

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

**TRANSFÜZYON ALMAYAN ORAK HÜCRE ANEMİSİ,
HEMOGLOBİN H, HEMOGLOBİN D ve TALASEMİ
İNERMEDİA HASTALARINDA ERİTROSİT
MEKANİĞİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Merve Damla PINAR

Yüksek Lisans Tezi

Antalya, 2012

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

**TRANSFÜZYON ALMAYAN ORAK HÜCRE ANEMİSİ,
HEMOGLOBİN H, HEMOGLOBİN D ve TALASEMİ
İNTERMEDIA HASTALARINDA ERİTROSİT
MEKANİZMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Merve Damla PINAR
Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Doç Dr. Alphan KÜPESİZ

Bu Çalışma Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Yönetim Birimi
Tarafından Desteklenmiştir. (Proje No:2010.02.01.22.011)

“Kaynakça Gösterilerek Tezimden Yararlanılabilir”

Antalya, 2012

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne

Bu çalışma, jürimiz tarafından Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı-Kalıtsal Kan Hastalıkları Programı tarafından yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

13.07.2012

Tez danışmanı : Doç. Dr. Alphan KÜPESİZ

Akdeniz Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye

: Prof. Dr. Halil ERTUĞ

Akdeniz Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye

: Prof. Dr. Volkan HAZAR

Akdeniz Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

Üye

: Prof. Dr. Filiz BASRALI

Akdeniz Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Fizyoloji Anabilim Dalı

Üye

: Yrd . Doç. Dr. Oğuz DURSUN

Akdeniz Üniversitesi

Tıp Fakültesi

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

ONAY:

Bu tez, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu'nun/...../2012 tarih ve/..... sayılı kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. İsmail ÜSTÜNEL

Enstitü Müdürü

ÖZET

Hemoglobinopatiler, farklı fizyopatolojik mekanizmalar ile eritrositin işlevini bozarlar. Talasemi intermedia, orak hücre anemisi, alfa talasemi ve hemoglobin D farklı hemoglobinopatilerdir. Bu çalışmanın amacı hemoglobin H, talasemi intermedia, orak hücre anemisi ve hemoglobin D olgularında eritrositlerin mekanik özelliklerini değerlendirmektir. Çalışmamızda 2 hemoglobin H, 4 talasemi intermedia, 3 orak hücre anemisi, 5 hemoglobin D taşıyıcısı, 1 hemoglobin D hastası ve 17 kişilik kontrol grubu kullanıldı. Hemoglobin H, talasemi intermedia ve Hb S olgularının sayısı istatistiksel değerlendirme açısından yetersiz olduğu için, HIS adı altında bir grupta toplandı. Hemoglobin D hastası ve hemoglobin D taşıyıcısı olan olgular da, hemoglobin D adı altında toplandı. Her bir olgunun hemogram parametreleri değerlendirildi. Hemoglobin H olgularında hemoglobin H tanısını doğrulamak amacı ile hemoglobin H boyaması yapılarak eritrositler mikroskop altında incelendi. Eritrosit mekaniğinin değerlendirilmesi için LORCA ektasitometre cihazı kullanıldı. Hasta gruplarının kendi eritrositleri ile çalışabilmek için, transfüzyon tedavisi almıyor olmalarına dikkat edildi. Kan örnekleri 100 cp' luk visköziye sahip PVPs ile süspanse haline getirilerek, ektasitometre cihazında iki cam silindir arasına yerleştirildi. Eritrositlere üç aşamada farklı tip ve sürelerde kayma kuvvetleri uygulandı. Birinci aşamada 0,3-50 Pa arasında 9 kayma kuvveti 117 saniyede uygulandı. Meydana gelen elongasyon indeksleri ölçüldü. İkinci aşamada yüksek stres koşullarında eritrositlerin elongasyon indekslerini ölçebilmek için 79,65-80,65 Pa arasında 24 farklı stres modeli 102 saniyede uygulandı. Üçüncü aşamada da yüksek stres modeli sonrasında elongasyon indeksleri, 0,3-50 Pa değerleri 9 kayma kuvveti 117 saniyede uygulandı. Eritrositlerin deformabiliteleri, elongasyon indeksi değerleri ile değerlendirildi.

Bulgularımızda HIS grubunun stres öncesinde elongasyon indeksi değerleri, hemoglobin D ve kontrol grubu arasında, istatistiksel olarak anlamlı biçimde, düşük olarak saptanmıştır ($p<0,05$). Stres modelinde HIS grubu elongasyon indeksleri, hemoglobin D ve kontrol grubu arasında, istatistiksel olarak anlamlı biçimde, düşük bulunmuştur ($p<0,05$). Stres sonrasında HIS grubu elongasyon indeksi değerleri hemoglobin D ve kontrol gruplarının elongasyon indeksi değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulunmuştur ($p<0,05$).

Eritrosit deformabilitesinin talasemi intermedia, orak hücre ve hemoglobin H hasta gruplarında, hemoglobin D grubuna göre azaldığı saptandı.

Anahtar Kelimeler: Hemoreoloji, Eritrosit deformabilitesi, Hemoglobinopati, Hemoglobin D

ABSTRACT

Hemoglobinopathies corrupt the function of the erythrocytes along with different psychopathological mechanisms. Thalassemia intermedia, sickle cell anemia, alpha thalassemia and hemoglobin D are different hemoglobinopathies. The main purpose of this study is to assess mechanical features of erythrocytes in hemoglobin H, thalassemi intermedia, sickle cell anemia and hemoglobin D cases. In our study, we included 2 hemoglobin H patients, 4 thalassemi intermedia patients, 3 sickle cell anemia patients, 5 hemoglobin D carriers, 1 hemoglobin D patient and a control group of 17 healthy people. Since the numbers of hemoglobin H, thalassemia intermedia ve Hb S patients were inadequate in terms of statistical assessment, these were gathered under a group named HIS. Cases with hemoglobin D and hemoglobin D carriers were gathered under hemoglobin D. Hemogram parameters of each case were assessed. With the aim of verifying hemoglobin H diagnosis in hemoglobin H cases, hemoglobin H coloring was made and erythrocytes were examined under microscope. LORCA ektacytometer was used in the assessment of erythrocyte mechanics. In order to study on erythrocytes of patient groups, a special attention was given to those patients who were not subjected to transfusion, were taken into account. The blood samples, after being suspended with the help of PVPs with 100 cp viscosity, were embedded between two glass cylinders in ektacytometer. Shear stress at different type and periods were applied into erythrocytes over three stages. At the first stage, 9 shear stress between 0,3 to 50 Pa were applied in 117 seconds. Then the elongation indexes occurred as a result were measured. At the second stage, 24 different stress models between 79,65-80,65 Pa were applied in 102 seconds in order to measure elongation index of erythrocyte under high stress conditions. At the third stage, following high stress model, 9 shear stress between 0,3-50 Pa were applied in 117 seconds. Deformability of erythrocytes was evaluated with elongation index values.

According to our findings, elongation index values of HIS group before stress, were found to be low statistically significant between hemoglobin D and control group ($p < 0,05$). Within stress model, elongation index values of HIS group before stress, were found to be low statistically significant between hemoglobin D and control group ($p < 0,05$). Elongation index values of HIS group after stress, were found to be lower than those of hemoglobin D and control group significantly ($p < 0,05$).

It was detected that deformability of erythrocyte decreased in thalassemia intermedia, sickle cell anemia and hemoglobin H patient groups when compared with hemoglobin D group.

Key Words: Erythrocyte deformability, hemoglobinopathy, hemoglobin D

TEŞEKKÜR

Bu araştırmanın planlanması, projelendirilmesi ve gerçekleşmesinde değerli katkı ve eleştirileriyle bana yol gösteren tez danışmanım başta olmak üzere değerli hocalarım Doç. Dr. Alphan KÜPESİZ' e, Prof. Dr. Akif YEŞİLİPEK' e ve Prof. Dr. Volkan HAZAR' a, öneri ve eleştirileri için Doç. Dr. Melek BOR KÜÇÜKATAY, Prof. Dr. Filiz BASRALI ve asistanlarına tezin bütün aşamalarında bana destek olan Arş. Gör. Mehmet ÜYÜKLÜ' ye her zaman dostluğunu ve yardımını hissettiğim çalışma arkadaşlarıma yüksek lisans eğitimi boyunca yardımları için Sağlık Bilimleri Enstitüsü personeline, sonsuz sabır ve destekleri için değerli aileme teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
ŞEKİLLER VE RESİMLER	x
ÇİZELGELER	xii
GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
2.1. Kanın Yapısı ve Özellikleri	3
2.1.1. Lökositler	3
2.1.2. Trombositler	4
2.1.3. Eritrositler	4
2.1.3.1. Eritrosit Membranı	4
2.1.3.2. Eritrosit Sitoplazması	7
2.1.3.3. Eritrosit Metabolizması	8
2.2. Hemoglobinin Yapısı ve Özellikleri	9
2.2.1. Hemoglobinopatiler ve Talasemiler	10
2.2.1.1. Alfa Talasemi	11
2.2.1.2. Beta Talasemi	14
2.2.2.3. Orak Hücre Anemisi	18
2.2.2.4. Hemoglobin D	22
2.3. Hemoreoloji ve Kanın Akışkanlık Özellikleri	23
2.3.1. Hematokrit	24
2.3.2. Plazma Viskozitesi	24
2.3.3. Kanın Akışkanlığında Eritrositlerin Yeri	25
2.3.3.1. Eritrosit Agregasyonu	25
2.3.3.2. Eritrosit Deformabilitesi	26
2.3.4. Eritrosit Deformabilitesini Etkileyen Fizyopatolojik Mekanizmalar	30
GEREÇ ve YÖNTEMLER	31
3.1. Kan Örneklerinin Hazırlanması	31
3.2. Eritrositlerin Morfolojik Olarak Değerlendirilmesi	31
3.3. Tam Kan Sayımının Yapılması	31
3.4. Eritrosit Deformabilitesinin Değerlendirilmesi	31
3.5. İstatistiksel Değerlendirme	32

BULGULAR	33
4.1. Hemogram Parametrelerinin Değerlendirilmesi	33
4.2. Elongasyon İndekslerinin Değerlendirilmesi	35
4.3. SS1/2 Lineweaver Değerlendirilmesi	42
TARTIŞMA	46
SONUÇ ve ÖNERİLER	49
KAYNAKLAR	50
ÖZGEÇMİŞ	56

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ATP	: Adenozin Tri Fosfat
C	: Karbon
Cl	: Klor
cP	: Centi poise
CFU-E	: Koloni Forming Unit Eritroid
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
Eİ	: Elongasyon indeksi
Fe	: Demir
GAT	: Guanin Adenin Timin
Hb	: Hemoglobin
Hb A	: Yetişkin Hemoglobini (Hemoglobin Adult)
Hb A₂	: Hemoglobin A ₂
Hb C	: Hemoglobin C
Hb D	: Hemoglobin D Los Angeles
Hb F	: Fetal Hemoglobin
Hb S	: Orak hücre
IVS-2	: Intron Splice Site
MEI	: Maksimum elongasyon indeksi
MCH	: Hücre içindeki ortalama hemoglobin miktarı
MCHC	: Ortalama hemoglobin konsantrasyonu
MCV	: Ortalama eritrosit hacmi
NK	: Doğal katil hücreler
PLT	: Trombosit
PE	: Fosfotidiletanolamin
PS	: Fosfotidilserin
RBC	: Kırmızı kan hücresi (Eritrosit)
WBC	: Beyaz kan hücresi (Lökosit)
α	: Alfa globin zinciri
α^0	: Alfa zinciri üretilmeyen

α^+	: Bir alfa zinciri kısmen veya tamamen üretilen
β	: Beta globin zinciri
β^0	: Beta zinciri üretilmeyen
β^+	: Beta zinciri kısmen veya tamamen üretilen
θ	: Teta globin zinciri
γ	: Gamma globin zinciri
ζ	: Zeta globin zinciri
ϵ	: Epsilon globin zinciri
ψ	: Portland zinciri
μl	: Mikrolitre

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil		Sayfa
2.1.	Eritrosit membran kompleksi	6
2.2.	Eritrosit membran protein kompleksi	7
2.3.	a) Hb A'nın Oksijen saturasyon eğrisi	8
	b) O ₂ saturasyonunun O ₂ basıncı ilişkisi	8
2.4.	Hemoglobin molekülünün yapısı ve Hem yapısı	9
2.5.	a) α^+ / α^+ Laboratuvar değerleri	12
	b) Splenektomili Hb H hastası	13
2.6.	16. Kromozom α zincir geni	13
2.7.	β^+ talasemi mutasyon bölgeleri	15
2.8.	β^0 talasemi mutasyon bölgeleri	15
2.9.	Eritrositlerin oraklaşması	19
2.10.	Orak eritrositlerin kapilleri tıkaması	20
2.11.	Lorca cihazı	27

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge		Sayfa
2.1.	Hemogram parametrelerinin normal değer aralığı	3
4.1.	HIS grubu yaş ve hemogram değerlendirmesi	32
4.2.	Hb D hastalarının yaş ve hemogram değerleri	32
4.3.	Kontrol gurubu hemogram değerleri	33
4.4.	Hemogram parametrelerinin karşılaştırılması	34
4.5.	Stres öncesi elongasyon indeksleri	34
4.6.	Stres öncesi elongasyon indekslerinin eğrileri	36
4.7.	Elongasyon indekslerinin stres modelindeki eğrileri	36
4.8.	Stres modelinde elongasyon indeksleri	36
4.9.	Stres sonrası elongasyon indeksleri	39
4.10.	Stres sonrası elongasyon indeksleri eğrileri	40
4.11.	Kontrol grubunun stres öncesi ve sonrası elongasyon indeksleri karşılaştırılması	40
4.12.	Hb D grubunun stres öncesi ve sonrası elongasyon indeksleri karşılaştırılması	41
4.13.	HIS grubunun stres öncesi ve sonrasında elongasyon indeksleri karşılaştırılması	41
4.14.	Stres öncesi SS1/2 elongasyon indeksleri karşılaştırılması	42
4.15.	Stres sonrası SS1/2 elongasyon indeksleri karşılaştırılması	42
4.16.	Kontrol grubunun stres öncesi ve sonrası SS1/2 maksimum elongasyon indekslerinin karşılaştırılması	43
4.17.	HIS grubunun stres öncesi ve sonrası SS1/2 maksimum elongasyon indekslerinin karşılaştırılması	43
4.18.	Hb D grubunun stres öncesi ve sonrası SS1/2 maksimum elongasyon indekslerinin karşılaştırılması	44

GİRİŞ ve AMAÇ

Kan eritrosit, trombosit ve lökositlerin plazma sıvısı içinde katı-sıvı karışımı halinde damar sisteminin içini dolduran bir dokudur. Kan, hücresel elemanları ve plazması sayesinde diğer doku ve organların fonksiyonlarını yerine getirir. Ortaya çıkan aksaklıkları organları etkilemeyecek şekilde fizyolojik düzeyde düzenler. Dokulara yeterli miktarda oksijenin ve diğer maddelerin taşınması ve vücut ısısının sağlanabilmesi gibi önemli faktörler kanın akışkanlığına bağlıdır (1-2).

Kan dolaşımı 17. yüzyılda William Harvey tarafından keşfedildi. Herman Boerhaave kan dolaşımı ile ilgili tıbbi düşüncelerini fizik kanunları ile birleştirdi. Kanın fiziksel ve akışkanlık özelliklerinin keşfedilmesinin ardından, hastalıklarla ilişkili çalışmalar hız kazanarak günümüze kadar devam etmiş, bu alanda birçok yeni teknik geliştirilmiş ve kan akışkanlığı diğer adı ile hemoreoloji olarak isimlendirilen bir tıp alanı ortaya çıkmıştır. Kanın akışkanlık özellikleri plazmanın fiziksel özellikleri, kanın hücresel elemanlarının özellikle eritrositin ve eritrosit sitoplazmasının özelliklerine bağlıdır (3).

Hemoreoloji, plazmanın ve kan hücrelerinin deformasyon yeteneklerini, kan viskozitesini, kan ile temas eden damarların akımı etkileyen reolojik özelliklerini, kanın ve damarların yabancı maddeler ile etkileşimlerini inceler. Eritrosit deformabilitesi, eritrositlerin şekil değişikliği sonrasında kendi iç bükey şekillerine dönebilme yeteneği olup kan viskozitesini etkileyen önemli bir etkidir. Eritrositlerin reolojik özellikleri hem eritrosit membranı hem de eritrosit içindeki yapısal değişikliklerinden etkilenir. Eritrosit deformabilitesini etkileyen yaygın olarak görülen hastalık gruplarından biri de hemoglobinopatilerdir. Hemoglobinopatiler, hemoglobin (Hb) molekülündeki globin zincirlerinde anormal yapılarla neden olan genetik bozukluklardır. Dünyada özellikle İtalya, Yunanistan, Türkiye gibi Akdeniz ülkelerinde yaygın olarak görülür. Bu bireylerin eritrositlerinin sağlıklı bireylerin eritrositleri ile karşılaştırıldığında daha dayanıksız olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir (3-4).

Bu araştırmada Akdeniz ve Ege bölgesinde yer alan Hb H, Hb S, Hb D ve talasemi intermedia olgularında eritrositlerin elongasyon indekslerini değerlendirmeyi amaçlamaktadır.

Alfa ve beta talasemide serbest kalan zincir türüne ve miktarlarına bağlı olarak, eritrosit membranı hasar görür. Eritrositlerin invitro ortamda maruz kaldığı strese dayanma gücü eritrosit membranına yapışan ve membran hasarına neden olan serbest haldeki globin zincirinden etkilenmektedir. Bu hasarlar, alfa ve beta talasemide farklı düzeyde eritrositlerin mekanik özelliklerini değiştirirler. Orak hücreli anemide, eritrosit membranında mekanik strese bağlı olarak membran deformabilitelerinin sağlıklı kişilerden farklı olduğu bilinmektedir. Hb D mutasyonunun eritrosit membran deformabilitesini etkileyip etkilemediği bilinmemektedir.

Bu çalışma globin zinciri sentezinin bozuklukları sonucu oluşan membran kusurlarının düzeltilebilmesi için kaynak oluşturacağı düşünülmektedir. Hemoglobinopatili bireylerin eritrositlerinin ektasitometre cihazı ile belirlenen stres

öncesi, stres modelli ve stres sonrasında Elongasyon İndeksi (EI) değerleri eritrositlerin deformabiliteleri ve mekanik özellikleri hakkında bilgi verecektir.

GENEL BİLGİLER

2.1. Kan Yapısı ve Özellikleri

Kanın %45'ini eritrositler, %55'ini plazma, %0.5-1'i trombositler ve lökositler meydana getirir. Kanın ana görevleri taşıma, savunma ve düzenlemedir. Kan doku ve organlara solunum gazlarını, besin maddelerini, metabolizma artıklarını, hormonları, elektrolitleri ve suda çözünmeyen maddeleri taşır. Vücudu yabancı molekül ve hücrelere karşı savunur, ısı, onkotik basınç, hemostaz ve fibrinolizisi düzenler, protein, kreatinin, kalsiyum ve albümin gibi maddelerin böbreklerden atılmasını engeller (5).

2.1.1. Lökositler

Lökositler kısmen kemik iliğinde kısmen de lenfoid organlarda yapılır ve matürasyonunu tamamlar. Köken aldıkları hücrelere bağlı olarak myeloid ve lenfoid kaynaklı olarak ikiye ayrılırlar. Miyeloid kaynaklı lökositler; eozinofil, bazofil ve nötrofillerdir. Lenfoid kaynaklı olanlar ise T lenfosit, B lenfosit ve doğal öldürücü (NK) hücrelerdir (6).

Lökositlerin yaklaşık olarak %62'si nötrofil, %30'u lenfosit, %5,3'ü monosit, %2,3'ü eozinofil ve %0,4'ü bazofildir. Lökosit sayısı ve lökosit çeşitleri Çizelge 2.1 de verilmiştir. Lökosit sayısı sağlıklı bir bireyde 4000-10.000 /mm³ tür. Vücutta savunma sisteminin esas bileşenidirler. Enfeksiyon, alerji, inflamasyon durumlarında artarlar. Lökosit reolojisi özellikle inflamasyon ve iskemi durumlarında mikro dolaşımda önemli bir yere sahiptir (7). Lökositler küresel şekilleri, organel bakımından zengin sitoplazmaları ve çekirdekleri bulunması nedeni ile eritrositlerden daha az deformasyon yeteneğine sahiptirler (8-9).

Çizelge 2.1. Hemogram parametrelerinin normal değer aralığı

Parametre	Değer aralığı
Hemoglobin (g/dl)	12-16
Eritrosit (/mm ³)	4-6 x10 ⁶
Lökosit (/mm ³)	4.8-10.8x10 ³
Trombosit (/mm ³)	150-450 x10 ³
MCV (fl)	80-102
MCH (pg/hücre)	27-35
HCT (%)	35-52
Nötrofil (/mm ³)	2.6 -7.2 x 10 ³
Lenfosit (/mm ³)	1.3-3.5 x 10 ³
Monosit (/mm ³)	300-800
Eozinofil (/mm ³)	0-420
Bazofil (/mm ³)	0-200

Nötrofillerin aktivasyonu inflamasyonun temel ifadesidir. Böylece çeşitli patolojik durumlar organizma tarafından giderilir. Ayrıca diğer kan hücreleriyle etkileşirler; aktif lökositler komşu eritrosit hücrelerinde yapısal ve fonksiyonel değişimlere neden olurlar. Bu etkileşimler artan membran lipid peroksidasyonu, hücre lizisi ve eritrosit deformabilitesinin azalmasıdır. Deformabiliteyi azaltan sebep eritrosit membranı hücre iskeleti proteinlerinin değişimidir (örneğin hemoglobin ve spektrin arasındaki çapraz köprü) (10). Serbest oksijen radikalleri ve proteolitik enzimler, aktive olmuş nötrofil-eritrosit etkileşiminde rol oynamaktadır.

2.1.2. Trombositler

Trombosit megakaryositlerden köken alan kanın şekilli elemanıdır. Trombositlerin normal değeri 150.000-450 000 /mm³ tür. Trombositler kan kaybının önlenmesi anlamına gelen hemostazda görevlidirler. Trombositler megakaryositlerin DNA ve çekirdek içermeyen bölümlerinden oluşur. Trombositler 7,5 fl hacminde, 1-4 µm kalınlığında yuvarlak ya da oval şekillidirler. Trombositler dolaşıma geçtikten sonra 7-10 gün boyunca dolaşımda kalırlar (11-12).

Trombositler hemostazın son basamağında agregasyon oluşturma yeteneğine sahiptirler. Agregasyon yetenekleri sayesinde, endotel yüzeyinde bir hasarlanma meydana geldiğinde hasarlı alana göç ederek trombosit tıkaçı oluştururlar.

2.1.3. Eritrositler

Eritrositler 8 µm çapında, 2 µm boyunda, 80-102 fl hacminde, bikonkav hücrelerdir. Olgun eritrositlerin çekirdek ve organelleri bulunmaz. Eritrositler kemik iliğinde yapıldıktan sonra periferde salınırlar. Periferde çekirdek ve bazı organellerini kaybederek olgunlaşırlar (13). Eritrositler fizyolojik ve morfolojik olarak en çok araştırılmış hücrelerdir. Sayıları 4-6 x10⁶/mm³ aralığında bulunur ve 120 günlük ömürleri vardır. Solunum gazlarının taşınmasında görevlidir. Membran ve elektrolitlerden meydana gelen bir yapıya sahiptir. Eritrositin ölçüm parametreleri hemoglobin (g/dl), hücre hacmi (femtolitre/fl), hematokrit (eritrosit yüzdesi) ve eritrosit sayısı (/mm³) cinsindedir (14). Oksijen basıncının düşmesine neden olan, düşük kan hacmi, anemi, düşük miktarda hemoglobin, azalmış kan akımı, akciğer hastalığı gibi patolojik ve fizyolojik olaylar, böbrekte bir sitokin olarak yer alan eritropoetin tarafından fark edilerek eritrosit üretimini CFU-E (coloni forming unit erythroid) uyarır. CFU-E uyarısını JAK2 protein tirozin kinaz ve farklı sinyaller takip eder (13).

Eritrosit hacminin %70'i su, %25'i hemoglobin %5'i protein, lipoprotein ve membran materyalidir (13).

2.1.3.1. Eritrosit Membranı

Eritrositler, %50'si lipid, %42'si protein, %8'i karbonhidratlardan oluşan membran yapısına sahiplerdir. Dış yüzeyi kaplayan lipid tabaka ve altında yer alan protein yapılı bir iskeletten meydana gelir. Eritrositin şekli, esnekliği ve dayanıklılığı, çoğunlukla membranı tarafından sağlanır. Bu membranın yapısı şekil 2.1. de gösterilmiştir.

Eritrosit membran lipidleri

Membran, sıkı bir şekilde paketlenmiş fosfolipid moleküllerinden meydana gelen, sadece iki molekül kalınlığında bir lipid kılıftan oluşur. Lipid tabakalarının, hidrofilik kısımları dış yüzeye, hidrofobik kısımları birbirlerine bakar. Sürekli hareket halindeki yüzey lipidleri, önemli fizyolojik işlevleri olan küçük alanlar oluştururlar. Eritrosit membranında eşit miktarda fosfolipid ve kolesterol, membranı kaplar. Simetrik dizilimli, iki katmanlı kolesterol ve asimetric olarak dizilmiş dört fosfolipid tabakası membranı çevreler. Fosfotidilkolin ve sfingomiyelin dış tabakada, fosfotidiletanolamin (PE) ve fosfotidilserin (PS), fosfoinozidit ile iç lipid tabaka yapısını oluştururlar (15-16).

Lipid tabakaları arasında farklı tipte enerji bağımlı veya enerji bağımsız, fosfolipid transport protein kanalları yerleşmiştir. Dıştan içe ve içten dışa kıvrılma hareketleri lipid tabakaları arasında enerji bağımlı çalışırken ilerleyici hareketler enerjiye bağımlı olmadan membran dışında ve içindeki iyon yoğunluğuna bağılı olarak çalışırlar.

Lipid iç tabakasında bulunan PS'nin tabakanın dışına doğru oluşturduğu asimetri, dalakta yer alan makrofaj hücreleri tarafından fark edilir. Bu durum talasemik veya orak hücreli eritrositlerin erken fagositoza uğramasına neden olur. Bu asimetri, PS ve PE'yi hızlı bir şekilde dış membrandan iç membrana taşıyan ATP bağımlı bir aminofosfolipide yerleşmiş flippaz enzimi ile sürdürülür. Ayrıca kalsiyumla etkinleşen, taşıyıcı skramblaz enzimi, membran fosfolipidlerinin dağılımını bozarak PS'nin yeniden hücre yüzeyine yerleşmesine neden olur. Bu yerleşim hücre yüzeyinin trombojenik potansiyelinin artmasına neden olur. Eritrosit hücresinin yüzeyinde normalden daha fazla PS birikmesi hücrenin yaşlanmasında ve makrofajlar tarafından tahrip edilmesinde rol oynar (17-19).

Eritrosit membran proteinleri

Membran yapısında lipidlerin arasında ve çevresinde dağılmış olan proteinler bulunmaktadır. Membran proteinleri, integral membran proteinleri ve iskelet membran proteinleri şeklinde iki grupta sınıflandırılır.

Membran iskeletinde spektrin, aktin, ankrin, tropomiyosin, tropomodulin, band4.1 ve addusin proteinleri bulunmaktadır. Band4.1 ve ankrin, membranın en büyük iki proteindir (20-21). Membran proteinleri şekil 2.1. de gösterilmiştir. Spektrin, eritrosit membranının major iskelet proteindir. Eritrositlerin reolojik özellikleri, spektrin ve diğer iskelet membran proteinlerinin mekanik özelliklerinden ve iskelet ağ yapısına katılan diğer proteinlerle iletişiminden etkilenir. Spektrin fosforile olup olmaması ve fosforilasyon derecesi eritrosit membranının mekanik özelliklerinde anahtar rol oynamaktadır. Membrandaki şekil değişikliği sırasında spektrin yapısı değişir, bu değişiklikte birlikte membran yapısının şeklini korumak için diğer protein ve bağlantılar sıkışarak katlanır. Değişiklikler sonucunda membran protein ağında yeniden yapılanma meydana gelir. Bu şekilsel değişim geri dönüşümlüdür. Eritrositin geometrik yapısı değişir ancak yüzey alanı sabit kalır (22-24). Şekil değişikliği devam ettiğinde, bu artışla orantılı olarak bazı spektrin molekülleri maksimum doğrusal uzama sınırlarına erişirler. Bu nokta geri dönüşümlü şekil değişikliğinin sonucudur. (25). Eritrositte şekil değişikliğine sebep olan kuvvet daha da arttırılırsa, hücre yüzey alanında bir artış

meydana gelir ve protein-protein birleşimlerinde kırılmalar ortaya çıkarak membran parçalanır (23, 26).

İntegral membran proteinleri, lipidler ile sıkı bir şekilde bağlanarak membrana tutunurlar. İntegral membran proteinleri, band3, aquaporin ve siyaloglikoprotein ailesinden glikoforinlerinden oluşur. Membran proteinlerinin %25'ini oluşturan band3 proteini anyon değişiminde görevlidir. Band3 proteininin sitoplazmik parçasının N-terminali ankrin, protein 4.1, protein 4.2, Hb ve bazı glikolitik enzimlerle bağlanır. C terminali ise $Cl-HCO_3$ değişimi için anyon transport kanalı olarak fonksiyon görür. Protein 4.1 glikoforin C'ye bağlanarak hücre iskeleti ağı ile membran lipid tabakası arasındaki etkileşimde rol oynar (17). Protein 4.1 Glikoforin C bağlantısı şekil 2.2. de gösterilmiştir.

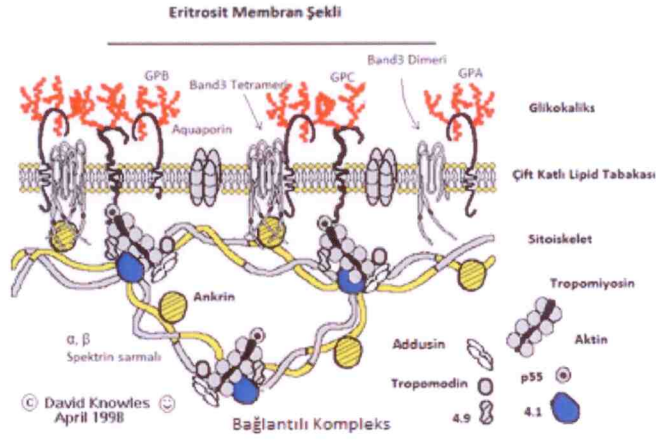
Glikoforin proteinlerinin dört alt grubu (glikoforin A, B, C, D) vardır. Membran proteinlerinin %2'sini oluştururlar. Eritrosit yüzeyinde bulunan karbonhidratların büyük oranı glikoforinde yer alır. Membran yüzeyine negatif yük sağlar. Bu özelliği ile eritrositin diğer hücreler ile etkileşimini azaltır. Glikoforin proteininde meydana gelen polimorfizm MN kan gruplarını meydana getirir. Glikoforin A'da ise influenza virüsünün ve malarial *Plasmodium falciparum*'un bağlanma yeri bulunur (27). Şekil 2.2. de glikoforin alt tipleri gösterilmektedir.

Ayrıca her bir eritrositte iyi şekilde tanımlanmış 50'den fazla transmembran proteinin bir kısmı transport olayında rol alır. Bu transmembran proteinlerinin bir kısmı şekil 2.2. de gösterilmektedir.

Transport fonksiyonu gösteren membran proteinleri;

- Band-3 : Cl/HCO_3^- anyon geçiş kanalıdır,
- Aquaporin-1: H_2O_2 taşıyıcılığı, yüzey antijenleri Rh50 ve Rh30'un geçişini sağlar,
- Glut-1 : Glukoz ve L-dihidroaskorbik asit transporter,
- Kidd antijen protein: Üre transporter,
- RhAG: Gaz transporter (olasılıkla karbondioksit),
- $Na^+-K^+-ATPaz$,
- $Ca^{2+}-ATPaz$,
- $Na^+-K^+-2Cl^-$ eş-taşıyıcı,
- Na^+-Cl^- eş-taşıyıcı
- Na^+-K^+ -eş-taşıyıcı
- K^+-Cl^- eş-taşıyıcı ve Gardos kanallarından söz edebiliriz (28-31)

Membran proteinleri membran iskeletinin içinden geçişi, membran iskeletine yapışmayı ve membran iskeletinden uzaklaştırmayı gerçekleştirebilirler. Hekzogonal yapıya sahip membran iskelet proteinleri ise eritrosite, dolaşımında mekanik bir güç sağlar.



Şekil 2.1. Eritrosit membran kompleksi (32)

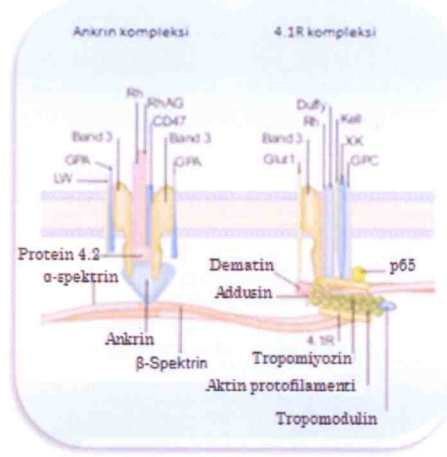
2.1.3.2. Eritrosit sitoplazması

Eritrositlerin sitoplazmasında %97 oranında, tetramer protein yapılı hemoglobin bulunur. Sitoplazmada yer alan 300 milyon hemoglobin, dokularda oksijen-karbondioksit taşınma döngüsünü sağlar ve eritrositlerin mekanik özelliklerinin belirlenmesinde önemli bir faktördür. Hemoglobin yoğunluğunu dar bir aralıkta tutmaya çalışan eritrositler, hücre deformasyonu sırasında sitoplazmik viskoz yayılımı en aza indirir. Eritrosit içerisinde bulunan hemoglobin yoğunluğunda (MCHC) meydana gelen 37 g/dL'nin üzerindeki artışlar, bükülme ve uzama şeklindeki deformasyonlardan sonra, hücrenin başlangıç şeklini sağlayan şekilsel oranlarını azaltır (14). Eritrosit sayısının maksimum değerinin üstüne çıkması tam kan viskozitesinde bir artışa neden olur. Viskozitede meydana gelen artış, kapiller dolaşımında eritrositlerin dar damarlara uyum sağlama yeteneğini ve dokulara oksijen dağıtma etkinliğini azaltır. Fakat önemli olan, hücre dehidratasyonu ve buna bağlı artan sitoplazmik viskozitedir. Kırmızı küre ömrünü hücre içi viskozitenin artışı çok az etkiler.

Eritrositlerin hücre içi hemoglobin yoğunluklarını dar bir aralıkta tutabilmeleri kendi hacimlerini kontrol altında tutma yeteneklerine bağlıdır. Eritrosit hacmi total kation içeriği ile belirlenirken, membrandan sodyum ve potasyum taşınmasında rol oynayan çok sayıda transport proteini sitoplazmik viskozitenin düzenlenmesinde rol oynar (31).

Sitoplazmada son araştırmalara göre 500'den fazla enzim ve elektrolit bulunmaktadır. Enzimlerin birçoğu redoks tepkimelerine katılarak oksijen radikallerinin zararsız bir şekilde eritrositten uzaklaştırılmasını sağlar. Bu proteinlerden bazıları; Cu-Zn süperoksit dismutaz (SOD), katalaz, glutatyon peroksidaz, methemoglobin reduktaz ve glikoz 6-fosfat dehidrojenaz (G6PD)dır. Bu gruba çok özel bir antioksidan olan peroksiredoksinler yeni eklenmiştir. En önemli peroksiredoksin2 (Prx2) ile beraber altı formu bulunur. Fareler üzerinde yapılan bir araştırmada, insan eritrositlerinin sitozolünde, redoks proteinleri arasında bulunan prx2 ve sitozolün eritrosit membranında bulunan band4.2/band5 oranında artış

görülmüştür (33). Prx2 Eritrosit sitoplazmasında hemoglobin ve karbonik anhidraz-1 (CA-1) den sonra en çok bulunan proteindir (18, 34-35).



Şekil 2.2. Eritrosit membran protein kompleksi (14)

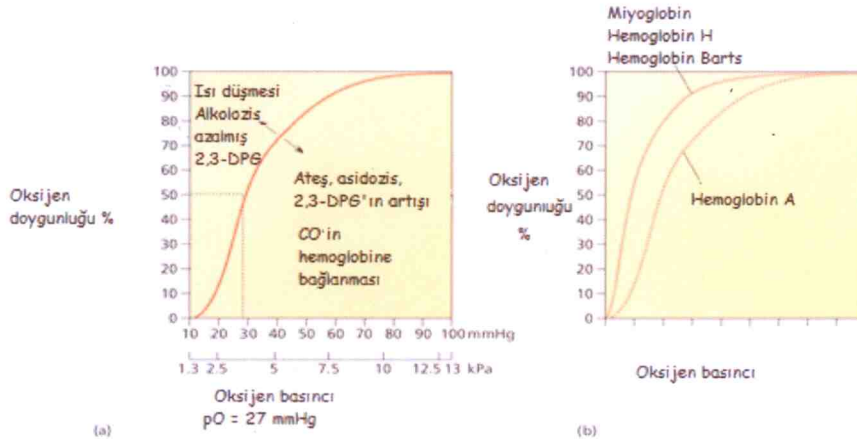
2.1.3.3. Eritrosit Metabolizması

Eritrositler enerjilerini elde etmek için Embden-Meyerhof yolunu (oksijensiz ortamda gerçekleşen glikoliz) kullanırlar. Oksijensiz ortamda gerçekleşen glikoliz sırasında glukoz laktata dönüştürülür ve enerji için adenosin trifosfat (ATP) üretilir. Glukozun yaklaşık %10'u NADPH'ın üretildiği hegzos monofosfat şantına aktarılır. Embden-Meyerhof yolundaki ilk enzim G6PD'dir. Embden-Meyerhof yolunun bir başka ürünü de nikotinamid adenin dinükleotidin (NAD) indirgenmiş hali olan NADH'tır. Enerji elde etmek için kullanılan ikinci bir yol bulunmaktadır. Bu yol hemoglobinin oksijene olan afinitesinin fizyolojik düzenleyicisi olan 2,3-difofogliseratın (2,3-DPG) üretildiği Rapoport-Luebering şantıdır (36).

Normal şartlarda hemoglobinin demir atomları ferröz (Fe^{2+}) formdadır. Demir atomu, methemoglobin ve süperoksidin (O_2^-) oluşumu sırasında ferrik (Fe^{3+}) formuna okside olur. İçerdiği demir atomları Fe^{3+} formda olan methemoglobinin oksijen taşıma kabiliyeti yoktur. Yeniden hemoglobine dönüşmedikçe, methemoglobin okside olarak hemikromlarını oluşturur. Hemikrom yapılar eritrositler içinde birleşerek Heinz Body cisimciklerini meydana getirir. Hemikromlar ve Heinz Body cisimcikleri hücre membranına tutunarak ona zarar verebilirler. Sayıları arttığında eritrositin parçalanmasına neden olabilirler. Methemoglobin redüktaz enzim sistemi methemoglobinin yeniden hemoglobine indirgenmesini sağlar. Bu enzim sistemi glikoliz sırasında üretilen NADH'ın varlığına ihtiyaç duyar. Süperoksit (O_2^-) güçlü bir oksitleyici ajandır ve etkisizleştirilmezse eritrosite zarar verir. SOD enzimi O_2^- 'yi hidrojen perokside (H_2O_2) dönüştürür; H_2O_2 oksidan özellik taşıdığından indirgenmiş glutatyon (GSH) tarafından etkisizleştirilmelidir. Okside glutatyon (GSSG) hegzos monofosfat şantında elde edilen NADPH'ın varlığında glutatyon redüktaz tarafından indirgenir. Eğer methemoglobin hemoglobine indirgenmez ise veya GSSG glutatyona indirgenirse eritrosit hemolize uğrar (37-38).

2.2. Hemoglobinin Yapısı ve Özellikleri

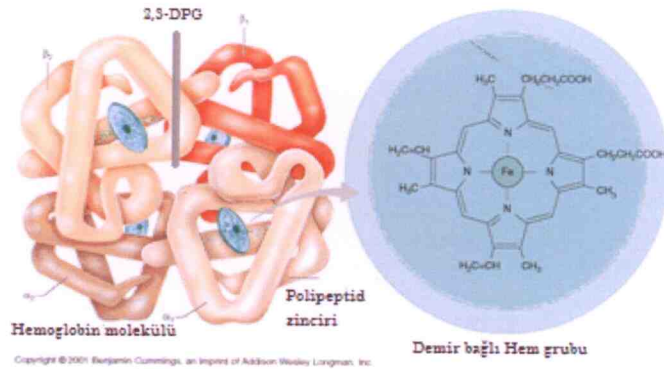
Hemoglobin akciğer alveollerinde oksijen-karbondioksit alışverişi yapar. Kararlı bir yapıda olması oksijen salınım görevini yerine getirmesinde önemli bir etkidir. Hemoglobin hem molekülü ve globin zincirlerinden meydana gelmiştir. Kırmızı bir pigment olan hem bir azotun çevresine bağlı dört pürol halkasının oluşturduğu porfirin halkası ve ortada bir demir (Fe) molekülünden meydana gelir. Globin zinciri de tetramer yapıda 2 alfa 2 beta zincirinden meydana gelmiştir. Hemoglobin, 4 hem ve 4 globin zinciri moleküllerini içeren tetramerik bir proteindir. Hemoglobin yapısı şekil 2.4. te verilmiştir. Hemoglobinde 4 hem grubu olduğu için, O₂ nin dört bağlanma noktası vardır. Oksijen bağlandığı zaman oksihemoglobin oluşur ve bu durumda Hb'nin yapısı gevşektir ve R (Relaks) şekli olarak adlandırılır. Kısmi oksijenlenmiş Hb'nin yapısı gergindir buna Tense (T) hali denir. Hemoglobinin oksijen doygunluk eğrisi sigmoidaldır ve bir O₂ molekülünün bağlanması diğer O₂'lerin bağlanmasını kolaylaştırır. Bu eğri şekil 2.3.a'da gösterilmiştir. Oksijen dokulara verildiği zaman Hb 4 molekül CO₂'i bağlayabilir. CO₂'in %15'i böyle taşınır. Karbondioksit Hb'nin T halini sabitler. Hemoglobin kaybedilen her 4 molekül O₂ yerine 2 proton bağlayabilir. Buna Hb'nin tamponlama etkisi denir. Protonların artması pH'yı düşürür ve pCO₂ artar. Sonuç olarak Hb'nin O₂'ne olan ilgisi azalır buna Bohr etkisi denir. Hemoglobinin etkisini değiştiren bir diğer molekül 2,3 difosfogliserattır (2,3 DPG). Bir molekül 2,3 DPG, deoksi Hb'e bağlandığı zaman, hemoglobinin oksijene ilgisi azalır. Fetal hemoglobinin O₂'e ilgisi, anne Hb'nine göre daha yüksektir. Çünkü erişkin eritrositte 2,3 DPG bulunur. (Şekil 2.3.b) (39)



Şekil 2.3. a) Hb A'nın Oksijen saturasyon eğrisi, b) Oksijen saturasyonunun Oksijen basıncı ilişkisi

Globin zincirleri iki gruba ayrılır; Alfa (α) zincir grubu ve beta (β) zincir grubu. Alfa zincir grubu 141 aminoasit (aa), β zincir grubu 146 aa içerir. Alfa zincir grubunda zeta (ζ), psödo alfa₁ ($\psi\alpha_1$), psödo alfa₂ ($\psi\alpha_2$), teta (θ) ve psödo zeta ($\psi\zeta$) zincirleri bulunur. Beta zincir grubunda ise gama G (G_γ), gama A (A_γ), epsilon (ϵ), psödo beta ($\psi\beta$), β ve delta (δ) zincirleri bulunur. Gebeliğin 3-10 haftaları arasında ortaya çıkan "embriyonik hemoglobinler" $\zeta_2\epsilon_2$ globin zincirlerinden meydana gelen

Hb Gower 1, $\alpha_2\epsilon_2$ globin zincirlerinden meydana gelen Hb Gower2 ve $\zeta_2\gamma_2$ globin zincirlerinin meydana getirdiği Hb Portland tetramerlerini kapsar. Daha çok gebelik sırasında bulunan $\alpha_2\gamma_2$ globin zincirlerinin oluşturduğu Hb F doğumdan sonra yerini $\alpha_2\beta_2$ zincirlerinin meydana getirdiği Hb A₁'e bırakır. Erişkin hayatta Hb A₁ oranı artar, Hb F oranı azalır, az miktarda $\alpha_2\delta_2$ zincirlerinden oluşan Hb A₂ görülür. Yetişkinlerde HbA₁ %95-98 oranında, yenidoğan döneminde ise %20-30 oranlarında bulunur. Yetişkinlerde HbA₂ %2-3,5 iken yenidoğan döneminde %0,2 oranındadır. Hemoglobin F erişkinlerde %1 oranında iken yenidoğan döneminde %80 oranında bulunur. Globin zincirlerini sentezleyen genlerde meydana gelen bazı mutasyonlar globin zincirinin yapısında herhangi bir değişikliğe yol açmazken bazı mutasyonlar globin zincirinin kusurlu üretimine veya üretilmemesine neden olur (40).



Şekil 2.4. Hemoglobin ve Hem yapısı

2.2.1. Hemoglobinopatiler ve Talasemiler

Globin zincirinin kusurlu sentezi sonucu meydana gelen patoloji hemoglobinopati olarak isimlendirilir. Dünya nüfusunun %7'si farklı hemoglobinopati taşıyıcısıdır. Hb varyantları, α ve β globin zincirlerini kodlayan 11. ve 16. kromozomlar üzerindeki çeşitli mutasyonlardan kaynaklanmaktadır. Bu genlerin ekson bölgesindeki mutasyonlar, ekson bölgesi dışındaki nokta mutasyonları, insersiyonları ya da delesyonları çeşitli Hb varyantlarının oluşumuna neden olur. Otozomal resesif kalıtılan hemoglobinopati hastalıkları Alfa ve beta talasemi olarak iki büyük gruba ayrılır. Alfa ve beta talasemi en yaygın tek gen hastalığıdır. En sık karşılaşılan hemoglobinopatiler arasında β zinciri varyantları mevcuttur. Hb S (orak hücre anemisi), Hb E, Hb D, Hb C vs. varyantlarının hepsinde β globin zincirinde tek bir aminoasit değişikliği vardır. β zincirinin 6. pozisyonunda glutamik asit yerine valin gelmesi sonucu Hb S varyantı meydana gelir. Yine β zincirinin 6. pozisyonunda meydana gelen insersiyon, glutamik asit yerine lizin geçmesine ve Hb C varyantına neden olur. Dünya popülasyonunun %0,29'u Hb C taşıyıcısıdır. Beta zincirinde meydana gelen en sık görülen üçüncü varyant ise 26. pozisyonda glutamik asit yerine lizinin geçmesidir. Normal bir β zinciri yerine Hb E

varyantı sentezlenir. Dünya populasyonunun %0,95'i Hb E taşıyıcısıdır. Hemoglobinin D β zincirinin 121. pozisyonunda glutamik asit yerine glutamin sentezlenmesi sonucu meydana gelen bir hemoglobinopatidir (41).

2.2.1.1. Alfa Talasemi

Alfa globin genleri 16. kromozomun telomerik bölgesine yerleşmiştir. Alfa gen bölgesinde α_1 , α_2 , ζ_2 , 2 pseudogen grubu ($\psi\zeta_1$, $\psi\alpha$) ve işlevi belli olmayan θ gen bölgesi bulunur. Alfa gen grubunda yer alan α_1 , α_2 ve ζ_2 gen bölgeleri yüksek bir homolojiye sahiptir. Alfa₁ ve alfa₂ genlerinin IVS-2 bölgeleri ve 3' ucunda aminoasit kodlamayan bölgelerinde bazı farklılıkları bulunmaktadır. Alfa geni ile ζ_2 geni arasında %58'lik bir benzerlik mevcuttur. Alfa gen grubunun 5' ucunda 40 kb'lık hipersensitif bölgede eritroide özel DNAase1 hipersensitif (HS) bölge, 350 baz çifti içeren bölge, trans-aktin faktörlerin bağlanma bölgesi, CACC baz bölgesi ve YY1 transkripsiyon faktörlerinin bağlanma bölgeleri bulunur. Bu küçük bölgeler hematopoetik protein bileşenlerinin bağlanma bölgesini içerir. Gebeliğin 8. haftasından sonra α_1 ve α_2 genleri sentezlenmeye başlar. Sağlıklı bir bireyde her allelde iki tane olmak üzere toplam dört tane alfa globin geni ($\alpha\alpha/\alpha\alpha$) vardır. Alfa zincirinin sentezi β zincirinin sentezine bağlıdır. Alfa gen ekspresyonunda α_2 geni α_1 geninden yaklaşık 3 kat daha fazla sentezlenir. Dolayısıyla α_2 globin varyantı oluşma riski %35, α_1 globin varyantı meydana gelme olasılığı %15'tir. Alfa talasemi, alfa globin geninde çeşitli mutasyonların veya delesyonların olması sonucunda meydana gelir. Alfa globin zinciri kusurlu üretilebilir, sentezi azalabilir veya üretilmeyebilir (42-43). Alfa geni bölgeleri şekil 2.6. da gösterilmiştir.

Alfa talasemi mutasyonları delesyonel veya non-delesyonel olmak üzere ikiye ayrılır. Delesyonlar bir veya daha fazla alfa globin zincirinde meydana gelebilirler.

Delesyonlar α geninin bir kısmını, tamamını veya ζ_2 zincirini kapsayacak şekilde gerçekleşerek α^0 talasemiye neden olurlar. Delesyonun büyüklüğüne göre 150 kb'lık α geninin üretimi, DNA tamir enzimi, disülfit izomeraz proteini üretimi ve görevi belirlenmemiş gen bölgelerinin üretimi etkilenebilir. Yapılan çalışmalarda $\alpha^{5.2}$ ve $\alpha^{20.5}$ delesyonlarının α_2 geninin üretiminin tamamen ve α_1 zincirini kısmi olarak üretimini durdurduğu bildirilmiştir (44-45). Delesyonlar hem α_2 hem de α_1 gen bölgesinde meydana gelebilir. Farklı toplumlarda yapılan araştırmalarda alfa gen kümesinin bir kısmını veya tamamını içine alan 36 farklı gen delesyonu belirlenmiştir. Alfa geni delesyonları Şekil 2.6. da gösterilmiştir. (45).

Alfa genini içine alan delesyonların uzunlukları, buldukları ülke veya toplumun isimleri kullanılarak adlandırılmış toplam 20 delesyon bulunmaktadır. Bu delesyonlar heterozigot vakaların elektroforez sonuçlarında düşük HbA₁ ve HbA₂ miktarı ile tespit edilebilmektedir. Bu vakaların homozigot veya çift heterozigot olanları hidrops fetalis'e neden olacağı için yaşamla bağdaşmamaktadır.

Delesyonel olmayan mutasyonlar ise α globin geni üretimini kontrol eden gen bölgelerinde bir ya da daha fazla nükleotidin, değişimi sonucu meydana gelir. Delesyonel α talasemiden daha az yoğunlukta görülürler. Ayrıca α_2 zincirinde daha fazla meydana gelirler. Delesyonel olmayan 41 tane mutasyon belirlenmiştir (46-47). Delesyonel olmayan mutasyonlar farklı mekanizmaları etkileyerek değişik genotipler

meydana getirir. RNA splice mekanizmasının ve dur kodonunun etkilenmesi, PolyA eklenmesi, sessiz mutasyonlar, kırılma ve kırılma-delesyon mutasyonları delesyonel olmayan mutasyonlar arasında yer alır. Örneğin; stop kodonunda tek bir aminoasit değişikliği ile mRNA translasyonu devam eder ve yaygın olarak görülen Hb Constant Spring (HbCS) varyantı meydana gelir (48-49).

Alfa talasemide genotip fenotip ilişkisi:

$\alpha\alpha/\alpha-$: Dört alfa zincirinden bir tanesinde delesyonel veya delesyonel olmayan bir mutasyon meydana gelmiş ise sessiz taşıyıcıdır. Sessiz taşıyıcılar genellikle Siyah Amerikalı, Akdeniz ve Suudi Arabistan kökenlerinde rastlanır. Tamamen sağlıklı fenotipe sahip bu bireyler üç fonksiyonel α zincirine sahiptir. Laboratuvar değerlendirmelerinde MCV değeri 78 g/dl'den, MCH değeri 27 g/dl'den daha düşüktür. Hb A₂ ve Hb F normal değerlerindedir. Sağlık taramalarında veya evlilik öncesi yapılan testler sonucu tespit edilebilirler (50).

$\alpha\alpha/--$ veya $\alpha-/α-$: İki alfa zinciri mutasyonu taşıması durumunda taşıyıcılık söz konusudur. Taşıyıcı olgular genellikle Çin kökenli olup Tayland, Kamboçya, Vietnam ve Filipinlerde yaygın olarak, Yunanistan, Türkiye, Kıbrıs ve İsrail halkında daha az yoğunlukta görülmektedir. Fenotipte genellikle sessiz taşıyıcılara benzer şekilde MCV ve MCH düşüklüğü, RDW artışı, elektroforezde Hb A₂ ve Hb F normal aralıklarında görülür. Bazı olgularda laboratuvar değerlendirmelerinde $\beta-$ veya $\delta\beta$ -talasemi taşıyıcılarından ayırt edilemeyebilirler. Bu durumda Hb H boyama yöntemi kullanılarak α talasemi taşıyıcılığı tespit edilebilir. Globin zincirleri arasında α/β oranı 0.9'dan daha düşüktür. Aynı ya da farklı kromozomlar üzerinde meydana gelen delesyonel ya da delesyonel olmayan mutasyonlar ile kalıtılırlar (51).

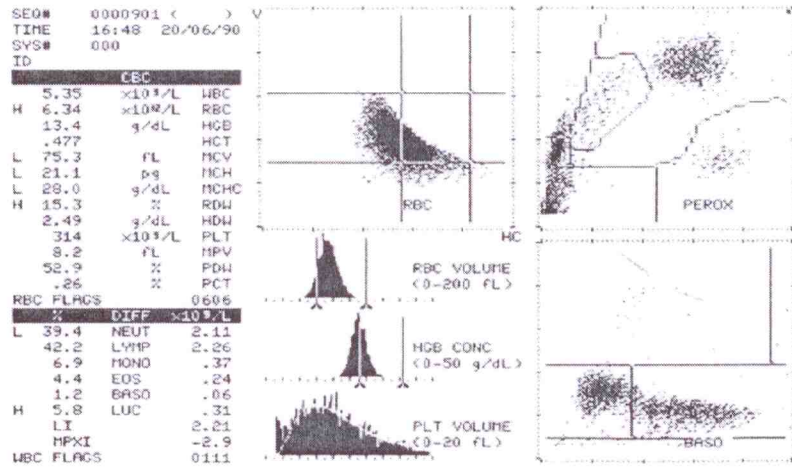
$\alpha/--$: Dört α zincirinden üç tanesinin üretilmemesi sonucunda Hb H hastalığı ortaya çıkar. Hb H hastalığının patofizyolojisi α zinciri ile β veya γ zincirlerinin orantısız üretilmesine bağlıdır. α/β oranı 0,2-0,5 arasındadır. Orantısız üretim sonucu eritrosit membranına yapışan serbest globin zinciri eritrosite zarar verir. Alfa zincirinin azalması ile hipokromik mikrositer anemi gelişir. Laboratuvar değerlerinde genel olarak hemoglobin 7-10 g/dl arasında, MCV 64 fl'nin altında, MCH 20 pg'dan daha küçük, MCHC 30 g/dl' nin altındadır. Hemoglobin elektroforezinde Hb A₂ oranı düşer, Hb F %1-2 oranında artar. Laboratuvar değerlerinde meydana gelen bu değişiklikler bölge, birey ve mutasyonlara bağlı olarak değişebilir. Eşleşecek α zinciri bulamayan β veya γ zincirlerinin neden olduğu inklüzyon cisimcikleri New Metilen Blue veya Brillant Cresyl Blue boyaları ile iki saat süre ile 37 °C de inkübe edilir. Süre sonunda Hb H patolojisi bulunan eritrositlerde mikroskopik incelemede golf topuna benzer bir görüntü elde edilir (52).

Membran yapısı bozulan eritrositlerin dokulara taşıdığı oksijen miktarı azalır. Eritrositlerin oksijene afinitesi artar. Oksijenin hemoglobinden ayrılma (disosiasyon) eğrisi artan afiniteye göre değişir. Alfa talasemide eritrositlerin membranı β talasemide ki kadar olmasa da sıkı yapıya sahiptir. Membranın fosfolipid tabakasında yer alan kompleks haldeki proteinlerden band3 grubuna yapışan β zincirleri PS salınımına ve erken apoptozisine neden olur. Eritrosit membranı hasarlı eritrositler erken hemolize neden olur. Parçalanmış eritrositler retikülo-endotelyal sistemde (RES)

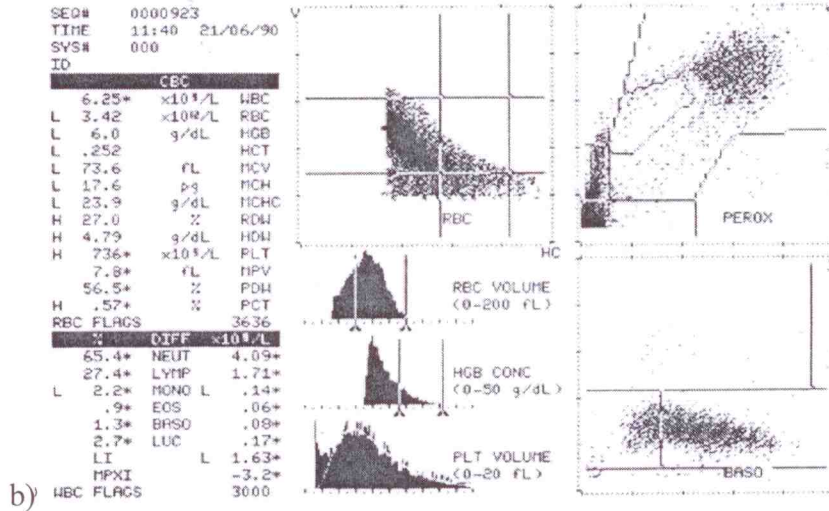
immüoglobulinlerin Fc reseptörlerine yapışarak fagositoza uğrarlar. Hemoliz sonucu açığa çıkan β zincirleri, kemik iliğinde eritroid öncül hücrelerine de yapışarak hücre ölümlerine neden olurlar. Erken hemoliz β talasemi hastalarında görülen kadar olmasa da etkin olmayan hematopoeze neden olur.

Hb H hastası bireyler, gebelik, enfeksiyon, oksidan ilaçların tüketimi ile artan hemoliz sonucunda veya evlilik öncesi taramalarda fark edilebilirler.

Yaygın olarak Hb H, α_2 zincirinin etkilendiği, heterozigot kalıtılan α^0 ve α^+ genotipi gibi aktarılır.



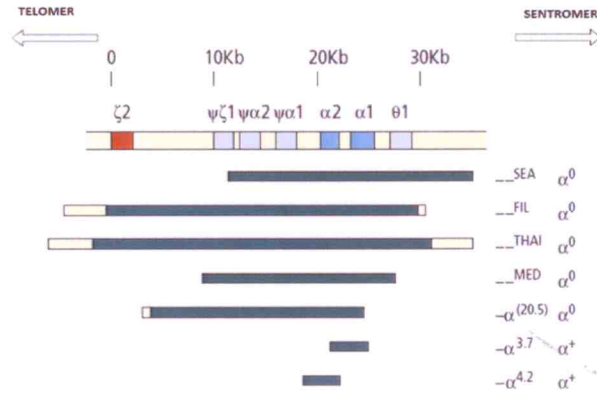
Şekil 2.5. a) α^+/ α^+ Laboratuvar değerleri,



Şekil 2.5. b) Splenektomili Hb H hastası (45)

--/-- Dört alfa zincirinden hiçbirinin üretilmemesi durumunda klinikte Hidrops Fetalis (Hb Barts) olarak tanımlanan fenotip ortaya çıkar. Hidrops fetalis doğumdan

önce veya doğumun hemen ardından bebeğin ölmesine neden olur. Herhangi bir tedavi seçeneği bulunmamaktadır. Eşleşecek α zinciri bulamayan β ve γ zincirleri eritrosit membranına yapışarak membran bütünlüğünü hemen bozar ve hemoglobin kompleksi oluşmadığı için oksijen dokulara taşınamaz. Hemogram değerlendirilmesinde Hb 3-8 g/dl arasında MCH ve MCHC değerleri büyük oranda azalmış, MCV ise normal değer aralığındadır. Hemoglobin elektroforezinde hemoglobin Bart's %70-100 hemoglobin Portland 1, hemoglobin Portland 2 ve hemoglobin H %10-20 civarındadır (53).



Şekil 2.6. 16. Kromozom α zincir geni

Güney-Doğu Asya ve Çin'de yaygın olarak görülen Hidrops fetalis, Kıbrıs, Yunanistan ve Türkiye'de de daha az oranda görülür.

2.2.1.2. Beta Talasemi

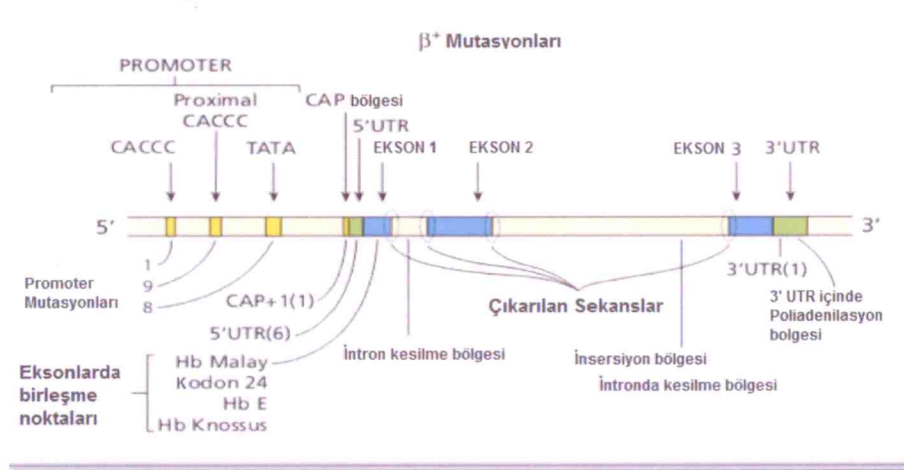
Beta globin geni 11. kromozomun kısa kolunda yerleşmiştir. Kromozom üzerinde 5'ucundan itibaren sırası ile LCR (Lokus Kontrol Bölgesi) embriyonik ϵ , fetal $G\gamma$, $A\gamma$ ve psödogen $\psi\beta 1$, δ ve β gen bölgeleri yer alır. Beş adet fonksiyonel globin geni üretilir. Bu bölgeler β zincirinin üretiminin uzatılması, sonlandırılması ve meydana gelen hasarların tamirinde görevlidirler. Beta zincirinin üretimi beta gen bölgesinde yer alan LCR'nin kontrolü altındadır. Embriyonik ϵ zinciri ve ζ zinciri gebeliğin ilk 5 haftasında yolk salk kesesinden sentezlenir. Embriyonik hayatın ilk haftalarından itibaren gama (γ) globin zinciri de sentezlenmeye başlar. Gama globin zinciri Hb F'e katılır. Gama zincirinin 136. pozisyonunda glisin aminoasiti ile γ^G zinciri, alanin aminoasiti ile γ^A zinciri sentezlenir. Fonksiyonu henüz bilinmeyen yalancı gen bölgesi olan $\psi\beta 1$ geni transkripsiyona uğrar fakat herhangi bir aminoasit sentezlenmez. Zincirin δ gen bölgesi ise gebeliğin 30-40 haftaları arasında dalakta sentezlenmeye başlayarak erişkin dönemde de varlığını Hb A₂'nin yapısında sürdürür. Beta gen bölgesi gebeliğin yaklaşık 10. haftasında sentezlenmeye başlar. Doğuma kadar karaciğer ve dalakta doğumdan sonra dalak ve yoğunlukla kemik iliğinde sentezlenir. Erişkin bir bireyde α zinciri β zincirinden 2.5 kat daha fazla transkripsiyona uğrayabilir fakat daha az translasyona uğrar. Beta zincir translasyonu açığa çıkan hem miktarına bağlıdır (54-55).

β globin gen bölgesi mutasyonlarından nokta mutasyonları, non-sense mutasyonlar, insersiyonlar hemoglobinopatilere, delesyonel ve delesyonel olmayan birçok mutasyon β talasemiye ve hemoglobinopatilere neden olur. Bu mutasyonlar genin intron bölgeleri yanı sıra uzatma kodu, dur kodu taşıyan bölgelerinde meydana gelebilir (56-57).

Mutasyon bölgesine bağlı olarak globin zincirinin yapısı bozulabilir, globin zinciri hiç üretilmeyebilir veya çok az miktarda üretilir. Mutasyonlar kromozomun ekzon bölgesinde yer alırsa anormal bir zincir yapısına neden olmaz. Yanlış aminoasit kodlanması sonucunda anormal globin zinciri olan Hb S, Hb C, Hb D, Hb E gibi hemoglobinopatiler meydana gelir. Sessiz mutasyon dur kodonunu etkileyerek zincir sentezlenmesinde erken sonlanmaya veya insersiyon ile translasyonu uzatarak Hb Constant Spring, Hb Icaria, Hb Koya Dora gibi anormal hemoglobinlerin sentezlenmesine neden olur.

β talasemi mutasyonları β^0 talasemi (β zincir üretimi olmayan) veya β^+ talasemiye (β zinciri az üretilen) neden olurlar. Beta talasemiye neden olan 200'den fazla mutasyon tanımlanmıştır. β^0 ve β^+ talasemide mutasyon bölgeleri Şekil 2.7 ve şekil 2.8 de verilmiştir. Delesyonel mutasyonlar arasında çeşitli büyüklükte ve farklı bölgelerde delesyonlar tanımlanmıştır. Delesyonlar sonucunda çoğunlukla β^0 talasemi görülür. Delesyonel mutasyonlar 290 baz çifti (bp)-67 kilobaz (kb)'lık bölgeleri kapsayabilir. Beta globin geninin 3'ucu, LCR bölgesi, promoter bölgesi, ϵ , $G\gamma$, $A\gamma$ veya $\delta\beta$ bölgeleri tamamen eksilebilir. Beta zincirinin üretimi tamamen veya kısmen ortadan kalkar. Delesyonel olmayan mutasyonlar 3 şekilde β geni sentezini etkiler, transkripsiyonu değiştirirler (promoter bölge veya 5'bölgesini değiştirirler), β geninin mRNA kodlanma sürecini etkilerler, gen translasyonunu etkilerler (58).

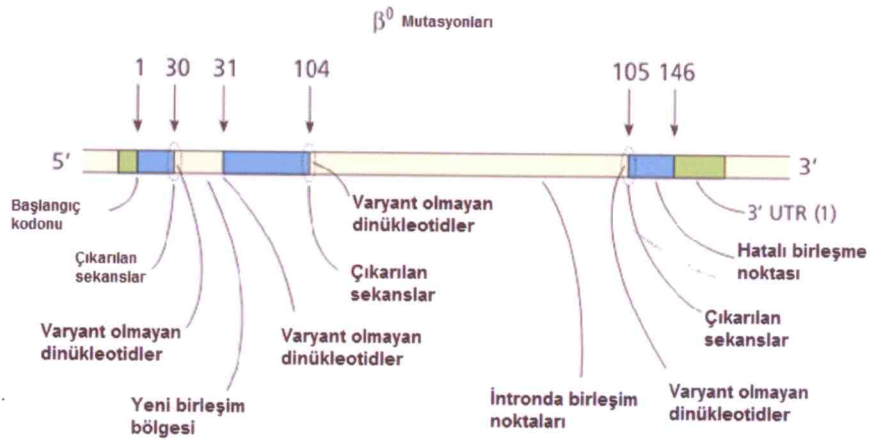
Transkripsiyonu etkileyen mutasyonlar β^+ talasemi, β geninin mRNA kodlanma sürecini etkileyen mutasyonları β^0 veya β^+ talasemi fenotiplerine, β geni translasyonunu etkileyen mutasyonlar ise β^0 talasemi fenotiplerine neden olurlar (59)



Şekil 2.7. β^+ talasemi mutasyon bölgeleri (45)

Beta talasemi taşıyıcılığı Türkiye'nin içinde yer aldığı Akdeniz bölgesinde %2-18, Amerika'da %0-8, Avrupada %0-19, Güney-Doğu Asya'da %0-11, Sub-Saharan Afrika'da %0-12 ve Pasifik'in batısında %0-13 oranlarında görülmektedir.

İki ebeveynden sadece birinin globin zinciri mutasyonu taşıması ve fetusa aktarılması halinde dünyaya gelecek çocuk %25 ihtimalle talasemi minör, %75 ihtimalle normal birey olarak doğabilir. Taşıyıcı iki ebeveynin genlerinin çocuğa aktarılması durumunda dünyaya gelecek çocuk %25 ihtimalle talasemi major, %50 ihtimalle talasemi minör ve %25 ihtimalle sağlıklı bireyler dünyaya gelir. Bu mutasyonlar değişik kombinasyonlarla ortaya çıkabilir.



Şekil 2.8. β^0 talasemi mutasyon bölgeleri (45)

Beta talasemi genotip fenotip ilişkisi :

Talasemi minör: Beta zincir mutasyonu iki beta zincirinden sadece bir tanesinde varsa birey talasemi minör diğer bir tanımla talasemi taşıyıcısı olur. Genellikle klinik belirti göstermez. Kronik enfeksiyon veya kadınlarda gebelik hallerinde ciddi anemi görülür. Hemogram değerlendirilmesinde MCV ve MCH düşük, eritrosit sayısı artmış, RDW genellikle normal değer aralığındadır. MCV ve MCH değerlerinde, β^+ talasemi minör ve β^0 minör arasında farklılıklar görülebilir. Fakat genelleme yapılırsa: Hb 8-9 g/dl arasında, MCV 78 g/dl'den daha düşük, MCH 27 g/dl'nin altındadır. Mikroskopik incelemede mikrositozis, anizositozis, poikilositozis ve hipokromi görülür. Daha ciddi olgularda bazofilik noktanlanma, target hücreler görülebilir. Yenidoğan döneminde α talasemi taşıyıcısı bebeklerin aksine hemoglobin değerleri normaldir. Hb elektroforezinde Hb A₂ %3,5-5, Hb F %2-7 arasında görülür. Bu yüzdeler gende meydana gelen mutasyona bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Nadiren, talasemi minöre eşlik eden bazı olgularda transfüzyon ihtiyacı duyulur (60-62).

Talasemi intermedia: Bu bireyler transfüzyon almadan veya nadiren transfüzyon tedavisi ile takip edilirler. Farklı genotip-fenotip ilişkisi ile takip edilebilirler. Transfüzyon tedavisi almadan takip edilebildiği gibi düzenli transfüzyon ihtiyacı olan hastalarda bulunur. Klinik olarak anemi, splenomegali, bacak ülserleri ve kemik deformasyonları, büyüme geriliği, safra kesesi taşı ve gonadal yetmezlik görülür.

Yapılan araştırmalarda hastalarda demir yükü artışı ile ekstramedullar organlarda tümör benzeri kitle oluşunu grlmştir. Kalp yetmezliği, perikardiyal kalınlaşma, mitral ve triküspit yetmezlik, akut perikardit, pulmoner yetmezlik gibi klinik bulgular da görülmektedir. Genotiplerinde genellikle homozigot ya da heterozigot β zincir mutasyonuna ek olarak α zincir mutasyonu veya γ zincir mutasyonu bulunabilir. Laboratuvar değerlendirmesi talasemi minör grubu ile benzer özelliktedir. Fakat daha ciddi klinik öneme sahiptir. Mikroskopik incelemesinde polikromazi, anizositozis, hipokromi, mikrositer anemi, poiklositozis ve bazofilik noktalanma gözlenir. Hemoglobinin elektroforezi testinde Hb F genellikle talasemi minrden daha fazla artış gösterir. Eritrosit yapımında talasemi minrden daha ciddi bir artış gösterir (63-64)

Talasemi major: β zincir mutasyonlarını homozigot veya heterozigot halde taşıyan bireylerdir. Tanı yaşamın ilk 4-6 ayında konulabilir. Ortalama 20 günde bir eritrosit süspansiyon transfüzyonuna bağımlı olarak hayatlarını devam ettirirler. Etkisiz eritrosit yapımı, ömrü kısalımış eritrositler, dalakta, karaciğerde ve yassı kemiklerin korteksinde genişleme, beyni koruyan kafatasının pariyetal kısmında dikensi görünüm, elmacık, üst çene ve alın kemiklerinde öne doğru uzama deformasyonları görülür. Dalak büyümesi eritrositlerin ömrünün kısalmasına, sarılığa ve safra kesesi taşı oluşumuna neden olur. Akciğerleri saran kostalarda meydana gelen büyüme pulmoner hipertansiyona neden olur. Tüm bu yan etkiler düzenli transfüzyon tedavisi ile engellenebilir. Bunun yanında transfüzyon tedavisi ile kanda serbest halde dolaşan demir kalp, karaciğer, ve endokronal organlarda demir yükü artışına neden olur (65).

Talasemi major hastalarında β zinciri üretimi kusurlu olduğu için onun görevini de α zinciri yapmaya çalışır. Dolayısı ile Hb F ve Hb A₂ retimi artar. Alfa zincirinin oksijene afinitesi β zincirinden daha yüksektir. Dokulara oksijeni kolayca bırakamaz. Zincir yapımındaki dengesizlik mutasyona bağlı olarak değişiklik gösterir. Globin zincirlerinin dengesiz üretimi α/β oranının 1'den büyük olmasına, α zincirlerinin eritrosit membranına yapışarak erken hemoliz olmasına ve hemoglobinin düşmesine neden olur (66). Hemogram değerlendirilmesinde hemoglobin düşüklüğünün yanında ortalama eritrosit hacmi (MCV) ve eritrosit içinde bulunan Hb miktarı (MCH) düşer. Hipokromik mikrositer anemiye bağlı doku ve organlarda yetersiz O₂-CO₂ alışverişi ve yetersiz beslenme görülür. Eritrosit öncüllerinin bulunduğu, hematopoetik organlarda yer alan membran hasarlı eritrositlerin erken apoptozisi, kemik, dalak ve karaciğerde hasara neden olur. Serbest kalan α globin zincirleri eritrosit membranına yapışarak sırasıyla hem ve hemikrom oluşur. Kemik iliğinde yapımı süren eritrositlerin membranına α zincirlerinin yapışması kemik korteksinde de zarar verir. Tromboza yatkınlık, deri renginin koyulaşması da görülen yan etkiler arasındadır (66-68).

Talasemi major hastalarının düzenli eritrosit süspansiyon transfüzyonu tedavisi, almalıdır. Transfüzyon tedavisinin yan etkilerini ortadan kaldıracılabilmek için aşılamalar ve ferritin şelatör tedavileri almaları gereklidir. Düzenli aralıklarda kardiyolojik, endokrinolojik, odyolojik ve oftalmik kontroller ile hastaların yaşam standartları sağlıklı bireylere yakın seviyede tutulabilir. Dalak büyüklüğü, yaş ve transfüzyon sıklıkları değerlendirilerek splenektomi uygulanabilir. Kesin tedavi yöntemi tam uyumlu bir vericiden yapılan kök hücre naklidir (69-71)

2.2.2.3. Orak Hücre Anemisi

Sıklıkla Afrika, Akdeniz ülkelerinde, Hindistan, Suudi Arabistan, Latin Amerika ve Siyah Amerikalılarda görülür (72-73). Orak hücre anemili bireyler Afrika bölgesinde yaygın malaryal bir parazit olan *Plasmodium falciparum*'un ölümcül etkisinden korunur (72). Orak hücreli anemi otozomal resesif kalıtım gösteren, kalıtsal bir hastalıktır. Orak hücre anemisi β zincirinin NH_2 ucundaki bir insersiyon mutasyonu sonucu meydana gelir. β Globin zincirinin 6. kodonunda adenin yerine timin bazı gelir (GAG- \rightarrow GTG). Bu aminoasit değişikliği sonucunda β zincirinde glutamik asit yerine valin sentezlenir. Glutamik asitin üzerindeki elektriksel yükü ve molekül büyüklüğü, zincirde yer alan diğer moleküller arasında bağlantı oluşumunu engeller. Valin benzer yapı ve özellikte olmadığı için oksijenin salınımı esnasında, hücreler arasında hidrofobik bağlar oluşur. Bu değişim eritrositlerin oksijensiz ortamda membran şeklini koruyamamasına ve eritrositin orak şeklini almasına neden olur. Orak eritrosit polimerizasyonu Şekil 2.9 da gösterilmiştir. (74).

Orak hücre hemoglobinleri oksijeni saldığı durumda çözünürlüğü azalır. Bu hemoglobin molekülleri oksijeni azalmıştır. Oksijensiz ortamda agregasyona uğrayarak uzun polimerler meydana getirirler ve birbirleri ile birleşerek ince filamentler halinde uzanır. Eritrosit içerisinde oluşan bu yapıya taktoid kristalleri denilir. Bu taktoid yapılar jel halindedir ve eritrosit membranının iç duvarına yapışarak membranı gerer ve şeklini bozar. Hemoglobin moleküllerinin tekrar oksijenlenmesi ile agregasyona uğramış moleküller dağılır ve jel sıvı halini alır. Orak şeklini almış eritrosit membranı polimerizasyondan zarar görmedikçe eritrosit normal şeklini tekrar kazanır. Oraklaşma ve normalleşme döngülerinin tekrarı ile geri dönüşümsüz oraklaşmış eritrositler meydana gelir. Eritrositler elastik hareketlerini yapamaz hale gelir hilal şekline dönüşürler. Aynı zamanda eritrosit içinde kullanılmayan oksijen molekülleri birleşir ve oksijen radikallerini meydana getirir. Bu radikaller (H_2O_2 , O_2) eritrosit membranına yapışarak membranda hasarlara neden olur.

Oraklaşma sonrası eritrositlerin bir kısmı makrofajlar tarafından dolaşımında yakalanır ve fagositoza uğrarlar. Fagosite edilmemiş orak hücrelerin membran yüzeyinde endotel hücrelerine özel adezyon kuvvet molekülleri artar, polimerize olurlar ve çözünürlükleri azalır. Uzun polimerize yapılar meydana gelir ve bu polimerize yapılar kapiller damarları tıkararak ağırlı krizlere neden olurlar.

Oraklaşma hücre içi Hb S yoğunluğuna, hücrenin bıraktığı oksijenin miktarına, pH'sına, hücre içi su kaybına ve hücre içi Hb konsantrasyonuna bağlı olarak değişir. Hücre içi Hb yoğunluğu normal bir eritrosite göre daha fazla, pH'sı ise normal eritrositlere göre 0,5 daha düşüktür. Orak hücrelerin su kaybı dört önemli faktörden etkilenir.

Gardos Kanalı

Eritrosit içi Ca oranı arttığı zaman bu kanal aktifleşir ve Cl ile birlikte K ve su kaybı gerçekleşir. Hücre içi H_2O konsantrasyonu azalan eritrositin Hb yoğunluğu artar ve oksijenini salan eritrositin polimerize olma ihtimalini artırır. Gardos kanalı klotrimazol tedavisi ile inhibe edilebilir (75).

K-Cl Kanalı

K ile Cl'un beraber geçişini sağlayan bu kanal eritrosit membranının oksidatif hasarı sonucu aktif hale gelir. İn vitro olarak dithiothreitol kullanılarak oksidatif hasar azaltılmıştır (76).

Oksijen Salınımı ve Na-K Pompası

Oraklaşma esnasında hücre içi Ca'un artışı Na ve K geçirgenliğinin artmasına neden olur. Na-K pompasının fazla çalışması eritrositin su kaybetmesine neden olabilir (77).

Hücre membranının oksidatif hasarı ve K kaybı

Eritrositler oraklaşma esnasında oksidatif membran hasarı, Hb S'in hızlı oksidasyonu, yapıtaşlarına ayrılmış hemoglobinin kalıntısı, serbest halde bulunan demir ve hem moleküllerinin membrana yapışması sonucu oluşur. Oksidatif membran hasarı K ve Cl'un bir arada atılımına neden olur. Hücre içi K'u azalan eritrosit geri dönüşümsüz bir şekilde orak şeklini alır (78).

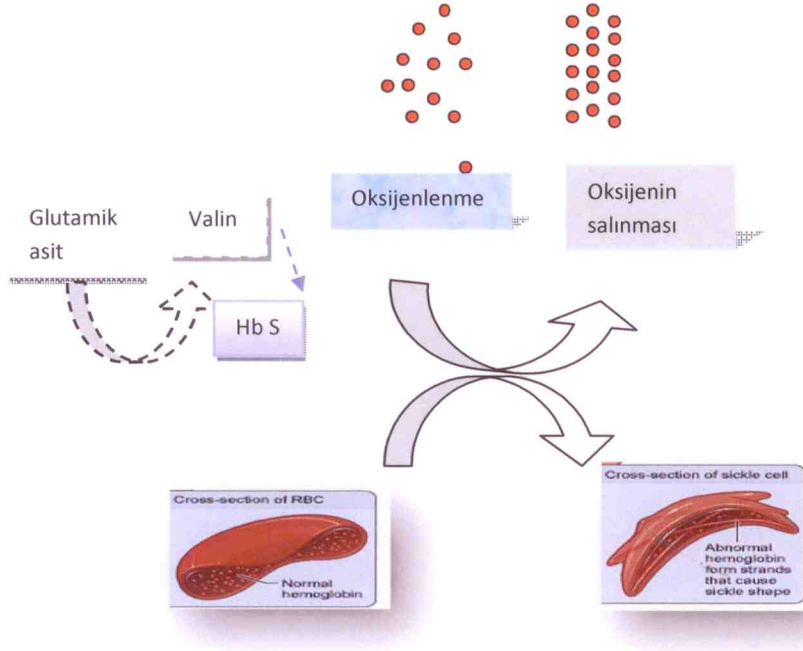
Hb S'e benzer şekilde β geninde oluşan mutasyonlar zincir yapısında aminoasit değişikliklerine neden olur. Hemoglobin I (a16 Lys→Glu) ve Hemoglobin Setif (a22 Asp→Tyr) gibi anormal β zincir yapıları Hb S'de olduğu gibi polimerizasyona neden olabilir fakat oraklaşma veya bunun gibi anormal bir eritrosit yapısı oluşumuna neden olmazlar. Herhangi bir klinik öneme sahip değildirlir (79). Hb S hemoglobin C ve hemoglobin D-Punjab gibi β zincir mutasyonları ile heterozigot halde aktarıldıkları zaman polimerizasyon ve oraklaşmaya neden olabilirler.

Orak hücre anemisinde genotip-fenotip ilişkisi

$\beta\beta^s$ genotipinde bireyler Hb S taşıyıcısı olarak tanımlanırlar. Klinik belirtileri yoktur. Klinik bir belirtisi olmamakla birlikte nadiren hematüri, piyelonefrit, ürede bakteri artışı, yüksek ateş, hipoksi görülebilir. Uçak yolculuğu, dağ tırmanışı, anestezi madde solunumu ve hızlı egzersizler esnasında vasküler krizlere neden olabilir. Akciğer, beyin, dalak, hipofiz, böbrek, retina ve kemik dokusu nedbelerine neden olur. Yumuşak dokularda hücre ölümlerine, damar tıkanıklıklarına ve böbrek yetmezliklerine neden olur. Bu belirtilere rağmen asemptomatik olan Hb S taşıyıcılığı, HPLC (High Performance Liquid Chromatography), hemoglobin elektroforezi veya DNA dizi analizleri sonucu belirlenebilirler. Orak hücre anemi taşıyıcısı iki ebeveynin çocukları %25 ihtimalle orak hücre anemisi olur. Eğer α talasemi taşıyıcılığı gibi başka bir globin zincir mutasyonu yok ise hemoglobin, MCV 85 g/dl'nin altında ve MCH değeri normal sınırlarda görülür. Periferik yaymada ise normal veya mikrositozis, target hücreleri ve az miktarda sferosit hücreleri görülür. Hb S %38'den fazla, sessiz Hb H taşıyıcıları ile birlikte %31-38 arasında, Hb H taşıyıcılığı ile birlikte %31 in altında görülür. Hb A₂ yüzdesi gözle görülür biçimde artar. Hb A miktarı ise Hb S den daha fazladır (80).

Heterozigot $\beta\beta^s$ bireyler önemli klinik bir belirti göstermezken Hb H hastalığı ile birlikte kalıtımı durumunda hipokromik mikrositer anemi, eritroid hiperplazisi, splenomegali, Hb D-Punjab veya Hb C gibi diğer β zincir varyantları ile heterozigot kalıtımında ise oraklaşma görülebilir ve klinik olarak önemli hale gelir (73).

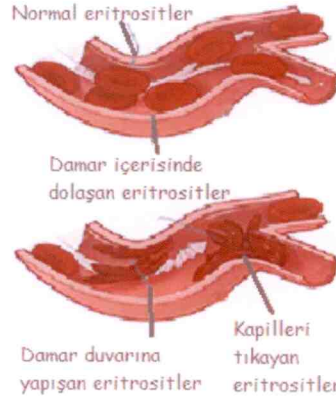
Orak eritrosit polimerizasyonu



Şekil 2.9. Eritrositlerin oraklaşması

$\beta^S\beta^S$ genotipine sahip bireyler orak hücre anemi hastalarıdır. Orak hücre anemi hastalarında β zinciri kusurlu üretilir ve Hb A₁ yüzdesi düşüktür HbA₁ yerine Hb S üretilir. Hb S düşük oksijen basıncı altında orak şeklini alır. Akciğerlerden geçiş esnasında oraklaşmanın sürekli tekrarlanması eritrosit membranında hasara neden olur. Membran kesecik kaybının sonucunda PS organizasyonu değişir. Meydana gelen hasar eritrositin bikonkav disk şeklini yitirmesine, orak şekline dönüşmesine neden olur. Adenozintrifosfata (ATP) bağlı sodyum-potasyum pompasının ($\text{Na}^+ - \text{K}^+$) yetersiz çalışarak Na artışı ve K kaybına, ATP-Ca pompasının yetersizliği hücre içi Ca artışına neden olur. Bu artış hücrenin parçalanmasına ve $\text{K}^+ - \text{Cl}$ kotransport kanalları ile K ve Cl kaybıyol açar. ATP-Ca-K iyon değişikliği yolağı Gardos yolu olarak adlandırılır. K ve Cl ile su kaybı olur ve eritrosit içi hemoglobin yoğunluğu artar. Su kaybetmiş hücrenin membran yapısı sıkı sabit bir hal alır. Sonuçta su kaybı ve membran oksidatif hasarı eritrositin reolojik özelliklerini ve hastalığın klinik ciddiyetini etkiler. Oksidasyon hasarı, band3 protein grubu ile polimerizasyonu, IgG antikorunun bağlanması ve fagositozla sonuçlanır (81). Orak hücre hemolizi intravasküler hemoliz ve ekstravasküler hemoliz olmak üzere iki alanda gerçekleşir. İnavasküler hemoliz hücre içi iyon dengesi bozulmuş eritrositin parçalanmasıdır. Ekstravasküler hemolizde ise hasarlı veya okside uğramış hücrelere yapışan IgG aracılığı ile makrofaj ve monositler tarafından yutulurlar. İnavasküler hemolizle sonuçlanan eritrosit polimerizasyonu orak hücre hastalığının klinik özelliklerini ve kan akışkanlığını etkiler. Polimerizasyon ile kan akışı yavaşlar ve dokulara bırakılan oksijen miktarı azalır. Lökositler ile birlikte orak hücreler kan akış hızını yavaşlatırlar ve kapiller tıkanmaları dokulara oksijen iletimi yavaşlar. Yetersiz

dolaşım hızı ve uzun süreli düşük oksijen miktarına maruz kalma kalp, beyin ve böbrek gibi organlarda ve kemik dokusunda bölgesel doku ölümlerine neden olur. Kemik dokuda meydana gelen tıkanmalar sonucunda büyüme geriliği, ellerin orta parmaklarında kısalık, çocuklarda dalak büyüklüğü, dalakta eritrosit yıkımı ve anemi görülür (82).



Şekil 2.10: Orak eritrositlerin kapilleri tıkaması (vasooklüzyon)

Orak hücre anemili bireylerin laboratuvar değerlerinde normositik normokromik eritrositler gözlemlenir. Hb yoğunluğunu 6-10 g/dl arasında MCV yaklaşık 90 fl, ortalama MCHC 34 g/dl değerindedir. Periferik yaymada target hücreleri, puro şekilli, ovalosit tarzında hücreler, polikromatofili, bazofilik noktalanma, normoblastozis gözlenir. Ortalama retikülosit değerleri yaklaşık %10'dur. Trombosit değerleri artar. $\beta^S\beta^S$ eritrosit membranında aktin-aksesuar proteinlerinin ve lipid yığınlarının azaldığı ve küçüldüğü, protein tamircilerinin ve oksijen radikal temizleyici bileşenlerin ise arttığı gözlemlenmiştir (73). Hemogloblin SC hastası farelerde invitro hipoksi durumlarında hemoglobini sabitleştiren protein (Hsp27), Hsp70 ve peroksidoksin2 (Prx2) proteinlerinin oranlarında değişiklik gözlemlenmiştir. Vazooklüsif krizler esnasında trombositler azalmıştır aynı zamanda SCD açısından klinik önemi açıklanamayan endopeptidazlar artmıştır (83). Hemogloblin elektroforezinde Hb A, Hb S, Hb F anormal değerlerde Hb A₂ ise normal değerlerindedir. Orak hücre anemisi doğumdan 6 ay sonra alınan kan örneğinden veya doğumdan önce prenatal tanı yöntemi ile 8-12 haftaları arasında koryon villustan (CVS), 12-16 haftaları arasında amnion sıvısından alınan örneklerden elde edilen DNA materyalinin analizi yapılarak teşhis edilebilir (84).

Orak hücre tedavisinde koruyucu tedavinin yanında güncel olarak 3 esas tedavi yöntemi kullanılmaktadır. Hidroksiüre tedavisi, kan transfüzyonu ve kök hücre nakli geçerlidir. Orak hücreli hastalar damar içi oraklaşmadan ve bunun neden olacağı iltihap, ateş, su kaybı, asidozis, hipoksi gibi klinik öneme sahip etkilerden korumak önleyici tedavi yöntemidir. Transfüzyon tedavisi ile Hb S üretimi baskılanır, dokular için gerekli oksijen sağlanır ve kan viskozitesi %40 oranında değiştirilmiş olur. Tüm bu getirilerine rağmen organlarda Fe birikimi meydana getirmesi, hemosiderozis, alloimmünizasyon gelişimi ve gönüllü verici bulma sıkıntısı yüzünden transfüzyon

tedavisi sınırlı olarak yardımcı olmaktadır. Hidroksiüre tedavisinde esas amaç Hb F miktarını artırmaktır. Hidroksiüre DNA metilasyonunu sağlar. Eritrosit yapımının erken evrelerinde Hb F üretim kapasitesini %30'dan %50'ye artırırken β^s üretimini baskılar, lökosit miktarını ve tam kan viskozitesini azaltır (85-86). Oraklaşma esnasında oluşan iyon dengesizliğini engellemek amacı ile Gardos kanalını inhibe eden K ve su kaybını önleyen bir tedavi yöntemi olan klotrimazol isimli ilaçta kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda hastaların ağrılı krizlerinin, transfüzyon ihtiyaçlarının ve hastanede geçirdikleri sürenin kısaldığı kanıtlanmıştır (87).

Orak hücre anemi hastalarında hemikrom-band3 agregatları gibi reseptörsüz mekanizmalar aracılığı ile büyük Von Willebrand faktör reseptörü damar endoteline yapışmalarına neden olur. Dolaşımın farklı bölümlerinde farklı mekanizmalar ile koagülasyon kontrol edilir. Koagülasyon trombospondin salınımı ve kapillerde daralmaya neden olur. Sonuç olarak su kaybı meydana gelir (88).

2.2.2.4. Hemoglobin D

Hemoglobin D bir Hb A varyantıdır. Hb D varyantının Hb A'dan yapısal farkı β zincirinin 121. kodonunda meydana gelen baz tek bir değişikliği ile glutamik asit yerine glutamin veya başka bir aminoasitin sentezlenmesidir. Kuzey-Batı Hindistan, Pakistan ve Hindistan'da Hb D'nin D-Kıbrıs, D-Konley, D-Chicago, D-North Carolina, D-Portugal ve Hb Oak Ridge gibi farklı formları görülmektedir (89). Hemoglobin D en yüksek oranda Britanyalı Pakistan halkında %2-3 oranında bulunmaktadır. Türkiye'de bu yoğunluk yaklaşık %0,01'den daha az oranda Denizli ilinde görülmektedir.

Hemoglobin D'nin elektroforetik mobilitesi alkali selüloz asetatda Hb S ile aynıdır. Hb S'den sitrat agar (pH 6.2) elektroforezde ayırt edilebilir (90). Elektroforez sonuçlarına göre yapılan değerlendirmelerde Hb D seviyesi taşıyıcılarda %35-40,9 arasında Hb F miktarı yaşamın ilk yıllarında giderek düşer ve Hb A miktarı %50'nin üzerinde görülür. Hb D hastalarında Hb D seviyesi %80'dan daha fazla, Hb A genellikle %10'un altındadır. Elektroforezde Hb S ile yakın elektroforetik mobilitelere sahiptirler. Oraklaşma testi ile Hb S'den ayırt edilir. Hemoglobin D farklı heterozigot formlarda bulunabilir; Hb D/A taşıyıcılığı, Hb D/ β talasemi heterozigot formu, Hb D/Hb S formu ve homozigot Hb D formu. Hb S ve Hb D elektroforez veya kromatografi yöntemi ile çalışıldığında hareketlilikleri ayırt edilemez. Hb S'nin çözünürlüğü azalmış ve oraklaşmıştır (91-92).

Hemoglobin değeri heterozigot Hb D kalıtımında normal sınırlarda görülürken homozigot kalıtımda genellikle ılımlı veya ciddi anemi ile seyredebilir. MCV ve MCH değerleri her iki grupta da normal sınırların altında veya alt sınır değerlerine çok yakın değerlerde görülebilir. Homozigot olguların mikroskopik incelemesinde target hücreler az miktarda hipokromi ve mikrositoz görülebilir. Osmotik frajiliteleri artmıştır. Homozigot olgularda splenomegali görülebilir.

2.3. Hemoreoloji ve Kanın Akışkanlık Özellikleri

Reoloji, materyallerin akışını ve deformasyon özelliklerini inceleyen bilim dalıdır. Bir maddenin şekil değiştirmesini ve akmasını sağlayan özelliklerine o

maddenin reolojik özellikleri denir. Reolojinin araştırma konularından biri olan deformasyon, organizma içinde bulunan hücresel elemanların şekil kaybı olarak tanımlanır. Deforme olmuş materyallerin yeniden eski şeklini alabilme yeteneğine deformabilite denir. Sıvı halindeki maddelerin deformabiliteleri yüksektir ve güç uygulamak neredeyse imkânsızdır. Süspansiyon halindeki maddeler ise viskoelastik özellik gösterebilirler. Süspansiyon halindeki kanın reolojik özellikleri kan akışında ve dokularda kan dolaşımının sağlanmasında önemli bir faktördür. Viskozite bir sıvının molekülleri arasındaki iç sürtünme nedeniyle akıma karşı gösterdiği dirençtir. Reoloji açısından sıvılar ikiye ayrılır:

1) Newtonian sıvıların viskozitesi, kayma kuvveti veya kayma hızı varyasyonlarından bağımsızdır. Bu sıvılar için kayma kuvveti ile kayma hızı arasındaki eğim kayma kuvvetine doğru artar. Böylece viskozite sabit kalır. Gerçek çözeltiler newtonian sıvılara örnektir.

2) Non-Newtonian sıvının viskozitesi sabit değildir. Sıvının akışkanlığı arttıkça viskozitesi azalır, akışkanlığı yavaşladıkça viskozitesi artar. Kayma hızı viskozite ile ters orantılıdır. Kan non-Newtonian sıvılar arasında yer alır. Non-Newtonian sıvıların viskozitesi sıcaklığa ve zamana bağlı değişkenlik gösterir (93-94)

Hemoreoloji, kanda bulunan plazmanın, hücrelerin şekil değiştirme ve akım özelliklerini, damarların akımı etkileyen reolojik özelliklerini, kanın ve damarların yabancı maddeler ile (ilaçlar, plazma genişleticileri ve prostetik cihazlar gibi) etkileşimlerini inceler.

Kan dolaşımı insan vücudunda tüm dokularda oksijen-karbondioksit değişiminin gerçekleştirilmesi ve metabolik artıkların dokulardan uzaklaştırılması için şarttır. Kan dolaşımı organizmanın ihtiyaçlarının sürekli karşılanabilmesi için gereklidir. Kan akışkanlığı kanın hücresel elemanlarının yoğunlukları ve kanın reolojik özellikleri, kanı pompalayan kalp ve kanı tüm dokulara ulaştıran damar sistemi sayesinde gerçekleşir. Eritrosit sayısı fazlaştığı, protein miktarı arttığı ve plazmada su oranı azaldığı zaman kanın viskozitesi artar (95).

Bir damar yatağında kan akımı basınç/direnç oranıyla belirlenir. Poiseuille yasasına göre, damar içinde akan kanın reolojik özellikleri ve sistemin geometrik yapısı damar yatağının akıma gösterdiği direnci belirler. Poiseuille yasasına göre belli bir damar yatağındaki akım direnci kanın viskozitesiyle doğru orantılıdır (96-97).

Kanın akışkanlığı faktörleri ve hemodinami arasındaki ilişki çok karmaşıktır. Normal koşullarda, kan akımı ve doku perfüzyonunda meydana gelen değişiklikler, vasküler kontrol mekanizmaları tarafından damar çapı değiştirilerek dengelenir. Kanın akışkanlık faktörleri (örneğin, plazma viskozitesi, eritrosit agregasyonu ve eritrosit deformabilitesi) perfüze olan dokunun metabolik durumuna duyarlıdır (98) Kan bileşenleri ile temas halinde bulunan iç ortam değişiklikleri bu elemanların reolojik özelliklerini, dolayısıyla da bütün kan dokusunu etkiler .

Kan akışkanlığı çeşitli faktörlerden etkilenir. Hematokrit, plazma viskozitesi, eritrosit agregasyonu ve eritrosit deformabilitesi kanın akışkanlığını belirleyen dört önemli faktördür.

2.3.1. Hematokrit

Hematokrit eritrosit hacminin toplam kan hacmine oranıdır. Hematokrit değeri laminar akım şartları altında hücresel elemanların oranları kanın akışkanlığını belirleyen faktörlerin başında gelir. Hücrelerin varlığı iç sürtünmeyi artırır bu durumda viskozite değeri önce doğrusal, sonrasında logaritmik bir artış gösterir. Yüksek hematokrit değerlerinde daha belirgin ölçüde artış göstermesi eksponansiyel artış olarak değerlendirilir (10, 99).

Hematokrit düzeyinin artması kanın oksijen taşıma kapasitesini ve dokulara oksijen taşınmasını artırır. Diğer yandan hematokritin kan viskozitesini artırması ise akıma karşı direnci artırarak doku perfüzyonunu bozabilir. Hematokrit değerinin %95'lere arttırıldığı zaman bile kan akışkanlığının durmadığı belirlenmiştir. Bu durum eritrositlerin bir sıvı damlacığı gibi şekil değiştirebilme yeteneği olmasından kaynaklanır. Eritrositler kendisinden daha sert yapılara oranla kan viskozitesini daha az oranda arttırmaktadır.

Yapılan bir araştırmada hematokrit artışının aneminin bulunduğu durumlarda viskoziteyi etkilemediği ifade edilmiştir (100).

2.3.2. Plazma Viskozitesi

Plazmanın viskozitesi, plazmanın ana maddesi olan suyun ve onun içinde erimiş olan makro moleküllerin özelliklerine bağlıdır. Makro moleküllerin varlığı suyun akıma direncini, yani viskozitesini artırır. Bu nedenle plazmanın viskozitesi suya göre göreceli olarak ifade edilir.

Plazma viskozitesinin 37°C'deki normal değeri, aynı ısıdaki suyun viskozitesinin 1,4-1,8 katıdır. Bu farkın %98'inden plazma proteinleri (albumin, globulinler, fibrinojen), %2'sinden ise tuzlar ve glikoz sorumludur. Glikoz plazma viskozitesini minimal düzeyde etkiler, glikozun aşırı üretimi ve hiperglisemi bile plazma viskozitesinde önemli bir artışa yol açmaz. Plazma protein konsantrasyonu artışı plazma viskozitesini artırır. Ancak proteinlerin şekil, yoğunluk ve boyutlarına bağlı olarak proteinlerin plazma viskozitesi üzerine etkisi değişir. Plazma fibrinojen ve globulinler ile plazma viskozitesi arasında yüksek bir korelasyon olduğu ancak albümin viskozite üzerine etkisinin henüz açık net olarak belirlenemediği bildirilmiştir (101). Çeşitli proteinlerin eşit yoğunluklarının plazma viskozitesine etkileri farklıdır (99).

Serum proteinlerinden fibrinojen viskoziteyi en çok etkileyendir. Plazmada 200-400 mg/dl bulunan fibrinojen 340.000 Da ağırlığındadır. Hemostazda doku onarımı ve yara iyileşmesinde görevlidir. Fibrinojen plazma proteinlerinin %4'ünü oluşturmasına rağmen viskozitenin %22'sinden sorumludur. Fibrinojen plazma viskozitesini tüm diğer proteinlerden daha fazla etkilemektedir. Bu ters orantının sebebi molekül ağırlığının fazla ve şeklinin asimetrik oluşudur (102).

Serum albümin karaciğer parankim hücresinde granüllü endoplazmik retikulumunda ribozomdan sentezlenir; sentez hızı, diyet proteini ve serum albümin düzeyi ile düzenlenir. Serum albümin molekül ağırlığı 69.000 Da' dur. Plazma

viskozitesinin %36'sından sorumludur. Plazmada 3,5-5 gr/dl ile %60'ını oluşturur Buna rağmen viskoziteyi bu denli az etkilemesinin sebebi molekül ağırlığının 69.000 Da olması ve şeklinin diğer moleküllere göre simetrik olmasıdır. Serum albüminin önemli işlevleri vardır: Bilirubin, uzun zincirli yağ asitleri, T₃, T₄ kortizol, aldosteron Ca²⁺, Cu²⁺ ve bazı ilaçları taşır. Endojen aminoasit deposu olarak görev görür. Plazma onkotik basıncın devamlılığını sağlar. Kanın viskozitesini etkiler. Böylece kanda birçok maddenin taşınmasını ve kan osmotik basıncın korunmasını sağlar (102-103).

Serum albumin ailesinden α_1 -globulinin fraksiyonları α_1 -antitripsin, α_1 -antikimotripsin, α_1 -kimotripsin, α_1 -asit glikoproteini alfa-fetoprotein olarak belirlenmiştir. Alfa-antitripsin, α_1 -globülinlerinin %90'ını oluşturur. Moleküler ağırlığı 55.000 Da kadardır. Alfa₂-globulin seruloplazmin ve protrombini içerir. Alfa-2 globulin 625.000-850.000 Da arasındadır. Beta globulin ise α_1 ve α_2 olarak iki kısma ayrılır. Bunların büyük bir kısmı transferrin ve düşük yoğunluklu lipoproteinleri oluştururlar. Gama globülinler immünglobulin olarak ta adlandırılırlar ve IgM, IgA, IgG olarak kısımlarına ayrılırlar ve ağızdan alınan yabancı proteinlere karşı savunma maddeleridir. Molekül ağırlıkları şöyle sıralanır: IgM 900.000 Da, IgG 160.000 Da, IgA 160.000 Da ağırlığındadır. Özellikle 725.000 Da molekül ağırlığına sahip 2.000.000-4.500.000 Da'luk LDL ve VLDL plazmaviskozitesini en çok arttıran proteinlerdir. Hiperimmünglobinemi, sarkodiosis gibi fibrinojenin düzeyinin arttığı ve IgM'in plazmada arttığı hastalıklarda plazma viskozitesi suyun viskozitesinin 30 katına kadar çıkabilir. Albumin yoğunluğundaki artışlar, fibrinojenin artışlarına kıyasla plazma viskozitesini daha az etkilemektedir (102).

2.3.3. Kanın Akışkanlığında Eritrositlerin Yeri

Kan akışında viskozite hücrelerin yoğunluğunun yanında kan hücrelerinin davranışlarına bağlıdır. Viskoziteyi en çok eritrositlerin davranışları belirler. Normal bir eritrosit hücresi deformabilite yeteneğine ve birbirlerinin yüzeylerine moleküller aracılığı ile bağlanarak agregasyon yapma yeteneğine sahiptir. Eritrositlerin benzersiz şekil değiştirme yetenekleri ve tersinir kümelenme eğilimleri, değişik koşullarda kanın akışkanlığının belirlenmesinde önemli rolleri vardır (104-105).

2.3.3.1. Eritrosit Agregasyonu

Eritrositlerin, yüksek molekül ağırlıklı makro moleküller aracılığı ile geniş yüzeylerinden birbirlerine bağlanmaları ve üst üste dizilmelerine "agregasyon" denir. Eritrosit agregasyonunun derecesi, eritrositleri, bir arada tutan kuvvetler ile bu kümeleri dağıtmaya çalışan kuvvetler arasındaki denge ile yakından ilişkilidir (106). Tamamen fizyolojik bir durum olan agregasyon; eritrosit yüzeyinde yer alan salisilik aside ait karboksil grubunun oluşturduğu negatif yükler ve plazma proteinleri yüzeyinde yer alan pozitif yükler arasındaki çekim kuvveti sayesinde sağlanır. Bu çekim kuvveti oldukça zayıftır, dolayısıyla geri dönüşümü mümkündür. Membranın yüzey yüküne bağlı olarak ortaya çıkan elektrostatik itme kuvvetleri ve kümelenme sırasında ortaya çıkması gereken membran deformasyonunu engelleyen bir eritrosit membranı rijiditesi agregasyona karşı koyan kuvvetler arasındadır.

Agregasyon aglütinasyon ile karıştırılmamalıdır. Aglütinasyonun aksine eritrositlerin oluşturduğu agregatlar akım hızı arttıkça ayrılabilirler. Akım hızı

yavaşlayıp mekanik kuvvetler belirli bir değerin altına düştüğünde yeniden agregat oluşturabilirler.

Eritrosit agregasyonu gerek plazmanın, gerekse eritrositlerin çeşitli özelliklerindeki değişimlerden etkilenir. Plazma fibrinojen yoğunluğunu, osmolarite ve pH değişiklikleri gibi faktörler eritrosit agregasyonu üzerinde çok önemli rol oynar (107-108). Hematokrit değerindeki artış, eritrosit membranının fiziko-kimyasal özelliklerindeki (membran yüzeyinin özellikleri ve yüzey yükü) değişimler, hücre şekli ve eritrositin deformabilitesi de eritrosit agregasyonunu etkileyen faktörler arasında sayılabilir (109). Eritrosit agregasyon mekanizmasında rulo oluşumu için fibrinojen, α_2 makroglobulin, IgM gibi yüksek molekül ağırlıklı proteinler görev almaktadır.

Agregatlar, akım hızının kapillere ve arteriyollere nazaran daha az olduğu venüllerde meydana gelir. Hematokrit ile doğru orantılı olarak venüllerde agregat oluşumu değişir. Agregasyonun oluşmaması durumunda kan akım hızı bundan etkilenerek düşer. Düşük akım hızına hematokrit yüksekliği eşlik ederse sırasıyla agregat oluşur venöz akım hızı yavaşlar ve venöz staz meydana gelir.

2.3.3.2. Eritrosit Deformabilitesi

Eritrositlerin dolaşımında maruz kaldıkları sıvı kayma kuvvetlerine hızla cevap verebilmelerini sağlayan en önemli özellik membranlarındaki yüksek elastisite özellikleridir. Her ne kadar teorik ve deneysel kanıtlar genel olarak spektirin bazlı hücre iskelet ağının özellikle de spektrin membran elastisitesini belirlemede kritik bir rolü olduğunu gösterse de bu etkinin ana yapısal kaynağı henüz tam tarif edilmemiştir.

Eritrositler deformasyon yeteneği, üç temel esasa bağlıdır: Hücre membranının moleküler ve metabolik durumu, hücrenin yüzey alanının hücre hacmine oranı ve eritrosit içi viskozitesidir (100, 110-112). Hücre membranının bikonkav-diskoid yapıdaki özel şeklini korunmasında etkili dört faktör olduğu düşünülmektedir (112). Bunlar membran içindeki elastik kuvvetler, yüzey gerilimi, membran yüzeyindeki elektriksel kuvvetler, osmotik ve hidrostatik basınçlardır. Ayrıca eritrosit membranı iç yüzeyinde yer alan ve membran iskeletini oluşturan proteinlerin bu düzenlemede rolü olduğu düşünülmektedir (104). Membran iskelet proteinlerinin yapısında oluşan veya birbirleriyle etkileşimlerinde ortaya çıkan değişimler eritrosit deformabilitesini etkilemektedir (104, 114). İskelet proteinleri ile hemoglobin arasında veya membran proteinleri arasında oluşan çapraz bağlar eritrositlerin şekil değiştirme yeteneğini bozduğu bildirilmiştir (115-116).

Eritrositler akciğer ve diğer dokular arasında O_2 ve CO_2 taşımacılığını yaparken kendi çapından daha küçük damarlardan geçebilme yeteneğine sahiptir. Bu yetenekleri sayesinde kendilerine özgü şekillerini kapillerlerden geçerken koruyabilirler. Yüksek stres koşulları altında deformasyon dereceleri standart şekline dönüşebilmesi açısından çok önemlidir. Eritrositler mermi, damla, elips gibi çok çeşitli şekiller olarak mikro dolaşımında yer alırlar.

Eritrositler visköz niteliktedir ve viskoelastik bir yapıya sahiptir. Zar iskeletinin özel ağ yapısı eritrositin herhangi bir boyutunu ve yüzey alanını değiştirmeksizin şeklini değiştirebilmesini sağlar. Yapılan çalışmalarda spektrinin membran elastisitesini belirlemede kritik bir rolü olduğunu gösterse de bu etkinin ana yapısal kaynağı henüz tam tarif edilmemiştir. Uzun filamentöz spektrin dimerlerinin önemli bir yapısal özelliği ardı ardına 36 spektrin tekrarının olmasıdır. Bunlardan 20 tanesi α -spektrinde kalan 16 tanesi β -spektrinde olmaktadır ve kısmen bağımsız katlantılar gibi davranmaktadırlar. Çok az miktarda spektrinin açılması bile membran elastisitesini etkileyebilir (117). Deformabilitesi azalmış bir eritrositin kapillerlerden geçmesi için harcadığı enerji deformabilite özelliğini yitirmemiş bir eritrositin kapillerlerden geçmesi için, harcadığı enerjiden daha fazladır. Dolayısı ile deformabilitesi azalan eritrositlerden meydana gelen kanın viskozitesi daha yüksek olacaktır.

Hücre içi viskozite ortalama eritrosit içinde bulunan hemoglobin yoğunluğundan ve fiziksel durumu tarafından belirlenir. Orak hücre anemisinde hücre içi viskozite artışı eritrositlere giren Ca'a ve su kaybına bağlı olduğu düşünülmektedir (100). Yaşlanma süresince normal eritrositler az miktarda hemoglobin kaybı ile birlikte hücre yüzey alanını ve hacmini de kaybederler ve sonuç olarak eritrositlerin 120 günlük yaşamları boyunca hücre dansiteleri giderek artmaktadır. Son çalışmalar belgelemiştir ki normal eritrositler aynen orak kırmızı hücrelerde olduğu gibi aşırı dehidratasyon sonrasında hücre yoğunluk artışı ve katyon homeostazını sürdürme yeteneklerini kaybederler (118).

Hücre şekli ya da yüzey/hacim oranı: Geometrik yapıları sayesinde, eritrositlerin yüzey alanları hacimlerine kıyasla fazladır. Eritrositlerin yüzey alanından %30-40 oranda daha büyük bir hacmi barındırma kapasiteleri vardır, şişerek tam bir küre haline gelirlerse bu kapasitelerinin de sınırına gelebilirler. Bu özellik yüzey alanlarını genişletmeksizin şekil değiştirebilmelerine imkan verir. Sonuçta eritrosit zarı yüzey alanı genişlemelerine kısmi olarak dirençlidir. Zar iskeletindeki bir anormalliğe bağlı olarak, eritrositlerin şeklinin bozulmasına neden olan eliptositoz, sferositoz gibi konjenital anormallikler eritrosit deformabilitesini azaltır. Yüzey alanı/hacim oranı hipotonik ortamda eritrositlere su girişi ile eritrositlerin hacmi artar ve yüzey alanı sabit kalacağından yüzey/hacim oranı azalarak parçalanırlar.

Eritrosit deformabilitesinin çeşitli ölçüm şekilleri vardır:

- Mikroskop altında incelenmesi,
- LORCA (Laser Optical Rotational Cell Analyser) ile eritrosit deformabilitesinin değerlendirilmesi; Eritrositlerden geçen lazer ışınları sayesinde deforme hücrelerden yansıyan şekil değişiklikleri incelenir.
- Eritrositler ektasitometre cihazında oluşturulan kayma kuvvetlerine paralel olarak dairesel formdan giderek uzayan elipsoid forma dönüşürler, eritrosit deformabilitesinin bir göstergesi olan bu şekil değişikliği Elongasyon İndeksi hesaplanır. Elongasyon indeksinin deformabilitesi ve mekanik özellikleri hakkında bilgi verir.

- Bir tek eritrositi belli çapta bir mikropipete çekmek için gerekli olan basınç ölçülebilir,
- Ozmotik hemoliz yöntemi kullanılabilir.
- Filtrasyon yöntemi kullanılarak ölçülebilir. Bu yöntemde eritrositlerin belli çapta deliklere sahip filtrelerden sabit basınç altında geçiş süresi veya sabit sürede geçişleri sırasında meydana gelen basınç değişimleri ölçülür. Daha uzun geçiş süresi deformabilitenin bozulduğuna işaret eder.



Şekil 2.11. Lorca cihazı

Coulter tipi kan sayım cihazlarının ortalama eritrosit hacmini belirlemek amacıyla eritrositleri belli çaptaki porlardan geçirdikleri, dolayısıyla da deformabilitesi bozuk eritrositlerin ortalama eritrosit hacmini olduğundan daha yüksek gösterebileceği akılda bulundurulmalıdır (105, 119-120).

Eritrosit membranının rolü

Membran eritrositlere disk şeklini veren, kapillerlerden geçerken şekil değiştirmelerini ve geçtikten sonra eski şekillerine dönebilmelerini sağlayan yapıdır ve “zar iskeleti” adı verilir. Hücre zarının hemen altında yer alan zar iskeleti; spektrin, Band 3, ankirin, F-aktin, protein 4.1 gibi proteinler gaz geçişini sağlarlar. Spektrin sitoplazma yüzeyine yapışarak eritrositin şekillenmesinde ve şeklinin korunmasında en önemli göreve sahiptir. Membran proteinleri dizilimleri sayesinde meydana gelebilecek şekil değişikliklerine uyum sağlarlar. Bu özellikleri ile eritrosit deformasyonuna katkıda bulunurlar. Membran iskelet proteinleri hem birbirleriyle hem de lipid tabakası ile çeşitli bağlar yaparak bir ağ oluştururlar. Diğer hücrelerde hücreyi boydan boya kat eden proteinler ve kanallar hücre iskeleti mevcuttur. Bu yapıya benzer şekilde eritrositlerde hücre içine uzanmayan, lipid zara paralel düzenlenmiş ve zara protein-protein, protein-lipid bağları ile tutunan bir zar iskeleti mevcuttur.

Eritrosit membranında esneklik ve sağlamlık kazandıran yapılar membran proteinlerine zar boyunca eşlik eden lipidlerdir. Membranda yer alan bazı proteinler hasar gören lipidlerin tamirinde görevlidir. Membranın içinde bulunan PS ve PE gibi

- Bir tek eritrositi belli çapta bir mikropipete çekmek için gerekli olan basınç ölçülebilir,
- Ozmotik hemoliz yöntemi kullanılabilir.
- Filtrasyon yöntemi kullanılarak ölçülebilir. Bu yöntemde eritrositlerin belli çapta deliklere sahip filtrelerden sabit basınç altında geçiş süresi veya sabit sürede geçişleri sırasında meydana gelen basınç değişimleri ölçülür. Daha uzun geçiş süresi deformabilitenin bozulduğuna işaret eder.



Şekil 2.11. Lorca cihazı

Coulter tipi kan sayım cihazlarının ortalama eritrosit hacmini belirlemek amacıyla eritrositleri belli çaptaki porlardan geçirdikleri, dolayısıyla da deformabilitesi bozuk eritrositlerin ortalama eritrosit hacmini olduğundan daha yüksek gösterebileceği akılda bulundurulmalıdır (105, 119-120).

Eritrosit membranının rolü

Membran eritrositlere disk şeklini veren, kapillerlerden geçerken şekil değiştirmelerini ve geçtikten sonra eski şekillerine dönebilmelerini sağlayan yapıdır ve “zar iskeleti” adı verilir. Hücre zarının hemen altında yer alan zar iskeleti; spektrin, Band 3, ankirin, F-aktin, protein 4.1 gibi proteinler gaz geçişini sağlarlar. Spektrin sitoplazma yüzeyine yapışarak eritrositin şekillenmesinde ve şeklinin korunmasında en önemli göreve sahiptir. Membran proteinleri dizilimleri sayesinde meydana gelebilecek şekil değişikliklerine uyum sağlarlar. Bu özellikleri ile eritrosit deformasyonuna katkıda bulunurlar. Membran iskelet proteinleri hem birbirleriyle hem de lipid tabakası ile çeşitli bağlar yaparak bir ağ oluştururlar. Diğer hücrelerde hücreyi boydan boya kat eden proteinler ve kanallar hücre iskeleti mevcuttur. Bu yapıya benzer şekilde eritrositlerde hücre içine uzanmayan, lipid zara paralel düzenlenmiş ve zara protein-protein, protein-lipid bağları ile tutunan bir zar iskeleti mevcuttur.

Eritrosit membranında esneklik ve sağlamlık kazandıran yapılar membran proteinlerine zar boyunca eşlik eden lipidlerdir. Membranda yer alan bazı proteinler hasar gören lipidlerin tamirinde görevlidir. Membranın içinde bulunan PS ve PE gibi

Eritrosit membranında esneklik ve sağlamlık kazandıran yapılar membran proteinlerine zar boyunca eşlik eden lipidlerdir. Membranda yer alan bazı proteinler hasar gören lipidlerin tamirinde görevlidir. Membranın içinde bulunan PS ve PE gibi amino-fosfolipidler ve fosfotidilkolin (PC) sfingomiyelin (SM) gibi kolin içeren fosfolipitlerin yerleşiminde ve işleyişinde meydana gelen herhangi bir değişiklik eritrosit yapımı aşamasında apoptozise veya eritrositin erken yıkılmasına yol açtığı bildirilmiştir. Eritrositlerin membranın protein ve lipid hasarı sonucu lipidler sentezlenemediği için membranda bulunan lipoproteinlerden ve fosfotidilkolinler ile kolesterolün meydana getirdiği karmaşık yapı membran lipidleri elde edilir. Meydana gelen bu birleşim eritrosit membranına saf fosfolipidlerden daha visköz bir yapı sağlar (98,99). Lipidler düzensiz fakat çok hızlı hareket edebilme yeteneğine sahiptirler. Membranın agregasyon hareketleri için sinyaller sağlar. Düşük kolesterol içeriği membranda çözülme eğilimi, membran fonksiyonu ve sitozolde kalsiyum artışı gibi değişikliklere neden olur (121). Yapılan farklı çalışmaların raporlarında Hb S ve talasemi hastalarında fosfolipid tamir mekanizmasının etkisiz olduğu bildirilmiştir. Fosfolipidlerde ve proteinlerde meydana gelen oksidatif değişiklikler iyon ve su geçişini önemli derecede etkiler.

Alfa talasemik kırmızı kürelerin β talasemikler kadar sıkı bir membrana sahiptir. Fakat β talasemik hücrelerin aksine suda sahip oldukları çözünürlükleri daha fazladır. Bunun nedeni eritrosit membranında yer alan KCl eş taşıma sisteminde β zincirinin fazlalığından kaynaklı olduğu bildirilmiştir. İn vitro çalışmalarda Hb H hastalarında yapılan çalışmalara benzer şekilde oksijenlenmiş β globin zincirinin membran iskeletine yapışması normal eritrositlerde membran protein işlevlerinde herhangi bir değişikliğe yol açmazken eritrosit deformabilitesinde değişiklikler meydana getirir (122-124).

Eritrosit sitoplazmasının rolü

Eritrosit sitoplazması içerdiği hemoglobin, su, elektrolit konsantrasyonu, glikolizisten sağlanan ATP, hücre içi oksidan radikalleri ile eritrositin reolojisini belirler. Olgun ve sağlıklı eritrositlerde hemoglobin sentezi ve yıkımı olmadığından sitoplazmik yoğunluğunun değişimi hücrenin su kapsamındaki değişimine bağlıdır (125). Bu durumda membranda yer alan ATP bağımlı katyon ve su pompaları sayesinde düzenlenir. Bu sayede hücre içi hacmi belirlenir. Sitoplazmada mitokondri bulunmadığından oksidatif fosforilasyon ve krebs döngüsü aktivitesi gerçekleşmez. Bu yüzden eritrositlerde enerji üretimi çok sınırlıdır ve ATP gereksinimini glikolitik yoldan sağlamaktadır.

Sitoplazma ayrıca eritrosit membran dış çeperine uygulanan kuvvetlerin oluşturduğu etkilere karşılık eritrositin şeklini korur. Normal bireylerde sitoplazmada bulunan hemoglobin yoğunluğu 27-37 g/dl arasındadır. Bu yoğunluk değer aralığında sitoplazmik viskozite 5-15 centipoise (cp) arasındadır. Hemoglobin eriyiği normal sınırlarda, sitoplazmik viskoziteyi ve eritrosit deformabilitesini önemli derecede etkilemez. Eritrosit içindeki hemoglobin eriyiği 4 – 6 cp viskozitededir ve Newtonian sıvı gibi davranır (126). Dehidratasyona bağlı olarak eritrositlerde MCHC 38 gr/dl'yi aşarsa iç viskozite 25 cp'ye kadar yükselebilir. Orak hücreli anemi gibi hemoglobinopatilerde de hemoglobinin polimerize olması veya sitoplazmada

çökmesi iç viskozitenin artmasına bu artışa bağlı olarak eritrosit deformabilitesi azalır (94, 110).

2.3.4. Eritrosit Deformabilitesini Etkileyen Fizyolojik ve Fizyopatolojik Mekanizmalar

Eritrositlerin deformabilite özellikleri deneysel olarak, çeşitli fizyolojik ve patolojik durumlarda değişebilir.

Eritrosit membranı ve sitoplazmanın yapısını etkileyen yapısal değişiklikler eritrositin deformabilitesini etkilemektedir. Eritrosit deformabilitesi değişik hastalık gruplarından etkilenmektedir. Bunlar arasında hipertansiyon, iskemik doku hasarları, Tip 1 diyabet, sepsis ve Orak hücre hastalığı, talasemi, G6PD enzim eksikliği, band 4,2 eksikliği gibi hematolojik hastalıklar hemoreolojik değişikliklere neden olmaktadır (115). Eritrositlerin bikonkav disk şekillerini koruması için eritrositlerin yeterli miktarda enerjiye sahip olmaları gerekmektedir. Eritrositlerin hücre içinden dışarıya Na pompalamaları, dışarıdan içeriye K almaları membranda bulunan Na-K-ATPaz aktif transport sistemi ile gerçekleşir. Eritrositlerde ATP sürekli azaltılıp yenilenmediği zaman hücre içinde Na artışı gelişir ve bunun sonucunda eritrositler şişer, bikonkav disk yapısını kaybeder, küre şeklini alır ve deformabiliteleri azalır (115,127). Eritrosite sağlanan enerjinin az olmasında ikincil bir mekanizma ile de deformabiliteyi azaltır. Hücre membranında bulunan diğer bir enzim, Ca ATPaz ile Ca^{2+} hücre dışına taşınarak hücre içi Ca^{2+} değeri dengede tutulmaya çalışılır, ATP yokluğunda hücre içi Ca^{2+} artışı hücre içi sıvıyı jele dönüştürerek sitoplazmik viskoziteyi artırır ve bu da eritrosit deformabilitesini azaltır (94,115). Eritrositlerin oksidan hasara karşı kullandığı antioksidanların (NADPH, G6PD ve NADH) eksikliği oksidan stresin artmasına ve eritrosit deformabilitesinin azalması sonucunda hemolize neden olur. Eritrosit mikro çevresinde pH, osmolarite, ısı değişiklikleri gibi etkenlerde eritrositlerin mekanik özelliklerini etkileyebilir (115, 110).

Eritrosit deformabilitesi kanın aktığı damarın yapısından da etkilenebilir. Damarın hemodinamik yapısı, akış esnasında eritrositin yönelimi ve deformasyon fonksiyonunda değişiklik gösterir. Büyük damarlardan küçük damarlara geçen eritrositlerin boyutu ve şekli değişir. Bu değişimin küçük damarlara uyum sağlaması, kan akışını ve viskozitesini etkilemektedir.

GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1. Kan Örneklerinin Hazırlanması

Bu çalışmaya 2 Hb H, 3 Hb S, 5 Hb D taşıyıcısı, 1 Hb D hastası ve 4 talasemi intermedia olgusu dahil edildi. Olguların en az 4 aydır transfüzyon tedavisi almamış olmalarına dikkat edildi. Olguların değerleri, 17 kontrol grubunun değerleri ile karşılaştırıldı. Kontrol grubuna hemoreolojik parametrelerini değiştirmeyecek ilaç kullanmayan sağlıklı kişiler dahil edilmiştir.

Çalışma için örnekler toplanmadan önce gönüllülerden ve/veya ebeveynlerinden bilgilendirilmiş olur formu alındı. Hasta ve kontrol grubu bireylerin antekübital venöz damarlarından toplam 4ml kan alındı. Alınan kanlar, ikişer EDTA'lı adet tüpe aktarıldı. Bütün deneklerin eritrositlerini mekanik hasardan korumak için tek bir iğne darbesi ile karşılaşmasına özen gösterildi. EDTA'lı tüplerden biri hemogram değerlendirilmesi için kullanıldı. Hemogram değerlendirilmesi Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkezi Araştırma Laboratuvarında yapıldı. Eritrosit deformabiliteleri Pamukkale Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Ana Bilim Dalı Hemoreoloji Laboratuvarı'nda bulunan LORCA cihazı kullanılarak değerlendirildi.

3.2. Eritrositlerin Morfolojik Olarak Değerlendirilmesi

Alfa talasemili bireylere tanıları doğrulamak amacı ile Hb H boyaması yapıldı. Hb H boyaması için EDTA'lı tüplerden ependorf tüplere 20 µl tam kan alındı. Alınan kan üzerine, izotonik PBS (Fosfat Tampon Solüsyonu) ile hazırlanmış 10 µl metilen mavisi eklendi. Mikropipetle boya ve kan süspansiyon haline getirildi ve 37 °C'de 2 saatlik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda pipet kullanılarak lam üzerine küçük bir damla alındı. Lam üzerine lamel kapatılarak mikroskop altında genel alan taraması yapmak için önce 10'luk sonrasında 20' lik ve son olarak immersiyon yağı kullanılarak 100' lük objektifte eritrosit içi Heinz Body cisimcikleri incelendi. Golf topuna benzer mavi eritrositler gözlemlendi. Hb H tanısı doğrulandı.

3.3. Tam Kan Sayımının Yapılması

Tam kan sayımında hemoglobin(Hb), eritrosit sayısı (RBC), lökosit sayısı(WBC), trombosit sayısı (PLT), ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), hematokrit (HCT) değerleri bakıldı.

3.4. Eritrosit Deformabilitesinin Değerlendirilmesi

Eritrosit deformabilitesi, bir bilgisayar ve yazıcısı olan ektasitometre kullanılarak çeşitli sıvı kayma kuvvetlerinde lazer difraksiyon analizi ile değerlendirildi. Eritrositlerin deformabilite ölçümleri sırasında kanın maruz kaldığı kayma stresini hesaplayabilmek için kan yüksek viskozitedeki izotonik fosfat tamponu kullanılarak homojenik bir şekilde karıştırıldı. Yoğunluğu %5, viskozitesi 100 cP olacak şekilde hazırlanmış polivinyl-pyrrolidone (PVP-360) (Sigma, St. Louis, MO, USA) çözeltisi içinde tam kan 1/200 dilüsyonda süspansiyon haline

getirildi. Bu yoğun süspansiyon pipet yardımı ile aralarında 0,3 mm boşluk kalacak şekilde birbirine uyan iki cam silindirden oluşan viskometre sistemine yerleştirildi. İki cam silindirin arasına doldurulan süspansiyon, dıştaki cam silindirin sistemini kontrol eden bir bilgisayar tarafından, uygun kayma kuvvetlerini oluşturmak üzere hesaplanan bir hızda döndürüldü. Belirlenen aralıktaki kayma kuvvetlerini oluşturacak dönme hızları bilgisayar tarafından PVP viskozitesi dikkate alınarak hesaplandı. Bu sırada sabit silindirin içinde yer alan bir lazer kaynağından çıkan ışın eritrosit süspansiyonuna ulaşmakta ve bir prizma yardımıyla ekran üzerine difraksiyon paterni yansıtılmaktadır. Bu yansıma süspansiyondaki eritrositlerin şeklini ve dönme hareketinin yarattığı oriyantasyonları içermektedir. Artan kayma kuvvetlerine paralel olarak, eritrositler bikonkav disk formundan elipsoid forma dönüşmektedir. Bu dönüşüm eritrositlerin şekil değiştirme yetenekleri (deformabiliteleri) ile doğru orantılıdır. Eritrositlerin stres koşullarına elipsoid formu tepkisinden yola çıkarak, elipsoid difraksiyon paterninin A ve B uzunlukları bilgisayar tarafından saptandı ve $EI=A-B/A+B$ şeklinde hesaplandı. Ölçümler 37 °C' de yapıldı.

Eritrositlerin yüksek stres koşulları altında meydana getirdiği davranışlarını ve eritrosit mekaniğini değerlendirebilmek amacı ile üç farklı aşama uygulandı. Birinci aşamada 117 saniyede eritrositlere 0.3-50 Pa arasında 9 farklı kayma kuvveti uygulandı. İkinci aşamada stres modelinde 102 saniyelik sürede eritrositlere maksimum stres koşullarını sağlayan 80,65-79,65 Pa arasında 24 kuvvet uygulandı. Stres modeli sonrasında eritrositlere 117 saniyede 0.3-50 Pa değerleri arasında 9 farklı kayma kuvveti uygulandı. Yüksek stres modeli sonrasında uygulanan kayma kuvvetleri ile strese maruz kaldıktan sonra gösterdikleri mekanik özellikleri değerlendirildi.

3.5. İstatistiksel Değerlendirme

Hasta gruplarındaki denek sayısı 10'un altında olduğu için 3 grup arasında yapılan karşılaştırmalarda, non-parametrik test olarak Kruskal Wallis kullanıldı. Bu testte anlamlı fark saptandığı zaman 2'li gruplar olarak, anlamlı farkın hangi değişkenden kaynaklandığını belirleyebilmek için Mann-Whitney U testi uygulandı. Bazı gruplardaki denek sayısının az olması ve bunlarda uygulanan non-parametrik testlerde α değerinin 0.05'in üzerine çıkma eğilimi göstermesi nedeniyle, Bonferroni düzeltmesi uygulandı. Ayrıca stres öncesi ve sonrası bulunan elongasyon indeksi ile maksimum elongasyon indeksi değerlendirilmesi için, SS1/2 Lineweaver analiz programı kullanıldı. Bu programdan elde edilen maksimum deformabilite sonuçları Wilcoxon işaret testi ile analiz edildi. İstatistiksel değerlendirmelerde SPSS 15.0 programı kullanıldı.

BULGULAR

4.1. Hemogram Parametrelerinin Değerlendirilmesi

Her üç grubun hemogram parametreleri değerlendirildi. HIS grubu hemogram değerlendirme sonuçları Çizelge 4.1'de verilmiştir. Hb D grubunun hemogram parametreleri Çizelge 4.2'de verilmiştir. Kontrol grubunun hemogram parametreleri 4.1.3'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.1. HIS grubu yaş ve hemogram değerlendirmesi

HIS grubu	Sayı	Minimum	Maksimum	Ortanca	Ortalama	Standart Sapma
Yaş	9	10	38	19	22,7	9,1
Hemoglobin (g/dl)	9	7,8	12,2	9,5	94,7	1,68
Lökosit (/mm ³)	9	1798	13.300	5560	6821	3510,5
Eritrosit (/mm ³)	9	1,730x10 ⁶	6,280 x10 ⁶	4,290x10 ⁶	4,038x10 ⁶	1500,5
Trombosit (/mm ³)	9	120.000	703.000	271.000	377.110	231.103
MCV (fl)	9	58,7	135,9	86,3	88,01	2,651
MCH (pg/hücre)	9	14,8	46,4	25,4	26,91	11,43
MCHC (g/dl)	9	22,80	34,60	29,6	29,63	4,199
Hematokrit (%)	9	23,50	40,50	31,1	32,5	5,644

Çizelge 4.2. Hb D hastalarının yaş ve hemogram değerleri

Hb D	Sayı	Minimum	Maksimum	Ortanca	Ortalama	Std spm
Yaş	5	3	52	27	24	18,51
Hemoglobin (g/dl)	5	11,0	15,2	14,5	13,48	2,019
Lökosit (/mm ³)	5	1257	8190	6170	8160	2757
Eritrosit (/mm ³)	5	4,480x10 ⁶	7,760x10 ⁶	5,270x10 ⁶	5,496x10 ⁶	1321
Trombosit (/mm ³)	5	155.000	420.000	236.000	271.000	102.825
MCV (fl)	5	63,30	84,90	78,0	75,90	8,82
MCH (pg/hücre)	5	19,6	28,4	25,9	25,02	3,51
MCHC (g/dl)	5	31,10	33,40	33,40	32,90	1,009
Hematokrit (%)	5	32,80	49,10	43,4	41,10	6,96

Çizelge 4.3. Kontrol grubu hemogram değerleri

Kontrol grubu	Sayı	Minimum	Maksimum	Ortanca	Ortalama	Standart sapma
Yaş	17	12	57	29	28,88	9,92
Hemoglobin (g/dl)	17	11.65	15.3	13.5	13.61	1.089
Lökosit (/mm ³)	17	4410	7790	5580	5801,1	995,6
Eritrosit (/mm ³)	17	3,690 x10 ⁶	5,120 x10 ⁶	4,530x10 ⁶	4,577 x10 ⁶	401,6
Trombosit (/mm ³)	17	152.000	280.000	201.000	208,70	38.06
MCV (fl)	17	85,10	98,50	92,6	91.64	3,982
MCH (pg/hücre)	17	27,2	32	30	29.82	1,41
MCHC (g/dl)	17	30,60	34,50	32,9	32,55	1,09
Hematokrit (%)	17	35,00	50,00	42	41,86	3,65

Kontrol gruplarında yapılan değerlendirmede grubun ortanca yaşı 29 bulundu. Kontrol grubu hemogram değerleri Çizelge 4.3. de verilmiştir. Hemogram değerlendirmelerinde Hb, eritrosit, lökosit, trombosit, MCV, MCH, MCHC ve hematokrit sayımları normal parametre aralığında saptandı. Üç grubun hemogram parametreleri karşılaştırıldı. Karşılaştırma sonucu Çizelge 4.4 de sunuldu.

Çizelge 4.4. Hemogram parametrelerinin karşılaştırılması

HIS, Hb D ve Kontrol gruplarına ait hematolojik parametreler. Sonuçlar ortalama \pm standart hata olarak verilmiştir. Hemoglobin (Hb), eritrosit (RBC), lökosit (WBC), trombosit (PLT), ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu, eritrosit ortalama (MCH). (n=32) ,

*: $p < 0.01$, Hb D ve kontrol gruplarından farkı.

** $p < 0.01$, kontrol grubundan farkı.

	HIS grubu	Hb D	Kontrol
Yaş	19 \pm 9.1	27 \pm 18,51	29 \pm 9,92
Hb (g/dl)	9.5 \pm 1,68*	14.5 \pm 2.019	13.5 \pm 1.089
WBC (/mm ³)	5560 \pm 3510,5	6170 \pm 2757	5580 \pm 995,6
RBC (/mm ³)	4,29x10 ⁶ \pm 401,6*	5,27x10 ⁶ \pm 1321	4,53x10 ⁶ \pm 401,6
PLT (/mm ³)	271.000 \pm 231.103	236.000 \pm 102.825	201.000 \pm 38.06
MCV (fl)	86,3 \pm 2,651	78.0 \pm 8,82**	92,6 \pm 3,982
MCH (pg/hücre)	25,4 \pm 11,43	25,9 \pm 3,51**	30 \pm 1,41
MCHC (g/dl)	29,6 \pm 4,199	33,40 \pm 1,009	32,9 \pm 1,09
HCT (%)	31,1 \pm 5,644*	43,4 \pm 6,96	42 \pm 3,65

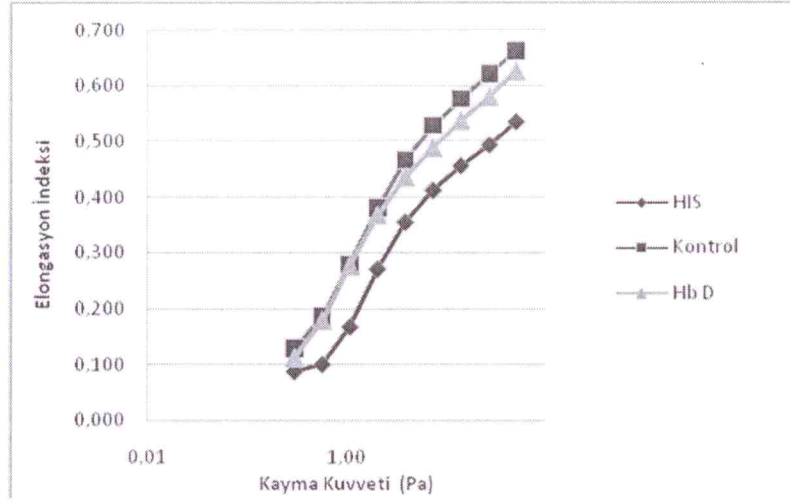
4.2. Elongasyon indekslerinin değerlendirilmesi

Stres öncesinde 117 saniyelik elongasyon indeksi ölçümünde, üç grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar tespit edildi ($p < 0,05$). Üç grupta yapılan değerlendirmeden sonra hangi iki grubun arasında farklılık olduğu anlamak için ikili karşılaştırmalar yapıldı. Değerlendirme sonuçları Çizelge 4.5’de ve çizelge 4.6’da verilmiştir.

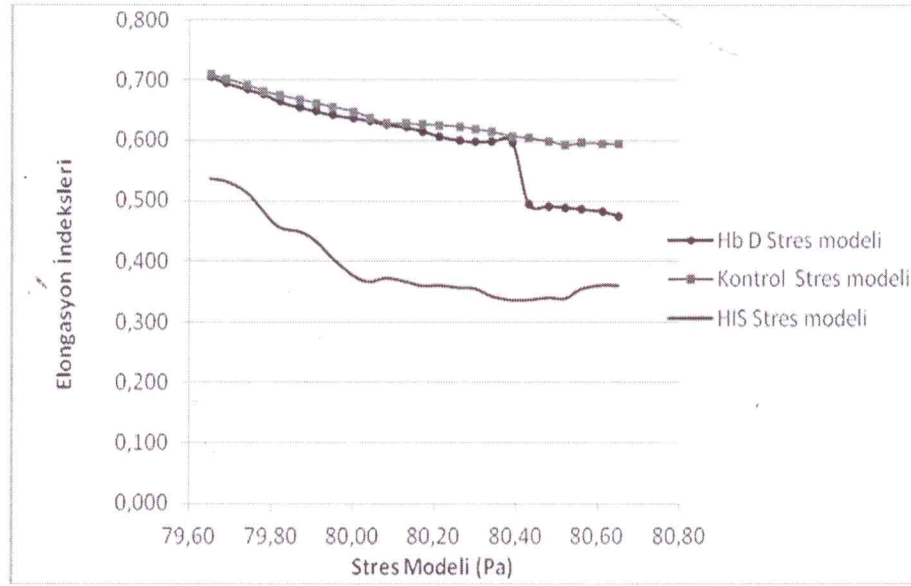
Çizelge 4.5. Stres öncesi elongasyon indeksleri

Kayma Kuvveti (Pa)	Kontrol	Hb D	P	Kontrol	HIS	P	Hb D	HIS	P	(Gruplar arası değerlendirme) P
1-(0,30)	0,130	0,114	0,400	0,130	0,088	0,012	0,114	0,183	0,111	0,033
2-(0,57)	0,188	0,181	0,889	0,188	0,101	0,002	0,181	0,160	0,010	0,003
3-(1,08)	0,280	0,278	0,700	0,280	0,168	0,001	0,278	0,167	0,010	0,003
4-(2,04)	0,382	0,369	0,484	0,382	0,271	0,001	0,369	0,192	0,018	0,003
5-(3,87)	0,467	0,438	0,294	0,467	0,355	0,001	0,438	0,217	0,059	0,003
6-(7,34)	0,529	0,490	0,248	0,529	0,413	0,000	0,490	0,235	0,045	0,001
7-(13,92)	0,577	0,538	0,195	0,577	0,457	0,000	0,538	0,252	0,045	0,001
8-(26,98)	0,621	0,581	0,141	0,621	0,494	0,000	0,581	0,287	0,059	0,001
9-(50,00)	0,663	0,627	0,262	0,663	0,535	0,001	0,627	0,340	0,045	0,003

Stres öncesi yapılan değerlendirmede kontrol ve Hb D grupları arasında 0,3-50 Pa değerindeki kayma kuvvetlerinde ölçülen elongasyon indeksleri açısından istatistiksel olarak önemli farklılık bulunmamıştır ($p>0,05$). Karşılaştırma sonucu ulaşılan p değerleri Çizelge 4.1 de sunulmuştur. Kontrol ve HIS grupları arasında yapılan 0,3-50 Pa değerleri arasında uygulanan kayma kuvvetlerinde, HIS grubu elongasyon indeksi değerleri kontrol grubuna göre daha düşük bulunmuştur. Bu bulgular istatistiksel olarak anlamlı farklılık taşımaktadır ($p<0,05$). HIS ve Hb D grupları arasında yapılan değerlendirme sonucunda 0,57-2,04 Pa, 7,34-13,92 Pa ve 50 Pa kayma kuvvetlerinde bulunan elongasyon indeksleri HIS grubunda Hb D grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı olan daha düşük değerlerde saptanmıştır ($p<0,05$). Bu değerlendirme sonucuna ait p değerleri Çizelge 4.1 de sunulmuştur.



Çizelge 4.6. Stres öncesi 'de HIS, kontrol ve Hb D gruplarının elongasyon indeksi eğrileri



Çizelge 4.7. Elongasyon indekslerinin stres modeli'deki eğrileri (Stres modelinde HIS olgularının çizdiği düşük eğri düzeyi $p < 0,05$ değeri ile uyum göstermektedir. Hb D elongasyon indeksinin kontrol grubu elongasyon indeksi ile aynı düzeylerde görülen eğrisinde meydana gelen ani düşme $p > 0,05$ değeri ile anlamsız olduğu bulundu.

Uygulanan stres modelinde elongasyon indeksleri ölçüldü. Her üç grubun karşılaştırıldığı analizde 17-102 saniyelik sürede 79,65-80,65 kayma kuvvetlerinde üç grup arasında farklılıklar bulundu ($p < 0,05$). Bu sonuçlar ve sonuçlara ait p değerleri Çizelge 4.8. de ve çizelge 4.7 de verilmiştir.

Çizelge 4.8 Stres modeli elongasyon indeksleri

Stres modeli (Pa)	Kontrol	Hb D	P	Kontrol	HIS	p	Hb D	HIS	p	(Gruplar arası değerlendirme) P
1-(79,65)	0,709	0,706	0,944	0,709	0,536	0,006	0,706	0,536	0,034	0,016
2-(79,69)	0,701	0,696	0,834	0,701	0,531	0,001	0,696	0,531	0,025	0,004
3-(79,74)	0,692	0,685	0,674	0,692	0,513	0,001	0,685	0,513	0,034	0,003
4-(79,78)	0,682	0,677	0,624	0,682	0,482	0,001	0,677	0,482	0,018	0,002
5-(79,82)	0,674	0,664	0,528	0,674	0,455	0,001	0,664	0,455	0,025	0,002
6-(79,87)	0,668	0,655	0,484	0,668	0,448	0,000	0,655	0,448	0,010	0,001
7-(79,91)	0,661	0,648	0,441	0,661	0,432	0,000	0,648	0,432	0,010	0,000
8-(79,95)	0,655	0,642	0,484	0,655	0,404	0,000	0,642	0,404	0,005	0,000
9-(80,00)	0,648	0,637	0,528	0,648	0,376	0,000	0,637	0,376	0,005	0,000
10-(80,04)	0,637	0,633	0,649	0,637	0,366	0,000	0,633	0,366	0,005	0,000
11-(80,08)	0,629	0,627	0,575	0,629	0,372	0,000	0,627	0,372	0,003	0,001
12-(80,13)	0,628	0,622	0,753	0,628	0,366	0,000	0,622	0,366	0,003	0,000
13-(80,17)	0,626	0,615	0,551	0,626	0,359	0,000	0,615	0,359	0,003	0,000
14-(80,21)	0,625	0,607	0,208	0,625	0,360	0,000	0,607	0,360	0,003	0,000
15-(80,26)	0,623	0,600	0,132	0,623	0,356	0,000	0,600	0,356	0,003	0,000
16-(80,30)	0,619	0,597	0,107	0,619	0,354	0,000	0,597	0,354	0,001	0,000
17-(80,34)	0,614	0,598	0,207	0,614	0,342	0,000	0,598	0,342	0,001	0,000
18-(80,39)	0,607	0,597	0,484	0,607	0,336	0,000	0,597	0,336	0,001	0,000
19-(80,43)	0,604	0,494	0,207	0,604	0,336	0,000	0,494	0,336	0,034	0,000
20-(80,48)	0,598	0,491	0,262	0,598	0,339	0,000	0,491	0,339	0,034	0,000
21-(80,52)	0,592	0,488	0,344	0,592	0,338	0,000	0,488	0,338	0,034	0,000
22-(80,56)	0,595	0,485	0,207	0,595	0,354	0,000	0,485	0,354	0,045	0,000
23-(80,61)	0,594	0,481	0,115	0,594	0,360	0,000	0,481	0,360	0,077	0,000
24-(80,65)	0,593	0,475	0,107	0,593	0,360	0,000	0,475	0,360	0,077	0,000

Üç grubun karşılaştırılması sonrasında hangi iki grup arasında farklılık olduğunu ortaya çıkarmak için analizler yapıldı.

Kontrol ile Hb D grubunun karşılaştırması sonucunda anlamlı bir farklılık bulunmadı. Sonuçlara ait p değerleri Çizelge 4.8’de verilmiştir ($p>0,05$).

HIS ile kontrol grupları arasında yapılan değerlendirmede uygulanan 79,65-80,65 Pa kayma kuvvetlerinde sonucunda bulunan tüm elongasyon indeksleri HIS grubunda kontrol grubuna göre daha düşük değerlere sahip olduğu tespit edildi. Bu sonuçların istatistiksel açıdan anlamlı olduğu saptandı. Sonuçlara ait p değerleri Çizelge 4.8’de verilmiştir ($p<0,05$).

Hb D ile HIS gruplarına uygulanan stres modelinde 79,65-80,39 Pa değerindeki kayma kuvvetleri uygulandığında HIS grubunun Hb D grubundan daha düşük elongasyon indekslerine sahip olduğu saptandı. Bu sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p< 0,05$). Sonuçlara ait p değerleri Çizelge 4.8’de verilmiştir. Aynı iki gruba, 80,43-80,65 Pa kayma kuvveti uygulandığında ise bulunan elongasyon indeksleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık tespit edilmemiştir ($p>0,05$). Sonuçlara ait p değerleri Çizelge 4.8’de verilmiştir.

Çizelge 4.9. Stres sonrası kontrol, Hb D ve HIS Elongasyon İndeksleri

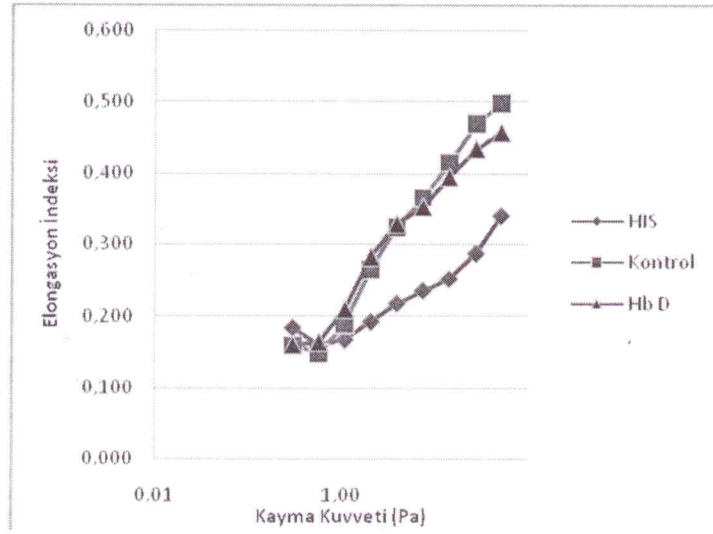
Kayma Kuvvetleri (pascal)	Kontrol	Hb D	P	Kontrol	HIS	p	Hb D	HIS	p	(Gruplar arası değerlendirme) P
1-(0,30)	0,160	0,160	-	0,160	0,183	-	0,160	0,183	-	0,666
2-(0,57)	0,148	0,164	-	0,148	0,160	-	0,164	0,160	-	0,731
3-(1,08)	0,189	0,210	-	0,189	0,167	-	0,210	0,167	-	0,138
4-(2,04)	0,266	0,283	0,294	0,266	0,192	0,001	0,283	0,192	0,007	0,001
5-(3,87)	0,324	0,329	0,484	0,324	0,217	0,000	0,329	0,217	0,007	0,001
6-(7,34)	0,366	0,353	0,552	0,366	0,235	0,001	0,353	0,235	0,034	0,004
7-(13,92)	0,416	0,395	0,161	0,416	0,252	0,000	0,395	0,252	0,007	0,000
8-(26,98)	0,470	0,435	0,069	0,470	0,287	0,000	0,435	0,287	0,018	0,000
9-(50,00)	0,499	0,458	0,093	0,499	0,340	0,009	0,458	0,340	0,126	0,014

Stres sonrasında uygulanan kayma kuvvetlerinde üç grup karşılaştırıldı. Sonuçlara göre her üç gruba 0,30-1,08 Pa kayma kuvvetleri uygulandığında bulunan elongasyon indeksleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Stres sonrasında 2,04-50 Pa kayma kuvvetleri uygulandığında bulunan elongasyon indeksleri karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar saptandı ($p<0,05$). Sonuçlara ait p değerleri Çizelge 4.9’de verilmiştir.

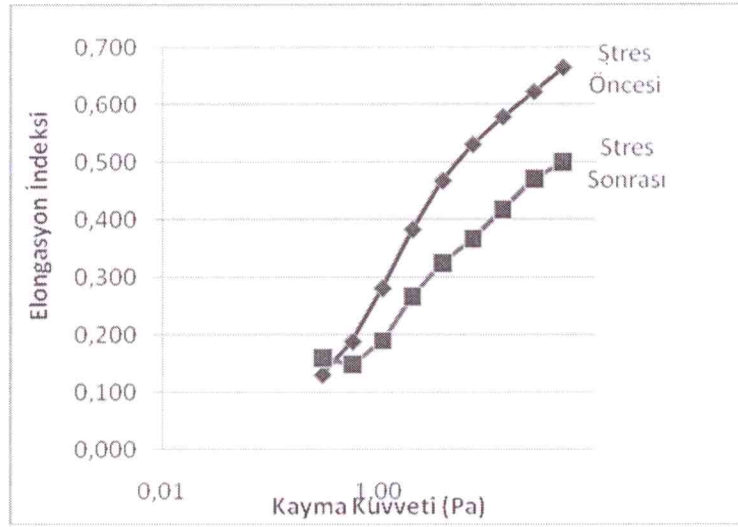
Değerlendirme sonrasında hangi iki grup arasında farklılık olduğu tespit edildi. Sonuçlarda kontrol grubu ve Hb D grubu arasında herhangi bir farklılık saptanmadı ($p>0,05$). Değerlendirmelere ait p değerleri Çizelge 4.9’de sunuldu. Stres sonrası elongasyon indekslerinin değerlendirilmesi Çizelge 4.10’te verilmiştir.

Sonuçlarda HIS grubu elongasyon indekslerinin kontrol grubu elongasyon indeksi değerlerine göre daha düşük değerlerde olduğu saptandı. Bu farklılıklar değerlerin istatistiksel olarak anlamlı saptandı. Bu sonuçlara ait p değerleri Çizelge 4.9’de sunuldu ($p<0,05$).

Sonuçlarda HIS grubu elongasyon indekslerinin Hb D grubu elongasyon indeksi değerlerine göre, 2,04-26,98 Pa kayma kuvvetlerinde daha düşük değerlerde olduğu saptandı. Bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0,05$). Stres sonrasında uygulanan 50 Pa kayma kuvvetinde ise Hb D ve HIS grubu elongasyon indeksleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık bulunamadı ($p>0,05$). Bu sonuçlara ait p değerleri Çizelge 4.9’de sunuldu



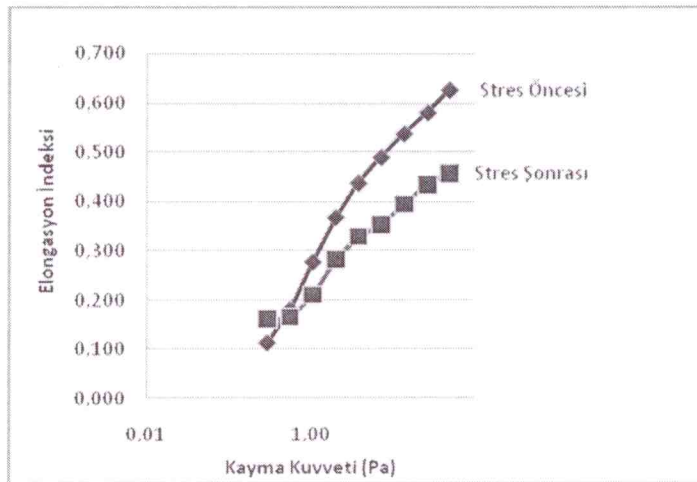
Çizelge 4.10. Stres sonrası kontrol, Hb D ve HIS Elongasyon İndeksleri



Çizelge 4.11 Kontrol grubunun Stres öncesi ve sonrasında Eİ karşılaştırması

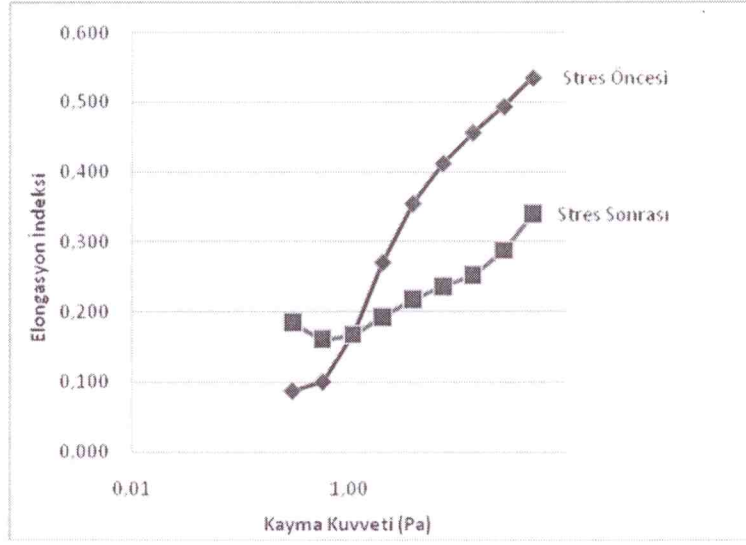
Stres modeli uygulanmasından önce ve sonra saptanan elongasyon indeksleri arasındaki farklılık değerlendirildi.

Kontrol grubunda stres sonrası elongasyon indekslerinin stres öncesi elongasyon indekslerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi ($p < 0,05$).



Çizelge 4.12. Hb D grubunun Stres öncesi ve sonrasında elongasyon indekslerinin karşılaştırılması

Hb D grubunda stres sonrası elongasyon indekslerinin stres öncesi elongasyon indekslerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi ($p < 0,05$).



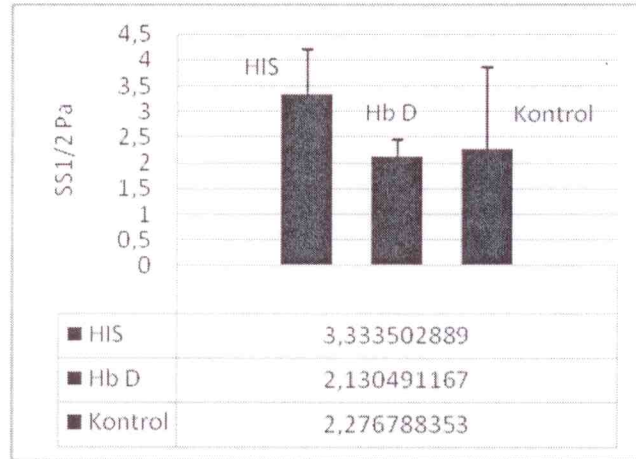
Çizelge 4.13. HIS grubunun Stres öncesi ve sonrasında Elongasyon indeksleri

HIS grubunda stres sonrası elongasyon indekslerinin stres öncesi elongasyon indekslerine göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı tespit edildi ($p < 0,05$).

4.3. SS1/2 Lineweaver Değerlendirme Yöntemi

Bu analiz yönteminde stres öncesinde ve sonrasında her bir olgunun SS1/2 Lineweaver programında elongasyon indeksleri kullanılarak maksimum elongasyon indeksleri hesaplandı. Her bir maksimum elongasyon indeksi değeri kullanılarak grupların ortalama elongasyon indeksleri ve standart sapmaları bulundu. Maksimum elongasyon indeksi (MEI) değerleri grafikler ile sunulmuştur. Bu analiz yönteminde bulunan ortalama MEI değeri ile eritrosit deformabilitesi arasında ters orantı bulunmaktadır.

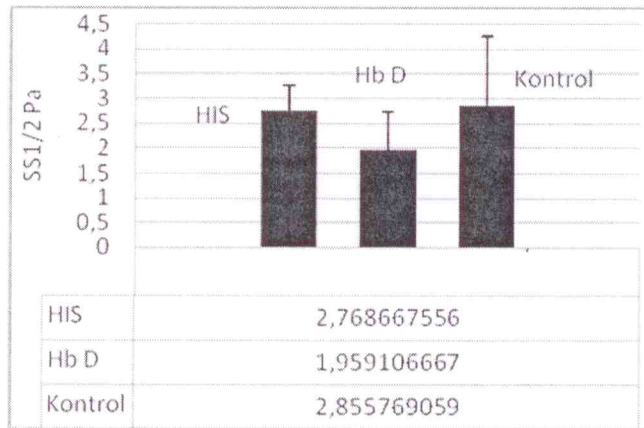
Kruskal Wallis istatistiksel analiz yöntemi ile yapılan değerlendirmede stres öncesinde HIS, Kontrol ve Hb D gruplarının MEI değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ($p = 0,120$, $p > 0,05$).



Çizelge 4.14. Stres öncesinde kontrol, Hb D ve HIS gruplarının SS1/2 MEI. ($p= 0,120$, $p>0,05$)

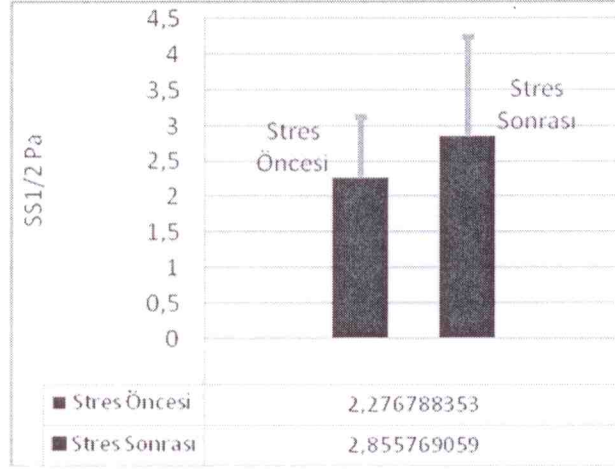
Çalışma gruplarının MEI değerleri Stres sonrası'te karşılaştırılmış sonuçlar çizelge 4.15 de sunulmuştur.

Stres sonrası yapılan değerlendirmede HIS, Kontrol ve Hb D gruplarının MEI değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık saptanmadı ($p= 0,520$, $P>0,05$).



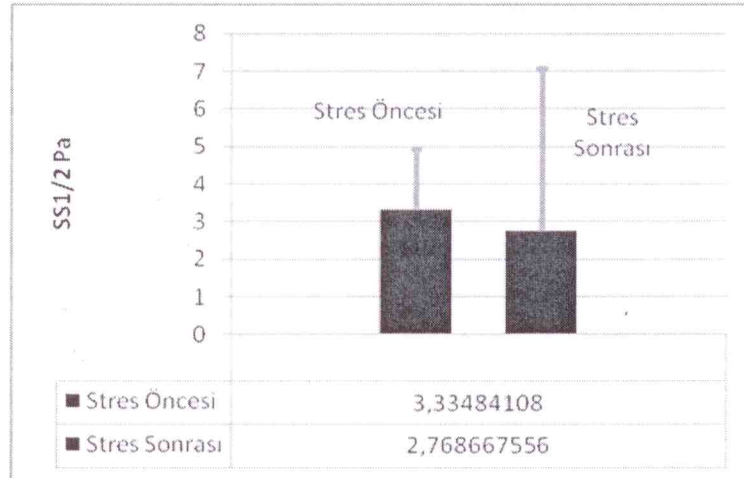
Çizelge 4.15. Stres sonrasında kontrol, Hb D ve HIS grupları MEI. ($p= 0,520$, $P>0,05$)

Stres öncesi ve sonrasında bulunan MEI değerleri her grupta her grupta ayrı ayrı karşılaştırıldı.



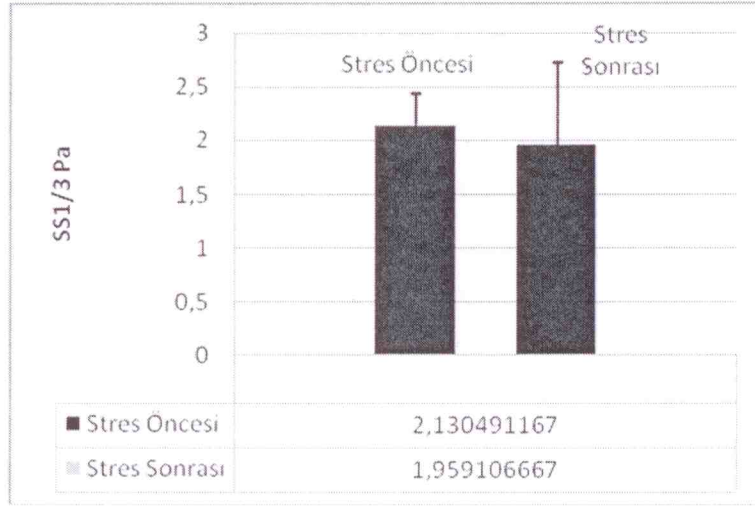
Çizelge 4.16. Kontrol grubu SS1/2 Stres öncesi ve sonrası MEI

Kontrol grubunda yapılan stres öncesi ve sonrası MEI değerleri karşılaştırıldı. Kontrol grubunda yapılan karşılaştırma sonucu farklılık saptanmadı ($z=-1,870$, $p>0,05$).



Çizelge 4.17. HIS grubunda SS1/2 Stres öncesi ve sonrası Elongasyon İndeksleri

HIS grubunda stres öncesi ve sonrası MEI değerleri karşılaştırması sonucunda farklılık saptanmadı ($z = - 0,889$, $p>0,05$).



Çizelge 4.18. Hb D grubunda SS1/2 Stres öncesi ve sonrası Elongasyon İndeksleri

Hb D grubunda stres öncesi ve sonrası MEI değerleri karşılaştırması sonucunda farklılık saptanmadı ($z = -0,734$, $p > 0,05$).

TARTIŞMA

Bu çalışmanın bulgularında stres öncesi kayma kuvvetlerinde, stres modeli ve stres sonrası kayma kuvveti uygulamalarında Hb H, talasemi intermedia ve Hb S olgularının eritrosit deformabilitelerinin Hb D ve kontrol gruplarının eritrosit deformabilitelerine göre daha az olduğunu göstermektedir.

Damar yarıçapı değişikliklerinin ve değişen akım hızlarının neden olduğu kayma kuvvetleri arteryel ve venöz damarlar arasında farklılıklar gösterir. Arterler, venlere göre daha yüksek kan akım hızına ve daha dar bir lümenine sahiptir. Bu damarlarda görülen kayma gerilimi seviyeleri 10-70 Pa arasındadır. Oysa daha düşük akım hızına ve daha geniş çapa sahip olan venlerde kayma gerilimi 1-6 Pa arasında değişmektedir (128,129). Bizim çalışmamızda da geniş çaplı venlerde görülen 1-6 Pa kayma kuvvetlerinin de uygulandığı ilk aşamada farklı hemoglobinoatlara sahip eritrositlerin mekanik özellikleri değerlendirilmiştir. Venlerde görülen kayma kuvvetlerine benzer ortamda Hb H, talasemi intermedia ve Hb S eritrositlerinin deformabilitelerinin Hb D ve sağlıklı eritrositlerden daha düşük olduğu tespit edildi ($p<0,05$). Hb D eritrositlerinin deformabilite özelliklerinin kontrol gruplarından farklı olmadığı saptandı ($p>0,05$). İkinci aşamada arterlerde meydana gelen kayma kuvvetinden daha yüksek düzeyde uygulanan kayma kuvvetlerinde Hb H, talasemi intermedia ve Hb S eritrositlerinin deformabilitelerinin Hb D'li ve sağlıklı eritrositlerin deformabilitelerinden daha düşük olduğu tespit edildi ($p<0,05$). Hb D eritrositlerinin deformabilite özelliklerinin kontrol gruplarından önemli bir farkının olmadığı saptandı ($p>0,05$). Buna rağmen Hb D ve kontrol gruplarının elongasyon indeksleri ile çizilen çizelge 4.7'de belirli bir noktadan sonra Hb D elongasyon indekslerinin daha düşük olduğunun gözlemlenmesi dikkat çekicidir. Stres sonrası yapılan değerlendirmede yine venlerde görülen kayma kuvvetine benzer olarak uygulanan kayma kuvvetlerinde Hb H, talasemi intermedia ve Hb S eritrositlerinin deformabilitelerinin Hb D ve sağlıklı eritrositlerden daha düşük olduğu tespit edildi ($p<0,05$). Hb D eritrositlerinin deformabilite özelliklerinin kontrol gruplarından farklı olmadığı saptandı ($p>0,05$). Buna rağmen stres sonrasında da elongasyon indeksleri ile çizilen çizelge 4.10'te Hb D'nin elongasyon indekslerinin kontrol grubu elongasyon indekslerinden daha düşük bir eğri çizmiş olduğu görülmektedir.

Eritrositlerin farklı kayma kuvvetlerinde değişen deformabilite özellikleri, eritrosit membran yapısını iç ve dış etkenlere karşı koruyabilmesine bağlıdır. Yapılan farklı çalışmalarda oraklaşmış ve talasemik eritrositlerin membranında fosfolipid tamir mekanizmasının etkisiz olabileceği bildirilmiştir (127). Bizim çalışmamızda Hb H, talasemi intermedia ve orak hücreli eritrositlerin membran yapısını iç ve dış etkenlere karşı koruyabilme özelliklerinin etkisiz olduğunu desteklemektedir.

Eritrosit deformabilitesi ayrıca sitoplazmadaki hemoglobin miktarı, hücrenin su içeriğinin azalması ya da artması, sitoplazma yoğunluğunun değişimleri,

membranda yer alan ATP bağımlı katyon ve su pompalarının işlevine bağlıdır (127,130). Bizim çalışmamızda kullanılan Hb H, talasemi intermedia ve Hb S eritrositlerinin eritrosit deformabilitelerinin bozulması sitoplazmada bulunan düşük hemoglobin miktarından, sitoplazmanın su içeriğinin değişmesinden kaynaklanabileceğini düşündürmüştür.

Birden fazla çalışmada eritrosit deformabilitesinin, eritrosit sitoplazmasına çöken globin zincirlerinin meydana getirdiği hemikrom yapılarından da etkilendiği bildirilmiştir (121-123,132-135). Bizim çalışmamızda da yer alan çalışmamızda kullanılan Hb H, talasemi intermedia olgularının elongasyon indekslerinin hemikrom yapılardan etkilenmiş olabileceği düşüldü.

Bu çalışmada uygulanan yöntem sonucunda Hb D ve kontrol grupları arasında eritrosit deformabiliteleri açısından herhangi bir fark bulunmamıştır ($p>0,005$). Hb D olgularının eritrosit deformabilitelerinin, Hb H, talasemi intermedia ve Hb S olgularında bulunan eritrosit deformabilitelerinden istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($p<0,005$). HIS grubu eritrosit deformabilitelerinin kontrol grubu eritrosit deformabilitelerine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğu bulunmuştur ($p<0,005$) Hb D olgularının eritrositleri ile sağlıklı eritrosit deformabilitelerinin istatistiksel olarak anlamlı farklılığının bulunmaması olgu sayısının az olmasından kaynaklanabileceği düşünülmüştür.

Yapılan bir çalışmada sağlıklı eritrositlere uygulanan stres modelinde 60 Pa kayma kuvveti uygulanarak 10 ölçüm yapılmış ve yüksek stres koşullarında eritrosit deformabilitesi ölçülmüştür (136). Bizim çalışmamızda da bu stres şartlarından daha fazla ve daha önce uygulanmamış 79,65-80,65 Pa kayma kuvvetlerinde 24 ölçüm yaparak elongasyon indeksi ölçüldü. Hb H, talasemi intermedia ve Hb S (HIS), Hb D ve kontrol gruplarının elongasyon indekslerinin karşılaştırması sonucunda 79,65-80,56 Pa kayma kuvvetlerinde HIS grubu elongasyon indekslerinin Hb D grubundan daha düşük olduğu tespit edildi. Kontrol ve Hb D gruplarına uygulanan bu stres modelinde elde edilen elongasyon indeksleri arasında farklılık olmadığı tespit edildi. Fark olmamasının Hb D grubundaki olgu sayısının yetersizliğinden kaynaklandığı düşünüldü.

Stres sonrasında uygulanan 0,3-50 Pa kayma kuvvetlerinde HIS grubu elongasyon indekslerinin kontrol grubundan daha düşük değerlerde olduğu saptandı. Yüksek stres sonrasında eritrositlerin stres öncesindeki gibi daha düşük elongasyon indeksi değerlerine sahip olmasının düşük Hb düzeyinden etkilenmiş olabileceği kanısındayız.

HIS, Hb D ve kontrol gruplarında stres sonrasında eritrositlere uygulanan 0,3-50 Pa kayma kuvvetlerinde elongasyon indeksleri ölçüldü. Sonuçlara göre 2,04-26,98 Pa kayma kuvvetlerinde, HIS grubunda elongasyon indekslerinin, Hb D grubuna göre daha düşük olduğu saptandı ($p<0,05$). Bu farklılığın eritrosit membranının Son olarak uygulanan 50 Pa değerindeki kayma kuvvetinde ise herhangi bir farklılık olmadığı saptandı.

Stres sonrasında uygulanan kayma kuvvetlerinde kontrol ve Hb D grupları arasında fark saptanmamış olmasının, az olgu sayısından kaynaklı olabileceği düşünöldü.

Şimdiye kadar Hb H, talasemi intermedia, Hb S ve Hb D gruplarında uygulanmamış olan SS1/2 Lineweaver Excel değeriendirme programı kullanılarak maksimum elongasyon indeksleri ölçölmüştür. Tüm gruplarda stres öncesinde ve sonrasında maksimum elongasyon indeksleri arasında istatistiksel olarak fark bulunamamıştır. Bunun nedeni olarak stres modelinin MEI değerielerini etkilemediğini düşünödü.

SONUÇ ve ÖNERİLER

- 1) Hb H, talasemi intermedia ve Hb S olgularının bulunduğu HIS grubunun globin zinciri mutasyonlarının deformabiliteyi etkilediği fakat Maksimum Elongasyon İndeksi üzerinde herhangi bir değiştirici bir etki yaratmadığı düşünülmektedir. Bu grupta yer alan olgu sayısının arttırılarak çalışmalara devam edilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.
- 2) Eritrositin kendi şeklini koruyabilme yeteneğinin hemoglobinopati gruplarında hücre içi hemoglobin miktarı ve globin zinciri mutasyonlarından olumsuz yönde etkilendiğini çalışmamızda bu bilgileri Bundan dolayı hemoglobinopatiden şüphelenilen olgularda hemogram parametreleri değerlendirilmesi yanında subhemolitik stres uygulaması ile elongasyon indekslerinin bilinmesinin de yararlı olacağı kanaatindeyiz. Uzun vadede düşünüldüğünde eritrositlerin in-vivo ortamda karşılaştığı mekanik stres koşulları tahmin etmek güçtür. Bu bilgiler ışığında deformabilite indekslerinin, subhemolitik yoğun stres modeli ve sonrasında yapılacak değerlendirmenin hemoglobinopati taşıyıcısı ve hastası olan bireylerde invivo ortamı yansıtacak bilgiler vereceği kanısındayız.
- 3) Uyguladığımız subhemolitik stres modelinin diğer globin zincir mutasyonlarında uygulanması ve sonuçların karşılaştırması ile tedavi ve takip aşamalarında klinik bir yardımcı test olarak yardımcı olacağını düşünmekteyiz. İleride yapılacak çalışmalar ile çalışmamızda elde edilen verilerin daha geniş hasta gruplarında anlamlı ve değerli sonuçlara ulaştıracağı kanaatindeyiz.

KAYNAKLAR

1. Hall, J.E., Blood Physiology. Guyton& Hall Tıbbi Fizyoloji Kitabı. Chapter 17 Vol. 10. 2010, Ankara Nobel Kitabevleri
2. Hall, J.E., Blood Physiology. Guyton& Hall Tıbbi Fizyoloji Kitabı. Chapter 40 Vol. 10. 2010, Ankara Nobel Kitabevleri
3. Baskurt O.K., Meisselman H., History of Hemorheology. Handbook of Hemorheology and Hemodynamises. Vol. 1. 2007. 3-21.
4. Areekul, S., Rheology of blood in the microcirculation. J Med Assoc Thai, 1974. **57** (11): p. 533-6.
5. Bourner, G., Dhaliwal J., and Sumner J., Performance evaluation of the latest fully automated hematology analyzers in a large, commercial laboratory setting: a 4-way, side-by-side study. Lab Hematol, 2005. **11** (4): p. 285-97.
6. Fohlen-Walter, A., et al., Laboratory identification of cryoglobulinemia from automated blood cell counts, fresh blood samples, and blood films. Am J Clin Pathol, 2002. **117** (4): p. 606-14.
7. Lightman, M.A., Rheology of leukocytes, leukocyte suspensions, and blood in leukemia. Possible relationship to clinical manifestations. J Clin Invest, 1973. **52** (2): p. 350-8.
8. Benattar, L. and Flandrin G., Comparison of the classical manual pushed wedge films, with an improved automated method for making blood smears. Hematol Cell Ther, 1999. **41** (5): p. 211-5.
9. Tran-Son-Tay, R., et al., Rheological modelling of leukocytes. Med Biol Eng Comput, 1998. **36** (2): p. 246-50.
10. Merrill, E.W., et al., Non-Newtonian Rheology of Human Blood--Effect of Fibrinogen Deduced by "Subtraction". Circ Res, 1963. **13**: p. 48-55.
11. Greer J.P., Rodgers G.M., Calverley D. C., Thienelt C. D. Platelet Structure and Function Hemostasis and Thrombosis. Wintrob's Clinical Haematology. 2009. 510-512.
12. Segal, H.C. and Harrison, P. Methods for counting platelets in severe thrombocytopenia. Curr Hematol Rep, 2006. **5** (1): p. 70-5.
13. Forester, M.J.T.J.P.G.J., ed. The Mature Erythrocyte. Wintrob's Clinical Haematology. 2009. 126-12.
14. Mohandas, N. and Gallagher P.G., Red cell membrane: past, present, and future. Blood, 2008. **112** (10): p. 3939-48.
15. Chasis, J.A. and Mohandas N., Red blood cell glycoporphins. Blood, 1992. **80** (8): p. 1869-79.
16. Zwaal, R.F. and Schroit A.J., Pathophysiologic implications of membrane phospholipid asymmetry in blood cells. Blood, 1997. **89** (4): p. 1121-32.
17. Hillman R.S., Leporrier K.A.A., M. at all Hematology in Clinical Practice Vol. 1. 2012.
18. Wood, B.L., Gibson D.F., and Tait J.F., Increased erythrocyte phosphatidylserine exposure in sickle cell disease: flow-cytometric measurement and clinical associations. Blood, 1996. **88** (5): p. 1873-80.
19. Kuypers, F.A., et al., Membrane phospholipid asymmetry in human thalassemia. Blood, 1998. **91** (8): p. 3044-51.
20. Mohandas, N. and Evans, E. Mechanical properties of the red cell membrane in relation to molecular structure and genetic defects. Annu Rev Biophys Biomol Struct, 1994. **23**: p. 787-818.

21. Reid, M.E. and Mohandas N., Red blood cell blood group antigens: structure and function. *Semin Hematol*, 2004. **41** (2): p. 93-117.
22. Üyükü M., Atorvastatin Tedaviyle Plazma Kolesterol Konsantrasyonunun Düşürülmesinin Eritrosit Mekanikine Etkileri, in Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı,, 2006., Akdeniz Üniversitesi Antalya.
23. Üyükü, M., Atorvastatin Tedaviyle Plazma Kolesterol Konsantrasyonunun Düşürülmesinin Eritrosit Mekanikine Etkileri, in Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Fizyoloji Anabilim Dalı., 2006., Akdeniz Üniversitesi Antalya.
24. Baskurt, O.K. and Meiselman H.J., Cellular determinants of low-shear blood viscosity. *Biorheology*, 1997. **34** (3): p. 235-47.
25. Yesilkaya, A., et al., Deformability and oxidant stress in red blood cells under the influence of halothane and isoflurane anesthesia. *Gen Pharmacol*, 1998. **31** (1): p. 33-6.
26. Mohandas, N., Molecular basis for red cell membrane viscoelastic properties. *Biochem Soc Trans*, 1992. **20** (4): p. 776-82.
27. Thompson, G.R., Malaria and Stress in Relation to Haemoglobins S and C. *Br Med J*, 1963. **2** (5363): p. 976-8.
28. Tiftik, N., İnsan Eritrositlerinde RHO/RHO-Kinaz Sinyal İleti Mekanizmasının Fonksiyonel Önemi, in Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmakoloji Anabilim Dalı. 2009, Mersin: Mersin p. 15.
29. Bennett, V., The spectrin-actin junction of erythrocyte membrane skeletons. *Biochim Biophys Acta*, 1989. **988** (1): p. 107-21.
30. Anstee, D.J., Blood group antigens defined by the amino acid sequences of red cell surface proteins. *Transfus Med*, 1995. **5** (1): p. 1-13.
31. Bennett, V. and A.J. Baines, Spectrin and ankyrin-based pathways: metazoan inventions for integrating cells into tissues. *Physiol Rev*, 2001. **81** (3): p. 1353-92.
32. Knowles, D., The Erythrocyte membrane in Paint 1998.
33. Chakrabarti, A., et al., Differential expression of red cell proteins in hemoglobinopathy. *Proteomics Clin Appl*, 2011. **5** (1-2): p. 98-108.
34. Lee, T.H., et al., Peroxiredoxin II is essential for sustaining life span of erythrocytes in mice. *Blood*, 2003. **101** (12): p. 5033-8.
35. Low, F.M., et al., Peroxiredoxin 2 functions as a noncatalytic scavenger of low-level hydrogen peroxide in the erythrocyte. *Blood*, 2007. **109** (6): p. 2611-7.
36. Mallozzi, C., Di Stasi A.M., and Minetti M., Free radicals induce reversible membrane-cytoplasm translocation of glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase in human erythrocytes. *Arch Biochem Biophys*, 1995. **321** (2): p. 345-52.
37. Kuehn, D., et al., Reticulocyte hemoglobin content testing for iron deficiency in healthy toddlers. *Mil Med*, 2012. **177** (1): p. 91-5.
38. Beaumont, C. and Karim Z., (Iron metabolism: State of the art.). *Rev Med Interne*, 2012.
39. Yu, K.T., et al., 2,3-Diphosphoglycerate phosphatase/synthase: a potential target for elevating the diphosphoglycerate level in human red blood cells. *J Pharmacol Exp Ther*, 1990. **252** (1): p. 192-200.
40. Greer J.P., J.F., Rodgers G.M., Calverley D. C. , Thienelt C. D., ed. Erythropoiesis. *Wintrob's Clinical Haematology Vol. 6*. 2009. 112-113.
41. Huisman, T.H., The structure and function of normal and abnormal haemoglobins. *Baillieres Clin Haematol*, 1993. **6** (1): p. 1-30.
42. Anguita, E., et al., Globin gene activation during haemopoiesis is driven by protein complexes nucleated by GATA-1 and GATA-2. *EMBO J*, 2004. **23** (14): p. 2841-52.
43. Basset, P., et al., Isoelectric focusing of human hemoglobin: its application to screening, to the characterization of 70 variants, and to the study of modified fractions of normal hemoglobins. *Blood*, 1978. **51** (5): p. 971-82.
44. Potrakul, S., et al., Hemoglobin Siam (alpha 2 15 arg beta 2): a new alpha-chain variant. *Human genetk*, 1974. **23** (3): p. 199-204.

45. Bain, J.B., ed. The α , β , γ thalassemias and related conditions Haemoglobinopathy Diagnosis. Vol. 3. 2006, IOS Press: London. 63.
46. Pressley, L., et al., Characterisation of a new alpha thalassemia 1 defect due to a partial deletion of the alpha globin gene complex. *Nucleic Acids Res*, 1980. **8** (21): p. 4889-98.
47. Pressley, L., et al., A new genetic basis for hemoglobin-H disease. *N Engl J Med*, 1980. **303** (24): p. 1383-8.
48. Embury, S.H., et al., Two different molecular organizations account for the single alpha-globin gene of the alpha-thalassemia-2 genotype. *J Clin Invest*, 1980. **66** (6): p. 1319-25.
49. Goossens, M., et al., Triplicated alpha-globin loci in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1980. **77** (1): p. 518-21.
50. Fucharoen, S., et al., Prenatal and postnatal diagnoses of thalassemias and hemoglobinopathies by HPLC. *Clin Chem*, 1998. **44** (4): p. 740-8.
51. Schrier, S.L., et al., The unusual pathobiology of hemoglobin constant spring red blood cells. *Blood*, 1997. **89** (5): p. 1762-9.
52. Borgna C.P., Galanello R., *Thalassemias and Related Disorders: Quantitative Disorders of Hemoglobin Synthesis*, Wintrob's Clinical Haematology. 2009 p: 1092-1094
53. Bain, J.B., The α , β , δ and γ thalassaemias and related conditions Haemoglobinopathy Diagnosis 2006, London p: 63-87.
54. Talbot, D. and Grosveld F., The 5'HS2 of the globin locus control region enhances transcription through the interaction of a multimeric complex binding at two functionally distinct NF-E2 binding sites. *EMBO J*, 1991. **10** (6): p. 1391-8.
55. Srivorakun, H., et al., Analysis of fetal blood using capillary electrophoresis system: a simple method for prenatal diagnosis of severe thalassemia diseases. *Eur J Haematol*, 2009. **83** (1): p. 57-65.
56. Riemer, C., et al., A database of experimental results on globin gene expression. *Genomics*, 1998. **53** (3): p. 325-37.
57. Hardison, R.C., et al., Access to a syllabus of human hemoglobin variants (1996) via the World Wide Web. *Hemoglobin*, 1998. **22** (2): p. 113-27.
58. Popovich, B.W., et al., Molecular characterization of an atypical beta-thalassemia caused by a large deletion in the 5'beta-globin gene region. *Am J Hum Genet*, 1986. **39** (6): p. 797-810.
59. Baserga, S.J. and Benz E.J., Nonsense mutations in the human beta-globin gene affect mRNA metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1988. **85** (7): p. 2056-60.
60. Weatherall, D.J., Prenatal diagnosis of thalassaemia. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 1984. **288** (6427): p. 1321-2.
61. Demir, A., et al., Most reliable indices in differentiation between thalassemia trait and iron deficiency anemia. *Pediatr Int*, 2002. **44** (6): p. 612-6.
62. Cao, A., Galanello R., and Rosatelli M.C., Genotype-phenotype correlations in beta-thalassemias. *Blood Rev*, 1994. **8** (1): p. 1-12.
63. Maragoudaki, E., et al., Molecular, haematological and clinical studies of the -101 C --> T substitution of the beta-globin gene promoter in 25 beta-thalassaemia intermedia patients and 45 heterozygotes. *Br J Haematol*, 1999. **107** (4): p. 699-706.
64. Aessopos, A., et al., Cardiac involvement in thalassemia intermedia: a multicenter study. *Blood*, 2001. **97** (11): p. 3411-6.
65. Weatherall, N.O.a.D., *Clinical Aspects of Beta Thalassemia, Genetics, Pathophysiology and Clinical Management*. Disorders of Hemoglobin 2001, Cambridge: Cambridge University Press. 342- 355.
66. Fessas, P., Loukopoulos D., and Kaltsoya A., Peptide analysis of the inclusions of erythroid cells in beta-thalassemia. *Biochim Biophys Acta*, 1966. **124** (2): p. 430-2.

67. Polliack, A., Yataganas X., and Rachmilewitz E.A., Ultrastructure of the inclusion bodies and nuclear abnormalities in beta-thalassemic erythroblasts. *Ann N Y Acad Sci*, 1974. **232** (0): p. 261-82.
68. Advani, R., et al., Characterization and comparison of the red blood cell membrane damage in severe human alpha- and beta-thalassemia. *Blood*, 1992. **79** (4): p. 1058-63.
69. Weatherall, D.J. and Clegg J.B., Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem. *Bull World Health Organ*, 2001. **79** (8): p. 704-12.
70. Piomelli, S., et al., Prevention of bone malformations and cardiomegaly in Cooley's anemia by early hypertransfusion regimen. *Ann N Y Acad Sci*, 1969. **165** (1): p. 427-36.
71. Propper, R.D., Button L.N., and Nathan D.G., New approaches to the transfusion management of thalassemia. *Blood*, 1980. **55** (1): p. 55-60.
72. Thein, S.L., Hill F.G., and Weatherall D.J., Haematological phenotype of the triplicated gamma-globin gene arrangement. *Br J Haematol*, 1984. **57** (2): p. 349-51.
73. Bain, J.B., *Sickle cell haemoglobin and its interactions with other variant haemoglobins and with thalassaemias Haemoglobinopathy Diagnosis 2006*, London 139-41.
74. Abraham, D.J., et al., Vanillin, a potential agent for the treatment of sickle cell anemia. *Blood*, 1991. **77** (6): p. 1334-41.
75. Brugnara, C., et al., Therapy with oral clotrimazole induces inhibition of the Gardos channel and reduction of erythrocyte dehydration in patients with sickle cell disease. *J Clin Invest*, 1996. **97** (5): p. 1227-34.
76. Eaton, W.A. and Hofrichter J., Hemoglobin S gelation and sickle cell disease. *Blood*, 1987. **70** (5): p. 1245-66.
77. Joiner, C.H., Platt O.S., and Lux S.E., Cation depletion by the sodium pump in red cells with pathologic cation leaks. Sick cell and xerocytes. *J Clin Invest*, 1986. **78** (6): p. 1487-96.
78. Brugnara, C., H.F. Bunn, and D.C. Tosteson, Regulation of erythrocyte cation and water content in sickle cell anemia. *Science*, 1986. **232** (4748): p. 388-90.
79. Steinberg, M.a.N.R., ed. *New recombinant mutant hemoglobins of biological interest Disorders of Hemoglobin : Genetics Pathophysiology and Clinical Management 2001*, Cambridge University Press: Cambridge 1195-1211.
80. Head, C.E., et al., Some observations on the measurement of haemoglobin A2 and S percentages by high performance liquid chromatography in the presence and absence of alpha thalassaemia. *J Clin Pathol*, 2004. **57** (3): p. 276-80.
81. Test, S.T. and Woolworth V.S., Defective regulation of complement by the sickle erythrocyte: evidence for a defect in control of membrane attack complex formation. *Blood*, 1994. **83** (3): p. 842-52.
82. Serjeant, G.R., Serjeant B.E., and Milner P.F., The irreversibly sickled cell; a determinant of haemolysis in sickle cell anaemia. *Br J Haematol*, 1969. **17** (6): p. 527-33.
83. Biondani, A., et al., Heat-shock protein-27, -70 and peroxiredoxin-II show molecular chaperone function in sickle red cells: Evidence from transgenic sickle cell mouse model. *Proteomics Clin Appl*, 2008. **2** (5): p. 706-19.
84. Higgs, D.R., et al., The interaction of alpha-thalassemia and homozygous sickle-cell disease. *N Engl J Med*, 1982. **306** (24): p. 1441-6.
85. Charache, S., et al., Design of the multicenter study of hydroxyurea in sickle cell anemia. Investigators of the Multicenter Study of Hydroxyurea. *Control Clin Trials*, 1995. **16** (6): p. 432-46.
86. Charache, S., 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** (20): p. 1317-22.
87. Steinberg, M.H., et al., Effect of hydroxyurea on mortality and morbidity in adult sickle cell anemia: risks and benefits up to 9 years of treatment. *JAMA*, 2003. **289** (13): p. 1645-51.
88. Wick, T.M., et al., Unusually large von Willebrand factor multimers increase adhesion of sickle erythrocytes to human endothelial cells under controlled flow. *J Clin Invest*, 1987. **80** (3): p. 905-10.

89. Wong, S.C. and Ali M.A., Haemoglobin D Los Angeles, D-beta and thalassaemia, and D-beta o-thalassaemia. A report of two Canadian families. *Acta Haematol*, 1980. **63** (3): p. 151-5.
90. Lukens JN, L.G., Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM, , The Abnormal Hemoglobins: General Principles 10 ed. Lippincott Williams & Wilkins. 1998. 1329-1345.
91. Firkin F, C.C., Penington D, Rush B. , Disorders of Hemoglobin Structure and Synthesis 5th ed. Gruchi's Clinical Haematology in Medical Practice. 1996: Oxford: Blackwell Science
92. Ahmed, M., et al., The beta-globin genotype E121Q/W15X (cd121GAA-->CAA/cd15TGG-->TGA) underlines Hb d/beta- (0) thalassaemia marked by domination of haemoglobin D. *Ann Hematol*, 2001. **80** (11): p. 629-33.
93. Baskurt, O.K. and Meiselman H.J., Blood rheology and hemodynamics. *Semin Thromb Hemost*, 2003. **29** (5): p. 435-50.
94. Kayar, E., İskemi Perfüzyon Hasarının Eritrosit Mekanığıne etkisi in Sağlık Bilimleri Enstitüsü Fizyoloji 1999, Akdeniz Üniversitesi Antalya p. 23.
95. Menu, P., et al., In vivo effects of Hb solutions on blood viscosity and rheologic behavior of RBCs: comparison with clinically used volume expanders. *Transfusion*, 2000. **40** (9): p. 1095-103.
96. Merrill, E.W., et al., Rheology of blood and flow in the microcirculation. *J Appl Physiol*, 1963. **18**: p. 255-60.
97. Merrill, E.W., et al., Rheology of human blood, near and at zero flow. Effects of temperature and hematocrit level. *Biophys J*, 1963. **3**: p. 199-213.
98. Baskurt, O.K., Yalcin O., and Meiselman H.J., Hemorheology and vascular control mechanisms. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2004. **30** (3-4): p. 169-78.
99. Dikmenoglu, N., et al., Erythrocyte deformability, plasma viscosity and oxidative status in patients with severe obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep Med*, 2006. **7** (3): p. 255-61.
100. Stuart, J. and Kenny M.W., Blood rheology. *J Clin Pathol*, 1980. **33** (5): p. 417-29.
101. Rand, P.W., Barker N., and Lacombe E., Effects of plasma viscosity and aggregation on whole-blood viscosity. *Am J Physiol*, 1970. **218** (3): p. 681-8.
102. Baskurt O.K., Meisselman H., Mechanisms of Blood Rheology Alterations, History of Hemorheology. *Handbook of Hemorheology and Hemodynamiscs*. Vol. 1. 2007. 173-174).
103. Lowe G.D.O. and Barbenel J.C. Plasma and Blood viscosity in: *Clinical blood rheology* G.D.O. Lowe Ed. CRC Press Inc. Florida, 1998 pp 172
104. Mohandas, N. and Chasis J.A., Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids. *Semin Hematol*, 1993. **30** (3): p. 171-92.
105. Shiga, T., Maeda N., and Kon K., Erythrocyte rheology. *Crit Rev Oncol Hematol*, 1990. **10** (1): p. 9-48.
106. Meiselman, H.J., et al., RBC aggregation: laboratory data and models. *Indian J Exp Biol*, 2007. **45** (1): p. 9-17.
107. Baskurt, O.K., et al., Comparison of three instruments for measuring red blood cell aggregation. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2009. **43** (4): p. 283-98.
108. Baskurt, O.K., Temiz A., and Meiselman H.J., Effect of superoxide anions on red blood cell rheologic properties. *Free Radic Biol Med*, 1998. **24** (1): p. 102-10.
109. Yalcin, O., et al., Graded alterations of RBC aggregation influence in vivo blood flow resistance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2004. **287** (6): p. H2644-50.
110. Chien, S., Red cell deformability and its relevance to blood flow. *Annu Rev Physiol*, 1987. **49**: p. 177-92.
111. Heath, B.P., et al., Deformability of isolated red blood cell membranes. *Biochim Biophys Acta*, 1982. **691** (2): p. 211-9.
112. Hochmuth, R.M. and Waugh R.E., Erythrocyte membrane elasticity and viscosity. *Annu Rev Physiol*, 1987. **49**: p. 209-19.

113. Lopez, L., Duck I.M., and Hunt W.A., On the shape of the erythrocyte. *Biophys J*, 1968. **8** (11): p. 1228-35.
114. Stoltz, J.F., Hemorheology: pathophysiological significance. *Acta Med Port*, 1985. **6** (7-8): p. S4-13.
115. Başkurt, O.K., Pathophysiological Significance of Blood Rheology *Turk J Med Sci*, 2003. **33**: p. 347-355.
116. Watanabe, H., et al., Alterations of human erythrocyte membrane fluidity by oxygen-derived free radicals and calcium. *Free Radic Biol Med*, 1990. **8** (6): p. 507-14.
117. de Oliveira, M., et al., Nanomechanics of multiple units in the erythrocyte membrane skeletal network. *Ann Biomed Eng*, 2010. **38** (9): p. 2956-67.
118. Bookchin, R.M., et al., Identification and characterization of a newly recognized population of high-Na⁺, low-K⁺, low-density sickle and normal red cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2000. **97** (14): p. 8045-50.
119. Lowe, G., *Clinical Blood Rheology*. Vol. Volume I. 1988: CRC Press.
120. Stoltz JF, Riha P. *Hemorheology in Practice Biomedical and Health Research*, 1999, Amstersdam:: IOS Press.
121. Kuypers, F.A., Membrane lipid alterations in hemoglobinopathies. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2007: p. 68-73.
122. Scott, M.D., et al., Entrapment of purified alpha-hemoglobin chains in normal erythrocytes. A model for beta thalassemia. *J Biol Chem*, 1990. **265** (29): p. 17953-9.
123. Shalev, O., Shinar E., and Lux S.E., Isolated beta-globin chains reproduce, in normal red cell membranes, the defective binding of spectrin to alpha-thalassaemic membranes. *Br J Haematol*, 1996. **94** (2): p. 273-8.
124. Shinar, E., Rachmilewitz E.A., and Lux S.E., Differing erythrocyte membrane skeletal protein defects in alpha and beta thalassemia. *J Clin Invest*, 1989. **83** (2): p. 404-10.
125. Cokelet, G.R. and Meiselman H.J., Rheological comparison of hemoglobin solutions and erythrocyte suspensions. *Science*, 1968. **162** (3850): p. 275-7.
126. Mohandas, N., Phillips W.M., and Bessis M., Red blood cell deformability and hemolytic anemias. *Semin Hematol*, 1979. **16** (2): p. 95-114.
127. Chien, S., *Biophysical behavior of red cells in suspension Red Blood Cell* ed. D. Surgenor. 1975, New York: Academic Press. .
128. Malek A.M., Alper S.L., Izumo S. Hemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis. *Jama*.282.2035-42,1999
129. Lipowsky H.H. (Ed.):*Shear stress in the circulation*. In: Bevan JA, Kaley G, Rubanyi GM. (Ed.): *Flow-Dependent Regulation of Vascular Function* New York. Oxford University Press, 28–45.1995)
130. Ballas, S.K. and Mohandas N., Sickle red cell microrheology and sickle blood rheology. *Microcirculation*, 2004. **11** (2): p. 209-25.
131. Pawlowski, P.H., Burzynska B., and Zielenkiewicz P., Theoretical model of thalassemic erythrocyte shape transformation. *J Theor Biol*, 2008. **254** (3): p. 575-9.
132. Tavazzi, D., et al., Indices of membrane alterations in beta-thalassemic erythrocytes. *Hemoglobin*, 1998. **22** (5-6): p. 483-92.
133. Damay, E., *Rheology of Blood Cells in Sickle Cell Disease in The Department of Aerospace Engineering, Engineering Science* 1997, UNiversty of Florida Florida p. 55.
134. Vaya, A., et al., Rheological red blood cell behaviour in minor alpha-thalassaemia carriers. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2011. **48** (4): p. 241-6.
135. Perez, S., et al., New evidence of red blood cell rheological disorders in beta-thalassaemia minor. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2004. **31** (2): p. 89-96.
136. Streekstra, G.J., Dobbe J.G., and Hoekstra A.G., Quantification of the fraction poorly deformable red blood cells using ektacytometry. *Opt Express*, 2010. **18** (13): p. 14173-82.

ÖZGEÇMİŞ

1982 Isparta'da doğdu, ilk, orta ve lise öğrenimini Isparta'da tamamladı. 2005 yılında Süleyman Demirel Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji bölümünden mezun oldu. 2006-2007 yılları arasında Süleyman Demirel Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsünde Orta Öğretim Alan Öğretmenliği eğitimini tamamladı. 2007-2008 yılları arasında Isparta Devlet Hastanesi Merkezi Araştırma Laboratuvarında gönüllü Biyolog olarak çalıştı. 2009-2010 Eğitim Öğretim yılının güz döneminde Sağlık Bilimleri Enstitüsü Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'na bağlı Kalıtsal Kan Hastalıkları Bilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimine başladı. Merve Damla PINAR İngilizce bilmektedir ve ulusal kongrede yayınlanmış 1 bildirisi vardır.