinde;

Hastaların(n=31) durağan dönemdeki ortalama hemin değerleri 73,62±39,1 µM, yatışının 0.gününde 70,32±36,7 µM ve yatışının 3.gününde 66,02±42,3 µM olarak saptandı.

Hastalar gruplara ayrıldığında;

Ağrılı kriz geçiren hastalar (n=22) için; durağan dönemdeki ortalama hemin değerleri 76,41±40,3 µM, yatışının 0. gününde 70,95±35,4 µM ve yatışının 3. gününde 77,69±45,1 µM olarak saptandı.

AGS'li hastalar (n=9) için; durağan dönemdeki ortalama hemin değerleri 66,81±37,5 µM, yatışının 0.gününde 68,79±42,1 µM ve yatışının 3.gününde 42,70±25,1 µM olarak bulundu.

Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.

Nitrit/nitrat parametresi incelendiğinde;

Hastaların (n=31) durağan dönemdeki ortalama NOx değerleri 38,59±20,2 µM, yatışının 0.gününde 34,45±17,9 µM ve yatışının 3. gününde 31,31±10,0 µM olarak saptandı.

Hastalar gruplara ayrıldığında;

Ağrılı kriz geçiren hastalar (n=22) için; durağan dönemdeki ortalama NOx değerleri 39,02±22,5 µM, yatışının 0. gününde 36,41±20,0 µM ve yatışının 3. gününde 31,34±10,1 µM olarak saptandı.

AGS grubu (n=9) için; durağan dönemdeki ortalama NOx değerleri 37,61±14,7 µM, yatışının 0.gününde 29,90±11,1 µM ve yatışının 3.gününde 31,25±10,7 µM olarak saptandı.

AGS'li hastalarda, tekrarlanan ölçümler arasında NOx düzeyi açısından anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Farklılıklar incelendiğinde ise, durağan dönemdeki değerler 0.güne (p=0,05) ve 3.güne oranla istatistiksel olarak yüksek olduğu gözlemlendi (p=0,007).

Haptoglobulin parametresi incelendiğinde;

Hastaların (n=31) stabil dönemdeki ortalama Hp değerleri 0,06±0,2 g/l, yatışının 0.gününde 0,04±0,1 g/l ve yatışının 3.gününde 0,07±0,2 g/l olarak saptandı.

Hastalar gruplara ayrıldığında;

Ağrılı kriz geçiren hastalar (n=22) için; durağan dönemdeki ortalama Hp değerleri 0,101±0,333, yatışının 0. gününde 0,015±0,0 g/l ve yatışının 3. gününde 0,07 ± 0,2 g/l olarak saptandı.

AGS'li hastalar (n=9) için; durağan dönemdeki ortalama Hp değerleri 0,07±0,1 g/l, yatışının 0.gününde 0,01±0,0 g/l ve yatışının 3.gününde 0,01±0,1 g/l olarak bulundu.

Gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi.

Tablo 6. OHH hastalarının ağrı skalaları ile yatış süresi arasındaki korelasyon analizi.

		Ağrı 2. gün	Ağrı 3.gün	Ağrı 4.gün	Yatış süresi
Ağrı 1.gün	r	0,764	0,378	0,254	0,433
	P	<0,001	0,043	0,295	0,015
Ağrı 2.gün	r		0,684	0,562	0,627
	P		<0,001	0,012	<0,001
Ağrı 3.gün	r			0,809	0,605
	P			<0,001	0,001
Ağrı 4.gün	r				0,510
	P				0,026

Hastaların ağrı skalaları ile 1. gün ile 2. gün, 3. gün ve yatış süresi arasında aynı yönlü doğrusal ilişki saptandı. Birinci gün ağrı değeri arttıkça 2., 3. gün ağrı ve yatış süresinde artış bulundu (sırasıyla p değerleri $<0,001$; $0,043$; $0,015$).

İkinci gün incelendiğinde; 2. günde ağrı arttıkça 3. gün, 4. gün ağrı ve yatış süresinin arttığı gözlemlendi (sırasıyla p değerleri $<0,001$; $0,012$; $<0,001$) (Tablo 6).



5. TARTIŞMA

Orak hücre hastalığı, basit halk sağlığı müdahalelerinin uzun vadeli sağlık yükünü azaltmada önemli ölçüde yardımcı olabileceği, düşük ve orta gelirli ülkelerde yüksek mortalite ile ilişkili olan ve sağlık maliyetlerinin yüksek olduğu, ciddi bir hastalıktır. DTK'lar OHH'nın en önemli klinik bulgularını oluşturmaktadır. Bu durum, tekrarlayan ağrılı ataklar, yaşam boyu sakatlıklar ve hatta ölüme neden olabilecek çeşitli organ hasarlarına neden olmaktadır. Hastalığın moleküler yapısı oldukça iyi tanımlanmasına rağmen, DTK'ların karmaşık mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır. DTK; çok basamaklı, eritrosit dışında birçok kan hücresinin de aktif olarak katıldığı, inflamatuvar uyarı ile birlikte lökositlerin damar endoteline adezyonun ve eritrositlerin damar içi hemolizi sonucu açığa çıkan hem gibi moleküllerin patogeneizde önemli rol oynadığı karmaşık bir durum olarak tanımlanmaktadır.

Çalışmamızda OHH'lı hastalarımızda; DTK patogenezinde önemli rol oynayan damar içi hemoliz ile ilişkili parametreleri incelemek ve bu parametrelerin klinik bulgularla ilişkisini araştırmayı amaçladık. Bu amaçla hem DTK sırasında hem de durağan dönemde damar içi hemoliz ile ilişkili parametrelerden olan Hb, LDH, hemin, Hp, Hpx, AS ve NOx düzeylerini karşılaştırdık.

Orak hücreli hastalıklı hastalarda durağan dönemde Hb düzeyi 7-10 gr/dl'dir. Hemolitik kriz, sekestrasyon krizi, aplastik krizi gibi durumlarda Hb düzeyinde düşüklük saptanmaktadır. Hb düzeyindeki düşüklüğün bir diğer nedenide DTK sırasındaki damar içi hemolizdir. Bu hemoliz sırasında, eritrositlerin parçalanması sonucunda, Hb düzeyinde krizin şiddetine bağlı olarak farklı değerlerde düşüklük görülebilmektedir. Çalışmamızda bu bilgiye paralel olarak, OHH'lı hastaların Hb düzeylerini, DTK sırasında durağan döneme göre belirgin olarak düşük saptadık ($p=0,047$). Ayrıca AGS olan hastalarda bu düşüklüğün daha belirgin olduğunu gözlemledik. Literatürde durağan dönemdeki yüksek Hb değerinin AGS gelişmesi için bir risk faktörü olduğu belirtilmektedir.²⁴⁸ Çalışmamızda literatürle uyumlu olarak; AGS'li hastalarda durağan dönem Hb düzeyini ağrılı kriz grubuna göre anlamlı oranda yüksek bulduk ($p=0,043$).

Çok sayıda kohort çalışmasında, hemolitik anemi şiddetinin TRJH tarafından tahmin edilen ve doğrudan sağ kalp kateterizasyonu ile ölçülen artan basınçlarla ilişkisini değerlendirmiştir. Bu çalışmaların birçoğu, tahmini veya

doğrudan ölçülen pulmoner arter basınçları ile azalmış egzersiz kapasitesi ve / veya ölüm riski arasındaki ilişkiyi de araştırılmıştır. Bu çalışmalar Duke²⁴⁹, UNC²⁵⁰, MSH²⁵¹, CSSCD²⁵², PUSH^{253,254}, Walk-PHASST²⁵⁵ ve Fransa'da Créteil'de (656 OHH hastası) ekokardiyografik tarama çalışmalarıdır.²⁵⁶ Hem Walk-PHASST hem de Créteil kohortlarındaki 600 tarama hastasının sonuçlarına göre; hemolitik anemi indeksleri ile yüksek TRVJ ve ölüm riski arasında benzer ilişkiler bulmuştur.^{255,256}

Damar içi eritrosit hemolizinin bir bulgusu da serum LDH düzeyinin artmasıdır. Morin ve ark. yaptıkları bir çalışmada; artmış LDH düzeyi olan OHH'lı hastaların klinik bulgularının daha ağır olduğu, hastanede yatış süresi ve opioid kullanım ihtiyacı ile LDH düzeyi arasında pozitif bir korelasyon olduğu bildirilmiştir.²⁵⁷ Biz de literatürle uyumlu olarak LDH düzeyini DTK olan hastalarda durağan hastalara göre anlamlı oranda yüksek bulduk ($p=0.028$). Ayrıca bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı olmasa da AGS grubunda daha belirgindi. Bunun yanında düzeylerin 3. günde düşmeye başladığını gözlemledik.

Hemoliz sırasında, eritrositlerden salınan Hb ve hem oksidatif stres, enflamasyon ve trombozu teşvik eder. Plazma Hp ve Hpx sırasıyla serbest Hb ve hem temizleyicisidir, ancak hemolitik durumlarda tükenebilir. Fareler üzerinde yapılan çalışmada plazma Hp ve Hpx düzeyleri kronik intravasküler hemoliz nedeniyle tükendiği gözlemlenmiştir.²

Haptoglobulin ve Hx, sırasıyla yüksek afiniteli Hb ve hem ile bağlanarak, pro oksidan etkilerini bloke eder. HO-1 hem halkasını demir, karbon monoksit ve biliverdin olarak parçalayarak, birincil anti-enflamatuar, antioksidan ve antiapoptotik etkiler uygular.^{258,259,260,261} Hemolitik hastalıklarda, yüksek hemoliz hızı plazma Hb / hem süpürücü sistemlerin tükenmesiyle sonuçlanır ve damar endotel hücreleri üzerinde pro-oksidan ve proinflamatuar etkilere aracılık eden dolaşımda Hb ve heminin birikmesine neden olur.²⁶²

Yaklaşık 50 yıl önce, Ursula Muller-Eberhard, çeşitli hemolitik durumlarda Hpx ve haptoglobin seviyelerini ölçerek, OHH hastalarının her iki proteinin de en düşük seviyelerine sahip olduğunu göstermiştir.²⁶³

Yine 2018 yılında Santiago ve ark. Brezilya'da durağan dönemdeki Hb SS, SC ve AA'lı çocuklarda serum hem, Hp ve Hpx düzeyleri ile ilgili yaptıkları çalışmada; Hb SS ve SC hastalarının AA kontrollerinden daha düşük Hp ve Hpx düzeylerine (SS < SC < AA) sahip olduğu gösterilmiştir.²⁶⁴ Bizim çalışmamızda da damar içi hemoliz sonucu açığa çıkan hemin düzeyleri hasta gruplarımız arasında incelendi. Beklenilen aksine DTK grubunda serum hemin düzeyinde bir artış saptayamadık. Buna karşılık hemini plazmadan parçalayarak uzaklaştıran protein olan Hpx'nin DTK grubunda durağan döneme göre belirgin olarak azaldığını ($p=0.003$) ve bu azalmanın yatışın 3. gününde daha belirgin olduğunu tespit ettik. Hemin düzeyindeki beklenen artışı görmememizin nedeni; Hpx'nin hemini, biz düzeyindeki artışı görmeden ortamdan uzaklaştırmış olabileceğini düşünmekteyiz.

Orak hücre hastalığı NO rezervini azaltan kronik bir enflamatuvar durumdur. NO normalde endotel tarafından üretilir ve bazal damar tonusunu düzenler, hemostatik aktivasyonu ve yapışma moleküllerini baskılar, ROS seviyelerini azaltır. NO'nun OHH'daki potansiyel önemi, son on yılda yapılan araştırmalara konu olmuştur. NO'nun azalmasının, OHH patofizyolojisinde önemli bir mekanizma olduğu kabul edilmektedir.²⁴¹

İntravasküler hemoliz sırasında ortaya çıkan biyokimyasal ve fizyolojik bozukluklar, tipik olarak eritrosit içindeki Hb'nin NO ile reaksiyonunu düzenleyen difüzyonel bariyerlerin bozulması ile ilgilidir.^{265,266} Serbest Hb, endotel hücresi tarafından üretilen NO ile neredeyse difüzyon sınırlı hızlarda reaksiyona girebilir, bu da NO'nin Hb tarafından nitrat ve methemoglobin oluşumu ile hızlı bir şekilde oksijenlenmesini sağlar.^{267,268} Bu hızlı reaksiyonlar NO'nun endotelyumdan düz kaslara yayılmasını büyük ölçüde sınırlandırır. Sonuç olarak, düz kas guanil siklaz aktive edilmez ve vasküler gevşeme ve vazodilatasyon baskılanır.²⁶⁹ Ek olarak, serbest Hb, endotel ve düz kas hücreleri arasındaki boşluklara hızlı bir şekilde geçiş yaparak NO'yu daha da azaltır, böylece düz kas hücrelerine yayılmasını engeller.²⁷⁰

Kaul ve ark. NO-bağımlı vazodilatasyonun insan orak hücre modelinde bozulduğunu göstermiştir.²⁷¹ Baş ve meslektaşları; orak hücre fare modelinde NO inhalasyonunun, aşırı hipoksiye maruz kaldığında sağkalımı iyileştirdiğini göstermiştir.²⁷² Romero ve ark. diyetle verilen arjininin orak fare modelinde Gardos kanalının inhibisyonu yoluyla eritrosit yoğunluğunu ve eritrositlerin

oraklaşma potansiyelini azalttığını öne sürmüştür.²⁷³ Inhale NO'nun orak hücre fare modelinde hipoksi/reoksijenasyonun ardından akciğer hasarından koruduğu da gösterilmiştir.²⁷⁴ Baş ve ark., yaptıkları bir diğer çalışmada NO inhalasyonunun, P-selektin baskılaması yoluyla oraklaşmış eritrositlerin adezyonunu azalttığını bildirmişlerdir.²⁷⁵

1997 yılında Head, Zapol ve ark., NO inhalasyonunun orak hücre Hb'nin oksijen afinitesini, belki de HbS'in çözünürlüğünün artmasından dolayı artırdığını öne sürmüşler.²⁷⁶ Bununla birlikte, Gladwin ve ark., insanlarda yapılan bir çalışmada da, inhale edilen NO'nun başka şekillerde yararlı olmasına rağmen, oksijen afinitesini etkilemediğini bulmuştur.²⁷⁷

Erken olgu sunumları ve küçük plasebo kontrollü klinik çalışmalar, OHH'lı hastalarda NO'nun klinik bulgular üzerinde olumlu anlamda etkili olabileceğini öne sürmüştür.^{309,310} Inhale NO'nun, DTK'lı 20 hastanın morfin kullanımını ve ağrı skorlarını anlamlı derecede düşürdüğü gösterilmiştir.²⁷⁸

Nitrik oksit yarı ömrü çok kısa olduğu için, NO metaboliti olan nitrit/nitrat (NO_x) kullanılan çalışmamızda; DTK'lı grupta NO_x düzeyinin durağan döneme göre anlamlı oranda düştüğünü gözlemledik (p=0,007).

Akut göğüs sendromlu hastalarda Hb, Hpx ve NO_x düzeylerinde düşme ve LDH düzeyindeki artışın, ağrılı kriz ve durağan döneme göre daha belirgin olması; damar içi hemolizin AGS'li hastalarda daha belirgin olduğu ve bu durumun AGS patogenezinde önemli rol alabileceği düşünülmektedir.

Orak eritrositler, membran stresi, enflamasyon ve sfingolipid metabolizması arasındaki ilişki ilginç bir model sistemdir. AS salınımı, endotel ve miyeloid hücrelerinden, artmış eritrosit yapımı ve kronik enflamasyon sonucu artar.²⁴⁴ Bu iki durum da OHH'da beklenen bir bulgu olduğu için AS düzeyinin OHH'lı hastalarda artmış olması kaçınılmaz bir sonuçtur.²⁴⁵⁻²⁴⁷

2014 yılında Keegen ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada, orak eritrositlerindeki membran değişikliklerinin AS aktivitesini %13 arttırdığını, dolaylı olarak da sfingozin'nin üretim ve depolanmasını da arttırdığını göstermişlerdir. Ayrıca AS'nin, orak eritrositlerden türetilmiş mikropartikül oluşumunu da arttırdığını bildirmişlerdir.

Yine aynı çalışmada, orak eritrosit fare modelinde, hücreler hipoksi ile indüklendiğinde, AS aktivitesinde bir artış saptanmıştır.

2012 yılında López ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, eritrosit membranlarındaki stresin, AS aktivasyonunu geçici olarak arttırdığı gösterilmiştir.²⁷⁹

Çalışmamızda AS düzeyinin DTK'lı hastalarda durağan döneme göre arttığı, bu artışın özellikle yatışın 3. gününde yani klinik bulguların iyileşmeye başladığı dönemde daha belirgin olduğunu saptadık ($p<0,01$). Hatta sadece ağrılı krizi olan hastalarda bu artışın daha da belirgin olduğunu gözlemledik ($p=0.04$). Bu sonuçla birlikte AS'nin OHH patogenezindeki rolünün daha geç dönemde başlamış olabileceğini düşünmekteyiz.

İnflamasyon OHH patogenezinde önemli bir rolü olduğu uzun zamandan beri bilinmekte ve hatta bu hastalık kronik inflamatuvar bir hastalık olarak da tanımlanmaktadır. Klinik pratikte inflamasyonu gösteren en temel belirteçler BK ve CRP yüksekliğidir. Yapılan çalışmalarda hastaların hem durağan hem de kriz döneminde BK ve CRP düzeylerinin arttığı, hatta bu artışın, hastalığın prognozu ile ilişkisi olduğu bildirilmektedir.

Araştırmamızda literatürle uyumlu olarak BK düzeyi istatistiksel olarak anlamlı olmasa da DTK grubunda durağan döneme göre yüksek saptandı. Yükseklik AGS grubunda, ağrılı kriz grubuna göre çok daha belirgin iken ($p=0,01$), 3. günde BK düzeylerinin düştüğü gözlemlendi. Benzer olarak DTK grubunda 0. gün CRP düzeyleri durağan döneme göre belirgin yüksekti ($p=0,03$).

Çalışmamıza katılan tüm hastaların ortalama yatış süresi 6,1 gündü. Yatış süresi AGS'li hastalarda ağrılı krizi olanlara göre belirgin olarak yüksekti. Ayrıca hastaların günlük ağrı durumu ve yatış süresi arasındaki korelasyona bakıldığında; iki parametre arasında beklendiği gibi pozitif korelasyon saptandı. Bu sonuçla birlikte OHH'lı hastalara, DTK bulgularının başladığı en erken dönemlerde analjezik ve sıvı tedavisinin başlanması, hastanın ağrı yönetiminin iyi bir şekilde yapılması gerektiğini düşünmekteyiz. Uygun tedavilerin yapılamadığı hastalarda yatış süresinin uzaması ve beraberinde diğer organ ilişkili komplikasyonlarında gelişmesi kaçınılmaz olacaktır.

Karmaşık bir patogeneze sahip olan OHH'da patogenezin önemli bir kısmını da damar içi eritrosit hemolizi ve buna bağlı gelişen bir dizi reaksiyon oluşturmaktadır. Damar içi hemolizin DTK gelişimindeki rolünü araştırdığımız çalışmamızda; literatürde belirtildiği gibi, hemoliz belirteçlerinin DTK döneminde durağan döneme göre anlamlı oranda farklı olduğunu tespit ettik. AGS'li

hastalarda Hb ve NO düzeylerindeki düşüşün daha belirgin olması nedeni ile bu grupta hemolizin patogeneizde daha ön planda olabileceğini düşünmekteyiz. Ayrıca hastaların hastaneye yattıkları, ilk günde hemolizin başlamış olduğu ve 3. günde hemolizin azalmış olduğu gözlemlendi. Bu bulgu ile hastaların ağrı gibi DTK'yı düşündürecek bulgularının başladığı ilk saatlerde, hemolizin başlamış olabileceği düşünülebilir. Ayrıca bundan sonraki dönemlerde, yeni geliştirilecek, eritrosit hemolizini önleyen ya da hem gibi toksik maddelerin kandan uzaklaştırılmasını sağlayan tedavilerin, belkide hastanın ilk bulgularının başladığı dönemde verilmesi gerekliliği tartışılacaktır. Çalışmamız damar içi hemolizin klinik bulgularla ilişkisinin araştırıldığı ilk çalışma olması nedeniyle oldukça önemlidir. Ancak kısıtlı sayıda hastamız olması nedeniyle daha geniş hasta katılımlı çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6. SONUÇLAR

- 1) Çalışmaya dahil edilen 20 ($16,8 \pm 5,1$) erkek, 11 ($15,5 \pm 3,7$) kız toplam 31 hastanın yaş ortalaması $16,4 \pm 4,7$ yıldır (yaş aralığı: 4-24 yıl).
- 2) OHH'lı bireylerin 18'i (%58,1) HbSS, 13'ü (%41,9) HbS β^0 genotipe sahipti.
- 3) Hastaların son bir yılda ortalama $3,5 \pm 2,6$ DTK geçirme öyküsü vardı. Son bir yıl içinde 6 (%20) hasta hiç DTK geçirmezken, 1-5 arası geçiren 14 (%45) hasta, 5 ve üzeri DTK geçiren hasta sayısı ise 11 (%35)'di.
- 4) Hastaların son bir yılda ortalama $1,3 \pm 1,9$ transfüzyon öyküsü vardı. Hastaların tamamı hidroksiüre ve folbiol kullanmaktaydı. Hiçbir hastanın kronik transfüzyon öyküsü yoktu.
- 5) Hastalar servise yatırıldıklarında 22 hastada sadece ağrılı kriz, 9 hastada da ise AGS vardı. Ağrılı kriz geçiren hastaların yaş ortalaması $15,7 \pm 4,2$ olarak saptandı bu hastalardan 12'si erkek 10'u ise kızdı. AGS geçiren hastaların yaş ortalaması $18,0 \pm 5,7$ ve 8'i erkek, 1'i ise kız hastaydı.
- 6) Hastaların DTK sırasında ortalama $6,1 \pm 6,7$ gün hastanede yattığı gözlemlendi. DTK geçiren hastaların ortalama yatış süreleri $4,2 \pm 2,1$ iken, AGS'li hastaların $10,8 \pm 11,1$ 'di.
- 7) Ağrılı kriz geçiren hastalar son bir yılda ortalama $3,9 \pm 2,5$ DTK geçirirken, AGS'li hastalar ortalama $2,78 \pm 3,03$ DTK geçirmişti.
- 8) Ağrılı kriz geçiren hastaların son bir yılda ortalama $1,6 \pm 2,2$ transfüzyon öyküsü varken, AGS'li hastaların ortalama $0,44 \pm 0,73$ transfüzyon öyküsü vardı.
- 9) Ağrılı kriz geçiren hastalar (n=22) için; durağan dönemdeki ortalama Hb değerleri $9,03 \pm 1,2$ μ /dl, yatışının 0. gününde $8,96 \pm 1,2$ μ /dl ve yatışının 3. gününde $8,66 \pm 1,1$ μ /dl olarak bulundu.
- 10) AGS'li hastaların Hb değerleri açısından değerlendirildiğinde 0.gün ile 3.gün arasında (p=0,111) ve 0.gün ile durağan dönem arasında (p=0,062) farklılık yokken sadece 3.gün değerlerinin durağan döneme göre istatistiksel olarak yüksek olduğu saptandı (p=0,025).
- 11) Ağrılı kriz geçiren hastalarla AGS'li hastaların durağan dönemdeki Hb değerleri karşılaştırıldığında, AGS'li hastaların ortalama Hb değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek olduğu gözlemlendi (p=0,043).

- 12) Hastaların (n=31) durağan dönemdeki ortalama BK değerleri $10.574,19 \pm 3.887,9$ μ /dl, yatışının 0.gününde $15.839,35 \pm 10.018,7$ μ /dl ve yatışının 3.gününde $13.099,44 \pm 9.949,8$ μ /dl olarak saptandı. 0. gün değerlerinin 3. güne (p=0,032) ve 3. gün değerlerindeki durağan (p=0,033) döneme göre istatistiksel olarak yüksek olduğu gözlemlendi.
- 13) Ağrılı kriz geçiren hastalar (n=22) için; durağan dönemdeki ortalama BK değerleri $9.860,4 \pm 3.776,3$ μ /dl, yatışının 0. gününde $13.201,82 \pm 6.751,0$ μ /dl ve yatışının 3. gününde $9.977,50 \pm 4.230,2$ μ /dl olarak saptandı.
- 14) AGS'li hastalar (n=9) için; durağan dönemdeki ortalama BK değerleri $12.318,89 \pm 3.798,2$ μ /dl, yatışının 0.gününde $22.286,67 \pm 13.815,6$ μ /dl ve yatışının 3.gününde $19.343,33 \pm 15.068,4$ μ /dl olarak saptandı.
- 15) 0.gün alınan BK ölçümlerinin AGS'li hastalarda ağrılı kriz geçirenlerle oranla istatistiksel olarak yüksek olduğu gözlemlendi (p=0,019).
- 16) Hastaların (n=31) durağan dönemdeki ortalama trombosit değerleri $537.483,87 \pm 278.832,7$ μ /dl, yatışının 0.gününde $411.483,87 \pm 13.7551,1$ μ /dl ve yatışının 3.gününde $377.888,89 \pm 135.012,8$ μ /dl olarak saptandı. 0.gün değerlerinin 3.güne (p=0,01) ve durağan dönem değerlerindeki 3.güne göre istatistiksel olarak yüksek olduğu (p=0,026) gözlemlendi.
- 17) Ağrılı kriz geçiren hastalar (n=22) için; durağan dönemdeki ortalama trombosit değerleri $445.545,45 \pm 223.507,6$ μ /dl, yatışının 0. gününde $417.954,55 \pm 143.751,5$ μ /dl ve yatışının 3. gününde $376.916,67 \pm 146.587,5$ μ /dl olarak bulundu.
- 18) AGS'li hastalar (n=9) için; durağan dönemdeki ortalama trombosit değerleri $762.222,22 \pm 283.469,0$ μ /dl, yatışının 0.gününde $395.666,67 \pm 127.711,5$ μ /dl ve yatışının 3.gününde $379.833,33 \pm 121.229,3$ μ /dl olarak saptandı.
- 19) Durağan dönemdeki AGS'li hastaların trombosit ölçümleri ağrılı kriz geçiren hastalardan istatistiksel olarak yüksek bulundu (p=0,002).
- 20) Hastaların (n=31) durağan dönemdeki ortalama LDH değerleri $492,61 \pm 204,1$ U/l, yatışının 0.gününde $743,87 \pm 742,0$ U/l ve yatışının 3.gününde $622,78 \pm 267,5$ U/l olarak saptandı. 0. gün değerlerinin durağan (p=0,015) döneme ve 3.gün değerlerindeki durağan döneme (p=0,042) göre istatistiksel olarak yüksek olduğu saptandı.

- 21) Ağrılı kriz geçiren hastalar (n=22) için; durağan dönemdeki ortalama trombosit değerleri $533,73 \pm 217,1$ U/l, yatışının 0. gününde $620,91 \pm 236,2$ ve yatışının 3. gününde $529,33 \pm 152,7$ U/l olarak saptandı.
- 22) AGS'li hastalar (n=9) için; durağan dönemdeki ortalama trombosit değerleri $392,11 \pm 128,8$ U/l, yatışının 0.gününde $1.044,44 \pm 1.332,2$ U/l ve yatışının 3.gününde $809,67 \pm 359,5$ olarak saptandı.
- 23) Hastaların (n=31) durağan dönemdeki ortalama AS değerleri $305,35 \pm 67,8$ ng/ml, yatışının 0.gününde $332,0 \pm 71,3$ ng/ml ve yatışının 3.gününde $366,64 \pm 74,0$ ng/ml olarak saptandı. 3. gün değerlerin durağan döneme göre istatistiksel olarak yüksek olduğu gözlenmiştir (p=0,018).
- 24) Ağrılı kriz geçiren hastalar (n=22) için; durağan dönemdeki ortalama AS değerleri $310,56 \pm 65,4$ ng/ml, yatışının 0. gününde $341,62 \pm 74,5$ ng/ml ve yatışının 3. gününde $394,50 \pm 40,8$ ng/ml olarak bulundu.
- 25) AGS'li hastalar (n=9) için; durağan dönemdeki ortalama AS değerleri $293,19 \pm 75,7$ ng/ml, yatışının 0.gününde $309,553 \pm 61,3$ ng/ml ve yatışının 3.gününde $315,55 \pm 96,8$ ng/ml olarak bulundu.
- 26) Ağrılı kriz geçiren grupta tekrarlanan AS ölçümleri arasında anlamlı farklılık bulunmuştur (p=0,047). Farklılık incelendiğinde ise 3.gün değerlerinin durağan döneme oranla istatistiksel olarak yüksek olduğu gözlemlendi. (p=0,018).
- 27) Hastaların(n=31) durağan dönemdeki ortalama Hpx değerleri $422,47 \pm 115,3$ ug/ml, yatışının 0.gününde $387,77 \pm 226,2$ ug/ml ve yatışının 3.gününde $286,13 \pm 121,6$ ug/ml olarak saptandı. 0.gün değerleri 3.güne(p=0,002), 3. gün değerleride durağan döneme (p=0,007) oranla istatistiksel olarak yüksek olduğu gözlemlenmiştir.
- 28) Ağrılı kriz geçiren (n=22) hastalar için; durağan dönemdeki ortalama Hpx değerleri $416,97 \pm 113,7$ ug/ml, yatışının 0. gününde $418,49 \pm 251,1$ ug/ml ve yatışının 3. gününde $289,72 \pm 126,1$ ug/ml olarak bulundu.
- 29) AGS'li hastalar (n=9) için; durağan dönemdeki ortalama Hpx değerleri $436,90 \pm 126,1$ ug/ml, yatışının 0.gününde $316,08 \pm 139,7$ ug/ml ve yatışının 3.gününde $279,56 \pm 124,2$ ug/ml olarak bulundu.
- 30) Hastaların(n=31) durağan dönemdeki ortalama hemin değerleri $73,62 \pm 39,1$ µM, yatışının 0.gününde $70,32 \pm 36,7$ µM ve yatışının 3.gününde $66,02 \pm 42,3$ µM olarak saptandı.

- 31) Ağrılı kriz geçiren hastalar (n=22) için; durağan dönemdeki ortalama hemin değerleri $76,41 \pm 40,3 \mu\text{M}$, yatışının 0. gününde $70,95 \pm 35,4 \mu\text{M}$ ve yatışının 3. gününde $77,69 \pm 45,1 \mu\text{M}$ olarak saptandı.
- 32) AGS'li hastalar (n=9) için; durağan dönemdeki ortalama hemin değerleri $66,81 \pm 37,5 \mu\text{M}$, yatışının 0.gününde $68,79 \pm 42,1 \mu\text{M}$ ve yatışının 3.gününde $42,70 \pm 25,1 \mu\text{M}$ olarak bulundu.
- 33) Hastaların(n=31) durağan dönemdeki ortalama NOx değerleri $38,59 \pm 20,2 \mu\text{M}$, yatışının 0.gününde $34,45 \pm 17,9 \mu\text{M}$ ve yatışının 3. gününde $31,31 \pm 10,0 \mu\text{M}$ olarak saptandı.
- 34) Ağrılı kriz geçiren hastalar (n=22) için; durağan dönemdeki ortalama NOx değerleri $39,02 \pm 22,5 \mu\text{M}$, yatışının 0. gününde $36,41 \pm 20,0 \mu\text{M}$ ve yatışının 3. gününde $31,34 \pm 10,1 \mu\text{M}$ olarak saptandı.
- 35) AGS grubu (n=9) için; durağan dönemdeki ortalama NOx değerleri $37,61 \pm 14,7 \mu\text{M}$, yatışının 0.gününde $29,90 \pm 11,1 \mu\text{M}$ ve yatışının 3.gününde $31,25 \pm 10,7 \mu\text{M}$ olarak saptandı.
- 36) AGS'li hastalarda, tekrarlanan ölçümler arasında NOx düzeyi açısından anlamlı farklılıklar bulunmuştur. Farklılıklar incelendiğinde ise, durağan dönemdeki değerler 0.güne ($p=0,05$) ve 3.güne oranla istatistiksel olarak yüksek olduğu gözlemlendi ($p=0,007$).
- 37) Hastaların (n=31) stabil dönemdeki ortalama Hp değerleri $0,06 \pm 0,2 \text{ g/l}$, yatışının 0.gününde $0,04 \pm 0,1 \text{ g/l}$ ve yatışının 3.gününde $0,07 \pm 0,2 \text{ g/l}$ olarak saptandı.
- 38) Ağrılı kriz geçiren hastalar (n=22) için; durağan dönemdeki ortalama Hp değerleri $0,101 \pm 0,333$, yatışının 0. gününde $0,015 \pm 0,0 \text{ g/l}$ ve yatışının 3. gününde $0,07 \pm 0,2 \text{ g/l}$ olarak saptandı.
- 39) AGS'li hastalar (n=9) için; durağan dönemdeki ortalama Hp değerleri $0,07 \pm 0,1 \text{ g/l}$, yatışının 0.gününde $0,01 \pm 0,0 \text{ g/l}$ ve yatışının 3.gününde $0,01 \pm 0,1 \text{ g/l}$ olarak bulundu.
- 40) Hastaların ağrı skalaları ile 1. gün ile 2. gün, 3. gün ve yatış süresi arasında aynı yönlü doğrusal ilişki saptandı. Birinci gün ağrı değeri arttıkça 2., 3. gün ve yatış süresinde artış bulundu (sırasıyla p değerleri $<0,001; 0,043; 0,015$).
- 41) Yatışın ikinci günü incelendiğinde; 2. günde ağrı arttıkça 3. gün, 4. gün ağrının ve yatış süresinin arttığı gözlemlendi (sırasıyla p değerleri $<0,001; 0,012; <0,001$).

7. KAYNAKLAR

1. Kumar S, Bandyopadhyay U. Free heme toxicity and its detoxification systems in human. *Toxicol Lett* 2005;157:175-188.
2. Schaer DJ, Buehler PW, Alayash AI, et al. Hemolysis and free hemoglobin revisited: exploring hemoglobin and heme scavengers as a novel class of therapeutic proteins. *Blood* 2013;121:1276-1284.
3. Vinchi F, De Franceschi L, Ghigo A, et al. Hemopexin therapy improves cardiovascular function by preventing heme-induced endothelial toxicity in mouse models of hemolytic diseases. *Circulation* 2013; 127:1317-1329.
4. Wagener FA, Eggert A, Boerman OC, et al. Heme is a potent inducer of inflammation in mice and is counteracted by heme oxygenase. *Blood* 2001;98:1802-11.
5. Vinchi F, Gastaldi S, Silengo L, et al. Hemopexin Prevents Endothelial Damage and Liver Congestion in a Mouse Model of Heme Overload. *Am J Pathol* 2008; 173:6.
6. Muller-Eberhard U, Javid J, Liem HH, et al. Plasma concentrations of hemopexin, haptoglobin and heme in patients with various hemolytic diseases. *Blood* 1968;32:811-815.
7. Reiter CD, Wang X, Tanus-Santos JE, et al. Cell-free hemoglobin limits nitric oxide bioavailability in sickle-cell disease. *Nat Med* 2002;8:1383-1389.
8. Westerman M, Pizzey A, Hirschman J, et al. Microvesicles in haemoglobinopathies offer insights into mechanisms of hypercoagulability, haemolysis and the effects of therapy. *Br J Haematol* 2008;142:126-135.
9. Hebbel RP. Reconstructing sickle cell disease: a data-based analysis of the "hyperhemolysis paradigm" for pulmonary hypertension from the perspective of evidence-based medicine. *Am J Hematol* 2011;86 :123-154.
10. Willekens FL, Werre JM, Kruijt JK, et al. Liver Kupffer cells rapidly remove red blood cell-derived vesicles from the circulation by scavenger receptors. *Blood* 2005;105:2141-2145.
11. Schaer DJ, Alayash AI. Clearance and control mechanisms of hemoglobin from cradle to grave. *Antioxid Redox Signal* 2010;12:181-184.
12. Tracz MJ, Alam J, Nath KA. Physiology and pathophysiology of heme: implications for kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:414-420.

13. Nath KA, Katusic ZS. Vasculature and kidney complications in sickle cell disease. *J Am Soc Nephrol* 2012;23:781-784.
14. Ergul S, Brunson CY, Hutchinson J, et al. Vasoactive factors in sickle cell disease: in vitro evidence for endothelin-1-mediated vasoconstriction. *Am J Hematol* 2004;76: 245-251.
15. Nouraie M, Lee JS, Zhang Y, et al; Walk-PHASST Investigators and Patients. The relationship between the severity of hemolysis, clinical manifestations and risk of death in 415 patients with sickle cell anemia in the US and Europe. *Haematologica* 2013;98:464-472.
16. Sabaa N, de Franceschi L, Bonnin P, et al. Endothelin receptor antagonism prevents hypoxia-induced mortality and morbidity in a mouse model of sickle-cell disease. *J Clin Invest* 2008;118:1924-1933.
17. Yang Y, Ohta K, Shimizu M, et al. Selective protection of renal tubular epithelial cells by heme oxygenase (HO)-1 during stress-induced injury. *Kidney Int.* 2003;64:1302-1309.
18. Bunn HF, Nathan DG, Dover GJ, et al. Pulmonary hypertension and nitric oxide depletion in sickle cell disease. *Blood* 2010;116:687-692.
19. Gladwin MT, Barst RJ, Castro OL, et al. Pulmonary hypertension and NO in sickle cell. *Blood* 2010;116:852-854.
20. Cosby K, Partovi KS, Crawford JH, et al. Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation. *Nat Med* 2003; 9:1498-505.
- 21- Crawford JH, Isbell TS, Huang Z, et al. Hypoxia, red blood cells, and nitrite regulate NO-dependent hypoxic vasodilation. *Blood* 2006; 107:566-74.
- 22- Huang KT, Keszler A, Patel N, et al. The reaction between nitrite and deoxyhemoglobin. Reassessment of reaction kinetics and stoichiometry. *J Biol Chem* 2005; 280:31126-31
- 23- Isbell TS, Koenitzer JR, Crawford JH, et al. Assessing NO-dependent vasodilatation using vessel bioassays at defined oxygen tensions. *Methods Enzymol* 2005; 396:553-68
- 24- Ohanian J, Ohanian V. Sphingolipids in mammalian cell signalling. *Cell Mol Life Sci* 2001 ;58:2053-68.
- 25- López DJ, Egido-Gabas M, López-Montero I, et al. Accumulated bending energy elicits neutral sphingomyelinase activity in human red blood cells. *Biophys J* 2012 2; 102:2077-85.

26. Olivera A, Allende ML, Proia RL. Shaping the landscape: metabolic regulation of S1P gradients. *Biochim Biophys Acta* 2013;1831:193–202.
27. Golan K, Vagima Y, Ludin A, et al. S1P promotes murine progenitor cell egress and mobilization via S1P1-mediated ROS signaling and SDF-1 release. *Blood* 2012;119:2478–2488.
28. Walter DH, Rochwalsky U, Reinhold J, et al. Sphingosine-1-phosphate stimulates the functional capacity of progenitor cells by activation of the CXCR4-dependent signaling pathway via the S1P3 receptor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:275–282.
29. Awojoodu AO, Ogle ME, Sefcik LS, et al. Sphingosine 1-phosphate receptor 3 regulates recruitment of anti-inflammatory monocytes to microvessels during implant arteriogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013;110:13785-13790.
30. Ishii M, Kikuta J, Shimazu Y, Meier-Schellersheim M, Germain RN. Chemorepulsion by blood S1P regulates osteoclast precursor mobilization and bone remodeling in vivo. *J Exp Med* 2010;207:2793–2798.
31. Dinkla S, Wessels K, Verdurmen WP, et al. Functional consequences of sphingomyelinase-induced changes in erythrocyte membrane structure. *Cell Death Dis* 2012;3:e410
32. Cuschieri J, Bulger E, Billgrin J, et al. Acid sphingomyelinase is required for lipid Raft TLR4 complex formation. *Surg Infect (Larchmt)* 2007;8:91-106.
33. Embury SH. Sick cell anemia and associated hemoglobinopathies. In: Goldman L, Bennett JC, Eds. *Cecil Textbook of Medicine*. 21st Edition, Philadelphia: WB Saunders Company 2000: 893-905.
34. Canatan D. Orak Hücre Anemisi. XXX. Ulusal Hematoloji Kongresi, 7. Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu. İstanbul-Türkiye 2003: 93-99.
35. Mary EE. Hereditary Hemolytic Anemias. In: Tintinalli JE, Kelen GD, Stapczynski JS Eds. *Emergency Medicine, A Comprehensive Stuy Guide*. 5th Ed, North Carolina: McGraw Hill Companies Inc 2000: 1382-1387.
36. Beutler E. Disorders of Hemoglobin. In: Fauci AS, Braunwald E, Isselbacher KJ, Wilson JD, Martin JB, Kasper DL, Hauser SL, LongoDL, Eds. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 14th Ed, vol USA: McGraw Hill Companies Inc 1998: 645-653.

37. Stapczynski JS, Martin GA. Hematologic Emergencies. In: Stone CK, Humphries RL Eds. Current Emergency&Treatment. 5th Ed, USA: McGraw Hill Companies Inc 2004; 788-823.
38. Tüzmen Ş, Scheter A N. 'Genetic Diseases of Hemoglobin: Diagnostic methods for elucidating Sick Cell Mutations'. Blood Reviews 2001; 15:19-25.
39. Marotta CA, Wilson JT, Forget BJ, et al. Human β globulin Messenger RNA III. Nucleotide sequences derived from complementary DNA. Journal of Biological. Chemistry 1977; 252:40-51.
40. Stamatoyannopoulos G, Fessas P. Observation on hemoglobin 'Pylos'. The hemoglobin Pylos-hemoglobin S combination. Journal of laboratory and clinical medicine 1963; 62:193-200.
41. Gaston MH, Verter JI, Woods G, et al; Prophylactic Penicillin Study Group. Prophylaxis with oral penicillin in children with sickle cell anemia: a randomized trial. N Engl J Med 1986; 314:1593-1599.
42. Adams RJ, McKie VC, Hsu L, et al. Prevention of a first stroke by transfusions in children with sickle cell anemia and abnormal results on transcranial Doppler ultrasonography. N Engl J Med 1998;339:5-11.
43. Adams RJ, Brambilla D; Optimizing Primary Stroke Prevention in Sickle Cell Anemia (STOP 2) Trial Investigators. Discontinuing prophylactic transfusions used to prevent stroke in sickle cell disease. N Engl J Med 2005;353:2769-2778.
44. Thornburg CD, Files BA, Luo Z, et al; BABY HUG Investigators. Impact of hydroxyurea on clinical events in the BABY HUG trial. Blood 2012;120:4304-4310.
45. Hassell KL. Population estimates of sickle cell disease in the U.S. Am J Prev Med 2010;38:512-521.
46. Quinn CT, Rogers ZR, McCavit TL, et al. Improved survival of children and adolescents with sickle cell disease. Blood 2010;115:3447-3452.
47. Piel FB, Hay SI, Gupta S, et al. Global burden of sickle cell anaemia in children under five, 2010-2050: modelling based on demographics, excess mortality, and interventions. PLoS Med 2013;10:e1001484.
48. Arpacı A, Aksoy K, Dikmen N. Çukurova'da orak hücre anemisi ve talessemi taraması. XXII. Ulusal Hematoloji Kongresi,İstanbul 1991;115.

49. Kılınç Y, Akmanlar N, Kümi M ve ark. The incidences of and thalassemias in cord blood of newborns from Çukurova Province. *Med Bull İstanbul Medical Faculty* 1992; 25: 9-14.
50. Eraslan S. Beta Talaseminin Moleküler Tanısı. Düzen Genetik Hastalıklar Tanı Merkezi, Ankara-Türkiye 2005.
51. Dong C, Chadwick RS, Schechter AN. Influence of sickle hemoglobin polymerization and membrane properties on deformability of sickle erythrocytes in the microcirculation. *Biophys J* 1992;63:774-83.
52. Magdoff-Fairchild B, Swerdlow PH, Bertles JF. Intermolecular organization of deoxygenated sickle haemoglobin determined by x-ray diffraction. *Nature* 1972;239:217-9.
53. Zhang D, Xu C, Manwani D, et al. Neutrophils, platelets, and inflammatory pathways at the nexus of sickle cell disease pathophysiology. *Blood* 2016;127:801–9.
54. Silva DG, Belini Junior E, de Almeida EA, et al. Oxidative stress in sickle cell disease: an overview of erythrocyte redox metabolism and current antioxidant therapeutic strategies. *Free Radic Biol Med* 2013;65:1101–9.
55. Setty BN, Kulkarni S, Rao AK, et al. Fetal hemoglobin in sickle cell disease: relationship to erythrocyte phosphatidylserine exposure and coagulation activation. *Blood* 2000;96:1119-24.
56. Hebbel RP, Osarogiagbon R, Kaul D. The endothelial biology of sickle cell disease: inflammation and a chronic vasculopathy. *Microcirculation* 2004;11:129–51.
57. Hebbel RP, Yamada O, Moldow CF, et al. Abnormal adherence of sickle erythrocytes to cultured vascular endothelium: possible mechanism for microvascular occlusion in sickle cell disease. *J Clin Invest* 1980;65:154–60.
58. Test ST, Woolworth VS. Defective regulation of complement by the sickle erythrocyte: evidence for a defect in control of membrane attack complex formation. *Blood* 1994;83:842-52.
59. Kato GJ, Gladwin MT, Steinberg MH. Deconstructing sickle cell disease: reappraisal of the role of hemolysis in the development of clinical subphenotypes. *Blood Rev* 2007;21:37-47.
60. Conran N, Franco-Penteado CF, Costa FF. Newer aspects of the pathophysiology of sickle cell disease vaso-occlusion. *Hemoglobin* 2009;33:1-16.

61. Platt OS, Brambilla DJ, Rosse WF, et al. Mortality in sickle cell disease. Life expectancy and risk factors for early death. *N Engl J Med* 1994;330:1639–44.
62. Kinney TR, Sleeper LA, Wang WC, et al. Silent cerebral infarcts in sickle cell anemia: a risk factor analysis. The cooperative study of sickle cell disease. *Pediatrics* 1999;103:640-5.
63. Castro O, Brambilla DJ, Thorington B, et al. The acute chest syndrome in sickle cell disease: incidence and risk factors. The cooperative study of sickle cell disease. *Blood* 1994;84:643-9.
64. Ohene-Frempong K, Weiner SJ, Sleeper LA, et al. Cerebrovascular accidents in sickle cell disease: rates and risk factors. *Blood* 1998;91:288-94.
65. Rees DC, Gibson JS. Biomarkers in sickle cell disease. *Br J Haematol* 2012; 156:433-45.
66. Schechter AN. Hemoglobin research and the origins of molecular medicine. *Blood* 2008; 112:3927-3938.
67. Embury SH. Sickle cell anemia and associated hemoglobinopathies. *Cecil Textbook of Medicine*. 21st Edition, Philadelphia: WB Saunders Company 2000:893-905.
68. Mankad VN, Sickle cell disease and other disorders of abnormal hemoglobin, In: Miler R, Baehner RL. *Blood Disease of Infancy and Childhood* Seventh ed, St Louis, Mosby 1995:415-49.
69. Serjeant, GR. "Natural history and determinants of clinical severity of sickle cell disease". *Curr Opin Hemato* 1995;2:103-10.
70. Turgeon, ML, "The principles of hematology", *Clinical hematology: theory and procedures*, 4th Ed, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia 2005;171-90
71. Bainbridge R, Higgs DR, Maude GH, et al. Clinical presentation of homozygous sickle cell disease. *J Pediatr* 1985;106:881-885.
72. Stevens MCG, Padwick M, and Serjeant GR. Observations on the natural history of dactylitis in homozygous sickle cell disease. *Clin Pediatr* 1981;20:311-317.
73. Platt OS, Thorington BD, Brambilla DJ, et al. Pain in sickle cell disease. Rates and risk factors. *N Engl J Med* 1991;325:11-16.
74. Vichinsky EP, Styles LA, Colangelo LH, et al. Acute chest syndrome in sickle cell disease: clinical presentation and course. *Blood* 1997;89:1787-1792

75. Ohene-Frempong K, Weiner SJ, Sleeper LA, et al. Cerebrovascular accidents in sickle cell disease: rates and risk factors. *Blood* 1998;91:288-294.
76. Hulbert ML, Scothorn DJ, Panepinto JA, et al. Exchange blood transfusion compared with simple transfusion for first overt stroke is associated with a lower risk of subsequent stroke: a retrospective cohort study of 137 children with sickle cell anemia. *J Pediatr* 2006; 149:710-712.
77. Rao SP, Miller ST, Cohen BJ. Transient aplastic crisis in patients with sickle cell disease: B19 parvovirus studies during a 7-year period. *Am J Dis Children* 1992;146:1328-1330.
78. Platt OS, Rosenstock W, Espeland MA. Influence of sickle hemoglobinopathies on growth and development. *N Engl J Med* 1984;311:7-12.
79. Armstrong FD, Thompson RJ Jr, Wang W, et al. Cognitive functioning and brain magnetic resonance imaging in children with sickle cell disease. *Pediatrics* 1996;97:864-870.
80. Gladwin MT, Sachdev V, Jison ML et al. Pulmonary hypertension as a risk factor for death in patients with sickle cell disease. *New Engl J Med* 2004;350:886-895.
81. Savitt TL, Goldberg MF. Herrick's 1910 case report of sickle cell anemia. The rest of the story. *JAMA* 1989;261:266-71
82. Babalola OE, Wambebe CO. Ocular morbidity from sickle cell disease in a Nigerian cohort. *Niger Postgrad Med J* 2005;12:241-4.
83. Popma SE. Ocular manifestations of sickle hemoglobinopathies. *Clin Eye Vis Care* 1996;8:111-17.
84. Harlan JB Jr, Goldberg MF. Management and Therapy of Eye Disorders in Sickle Cell Disease, 2000. <http://sickle.bwh.harvard.edu/eye.html>. Accessed 24 April 2008.
85. Cohen SB, Fletcher ME, Goldberg MF, et al. Diagnosis and management of ocular complications of sickle hemoglobinopathies: Part V. *Ophthalmic Surg* 1986;17:369-74
86. Penman AD, Talbot JF, Chuang EL, et al. New classification of peripheral retinal vascular changes in sickle cell disease. *Br J Ophthalmol* 1994;78:681-9.
87. Ngo DA, Aygun B, Akinsheye I, et al. Fetal hemoglobin levels and hematological characteristics of compound heterozygotes for hemoglobin S and

deletional hereditary persistence of fetal hemoglobin. *Br J Haematol* 2012;156:259–64.

88. Steinberg MH, Sebastiani P. Genetic modifiers of sickle cell disease. *Am J Hematol* 2012;87:795–803.

89. Quinn CT, Rogers ZR, McCavit TL, et al. Improved survival of children and adolescents with sickle cell disease. *Blood* 2010;115:3447–52.

90. Yanni E, Grosse SD, Yang Q, et al. Trends in pediatric sickle cell disease-related mortality in the United States, 1983-2002. *J Pediatr* 2009;154:541-5.

91. Blinder MA, Vekeman F, Sasane M, et al. Age-related treatment patterns in sickle cell disease patients and the associated sickle cell complications and healthcare costs. *Pediatr Blood Cancer* 2013;60(5):828-35.

92. Hamideh D, Alvarez O. Sickle cell disease related mortality in the United States (1999-2009). *Pediatr Blood Cancer* 2013;60:1482-6.

93. Sebastiani P, Nolan VG, Baldwin CT, et al. A network model to predict the risk of death in sickle cell disease. *Blood* 2007;110:2727-35.

94. Miller ST, Sleeper LA, Pegelow CH, et al. Prediction of adverse outcomes in children with sickle cell disease. *N Engl J Med* 2000;342:83-9.

95. Boggs DR, Hyde F, Srodes C. An unusual pattern of neutrophil kinetics in sickle cell anemia. *Blood* 1973; 41:59-65.

96. Wang W, Lukens JN. Sickle cell anemia and other sickling syndromes. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 10th Ed, Middle East Edition, Baltimore: Williams and Wilkins Company 1999;1347-1397.

97. Wong WY, Overturf GD, Powars DR. Infection caused by *Streptococcus pneumoniae* in children with sickle cell disease: epidemiology, immunologic mechanisms, prophylaxis, and vaccination. *Clin Infect Dis* 1992;14:1124-36.

98. Vernacchio L, Neufeld EJ, MacDonald K, et al. Combined schedule of 7-valent pneumococcal conjugate vaccine followed by 23-valent pneumococcal vaccine in children and young adults with sickle cell disease. *J Pediatr* 1998;133:275-8.

99. Marcinak JF, Frank AL, Labotka RL, et al. Immunogenicity of *Haemophilus influenzae* type b polysaccharide-diphtheria toxoid conjugate vaccine in 3- to 17-month-old infants with sickle cell diseases. *J Pediatr* 1991;118:69-71.

100. National Heart, Lung, and Blood Institute. Evidence-based management of sickle cell disease: expert panel report. 2014. Available at: <http://www.nhlbi.nih.gov/health-pro/guidelines/sickle-cell-disease-guidelines/>. Accessed July 13, 2016.
101. Nifong TP, Domen RE. Oxygen saturation and hemoglobin A content in patients with sickle cell disease undergoing erythrocytapheresis. *Ther Apher* 2002;6:390-3.
102. Wayne AS, Kevy SV, Nathan DG. Transfusion management of sickle cell disease. *Blood* 1993; 81:1109-23.
103. Chou ST, Fasano RM. Management of patients with sickle cell disease using transfusion therapy: guidelines and complications. *Hematol Oncol Clin North Am* 2016; 30:591-608.
104. DeBaun MR, Gordon M, McKinstry RC, et al. Controlled trial of transfusions for silent cerebral infarcts in sickle cell anemia. *N Engl J Med* 2014; 371:699-710.
105. Howard J, Malfroy M, Llewelyn C, et al. The transfusion alternatives preoperatively in sickle cell disease (TAPS) study: a randomised, controlled, multicentre clinical trial. *Lancet* 2013; 381:930-8.
106. Hulbert ML, Scothorn DJ, Panepinto JA, et al. Exchange blood transfusion compared with simple transfusion for first overt stroke is associated with a lower risk of subsequent stroke: a retrospective cohort study of 137 children with sickle cell anemia. *J Pediatr* 2006;149:710-2.
107. Hassell KL, Eckman JR, Lane PA. Acute multiorgan failure syndrome: a potentially catastrophic complication of severe sickle cell pain episodes. *Am J Med* 1994;96:155-62.
108. Singer ST, Quirolo K, Nishi K, et al. Erythrocytapheresis for chronically transfused children with sickle cell disease: an effective method for maintaining a low hemoglobin S level and reducing iron overload. *J Clin Apher* 1999;14:122-5.
109. Rosse WF, Gallagher D, Kinney TR, et al. Transfusion and alloimmunization in sickle cell disease. The Cooperative Study of Sickle Cell Disease. *Blood* 1990;76:1431-7.
110. Chou ST, Jackson T, Vege S, et al. High prevalence of red blood cell alloimmunization in sickle cell disease despite transfusion from Rh-matched minority donors. *Blood* 2013;122:1062-71.

111. Ryder AB, Zimring JC, Hendrickson JE. Factors Influencing RBC Alloimmunization: Lessons Learned from Murine Models. *Transfus Med Hemother* 2014; 41:406-19.
112. Nickel RS, Hendrickson JE, Fasano RM, et al. Impact of red blood cell alloimmunization on sickle cell disease mortality: a case series. *Transfusion* 2016; 56:107-14.
113. Tahhan HR, Holbrook CT, Braddy LR, et al. Antigen-matched donor blood in the transfusion management of patients with sickle cell disease. *Transfusion* 1994; 34:562-9.
114. Vichinsky EP, Earles A, Johnson RA, et al. Alloimmunization in sickle cell anemia and transfusion of racially unmatched blood. *NEngl J Med* 1990; 322:1617-21.
115. Vichinsky EP, Luban NL, Wright E, et al. Prospective RBC phenotype matching in a stroke-prevention trial in sickle cell anemia: a multicenter transfusion trial. *Transfusion* 2001;41:1086-92.
116. O'Suoji C, Liem RI, Mack AK, et al. Alloimmunization in sickle cell anemia in the era of extended red cell typing. *Pediatr Blood Cancer* 2013; 60:1487-91.
117. Fasano RM, Chou ST. Red blood cell antigen genotyping for sickle cell disease, thalassemia, and other transfusion complications. *Transfus Med Rev* 2016; 30:197-201.
118. Maggio A. Light and shadows in the iron chelation treatment of haematological diseases. *Br J Haematol* 2007;138:407-21.
119. Brittenham GM. Iron-chelating therapy for transfusional iron overload. *N Engl J Med* 2011; 364:146–56.
120. Lucania G, Vitrano A, Filosa A, et al. Chelation treatment in sickle-cell-anaemia: much ado about nothing? *Br J Haematol* 2011; 154:545-55.
121. Jordan L, Adams-Graves P, Kanter-Washko J, et al. Multicenter COMPACT study of COMplications in patients with sickle cell disease and utilization of iron chelation therapy. *Curr Med Res Opin* 2015; 31:513-23.
122. Harmatz P, Butensky E, Quirolo K, et al. Severity of iron overload in patients with sickle cell disease receiving chronic red blood cell transfusion therapy. *Blood* 2000;96:76-9.

123. Brittenham GM, Cohen AR, McLaren CE, et al. Hepatic iron stores and plasma ferritin concentration in patients with sickle cell anemia and thalassemia major. *Am J Hematol* 1993;42:81-5.
124. Mehrvar A, Azarkeivan A, Faranoush M, et al. Endocrinopathies in patients with transfusion-dependent β -thalassemia. *Pediatr Hematol Oncol* 2008; 25:187-94.
125. Badawy SM, Liem RI, Rigsby CK, et al. Assessing cardiac and liver iron overload in chronically transfused patients with sickle cell disease. *Br J Haematol* 2016; 175:705-713
126. Ferriprox [package insert]. 2011. Available at: http://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/021825lbl.pdf. Accessed August 19, 2016.
127. Jadenu [package insert]. 2016. Available at: <https://www.pharma.us.novartis.com/sites/www.pharma.us.novartis.com/files/jadenu.pdf>. Accessed August 19, 2016.
128. Xu J, Zimmer DB. Differential regulation of A gamma and G gamma fetal hemoglobin mRNA levels by hydroxyurea and butyrate. *Exp Hematol* 1998; 26:265-72.
129. Charache S, Terrin ML, Moore RD, et al. Effect of hydroxyurea on the frequency of painful crises in sickle cell anemia. Investigators of the multicenter study of hydroxyurea in sickle cell anemia. *N Engl J Med* 1995;332:1317-22.
130. Steinberg MH, McCarthy WF, Castro O, et al. The risks and benefits of long-term use of hydroxyurea in sickle cell anemia: a 17.5 year follow-up. *Am J Hematol* 2010; 85:403-8.
131. Voskaridou E, Christoulas D, Bilalis A, et al. The effect of prolonged administration of hydroxyurea on morbidity and mortality in adult patients with sickle cell syndromes: results of a 17-year, single-center trial (LaSHS). *Blood* 2010; 115:2354-63.
132. Le PQ, Gulbis B, Dedeken L, et al. Survival among children and adults with sickle cell disease in Belgium: benefit from hydroxyurea treatment. *Pediatr Blood Cancer* 2015; 62:1956-61.
133. Gladwin MT, Shelhamer JH, Ognibene FP, et al. Nitric oxide donor properties of hydroxyurea in patients with sickle cell disease. *Br J Haematol* 2002;116:436-44.

134. Nahavandi M, Tavakkoli F, Wyche MQ, et al. Nitric oxide and cyclic GMP levels in sickle cell patients receiving hydroxyurea. *Br J Haematol* 2002;119:855-7.
135. Zhu J, Chin K, Aerbajinai W, et al. Hydroxyurea-inducible SAR1 gene acts through the Gialpha/JNK/Jun pathway to regulate gamma-globin expression. *Blood* 2014;124:1146–56.
136. Styles LA, Lubin B, Vichinsky E, et al. Decrease of very late activation antigen-4 and CD36 on reticulocytes in sickle cell patients treated with hydroxyurea. *Blood* 1997; 89:2554-9.
137. Claster S, Vichinsky EP. Managing sickle cell disease. *Br Med J* 2003; 327:1151.
138. Wong TE, Brandow AM, Lim W, et al. Update on the use of hydroxyurea therapy in sickle cell disease. *Blood* 2014; 124:3850-7.
139. Bernaudin F, Verlhac S, Arnaud C, et al. Long-term treatment follow-up of children with sickle cell disease monitored with abnormal transcranial Doppler velocities. *Blood* 2016; 127:1814-22.
140. Jain DL, Sarathi V, Desai S, et al. Low fixed-dose hydroxyurea in severely affected Indian children with sickle cell disease. *Hemoglobin* 2012;36:323-32.
141. Wang WC, Ware RE, Miller ST, et al. Hydroxycarbamide in very young children with sickle-cell anemia: a multicentre, randomised, controlled trial (BABY HUG). *Lancet* 2011;377:1663-72.
142. Türk Hematoloji Derneği. Orak hücre anemisi tanı ve tedavi kılavuzu; Ulusal Tedavi kılavuzu. VI. Bölüm Türk Hematoloji Derneği. 2011; 53-63.
143. Ünal S. Orak hücreli anemide komplikasyonlara yaklaşım. 5. Uluslararası talasemi yaz okulu, Antalya, 2008.
144. Bhatia M, Sheth S. Hematopoietic stem cell transplantation in sickle cell disease: patient selection and special considerations. *J Blood Med* 2015; 6:229-238.
145. Mentzer WC, Heller S, Pearle PR, Hackney E, Vichinsky E. Availability of related donors for bone marrow transplantation in sickle cell anemia. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1994;16:27-29.

146. Dallas MH, Triplett B, Shook DR, et al. Long-term outcome and evaluation of organ function in pediatric patients undergoing haploidentical and matched related hematopoietic cell transplantation for sickle cell disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2013;19:820-830.
147. Bernaudin F, Socie G, Kuentz M, et al. Long-term results of related myeloablative stem-cell transplantation to cure sickle cell disease. *Blood* 2007; 110:2749-2756.
148. Vermeylen C, Cornu G, Ferster A, et al. Haematopoietic stem cell transplantation for sickle cell anaemia: the first 50 patients transplanted in Belgium. *Bone Marrow Transplant*. 1998; 22:1-6.
149. Gluckman E, Cappelli B, Bernaudin F, et al; Eurocord, the Pediatric Working Party of the European Society for Blood and Marrow Transplantation, and the Center for International Blood and Marrow Transplant Research. Sickle cell disease: an international survey of results of HLA-identical sibling hematopoietic stem cell transplantation. *Blood* 2017; 129:1548-1556.
150. Rotz SJ, O'Riordan MA, Kim C, de Lima M, Gladwin MT, Little JA. Traffic Light: prognosis-based eligibility for clinical trials of hematopoietic SCT in adults with sickle cell anemia. *Bone Marrow Transplant* 2015; 50:918-923.
151. Powars D, Weidman JA, Odom-Maryon T, Niland JC, Johnson C. Sickle cell chronic lung disease: prior morbidity and the risk of pulmonary failure. *Medicine (Baltimore)* 1988; 67:66-76.
152. Angelucci E, Matthes-Martin S, Baronciani D, et al; EBMT Inborn Error and EBMT Paediatric Working Parties. Hematopoietic stem cell transplantation in thalassemia major and sickle cell disease: indications and management recommendations from an international expert panel. *Haematologica* 2014; 99:811-820.
153. Shenoy S, Eapen M, Panepinto JA, et al. A trial of unrelated donor marrow transplantation for children with severe sickle cell disease. *Blood* 2016; 128:2561-2567.
154. Bolaños-Meade J, Fuchs EJ, Luznik L, et al. HLA-haploidentical bone marrow transplantation with posttransplant cyclophosphamide expands the donor pool for patients with sickle cell disease. *Blood* 2012; 120:4285-4291.

155. Iannone R, Casella JF, Fuchs EJ, et al. Results of minimally toxic nonmyeloablative transplantation in patients with sickle cell anemia and beta-thalassemia. *Biol Blood Marrow Transplant* 2003; 9:519-528.
156. Kamani NR, Walters MC, Carter S, et al. Unrelated donor cord blood transplantation for children with severe sickle cell disease: results of one cohort from the phase II study from the Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network (BMT CTN). *Biol Blood Marrow Transplant* 2012;18:1265-1272.
157. Krishnamurti L, Sullivan KM, Kamani NR, et al. Results of a multicenter pilot investigation of bone marrow transplantation in adults with sickle cell disease. *Blood* 2015;126:543.
158. Shenoy S, Eapen M, Wu J, et al. A multicenter phase II trial of unrelated donor reduced intensity bone marrow transplantation for children with severe sickle cell disease (SCURT): results of the Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network (BMT CTN 0601) Study. *Blood* 2015; 126:619.
159. Shenoy S, Eapen M, Wu J, et al. Results of the Blood and Marrow Transplant Clinical Trials Network Study BMT CTN 0601: SCURT - a multicenter phase II trial of unrelated donorreduced intensity bone marrow transplantation (BMT) for children with severe sickle cell disease. *Biol Blood Marrow Transplant* 2016;22:S104.
160. Bolaños-Meade J, Brodsky RA. Blood and marrow transplantation for sickle cell disease: is less more? *Blood Rev* 2014; 28:243-248.
161. Mishkin AD, Mapara MY, Reshef R. Iatrogenic infertility after curative stem cell transplantation in patients with sickle cell disease. *Ann Intern Med*. 2018;168:881-882.
162. Ribeil JA, Hacein-Bey-Abina S, Payen E, et al. Gene therapy in a patient with sickle cell disease. *N Engl J Med* 2017; 376:848-855.
163. Canver MC, Smith EC, Sher F, et al. BCL11A enhancer dissection by Cas9-mediated in situ saturating mutagenesis. *Nature* 2015; 527:192-197.
164. Shariati L, Khanahmad H, Salehi M, et al. Genetic disruption of the KLF1 gene to overexpress the g-globin gene using the CRISPR/Cas9 system. *J Gene Med* 2016;18:294-301.

165. Takekoshi KJ, Oh YH, Westerman KW, London IM, Leboulch P. Retroviral transfer of a human b-globin/d-globin hybrid gene linked to b locus control region hypersensitive site 2 aimed at the gene therapy of sickle cell disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92:3014-3018.
166. Pawliuk R, Westerman KA, Fabry ME, et al. Correction of sickle cell disease in transgenic mouse models by gene therapy. *Science* 2001;294:2368-2371.
167. Hoban MD, Orkin SH, Bauer DE. Genetic treatment of a molecular disorder: gene therapy approaches to sickle cell disease. *Blood* 2016; 127:839-848.
168. Thompson AA, Kwiatkowski J, Rasko J, et al. LentiGlobin gene therapy for transfusion-dependent b-thalassemia: update from the Northstar Hgb-204 phase 1/2 clinical study .*Blood* 2016;128:1175.
169. Kanter J, Walters MC, Hsieh MM, et al. Interim results from a phase 1/2 clinical study of LentiGlobin gene therapy for severe sickle cell disease. *Blood* 2016; 128:1176.
170. Morris CR, Suh JH, Hagar W, et al. Erythrocyte glutamine depletion, altered redox environment, and pulmonary hypertension in sickle cell disease. *Blood* 2008; 111:402-410.
171. Reid M, Badaloo A, Forrester T, et al. In vivo rates of erythrocyte glutathione synthesis in adults with sickle cell disease. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 291:E73-E79.
172. Kiessling K, Roberts N, Gibson JS, Ellory JC. A comparison in normal individuals and sickle cell patients of reduced glutathione precursors and their transport between plasma and red cells. *Hematol J* 2000;1:243-249.
173. Niihara Y, Zerez CR, Akiyama DS, Tanaka KR. Oral L glutamine therapy for sickle cell anemia, I: Subjective clinical improvement and favorable change in red cell NAD redox potential. *Am J Hematol* 1998;58:117-121.
174. Niihara Y, Matsui NM, Shen YM, et al. L-glutamine therapy reduces endothelial adhesion of sickle red blood cells to human umbilical vein endothelial cells. *BMC Blood Disord* 2005;5:4.
175. Niihara Y, Koh HA, Tran L, et al. A phase 3 study of L-glutamine therapy for sickle cell anemia and sickle b₀-thalassemia. *Blood* 2014;124:86.
176. Niihara Y, Viswanathan K, Miller ST, et al. Phase 3 study of Lglutamine therapy in sickle cell anemia and sickle b₀-thalassemia subgroup analyses show consistent clinical improvement. *Blood* 2016; 128:1318.

177. Gibson XA, Shartava A, McIntyre J, et al. The efficacy of reducing agents or antioxidants in blocking the formation of dense cells and irreversibly sickled cells in vitro. *Blood* 1998; 91:4373-4378.
178. Pace BS, Shartava A, Pack-Mabien A, Mulekar M, Ardia A, Goodman SR. Effects of N-acetylcysteine on dense cell formation in sickle cell disease. *Am J Hematol*. 2003;73:26-32.
179. Lal A, Suh J, Atamna W, et al. Anti-oxidant treatment with alipoic acid and acetyl L-carnitine in hemoglobinopathies. *Blood* 2007;110:3799.
180. Kaddam L, Fadi-Elmula I, Eisawi OA, et al. Gum Arabic as novel anti-oxidant agent in sickle cell anemia, phase II trial. *BMC Hematol* 2017;17:4.
181. Matsui NM, Borsig L, Rosen SD, et al. P-selectin mediates the adhesion of sickle erythrocytes to the endothelium. *Blood* 2001; 98:1955-1962.
182. Embury SH, Matsui NM, Ramanujam S, et al. The contribution of endothelial cell P-selectin to the microvascular flow of mouse sickle erythrocytes in vivo. *Blood* 2004; 104:3378- 3385.
183. Ataga KI, Kutlar A, Kanter J, et al. Crizanlizumab for the prevention of pain crises in sickle cell disease. *N Engl J Med* 2017; 376:429-439.
184. Chang J, Patton JT, Sarkar A, Ernst B, et al. GMI-1070, a novel pan-selectin antagonist, reverses acute vascular occlusions in sickle cell mice. *Blood* 2010; 116:1779-1786.
185. Telen MJ, Wun T, McCavit TL, et al. Randomized phase 2 study of GMI-1070 in SCD: reduction in time to resolution of vaso-occlusive events and decreased opioid use. *Blood* 2015; 125:2656-2664.
186. Chang J, Shi PA, Chiang EY, Frenette PS. Intravenous immunoglobulins reverse acute vaso-occlusive crises in sickle cell mice through rapid inhibition of neutrophil adhesion. *Blood*. 2008; 111:915-923.
187. Turhan A, Jenab P, Bruhns P, et al. Intravenous immune globulin prevents venular vaso-occlusion in sickle cell mice by inhibiting leukocyte adhesion and the interactions between sickle erythrocytes and adherent leukocytes. *Blood* 2004; 103:2397-2400.
188. Nelson RM, Cecconi O, Roberts WG, Aruffo A, Linhardt RJ, Bevilacqua MP. Heparin oligosaccharides bind L- and P-selectin and inhibit acute inflammation. *Blood* 1993; 82:3253-3258.

189. Qari MH, Aljaouni SK, Alardawi MS, et al. Reduction of painful vaso-occlusive crisis of sickle cell anaemia by tinzaparin in a double-blind randomized trial. *Thromb Haemost* 2007;98: 392-396.
190. De Castro LM, Zennadi R, Jonassaint JC, Batchvarova M, Telen MJ. Effect of propranolol as antiadhesive therapy in sickle cell disease. *Clin Transl Sci* 2012; 5:437-444.
191. De Castro LM. Propranolol: anti-adhesive SCD treatment; a phase II study of propranolol as anti-adhesive therapy for sickle cell disease. Paper presented at : 9th Annual Sickle Cell Disease Research and Educational Symposium and 38th National Sickle Cell Disease Scientific Meeting; April 10,2015: Hollywood, FL.
192. Wun T, Paglieroni T, Rangaswami A, et al. Platelet activation in patients with sickle cell disease. *Br J Haematol* 1998; 100:741-749.
193. Badawy SM. Prasugrel for sickle cell vaso-occlusive events. *N Engl J Med* 2016; 375:185.
194. Lee SP, Ataga KI, Zayed M, et al. Phase I study of eptifibatide in patients with sickle cell anaemia. *Br J Haematol* 2007; 139:612-620.
195. Desai PC, Brittain JE, Jones SK, et al. A pilot study of eptifibatide for treatment of acute pain episodes in sickle cell disease. *Thromb Res.* 2013; 132:341-345.
196. Brittain JE, Anea C, Desai P, et al. Effect of eptifibatide on inflammation during acute pain episodes in sickle cell disease. *Am J Hematol* 2018; 93:E99-E101.
197. Balla J, Vercellotti GM, Jeney V, et al. Heme, heme oxygenase, and ferritin: how the vascular endothelium survives (and dies) in an iron-rich environment. *Antioxid Redox Signal.* 2007; 9:2119-2137.
198. Nakai K, Sakuma I, Ohta T, et al. Permeability characteristics of hemoglobin derivatives across cultured endothelial cell monolayers. *J Lab Clin Med* 1998; 132:313-319.
199. Matheson B, Razynska A, Kwansa H, Bucci E. Appearance of dissociable and cross-linked hemoglobins in the renal hilar lymph. *J Lab Clin Med* 2000; 135:459-464.

200. Buehler PW, D'Agnillo F, Schaer DJ. Hemoglobin-based oxygen carriers: From mechanisms of toxicity and clearance to rational drug design. *Trends Mol Med* 2010; 16:447-457.
201. Doherty DH, Doyle MP, Curry SR, et al. Rate of reaction with nitric oxide determines the hypertensive effect of cell-free hemoglobin. *Nat Biotechnol* 1998; 16:672-676.
202. Olson JS, Foley EW, Rogge C, et al. NO scavenging and the hypertensive effect of hemoglobin-based blood substitutes. *Free Radic Biol Med* 2004; 36:685-697.
203. Minneci PC, Deans KJ, Zhi H, et al. Hemolysis-associated endothelial dysfunction mediated by accelerated NO inactivation by decompartmentalized oxyhemoglobin. *J Clin Invest*. 2005; 115: 3409-3417.
204. Reeder BJ. The redox activity of hemoglobins: from physiologic functions to pathologic mechanisms. *Antioxid Redox Signal*. 2010;13:1087-1123.
205. Jia Y, Buehler PW, Boykins RA, Venable RM, Alayash AI. Structural basis of peroxide-mediated changes in human hemoglobin: a novel oxidative pathway. *J Biol Chem*. 2007; 282:4894-4907.
206. Miller YI, Altamentova SM, Shaklai N. Oxidation of low-density lipoprotein by hemoglobin stems from a heme-initiated globin radical: antioxidant role of haptoglobin. *Biochemistry* 1997;36:12189-12198.
207. Vallelian F, Pimenova T, Pereira CP, et al. The reaction of hydrogen peroxide with hemoglobin induces extensive alpha-globin crosslinking and impairs the interaction of hemoglobin with endogenous scavenger pathways. *Free Radic Biol Med* 2008; 45:1150-1158.
208. Buehler PW, D'Agnillo F, Hoffman V, Alayash AI. Effects of endogenous ascorbate on oxidation, oxygenation, and toxicokinetics of cell-free modified hemoglobin after exchange transfusion in rat and guinea pig. *J Pharmacol Exp Ther*. 2007; 323:49-60.
209. Reeder BJ, Sharpe MA, Kay AD, Kerr M, Moore K, Wilson MT. Toxicity of myoglobin and haemoglobin: oxidative stress in patients with rhabdomyolysis and subarachnoid haemorrhage. *Biochem Soc Trans* 2002; 30:745-748.
210. Buehler PW, Abraham B, Vallelian F, et al. Haptoglobin preserves the CD163 hemoglobin scavenger pathway by shielding hemoglobin from peroxidative modification. *Blood* 2009;113:2578-2586.

211. Balla G, Jacob HS, Eaton JW, Belcher JD, Vercellotti GM. Hemin: a possible physiological mediator of low density lipoprotein oxidation and endothelial injury. *Arterioscler Thromb* 1991;11:1700-1711.
212. Jeney V, Balla J, Yachie A, et al. Pro-oxidant and cytotoxic effects of circulating heme. *Blood* 2002; 100:879-887.
213. Nagy E, Eaton JW, Jeney V, et al. Red cells, hemoglobin, heme, iron, and atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010; 30:1347-1353.
214. Ogawa K, Sun J, Taketani S, et al. Heme mediates derepression of Maf recognition element through direct binding to transcription repressor Bach1. *EMBO J* 2001; 20:2835-2843.
215. Raghuram S, Stayrook KR, Huang P, et al. Identification of heme as the ligand for the orphan nuclear receptors REV-ERB α and REVERB β . *Nat Struct Mol Biol* 2007;14:1207-1213.
216. Buehler PW, Baek JH, Lisk C, et al. Free hemoglobin induction of pulmonary vascular disease: evidence for an inflammatory mechanism. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2012; 303:L312-L326.
217. Wagener FA, Eggert A, Boerman OC, et al. Heme is a potent inducer of inflammation in mice and is counteracted by heme oxygenase. *Blood* 2001; 98:1802-1811.
218. Vinchi F, Gastaldi S, Silengo L, Altruda F, Tolosano E. Hemopexin prevents endothelial damage and liver congestion in a mouse model of heme overload. *Am J Pathol* 2008; 173:289-299.
219. Socie G, Mary JY, de Gramont A, et al. Paroxysmal nocturnal haemoglobinuria: long-term follow-up and prognostic factors. French Society of Haematology. *Lancet* 1996; 348:573-577.
220. Boretti FS, Buehler PW, D'Agnillo F, et al. Sequestration of extracellular hemoglobin within a haptoglobin complex decreases its hypertensive and oxidative effects in dogs and guinea pigs. *J Clin Invest* 2009; 119:2271-2280.
221. Cooper CE, Schaer DJ, Buehler PW, et al. Haptoglobin binding stabilizes hemoglobin ferryl iron and the globin radical on tyrosine beta145 [published online ahead of print August 2012]. *Antioxid Redox Signal* 2013; 10;18:2264-73
222. Banerjee S, Jia Y, Parker Siburt CJ, et al. Haptoglobin alters oxygenation and oxidation of hemoglobin. *Free Radic Biol Med* 2012; 15;53:1317-26

223. Pimenova T, Pereira CP, Gehrig P, Buehler PW, Schaer DJ, Zenobi R. Quantitative mass spectrometry defines an oxidative hotspot in hemoglobin that is specifically protected by haptoglobin. *J Proteome Res* 2010; 9:4061-4070.
224. Buehler PW, Vallelian F, Mikolajczyk MG, et al. Structural stabilization in tetrameric or polymeric hemoglobin determines its interaction with endogenous antioxidant scavenger pathways. *Antioxid Redox Signal* 2008;10:1449-1462.
225. Miller YI, Smith A, Morgan WT, et al. Role of hemopexin in protection of low-density lipoprotein against hemoglobin-induced oxidation. *Biochemistry* 1996; 35:13112-13117.
226. Seery VL, Muller-Eberhard U. Binding of porphyrins to rabbit hemopexin and albumin. *J BiolChem* 1973; 248:3796-3800.
227. Tolosano E, Fagoonee S, Morello N, et al. Heme scavenging and the other facets of hemopexin. *Antioxid Redox Signal* 2010; 12:305-320.
228. Hanson MS, Piknova B, Keszler A, et al. Methaemalbumin formation in sickle cell disease: effect on oxidative protein modification and HO-1 induction. *Br J Haematol* 2011; 154:502-511.
229. Paoli M, Anderson BF, Baker HM, Morgan WT, Smith A, Baker EN. Crystal structure of hemopexin reveals a novel high-affinity heme site formed between two beta-propeller domains. *Nat Struct Biol* 1996:926-931.
230. Gutteridge JM, Smith A. Antioxidant protection by haemopexin of haem-stimulated lipid peroxidation. *Biochem J.* 1988;256:861-865.
231. Tolosano E, Hirsch E, Patrucco E, et al. Defective recovery and severe renal damage after acute hemolysis in hemopexin-deficient mice. *Blood* 1999;94:3906-3914.
232. Muller-Eberhard U, Javid J, Liem HH, Hanstein A, Hanna M. Concentrations of hemopexin, haptoglobin and heme in patients with various hemolytic diseases. *Blood* 1968; 32:811-815.
233. Kristiansen M, Graversen JH, Jacobsen C, et al. Identification of the haemoglobin scavenger receptor. *Nature* 2001; 409:198-201.
234. Schaer CA, Vallelian F, Imhof A, Schoedon G, Schaer DJ. CD163-expressing monocytes constitute an endotoxin-sensitive Hb clearance compartment within the vascular system. *J Leukoc Bio* 2007; 82:106-110.

235. Schaer DJ, Schaer CA, Buehler PW, et al. CD163 is the macrophage scavenger receptor for native and chemically modified hemoglobins in the absence of haptoglobin. *Blood* 2006; 107:373-380.
236. Schaer CA, Schoedon G, Imhof A, Kurrer MO, Schaer DJ. Constitutive endocytosis of CD163 mediates hemoglobin-heme uptake and determines the noninflammatory and protective transcriptional response of macrophages to hemoglobin. *Circ Res* 2006; 99:943-950.
237. Vallelian F, Schaer CA, Kaempfer T, et al. Glucocorticoid treatment skews human monocyte differentiation into a hemoglobin-clearance phenotype with enhanced heme-iron recycling and antioxidant capacity. *Blood* 2010; 116:5347-5356.
238. Etzerodt A, Kjolby M, Nielsen MJ, et al. Plasma clearance of hemoglobin and haptoglobin in mice and effect of CD163 gene targeting disruption. *Antioxid Redox Signal* 2013 10;18:2254-63.
239. Hvidberg V, Maniecki MB, Jacobsen C, Hojrup P, Moller HJ, Moestrup SK. Identification of the receptors scavenging hemopexin-heme complexes. *Blood* 2005; 106:2572-2579.
240. Smith A, Morgan WT. Haem transport to the liver by haemopexin. Receptor-mediated uptake with recycling of the protein. *Biochem J* 1979; 182:47-54.
241. Mack AK, Kato GJ. Sick cell disease and nitric oxide: A paradigm shift? *Int J Biochem Cell Biol* 2006; 38:1237-1243.
242. Nur E, Biemond BJ, Otten HM, et al. CURAMA Study Group Oxidative stress in sickle cell disease; pathophysiology and potential implications for disease management. *Am J Hematol* 2011; 86:484-489.
243. Morris CR, Kato GJ, Poljakovic M, et al. Dysregulated arginine metabolism, hemolysis-associated pulmonary hypertension and mortality in sickle cell disease. *JAMA* 2005; 294:81-90.
244. Jenkins RW, Canals D, Hannun YA. Roles and regulation of secretory and lysosomal acid sphingomyelinase. *Cell Signal* 2009; 21:836-846.
245. Wong ML, Xie B, Beatini N, et al. Acute systemic inflammation up-regulates secretory sphingomyelinase in vivo: a possible link between inflammatory cytokines and atherogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97:8681-8686.

246. Marathe S, Schissel SL, Yellin MJ, et al. Human vascular endothelial cells are a rich and regulatable source of secretory sphingomyelinase. Implications for early atherogenesis and ceramide-mediated cell signaling. *J Biol Chem* 1998; 273:4081-4088.
247. Sakata A, Ochiai T, Shimeno H, et al. Acid sphingomyelinase inhibition suppresses lipopolysaccharide-mediated release of inflammatory cytokines from macrophages and protects against disease pathology in dextran sulphate sodium-induced colitis in mice. *Immunology*. 2007; 122:54-64.
248. Acute Chest Syndrome: An Ongoing Challenge for Physicians Caring for Children with Sickle Cell Disease. In: *Pediatric Allergy, Immunology, and Pulmonology* 2017;189-190
249. De Castro LM, Jonassaint JC, Graham FL, et al. Pulmonary hypertension associated with sickle cell disease: clinical and laboratory endpoints and disease outcomes. *Am J Hematol* 2008; 83:19-25.
250. Ataga KI, et al. Pulmonary hypertension in patients with sickle cell disease: a longitudinal study. *Br J Haematol* 2006; 134:109-115.
251. Machado RF, et al. N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels and risk of death in sickle cell disease. *JAMA* 2006; 296:310-318.
252. Machado RF, Hildesheim M, Mendelsohn L, et al. NT-pro brain natriuretic peptide levels and the risk of death in the cooperative study of sickle cell disease. *Br J Haematol* 2011; 154:512-520.
253. Naoman SG, et al. Echocardiographic findings in patients with sickle cell disease. *Ann Hematol* 2010; 89:61-66.
254. Minniti CP, et al. Elevated tricuspid regurgitant jet velocity in children and adolescents with sickle cell disease: association with hemolysis and hemoglobin oxygen desaturation. *Haematologica*. 2009; 94:340-347.
255. Gladwin MT, et al. Risk factors for death in 632 patients with sickle cell disease in the United States and United Kingdom. *PLoS One* 2014; 9:e99489.
256. Damy T, et al. Haematological determinants of cardiac involvement in adults with sickle cell disease. *Eur Heart J* 2016;37:1158-1167.
257. Marina García-Morin, Carolina López-Sangües, Paula Vázquez, et al. Lactate Dehydrogenase: A Marker of the Severity of Vaso-Occlusive Crisis in Children with Sickle Cell Disease Presenting at the Emergency Department. *Hemoglobin* 2016; 40.6:388-391

258. Gozzelino R, Jeney V, Soares MP. Mechanisms of cell protection by heme oxygenase 1. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2010; 50:323-354.
259. Kovtunovych G, Eckhaus MA, Ghosh MC, et al. Dysfunction of the heme recycling system in heme oxygenase 1-deficient mice: effects on macrophage viability and tissue iron distribution. *Blood* 2010; 116:6054-6062.
260. Tenhunen R, Marver HS, Schmid R. The enzymatic conversion of heme to bilirubin by microsomal heme oxygenase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1968; 61:748-755.
261. Wagener FA, Volk HD, Willis D, et al. Different faces of the heme-heme oxygenase system in inflammation. *Pharmacol Rev* 2003; 55:551-571.
262. Hebbel RP, Vercellotti G, Nath KA. A systems biology consideration of the vasculopathy of sickle cell anemia: the need for multi-modality chemoprophylaxis. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets* 2009; 9:271-292.
263. Muller-Eberhard U, Javid J, Liem HH, et al. Plasma concentrations of hemopexin, haptoglobin and heme in patients with various hemolytic diseases. *Blood* 1968; 32:811-5.
264. Rayra PS, Caroline CG, Camylla Vilas BF, et al. Serum Haptoglobin and Hemopexin Levels Are Depleted in Pediatric Sickle Cell Disease. *Blood Cells Mol Dis* 2018; 72:34-36.
265. Vaughn MW, Kuo L, Liao JC. Effective diffusion distance of nitric oxide in the microcirculation. *Am. J. Physiol* 1998; 274:1705-1714.
266. Huang KT, et al. Modulation of nitric oxide bioavailability by erythrocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2001;98:11771-11776.
267. Doherty DH, et al. Rate of reaction with nitric oxide determines the hypertensive effect of cell-free hemoglobin. *Nat. Biotechnol* 1998;16:672-676
268. Schechter AN, Gladwin MT. Hemoglobin and the paracrine and endocrine functions of nitric oxide. *N. Engl. J. Med* 2003; 348:1483-1485.
269. Pohl U, Lamontagne D. Impaired tissue perfusion after inhibition of endothelium-derived nitric oxide. *Basic Res. Cardiol* 1991; 86:97-105.
270. Nakai K, et al. Inhibition of endothelium-dependent relaxation by hemoglobin in rabbit aortic strips: comparison between acellular hemoglobin derivatives and cellular hemoglobins. *J. Cardiovasc. Pharmacol* 1996; 28:115-123.

271. Kaul DK, Liu XD, Fabry ME, et al. Impaired nitric oxide-mediated vasodilation in transgenic sickle mouse. *Am J Physiol-Heart Circul Physiol* 2000; 278:H1799-H806.
272. Martinez-Ruiz R, Montero-Huerta P, Hromi J, et al. Inhaled nitric oxide improves survival rates during hypoxia in a sickle cell (SAD) mouse model. *Anesthesiology* 2001; 94:1113-8.
273. Romero JR, Suzuka SM, Nagel RL, et al. Arginine supplementation of sickle transgenic mice reduces red cell density and Gardos channel activity. *Blood* 2002; 99:1103-8.
274. De Franceschi L, Baron A, Scarpa A, Adrie C, Janin A, Barbi S, et al. Inhaled nitric oxide protects transgenic SAD mice from sickle cell disease-specific lung injury induced by hypoxia/reoxygenation. *Blood* 2003; 102:1087-96.
275. Gutsaeva DR, Montero-Huerta P, Parkerson JB, et al. Molecular mechanisms underlying synergistic adhesion of sickle red blood cells by hypoxia and low nitric oxide bioavailability. *Blood* 2014; 123:1917-26.
276. Head CA, Brugnara C, Martinez Ruiz R, et al. Low concentrations of nitric oxide increase oxygen affinity of sickle erythrocytes in vitro and in vivo. *J Clin Invest* 1997;100:1193-8.
277. Gladwin MT, Schechter AN, Shelhamer JH, et al. Inhaled nitric oxide augments nitric oxide transport on sickle cell hemoglobin without affecting oxygen affinity. *J Clin Invest* 1999; 104:937-45.
278. Weiner DL, Hibberd PL, Betit P, et al. Assessment of inhaled nitric oxide for acute vaso-occlusive crisis in pediatric patients with sickle cell disease. *Jama-J Am Med Assoc.* 2003; 289:1136-42.
279. López DJ, Egido-Gabas M, López-Montero I, et al. Accumulated bending energy elicits neutral sphingomyelinase activity in human red blood cells. *Biophys J* 2012; 102:2077-85.

8. SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
AGS	: Akut göğüs sendromu
AS	: Asit sfingomyelinaz
B	: Beta
BK	: Beyaz küre
CRP	: C-reaktif protein
CSSCD	: Cooperative Study of Sickle Cell Disease
DTK	: Damar tıkaçıcı kriz
DOVE	: Trombosit İnhibisyonunun Damar Tıkaçıcı Kriz Üzerine Belirleyici Etkileri Çalışması
DNA	: Deoksiribonükleik asit
ESR	: Eritrosit sedimentasyon hızı
ELISA	: Enzyme-linked Immunosorbent Assay
γ	: Gamma
HbF	: Fetal hemoglobin
Hb	: Hemoglobin
HBOC	: Hb bazlı oksijen taşıyıcıları
HO-1	: Hem-oksijenaz 1
Hpx	: Hemopeksin
Hp	: Haptoglobulin
HSCT	: Hematopoetik Kök Hücre Nakli
IgG	: İmmünoglobulin G
KMD	: Kemik mineral dansitesi
LDH	: Laktat dehidrogenaz
LDL	: Düşük yoğunluklu lipoprotein
MCHC	: Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration
MRG	: Manyetik rezonans görüntüleme
NAD	: Nikotinamid adenin dinükleotidi
NAC	: N-asetilsistein
NO	: Nitrik oksit
oxLDL	: Okside düşük yoğunluklu lipoproteindir
PAP	: Pulmoner arter basıncı
PHT	: Pulmoner hipertansiyon

ROS	: Reaktif oksijen türleri
SUSTAIN	: Gruplarda SelG1'in Güvenliğini ve Etkinliğini Değerlendirme Çalışması
SM	: Sfingomyelin
TRJV	: Triküspid regurjitasyon jet hızı
TKD	: Transkranial doppler
TLR-4	:Tall like receptör-4
UGT	:UDP-glukuronosiltransferaz
VKİ	:Vücut kitle indeksi
VHAM	:Vasküler hücre adezyon molekülü



9. ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL	Sayfa No
Şekil 1 (Orak hücre Anemisinin kalıtım modeli)	10
Şekil 2 (Orak hücre hastalığında periferik kan yayması)	25
Şekil 3 (Serbest Hb'nin olumsuz klinik etkileri)	42
Şekil 4 (Hb klirens kompartmanlarının Şematik özeti)	47
Şekil 5 (Sfingolipid metabolizması)	49



10. TABLOLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa No
Tablo 1 (Normal bireyler, orak hücre taşıyıcıları ve OHH'daki Hb elektroforez sonuçları)	14
Tablo 2 (Orak hücre hastalığında transfüzyon tedavisi endikasyonları)	28
Tablo 3 (Orak Hücreli Hastalarımızın Klinik ve Demografik Verileri)	53
Tablo 4 (Ağrılı kriz ve akut göğüs sendromu olan hastaların demografik ve klinik verileri)	54
Tablo 5 (Hastaların hemoliz ve inflamasyon parametleri sonuçlarının Karşılaştırılması)	55
Tablo 6 (OHH hastalarının ağrı skalaları ile yatış süresi arasındaki korelasyon analizi)	61