

**T.C.**  
**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**BETA TALASEMİ OLGULARINDA HEPİDİN VE  
ERİTROFERRON DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ**

Zeynep ÖZTÜRK

DOKTORA TEZİ

2018-ANTALYA

**T.C.**  
**AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**  
**TIBBİ BİYOKİMYA ANABİLİM DALI**

**BETA TALASEMİ OLGULARINDA HEPsİDİN VE  
ERİTROFERRON DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ**

Zeynep ÖZTÜRK

DOKTORA TEZİ

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Saadet GÜMÜŞLÜ**

Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından TDK-2016-1600 proje numarası ile desteklenmiştir.

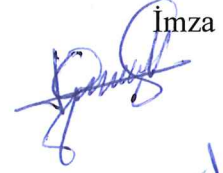
“Kaynakça gösterilerek tezinden yararlanılabilir”

2018-ANTALYA

**Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne;**

Bu çalışma jürimiz tarafından Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Tıbbi Biyokimya Programında doktora tezi olarak kabul edilmiştir. 16/11/2018

Tez Danışmanı : Prof. Dr. Saadet GÜMÜŞLÜ  
Akdeniz Üniversitesi

İmza  


Üye : Prof. Dr. S. Gültekin YÜCEL  
Akdeniz Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. M. Koray GÜMÜŞTAŞ  
İstanbul Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. Abdullah TULİ  
Çukurova Üniversitesi



Üye : Prof. Dr. O. Alphan KÜPESİZ  
Akdeniz Üniversitesi



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

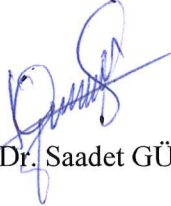
Prof. Dr. Narin DERİN  
Enstitü Müdürü

## ETİK BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı beyan ederim.



Zeynep ÖZTÜRK



Prof. Dr. Saadet GÜMÜŞLÜ

## TEŐEKKÜR

Bu araştırmanın planlanması, yürütülmesi ve sonuçlandırılmasında çok önemli katkıları olan, eğitimim süresince bana her aşamada destek sağlayan, kıymetli bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösterici olan akademik danışmanım sayın Prof. Dr. Saadet GÜMÜŞLÜ'ye,

Tez çalışmalarım sırasında yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen başta Pediatrik Hematoloji Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Alphan KÜPESİZ olmak üzere, Uzm. Dr. Koray YALÇIN, Uzm. Biyolog Aysun Yaşar ÇAY, yüksek lisans öğrencileri Günel TALİBOVA ve Demet TEKELİ, sekreterimiz Sunay IRMAK GÖRCEĞİZ ve diğer tüm Pediatrik Hematoloji-Onkoloji ekibine,

Doktora eğitimim boyunca yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü çalışanlarına,

Çalışmalarım sırasında desteklerini ve fedakarlıklarını hep hissettiğim eşim Doç. Dr. Saffet ÖZTÜRK ve kızlarım Nehir ve Ela'ya

en içten teşekkürlerimi sunarım.

**Zeynep Öztürk**

## ÖZET

**Amaç:** Eritropoez ve demir metabolizması arasındaki ilişkiyi aydınlatmak için hepsidin regülasyonunda rol oynayan eritroid etmenlerle ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Bu etmenlerden biri olan eritroferron (ERFE), glikoprotein yapısında olup eritroblastlardan salınır. Bu çalışmanın amacı, talasemi major (TM), talasemi intermedia (TI) ve talasemi taşıyıcısı (TT) olan bireylerde ERFE, hepsidin, GDF15 ve eritropoetin (EPO) düzeylerini ölçmek ve farklı talasemi gruplarında ERFE'nin, eritropoez ve demir metabolizmasındaki rolünü değerlendirmektir.

**Yöntem:** Bu çalışmaya 80 birey (20 kontrol, 20 TT, 20 TI ve 20 TM) dahil edildi. Bireylerin ERFE, hepsidin ve GDF15 konsantrasyonları sandwich ELISA yöntemi ile ölçüldü. Eritropoetin immunoassay metodu ile ölçüldü. Ferritin kemilüminesans yöntemiyle ölçüldü. Transferrin nefelometrik ve demir spektrofotometrik olarak ölçüldü.

**Bulgular:** Talasemi intermedia grubunda ERFE konsantrasyonu ve EPO aktivitesi, TM, TT ve kontrol gruplarının düzeylerinden daha yüksek bulundu. Talasemi major ve TI hastalarının hepsidin konsantrasyonları, TT ve kontrol gruplarındaki bireylerin hepsidin konsantrasyonlarına göre daha yüksek bulundu. Ancak, TM grubunun hepsidin/ferritin oranı, TI, TT ve kontrol gruplarının oranlarından daha düşük bulundu. Talasemi major ve TI gruplarının GDF15 konsantrasyonları, TT ve kontrol gruplarının GDF15 konsantrasyonlarından daha yüksek bulundu. Tüm bireylerin EPO ve ERFE, EPO ve GDF15, hepsidin ve GDF15 değerleri arasında pozitif korelasyon bulundu. Hepsidin ve ERFE konsantrasyonları arasında herhangi bir korelasyon bulunamadı.

**Sonuç:** Bu çalışma, talasemi hastalarında hepsidin, GDF15 ve ERFE'nin birlikte ölçüldüğü ilk araştırmadır. Talasemi intermedia hastalarında ERFE ve EPO düzeylerinin yüksek olduğu ve tüm bireylerde EPO arttıkça ERFE'nin de arttığı bulundu. Talasemilerde eritropoetik aktivitenin gösterilmesi için kullanılacak parametrelerden birisinin ERFE olabileceğini düşünmekteyiz. ERFE'nin demir metabolizmasındaki rolünün aydınlatılabilmesi için daha detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir

**Anahtar Kelimeler:** eritroferron, hepsidin, GDF15, demir, talasemi

## ABSTRACT

**Objective:** To clarify the relationship between erythropoiesis and iron metabolism, studies on erythroid factors that play role in the regulation of hepcidin have being studied. One of these factors is erythroferrone (ERFE) in glycoprotein structure is released from erythroblasts. The aim of this study is to measure levels of ERFE, hepcidin, GDF15 and erythropoietin (EPO) in individuals with thalassemia major (TM), thalassemia intermedia (TI) and thalassemia traits (TT) and to evaluate the role of ERFE in erythropoiesis and iron metabolism in different thalassemia groups.

**Method:** 80 subjects (20 controls, 20 TT, 20 TI and 20 TM) were included in this study. ERFE, hepcidin and GDF15 concentrations were measured by sandwich ELISA method. Erythropoietin was measured by immunoassay method. Ferritin was measured by the chemiluminescence method. Transferrin was measured nephelometrically and iron spectrophotometrically.

**Results:** In the TI group ERFE concentration and EPO activity were higher than the levels of TM, TT and control groups. Hepcidin concentrations of the patients with TM and TI were higher than the hepcidin concentrations of individuals in TT and control groups. However, the hepcidin / ferritin ratio of TM group was lower than the ratio of TI, TT and control groups. The GDF15 concentrations of TM and TI groups were higher than those of TT and control groups. There was a positive correlation between EPO and ERFE, EPO and GDF15, hepcidin and GDF15 in all subjects. No correlation was found between hepcidin and ERFE concentrations.

**Conclusions:** This is the first study in which hepcidin, GDF15 and ERFE were measured at the same time in thalassemia patients. ERFE and EPO levels were found to be higher in the TI patients and ERFE was found to be increased in all individuals as EPO increased. We think that one of the parameters used for the demonstration of erythropoietic activity in the thalassemia may be ERFE. More detailed studies are needed to clarify the role of ERFE in iron metabolism.

**Key words:** erythroferrone, hepcidin, GDF15, iron, thalassemia

# İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b>	i
<b>ABSTRACT</b>	ii
<b>İÇİNDEKİLER</b>	iii
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>	v
<b>TABLolar DİZİNİ</b>	ix
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR</b>	x
<b>1. GİRİŞ</b>	1
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	3
2.1. Hemoglobin	3
2.2. Talasemi	4
2.2.1. Talaseminin Tanımı ve Epidomiyolojisi	4
2.2.2. Alfa Talasemi	5
2.2.3. Beta Talasemi	6
2.3. Demir Metabolizması	10
2.3.1. Vücuttaki Demir Dağılımı	10
2.3.2. Diyet Demirinin Emilimi	11
2.3.3. Demirin Taşınması	12
2.3.4. Hücresel Demir Metabolizmasının Düzenlenmesi	12
2.3.5. Hepsidin	13
2.4. Demir ve Eritropoez	15
2.4.1. Büyüme Farklılaşma Faktörü-15 (GDF15)	16
2.4.2. Eritroferron (ERFE)	17
2.5. Talasemilerde Demir Metabolizması	17
<b>3. GEREÇ ve YÖNTEM</b>	21
3.1. Olgular	21
3.2. Örneklerin Hazırlanması	22
3.3. Biyokimyasal Değişkenlerin Ölçümü	22



3.3.1. Eritroferron (ERFE) Ölçümü	23
3.3.2. Hepsidin Ölçümü	25
3.3.3. Büyüme Farklılaşma Faktörü-15 (GDF15) Ölçümü	27
3.3.4. Diğer Laboratuvar Tetkikleri	29
3.4. İstatistik	30
<b>4. BULGULAR</b>	<b>31</b>
4.1. Demir Parametreleri	33
4.1.1. Ferritin Konsantrasyonları	33
4.1.2. Demir Konsantrasyonları	33
4.1.3. Transferrin Konsantrasyonları	34
4.1.4. Total Demir Bağlama Kapasiteleri	36
4.2. Eritropoetin, Eritroferron, Hepsidin ve Büyüme Farklılaşma Faktörü-15 Düzeyleri	36
4.2.1. Eritropoetin (EPO) Aktiviteleri	38
4.2.2. Eritroferron (ERFE) Konsantrasyonları	38
4.2.3. Hepsidin Konsantrasyonları	39
4.2.4. Büyüme Farklılaşma Faktörü-15 (GDF15) Konsantrasyonları	41
4.3. Korelasyonlar	41
4.3.1. Tüm Gruplardaki Bireylerde Görülen Korelasyonlar	41
4.3.2. Kontrol Grubundaki Bireylerde Görülen Korelasyonlar	49
4.3.3. Talasemi Taşıyıcısı Grubundaki Bireylerde Görülen Korelasyonlar	49
4.3.4. Talasemi İntermedia Grubundaki Bireylerde Görülen Korelasyonlar	50
4.3.5. Talasemi Major Grubundaki Bireylerde Görülen Korelasyonlar	51
<b>5. TARTIŞMA</b>	<b>54</b>
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	<b>66</b>
<b>KAYNAKLAR</b>	<b>71</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>81</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<b>Şekil 2.1.</b>	Hemoglobin yapısı.	3
<b>Şekil 2.2.</b>	Intrauterin ve bebeklik dönemlerinde farklı globin zincirlerinin sentezlenme bölgeleri ve oranları.	4
<b>Şekil 2.3.</b>	Beta talaseminin patofizyolojisi.	7
<b>Şekil 2.4.</b>	Besinsel demirin Emilimi.	12
<b>Şekil 2.5.</b>	Hepsidin ve demir dengesi.	15
<b>Şekil 2.6.</b>	Demir birikimine bağlı organ hasarı.	19
<b>Şekil 2.7.</b>	Beta talasemi hastalığında olası demir disregülasyon mekanizması.	20
<b>Şekil 3.1.</b>	Eritroferron standart grafiği.	24
<b>Şekil 3.2.</b>	Hepsidin standart grafiği.	27
<b>Şekil 3.3.</b>	Büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) standart grafiği.	29
<b>Şekil 4.1.</b>	Kontrol ve talasemi gruplarının (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) ferritin konsantrasyonları.	33
<b>Şekil 4.2.</b>	Kontrol ve talasemi gruplarının (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) demir konsantrasyonları.	34
<b>Şekil 4.3.</b>	Kontrol ve talasemi gruplarının (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) transferrin konsantrasyonları.	35
<b>Şekil 4.4.</b>	Kontrol ve talasemi gruplarının (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) total demir bağlama kapasiteleri.	36
<b>Şekil 4.5.</b>	Kontrol ve talasemi gruplarının (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) eritropoetin aktivitelerinin kutu grafiği	

- ile gösterilmesi. 38
- Şekil 4.6.** Kontrol ve talasemi gruplarının (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) eritroferron konsantrasyonlarının kutu grafiği ile gösterilmesi. 39
- Şekil 4.7.** Kontrol ve talasemi gruplarının (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) hepsidin konsantrasyonlarının kutu grafiği ile gösterilmesi. 40
- Şekil 4.8.** Kontrol ve talasemi gruplarının (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) ((hepsidin/ferritin)x1000) oranlarının kutu grafiği ile gösterilmesi. 40
- Şekil 4.9.** Kontrol ve talasemi gruplarının (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) konsantrasyonlarının kutu grafiği ile gösterilmesi. 41
- Şekil 4.10.** Tüm gruptaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) hemoglobin konsantrasyonları ve eritropoetin aktiviteleri arasındaki korelasyon. 45
- Şekil 4.11.** Tüm gruptaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) demir ve ferritin konsantrasyonları arasındaki korelasyon. 43
- Şekil 4.12.** Tüm gruptaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) demir konsantrasyonları ve eritropoetin aktiviteleri arasındaki korelasyon. 44
- Şekil 4.13.** Tüm gruptaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) demir ve hepsidin konsantrasyonları arasındaki korelasyon. 44

- Şekil 4.14.** Tüm gruplardaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) demir ve büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) konsantrasyonları arasındaki korelasyon. 45
- Şekil 4.15.** Tüm gruplardaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) ferritin konsantrasyonları ve eritropoetin aktiviteleri arasındaki korelasyon. 45
- Şekil 4.16.** Tüm gruplardaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) ferritin ve hepsidin konsantrasyonları arasındaki korelasyon. 46
- Şekil 4.17.** Tüm gruplardaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) ferritin ve büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) konsantrasyonları arasındaki korelasyon. 46
- Şekil 4.18.** Tüm gruplardaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) eritropoetin aktiviteleri ve eritroferon konsantrasyonları arasındaki korelasyon. 47
- Şekil 4.19.** Tüm gruplardaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) eritropoetin aktiviteleri ve büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) konsantrasyonları arasındaki korelasyon. 47
- Şekil 4.20** Tüm gruplardaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) eritroferon ve büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) konsantrasyonları arasındaki korelasyon. 48
- Şekil 4.21.** Tüm gruplardaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) hepsidin ve büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) konsantrasyonları arasındaki korelasyon. 48
- Şekil 4.22.** Kontrol grubundaki bireylerin hemoglobin ve ferritin

	konsantrasyonları arasındaki korelasyon.	49
<b>Şekil 4.23.</b>	Talasemi taşıyıcısı bireylerin eritropoetin aktiviteleri ve büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) konsantrasyonları arasındaki korelasyon.	50
<b>Şekil 4.24.</b>	Talasemi intermedia hastalarının yaşları ve ferritin konsantrasyonları arasındaki korelasyon.	51
<b>Şekil 4.25.</b>	Talasemi major hastalarının hemoglobin konsantrasyonları ve eritropoetin aktiviteleri arasındaki korelasyon.	52
<b>Şekil 4.26.</b>	Talasemi major hastalarının ferritin ve eritroferon konsantrasyonları arasındaki korelasyon.	52
<b>Şekil 4.27.</b>	Talasemi major hastalarının eritropoetin aktiviteleri ve büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) konsantrasyonları arasındaki korelasyon.	53

## TABLÖLAR DİZİNİ

<b>Tablo 2.1</b>	Beta-talasemilerde klinik ve laboratuvar bulgular.	8
<b>Tablo 4.1.</b>	Kontrol ve talasemi gruplarındaki bireylerin (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) klinik özellikleri ve laboratuvar bulguları.	32
<b>Tablo 4.2.</b>	Kontrol ve talasemi gruplarındaki bireylerin (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) demir ve ilişkili biyokimyasal parametreleri	37

## SİMGELER ve KISALTMALAR

<b><math>\alpha</math></b>	Alfa
<b><math>\beta</math></b>	Beta
<b><math>\delta</math></b>	Delta
<b><math>\gamma</math></b>	Gama
<b>ALT</b>	Alanin aminotransferaz
<b>AST</b>	Aspartat aminotransferaz
<b>EDTA</b>	Etilendiamintetraasetik asit
<b>ELISA</b>	Enzim bağlantılı immün test (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay)
<b>EPO</b>	Eritropoetin
<b>ERFE</b>	Eritroferron
<b>Fe<sup>+2</sup></b>	Ferröz demir
<b>Fe<sup>+3</sup></b>	Ferrik demir
<b>GDF15</b>	Büyüme farklılaşma faktörü-15 (growth differentiation factor 15)
<b>Hb</b>	Hemoglobin
<b>HRP</b>	Horseradish peroksidaz
<b>hs-CRP</b>	Yüksek sensitif C-reaktif protein
<b>IRE</b>	Demir duyarlı element (iron responsive element)
<b>IRP</b>	Demir düzenleyici protein (iron regulatory protein)
<b>MCV</b>	Ortalama eritrosit hacmi
<b>MRI</b>	Manyetik Rezonans Görüntüleme
<b>SBAUM</b>	Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi
<b>SEM</b>	Standart hata (Standart error of mean)
<b>TDBK</b>	Total demir bağlama kapasitesi
<b>TI</b>	Talasemi intermedia
<b>TM</b>	Talasemi major
<b>TMB</b>	3,3',5,5'-tetrametilbenzidin
<b>TT</b>	Talasemi taşıyıcısı
<b>TWSG1</b>	Twisted gastrulasyon proteini homolog 1

## 1. GİRİŞ

Beta talasemi sendromları, beta-globin zincirinin sentezinin genetik olarak eksik ya da hiç üretilmemesi ile karakterize kalıtsal kan hastalıklarıdır. Beta-talasemi genel olarak talasemi taşıyıcısı (TT), talasemi intermedia (TI) ve talasemi major (TM) olarak üç gruba ayrılır. Talasemi taşıyıcıları klinik olarak asemptomatiktirler. Talasemi intermedia hastalarında klinik çok heterojendir ve genellikle transfüzyona ihtiyaç duymazlar. Talasemi major hastaları yaşamlarını devam ettirebilmek için düzenli olarak kan transfüzyonuna ihtiyaç duyarlar. İnefektif eritropoez, TI hastalarında TM hastalarına göre daha fazladır. Bunun nedeni, TI hastalarının düzenli kan transfüzyonu almamalarıdır. Talasemi intermedia hastalarında inefektif eritropoezin artması sonucu oluşan demir ihtiyacını karşılamak için, gastrointestinal sistemden demir emilimi artar. Transfüzyonla alınan ve/veya gastrointestinal sistemden emilen fazla demir, doku ve organ hasarına yol açar. Bu nedenle, eritropoez ile demir metabolizması arasındaki ilişkiyi araştırmak için yapılan çalışmalar, talasemi hastaları için büyük önem taşımaktadır.

Hepsidin, demir metabolizmasının ana düzenleyicisi olarak kabul edilmektedir. Hepsidin duodenumdan besinlerden demir emilimini, dolaşımdaki makrofajlardan demir salınımını ve heptositler içindeki demir stoklarından demir taşınmasını kontrol ederek demir dengesini sağlar (Ganz ve Nemeth, 2012). Eritropoezin hepsidin üzerinde baskılayıcı etkisi olduğu gösterilmiştir (Rishi ve ark., 2015). Ancak, eritropoezin hepsidini hangi eritroid etmenleri kullanarak hangi mekanizmalarla düzenlediği tam olarak bilinmemektedir. Bu konuda yapılan çalışmalar halen devam etmektedir. İlk olarak büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) ve Twisted gastrulasyon proteini homolog 1 (TWSG1), hepsidini düzenleyen eritroid etmenler olarak tanımlanmışlardır (Tanno ve ark., 2007; Tanno ve ark., 2009). Son yıllarda eritroferon (ERFE)'nin hepsidini baskılayan bir eritroid etmen olabileceği ileri sürülmüştür (Kautz ve ark., 2015).

Eritroferon, eritroblastlardan salınan glikoprotein yapısında bir hormondur. Eritropoetin verilen farelerin dalak ve kemik iliklerinde ERFE mRNA ekspresyonunun arttığı ve



hepsidinin baskılandığı gösterilmiştir ( Kautz ve ark., 2014b; Kautz ve ark., 2015). Talasemi intermedia farelerde ERFE'nin uzaklaştırılmasıyla hepsidinin normal düzeylere ulaştığı, transfüzyon sonrası ERFE'nin azaldığı ve hepsidin ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (Kautz ve ark., 2015). İnsanlarda yapılan ERFE çalışmaları çok yeni ve çok az sayıdadır. Talasemi intermedia ve kan donorlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada, ERFE ile EPO ve hepsidin arasında korelasyon olmadığı gösterilmiştir (Schotten ve ark., 2017). Bir başka çalışmada, ERFE ve hepsidin konsantrasyonları arasında negatif korelasyon gösterilmiştir (Ganz ve ark., 2017). Aynı çalışmada, TI hastalarının ERFE konsantrasyonlarının TM hastalarının ERFE konsantrasyonlarından daha yüksek olduğu ve TM hastalarında transfüzyon nedeniyle ERFE konsantrasyonlarının düştüğü gösterilmiştir (Ganz ve ark., 2017).

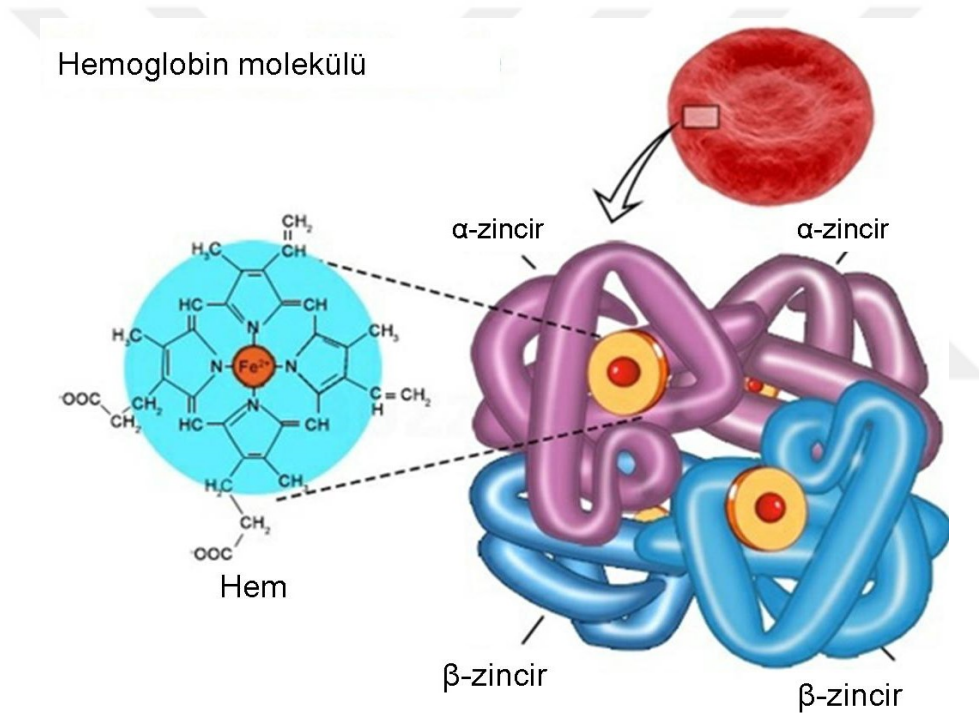
Bu çalışmada ilk kez talasemi hastalarında hepsidin, GDF15 ve ERFE konsantrasyonları birlikte ölçülmüştür. ERFE'nin demir metabolizmasındaki rolünün değerlendirilmesi için demir parametreleri de ölçülmüştür. Ayrıca, talasemi taşıyıcısı bireylerin ERFE konsantrasyonlarının ölçüldüğü bir başka çalışmaya da rastlanılamamıştır. Bu nedenle, bu çalışma orijinal bir çalışma olma özelliğini taşımaktadır.

Bu çalışmanın amacı, talasemi major, talasemi intermedia ve talasemi taşıyıcısı bireylerde eritroferon düzeylerini ölçmek ve farklı talasemi gruplarında ERFE'nin, eritropoez ve demir metabolizmasındaki rolünü değerlendirmektir. Bu araştırmanın sonuçlarına göre, talasemi intermedia hastalarının ERFE konsantrasyonları ve EPO aktiviteleri, TM, TT ve kontrol gruplarının konsantrasyonlarınsan daha yüksek bulundu. Talasemi major ve TI hastalarının hepsidin konsantrasyonları, TT ve kontrol gruplarındaki bireylerin hepsidin konsantrasyonlarına göre daha yüksek bulundu. Ancak, TM grubunun hepsidin/ferritin oranı, TI, TT ve kontrol gruplarının oranlarından daha düşük bulundu. Eritropoetin ve ERFE, ERFE ve GDF15 arasında pozitif korelasyon bulundu. Eritroferon ve hepsidin konsantrasyonları arasında herhangi bir korelasyon bulunamadı. Sonuç olarak, ERFE'nin talasemilerde eritropoetik aktivitenin gösterilmesinde kullanılan parametrelerden birisi olabileceği, fakat ERFE'nin demir metabolizmasındaki rolünün aydınlatılabilmesi için daha detaylı çalışmaların yapılmasının gerekli olduğu söylenebilir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1.Hemoglobin

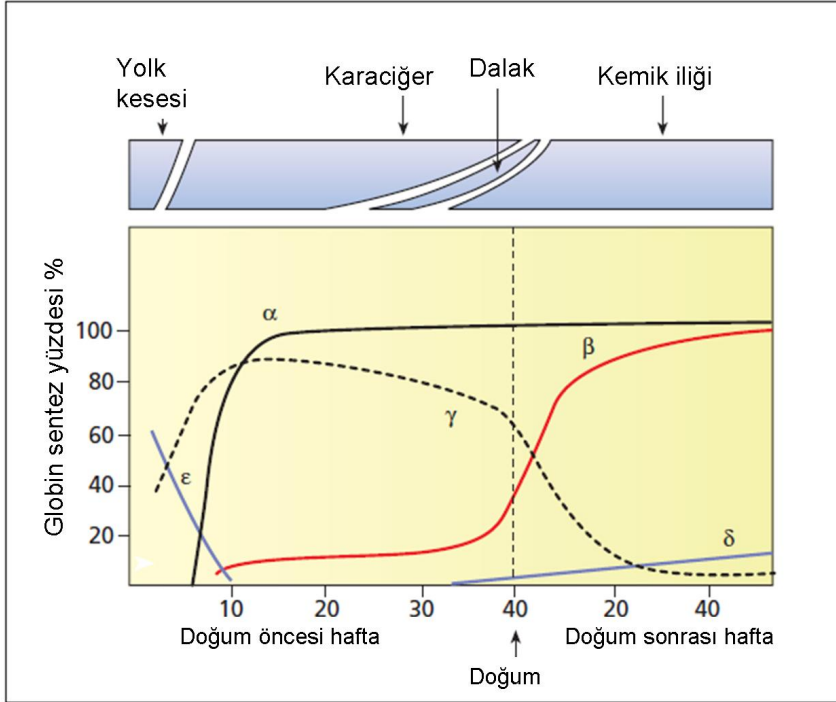
Hemoglobin (Hb) eritrositler içinde bulunan ve dokulara oksijen taşıyan bir proteindir. Hemoglobin "globin" adı verilen protein kısmı ve "hem" adı verilen prostetik gruptan oluşan konjuge bir proteindir. Hemoglobin molekülünün globin kısmında dört polipeptid zincir bulunur ve bu polipeptidlerin her birine bir hem grubu bağlanır (Şekil 2.1) (Huisman, 1993).



Şekil 2.1. Hemoglobin yapısı (Hamidreza Shirzadfar, 2018).

Hem grubu demir ( $Fe^{+2}$ ) ve protoporfirinden (birbirine metil köprüleriyle bağlanmış dört pirol halkasından oluşan kompleks) oluşur ve tüm Hb tiplerinde aynıdır. Ancak, hemoglobinlerdeki globin zincirleri, aminoasit sayısı ve dizimleri yönünden farklılık gösterebilir. Alfa benzeri zincirler (zeta [ $\zeta$ ], alfa [ $\alpha$ ]) 16. kromozomda ve beta ( $\beta$ ) globin benzeri zincirler (epsilon [ $\epsilon$ ], beta [ $\beta$ ], delta [ $\delta$ ] ve gama [ $\gamma$ ]) ise 11. kromozomda kodlanırlar. Alfa ve  $\beta$  zincirleri sırasıyla 141 ve 146 aminoasit rezidülerinden oluşur. Beta globin zinciri  $\delta$  ve  $\gamma$  zincirlerinden sırasıyla 39 ve 10 rezidu ile farklılık gösterir. Oluşan farklı globin zincirleri ile farklı Hb tipleri oluşur. Embriyonik globin sentezi yolk

kesesinde gebeliğin üçüncü haftasından sekizinci haftasına kadar olan bölümde gerçekleşir. Beşinci haftada eritropoez fetal karaciğerde devam eder. Eritropoezin karaciğerde başlamasıyla fetal eritrositler oluşmaktadır. Gebeliğin onsekizinci haftasından sonra eritrosit yapımı kemik iliğine geçmektedir. Embriyonik, fetal ve erişkin dönemdeki globin sentezi Şekil 2.2’de gösterilmiştir. Erken embriyonik dönemde Hb Gower1 ( $\zeta_2\varepsilon_2$ ), Hb Gower2 ( $\alpha_2\varepsilon_2$ ) ve Hb Portland ( $\zeta_2\gamma_2$ ) hemoglobinleri sentezlenmektedir. 14. haftadan sonra bu embriyonik Hb’lerin yerini fetal hemoglobin (Hb F, ( $\alpha_2\gamma_2$ )) almaya başlar. Gestasyonun yaklaşık 38. haftasında Hb F yapımından erişkin hemoglobin (HbA) yapımına geçiş olur. Sağlıklı bir yetişkinde Hb’in %95’i Hb A ( $\alpha_2\beta_2$ ), <math>\leq 3,5</math> Hb A<sub>2</sub> ( $\alpha_2\delta_2$ ) ve <math>\leq 2</math> Hb F dir (Hoffman, 2000).



**Şekil 2.2.** İntrauterin ve bebeklik dönemlerinde farklı globin zincirlerinin sentezlenme bölgeleri ve oranları (Bain, 2006).

## 2.2. Talasemi

### 2.2.1. Talaseminin Tanımı ve Epidemiyolojisi

Talasemi hemoglobin molekülünün yapısında bulunan globin zincirlerinin genetik mutasyonlar sonucu eksik ya da hiç sentezlenememesi sonucu oluşan, otozomal resesif kalıtım gösteren bir kan hastalığıdır. Von Jaksch 1889 yılında anemili, splenomegalili ve

lökositozlu bir çocukta hastalığı bildirmiştir ve bu hastalığı ‘anemia infantum pseudoleucamia’ olarak adlandırmıştır (Moncrieff, 1933). Bu hastanın lösemi olmadığı sonradan anlaşılmıştır. Hastalık ilk olarak 1925 yılında Thomas Cooley tarafından anemi, splenomegali ve iskelet sistemi deformiteleri olan İtalyan kökenli çocuklarda tanımlanmıştır ve hastalığa Cooley anemisi denilmiştir. Whipple ve Bradford (Whipple, 1936) 1932’de ilk kez Talasemi terimini kullanmışlardır. Eski Yunanca da “Thalas” kelimesi deniz, “Emia” kelimesi anemi, “Thalassemia” ise deniz anemisi anlamına gelir. Hastalığın Akdeniz bölgesinde daha sık görülmesine bağlı olarak bu isim verilmiştir (Sankaran ve ark., 2015). Ülkemizde de talasemi Akdeniz anemisi olarak bilinir.

Talasemi kalıtsal eritrosit bozukluklarının en yaygın görülen formudur (Higgs ve ark., 2012). Talasemi hemen hemen tüm ırklarda ve tüm dünyada görülmesine rağmen, Akdeniz’e kıyısı olan ülkeleri (İtalya, İspanya, Portekiz, Yunanistan, Rusya’nın bir kısmı ve Kıbrıs), Kuzey ve Doğu Afrika’yı, Orta Doğu ülkelerini (Suudi Arabistan, İran, Türkiye ve Suriye), Hindistan, Pakistan ve Güneydoğu Asya ülkelerini (Bangladeş, Endonezya, Tayland, Malezya ve güney Çin) ve Güney Amerika bölgesini içine alan talasemi kuşağı denilen bölgelerde daha yaygın olarak görülmektedir (Weatherall ve Clegg, 1996). Türkiye’de beta talasemi taşıyıcılığı görülme sıklığı ise %2,1’dir (Cavdar ve Arcasoy, 1971). Türkiye’de alfa talasemi sıklığı %3,6 olarak bulunmuştur (Fei ve ark., 1989).

Talasemi,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  ve  $\delta$  globin zincirlerinin az sayıda veya hiç yapılamaması ile oluşur. Hastalık eksik üretilen globin zincirine göre isimlendirilir. Alfa zincir yapımı azlığı varsa alfa talasemi, beta zincir yapım azlığı varsa beta talasemi olarak adlandırılır (Sankaran ve ark., 2015).

### **2.2.2. Alfa Talasemi**

Alfa talasemi, 16. kromozom üzerinde bulunan alfa-globin genlerindeki mutasyonlar sonucu oluşur. Mutasyonların çoğunluğu gen delesyonlarıdır. Alfa genindeki bazı nokta mutasyonları da alfa talasemiye yol açabilmektedir. Homolog kromozomların her birinde ikişer tane olmak üzere toplam dört alfa globin geni vardır ( $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ ). Alfa talasemilerde  $\alpha$ -globin genlerinin biri, ikisi, üçü ya da dördü birden etkilenmiş olabilir. Bu nedenle, alfa talasemi çok değişken bulgularla seyredebilir. Klinik bulgu vermeyen

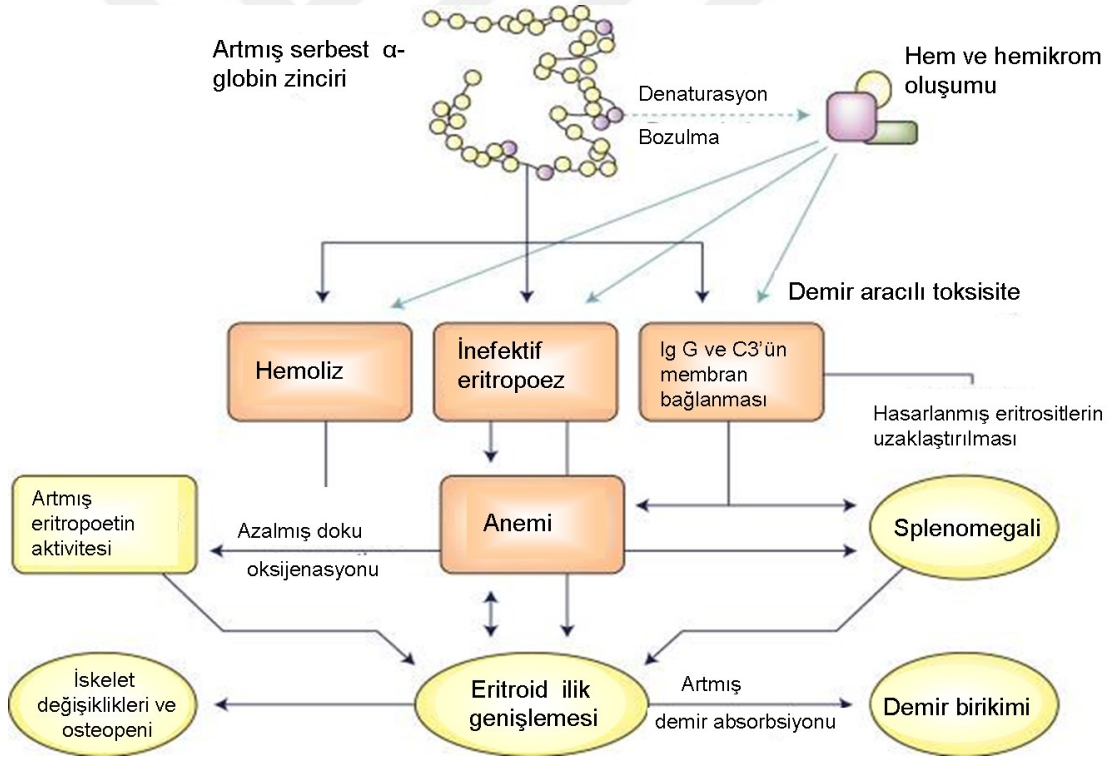
sessiz taşıyıcılar olabileceği gibi, anne karnında ölüme yol açan ağır kansızlık bulgusu gösteren hastalar da olabilir. Bir gen delesyonu ( $-\alpha/\alpha\alpha$ ) sessiz alfa talasemi taşıyıcı, 2 gen delesyonu ( $-\alpha/-\alpha$  veya  $--/\alpha\alpha$ ) alfa talasemi taşıyıcılığı, 3 gen delesyonu ( $--/-\alpha$ ) Hb H, 4 gen delesyonu ( $--/--$ ) Hb Barts Hidrops fetalis sendromu olarak adlandırılır. Bir veya 2 gen delesyonu görülen taşıyıcılar herhangi bir tedavi gerektirmezler. Hb H orta veya ağır hemolitik anemiye yol açan klinik olarak çok değişken bir grup hastalıktır. Bu hastalarda  $\beta$  zincir üretimi fazladır ve bu beta zincirler tetramer yaparak hem ile birleşir ve Hb H ( $\beta_4$ ) oluşturur. Hb H, eritrositlerde birikerek bu hücrelerde inklüzyon cisimciklerinin oluşmasına neden olur ve bu hücrelerin dalak tarafından ortadan kaldırılmasına yol açar. Bunun sonucunda anemi meydana gelir. Hastaların bir kısmı transfüzyon bağımlı olabilir. Homozigot  $\alpha$ -talasemiler, dört  $\alpha$  geninin delesyonunun neden olduğu en ağır alfa talasemi tipidir ve genelde intrauterin veya erken neonatal dönemde ölüm ile sonuçlanır (hidrops fetalis) (Wu ve ark., 2015). Eşleşemeyen gamma zincirleri Hb Barts ( $\gamma_4$ ) denilen ve oksijen taşıma kapasitesi olmayan tetramerleri oluşturur. Hb Barts hidrops fetalis sendromu, anne karnında ya da doğar doğmaz transfüzyon yapılmazsa ölümcüldür.

### 2.2.3. Beta Talasemi

#### Beta Talaseminin Patofizyolojisi

Beta talasemi sendromları, beta-globin zincir sentezinin eksik ya da hiç üretilmemesi ile karakterize kalıtsal kan hastalıkları grubudur. Mutasyonlar sonucu beta globin zincirinin azalması durumunda  $\beta^+$  talasemi veya hiç olmaması durumunda  $\beta^0$  talasemi oluşur. Çok hafif formları ise  $\beta^{++}$  olarak ya da 'sessiz'  $\beta$  talasemi olarak adlandırılır. Üç değişik genin  $\beta^0$ ,  $\beta^+$  ve  $\beta^{++}$  kombinasyonları hastalığın ağır ya da hafif seyirli olmasını belirler. Mutasyonlar, beta globin zincirlerinin üretiminde bir dengesizliğe ve  $\alpha$  globin zincirinde bir artışa neden olur. Artmış alfa zincirleri kendi aralarında tetramerler (hemikromlar) oluşturarak öncü kırmızı hücrelerde çöker ve kemik iliğinde olgunlaşmadan bu hücrelerin yok edilmesine yol açarlar (inefektif eritropoez). Hemikromların parçalanmasıyla demir açığa çıkar ve fazla demir oksidatif strese yol açarak eritrosit membranındaki lipid ve proteinlerin yapısını bozar. Gerek eritrositler içindeki hemikromların hücreye sağladığı sertlik, gerekse membran hasarı nedeni ile

eritrositler dalaktan geçerken yıkıma uğrar. Böylece, periferal dolaşıma ulaşmayı başaran az sayıda kırmızı hücreler dalakta parçalanır (hemoliz).  $\beta$ -talasemilerde görülen anemi inefektif eritropoz, periferal hemoliz ve azalmış miktarda hemoglobin sentezlenmesi sonucunda meydana gelir. Yetersiz hemoglobin yapımı hipokromi ve mikrositoza yol açar. Anemi sonucu doku oksijenlenmesi azalır. Buna yanıt olarak böbreğin korteks tabakasından eritropoetin üretimi artar ve kemik iliği uyarılır. Kemik iliğinin aşırı çalışması kemik iliği genişlemesine, dolayısıyla iskelet deformitelerine sebep olur. Ayrıca, kemik iliğinin aşırı çalışması sonucu artan demir ihtiyacının karşılanması için gastrointestinal sistemden demirin emiliminin artması demir birikimine neden olmaktadır (Nienhuis ve Nathan, 2012). Beta talaseminin patofizyolojisi Şekil 2.3’de gösterilmiştir.



Şekil 2.3. Beta talaseminin patofizyolojisi (Nienhuis ve Nathan, 2012).

Talaseminin şiddeti  $\alpha$  ve  $\beta$  globinler arasındaki dengesizliğin şiddeti ile orantılıdır. Ayrıca, beta talasemi hastalarında  $\alpha$ -globin geni mutasyonu da bulunursa zincirler arası dengesizlik azalacağından klinik daha hafif seyrederek (Sankaran ve ark., 2015). Alfa/beta globin zincir oranı farklı düzeylerde bozulacağından üretilen hemoglobin miktarına göre beta talasemi klinik olarak üçe ayrılır: talasemi minor veya talasemi taşıyıcısı (TT),

talasemi intermedia (TI) ve talasemi major (TM). Beta talasemilerde klinik ve laboratuvar bulgular Tablo 2.1’de gösterilmektedir.

**Tablo 2.1.** Beta-talasemilerde klinik ve laboratuvar bulgular

Tanı	Genotip	Klinik Durum	Kan sayımı	Hb elektroforezi
Talasemi taşıyıcısı	Tek gen defekti ( $\beta^+/\beta$ , $\beta^0/\beta$ )	Asemptomatik Tedavi gerektirmez. Evlilik öncesi genetik danışmanlık verilmeli	Hafif mikrositik anemi	Artmış HbA <sub>2</sub> , Bazen HbF artabilir
Talasemi intermedia	İki gen defekti ( $\beta^+/\beta^+$ , $\beta^+/\beta^0$ )	İlımlı hemoliz Genellikle 2 yaşından sonra tanı konulur Artmış şekil değişikliği, büyüme ve gelişme geriliği, patolojik kemik kırıkları, kardiyak komplikasyonlar ve bacak ülserleri görülebilir	İlımlı mikrositik anemi Genellikle Hb >7 g/dL Aralıklı transfüzyon ihtiyacı olur	Artmış HbA <sub>2</sub> Artmış HbF Azalmış HbA
Talasemi major	İki gen defekti ( $\beta^0/\beta^0$ , $\beta^+/\beta^0$ )	Ağır hemoliz Genellikle 2 yaşından önce tanı konulur Transfüzyonel demir birikimine bağlı organ hasarları görülebilir	Ağır mikrositik anemi Hb <7 g/dL Düzenli transfüzyon ihtiyacı olur	Artmış HbF HbA <sub>2</sub> normal HbA yok ya da çok azalmış

(Wynn ve ark., 2017, Sankaran ve ark., 2015)

### **Talasemi minor (Talasemi taşıyıcısı, Heterozigot beta talasemi)**

Talasemi minor kişilerde tek bir defektif beta-globin geni mevcuttur. Nadir görülen dominant formlar haricinde bireyler semptomsuz yaşam sürdürürler. Laboratuvar tetkiklerinde hemoglobin değeri hafif düşüktür, ortalama eritrosit hacmi (MCV) ve hemoglobin miktarları azalmıştır. Periferik kan yaymalarında hipokrom, mikrositik eritrositler, target hücreleri, anizositoz ve bazofilik noktalanma görülür. Beta talasemi minörün tipik fenotipi HbA<sub>2</sub> yüksekliğidir. HbA<sub>2</sub>>%3,5 olan kişiler  $\beta$  talasemi taşıyıcısı olarak kabul edilir. Talasemi taşıyıcılarının yaklaşık yarısında Hb F yüksekliği de görülür. Talasemi taşıyıcılığı bir hastalık olmayıp, tedavi gerektirmez. Talasemi taşıyıcısı kişilerin başka bir talasemi taşıyıcısı ile evlenmeleri durumunda doğacak çocukların %25’i homozigot talasemi olabilir.

### **Talasemi intermedia**

Talasemi intermedia hastalarının çoğu beta talasemi için homozigot veya bileşik heterozigottur. Çok nadir olarak sadece bir  $\beta$ -globin geni etkilenir (Sankaran ve ark., 2015). Talasemi taşıyıcılığı ile talasemi major arasında klinik fenotipi olan hastalar talasemi intermedia olarak tanımlanmıştır. Talasemi intermedia hastalarında klinik çok heterojendir. Hastaların büyük çoğunluğu genellikle transfüzyon gereksinimi olmaksızın sadece hafif bir anemi ile karakterizedirler. Daha ağır klinik ile karakterize olan talasemi intermedialı hastalar ise genellikle 2-4 yaş arasında tanı alırlar. Bu hastalar, nadiren transfüzyon alırlar ya da hiç transfüzyon almadan yaşamlarını devam ettirirler. Artmış şekil değişikliği, büyüme ve gelişme geriliği, patolojik kemik kırıkları, kardiyak komplikasyonlar, fiziksel aktivitelerde azalma, ekstra meduller hematopoez ve bacak ülserleri gibi komplikasyonlar varlığında, hastalar düzenli transfüzyona başlatılmalıdırlar. Gerek gastrointestinal sistemden demir emilimindeki artış, gerekse hemoglobinin denaturasyonu sonucu hem yapısından demirin serbestleşmesi durumunda, transfüzyon bağımlı olmayan talasemi intermedia hastalarının dokularında demir birikimi meydana gelir (Musallam ve ark., 2012; Taher ve ark., 2013). Talasemi intermedia hastalarında, inefektif eritropoez artışı, kronik anemi ve buna bağlı artmış gastrointestinal demir emilimi ve demir birikimine bağlı komplikasyonlar bazen talasemi major hastalarına göre daha sık görülebilmektedir.

### **Talasemi major (Cooley anemisi)**

Beta talaseminin en ağır formudur. Talasemi major kişiler hayatlarını düzenli transfüzyonlarla sürdürebilirler. Talasemi majorlü olgularda, azalan fetal hemoglobinin yerine normal erişkin hemoglobini yeterli düzeyde yapılamadığı için, genelde hayatın ilk altı ayı içinde anemi gelişir. Talasemi major olan bebekler genellikle solukluk, büyüme geriliği, hepatosplenomegali nedeni ile karında şişlik gibi bulgularla kendini gösterir. Periferik kan yaymasında hipokromi, mikrositoz, normoblastlar, gözyaşı hücreleri, bazofilik noktalanmalar ve target hücreleri görülür. Hastalarda ağır anemi ve ağır bir mikrositoz vardır. Bu hastalara transfüzyon başlanmazsa ağır anemi, gelişme geriliği, hepatosplenomegali, kardiyak sorunlar, kemik deformiteleri ve patolojik kırıklar görülmektedir. Bu bulgular düzenli transfüzyon tedavisine erken başlanarak engellenebilir.



Transfüzyonla amaçlanan, doku hipoksisinin düzeltilerek normal büyüme-gelişmenin sağlanması ve ekstramedüller hematopoezin baskılanmasıdır. Talasemi hastalarının hemoglobin düzeyi, ortalama 3-4 haftalık aralarla uygulanan eritrosit süspansiyonu transfüzyonları ile 9.5-10 g/dL'nin üzerinde tutulmaya çalışılmaktadır. Düzenli transfüzyon alan hastalar, kendi yaşlıları gibi puberte dönemine kadar sorunsuz büyürler. Sonraki durumları ise düzenli şelasyon tedavisi alıp almamalarına göre değişiklik gösterir.

Çoklu kan transfüzyonları nedeniyle hastaların dokularında demir birikimi görülür. Bunun yanı sıra, düzensiz kan transfüzyonu alan olgularda gastrointestinal sistemden demir emilimindeki artış nedeniyle dokularda demir birikimi olur. Fazla demir dalak, karaciğer kupffer hücreleri, kemik iliği retiküloendotelyal hücreleri, miyokardiyum ve endokrin organlar gibi parankimal dokularda depolanır. Demir birikimi sonucunda serbest radikal oluşumundaki artış, talasemi hastalarında oksidatif stres ve doku hasarının oluşmasına neden olur. Sonuç olarak, büyüme geriliği, seksüel olgunlaşmada gecikme, farklı endokrin eksikliklere bağlı komplikasyonlar ve kardiyak komplikasyonlar görülebilir. Günümüzde transfüzyonel demir birikimini azaltmak amacı ile üç farklı şelatör (deferoksamin, deferipron ve deferasiroks) kullanılmaktadır ve yeni şelatörler geliştirilmeye devam edilmektedir (Rienhoff ve ark., 2011; Neufeld ve ark., 2012). Düzenli transfüzyon alan ve şelasyon tedavisine tam uyum sağlayan hastalar, normal büyüme gelişmelerini sağlayabilirler. Ancak, iyi takipli hastalarda dahi çeşitli komplikasyonlar görülmektedir. Talasemi hastalığının tek ve kesin tedavisi kök hücre yada kemik iliği naklidir. Bu tedavi yalnızca tam uyumlu donör varlığında ve belli kriterleri sağlayan hastalara uygulanmaktadır. Gelecekte daha efektif şelatör tedavilerinin ve gen tedavi yöntemlerinin geliştirilmesi umut edilmektedir.

## **2.3. Demir Metabolizması**

### **2.3.1 Vücuttaki Demir Dağılımı**

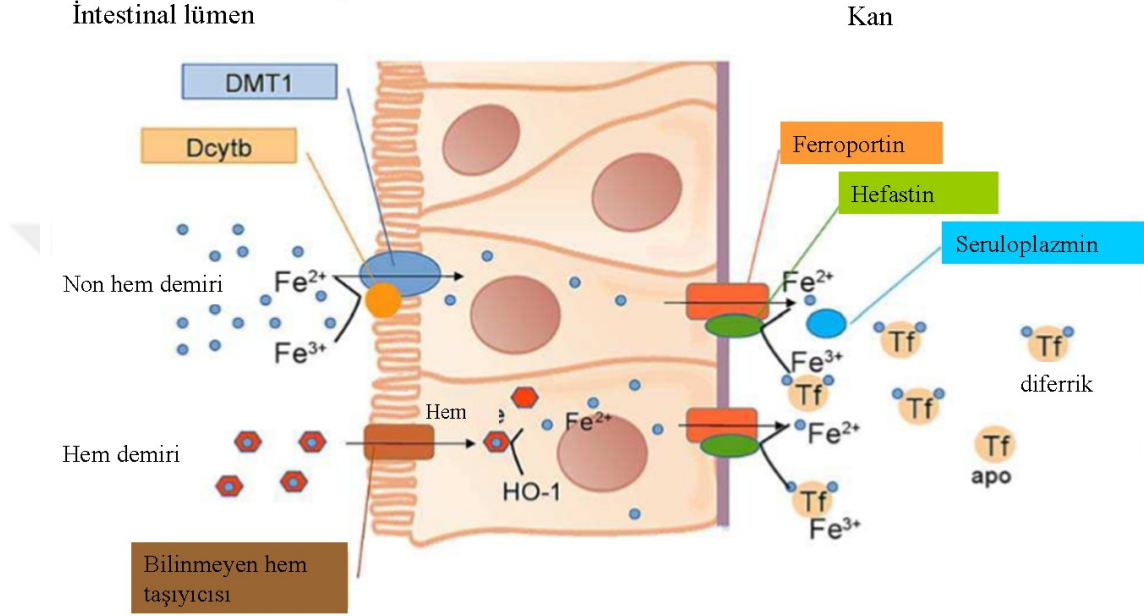
Demir tüm canlılar için esansiyel bir eser elementtir. Oksijen taşınmasından sorumlu olan hemoglobin ve miyoglobin yapısında bulunan hem için de gerekli bir moleküldür. Demir, elektron alıp verme özelliği nedeniyle, DNA sentezi ve tamiri, enerji metabolizması ve hücre proliferasyonunda da rol alır (Ganz ve Nemeth, 2006). Günlük

1-2 mg demir gastrointestinal sistem tarafından emilir. Ancak, insan metabolizması günlük 25 mg demire ihtiyaç duyar ve bunun %80'i kan yapımında kullanılır (Andrews, 2000). Bu miktarın büyük bir kısmı hasarlanmış ya da yaşlanmış eritrositlerin parçalanmasından elde edilir. Organizmada bulunan demirin kalan kısmı miyoglobin, sitokromlarda, karaciğer ve retiküloendotelial sistem makrofajlarında depolanır. Organizmadan demir atan normal fizyolojik bir mekanizma yoktur. Gastrointestinal sistemden dökülen epitelyal hücreler ve kanamalar dışında demir kaybı olmaz. Diyet demirinin %10'u duodenumdan olmak üzere günde 1- 2 mg demir emilir ve 1-2 mg demir dışkı ile atılır. Demir dengesinin sağlanması vücut için çok önemlidir. Demir eksikliğinde başta anemi olmak üzere çeşitli sorunlar görülür. Diğer taraftan demir fazlalığı hücre hasarlarına yol açmaktadır (Ramm ve Ruddell, 2005). Organizmada demir hiçbir zaman serbest bırakılmamaya çalışılır. Transferrinle taşınır ve ferritinde depolanır. Organizmadaki demir konsantrasyonu çok sıkı bir denetim altındadır. Bunun için organizmalar demir düzenleyici mekanizmalar geliştirmişlerdir (Borch-Johnsen ve ark., 2009). Demir homeostazını etkileyen üç temel unsur vardır: demir emilimi, demir dağılımı ve demir depolanması.

### **2.3.2. Diyet Demirinin Emilimi**

Demir duodenumdan ve proksimal jejunumdan emilir. Vücudun demiri aktif olarak dışarı atması için bir yol olmaması nedeniyle, diyetdeki demirin duodenumdan emiliminin düzenlenmesinin demir homeostazında kritik bir rolü vardır. Demirin duodenumdan emilmesi için ferrik formdan ( $Fe^{+3}$ ) ferröz forma ( $Fe^{+2}$ ) indirgenmesi gerekir (Munoz ve ark., 2011). Polifenoller ve fitik asitce zengin diyetler, C vitamini eksikliği, Helikobakter pilorinin neden olduğu gastrit ve bariatrik cerrahi gibi etmenler demir emilimini azaltır (Evstatiev ve Gasche, 2012). Diyetle alınan demir, organik hem demiri ve inorganik demir olmak üzere iki şekildedir. Organik ve inorganik demirin emilimi Şekil 2.4'de gösterilmiştir. Hem demiri ette bulunur, hemoglobinin yıkım ürünü olarak oluşur ve ferröz ( $Fe^{+2}$ ) formdadır, ve herhangi bir indirgeme işlemine gerek duyulmadan direk olarak enterosit içine alınır. Enterositlerden plazmaya geçerken inorganik demir ile aynı yolu kullanır. Hem dışı inorganik demirin çoğu ferrik ( $Fe^{+3}$ ) demir şeklindedir ve emilimi çok daha komplekstir. İlk olarak ferrik demir bir redüktaz enzim olan duodenal sitokrom b (DCytb) tarafından ferröz forma redükte edilir. Divalan

metal taşıyıcısı 1 (DMT 1) ile enterosit içine alınır. Demir, organizmanın demir ihtiyacına göre enterositin bazolateral kısmından ferroportin aracılığı ile plazmaya verilir ve hefastin denilen ferooksidaz ile  $Fe^{+2}$ ,  $Fe^{+3}$  haline okside edildikten sonra transferrine yüklenir (Uysal, 2007).



Şekil 2.4. Besinsel demirin emilimi (Papanikolaou ve Pantopoulos, 2017). Dcytb, Duodenal sitokrom b; DMT1, divalın metal taşıyıcısı 1.

### 2.3.3. Demirin Taşınması

Her transferrin molekülü iki  $Fe^{+3}$ 'ü güçlü bir şekilde bağlar. Transferrine yüklenen demir, portal dolaşımdan çoğu kemik iliğinde eritrosit öncü hücreleri olmak üzere hücrelere taşınır. Transferrindeki demir hedef hücreye reseptör bağımlı endositoz tarafından alınmaktadır. Hepatositler portal dolaşımdan aldıkları demiri depolarlar ve gerektiğinde ferroportin yolu ile tekrar dolaşıma verirler. Makrofajlar ise ilk olarak fagositte ettikleri yaşlı eritrositlerdeki hemoglobinden demiri alırlar. Makrofajlardaki demir ya ferroportin ile plazmaya verilir ya da hücre içinde ferritin şeklinde depolanır (Munoz ve ark., 2011).

### 2.3.4. Hücresel Demir Metabolizmasının Düzenlenmesi

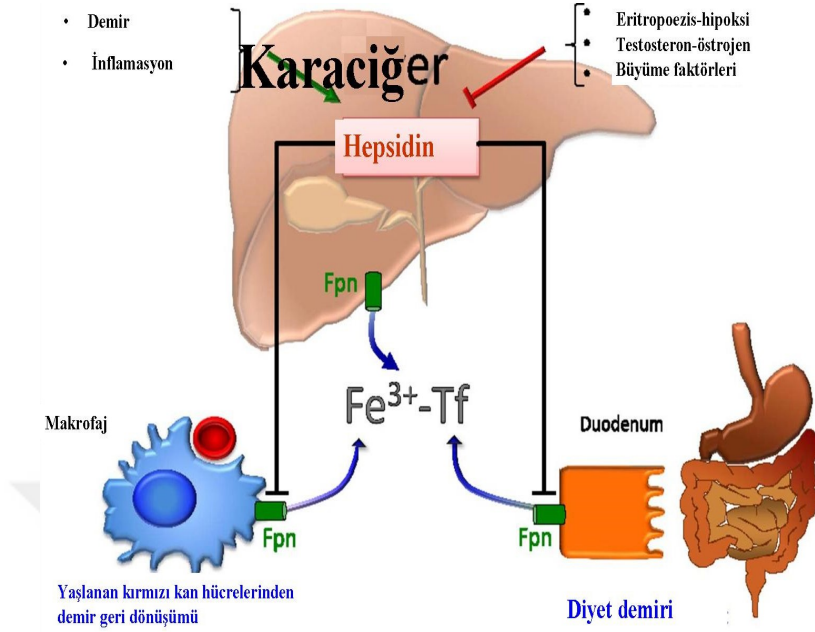
Hücresel düzeyde demirin taşınması, depolanması ve kullanımı ile ilgili tüm ana proteinlerin sentezi posttranskripsiyonel olarak hücre içi demirle düzenlenmektedir. Bu düzenleme, demir düzenleyici proteinler (IRP, iron regulatory protein) ve demir duyarlı

element (IRE, iron responsive element) arasındaki ilişkiye bağlıdır. Hücre dışı demir konsantrasyonu normal sınırlarda iken hücrel demir dengesi transferrin ve ferritin düzeylerini ayarlayan IRP/IRE sistemi ile düzenlenir. Buna göre, demir sitoplazmik demir miktarına göre gerektiğinde hücreye alınır, gerektiğinde depolanır. Hücre içinde demir eksikliği olduğunda IRP'lerle IRE'ler bağlanırlar. Bu bağlanma transferrin reseptör yıkımını azaltarak, daha fazla demirin hücre içine alınmasına neden olur. Hücrel demir fazlalığında ise IRP yapısal olarak değişip IRE'lere bağlanmaz. Transferrin reseptörü azalır ve hücre içine demir alımı durur. Ferritin sentezi artırılarak ortamdaki demirin depolanması sağlanır. Hepatositler ve makrofajlar vücudumuzda demir depolayan başlıca hücrelerdir. Bu hücrelerde demir, ferritin olarak depo edilir. Ferritinin ağır (H) ve hafif (L) zincirlerden oluşan 24 alt birimi vardır. H zinciri  $Fe^{+2}$ 'yi  $Fe^{+3}$ 'e dönüştüren ferooksidaz aktivitesine sahiptir ve bu sayede demirin yapı içinde depolanması sağlanır. L zinciri ise daha çok yapının stabilizasyonunu ve demir iyonlarının yapının içine taşınmasını kolaylaştırır (MacKenzie ve ark., 2008). Demir eksikliği durumunda, ferritin şeklinde depolanan demir plazmaya salınır. Hücrelerden demir çıkışı ise ferroportin denen spesifik bir taşıyıcı ile sağlanır. Ferroportin aracılığıyla demirin hücreden çıkışı önemli bir sınırlayıcı basamak olarak kabul edilmektedir (Ganz, 2005; Ward ve Kaplan, 2012).

### **2.3.5. Hepsidin**

Demir homeostazının ana düzenleyicisi hepsidindir. Hepsidin molekülü ("hep" hepatik kökenli, "cidin" antimikrobiyal aktivite), ilk olarak 2000 yılında antimikrobiyal fonksiyonu olan bir peptid olarak tanımlanmıştır. Hepsidin esas olarak karaciğerde sentezlenerek dolaşıma verilen ve idrarla atılan bir peptid hormondur. Hepsidin HAMP geni tarafından kodlanır. Hepsidin çoğunlukla hepatositlerde üretilmekle birlikte yağ hücrelerinde, makrofajlarda, nötrofillerde, pankreatik  $\beta$ -hücrelerde ve böbrek hücrelerinde de üretilmektedir. Ancak, bulgular net değildir (Reichert ve ark., 2017). İlk olarak 84 amino asitlik pre-hepsidin, sonrasında 64 aminoasitlik prohepsidin ve en sonunda enzimatik kesilmelerle biyolojik olarak aktif formu olan 25 amino asitlik hepsidin oluşur (Jordan ve ark., 2009).

Hepsidin keşfinden sonra organizmada, demir dengesinin kontrolü yeni bir yön kazanmıştır. Hepsidin demir homeostazını 3 farklı yolla yapar: duodenumda besinlerden demir emilimini azaltma, dolaşımdaki makrofajlardan demir salınımını bloklama ve hepatositler içindeki demir stoklarının taşınmasını kontrol etme (Ganz ve Nemeth, 2012). Plazma demir konsantrasyonu arttığında, hepatik dokularda hepsidin mRNA transkripsiyonu artar. Hepsidin enterositlerden demir emilimini ve makrofajlardan demir salınımını engelleyerek, dolaşımdaki demiri azaltır ve demir dengesini düzenler. Plazma demir düzeyi düştüğünde hepsidin transkripsiyonu azalır (Pak ve ark., 2006). Hepsidin reseptörü bir bazolateral transmembran proteini olan ferroportindir. Duodenal ferroportin presentada, enterositlerde, retiküloendotelial makrofajlarda ve hepatositlerde bulunur. Ferroportin depo demir miktarına ve eritropoez hızına göre, hücre içindeki demiri dışarı çıkarır. Son yıllarda hepsidin ferroportin üzerindeki düzenleyici rolü oldukça çok sayıda çalışmaya konu olmuştur (Ganz, 2003; Rishi ve ark., 2015). Hepsidin, hücre yüzeyindeki ferroportin ekspresyonunu kontrol eder. Hepsidin ferroportine bağlanması, ferroportinin hücre içine alınmasına ve lizozomal yıkılışına yol açar. Bunun sonucunda, membrandaki ferroportin miktarı azalır. Ferroportinin hücre yüzeyinden kaybı, demirin plazmaya geçişini engeller. Sonuç olarak, hepsidin ince barsaktan demir emilimini azaltır, makrofajlardaki demirin plazmaya verilmesini ve hepatik depolardan demir mobilizasyonunu engeller. Hepsidin eksikliği bağırsaklardan demir emilimini artırır ve demirin vücutta depolanmasına yol açar. Demir eksikliği durumunda hepsidin düzeyleri düşer. Çeşitli çalışmalar, hipoksi, demir eksikliği, enflamasyon ve eritropoezin hepsidin ekspresyon düzeyini etkilediğini göstermiştir (Pak ve ark., 2006; Mastrogiannaki ve ark., 2012). Ancak, bahsedilen bu etkenlerin hepsidin ekspresyonunu nasıl etkilediği tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır. Hepsidin ve demir dengesi Şekil 2.5’de gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar sonucunda, hepsidin demir metabolizmasının ana düzenleyici olarak kabul görmüştür. Bu nedenle, hepsidin ekspresyonunu artıran ve azaltan etmenler ve bunların etki mekanizmaları ile ilgili çalışmalara hızla devam edilmektedir (Rishi ve ark., 2015).



Şekil. 2.5. Hepsidin ve demir dengesi (Meynard ve ark., 2014).

#### 2.4. Demir ve Eritropoez

Eritropoez günlük 20-30 mg demire ihtiyaç duyar (Papanikolaou ve Pantopoulos, 2017). Her gün diyet yoluyla alınan demir ve yaşlı eritrositlerin yıkımından elde edilen demirin %80'i yeni eritrosit hemoglobininin sentezi için kullanılır (Finch ve ark., 1970). Eritroid öncüllerin olgunlaşması ve çoğalması hipoksemiye yanıt olarak böbreklerden salgılanan bir sitokin olan eritropoetin ile kontrol edilir. Kanama ve hemoliz gibi durumlarda EPO salgılanması artar ve eritroid öncüllerin çoğalması uyarılır (Ginzburg ve Rivella, 2011). Eritropoezde eritroid öncüllerin farklılaşması sırasında Hb üretmek için hem ve globin zincirlerinin orantılı şekilde üretilmesine ihtiyaç duyulur. Bu nedenle demir metabolizması ve eritropoez birbirleriyle ilişki içindedir. Eritroid hücre farklılaşması sırasında demir ihtiyacı artar. Demir depoları yetersiz olduğunda mikrositik anemi gelişir ve eritrositlerin oksijen taşıma kapasitesi azalır. Bu durumda eritropoez için gerekli demirin bulunması için diyetten demir emilimi, hepatositlerdeki, dalak ve karaciğer makrofajlarındaki demir depolarından demir salınımı kontrollü bir şekilde artırılır.

Anemi ve bunun sonucu oluşan hipoksi eritropoetin üretimini artırır (Koury ve Bondurant, 1990). Bu şekilde yeni kırmızı kan hücreleri yapılır. Artmış eritropoez

nedeni ile çok fazla demire gereksinim duyulur. Bu nedenle hızlı bir şekilde demir mobilizasyonu ve demir emilimi sağlanır. Son yıllarda karaciğer hepsidin ekspresyonunun anemiye yanıt olarak azaldığı gösterilmiş (Pak ve ark., 2006) ve bu durum da fonksiyonel eritroid öncüllerinin hepsidini baskılayabileceği görüşünü doğrulamıştır. Başlangıçta büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) ve Twisted gastrulasyon proteini homolog 1 (TWSG1), hepsidini baskılayan eritroid regülatörler olarak tanımlanmıştır (Tanno ve ark., 2007; Tanno ve ark., 2009). Son yıllarda ise yeni bulunan bir eritroid regülatör olan eritroferonun hepsidin ile ilişkisi araştırılmaktadır.

#### **2.4.1. Büyüme Farklılaşma Faktörü-15 (GDF15)**

Eritropoezin hepsidini hangi etmenlerle ve mekanizmalarla düzenlediği konusunda çalışmalar halen devam etmektedir. Bu çalışma başlıklarından birisi hepsidin ekspresyonu üzerinde baskılayıcı rolü olduğu düşünülen ve eritroblastlardan salınan büyüme farklılaşma faktörü-15'dir (Zhao ve Chang, 2011). GDF15 aynı zamanda makrofaj inhibitör sitokin-1, plasental dönüştürücü büyüme faktörü- $\beta$ , plasental kemik mofogenik protein, prostat kaynaklı faktör ve NSAID (steroid olmayan antienflamatuar ilaç)-aktivite edilmiş gen 1 olarak da bilinir. GDF15 enflamatuar ve apoptotik yolların düzenlenmesinde görev alır. Kardiyovasküler, diyabet, kronik böbrek hastalıkları ve kanser gibi birçok hastalıkta ekspresyonu artar (Lindahl, 2013).

GDF15 düzeyleri, inefektif eritropoezin artış gösterdiği talasemi intermedia ve transfüzyon bağımlı talasemi major hastalarında çok yüksek bulunmuştur (Musallam ve ark., 2011; Athiyarath ve ark., 2014; Tantawy ve ark., 2015). Talasemi serumlarındaki GDF15 düzeyleri sağlıklı bireylerin 100 katına çıkabilmektedir (Ronzoni ve ark., 2015). Yapılan çalışmalarda talasemilerin GDF15 düzeylerinin ferritin düzeyleri ile pozitif korelasyon gösterdiği belirtilmiştir (Musallam ve ark., 2011; Tantawy ve ark., 2015). Ayrıca, GDF15'in artmış düzeylerinin hepsidini baskıladığı bildirilmiştir (Tanno ve ark., 2007). Diğer taraftan inefektif eritropoezin hepsidini baskıladığı (Ginzburg ve Rivella, 2011) ve eritropoez düzeyi ile GDF15 arasındaki korelasyon varlığı da gösterilmiştir (Ronzoni ve ark., 2015). Bu nedenle, GDF15'in artmış eritropoez veya inefektif eritropoez sırasında hepsidini baskılamak için salgılanan bir etmen olabileceği düşünülebilir. Ancak, yapılan bir çalışmada GDF15 eksikliği olan farelerde kanama

durumunda hepsidindeki azalma sağlıklı farelere göre bir değişiklik göstermemiştir (Gardenghi ve ark., 2014). GDF15'in demir metabolizmasındaki fonksiyonu tam olarak anlaşılamamıştır ve GDF15 ekspresyonunun daha çok hücrel stres ve apoptosis ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir (Li ve ark., 2013; Adela ve Banerjee, 2015). GDF15'in inefektif eritropoezin derecesini göstermek için yarar sağlayabileceği söylenmiştir (Musallam ve ark., 2011; Ronzoni ve ark., 2015). Talasemilerde GDF15'in kullanışlı bir biyobelirteç olup olmadığının gösterilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

#### **2.4.2. Eritroferron (ERFE)**

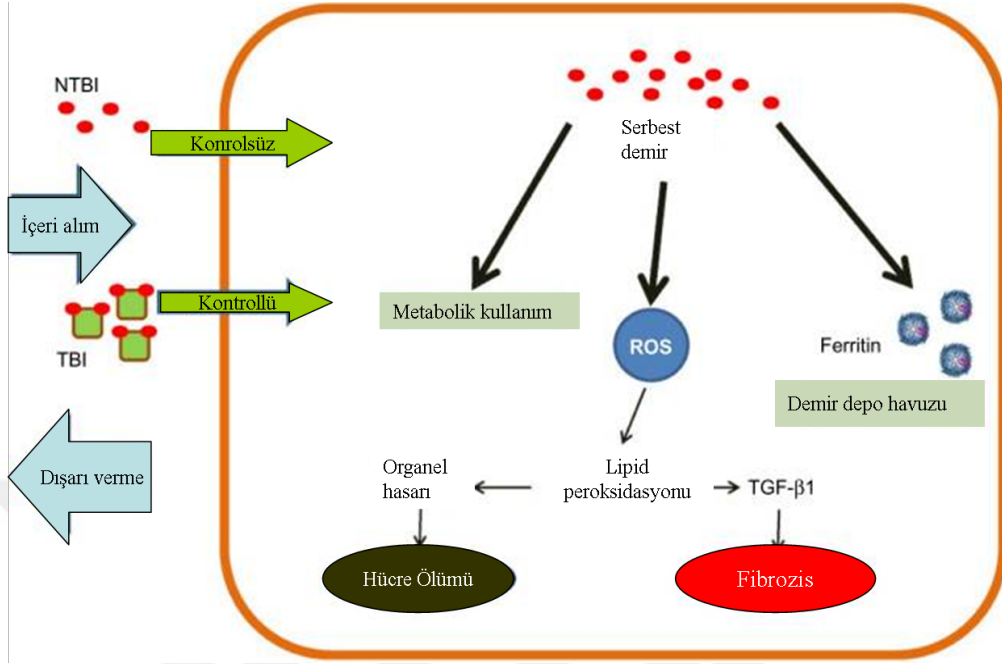
Son yıllarda hepsidin ekspresyonu üzerinde etkili olan ve eritroferron adı verilen yeni bir düzenleyici hormon bulunmuştur (Kautz ve ark., 2014b). Eritroferron C1q-tümör nekrosis protein ailesinden bir hormondur. Eritroferron ilk olarak 2014 yılında farelerin kemik iliğinde tespit edilmiştir. Eritroferron insanlarda FAM132B geni tarafından kodlanır ve eritroblastlarda üretilir. Eritroferron insanda 354 aminositten oluşurken, farede 340 aminoasitten oluşur ve %70 homoloji gösterir. FAM132B eritropoetine yanıtı bir gendir ve ERFE sentezi eritropoetin Jak2/Stat5 sinyal yolağını aktive etmesi ile düzenlenir. Eritropoetin verilen farelerin dalak ve kemik iliklerinde ERFE mRNA ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (Kautz ve ark., 2014b). Aynı çalışma ekibi ERFE'nin hepsidin üzerine baskılayıcı rolü olduğunu göstermişlerdir (Kautz ve ark., 2015). Bu araştırmaya göre, ERFE direkt olarak karaciğere etki ederek hepsidin üretimini baskılamakta ve yeni kırmızı kan hücrelerinin üretiminde kullanılması için ortamdaki demiri arttırmaktadır. Başka bir çalışmada, ERFE'nin hepsidini baskılayıp mevcut demiri arttırdığı ve böylece enflamasyon anemisinin düzeltilmesinde etkili olduğu gösterilmiştir (Kautz ve ark., 2014a). İnsanlarda yapılan çalışmalar henüz çok az sayıdadır (Ganz ve ark., 2017; Schotten ve ark., 2017; El Gendy ve ark., 2018). Eritroferron çalışmaları ile demir metabolizmasının aydınlatılmasında özellikle eritropoez ile demir ilişkisinin aydınlatılmasında ilerleme kaydedileceği umut edilmektedir.

#### **2.5. Talasemilerde Demir Metabolizması**

Demir birikimi transfüzyon bağımlı olsun ya da olmasın tüm talasemi hastaları için morbidite ve mortalitenin başlıca nedenidir. Anemiye önlemek ve yeterli Hb düzeylerine



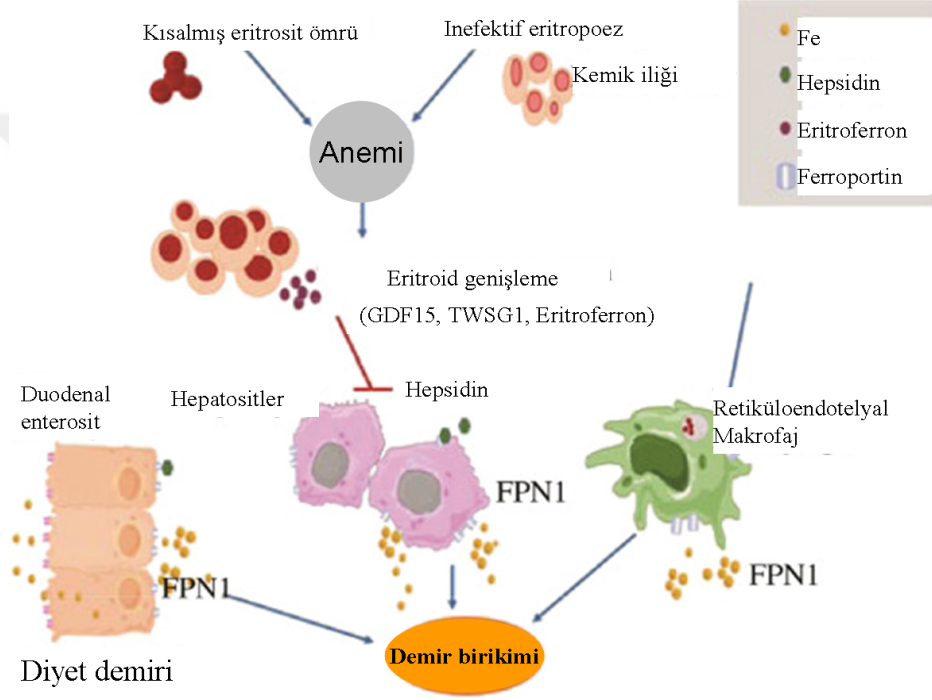
ulaşarak inefektif eritropoezi baskılamak için, talasemi hastalarına düzenli transfüzyon yapılmaktadır. Hayat boyu tekrarlayan bu kan transfüzyonları demir yüklenmesine neden olmaktadır. Her 200 ml eritrosit süspansiyonunda yaklaşık 200 mg demir vardır (Nienhuis ve Nathan, 2012). Organizmamızda fazla demirin atılması için düzenleyici bir mekanizma bulunmamaktadır. Demirin depolanması ilk olarak kemik iliği ve retiküloendotelyal sistem (RES) hücrelerinde gerçekleşir. Retiküloendotelyal sistem hücrelerinin demir depolama kapasiteleri aşılmca, demir makrofajlardan plazmaya salınmaya başlar (Angelucci ve ark., 2000). Normal şartlarda transferrinin demir saturasyonu %30 oranındadır. Transferrinin demir bağlama kapasitesi tamamen dolduğunda, plazmada transferrine bağlı olmayan demir türleri oluşur (Hershko ve ark., 1978). Bu demir türleri; demir sitrat monomerleri, oligomerleri, polimerleri olabileceği gibi proteine bağlı formda da olabilir. Transferrine bağlı olmayan demir indirgenmiş oksijenden hidroksil radikalleri oluşturmak için güçlü bir katalizördür. Bu reaktif oksijen türleri (ROS) lipid peroksidasyonuna, amino asit zincirlerinin oksidasyonuna, protein-protein çapraz bağlantılarına ve protein parçalanmalarına neden olur (Cadenas, 1989). Antioksidanlar tarafından yeteri kadar detoksifiye edilemeyen ROS, hücre ve doku hasarlarına yol açar (Şekil 2.6). Fazla demir ilk olarak vücudun en büyük demir deposu kaynağı olan karaciğer organında depolanır. Daha sonra diğer endokrin parankimal organlar ve miyokart hücrelerinde depolanmaya devam eder. Demir birikimi bu dokularda hasara ve fonksiyon kayıplarına neden olur. Tedavi edilmezse ağır morbidite ve mortaliteye neden olur (Ginzburg ve Rivella, 2011). Yeterli ve uygun şelasyon tedavisi almayan talasemi hastalarında kalp yetmezliği başlıca ölüm nedenidir. Talasemideki mortalite ve morbitide şelasyon tedavisine uyumla yakından ilişkilidir.



**Şekil 2.6.** Demir birikimine bağlı organ hasarı (Saliba ve ark., 2015). NTBI, transferrine bağlı olmayan demir; TBI transferrine bağlı demir.

Talasemilerde gastrointestinal sistemden fazla demir emilmesine bağlı olarak da demir birikimi görülür. Bu durum özellikle inefektif eritropoezin transfüzyonla baskılanamadığı TI hastalarında görülür. Bu hastalarda eritroid hücre farklılaşması için demir ihtiyacı artmaktadır. Bu nedenle, diyet demirinin emilimi artar. Alınan fazla demir zamanla doku ve organlarda birikir. Son yıllarda eritropoez ile demir birikimi arasındaki ilişkiyi aydınlatılmak için, hepsidin regülasyonunda rol oynayan eritroid etmenlerle ilgili çalışmalar yapılmaktadır. Talasemi hastalarında inefektif eritropoez ve kısalmış eritrosit ömrüne bağlı olarak anemi görülür. Anemi eritropoetin üretimini uyarır ve eritropoezin artmasına neden olur. Eritroid aktivitedeki artış GDF15, TWSG1 ve ERFE gibi eritroid etmenlerin artışına neden olur. Artmış bu eritroid etmenlerin karaciğerde hepsidin ekspresyonunu baskıladığı ve duodenal enterositlerden demir emiliminin artmasına yol açtığı düşünülmektedir (Leecharoenkiat ve ark., 2016) (Şekil 2.7). Hepsidin düşük olması, duodenumdan demir emiliminin fazla olmasına ve demirin hücrelerdeki dağılımının bozulmasına neden olur (Nemeth, 2010). Bu durum hastalarda sistemik demir birikimini ve organ hasarını artırmaktadır. Talasemi hastalarında hepsidin düzeyini düzenleyen en önemli etkenlerden biri de demirdir. Hepsidin demir birikimine bağlı olarak artmaktadır (Sangkhae ve Nemeth, 2017). Nitekim talasemi

major hastalarında hepsidin düzeylerinin talasemi intermedia hastalarına göre daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Nemeth ve Ganz, 2006). Talasemi major hastalarında yapılan kan transfüzyonlarının eritropoezi baskılaması sonucu hepsidin düzeyleri artar. Diğer taraftan, bu hastalarda transfüzyonlara ve artan demir birikimine bağlı olarak hepsidin düzeyi artabilir. Bu nedenle, gastrointestinal sistemden demir emilimi TM hastalarında TI hastalarına göre daha düşük olabilir.



**Şekil 2.7.** Beta talasemi hastalığında olası demir disregülasyon mekanizması (Leecharoenkiat ve ark., 2016).

Eritroferron çok yeni bir molekül olmasına rağmen, demir metabolizmasının ana düzenleyicisi hepsidin üzerindeki baskılayıcı rolünün açıklığa kavuşturulabilmesi için çalışmalar yapılmaktadır (Kautz ve ark., 2015). Bu nedenle, talasemi hastalarında hepsidin düzenleyici tedavi yöntemlerinin geliştirilebilmesi için ERFE çalışmalarının yapılması önemlidir. Ancak, talasemilerde yapılan ERFE çalışmaları çok azdır.

### 3. GEREÇ ve YÖNTEM

#### 3.1. Olgular

Bu proje için Akdeniz Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alındı. Çalışmaya dahil edilen tüm bireyler, çalışmanın içeriği ve çalışmanın aşamaları konusunda bilgilendirildiler. Bireylerin her birinden yazılı onam formu alındı. 18 yaşından küçük bireylerin hem kendilerinden (okuma yazma bilenlerden) hem de yasal vasilerinden onam formu alındı. Çalışmaya dahil edilen talasemi major ve talasemi intermedia hastalarının yaş, cinsiyet, tanı yaşı, transfüzyona başlama yaşı, transfüzyon sıklığı ve splenektomi öyküsü olup olmadığı kaydedildi. Çalışmaya dahil edilen 80 olguda hemogram, alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), yüksek sensitif C-reaktif protein (hs-CRP), ferritin, demir, transferrin, total demir bağlama kapasitesi (TDBK), eritropoetin (EPO), eritroferon (ERFE), hepsidin ve büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) ölçüldü.

Bu araştırmaya dahil edilen bireyler almış oldukları tanıya göre dört gruba ayrıldılar:

**Grup 1 (kontrol grubu):** Kontrol grubu, hasta gruplarıyla aynı yaşta, transfüzyon öyküsü olmayan, talasemi taşıyıcılığı gibi herhangi bir hemolitik anemi bulgusu göstermeyen ve kronik bir hastalığı olmayan 20 sağlıklı bireyden oluştu. Kontrol grubundaki bireylerin yaş ortalaması 14,23 yıldır. Bu grubu oluşturan kişilerin 11'i kız ve 9'u erkekti. Kontrol grubundaki bireyler çalışmaya alınmadan önce hemogram, ferritin, hemoglobin elektroforezi ve CRP testleri çalıştırılarak bireylerde hemolitik anemi ve enflamasyon olup olmadığı araştırıldı. Anemisi ve enfeksiyonu olan bireyler, bu gruba dahil edilmediler.

**Grup 2 (talasemi taşıyıcısı (TT)):** Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Pediatrik Hematoloji-Onkoloji Polikliniği'nde takip edilen, talasemi major hastalarının ebeveynleri veya diğer aile bireylerinden seçilen 20 birey bu gruba dahil edildi. Bu grubu oluşturan kişilerin yaş ortalaması 16,20 yıldır. Bu bireylerin 12'si kız ve 8'i erkekti.

**Grup 3 (talasemi intermedia (TI)):** Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Pediatrik Hematoloji-Onkoloji Polikliniği'nde takip edilen, düzenli olarak transfüzyon almayan 20 talasemi intermedia hastası bu gruba dahil edildi. Bu bireylerin 15'inin hiç transfüzyon öyküsü yoktu. Transfüzyon öyküsü olan 5 hasta ise son 6 ay içinde transfüzyon almamıştı. Bu gruptaki kişilerin yaş ortalaması 14,13 yıldır. Bu bireylerin 8'i kız ve 12'si erkekti.

**Grup 4 (talasemi major (TM)):** Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Pediatrik Hematoloji-Onkoloji Polikliniği'nde takip edilen transfüzyon bağımlı 20 talasemi major hastası bu gruba dahil edildi. Bu grubu oluşturan bireylerin yaş ortalaması 16,23 yıldır. Bu bireylerin 10'u kız ve 10'u erkekti.

### **3.2. Örneklerin Hazırlanması**

Talasemi hastalarının kan numuneleri, hematoloji polikliniğine başvurduklarında transfüzyon yapılmadan önce alındı. Talasemi intermedia hastalarının kan numuneleri ise klinik takip için polikliniğe başvurdukları zaman alındı. Çalışmaya dahil edilen bireylerin tümünden düz serum tüplerine ve heparinli ve EDTA (etilendiamintetraasetik asit)'li tüplere kan numuneleri alındı.

Alınan heparinli kan numuneleri hemen 1000 x g'de 15 dakika santrifüj edildi ve ayrılan plazma, alikotlara ayrılarak ependorf tüplerine konuldu ve çalışma gününe kadar -80 °C'de saklandı. Bu numuneler hepsidin, eritroferon ve GDF15 ölçümleri için kullanıldı.

EDTA'lı kan numuneleri hemogram ölçümü ve hemoglobin elektroforezi için kullanıldı. Serum numuneleri ferritin, transferrin, demir, ALT, AST, hs-CRP ve eritropoetin düzeylerinin ölçümü için kullanıldı. Bu testler için alınan kan numuneleri 20 dakika içinde laboratuvara ulaştırıldı.

### **3.3. Biyokimyasal Değişkenlerin Ölçümü**

Eritroferon (ERFE), hepsidin ve büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) ölçümleri Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Araştırma ve Uygulama Merkezi (SBAUM)'nde bulunan Plate Reader (Thermo Labsystems, Multiskan Spectrum) kullanılarak yapıldı.

### **3.3.1. Eritroferron (ERFE) Ölçümü**

Kontrol ve hasta gruplarındaki bireylerin ERFE konsantrasyonları kit (MyBiosource, San Diego, CA, USA, Kat. No:MBS940905) kullanılarak sandwich ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) yöntemi ile ölçüldü.

#### **Prensip**

Standartlar ve plazma numuneleri için FAM132B spesifik antikor kaplı mikropate kuyucukları içine pipetlenir ve var olan FAM132B'nin immobilize antikorlarla bağlanması sağlanır. Sonrasında kuyucuklar yıkanır ve FAM132B için spesifik biyotinlenmiş anti-human antikoruna ilave edilir. Yıkama işleminden sonra avidin bağlı HRP kuyucuklara eklenir. Bağlanmamış avidin-enzim reaktiflerini uzaklaştırmak için kuyucuklar tekrar yıkanır ve TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidin) substrat çözeltisi kuyucuklara eklenir. İlk aşamada bağlanan FAM132B oranına göre renklenme oluşur. Stop çözeltisi eklenmesiyle renk maviden sarıya dönüşür ve ürünün absorbanansı 540 nm veya 570 nm dalga boyu düzeltilmesiyle 450 nm'de okunur.

#### **Ayırdaçlar**

1. FAM132B'ye spesifik antikorla ile kaplanmış 96 kuyucuklu plate
2. Standart (dondurularak kurutulmuş)
3. Biyotin antikoruna (100xderişik)
4. HRP-avidin (100xderişik)
5. Biyotin antikor seyreltici
6. HRP-avidin seyreltici
7. Örnek seyreltici
8. Yıkama tamponu (25xderişik)
9. TMB substratı
10. Stop çözeltisi

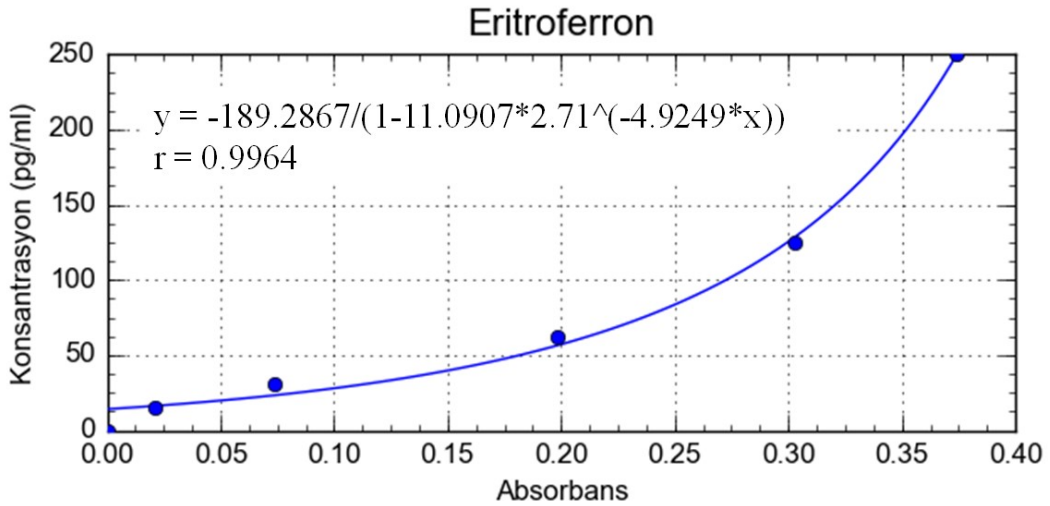
#### **Yöntem**

Her bir kuyucuğa 100 µl standart ve plazma numuneleri konuldu. Plate üzeri kapatılarak 37 °C'de 2 saat inkübe edildi. Plate süzgeç kağıdı üzerine ters çevrilerek kuyucuklardaki sıvı uzaklaştırıldı. Yıkama yapmadan kuyucuklara 100 µl seyreltilmiş biyotin antikoruna eklendi ve plate üzeri kapatılarak 37 °C'de 1 saat inkübe edildi. Sürenin bitiminde

kuyucuklar ters çevrilerek içeriği boşaltıldı. Kuyucuklar yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı. Plate içeriği boşaltıldıktan sonra 100 µl seyreltilmiş HRP-avidin eklendi. Üzeri kapatılan plate 37 °C’de 1 saat inkübe edildi. Aspirasyon ve yıkama işlemleri 5 kez tekrarlandı. Her kuyucuğa 90 µl TMB substrat eklendi ve 37 °C’de karanlıkta 20 dakika inkübe edildi. Kuyucuklara 50 µl stop çözeltisi eklendi. Kuyucuklardaki numunelerin absorbans değerleri beş dakika içinde 540 nm dalga boyu düzeltmesiyle 450 nm’de okundu. Standartların konsantrasyon değerlerine karşılık gelen absorbans değerleri kullanılarak standart grafiği çizildi. Numunelerin ERFE konsantrasyonları standart grafiğinden hesaplandı.

### Standart Hazırlanması

Numune seyrelticiyi kullanılarak 1000 pg/ml’lik standart stok çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltisinden 15,6, 31,25, 62,5, 125, 250 pg/ml’lik konsantrasyonlarda çalışma standartları hazırlandı. Bu standartlar kit prosedüründe belirtildiği gibi çalışılarak absorbans değerleri okundu. Tüm standartlar çift çalışıldı. Her bir standart için elde edilen iki absorbans değerinin ortalaması alındı. Mybiosurce web sayfasında bulunan “Curve Expert” programı kullanılarak standartların konsantrasyon ve absorbans değerlerine göre dört parametrelilik lojistik grafik çizildi. Bu grafik kullanılarak numunelerin absorbans değerlerine karşı gelen konsantrasyon değerleri hesaplandı. Numuneler seyreltilerek çalışıldığı için, grafikten hesaplanan numune konsantrasyonları seyreltme katsayıları ile çarpılarak numune konsantrasyonları hesaplandı.



Şekil 3.1. Eritroferron standart grafiği.

### 3.3.2. Hepsidin Ölçümü

Kontrol ve hasta gruplarındaki hepsidin konsantrasyonları kit (MyBiosource, San Diego, CA, USA, Kat. No:MBS700759) kullanılarak sandwich ELISA yöntemi ile ölçüldü.

#### Prensip

Hepc25 için spesifik antikolarla kaplı mikropate kuyucuklarına standart ve numuneler pipetlenir. Antikora bağlanmamış maddeler uzaklaştırıldıktan sonra, Hepc25 için spesifik biyotin bağlı antikor kuyucuğa eklenir. Yıkama işleminden sonra avidin bağlı Horseradish peroksidaz (HRP) kuyucuklara konulur. Bağlanmamış avidin-enzim reaktiflerinin yıkanarak uzaklaştırılmasından sonra, substrat çözeltisi kuyucuklara eklenir ve Hepc25 antikoruna bağlanma miktarıyla orantılı olarak renk değişimi gözlenir. Renk değişimi stop çözeltisi ile durdurulur ve ürünün absorbansı 540 nm veya 570 nm dalga boyu düzeltmesiyle 450 nm'de okunur. Standartların konsantrasyon değerlerine karşılık gelen absorbans değerleri kullanılarak standart grafiği çizilir. Numunelerin hepsidin konsantrasyonları standart grafiğinden hesaplanır.

#### Ayırklar

1. Hepc25 için spesifik antikorla ile kaplanmış 96 kuyucuklu plate
2. Standart (dondurularak kurutulmuş)
3. Biyotin antikor (100xderişik)
4. HRP-avidin (100xderişik)
5. Biyotin antikor seyreltici
6. HRP-avidin seyreltici
7. Örnek seyreltici
8. Yıkama tamponu (25xderişik)
9. TMB substratı
10. Stop çözeltisi

#### Yöntem

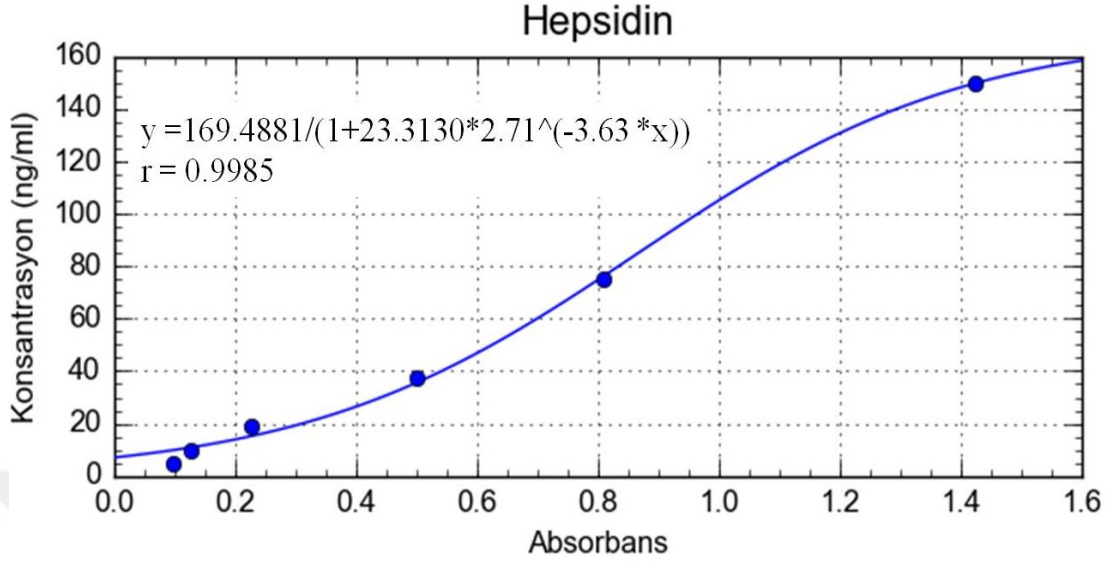
Her bir kuyucuğa 100 µl standart ve plazma numuneleri konuldu ve plate üzeri kapatılarak 37 °C'de 2 saat inkübe edildi. Sürenin bitiminde kuyucuklardaki sıvı, süzgeç kağıdı üzerine ters çevrilerek uzaklaştırıldı. Herhangi bir yıkama yapmadan kuyucuklara 100 µl seyreltilmiş biyotin antikor eklendi. Plate üzeri kapatılarak 37 °C'de 1 saat



inkübe edildi. Sürenin bitiminden sonra, kuyucuklar ters çevrilerek içeriği boşaltıldı. Kuyucuklar yıkama tamponu ile 5 kez yıkandı. Plate içeriği boşaltıldıktan sonra 100 µl seyreltilmiş HRP-avidin eklendi. Üzeri kapatılan plate 37 °C'de 1 saat inkübe edildi. Sürenin bitiminde, aspirasyon ve yıkama işlemleri 5 kez tekrarlandı. Her bir kuyucuğa 90 µl TMB substrat eklendi ve 37 °C'de karanlıkta 20 dakika inkübe edildi. Kuyucuklara 50 µl stop çözeltisi eklendi. Kuyucuklardaki numunelerin absorbans değerleri beş dakika içinde 570 nm dalga boyu düzeltmesiyle 450 nm'de okundu. Standartların konsantrasyon değerlerine karşılık gelen absorbans değerleri kullanılarak standart grafiği çizildi. Bu grafikten yararlanılarak numunelerin hepsinin konsantrasyonları hesaplandı.

### **Standart Hazırlanması**

Standart şişesine 1 ml numune seyreltici eklenecek 300 ng/ml'lik stok standart çözeltisi hazırlandı. Bu stok çözeltisinden 4,69, 9,38, 18,75, 37,5, 75, 150 ng/ml'lik konsantrasyonlarda çalışma standartları hazırlandı. Bu standartlar kit prosedüründe belirtildiği gibi çalışıldı ve absorbans değerleri okundu. Absorbans ölçümleri 570 nm dalga boyu düzeltmesiyle 450 nm dalga boyunda yapıldı. Tüm standartlar çift çalışıldı. Her bir standart için elde edilen iki absorbans değerinin ortalaması alındı. Mybiosource web sayfasında bulunan "Curve Expert" programı kullanılarak standartların konsantrasyon ve absorbans değerlerine göre dört parametrelili lojistik grafik çizildi. Elde edilen standart grafiği kullanılarak numunelerin absorbans değerlerine karşı gelen konsantrasyon değerleri hesaplandı. Bazı numuneler seyreltilerek çalışıldığı için, bu numunelerin standart grafiğinden hesaplanan konsantrasyonları seyreltme katsayıları ile çarpılarak sonuçlar bulundu.



Şekil 3.2. Hepsidin standart grafiği.

### 3.3.3. Büyüme Farklılaşma Faktörü-15 (GDF15) Ölçümü

Kontrol ve hasta gruplarındaki GDF15 konsantrasyonları kit (MyBiosource, San Diego, CA, USA Kat. No:MBS824466) kullanılarak sandwich ELISA yöntemi ile ölçüldü.

#### Prensip

GDF15 düzeyinin ölçümü antikorla kaplı 96 kuyucuklu plate kullanılarak yapılır. GDF15 ölçümü için hazırlanan standartlar ve plazma numuneleri kuyucuklar içine pipetlenir. GDF15 immobilize antikorlarla kuyucuklara bağlanır. Kuyucuklar yıkanır ve biyotinlenmiş anti-human GDF15 antikorunu ilave edilir. Bağlanmamış biyotinlenmiş antikorların yıkanarak uzaklaştırılmasından sonra, HRP-bağlı streptavidin kuyucuklara eklenir. Kuyucuklar tekrar yıkanır ve TMB substrat çözeltisi kuyucuklara eklenir. Bağlanan GDF15 oranına göre renk oluşur. Stop çözeltisi eklenmesiyle renk maviden sarıya dönüşür ve oluşan ürünün absorbansı 450 nm dalga boyunda okunur. Standartların konsantrasyon değerlerine karşı absorbans grafiği çizilir. Numunelerin GDF15 konsantrasyonları standart grafiğinden hesaplanır.

#### Ayırıcılar

1. Anti-human GDF15 antikorunu ile kaplanmış 96 kuyucuklu ELISA plate
2. GDF15 standardı
3. Biyotin işaretli dedeksiyon antikorunu (100x)

4. Streptavidin-HRP
5. Standart/örnek seyreltici
6. Dedeksiyon antikoru seyreltici
7. Streptavidin-HRP seyreltici
8. Yıkama tamponu (20x)
9. Stop çözeltisi

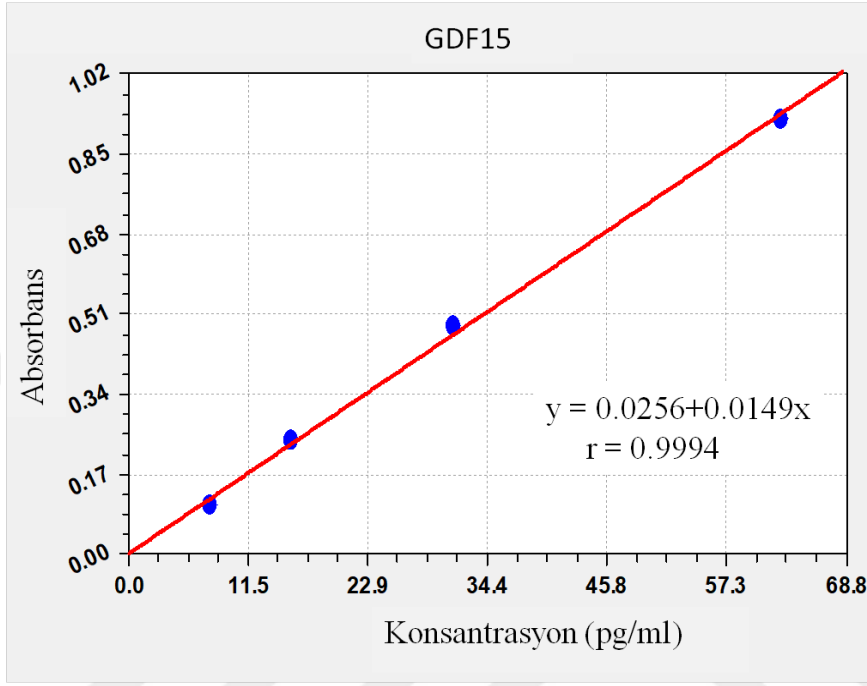
### **Yöntem**

Her bir kuyucuğa 100 µl standart ve plazma numuneleri eklendi. Plate üzeri kapatılarak oda ısında 90 dakika boyunca yavaşça çalkalanarak inkübe edildi. Sürenin bitiminde kuyucuklar ters çevrilerek içeriği boşaltıldı. Kuyucuklara yıkama tamponu konularak 2 dakika bekletildi. Yıkama işlemi 3 kez tekrarlandı. Her bir kuyucuğa 100 µl 100 kat seyreltilmiş biyotin işaretli dedeksiyon antikoru eklendi ve 37 °C'de 60 dakika inkübe edildi. Kuyucuklar yıkama çözeltisi ile 3 kez yıkandı. Plate içeriği temiz bir süzgeç kağıdı üzerine ters çevrilerek tamamen boşaltıldı. Her bir kuyucuğa 100 µl seyreltilmiş Streptavidin-HRP eklendi ve 37 °C'de 45 dakika inkübe edildi. Sürenin bitiminde kuyucuklar 5 kez yıkama çözeltisi ile yıkandı ve süzgeç kağıdı üzerine ters çevrilerek plate içeriği boşaltıldı. Tüm kuyucuklara 100 µl TMB substrat çözeltisi eklendi ve plate üzeri kapatılarak karanlıkta 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi. Kuyucuklara 100 µl stop çözeltisi eklendi ve 450 nm dalga boyunda absorbanslar okundu. Hesaplama yapılırken her bir tüpün (standart ve numune) ölçülen absorbans değerinden kör tüpünün absorbans değeri çıkarıldı. Standartların konsantrasyon değerlerine karşılık gelen absorbans değerleri kullanılarak standart grafiği çizildi. Bu grafikten yararlanılarak numunelerin GDF15 konsantrasyonları hesaplandı. Seyreltilen numunelerin grafikten bulunan konsantrasyonları seyreltme katsayıları ile çarpılarak son konsantrasyonları hesaplandı.

### **Standart Hazırlanması**

Lyofilize olarak temin edilen GDF15 standardına 1 ml standart seyreltici eklenerek stok standart çözeltisi (1000 pg/ml) hazırlandı. Bu stok standart solüsyonundan 7,8, 15,6, 31,25, 62,5 pg/ml'lik konsantrasyonlarda çalışma standartları hazırlandı. Bu standartlar kit prosedüründe belirtildiği gibi çalışıldı. Tüm standartlar çift çalışıldı. Her bir standart için elde edilen iki absorbans değerinin ortalaması alındı. Standartların

konsantrasyon değerlerine karşılık gelen absorbands değerleri kullanılarak standart grafiği çizildi. Bu grafik kullanılarak numunelerin GDF15 konsantrasyonları hesaplandı.



şekil 3.3. Büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) standart grafiği.

### 3.3.4. Diğer Laboratuvar Tetkikleri

Tüm bireylerin tam kan sayımları (hemogram) EDTA'lı tüplere alınan kan örneklerinde Advia 120 cihazı kullanılarak yapıldı. Sağlıklı bireyler ve talasemi taşıyıcılarının hemoglobin elektroforezleri EDTA'lı kan örneklerinde yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (HPLC) yöntemi ile Bio-Rad Varyant II cihazı kullanılarak yapıldı. Bireylerin serum ferritin konsantrasyonları Siemens Centaur XP cihazı kullanılarak kemilüminesans yöntemi ile niceliksel olarak ölçüldü. Bireylerin serum örneklerinde transferrin ve hs-CRP düzeyleri nefelometrik yöntem kullanılarak ölçüldü. Serum demir konsantrasyonu, serum ALT ve AST aktiviteleri Siemens Advia 2400 kullanılarak ölçüldü. Eritropoetin aktivitesi immulite 2000 cihazı kullanılarak ölçüldü. Bu testlerin ölçümü Akdeniz Üniversitesi Hastanesi Merkez Laboratuvarı'ndan hizmet alımı şeklinde yapıldı.

### 3.4. İstatistik

İstatistiksel analizler SPSS istatistik programı (Version 23.0, Chicago, IL, ABD) kullanılarak yapıldı. Her bir gruptaki olguların yaş ortalamaları Kruskal Wallis testi kullanılarak karşılaştırıldı. Gruplardaki olguların cinsiyetleri arasında fark olup olmadığına Ki-Kare testi kullanılarak bakıldı. Grupların MCV değerleri varyans analizi (ANOVA) yapılarak karşılaştırıldı. Gruplar arası hemoglobin ve hs-CRP değerleri Bonferroni Düzeltilmiş Mann Whitney U testi kullanılarak karşılaştırıldı. Ferritin, demir, transferrin, TDBK, EPO ve hepsidin düzeylerinin analizlerinin yapılmasında Kruskal Wallis testi kullanıldı ve sonrasında yapılan ikili karşılaştırmalarda Bonferroni Düzeltmeli Mann-Whitney U testi ( $\alpha:0,008$ ) kullanıldı. Grupların (hepsidin/ferritin)x1000 oranlarının karşılaştırılmasında Kruskal Wallis testi ve Independent Sample t-test kullanıldı. Gruplar arası ERFE ve GDF15 değerlerinin analizlerinde tek yönlü ANOVA testi kullanıldı. ANOVA sonrası ikili karşılaştırmalarda post hoc test olarak Dunnet T3 testi kullanıldı. Değişkenler arasındaki korelasyonları değerlendirmek için Spearman'ın Rho testi ve dağılım grafikleri kullanıldı. 0.05'ten küçük olan p değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen bireylerin klinik özellikleri ve laboratuvar bulguları Tablo 4.1'de özetlenmiştir. Gruplardaki bireylerin yaşları arasında fark bulunamamıştır. Gruplardaki bireylerin cinsiyetleri arasında da fark bulunamamıştır. Splenektomi yapılan talasemi major (TM) ve talasemi intermedia (TI) hastalarının sayıları 4'den daha az olduğu için hastalar splenektomi yapılan ve yapılamayan olarak gruplandırılmamıştır. Bu nedenle, çalışılan parametrelere splenektominin etkisinin olup olmadığı istatistiksel olarak gösterilememiştir.

Sağlıklı bireylerin hemoglobin (Hb) değerleri talasemi major, talasemi intermedia ve talasemi taşıyıcısı (TT) bireylerin hemoglobin değerlerinden daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Talasemi taşıyıcısı bireylerin hemoglobin değerleri, TM ve TI hastalarının Hb değerlerinden daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Talasemi intermedia hastalarının Hb değerleri, TM hastalarının pretransfüzyon Hb değerlerinden daha düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Talasemi intermedia ve TT gruplarındaki bireylerin MCV değerleri, kontrol ve TM gruplarındaki bireylerin MCV değerlerinden daha düşük bulunmuştur ( $p<0.001$ ).

Talasemi major grubundaki bireylerin ALT aktiviteleri, TT grubundaki bireylerin ALT aktivitelerine göre daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Diğer gruplar arasında ALT aktivitesi bakımından istatistiksel bir fark bulunamamıştır. Talasemi intermedia grubunun AST aktivitesi, TT ve kontrol grubunun AST aktivitelerine göre daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Enfeksiyon ve enflamasyonu dışlamak için hs-CRP düzeylerine bakılmıştır. Talasemi intermedia hastalarının hs-CRP düzeyleri kontrol ( $p<0.05$ ), TT ( $p<0.005$ ) ve TM ( $p<0.05$ ) gruplarındaki bireylerin hs-CRP düzeylerinden daha yüksek bulunmuştur. Tüm grupların hs-CRP düzeyleri normal laboratuvar aralıklarında bulunmuştur.

**Tablo 4.1.** Kontrol ve talasemi gruplarındaki bireylerin (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) klinik özellikleri ve laboratuvar bulguları.

	<b>Kontrol (n=20)</b>	<b>TT (n=20)</b>	<b>TI (n=20)</b>	<b>TM (n=20)</b>	<b>p-değeri</b>	
Yaş (yıl, $\bar{x} \pm SEM$ )	14.23 $\pm$ 2.20	16.20 $\pm$ 2.81	14.13 $\pm$ 2.36	16.23 $\pm$ 2.28		
Cinsiyet (kız/erkek)	11 K / 9 E	12 K / 8 E	8 K / 12 E	10 K / 10 E		
Splenektomi yapılan olgu sayısı	-	-	3	3		
Transfüzyon sayısı ( $\bar{x}$ (minimum-maksimum))	-	-	7.4 (4-14) <sup>a</sup>	285 (12-950)		
Hb (g/dL, $\bar{x} \pm SEM$ )	13.35 $\pm$ 0.25	11.62 $\pm$ 0.32	9.01 $\pm$ 0.29	9.55 $\pm$ 0.29 <sup>b</sup>	p <sub>1</sub> <0.001 p <sub>3</sub> <0.05 p <sub>5</sub> <0.001	p <sub>2</sub> <0.001 p <sub>4</sub> <0.001 p <sub>6</sub> <0.001
MCV (fL, $\bar{x} \pm SEM$ )	84.26 $\pm$ 1.21	66.41 $\pm$ 0.91	69.19 $\pm$ 1.80	81.76 $\pm$ 0.78	p <sub>1</sub> <0.001 p <sub>4</sub> <0.001	p <sub>3</sub> <0.001 p <sub>5</sub> <0.001
Lökosit (BİN/mm, <sup>3</sup> $\bar{x} \pm SEM$ )	7.05 $\pm$ 0.39	7.79 $\pm$ 0.39	11.77 $\pm$ 1.29	7.65 $\pm$ 1.05	p <sub>2</sub> <0.005 p <sub>4</sub> <0.001	p <sub>3</sub> <0.005
ALT (U/L, $\bar{x} \pm SEM$ )	20.53 $\pm$ 4.20	16.65 $\pm$ 1.80	17.8 $\pm$ 2.07	28 $\pm$ 3.92	p <sub>5</sub> <0.05	
AST (U/L, $\bar{x} \pm SEM$ )	24.32 $\pm$ 1.35	25.85 $\pm$ 1.44	39.15 $\pm$ 4.75	28.95 $\pm$ 2.35	p <sub>2</sub> <0.05	p <sub>4</sub> <0.05
hs-CRP (mg/dL, $\bar{x} \pm SEM$ )	0.12 $\pm$ 0.04	0.10 $\pm$ 0.05	0.22 $\pm$ 0.06	0.10 $\pm$ 0.03	p <sub>2</sub> <0.005 p <sub>4</sub> <0.05	p <sub>3</sub> <0.05

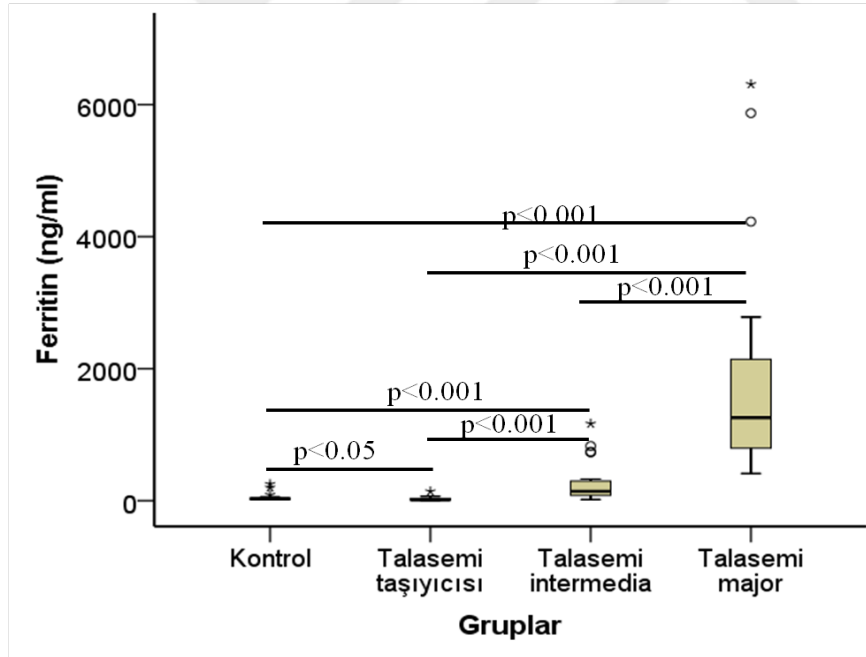
TT, talasemi taşıyıcısı; TI, talasemi intermedia; TM, talasemi major; Hb, hemoglobin; MCV, ortalama eritrosit hacmi; hs-CRP, yüksek sensitif C-reaktif protein; K, kız; E,erkek;  $\bar{x} \pm SEM$ , ortalama  $\pm$  standart hata. <sup>a</sup> Yalnızca 5 hastanın bilgileridir. Diğer TI hastaları hiç transfüzyon almamıştır. <sup>b</sup>TM hastalarının transfüzyon öncesi Hb değerleri. **p<sub>1</sub>**:kontrol ile TT; **p<sub>2</sub>**:TT ile TI; **p<sub>3</sub>**: TI ileTM; **p<sub>4</sub>**: kontrol ile TI; **p<sub>5</sub>**:TT ile TM; **p<sub>6</sub>**:kontrol ile TM gruplarının istatistiksel karşılaştırılması.

#### 4.1. Demir Parametreleri

Tüm grupların ferritin, demir, transferrin ve total demir bağlama kapasiteleri (TDBK) Tablo 4.2’de gösterilmiştir.

##### 4.1.1. Ferritin Konsantrasyonları

Tüm grupların ferritin konsantrasyonları Tablo 4.2 ve Şekil 4.1’de gösterilmiştir. Talasemi taşıyıcı grubunda bulunan bireylerin ferritin konsantrasyonları, kontrol grubundaki bireylerin ferritin konsantrasyonlarına göre daha düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ). Talasemi intermedia hastalarının ferritin konsantrasyonu, TT ve kontrol gruplarındaki bireylerin ferritin konsantrasyonlarından daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Talasemi major grubunda bulunan bireylerin ferritin konsantrasyonu, diğer üç gruptaki (TI,TT ve kontrol) bireylerin ferritin konsantrasyonlarından daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.001$ ).



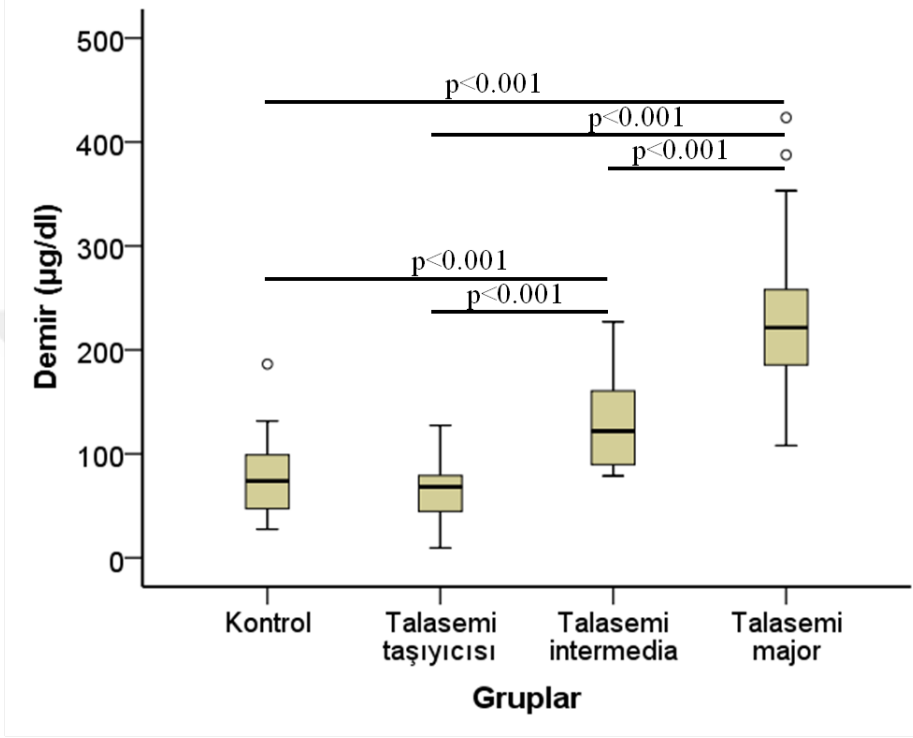
Şekil 4.1. Kontrol ve talasemi gruplarının (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) ferritin konsantrasyonları.

##### 4.1.2. Demir Konsantrasyonları

Tüm grupların demir konsantrasyonları Tablo 4.2’de ve Şekil 4.2’de gösterilmiştir. Talasemi taşıyıcısı ve kontrol gruplarının demir konsantrasyonları arasında istatistiksel fark bulunamamıştır. Talasemi major ve TI gruplarındaki bireylerin demir konsantrasyonları, TT ve kontrol gruplarındaki bireylerin demir konsantrasyonlarına



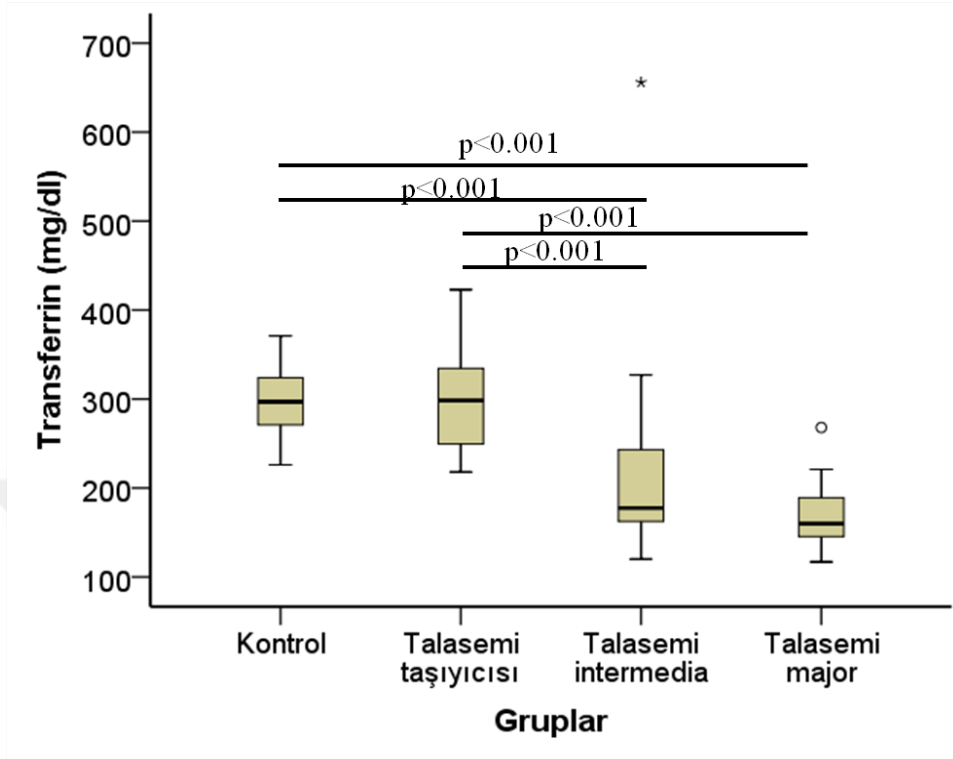
göre daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Talasemi major hastalarının demir konsantrasyonları, TI hastalarının demir konsantrasyonlarından daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.001$ ).



Şekil 4.2. Kontrol ve talasemi gruplarının (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) demir konsantrasyonları.

#### 4.1.3. Transferrin Konsantrasyonları

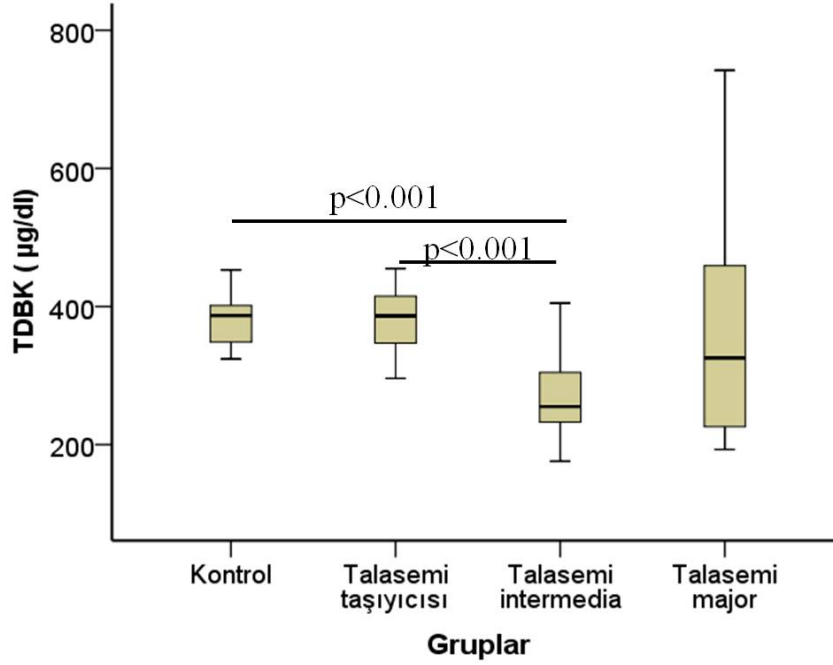
Tüm grupların transferrin konsantrasyonları Tablo 4.2 ve Şekil 4.3'de gösterilmiştir. Talasemi taşıyıcısı grubundaki bireylerin transferrin konsantrasyonları ile kontrol grubundaki bireylerin transferrin konsantrasyonları arasında istatistiksel fark bulunamamıştır. Talasemi major ve TI gruplarındaki bireylerin transferrin konsantrasyonları, TT ve kontrol gruplarının transferrin konsantrasyonlarına göre daha düşük bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Talasemi major grubundaki bireylerin transferrin konsantrasyonları ile TI grubundaki bireylerin transferrin konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.



Şekil 4.3. Kontrol ve talasemi gruplarının (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) transferrin konsantrasyonları.

#### 4.1.4. Total Demir Bağlama Kapasiteleri

Tüm grupların total demir bağlama kapasite (TDBK) konsantrasyonları Tablo 4.2 ve Şekil 4.4'de gösterilmiştir. Talasemi intermedia grubundaki bireylerin TDBK konsantrasyonları, TT ve kontrol grubundaki bireylerin TDBK konsantrasyonlarından daha düşük bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Talasemi major hastalarının TDBK konsantrasyonları ile TI, TT ve kontrol gruplarındaki bireylerin TDBK konsantrasyonları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunamamıştır.



**Şekil 4.4.** Kontrol ve talasemi gruplarının (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) total demir bağlama kapasiteleri (TDBK, total demir bağlama kapasitesi).

#### **4.2. Eritropoietin, Eritroferron, Hepsidin ve Büyüme Farklılaşma Faktörü-15 Düzeyleri**

Tüm grupların eritropoietin (EPO) aktiviteleri ve eritroferron (ERFE), hepsidin ve büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) konsantrasyonları Tablo 4.2'de gösterilmiştir.

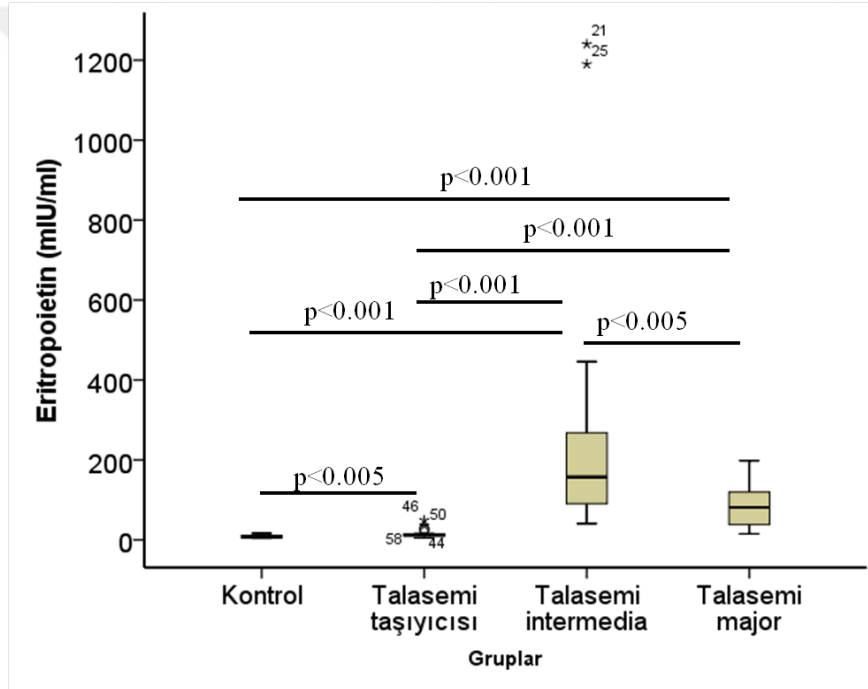
**Tablo 4.2.** Kontrol ve talasemi gruplarındaki bireylerin (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) demir ve ilişkili biyokimyasal parametreleri.

Parametreler	Kontrol (n=20)	TT (n=20)	TI <sup>a</sup> (n=20)	TM (n=20)	p - değeri
Ferritin (ng/mL, $\bar{x} \pm SEM$ ) (minimum - maksimum)	51.24 $\pm$ 14.00 (14.50 - 252.00)	27.49 $\pm$ 6.98 (4.6 - 141.30)	279.51 $\pm$ 72.19 (17.70 - 1167.00)	1876.33 $\pm$ 380.49 (411.50 - 6309.60)	p <sub>1</sub> < 0.05 p <sub>2</sub> < 0.001 p <sub>3</sub> < 0.001 p <sub>4</sub> < 0.001 p <sub>5</sub> < 0.001 p <sub>6</sub> < 0.001
Demir ( $\mu$ g/dL, $\bar{x} \pm SEM$ ) (minimum - maksimum)	77.87 $\pm$ 8.60 (27.40 - 186.40)	65.37 $\pm$ 6.31 (9.50 - 127.30)	131.06 $\pm$ 10.56 (78.80 - 227.00)	233.77 $\pm$ 17.59 (108.00 - 423.50)	p <sub>2</sub> < 0.001 p <sub>3</sub> < 0.001 p <sub>4</sub> < 0.001 p <sub>5</sub> < 0.001 p <sub>6</sub> < 0.001
Transferrin (mg/dL, $\bar{x} \pm SEM$ ) (minimum - maksimum)	296.10 $\pm$ 8.01 (226.00 - 371.00)	297.20 $\pm$ 12.58 (218.02 - 423.00)	216.35 $\pm$ 25.93 (120.00 - 655.90)	169.15 $\pm$ 8.05 (117.00 - 268.00)	p <sub>2</sub> < 0.001 p <sub>4</sub> < 0.001 p <sub>5</sub> < 0.001 p <sub>6</sub> < 0.001
TDBK ( $\mu$ g/dL, $\bar{x} \pm SEM$ ) (minimum - maksimum)	379.35 $\pm$ 7.40 (323.00 - 453.00)	380.95 $\pm$ 10.27 (296.00 - 455.00)	267.25 $\pm$ 13.40 (176.00 - 405.00)	369.90 $\pm$ 39.17 (193.00 - 742.00)	p <sub>2</sub> < 0.001 p <sub>4</sub> < 0.001
EPO (mIU/mL, $\bar{x} \pm SEM$ ) (minimum - maksimum)	8.42 $\pm$ 0.73 (4.28 - 16.50)	15.69 $\pm$ 2.43 (4.76 - 49.10)	273.08 $\pm$ 75.49 (40.60 - 1240.00)	83.71 $\pm$ 11.15 (15.00 - 198.00)	p <sub>1</sub> < 0.005 p <sub>2</sub> < 0.001 p <sub>3</sub> < 0.005 p <sub>4</sub> < 0.001 p <sub>5</sub> < 0.001 p <sub>6</sub> < 0.001
ERFE (pg/mL, $\bar{x} \pm SEM$ ) (minimum - maksimum)	4680.61 $\pm$ 181.79 (3385.79 - 5732.97)	4811.27 $\pm$ 218.57 (2901.78 - 6533.24)	8254.75 $\pm$ 721.53 (3053.20 - 13550.06)	5785.02 $\pm$ 389.60 (3018.61 - 9104.73)	p <sub>2</sub> < 0.05 p <sub>3</sub> < 0.05 p <sub>4</sub> < 0.01
Hepsidin (ng/mL, $\bar{x} \pm SEM$ ) (minimum - maksimum)	16.89 $\pm$ 1.07 (11.15 - 31.50)	16.38 $\pm$ 1.31 (10.14 - 32.71)	60.01 $\pm$ 16.17 (9.72 - 290.57)	25.47 $\pm$ 3.60 (9.51 - 81.54)	p <sub>2</sub> < 0.005 p <sub>4</sub> < 0.01 p <sub>5</sub> < 0.05 p <sub>6</sub> < 0.05
(Hepsidin/ferritin)x1000, $\bar{x} \pm SEM$ (minimum - maksimum)	612.85 $\pm$ 75.53 (55.67 - 1060.69)	1098.40 $\pm$ 175.96 (148.55 - 2770.00)	526.75 $\pm$ 182.54 (12.83 - 3494.90)	23.06 $\pm$ 5.69 (4.15 - 104.10)	P <sub>2</sub> < 0.05 P <sub>3</sub> < 0.005 p <sub>5</sub> < 0.001 p <sub>6</sub> < 0.001
GDF15 (pg/mL, $\bar{x} \pm SEM$ ) (minimum - maksimum)	194.66 $\pm$ 14.14 (92.47 - 319.41)	223.40 $\pm$ 17.86 (125.93 - 425.95)	20325.65 $\pm$ 1932.29 (7286.27 - 35905.88)	19313.12 $\pm$ 2207.57 (2233.66 - 37617.65)	p <sub>2</sub> < 0.001 p <sub>4</sub> < 0.001 p <sub>5</sub> < 0.001 p <sub>6</sub> < 0.001

TT, talasemi taşıyıcısı; TI, talasemi intermedia; TM, talasemi major; TDBK, total demir bağlama kapasitesi; EPO, eritropoetin; ERFE, eritroferron; GDF15, büyüme farklılaşma faktörü,  $\bar{x} \pm SEM$ , ortalama  $\pm$  standart hata. <sup>a</sup>, Hastalar çalışma başlangıcının 6 ay öncesine kadar herhangi bir transfüzyon almadı. Değerler ortalama (minimum-maksimum) olarak verildi. **p<sub>1</sub>**: Kontrol ile TT; **p<sub>2</sub>**: TT ile TI; **p<sub>3</sub>**: TI ile TM; **p<sub>4</sub>**: Kontrol ile TI; **p<sub>5</sub>**: TT ile TM; **p<sub>6</sub>**: Kontrol ile TM gruplarının istatistiksel karşılaştırılması.

#### 4.2.1. Eritropoetin (EPO) Aktiviteleri

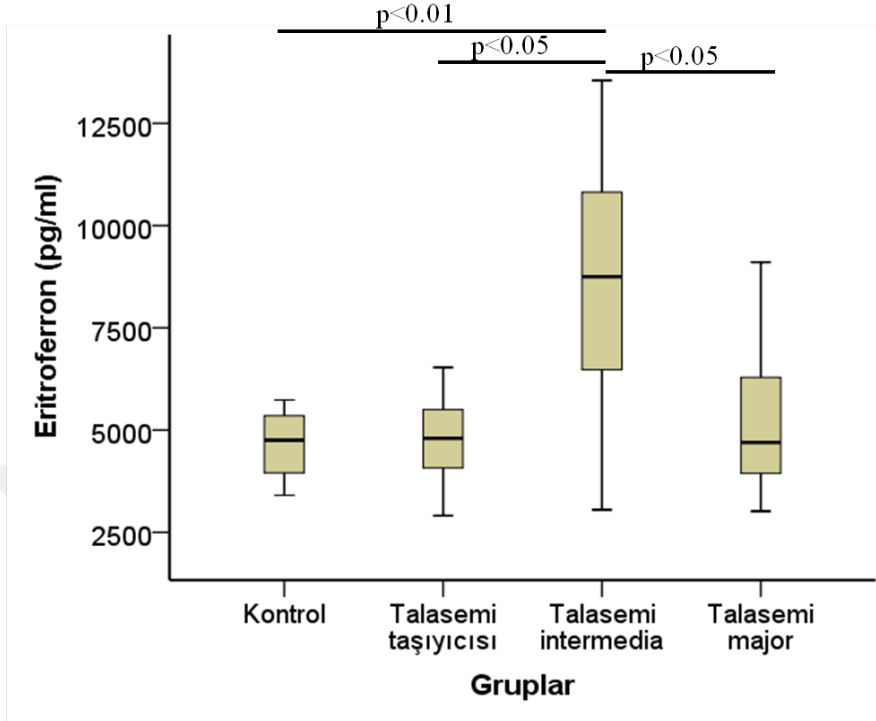
Tüm grupların eritropoetin aktiviteleri Tablo 4.2 ve Şekil 4.5’de gösterilmiştir. Talasemi major ve TI gruplarındaki bireylerin EPO aktivitelerinin, TT ve kontrol gruplarındaki bireylerin EPO aktivitelerinden daha yüksek olduğu bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Talasemi taşıyıcısı bireylerin EPO aktiviteleri, kontrol grubundaki bireylerin EPO aktivitelerinden daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.005$ ). Talasemi intermedia grubundaki bireylerin EPO aktiviteleri, TM grubundaki bireylerin EPO aktivitelerine göre daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.005$ ).



Şekil 4.5. Kontrol ve talasemi gruplarının (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) eritropoetin aktivitelerinin kutu grafiği ile gösterilmesi (kutular çeyrekler arası aralığı, ortancayı, minimum ve maksimum değerleri göstermektedir).

#### 4.2.2. Eritroferron (ERFE) Konsantrasyonları

Tüm grupların eritroferron konsantrasyonları Tablo 4.2 ve Şekil 4.6’de gösterilmiştir. Talasemi intermedia grubundaki bireylerin ERFE konsantrasyonu TM ( $p<0.05$ ), TT ( $p<0.05$ ) ve kontrol ( $p<0.01$ ) gruplarındaki bireylerin ERFE konsantrasyonlarından daha yüksek bulunmuştur. Diğer grupların (TT, TM ve kontrol) ERFE konsantrasyonları arasında istatistiksel bir fark bulunamamıştır.

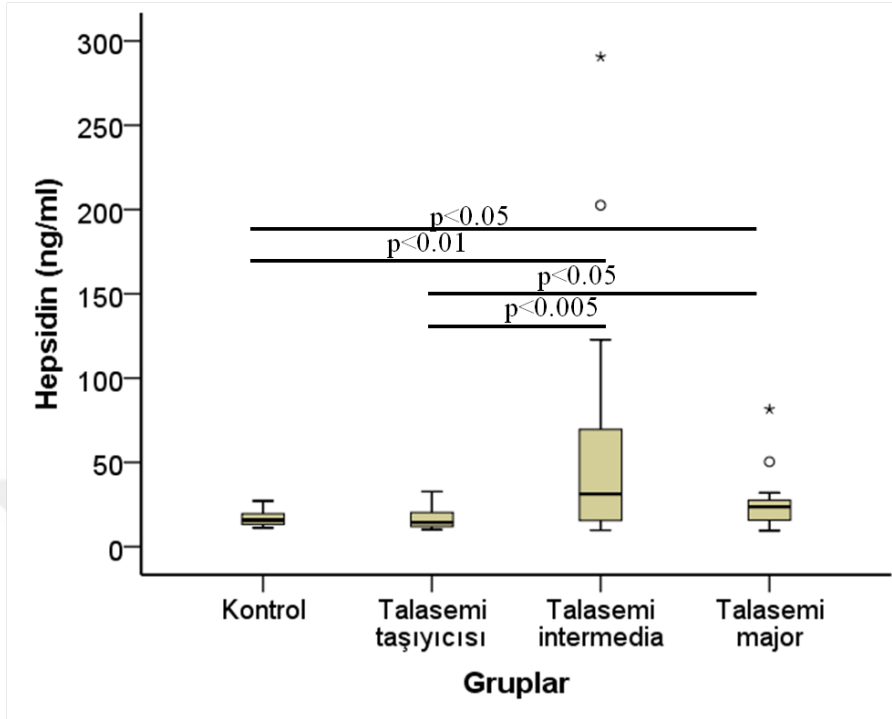


**Şekil 4.6.** Kontrol ve talasemi gruplarının (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) eritroferon konsantrasyonlarının kutu grafiği ile gösterilmesi (kutular çeyrekler arası aralığı, ortancayı, minimum ve maksimum değerleri göstermektedir).

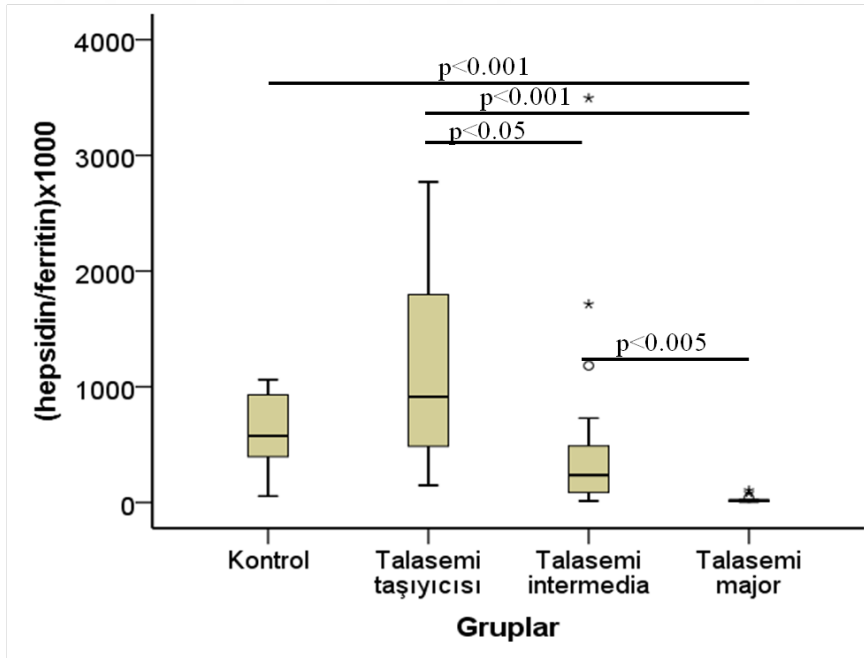
#### 4.2.3. Hepsidin Konsantrasyonları

Tüm grupların hepsidin konsantrasyonları Tablo 4.2 ve Şekil 4.7’de gösterilmiştir. Talasemi intermedia grubundaki bireylerin hepsidin konsantrasyonları, TT ( $p<0.005$ ) ve kontrol ( $p<0.01$ ) gruplarındaki bireylerin hepsidin konsantrasyonlarına göre daha yüksek bulunmuştur. Talasemi major grubundaki bireylerin hepsidin konsantrasyonları, TT ve kontrol gruplarındaki bireylerin hepsidin konsantrasyonlarından daha yüksek bulunmuştur ( $p<0.05$ ).

Ayrıca, tüm grupların hepsidin konsantrasyonları, ferritin konsantrasyonlarına oranlanarak ((hepsidin/ferritin)x1000) da hesaplamalar yapılmıştır (Tablo 4.2, Şekil 4.8). Talasemi major grubunda ((hepsidin/ferritin)x1000) oranı, kontrol ve TT gruplarındaki bireylerin (hepsidin/ferritin)x1000 oranlarından daha düşük bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Talasemi major grubunda ((hepsidin/ferritin)x1000) oranı, TI grubundaki bireylerin (hepsidin/ferritin)x1000 oranlarından daha düşük bulunmuştur ( $p<0.005$ ). Talasemi intermedia grubunun ((hepsidin/ferritin)x1000) oranı, TT grubunun ((hepsidin/ferritin)x1000) oranına göre daha düşük bulunmuştur ( $p<0.05$ ).



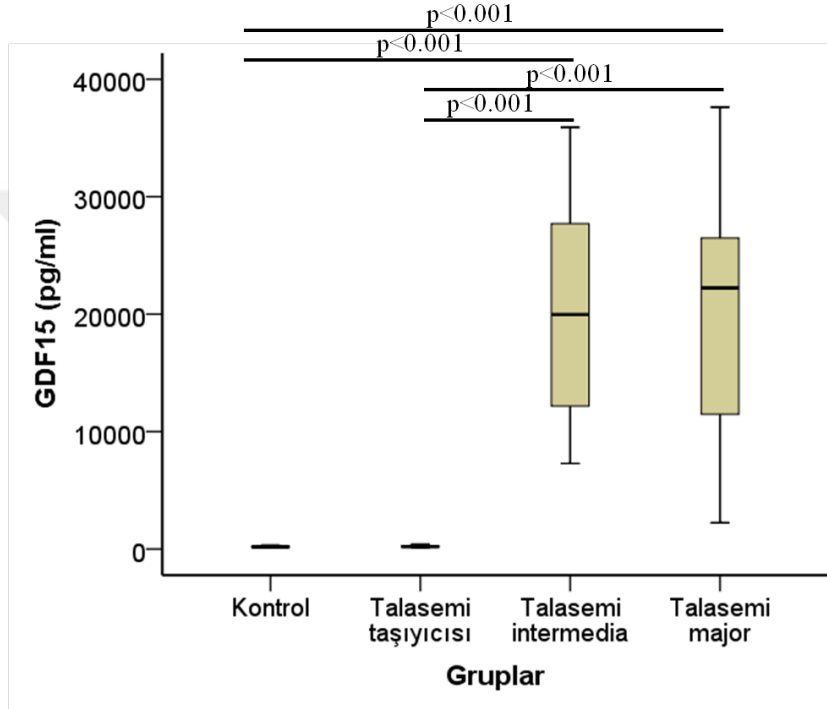
**Şekil 4.7.** Kontrol ve talasemi gruplarının (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) hepsidin konsantrasyonlarının kutu grafiği ile gösterilmesi (kutular çeyrekler arası aralığı, ortanca, minimum ve maksimum değerleri göstermektedir).



**Şekil 4.8.** Kontrol ve talasemi gruplarının (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) ((hepsidin/ferritin)x1000) oranlarının kutu grafiği ile gösterilmesi (kutular çeyrekler arası aralığı, ortanca, minimum ve maksimum değerleri göstermektedir).

#### 4.2.4. Büyüme Farklılaşma Faktörü-15 (GDF15) Konsantrasyonları

Tüm grupların büyüme farklılaşma faktörü-15 konsantrasyonları Tablo 4.2 ve Şekil 4.9'de gösterilmiştir. Talasemi major ve TI gruplarındaki bireylerin GDF15 konsantrasyonları, TT ( $p<0.001$ ) ve kontrol ( $p<0.001$ ) gruplarındaki bireylerin GDF15 konsantrasyonlarından daha yüksek bulunmuştur.



Şekil 4.9. Kontrol ve talasemi gruplarının (talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) konsantrasyonlarının kutu grafiği ile gösterilmesi (kutular çeyrekler arası aralığı, ortancayı, minimum ve maksimum değerleri göstermektedir).

#### 4.3. Korelasyonlar

##### 4.3.1. Tüm Gruplardaki Bireylerde Görülen Korelasyonlar

Tüm gruplardaki bireylerin hemoglobin konsantrasyonları ve MCV değerleri arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.329$ ,  $p<0.005$ ). Hemoglobin ve transferrin konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.586$ ,  $p<0.0001$ ). Bireylerin hemoglobin konsantrasyonları ve total demir bağlama kapasiteleri arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.417$ ,  $p<0.0001$ ). Tüm gruplardaki bireylerin hemoglobin ve demir konsantrasyonları arasında negatif korelasyon bulunmuştur ( $r = -0.448$ ,  $p<0.0001$ ). Hemoglobin ve ferritin konsantrasyonları arasında negatif korelasyon bulunmuştur ( $r = -0.481$ ,  $p<0.0001$ ). Bireylerin hemoglobin konsantrasyonları ve eritropoetin aktiviteleri arasında negatif korelasyon bulunmuştur ( $r = -0.815$ ,  $p<0.0001$ ,

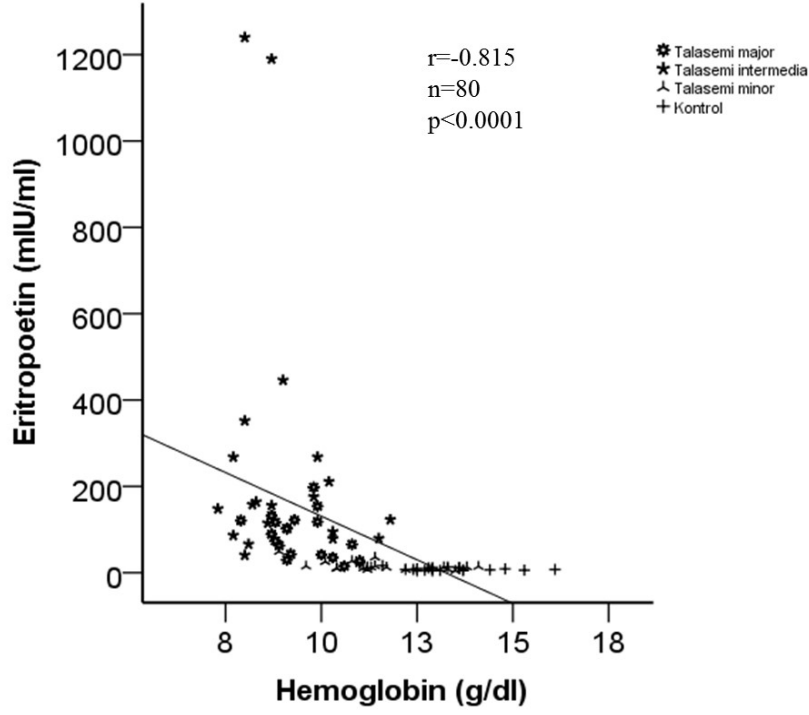


Şekil 4.10). Hemoglobin ve hepsidin konsantrasyonları arasında negatif korelasyon bulunmuştur ( $r = - 0,428$   $p < 0.0001$ ). Hemoglobin ve ERFE konsantrasyonları arasında negatif korelasyon bulunmuştur ( $r = - 0.362$ ,  $p < 0.0001$ ). Hemoglobin ve GDF15 konsantrasyonları arasında negatif korelasyon bulunmuştur ( $r = - 0.684$ ,  $p < 0.0001$ ).

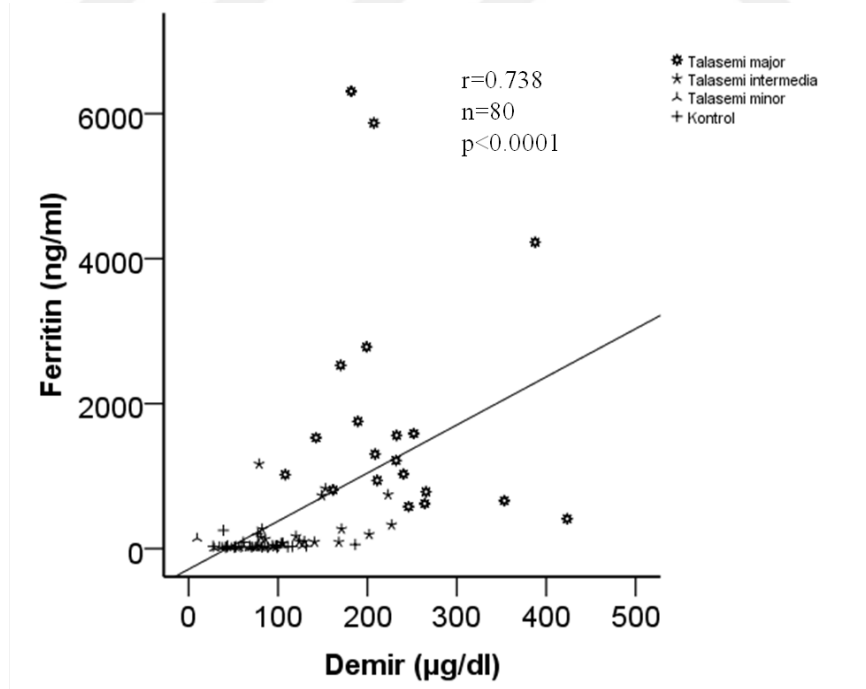
Tüm gruplardaki bireylerin demir konsantrasyonu ve ferritin konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.738$ ,  $p < 0.0001$ , Şekil 4.11). Demir ve EPO aktiviteleri arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.523$ ,  $p < 0.0001$ , Şekil 4.12). Serum demir ve hepsidin konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.391$ ,  $p < 0.0001$ , Şekil 4.13). Serum demir ve GDF15 konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.621$ ,  $p < 0.0001$ , Şekil 4.14).

Tüm gruplardaki bireylerin ferritin konsantrasyonları ve EPO aktiviteleri arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.543$ ,  $p < 0.0001$ , Şekil 4.15). Ferritin ve hepsidin konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.351$ ,  $p < 0.005$ , Şekil 4.16). Ferritin ve GDF15 konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.694$ ,  $p < 0.0001$ , Şekil 4.17).

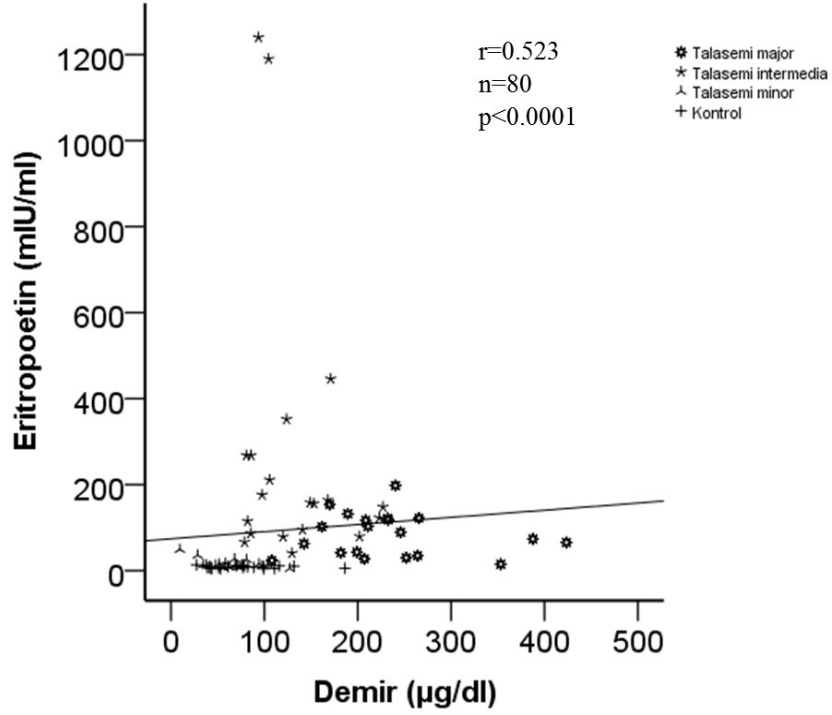
Tüm gruplardaki bireylerin EPO aktiviteleri ve ERFE konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.386$ ,  $p < 0.0001$ , Şekil 4.18). Eritropoetin aktiviteleri ve hepsidin konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.408$ ,  $p < 0.0001$ ). Eritropoetin aktiviteleri ve GDF15 konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.796$ ,  $p < 0.0001$ , Şekil 4.19). Tüm gruplardaki bireylerin GDF15 ve ERFE konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.365$ ,  $p < 0.0001$  Şekil 4.20). GDF15 ve hepsidin konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.366$ ,  $p < 0.005$ , Şekil 4.21).



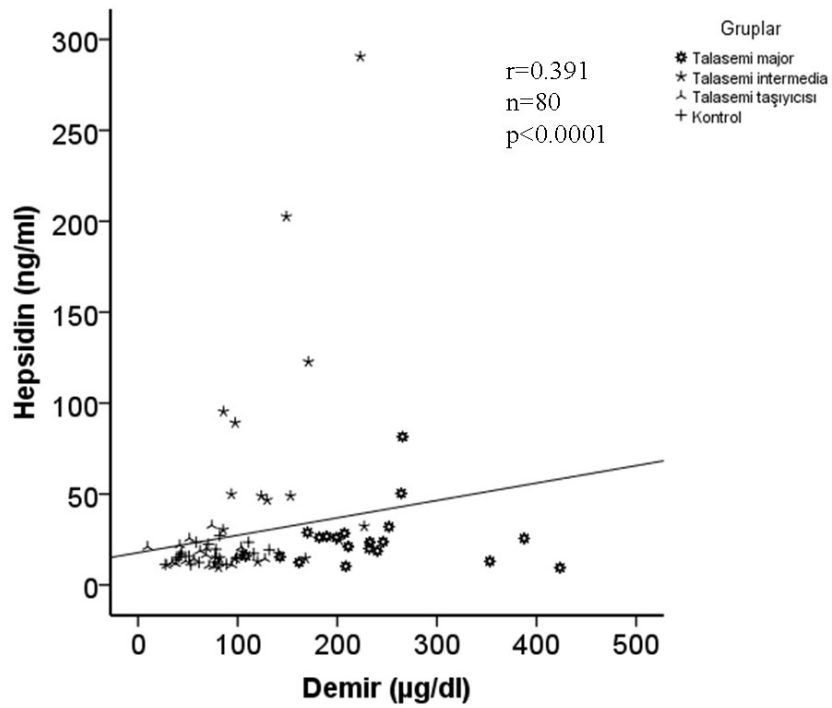
Şekil 4.10. Tüm gruplardaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) hemoglobin konsantrasyonları ve eritropoetin aktiviteleri arasındaki korelasyon.



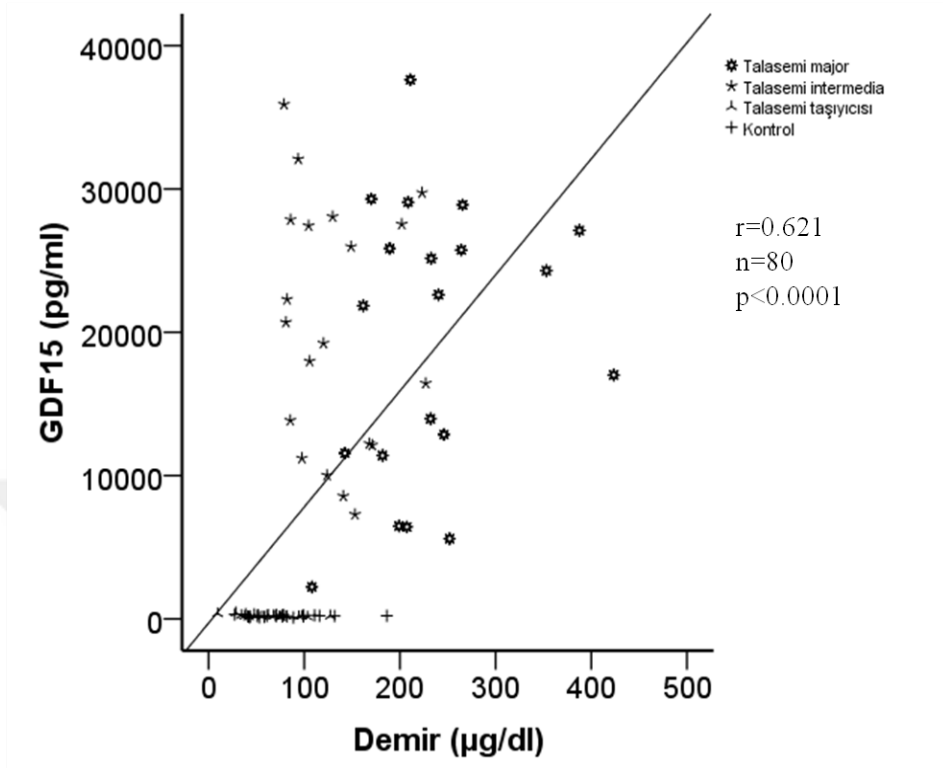
Şekil 4.11. Tüm gruplardaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) demir ve ferritin konsantrasyonları arasındaki korelasyon.



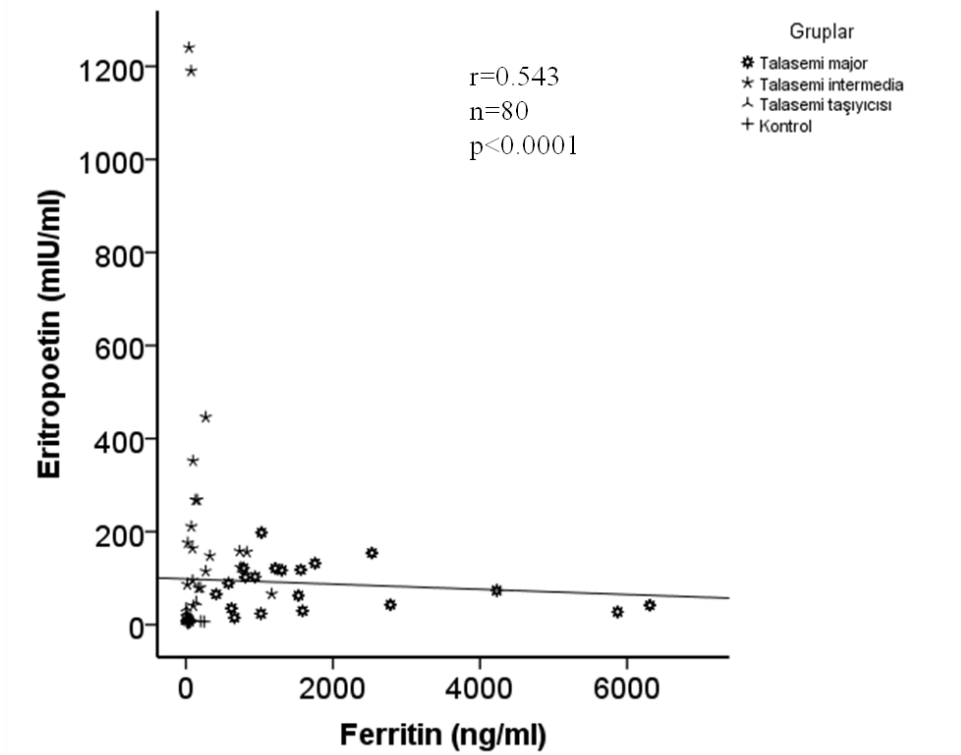
Şekil 4.12. Tüm gruplardaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) demir konsantrasyonları ve eritropoetin aktiviteleri arasındaki korelasyon.



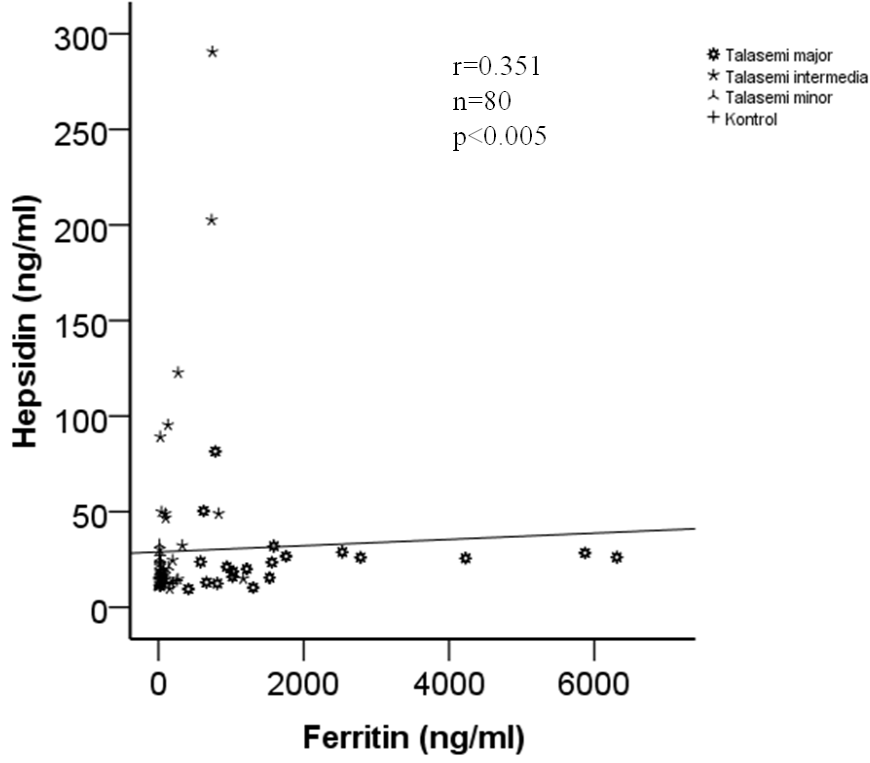
Şekil 4.13. Tüm gruplardaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) demir ve hepsidin konsantrasyonları arasındaki korelasyon.



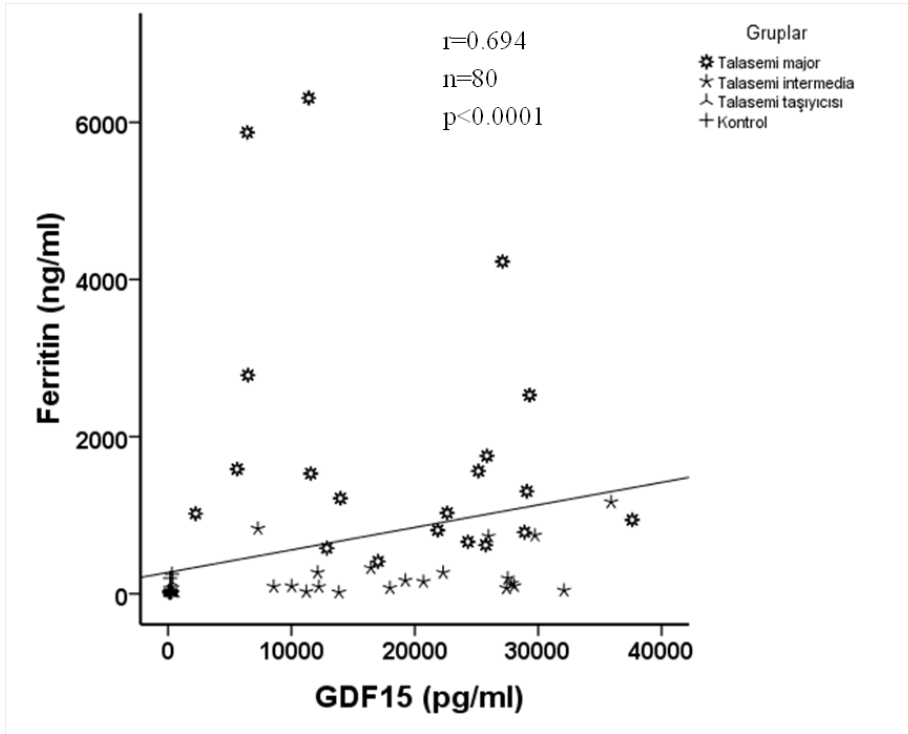
Şekil 4.14. Tüm gruplardaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) demir ve büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) konsantrasyonları arasındaki korelasyon.



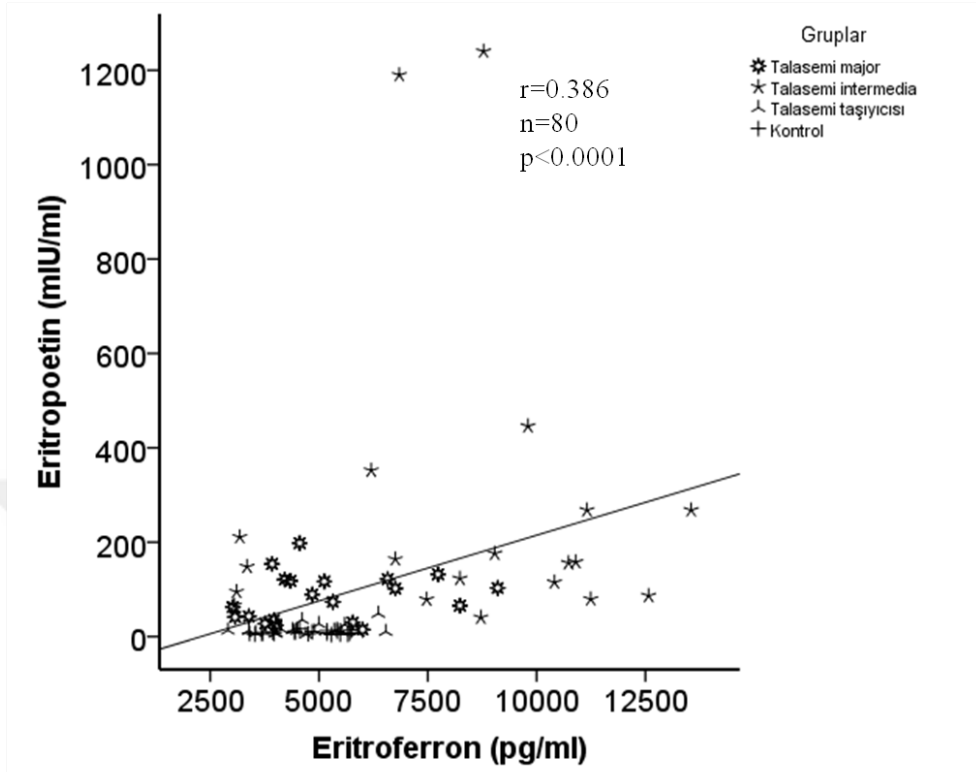
Şekil 4.15. Tüm gruplardaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) ferritin konsantrasyonları ve eritropoetin aktiviteleri arasındaki korelasyon.



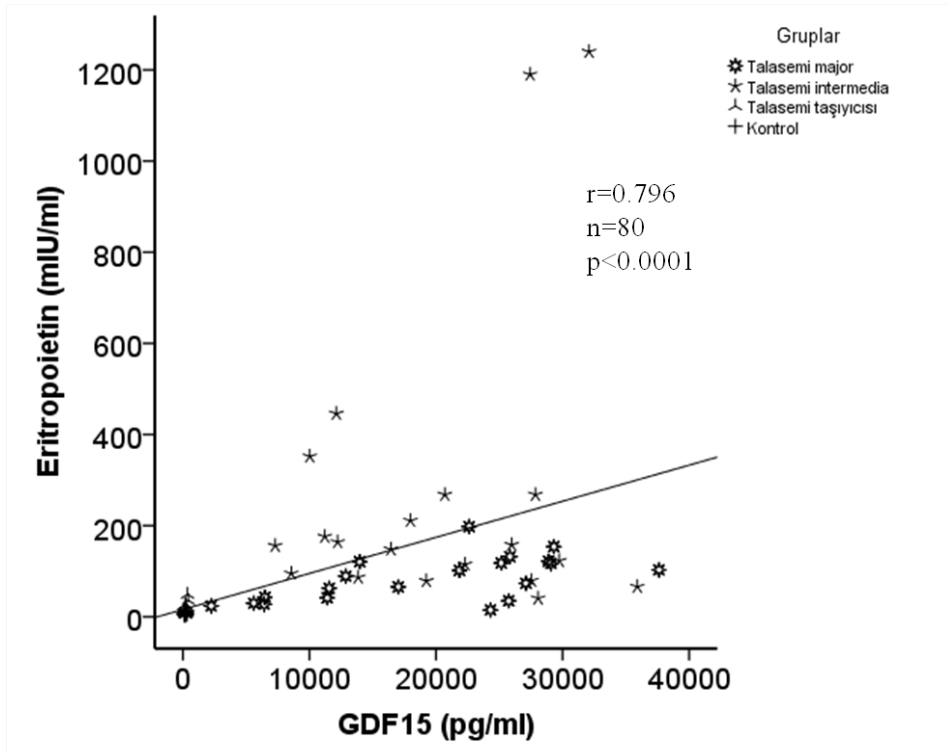
Şekil 4.16. Tüm gruplardaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) ferritin ve hepsidin konsantrasyonları arasındaki korelasyon.



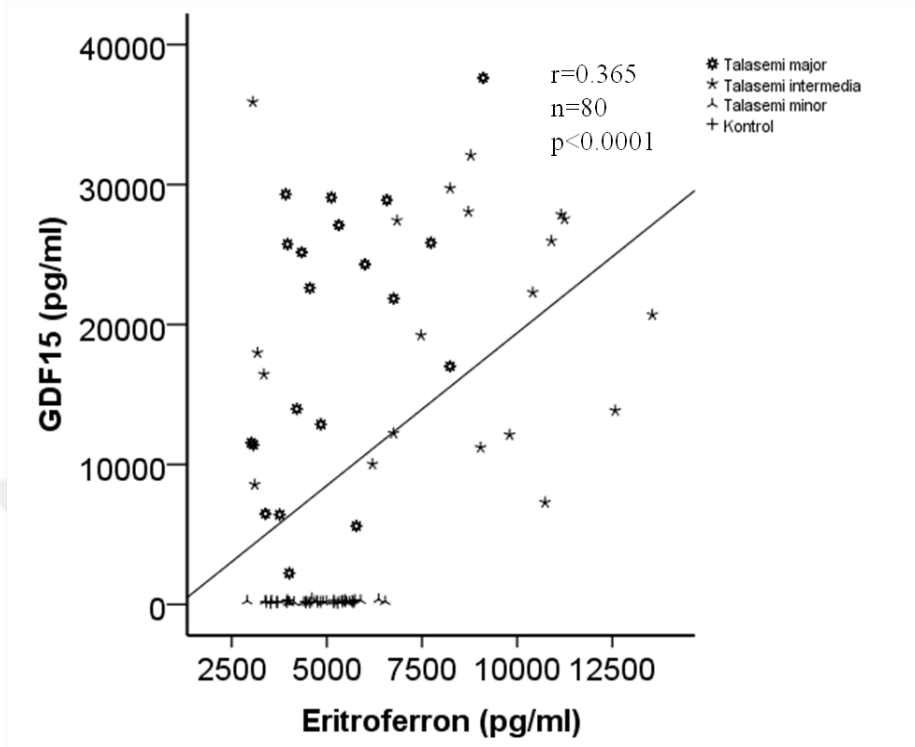
Şekil 4.17. Tüm gruplardaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) ferritin ve büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) konsantrasyonları arasındaki korelasyon.



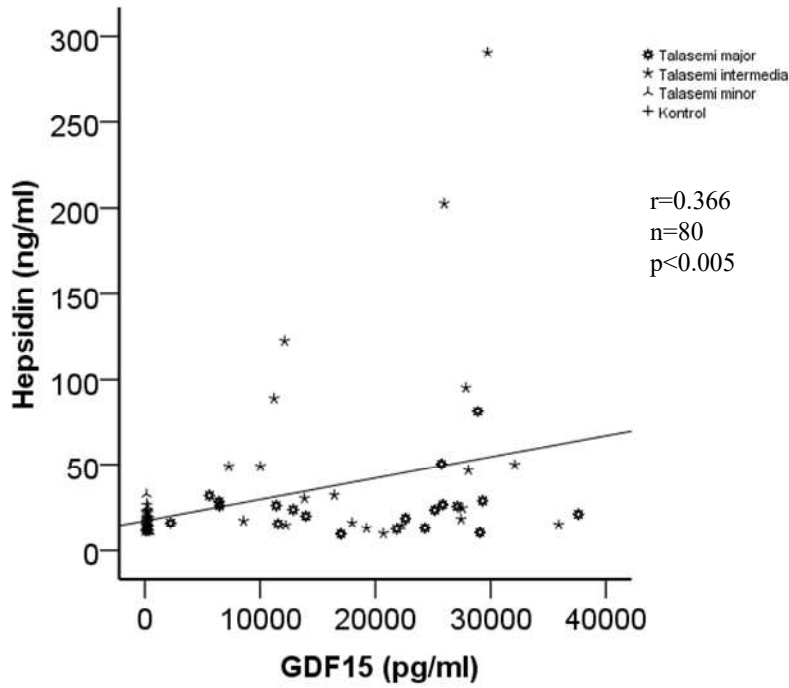
Şekil 4.18. Tüm gruplardaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) eritropoetin aktiviteleri ve eritroferron konsantrasyonları arasındaki korelasyon.



Şekil 4.19. Tüm gruplardaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) eritropoetin aktiviteleri ve büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) konsantrasyonları arasındaki korelasyon.



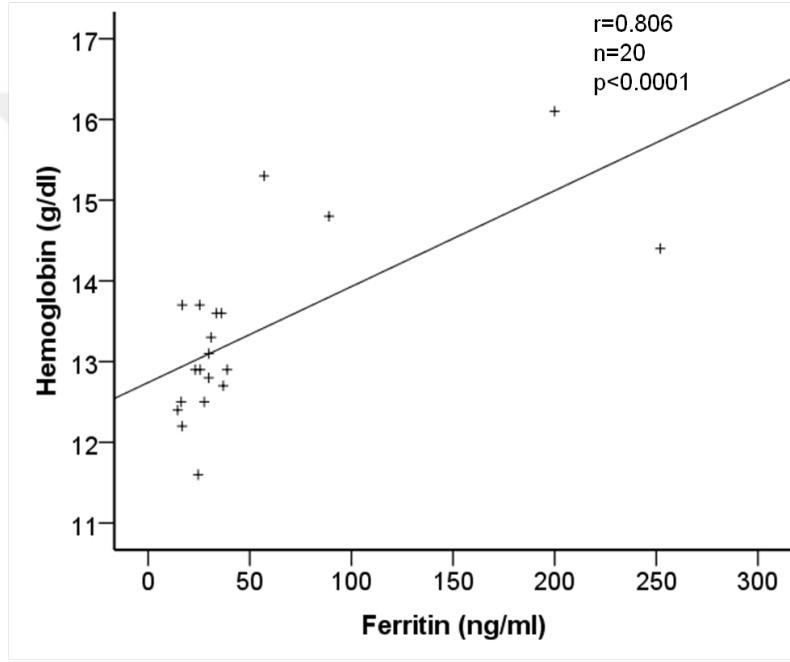
Şekil 4.20. Tüm gruplardaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) eritroferon ve büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) konsantrasyonları arasındaki korelasyon.



Şekil 4.21. Tüm gruplardaki bireylerin (kontrol, talasemi taşıyıcısı, talasemi intermedia ve talasemi major) hepsidin ve büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) konsantrasyonları arasındaki korelasyon.

#### 4.3.2. Kontrol Grubundaki Bireylerde Görülen Korelasyonlar

Kontrol grubunu oluşturan sağlıklı bireylerin ferritin ve hemoglobin konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.806$ ,  $p < 0.0001$ , Şekil 4.22). Ferritin konsantrasyonları ve MCV düzeyleri arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. ( $r = 0.657$ ,  $p < 0.005$ ). Kontrol grubundaki bireylerin ferritin ve GDF15 konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.441$ ,  $p < 0.05$ ).

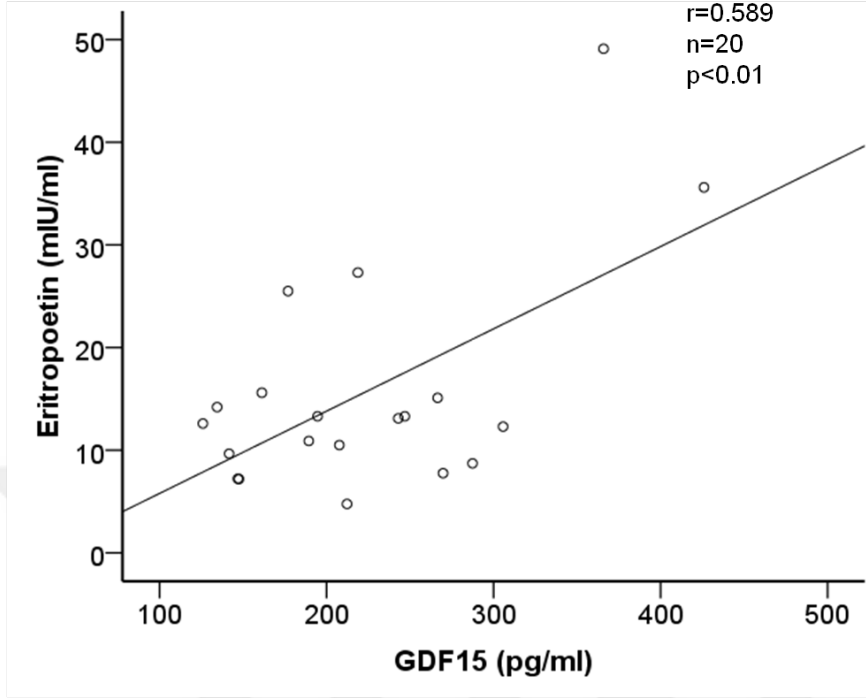


Şekil 4.22. Kontrol grubundaki bireylerin hemoglobin ve ferritin konsantrasyonları arasındaki korelasyon.

#### 4.3.3. Talasemi Taşıyıcısı Grubundaki Bireylerde Görülen Korelasyonlar

Talasemi taşıyıcılarının EPO aktiviteleri ve ferritin konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.505$ ,  $p < 0.05$ ). Eritropoetin aktiviteleri ve GDF15 konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.589$ ,  $p < 0.01$ , Şekil 4.23).

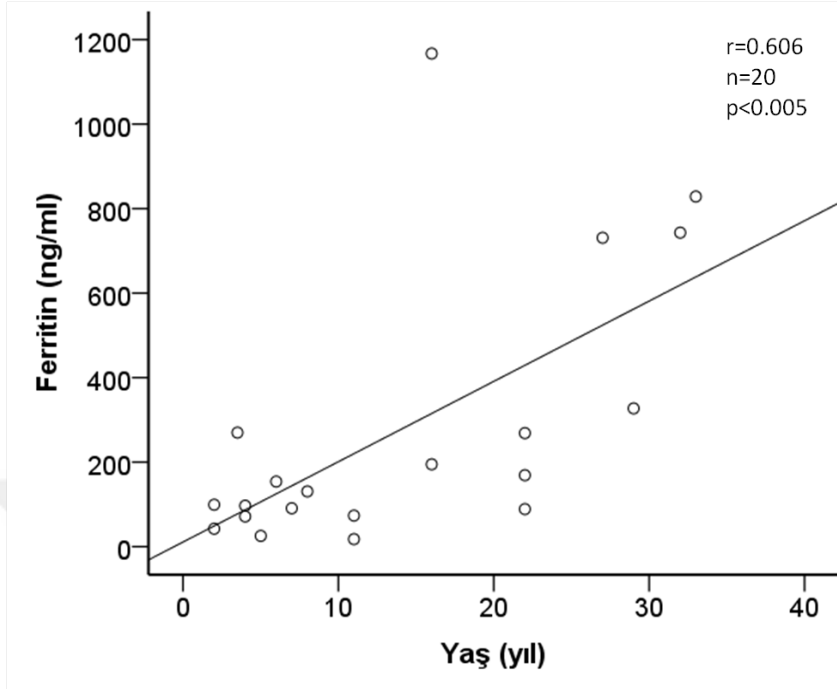




Şekil 4.23. Talasemi taşıyıcısı bireylerin eritropoetin aktiviteleri ve büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) konsantrasyonları arasındaki korelasyon.

#### 4.3.4. Talasemi İntermedia Grubundaki Bireylerde Görülen Korelasyonlar

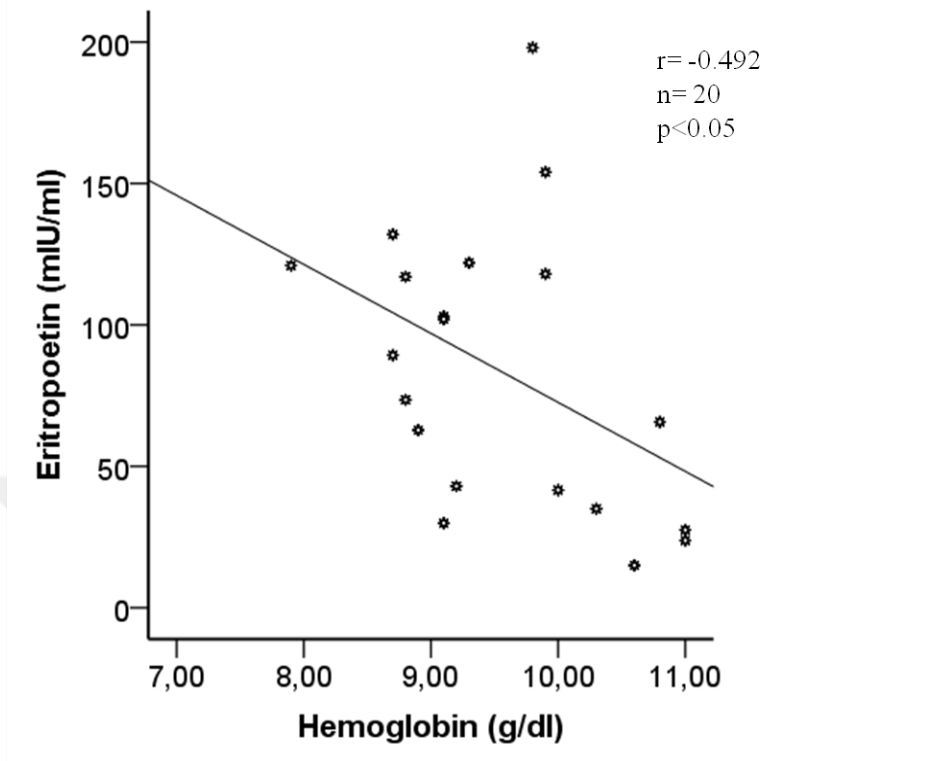
Talasemi intermedia hastalarının yaşları ve ferritin düzeyleri arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.606$ ,  $p<0.005$ , Şekil 4.24). Hastalarının yaşları ve TDBK değerleri arasında negatif korelasyon bulunmuştur ( $r = - 0.606$ ,  $p<0.005$ ). Hastaların yaşları ve ((hepsidin/ferritin)x1000) oranları arasında negatif korelasyon bulunmuştur ( $r = - 0.559$ ,  $p<0.05$ ). Bu gruptaki hastaların ferritin ve transferrin konsantrasyonları arasında negatif korelasyon bulunmuştur ( $r = - 0.575$ ,  $p<0.01$ ). Ferritin ve TDBK konsantrasyonları arasında negatif korelasyon bulunmuştur ( $r = - 0.567$ ,  $p<0.01$ ). Talasemi intermedia hastalarının ferritin konsantrasyonları, EPO aktiviteleri, hepsidin konsantrasyonları, ERFE ve GDF15 konsantrasyonları arasında herhangi bir korelasyon bulunamamıştır.



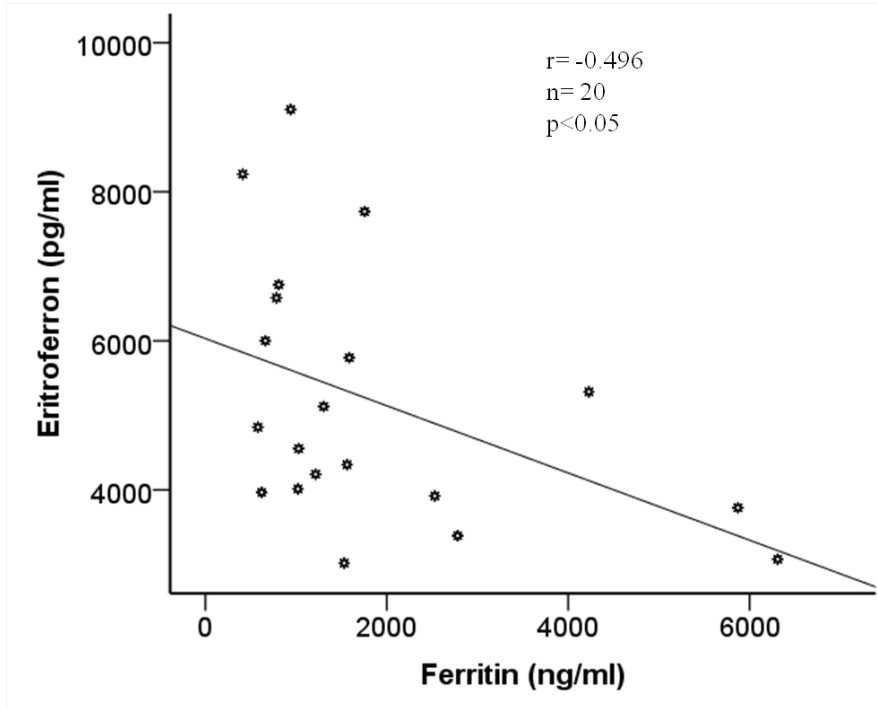
Şekil 4.24. Talasemi intermedia hastalarının yaşları ve ferritin konsantrasyonları arasındaki korelasyon.

#### 4.3.5. Talasemi Major Grubundaki Bireylerde Görülen Korelasyonlar

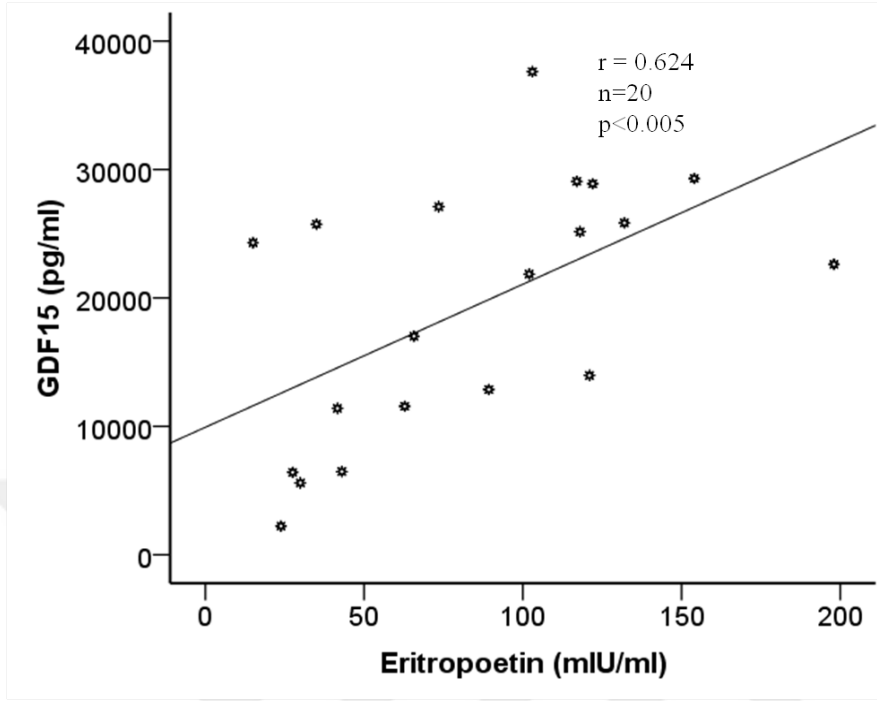
Talasemi major hastalarında pretransfüzyon hemoglobin konsantrasyonu ve eritropoetin aktiviteleri arasında negatif korelasyon bulunmuştur ( $r = - 0,492$   $p<0.05$ , Şekil 4.25). Bu hasta grubundaki bireylerde ferritin ve ERFE konsantrasyonları arasında negatif korelasyon bulunmuştur ( $r = - 0.496$ ,  $p<0.05$ , Şekil 4.26). Bu gruptaki bireylerin EPO aktiviteleri ve GDF15 konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r = 0.624$ ,  $p<0.005$ , Şekil 4.27).



Şekil 4.25. Talasemi major hastalarının hemoglobin konsantrasyonları ve eritropoetin aktiviteleri arasındaki korelasyon.



Şekil 4.26. Talasemi major hastalarının ferritin ve eritroferon konsantrasyonları arasındaki korelasyon.



Şekil 4.27. Talasemi major hastalarının eritropoetin aktiviteleri ve büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) konsantrasyonları arasındaki korelasyon.

## 5. TARTIŞMA

Beta-talasemi hastalarında, hemoglobinin beta-globin zincirlerindeki üretim eksikliğinden dolayı anemi ve hipoksi oluşur. Oluşan aneminin şiddetine bağlı olarak hastalar transfüzyon bağımlı olabilir ya da olmayabilir. Hastalığın ağır formu olan talasemi major (TM) hastaları, yaşamlarını devam ettirebilmek için düzenli olarak transfüzyon alırlar. Yapılan transfüzyonlarla TM hastalarındaki hipoksi durumu azaltılmakta ve kemik iliği baskılanmaktadır. Bu sayede inefektif eritropoez azalmakta, fakat hastalarda transfüzyona bağlı demir birikimi oluşmaktadır. Talasemi intermedia (TI) hastalarının klinik bulguları ve bu hastalardaki anemi, TM hastalarına göre daha hafiftir. Talasemi intermedia hastaları hiç transfüzyon almayabilir ya da aralıklarla transfüzyona ihtiyaç duyabilirler. Düzenli transfüzyon almayan TI hastalarında inefektif eritropoez önemli ölçüde artmıştır (Bou-Fakhredin ve ark., 2017). Mevcut anemi ve hipoksiyi azaltmak için kemik iliği sürekli olarak eritroid öncüller üretmektedir. Talasemilerde eritropoez, yalnızca kemik iliğinde değil aynı zamanda dalak ve karaciğer gibi ekstramedullar alanlarda da devam eder. Eritropoezin patolojik olarak arttığı bu durumlarda, eritroid öncüllerden eritroid etmenler salgılanır. Bu eritroid etmenler karaciğerde hepsidin üretimini baskırlar. Hepsidin baskılanması ile bağırsaklardan demir emilimi artar. Kullanılan demir şelasyon tedavilerine rağmen, transfüzyon bağımlı olsun ya da olmasın tüm talasemi hastaları için demir birikimi morbidite ve mortalitenin başlıca nedenidir. Bu nedenle, bu hastalarda eritropoez ile demir ilişkisini araştıran birçok çalışma yapılmaktadır. Özellikle, eritropoezin hepsidini hangi eritroid etmenlerle ve hangi mekanizmalarla baskıladığı konusundaki araştırmalar devam etmektedir (Tanno, Rabel, ve ark., 2010; Kautz ve ark., 2015; Porter ve ark., 2017).

Bu çalışmada, talasemi gruplarında (TM, TI ve talasemi taşıyıcısı (TT)) ve sağlıklı bireylerden oluşan kontrol grubunda demir metabolizmasının ana düzenleyicisi olarak kabul edilen hepsidin ve hepsidin üzerinde baskılayıcı etkileri olduğu düşünülen büyüme farklılaşma faktörü-15 (GDF15) ve eritroferon (ERFE) konsantrasyonları ölçüldü. Elde edilen sonuçlar, eritropoez ve demir parametreleri ile karşılaştırıldı. Bu çalışmada ilk kez talasemi hastalarında hepsidin, GDF15 ve ERFE konsantrasyonları birlikte ölçülmüştür. Ayrıca, literatür taramalarında talasemi taşıyıcısı bireylerin ERFE konsantrasyonlarının

ölçüldüğü bir başka çalışmaya da rastlanılamamıştır. Bu nedenle, bu çalışma orijinal bir çalışma olma özelliğini taşımaktadır.

Çoklu kan transfüzyonları nedeniyle TM hastalarının dokularında demir birikimi görülür. Her bir ünite kan yaklaşık 200 mg demir içerir (Nienhuis ve Nathan, 2012). Hastalar 2-4 hafta aralıklarla kan transfüzyonu aldıklarından, vücutlarında biriken demir oldukça fazladır. Demir birikimi sonucunda oluşan serbest radikal artışı, talasemi hastalarında oksidatif stres ve doku hasarının oluşmasına neden olur. Talasemi intermedia hastaları kan transfüzyonu almasalar dahi, gerek gastrointestinal sistemden demir emilimindeki artış gerekse hemoglobinin denaturasyonu sonucu açığa çıkan hem yapısından demirin serbestleşmesi, hastaların dokularında demir birikimine yol açar (Musallam ve ark., 2012; Taher ve ark., 2013). Bu nedenle, TM hastalarında ve demir birikimi görülen TI hastalarında düzenli olarak demir şelatör tedavileri verilerek demir birikimini azaltılmaya çalışılır. Bizim araştırmamıza dahil edilen talasemi hastalarının ferritin değerleri, TI, TT ve kontrol gruplarındaki bireylerin ferritin değerlerine göre oldukça yüksek bulundu. Talasemi intermedia hastalarının ferritin değerleri de TT ve kontrol grubundaki bireylerin ferritin değerlerinden daha yüksek bulundu. Çalışmamızdaki tüm TM hastaları ve 2 TI hastası demir şelatör tedavisi almaktaydı. Şelasyon kullanan iki TI hastamızın her ikisi de hiç transfüzyon almamış hastalardı. Bu durum, diyet demirinin demir birikiminde ne derece etkili olduğunu göstermektedir (Leecharoenkiat ve ark., 2016). Bunun yanı sıra, TM ve TI hastalarının demir konsantrasyonları da TT ve kontrol grubundaki bireylerin demir konsantrasyonlarına göre daha yüksek bulundu. Aynı zamanda TM ve TI hastalarının transferrin düzeyleri, TT ve kontrol grubundaki bireylerin transferrin düzeylerine göre daha düşük bulundu. Bu sonuçlar, TM hastalarında transfüzyona ve TI hastalarında demir emilimindeki artışa bağlı olarak serum demirinin arttığını, transferinin demir taşıma kapasitesinin aşıldığını ve demirin ferritin olarak depolandığının gösterebilir. Ferritin, demir ve transferrin düzeyleri her iki hasta grubunda (TM ve TI) da benzer olmasına rağmen, total demir bağlama kapasitesi (TDBK) TI hastalarında TM hastalarına göre daha düşük bulundu.

Yapılan çalışmalar sonucunda hepsidin, demir metabolizmasının ana düzenleyici olarak kabul görmüştür. Hepsidin, duodenumdan besinlerden demir emilimini engelleme,

dolaşımdaki makrofajlardan demir salınımını bloklama ve hepatositler içindeki demir stoklarının taşınmasını kontrol ederek demir dengesi sağlar (Ganz ve Nemeth, 2012). Bazı araştırmacılar yaptıkları araştırmalar sonucunda hepsidinin demir ile uyarıldığını, fakat anemi ile baskılandığını bildirmişlerdir (Kemna ve ark., 2005; Nemeth ve Ganz, 2009). Literatür incelendiği zaman, talasemi hastalarında yapılan hepsidin çalışmalarının sonuçlarının çok değişken olduğu görülmektedir. Bazı çalışmalarda, talasemi hastalarında hepsidin konsantrasyonunun sağlıklı bireylere oranla daha düşük olduğu bildirilmiştir (Papanikolaou ve ark., 2005; Origa ve ark., 2007). Diğer taraftan TI ve TM hastalarında, sağlıklı bireylere kıyasla artmış hepsidin konsantrasyonları bildirilmiştir (Kaddah ve ark., 2017). Kaddah ve arkadaşları (Kaddah ve ark., 2017), TM hastalarında hepsidinin demir birikiminin potansiyel bir belirteci olabileceği sonucuna varmışlardır. Biz de yaptığımız bu çalışmada TM ve TI hastalarının hepsidin konsantrasyonlarını, TT ve kontrol gruplarının hepsidin konsantrasyonlarından önemli derecede yüksek bulduk. Talasemi intermedia hastalarının hepsidin konsantrasyonlarının, talasemi major hastalarının hepsidin konsantrasyonlarından daha düşük olduğunu gösteren çalışmalar da vardır (Haghpanah ve ark., 2015; Kaddah ve ark., 2017). Bu çalışmalar sonucunda, hepsidinin demir depolarından ziyade eritropoetik aktivite ile düzenlendiği sonucuna varılmıştır. Bu çalışmaların aksine, TI grubundaki bireylerin hepsidin konsantrasyonu TM grubundaki bireylerin hepsidin konsantrasyonundan daha fazla olduğunu gösteren bir çalışma da vardır (Athiyarath ve ark., 2014). Bizim çalışmamızda da TI hastalarının hepsidin düzeylerinin, TM hastalarının hepsidin düzeylerinden daha yüksek olduğu bulunmasına rağmen, bu yükseklik istatistiksel olarak anlamlı değildi. Çünkü, TI hastalarının hepsidin değerleri bireyler arasında çok farklılık gösteriyordu. Öyleki en yüksek ve en düşük hepsidin düzeyleri TI hastalarına aitti. Başka bir çalışmada ise, TI hastalarının hepsidin konsantrasyonları normal aralıklarda bulunmuş ve 20 transfüzyondan sonra hepsidin konsantrasyonlarının arttığı bildirilmiştir (Porter ve ark., 2017). Porter ve arkadaşları (Porter ve ark., 2017) bu çalışmalarında tansfüzyon bağımlı olmayan TI hastalarının takibinde hepsidinin kullanılmayacağını bildirmişlerdir. Transfüzyon bağımlı olmayan TI hastalarında eritropoez, hemolitik anemi ve doku hipoksisi nedeniyle artmaktadır. Artmış eritropoez aktivitesi için artan demir talebi, hepsidin konsantrasyonunun azalmasına neden olabilir. Bu nedenle, TI hastalarının

hepsidin konsantrasyonlarının daha düşük olması beklenebilir. Ancak, farklı eritropoetik aktivitelerin farklı düzeylerde olası nedeniyle hepsidin baskılanması da farklı oranlarda olacaktır. Ancak TI hastalarında eritropoetik aktivite ile hepsidin arasında bir korelasyon bulunmadı. Bu durum bize eritropoetik aktivite dışında başka etmenlerin de hepsidin düzeyini etkilemiş olabileceğini göstermektedir. Talasemi major hastalarında ise yapılan transfüzyonlar nedeni ile eritropoezin baskılandığı bilinmektedir (Pasricha ve ark., 2013). Bu nedenle, bu hastalardaki hepsidin konsantrasyonun daha çok demir birikimi ile ilişkili olarak artabilir. Diğer yandan, hepsidin ferritin gibi bir akut faz reaktantıdır. Enflamatuvar sitokinler, hipoksi ve diğer birçok etmen hepsidin konsantrasyonunda değişikliklere yol açabilmektedir (Anderson ve Frazer, 2017). Sonuç olarak, eritropoez haricinde anemi, enflamasyon ve demir birikimi de talasemi hastalarındaki hepsidin konsantrasyonunu etkileyebilir.

Yapılan bazı çalışmalarda, hem talasemi major hem de talasemi intermedia hastalarında hepsidin/ferritin oranı kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulunmuştur (Kattamis ve ark., 2006; Kearney ve ark., 2007; Porter ve ark., 2017; Jagadishkumar ve ark., 2018). Bizim çalışmamızda TM hastalarının hepsidin/ferritin oranı, kontrol grubunun hepsidin/ferritin oranından daha düşük bulundu. Bizim çalışmamızda TM hastaları için elde edilen hepsidin/ferritin oranı, yukarıda bahsedilen araştırmaların sonuçları ile uyumludur. Talasemi major hastalarındaki düşük hepsidin/ferritin oranının nedeni, karaciğer hasarı, demir birikimi veya anemi olabilir. Hepatositlerdeki demir birikiminin, hepsidin hepatic sentezini azalttığı bildirilmiştir (Milic ve ark., 2016). Yukarıda bahsedilen çalışmaların aksine bizim çalışmamızda, TI hastalarının hepsidin/ferritin oranı ile kontrol grubunun hepsidin/ferritin oranı arasında fark bulunamamıştır. Çalışmamıza dahil edilen TI hastalarının hepsidin konsantrasyonları farklılık göstermektedir. Bazı hastalarda çok yüksek hepsidin konsantrasyonu ölçülürken, bazı hastalarda çok düşük hepsidin konsantrasyonu ölçülmüştür. Bunun nedeni, TI hastalarındaki farklı eritropoetik aktivite düzeyleri olabilir. Bu bulgulara göre, hepsidin genel olarak talasemi major hastalarında demir birikimi ve talasemi intermedia hastalarında eritropoez ile düzenlendiği söylenebilir. Ancak, birçok parametrenin hepsidin üzerinde rol oynadığı da unutulmamalıdır.



Eritropoezin hepsidini baskıladığına dair genel bir görüş vardır. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada, hipoksi ve/veya hipoksi kaynaklı eritropoetin hepsidinin doğrudan düzenleyicileri olmadığı ortaya koyulmuştur (Rybinska ve Cairo, 2017). Eritropoetik aktiviteye yanıt olarak hepsidinin baskılanmasının moleküler mekanizması belli değildir. Bu baskılamada, eritroblastların gelişimi sırasında salınan bazı çözümlü proteinlerin rol oynayabileceği düşünülmektedir. GDF15 ve sonrasında ERFE'nin de hepsidin sentezini düzenleyen bu proteinlerden olabileceği düşünülmektedir. Normal koşullarda insanlarda GDF15 konsantrasyonunun (200-1150 pg/ml) düşük olduğu bildirilmiştir (Ronzoni ve ark., 2015). Bizim çalışmamızda kontrol grubundaki bireylerin GDF15 konsantrasyonları 92.47-319.41 pg/ml aralığında bulundu. Çalışmamızda sağlıklı bireylerin GDF15 konsantrasyonlarının belirtilen değerden daha düşük bulunması, ölçüm için kullanılan kitlerin veya bireylerin etnik kökenlerinin farklılığından kaynaklanabilir. GDF15'in ekspresyonu enflamasyon, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, pulmoner hastalıklar ve böbrek hastalıklarında artmaktadır (Breit ve ark., 2011). Ayrıca, bazı araştırmacılar talasemi intermedia ve talasemi major hastalarının GDF15 konsantrasyonlarının, sağlıklı bireylerin GDF15 konsantrasyonlarından çok daha yüksek olduğunu göstermişlerdir (Musallam ve ark., 2011; Athiyarath ve ark., 2014; Tantawy ve ark., 2015). Bizim yaptığımız çalışmada, TM ve TI gruplarındaki bireylerin GDF15 konsantrasyonları, TT ve kontrol grubundaki bireylerin GDF15 konsantrasyonlarına göre yaklaşık 100 kat fazla bulunmuştur. Bu sonuçlar, diğer araştırmacıların GDF15 için bulmuş oldukları sonuçlar ile uyum içindedir. Bir başka çalışmada, GDF15 inefektif eritropoezin belirteci olarak tanımlanmıştır (Tanno, Noel, ve ark., 2010). Ronzoni ve arkadaşları (Ronzoni ve ark., 2015) ise, transfüzyon bağımlı olmayan talasemi kültürlerinde eritroid farklılaşması sırasında GDF15'in arttığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da EPO aktivitesi ile GDF15 konsantrasyonu arasında pozitif bir korelasyon bulundu. Farklı araştırmalar, GDF15'in inefektif eritropoezin derecesini göstermede yararlı bir belirteç olabileceğini belirtmişlerdir (Musallam ve ark., 2011; Ronzoni ve ark., 2015). Bizim çalışmamızda GDF15 konsantrasyonları ve ferritin konsantrasyonları arasında pozitif bir korelasyon bulundu. Yapılan başka çalışmalarda da benzer korelasyonların olduğu gösterilmiştir (Musallam ve ark., 2011; Athiyarath ve ark., 2014; Tantawy ve ark., 2015). Bu durumda, demir

konsantrasyonunun düzenlemesinde GDF15'in rol oynadığı düşünülebilir. İnefektif eritropoezin hepsidini baskıladığı gösterilmiştir (Ginzburg ve Rivella, 2011). Yapılan bir başka çalışmada, GDF15'in hepsidini baskıladığı gösterilmiştir (Tanno ve ark., 2007). Başka bir çalışmada ise, GDF15 ile hepsidin arasında negatif korelasyon olduğu bulunmuştur (Athiyarath ve ark., 2014). Bu çalışmaların sonuçlarına göre, GDF15'in artmış eritropoez veya inefektif eritropoez sırasında hepsidinin baskılanması için salgılanan bir etmen olabileceği düşünülebilir. Tanno ve arkadaşlarının (Tanno ve ark., 2007) yapmış olduğu çalışmanın aksine, bir başka çalışmada (Casanovas ve ark., 2013) GDF15 nakavt farelerinde flebotomi ile eritropoez indüksiyonu sonrası, hepsidinin baskılanmasında azalma görülmemiştir. Araştırmacılar demir homestazında GDF15'in çok önemli olmadığını vurgulamıştır. Yapılan bazı çalışmalarda GDF15 ekspresyonunun daha çok hücrel stres ve apoptozis ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (Li ve ark., 2013; Adela ve Banerjee, 2015). Bu durumda talasemilerde bildirilen yüksek GDF15 konsantrasyonlarının nedeni, demir birikimine bağlı olarak artmış oksidatif stresin olabileceği söylenebilir. Çalışmalar sonucunda bulunan farklı bulgular nedeniyle, GDF15'in hepsidinin eritroid regülasyonunda rol oynayan bir belirteç olup olmadığı netlik kazanmamıştır. Sonuç olarak, talasemilerde GDF15'in kullanışlı bir biyobelirteç olduğunun doğrulanması için daha detaylı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Yakın zamanda keşfedilen ve eritroblastlardan salgılanan eritroferon (ERFE, Fam132b olarak da bilinir), glikoprotein yapısında olan bir hormondur. Yapılan bir çalışmada, eritropoetin verilen farelerin dalak ve kemik iliğinde ERFE mRNA ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir (Kautz ve ark., 2014b). Aynı çalışma grubu eritroferonun hepsidin üzerinde baskılayıcı rolü olduğunu göstermiştir (Kautz ve ark., 2015). Bu araştırmaya göre, ERFE karaciğeri doğrudan etkileyerek hepsidin üretimini baskılamakta ve böylece yeni kırmızı kan hücrelerinin üretiminde kullanılacak demir miktarını arttırmaktadır. Yapılan bu çalışmalar sonucunda, talasemik farelerde kanama olduğunda ya da EPO uygulandıktan sonra ERFE ekspresyonunun arttığı ve karaciğerde hepsidin mRNA sentezinin azaldığı gösterilmiştir. Eritroferonun hepsidini baskılayan bir eritroid etmen olabileceği söylenmiştir. Ancak, insanlarda yapılan ERFE çalışmaları çok yeni ve çok az sayıdadır.

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada, talasemi intermedia hastalarının ERFE konsantrasyonlarının talasemi major hastalarının ERFE konsantrasyonlarından daha yüksek olduğu gösterilmiştir (Ganz ve ark., 2017). Bu çalışmaya benzer şekilde, bizim çalışmamızda da talasemi intermedia hastalarının ERFE konsantrasyonları, talasemi major hastalarının ERFE konsantrasyonlarından daha yüksek bulundu. Ganz ve arkadaşları (Ganz ve ark., 2017), TM hastalarında transfüzyon sonrası ERFE konsantrasyonlarının düştüğünü göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda TM hastalarında transfüzyon sonrası ERFE ölçümleri yapılamadı. Bunun nedeni, TM hastalarının çoğunun şehir merkezinden uzakta yaşamaları ve transfüzyondan sonra başka bir gün tekrar gelmelerinin zor olmasıydı. Ancak, çalışmamızda tüm bireylerin EPO aktiviteleri ve ERFE konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon olduğu gösterildi. Ayrıca, çalışmamızda TI hastalarının EPO konsantrasyonlarının TM hastalarının EPO konsantrasyonlarından daha yüksek olduğu bulundu. Bu sonuç, TM hastalarında yapılan transfüzyonlarla eritropoezin baskılandığını ve buna bağlı olarak TM hastalarında ERFE konsantrasyonlarının azaldığını gösterebilir. Schotten ve arkadaşları (Schotten ve ark., 2017), kan donörlerinin kan vermelerinden 4 gün sonra alınan kan örneklerinde EPO ve ERFE düzeylerini ölçmüşlerdir. Araştırmacılar, bu ölçümler sonucu bireylerin EPO aktivitelerinin arttığını, ERFE değerlerinin ise değişmediğini göstermişlerdir. Schotten ve arkadaşlarının (Schotten ve ark., 2017) ERFE düzeylerinde artış bulamamalarının nedeni, kullandıkları örneklerin uzun süre beklemiş olması olabilir. Schotten ve arkadaşları (Schotten ve ark., 2017) TI hastalarının ERFE ölçümleri için 6-7 yıl -80 °C'de bekletilmiş ve 2-5 kez dondurulmuş çözdürülmüş plazma örneklerini kullanmışlardır. Bu araştırmacılar, kontrol grubundaki ölçümler için 1-2 yıl 80 °C'de beklemiş kan örneklerini kullanmışlardır. Hasta ve kontrol gruplarının plazma örneklerinde ölçüm yapılincaya kadar geçen bekleme süreleri arasındaki fark oldukça fazladır. Bizim çalışmamızda kullanılan plazma örnekleri en fazla 6 ay bekletildi.

Ganz ve arkadaşları (Ganz ve ark., 2017), ERFE ve hepsidin konsantrasyonları arasında negatif bir korelasyon olduğunu bulmuşlardır. Diğer taraftan, Schotten ve arkadaşları (Schotten ve ark., 2017), yaptıkları çalışmada plazma ERFE ve hepsidin konsantrasyonları arasında korelasyon bulamamışlardır. Bizim bulgularımız, Schotten ve arkadaşlarının (Schotten ve ark., 2017) bulguları ile uyumludur. Bizim çalışmamızda, TI

hastalarında hepsidin ve ERFE konsantrasyonları arasında herhangi bir korelasyon bulunamadı. Aslında çalışmamızda TI hastalarında EPO ve ERFE düzeyleri beklenildiği gibi yüksek bulundu. Ancak, artan eritropoetik aktivite sonucu hepsidin konsantrasyonunda beklenen azalma görülmedi. Bunun nedeni, TI hastalarının hepsidin konsantrasyonlarının eritropoetik aktivite dışında demir ve enflamasyon gibi diğer etmenler tarafından etkilenmiş olması olabilir. Diğer taraftan TI hastalarının klinikleri çok heterojendir. Çok hafif klinik bulgu veren hastalar olduğu gibi ağır klinik tablo gösteren hastalar da vardır. Örneğin çalışmamızda, aynı yaş grubunda iki TI hastasından birinde hiç demir birikimi görülmezken diğeri şelatör tedavisi kullanmaktadır. Çalışmalara dahil edilen TI hastalarının sahip oldukları klinik farklılıklar, hastaların hepsidin ve ERFE konsantrasyonlarının değişkenlik göstermesine yol açabilir.

Talasemi hastalarında ERFE ile ilgili olarak yapılan çalışmaların (Ganz ve ark., 2017; Schotten ve ark., 2017) bulguları, kendi aralarında ve bizim çalışmamızla bazı farklılıklar göstermektedir. Bu farklılıkların nedeni, çalışmalardaki hasta ve kontrol gruplarındaki bazı farklılıklar olabilir. Ganz ve arkadaşlarının (Ganz ve ark., 2017) yapmış olduğu çalışmada bireylerin yaş aralıkları 6-69 yıl arasında değişmektedir. Araştırmacılar yaptıkları bu çalışmada, TI grubu için 11 bireyden (10 erkek, 1 kız) ve TM grubu için 13 bireyden (9 erkek, 4 kız) alınan kan örneklerinden elde edilen serumda ERFE ve hepsidin konsantrasyonlarını ölçmüşlerdir. Kontrol grubu olarak 30 kız (18-61 yıl) ve 30 erkek (19-65 yıl) bireyin kan örneklerinde ölçüm yapmışlardır. Bu çalışma incelendiğinde, kontrol grubunda cinsiyet eşitliği sağlanmasına rağmen, TI ve TM hastalarında bu eşitliğin sağlanmadığı görülmektedir. Diğer taraftan TM ve TI hasta gruplarında çocuk bireyler bulunmasına rağmen, kontrol grubundaki tüm bireyler yetişkindir. Schotten ve arkadaşları (Schotten ve ark., 2017) çalışmalarında, yaşları 9-47 yıl arasında değişen 10 TI hastasında ve yaşları 31-50 yıl arasında değişen 7 erkek kan donöründe eritropoetin (EPO), hepsidin ve ERFE konsantrasyonlarını ölçmüşlerdir. Bu çalışmada, TI hastalarının cinsiyetleri belirtilmemiş ve kontrol grubuna yalnızca erkek bireyler dahil edilmiştir. Diğer taraftan, hasta grubunda 2 çocuk bulunmasına rağmen, kontrol grubundaki bireylerin tümü yetişkindir. Ganz ve arkadaşlarının (Ganz ve ark., 2017) ve Schotten ve arkadaşlarının (Schotten ve ark., 2017) çalışmalarıyla bizim çalışmamızı karşılaştırdığımız zaman, çalışmamıza dahil edilen hasta sayısının bu

çalışmalara oranla oldukça fazla olduğu açıkça görülmektedir. Her bir grupta (TM (10K/10E), TI (8K/12E), TT (12K/8E) ve kontrol (11K/9E)) 20 birey olmak üzere toplam 80 birey çalışmamıza dahil edildi. Yaş etmeninin çalışılan parametreler üzerine etkisini araştırmak için hem çocuk hem de yetişkin bireyler (2-41 yıl) çalışmamıza dahil edildiler. Bizim yaptığımız çalışmada, talasemi ve kontrol gruplarını oluşturan bireylerin yaşları ve cinsiyetleri arasında fark bulunamadı. Aynı zamanda, kontrol grubundaki bireyler talasemi gruplarında olduğu gibi çocuk ve yetişkin bireylerden oluşmaktaydı. Bizim çalışmamız ve bahsedilen bu iki çalışmanın bulgularının birbirlerinden bazı parametreler açısından farklı olmasının nedeni, hasta ve kontrol grubuna dahil edilen bireylerin yaş farkları, alınan kan örneklerinin saklama süreleri ya da hastaların klinik farklılıkları gibi bir çok etmen olabilir.

Ganz ve arkadaşlarının (Ganz ve ark., 2017) ve Schotten ve arkadaşlarının (Schotten ve ark., 2017) yaptıkları çalışmalardan farklı olarak, çalışmamızda ERFE konsantrasyonları ile demir parametreleri arasında ilişki olup olmadığını karşılaştırdık. Talasemi major dışındaki diğer üç grupta (TI, TT ve kontrol) ERFE ile ferritin arasında korelasyon bulunamadı. Talasemi major hastalarının ERFE ve ferritin konsantrasyonları arasında negatif korelasyon bulundu. Talasemi major hastaları düzenli olarak transfüzyon alırlar. Bu transfüzyonlara bağlı olarak hastalarda hipoksi durumu azalır ve eritropoez baskılanır. Bu nedenle, düzenli transfüzyon alan hastalarda ERFE daha az salgılanıyor olabilir. Yapılan transfüzyonlara bağlı olarak TM hastalarında ferritin konsantrasyonu artar. Hastalar demir şelatör tedavileri aldıkları halde demir birikimine bağlı organ hasarları bu hastalarda oldukça sık görülmektedir. Hastaların demir depolarının fazla olması ya da fazla demirin yol açtığı enflamasyon eritropoetik aktiviteyi baskılamış olabilir. Bunun sonucu olarak, TM hastalarının ERFE ve ferritin konsantrasyonları arasında negatif korelasyon bulunmuş olabilir. Bir başka çalışmada, demir eksikliği olan bireylerin ERFE konsantrasyonlarının, kontrol grubunun ERFE konsantrasyonlarına göre daha yüksek olduğu bulunmuştur (El Gendy ve ark., 2018). Bu çalışmada (El Gendy ve ark., 2018) ERFE ve ferritin konsantrasyonları arasında negatif korelasyon olduğu gösterilmiştir. Bu araştırmacılar, hepsidin ölçümü yapmadıkları için hepsidin ile ERFE arasındaki ilişkiyi gösterememişlerdir.

Bizim çalışmamıza TM ve TI hastaları dışında, TT bireyleri de dahil edildi. Talasemi taşıyıcılarında anemi hafiftir ve demir birikimi görülmez. Ancak, yapılan bir çalışmada, talasemi taşıyıcılarında hepsidinin baskılandığı gösterilmiştir (Jones ve ark., 2015). Bu baskılanmaya TT bireylerindeki anemi nedeniyle artan eritropoez neden olmuş olabilir. Artan eritropoeze bağlı olarak talasemi taşıyıcılarında ERFE ekspresyonunun da etkilenmiş olabileceğini ve bu bireylerde hepsidinin baskılanabileceğini düşündük. Bu nedenle, TT grubundaki bireylerden alınan kan örneklerinde ERFE ve hepsidin konsantrasyonlarını ölçtük. Elde ettiğimiz bulgulara göre, TT grubundaki bireylerin ERFE konsantrasyonları ile kontrol grubundaki bireylerin ERFE konsantrasyonları arasında fark bulunamadı. Yukarıda bahsedilen çalışmanın (Jones ve ark., 2015) aksine, TT ve kontrol grubundaki bireylerin hepsidin konsantrasyonları arasında bir farklılık bulamadık.

Eritropoez ve demir metabolizması arasındaki ilişkiyi araştıran birçok çalışma bulunmaktadır. Ancak, eritropoezin demir metabolizmasını nasıl etkilediği henüz tam olarak anlaşılamamıştır. Eritropoez ya da inefektif eritropoez arttıkça hepsidin konsantrasyonunun azaldığı bilinmektedir. Eritropoezin bu baskılamayı hangi araçlarla yaptığı araştırılmaya devam edilmektedir. Hepsidini baskılayan bu araçlardan birinin GDF15 olabileceği düşünülmüştür. Yapılan araştırmalarda, hem TM hem de TI hastalarında GDF15 konsantrasyonlarının kontrol grubunun GDF15 konsantrasyonlarına göre anlamlı olarak arttığı ve GDF15'in talasemilerde inefektif eritropoezin gösterilmesinde kullanılan bir belirteç olabileceği belirtilmiştir (Tanno, Noel, ve ark., 2010; Ronzoni ve ark., 2015). Bir çok araştırmada (Musallam ve ark., 2011; Athiyarath ve ark., 2014; Tantawy ve ark., 2015), talasemilerde ferritin ve GDF15 konsantrasyonları arasında pozitif bir korelasyon bulunmasına rağmen, GDF15'in demir metabolizmasındaki rolü tam olarak aydınlatılamamıştır. Talasemilerde demir birikimi nedeniyle artan oksidatif stres gibi etmenler sonucu GDF15 konsantrasyonunun artmış olabileceği düşünülebilir. Sonuç olarak, GDF15'in talasemilerdeki rolü tam olarak anlaşılamamıştır ve daha ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır. Yapılan bir çalışmada, TM ve TI hastalarının plazma ERFE konsantrasyonları da yüksek bulunmuştur (Ganz ve ark., 2017). Bu çalışmaya benzer olarak, bizim çalışmamızda da TM ve TI hastalarında ERFE konsantrasyonları yüksek bulundu. Bizim çalışmada

GDF15 konsantrasyonları da TM ve TI hastalarında kontrol grubunu oluşturan kişilerin GDF15 konsantrasyonlarına göre daha yüksek bulundu. Ancak, çalışmamızda GDF15 konsantrasyonları TM ve TI hastaları arasında farklılık göstermezken, TI hastalarının ERFE konsantrasyonları, TM hastalarının ERFE konsantrasyonlarına göre daha yüksek bulundu. Bu durum, ERFE'nin inefektif eritropoez ile daha yakından ilişkili olabileceğini gösterebilir. Ayrıca, çalışmamızda ERFE konsantrasyonu ve EPO aktivitesi arasında pozitif korelasyon bulundu. Sonuç olarak, TI hastalarının eritropoetik aktivite düzeylerinin gösterilmesinde kullanılan parametrelerden biri ERFE olabilir. Bizim sonuçlarımıza göre, ERFE konsantrasyonu ve EPO aktivitesi arasında ilişki bulunmasına rağmen, hepsidin ve ERFE konsantrasyonları arasında korelasyon bulunamadı. Ayrıca, TM grubu dışındaki diğer gruplarda da (TI, TT ve kontrol) ERFE ile ferritin konsantrasyonları arasında korelasyon bulunamadı. Bu nedenle, talasemilerde ERFE ve demir metabolizması arasında nasıl bir ilişki olduğu tam olarak açıklığa kavuşturulamamıştır.

Eritroferron konusunda yapılan çalışmalar çok yenidir. Farelerde yapılan çalışmalarda ERFE'nin eritropoetik aktivite ile arttığı ve ERFE'nin hepsidini baskıladığı gösterilmesine rağmen, insanlarda yapılan çalışmalarda henüz bu sonuçlara net olarak ulaşmak mümkün olmamıştır. Eritroferron için henüz bir reseptör bulunamamıştır. Eritroferronun hepatosit ve adipositler dışındaki diğer hücreleri etkileyip etkilemediği de bilinmemektedir. İnsanlarda ERFE ölçümleri için henüz doğru ve güvenilir olarak geliştirilmiş, kesin sonuç veren ölçüm yöntemleri bulunmamaktadır. Ganz ve arkadaşları (Ganz ve ark., 2017) ve Schotten ve arkadaşları (Schotten ve ark., 2017) ERFE düzeylerini ölçmek için farklı seyreltmeler yaparak ölçümleri tekrarlamışlardır. Benzer şekilde biz de uygun seyreltme katsayısını bulabilmek için, çok fazla seyreltme ve ölçüm tekrarları yaptık. Sağlıklı bireylerde ve çocuklarda ERFE düzeylerini ölçmek için daha güvenilir yöntemler kullanılarak referans aralıkların belirlenmesi ve ERFE için referans antijenin standartlaştırılması sonucunda, daha güvenilir sonuçlar elde edilebilecektir. Gelecekte yapılacak çalışmalar sonucunda, ERFE'nin hepsidin üzerindeki baskılayıcı rolü ve etki mekanizmasının netlik kazanması durumunda, ERFE'ye spesifik antikolar üretilebilir. Talasemilerde bu antikolar kullanılarak ERFE'nin inhibisyonu ve bunun sonucunda bağırsaklardan demir emiliminde azalma sağlanabilir. Bu tedaviler, TM

hastalarında demir şelatörleri ile birlikte ya da TI hastalarında tek başına kullanılabilir. Bu şekilde daha etkin bir tedavi yöntemi sağlanabilir ve bu hastalarda demir birikimine bağlı olarak oluşan organ hasarlarının önüne geçilebilir. Sonuç olarak, ERFE talasemilerde eritropoetik aktivitenin gösterilmesinde kullanılan parametrelerden birisi olabilir. Ancak, ERFE'nin demir metabolizmasındaki rolünü açıklığa kavuşturmak için daha detaylı çalışmaların yapılması gereklidir.





## 6. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu araştırmanın sonuçlarını şu şekilde özetleyebiliriz:

1. Talasemi major (TM), talasemi intermedia (TI), talasemi taşıyıcısı (TT) ve kontrol gruplarının yaşları arasında fark bulunmadı.
2. Tüm grupların cinsiyetleri arasında fark bulunmadı.
3. Sağlıklı bireylerin hemoglobin (Hb) değerleri, TM, TI ve TT bireylerinin Hb değerlerinden daha yüksek bulundu. Talasemi taşıyıcısı bireylerin Hb değerleri, TM ve TI hastalarının Hb değerlerinden daha yüksek bulundu. Talasemi intermedia hastalarının Hb değerleri, TM hastalarının Hb değerlerinden daha düşük bulundu.
4. Talasemi intermedia ve TT gruplarındaki bireylerin MCV değerleri, kontrol ve TM gruplarındaki bireylerin MCV değerlerinden daha düşük bulundu.
5. Talasemi major grubundaki bireylerin alanin aminotransferaz (ALT) aktiviteleri, TT grubundaki bireylerin ALT aktivitelerine göre daha yüksek bulundu. Diğer gruplar arasında ALT aktivitesi bakımından istatistiksel bir fark bulunamadı.
6. Talasemi intermedia grubundaki bireylerin aspartat aminotransferaz (AST) aktivitesi, TT ve kontrol gruplarındaki bireylerin AST aktivitelerine göre daha yüksek bulundu.
7. Tüm grupların hs-CRP düzeyleri normal düzeylerde bulunmasına rağmen TI hastalarının hs-CRP düzeyleri, kontrol, TT ve TM gruplarındaki bireylerin hs-CRP düzeylerinden daha yüksek bulundu.
8. Talasemi taşıyıcısı grubunda bulunan bireylerin ferritin konsantrasyonları, kontrol grubundaki bireylerin ferritin konsantrasyonlarına göre daha düşük bulundu. Talasemi intermedia hastalarının ferritin konsantrasyonları, TT ve kontrol gruplarındaki bireylerin ferritin konsantrasyonlarından daha yüksek bulundu. Talasemi major grubunda bulunan bireylerin ferritin konsantrasyonları, diğer üç

gruptaki (TI, TT ve kontrol) bireylerin ferritin konsantrasyonlarından daha yüksek bulundu.

9. Talasemi major ve TI gruplarındaki bireylerin demir konsantrasyonları, TT ve kontrol gruplarındaki bireylerin demir konsantrasyonlarına göre daha yüksek bulundu. Talasemi major hastalarının demir konsantrasyonları, TI hastalarının demir konsantrasyonlarından daha yüksek bulundu.
10. Talasemi major ve TI gruplarındaki bireylerin transferrin konsantrasyonları, TT ve kontrol gruplarındaki bireylerin transferrin konsantrasyonlarına göre daha düşük bulundu.
11. Talasemi intermedia grubundaki bireylerin ERFE konsantrasyonu, TM, TT ve kontrol gruplarındaki bireylerin ERFE konsantrasyonlarından daha yüksek bulundu. Talasemi major grubunun ERFE konsantrasyonu, TT ve kontrol gruplarının ERFE konsantrasyonlarından daha yüksek bulundu.
12. Talasemi intermedia ve TM grubundaki bireylerin hepsidin konsantrasyonları, TT ve kontrol gruplarındaki bireylerin hepsidin konsantrasyonlarına göre daha yüksek bulundu.
13. Talasemi major grubunda ((hepsidin/ferritin)x1000) oranı, kontrol, TT ve TI gruplarındaki bireylerin ((hepsidin/ferritin)x1000) oranlarından daha düşük bulundu. Talasemi intermedia grubunun ((hepsidin/ferritin)x1000) oranı, TT grubunun ((hepsidin/ferritin)x1000) oranına göre daha düşük bulundu.
14. Talasemi major ve TI gruplarındaki bireylerin GDF15 konsantrasyonları, TT ve kontrol gruplarındaki bireylerin GDF15 konsantrasyonlarından daha yüksek bulundu.
15. Tüm gruplardaki bireylerin hemoglobin konsantrasyonları ve MCV değerleri arasında pozitif korelasyon bulundu. Bireylerin hemoglobin ile transferrin konsantrasyonları ve total demir bağlama kapasiteleri arasında pozitif korelasyon

- bulundu. Tüm gruplardaki bireylerin hemoglobin ile demir, hepsidin, GDF15 konsantrasyonları ve eritropoetin aktiviteleri arasında negatif korelasyon bulundu.
16. Tüm gruplardaki bireylerin serum demir konsantrasyonları ile ferritin, hepsidin, GDF15 konsantrasyonları ve EPO aktiviteleri arasında pozitif korelasyon bulundu.
17. Tüm gruplardaki bireylerin ferritin konsantrasyonları ile hepsidin, GDF15 konsantrasyonları ve EPO aktiviteleri arasında pozitif korelasyon bulundu.
18. Tüm gruplardaki bireylerin EPO aktiviteleri ile ERFE, hepsidin ve GDF15 konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulundu.
19. Kontrol grubunu oluşturan sağlıklı bireylerin ferritin ve hemoglobin konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulundu.
20. Kontrol grubundaki bireylerin ferritin konsantrasyonları ve MCV düzeyleri arasında pozitif korelasyon bulundu.
21. Kontrol grubundaki bireylerin ferritin ve GDF15 konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulundu.
22. Talasemi taşıyıcılarının EPO aktiviteleri ile GDF15 ve ferritin konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulundu.
23. Talasemi intermedia hastalarının yaşları ve ferritin düzeyleri arasında pozitif korelasyon bulundu. Talasemi intermedia hastalarının yaşları ve total demir bağlama kapasiteleri arasında negatif korelasyon bulundu. Talasemi intermedia hastalarının yaşları ve  $((\text{hepsidin}/\text{ferritin}) \times 1000)$  oranları arasında negatif korelasyon bulundu.
24. Talasemi intermedia hastalarının ferritin ve transferrin konsantrasyonları arasında negatif korelasyon bulundu.
25. Talasemi intermedia hastalarının ferritin konsantrasyonları ve total demir bağlama kapasiteleri arasında negatif korelasyon bulundu.

26. Talasemi intermedia hastalarının ferritin konsantrasyonları, EPO aktiviteleri, hepsidin, ERFE ve GDF15 konsantrasyonları arasında herhangi bir korelasyon bulunamadı.
27. Talasemi major hastalarında pretransfüzyon hemoglobin konsantrasyonu ve eritropoetin aktiviteleri arasında negatif korelasyon bulundu.
28. Talasemi major hastalarında ferritin ve ERFE konsantrasyonları arasında negatif korelasyon bulundu.
29. Talasemi major hastalarının EPO aktiviteleri ve GDF15 konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon bulundu

Bu araştırmanın sonuçlarına göre önerilerimiz:

1. Talasemi intermedia hastalarında eritropoetik aktivitenin gösterilmesi için ERFE değerleri kullanılabilir. Artmış eritropoetik aktivite göz önüne alınarak klinik değerlendirme ile birlikte TI hastalarına transfüzyon başlanabilir ve bu şekilde fenotipik değişikliklerin önüne geçilebilir.
2. Bizim çalışmamıza dahil edilen TM hastalarında EPO ve hemoglobin değerleri arasında negatif korelasyon bulunması, talasemi major hastalarına düzenli transfüzyon yapılması durumunda EPO aktivitesinin azaldığını ve inefektif eritropoezin baskılandığını göstermektedir. Bu nedenle, TM hastalarındaki eritropoetik aktiviteyi minimum düzeyde tutacak şekilde transfüzyon yapılması önemlidir.
3. Talasemi hastalarında inefektif eritropoez ve demir metabolizması arasındaki ilişkiyi anlamak için kullanılacak parametrelerden birisi ERFE olabilir. Ancak, ERFE'nin demir metabolizmasındaki rolünün aydınlatılabilmesi için daha detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir.
4. Eritropoez ile demir metabolizması arasındaki ilişkiler tam olarak aydınlağa kavuşturulduğu zaman, talasemi hastalarında demir birikimi nedeniyle oluşan organ hasarlarını önlemeye yönelik yeni tedaviler geliştirilebilir. Bu tedaviler, TM

hastalarında demir şelatörleri ile birlikte ya da TI hastalarında tek başına kullanılabilir. Bu nedenle, ERFE ve diğer eritroid etmenlerin demir metabolizması ile ilişkisini araştırarak çalışmaların yapılmasına devam edilmelidir.



## KAYNAKLAR

Adela, R., & Banerjee, S. K. Gdf-15 as a target and biomarker for diabetes and cardiovascular diseases: A translational prospective. *Journal of diabetes research*. 2015; 2015: 490842.

Anderson, G. J., & Frazer, D. M. Current understanding of iron homeostasis. *The American journal of clinical nutrition*. 2017; 106 (Suppl 6): 1559-1566.

Andrews, P. A. Disorders of iron metabolism. *The New England journal of medicine*. 2000; 342 (17): 1293; author reply 1294.

Angelucci, E., Brittenham, G. M., McLaren, C. E., Ripalti, M., Baronciani, D., Giardini, C., Lucarelli, G. Hepatic iron concentration and total body iron stores in thalassemia major. *The New England journal of medicine*. 2000; 343 (5): 327-331.

Athiyarath, R., George, B., Mathews, V., Srivastava, A., & Edison, E. S. Association of growth differentiation factor 15 (gdf15) polymorphisms with serum gdf15 and ferritin levels in beta-thalassemia. *Annals of hematology*. 2014; 93 (12): 2093-2095.

Bain, B. J. *Haemoglobinopathy diagnosis* (H. H. Maria Khan Ed. Second ed.). Australia: Blackwell Publishing Ltd; 2006, ss: 2.

Borch-Johnsen, B., Hagve, T. A., Hauge, A., & Thorstensen, K. [regulation of the iron metabolism]. *Tidsskrift for den Norske laegeforening : tidsskrift for praktisk medicin, ny raekke*. 2009; 129 (9): 858-862.

Bou-Fakhredin, R., Bazarbachi, A. H., Chaya, B., Sleiman, J., Cappellini, M. D., & Taher, A. T. Iron overload and chelation therapy in non-transfusion dependent thalassemia. *International journal of molecular sciences*. 2017; 18 (12).

Breit, S. N., Johnen, H., Cook, A. D., Tsai, V. W., Mohammad, M. G., Kuffner, T., Brown, D. A. The tgf-beta superfamily cytokine, mic-1/gdf15: A pleiotropic

cytokine with roles in inflammation, cancer and metabolism. *Growth Factors*. 2011; 29 (5): 187-195.

Cadenas, E. Lipid peroxidation during the oxidation of haemoproteins by hydroperoxides. Relation to electronically excited state formation. *Journal of bioluminescence and chemiluminescence*. 1989; 4 (1): 208-218.

Casanovas, G., Vujic Spasic, M., Casu, C., Rivella, S., Strelau, J., Unsicker, K., & Muckenthaler, M. U. The murine growth differentiation factor 15 is not essential for systemic iron homeostasis in phlebotomized mice. *Haematologica*. 2013; 98 (3): 444-447.

Cavdar, A. O., & Arcasoy, A. The incidence of  $\alpha$ -thalassemia and abnormal hemoglobins in turkey. *Acta haematologica*. 1971; 45 (5): 312-318.

El Gendy, F. M., El-Hawy, M. A., Shehata, A. M. F., & Osheba, H. E. Erythroferrone and iron status parameters levels in pediatric patients with iron deficiency anemia. *European journal of haematology*. 2018; 100 (4): 356-360.

Evstatiev, R., & Gasche, C. Iron sensing and signalling. *Gut*. 2012; 61 (6): 933-952.

Fei, Y. J., Kutlar, F., Harris, H. F., 2nd, Wilson, M. M., Milana, A., Sciacca, P., et al. A search for anomalies in the zeta, alpha, beta, and gamma globin gene arrangements in normal black, italian, turkish, and spanish newborns. *Hemoglobin*. 1989; 13 (1): 45-65.

Finch, C. A., Deubelbeiss, K., Cook, J. D., Eschbach, J. W., Harker, L. A., Funk, D. D., Biblett, E. R. Ferrokinetics in man. *Medicine*. 1970; 49 (1): 17-53.

Ganz, T. Heparin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood*. 2003; 102 (3): 783-788.

Ganz, T. Cellular iron: Ferroportin is the only way out. *Cell metabolism*. 2005; 1 (3): 155-157.

Ganz, T., Jung, G., Naeim, A., Ginzburg, Y., Pakbaz, Z., Walter, P. B., Nemeth, E. Immunoassay for human serum erythroferrone. *Blood*. 2017; 130 (10): 1243-1246.

Ganz, T., & Nemeth, E. Regulation of iron acquisition and iron distribution in mammals. *Biochimica et biophysica acta*. 2006; 1763 (7): 690-699.

Ganz, T., & Nemeth, E. Hepcidin and iron homeostasis. *Biochimica et biophysica acta*. 2012; 1823 (9): 1434-1443.

Gardenghi, S., Renaud, T. M., Meloni, A., Casu, C., Crielard, B. J., Bystrom, L. M., Rivella, S. Distinct roles for hepcidin and interleukin-6 in the recovery from anemia in mice injected with heat-killed brucella abortus. *Blood*. 2014; 123 (8): 1137-1145.

Ginzburg, Y., & Rivella, S. Beta-thalassemia: A model for elucidating the dynamic regulation of ineffective erythropoiesis and iron metabolism. *Blood*. 2011; 118 (16): 4321-4330.

Haghpanah, S., Esmaeilzadeh, M., Honar, N., Hassani, F., Dehbozorgian, J., Rezaei, N., Karimi, M. Relationship between serum hepcidin and ferritin levels in patients with thalassemia major and intermedia in southern iran. *Iranian Red Crescent medical journal*. 2015; 17 (7): e28343.

Hamidreza Shirzadfar, N. M. Critical review on thalassemia: Types, symptoms and treatment. *Advancements in Bioequivalence & Bioavailability*. 2018; 1 (2): 4.

Hershko, C., Graham, G., Bates, G. W., & Rachmilewitz, E. A. Non-specific serum iron in thalassaemia: An abnormal serum iron fraction of potential toxicity. *British journal of haematology*. 1978; 40 (2): 255-263.

Higgs, D. R., Engel, J. D., & Stamatoyannopoulos, G. Thalassaemia. *Lancet*. 2012; 379 (9813): 373-383.

Hoffman, R. Thalassemia syndromes. *Hematology basic principles and practice*. Philadelphia, Churchill Livingstone; 2000, s: 485-509.



Huisman, T. H. The structure and function of normal and abnormal haemoglobins. *Bailliere's clinical haematology*. 1993; 6 (1): 1-30.

Jagadishkumar, K., Yerraguntla, N., & Vaddambal, M. G. Serum hepcidin levels in children with beta thalassemia major. *Indian pediatrics*. 2018;55(10):911-12.

Jones, E., Pasricha, S. R., Allen, A., Evans, P., Fisher, C. A., Wray, K., Drakesmith, H. Hepcidin is suppressed by erythropoiesis in hemoglobin e beta-thalassemia and beta-thalassemia trait. *Blood*. 2015; 125 (5): 873-880.

Jordan, J. B., Poppe, L., Haniu, M., Arvedson, T., Syed, R., Li, V., Sasu, B. J. Hepcidin revisited, disulfide connectivity, dynamics, and structure. *The Journal of biological chemistry*. 2009; 284 (36): 24155-24167.

Kaddah, A. M., Abdel-Salam, A., Farhan, M. S., & Ragab, R. Serum hepcidin as a diagnostic marker of severe iron overload in beta-thalassemia major. *Indian journal of pediatrics*. 2017; 84 (10): 745-750.

Kattamis, A., Papassotiriou, I., Palaiologou, D., Apostolakou, F., Galani, A., Ladis, V., Papanikolaou, G. The effects of erythropoietic activity and iron burden on hepcidin expression in patients with thalassemia major. *Haematologica*. 2006; 91 (6): 809-812.

Kautz, L., Jung, G., Du, X., Gabayan, V., Chapman, J., Nasoff, M., Ganz, T. Erythroferrone contributes to hepcidin suppression and iron overload in a mouse model of beta-thalassemia. *Blood*. 2015; 126 (17): 2031-2037.

Kautz, L., Jung, G., Nemeth, E., & Ganz, T. Erythroferrone contributes to recovery from anemia of inflammation. *Blood*. 2014a; 124 (16): 2569-2574.

Kautz, L., Jung, G., Valore, E. V., Rivella, S., Nemeth, E., & Ganz, T. Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nature genetics*. 2014b; 46 (7): 678-684.

Kearney, S. L., Nemeth, E., Neufeld, E. J., Thapa, D., Ganz, T., Weinstein, D. A., & Cunningham, M. J. Urinary hepcidin in congenital chronic anemias. *Pediatric blood & cancer*. 2007; 48 (1): 57-63.

Kemna, E., Tjalsma, H., Laarakkers, C., Nemeth, E., Willems, H., & Swinkels, D. Novel urine hepcidin assay by mass spectrometry. *Blood*. 2005; 106 (9): 3268-3270.

Koury, M. J., & Bondurant, M. C. Erythropoietin retards DNA breakdown and prevents programmed death in erythroid progenitor cells. *Science*. 1990; 248 (4953): 378-381.

Leecharoenkiat, K., Litanatudom, P., Sornjai, W., & Smith, D. R. Iron dysregulation in beta-thalassemia. *Asian Pacific journal of tropical medicine*. 2016; 9 (11): 1035-1043.

Li, J., Yang, L., Qin, W., Zhang, G., Yuan, J., & Wang, F. Adaptive induction of growth differentiation factor 15 attenuates endothelial cell apoptosis in response to high glucose stimulus. *PloS one*. 2013; 8 (6): e65549.

Lindahl, B. The story of growth differentiation factor 15: Another piece of the puzzle. *Clinical chemistry*. 2013; 59 (11): 1550-1552.

MacKenzie, E. L., Iwasaki, K., & Tsuji, Y. Intracellular iron transport and storage: From molecular mechanisms to health implications. *Antioxidants & redox signaling*. 2008; 10 (6): 997-1030.

Mastrogiannaki, M., Matak, P., Mathieu, J. R., Delga, S., Mayeux, P., Vaulont, S., & Peyssonnaud, C. Hepatic hypoxia-inducible factor-2 down-regulates hepcidin expression in mice through an erythropoietin-mediated increase in erythropoiesis. *Haematologica*. 2012; 97 (6): 827-834.

Meynard, D., Babitt, J. L., & Lin, H. Y. The liver: Conductor of systemic iron balance. *Blood*. 2014; 123 (2): 168-176.

Milic, S., Mikolasevic, I., Orlic, L., Devcic, E., Starcevic-Cizmarevic, N., Stimac, D., Ristic, S. The role of iron and iron overload in chronic liver disease. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*. 2016; 22: 2144-2151.

Moncrieff, A. Anaemia of von jaksch. *Proceedings of the Royal Society of Medicine*. 1933; 26 (10): 1359.

Munoz, M., Garcia-Erce, J. A., & Remacha, A. F. Disorders of iron metabolism. Part 1: Molecular basis of iron homoeostasis. *Journal of clinical pathology*. 2011; 64 (4): 281-286.

Musallam, K. M., Cappellini, M. D., Wood, J. C., & Taher, A. T. Iron overload in non-transfusion-dependent thalassemia: A clinical perspective. *Blood reviews*. 2012; 26 Suppl 1, s:16-19.

Musallam, K. M., Taher, A. T., Duca, L., Cesaretti, C., Halawi, R., & Cappellini, M. D. Levels of growth differentiation factor-15 are high and correlate with clinical severity in transfusion-independent patients with beta thalassemia intermedia. *Blood cells, molecules & diseases*. 2011; 47 (4): 232-234.

Nemeth, E. Heparin in beta-thalassemia. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2010; 1202: 31-35.

Nemeth, E., & Ganz, T. Heparin and iron-loading anemias. *Haematologica*. 2006; 91 (6): 727-732.

Nemeth, E., & Ganz, T. The role of heparin in iron metabolism. *Acta haematologica*. 2009; 122 (2-3): 78-86.

Neufeld, E. J., Galanello, R., Viprakasit, V., Aydinok, Y., Piga, A., Harmatz, P., Rienhoff, H. Y., Jr. A phase 2 study of the safety, tolerability, and pharmacodynamics of fbs0701, a novel oral iron chelator, in transfusional iron overload. *Blood*. 2012; 119 (14): 3263-3268.

Nienhuis, A. W., & Nathan, D. G. Pathophysiology and clinical manifestations of the beta-thalasseмии. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2012; 2 (12): a011726.

Origa, R., Galanello, R., Ganz, T., Giagu, N., Maccioni, L., Faa, G., & Nemeth, E. Liver iron concentrations and urinary hepcidin in beta-thalassaemia. *Haematologica*. 2007; 92 (5): 583-588.

Pak, M., Lopez, M. A., Gabayan, V., Ganz, T., & Rivera, S. Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity. *Blood*. 2006; 108 (12): 3730-3735.

Papanikolaou, G., & Pantopoulos, K. Systemic iron homeostasis and erythropoiesis. *IUBMB life*. 2017; 69 (6): 399-413.

Papanikolaou, G., Tzilianos, M., Christakis, J. I., Bogdanos, D., Tsimirika, K., MacFarlane, J., Nemeth, E. Heparidin in iron overload disorders. *Blood*. 2005; 105 (10): 4103-4105.

Pasricha, S. R., Frazer, D. M., Bowden, D. K., & Anderson, G. J. Transfusion suppresses erythropoiesis and increases hepcidin in adult patients with beta-thalassaemia major: A longitudinal study. *Blood*. 2013; 122 (1): 124-133.

Porter, J. B., Cappellini, M. D., Kattamis, A., Viprakasit, V., Musallam, K. M., Zhu, Z., & Taher, A. T. Iron overload across the spectrum of non-transfusion-dependent thalassaemias: Role of erythropoiesis, splenectomy and transfusions. *British journal of haematology*. 2017; 176 (2): 288-299.

Ramm, G. A., & Ruddell, R. G. Hepatotoxicity of iron overload: Mechanisms of iron-induced hepatic fibrogenesis. *Seminars in liver disease*. 2005; 25 (4): 433-449.

Reichert, C. O., da Cunha, J., Levy, D., Maselli, L. M. F., Bydlowski, S. P., & Spada, C. Heparidin: Homeostasis and diseases related to iron metabolism. *Acta haematologica*. 2017; 137 (4): 220-236.

Rienhoff, H. Y., Jr., Viprakasit, V., Tay, L., Harmatz, P., Vichinsky, E., Chirnomas, D., Neufeld, E. J. A phase 1 dose-escalation study: Safety, tolerability, and pharmacokinetics of fbs0701, a novel oral iron chelator for the treatment of transfusional iron overload. *Haematologica*. 2011; 96 (4): 521-525.

Rishi, G., Wallace, D. F., & Subramaniam, V. N. Heparin: Regulation of the master iron regulator. *Bioscience reports*. 2015; 35 (3).

Ronzoni, L., Sonzogni, L., Duca, L., Graziadei, G., Cappellini, M. D., & Ferru, E. Growth differentiation factor 15 expression and regulation during erythroid differentiation in non-transfusion dependent thalassemia. *Blood cells, molecules & diseases*. 2015; 54 (1): 26-28.

Rybinska, I., & Cairo, G. Mutual cross talk between iron homeostasis and erythropoiesis. *Vitamins and hormones*. 2017; 105: 143-160.

Saliba, A. N., Harb, A. R., & Taher, A. T. Iron chelation therapy in transfusion-dependent thalassemia patients: Current strategies and future directions. *Journal of blood medicine*. 2015; 6: 197-209.

Sangkhae, V., & Nemeth, E. Regulation of the iron homeostatic hormone hepcidin. *Adv Nutr*. 2017; 8 (1): 126-136.

Sankaran V. G., Nathan D. G., Orkin S H. . Thalassemias. In. Orkin S. H., Fisher D. E., Ginsburg D., Look A. T., Lux S. E., Nathan D. G.(Ed.), *Hematology and oncology of infancy and childhood*. 2015; (Eighth ed., pp. 715-69).

Schotten, N., Laarakkers, C. M., Roelofs, R. W., Origa, R., van Kraaij, M. G., & Swinkels, D. W. Epo and hepcidin plasma concentrations in blood donors and beta-thalassemia intermedia are not related to commercially tested plasma erythropoietin concentrations. *American journal of hematology*. 2017; 92 (3): E29-E31.

Taher, A. T., Temraz, S., & Cappellini, M. D. Deferasirox for the treatment of iron overload in non-transfusion-dependent thalassemia. *Expert review of hematology*. 2013; 6 (5): 495-509.

Tanno, T., Bhanu, N. V., Oneal, P. A., Goh, S. H., Staker, P., Lee, Y. T., Miller, J. L. High levels of gdf15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin. *Nature medicine*. 2007; 13 (9): 1096-1101.

Tanno, T., Noel, P., & Miller, J. L. Growth differentiation factor 15 in erythroid health and disease. *Current opinion in hematology*. 2010; 17 (3): 184-190.

Tanno, T., Porayette, P., Sripichai, O., Noh, S. J., Byrnes, C., Bhupatiraju, A., Miller, J. L. Identification of twsg1 as a second novel erythroid regulator of hepcidin expression in murine and human cells. *Blood*. 2009; 114 (1): 181-186.

Tanno, T., Rabel, A., Lee, Y. T., Yau, Y. Y., Leitman, S. F., & Miller, J. L. Expression of growth differentiation factor 15 is not elevated in individuals with iron deficiency secondary to volunteer blood donation. *Transfusion*. 2010; 50 (7): 1532-1535.

Tantawy, A. A., Adly, A. A., Ismail, E. A., Youssef, O. I., & Ali, M. E. Growth differentiation factor-15 in children and adolescents with thalassemia intermedia: Relation to subclinical atherosclerosis and pulmonary vasculopathy. *Blood cells, molecules & diseases*. 2015; 55 (2): 144-150.

Uysal, Z. 6. Hematoloji İlk basamak kursu eğitim kitabı. Ankara; 2007;10-15.

Ward, D. M., & Kaplan, J. Ferroportin-mediated iron transport: Expression and regulation. *Biochimica et biophysica acta*. 2012; 1823 (9): 1426-1433.

Weatherall, D. J., & Clegg, J. B. Thalassemia--a global public health problem. *Nature medicine*. 1996; 2 (8): 847-849.

Whipple, G. H., and Bradford, W. L. Mediterranean disease, thalassemia (erythroblastic anemia of cooley). *J. Pediat*. 1936; 9: 279-311.

Wu, M. Y., Xie, X. M., Li, J., & Li, D. Z. Neonatal screening for alpha-thalassemia by cord hemoglobin barts: How effective is it? *International journal of laboratory hematology*. 2015; 37 (5): 649-653.

Wynn, R., Bhat, R., & Monagle, P. Thalassemia. In *Pediatric hematology: A practical guide*. 2017; 103-111. Cambridge: Cambridge University Press.

Zhao, Y. S., & Chang, C. K. [effect of gdf15 on iron overloading and erythropoiesis]. *Zhongguo shi yan xue ye xue za zhi / Zhongguo bing li sheng li xue hui* = *Journal of experimental hematology / Chinese Association of Pathophysiology*. 2011; 19 (2): 537-541.



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

<b>Adı</b>	Zeynep	<b>Uyruğu</b>	T.C
<b>Soyadı</b>	Öztürk	<b>Tel no</b>	05057538932
<b>Doğum tarihi</b>	15.01.1978	<b>e-posta</b>	zbolat@akdeniz.edu.tr

### Eğitim Bilgileri

	<b>Mezun olduğu kurum</b>	<b>Mezuniyet yılı</b>
<b>Lise</b>	Sincan Süper Lisesi	1997
<b>Lisans</b>	Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Anabilim Dalı	2002
<b>Yüksek Lisans</b>	Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	2005
<b>Doktora</b>	Akdeniz Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı	2018

### İş Deneyimi

<b>Görevi</b>	<b>Kurum</b>	<b>Süre (yıl-yıl)</b>
<b>Araştırma Görevlisi</b>	Akdeniz Üniversitesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	2002-2005
<b>Bakteriyolog</b>	Akdeniz Üniversitesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı	2005-

<b>Yabancı Dilleri</b>	<b>Sınav türü</b>	<b>Puanı</b>
İngilizce	Yökdil	87.5

### Proje Deneyimi

<b>Proje Adı</b>	<b>Destekleyen kurum</b>	<b>Süre (Yıl-Yıl)</b>
Yenidoğanlarda Orak Hücre Anemisinin Taranması	Akdeniz Üniversitesi (B.A.P)	2003-2005
Beta-Talasemi Majorlü Hastalarda Morfometrik Değişikliklerin Araştırılması	Akdeniz Üniversitesi (B.A.P)	2006-2008
Yenidoğanlarda Orak Hücre Anemisinin Taranması	Türk Hematoloji Derneği	2006-2008
Şelatör Kullanan Talasemi Major Hastalarında	TÜBİTAK	2013-2014



Peroksiredoksin 2, Tiyoredoksin, Tiyoredoksin Redüktaz ve Bazı Oksidatif Stres Parametrelerinin Değerlendirilmesi.		
Talasemi Major Hastalarında Kardiyak Etkilenmenin Gösterilmesinde Copeptin'in Bir Belirteç Olarak Kullanılması	Akdeniz Üniversitesi (B.A.P)	2015-2016
Talasemi Major Hastalarında Selenoprotein P ve Glutasyon Peroksidaz 3 Düzeylerinin Tiroid Fonksiyonlarıyla İlişkisi	Akdeniz Üniversitesi (B.A.P)	2017-
Beta Talasemi Major Hastalarında T Hücre Apoptozu ve PD-1'in Etkisi	Akdeniz Üniversitesi (B.A.P)	2017-
Talasemi Major ve Talasemi Intermedia Hastalarındaki Fasiyal Değişikliklerin Üç Boyutlu Olarak Karşılaştırılması	Akdeniz Üniversitesi (B.A.P)	2018-

### **Burslar-Ödüller:**

1. Poster birincilik ödülü. Tezcan G, Uygun V, **Öztürk Z**, Küpesiz A, Kurt P, Ertürk B, Hazar V, Yeşilipek M A. Çocuklarda Akraba Dışı Hematopoietik Kök Hücre Tranplantasyonu. 6. Ulusal Pediatrik Hematoloji Kongresi, 22-26 Mayıs 2007, Bursa, Türkiye.
2. Poster üçüncülük ödülü. Akcan M, Karasu G, Uygun V, Tayfun F, Eker N, **Öztürk Z**, Küpesiz A, Hazar V, Yeşilipek M A. Çocuklarda Kök Hücre Nakli Yapılan Bening Hastalıklarda Engrafman, AGVHH, CGVHH ve Sağkalımı Etkileyen Donor Özelliklerinin İncelenmesi. 7. Ulusal Kemik İliği Tranplantasyonu ve Kök Hücre Tedavileri Kongresi. 8-10 Mart 2012 Antalya, Türkiye.

## Yayınlar ve Bildiriler:

### SCI'da Kayıtlı Yayınlar

1. Guzeloglu-Kayisli O, Cetin Z, Keser I, **Ozturk Z**, Tuncer T, Canatan D, Luleci G. Relationship between SP1 polymorphism and osteoporosis in beta-thalassemia major patients, *Pediatr Int.* 2008;50(4):474-6.
2. Yesilipek MA, Karasu G, Kazik M, Uygun V, **Ozturk Z**. Posttransplant oral iron-chelating therapy in patients with beta-thalassemia major, *Pediatr Hematol Oncol.* 2010;27(5):374-9.
3. Bilgen T, Clark OA, **Ozturk Z**, Akif Yesilipek M, Keser I. Two novel mutations in the 3' untranslated region of the beta-globin gene that are associated with the mild phenotype of beta thalassemia. *Int J Lab Hematol.* 2013;35(1):26-30.
4. **Ozturk Z**, Genc GE, Kupesiz A, Kurtoglu E, Gumuslu S. Thalassemia major patients using iron chelators showed a reduced plasma thioredoxin level and reduced thioredoxin reductase activity despite elevated oxidative stress. *Free Radic Res.* 2015;9:1-8.
5. Bilgen T, Altıok Clark O, **Öztürk Z**, Yesilipek MA, Keser İ. Gap-PCR Screening for Common Large Deletional Mutations of  $\beta$ -Globin Gene Cluster Revealed a Higher Prevalence of the Turkish inv/del ( $\delta\beta$ ) Mutation in Antalya. *Turk J Haematol.* 2016;33(2):107-11.
6. Genc GE, **Ozturk Z**, Gumuslu S, Kupesiz A. Mineral Levels in Thalassaemia Major Patients Using Different Iron Chelators. *Biol Trace Elem Res.* 2016; 170(1):9-16.
7. **Ozturk Z**, Genc GE, Gumuslu S. Minerals in thalassaemia major patients: An overview. *J Trace Elem Med Biol.* 2017;41:1-9.
8. Genc, G.E., **Ozturk Z**, Gumuslu S. Selenoproteins are involved in antioxidant defense systems in thalassemia. *Metallomics.* 2017;9(9):1241-1250.

### **Ulusal hakemli dergilerde yayınlanan makaleler:**

1. Öney S, **Öztürk Z**, Küpesiz A, Keser İ, Yeşilipek A. Beta-Talasemi Taşıyıcılarında Beta-Globin Gen Mutasyon Tipi ve Hematolojik Fenotip Arasındaki İlişki. Türk-Çocuk Hematoloji Dergisi 2008;2(4):23-28.

### **Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler**

1. Yesilipek MA, **Ozturk Z**, Karauzum S, Tezcan G, Kupesiz A, Hazar V. Mixed chimerism after peripheral stem cell transplantation in thalassaemia major: 31st Annual Meeting of the European-Group-for-Blood-and-Marrow-Transplantation/21st Meeting of the EBMT-Nurses-Group/4th Meeting of the EBMT-Data-Management-Group, Bone Marrow Transplantation, Vol 35, pp:S356-S357, March 20-23, 2005, Prague, Czech Republic.
2. Tezcan G, Kupesiz A, **Ozturk, Z**, Hazar V, Yesilipek MA. Use of granulocyte colony-stimulating factor after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation in children: single-center experience. 31st Annual Meeting of the European-Group-for-Blood-and-Marrow-Transplantation/21st Meeting of the EBMT-Nurses-Group/4th Meeting of the EBMT-Data-Management-Group, Bone Marrow Transplantation Vol 35, pp: S106, March 20-23, 2005, Prague, Czech Republic.
3. Yesilipek MA, Hazar V, Kupesiz A, Tezcan G, **Ozturk Z**, Uğuz A, Yeğın O. Allogeneic peripheral stem cell transplantation in children: 31st Annual Meeting of the European-Group-for-Blood-and-Marrow-Transplantation/21st Meeting of the EBMT-Nurses-Group/4th Meeting of the EBMT-Data-Management-Group, Bone Marrow Transplantation Vol 35, pp: S363, March 20-23, 2005, Prague, Czech Republic.
4. G Tezcan, S. Karaüzüm, A. Küpesiz, **Z. Öztürk**, V. Hazar, M.A. Yeşilipek. Mixed chimerism after peripheral blood stem cell transplantation in thalassaemia major. XXXth, World Congress of the International Society of Hematology, 28 September-2 October, 2005, İstanbul, Türkiye.

5. F.B.Yildirim, U. Ozsoy, B. Demirel, **Z. Ozturk**, R.Y. Arican, L. Sarikcioglu, İ. Keser, A. Yesilipek, S. Ozdem, B. Suzen, N. Oguz Craniofacial Morphometric Measurements in Turkish Children with B-Thalasemi-Major 9th European Association of Clinical Anatomy Congress, 5-8 September 2007, Prague, Czech Republic.
6. Karasu G, Uygun V, Kurt P, **Ozturk Z**, Kupesiz A, Hazar V, Yesilipek A. Allogeneic stem cell apheresis in a paediatric centre: single-centre experience: 34th Annual Meeting of the European-Group-for-Blood-and-Marrow-Transplantation/24nd Meeting of the EBMT-Nurses-Group/7th Meeting of the EBMT-Data-Management-Group, bone Marrow Transplantation Vol 41, pp 194, March 30-Apr 02,2008, Florence, Italy.
7. Karasu G, Uygun V, Kurt P, **Ozturk Z**, Kupesiz A, Hazar V, Yesilipek A. Viability and cellular recovery in cord blood transplantation. 5 th Congress of the International Pediatric Transplant Association, Pediatric Transplantation Vol 13 Supp 1, pp 151, 18-21 April 2009, Istanbul, Turkiye.
8. Karasu G, Uygun V, Kazik M, Kupesiz A, Kurt P, **Ozturk Z**, Hazar V, Yesilipek A. Donor lymphocyte infusions after allogeneic bone marrow transplantation for thalassaemia: a single-centre experience: 35th Annual Meeting of the European-Group-for-Blood-and-Marrow-Transplantation, Bone Marrow Transplantation Vol 43 pp S223, March 29-Apr 1, 2009, Goteborg, Sweden.
9. Karasu G, Uygun V, Kazik M, Kurt P, **Ozturk Z**, Kupesiz A, Hazar V, Yesilipek A, Factors predicting peripheral blood progenitor cell collectionnc from paediatric healthy donors, 36th Annual Meeting of the European-Group-for-Blood-and-Marrow-Transplantat/9th Meeting of the EBMT Data-Management-Group/26th Meeting of the EBMT Nurses Group/2nd EBMT Qual Management Meeting, Bone Marrow Transplantation, MAR 21-24, 2010, Vienna, Austria.

10. Karasu G, Uygun V, Kilic SC, **Ozturk Z**, Dincer Z, Yesilipek MA, The Cell Loss after Thawing in Cord Blood Units, 56th ASH annual meeting Blood, December 6-9, 2014, San Francisco, USA.
11. Genç GE, **Öztürk Z**, Küpesiz A, Gümüşlü S, Farklı Şelatörleri Kullanan Talasemi Major Hastalarında Oksidatif Stres ve Antioksidan Parametrelerin Değerlendirilmesi, Uluslararası katılımlı Kongre&Lab EXPO 2015, Elazığ, Türkiye.
12. Gümüşlü S, **Öztürk Z**, Genç GE, Küpesiz A, Talasemi major Hastalarında Selenyum Düzeyleri ve Selenoenzim Aktiviteleri, Uluslararası katılımlı Kongre&Lab EXPO 2015, Elazığ, Türkiye.
13. **Öztürk Z**, Yalçın K, Genç GE, Küpesiz A, Çevikol C, Gümüşlü S, Talasemi Major Hastalarında Tiyoredoksin Sistemin Kardiyak ve Karaciğer T2\* Değerleri ile İlişkisi, Uluslararası katılımlı Kongre&Lab EXPO 2015, Elazığ, Türkiye.

#### **Ulusal bilimsel toplantılarda sunulan ve bildiri kitabında basılan bildiriler**

1. Tezcan G, Küpesiz A, **Bolat Z**, Hazar V, Akbaç SH, Yeşilipek M. A, Spurious (yalancı) eritrosit parametreleri tanısız açıdan önemli mi? IV. Ulusal Pediatrik Hematoloji Kongresi, 10-13 Eylül 2003, Trabzon, Türkiye.
2. **Öztürk Z**, Mangoğlu E, Güzeloğlu-Kayışlı Keser İ, Yeşilipek A, Lüleci G. Hb Knossos [Cod27(G-T)] in a Turkish patient with beta-thalassemia major. 1. Ulusal Moleküler Tıp Kongresi. 16-19 Nisan 2005, İstanbul, Türkiye.
3. Kurt P, **Öztürk Z**, Tezcan G, Uygun V, Hazar V, Yeşilipek M.A, Beta Talasemi Majorlu Olgularda Deferiprone Kullanımı. XXXII. Ulusal Hematoloji Kongresi, 8-12 Kasım 2006, Antalya, Türkiye.
4. **Öztürk Z**, Dinçer T C, Kurt P, Tezcan G, Uygun V, Hazar V, Yeşilipek M.A, Miyokardiyal Demir Yükünün Belirlenmesinde Kardiyovasküler T2\* Magnetik Rezonans Uygulaması. XXXII. Ulusal Hematoloji Kongresi, 8-12 Kasım 2006, Antalya, Türkiye.

5. Tezcan G, **Öztürk Z**, Uygun V, Kurt P, Küpesiz A, Hazar V, Yeşilipek M.A, Akriba Dışı Kordon Kanı Tranplantasyonu: Tek Merkez Deneyimi. 4. Ulusal Kemik İliği Tranplantasyonu ve Kök Hücre Tedavileri Kongresi, 1-4 Mart 2007, Bursa, Türkiye.
6. Tezcan G, Uygun V, **Ozturk Z**, Kurt P, Kupesiz A, Akturk B, Hazar V, Yesilipek M.A. Cocuklarda Akriba Dışı Kök Hücre Tranplantasyonu: Tek Merkez Deneyimi, XXXIII. Ulusal Hematoloji Kongresi 16-19 Ekim 2007, Ankara, Türkiye.
7. Yıldırım F. B, Demirel B. M, Arican R Y, Sarikcioglu L, **Öztürk Z**, Keser I, Yeşilipek A, Özdem S, Süzen B, Erkılıç M, Oguz N. Bone mineral density, hormonal and biochemical measurements in Turkish children with beta-thalassemia major. XI. Ulusal Anatomi Kongresi, 26-29 Ekim, 2007 Denizli, Türkiye
8. Aldemir Kocabaş B, **Öztürk Z**, Samu A A, Kazık M, Bircan O, Bircan İ, Yeşilipek M A. Hematopoetik kök hücre nakli yapılan Talasemi majorlu olgularda endokrinolojik geç yan etkiler. 7. Ulusal Pediatrik Hematoloji Kongresi, 24-27 Mayıs 2009, Ankara, Türkiye.
9. **Ozturk Z**, Karasu G, Uygun V, Akcan M, Tayfun F, Eker E, Doğru Ö, Berber Z, Küpesiz A, Hazar V, Yeşilipek A. Allojenik Kök Hücre Transplantasyonu Gerçekleştirilen Talasemi major Olgularında Sitomegalovirus Enfeksiyonunun Kök Hücre Kaynağı ve Hastalık Risk Grubu ile İlişkinin Değerlendirilmesi. 7. Ulusal Kemik İliği Transplantasyonu ve Kök Hücre Tedavileri Kongresi, 8-10 Mart 2012 Antalya, Türkiye.
10. Akcan M, Karasu G, Uygun V, Tayfun F, Eker N, **Ozturk Z**, Küpesiz A, Hazar V, Yesilipek A, Çocuklarda Kök Hücre Nakli Yapılan Bening Hastalıklarda Engrafman, A GVHH, CGVHH ve Sağ Kalımı Etkileyen Donör Özelliklerinin İncelenmesi. 7. Ulusal Kemik İliği Transplantasyonu ve Kök Hücre Tedavileri Kongresi, 8-10 Mart 2012 Antalya, Türkiye.
11. Karasu G, Kurt P, Çay A Y, Uygun V, Doğru Ö, Akçan M, Tayfun F, Eker N, **Öztürk Z**, Yeşilipek M A. Kalıtsal Metabolik Hastalıklarda Hematopoetik Kök

Hücre Transplantasyonu. 7. Ulusal Kemik İliği Transplantasyonu ve Kök Hücre Tedavileri Kongresi, 8-10 Mart 2012 Antalya, Türkiye.

12. **Ozturk Z**, Kurt P, Küpesiz A, Oygür N, Yesilipek A. Yenidoğanlarda Orak Hücre Hastalığının Taranması. XXIV. Ulusal Biyokimya Kongresi, 25-28 Eylül 2012, Konya, Türkiye.
13. Gungor O E, Karayılmaz H, Yalçın H, **Ozturk Z**, Kupesiz A.  $\beta$ -Talasemi Hastası Çocuk ve Adölesanlarda Ağız Sağlığı ve Tükürükteki S. Mutans ve Laktobasil Düzeyleri, 19. Türk Pedodonti Derneği Kongresi, 04-07 Ekim 2012, Antalya, Türkiye.
14. Gungor O E, Güngör A Y, Karayılmaz H, **Öztürk Z**, Küpesiz A,  $\beta$ -Talasemi Major Hastalarının Kranio-Fasiyal Yapılarının Değerlendirilmesi: Pilot Çalışma. 19. Türk Pedodonti Derneği Kongresi, 04-07 Ekim 2012, Antalya, Türkiye.
15. **Öztürk Z**, Pınar M D, Eker N, Küpesiz A Beta-Talasemi Major ve Kalıtsal Hemakromatozis Birlikteliği/Case Report. XXV. Ulusal Biyokimya Kongresi 3-6 Eylül 2013, İzmir, Türkiye.
16. **Öztürk Z**, Tayfun F, Eker N, Pınar M.D, Doğru Ö, Küpesiz O.A, ve ark. Beta Talasemi Major Hastalarımızda Deferasiroks ve Deferiprone Şelasyon Tedavilerinin Yan Etkileri, 39. Ulusal Hematoloji Kongresi, 23-26 Ekim 2013, Antalya, Türkiye.
17. Karayılmaz H, Yalçın H, **Öztürk Z**, Küpesiz A.  $\beta$ -Talasemi Hastası Çocuk ve Adölesanlarda Mandibula Boyutlarının İncelenmesi: Pilot Çalışma, 20. Türk Pedodonti Derneği Bilimsel Kongresi, 07-10 Kasım 2013, Kayseri, Türkiye
18. **Öztürk Z**, Gümüslü S, Yalçın K, Küpesiz A. Beta Talasemilerde Eritroferron Demir Metabolizmasında Yeni Bir Regülatör Mü? Sözlü Sunu. 44. Ulusal Hematoloji Kongresi, 31 Ekim-4 Kasım 2018, Antalya, Türkiye.