

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**AKTİF ROMATOİD ARTRİTLİ DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİ OLAN
HASTALARLA, STABİL ROMATOİD ARTRİTLİ ANEMİSİ OLMAYAN
HASTALARIN HEPİDİN DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Murat ÖZTÜRKLER

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Abdullah HACİHANEFİOĞLU

KOCAELİ 2011

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**AKTİF ROMATOİD ARTRİTLİ DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİ OLAN
HASTALARLA, STABİL ROMATOİD ARTRİTLİ ANEMİSİ OLMAYAN
HASTALARIN HEPSİDİN DÜZEYLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Dr. Murat ÖZTÜRKLER

TEZ DANIŞMANI: Doç. Dr. Abdullah Hacıhanefioğlu

ANABİLİM DALI BAŞKANI: Prof. Dr. Ahmet Yılmaz

ETİK KURUL ONAY TARİHİ VE NO: 27 Ekim 2009 tarihinde KKAEK 2009–14
nolu karar

TEŐEKKÖR

Uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve becerilerinden yararlandığım, sadece iyi bir hekim değil, ayrıca iyi bir insan olmamız için de bizlere örnek olan ilgi ve desteğini hiğbir zaman esirgemeyen değerli hocam, anabilim dalı başkanımız sayın Prof. Dr. Ahmet Yılmaz'a;

Bu çalıőmayı yapmam için gerekli imkânları bana sunan ve desteğini esirgemeyen, bizlerle yakından ilgilenen, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım sayın Doç. Dr. Abdullah Hacıhanefioğlu'na;

Birlikte alıőtıęım, tecrübelerinden faydalandığım diğer hocalarıma ve çalışma arkadaşlarıma ve aileme; en derin saygılarımla

Teőekkör ederim.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	i
KISALTMALAR LİSTESİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	v
TABLolar DİZİNİ	vi
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	2
2.1. Hepsidin	2
2.1.1. Hepsidin üretimi	2
2.1.2. Hepsidin etkileri	3
2.1.3. Etki mekanizması	3
2.1.4. Hepsidin sentezini düzenleyen faktörler	4
2.1.4.1. Demir	4
2.1.4.2. Anemi ve hipoksi	5
2.1.4.3. İnflamasyon	6
2.1.5. Hepsidin etkisi mekanizmaları	8
2.1.5.1. Ferroportin	8
2.1.6. Demir metabolizması bozuklukları ve hepsidinle düzenlenmesi	9
2.1.6.1. Hereiter hemokromatozis	9
2.1.6.2. Hemojuvelin	10
2.1.6.3. Talassemi	10
2.1.6.4. İnflamasyon anemisi	11
2.2. Romatoid Artrit	12
2.2.1. Epidemiyoloji	12
2.2.2. Etyoloji	12
2.2.2.1. Genetik Faktörler	12
2.2.2.2. Cinsiyet ve hormonal nedenler	13
2.2.2.3. İnfeksiyon ajanları	13
2.2.2.4. Isı şok proteinleri	14
2.2.3. Patogenez	14
2.2.3.1. Morfoloji	14
2.2.3.2. İmmünpatogenez	16
2.2.4. Romatoid artrit tanısı	17
2.2.5. Romatoid artrit ve laboratuvar	18
2.3. DAS 28	19
3. GEREÇ VE YÖNTEM	22
3.1. Çalışma Gruplarının Seçimi	22
3.1.1. Aktif romatoid artritli demir eksikliği anemisi olan hastalar (grup 1)	22
3.1.2. Stabil romatoid artritli demir eksikliği olmayan hastalar (grup 2)	23
3.1.3. Kontrol grubu (grup 3)	23
3.2. Araç-Gereç ve Laboratuvar Yöntemleri	24
3.3. İstatistiksel Analiz	24

4.BULGULAR	25
5.TARTIŞMA.....	30
6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER	35
ÖZET	37
İNGİLİZCE ÖZET	38
KAYNAKLAR.....	39
ÖZGEÇMİŞ.....	44

KISALTMALAR LİSTESİ

ACR	: Amerikan Romatoloji Derneği
AES	: Ağırlı eklem sayısı
Anti CCP	: Anti-siklik sitrülünleşmiş protein antikorları
BTT	: Beta-Thalassemi Trait
Ca	: Kalsiyum
CI	: Kronik inflamasyon
CRP	: C-reaktif protein
Dcytb	: Duodenal ferrik redüktaz
DEA	: Demir eksikliği anemisi
DMT	: Divalent metal transporter
ESH	: Eritrosit sedimantasyon hızı
Fe	: Demir
FEP	: Serbest protoporfirin
FPN	: Ferroportin
GABA	: Gama amino bütrikasit
GPI	: Glilosilfosofotidilinositol
GS	: Genel sağlık
H	: Ağır
Hb	: Hemoglobin
Hct	: Hematokrit
Heph	: Hephaestin
HH	: Herediter hemokromatoz
HIF	: Hipoksi ile indüklenen faktör
HJV	: Hemojuvelin
IRE	: Demir düzenleyici element
IRE-BP	: Demir düzenleyici elementi bağlayan protein (iron responsive elements binding protein)
LEAP	: Liver-expressed antimicrobial peptide
MAO	: Monoamin oksidaz
MCH	: Ortalama eritrosit hemoglobini
MCHC	: Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu
MCV	: Ortalama eritrosit hacmi
RDW	: Eritrosit dağılım genişliği
RE	: Retiküloendotelyal
SA	: Sideroblastik anemi
ŞES	: Şiş eklem sayısı
TDBK	: Total demir bağlama kapasitesi
TSAT	: Transferrin Satürasyonu
Tfr	: Transferrin reseptörü
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Hepsidinin başlıca fonksiyonları.....	4
Şekil 2. Hepsidin salınımı etkileyen faktörler	5
Şekil 3. Plazma hepsidin düzeyinin demir düzeyi, anemi ve hipoksi ile düzenlenmesi	9
Şekil 4. DAS 28’de kullanılan eklemler	20
Şekil 5. Gruplardaki hepsidin düzeyi.....	29

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1. Demir metabolizması ile ilgili çeşitli bozukluklarda plazma hepsidini	11
Tablo 2. RA riskini artıran bazı faktörler	14
Tablo 3. RA riskini azaltan faktörler	14
Tablo 4. DAS 28 Hastalık aktivitesi	20
Tablo 5. Hastalara ait yaş, cinsiyet, hastalık süresi, AES ve ŞES	25
Tablo 6. Hastaların inflamasyon göstergeleri olan labaratuvar verileri.....	25
Tablo 7. Hastalara ait hemogram demir parametreleri ve hepsidin düzeyleri	26
Tablo 8. One-WAY ANOVA, post- hoc Scheffe	27
Tablo 9. Student t testi	28
Tablo10. Gruplar arasında hepsidin düzeylerinin karşılaştırılması (median, min-max) Kruskal-Wallis test.....	28

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Son yıllarda, hücresel düzeyde yeni proteinlerin keşfi ile demir metabolizmasının moleküler kontrolü, demirin emilimi, depolanması ve organizmadaki döngüsü ile ilgili, çok büyük değişiklikler ve ilerlemeler olmuştur [1].

Hepsidin karaciğerde hepatositlerde sentezlenen, sisteinden zengin küçük bir peptiddir. Organizmada demir dengesini sağlar. Hepsidin, transmembran yerleşimli bir protein olan ferroportin ile etkileşime geçerek hücre sel demir salınımını düzenlemektedir. Karaciğer, hepsidin üretimini demir depoları yeterli ve yüksek olduğunda arttırır. Böylece ince barsakta demiri enterositten plazmaya taşıyan yolu bloke eder. Hepsidin üretimi hipoksida ve demir depolarının düşük olduğ u demir eksikliği anemisinde azalır. Bunun tersine, inflamasyon ve infeksiyon durumlarında hepsidin düzeyi artmaktadır [2].

Hepsidin düzeylerindeki değişimin tanısal amaçlı kullanımından başka, gelecekte demir metabolizması ile ilişkili çeşitli hastalıkların tedavisinde yer alacağı düşünülmektedir [3].

Bu çalışmada, demir eksikliği anemisi olan aktif RA' lı hastalarla, demir eksikliği anemisi olmayan stabil RA'lı hastaları, sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırdık. Böylece, demir eksikliği gibi hepsidin düzeyini düşüren bir durumla, inflamasyona bağlı hepsidin düzeyini yükselten bir durumun mukayesesini yaparak, bu üç grup arasında anlamlı bir fark olup olmadığını göstermeyi amaçladık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Hepsidin

Park C.H. ve çalışma arkadaşları, 2001 yılında çeşitli insan vücut sıvılarının antimikrobiyal özelliklerini incelerken, idrarda karaciğer kaynaklı (hep-) ve in vitro antibakteriyel özelliklere (-cidin) sahip yeni bir peptid bulmuş ve onu “hepcidin” (hepatik bactericidal protein) olarak adlandırmıştır [4]. Krause A. ve ark. 2000’de aynı peptidi plazma ultrafiltratından izole etmiş ve karaciğer kaynaklı antimikrobiyal peptidi (liver-expressed antimicrobial peptide, LEAP-1) olarak adlandırmıştır [5]. Sistemik demir homeostazındaki rolü diyetle demir yüklenen farelerin karaciğerlerinde hepsidin mRNA’sının aşırı eksprese olduğunu gözlenmesi ile fark edilmiştir [6]. Günümüzde hepsidin, demir metabolizmasının düzenlenmesinde temel hormon olarak kabul edilmektedir [7].

2.1.1.Hepsidin üretimi

Hepsidin çoğunlukla karaciğerden sentez edilir, fakat az da olsa böbreklerden, kalpten, iskelet kasından ve beyinden de sentez edildiği gösterilmiştir. Kulaksız ve arkadaşları, karaciğerde yüksek hepsidin konsantrasyonunun sinüzoidlere ve merkezi venlere doğru azaldığını, hepatositlerin periportal bölgesinde yoğunlaştığını göstermişlerdir. Bu durum hormonal tip düzenlemeyle tutarlı durumdadır. Böbreklerin sadece hepsidin sentezinde rol oynamadığı ayrıca bu peptidin atılmasında da rol oynadığını ileri sürmüşlerdir [8]. Kulaksız ve ark. yaptıkları başka bir çalışmada memelilerin böbreğinde toplayıcı kanal ve tübüllerin epitelyal hücrelerinde intrinsek peptid olarak hepsidin üretildiğini ve idrara luminal olarak salınabildiğini rapor etmişlerdir. Böbrekte hepsidin (demir düzenleyici rolü olan bu peptid hormonun) renal tübüler sistem içinde demir taşıyıcısı olan DMT1 ile ilişkili olduğu bulunmuştur. DMT 1 ekspresyonunun distal

tübül ve toplayıcı kanal epitelyal hücrelerin apikal kutbunda en yüksek olduğu ve bu bölgelerde hepsidinin de bulunduğu gösterilmiştir. Kulaksız ve ark. hepsidinin böbrekte demir transportunun düzenlenmesinde karmaşık bir rol oynadığını ortaya koymuşlar ve onlar RT-PCR deneysel çalışmalarında hepsidinin böbrekte intrinsek olarak üretildiğini göstermişlerdir [9].

2.1.2. Hepsidinin etkileri

Hepsidin vücutta bilinen iki farklı etkisi vardır.

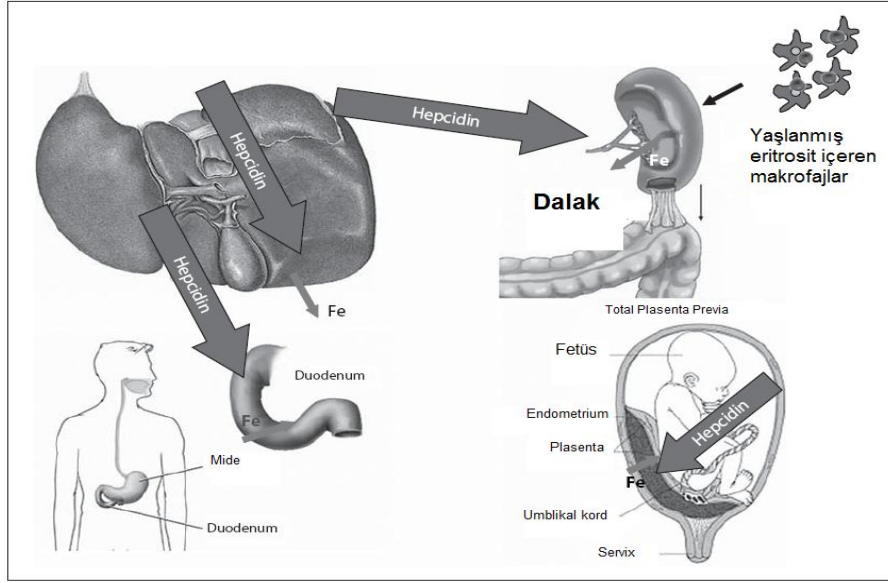
1- **Antimikrobiyal Etki:** İnsan hepsidini invitro olarak, 10–30 μ M gibi çok yüksek konsantrasyonlarda antibakteriyal ve antifungal özellikler göstermektedir. İdrar hepsidin konsantrasyonları 3–30 nM (10–100 ng/mL) aralığındadır ve infeksiyonlar sırasında 10 kata kadar artabilmektedir. Bundan dolayı hepsidinin idrarda antimikrobiyal etki göstermesi olası değildir [10].

2- **Demir - Düzenleyici İşlev:** Diyetteki demir ile hepsidin sentezinin arttığının gözlenmesi, hepsidinin demir metabolizmasında yer aldığını düşündürmüştü ve transgenik fare modellerinde hepsidin eksikliği ve fazlalığının etkileri incelendiğinde, farelerdeki hepsidin düzeyinin, barsakta demir emiliminin, plasentadan demir taşınmasının ve makrofajlardan demir salımının üzerine negatif etkisi olduğunu göstermiştir [10].

2.1.3. Etki mekanizması

Hepsidin ve demir metabolizması arasındaki ilk ilişki Pigeon ve ark. [11] ve Nicolas ve ark. [12] nın yaptıkları çalışmalardan gelmiştir. Hepsidin genini deneysel olarak demir yüklenmiş farelerin karaciğerinde aşırı yapıldığını göstermişlerdir. Hepsidin injekte edilmesi barsaktan demir emilimini inhibe etmiştir [13]. İnsanlarda demir alımının olması idrardan hepsidin sekresyonunu arttırmıştır [14]. Bütün bu gözlemler makrofajlardan demir salınımında ve barsaklardan demir emiliminde hepsidinin negatif düzenleyici rol oynadığını göstermiştir. Hepsidinin net

etkisi; diyetle alınan demir emilimini azaltmak, makrofajlardan ve karaciğerdeki depolardan demirin salınımını azaltmaktır. Doğal olarak hepsidin ortamda olmadığında enterositler ve makrofajlardan demir salınımı üzerindeki negatif etkinin kaybolmasına bağlı demir salınımı olacaktır ve bunu takiben dolaşımda demir aşırı yüklenmesi olacaktır (Şekil1).



Şekil 1: Hepsidin'in başlıca fonksiyonları

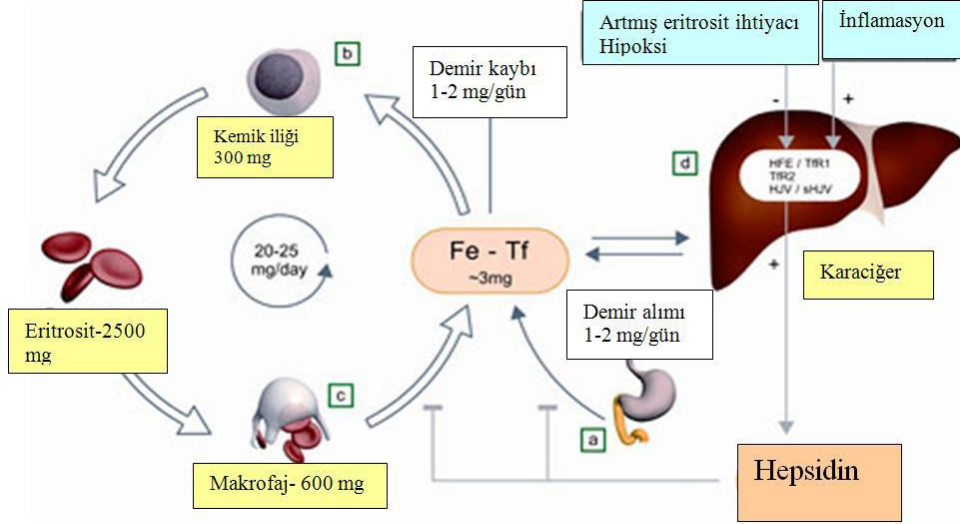
2.1.4. Hepsidin sentezini düzenleyen faktörler

2.1.4.1. Demir

İnsanlarda tek doz oral demir bile (65 mg FeSO₄) birkaç saat içinde üriner hepsidin ekskresyonunu artırır. Artmış plasma hepsidin düzeyi demirin intestinal emilimini ve depolardan salınımını inhibe eder. Hepsidin'in demirle regülasyonu ile ilgili en iyi fikir herediter hemokromatozis gen çalışmalarından elde edilir. Demir aşırı yüklenmesine rağmen homozigot HFE transferin reseptör-2 ve hemojuvelin (HJV) mutasyonu olan hastalarda veya farelerde hepsidin oranı düşük bulunur. Sonuç olarak bu moleküllerin demir bağımlı olarak hepsidin sentezini düzenlediği gösterilmiştir [15,16].

2.1.4.2. Anemi ve hipoksi

Eritropoetik uyarılar hepsidin üretimini azaltır. Hepsidin üretiminin azalması, demir emilimi ve makrofajlardan demir salınımı üzerine olan inhibitör etkisini de ortadan kaldırarak, daha fazla demirin eritropoez için kullanılmasını sağlar [17]. Hepsidin salınımını etkileyen faktörler aşağıda gösterilmiştir (Şekil 2).



Şekil 2: Hepsidin salgılanmasını etkileyen faktörler (18)

Aneminin, hepsidini iki yolla regüle edebileceği düşünülmektedir. Bunlar, hepsidin gen ekspresyonunu düzenleyen muhtemel bir hipoksi ile indüklenen faktörün (HIF) yer aldığı doku hipoksisi ve eritropoezi uyararak indirekt olarak hepsidin sentezini baskılayan transferrin doygunluğunun azalmasıdır. Ne şekilde olursa olsun, hepsidin sentezi talasemiler gibi inefektif eritropoezle giden hastalıklara eşlik eden demir yüklenmesine rağmen azalmış olarak bulunur. Bu durum hepsidin üretiminin anemi ile baskılanmasının, hepsidin sentezinin demir yüklenmesi ile uyarılmasına kıyasla daha güçlü bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir [19]. Bu hastalardaki düşük hepsidin düzeyleri, demirin aşırı emilimine ve organ hasarı ile sonuçlanan sistemik demir yüklenmesine sebep olmaktadır. Talassemilerin ciddi formlarında, tekrarlanan kan transfüzyonları demir yükünü arttırır. Bu hastalarda göreceli hepsidin eksikliği, demiri toksik olmayan makrofaj havuzundan, demir toksisitesine karşı savunmanın daha az etkin olduğu diğer hücre tiplerine ve dokulara dağıtarak, demir toksisitesini arttırır [20].

2.1.4.3. İnflamasyon

Hepsidini kodlayan gen aynı zamanda inflamasyon tarafından düzenlenir. Karaciğer tarafından yapılan hepsidin, konak savunması ve inflamasyon arasındaki demir metabolizmasında önemli bağlantıyı oluşturur. İnsanlarda karaciğer, konak savunmasıyla ilgili akut faz proteinlerinin sentez artışından sorumludur. Akut faz proteinlerinden inflamasyon sürecinde, en azından %25 oranında plazma konsantrasyonları artanlar “pozitif akut faz proteinleri”, veya azalanlar “negatif akut faz proteinleri” olarak tanımlanır [21]. Akut faz cevabı inflamasyona eşlik eden ana patofizyolojik fenomendir. Akut faz cevabı hem akut hem de kronik inflamatuvar durumlara eşlik eder. Bunlar enfeksiyon, travma, infarkt, inflamatuvar artritler ve neoplazmlar gibi durumlardır. Hepsidin sentezi inflamasyon ve enfeksiyon süresince belirgin olarak artar ve serum demiri azalır [22]. İnflamasyon sürecini takiben sitokinler başlıca makrofajlar ve monositler tarafından yapılır. Bunlar interlökin (IL)-6, IL-1, tümör nekrozis faktör (TNF), interferon ve transforming growth faktördür (TGF). IL-6’nın varlığı akut faz reaktanlarının başlıca indükleyicisi olup akut faz protein yapımını stimule eder [23]. Bu sitokin ailesi ayrıca karaciğerde albümin sentezini de inhibe eder. Nemeth ve arkadaşları [14] IL-6’nın inflamasyon sürecinde hepsidin sentezinin anahtar tetikleyicisi olduğunu rapor etmişlerdir. Wrighting ve Andrews’in yakın zamanda yayınladıkları çalışmada, inflamasyonda IL-6’nın direkt olarak hepsidini indüklediği ve STAT-3’ün aktivasyonunu düzenlediğini göstermişlerdir [24].

Hepsidin bir tip akut faz proteindir. İnsanlarda LPS injeksiyonu ile IL-6’nın 3-4 saat içinde pik yaptığı görülmüştür [24]. Bununla bağlantılı olarak en yüksek hepsidin atılımı 6 saat içinde gözlenmiştir ve bu süreden sonra demirde azalma olmuştur. Ayrıca insanlarda IL-6 infüzyonu, hepsidin artışıyla birlikte demir azalması ile sonuçlanmış ve TSAT %30’dan daha fazla düşmüştür [25]. İnflamatuvar uyarıyla saatler içinde demir düzeyinde azalma gelişmiştir. Bakteriler konak oksijen radikallerine karşı süperoksit dismutaz yapımı için demir gereksinimine ihtiyaç duyarlar [26,27]. Ancak çevredeki demir konsantrasyonunun azalması konağın mikroorganizma saldırısına karşı kendini savunması ve ideal şartlarda yaşamını

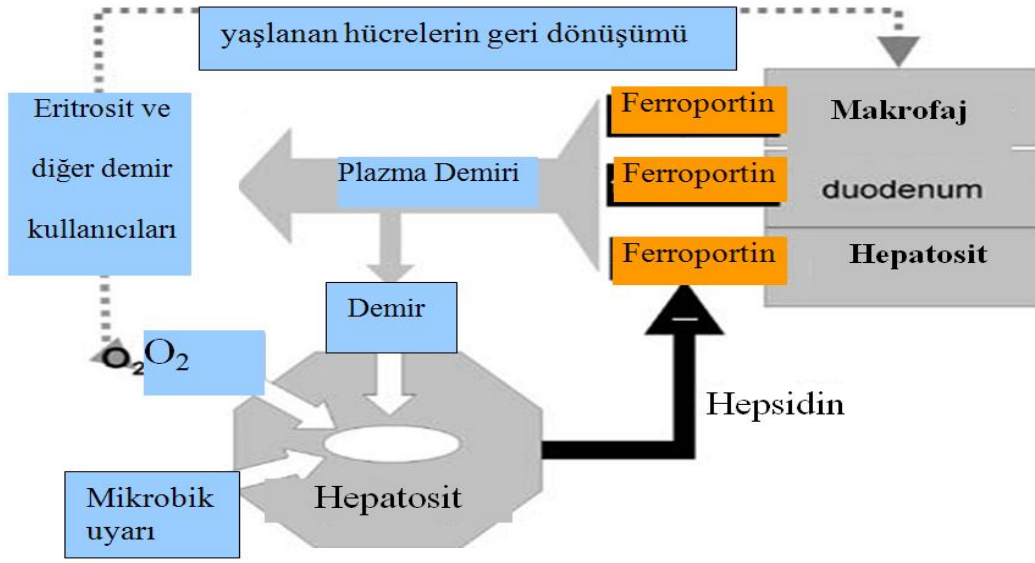
sürdürmesi için yeterli değildir. Bu durum hem bakterinin hem de konağın üstesinden gelmesi gereken bir problemdir. Bakteri geliştirdiği siderophor'lar (yüksek affiniteli demir bağlayıcı moleküller) sayesinde konaktaki laktoferrin veya transferrindeki demiri tekrar ele geçirir. Konağın geliştirdiği savunma mekanizmaları, demir bağlayıcı protein yapımını arttırmak (örneğin: transferrin), diyetle alınan demir absorpsiyonunu düşürmek, mikroorganizma saldırısına karşı demir sekestre eden nötrofillerden apolaktoferrin salgılaması yapmaktır. Hepsidin makrofajlardan apolaktoferrin salgılanmasını indükler, bu molekül bakteriden demiri çalar. Kanda ve hücre içindeki bakteri zayıf düşebilir veya biyofilmler gelişmeyebilir [28]. Hepsidin diğer savunma amaçlı olan antimikrobiyal peptidlere benzer. Bakterilerle karşılaştığında öldürücü bir antimikrobiyal peptiddir. Ancak diğer savunuculardan bazı yapısal farklılıkları vardır. Örneğin karaciğer tarafından yapılır ve kemotaktik özellikleri bulunmaz [29]. Böylece hepsidin enfeksiyonların etkisini azaltır, kısmen antimikrobiyal etkisi olan, bir akut faz proteini olup demirin azalmasına neden olur [30]. Farelerde hepsidin geninin bir NFκB bağlayıcı bölgesi tanımlanmıştır. Sonuç olarak inflamasyon süreci, enfeksiyon ve muhtemelen kanser gibi olaylar hepsidini yükseltir ve enterositler, hepatositler ve makrofajlardan demir salgılanmasını azaltır. Serum demirindeki düşüş bakteri ve tümör hücreleri için kullanılabilir demirin azalmasına yol açar. Hepsidin reseptörlerinin artması tümör hücrelerinin demir açlığından ölmelerini indükleyen tek mekanizma olabilir. Ancak uzun dönemde hepsidin tarafından indüklenen bu demirin azalması kronik hastalık anemisiyle sonuçlanır [25,31].

2.1.5. Hepsidin etki mekanizmaları

2.1.5.1. Ferroportin

Hepsidin etki mekanizmalarını tanımlayabilmek için, transmembran yerleşimli bir protein olan ferroportin (FNP)'nin fonksiyonunu anlamak gerekir [2]. FNP vertebralılarda bilinen tek hücrel demir dağıtıcısıdır. Plasental trofoblastlara ek olarak duodenal enterositler, makrofajlar ve hepatositler gibi dokularda da FNP bulunmaktadır. Maternal-fetal yüzeyde FNP nin korunduğu selektif FNP eksikliğinde, yeni doğan fare diyetle demir emilimi yapamadığı için hızla demir eksikliği gelişir. Bu çalışmaya göre FNP, dokulardan demir salımını sağlayan tek yapıdır [15]. FNP, plazmaya demir salımında rol alan temel hücreler olan enterositler, makrofajlar, hepatositler, plasental trofoblastların yüzeyinde bulunur ve demirin bu hücrelerden atılımını sağlar. Hepsidin, FNP ile etkileşime geçerek hücrel demir salımını düzenlemektedir [2]. Nemeth ve ark. yaptıkları çalışma ile, hepsidin direkt olarak FNP'ye bağlandığını, bu bağlanmanın etkisiyle FNP'nin internalize olarak yıkıldığını ve FNP'nin hücre membranından kaybının hücrel demir atılımını durdurduğunu göstermişlerdir [32]. Demir depoları yeterli veya yüksek olduğunda, karaciğer hepsidin üretimini artırır. Hepsidin, ince barsakta FNP'i internalize ederek demiri enterositlerden plazmaya taşıyan tek yolu bloke eder. Demir depoları düşük olduğunda ise, hepsidin üretimi azalır, FNP molekülleri demiri enterosit sitoplazmasından plazma transferrinine aktarır. Benzer şekilde hepsidin FNP etkileşimi makrofajlardaki demir döngüsünün nasıl düzenlendiğine açıklık getirir. Hepsidin varlığında ferroportin internalize olur ve demir makrofajlar içerisinde hapis olur [17,33].

Demir ve inflamasyonun hepsidinden bağımsız olarak da FNP mRNA ekspresyonunu baskıladığı bildirilmiştir [1,15]. Şekil 3'de ferroportinin nasıl çalıştığı gösterilmiştir [15].



Şekil 3: Plazma hepsidin düzeyinin demir düzeyi, anemi ve hipoksi ile düzenlenmesi [15]

Hepsidin demir dönüşümünü tamamen bloke edebilirse 1 saat içinde plazma demiri en az %25 oranında azalabilir [49–50]. Çünkü plazma transferrin kompartmanı sadece 3 mg demir içerir. Bu kompartmanda çoğunluğu eski eritrositlerden sağlanan günlük yaklaşık 20 mg demir akışı olur. Bu nedenle plazmanın tüm demir içeriği her 3–4 saatte bir devir eder [34,35].

2.1.6. Demir metabolizması bozuklukları ve hepsidinle düzenlenmesi

2.1.6.1. Herediter hemokromatozis

HH, aşırı demir Emilimi, transferrin, ferritin ve diğer demir bağlayıcı proteinlerin saturasyonu bozuklukları ve vital organlarda demir birikimi ile karakterize bir grup bozukluğu içermektedir. Demir toksik bir maddedir. Bu nedenle hemokromatozis, karaciğer yetmezliği, kardiyomyopati, endokrin bezlerin yıkımı ve eklem hasarına yol açabilmektedir [17,33].

HH'de aşırı demir yüklenmesine rağmen hepsidin eksikliği ile karakterizedir ve HFE, TfR2 ve HJV'nin homozigot bozukluğuna bağlı olarak oluşur. Bu da bu moleküllerin direkt veya indirekt olarak hepsidin regülasyonunda

etkili olduğunu göstermektedir. Bunlardan hepsidin regülasyonun da en etkili HJV'dir. Çünkü fenotipik dağılımı hepsidin homozigot gen dağılımını tıpa tıp taklit eder ve her ikisinin eksikliği de en ciddi HH olan juvenil hemokromatozisle sonuçlanır [36,37].

2.1.6.2. Hemojuvelin

HJV son zamanlarda bulunan nöronal farklılaşma, göç ve apoptozisle ilişkili olan İtici Rehber Moleküller (Repulsive Guidance Moleküller –RGM-) ailesine ait glikosil fosfotidil inositol (GPI) bağlı bir proteindir [37]. İn vitro hepsidin salgılanmasını düzenler. HJV salgılanmasının baskılanması sonucu hepsidin mRNA'sının ekspresyonu azalır [38]. HJV esas olarak iskelet kaslarında, karaciğerde ve kalpte sentezlenir. Rekombinant çözünebilir HJV doz bağımlı ve lineer bir şekilde primer insan hepatositlerinde hepsidin mRNA'sını baskılar.

In vitro şartlarda HJV parçalanması, demir tarafından inhibe edilir. Fe^{+2} - Tf veya ferrik amonyum sitrat düzeylerinin artması, tedrici olarak çözünebilir HJV'nin hücreden ortama salgılanmasını baskılar [38].

2.1.6.3. Talassemi

Talassemi hastalarında aşırı demir yüklenmesi ve anormal demir dağılımı görülür. Artmış serum ferritini ile gösterilen sistemik aşırı demir yüklenmesine karşın, üriner hepsidin düzeylerinin aşırı derecede düşük olduğunu gösterilmiştir. Üriner hepsidin serum ferritinine oranının düşük olması, hepsidin demir yüküne uygunsuz cevabını yansıtan bir indeks olarak kullanılmaktadır [39].

Origa ve ark. yaptığı bir çalışmada, talassemi intermediyalı hastalarda talassemi majörlü hastalara kıyasla daha düşük hepsidin düzeyleri tespit edilmiştir ki bu durum, artmış eritropoezin hepsidin regülasyonunda dominant bir baskılayıcı etkisi olduğunu göstermektedir [40].

2.1.6.4. İnflamasyon anemisi

Anemi akut ve kronik infeksiyon ve romatolojik hastalıklar, inflamatuvar barsak hastalıkları ve maligniteleri de içine alan hastalıklara bağlı oluşur.

İnflamasyon anemisi azalmış serum demir ve demir bağlama kapasitesi, artmış ferritin ve kemik iliği makofajlarında birikmiş demir ile karakterizedir.

İnflamasyona bağlı anemisi olan hastalarda, normal insanlarla kıyaslandığında üriner hepsidin atılımı artmıştır. Hipoferremi demirin plazmaya salımının hepsidin tarafından inhibe edilmesi sonucu gelişir [34].

Böylece inflamasyona bağlı anemi IL-6 dan hepsidine, hepsidinden hipoferremiye ve anemiye doğru uzanan bir kaskadı içermektedir [41,42].

Tablo 1: Demir Metabolizması ile İlgili Çeşitli Bozukluklarda Plazma Hepsidini

Hastalık	Hepsidin	Serum demiri	Ferritin
İnflamasyon anemisi	artar	azalır	artar
DEA	azalır	azalır	azalır
Transfüzyonel demir Yüklenmesi	artar	artar	artar
HH<tip1,2,3>	azalır/yok	artar	artar
HH<tip4>	artar	N/ yaşla artar	artar

2.2. Romatoid Artrit

Romatoid artrit (RA) kronik inflamatuvar, multisistemik bir hastalık olup; kontrol edilemeyen, inatçı sinoviyal doku proliferasyonu ile karakterizedir. Ek organ tutulumları eşlik edebilir. RA tedavi edilmeyen vakaların % 20-30'unda kalıcı eklem deformitelerine sebep olarak hastaların yaşam kalitesini düşürmektedir.

2.2.1. Epidemiyoloji

Dünya çapındaki prevalansı % 0,8 (değişik toplumlarda sıklığı % 0,3–2,1 arasında bildirilmiştir) olarak tahmin edilmektedir. RA hemen hemen tüm toplumlarda görülmektedir.

Hastalığın başlangıcı en sık dördüncü ve beşinci dekatlardadır. Sıklığı 60–64 yaş arası kadınlarda 18–29 yaş arası kadınlara göre altı kat daha fazladır. RA, kadınlarda erkeklere oranla 2,5 kat daha sık görülmektedir. Yaş ilerledikçe cinsiyet farkı azalmaktadır [43,44].

2.2.2. Etyoloji

2.2.2.1. Genetik faktörler

RA'lı hastaların yaklaşık % 10'unun etkilenmiş bir akrabası vardır. Buna ek olarak monozigotik ikizlerde RA olma olasılığı, ikiz olmayan kardeşlere ve dizogotik ikizlere oranla dört kat daha fazladır. Romatoid faktör (RF) ve diğer otoantikorlar, RA'lı hastaların birinci dereceden akrabalarında normal popülasyona göre beklenen orandan, yaklaşık dört kat daha sık pozitif bulunmaktadır.

Monozigotik ikizlerde % 15–20 oranında RA birlikteliğine rastlanmaktadır; bu da genetik haricinde çevresel faktörlerin de etiolojide rol aldığını düşündürmektedir [43].

MHC molekülleri sadece hastalığın başlaması ile değil, seyri ve şiddeti ile de ilişkilidir. Hastalıkla ilişkili bu alelleri taşımayanlarda hastalık daha hafif ve seronegatif seyretmektedir. İki DR1–04 aleli (homozigot) olanlarda ise daha ağır seyretmekte ve eklem dışı tutulumlara sık rastlanmaktadır [43].

2.2.2.2. Cinsiyet ve hormonal nedenler

RA kadınlarda daha sık (erkeklerle oranla kadınlarda ortalama üç kat fazla) görülmekte ve daha şiddetli seyretmektedir. Doğum yapmamışlarda RA gelişme riski 2–3 kat daha fazladır. Hamilelikte RA'lı hastalarda % 75'e varan oranda remisyon gözlenmektedir, hamilelik sonrası olguların % 80-90'ında semptomlar tekrar alevlenmektedir [45]. Östrojenler ve progesteronun oluşturduğu antiinflamatuvar koruyucu etkinin sebebi olarak, periferde T hücre ve makrofajların sayılarını azaltması ve fosfolipaz A₂' yi dolaylı olarak baskılaması gösterilmektedir [46].

2.2.2.3. İnfeksiyon ajanları

Mycoplasma fermentans, Proteus mirabilis, Mycobacterium tuberculosis, E.coli, Retrovirüs, Epstein-Barr virüsü, HSV Tip 6, Parvovirüs B-19, spiroketler gibi çeşitli ajanlar suçlanmıştır; ancak bunların veya çeşitli diğer ajanların RA'ya neden olduğuna dair ikna edici kanıtlar gösterilememiştir [43].

2.2.2.4. Isı şok proteinleri

Isı şok proteinleri intrasellüler translokasyonları kolaylaştırır. Sonuç olarak hücreyi bakteri, ısı, serbest oksijen radikalleri gibi etmenlerden korur. Isı şok proteini ile mikroorganizma arasında antijenik benzerlik bulunabileceği ileri sürülmüştür. İnflamatuvar artritlerde, sinoviyal hücrelerin ısı şok proteinleri oluşturdukları ve bunların, çapraz reaksiyon veren T hücreler ve antikorlar tarafından tanındığı bildirilmektedir [43].

Tablo 2 RA riskini artıran bazı faktörler [44]

1-Dişi cinsiyet
2-Pozitif aile hikâyesi
3-İleri Yaş
4-Silika maruziyeti,
5-Sigara içme,
6-Kahve tüketimi (günde bir fincandan fazla)

Tablo 3 RA riskini azaltan faktörler

1- Çay tüketimi
2- Oral Kontraseptif
3-Yüksek vitamin D

2.2.3. Patogenez

2.2.3.1.Morfoloji

RA tipik olarak başlıca el, el bileği, ayak, ayak bileği, dizler, dirsekler ve omuzların küçük eklemlerini tutan simetrik artrit olarak ortaya çıkar. Klasik olarak proksimal interfalanjiyal (PİF) ve metakarpofalanjiyal (MKF) eklemler etkilenir; distal interfalanjiyal (DİF) eklemler ise korunur. Aksiyal tutulum olursa üst servikal

omurgayla snırlı kalmaktadır. Benzer şekilde kalça tutulumu hastalığın ilerleyen dönemlerinde gözlenebilmektedir.

Tutulan eklemler histolojik olarak:

- Sinoviyal hücre hiperplazisi ve proliferasyonu,
- Sinoviyumda CD4+ T hücreleri, plazma hücreleri ve makrofajlardan meydana gelen yoğun perivasküler iltihabi hücre infiltrasyonu (sıklıkla lenfoid folliküller),
- Anjiyogenez nedeniyle artmış vaskülarite,
- Sinoviyal yüzeyde ve eklem aralığında nötrofiller ve fibrin kümelenmeleri,
- Alttaki kemikte sinoviyuma penetre olmaya ve kemik erozyonuna yol açan, artmış osteoklast aktivitesi ile karakterli kronik sinovitis gösterir. Klasik görünüm; iltihabi hücreler, granülasyon dokusu ve bağ dokusuyla karışık, proliferatif dökümlü sinoviyal hücre karışımından oluşan bir pannus görünümüdür.

İnce sinoviyal membranda büyük parmak benzeri villöz çıkıntılar oluşur. Olayın ilerlemesiyle periartriküler yumuşak doku ödemi gelişir ve ilk olarak eklemlerin fusiform şişmesine neden olur. Hastalığın daha da ilerlemesiyle pannus, komşu eklem kıkırdağını erozyona uğratarak tahrip eder; eklem mesafesini dolduran pannus eklemlerde kalıcı kalsifikasyonlara, fibrosiz ve ankiloza neden olur [47].

2.2.3.2. İmmünpatogeneze

Romatoid sinoviyumunda lenfositler, makrofajlar ve fibroblastlardan salgılanan birçok ürün saptanmıştır. Sitokinlerin lokal üretimi, RA. nın pek çok patolojik ve klinik bulgusuna neden olmaktadır. Bu efektör moleküller;

T lenfositlerden salgılanan IL-2, INF- γ , IL-6, IL-10, GM-CSF, TNF- α , IL-13, IL-17, CD-154 gibi sitokinler,

Aktive myeloid hücrelerde üretilip salınan IL-1, TNF- α , IL-6, IL-10, IL-12, GM-CSF, ILGF,

Fibroblast, endotel hücresi gibi hücrelerde üretilen VEGF, IL-1, IL-6, IL-8, GM-CSF, IL-15, IL-16, IL-18 dir.

Proinflamatuvar ajanların yanı sıra, inflamasyonu baskılamaya çalışan TGF- β gibi maddeler de salgılanmaktadır. Başlangıçtaki orjinal uyarın bilinmese de bütün bu inflamatuvar moleküllerin salgılanmasında, tetiği çeken hücrenin CD4+ T lenfositler olduğunu düşündüren çeşitli kanıtlar mevcuttur:

- Sinoviyumda CD4+ T lenfositlerin baskınlığı,
- Aktive hastaların kan ve sinoviyumlarında CD4+ T lenfositlerden salgılanan IL-2 reseptörlerinin artmış olması,
- Periferik lenfoprez veya siklosporin gibi T lenfosit sayısını azaltan uygulamalardan sonra RA. nın klinik seyrinin hafiflemesi,
- Sonradan HIV'e yakalanan RA'lı hastaların semptomlarında düzelme,
- Antijen sunmada rol alan HLA-DR veya HLA-DQ moleküllerinin RA ile ilişkisi.

Uyarılmış CD4+ T lenfositlerden salınan IL-2 ve diğer sitokinler makrofaj, B-lenfosit ve endotel gibi hücreleri etkiler. Makrofajlardan salınan IL-1 ve TNF- α gibi sitokinler inflamatuvar hücrelerin kemotaksisi, proliferasyonu ve diferansiyasyonu için gereklidir. B lenfositler aktive olarak plazma hücrelerine dönüşürler; RF ve benzeri antikorlar salgılayarak doku ve eklem hasarında rolü olan immünkomplekslerin oluşmasına neden olurlar. Aynı zamanda aktive makrofajlardan salınan maddeler fibroblast, kondrosit ve sinoviyal hücreleri etkileyerek pannus oluşumunda etkili kollajenaz, elastaz, storomelizin, PGE2 ve bazı enzimlerin salınımına sebep olurlar. Aktive olmuş endotel hücrelerinin eksprese ettiği adezyon molekülleri iltihabi hücrelerin bölgeye toplanmasını artırır. RF ve benzeri immünglobulinler kompleman sistemini uyarabilmekte bu da inflamasyonu daha fazla alevlendirmektedir. Bütün bu olayların net sonucu pannus oluşumu ve takiben gelişen kıkırdak ve kemik tahribi sonucu oluşan ankilozdur [47].

2.2.4. Romatoid artrit tanısı

RA'nın tanısı esas olarak klinik bulgulara dayanır ve Amerikan Romatizma Birliğinin (ARA) kriterleri kullanılarak yapılmaktadır [43].

1987'de gözden geçirilmiş RA sınıflandırması: ARA kriterleri:

- **Sabah sertliği:** tam olarak geçmeden önce eklem içi ve çevresinde 1 saat süren sabah sertliği,
- **Üç ya da daha fazla eklem bölgesinde artrit:** en az üç eklem bölgesinde eş zamanlı olarak doktor tarafından gözlenen yumuşak doku şişliği ve efüzyon,
- **El bileği ekleminde artrit:** el bileği, dirsek, PİF ve MKF'de artrit,
- **Simetrik artrit:** vücudun her iki tarafındaki eklem bölgelerinin eş zamanlı tutulumu,

- **Romatoid nodüller,**
- **Serumda romatoid faktör:** herhangi bir metotla anormal yüksek düzeyde serum RF seviyelerinin gösterilmesi,
- **Radyolojik değişiklikler:** eklem mesafesinde daralma, eklem kıkırdağının kaybı ve ekleme komşu kemik dokusunda osteopeni olarak gözlenmektedir [43].

2.2.5. Romatoid artrit ve laboratuvar

RA tanısı koyabilmek için kullanılan tek bir test mevcut değildir. Amerikan Romatoloji Birliği şu testleri önermektedir:

1. C-reaktif protein: hastalığın tabinde kullanılır
2. Eritrosit Sedimentasyon hızı: hastalığın tabinde kullanılır
3. Beyaz Küre Sayımı: artabilir
4. Trombosit sayısı: artabilir
5. Immunoglobulinler: gamaglobulinler artar (IgA, IgG, IgM)
6. Serum proteinleri: enflmasyon nedeniyle albumin düşer, alfa2 globulin ve fibrinojen artar
7. Romatoid Faktör: RA kriterleri arasında yer almaktadır. RF seviyeleri, hem hastalık aktivitesinin şiddeti hakkında bilgi vermekte hem de tedaviye cevabın değerlendirilmesinde rol almaktadır. RF, IgG'nin F_c parçasının C_γ2 ve C_γ3 zincirlerine karşı üretilmiş bir antikordur. RF'lerin büyük çoğunluğu CD5+ lenfositlerden salınan IgM yapısında antikorlardır. RF pozitifliği RA hastalarında %50–80 civarında, sağlıklı populasyonda %5 pozitifdir. Yaşla birlikte RF pozitifliği artar [48].

8. Anti-CCP: birçok çalışmada anti-CCP'nin hedefinin, bir protein olan flagrin olduğu ortaya çıkarılmıştır. Bu antikorların posttranslasyonel olarak değiştirilmiş veya sitrülünlenmiş flagrini hedef aldıkları da bulunmuştur [49]. Posttranslasyonel sitrülünasyon işlemi, belirli polipeptidlerdeki argininlerin deiminasyonunu içerir ve peptidilarginin deiminaz (PAD) enzimi tarafından katalize edilir. PAD enziminin beş alt tipi vardır. İnflamasyonla birlikte sinoviyumda biriken inflamatuvar hücrelerden eksprese edilen PAD 4' ün RA'nın patolojisinde rol alabileceği düşünülmektedir [50].

İlk olarak Anti-CCP 1 bulunmuştur. Bu testin duyarlılığı % 60-% 70 civarındadır. Bu sebeple ikinci kuşak anti-CCP testleri geliştirilmiş ve anti-CCP 2 olarak isimlendirilmiştir. Anti-CCP 2 ile yapılan çalışmalarda RA.'li hastalarda % 90 duyarlılık ve % 98,2 özgüllük saptanmıştır (49). Yapılan bir çalışmada, hastaların semptomları başlamadan, ortalama 14 yıl önce anti-CCP antikorlarının pozitifleştiği gözlenmiştir; başka bir çalışmada ise anti-CCP pozitifliği saptanan sağlıklı kişilerin % 70 inde bir yıl içinde RA geliştiği gözlenmiştir [49].

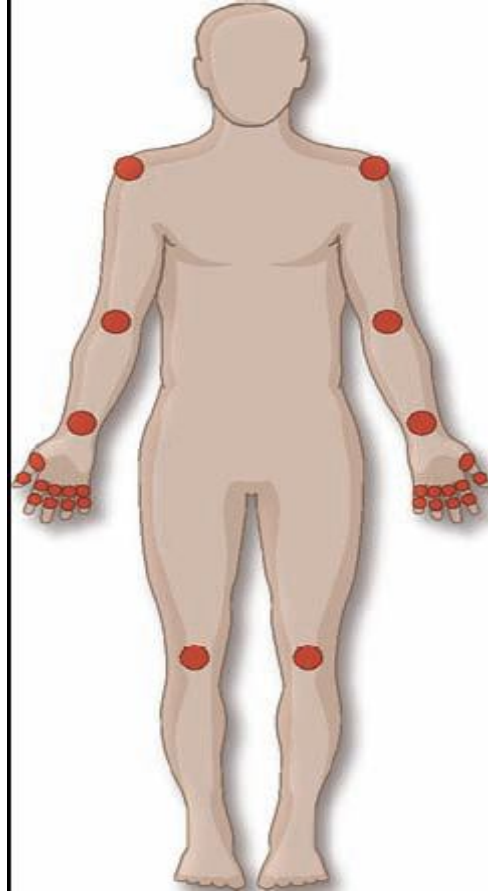
2.3. DAS 28

Romatoid artrit, kronik inflamatuvar bir hastalık olup, farklı klinik tablolarla ortaya çıkabilir ve farklı klinik seyirler izleyebilir. Özellikle, hastalık ataklarla seyrettiği için, hastalığın aktif dönemlerinde hastalık aktivitesinin belirlenmesi tedavide çok önemlidir. Hastalık aktivitesinin tanımlanmasında klinikte hastanın şikâyetleri, fizik muayene bulguları ve laboratuvar parametreleri bir bütün olarak değerlendirilir. Bilimsel araştırmalarda standardizasyonu sağlamak ve ilaç araştırmalarında iyileşme sürecini değerlendirmek amacıyla değişik hastalık aktivasyon kriterleri oluşturulmuştur. Romatoid artritte hastalık aktivitesini göstermek için en sık kullanılan metod DAS (hastalık aktivite skoru) ve onun modifiye şekilleridir. DAS skorlamasında kullanılan parametreler şunlardır:

1. Ağrılı eklem sayısı (toplam 28 eklem, aşağıdaki şekilde gösterilmiştir) (AES)
2. Şiş eklem sayısı (toplam 28 eklem, aşağıdaki şekilde gösterilmiştir) (ŞES)
3. Eritrosit sedimentasyon hızı (ESH)
4. 10 cm'lik genel sağlık skorlaması (GS)

DAS 28 formülü:

$$0.56\sqrt{AES} + 0.28\sqrt{\text{ŞES}} + 0.70ESH + 0.014GS$$



Şekil:4

Hesaba katılan eklemler: Omuz, dirsek, bilek, metakarpofalanjiyel eklemler 1–5, başparmak interfalanjiyel, proksimal interfalanjiyel 2., 3., 4., 5., diz (sağ ve sol toplam 28 eklem) [51].

Tablo 4 DAS 28 Hastalık aktivitesi

Hastalık aktivitesi	DAS 28
Aktif hastalık	5,1
Düşük aktivite	3,2
Remisyon	2,6

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Etik Kurulundan 27 Ekim 2009 tarihinde KKAEEK 2009–14 nolu kararla onay alınmıştır.

3.1. Çalışma Gruplarının Seçimi

Olgular Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Romatoloji Polikliniğine Ekim 2009- Ekim 2010 tarihleri arasında başvuran, yaşları 18–70 arasında değişen romatoid artrit ve demir eksikliği anemisi olan 20 hasta ile romatoid artriti stabil olup, anemisi olmayan 20 hasta ve bilinen herhangi bir hastalığı olmayan 20 kişi çalışmaya alındı.

Üç grubun tam kan sayımı, serum demir, demir bağlama kapasitesi, ferritin, eritrosit sedimentasyon hızı ve hepsidin parametreleri için kan örnekleri alındı. Geliş şikâyetleri, ağrılı ve şiş eklemlerinin yer ve sayısı, genel sağlık değerlendirmesi ve ağrı değerlendirmesi skorları kaydedildi. Tam fizik muayene yapıldı. Onam formu imzalatıldı.

3.1.1. Aktif romaoid artritli demir eksikliği anemisi olan hastalar (grup 1)

Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Romatoloji Polikliniğinde takip edilen 1987 ACR kriterlerine göre romatoid artrit tanısı olan hastalar çalışmaya alındı.

DAS 28 skoru 5,1'in üzerinde olan hastalar aktif romatoid artrit hastası olarak kabul edildi. Hemogloblin düzeyi 12g/dl'nin altında ve transferin saturasyonu düzeyi %12'nin altında olan hastalar, demir eksikliği anemisi olan hastalar olarak kabul edildi. Aktif romatoid artritli olan ve demir eksikliği anemisi olan 20 hasta birinci grubu oluşturdu.

3.1.2. Stabil romatoid artritli demir eksikliği olmayan hastalar (grup 2)

Kocaeli Tıp Fakültesi Romatoloji Polikliniğinde takip edilen 1987 ACR kriterlerine göre romatoid artrit tanısı olan hastalar çalışmaya alındı.

DAS 28 skoru 2,6'nın altında olan hastalar, stabil romatoid artrit hastası olarak kabul edildi. Hemogloblin düzeyi 12 g/dl'nin üstünde ve transferin saturasyonu %18'in üzerinde olan hastalar demir eksikliği olmayan hastalar olarak kabul edildi. Stabil romatoid artritli olan ve demir eksikliği anemisi olmayan 20 hasta ikinci grubu oluşturdu.

3.1.3. Kontrol grubu (grup 3)

Romatoid artritli ve demir eksikliği olmayan grup (grup3): Kocaeli Tıp Fakültesi İç Hastalıkları polikliniğine başvuran ve bilinen herhangi bir hastalığı olmayan, hemogloblin ve transferin saturasyonu değerleri normal 20 kişi çalışmamıza alındı.

Serum Örneğinin toplanması:

Çalışmaya katılan hastalardan 2 ml kan örneği üst ekstremitelerden periferik vendeden steril stainless steel iğne uçlu plastik enjektörlerle alınarak polipropilen tüplere aktarıldı. Örnekler tüp içinde 4000 devirde 5 dakika sentrifüj edildikten sonra üstte kalan plazma tekrar polipropilen tüplere konarak -80 °C'de saklandı.

3.2. Araç-Gereç ve Laboratuvar Yöntemleri

Hepsidin örnekleri santifüj edildi. Plazmaları ayrılarak çalışılmak üzere -80°C'de saklandı. Hepsidin için ELİSA kit (Competition ELİSA; DRG International inc, USA) kullanıldı.

3.3. İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi SPSS for Windows 13,0 (Chicago, USA) programı kullanılarak yapıldı. Kategorik ölçümlerde sayı ve yüzde olarak, sürekli değişkenlerde ise normal dağılımlı olanlar; ortalama değer \pm standart sapma ile, dağılımı normal olmayanlar ise ortanca değer (minimum-maksimum) olarak verildi. Dağılımı normal olmayan sürekli değişkenlerin arasındaki korelasyon Spearman Korelasyon analizi ile değerlendirildi. Dağılımın normal olduğu sayısal verilerin gruplar arasında One-WAY ANOVA testi ile normal olmayan parametreler ise Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi. One-WAY ANOVA testinde anlamlı bulunan sonuçların hangi gruplar arasında farklı olduğu posthoc Scheffe ile değerlendirildi. Kruskal-Wallis testi ile anlamlı bulunan veriler için hangi gruplar arasında fark olduğu Bonferroni düzeltmeli Mann-Withney U testi ile değerlendirildi ve elde edilen sonuçlarda anlamlılık düzeyi olarak $p < 0,017$ olarak kabul edildi. Diğer tüm karşılaştırmalarda istatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0,05$ olarak kabul edildi.

4.BULGULAR

Çalışmaya alınan 42'si kadın, 18'i erkek toplam 60 hastanın yaş ortalaması $45,75 \pm 14,22$ bulundu. Bu hastalardan aktif romatoid artritli ve anemili 20 hastanın 18 (%90)'i kadın, 2 (%10)'si erkek olup yaş ortalaması $56,8 \pm 10,78$ bulundu. Hastalara ait yaş, cinsiyet, hastalık süresi, AES ve ŞES ile ilgili özellikler tablo 5'de gösterilmiştir.

Tablo 5

Yaş (Yıl) \pm SD	$45,75 \pm 14,22$
Cinsiyet (K/E)	42(%70) / 18(%30)
Hastalık süresi (Yıl) \pm SD	$5,25 \pm 8,07$
AES \pm SD	$2,7 \pm 4,2$
ŞES \pm SD	$1,97 \pm 3,17$

Hastaların inflamasyon göstergeleri olan laboratuvar verileri tablo 6'de gösterilmiştir.

Tablo 6

RF (pozitif/negatif)	38(%63,3) / 22(%36,7)
RF sayısal \pm SD IU/ml	146 ± 236
CCP (pozitif/negatif)	34(%56,7) / 26(%43,3)
CCP sayısal \pm SD RU/ml	119 ± 297
Sedimantasyon \pm SD mm/h	22 ± 23
Genel değerlendirme \pm SD	25 ± 29
DAS 28 \pm SD	$2,4 \pm 2,4$

Hastalara ait hemogram demir parametreleri ve hepsidin düzeyleri tablo 7’da gösterilmiştir.

Tablo 7

Demir±SD mcg/dl	62±31
TDBK±SD mcg/dl	316±66
Transferin Satürasyonu±SD %	19,8±9,7
Ferritin±SD ng/ml	67±82
Hemoglobin±SD g/dl	12,9±2,08
HCT±SD %	38,3± 5,7
RDW±SD	16,1±2,5
MCV±SD fl	83±7
WBC±SD x 10 ³ /uL	7252±2331
HEPSİDİN(median, min-max) ng/ml	461,5 (15–4400)

Stabil romatoid artriti ve anemisi olmayan 20 hastanın 17 (%85)’i kadın, 3 (%15)’ü erkek olup yaş ortalaması 49,65±11,03 idi. Kontrol grubunda 7 (%35)’si kadın, 13 (%65)’ü erkek olup yaş ortalaması 30,80±3,205 idi.

Gruplar arasında cinsiyet açısından kontrol grubuyla diğer iki grup arasında anlamlı fark bulunurken (kikare test, $p<0,001$), diğer iki grup arasında fark yoktu (kikare test, $p>0,05$). Verilerin dağılım incelendiğinde hepsidin dağılımının normal olmadığı gözlemlendi. Bu nedenle hepsidin düzeyleriyle diğer sayısal veriler arasındaki ilişki, Spearman korelasyon analiziyle değerlendirildi. Hepsidin düzeyiyle yaş, hastalık süresi, CCP değeri, RF değeri, sedimentasyon, RDW ve DAS 28 arasında pozitif (sırası ile $r: 0,747$, $p<0,001$; $r: 0,403$, $p =0,01$; $r: 0,491$, $p<0,001$; $r: 0,649$, $p<0,001$; $r: 0,486$, $p<0,001$; $r: 0,352$, $p: 0,006$; $r: 0,607$, $p< 0,001$) ilişki bulundu.

Hemoglobin, demir ve transferin saturasyonu ile negatif korelasyon (r:-0,275, p: 0,034; r: -0,269, p:0,038, r: -0,291, p: 0,024, sırasıyla) tespit edildi. Ferritin ile hepsidin düzeyi arasında herhangi bir korelasyon bulunmadı (r: 0,099, p: 0,451).

Aktif romatoid artritli anemik, stabil romatoid artritli anemik olmayan ve kontrol grubunda inflamasyon belirteçleri, hemoglobin ve RDW sonuçları, hepsidin düzeyleri normal dağılımlı veriler için One-WAY ANOVA, dağılımı normal olmayan veriler için non-parametrik test olan Kruskal-Wallis testi kullanılarak karşılaştırıldı. Dağılımı normal olan verilerin gruplar arasındaki karşılaştırmaları tabloda 10'da gösterilmiştir. One-WAY ANOVA testi ile tespit edilen anlamlı değerler için gruplar arası karşılaştırmada post-hoc analizi için Scheffe kullanıldı.

Tablo 8 One-WAY ANOVA, post- hoc Scheffe

	Aktif RA'lı anemik hastalar (n:20)	Stabil RA'lı anemisi olmayan hastalar (n:20)	Kontrol grubu (n:20)	p
Sedimantasyon±SD mm/h	48±24	12±9	6±6	<0,001
Demir±SD mcg/dl	25±12	85±18	74±19	<0,001
TDBK±SD mcg/dl	320±95	331±39	298±48	0,296
Transferin Sat±SD %	8,4±3,6	26,5±7,0	24,5±4,7	<0,001
Ferritin±SD ng/ml	77±126	60±37	64±57	0,811
Hemoglobin±SD g/dl	10,5±1,3	13,8±1,1	14,0±1,1	<0,001
MCV±SD fl	76±6	88±4	85±3	<0,001
RDW±SD %	18±2	15±1	14±1	<0,001

Kontrol grubunda bakılmayan RF, CCP, DAS 28 skoru aktif romatoid artritli anemik hastalar ve stabil romatoid artritli anemisi olmayan hastalar arasında, student t test ile karşılaştırıldığında sadece DAS 28 skorunun (aktiviteyi gösterir) anlamlı olarak farklı olduğu bulundu (Tablo 9).

*DAS 28 açısından, gruplar arasındaki fark aktif RA'lı anemik olan hastalarla, stabil RA'lı anemik olmayanlar ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlıydı ($p<0,001$, her iki karşılaştırma için).

Tablo 9 Student t testi

	Aktif RA'lı anemik hastalar (n:20)	Stabil RA'lı anemisi olmayan hastalar (n:20)	P
RF sayısal \pm SD IU/ml	237 \pm 239	201 \pm 285	0,673
CCP sayısal \pm SD RU/ml	261 \pm 480	97 \pm 84	0,148
DAS 28 \pm SD	5,7 \pm 0,4	1,6 \pm 0,6	<0,001

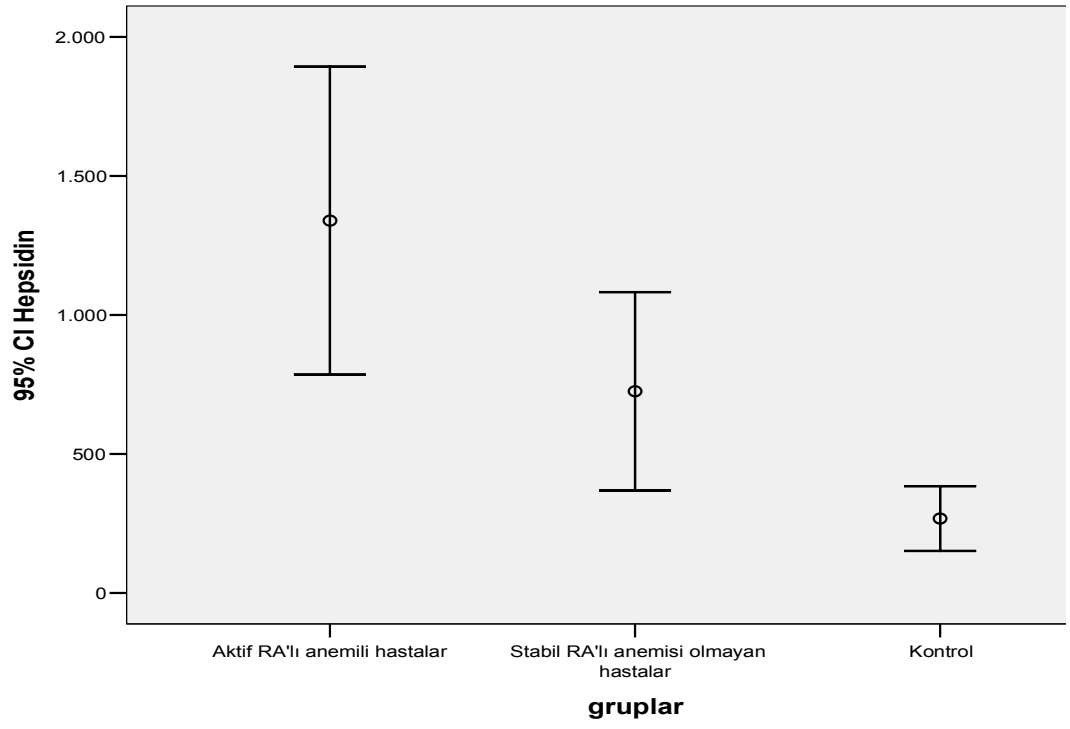
Dağılımının anormal olması nedeniyle, gruplar arasındaki karşılaştırmalar nonparametrik bir test olan Kruskal-Wallis testiyle yapıldığında, hepsidin düzeyinin gruplar arasında anlamlı olarak farklı olduğu gözlemlendi ($p<0,001$). Hangi gruplar arasındaki farkın anlamlı olduğunu tespit etmek için gruplar Bon Ferroni düzeltmeli Mann-Withney U testiyle ikili olarak karşılaştırıldığında, hepsidin düzeyinin özellikle aktif romatoid artritli anemik hastalar (grup 1) ile kontrol grubu (grup 3) arasında anlamlı olarak farklı olduğu gözlemlendi (p değeri $<0,001$). Aktif romatoid artritli anemik olan hastalarla (grup 1) stabil romatoid artritli ve anemisi olmayan hastalar (grup 2) arasında, ayrıca stabil romatoid artritli ve anemisi olmayanlarla (grup 2), kontrol grubu (grup 3) arasında hepsidin düzeyleri açısından belirgin farklılık olmasına rağmen, bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi (Tablo 10).

Tablo10. Gruplar arasında hepsidin düzeylerinin karşılaştırılması (median, min-max)
Kruskal-Wallis test

	Aktif RA'lı anemik hastalar(n:20)	Stabil RA'lı anemik olmayan hastalar (n:20)	Kontrol grubu(n:20)	P
Hepsidin ng/ml	1098(234-4400)	450,5(47-2596)	172(15-901)	<0,001

Bonferroni düzeltmeli Mann Whitney U testi (anlamlılık düzeyi olarak $p<0,017$ kabul edildi.); aktif RA'lı anemik hastalar ile kontrol grubu arasındaki fark anlamlı ($p<0,001$).

Aktif RA'lı anemik olanlarla stabil RA'lı anemik olmayanlar arasında ve stabil RA'lı anemik olmayanlarla kontrol grubu arasındaki fark anlamlı değildi ($p=0,024$, $p=0,033$, sırasıyla).



Şekil 5. Gruplardaki hepsidin düzeyi

5.TARTIŞMA

Hepsidin, küçük, sisteinden zengin katyonik bir peptid olup, demir emilimini inflamatuvar sitokinlere bağı olarak düzenler. Hepsidin düzeyi inflamasyon dışında malignitelerde ve infeksiyonlarda da yükselmektedir. Bunun gibi durumlarda demir emilimi azalmakta ve makrofajlardan demirin eritroid hücrelere sunumunda azalma olmaktadır. Bu hastalıklarda insan idrarı ve kanında hepsidin düzeyinin arttığı birçok çalışma ile gösterilmiştir. Bu çalışmalar, serum hepsidin düzeyinin TNF- α , IL-6 gibi sitokinlerle paralel olarak arttığını da göstermektedir [52]. Hepsidin geni, inflamasyona değişmez biçimde yanıt vermektedir. İnvaziv organizmalardan demirin saklanması, bu organizmaların demiri kullanmasını önlemeye yönelik olduğu için, bunun primitif, doğuştan gelen bir immün sistem yanıtı olduğu düşünülebilir. Aslında infeksiyonlarda bir savunma yanıtı olması gereken bu mekanizmanın infeksiyon dışı inflamatuvar durumlarda ve otoimmün hastalıklarda da işlemesi organizmanın zararına, uygun olmayan bir yanıt (maladaptive) olmakta ve bunun gibi durumlar da anemi ile sonuçlanmaktadır [53].

Bu uygun olmayan işleyiş sonucunda inflamasyona bağı anemi veya kronik hastalık anemisi denilen durum ortaya çıkmaktadır. Kronik hastalık anemisi, anormal demir kullanımı ile birlikte, eritropoetin direnci ve eritrosit yaşam süresinin kısalması ile karakterize, normokrom-normositer bir anemidir. Artmış serum ferritin düzeyi, düşük serum demiri, düşük total demir bağlama kapasitesi ve yüksek transferin saturasyonu, makrofajlardan demir sunulmasındaki azalmayı yansıtır. Bu durumda hepsidin düzeyi yüksek bulunmaktadır. IL-6 ve lipopolisakkaritler serum hepsidin düzeyini yükseltmektedir [54]. Demir eksikliği ve hipokside ise hepsidin düzeyi azalmaktadır. Böylece demir emiliminde artış olmaktadır [55]. Bundan 7 yıl önce, plazma veya idrarda hepsidin düzeylerinin ölçümünün, inflamasyon anemisi ile demir eksikliği anemisinin ayırıcı tanısına katkı sağlamasına rağmen, bunun henüz yaygın olarak kullanılan bir yöntem olmadığı bildirilmiştir [56]. Serum hepsidin

düzeşini saptamada yaygın olarak kullanılan testler henüz geliştirilmediği zamanlarda serum hepsidin düzeşini yerine, onun öncülü olarak bir süre prohepsidin düzeşini ölçülmüştür.

Bir çalışmada serum prohepsidin düzeşinin, hepsidin ve inflamatuvar sitokinlerin düzeşini iyi yansıtmadığı gösterilmiştir. Aynı çalışmada, serumdaki prohepsidin stabil olmadığı da ileri sürülmüştür [57]. Günümüzde serum hepsidin düzeşini, ELISA yöntemi ile kolayca ölçülebilmekte ve klinikte kullanımı gittikçe kolaylaşmaktadır.

Otoimmün, inflamatuvar bir hastalık olan romatoid artritte hepsidin düzeşinin yüksek bulunması beklenmektedir. Gerçekten de yapılan çalışmalarda, romatoid artritli hastalarda aktif dönemde hepsidin ve prohepsidin düzeşileri yüksek bulunmuştur. Bir çalışmada, serum prohepsidin (hepsidin 60 aminoasitli immatür formu) seviyelerinin RA'da aktiviteyi gösteren DAS 28, ESR, CRP ve hassas eklem sayısı ile bağlantılı olduğu gösterilmiştir. Bu çalışmada, romatoid artrit aktif olan grupta prohepsidin düzeşileri daha yüksek tespit edilmiştir [58]. Aynı çalışmada, kronik hastalık anemisi olan ve kronik hastalık anemisi olmayan hastalardaki serum prohepsidin düzeşileri arasında anlamlı bir fark saptanamamıştır. Romatoid artrit ve sistemik lupus eritematozlu hastalarda serum prohepsidin düzeşileri ile ilgili ikinci bir çalışmada, romatoid artritte prohepsidin düzeşini sistemik lupus eritematoz'lu hastalara göre daha yüksek bulunmuştur. Fakat serum prohepsidin düzeşileri, hastalık aktivitesi ile anlamlı bir ilişki göstermemiştir. Bu sonuca bakarak serum prohepsidin düzeşinin, serum hepsidin düzeşini tam olarak yansıtmadığı, prohepsidin yerine serum hepsidin düzeşine bakılması gerektiği ileri sürülmüştür [59]. Daha önce yapılan bir çalışmada hepsidin düzeşilerinin inflamatuvar durumu daha iyi yansıttığı, prohepsidin düzeşini tetkikinin yetersiz kaldığı vurgulanmıştır [60].

Romatoid artritte serum prohepsidin düzeşileri ile ilgili olarak yapılan üçüncü bir çalışmada, Jayarenee S. ve arkadaşları, serum prohepsidin düzeşilerinin, birlikte demir eksikliği ve romatoid artritli olan hastalarda anlamlı olarak azaldığını göstermişler, demir kullanan, romatoid artritli hastalarda ise arttığını göstermişlerdir. Fakat bu artışların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı belirtilmiştir. Saf demir

eksikliği anemisinde ise serum prohepsidin düzeyleri anlamlı olarak düşük bulunmuştur [61].

İnflamasyon ile birlikte demir eksikliği anemisi sık görülmektedir. Böyle durumlarda aneminin hangi etyolojiye bağlı olduğunun anlaşılması zor olabilmektedir. Biz bu çalışmada, demir eksikliği anemisi olan, aktif romatoid artritli hastalar ve demir eksikliği olmayan stabil romatoid artritli hastaları, sağlıklı kontrol grubu ile serum hepsidin düzeyleri açısından karşılaştırmayı uygun gördük. Belirlediğimiz üç grupta, hepsidin düzeylerinin değişimine bağlı olarak, demir eksikliğin romatoid artritli hastalarda hepsidin düzeyine olan etkisinin yanı sıra, sağlıklı kontrol grubu ile romatoid artritli hastalardaki hepsidin düzeyini de karşılaştırmayı amaçladık.

Serum prohepsidin düzeyinin, inflamasyonu göstermede çok etkin olmadığı yukarıda tartıştığımız çalışmalarla bildirilmişti. Bu nedenle çalışmamızda serum hepsidin düzeylerini değerlendirmeyi tercih ettik.

Benzer olarak, kronik hastalık anemisi, demir eksikliği ile birlikte kronik hastalık anemisi, saf demir eksikliği anemisi ve akut inflamasyonlu hasta gruplarının serum hepsidin düzeyleri bakımından karşılaştırıldığı bir çalışma bulunmaktadır. Serum hepsidin düzeyleri, kronik hastalık anemisinde ve akut inflamasyonda en yüksek düzeyde bulunurken, demir eksikliği anemisi ile birlikte kronik hastalık anemisinde biraz daha düşük, kontrol grubunda ve demir eksikliği anemisinde en düşük düzeyde bulunmuştur [62].

Buna göre, demir eksikliğin varlığı serum hepsidin düzeylerinde tek başına kronik hastalık anemisindeki kadar yükselme olmasını engellemektedir. Fakat saf demir eksikliği anemisinde olduğu gibi serum hepsidin değerleri düşük bulunmamaktadır.

Bizim çalışmamızda da serum hepsidin değerleri benzer bir sıra izlemektedir. Demir eksikliği ile birlikte, aktif romatoid artritli hastalarda (grup 1) en yüksek hepsidin değerleri bulunurken, bunu sırası ile stabil romatoid artritli, fakat demir eksikliği bulunmayan hastalar (grup 2) ve ardından sağlıklı kontrol grubu (grup 3) izlemektedir. İstatistiksel olarak birinci gruptaki serum hepsidin değerleri

ile sağlıklı kontrol grubundaki (grup 3) hepsidin değerleri arasında anlamlı farklılık saptanmıştır. Fakat birinci grupla ikinci grup arasında veya ikinci grupla üçüncü grup arasındaki fark, serum hepsidin değerleri bakımından farklı bulunmamıştır. Bu sonuçlar, demir eksikliğine bağlı hepsidin düzeyinde düşme olduğu halde, inflamasyonun hepsidin düzeylerini yükseltici etkisinin kısmi bir maskeleye rağmen, daha baskın olduğunu göstermektedir. Diğer bir değişle, aktif romatoid artritli hastalarımızda demir eksikliği olmasaydı, serum hepsidin değerlerini daha yüksek bulacaktık. Çalışmamızın diğer bir sonucu da aktif romatoid artritte, hepsidin düzeyinin sağlam kontrollere göre anlamlı olarak yüksek bulunmasıdır. Bu, daha önce romatoid artritte yapılan iki çalışmanın sonuçları ile uyumlu bulunmuştur [63].

Serum hepsidin düzeyi, aktif romatoid artrit yanısıra stabil romatoid artritli hastalarda da yüksek bulunmuştur. Fakat bu yükseklik, sağlıklı kontrollerden istatistiksel olarak farklı değildi. Romatoid artrit, DAS 28 kriterlerine göre stabil de olsa, bu hastalarda, kronik inflamasyonun subklinik olarak sürdüğü söylenebilir. Romatoid artritli hastalarda serum hepsidin düzeyleri ile ilgili yapılmış olan ikinci ve son çalışmada, anemisi olan ve anemisi olmayan romatoid artritli hastalar, demir eksikliği olan kişiler ve sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırılmış. En yüksek hepsidin düzeyleri, anemisi olan (inflamasyona bağlı anemi) romatoid artritli hastalarda saptanmış. Bu sonuç, sağlıklı kontrollerle ve demir eksikliği ile karşılaştırıldığında anlamlı farklılık saptanmış. Ayrıca romatoid artrit aktivitesi ile hepsidin düzeyleri doğru orantılı olarak artış gösterirken, hemoglobin düzeyi ile tersine bir ilişki bulunmuş. Sonuç olarak, serum hepsidin düzeylerinin hastalığın aktivitesi ile yakın ilişkili olduğu ve hastalığın seyri sırasında gözlenen aneminin etyolojisinden sorumlu olduğu ileri sürülmüş [64].

Bizim çalışmamızda da aktif romatoid artritli hastalarda, stabil hastalığı olanlara göre hepsidin düzeyi yüksek saptandı. Fakat aktif romatoid artritli hasta grubunun, aynı zamanda demir eksikliği anemisi de olması nedeniyle hepsidin düzeyleri, stabil hastalığı olanlardan istatistiksel olarak farklı bulunamadı. Aktif hastalığı olan grupta, demir eksikliği anemisi olmaması durumunda farklılığın daha belirgin olacağı söylenebilir. Bununla birlikte, demir eksikliği ile birlikte olduğu halde aktif hastalığı olan grup ile kontrol grubu arasında, hepsidin düzeylerini

anlamli olarak farkli bulduk. Saf aktif romatoid artritli hasta grubunun bu calismada yer almaması, calismamizın eksik yanını oluşturmaktadır. Yine de bu sonuç, serum hepsidin düzeylerinin romatoid artritte, hastalığın aktivitesini değerlendirmede güçlü bir belirteç olabileceğini düşündürmektedir.

6.SONUÇLAR VE ÖNERİLER

1. Çalışmamıza, Aralık 2008-Mart 2010 tarihleri arasında Kocaeli Tıp Fakültesi Romatoloji Bilim Dalına kayıtlı 20 aktif romatoid artritli hasta, 20 stabil romatoid artritli hasta ve 20 sağlıklı gönüllü katıldı.

2. Bu hastalardan aktif romatoid artritli ve anemili 20 hastanın 18 (%90)'i kadın, 2 (%10)'si erkek olup yaş ortalaması $56,8 \pm 10,78$ idi. Romatoid artriti stabil ve anemisi olmayan 20 hastanın 17 (% 85)'i kadın, 3 (% 15)'ü erkek olup yaş ortalaması $49,65 \pm 11,03$ idi. Kontrol grubunda 7 (% 35)'si kadın, 13 (% 65)'ü erkek olup yaş ortalaması $30,80 \pm 3,205$ idi.

3. Hepsidin düzeyiyle yaş, hastalık süresi, CCP değeri, RF değeri, sedimantasyon, RDW ve DAS 28 arasında pozitif (sırasıyla r: 0,747, $p < 0,001$; r: 0,403, $p = 0,01$; r: 0,491; $p < 0,001$; r: 0,649; $p < 0,001$; r: 0,486; $p < 0,001$; r: 0,352, $p: 0,006$; r: 0,607; $p < 0,001$); hemoglobin, demir ve transferin saturasyonu ile negatif korelasyon (r: -0,275, $p: 0,034$; r: -0,269, $p: 0,038$, r: -0,291, $p: 0,024$, sırasıyla) tespit edildi.

4. Ferritin ile hepsidin düzeyi arasında herhangi bir korelasyon bulunmadı (r: 0,099, $p: 0,451$).

5. Kontrol grubunda bakılmayan RF, CCP, DAS 28 skoru aktif romatoid artritli anemik hastalar ve stabil romatoid artritli anemisi olmaya hastalar arasında, student t test ile karşılaştırıldığında sadece DAS 28 skorunun (aktiviteyi gösterir), anlamlı olarak farklı olduğu bulundu. DAS 28 aktif RA'lı hastalarda $5,7 \pm 0,4$ stabil romatoid artritli hastalarda $1,6 \pm 0,6$ ($p < 0,001$) tespit edildi.

6. Hepsidin düzeyinin, özellikle aktif romatoid artritli anemik hastalar ile kontrol grubu arasında anlamlı olarak farklı olduğu gözlemlendi (p değeri $< 0,001$). Aktif romatoid artritli ve anemik olan hastalarla stabil romatoid artritli ve

anemisi olmayan hastalar arasında, ayrıca stabil romatoid artritli ve anemisi olmayan hastalarla, kontrol grubu arasında hepsidin düzeyleri açısından belirgin bir farklılık vardı. Fakat bu fark istatistiksel olarak anlamlı değildi.

Demir eksikliği anemisinde hepsidin düzeylerinin düşmesi beklenirken, enflamasyonun yoğun olması nedeniyle hepsidin düzeylerinin yükselmesi (aktif romatoid artritli-anemik grup) enflamatuvar durumların, hepsidin düzeyi üzerinde demir eksikliğinden daha baskın bir etkisi olduğunu göstermektedir.

ÖZET

Amaç: Çalışmamızda, demir eksikliği anemisi olan ve DAS 28'e göre aktif romatoid artriti olan hastalarla, demir eksikliği anemisi olmayan DAS 28'e göre stabil romatoid artriti olan hastaların hemoglobinin, hematokrit, ortalama eritrosit hacmi, ferritin, transferritin saturasyonu, total demir bağlama kapasitesi, romatoid faktör, CCP, RDW ve hepsidin düzeylerini karşılaştırarak her iki grupta anlamlı bir fark ya da benzerlik olup olmadığını değerlendirilmesini amaçladık. Böylece RA 'li hastaların hepsidin düzeylerinin demir eksikliğinden ne kadar etkilendiğini de göstermeyi amaçladık.

Gereç ve Yöntem: Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Romatoloji polikliniğine Ekim 2009-Ekim 2010 tarihleri arasında başvuran yaşları 18–70 arasında değişen 20 demir eksikliği anemisi olan, aktif romatoid artriti hasta ile romatoid artriti stabil olan 20 hastanın, ayrıca herhangi bir hastalığı olmayan 20 kişinin kontrol grubu olarak, hepsidin düzeyleri karşılaştırıldı. Aktif RA'lı ve demir eksikliği anemisi olan grubun yaş ortalaması 56 ± 10 idi. Stabil RA'lı ve demir eksikliği anemisi olmayan ikinci grubun yaş ortalaması 49 ± 11 , herhangi bir hastalığı olmayan üçüncü grubun (sağlıklı kontrol) yaş ortalaması ise 30 ± 3 idi.

Üç grubun tam kan sayımı, serum demir, demir bağlama kapasitesi, ferritin ve hepsidin parametreleri için kan örnekleri alındı. İlk başvuru anındaki yakınmaları kaydedildi. Tam fizik muayene yapıldı. Elde edilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırıldı.

Bulgular: Sonuçlar değerlendirildiğinde serum hepsidin düzeyleri ortalaması birinci grupta 1339 ± 1183 ng/ml, ikinci grupta 725 ± 762 ng/ml, üçüncü grupta 269 ± 249 ng/ml bulundu.

Sonuç: Demir eksikliğine rağmen aktif RA hastalarında hepsidin düzeyi yüksek bulundu. Bu, sağlıklı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bulundu. Hepsidin, gelecekte demir metabolizması bozuklukları sonucu gelişen hastalıkların ve inflamatuvar hastalıkların tanısı, tedavisi ve takibinde yeri olacağı düşünüldü.

Anahtar Kelimeler: romatoid artrit, demir eksikliği, hepsidin.

ABSTRACT

Aim: in this study, we aimed to compare hemoglobin, hemotocrit, MCV, ferritin, transferrin saturation, TIBC, romatoid factor, CCP, RDW and hepcidin level between active RA patients (RA activity were measured using DAS 28) with iron deficiency anemia and stabil RA patients without iron deficiency anemia. In this way we also aimed to show the effect of iron deficiency on RA patients' hepcidin levels.

Materials and Metods: hepcidin levels of 20 active RA patient with iron deficiency anemia (group 1) and 20 stabil RA patient without anemia (group 2) who were examined in Rheumatology outpatient clinic of KOU Medical Faculty in October 2009-October 2010, 18–70 year aged, were compaired with 20 healthy people as control group. The mean age of group 1 was 56 ± 10 years, group 2 was 49 ± 11 , group 3 was 30 ± 3 .

Blood sample of 3 groups were taken for CBC, iron, TIBC, ferritin and hepcidin level. Complaint at first visit were noted. Physical examination were done and all data were compared statistically.

Result: The mean serum hepcidin level 1 was 1339 ± 1183 ng/ml in group 1, 725 ± 762 ng/ml in group 2, 269 ± 249 ng/ml in group 3.

Conclusion: hepcidin level of active RA patients were measured high despite iron deficiency anemia. No significantly difference were determined between 3 groups. We think that hepcidin will be used as a marker in diagnosis, treatment and follow of disease which is result of iron metabolism and inflamation in the future.

Keywords: romatoid arthritis, iron defieny anemia, hepcidin.

KAYNAKLAR

- [1] **Ganz T.** Heparin in iron metabolism. *Current Opinion in Hematology* **2004**; 11:251–4.
- [2] **Rossi E.** Heparin-the iron regulatory hormone. *Clin Biochem Rev* **2005**; 26(3):47–9.
- [3] **Hugman A.** Heparin: an important new regulator of iron homeostasis. *Clin Lab Haem* **2006**; 28:75–83.
- [4] **Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T.** Heparin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *The Journal of Biological Chemistry* **2001**; 276(11):7806–10.
- [5] **Krause A, Neitz S, Magert HJ et al.** LEAP-1; a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Letters* **2000**; 480:147–50.
- [6] **Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B.** A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide heparin, is overexpressed during iron overload. *Journal of Biological Chemistry* **2001**; 276:7811–9.
- [7] **Fleming RE, Bacon BR.** Orchestration of Iron Homeostasis. *New England Journal of Medicine* **2005**; 352(17):1741–4.
- [8] **Kulaksiz H, Gehrke SG, Janetzko A, Rost D.** Pro-heparin: expression and cell specific localisation in the liver and its regulation in hereditary haemochromatosis, chronic renal insufficiency, and renal anaemia. *Gut*. **2004**;53:735–43.
- [9] **Kulaksiz H, Theilig F, Bachmann S, Gehrke SG.** The iron-regulatory peptide hormone heparin: expression and cellular localization in the mammalian kidney. *J Endocrinol*. **2005**;184:361–70.
- [10] **Ganz T.** Heparin-a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages. *Best Practice & Research Clinical Haematology* **2005**; 18 (2):171–82.
- [11] **Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B.** A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide heparin, is overexpressed during iron overload. *Journal of Biological Chemistry* **2001**; 276:7811–9.
- [12] **Nicolas G, Bennoun M, Devaux I, Beaumont C, Grandchamp B.** Lack of heparin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 knockout mice. *Proc Natl Acad Sci*. **2001**;98:8780–5.
- [13] **Laftah AH, Ramesh B, Simpson RJ, Solanky N, Bahram S.** Effect of heparin on intestinal iron absorption in mice. *Blood*. **2004**;103:3940–4.

- [14] **Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S.** IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest.* **2004**;113:1271-6.
- [15] **Nemeth E, Ganz T.** Regulation of iron metabolism by hepcidin. *Annu. Rev. Nutr* **2006**; 26:323-42.
- [16] **Anderson GJ, Darshan D, Wilkins SJ, Frazer DM.** Regulation of systemic iron homeostasis: how the body responds to changes in iron demand. *Biometals* **2007**; 20:665-74.
- [17] **Ganz T.** Hepcidin-a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages. *Best Practice & Research Clinical Haematology* **2005**; 18 (2):171-82.
- [18] **Nicolas G, Viatte L, Bennoun M, Beaumont C, Kahn A, Vaulont S.** Hepcidin, A New Iron Regulatory Peptide. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* **2002**; 29(3) Nov/Dec:327-335.
- [19] **Ganz T.** Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* **2003**; 102(3):783-8.
- [20] **Ganz T, Nemeth E.** Regulation of iron acquisition and iron distribution in mammals. *Biochim Biophys Acta* **2006**; 1763(7):690-9.
- [21] **Morley JJ, Kushner I.** Serum C-reactive protein levels in disease. *Ann NY Acad Sci.* **1982**;389:406-18.
- [22] **Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, et al.** The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J. Clin. Invest.* **2002**; 110:1037-44.
- [23] **Gauldie J, Richards C, Harnish D, Lansdorp P.** Interferon- β /B-cell stimulatory factor type 2 shares identity with monocyte-derived hepatocyte stimulating factor and regulates the major acute phase protein response in liver cells. *Proc Natl Acad Sci.* **1987**;84:7251-5.
- [24] **Wrighting DM, Andrews NC.** Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3. *Blood.* **2006**;108:3204-9.
- [25] **Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S.** IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest.* **2004**;113:1271-6.
- [26] **Dey R, Datta SC.** Leishmanial glycosomes contain superoxide dismutase. *Biochem J.* **1994**;301:317-9.
- [27] **Zhang Y, Lathigra R, Garbe T, Catty D.** Genetic analysis of superoxide dismutase, the 23 kilodalton antigen of mycobacterium tuberculosis. *Mol Microbiol.* **1991**;5:381-91.

- [28] **Singh PK, Parsek MR, Greenberg EP, Welsh MJ.** A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development. *Nature*. **2002**;417:552–5.
- [29] **Hunter HN, Fulton DB, Ganz T, Vogel HJ.** The solution structure of human hepcidin, a peptide-hormone with antimicrobial activity that is involved in iron uptake and hereditary hemochromatosis. *J Biol Chem*. **2002**;277:37597–603.
- [30] **Yang D, Biragyn A, Hoover DM, Lubkowski J, Oppenheim JJ.** Multiple roles of antimicrobial defensins, cathelicidins, and eosinophil-derived neurotoxin in host defense. *Annu Rev Immunol*. **2004**;22:181–215.
- [31] **Andrews NC.** Anemia of inflammation: the cytokine-hepcidin link. *J Clin Invest*. **2004**;113:1251–3.
- [32] **Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G.** Heparin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood*. **2003**;101:2461–3.
- [33] **Ganz T.** Heparin and Its role in regulating systemic iron metabolism. *Hematology* **2006**;29-35.
- [34] **Jurado RL.** Iron, infections, and anemia of inflammation. *Clin. Infect. Dis*. **1997**;25:888-95 33.
- [35] **Weinberg ED.** Iron withholding: A defense against infection and neoplasia. *Physiol Rev* **1984**; 64:65–102.
- [36] **Roetto A, Papanikolaou G, Politou M, Alberti F, Girelli D, Christakis J, Loukopoulos D, Camaschella C.** Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nature Genet*. **2003**; 33:21–2.
- [37] **Papanikolaou G, Samuels ME, Ludwig EH, MacDonald ML, Franchini PL.** Mutations in HFE2 cause iron overload in chromosome 1q-linked juvenile hemochromatosis. *Nat. Genet*. **2004**; 36:77–82.
- [38] **Lin L, Goldberg YP, Ganz T.** Competitive regulation of hepcidin mRNA by soluble and cell associated hemojuvelin. *Blood* **2005**; 106:2884–9.
- [39] **Kearney SL, Nemeth E, Neufeld EJ, Thapa D, Ganz T.** Urinary hepcidin in congenital chronic anemias. *Pediatr. Blood Cancer* **2005**.
- [40] **Origa R, Galanello R, Ganz T, Giagu N, Maccioni L, Faa G.** Liver iron concentrations and urinary hepcidin in beta-thalassemia. *Haematologica/The Hematology Journal* **2007**; 92(5):583–8.
- [41] **Nieken J, Mulder NH, Buter J, Vellenga E, Limburg PC, Piers DA, Vries EG.** Recombinant human interleukin-6 induces a rapid and reversible anemia in cancer patients. *Blood* **1995**; 86:900-90558

- [42] **Van Gasteren MM, Willemse PH, Mulder NH, Limburg PC, Groen HJ.** Effects of recombinant human interleukin-6 in cancer patients: a phase I-II study. *Blood* **1994**; 84:1434-41
- [43] **Peter E. Lipsky.** Romatoid Artrit. *Harrison İç Hastalıklarının Prensipleri Türkçe* **2000**;1928-37.
- [44] **J. Adam Rindfleisch et al.** Diagnosis and Management of Rheumatoid Arthritis *American Family Physician* **2005**;72:1038-47.
- [45] **Ergin S.** Romatoid Artrit ve Sjögren Sendromu. Beyazova M, Gökçe Kutsal Y. *Fiziksel Töp ve Rehabilitasyon Cilt 2.* Ankara: Güneş Kitabevi **2000**; 1549-1576
- [46] **Crisswell LA, Saag SD.** Smoking Interacts with Genetic Risk Factors in the Development of Rheumatoid Arthritis among Older Caucasian Women. *Ann Rheum Dis.* **2006**;Sep;65(9):1163-7.
- [47] **Richard N. Mitchell.** İmmün Bozukluklar. Kumar, Robbins *Temel Patoloji Türkçe 7.baskı.* **2003**;103-64.
- [48] **M. R. Westwood, P. N. Nelson and F. C. Hay.** Rheumatoid factors: what's new? *Rheumatology* **2006**;0;kei228v1
- [49] **A. J. W. Zendman.** Use and Significance of Anti-CCP Autoantibodies in Rheumatoid Arthritis. *Rheumatology (Oxford).* **2006**;Jan;45(1):20-5.
- [50] **Markus Knipp and Milan Vasak.** A Colometric 96-Well Microtiter Plate Assay for Determination of Enzymatically Formed Citrulline Analytical *Biochemistry* **2000**;286(2):257-64.
- [51] *Eular Compendium* **2009**;182-187.
- [52] **Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G.** Hcpidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood.* **2003**; 101:2461-3.
- [53] **Ganz T.** Hcpidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood.* **2003**;102:783-8.
- [54] **Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, Devaux I, Beaumont C, Kahn A, Vulont S.** The gene encoding the iron regulatory peptide hcpidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest.* **2002**;110:1037-44.
- [55] **Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, et al.** A new mouse liverspecific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hcpidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem.* **2001**;276:7811-9.
- [56] **Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T.** Hcpidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem.* **2001**; 276:7806-10.

- [57] **Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G, Lichtenstein A, Ganz T.** Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood*. **2003**; 101:2461–3.
- [58] **Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, Ganz T.** IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest*. **2004**; 113: 1271-6.
- [59] **Dallalio G, Fleury T, Means RT.** Serum hepcidin in clinical specimens. *Br J Haematol*. **2003**; 122(6):996–1000.
- [60] **Barbra J. Sasu, Hongyan Li, Mark J. Rose, Tara L. Arvedson, George Doellgast, Graham Molineux.** Serum hepcidin but not prohepcidin may be an effective marker for anemia of inflammation (AI) *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. **2010**; 45:238–45.
- [61] **Hae-Rim Kim, Kyoung-Woon Kim, So-Young Yoon, Sang-Hyon Kim, and Sang-Heon.** Serum Pro-hepcidin Could Reflect Disease Activity in Patients with Rheumatoid Arthritis. *J Korean Med Sci* 25.2010;348-52.
- [62] **Koca, SS., Isik, A., Ustundag, B Metin, K., Aksoy, K.** Serum Pro-hepcidin Levels in Rheumatoid Arthritis and Systemic Lupus Erythematosus Inflammation. **2008**; Vol.31, No.3
- [63] **Barbra J. Sasu, Hongyan Li, Mark J. Rose, Tara L. Arvedson, George Doellgast, Graham Molineux.** Serum hepcidin but not prohepcidin may be an effective marker for anemia of inflammation (AI) *Blood Cells, Molecules, and Diseases*. **2010**;238-245;45.
- [64] **Jayarenee S., Sthneshwar, P., Sokkalingam, S.** Serum prohepcidin concentrations in rheumatoid arthritis *Pathology*. **2009**;41:2,178–82.
- [65] **Cheng, PP, Jiao, XY, Wang XH, Lin JH, Cai, Y-m.** Hepcidin expression in anemia of chronic disease and concomitant iron-deficiency anemia. *Clin Exp Med*; online *yaun*. **2010**; DOI 10.1007/s10238-010-0102-9.
- [66] **Mehmet Derya Demirağ, Seminur Haznedaroglu, Banu Sancak, Ceyla Konca, Özlem Gülbahar, M. Akif Öztürk, Berna Göker.** Circulating Hepcidin in the Crossroads of Anemia and Inflammation Associated with Rheumatoid Arthritis *Inter Med*. **2009**; 48: 421-6.

ÖZGEÇMİŞ

07.08.1981 tarihinde Kars'ta doğdum. İlk ve orta öğretimimi Kars'ta tamamladım. 2004 yılında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesinden mezun oldum. 2005 yılından itibaren Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Dâhiliye Bölümünde çalışmaktayım.