

Orak Hücre Anemisinin Moleküler ve Hücresel Patofizyolojisi

Molecular and Cellular Pathophysiology of Sickle Cell Anemia

Gizem İnal* Abdullah Arpacı**

* Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Moleküler Biyokimya ve Genetik Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

** Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı, Hatay, Türkiye

Başvuru Tarihi: 16 Ocak 2021

Kabul Tarihi: 30 Mart 2021

ÖZET

Orak hücre hastalığı, dünyadaki en yaygın tek gen bozukluklarından biridir. Ülkemizde görülme sıklığı yüksek olup eritrositleri etkileyen bir kan hastalığıdır. Beta globin geninde meydana gelen mutasyon, orak hemoglobin tetramerlerinin oluşumuna yol açar. Bu tetramerler polimerleşerek eritrosit membranına zarar verir. Eritrosit hasarı; hemoliz, vazooklüzyon, endotelial disfonksiyon ve inflamasyon gibi patofizyolojik mekanizmaları tetikleyerek bir kısır döngü oluşturur. Bu mekanizmalar, hasta bireylerde değişen derecelerde kronik hemolitik anemi, vaskülopati, akut ve/veya kronik organ hasarı ve kısalmış yaşam süresine neden olur. Bu derleme, orak hücre anemisinin moleküler ve hücresel patofizyolojisine dair kapsamlı bir bakış sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Hemoglobin S; Polimerizasyon; Eritrosit Membranı; İyon Kanalları, Hemoliz

ABSTRACT

Sickle cell disease is a blood disorder that affects erythrocytes one of the most common single gene disorders in the world and the incidence is high in Turkey. Mutation in the beta globin gene leads to the formation of sickle hemoglobin tetramers. These tetramers polymerize and damage the erythrocyte membrane. Erythrocyte damage; It creates a vicious circle by triggering pathophysiological mechanisms such as hemolysis, vaso-occlusion, endothelial dysfunction and inflammation. These mechanisms cause varying degrees on each patient chronic hemolytic anemia, vasculopathy, acute and / or chronic organ damage and shortened lifespan. This review provides a comprehensive overview of the molecular and cellular pathophysiology of sickle cell anemia.

Keywords: Hemoglobin S; Polymerization; Erythrocyte Membrane; Ion Channels; Hemolysis

Gizem İnal : 0000-0001-7906-7678
Abdullah Arpacı : 0000-0002-6077-8258

Yazışma adresi: Abdullah Arpacı
Hatay Mustafa Kemal Üniversitesi
Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Hatay, Türkiye
e-mail: arpacı57@gmail.com

GİRİŞ

Orak hücre hastalığı (OHH) dünya çapında her yıl yaklaşık 176.000 kişinin hayatını kaybetmesine neden olan otozomal resesif geçişli genetik bir hastalıktır(1). OHH terimi; hemoglobinin beta globin proteinini kodlayan gende, bir grup hastalığa (orak hücre anemisi, HbSC ve HbS β - talasemi vb.) yol açan mutasyonları kapsar. Bu mutasyonun homozigot (orak hücre anemisi (OHA)- HbSS) veya başka gendeki mutasyonla birlikte kalıtılması OHH'nın formlarını oluşturur. Oluşan mutasyonların yapısını değiştirdiği hemoglobin molekülü normalde; küresel şekle sahip, 6.4 nm çapında ve yaklaşık 64.500 dalton (Da) moleküler ağırlığa sahip bir hemoproteindir. Tetramerik hemoglobin molekülü, her biri bir hem kofaktörü içeren dört globin proteininden oluşur. Hem molekülünün her biri, bir molekül oksijen (O₂) bağlayarak hemoglobin molekülünün ana görevini gerçekleştirmesine aracılık eder. Birçok gen, farklı globin proteinini kodlar. Çeşitli globin protein kombinasyonları, hayatın farklı evrelerinde sentezlenen hemoglobin türlerini (Gower, HbF, HbA² vb.) oluşturur (2).

Orak hücre anemisi (OHA), beta(β) globin geninde meydana gelen tek nükleotid(nokta) mutasyonu (Adenin→Timin) sonucu meydana gelir. β -globin zincirinin 6. pozisyonuna glutamik asit yerine valin geçer ve hemoglobin S (HbS) oluşur. Hemoglobin, O₂'ye yanıt olarak konformasyonel değişikliklere uğrayan; çevresel değişiklikler ve allosterik efektörlerden etkilenen karmaşık bir moleküldür. Deoksijene hemoglobin molekülünün dış yüzünde bulunan hidrofobik valin rezidüleri, yapışkan noktalar oluşturur, bu da, hemoglobin molekülünün kümelenmesine ve fibröz çökeltiler oluşmasına sebep olur. HbS polimerizasyonu adı verilen bu fenomen, eritrositlerin (RBC), karakteristik orak şekline dönüşmesine yol açar.

Yapılan araştırmalar sonucunda OHA patofizyolojisinin; HbS polimerizasyonu, artmış vazooklüzyon, hemoliz aracılı endotelial disfonksiyon ve steril inflamasyonun aktivasyonu arasındaki etkileşim silsilesi olduğu düşünülmektedir(3). OHA'nin hastalar arasın-

daki klinik ve hematolojik özelliklerindeki büyük değişkenlik, hastalığın altında yatan mekanizmaların anlaşılmasını zorlaştırır.

Ülkemizde özellikle Akdeniz Bölgesinde sık görülen hastalığın hücre düzeyindeki patofizyolojisini anlamak, yeni tedavi olanaklarını geliştirmek için önemlidir. Bu yüzden biz bu derlemede OHA'nin RBC ve damar üzerinde yapmış olduğu hücresel ve moleküler değişikliklere odaklanıyoruz.

EPİDEMİYOLOJİ

OHH yüzlerce yıldır Afrika halkı tarafından bilinmesine rağmen, ilk defa Herrick tarafından periferik kan yaymasında armut şekilli ve uzamış hücreler olarak 1910 yılında tanımlanmıştır (4). OHH; Sahraaltı Afrika, Akdeniz bölgesi (Türkiye, Yunanistan ve İtalya başta olmak üzere), Arap yarımadası, Hindistan, Amerika Birleşik Devletleri ve Brezilya gibi ülkeleri kapsayan çok geniş bir coğrafi alanda görülür (5). Hastalığın dağılımı malaraya endemisi ve göç hareketleri ile paralellik gösterir (6). Küresel ve ülke bazında güvenilir veriler elde edilemese de, 2010 yılında dünya genelinde 312.302 homozigot SS bebek ve 5.476.407 heterozigot AS bebeğin dünyaya geldiği tahmin edilmektedir(7). Türkiye genelindeki HbAS sıklığı %0,37-0,6 arasında olup Akdeniz Bölgesi'nde yoğun olarak (Adana'da %10,0, Antakya'da %10,5 ve Mersin'de %13,6) bildirilmiştir(8).

PATOFİZYOLOJİ

Hemoglobin; kemik iliğinde gelişen eritrositin oluşturduğu, O₂ taşıyan kompleks bir proteindir ve geri dönüşümlü oksijenlenme özelliğine sahiptir. Deoksijene koşullarda ve asidik pH' da, HbS molekülüleri birleşerek rijit polimer formunu oluşturur ve eritrositler orak şeklini alır. RBC, O₂ ile tekrar karşılaştığında bikonkav şekline geri döner fakat polimerizasyon döngüsü tekrarladıkça, membran kalıcı olarak zarar görür. RBC geri dönüşümsüz olarak orak şeklini alır ve yaşam süresi ortalama 12 güne düşer(9). Eritrositler anormal bir şekilde adhesiv özel-

lik kazanır ve damar endoteline yapışarak kan akımını engeller. Bu mikrovasküler tıkanma vazooklüzyon olarak adlandırılır ve iskemiye yol açar (10). OHA, hemoglobin molekülünü etkileyen bir bozukluk olmasına karşın organizmanın bütününde yıkıcı etkilere sahiptir.

HbS polimerizasyonu

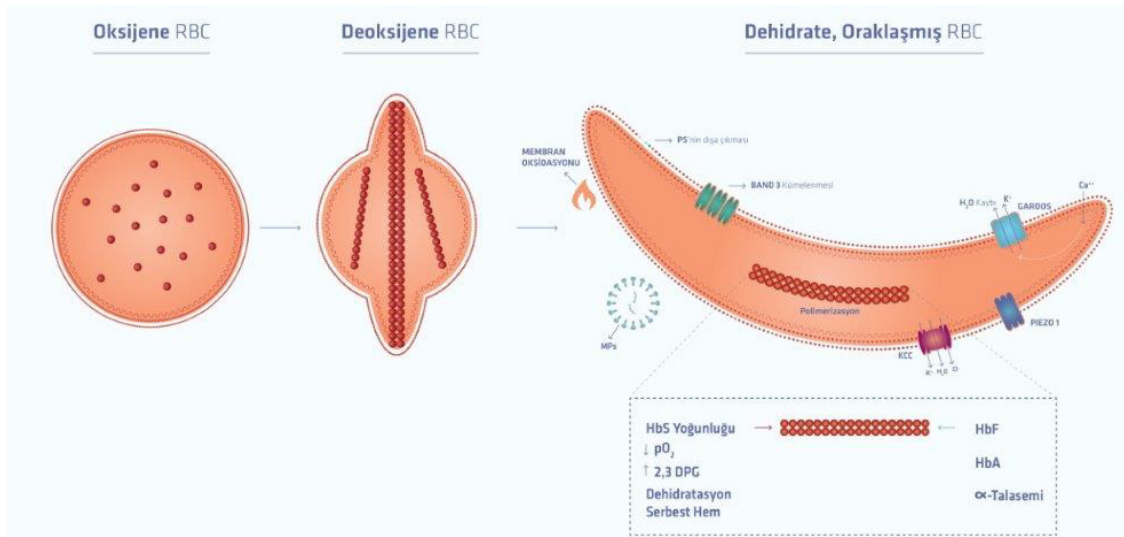
RBC membran iskelet proteinlerinin, lipid bilayer ile etkileşimini yöneten karmaşık mekanizmalar, eritrositin dolaşımdaki maruz kaldığı gerilim altında deforme olmasını ve yeniden bikonkav disk şeklini kazanmasını sağlar. HbS'in polimerizasyonu oldukça dinamik bir olaydır. Düşük O₂ koşullarında deoksijene HbS tetramerleri, β S-globin zincirlerindeki hidrofobik yapışkan noktalardan birbirine bağlanır ve tek polimer lifi oluşur. Polimerizasyon, liflerin yoğunlaşması (primer nükleasyon) ile başlar. Lifler büyüdükçe, yeni liflerin nükleasyonu (sekonder nükleasyon) için substrat görevi görürler. Sekonder nükleasyon ile, hücreyi klasik orak şekline dönüştüren liflerin büyümesi, dallanması ve hizalanması gerçekleşir(11).

Dolaşımdaki bir SS eritrositte polimer oluşumunun hızı ve kapsamı temel olarak; hücrenin deoksijenasyon derecesi, hücre içi HbS konsantrasyonu, hemoglobin F (HbF)'in varlığı veya yokluğu gibi üç bağımsız değişkene

bağlıdır. Polimerin uyumlu oluşumu için gereken zaman, gecikme süresi (Td-delay time) olarak adlandırılmıştır. Polimerlerin ilk oluşumu için gerekli olan süre, orak RBC'lerin mikrosirkülasyondaki geçiş süresine göre uzundur. Bu yüzden polimerler; arterioller ve kapillerlerden eritrositlerin geçişi boyunca hücrelerin çoğunda (yüzde 80'in üzerinde) oluşamaz (12). Venüllerde ise ortam hipoksik olduğu için polimer oluşum ihtimali daha yüksektir. HbS polimerlerinin oluşumu; RBC membranında; radikal şekil ve fonksiyon değişikliklerine, hücresel dehidrasyona, bozulmuş kan reolojisine, erken hemolize ve vazooklüzyona sebep olur (Şekil 1).

HbS polimerizasyonuna etki eden belli başlı faktörler aşağıda sıralanmış olup hastalığın klinik seyrini büyük ölçüde etkilerler;

HbF etkisi: HbF molekülü iki alfa(α) iki gama(γ) zincirinden oluşur ve seviyeleri gebeliğin ortalarında zirve yapar. Placentada O₂ basıncı (PO₂) daha düşüktür, fetüse O₂ çekebilmek için HbF'in O₂ afinitesi daha yüksektir. Sağlıklı bir bebek 6 aylık olduğunda, HbF toplam hemoglobinin %1'inden daha azını oluşturur, ancak OHA olan yetişkinlerin çoğunda bu seviyeler daha yüksektir. OHA'nın semptomları; HbF miktarının büyük bir kısmının, HbS ile yer değiştirdiği doğumdan birkaç ay sonrasına kadar ortaya çıkmaz.



Şekil.1. Deoksijene HbS polimerizasyonu ve oraklaşmış RBC Deoxygenated HbS polymerization and sickled RBC

Polimerleşme esnasında γ veya beta(β) ile α globinlerin oluşturduğu melez tetramerler, homotetramerlere nazaran birbirlerine ve fiber yapısına daha gevşek bağlanır. Çünkü γ alt biriminde 87. pozisyonadaki treonin, glutamin ile yer değiştirerek β alt birimindeki valin ile çok daha az elverişli moleküller arası temas noktası oluşturur(13). Bu mekanizma ile polimerleşme inhibe edilir ve klinik iyileşme görülür.

HbF, hastalığın tüm fenotiplerini aynı ölçüde iyileştirmez. HbF'nin OHA fenotipi üzerindeki etkisinin kritik belirleyicisi, her bir RBC içindeki düzeyidir(14) .

α -Talasemi Birlikteliği: α zincir yapım azlığı ile karakterize olan α -talasemi hastalığı, OHA ile birlikte kalıtlılabilir. İlk defa; bir ya da iki α globin gen delesyonuna sahip HbSS li bireylerin, bu delesyonu olmayan hasta bireylerden daha az anemik olduğu bildirilmiştir ve OHA'de en önemli genetik modifiye edicilerden birisinin α gen sayısı olduğu anlaşılmaya başlanmıştır(15).

Sitozolde az miktarda α zinciri bulunması nedeniyle, β S tetramerleri (dört α ve dört β -globin alt birimi tarafından oluşturulmuştur) çökelir ve proteolize olur. Bu nedenle hücre içindeki HbS molekül konsantrasyonu azalır. RBC içindeki HbS yoğunluğu oraklaşmanın temel belirleyicisidir. HbS yoğunluğun azalması oraklaşmayı azaltarak eritrositlerin hemolizini azaltır. α -talaseminin ve OHA' nin birlikte kalıtımında daha az hemoliz gerçekleştiği için, tek başına OHA' in kalıtımından daha yüksek hemoglobin seviyeleri görülür. Tersine, akut ağrılı ataklar gibi vazooklüzyon ile ilişkili bazı komplikasyonlar OHA ve α -talasemi birlikteliğinde daha yaygındır. α -talasemi, HbS polimerizasyonunu azaltıp RBC ömrünü uzatır bu durum dolaşımda HbS içeren RBC sayısını yükselterek kan viskozitesinin artmasına yol açar. Sonuç olarak hemoliz daha az, vazooklüzyon ile ilgili komplikasyonlar ise daha fazla görülür(16).

OHA'deki hematolojik ve laboratuvar değişikliklerine nazaran α -talaseminin eşlik ettiği hastalıkta; daha düşük MCV, MCH, artmış retikülosit sayısı, bilirubin ve LDH seviyeleri;

daha az irreversibl orak eritrosit (ISC) sayısı bildirilmiştir (17). Tekrarlayan ve uzamış oraklaşma, membranda ilerleyici olarak hasara yol açar (18). ISC, oraklaşmış RBC'nin oksijenasyona rağmen normal yapısına dönememiş formunu tanımlar(19).

Değişmiş HbS oksijen affinitesi: Hb S' nin, HbA'ya kıyasla O_2 afinitesi önemli ölçüde azalmıştır. HbS O_2 afinitesinin azalması, molekülün deoksijene formda kalmasını kolaylaştırdığı için HbS polimerizasyonunu şiddetlendirir. Polimerizasyonun artması ise HbS' nin O_2 afinitesinin daha da azalmasına sebep olur (20). HbS' in %50'sinin HbA ile yer değiştirmesi, polimerizasyonu yaklaşık 100 kat yavaşlatır(21).

Afinitenin azalması büyük ölçüde 2,3-difosfoglisarat (2,3-DPG) düzeylerine bağlıdır. 2,3-DPG, düşük pO_2 'da hemoglobinden O_2 salınımını teşvik ederek dokuların O_2 almasını sağlar. 2,3-DPG, deoksihemoglobinde β alt birimlerin arasındaki pozitif yüklü aminoasitlerin (2. histidin, 82. lizin, 143. histidin) oluşturduğu yarığa bağlanarak hemoglobinin O_2 'e ilgisini azaltır(22). Bu olay oraklaşmış RBC' lerde hem HbS'in çözünürlüğünü azaltır hem de oluşan fiberlerin stabilizasyonunu sağlar (23). OHA taşıyıcılarında (AS), kalıtsal piruvat kinaz eksikliği bildirilmiştir. Bu olgularda eritrosit 2,3-DPG'si belirgin artmış olup OHA' lı bireyler kadar şiddetli bir fenotipe sahip oldukları belirtilmiştir (24).

Membran biyolojisinin bozulması

Eritrositin oraklaşması; hücre membranında ve sitozolünde, fosfolipidlerin asimetrik dağılımında değişiklik, membran iskelet proteinleri ve integral membran proteinleri arasındaki etkileşimlerde zayıflama ve band 3'ün kümelenmesini içeren pek çok anormalliğe neden olur. Membran üzerindeki bu değişimler, hücre hidrasyonunu bozarak polimerizasyonun artmasına neden olur. Özellikle Ca^{++} (kalsiyum) ve K^+ (potasyum) homeostazının etkilenmesi ile eritrositin doğal şekli değişir. Bu değişim, orak eritrositin diğer kan hücreleri ve vasküler endotel ile gereksiz etkileşimlerinde önemli bir rol oynar. Sonuç olarak hemoglobin molekülünün moleküler yapısın-

daki değişim, eritrositin ömrünün kısılmasına, apoptozisinin artmasına ve hemolizine yol açar(19).

RBC membranı; Gardos kanalı, K^+/Cl^- kotransporter, band 3, $Na^+/K^+/2Cl^-$ kotransporter, Piezo 1(mekanosensitif iyon kanalı) gibi çok çeşitli iyon kanalları ile donatılmıştır. Her ne kadar bu kanalların birkaçının fizyolojik rolü belirsiz ve dinlenme halindeki hücrede inaktif olarak değerlendirilse de; deneysel olarak aktive edildiğinde, bu iyon kanalları hızlı dehidrasyon gibi tehlikeli durumlara yol açabilir(25).

Oraklaşmış eritrositler, aşırı dehidratasyon sonrasında hücre yoğunluk artışını ve katyon homeostazını sürdürme yeteneklerini kaybederler. RBC içinde Ca^{2+} konsantrasyonunun çok dar sınırlar içinde sabit tutulması fizyolojik açıdan çok önemlidir. RBC membranında bulunan birçok iyon kanalının işlevi bozulmuştur ve membran geçirgenliğinde artış meydana gelmiştir. P_{sickle} olarak tanımlanan deoksijenasyon kaynaklı ve seçici olmayan bu geçirgenlik, membrandaki kanalların aktif hale geldiği bir olaylar zincirini tetikler. Hücre dehidrasyonuna yol açar(26). Aşağıda bu geçirgenliğe sebep olan belli başlı yollar anlatılmıştır.

Gardos kanalı (KCCN4): Ca^{++} sensitif K^+ kanalıdır, sağlıklı eritrositlerde Gardos kanalı hücreden K^+ kaybını sağlar ve kolloid-ozmotik lizizi önler(27). İntrasellüler Ca^{++} seviyesi arttığında Gardos kanalı geçici bir biçimde aktive olarak K^+ ve Cl^- (klor) kaybına neden olur ve hücrenin büzülmesine yol açar. Buna Gardos etkisi adı verilir. HbS polimerleri membrana hasar verdikçe hücre içine Ca^{++} girişi artar (26). Membran hasarı; K^+ iyonları ve suyun, Gardos yolu ve K^+-Cl^- kotransportu tarafından hücre dışına hareketine neden olarak, eritrositlerin dehidratasyonuna yol açar. İntrasellüler Hb konsantrasyonu artar ve polimer oluşumu hızlanır. Hücre içinden K^+ ve onunla ilişkili su kaybı, ortalama RBC içi hemoglobin konsantrasyonunun (MHCH) ve internal viskozitenin artışı yoluyla RBC deformabilitesinde belirgin azalmaya sebep olarak RBC fragilitasını arttırır. Artmış hücre

içi Ca^{++} konsantrasyonu $Na^+-K^+-ATPaz$ pompasını da inhibe ederek Na^+ 'un hücre dışına çıkmasını ve K^+ 'un içeri girmesini engeller. İyonik denge iyice bozulur ve eritrositin oraklaşma olasılığında belirgin bir artış meydana gelir(28).

K^+/Cl^- kotransporter (KCC): 4 homolog polipeptitten oluşan gradyan sensitif katyon transport kanalıdır. Kanal, Cl^- , K^+ ve simport olarak da suyun hücre dışına çıkmasına neden olur ve RBC hacminin düzenlenmesinde rol oynar. Çeşitli dokularda bulunur, KCC1, KCC3 ve KCC4 izoformlarının eritrositlerde bulunduğu gösterilmiştir (29). Orak eritrositlerde K-Cl kotransport aktivitesinin artmasının birçok nedeni vardır. Yük değiştirmiş Hb varyantlarının RBC membranına bağlandığı ve bu yolağı etkilediği düşünülmektedir(30). Bu etkileşim KCC regülasyonunda bir kusur oluşturur ve kanalın inaktivasyonunun gecikmesine yol açar(31). N-etilmaleimid ve hidrojen peroksit gibi oksidatif ajanlarla kanalın aktivitesinin arttığı gösterilmiştir(32, 33).

Piezo 1 (mekanosensitif iyon kanalı): Mekanik uyarıları biyolojik sinyallere çevirirler. İnsanda iki türü bulunur. (Piezo 1 ve 2). Seçici olmayan katyonik (özellikle monovalan) iyon kanallarıdır(34). Dolaşımda karşılaşılan fiziksel güçlerin; RBC fizyolojisi üzerindeki etkilerinin çoğu belirsizliğini korumakla beraber, mekanosensitif iyon kanalı Piezo1' i aktive ederek hücre homeostazında önemli bir etkiye sahip olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda; Piezo1 kanalından hücre içine Ca^{2+} girişi, mekanik kuvvetler ve RBC hacmi arasında bir bağlantı olduğunu göstermiştir. Eritrositlerin mekanik kuvvetlere tepki olarak hacimlerini azaltma yetenekleri, kapillerlerden ve dalak sinüzoidlerinden geçme yeteneklerini artırabilir (35). HbS polimerizasyonunun yol açtığı; K^+ kaybı ve Na^+ 'un hücre içine girmesi ile sonuçlanan, membran geçirgenliğinden büyük olasılıkla Piezo 1 sorumludur (36).

Band 3: Normal şartlarda hemoglobinin demir (Fe) atomları ferröz (Fe^{2+}) formdadır. Fe atomu methemoglobin ve süperoksidin

(O²⁻) oluşumu sırasında ferik (Fe³⁺) forma okside olur. İçerdiği Fe atomları ferik formda olan methemoglobinin O₂ taşıma kabiliyeti yoktur. Methemoglobin yeniden hemoglobine indirgenmedikçe, okside olarak hemikromları ve daha sonra da Heinz cisimcikleri adı verilen denatüre hemoglobin agregatlarını oluşturur (37). HbS oksidasyonu ve polimerleri özellikle band 3(Cl⁻/HCO₃⁻ anion exchanger) proteininin amino terminaline bağlanma eğilimi gösterir(38). Band 3' te subnormal anyon transport aktivitesi görülür (hücreye H⁺ girişi). Yüzeyde band 3 kümelenmesi meydana gelir ve band 3 proteininin membran yüzeyindeki hareket kabiliyeti kısıtlanır(39). Band 3'ün kümelenmesi, oraklaşmış eritrositin ömrünün kısalmasına neden olabilen otolog anti-band 3 antikollarının bağlanmasını tetikler(40).

Membran hasarının ikinci kilit sonucu ise, RBC hücre membranının kimyasının değişimidir. HbS polimerizasyonu RBC membranının lipid çift tabakası ve proteinlerinde değişikliğe yol açar Lipid organizasyonunun karışıklığı, negatif yüklü fosfolipidlerin (PS)'in iç katmandaki normal lokalizasyonu yerine RBC yüzeyinde belirmesine neden olur. Membran yüzeyindeki değişiklikler makrofaj yapışmasını artırır. Bu değişiklikler hücresel hidrasyonunun azalmasına, hemolize ve anormal hücre-hücre etkileşimlerine sebep olur(41).

Membranda oluşan tüm değişiklikler mikropartiküller (MP) adı verilen tek lamelli veziküllerin oluşmasına yol açar. MP'lar içlerinde yüzey antijenleri, miRNA (mikro RNA) ve hem gibi yapıları bulundurup inflamatuvar süreçleri ve oksidatif stresi tetikler(42). miRNA' lar kodlanmamış genom bölümünden transkripte edilen fonksiyonel RNA'lardır. Bu miRNA'lar özellikle gelişim, farklılaşma ve hücre ölümünde önemli rol oynayan gen ekspresyonunun negatif regülatörleridir. Çalışmalar; miRNA'ların, nükleusları atılmadan önceki erken farklılaşma aşamalarında yer alan eritroblastlarda oluştuğu ve terminal farklılaşmadan sonra olgun RBC' de kalmaya devam edebileceğini göstermektedir. Olgun HbSS ve HbAA eritrositlerinin miRNA ifadeleri arasında anlamlı bir fark gözlenmiş ve miRNA

seviyelerinin eritroid farklılaşma üzerine etkili olduğu düşünülmüştür(43).

HbAS (taşıyıcı) genotipine sahip bireylerde *Plasmodium falciparum* parazitemisinin daha seyrek görüldüğü ve hasta bireylerin parazit ile enfekte olma frekansının çok daha düşük olduğu bildirilmiştir(44). HbS içeren eritrositlerin internal miRNA düzeylerinin malarya direncinde rol oynadığı gösterilmiştir. Hem HbAS hem de HbSS RBC' lerde spesifik miRNA birikiminin artması, *P. falciparum*'un büyümesini önemli ölçüde azaltmıştır. miR-451 parazit büyümesi için gerekli olan *P. falciparum* mRNA'larına kovalent bağlanmış ve translasyonunu baskılamıştır. Bu şekilde yüksek düzeyde antimalaryal etki göstermiştir(45).

RBC miRNA'ları ayrıca *P. falciparum* enfeksiyonu sırasında konakçı hücreler arası iletişimde önemli bir rol oynar. Enfekte RBC, kan dolaşımında fonksiyonel miRNA' ları taşıyan ekstrasellüler vezikül (EVs)'leri serbest bırakır. Bu EVs' ler endotelial hücreler tarafından hücre içine alınır. miRNA' lar, endotelial hücrelerinin bariyer özelliklerinin değişimi ile sonuçlanan gen ekspresyonunu etkiler. Ayrıca makrofajlar tarafından etkili bir şekilde internalize edilen EVs'lerin güçlü bir inflamatuvar yanıtı indükledikleri gösterilmiştir(46).

Hemoliz

Orak eritrositler oldukça kararsızdır ve yaşam süreleri ciddi oranda azalır. İntravasküler ve ekstravasküler hemoliz birçok patofizyolojik olayın başlangıcını oluşturur. Hemoliz, oksidatif stresin hem sebebi hem de sonucudur. Artmış plazma hem, serbest Fe ve hemoglobin düzeyleri; iskemi-reperfüzyon hasarına, antioksidanların azalmasına, hemikrom ve O₂ radikallerinin oluşmasına yol açar böylece oksidatif stres yaratır. Vazokonstriksiyon, plateletlerin (PLT), endotel hücrelerinin ve koagülasyon faktörlerinin aktivasyonu görülür. Hemikromlar ve Heinz cisimcikleri hücre membranına tutunarak ona zarar verebilirler. Hatta yeterli miktarda olduklarında eritrositin parçalanmasına neden olabilirler. Serbest hem ise, hemoglobinler arasındaki çekimi

indükleyerek polimer oluşumunu hızlandırır(47).

HbS rölatif olarak anstabil ve pro-oksidan karakterdedir(48). Hb S otooksidasyonu O_2 radikallerinin artışına sebep olur. İntravasküler hemoliz, NO metabolizmasına etkili iki faktörü (Arginaz 1 ve Asimetrik dimetil arginin) açığa çıkarır. NO, çeşitli biyolojik süreçlerde rol oynayan gaz halindeki bir sinyal molekülü ve efektördür. NO, bir NO sentaz (NOS) ailesi tarafından üretilir. NO' e ek olarak, NOS ayrıca süperoksit anyonu da üretir. Bu fenomen, NOS' in kenetlenmemesi (uncoupling) olarak adlandırılır, çünkü süperoksit oluşumu esas olarak NOS, kofaktörü veya substratı ile birleşmediğinde meydana gelir. Böylece NO üretimini engelleyen faktörler aynı zamanda O_2 radikallerinin oluşumuna aracılık eder(49). Arginaz 1, arginini ornitine dönüştürerek NO sentezini inhibe eder(50). Asimetrik dimetil arginin(ADMA) endojen bir NOS inhibitörüdür, eitrositlerde bol bulunur ve NO oluşumunu inhibe eder(51) (Şekil 2).

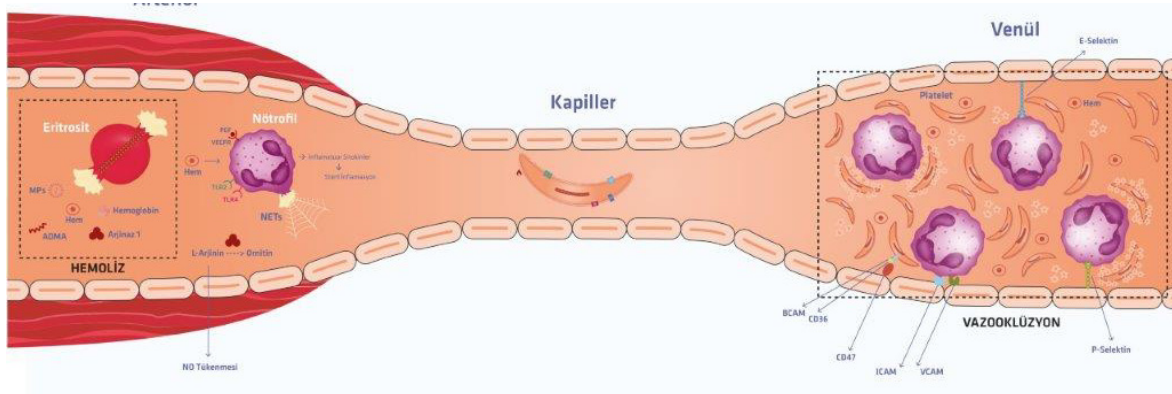
İmmün sistem aktivasyonu ve inflamasyon

Hemoliz sonucu hücre dışına çıkan hem ve Hb, doğal bağışıklık sistemini aktive eder (52). Hem, eritroblastlardan PGF (placenta growth factor) salınımını uyarır. PGF, nötrofil üzerindeki VEGFR (vascular endothelial growth

factor receptor) ile birleşerek endotelin 1 ve inflamatuvar sitokin salınımını uyarır ve vazokonstriksiyon oluşur. Hem, nötrofilleri aktive ederek NETs (nötrofil ekstrasellüler traps) oluşumunu indükler(53). Toll-like reseptör 4 ve 2 (TLR4, TLR2), OHA'lı bireylerde yüksek oranda eksprese edilir. Doku hasarı ve PLT aktivasyonu sonucu salınan ligandlar, bu reseptörleri uyararak sitokin salınımına ile NETs oluşumuna neden olur (Şekil 2). Bakteri hücre duvarında bulunan lipopolisakaritler de bu reseptörlere bağlandığı için enfeksiyonlar OHA'da vazoklüzif krizleri indükler (54).

Vazooklüzyon ve komponentleri

Vazooklüzyon patofizyolojisinde; RBC-endothel hücresi, lökosit-PLT etkileşimleri merkezi rol oynar. Endotel hücreleri muhtemelen; RBC, hem, Hb ve ROS (reaktif oksijen türleri)' un direkt teması sonucu aktive olur(55). RBC ve lökosit adezyonundan; ekspresyonu artmış adezyon molekülleri (VCAM-1, ICAM-1, P-Selektin, E-Selektin, CD-47, $\alpha V\beta 3$ vb.), PS ve heparin sülfat sorumludur. Endotel; inflamatuvar mediyatör üretir ve inflamatuvar sürecin önemli bir bileşenidir (56). Nötrofiller, aktive endotel tarafından üretilen selektinlere yapışarak RBC' leri bağlar ve vazooklüzyon patogenezinde önemli bir rol oynar (Şekil 2). PLT'ler; yüksek seviyelerde P-selektin ve $\alpha IIb\beta 3$ integrin eksprese ederek aktif durumda bulunurlar(57).



Şekil.2. OHA' nin patofizyolojisi Pathophysiology of SCA

Sonuç olarak; OHA tanımlanan ilk moleküler hastalık olmasına rağmen patofizyolojisinde etkin olan faktörler ve klinik çeşitliliğin anlaşılması çok yenidir. Genetik bilimi hakkında bilgilerimiz arttıkça, OHA'lı hastalar için umut verici gelişmeler yaşanmaktadır. Etkin tedavi yaklaşımları geliştirilmesi için hastalığın ardındaki moleküler mekanizmaların tam olarak aydınlatılması ve daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

Arama stratejisi ve seçim kriterleri:

Pubmed biyomedikal veritabanına; 1910' tan Kasım 2020' e kadar, "sickle cell anemia"

terimi ile "epidemiology", "pathophysiology", "HbS polymerization", "HbF", " α -talasemi", "oxygen affinity", "membrane biology", "Gardos", "KCC", "Piezo", "Band 3", "miRNA", "plasmodium", "hemolysis", "oxidative stress", "immune system activation", "vaso occlusion" terimleri sırasıyla ayrı biçimde yazılarak arama yapılmıştır. Çoğunlukla son 10 yıla ait yayınları seçilmiş, ancak yaygın olarak referans verilen ve önemli eski yayınlar hariç tutulmamıştır. Okuyuculara daha fazla ayrıntı ve referans sağlamak için derleme makaleleri ve kitaplardan alıntı yapılmıştır.

KAYNAKLAR

1. Collaborators GMAcOD. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *Lancet*. 2015;385(9963):117-71.
2. Rifai N, Horvath, A. R., & Wittwer, C. *Tietz textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics*. Sixth edition ed. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2018.
3. Sundt P, Gladwin MT, Novelli EM. Pathophysiology of Sickle Cell Disease. *Annu Rev Pathol*. 2019;14:263-92.
4. Herrick JB. Peculiar elongated and sickle-shaped red blood corpuscles in a case of severe anemia. 1910. *Yale J Biol Med*. 2001;74(3):179-84.
5. Piel FB, Patil AP, Howes RE, Nyangiri OA, Gething PW, Williams TN, et al. Global distribution of the sickle cell gene and geographical confirmation of the malaria hypothesis. *Nat Commun*. 2010;1:104.
6. Piel FB, Tatem AJ, Huang Z, Gupta S, Williams TN, Weatherall DJ. Global migration and the changing distribution of sickle haemoglobin: a quantitative study of temporal trends between 1960 and 2000. *Lancet Glob Health*. 2014;2(2):e80-9.
7. Piel FB, Patil AP, Howes RE, Nyangiri OA, Gething PW, Dewi M, et al. Global epidemiology of sickle haemoglobin in neonates: a contemporary geostatistical model-based map and population estimates. *Lancet*. 2013;381(9861):142-51.
8. Canatan D, Kose MR, Ustundag M, Haznedaroglu D, Ozbas S. Hemoglobinopathy control program in Turkey. *Community Genet*. 2006;9(2):124-6.
9. Quinn CT. Sickle cell disease in childhood: from newborn screening through transition to adult medical care. *Pediatr Clin North Am*. 2013;60(6):1363-81.
10. Rees DC, Williams TN, Gladwin MT. Sickle-cell disease. *Lancet*. 2010;376(9757):2018-31.
11. Galkin O, Vekilov PG. Mechanisms of homogeneous nucleation of polymers of sickle cell anemia hemoglobin in deoxy state. *J Mol Biol*. 2004;336(1):43-59.
12. Mozzarelli A, Hofrichter J, Eaton WA. Delay time of hemoglobin S polymerization prevents most cells from sickling in vivo. *Science*. 1987;237(4814):500-6.
13. Goldberg MA, Husson MA, Bunn HF. Participation of hemoglobins A and F in polymerization of sickle hemoglobin. *J Biol Chem*. 1977;252(10):3414-21.
14. Steinberg MH, Chui DH, Dover GJ, Sebastiani P, Alsultan A. Fetal hemoglobin in sickle cell anemia: a glass half full? *Blood*. 2014;123(4):481-5.
15. Embury SH, Dozy AM, Miller J, Davis JR, Kleman KM, Preisler H, et al. Concurrent sickle-cell anemia and alpha-thalassemia: effect on severity of anemia. *N Engl J Med*. 1982;306(5):270-4.
16. Embury SH, Clark MR, Monroy G, Mohandas N. Concurrent sickle cell anemia and alpha-thalassemia. Effect on pathological properties of sickle erythrocytes. *J Clin Invest*. 1984;73(1):116-23.
17. Steinberg MH, Embury SH. Alpha-thalassemia in blacks: genetic and clinical aspects and interactions with the sickle hemoglobin gene. *Blood*. 1986; 68(5): 985-90.
18. Smith CM, Krivit W, White JG. The irreversibly sickled cell. *Am J Pediatr Hematol Oncol*. 1982; 4(3):307-15.
19. Kuypers FA. Hemoglobin s polymerization and red cell membrane changes. *Hematol Oncol Clin North Am*. 2014;28(2):155-79.
20. Seakins M, Gibbs WN, Milner PF, Bertles JF. Erythrocyte Hb-S concentration. An important factor in the low oxygen affinity of blood in sickle cell anemia. *J Clin Invest*. 1973;52(2):422-32.
21. Rotter M, Yosmanovich D, Briehl RW, Kwong S, Ferrone FA. Nucleation of sickle hemoglobin mixed with hemoglobin A: experimental and theoretical studies of hybrid-forming mixtures. *Biophys J*. 2011;101(11):2790-7.

22. Bunn HF, Briehl RW. The interaction of 2,3-diphosphoglycerate with various human hemoglobins. *J Clin Invest.* 1970;49(6):1088-95.
23. Poillon WN, Kim BC. 2,3-Diphosphoglycerate and intracellular pH as interdependent determinants of the physiologic solubility of deoxyhemoglobin S. *Blood.* 1990;76(5):1028-36.
24. Alli N, Coetzee M, Louw V, van Rensburg B, Rossouw G, Thompson L, et al. Sick cell disease in a carrier with pyruvate kinase deficiency. *Hematology.* 2008;13(6):369-72.
25. Thomas SL, Bouyer G, Cuffe A, Egée S, Glogowska E, Ollivaux C. Ion channels in human red blood cell membrane: actors or relics? *Blood Cells Mol Dis.* 2011;46(4):261-5.
26. Lew VL, Hockaday A, Sepulveda MI, Somlyo AP, Somlyo AV, Ortiz OE, et al. Compartmentalization of sickle-cell calcium in endocytic inside-out vesicles. *Nature.* 1985;315(6020):586-9.
27. GARDOS G. The function of calcium in the potassium permeability of human erythrocytes. *Biochim Biophys Acta.* 1958;30(3):653-4.
28. Brugnara C. Sick cell dehydration: Pathophysiology and therapeutic applications. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2018;68(2-3):187-204.
29. Arroyo JP, Kahle KT, Gamba G. The SLC12 family of electroneutral cation-coupled chloride cotransporters. *Mol Aspects Med.* 2013;34(2-3):288-98.
30. Romero JR, Suzuka SM, Nagel RL, Fabry ME. Expression of HbC and HbS, but not HbA, results in activation of K-Cl cotransport activity in transgenic mouse red cells. *Blood.* 2004;103(6):2384-90.
31. Bize I, Taher S, Brugnara C. Regulation of K-Cl cotransport during reticulocyte maturation and erythrocyte aging in normal and sickle erythrocytes. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2003;285(1):C31-8.
32. Lauf PK. K⁺/Cl⁻ cotransport: sulfhydryls, divalent cations, and the mechanism of volume activation in a red cell. *J Membr Biol.* 1985;88(1):1-13.
33. Bize I, Dunham PB. H₂O₂ activates red blood cell K-Cl cotransport via stimulation of a phosphatase. *Am J Physiol.* 1995;269(4 Pt 1):C849-55.
34. Gnanasambandam R, Bae C, Gottlieb PA, Sachs F. Ionic Selectivity and Permeation Properties of Human PIEZO1 Channels. *PLoS One.* 2015;10(5):e0125503.
35. Cahalan SM, Lukacs V, Ranade SS, Chien S, Bandell M, Patapoutian A. Piezo1 links mechanical forces to red blood cell volume. *Elife.* 2015;4.
36. Ge J, Li W, Zhao Q, Li N, Chen M, Zhi P, et al. Architecture of the mammalian mechanosensitive Piezo1 channel. *Nature.* 2015;527(7576):64-9.
37. Liu SC, Yi SJ, Mehta JR, Nichols PE, Ballas SK, Yacono PW, et al. Red cell membrane remodeling in sickle cell anemia. Sequestration of membrane lipids and proteins in Heinz bodies. *J Clin Invest.* 1996;97(1):29-36.
38. Walder JA, Chatterjee R, Steck TL, Low PS, Musso GF, Kaiser ET, et al. The interaction of hemoglobin with the cytoplasmic domain of band 3 of the human erythrocyte membrane. *J Biol Chem.* 1984;259(16):10238-46.
39. Spector J, Kodippili GC, Ritchie K, Low PS. Single Molecule Studies of the Diffusion of Band 3 in Sick Cell Erythrocytes. *PLoS One.* 2016; 11(9):e0162514.
40. Arese P, Turrini F, Schwarzer E. Band 3/complement-mediated recognition and removal of normally senescent and pathological human erythrocytes. *Cell Physiol Biochem.* 2005;16(4-6):133-46.
41. Mankel TJ, Griffiths RE, Trompeter S, Flatt JF, Cogan NM, Massey EJ, et al. Autophagic vesicles on mature human reticulocytes explain phosphatidylserine-positive red cells in sickle cell disease. *Blood.* 2015;126(15):1831-4.
42. Camus SM, De Moraes JA, Bonnin P, Abbyad P, Le Jeune S, Lionnet F, et al. Circulating cell membrane microparticles transfer heme to endothelial cells and trigger vasoocclusions in sickle cell disease. *Blood.* 2015;125(24):3805-14.
43. Chen SY, Wang Y, Telen MJ, Chi JT. The genomic analysis of erythrocyte microRNA expression in sickle cell diseases. *PLoS One.* 2008;3(6):e2360.
44. ALLISON AC. Protection afforded by sickle-cell trait against subtertian malarial infection. *Br Med J.* 1954;1(4857):290-4.
45. LaMonte G, Philip N, Reardon J, Lacsina JR, Majoros W, Chapman L, et al. Translocation of sickle cell erythrocyte microRNAs into *Plasmodium falciparum* inhibits parasite translation and contributes to malaria resistance. *Cell Host Microbe.* 2012; 12(2):187-99.
46. Mantel PY, Hjeltnqvist D, Walch M, Kharoubi-Hess S, Nilsson S, Ravel D, et al. Infected erythrocyte-derived extracellular vesicles alter vascular function via regulatory Ago2-miRNA complexes in malaria. *Nat Commun.* 2016;7:12727.
47. Pan W, Uzunova VV, Vekilov PG. Free heme in micromolar amounts enhances the attraction between sickle cell hemoglobin molecules. *Biopolymers.* 2009;91(12):1108-16.
48. Hebbel RP. The sickle erythrocyte in double jeopardy: autoxidation and iron decompartmentalization. *Semin Hematol.* 1990; 27(1): 51-69.
49. Luo S, Lei H, Qin H, Xia Y. Molecular mechanisms of endothelial NO synthase uncoupling. *Curr Pharm Des.* 2014;20(22):3548-53.
50. Morris CR, Kato GJ, Poljakovic M, Wang X, Blackwelder WC, Sachdev V, et al. Dysregulated arginine metabolism, hemolysis-associated pulmonary hypertension, and mortality in sickle cell disease. *JAMA.* 2005;294(1):81-90.
51. Landburg PP, Teerlink T, Biemond BJ, Brandjes DP, Muskiet FA, Duits AJ, et al. Plasma asymmetric dimethylarginine concentrations in sickle cell disease are related to the hemolytic phenotype. *Blood Cells Mol Dis.* 2010;44(4):229-32.

52. Kato GJ, Steinberg MH, Gladwin MT. Intravascular hemolysis and the pathophysiology of sickle cell disease. *J Clin Invest.* 2017;127(3):750-60.
53. Gladwin MT, Ofori-Acquah SF. Erythroid DAMPs drive inflammation in SCD. *Blood.* 2014;123(24):3689-90.
54. van Beers EJ, Yang Y, Raghavachari N, Tian X, Allen DT, Nichols JS, et al. Iron, inflammation, and early death in adults with sickle cell disease. *Circ Res.* 2015;116(2):298-306.
55. Hebbel RP. Adhesive interactions of sickle erythrocytes with endothelium. *J Clin Invest.* 1997;100(11 Suppl):S83-6.
56. Wagner MC, Eckman JR, Wick TM. Sickle cell adhesion depends on hemodynamics and endothelial activation. *J Lab Clin Med.* 2004;144(5):260-7; discussion 27-8.
57. Zhang D, Xu C, Manwani D, Frenette PS. Neutrophils, platelets, and inflammatory pathways at the nexus of sickle cell disease pathophysiology. *Blood.* 2016;127(7):801-9.