



**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI**

**HUZURSUZ BACAK SENDROMU
(WILLIS EKBOM HASTALIĞI)
VE
SERUM HEPİDİN DÜZEYİ İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Semra ALAÇAM KÖKSAL

SAKARYA-2016

**T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
NÖROLOJİ ANABİLİM DALI**

**HUZURSUZ BACAK SENDROMU
(WILLIS EKBOM HASTALIĞI)
VE
SERUM HEPİDİN DÜZEYİ İLİŞKİSİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Semra ALAÇAM KÖKSAL

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Bilgehan Atılgan ACAR

SAKARYA-2016

BEYAN

Bu çalışma T.C. Sakarya Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan 30/12/2015 tarihinde onay olarak hazırlanmıştır. Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Tarih:

.../.../...

.....

Semra ALAÇAM KÖKSAL

TEŞEKKÜR

Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Nöroloji uzmanlık eğitim sürem içinde bilgi, fikir ve tecrübelerinden faydalandığım klinik şefimiz Prof. Dr. Ayhan Bölük'e, nöroloji uzmanlık eğitimime katkı sağlayan hocalarım Doç. Dr. Dilcan Kotan Dünder, Yrd. Doç. Dr. Aybala Neslihan Alagöz'e, asistanlık sürem boyunca her anlamda yoğun desteklerini gördüğüm saygıdeğer tez hocam Yrd. Doç. Dr. Bilgehan Atılgan Acar'a, bir abla gibi gördüğüm sayın Uzm. Dr. Türkan Acar'a ve eğitimimde emeği geçen, birlikte çalıştığım tüm uzman ve asistan doktor arkadaşlarıma, saygıdeğer hocamız Tıbbi Mikrobiyoloji Öğretim Üyesi Doç. Dr. Mehmet Köroğlu'na, kliniğimiz ve yoğun bakım ünitemiz hemşire, personel ve tüm çalışanlarına teşekkürlerimi sunarım.

Her zaman yanımda olan ve desteklerini bir an olsun eksik etmeyen canım anneme, babama, canım ablam Sema Alaçam'a, eşim Özgür Köksal'a ve varlığıyla hayatıma anlam katan canım oğlum Taylan'a teşekkür ederim.

Saygılarımla

Dr. Semra Alaçam Köksal

İÇİNDEKİLER

BEYAN	i
TEŞEKKÜR	ii
İÇİNDEKİLER	iii
KISALTMA VE SİMGELER	v
ŞEKİLLER	vii
TABLolar	viii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. HUZURSUZ BACAK SENDROMU	3
2.1.1. Tanım	3
2.1.2. Klinik Tablo	3
2.1.3. Tanı	5
2.1.4. Epidemiyoloji	8
2.1.5. Sınıflama	10
2.1.6. Patofizyoloji	12
2.1.6.1. Genetik	12
2.1.6.2. Demir patofizyolojisi	12
2.1.6.3. Dopamin patofizyolojisi	14
2.1.6.4. İmmun-inflamatuar mekanizmalar	16
2.1.6.5. HBS'deki diğer patofizyolojik bulgular	16
2.1.7. Ayırıcı Tanı	17
2.1.8. Tedavi	18
2.1.8.1. Farmakolojik olmayan tedavi	18
2.1.8.2. Farmakolojik tedavi	19
2.2. DEMİR METABOLİZMASINA GENEL BAKIŞ	26
2.2.1. Demir emilimi	26
2.2.2. Demir taşınması ve hücresel alımı	27
2.2.3. Demir tüketimi ve depolanması	28

2.2.4. Demirin yeniden kullanımı	29
2.2.5. Demir metabolizmasının hücresele düzeyde düzenlenmesi	30
2.3. HEPsİDİN	32
2.3.1. Hepsidin Sentezinin Düzenlenmesi	33
2.3.1.1. Demir Düzeyleri ile Düzenlenme	33
2.3.1.2. Enfeksiyon ve İnflamasyonla Düzenlenme	35
2.3.1.3. Hipoksi ile Düzenlenme	36
2.3.1.4. Anemi ve Eritropoez ile Düzenlenme	36
2.4. BEYİN DEMİR METABOLİZMASI VE HEPsİDİN	37
3. GEREÇ VE YÖNTEM	41
4. BULGULAR	44
5. TARTIŞMA	51
6. ÖZET	56
7. ABSTRACT	57
KAYNAKLAR	59
EKLER	71

KISALTMA VE SİMGELER

BMP: Bone Morphogenetic Protein, Kemik Morfogenetik Proteini

BOS: Beyin omurilik sıvısı

DA: Dopamin agonistleri

DCSAD: Diagnostic Classification of Sleep and Arousal Disorders, Uyku ve Uyanıklık Bozukluklarının Tanısal Sınıflandırılması

DcytB: Duodenal sitokrom b

DEA: Demir eksikliği anemisi

DMT-1: Divalent Metal Transporter-1, İki Değerlikli Metal Taşıyıcı-1

EMG: Elektromiyogram

Epo: Eritropoetin

fDOPA: Floro-L-dopa

FPN: Ferroportin

GDF: Growth Differentiation Factor, Büyüme diferansiyasyon faktörü

Gpi-Cp : Glukozil-fosfatidil-inozitol bağlı seruloplazmin

GWAS: Genome Wide Association Study, Genom Boyu İlişkilendirme Çalışmaları

HBS: Huzursuz bacak sendromu

HCP1: Heme Carrier Protein 1, Hem taşıyıcı protein 1

HIF: Hipoksi ile indüklenebilir faktör

HJV: Hemojuvelin

HO1: Hem oksijenaz 1

HRE: Hipoksi duyarlı elementler

HVA: Homovanilik asit

IFN: İnterferon

IL: İnterlökin

IRE/IRP: Iron responsive elements/ Iron regulatory proteins, Demir duyarlı elementler/Demir düzenleyici proteinler

IRLSSG: International Restless Legs Syndrome Study Group, Uluslararası Huzursuz Bacak Sendromu Çalışma Grubu

IRLSSGRS: International Restless Legs Syndrome Study Group Rating Scale, Uluslararası Huzursuz Bacak Sendromu Çalışma Grubu Şiddet Ölçeği

JAK-STAT: Janus Kinase- Signal Transducer and Activator of Transcription

LEAP-1: Liver-expressed antimicrobial peptide-1

LPS: Lipopolisakkarid

MRG: Manyetik Rezonans Görüntüleme

MT-2: Matriptaz-2

OSAS: Obstructive Sleep Apnea Syndrome; Obstrüktif uyku apne sendromu

PCFT: Proton-Coupled Folate Transporter, Proton Eşleşmiş Folat Taşıyıcı

PCBP: Poly (rC) binding protein

PLM: Periodic Limb Movements; Periyodik Ekstremitte Hareketleri

PLMS: Periodic Limb Movements in Sleep; Uykuda Periyodik Ekstremitte Hareketleri

PLMW: Periodic Limb Movements during Wakefulness; Uyanıklıkta Periyodik Ekstremitte Hareketleri

RLS: Restless legs syndrome, Huzursuz bacak sendromu

ROC: Receiver Operating Characteristic; Alıcı İşletim Karakteristiği

SIBO: Small intestinal bacterial overgrowth, İnce barsak bakteriyel aşırı çoğalması

SN: Substantia nigra

SPECT: Single Photon Emission Computed Tomography, Tek Foton Emisyonlu Bilgisayarlı Tomografi

STEAP-3 : Six membrane epitelial antigene of the prostate -3

Tf: transferrin

TfR: Transferrin reseptör

TWSG: Twisted gastrulation

WED: Willis Ekbom Disease; Willis Ekbom Hastalığı

ŞEKİLLER

Şekil 1: Sistemik demir metabolizması düzenlenmesi	30
Şekil 2: Hepatositte HAMP gen ekspresyonunun düzenlenmesi	33
Şekil 3: Beyin demir metabolizması	39
Şekil 4: Santral sinir sistemi hücrelerinde inflamatuvar uyarıya hepsidin cevabı	40



TABLULAR

Tablo 1: HBS tanı kriterleri	7
Tablo 2: Sekonder HBS nedenleri	11
Tablo 3: HBS ayırıcı tanısı	18
Tablo 4: HBS farmakolojik tedavisinde kullanılan ajanlar	20
Tablo 5: HBS hastaları ve sağlıklı kontrol grubunun demografik ve klinik özellikleri	44
Tablo 6: Vaka ve kontrol grubunun özellikleri	45
Tablo 7: Pittsburg Uyku Kalitesi İndeksi sonuçları	46
Tablo 8: Beck Depresyon Envanteri sonuçları	46
Tablo 9: Vaka ve kontrol grubu tetkik sonuçları	47
Tablo 10: Tek değişkenli model ve çok değişkenli indirgenmiş model	48
Tablo 11- ROC (Receiver Operating Characteristic;Alıcı İşletim Karakteristiği) eğrisi	49
Tablo 12: ROC eğrisi özellikleri	49
Tablo 13- Hepsidin ile Hb, ferritin ve demir korelasyonu (Spearman's rho) * ...	50

1.GİRİŞ VE AMAÇ

Huzursuz bacak sendromu (HBS); özellikle alt ekstremitelerde karşı konulamaz hareket ettirme isteği ile karakterize, uyku ile ilişkili sensorimotor sistemi etkileyen bir hareket bozukluğudur. Sekonder form daha çok demir eksikliği ile ilişkilendirilmiş (Chocroerty 2015) olsa da idiopatik HBS'nin etyolojisi tam olarak aydınlatılmamıştır. HBS patofizyolojisi hakkında yapılan çalışmalar; genetik, demir metabolizması ve dopaminerjik sistemdeki değişiklikler, immun/inflamatuvar yanıt üzerine yoğunlaşmıştır (Weinstock et al. 2012, Ondo 2014).

Hem primer hem de sekonder formda demir eksikliğinin, HBS için predispozan olduğu bilinmektedir. HBS ve serum demir eksikliği ilişkisini ilk olarak Nordlander (1954) tanımlamış, periferik kanda yeterli demir seviyesine sahip hastaların varlığından dolayı, normal serum demirine rağmen dokularda demir yetersizliğinin mümkün olabileceği hipotezini kurmuştur. Bu da araştırmacıları, HBS hastalarında serum demiri yeterliyken santral demir yetersizliği olup olmadığını araştırmaya itmiştir. İlerleyen yıllarda primer HBS'de santral demir eksikliği beyin omurilik sıvısı, Manyetik Rezonans Görüntüleme (MRG) ve otopsi çalışmalarıyla belgelendirilmiştir (Allen et al. 2001, Mizuno et al. 2005, Clardy et al. 2006).

Yakın dönemde, insan çalışmalarında çoğunlukla karaciğerden eksprese edildiği, hayvan modellerinde koroid pleksustan da salındığı gösterilen (Urrutia et al. 2013) peptid yapıda bir hormon olan hepsidin keşfi (Krause et al. 2000, Park et al. 2001); başlangıçta antimikrobiyal özelliği nedeniyle dikkat çekse de, çok geçmeden demir metabolizması üzerine etkilerinin anlaşılmasıyla demir metabolizması ilişkili hastalıkların patofizyolojisi ve tanısında çığır açan bir gelişmeye yol açmıştır. Vücut demir düzeyi artışı ve enfeksiyon-inflamasyon durumunda hepsidin seviyesi artar, hipoksi, anemi ve eritropoez artışı durumunda ise hepsidin sentezi baskılanır. Hepsidin sentezinde artış sonucunda intestinal demir emiliminde azalma; hepatosit, enterosit ve retikuloendotelyal sistem makrofajlarından plazmaya demir salınımında azalma meydana gelir ve böylece demirin eritropoez için kullanımı engellenir (Silva and Faustino 2015).

Demir eksikliğinin, HBS için kanıtlanan en önemli biyolojik anormallik olması, kronik inflamasyonun da HBS etyolojisinden sorumlu tutulması nedeniyle (Weinstock et al. 2012), HBS ile sistemik demir metabolizmasının Şu ana kadar bilinen tek düzenleyici hormonu olan ve sentezi inflamasyonla da düzenlenen hepsidinin ilişkisini inceleyen bir çalışma planladık. Pubmed, Google Scholar internet sitelerinde “RLS and hepcidin”, “RLS, serum hepcidin”, “Restless legs syndrome, hepcidin”, “WED, hepcidin” anahtar kelimeleri ile yaptığımız literatür araştırmasında HBS ve serum hepsidin düzeyi ilişkisini inceleyen bir çalışmaya rastlamadık. ÇalıŐmamız sonucunda hepsidinin HBS patogenezindeki rolü konusunda literatüre katkıda bulunmayı amaçladık.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. HUZURSUZ BACAK SENDROMU:

2.1.1. Tanım: Yakın dönemde Willis Ekbom hastalığı (Willis Ekbom Disease, WED) olarak da adlandırılan huzursuz bacak sendromu (HBS) akşamları veya istirahat halindeyken ekstremitelerdeki hoş olmayan duyuları durdurmak için ekstremiteleri hareket ettirme ihtiyacı veya dürtüsü ile kendini gösteren sensori-motor sistemin sirkadiyen özellikte kronik nörolojik bir bozukluğudur (Rye and Trotti 2012, Wijemanne and Jankovic 2015) .

HBS literatürde ilk kez 1672 yılında Sir Thomas Willis tarafından tanımlanmış olup 1861 yılında HBS benzeri semptomlar Alman hekim Theodor Wittmaack tarafından “anxietas tibiaram” olarak adlandırılmıştır. On dokuzuncu yüzyıl boyunca hastalık histeri veya nörastenin bir türü olarak düşünülmüştür. 1923 yılında W. Oppenheim hastalığı genetik nörolojik bir bozukluk olarak tanımlayınca dek hastalık nörolojik bir bozukluk olarak kabul edilmemiştir. 1943’te F. Gerard Allison istemli veya istemsiz ekstremitte sıçramaları ve uyku bozukluğu ile ilişkili, bir veya her iki bacakta hoş olmayan , lokalize edilemeyen yerinde duramama hissi ile karakterize sık görülen hafif bir rahatsızlık olarak “ bacak seğirmesi ” fenomenini tanımlamıştır. 1944 yılında İsveçli nörolog Karl A. Ekbom hastalığı “Asthenia crurum paraesthetica, irritabl bacaklar” olarak tanımlamış, nihai olarak 1945 yılında duyuşal veya ağrılı semptomların baskın olmasına göre HBS olarak yeniden adlandırmış, fakat semptomların kollarda da ortaya çıkabileceğini belirtmiştir (Kompolti and Verhagen 2010).

2.1.2. Klinik tablo: HBS, ekstremiteleri hareket ettirmeye zorlayan, neredeyse karşı konulamaz hislerle karakterize şikayetlerle kendini gösterir. Rahatsız edici duyular hastalar tarafından sıklıkla; hareket ettirme ihtiyacı, sürünme, karıncalanma, huzursuzluk, kramp, ürpertici, çekme hissi, ağrı, elektriklenme hissi, gerginlik, kaşınma, yanma, iğne batması, bacakların içinde kurtçuklar olduğu hissi, sinirli bacaklar ifadeleriyle tanımlanmaktadır (Kerr et al. 2012). “Huzursuz bacaklar” aslında

yanlış bir adlandırmadır çünkü HBS'li bireylerin %25-50'sinin üst ekstremiteler ile ilgili semptomları vardır. Semptomlar gerinme veya yürüme gibi hareketlerle, hareket devam ettiği sürece, kısmen ya da tamamen iyileşme gösterir. Hafif vakalarda hastalar kıpırdanma, bacaklarına masaj yapma, yatak içinde hareket etme gibi davranışlarla rahatlama sağlayabilirler. Semptomlar şiddetlendiğinde hastalar yataktan çıkıp gezinme ihtiyacı hissederler. Semptomlar günün diğer saatlerine oranla özellikle akşam veya gece saatlerinde ortaya çıkar ve günün sonlarına doğru kötüleşmeye başlayıp, yatağa uzandıktan itibaren ilk 30 dakikada en yüksek seviyeye ulaşır. Şiddetli vakalarda semptomlar günün daha erken saatlerinde, dinlenme halinde ortaya çıkabilir (Venkateshiah and Ioachimescu 2015).

HBS semptomları her yaşta başlangıç gösterebilir. Familial HBS'de başlangıç yaşı ortalama olarak hayatın 3. veya 4. dekadındadır ve vakaların üçte birinde 21 yaş altındadır (Montplaisir et al. 1997). Klinik seyir başlangıç yaşına bağlıdır. Erken başlangıçlı HBS'de (45 yaş öncesi) vakaların üçte ikisinin semptomları yavaş ilerleme gösterir ve serum demiri ile sınırlı ilişki gösterir. Başlangıç yaşı ne kadar geç olursa, hızlı bir başlangıç gösterme ve nöropati, demir eksikliği, renal hastalık gibi diğer tıbbi durumlarla ilişkili olma olasılığı o kadar artar (Allen and Earley 2000).

Uykuda periyodik ekstremiteler hareketleri (Periodic Limb Movements in Sleep, PLMS), HBS ile ortak patofizyolojiye sahip olduğu düşünülen, nadiren diz ve kalçada fleksiyonla birlikte, çoğunlukla ayak başparmağının ritmik ekstansiyonu ve ayak bileğinin dorsifleksiyonu ile kendini gösteren tekrarlayıcı, stereotipik özellikte bir hareket bozukluğudur. PLMS tanısı polisomnografi (PSG) ile konulur. Uyku laboratuvarında tibialis anterior kasının bilateral yüzeysel elektromiyogram (EMG) kayıtları kullanılır. Coleman Kriterleri'ne göre ölçüm sırasında amplitüdün dörtte bir veya daha fazlasının ayak başparmağı dorsifleksiyonun oluşturduğu, 4-90 sn aralıklarla oluşup 0,5-5 sn süren dört ardışık hareket, bir hareket epizodu olarak kabul edilmektedir. PLMS indeksi, bir saatlik uykudaki hareket epizodunu gösterir ve 5'in üzerinde ise patolojik kabul edilir (Allen et al. 2003). HBS hastalarının %80-90'ında PLM (Periodic Limb Movements; Periyodik Ekstremiteler Hareketleri) mevcut iken (Montplaisir et al.1997), PLM bulunan hastaların %30'unda HBS izlenmektedir (Merlino et al. 2007). Hareketler genellikle bilateraldir fakat simetrik ve eş zamanlı

olmalarına gerek yoktur, bir bacakta ağır basabilirler veya iki bacak arasında değişimli görülebilirler. PLMS üst ekstremitelerde ortaya çıktığında, sıklıkla dirseğin tekrarlayıcı fleksiyonu şeklindedir. PLM uyanıklıkta görüldüğünde PLMW (Periodic Limb Movements during Wakefulness, Uyanıklıkta Periyodik Ekstremit Hareketleri) olarak adlandırılır. Bunlar tipik olarak sıçrama benzeri hareketlerle karakterize olup PLMS'ye göre daha şiddetli ve hızlıdır (Stiasny et al. 2002). PLMS, HBS'ye özgü değildir, PLMS indeksinin 5'in üzerinde olması tanıyı destekler (Allen et al 2003).

Uykuya başlama veya uykuyu sürdürme güçlüğü ile karakterize uyku bozukluğu HBS hastalarının %75'inde görülmektedir (Hening et al. 2004) ve HBS şiddeti ile korelasyon gösterir. HBS semptomlarından gündüz uykululuk hali bulunan orta yaşlı kadınlarda artmış mortalite riski saptanmıştır (Mallon et al. 2008).

HBS hastalarının duyuşal semptomlarının topografisini araştıran bir çalışmada 44 hastanın 28'inin (%64) her iki alt ekstremitede, 15'inin (%34) çoğunlukla bir alt ekstremitede duyuşal semptomu bulunmaktadır ve alt ekstremitede en sık etkilenen bölge uyluktur (%73) (Karroum et al. 2012).

2.1.3. Tanı: HBS tanısı temelde klinik ve öyküye göre konulmaktadır. Ekbom'un hastalığı tanımlamasından beri HBS tanısındaki ana özelliklerde belirgin değişiklik olmamıştır. Hoş olmayan duyular ve bacakları hareket ettirmek için dayanılmaz istek, semptomların istirahatte kötüleşip hareketle rahatlaması semptomların akşam/gece başlaması veya şiddetlenmesi HBS tanısının ayırıcı özellikleri olarak kalmıştır. Buna rağmen Ekbom'un duyulara yaptığı vurgu, zamana yenik düşmüştür.

HBS tanısı ile ilgili ilk resmi tanımlama; 1979 yılında Amerikan Uyku Bozuklukları Derneği'nin Tanısal Sınıflandırma Komitesi'nin yayımladığı "Uyku ve Uyanıklık Bozukluklarının Tanısal Sınıflandırılması (Diagnostic Classification of Sleep and Arousal Disorders, DCSAD)" olarak kabul edilir. Yine aynı dernek tarafından 1990'da "Uluslararası Uyku Bozuklukları Sınıflandırması" olarak yeniden gözden geçirilip yayımlanmıştır. HBS Tanı Kriterleri Uluslararası Huzursuz Bacak Sendromu Çalışma grubu (IRLSSG) tarafından 1995 yılında yayınlanıp 2003 ve 2012 yıllarında revize edilmesiyle son halini almıştır. Son revizyondaki ana değişiklikler; daha önce 4 olan tanı kriterlerine, ayırıcı tanıyı içeren beşinci bir ana kriter eklenmesi, klinik anlamlılık

ve klinik seyirle ilgili maddeler eklenmesi ve yetişkin ve pediatrik tanı kriterlerinin birleştirilmesi olmuştur (Tablo 1) (<http://irlssg.org/diagnostic-criteria>, Erişim tarihi: 29 Ağustos 2016). Ayrıca tanısal değerlendirme için önemli olan destekleyici kriterler ve klinik görünüm tartışılmıştır. Tanı için 5 temel kriterin mutlaka karşılanması gerekir. Aile öyküsü, dopaminerjik tedaviye yanıt, periyodik ekstremitte hareketleri, beklenen gündüz uyku halinin olmamasından oluşan destekleyici klinik özellikler tanı için şart olmamasına rağmen, HBS ile yakından ilişkilidir ve kesin tanının konulmadığı durumlarda tanıya yardımcı olur (Allen and the International Restless Legs Syndrome Study Group: IRLSSG 2014).



Tablo 1 (IRLSSG 2012'den yararlanılmıştır)

HBS tanı kriterleri	
Temel tanı kriterleri	<ol style="list-style-type: none">1. Bacaklarda rahatsız edici ve hoş olmayan duyular nedeniyle veya her zaman olmamakla birlikte bu duyularla birlikte bacakları hareket ettirme isteği ^{a,b}2. Bacakları hareket ettirme isteği ve eşlik eden hoş olmayan duyuların, uzanma veya oturma gibi dinlenme/hareketsizlik dönemlerinde başlaması veya kötüleşmesi3. Bacakları hareket ettirme isteği ve eşlik eden hoş olmayan duyuların en azından hareket devam ettiği sürece, yürüme ve gerinme gibi hareketlerle kısmen ya da tamamen iyileşmesi^c4. Dinlenme veya hareketsizlik sırasında bacakları hareket ettirme isteği ve eşlik eden hoş olmayan duyuların gün boyunca sadece akşam veya gece dönemlerinde ortaya çıkması veya kötüleşmesi^d5. Belirtilen özelliklerin ortaya çıkmasının başka bir tıbbi veya davranışsal durumun (miyalji, bacak ödemi, artrit, venöz staz, bacak krampları, pozisyonel rahatsızlık hissi, ayakları hafifçe vurma alışkanlığı gibi)^e primer semptomları olarak izah edilememesi
HBS klinik seyri için belirteçler^f	<ol style="list-style-type: none">A. Kronik-persistan HBS: Tedavi edilmediğinde semptomların son bir yılda ortalama haftada en az iki kere ortaya çıkmasıB. Aralıklı HBS: Yaşam boyu en az beş kez karşılaşılmakla birlikte, tedavi edilmediğinde semptomların son bir yılda ortalama haftada ikiden az görülmesi ^a
HBS klinik anlamlılığı için belirteçler:	HBS semptomları uyku, enerji/zindelik, günlük aktiviteler, davranış, kognisyon veya duygu durum üzerindeki etkileri ile sosyal, mesleki, eğitimsel ve diğer önemli işlevsel alanlarda ciddi sıkıntı ya da bozulmaya neden olur.

^a Bazen rahatsız edici duyular olmadan bacakları hareket ettirme isteği mevcuttur ve bazen de bacaklara ek olarak kollar veya vücudun diğer kısımları işe karışır.

^b Çocuklar için bu semptomların tanımı çocuğun kendi kelimeleri ile olmalıdır.

^c Semptomlar çok şiddetli olduğunda hareket ile rahatlama dikkate değer olmayabilir fakat geçmişte var olmalıdır.

^d Semptomlar çok şiddetli olduğunda akşam veya gece kötüleşme dikkate değer olmayabilir fakat geçmişte var olmalıdır.

^e Sıklıkla "HBS taklitleri" olarak anılacak olan bu durumlar özellikle araştırmalarda sıklıkla HBS ile karıştırılır çünkü bunlar karşılama kriterleri 1-4'ü karşılayan veya en azından karşılamaya çok yaklaşan semptomlara neden olur. Buradaki liste epidemiyolojik araştırmalar ve klinik uygulamalarda özellikle önemli olarak belirtilmiş birkaç örnek vermektedir. HBS bu durumların herhangi biriyle birlikte de ortaya çıkabilir, fakat HBS semptomları, genellikle diğer durumların parçası olarak ortaya çıkanlardan ifade veya karakter olarak daha yüksek seviyede olacaktır.

^f Klinik seyir kriteri pediatrik vakalar ve gebelik ya da ilaca bağlı HBS gibi sıklığı yüksek olabilen fakat tetikleyen durumun süresine sınırlı olan provoke edilmiş bazı özel vakalara uygulanmaz.

2.1.4. Epidemiyoloji: HBS prevalansını Avusturalya hariç beş kıtada araştıran, çoğu Kuzey Amerika ve Avrupa'da yürütülen elliden fazla epidemiyolojik çalışma mevcuttur. Dünya genelinde prevalans %0,03 (Africa, Tanzania 2010) -24,2 (Fransa 2010) arasında değişmektedir. Bu çalışmalarla prevalans karşılaştırılmasındaki kısıtlamalar değişik araştırma metodlarının kullanılması ve farklı HBS kriterlerinin kullanılması olmuştur. Prevalansın Kuzey Amerika ve Avrupa'da % 5,5- 11,6 ile en yüksek, Asya'da %1- 6 ile en düşük değerlerde olduğu düşünülmektedir. Bölgeler arasındaki değişiklikler kültürel, çevresel ve genetik faktörlerle ilişkili olabilir. Avrupa'da yapılan çalışmalarda güney ülkelerde düşük HBS prevalansı saptanırken, kuzey ülkelerde yüksek prevalans saptanmıştır (Koo 2015). HBS semptomları ile ultraviyole ışınlarına maruziyetin ilişkili olabileceği düşünülmüştür. Bunun yanında serum 25-hidroksivitamin D düzeyinin, idiopatik HBS'li kadın hastalarda, kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük olduğunu gösteren bir çalışma mevcuttur (Balaban ve ark. 2012).

HBS semptomlarının sıklığı ve şiddeti ile ilgili tanısal soruların yöneltildiği 18 yaş ve üstü 15,391 kişiyi kapsayan REST çalışmasında prevalans %7,2 olarak bulunmuştur. Katılımcıların %2,7'sinde haftada en az iki kez semptom görülmüştür. Prevalans 79 yaşına kadar artış gösterip, sonrasında inişe geçmektedir ve haftada en az iki kez HBS semptomu olan grubun %36,1'i 49 yaş ve altındadır. Aynı çalışmada HBS, kadınlarda erkeklerin iki katı prevalansa sahiptir (Allen et al. Restless legs syndrome prevalence and impact: REST general population study 2005)

Berger ve ark. nın çalışmasında (2004), 64 yaşına kadar nulliparlarla erkeklerdeki HBS prevalansının benzer olduğu buna karşın doğum sayısı ile korele olarak kadınlarda prevalansın arttığı gösterilmiş, paritenin bir risk faktörü olabileceği öne sürülmüştür. Ayrıca sigara içmek ve düşük eğitilmiş olmak da HBS riskini artırmaktadır.

Gebelik geçici HBS ile ilişkilidir. Gebelerin yaklaşık üçte birinde, özellikle üçüncü trimesterde belirginleşen HBS semptomları bildirilmiştir. Semptomlar doğumla birlikte kaybolma eğilimindedir. Ayrıca etkilenen gebelerin hemoglobin ve ortalama eritrosit hacimleri, kontrol grubundan daha düşük değerlerde bulunmuştur (Manconi et al. 2014). Çoğu kadında semptomlar ilk kez gebelik sırasında ortaya çıkarken, daha önce HBS tanılı olanlarda ise, semptomlar gebelik sırasında kötüleşebilir. Gebelik

sırasında demir ve folat eksikliği, hormonal değişiklikler ve bacaklarda vasküler konjesyona neden olan mekanik faktörler gibi nedenlerin semptomlarda kötüleşmeye neden olduğu düşünülmektedir (Picchiatti and IRLSSG 2014, Chokroverty 2015).

HBS diyalize giren son dönem böbrek yetmezliği hastalarında normal popülasyondan çok daha sık görülür ve %7'den %68'e varan oranlar bildirilmiştir, bu hastalarda patofizyoloji net olarak aydınlatılamamış olsa da santral demir eksikliği sorumlu tutulmaktadır. Demir eksikliği için net bir tanı kriteri belirlenmemiş olsa da kabaca ferritin değerinin 50 µg/L altında olması kabul edilebilir (Tachibana 2015). Bu hastalarda kardiyovasküler, serebrovasküler olaylar ve mortalitenin artmış olduğu bildirilmiştir (Lin et al. 2015). Dialize giren son dönem böbrek yetmezliği hastalarında böbrek transplantasyonundan sonra HBS'nin ortadan kaybolması, bu hastalarda henüz bilinmeyen biyokimyasal ve diğer nedenlerin HBS semptomlarına yol açabileceğini düşündürmektedir (Winkelmann et al. 2002). Belirtilen hasta grubunda BTBD9 ile anlamlı genetik ilişki saptanmıştır (Schormair et al. 2011). Kronik inflamasyon ve oksidatif stresin, diyalize giren hastalarda HBS için artmış risk oluşturduğunu destekleyen veriler mevcuttur (Higuchi et al. 2015).

HBS diyabetik hastalarda genel popülasyona göre ortalama dört kat fazla görülmektedir. Diyabet ve HBS arasındaki ilişki, diyabetin polinöropati ve böbrek yetmezliği etyolojisinde rol oynamasından dolayı oldukça önemlidir (Skomro et al. 2001). Diyabetik polinöropati varlığı HBS için bağımsız risk faktörü olarak kabul edilmektedir (Cotter and O'Keeffe 2006). Diyabetik hastalarda HBS prevalansını araştıran, diyabet tanılı 140 hasta ve eşit sayıda kontrol grubu ile yapılan bir araştırmada; diyabetiklerde HBS prevalansı %28,6 kontrol grubunda %7,1 bulunmuş, aynı çalışmada her iki gruptaki HBS hastalarında hipertansiyon anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (Zobeiri and Shokoohi 2014).

Ülkemizde yapılan bir çalışmada 40 yaş üstü HBS prevalansı %9,71 bulunmuştur. Prevalansın yaş ile değişiklik göstermediği ve kadın/erkek oranının 2,6:1 olduğu bildirilmiştir (Erer ve ark. 2009).

Taşdemir ve ark.'nın çalışmasında ülkemizde 18 yaş üstü HBS prevalansı %3,4 iken, kadın erkek oranı 3,5:1 bulunmuştur. Prevalans 58-67 yaş arasında %8,3 ile tepe

noktasına erişmiştir. HBS hastalarında sırasıyla DM, anemi ve polinöropati sıklığı %13,9; % 8,3; %4,2 bulunmuştur (2010).

Trabzon il merkezinde prevalans %4,5 olarak bildirilmiş ve kadınlarda dördüncü dekatta, erkeklerde ise altıncı daha sık görüldüğü rapor edilmiştir (Altunayoglu ve ark. 2015).

2.1.5. Sınıflama: HBS primer ve sekonder olarak ikiye ayrılmaktadır. İdiyopatik form olarak da bilinen primer HBS’de aile öyküsü dikkat çekicidir. Allen ve ark. primer HBS hastalarının birinci derece akrabalarının, ikinci derece akrabalarına göre HBS açısından çok daha yüksek risk grubunda olduğunu, ve ailesel özellikteki bu formun daha erken başlangıç gösterdiğini rapor etmişlerdir (2002). Sekonder veya semptomatik HBS, idiopatik HBS’ye oranla daha geç başlangıç ve daha hızlı progresyon gösterme eğiliminde olup her iki grup arasında semptomların karakteristiği arasında belirgin fark görülmemektedir (Ondo and Jankovic 1996).

Tablo-2 (Chocroverty 2015'ten yararlanılmıştır)

Sekonder (semptomatik) HBS nedenleri	
Nörolojik bozukluklar	Parkinson hastalığı Multipl skleroz Myelopatiler Polinöropatiler “Meralgia paresthetica” Safenöz sinir sıkışması Kortikal ve subkortikal enfarktlar Lumbosakral radikülopatiler Isaac sendromu Spinocerebellar ataksi
Diğer tıbbi nedenler	Demir eksikliği ve DEA Böbrek yetersizliği Diabetes mellitus Romatolojik bozukluklar Hipo-hipertiroidizm Kronik tıkaçıcı akciğer hastalığı Tromboflebit Magnezyum eksikliği Çölyak hastalığı Crohn hastalığı Sjögren sendromu Obstrüktif uyku apne sendromu
Cerrahi nedenler	Mide redüksiyonu Akciğer nakli
İlaçlar	Trisiklik antidepresanlar SSRI'lar Nöroleptikler Dopamin antagonistleri Antihistaminikler(özellikle H1 antagonistleri) Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar Lityum Antiemetikler(metoklopropamid)
Diğer nedenler	Gebelik Kan bağıışı Dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu Spinal anestezi (geçici HBS)

2.1.6. Patofizyoloji: HBS patofizyolojisi üzerine yapılan çalışmalar genetik, demir ve dopamin metabolizması ve immun-inflamatuvar mekanizmalar üzerine yoğunlaşmıştır.

2.1.6.1. Genetik: HBS’de aile hikayesi sık görülür ve destekleyici tanı kriterleri arasında yer alır. Primer HBS’de hastaların en az bir adet birinci derece akrabasında hastalığın bulunma oranı yaklaşık %60’tır ve bu HBS’nin genetik komponentini destekler nitelikte bir veridir (Montplaisir et al. 1997). “Genom Boyu İlişkilendirme Çalışmaları (Genome Wide Association Study, GWAS)” MEIS1, BTBD9, PTPRD, MAP2k/SKOR1 ve TOX3/BC034767 için beş özel genomik bölgede ve 2. Kromozomda intergenik bir bölgede HBS risk allelleri tanımlanmıştır (Winkelmann et al. 2011). Bu varyantların çoğu PLM ile de ilişkili görünmektedir (Moore et al. 2014). Yüksek taşıyıcılık oranına sahip otozomal resesif kalıtım mümkün olmasına rağmen birçok aile ağacı otozomal dominant kalıtımı telkin eder. Bu genlerin fizyolojilerinin tanımlanması sürmektedir ve BTBD9 geninin demir regülasyonu ile ilişkisi saptanmıştır (Ondo 2014).

2.1.6.2. Demir patofizyolojisi: HBS’nin iyi tanımlanmış başlıca çevresel risk faktörü demir eksikliğidir. Azalmış periferik demir HBS şiddetini artırır (Sun et al.1998). HBS prevalansı demir eksikliği anemisinde (DEA) normal popülasyondan 9 kat daha yüksek saptanmıştır fakat demir eksikliği veya aneminin derecesi ile HBS arasında ilişki gözlenmemiştir. Her ne kadar düşük demir durumu klinik olarak anlamlı HBS oranını artırsa da, DEA bulunan hastaların klinik olarak anlamlı HBS gelişmesini etkileyen başka çevresel veya genetik risk faktörleri olabilir (Allen et al. 2013). Demir durumunu bozan gebelik, son dönem böbrek yetmezliği gibi hastalıklar da artmış HBS riski ile ilişkilidir, ayrıca bu vakalarda demir eksikliğinin agresif tedavisi HBS şiddetini azaltmaktadır. Patofizyoloji periferik demir durumundan çok santral sinir sistemi demir durumu ile ilişkili görünmektedir (Allen 2015). Normal periferik demir ölçümlerine sahip HBS hastalarının beyin omurilik sıvısı incelemelerinde azalmış ferritin seviyeleri rapor edilmiştir (Mizuno et al. 2005).

HBS için en iyi belgelenmiş biyolojik anormallik beyin demir eksikliğidir. “Substantia nigra” (SN) ve putamende azalmış beyin demirini gösteren MRG çalışmaları

mevcuttur. Azalmış beyin demiri daha çok SN'de, daha az olarak da putamen ve kaudat nükleusta saptanmıştır (Allen et al. 2001). Daha duyarlı ölçümlerle yapılan yeni çalışmalarda talamusta da demir miktarında azalma gösterilmiştir (Rizzo et al. 2013). Demir eksikliği genel olmaktan çok bölgesel görünmektedir ve etkilenmiş alanlar sadece SN gibi demirden zengin bölgeleri değil, talamus başta olmak üzere demirden fakir bölgeleri de içermektedir. HBS'de serebellar dentat çekirdek gibi bazı demirden zengin bölgelerde azalmış demir saptanmamıştır. Bu da, normal sistemik demir durumu bulunan birçok HBS hastasında beyinde bölgesel demir eksikliği bulunduğunu desteklemektedir (Allen 2015).

HBS otopsi çalışmaları demir düzenleyici proteinlerin karmaşık etkileşimine ışık tutmaktadır. SN'de bulunan nöromelanin hücrelerindeki demir ilişkili proteinleri inceleyen bir otopsi çalışmasında; HBS hastalarında H-ferritin (ağır zincirli ferritin) ekspresyonu azalmış bulunmuşken, L-ferritin ekspresyonu kontrol grubuna göre değişiklik göstermemiştir. Demirin endositik salınımını sağlayan DMT-1 (Divalent Metal Transporter-1; İki Değerlikli Metal Taşıyıcı-1) ve hücrel demir taşınmasında rol oynayan ferroportin düzeyi azalmıştır. Hücrel demir eksikliğinde beklenen yanıtın aksine TfR (transferrin reseptör) azalmıştır. Demir düzenleyici proteinler (Iron regulatory proteins, IRP), TfR ve ferritin translasyonunu düzenlemekten sorumludurlar. HBS'de IRP-1 düzeyi azalmış, buna karşın IRP-2 düzeyleri artmıştır. HBS, nöromelanin hücrelerde TfR mRNA'yı destabilize eden IRP-1'deki bir bozukluğun hücrel demir eksikliğine yol açmasının sonucu olabilir. Primer HBS hastalarında beyin mikrodolaşımında koroid pleksus epitel hücrelerinde demir, H-ferritin azalmışken; DMT-1, ferroportin, transferrin ve TfR artmıştır. Koroid pleksusta görevi tam olarak anlaşılmayan mitokondriyal ferritin de artmıştır ve bunun fazla ekspresyonu sitozoldeki demir seviyelerinin düşmesine yol açabilir. Koroid pleksustaki demir düzenleyici proteinler hücrel demir alımı için artmışken demirin hücre dışına taşınmasında görevli ferroportin de artmıştır. Motor korteks mikrodamarlarında H-ferritin, transferrin ve TfR düşük bulunmuş, DMT-1 ferroportin, prohepsidin, mitokondriyal ferritin ve L-ferritin düzeyleri kontrol grubu ile anlamlı değişiklik göstermemiştir. Göreceli beyin demir eksikliğinde mikrodolaşımdaki TfR ekspresyonundaki azalma, HBS'li hastaların beyinlerinde beyin demir elde edimi ile ilişkili problemlerin altında yatan nedeni olabilir (Connor et al. 2004).

Beyin demir eksikliđinin iki patofizyolojik sonucu belgelenmiřtir; hipoksik yolak aktivasyonu ve miyelin kaybı. Oksijen tařınması demire bađlıdır ve dűřük demir potansiyel bir hipoksiye iřaret etmektedir. HBS'li hastalarda SN'da hipoksi ile indűklenenbilir faktör (HIF) 1 alfa artmıřtır; mikrovaskűler dolařımda da HIF-2 alfa ve vaskűler endotelial bűyűme faktörű artmıřtır (Patton et al. 2011). HBS hastalarının alt ekstremitelerinde hareketin dűzeyi ile ađıklanamayan hipoksi saptanmıřtır (Wáhlın et al. 2007). Miyelin sentezi demir bađımlıdır ve hayvanlarda beyin demir eksikliđinde miyelin üretimi azalmıřtır (Ortiz et al. 2004).

HBS hastalarında korpus kallosum, anterior singulat korteks ve presantral girus beyaz cevherde miyelin kaybı saptanmıştır. Postmortem analizlerde de miyelin proteinlerinde %25 kayıp saptanmıştır (Connor et al. 2011b).

2.1.6.3. Dopamin patofizyolojisi: Levodopa tedavisine dramatik yanıt alınması HBS'li hastalarda beyin dopamin seviyesinde önemli eksiklik olduğu genel kanısını oluşturmuştur. Buna karşılık, HBS hastalarının beyin omurilik sıvılarında (BOS) kontrol grubuna göre dopamin ilişkili majör proteinlerde fark olmadığını gösteren çalışmalar da mevcuttur (Stiasny-Kolster et al. 2004). BOS'ta 3-ortometil dopamin (3-OMD) analizinde önemli artışlar saptanmıştır, bu artışlar dopamin metaboliti homovanilik asit (HVA) ile koreledir. Bulgular dopamin metabolizmasının genel olarak arttığını ya da dopamini 3-OMD'ye metabolize eden monoamin oksidaz-B (MAO-B) aktivitesinin arttığını akla getirebilse de en iyi ağıklaması tirozin hidroksilaz aktivitesindeki artışın dopamin üretiminde artışa neden olduğudur (Allen et al. 2009). Beyin görüntűlemesinde çelişkili sonuğlar mevcuttur. Pozisyon emisyon tomografi (PET) ve tek foton emisyonlu bilgisayarlı tomografi (Single Photon Emission Computed Tomography, SPECT) ile yapılan ilk çalışmalarda striatal (striatum: putamen ve kaudat nűkleus) D2 reseptörlerinde belirgin azalma saptanmıştır, bunun sinaptik dopamin artışına cevapla bağıntılı olduğu dűřünülműřtür (Turjanski et al. 1999, Michaud et al. 2002). Daha çok hafif etkilenmiş hastaları iğereren başka bir çalışmada ise tam tersi bir sonuğ elde edilmiş; striatumda ve ekstrastriatal bűlgelerden talamus ve anterior singulat kortekste D2 reseptör bağlanması artmış olduğu rapor edilmiştir. HBS'de artmış D2 reseptör kullanılabilirliğinin yüksek reseptör yoğunluğuna veya azalmış endojen dopamin dűzeylerine bağlı olabileceği öne

sürülmüştür. Her iki açıklama da HBS’de hipoaktif dopaminerjik sinir iletimi hipotezini desteklemektedir (Červenka et al. 2006). Floro-L-dopa (fDOPA) çalışmaları, tersine, striatal dopamin alımının azalmış olduğunu göstermektedir. HBS’de bilinen hücre kaybı yoktur, azalmış fDOPA alımı artmış dopamin üretimi ile tutarlı olarak hızlanmış bir dopamin döngüsünü işaret edebilir (Allen 2015). Önemli görüntüleme bulgularından biri nigrostriatal dopaminerjik sistemin düzenlenmesinde büyük rolü olan dopamin taşıyıcısı (DAT) ile ilgilidir. Demir eksikliği olan sıçanlarda, daha çok membran bağımlı-DAT azalmıştır (Erikson et al. 2000). HBS hastalarında yapılan SPECT çalışmasında kontrol grubuna göre total DAT miktarında anlamlı değişiklik gözlenmemiştir (Michaud et al. 2002), fakat membran bağlı DAT miktarında azalma bulunan çalışmalar mevcuttur (Earley et al. 2011). Kısaca; görüntüleme yöntemlerini içeren çalışmalarda dopamin prekürsörleri için normal ya da azalmış düzeyler, dopamin taşıyıcıları için normal ya da azalmış düzeyler, dopamin reseptörleri için azalmış, değişmemiş ya da artmış aktivite ile ilgili bulgular rapor edilmiştir (Ondo 2014). Bu çelişkili sonuçlar, görüntüleme çalışmalarının HBS semptomlarının daha az olduğu gündüz saatlerinde yapılmış olmasından kaynaklanıyor olabilir.

Demir ve dopamin sistemleri arasında birkaç olası etkileşme mevcuttur. Birincisi, demir; dopamin üretiminde hız kısıtlayıcı basamakta rol oynayan tirozin hidroksilaz enziminin kofaktörüdür. Fakat HBS hastalarında tirozin hidroksilaz aktivitesi artmıştır, bu yüzden bu olası görünmemektedir. İkincisi; demir, dopamin D2 reseptörünün bir parçasıdır (Ondo 2014). Demir eksikliği bulunan sıçanlarda striatumda, postsinaptik D2 reseptörlerinde %40-60 düşüş saptanmıştır (Ben-Shachar et al. 1985). Fakat bu şartlarda reseptör eksikliği ortamında, dopamin agonistlerine verilen dramatik yanıtı açıklamak zor görünmektedir. Üçüncüsü; demir Thy-1 protein düzenlenmesi için gereklidir. Bu hücre adezyon molekülü dopaminerjik nöronlardan salınır ve dopamini de içeren monoaminlerin veziküler salınımını düzenler. Demir eksikliği bulunan sıçanlarda ve HBS hastalarının SN’lerinde Thy-1 proteini düzeyleri azalmıştır. Bu da demir eksikliğinin dopaminerjik iletimi etkilediğine işaret etmektedir (Wang et al. 2004).

2.1.6.4. İmmun-inflamatuar mekanizmalar: HBS ile ilişkili durumların araştırıldığı bir derlemede olguların %89'u inflamatuvar ve/veya immün değişiklikler, %43'ü sistemik demir eksikliği, %40'ı periferel nöropati ve %32'si ince barsak bakteriyel aşırı çoğalma (Small intestinal bacterial overgrowth, SIBO) ile ilişkili bulunmuştur. SIBO sendromu distal ileumda 10^5 fonksiyonel koloni ünitesinden daha çok bakteri bulunmasını tanımlar ve sıklıkla vitamin malabsorpsiyonu, malnutrisyon ve/veya kilo kaybına yol açar. Primer ve sekonder HBS'de inflamasyon sistemik demir yetersizliğine yol açarak santral demir eksikliğini ve müteakiben HBS semptomlarını tetikleyebilir. Bu fenomen hepsidin ile açıklanabilir. İnflamasyon sırasında üretimi artan IL-6 ve bakteri yıkımı ile ortaya çıkan lipopolisakkaridler (LPS), hepsidin üretimini artırarak serum demir düzeylerinde düşüşe neden olabilir. IL-6 ve LPS düzeyleri SIBO'da artarken, IL-6 düzeyleri birçok inflamatuvar hastalıkta artar. Serum demir düzeyinin düşmesi ile beyin dahil tüm organların demir kullanılabilirliği azalır.

Bakteri veya virüslerin moleküler benzerlik yoluyla otoimmün hastalıklara yol açtığı bilinmektedir. Post-enfeksiyöz HBS'ye yol açan 6 etken rapor edilmiştir, streptokok, mycoplasma, borrelia (Lyme hastalığı), sitomegalovirüs, HIV ve HCV. Bu durumda antijenik benzerlik sonucu santral sinir sistemi, spinal kord veya periferel sinir sisteminde otoimmün sinir hasarı oluşmuş ve HBS ile sonuçlanmış olabilir.

Otoimmün hastalıklardan romatoid artrit, sistemik lupus eritematozis, multipl skleroz, skleroderma ve çölyak hastalığında da artmış HBS prevalansı saptanmıştır.

HBS ilişkili durumlardan; Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, multipl skleroz, migren ve amiyotrofik lateral sklerozda sistemik (periferel) ve santral beyin demir eksikliği bulunmamış, hatta beyin demir seviyelerinde artış saptanmıştır. Tüm bu veriler immün ve inflamatuvar mekanizmaların da HBS patofizyolojisinde rolü olabileceğini düşündürmektedir (Weinstock et al. 2012)

2.1.6.5. HBS'deki diğer patofizyolojik bulgular: HBS'deki diğer olası biyolojik anormallikler hakkında sınırlı bilimsel veri mevcuttur. Kortikal uyarılabilirlik bunun istisnasını oluşturmaktadır. El kaslarını kontrol eden motor korteksin transkraniyal manyetik uyarımı (TMS), yanıt için azalmış eşik ve azalmış çift uyarı inhibisyonnu göstermiştir. TMS bulguları sensorimotor yolak anormalliğine işaret etmektedir

(Scalise et al. 2004). Artmış kortikal uyarılabilirlik dopamin tedavisi ile kısmen azalmaktadır (Scalise et al. 2010). Bu bulguların önemi belirsizdir, artmış kortikal uyarılabilirlik ile HBS klinik özellikleri arasında net bir bağlantı kurulamamıştır. HBS'nin spinal teorisi inen dopaminerjik A11 sistem nöronlarını içermektedir, fakat bu sistemde anormalliği destekleyen sınırlı veri mevcuttur. Patolojik incelemede bu nöronlarda kayıp olmadığı bildirilmiştir (Earley et al. 2009). Endojen opioid sistemlerin patofizyolojideki rolünü araştırmak üzere yapılan bir otopsi çalışmasında HBS'li hastaların beyinlerinde talamusta beta-endorfin ve met-enkefalin düzeyleri düşük bulunmuştur (Walters et al. 2009). Gri cevher miktarını ölçen çalışmalarda çelişkili sonuçlar mevcuttur. HBS hastalarında ve kontrol grubunda gri madde yoğunluğunda değişiklik olmadığını bildiren bir çalışma olduğu gibi (Comley et al. 2012), HBS hastalarında sol hipokampal girus, her iki parietal lob, medial frontal bölge ve serebellumda bölgesel gri cevher azaldığını belirten yakın tarihli, daha fazla katılımcıyla gerçekleştirilen bir çalışma da mevcuttur (Chang et al. 2015). Genel olarak HBS nörodejeneratif bir bozukluk gibi görünmemektedir, bununla birlikte, daha önce de belirtildiği gibi, demir eksikliğinin beklenen sonuçlarıyla uyumlu olarak bölgesel beyaz cevher miktarında düşmeye işaret eden çalışmalar mevcuttur (Connor et al. 2011b).

2.1.7. Ayırıcı Tanı: HBS semptomlarını taklit eden, hatta; HBS'ye eşlik edebilmesi nedeniyle IRLSSG (2012) tanı kriterlerinin ilk dört maddesini de hemen hemen karşılayabilen klinik durumlar mevcut olduğundan özellikle önemlidir (<http://irlssg.org/diagnostic-criteria>, Erişim tarihi: 29 Ağustos 2016). HBS ayırıcı tanısı tablo 3'te verilmiştir (Allen and IRLSSG 2014). Bacak krampları HBS'de olduğu gibi gece kötüleşmektedir fakat herhangi bir hareketle değil tutulan kasın gerilmesi ile rahatlar (Merlino et al. 2007). Pozisyonel rahatsızlık hissi kan dolaşımını bozan veya sinirleri sıkıştıran bası sonucu gelişip, vücut pozisyonunun değiştirilmesi ile iyileşme gösterir. Ağrılı bacaklar ve hareketli başparmak sendromunda ise ayaklarda ciddi ağrı ve yanma ve ayak başparmaklarında tekrarlayıcı hareketler mevcuttur. Geceleri kötüleşmemesi ve hareketle düzelmemesi ile HBS'den ayrılabilir (Ferini-Strambi 2007). Akatizi hareket ettirme isteği ile aşırı huzursuzluk yapan bir durumdur fakat HBS'nin aksine daha yaygındır ve diurnal değişiklik göstermez. Sık rastlanan bacak stereotipi bozukluğunda ise kişi ayak parmaklarını yere basarak

otururken veya bacak bacak bacak üstüne atmışken stereotipik, 1-2 Hz ritminde, kalçaların fleksiyon-ekstensiyon ve abduksiyon-adduksiyon hareketi ve ayak bileklerinin fleksiyon-ekstensiyon hareketleri ile kendini gösterir (Patel et al. 2014).

Tablo 3- Allen and IRLSSG 2014'ten yararlanılmıştır

HBS ayırıcı tanısı	
Sık rastlanan durumlar	Bacak krampları ^a Pozisyonel rahatsızlık ^a Bölgesel bacak hasarı Artrit Bacak ödemi Venöz staz Periferel nöropati ^a Radikülopati ^a Davranışsal bacak sallama Anksiyete Miyalji İlaç kaynaklı akatizi Bacak stereotipi bozukluğu
Nadir rastlanan durumlar	Miyelopati Miyopati Vasküler ya da nörojenik klaudikasyo Hipotansif akatizi Ortostatik tremor Ağrılı bacaklar ve hareketli başparmak sendromu

1-4. Tanı kriterlerini karşılama ihtimali yüksek durumlar. Bu durumlardan herhangi biri HBS ile birlikte bulunabilir.

2.1.8 Tedavi: HBS hayat kalitesini ciddi anlamda bozabildiğinden tedavi edilmesi oldukça önemli hale gelmektedir. Tedaviye başlamadan önce hastalığın primer mi yoksa sekonder mi olduğu araştırılmalı, sekonder nedenlere yönelik tedavi uygulanmalıdır.

2.1.8.1.Farmakolojik olmayan tedavi: Farmakolojik olmayan tedaviyi içeren sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Genel olarak hastanın demir durumunun belirlenmesi,

demir depoları düşük saptanırsa oral ya da intravenöz demir replasmanı yapılması, video oyunları veya bulmaca gibi zihinsel uyanıklık aktiviteleri, kafeinden uzak durulmasının denenmesi, antidepresanlar, nöroleptikler, dopamin antagonisti antiemetikler (metoklopropamid gibi) ya da sedatizan antihistaminikler gibi HBS semptomlarını tetikleyebileceği düşünülen ilaçların mümkünse kesilmesini içerir. (Silber et al. 2013). Haftada 3 kez, 30 dk koşu bandı ile yapılan aerobik egzersizin HBS semptomlarını azalttığını gösteren randomize kontrollü bir çalışma mevcuttur (Aukerman et al. 2006). Birçok HBS hastasının uyku bozukluğu da mevcut olduğundan uyku hijyeni önerilerinin (gündüz uyumaktan kaçınılması, düzenli uyku zamanı oluşturulması gibi) uygulanması da önerilmektedir (Wijemanne and Jankovic 2015). Diğer çalışmalar daha küçük ölçekli çalışmalar olup, havalı basınç aletlerinin HBS semptomlarında düzelmeye yol açtığının gösterildiği randomize kontrollü bir çalışma bunlardan biridir. Bu çalışmada hastaların üçte birinin semptomlarında tam düzelme gözlenmiştir (Lettieri and Eliasson 2009).

2.1.8.2. Farmakolojik tedavi: HBS’de öncelikle varsa sekonder nedenlerin tedavisi, daha sonra farmakolojik olmayan tedavi denenmelidir. Bunların yetersiz kalması durumunda farmakolojik ajanlara başvurulmalıdır. Tedavide kullanılan farmakolojik ajanlar tablo-4’te özetlenmiştir.

Tablo-4- Ondo 2014'ten yararlanılmıştır

HBS farmakolojik tedavisinde kullanılan ajanlar			
		doz(mg)	etki süresi (saat)
Dopaminerjik ajanlar:	Hızlı etki, birinci basamak tedavide düşünülmeli		
	Non-ergo dopamin agonistleri :		
	Pramipeksol	0,125-1	2-6
	Ropinirol	0,25-4	4-8
	Rotigotin(bant)	1-3	24
	Apomorfın	1-3	1
	Ergo türevi dopamin agonistleri:		
	Pergolid	0,125-1	6-14
	Kabergolin	0,25-2	24<
	Bromokriptin	5-20	4-6
	L-dopa:	100-250	2-6
Opioidler:	Birçok opioid kullanılmaktadır		
	Metadon	2-15	8-12
	Hidroksikodon	5-10	4-10
	Oksikodon	10-40	4-10
Alfa-2-delta ligandları:	Gabapentin	300-1200	4-8
	Pregabalin	50-300	6-12
	Gabapentin enakarbil	600-1200	8-16
Benzodiazepinler:	HBS'den çok uyku üzerine faydalıdırlar, kombinasyon tedavisinde kullanılabilirler Geleneksel olarak 0,5-2 mg klonozepam kullanılır		
Demir preparatları :	Oral demir 50 mg üzerinde kullanılır , intravenöz demir 1000 mg dozunda uygulanır. IV demir normal serum ferritini olan hastalarda da uygulanır ve 3 aydan önce tekrarlanmaz.		

Dopaminerjik tedavi: Dopamin agonistleri (DA), en çok araştırılan ve HBS için etkili bulunan ilk basamak tedavi seçenekleridir. DA'ya verilen yanıt hızlı ve sıklıkla dramatiktir. Birçok plasebo kontrolü çalışma uluslararası HBS şiddet ölçeğinde 3-6 puana varan iyileşmeler göstermiştir. Dopamin agonistlerini kendi aralarında karşılaştıran bir çalışma bulunmamaktadır. Ropinirol, pramipeksol ve transdermal rotigotin ile ilgili çalışmalar çoğunluktadır, Avrupa ve Amerika'da onaylıdırlar. Bromokriptin, apomorfın, kabergolin ve lizurid de etkili bulunmuştur fakat daha az kullanılmaktadırlar (Ondo 2014). DA ile yapılan uzun dönem çalışmalarda etki kaybı ve semptom artışı yaratma tedavi başarısını kısıtlayan nedenler olarak görülmüştür

(Wiejemanne and Jankovic 2015). DA alan hastaların %6-17'sinde patolojik kumar, hiperseksüalite, kompulsif alışveriş gibi dürtü kontrol bozuklukları görülür. Genellikle doz azaltımı veya tedavinin kesilmesi ile bu semptomlarda düzelme gözlenir (Cornelius et al. 2010). Ropinirol için başlangıç dozu 0,25 mg'dır ve yatmadan 1-3 saat önce alınması önerilir. İki gün içinde doz 0,5 mg'a kadar çıkarılıp, bir hafta sonunda 1 mg'a kadar yükseltilebilir. Ropinirol için ortalama etkin günlük doz 2 mg, önerilen maksimum doz ise 4 mg'dır (Trenkwalder et al. 2008). Semptom artışı riski nedeniyle etkin en düşük doz kullanılmalıdır. Sık rastlanan yan etkileri bulantı (%25-50), baş ağrısı (%7-22), yorgunluk (%1-19), sersemlik hissi (%6-18) ve kusmadır (%5-11). Pramipeksol başlangıç dozu günde bir kez yatmadan 2-3 saat önce 0,125 mg olup, günlük etkin doz 0,25-1 mg aralığındadır. Sık rastlanan yan etkiler uyukuluk (%5-56), bulantı (%12-25) ve insomniadır (%7-16). Pribedilin uzun dönem HBS tedavisinde etkinliğinden bahsetmek için bilimsel veri yetersizdir (Garcia-Borreguero et al. 2013). Rotigotin, dopaminin D₃>D₂>D₁ reseptörlerine afinite gösteren bir non-ergo DA olup, aynı zamanda 5HT_{1A} agonistik ve α ₂-adrenergik antagonist özellikleri de bulunmaktadır. Günde bir kez uygulanan yavaş salımlı transdermal formda üretilmektedir (Jenner 2005). Rotigotin dozunun günlük 1 mg ile başlayıp, hastanın kliniğine göre haftalık 1 mg artırılarak, günde 3 mg'ı geçmeyecek şekilde düzenlenmesi önerilmektedir (Wiejemanne and Jankovic 2015). Sık rastlanan yan etkileri uygulama yerinde cilt reaksiyonu (%22-58), bulantı (%7-19), baş ağrısı (%4,1-10,8) ve yorgunluktur (%0,5-11). Kabergolin ve pergolid kardiyak valvular fibrozis ve diğer fibrotik yan etkileri nedeniyle artık HBS tedavisinde kullanılmamaktadır, ancak diğer tüm tedavilere dirençli, sağladığı yarar risklere ağır basan hastalarda kullanılabilirler ve bu tedavileri alan hastalar yıllık ekokardiyografi ile değerlendirilmelidir (Trenkwalder et al. 2004, Garcia-Borreguero et al. 2013). Onaylı üç DA da endojen dopamine oranla göreceli olarak daha yüksek D₃/D₂ bağlanma oranına sahip olup, bu oranda birbirleri arasında değişiklik gösteriyor olabilirler. Tedavide bir DA ajanının başarısız olması diğerine geçişe engel teşkil etmemelidir (Ondo 2014).

Levodopa, dopa dekarboksilaz inhibitörleriyle (karbidopa, benserazid) kombine kullanılan primer ve sekonder HBS'de semptomların hızla düzelmesini sağlayan bir tedavi seçeneği olup (Trenkwalder et al. 2003) HBS'de ilk kullanılan dopaminerjik

ajandır (Akpınar 1982). Birçok çalışmada hastaların tedaviyi yarıda kesme nedeni etki kaybı, yan etkiler ve semptom artışıdır. En çok bildirilen yan etki de bulantıdır (Garcia-Borreguero et al. 2013). Semptom artışı, semptomların daha erken saatlerde başlaması, daha yoğun olarak hissedilmesi, anatomik tutulum bölgelerinde artma ya da hareketle daha az rahatlama olarak tanımlanmaktadır (Wiejemanne and Jankovic 2015). Semptom artışına ek olarak etki kaybı veya ilaç tedavisine tolerans ve rebound etki olmak üzere iki klinik durum daha mevcuttur. Etki kaybı veya tolerans uzun dönem tedavide kullanılan bütün ilaçlara karşı gelişebilir, doz artırılmasını gerektirir (Garcia-Borreguero et al. 2013). Rebound ise daha çok levodopa veya DA ile tedavinin kısa süreli olması ile ilişkili olarak, semptomların sabah erken saatte ortaya çıkmasıdır (Guilleminault et al. 1993).

HBS’de dopaminerjik tedavi ile semptom artışı: HBS’de beyin dopamin düzeyi artmışsa, levodopa semptomları nasıl azaltmaktadır? Bu çelişkiyi çözmek hem dopaminerjik aktivitenin hem de HBS semptomlarının sirkadiyen paternini anlamayı gerektirir. Artmış dopaminerjik uyarı postsinaptik reseptör sayısında azalmaya yol açacaktır. Dopaminerjik aktivite akşam ve gece azalan, sabah artan net bir sirkadiyen ritme sahiptir. HBS postsinaptik düzenlemesi, gündüz artmış dopaminerjik uyarıya yetecektir fakat akşam ve gece dopamin azaldığında bunu arttırmak için aşırı çalışma eğilimindedir. Bu da toplam dopamin miktarı artmasına rağmen akşam ve gece göreceli dopamin eksikliğine yol açmaktadır. HBS semptomları akşam ve gece daha belirgin hale gelir, tersine, sabahları aşırı uyarılmışlık kısa ve bölünmüş HBS uykusuna beklenen gündüz uykululuk halini önlemektedir, bu da HBS tanısını destekleyici kriterlerden birini oluşturmaktadır.

Akşam ve gece dopaminin küçük bir dozu, akşam dopamindeki göreceli azalmayı iyileştirmek için faydalıdır, fakat bu biraz da yangına körükle gitmek gibidir. Artmış dopaminerjik uyarı ile tedavi, hastalıkta zaten mevcut olan down-regülasyonun artmasına yol açar, bu da HBS semptomlarının artmasına yol açabilir. Etkili tedavi için zamanla daha fazla dopamin ihtiyacı oluşmaktadır. Başlangıçta bu, ilaç tedavisine gelişen tolerans gibi gözükse de, bu durumda tolerans temelde altta yatan patolojinin kötüleşmesi ile ilgilidir. Yani zamanla, sistemin daha da fazla dopamin üretecek şekilde düzenlenmesi, HBS semptomlarında kademeli kötüleşmeyi beraberinde

getirecektir. Dopaminerjik ajanlar uykunun sürdürülmesine yardımcı olsa da, hastalar artmış gündüz semptomları ve tedaviye bağlı önemli geri çekilme semptomlarıyla baş başa kalacaklardır. Bu nedenle HBS’de dopamin tedavisi düşük dozlarda dikkatlice uygulanmalıdır. Kısa etkili tedaviler yeterli süre etki gösterebilmek için daha yüksek tepe noktasına ihtiyaç duyarlar ve semptomlarda kötüleşmeyi artırma eğilimindedir. Uzun etkili tedaviler, özellikle sürekli salımlı transdermal rotigotin HBS semptomlarının kötüleşme riskini ve şiddetini azaltmaktadırlar. Sonuç olarak HBS’de dopaminerjik ajanlarla tedavi, hayat boyu etkin tedavi için yeterli olmayıp, diğer ajanların eklenmesine ihtiyaç vardır (Allen 2015).

Alfa-2-delta ($\alpha 2\delta$) ligandları: HBS tedavisinde kullanılan üç $\alpha 2\delta$ ligandı mevcuttur; gabapentin, gabapentin enakarbil ve pregabalin (Wiejemanne and Jankovic 2015). Gabapentin, gama aminobütirik asit (GABA) analogudur fakat GABA ile yapısal benzerliğine rağmen GABA reseptörleriyle doğrudan etkileşmez; voltaj kapılı aktive kalsiyum kanallarının $\alpha 2\delta$ alt ünitesine yüksek afinite ile bağlanır (Dooley et al. 2007). Gabapentin, DA’nın tersine semptom artışına veya dürtü kontrol bozukluğuna yol açmaması nedeniyle ayrıcalıklıdır. Gabapentin özellikle ağrılı semptomlarda, ağrılı periferik nöropati veya ilişkisiz kronik ağrı sendromları olan hastalarda tercih edilebilir (Oertel et al. 2007). Gabapentin uyku saatinden veya semptom başlangıç saatinden üç saat önce 300 mg dozunda verilip dozlar semptomların düzelmesine göre haftalık kademeli olarak 900-2000 mg’a kadar yükseltilebilir. Yaşlı hastalarda daha düşük dozda başlangıç düşünülmeli, böbrek yetersizliğinde kreatinin klerensine göre doz ayarlanmalıdır). Gabapentin enakarbil, gabapentinin ön ilacıdır ve farmakolojik özellikleri günde bir kez kullanma uygundur (Wiejemanne and Jankovic 2015). Çalışmalarda uzun dönem HBS tedavisinde semptomların düzelmesinde etkinliği kanıtlanmıştır ve önerilen doz günde 600-1800 mg’dır. Sık rastlanan yan etkileri şuur bulanıklığı (%19,7-41), sersemlik hissi (%11-46), ve başağrısıdır (%7,2- 12,6) (Garcia- Borreguero et al. 2013). Gabapentin analogu pregabalini, pramipeksol ve plasebo ile karşılaştıran 52 haftalık randomize çift kör çalışmada hastalara günlük 300 mg pregabalin, 0,25 ya da 0,5 mg pramipeksol, ya da 12 haftalık plasebo ardından 40 hafta bu iki tedaviden biri verilmiştir. Pramipeksolda %6,6-9, pregabalinde %1,7 oranında semptom artışı saptanmıştır. Ayrıca pregabalin, 0,25 mg dozundaki pramipeksoldan daha etkili bulunmuştur. Pregabalin erken dönem tedavide

pramipeksola oranla artmış intihar düşüncesi, sersemlik hissi, şuur bulanıklığı ve kilo artışı ile ilişkili olsa da semptom artışı açısından daha düşük risk taşıdığından ilk basamak HBS tedavisinde avantajlıdır (Allen et al. 2014).

Opioidler: HBS'li hastaların beyinlerinde talamus ve SN'de beta endorfin, met-enkefalin, leu-enkefalin düzeylerinin motor yollardan çok duysal yollarda azaldığını gösteren çalışma, opioidlerin duyu düzenlenmesine katkıda bulunduğunu düşündürmektedir (Walters et al. 2009). Aralıklı HBS'de 30-60 mg kodein gibi düşük potanslı opioid veya opioid agonistlerinden 50-100 mg tramadol yatmadan önce kullanılabilir. Tramadol semptom artışı fenomeni ile ilgili bulunmuş tek non-dopaminerjik ajandır. Düşük potanslı opioidler aralıklı HBS tedavisi için faydalı iken hidrokodon, oksikodon ya da metadon gibi yüksek potanslı opioidler dirençli HBS'de tercih edilmektedir. Opioid bağımlılığının yanısıra gündüz uyku hali, konstipasyon ve bulantı gibi yan etkiler gözlenmektedir (Venkateshiah and Ioachimescu 2015). Opioidler diğer ajanlara yanıt vermeyen HBS hastalarında bir seçenek olabilir. İlk basamak tedavide tipik olarak kullanılmaları da $\alpha 2\delta$ ligandları ve DA ile kombine edilerek, hatta monoterapide kullanılabilirler (Wiejemanne and Jankovic 2015).

Diğer farmakolojik ajanlar: HBS tedavisinde tetrabenazin, klonazepam ve levitirasetaminin faydasını gösteren sınırlı sayıda çalışma mevcut olup, uzun dönem HBS tedavisinde kullanılmaları için bilimsel veri şu an için yetersizdir (Garcia-Borreguero et al. 2013). Zolpidem, zaleplon, temazepam eszopiklon da HBS tedavisinde kullanılan benzodiazepin ve benzodiazepin reseptör agonistleridir. HBS'nin sensorimotor semptomlarından çok uyku ile ilgili semptomlarında faydalı bulunmuştur. Bu ilaç grubunda da uzun dönem kullanım için bilimsel veri yetersizdir. Sersemlik, gündüz kognitif etkilenme bildirilen yan etkilerindedir (Venkateshiah and Ioachimescu 2015).

WED vakfı tıbbi danışma kurulu (Willis-Ekbom Disease Foundation Medical Advisory Board) tarafından 2004 yılında yayınlanıp 2013 yılında revize edilen tedavi algoritmasında hastalık aralıklı, kronik-persistan ve dirençli olarak üç alt klinik forma ayrılmıştır.

Aralıklı HBS/WED: Tedavi almayı gerektirecek kadar sıkıntılı fakat ortalama haftada iki kezden az HBS semptomları ortaya çıkan HBS'yi tanımlamak için kullanılmıştır. Tedavide non-farmakolojik yaklaşım, tedaviye ihtiyaç duyulduğunda aralıklı olarak levodopa, kodein (30-60 mg) gibi düşük potanslı opioidler ya da tramadol (50-100 mg) gibi opioid agonistleri, benzodiazepin ya da benzodiazepin agonistleri önerilmektedir.

Kronik-persistan HBS: Günlük tedavi almayı gerektirecek kadar sık ve can sıkıcı, ortalama haftada en az 2 kez orta veya şiddetli ızdıraba yol açan HBS olarak tanımlanmıştır. Tedavide non-farmakolojik tedaviye ek olarak, hastanın klinik durumuna göre non-ergo dopamin agonistleri veya $\alpha 2\delta$ ligandlarından biri başlanmalıdır. Şiddetli HBS, eşlik eden depresyon, distimi durumlarında, obezite/metabolik sendrom varlığında dopamin agonistleri, eşlik eden ağrı, anksiyete, uykusuzluk, dürtü kontrol bozukluğu veya bağımlılık öyküsü olanlarda $\alpha 2\delta$ ligandları ön planda önerilmektedir.

Dirençli HBS: Etki kaybı, semptom artışı veya yan etkilere bağlı olarak, ilk basamak ilaçlarla monoterapiye yanıtız HBS'yi tanımlamak için kullanılır. Bu durumda öncelikle demir depoları kontrol edilmelidir. Serum ferritini 50-75 $\mu\text{g/L}$ 'nin altında ise oral demir preparatları tedaviye eklenebilir. Malabsorbsiyona bağlı serum ferritinde artış sağlanamazsa veya oral demir alımı tolere edilemezse intravenöz demir verilmesi düşünülmelidir. Antihistaminik kullanımı veya HBS'yi kötüleştiren diğer ilaçların kullanımı, yaşam tarzı değişiklikleri (sürekli oturarak çalışma, vardiya usulü çalışma) veya uyku bozukluğuna yol açan diğer nedenler (uyku apnesi, kronik yetersiz uyku) gibi muhtemel şiddetlendirici faktörler sorgulanmalı ve düzeltilmelidir. Farklı grup ilaçlarla kombinasyon tedavisi düşünülmelidir. İkinci bir ilaç eklenip, başlangıç tedavisinin dozu düşürülmeye çalışılmalıdır. İkinci ajanlar $\alpha 2\delta$ ligandı, DA, benzodiazepin veya opioidler arasından seçilebilir. Genellikle ikinci ilaç başlandığında ilk basamak tedavide kullanılan ilacın dozunu zamanla azaltmak mümkün olabilir. Tüm bu tedavi yaklaşımları işe yaramazsa dirençli HBS'de tedaviye oksikodon, hidrokisodon veya metadon gibi yüksek potanslı opioidlerin monoterapi veya ekleme tedavisi olarak başlanması düşünülmelidir. Bu ilaçlarda günlük etkili doz günde bir kez veya semptomların zamanına bağlı olarak bölünmüş dozlarda verilmek üzere 5-20 mg arasındadır. Günlük verilen doz hiçbir zaman kronik ağrı yönetiminde

kullanılan yüksek dozlara ulaşmamalıdır (Silber et al. Medical Advisory Board of the WED Foundation 2013).

2.2. DEMİR METABOLİZMASINA GENEL BAKIŞ

Demir ökaryotik konakçı ve prokaryotik patojenlerin birçok yaşamsal fonksiyonu için hayati öneme sahip olan esansiyel bir moleküldür. Elektron alıp verebilme yeteneğinden dolayı metabolik süreçlerde gerekli proteinler için çok değerli bir kofaktördür (Schmidt 2015). İnsan vücudunda demir ferröz (Fe^{2+}) ve ferrik (Fe^{3+}) formda bulunur. Demirin elektron değişimi, redoks aktivitesi için gereklidir. Fizyolojik oksijen konsantrasyonlarında demirin en stabil formu ferrik (Fe^{3+}) formdur. Ferröz demirin (Fe^{2+}) O_2 ile indirgenmesi süperoksit radikallerinin oluşmasıyla sonuçlanır (Silva and Faustino 2015). Demir fazlalığında, oluşan serbest oksijen radikalleri hücre yüzeyine zarar verip doku hasarına ve nihayetinde organ yetmezliğine neden olabilir. Bu nedenle oksidatif stres veya enfeksiyon sırasında mikrobiyal proliferasyonu önlemek için, organizmanın demir alımı ve dağıtımını sıkı şekilde kontrol etmesi gerekir. Tüm demir homeostazının demirin emilim seviyesinde olduğunu düşünülmektedir, çünkü demir atılımını sağlayan fizyolojik bir mekanizma yoktur (Schmidt 2015).

2.2.1. Demir emilimi: Diyetle alınan hem ve non-hem formundaki demirin emilimi duodenum ve proksimal jejunumdaki enterosit villusları tarafından farklı mekanizmalarla gerçekleştirilir (Gudjoncik et al. 2014). Hem yapısındaki demir, diyetle alınan demirin küçük bir kısmını oluşturmaktadır fakat biyoyararlanımı non-hem demire oranla çok daha yüksektir (Hallberg et al 1979). Hem formundaki demir; hemoproteinler olan hemoglobin ve miyoglobinin bir bileşenidir ve ette bol miktarda bulunur. Midedeki düşük pH'ta etkin olan proteolitik enzimler hemoproteinlerden "hem" salınımından sorumludurlar. "Hem" alımı için sorumlu olan mekanizma tam olarak anlaşılammıştır, ancak reseptör aracılı endositoz ile meydana geldiği bilinmektedir (Şekil 1). Hem taşıyıcı protein 1 (Heme Carrier Protein 1; HCP1), proton eşleşmiş folat taşıyıcı (Proton-Coupled Folate Transporter; PCFT) ile birlikte bu sürece katılan en önemli reseptör olarak belirlenmiştir (Silva and Faustino 2015). Bununla birlikte "hem"e düşük afinite gösterir ve daha çok folat emiliminde rol alır (Laftah et al. 2009). Hem enterositten plazmaya çıkarken non-hem demirle aynı yolu

kullanır. Diyetle alınan ferritin, enterositler tarafından, adaptör ilişkili protein kompleksi-2 (AP-2) bağımlı endositoz mekanizmasıyla da emilmektedir. Hem formundaki demir enterosit içine girer gimez hem oksijenaz-1 (HO1) ile yıkılır ve serbest ferrik demir açığa çıkar (San Martin et al. 2008). Besinlerle alınan demirin büyük kısmını oluşturan, fakat biyoyararlanımı düşük olan non-hem demir organizmada daha çok okside formda (Fe^{3+}) bulunur. Fe^{3+} , enterosit fırçamsı kenarlarında, midenin düşük pH'lı ortamında, askorbik asit bağımlı duodenal sitokrom b (DcytB) yardımıyla Fe^{2+} 'ye indirgenir ve DMT-1 ile enterositlere alınır (Şekil 1) (McKie et al. 2001). DMT-1 demir kobalt, çinko, kadmiyum gibi iyonların emiliminden sorumlu bir transmembran proteindir. İnce barsak lümeni ve enterosit sitoplazması arasındaki proton gradientinin yardımıyla H^+ ile eşleşmiş Fe^{2+} 'yi enterosit sitoplazmasına taşır (Gunshin et al. 1997). Sitoplazmadaki demir enterosit bazolateral membranına taşınır ya da ferritinde depolanır. Ferritinle düzenlenen mukozal engel, demirin etkili emiliminde kritik önem taşır (Silva and Faustino 2015). Farelerde demir duyarlı elementler/demir düzenleyici proteinler (Iron Responsive Elements-IRE/Iron Regulatory Proteins-IRP) sistemi yokluğu ile ferritin düzeyleri arttığında, organizmanın demir durumundan bağımsız olarak, demirin dolaşıma katılmaktansa, enterositte depolandığı gösterilmiştir (Galy et al. 2013). Demirin enterositten plazmaya verilmesi, memelilerde bilinen tek hücrel demir çıkışı sağlayan, enterosit bazolateral membranından eksprese edilen ferroportin-1 (FPN-1) ile gerçekleştirilir. FPN-1, hefastin veya seruloplazmin gibi birçok bakır atomu içeren proteinlerin ferooksidaz aktivitesi yardımıyla demirin dolaşıma $Fe-Tf$ kompleksleri şeklinde verilmesini kolaylaştırmakla görevlidir. $Fe-Tf$ kompleksleri hücre yüzey transferrin reseptörlerine (TfR) endositoz için bağlanırlar, Tf- Fe^{3+} kompleksi STEAP-3 (six membrane epitelial antigene of the prostate-3) ferriredüktaz ile indirgenir. Bu; demirin “hem” sentezi ve demir-sülfür kümeleri yapımı için mitokondriye taşınmasında gerekli olan basamaktır (Gozzelino and Arosio 2016).

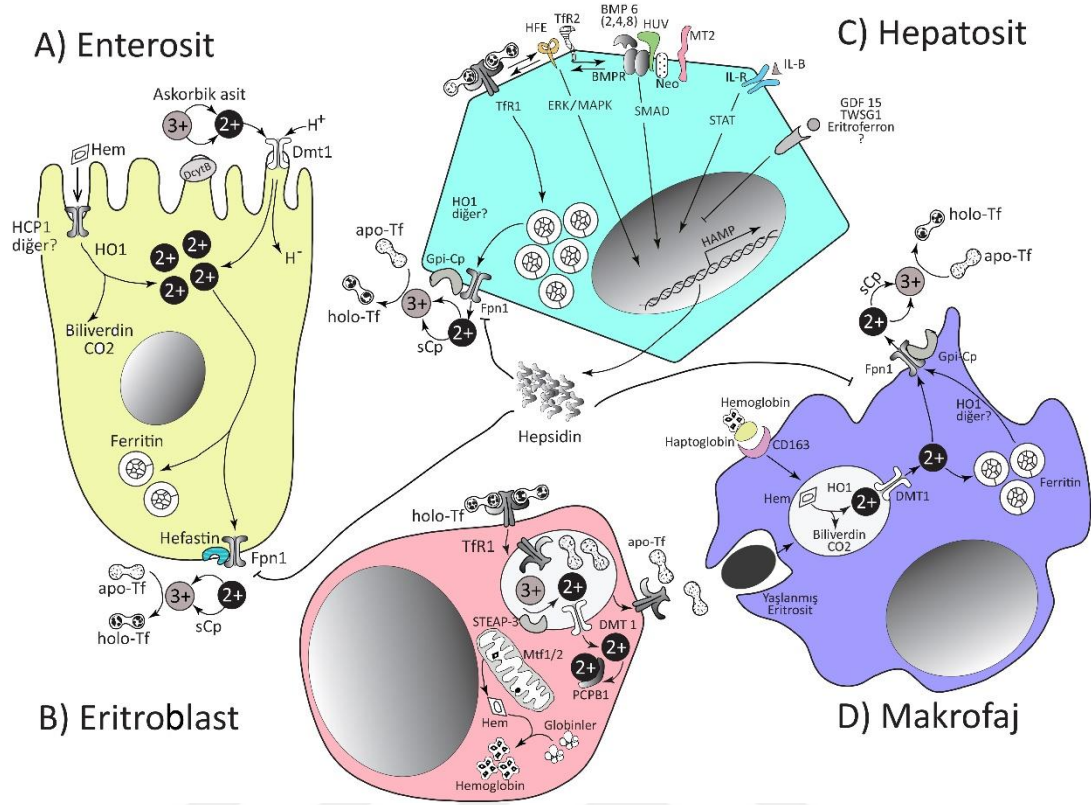
2.2.2. Demir taşınması ve hücrel alımı: Demir plazmada transferrin (Tf) tarafından taşınır. Transferrine bağlı demirin stabilitesi demirin oksidasyon durumu, protein konformasyonu ve çevresel pH gibi çeşitli faktörlere bağlıdır. Tf plazmada üç durumda bulunur: demir atomu bağlı değil iken apo-transferrin (apo-Tf); tek demir atomu bağlı

iken monoferrik Tf; ve iki demir atomu bağı iken holo Tf olarak da bilinen diferrik Tf. Sağlıklı bireylerde Tf'in bu üç formda bulunması demir emiliminin ani artış gösterdiği durumlarda, fazla demirin organizmaya toksik etkilerini engellemektedir (Silva and Faustino 2015). Fizyolojik durumlarda plazma Tf, yaklaşık %30 oranında demir ile bağı bulunur ve çok yüksek demir bağlama kapasitesine sahiptir. TfR ekspresyonu organizmanın demir ve oksijen durumu gibi çeşitli faktörlere bağıdır (Gudjoncik et al. 2014). Tf'e bağı demirin hücre alımı ağırlıklı olarak, hücre membranında yerleşmiş TfR-1 ile gerçekleştirilir. Tf'e bağı demir- TfR kompleksi klatriin bağımlı endositoz ile hücre yüzeyine bağlanır. Apo-Tf kalıntıları TfR-1'e bağı iken, endozom pH'sı ATP bağımlı proton pompası ile hücre içine H⁺ iyonlarının girişi ile düşer ve transferrin demirden ayrılır, Fe³⁺ salınır. Endozomda serbest demir STEAP-3 yardımıyla Fe²⁺ye indirgenir ve sitoplazmaya DMT-1 ile taşınır (Şekil 1B). Bu sırada Tf-TfR kompleksi hücre yüzeyine gönderilir ve demirini bırakmış Tf (apoTf) tekrar kullanılmak üzere sitoplazmaya salınır (Silva and Faustino 2015). Plazma demir seviyesi yükseldiğinde Tf sature olur ve fazla demir plazmadaki sitrat, asetat ya da albümin gibi düşük ağırlıklı moleküllere bağlanır. Demirin bu formu transferrine bağı olmayan demir (Non-Transferrin-Bound Iron, NTBI) olarak adlandırılır ve süratle ağırlıklı olarak hepatosit olmak üzere, kardiyak miyositler ve endokrin hücreler gibi parankimal hücrelere alınıp organ hasarına neden olabilir (Brissot et al. 2012).

2.2.3. Demir tüketimi ve depolanması: Yetişkin bir insanda ortalama 4 g demir bulunmaktadır. Bunun üçte ikisi eritrositlerdeki hemoglobin yapısında, 300 mg'ı kaslardaki myogloblin yapısında bulunur. Bu demirin büyük çoğunluğu retikuloendotelial sistem makrofajlarının yaşlanmış eritrositleri parçalamasıyla açığa çıkan demirin yeniden kullanılmasından gelir (günde yaklaşık 20 mg) Plazmadaki demirin çoğu eritropoez için kemik iliğine yönelir. Kemik iliğinde saniyede 2 milyondan fazla eritrosit üretilir ve bunu karşılamak için günlük 20-30 mg demir gerekmektedir. Günlük demir kaybını karşılamak için ise 1-2 mg demirin intestinal yolla emilimi yetmektedir. Vücutta demir temel olarak karaciğerde depolanır (yaklaşık 1 g), önemli miktarda demir de (600 mg) makrofajlarda bulunmaktadır. Dolaşımdaki demir genellikle transferrine (Tf) bağlanır ve Tf'e bağı demirin çoğu da kemik iliğinde eritropoez için kullanılır. Hücrelerde ise demir ferritin ve hemosiderin

proteinlerinde depolanır (Gudjoncik et al. 2014). Hücresel demir homeostazının sağlanmasında en önemli organel mitokondridir. Demir endozomdan salındıktan sonra mitokondriye sitozolik demir şaperonu olan PCPB-1 (Poly-rC-Binding Protein-1) ile taşınıyor olabilir (Shi et al. 2008). Demir mitokondri iç membranından mitoferrin 1 ve 2 yardımıyla geçer. Demir bir kez mitokondriye girdiğinde hem biyosentezinde ve elektron transfer zincirinde görevli çeşitli proteinlerle birleşen demir-sülfür kümeleri yapımı için kullanılır. Demirin depolanabiliyor olması organizmada demir düzeyi arttığında serbest demirin bulunmasını engeller. Demir depolanmasından sorumlu başlıca protein ferritindir. Sferik kapsüler yapısı, merkezinde 4500 demir atomu depolanmasına izin verir. Ağır (H- ferritin) ve hafif (L- ferritin) polipeptid zincirli iki alt tipi mevcuttur. Ferritin temel olarak hücre sitozolünde, nükleusta ve mitokondride bulunur fakat serumda da bulunmaktadır. Mitokondriyal ferritin, sitozolik ferritine oranla daha etkili demir deposu görevi görür (Silva and Faustino 2015).

2.2.4. Demirin yeniden kullanımı: Retiküloendotelial sistem (dalak ve karaciğer) makrofajlarının ana görevlerinden biri yaşlanmış eritrositleri parçalayarak hemoglobinden demir salınımını sağlamak böylece demiri başka bir hemoglobinin siklusu için kullanılabilir hale getirmektir (Şekil 1). Makrofajlarla yeniden hemoglobinin siklusuna giren demir, plazma demir havuzunun büyük bir kısmını oluşturur. Yaşlanan eritrosit fagolizozoma girer girmez reaktif oksijen türlerine ve “hem”in vakuolar sıvıya salınmasını düzenleyen hidrolitik enzimlere maruz kalır (Silva and Faustino 2015). Daha sonra hem, HO1 ve O₂ ile birlikte demir, karbon monoksit ve biliverdine ayrılır (Poss and Tonegawa 1997). Makrofajlar ayrıca parçalanmış eritrositlerden salınan hemoglobini de yakalar. Plazma hemoglobini haptoglobulin ile kompleks oluşturur ve makrofaj hücre yüzey reseptörü CD163 tarafından hücre içine alınır (Kristiansen et al. 2001). Makrofajda açığa çıkan demir fagozom membranından sitoplazmaya DMT-1 ile taşınır ve bu aşamadan sonra ya plazmaya verilir ya da ferritin olarak makrofaj içinde depolanır. Fe²⁺, FPN-1 ile plazmaya taşınır, glukozil-fosfatidil-inozitol bağlı seruloplazmin (Gpi-Cp) ile indirgendikten sonra oluşan Fe³⁺, serum transferrine bağlanır (Harris et al. 1999).



Şekil 1 : Sistemik demir metabolizması düzenlenmesi - Silva and Faustino 2015'den yararlanılmıştır.

2.2.5. Demir metabolizmasının hücresel düzeyde düzenlenmesi : Organizmadaki demir metabolizması hücresel ve sistemik olarak düzenlenmektedir. Sistemik düzenleme hepsidin aracılığıyla gerçekleştirilir. Hücresel düzenleme transkripsiyonel başlangıç ve posttranskripsiyonel düzenleme ile hücre içi demir durumuna göre sağlanır.

Gen transkripsiyon başlangıcı; hangi RNA polimerazın, RNA sentezinin başlaması gerektiği yerle ilgili hangi DNA bölgesini tanıyacağını belirlediği karmaşık bir mekanizmadır. DMT1, SLC40A1 (FPN-1'i eksprese eden gen) ve Tfr2 birden fazla transkripsiyon bölgesi içeren demir metabolizması ilişkili genlerdir. SLC40A1'in transkripsiyonuyla ortaya çıkan FPN1A proteini, demir düzeyiyle belirlenen bir IRE modeli oluşturur. Tfr2α transkripsiyonu ile hepsidin ekspresyonunu düzenleyen bir membran proteini meydana gelir.

Demir metabolizması ilişkili genlerin posttranskripsiyonel düzenlenmesi; alternatif poliadenilasyon, alternatif birleşme, IRP/IRE sistemi, microRNAlar ve proteolitik yarılmayı içerir. Demir duyarlı elementler (Iron responsive elements-IRE) demir proteinlerinin mRNA'sı üzerinde bulunan 28-30 nükleotid sekansı içeren yapılardır (Silva and Faustino 2015). Demir düzenleyici proteinler (Iron regulatory proteins-IRP); sitoplazmada bulunan, hücre içi demiri algılayan proteinlerdir (Sezgin ve ark. 2012). IRP/IRE sistemi hücrel demir içeriğine göre demirin hücre içine alımı, depolanması ve hücre dışına çıkarılmasını düzenler. İnsanlarda bulunan IRP1 ve IRP2; IRE'lerin demir emilimi (DMT-1 ve TfR1), depolanması (H-Ferritin ve L- Ferritin) ve hücre dışına çıkarılmasından (FPN-1) sorumlu mRNA'larının 5'-3' transle edilmemiş bölgelerine bağlanır (Anderson et al. 2012). Hücrel demir eksikliği durumunda IRP'ler IRE'lerin ferritin ve ferroportin-1'i eksprese eden genlerinin 5' transle edilmemiş alanlarına bağlanarak translasyonlarını azaltırlar, TfR-1 ve DMT'nin 3' transle edilmemiş alanlara bağlanarak ise translasyonlarını artırır. Böylece hücrel demir düzeyleri düştüğünde demir emilimi artarken, depolanması ve hücre dışına çıkması inhibe edilmiş olur. Demir yüklenmesi durumunda ise IRP1 ve IRP2 farklı mekanizmalarla IRE'ye bağlanamaz (Silva and Faustino 2015). Yani ortamdaki demir arttığında ferritin düzeyleri artar, TfR-1 baskılanır ve hücrel demir alımı sınırlanırken demir depolanması uyarılır (Gozzelino and Arosio 2016). Alternatif birleşme, muhtemelen en çok çeşitliliğe yol açan gen ekspresyon biçimidir. Aynı genden farklı protein üretiminden sorumludur. HFE (High Iron Fe veya Human hemochromatosis protein) geni alternatif transkriptler üretir. Solubl HFE (sHFE) duodenumdan hefastin ekspresyonunu düzenler ve böylece duodenumdan demir emiliminin ana düzenleyicisi gibi davranır. SLC11A2 alternatif birleşmesi sonucu oluşan DMT1A, IRE özelliği gösterir ve duodenal eritrositlerin ne kadar demir alacağı apikal membrandaki DMT1 düzeyine bağlı olarak düzenlenir (Silva and Faustino 2015).

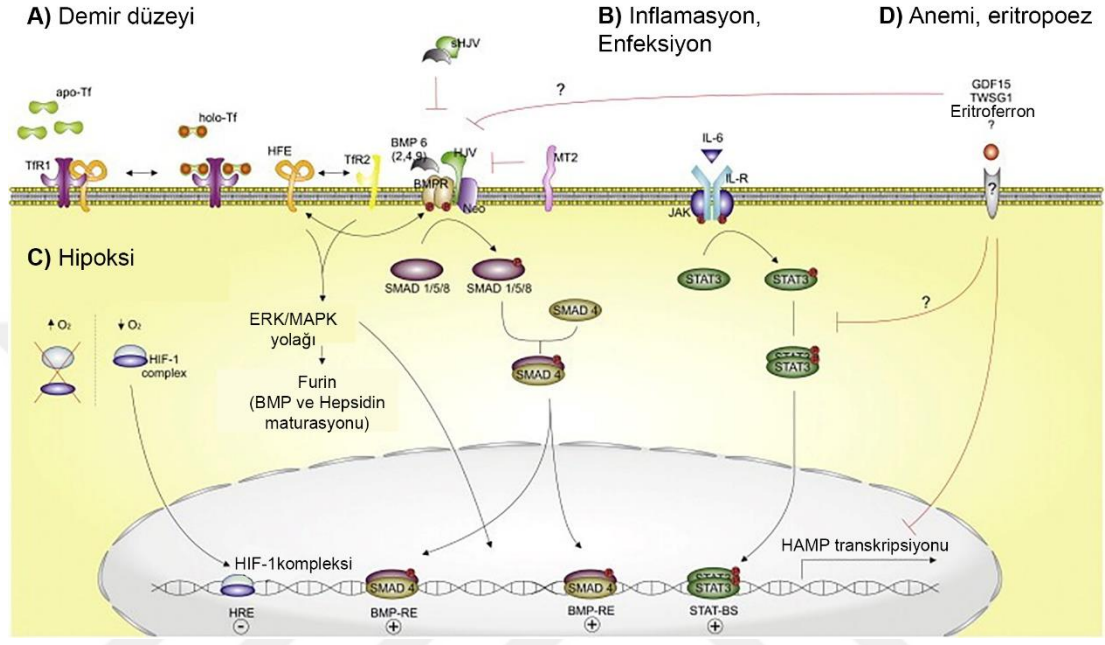
Organizmada sistemik demir metabolizması ise hepsidin tarafından düzenlenir.

2.3. HEPSİDİN:

Krause ve ark. (2000) insan plazma ultrafiltratında LEAP-1 (liver-expressed antimicrobial peptide) olarak adlandırdıkları, birçok bakteri ve mantar türüne karşı antimikrobiyal özellik gösteren sistinden zengin bir peptid hormon izole ettiler. Park ve ark. (2001) ise aynı peptidi, insan idrarından izole ettiler. Karaciğerde sentezlenmesi (hep-) ve antimikrobiyal özelliklerinden dolayı (-cidin) hepsidin olarak adlandırdılar. Çok geçmeden karaciğerde üretilen, plazmada dolaşımında bulunan, idrarla atılan hepsidinin demir metabolizmasının düzenlenmesinde büyük rol aldığı; diyetsel veya parenteral demir yüklemesi yapılan farelerin karaciğerlerinde hepsidin mRNA'sının aşırı ekspresyonun gözlenmesiyle farkedildi (Pigeon et al. 2001).

İnsan hepsidin geni HAMP (hepsidin antimikrobiyal peptid); 19. kromozomun uzun kolunda (19q13.1) bulunur ve 84 aminoasitlik öncü protein preprohepsidini kodlar. Preprohepsidin sitoplazmadan dışarı aktarılırken, enzimatik ayrılmaya uğrar, bu da 64 aminoasitlik pro-hepsidin peptidinin endoplazmik retikulum lümenine aktarılmasıyla sonuçlanır. Daha sonra prohepsidinin 39 aminoasitlik bölgesi, bir prohormon konvertaz olan furin ile posttranslasyonel olarak ayrılır ve 25 aminoasitlik biyolojik olarak aktif hepsidin-25 oluşur. İnsan idrarında hepsidinin N-terminalinden kesilmesiyle oluşan 22 ve 20 aminoasitlik hepsidin izoformları da izole edilmiştir. Hepsidin-25'e ek olarak 20 aminoasitlik izoform hem insan idrarında hem de serumda saptanmıştır. Bu da 22 aminoasitlik izoformun hepsidin-25'in idrarla atılan yıkım ürünü olabileceğini desteklemektedir. Biyolojik olarak aktif hepsidin, 8 sistein içerir ve 4 disülfid köprü ile çapraz bağlı β - tabaka yapısı gösterir (Kemna et al. 2008). Dolaşımdaki hepsidinin ana kaynağının hepatositler olmasının yanında makrofajlar, adipositler, mide, kalp hücreleri, pankreas β hücreleri, böbrek ve akciğerlerden de hepsidin mRNA'sı daha düşük düzeylerde eksprese edildiği gösterilmiştir. Ekstrahepatik hepsidinin görevi tam olarak anlaşılamamış olup, demir metabolizmasının lokal düzenlenmesinde rolü olabileceği düşünülmüştür (Rochette et al. 2015, Silva and Faustino 2015). Farelerde iki hepsidin geni tanımlanmıştır, fakat sadece hepsidin-1 demir metabolizması ile ilişkilendirilmiştir. Bazı balıklarda ise iki veya daha fazla, bazıları karaciğere özgü olmayan ve sadece enfeksiyon sırasında saptanabilen, hepsidin genleri tanımlanmıştır. Bu bulgular erken omurgalılarda

hepsidin demir metabolizmasındaki rolünün, antimikrobiyal özelliklerinden sonra ortaya çıkmış olabileceğini düşündürmektedir (Ganz 2013).



Şekil-2 Hepatositte HAMP (Hepsidin Antimikrobiyal Peptid) gen ekspresyonunun düzenlenmesi, Silva and Faustino 2015'ten yararlanılmıştır.

2.3.1. Hepsidin sentezinin düzenlenmesi : Hepsidin reseptörü bir bazolateral transmembran proteini olan FPN-1'dir Hepsidin FPN'e bağlanması FPN'in internalizasyonuna ve lizozomal yıkımına yol açar. Hepsidin sistemik demir homeostazını FPN-1 seviyelerini ve sonuç olarak diyetle alınan demiri, makrofaj, hepatosit ve diğer hücre tiplerinden salınan demir miktarını düşürerek düzenler. Demir yüklenmesi, enfeksiyon ve inflamasyon HAMP ekspresyonunu artırırken, demir eksikliği, hipoksi, anemi ve eritropoez tam tersi etki gösterir (şekil 2) (Silva and Faustino 2015).

2.3.1.1. Demir düzeyleri ile düzenlenme : HAMP ekspresyonunun demir seviyesiyle düzenlenmesi, insan vücudunun demir yüklenmesi ve demir eksikliğinin sonuçlarından korunmasını sağlayan bir süreçtir. Hepatosit yüzeyinde demir algılayıcı

oldukları düşünölen hemojuvelin (HJV), HFE, TfR1 ve TfR2 gibi proteinler bulunmaktadır (şekil 2) (Silva and Faustino 2015).

Hepsidin ekspresyonunun demirle düzenlenmesinde HJV- BMP (Bone Morphogenic Protein, kemik morfogenetik protein) yolağı rol alır. HJV, HAMP ekspresyonunun karaciğerdeki ana düzenleyicisi olduğı düşünölen Gpi (glukozil-fosfatidil-inozitol) bağılı bir membran proteinidir. BMP'ler hücre proliferasyonu, hücre diferansiasyonu, apoptosis ve doku gelişiminde rol oynayan, TGF- β ailesine ait sitokinlerdendir. HJV hücre yüzeyinde BMP ko-reseptörü gibi davranır (Xia et al.2008). BMP'ler HJV'e ve BMP reseptör (BMPR) kompleksine bağlandığında bu yolak aktive olur. Aktive olmuş reseptörler sitozolik SMAD 1,5 ve 8'i fosforile eder. Fosforile SMAD'lar SMAD4 ile kompleks oluştururlar ve nükleusta hepsidin ekspresyonunu aktive ederler (Silva and Faustino 2015). HAMP ekspresyonunu BMP 2,4,5,6,7 ve 9'un aktive ettiğı gösterilmiştir (Zhang et al. 2010). Buna rağmen BMP-6 geni etkisiz hale getirilmiş fareler, HJV ve HAMP genlerinin etkisiz hale getirildiğı farelerle benzer olarak, demir yüklenmişlerdir, bu da BMP6'nın demir metabolizmasındaki önemli rolüne dikkat çekmektedir (Meynard et al. 2009). BMP6 mRNA düzeylerinin vücut demir düzeyi ve hepsidin düzeyiyle korelasyon gösterdiği bildirilmiştir (Kautz et al. 2008). BMP6 karaciğerde üretilir, demir düzeyleri yükseldiğinde interstisyel sıvıya salgılanır ve hepatositte HJV'e bağlanarak hepsidin ekspresyonunu tetikler (Silva and Faustino 2015).

HJV ayrıca bir proprotein konvertaz olan furin ile yıkılır ve çözünebilir formu ortaya çıkar (solubl HJV, sHJV). sHJV ekstraselüler sıvıya salındığında BMP'lere bağlanarak, onların membran HJV ile bağlanmasını engeller ve hepsidin eksprese edilemez. Furin aracılı yıkım dışında HJV, matriptaz-2 (MT2) ile de yıkılır ve hepsidin ekspresyonu baskılanır. HJV hücre yüzeyinde neogenin adlı bir proteinle de etkileşir. Neogenin çift yönlü etki gösterir; HJV aracılı hepsidin ekspresyonunun artırılmasında da, sHJV üretimi ve MT2 ile hepsidin inhibe edilmesinde de görev alır.

Hepsidin ekspresyonunun demirle düzenlenmesinde bir diğere yolak membran proteinleri olan HFE ve TfR2' ye bağılı gerçekleşir (şekil 2). HFE kısmen hepatosit hücre yüzeyinde TfR1'e bağılı olarak bulunmaktadır. Plazma demir seviyesi yükseldiğinde demir Tf'e yüklenir, holotransferrin (Fe₂-Tf) oluşur ve TfR1'e karşı

yüksek afinite kazanır. TfR1 holotransferrine yüksek afinite ile bağlandığında , HFE reseptöründen ayrılır ve TfR2 ye bağlanmaya elverişli hale gelir. Oluşan Fe₂-Tf-TfR2-HFE kompleksi ERK 1/2 sinyal yolağını aktive eder ve nihayetinde HAMP ekspresyonunu tetikler. Yani vücut demir düzeyleri arttığında transferrin saturasyonu artar ve HFE-TfR2 etkileşimi ile hepsidin ekspresyonu uyarılır. Ayrıca HFE ve TfR2'nin birbirinden bağımsız olarak diğer sinyal yolaklarını aktive edebildiği düşünülmektedir (Silva and Faustino 2015).

2.3.1.2. Enfeksiyon ve inflamasyonla düzenlenme: Diğer organizmalar gibi patojenler de yaşamlarını sürdürebilmek ve çoğalmak için demire ihtiyaç duyarlar. İnsan vücudu enfekte olduğunda patojenler, konağın demir havuzunu kendi ihtiyaçları için kullanırlar. Enfeksiyon sırasında organizma demir düzeylerini düşürerek demir bağımlı patojenlerin çoğalmasını engellemeye ve enfeksiyonun etkili şekilde bertaraf edilmesiyle hızlı bir septisemi gelişmesini önlemeye çalışır (Silva and Faustino 2015). Hepsidin 3-4 disülfid içeren antimikrobiyal peptidler olan defensinlerle olan yapısal benzerliği, hepsidin doğal bağışıklıkta önemli rolü olduğunu ve inflamatuvar sinyallerle düzenlendiğini düşündürmektedir. Çalışmalar hepsidin antimikrobiyal etkinliğinin defensinlerden daha az etkin olduğunu ortaya koymuştur (Ganz 2013).

Inflamasyon/enfeksiyon sırasında hipoferreminin tetiklenmesi hepsidin tarafından düzenlenir. Hepsidin enjekte edilen farelerde serum demir düzeylerinde hızlı bir düşüş saptanmıştır (Rivera et al. 2005). Enfeksiyon sırasında dolaşımdaki hepsidin seviyesi arttığında makrofajlar, hepatositler ve enterositlerde FPN'in hücre içine alımı ve lizozomal yıkımı uyarılır. Bunun sonucunda diyetle alınan demir emilimi azaltılır, makrofaj ve diğer depo hücrelerindeki demir hücrelerde tutulur ve demirin patojenler tarafından kullanılması engellenir (Ganz and Nemeth 2006). Enfeksiyon sırasında makrofajlardan proinflamatuvar sitokinler olan interlökin (IL) 6-22 ve tip-1 interferon (IFN) salınır (şekil 2). Bu sitokinler hepatosit ve lökositlerde üretilen reseptörler tarafından tanınır ve JAK/STAT3 (Januse Kinase-Signal Transducer and Activator of Transcription) yolağını aktive ederek hepsidin HAMP gen ekspresyonunu tetiklerler. Böylece ekstraselüler patojenler demirden mahrum bırakılmış olur (Wrighting and Andrews 2006) .

2.3.1.3. Hipoksi ile düzenlenme: Eritropoez eritrositlerin ve dolayısıyla oksijen taşıyıcısı hemoglobinin üretimini içeren bir süreçtir. Hipoksi esnasında düşük vücut oksijen düzeylerini artırmak için eritropoez artırılır. Hipoksi sırasında demir metabolizması ve eritropoezin ana düzenleyicisi hipoksi ile indüklenebilir faktör (HIF) sistemidir (Şekil 2) (Haase 2010). HIF'ler hipoksi duyarlı elementlere (Hypoxia-Response Element, HRE) bağlanan transkripsiyon faktörleridir. HIF protein düzeyleri oksijenle düzenlenir. Hipoksi durumunda HIF'ler Tf, TfR1'in ekspresyonunu; HO1, DMT-1, DcytB ve eritropoetin üretiminden sorumlu genlerin ekspresyonunu düzenler (Silva and Faustino 2015). HIF-2'nin DMT-1 ve DcytB üretimini arttırarak intestinal demir emilimini arttırdığı gösterilmiştir. HIF-1'in ise HRE aracılı bir mekanizma ile karaciğerde hepsidin üretimini inhibe ettiği düşünülmektedir (Nicolas et al. 2002). Hepsidin azalmasıyla demir emilimi ve makrofajlardan demir salınımı üzerine inhibitör etki ortadan kalkar ve daha fazla demir eritropoez için kullanılabilir hale gelir (Ganz 2013).

2.3.1.4. Anemi ve eritropoez ile düzenlenme: Anemide gözlenen hipoksik durumdan inefektif eritropoez sorumludur. Eritropoetin (Epo) erişkin böbreğinden salgılanan glikoprotein yapısında bir hormondur. Epo üretimini kontrol eden başlıca fizyolojik uyarı hipoksidir. Hipoksinin şiddetine bağlı olarak serum Epo düzeyleri normal değerlerin 100 katına kadar çıkabilmektedir (Silva and Faustino 2015). Hipoksik durumlarda farelerde HIF-2'nin karaciğerde Epo üretimini arttırdığı gösterilmiştir (Rankin et al. 2007). Epo'nun ve dolayısıyla eritropoezin ana düzenleyicisi hipoksi olduğundan, anemide hepsidin azalmasının ana nedeninin eritropoezin kendisinden çok hipoksi olduğu düşünülmüştür. Fakat sağlıklı bireylere Epo uygulamasından sonra dolaşımda hepsidin düzeyleri azalırken, serum demir düzeylerinde ani değişiklik olmadığı gözlenmiştir (Ashby et al. 2010). Bu sonuç eritroid öncüllerinden Epo'ya cevaben hepsidin baskılayan bir faktörün varlığını araştırma ihtiyacı doğurmuştur. İlk başlarda hipoksi ya da eritropoetin hepsidini doğrudan etkilediği düşünülse de; BMP ailesinin iki üyesi; büyüme diferansiasyon faktörü (Growth Differentiation Factor, GDF) 15 ve TWSG (Twisted Gastrulation)-1'in talasemi gibi inefektif eritropoezle giden hastalıklarda artarak, demir yüklenmesi olmasına rağmen hepsidinde azalmaya neden olduğu görülmüştür. GDF-15'in hepatoma hücrelerinde hepsidin sentezini düzenlediği gösterilmiştir fakat normal demir homeostazındaki rolü tam

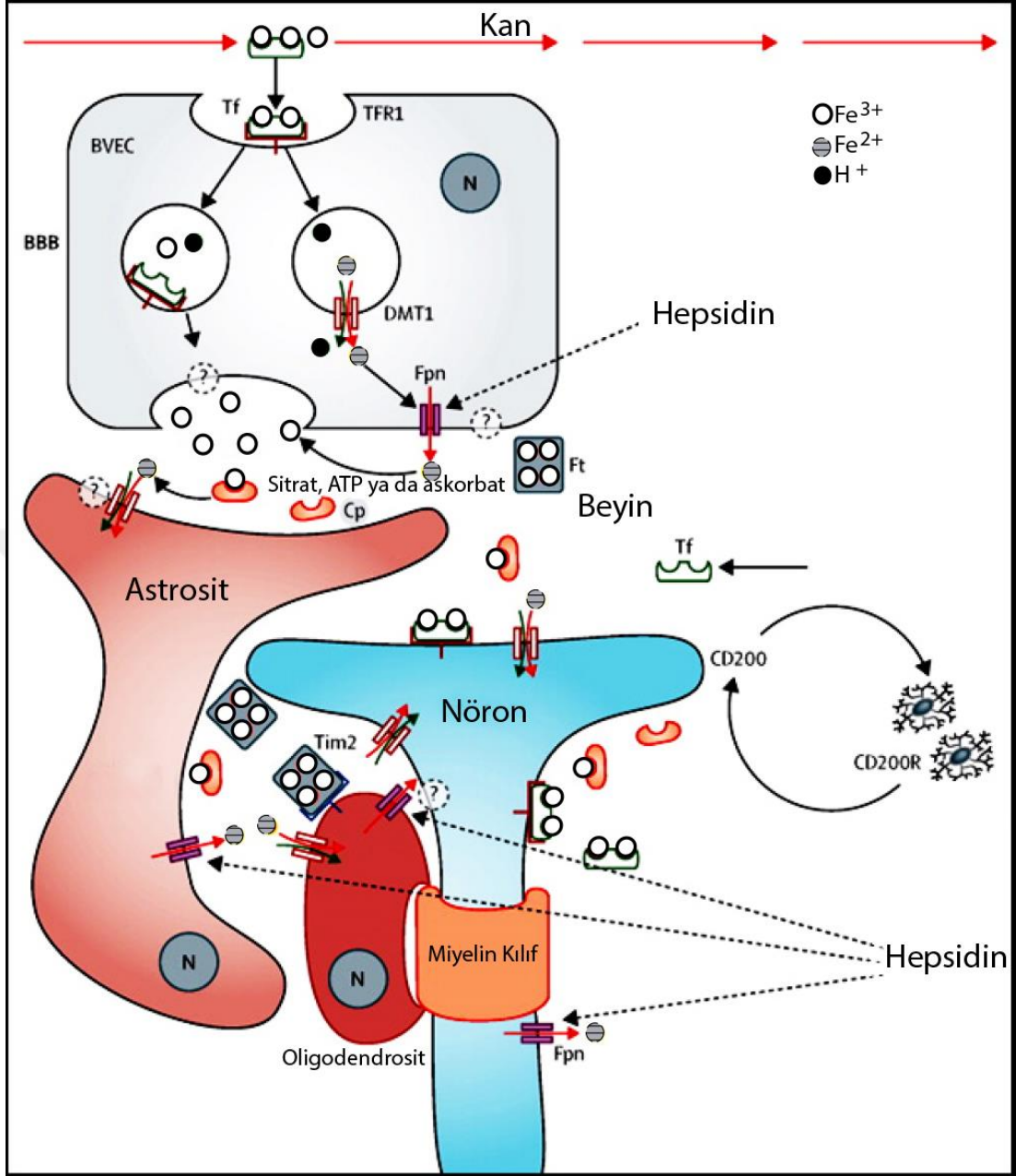
anlaşılamamıştır. Kan bağışçılıyla yapılan çalışmalarda GDF-15'in kan kaybından sonra hepsidin sentezini baskıladığıyla ilgili yeterli kanıt bulunamamıştır (Ganz 2013, Silva and Faustino 2015). Eritroblastlardan salınan eritroferon adlı hormonun hepsidin ekspresyonunda baskılanmaya neden olduğu gösterilmiştir (Şekil 2) (Kautz et al. 2014).

2.4. BEYİN DEMİR METABOLİZMASI VE HEPSİDİN:

Beyin, vücudun diğer organlarına kıyasla göreceli olarak daha az geçirgen bir vasküler bariyer sisteme sahip olan emsalsiz bir organdır. Kan beyin bariyeri başlıca sıkı bağlantılarla (tight junction) birleşmiş kapiller endotel hücreler, bazal lamina, perisitler ve astrositler tarafından oluşturulmaktadır. Kan beyin bariyeri, kandaki toksinlerin ve zararlı maddelerin beyne geçişini engellerken demir gibi santral sinir sistemi hücre fonksiyonları için gerekli maddelerin sınırlı olarak geçişine izin verir (Crichton et al. 2011). Demir, kan beyin bariyerinin endotel hücrelerinden ana olarak Tf'e bağlı olarak TfR-1 aracılı endositoz ile geçer. Demirin stoplazmik demir havuzuna salınması ve sonrasında abluminal membrandan dışarı çıkarılmasının; ferroportin ya da diğer taşıyıcıları içeren şu an için bilinmeyen yollarla olduğu düşünülmektedir. Demirin daha sonra astrosit ve nöronlar gibi hücreler tarafından alınabilmesi için ekstraselüler bölüme salınması; düşük molekül ağırlıklı kompleksler şeklinde (sitrat, ATP, askorbik asit gibi) ya da nöronlarda Tf- TfR yolağıyla olur. Demir daha sonra nöronlar, mikrogliya ve astrositler arasında hareket eder fakat bu hücreler tarafından demirin nasıl alındığı ve salındığı tam olarak anlaşılamamıştır (şekil 3) (Ward et al. 2014).

Tf beyinde, koroid pleksus ve oligodendrositlerde sentez edilir fakat sadece koroid pleksustan salınır (Leitner and Connor 2012). Nöronların, demiri ana olarak Tf-TfR sistemi ile aldıkları ve ferroportin ile hücre dışına verdikleri düşünülmektedir çünkü birçok nöron TfR ve ferroportini birlikte eksprese etmektedir. Demirin aksonlardan sinapslara taşınması için gerekli yolak hakkında yeterince bilgi mevcut değildir. IRP/IRE sistemi beyinde de bulunmaktadır fakat beyin demir homeostazındaki rolü net değildir. Astrositlerin ayaksı çıkıntıları, kan beyin bariyerinin abluminal

membranını çevreler ve nöronlarla doğrudan ilişki kurar, bu da astrositlerin beyin demir emiliminde anahtar rol oynadığını düşündürmektedir. Astrositler TfR ekspres etmezler, kan beyin bariyerinde demiri ayaksı çıkıntılarında sentezledikleri DMT1 ile alıyor olabilirler. Ferroportin ve Gpi-Cp (Glukozil-fosfatidil-inozitol bağlı seruloplazmin) astrositlerden dışarı demir verilmesinde ana yolağı oluşturur. Seruloplazmin yokluğu beyinde demir birikimi ve nörodejenerasyon ile sonuçlanabilir. Oligodendrositlerde, akson miyelinizasyonu için gerekli olan, yüksek miktarda demir çoğunlukla ferritin ya da Tf olarak bulunmaktadır. Oligodendrositler demiri bitişik kan damarlarından elde edebilirler veya ferritin reseptörü (Tim-2) aracılığıyla interstisyel ferritinden alabilirler. Mikroglialar aktive olduğunda ,demir alımının arttığı, demirin hücre dışına çıkarılmasının ise azaldığı düşünülmektedir (Ward et al. 2014).

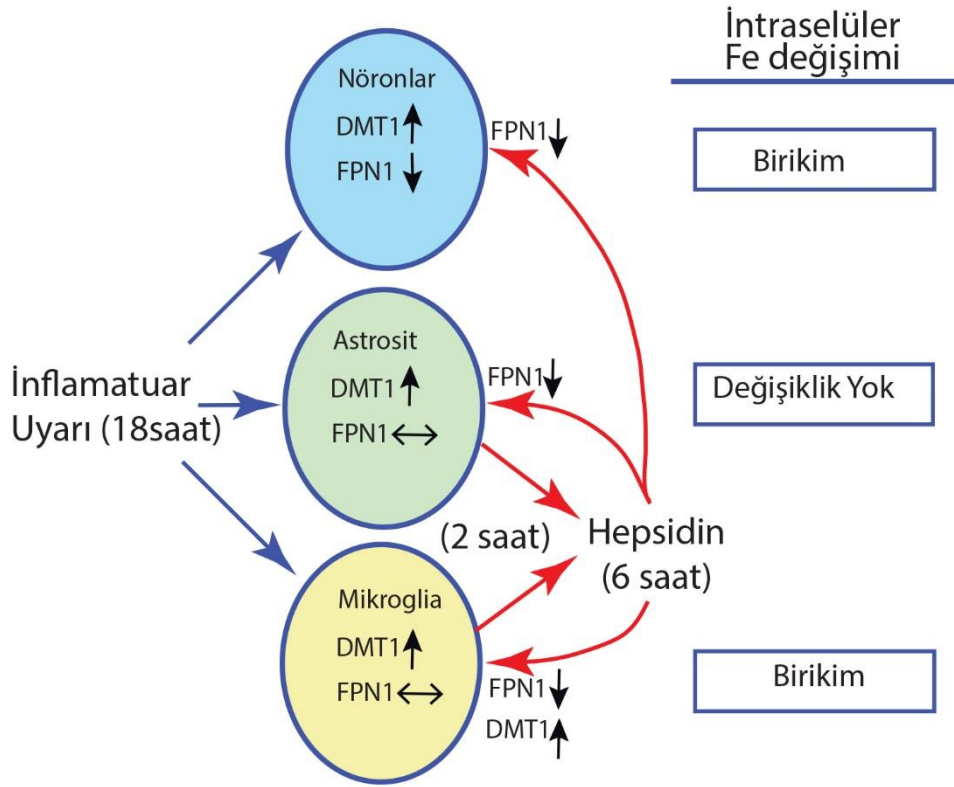


Şekil-3-Beyin demir metabolizması

BVEC: Brain vascular epithelial cell, Beyin vasküler epitelyal hücresi; BBB: Blood-brain-barrier, Kan beyin bariyeri; DMT1: Divalent metal transporter 1, İki değerlikli metal taşıyıcı 1; Fpn: Ferroportin (Ward et al. 2014'ten yararlanılmıştır)

Nöroinflamasyon sırasında glial hücreler aktive olur ve demir homeostazında değişiklikler meydana gelir. Rat beyninde yapılan bir çalışmada, TNF α , IL-6, ve lipopolisakkaridlerle oluşturulan 18 saat süreli inflamatuvar uyarının nöronlarda ve mikroglia da demir birikimine yol açtığını göstermiştir. DMT-1 düzeyi nöronlarda,

astrositlerde ve mikroglia da artmış, ferroportin düzeyi nöronlarda azalmışken; astrosit ve mikroglia da değişmemiştir. İnflamatuar uyarıdan kısa süre sonra astrosit ve mikroglia da hepsidin düzeyi hızlıca artarken, nöronlarda tespit edilememiştir. Salgılanan hepsidin, 6 saat sonra FPN-1'in düzeyinin her üç hücre tipinde de, DMT-1 düzeyinin ise mikroglia da geçici olarak azaltmıştır. İnflamatuar uyarının ve hepsidin salgılanmasının net sonucu nöron ve mikroglialarda, fakat astrositlerde değil, demir birikimi olmuştur (Şekil-4) (Urrutia et al. 2013).



Şekil-4 Santral sinir sistemi hücrelerinde inflammatuar uyarıya hepsidin cevabı. (Urrutia et al. 2013'ten yararlanılmıştır)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmanın tüm aşamalarında Dünya Tıp Birliği (WMA) Helsinki Bildirgesi'ne uyulmuştur. Çalışmaya başlamadan önce Sakarya Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu'ndan onay alınmıştır ve tüm katılımcılardan aydınlatılmış onam formu alınmıştır.

Bu prospektif vaka-kontrol çalışması; Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi nöroloji polikliniğine Ocak 2016 ve Haziran 2016 tarihleri arasında başvuran, 18 yaş üstü, ek hastalığı olmayan, hiçbir ilaç kullanımı olmayan, nörolojik muayeneleri tamamen normal olan 40 ardışık idiopatik HBS hastası ve genel popülasyondan, hasta grup ile yaş-cinsiyet bakımından eşleştirilmiş, bilinen hiçbir hastalığı ve ilaç kullanımı olmayan 40 kişiden oluşan kontrol grubu ile yapıldı.

HBS tanısı için IRLSSG'nin 2012 yılında revize ettiği temel tanı kriterleri esas alındı (<http://irlssg.org/diagnostic-criteria>, Erişim tarihi: 29 Ağustos 2016). Her iki grupta da, klinik görüşme, fizik muayene, nörolojik muayene ve laboratuvar ölçümleriyle saptanan, sekonder HBS'ye yol açabilecek durumlar çalışma dışı bırakıldı. Bunlar; gebelik, diabetes mellitus, son dönem böbrek yetersizliği, demir eksikliği ve demir eksikliği anemisi, romatolojik hastalıklar, multipl skleroz, Parkinson hastalığı gibi nörolojik hastalıklar, hipo-hipertiroidizm ve HBS'ye neden olabilecek ilaç kullanımı (trisiklik antidepressanlar, SSRI'lar, nöroleptikler, dopamin antagonistleri, antihistaminikler, NSAİ ilaçlar, lityum, metoklopropamid) idi. HBS şiddeti Uluslararası HBS Çalışma Grubu (IRLSSG) tarafından belirlenen hastalık şiddet skalası ile ölçüldü (2003). Bu skala HBS semptomlarının sıklığını ve şiddetini sorgulamaya yönelik her biri 0-4 arasında derecelendirilen 10 sorudan oluşmakta olup (Ek-1), toplam puanı 0-40 arasında değişmektedir. 0-10 puan hafif, 11-20 puan ılımlı, 21-30 puan şiddetli, 31-40 puan arası çok şiddetli hastalık olarak değerlendirilmektedir.

Tüm katılımcılara uyku niteliğini değerlendirmeye yönelik Ağargün ve ark. (1996) tarafından türkçeleştirilen Pittsburg Uyku Kalitesi İndeksi (PUKİ) uygulandı (Ek-2). PUKİ'nin içerdiği 24 sorudan ilk 19'u özbildirim sorusudur ve son 5 soru eş veya oda

arkadaşı tarafından yanıtlamak üzerine hazırlanmış olup puanlamaya katılmaz. Ölçeğin puanlanan soruları 7 bileşenden oluşmaktadır; öznel uyku kalitesi, uyku latensi, uyku süresi, alışılmış uyku etkinliği, uyku bozukluğu, uyku ilacı kullanımı ve gündüz işlev bozukluğu. Her bir bileşen 0-3 puan üzerinden değerlendirilir. 7 bileşenin toplam puanı ölçek toplam puanını verir ve 0-21 arasında bir değere sahiptir. Ölçeğin toplam puanının 5'ten büyük olması kötü uyku kalitesini gösterir (Aydemir ve Köroğlu 2009).

Tüm katılımcılara depresyon riski belirlemek ve depresif belirtilerin düzeyini, şiddet değişimini ölçmek amacıyla Hisli tarafından Türkçeye çevrilen (1989) Beck Depresyon Envanteri (Ek-3) uygulandı. Ölçek her madde 0-3 arasında puanlanacak 21 öz bildirim sorusu içermektedir ve toplam puan 0-63 arasında değişkenlik göstermektedir. 0-9 puan arası minimal depresyon; 10-16 puan arası hafif depresyon; 17-29 arası orta depresyon; 30-63 arası şiddetli depresyon olarak değerlendirilmektedir (Aydemir ve Köroğlu 2009).

Hasta ve kontrol grubunun vücut kitle indeksleri; hasta grubun hastalık süresi, aile öyküsü not edildi. Bu çalışmada tüm katılımcıların serum hepsidin düzeyi, tam kan sayımı, CRP, ferritin, serum demiri, geniş biyokimya, tiroid fonksiyon testleri, eritrosit sedimentasyon hızı çalışıldı. Rutin biyokimya tetkiklerinde anormallik saptanan katılımcılar çalışma dışı bırakıldı. Çalışmamızda primer HBS hastalarında; HBS şiddeti ve hepsidin düzeyi arasındaki ilişki incelendi.

Tüm olguların venöz kan örnekleri sabah aç karnına alındı. Tam kan sayımları EDTA içeren tüpe 2 cc kan konarak hemen çalışıldı. Tam kan sayımı parametrelerinin ölçümü CELL-DYN® 3700 kan sayım cihazı (Abbott Diagnostics, Texas, USA) ile yapıldı. WHO kriterlerine göre hemoglobin değerinin kadınlarda 12 mg/dl erkekler için 13 mg/dl'nin altı anemi olarak değerlendirildi (Beutler and Waalen 2006) ve anemisi olan katılımcılar çalışma dışı bırakıldı. Serum örnekleri için boş tüpe alınan 6 cc kan oda ısısında 30 dakika bekletildikten sonra 4000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek hazırlandı. Laboratuvarda çalışılana kadar tüm serum örnekleri -80 °C'de saklandı. Serum demir (SD) ve diğer biyokimya parametreleri (Na, K, üre, kreatinin, ALT, AST, Ca, P,...) Abbott Architect C16000 (Abbott Diagnostics, Texas, USA) cihazıyla fotometrik yöntemle analiz edildi. Laboratuvarımızda serum demir düzeyi normal

aralığı kadınlar için 40-145 µg/dL, erkekler için 65-175 µg/dL idi. Serum ferritin ve TSH değerleri Abbott Architect I 2000 (Abbott Diagnostics, Texas, USA) cihazıyla kemilüminisan mikropartikül immünolojik tetkiki (CMIA) ile analiz edildi. Laboratuvarımızda serum ferritin normal aralığı kadınlarda 4,63-204 ng/ml, erkeklerde 21,81-274 ng/ml idi. Serum demir ve ferritin değerleri belirtilen aralıkta olmayan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Serum CRP ölçümü IMAGE 800 analiz cihazı ile nefelometrik yöntemle ölçüldü (Beckman Coulter Inc, Brea, CA, USA) ve sonuçları normal aralıkta olmayan katılımcılar çalışma dışı bırakıldı.

Hepsidin ölçümü Sakarya Üniversitesi Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji laboratuvarında Human Hepsidin 25 (Hepc25) ELISA kiti ile (Mybiosource, San Diego, USA; Cat No: MBS269929) üretici firmanın talimatlarına uygun olarak çalışıldı. Kit için saptama aralığı 200 ng/ml-3,12 ng/ml idi. Saptanabilen en düşük insan hepsidin 25 düzeyi 0,6 ng/ml idi.

İstatistiksel değerlendirme SPSS (Statistical Package for Social Sciences) 21.0 paket programı ile yapıldı. Verilerin tanımlayıcı istatistiklerinde ortalama, standart sapma, medyan, en düşük ve en yüksek değer, frekans ve oran değerleri kullanıldı. Sürekli ve kesikli sayısal değişkenlerin dağılımının normal dağılıma uyup uymadığı Kolmogorov Smirnov testi ile ölçüldü. Nicel verilerin analizinde Mann-Whitney U testi ve bağımsız örneklem t test kullanıldı. Nitel verilerin analizinde ki-kare testi kullanıldı. Etki düzeyi ve cut off değeri ROC eğrisi ile araştırıldı. Hepsidin ile hemoglobin, ferritin ve demir arasındaki ilişki Spearman korelasyon analizi ile değerlendirildi. Etki düzeyi tek değişkenli ve çok değişkenli lojistik regresyon ile araştırıldı. İstatistiksel anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya yaş ortalaması $46,85\pm 8,6$ olan 30 kadın ve 10 erkek, toplam 40 HBS hastası ile yaş ortalaması $44,83\pm 9,8$ olan 26 kadın ve 14 erkek, toplam 40 sağlıklı gönüllü alındı.

Tablo 5- HBS hastaları ve sağlıklı kontrol grubunun demografik ve klinik özellikleri

	Sağlıklı kontrol (n=40)	HBS hastaları (n=40)
Cinsiyet (K/E)	13/7	3/1
Yaş (yıl), (ortalama \pm SS)	44,83 \pm 9,8	46,85 \pm 8,6
Serum demir (μ g/dl), (ortalama \pm SS) ^a	96,6 \pm 36,5	85,9 \pm 36,1
Serum ferritin (ng/ml), (ortalama \pm SS) ^b	49,9 \pm 39	46,7 \pm 38,7
Hastalık süresi (yıl) (ortalama \pm SS)	-	11,1 \pm 6,8
Tanı süresi (yıl)	-	3,2
Aile öyküsü (evet/hayır)	0/40	26/14
IRLSSG şiddet derecelendirme skoru (ortalama \pm SS)	-	25,4 \pm 6,8

SS, standart sapma; IRLSSG, Uluslararası Huzursuz Bacaklar Sendromu Çalışma Grubu

^aSerum demir düzeyinin normal aralığı: K, 40-145; E, 65-175 μ g/dl

^bSerum ferritin düzeyi normal aralığı: K, 4,63-204; E, 21,81-274 ng/ml

Tablo 6- Vaka ve kontrol grubunun özellikleri

	Vaka Grubu		Kontrol Grubu		P
	Ort.±SS./n-%	Med(Min-Mak)	Ort.±sSS/n-%	Med(Min-Mak)	
Yaş	46,9 ± 8,6	48 27 - 64	44,8 ± 9,8	46 27 - 61	0,330 ^t
Cinsiyet	Kadın	30 75%	26 65%		0,329 ^{X²}
	Erkek	10 25%	14 35%		
VKİ		28,5 ± 5,7 27 20 - 48	28,4 ± 5,6 28 16 - 45		0,795 ^m
	<i>Zayıf</i>	0 0%	1 3%		
	<i>Normal</i>	10 25%	6 15%		
	<i>Fazla Kilolu</i>	20 50%	19 48%		
	<i>Obez</i>	8 20%	12 30%		
	<i>Morbidobez</i>	2 5%	2 5%		

^t Bağımsız örneklem t test / ^m Mann-whitney u test / ^{X²} Ki-kare test

Vaka ve kontrol grubunda hastaların yaşları, cinsiyet dağılımı, VKİ (Vücut Kitle İndeksi) değerleri istatistiksel anlamlı farklılık göstermemiştir ($p > 0,05$).

Tablo 7- Pittsburg Uyku Kalitesi İndeksi sonuçları

	Vaka Grubu			Kontrol Grubu			p
	Ort.±SS/n-%	Med(Min-Mak)		Ort.±SS/n-%	Med(Min-Mak)		
Pittsburg Uyku Kalitesi İndeksi							
Toplam							0,000 ^m
Skor	10,7 ± 3,8	11	1 - 17	4,8 ± 3,3	4	0 - 13	
İyi Uyku	3	8%		24	60%		0,000 ^{X²}
Kötü Uyku	37	93%		16	40%		
ÖÜK	1,9 ± 0,8	2	0 - 3	0,9 ± 0,7	1	0 - 2	0,000 ^m
UL	1,8 ± 0,9	2	0 - 3	0,9 ± 1,0	1	0 - 3	0,000 ^m
US	1,6 ± 1,1	2	0 - 3	1,0 ± 0,8	1	0 - 3	0,006 ^m
AUE	1,3 ± 0,9	1	0 - 3	0,4 ± 0,7	0	0 - 3	0,000 ^m
UB	2,2 ± 0,9	2	0 - 3	0,9 ± 1,1	0	0 - 3	0,000 ^m
GİB	1,4 ± 1,0	1	0 - 3	0,5 ± 0,7	0	0 - 2	0,000 ^m
ÜİK	0,6 ± 1,2	0	0 - 3	0,2 ± 0,6	0	0 - 3	0,051 ^m

^mMann-whitney u test / ^{X²} Ki-kare test

ÖÜK: Özel uyku kalitesi; UL: Uyku latensi; US: Uyku süresi; AUE: Alışılmış uyku etkinliği; UB: uyku bozukluğu; GİB: Gündüz işlev bozukluğu; ÜİK: Uyku ilacı kullanımı

Vaka grubunda kötü uyku kalitesine sahip hasta oranı kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p < 0,05$). Vaka grubunda kötü uyku kalitesi toplam skoru ve uyku ilacı kullanımı hariç alt faktörleri (ÖÜK, UL, US, AUE, UB, GİB puanı) kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p < 0,05$)

Tablo 8- Beck Depresyon Envanteri sonuçları

	Vaka Grubu			Kontrol Grubu			p
	Ort.±SS/n-%	Med(Min-Mak)		Ort.±SS/n-%	Med(Min-Mak)		
Beck Dep. Skoru	15,7 ± 9,0	15	4 - 37	8,1 ± 7,1	6	0 - 35	0,000 ^m
Minimal Depresyon	13	33%		29	73%		
Hafif Depresyon	10	25%		6	15%		0,003 ^{X²}
Orta Depresyon	12	30%		4	10%		
Şiddetli Depresyon	5	13%		1	3%		

^mMann-whitney u test / ^{X²} Ki-kare test

Vaka grubunda Beck Depresyon Envanteri skoru kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksekti ($p < 0,05$).

Tablo 9- Vaka ve kontrol grubu tetkik sonuçları

	Vaka Grubu		Kontrol Grubu		P
	Ort.± SS/n-%	Med(Min-Mak)	Ort.±SS/n-%	Med(Min-Mak)	
Ferritin	46,7 ± 38,7	39 7 - 167	49,9 ± 39,0	36 7 - 154	0,607 ^m
Demir	85,9 ± 36,1	79 40 - 195	96,6 ± 36,5	86 50 - 208	0,090 ^m
WBC	7,0 ± 1,8	6,9 3,5 - 11,7	6,5 ± 2,0	5,8 1,4 - 11,7	0,186 ^m
RBC	4,7 ± 0,3	4,7 4,1 - 5,8	4,6 ± 0,5	4,5 3,8 - 5,8	0,031 ^m
HGB	13,7 ± 1,1	14 12 - 16	13,7 ± 1,4	14 11 - 17	0,840 ^m
HCT	40,2 ± 3,2	40 34 - 48	40,0 ± 4,1	39 34 - 51	0,535 ^m
PLT	276 ± 73	271 178 - 464	282 ± 57	279 191 - 447	0,450 ^m
NEU %	58,6 ± 6,6	59 47 - 71	54,0 ± 7,4	55 39 - 74	0,008 ^m
NEU	4,1 ± 1,3	4,0 1,7 - 7,8	3,5 ± 1,3	3,1 0,7 - 6,5	0,021 ^m
LYM %	31,1 ± 6,1	31 20 - 43	35,0 ± 6,7	34 20 - 49	0,013 ^m
LYM	2,1 ± 0,6	2,0 1,1 - 3,8	2,3 ± 0,8	2,2 0,5 - 4,5	0,567 ^m
Monosit %	6,7 ± 1,7	7 2,8 - 10,3	6,6 ± 1,8	7 3,1 - 10,9	0,564 ^m
Monosit	0,5 ± 0,1	0,5 0,2 - 1,0	0,4 ± 0,1	0,4 0,1 - 0,7	0,292 ^m
Hepsidin	11,5 ± 0,9	11 10 - 14	11,0 ± 1,0	11 10 - 15	0,001 ^m

^mMann-whitney u test

Vaka ve kontrol grupları arasında ferritin, demir, beyaz kan hücresi, hemoglobin, hematokrit, platelet değerleri, lenfosit sayısı, monosit yüzdesi, monosit sayısı anlamlı farklılık göstermemiştir ($p>0,05$). Vaka grubunda kırmızı kan hücresi değeri, nötrofil sayısı, lenfosit yüzdesi ve çok daha belirgin olarak nötrofil yüzdesi ve hepsidin değeri kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p<0,05$).

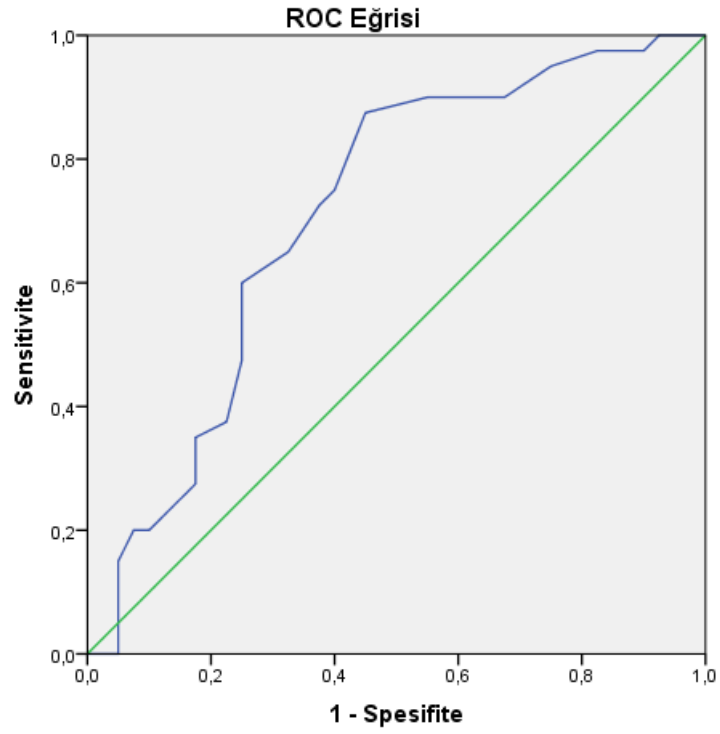
Tablo 10- Tek değişkenli model ve çok değişkenli indirgenmiş model

	Tek Değişkenli Model			Çok Değişkenli İndirgenmiş Model		
	OR	%95 GA	p	OR	%95 GA	p
Yaş	0,976	0,930 - 1,024	0,326			
Cinsiyet	1,615	0,614 - 4,247	0,331			
VKI	0,996	0,921 - 1,077	0,920			
Pittsburg Uyku Kalitesi	0,054	0,014 - 0,206	0,000	0,092	0,021 - 0,408	0,002
Beck Dep.Env.skoru	0,883	0,822 - 0,948	0,001	0,913	0,838 - 0,994	0,036
Ferritin	1,002	0,991 - 1,014	0,707			
Demir	1,008	0,996 - 1,021	0,193			
WBC	0,872	0,688 - 1,107	0,260			
RBC	0,367	0,123 - 1,092	0,072			
HGB	0,988	0,690 - 1,415	0,949			
HCT	0,986	0,874 - 1,112	0,818			
PLT	1,001	0,995 - 1,008	0,694			
NEU %	0,909	0,848 - 0,975	0,008			
LYM %	1,100	1,021 - 1,185	0,012			
Monosit %	0,955	0,740 - 1,232	0,722			
Hepsidin	0,117	0,038 - 0,360	0,000	0,106	0,026 - 0,429	0,002

Lojistik Regresyon

Tek değişkenli modelde vaka ve kontrol grubunun ayırımında Pittsburg uyku kalitesi skoru, Beck depresyon envanteri skoru, nötrofil ve lenfosit yüzdesi, hepsidin değerinin anlamlı etkinliği gözlenmiştir ($p < 0,05$). Çok değişkenli indirgenmiş modelde vaka ve kontrol grubunun ayırımında Pittsburg uyku kalitesi skoru, Beck depresyon envanteri skoru, hepsidin değerinin anlamlı ($p < 0,05$) bağımsız etkinliği gözlenmiştir.

Tablo 11- ROC (Receiver Operating Characteristic;Alıcı İşletim Karakteristiği) eğrisi



Tablo 12- ROC eğrisi özellikleri

	Eğri Altı Alan	% 95 GA	p
Hepsidin (cut off 10,45 ng/ml)	0,712	0,596 - 0,828	0,001
		-	
		Sensivite	87,5%
		Pozitif Kestirim	66,0%
		Spesifite	55,0%
		Negatif Kestirim	81,5%

Vaka ve kontrol grubunun ayırımında hepsidin değerinin anlamlı ($p < 0.05$) öngörücü etkisi gözlenmiştir. Vaka ve kontrol grubunun ayırımında eğri altı alanı [EAA:0,712 (0,596-0,828)] en yüksek hepsidin değeri (cut off değeri) 10,45 ng/ml idi. Sensivite % 87,5; pozitif kestirim % 66; spesifite % 55; negatif kestirim % 81,5 idi.

Tablo 13- Hepsidin ile Hb, ferritin ve demir korelasyonu (Spearman's rho) *

	Korelasyon katsayısı	p
Hepsidin- Hemoglobin (n=80)	-0,103	0,361
Hepsidin- Ferritin (n=80)	-0,203	0,068
Hepsidin- Demir (n=80)	-0,263	0,018

* Spearman'ın sıralama korelasyon katsayısı

Hepsidin ile demir düzeyi arasında negatif yönde zayıf korelasyon saptandı ve bu korelasyon istatistiksel açıdan anlamlı idi ($p < 0,05$). Hepsidin ile hemoglobin ve ferritin arasında negatif yönde zayıf korelasyon saptandı ve bu korelasyon istatistiksel açıdan anlamlı değildi ($p > 0,05$).

5.TARTIŞMA

Çalışmamızda primer HBS hastalarında serum hepsidin düzeyleri, sağlıklı kontrol grubuna kıyasla anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Fakat serum hepsidin düzeyleri ve HBS şiddeti arasında korelasyon saptanmamıştır. Pubmed, Google Scholar internet sitelerinde “RLS and hepcidin”, “RLS, serum hepcidin”, “Restless legs syndrome, hepcidin”, “WED, hepcidin” anahtar kelimeleri ile yaptığımız literatür araştırmasında HBS ve serum hepsidin düzeyi ilişkisini inceleyen bir çalışmaya rastlamadık.

Bir hastalık olarak 17. yüzyılda tanımlanan HBS'nin patofizyolojisinde demir metabolizması bozukluğunun aldığı rol 1900'lü yılların ikinci yarısında Nordlander tarafından ele alınmıştır. Günümüzde halen sekonder HBS'nin başlıca en iyi kanıtlanmış risk faktörü demir eksikliğidir. Sekonder HBS, vücut demir dengesinin bozulduğu anemi, gebelik, son dönem böbrek yetmezliği ile ilişkili bulunmuştur ve bu olgularda demir eksikliğinin agresif tedavisinin HBS şiddetini azalttığı bildirilmiştir. Fakat çoğu HBS hastasının serum ferritini normaldir ve periferik demir depoları yeterli görünmektedir. Bu da HBS'nin periferik yerine santral sinir sistemi demir durumu ile ilgili olduğunu düşündürmektedir (Allen 2015). HBS hastalarının beyinlerindeki azalmış demir konsantrasyonunun altta yatan mekanizması henüz anlaşılamamıştır fakat çalışmalar, beyin demir eksikliğinin kaynağının kan beyin bariyeri arayüzünden kaynaklandığını desteklemektedir (Dauvilliers and Winkelmann 2013). Kan beyin bariyeri epitelyal hücreleri, beynin demir deposu olarak görev almaktadır. HBS'de, mikrosirkülasyondaki demir düzenleyici protein aktivitesindeki bir kayıp kan beyin bariyerine demir taşınmasının bozulmasına ve endotelyal hücrelerdeki demir depolarının yetersiz hale gelmesine neden olabilir (Connor et al. 2011a).

Çalışmamızda periferik dolaşımda demir/demir metabolizması belirteçlerinden serum demir düzeyi, ferritin düzeyi değerlendirilmiş olup normal sınırlarda olan hasta/kontroller çalışmaya dahil edilmiştir. Bu sayede periferik demir eksikliğine bağlı sekonder etyolojiler ekarte edilmiştir.

HBS primer ve sekonder olarak ikiye ayrılmaktadır fakat Trenkwalder ve ark.na göre bu sınıflama yanlış yönlendiricidir ve hipotezlerine göre HBS bir uçta genetik faktörlerin, bir diğer uçta çevresel faktörlerin ve eşlik eden hastalıkların büyük

katkısının olduğu süreğen bir spektrumun parçası gibi görünmektedir. Genetik yük ne kadar fazla ise tetikleyici çevresel faktör veya eşlik eden hastalığa ihtiyaç o ölçüde azalmaktadır. Sistematik literatür araştırması ile HBS ilişkili ek hastalıkların araştırıldığı bir derlemede sadece demir eksikliği ve böbrek hastalığında HBS için artmış prevalans tanımlanmıştır. Kardiyovasküler hastalıklar, diyabet (ve nöropati), migren ve Parkinson hastalığının HBS ile ilişkisi olası olarak bulunmuş; demir eksikliği olmaksızın anemi, hipertansiyon, MS, migren dışı başağrıları, inme ve ataksilerle HBS ilişkisi içinse yeterli bilimsel kanıt bulunmadığı belirtilmiştir (Trenkwalder et al. 2016).

HBS tanısı anamnez ve nörolojik muayene yardımıyla klinik olarak konulmakla birlikte; güncel tanı kriterleri, HBS'yi taklit edebilecek benzer mekanizmaya sahip diğer hastalıkların ekartasyonunu gerektirmektedir (Allen and the International Restless Legs Syndrome Study Group: IRLSSG 2014). Bu da tanı koyma konusunda bir kaosa neden olmaktadır, böylece klinik pratikte bir biyobelirteç ihtiyacı doğmaktadır. Biz hasta ve kontrol grubu seçimimizde; gerek özgeçmiş, gerek nörolojik muayene, gerek laboratuvar yöntemleri ile olası sekonder nedenleri tek tek ekarte etmeye çalıştık.

Primer HBS hastalarında periferik kan ve BOS incelemelerinde, beyin görüntüleme çalışmalarında demir ve demir metabolizması ile ilgili parametreleri inceleyen çok sayıda çalışma mevcuttur. Fakat literatürde HBS'de, demir metabolizmasının düzenlenmesinde kilit rol oynayan hepsidin ile ilgili oldukça az veriye rastlanmıştır.

Hepsidin; ilk olarak antimikrobiyal özelliği keşfedilen, ana olarak karaciğerde üretilen, idrarla atılan peptid yapıda bir hormondur (Krause et al. 2000, Park et al. 2001). Keşfinden kısa süre sonra antimikrobiyal özelliğinin yanında demir metabolizmasındaki önemli rolü ortaya konmuştur (Pigeon et al. 2001) Hepsidin, organizmada demir metabolizmasının sistemik düzeyde düzenlenmesinden sorumlu, bilinen tek hormondur (Silva and Faustino 2015).

Obstrüktif uyku apne sendromu (Obstructive Sleep Apnea Syndrome, OSAS) ile serum hepsidin düzeyi ilişkisini inceleyen, OSAS'lı 184 hasta ve 110 kişiden oluşan sağlıklı kontrol grubu ile yapılan çalışmada; OSAS hastalarında serum hepsidin düzeyi

kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Serum hepsidin seviyesinin OSAS varlığı ve şiddeti ile korele olduğu bildirilmiştir. Bu sonucun, OSAS patofizyolojisinde rol oynayan inflamasyonla ilintili olabileceği öne sürülmüştür (Liu et al. 2014). Abakay ve ark. ise OSAS hastalarında hepsidin düzeylerinin periyodik ekstremite hareketleri (PLM) indeksi ve OSAS şiddeti ile korelasyon gösterdiğini bildirmişlerdir. Aynı çalışmada serum hepsidin düzeyleri ile serum demir düzeyleri arasında anlamlı negatif korelasyon saptanmıştır (2015).

12 erken, 13 geç başlangıçlı primer HBS hastası ve 14 kişilik kontrol grubu ile yapılan, BOS'ta pro-hepsidin düzeylerinin ölçüldüğü bir çalışmada erken başlangıçlı HBS hastalarının BOS'unda pro-hepsidin düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı olarak azalmış olduğu bildirilmiştir. 8 primer HBS hastası ve 8 kişiden oluşan kontrol grubu ile yapılan otopsi incelemesinde ise HBS'li hastaların nöromelanin hücrelerinde, SN ve putamende pro-hepsidin konsantrasyonu kontrol grubuna göre artmış olduğu bildirilmiştir. Aynı çalışmada ventrikülleri çevreleyen ependimal hücrelerde, koroid pleksus epiteliyal hücrelerinde ferroportin salgılandığına işaret eden immunohistokimyasal kanıt elde edilmiştir. Bu durumda BOS'taki pro-hepsidin düzeylerinin düşmesinin beyin demirinin düşmesine yanıt olarak mı gerçekleştiği yoksa HBS'deki hatalı sinyalizasyon sonucu mu olduğu ayırt edilememiştir (Clardy et al. 2006).

Primer HBS'de sıklıkla görülen santral demir eksikliği, çoğu sekonder HBS olgusunda yeterince araştırılmamıştır. İdiopatik HBS olarak değerlendirilen hastaların bir kısmında immun-inflamatuar mekanizmaların rol oynayabileceğini düşündüren veriler mevcuttur. HBS patofizyolojisinden sorumlu olabilecek kronik inflamasyon; dolaşımdaki hepsidin seviyelerinin artmasına yol açabilir. İnflamasyonda ortaya çıkan IL-6 hepsidin üretimini uyarabilir, ayrıca hipoksi ve LPS üretimi de hepsidin düzeylerini artırmaktadır. Artan hepsidin de koroid pleksus ilişkili ferroportine bağlanmak suretiyle santral sinir sistemi için kullanılacak demir miktarının azalmasına yol açabilir (Weinstock et al. 2012). Hastalarımızda ve kontrol grubumuzda aktif inflamatuvar süreci ekarte etmek amacıyla CRP, WBC ve eritrosit sedimentasyon hızı değerleri normal sınırlarda olan hastaları çalışmamıza aldık.

Genel populasyonda serum hepsidin değeri referans aralıkları ve serum hepsidinin biyokimyasal parametreler ile ilişkisini araştıran, 2998 katılımcıyla geręekleřtirilen çalışmada; erkeklerde serum hepsidin konsantrasyonu yaş ile değişiklik göstermemekte ve 1,674-65,007 ng/ml referans aralığında bulunmakta; 55 yaş altı kadınlarda 1,116-54,963 ng/ml, 55 yaş ve üstü kadınlarda 3,348-69,112 ng/ml referans aralığında bulunmaktadır. Erkeklerde ortalama değer yaş ile değişiklik göstermezken, postmenopozal kadınlarda, premenopozal dönemdeki kadınlardan daha yüksek ölçülmüştür. Aynı çalışmada sabah serum hepsidin değerleri (ğle 12.00'den önce), her iki cinsiyet için akşam (saat 17.00'den sonra) serum hepsidin değerlerinden düşük bulunmuştur. Serum ferritin değerleri ile serum hepsidin değerleri arasında pozitif yönlü bir ilişki bulunmuştur (Galesloot et al. 2011). Bizim alışmamızda serum ferritin ile serum hepsidin değerleri arasında istatistiksel anlamlı korelasyon bulunmamakta, buna karşın serum demir düzeyi ile serum hepsidin düzeyi arasında negatif yönde zayıf korelasyon bulunmaktaydı. Bu farklılığın nedeni; çalışmamızda genel popülasyondan farklı olarak, sekonder HBS nedenleri ekartasyonu yapılmış, yani periferik demir eksikliği bulunmayan, popülasyonla çalışmamız olabilir. Çalışmamızda hepsidinin HBS tanısında sensitivite ve spesifite araştırmak amacıyla ROC eğrisi kullanılarak yapılan analizde HBS tanısı için cut off değeri 10,45 ng/ml bulunmuştur.

HBS'nin kadınlarda erkeklerden sık görüldüğü bildirilmiştir. Ülkemizde geręekleřtirilen çalışmalarda; Erer ve ark. Bursa Orhangazi'de kadın/erkek oranının 2,6:1 olduğunu (2009), Taşdemir ve ark. Kandıra'da bu oranın 3,5:1 olduğunu (2010), Altunayoğlu ve ark. ise Trabzon'da 1,8:1 olduğunu (2015) rapor etmişlerdir. Çalışmamızda bu oran 3:1 olup, literatür ile uyumlu olarak HBS'nin kadın cinsiyette daha sık görüldüğünü destekler niteliktedir.

Çalışmamızda HBS hastalarının yaş ortalaması $46,85 \pm 8,6$ (yıl) idi. Hastalık süresi $11,1 \pm 6,8$ yıl, ortalama tanı süresi ise 3,2 yıl idi. Hastaların geç tanı alma nedeni; başlangıç aşamasında semptomları hafifken şikayetlerini önemsememeleri, doktora geç başvurmaları ve/veya doktorların HBS'yi yeterince tanımıyor olmalarından kaynaklanıyor olabilir. Vaka ve kontrol grubunda hastaların yaşları, cinsiyet dağılımı, vücut kitle indeksi değerleri istatistiksel anlamlı farklılık göstermemiştir ($p > 0,05$).

Çalışmamızda HBS'li hastalarda kötü uyku kalitesi oranı ve Beck depresyon envanteri skorları literatürle uyumlu olarak kontrol grubundan ($p < 0,05$; $p < 0,05$) daha yüksek bulunmuştur (Allen et al. 2014a, Picchietti and Winkelman 2005). Çalışmamızda sekonder sebeplerden anemi ve inflamatuvar süreçler ekarte edilmesine rağmen HBS hastalarında kırmızı kan hücresi değeri, nötrofil sayısı ve yüzdesi, lenfosit yüzdesi, hepsidin değeri kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$).

Çalışmamızın kısıtlı yönleri; santral sinir sistemi ve periferik demir durumunu karşılaştırmak amacıyla BOS'ta inceleme yapılmaması, serum hepsidin düzeyinin sirkadiyen özellik gösterip göstermediğini belgelemek amacıyla sabah ve akşam alınan kanlarda inceleme yapılmaması olabilir.

Sonuç olarak; çalışmamızda primer HBS hastalarında serum hepsidin düzeyi sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bulgularımız serum hepsidin düzeyi ölçümünün HBS tanı testi olarak kullanılabileceğini telkin etmektedir fakat bu konuda büyük ölçekli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

6.ÖZET

GİRİŞ VE AMAÇ: Huzursuz Bacak Sendromu (HBS), demir eksikliği ile ilişkisi iyi bilinen ancak etyolojisi henüz net aydınlatılmamış bir hastalıktır. Bu çalışmada primer HBS ile serum hepsidin düzeyi ilişkisi araştırıldı.

GEREÇ VE YÖNTEM: Çalışmaya yaş ortalaması $46,85 \pm 8,6$ olan 40 (30 K ve 10 E), primer HBS hastası ile yaş ortalaması $44,83 \pm 9,8$ olan 40 (26 K ve 14 E) sağlıklı gönüllü alındı. HBS tanısı için IRLSSG 2012 kriterleri esas alındı. Tüm katılımcılardan sekonder HBS'ye neden olabilecek nedenlerin ekartasyonu amacıyla hemogram, CRP, ferritin, serum demir düzeyi ölçümü, tiroid fonksiyon testleri, eritrosit sedimentasyon hızı tetkikleri istendi. Hepsidin ölçümü Human Hepsidin 25 (Hepc25) ELISA kiti ile (Mybiosource, San Diego, USA) yapıldı. Katılımcılarda uyku kalitesi ve depresyon, standardize anket ölçümleriyle değerlendirildi. İstatistiksel değerlendirme SPSS 21.0 paket programı ile yapıldı.

BULGULAR: HBS hastalarında kırmızı kan hücresi sayımı, nötrofil sayısı, lenfosit yüzdesi ve çok daha belirgin olarak nötrofil yüzdesi ve hepsidin değeri kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Hepsidin primer HBS hastalarında ROC eğrisi kullanılarak yapılan analizinde sensitivite %87,5; spesifite %55; pozitif kestirim %66; negatif kestirim %81,5 idi. Eğri altında kalan alan 0,712 saptandı. Pittsburg Uyku Kalitesi İndeksi (PUKİ) ile yapılan değerlendirmede HBS'li hastalarda kötü uyku kalitesi oranı, kontrol grubundan anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p < 0,05$). Beck Depresyon Ölçeği (BDÖ) ile değerlendirilen depresyon oranı HBS grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel anlamlı olarak daha yüksek bulundu ($p < 0,05$).

SONUÇ: Çalışmamızda primer HBS hastalarında serum hepsidin düzeyi sağlıklı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bulgularımız serum hepsidin düzeyi ölçümünün HBS tanısı testi olarak kullanılabilirliğini telkin etmektedir fakat bu konuda büyük ölçekli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Bununla birlikte literatürle uyumlu olarak çalışmamızda HBS'de uyku kalitesi bozulmuş, depresyon skorları da sağlıklı kontrol grubuna göre artmış bulunmuştur.

Anahtar kelimeler: Huzursuz bacak sendromu, serum hepsidin, demir

7.ABSTRACT

INTRODUCTION AND PURPOSE: The relation between the Restless Legs Syndrome (RLS) and the iron deficiency is a well known topic. However, the etiology of the disease has not been clearly determined. In this study the correlation between primer RLS and the serum hepcidin level is examined.

MATERIAL AND METHOD: In our study, the average age of the primer RLS patients was $46,85 \pm 8,6$ years (30F/10M) and control group's average was $44,83 \pm 9,8$ years (26F/14M). In the scope of this research IRLSSG diagnostic criteria (revised in 2012) was taken as basis. In order to avoid the potential variables which might cause a secondary RLS, all the participants were asked to provide hemogram, CRP, ferritin, serum iron levels, thyroid function tests and the erythrocyte sedimentation analysis. The hepcidin levels were measured with Human Heparin (Hepc 25) ELISA kit (Mybiosource, San Diego, USA). The sleep quality of the participants and also the existence of depression were measured and evaluated via standardized questionnaires. SPSS 21.0 software package was used for the statistical evaluation.

FINDINGS: The statistically significant results of our analysis shows that the red blood cell (RBC) count, the neutrophil count, percentage of lymphocytes and more distinctively hepcidin levels and the percentage of neutrophil were higher in RLS patients in comparison with the control group. In the analysis of hepcidin in primer RLS patients based on ROC curve, the following values were determined: sensitivity %87,5; specificity %55; positive prediction %66; negative prediction %81,5. The area under the curve is calculated as 0.712. Depending on Pittsburg Sleep Quality Index (PSQI), significant evaluation results show that the ratio of poor sleep quality in RLS patients is higher in comparison with the control group ($p < 0,05$). The statistically significant depression scores based on Beck Depression Scale (BDS) were determined high in RLS patients in comparison with the control group ($p < 0,05$).

CONCLUSION: The results of our study reveal that the serum hepcidin level is higher in RLS patients in comparison with healthy control group. Our findings show that measurement of serum hepcidin levels might be used for diagnostic test of RLS.

However, further and comprehensive investigations are needed for validation of this outcome. In compliance with the existing literature, the higher depression scores and poorer sleep quality in RLS patients can be considered as other crucial findings of our study.

Keywords: Restless legs syndrome, serum hepcidin, iron.



KAYNAKLAR

- Abakay O, Abakay A, Palanci Y, Yuksel H, Sen HS, Evliyaoglu O, Tanrikulu AC. (2015). Relationship between hepcidin levels and periodic limb movement disorder in patients with obstructive sleep apnea syndrome. *Sleep and Breathing*, 19(2), 459-466.
- Ağargün MY, Kara H, Anlar O. (1996). Translation and validation of the Turkish version of the Pittsburg Sleep Quality Index (PSQI). *Turk Psikiyatri Dergisi*, 7(2), 107-115.
- Akpinar S. (1982). Treatment of restless legs syndrome with levodopa plus benserazide. *Archives of neurology*, 39(11), 739-739.
- Allen RP. (2015). Restless Leg Syndrome/Willis-Ekbom Disease Pathophysiology. *Sleep medicine clinics*, 10(3), 207-214
- Allen RP, Picchietti DL, Garcia-Borreguero D, Ondo WG, Walters AS, Winkelman JW, Zucconi M, Ferri R, Trenkwalder C, Lee HB ; International Restless Legs Syndrome Study Group. (2014) Restless legs syndrome/Willis-Ekbom disease diagnostic criteria: updated International Restless Legs Syndrome Study Group (IRLSSG) consensus criteria--history, rationale, description, and significance. *Sleep Med.* 15(8):860-873
- Allen RP, Chen C, Garcia-Borreguero D, Polo O, DuBrava S, Miceli J, Knapp L, Winkelman JW. (2014). Comparison of pregabalin with pramipexole for restless legs syndrome. *New England Journal of Medicine*, 370(7), 621-631
- Allen RP, Auerbach S, Bahrain H, Auerbach M, Earley CJ. (2013). The prevalence and impact of restless legs syndrome on patients with iron deficiency anemia. *American journal of hematology*, 88(4), p: 261-264
- Allen RP, Connor JR, Hyland K, Earley CJ. (2009). Abnormally increased CSF 3-Ortho-methyl-dopa (3-OMD) in untreated restless legs syndrome (RLS) patients indicates more severe disease and possibly abnormally increased dopamine synthesis. *Sleep medicine*, 10(1), 123-128
- Allen RP, Walters AS, Montplaisir J, Hening W, Myers A, Bell TJ, Ferini-Strambi L. (2005) Restless legs syndrome prevalence and impact: REST general population study. *Arch Intern Med.* 13;165(11), p 1286-1292
- Allen RP, Picchietti D, Hening WA, Trenkwalder C, Walters AS, Montplaisir J. (2003). Restless legs syndrome: diagnostic criteria, special considerations, and epidemiology: a report from the restless legs syndrome diagnosis and epidemiology workshop at the National Institutes of Health. *Sleep medicine*, 4(2), 101-119

- Allen RP, La Buda MC, Becker P, Earley CJ (2002) Family history study of the restless legs syndrome. *Sleep Med* 3(Suppl):S3–S7
- Allen RP, Barker PB, Wehrl F, Song HK, Earley CJ. (2001). MRI measurement of brain iron in patients with restless legs syndrome. *Neurology*,56 (2), 263-265
- Allen RP, Earley CJ.(2000) Defining the phenotype of the restless legs syndrome (RLS) using age-of-symptom-onset, *Sleep Med* 1:11-9
- Anderson CP, Shen M, Eisenstein RS, Leibold EA. (2012). Mammalian iron metabolism and its control by iron regulatory proteins.*Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1823(9), 1468-1483.
- Altunayoglu Cakmak V, Koc B, Nuhoglu I, Topbas M, Yesilbas Ucuncu S, Deger O, Kamburoğlu S, Velioglu, S. (2015). Prevalence of restless legs syndrome in Trabzon in the northeast Black Sea Region of Turkey: co-morbidities, socioeconomic factors and biochemical parameters. *Neurological research*, 37(9):751-62
- Ashby DR, Gale DP, Busbridge M, Murphy KG, Duncan ND, Cairns TD, Taube DH, Bloom SR, Tam FWK, Chapman R, Maxwell PH, Choi P. (2010). Erythropoietin administration in humans causes a marked and prolonged reduction in circulating hepcidin.*haematologica*, 95(3), 505-508.
- Aukerman MM, Aukerman D, Bayard M, Tudiver F, Thorp L, Bailey B. (2006). Exercise and restless legs syndrome: a randomized controlled trial.*The Journal of the American Board of Family Medicine*, 19(5), 487-493.
- Aydemir Ö, Köroğlu E. (Eds), (2009). *Psikiyatride kullanılan klinik ölççekler*. 4. Baskı, HYB basım yayın, Ankara, s.147-153; 399-405.
- Balaban H, Yıldız OK, Cil G, Senturk AI, Erselcan T, Balayır T, Topaktas S. (2012). Serum 25-hydroxyvitamin D levels in restless legs syndrome patients. *Sleep Medicine* 13, p 953–957
- Ben-Shachar D, Finberg JP, Youdim MB. (1985). Effect of iron chelators on dopamine D2 receptors. *Journal of neurochemistry*, 45(4), 999-1005
- Berger K, Luedemann J, Trenkwalder C, John U, Kessler C. (2004) Sex and the risk of restless legs syndrome in the general population *Arch Intern Med*, 164(2) p 196–202
- Beutler E, Waalen J. (2006). The definition of anemia: what is the lower limit of normal of the blood hemoglobin concentration?. *Blood*, 107(5), 1747-1750.

- Brissot P, Ropert M, Le Lan C, Loréal O. (2012). Non-transferrin bound iron: a key role in iron overload and iron toxicity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1820(3), 403-410.
- Červenka S, Pålhagen SE, Comley RA, Panagiotidis G, Cselényi Z, Matthews JC, Lai RY, Halldin C, Farde L. (2006). Support for dopaminergic hypoactivity in restless legs syndrome: a PET study on D2-receptor binding. *Brain*, 129(8), 2017-2028
- Chang Y, Chang HW, Song H, Ku J, Earley CJ, Allen RP, Cho YW. (2015). Gray matter alteration in patients with restless legs syndrome: a voxel-based morphometry study. *Clinical imaging*, 39(1), 20-25
- Chokroverty S. (2015). Differential Diagnoses of Restless Legs Syndrome/Willis-Ekbom Disease: Mimics and Comorbidities. *Sleep medicine clinics*, 10(3), 249-262
- Clardy SL, Wang X, Boyer PJ, Earley CJ, Allen RP, Connor JR. (2006). Is ferroportin-hepcidin signaling altered in restless legs syndrome?. *Journal of the neurological sciences*, 247(2), 173-179.
- Comley RA, Cervenka S, Palhagen SE, Panagiotidis G, Matthews JC, Lai RY, Halldin C, Farde L, Nichols TE, Whitcher BJ. (2012). A Comparison of Gray Matter Density in Restless Legs Syndrome Patients and Matched Controls Using Voxel-Based Morphometry. *Journal of Neuroimaging*, 22(1), 28-32
- Connor JR, Ponnuru P, Wang XS, Patton SM, Allen RP, Earley CJ. (2011). Profile of altered brain iron acquisition in restless legs syndrome. *Brain*, 134;959-968
- Connor JR, Ponnuru P, Lee BY, Podskalny GD, Alam S, Allen RP, Earley CJ, Yang QX. (2011). Postmortem and imaging based analyses reveal CNS decreased myelination in restless legs syndrome. *Sleep medicine*, 12(6), 614-619
- Connor JR, Wang XS, Patton SM, Menzies SL, Troncoso JC, Earley CJ, Allen RP. (2004). Decreased transferrin receptor expression by neuromelanin cells in restless legs syndrome. *Neurology*, 62(9), 1563-1567
- Cornelius JR, Tippmann-Peikert M, Slocumb NL, Frerichs CF, Silber MH. (2010). Impulse control disorders with the use of dopaminergic agents in restless legs syndrome: a case-control study. *Sleep*, 33(1), 81.
- Cotter PE, O’Keeffe ST. (2006) Restless leg syndrome: is it a real problem? *Therapeutics and Clinical Risk Management*. 2(4):465–475

- Crichton RR, Dexter DT, Ward RJ. (2011). Brain iron metabolism and its perturbation in neurological diseases *J Neural Transm (Vienna)*. 118 (3) p:301-314
- Dauvilliers Y, Winkelmann J. (2013). Restless legs syndrome: update on pathogenesis. *Current opinion in pulmonary medicine*, 19(6), 594-600.
- Dooley DJ, Taylor CP, Donevan S, Feltner D. (2007). Ca²⁺ channel $\alpha 2 \delta$ ligands: novel modulators of neurotransmission. *Trends in pharmacological sciences*, 28(2), 75-82.
- Earley CJ, Kuwabara H, Wong DF, Gamaldo C, Salas R, Brasic J, Rayert HT, Dannals RF, Allen R. P. (2011). The dopamine transporter is decreased in the striatum of subjects with restless legs syndrome. *Sleep*, 34(3), 341
- Earley CJ, Allen RP, Connor JR, Ferrucci L, Troncoso J. (2009). The dopaminergic neurons of the A11 system in RLS autopsy brains appear normal. *Sleep medicine*, 10(10), 1155-1157
- Erer S, Karli N, Zarifoglu M, Ozcakil A, Yildiz D. (2009) The prevalence and clinical features of restless legs syndrome: a door to door population study in Orhangazi, Bursa in Turkey. *Neurol India*. 57(6):729-33
- Erikson KM, Jones BC, Beard JL (2000). Iron deficiency alters dopamine transporter functioning in rat striatum. *The Journal of nutrition*, 130(11), 2831-2837
- Ferini-Strambi L. (2007). RLS-like symptoms: differential diagnosis by history and clinical assessment. *Sleep medicine*, 8, S3-S6.
- Galesloot TE, Vermeulen SH, Geurts-Moespot AJ, Klaver SM, Kroot JJ, van Tienoven D, Wetzels JFM, Kiemeny LALM, Sweep FC, den Heijer M, Swinkels DW. (2011). Serum hepcidin: reference ranges and biochemical correlates in the general population. *Blood*, 117(25), e218-e225.
- Galy B, Ferring-Appel D, Becker C, Gretz N, Gröne HJ, Schümann K, Hentze MW. (2013). Iron regulatory proteins control a mucosal block to intestinal iron absorption. *Cell reports*, 3(3), 844-857.
- Ganz T. (2013). Systemic iron homeostasis. *Physiological reviews*, 93(4), 1721-1741.
- Ganz T, Nemeth E. (2006). Regulation of iron acquisition and iron distribution in mammals. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1763(7), 690-699.
- Garcia-Borreguero D, Kohnen R, Silber MH, Winkelmann JW, Earley CJ, Högl B, Manconi M, Montplaisir J, Inoue Y, Allen RP. (2013). The long-term treatment of restless legs syndrome/Willis–Ekbom disease: evidence-based guidelines and clinical consensus best

- practice guidance: a report from the International Restless Legs Syndrome Study Group. *Sleep medicine*, 14(7), 675-684.
- Gozzelino R, Arosio P. (2016). Iron Homeostasis in Health and Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(1), 130.
- Gudjoncik A, Guenancia C, Zeller M, Cottin Y, Vergely C, Rochette L. (2014). Iron, oxidative stress, and redox signaling in the cardiovascular system. *Molecular nutrition & food research*, 58(8), 1721-1738.
- Guilleminault C, Cetel M, Philip P. (1993). Dopaminergic treatment of restless legs and rebound phenomenon. *Neurology*, 43(2), 445-445.
- Gunshin H, Mackenzie B, Berger U V, Gunshin Y, Romero MF, Boron WF, Nussberger S, Gollan JL, Hediger MA. (1997). Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature*, 388(6641), 482-488.
- Haase VH. (2010). Hypoxic regulation of erythropoiesis and iron metabolism. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 299(1), F1-F13.
- Hallberg L, Björn-Rasmussen E, Howard L, Rossander L. (1979). Dietary heme iron absorption: a discussion of possible mechanisms for the absorption-promoting effect of meat and for the regulation of iron absorption. *Scandinavian journal of gastroenterology*, 14(7), 769-779.
- Harris ZL, Durley AP, Man TK, Gitlin JD. (1999). Targeted gene disruption reveals an essential role for ceruloplasmin in cellular iron efflux. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(19), 10812-10817.
- Hening W, Walters AS, Allen RP, Montsplaisir J, Myers A, Ferini-Strambi L. (2004) Impact, diagnosis and treatment of restless legs syndrome (RLS) in a primary care population: the REST (RLS epidemiology, symptoms, and treatment) primary care study. *Sleep Med* 5:237-246
- Higuchi T, Abe M, Mizuno M, Yamazaki T, Suzuki H, Moriuchi M, Oikawa E, Ando H, Okada, K. (2015). Association of restless legs syndrome with oxidative stress and inflammation in patients undergoing hemodialysis. *Sleep Medicine* 16 p:941-948
- Hisli N. (1989). Beck Depresyon Envanterinin üniversite öğrencileri için geçerliği, güvenilirliği. *Psikoloji dergisi*, 7(23), 3-13.
- International Restless Legs Syndrome Study Group. (2003). Validation of the International Restless Legs Syndrome Study Group rating scale for restless legs syndrome. *Sleep medicine*, 4(2), 121-132.

- Jenner P. (2005). A novel dopamine agonist for the transdermal treatment of Parkinson's disease. *Neurology*, 65(2 suppl 1), S3-S5.
- Karroum EG, Leu-Semenescu S, Arnulf I. (2012) Topography of the sensations in primary restless legs syndrome. *J Neurol Sci*, 320 pp. 26–31
- Kautz L, Jung G, Valore EV, Rivella S, Nemeth E, Ganz, T. (2014). Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nature genetics*, 46(7), 678.
- Kautz L, Meynard D, Monnier A, Darnaud V, Bouvet R, Wang RH, Deng C, Valount S, Mosser J, Coppin H, Roth MP. (2008). Iron regulates phosphorylation of Smad1/5/8 and gene expression of Bmp6, Smad7, Id1, and Atoh8 in the mouse liver. *Blood*, 112(4), 1503-1509.
- Kemna EH, Tjalsma H, Willems HL, Swinkels DW. (2008). Hpcidin: from discovery to differential diagnosis. *Haematologica*, 93(1), 90-97.
- Kerr S, McKinon W, Bentley A. (2012) Descriptors of restless legs syndrome sensations. *Sleep Medicine*. Volume 13, Issue 4, p: 409–413
- Kompoliti K, Verhagen L. (2010) Restless legs syndrome. In *Encyclopedia of Movement Disorders*, Hamilton P, Walters AS (Eds), Three-Volume Set, 1st Edition, Academic Press, San Diego, p.32-33
- Koo BB. (2015). Restless leg syndrome across the globe: Epidemiology of the restless legs syndrome/Willis-Ekbom Disease. *Sleep Med Clin*. 10(3):189-205
- Krause A, Neitz S, Mägert HJ, Schulz A, Forssmann WG, Schulz-Knappe P, Adermann K. (2000). LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS letters*, 480(2), 147-150
- Kristiansen M, Graversen JH, Jacobsen C, Sonne O, Hoffman HJ, Law SA, Moestrup SK. (2001). Identification of the haemoglobin scavenger receptor. *Nature*, 409(6817), 198-201.
- Laftah AH, Latunde-Dada GO, Fakh S, Hider RC, Simpson RJ, McKie AT. (2009). Haem and folate transport by proton-coupled folate transporter/haem carrier protein 1 (SLC46A1). *British journal of nutrition*, 101(08), 1150-1156.
- Leitner DF, Connor JR. (2012). Functional roles of transferrin in the brain. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 1820(3), 393-402.

- Lettieri CJ, Eliasson AH. (2009). Pneumatic compression devices are an effective therapy for restless legs syndrome: a prospective, randomized, double-blinded, sham-controlled trial. *CHEST Journal*, 135(1), 74-80.
- Lin CH, Sy HN, Chang HW, Liou HH, Lin CY, Wu VC, Wu SL, Chang CC, Chiu PF, Li WY, Lin SY, Wu KD, Chen YM, Wu RM. (2015). Restless legs syndrome is associated with cardio/cerebrovascular events and mortality in end-stage renal disease. *European Journal of Neurology*, 22(1), 142-149
- Liu Y, Yu Z, Hua D, Chen Y, Zheng S, Wang L. (2015). Association of serum hepcidin levels with the presence and severity of obstructive sleep apnea syndrome. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*, 21:27-31.
- Mallon L, Broman JE, Hetta J (2008) Restless legs symptoms with sleepiness in relation to mortality: 20-year follow-up study of a middle-aged Swedish population. *Psychiatry Clin Neurosci*, 62 pp. 457–463
- Manconi M, Govoni V, De Vito A, Economou NT, Cesnik E, Casetta I, Mollica G, Ferini-Strambi L, Granieri, E (2004). Restless legs syndrome and pregnancy. *Neurology*, 63(6), 1065-1069
- McKie AT, Barrow D, Latunde-Dada GO, Rolfs A, Sager G, Mudaly E, Richardson C, Barlows D, Bomford A, Peters TJ, Raja KB, Shirali S, Hediger MA, Farzaneh F, Simpson RJ. (2001). An iron-regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. *Science*, 291(5509), 1755-1759.
- Merlino G, Valente M, Serafini A, Gigli GL. (2007). Restless legs syndrome: diagnosis, epidemiology, classification and consequences. *Neurological Sciences*, 28(1), S37-S46
- Meynard D, Kautz L, Darnaud V, Canonne-Hergaux F, Coppin H, Roth MP. (2009). Lack of the bone morphogenetic protein BMP6 induces massive iron overload. *Nature genetics*, 41(4), 478-481.
- Michaud M, Soucy JP, Chabli A, Lavigne G, Montplaisir J. (2002). SPECT imaging of striatal pre- and postsynaptic dopaminergic status in restless legs syndrome with periodic leg movements in sleep. *Journal of neurology*, 249(2), 164-170
- Mizuno S, Mihara T, Miyaoka T, Inagaki T, Horiguchi J. (2005). CSF iron, ferritin and transferrin levels in restless legs syndrome. *Journal of sleep research*, 14(1), 43-47
- Montplaisir J, Boucher S, Poirier G, Lavigne G, Lapierre O, Lespérance P. Clinical, polysomnographic, and genetic characteristics of restless legs syndrome: a study of 133 patients diagnosed with new standard criteria *Mov Disord*, 12 (1997), pp. 61–65

- Moore H, Winkelmann J, Lin L, Finn L, Peppard P, Mignot E. (2014). Periodic leg movements during sleep are associated with polymorphisms in BTBD9, TOX3/BC034767, MEIS1, MAP2K5/SKOR1, and PTPRD. *Sleep*,37(9), 1535-1542.
- Nordlander NB. (1954). Restless legs. *The British journal of physical medicine: including its application to industry*, 17(7), 160-162.
- Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, Devaux I, Beaumont C, Kahn A, Vaulont S. (2002). The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *The Journal of clinical investigation*, 110(7), 1037-1044.
- Ondo WG. (2014). Restless legs syndrome: pathophysiology and treatment. *Current treatment options in neurology*, 16(11), 1-17
- Ondo WG, Jankovic J (1996) Restless legs syndrome: clinico-radiologic correlates. *Neurology* 47:1435–1441
- Oertel WH, Trenkwalder C, Zucconi M, Benes H, Garcia- Borreguero D, Bassetti C, Partinen M, Ferini-Strambi L, Stiasny-Kolster, K. (2007). State of the art in restless legs syndrome therapy: practice recommendations for treating restless legs syndrome. *Movement Disorders*, 22(S18), S466-S475.
- Ortiz E, Pasquini JM, Thompson K, Felt B, Butkus G, Beard JR, Connor JR. (2004). Effect of manipulation of iron storage, transport, or availability on myelin composition and brain iron content in three different animal models. *Journal of neuroscience research*, 77(5), 681-689
- Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. (2001). Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *Journal of Biological Chemistry*,276(11), 7806-7810
- Patel N, Jankovic J, Hallett M.(2014) Sensory aspects of movement disorders. *Lancet Neurol*, 13: pp. 100–112
- Patton SM, Ponnuru P, Snyder AM, Podskalny GD, Connor JR. (2011). Hypoxia-inducible factor pathway activation in restless legs syndrome patients. *European Journal of Neurology*, 18(11), 1329-1335
- Picchietti DL, Hensley JG, Bainbridge JL, Lee KA, Manconi M, McGregor JA, Silver RM, Trenkwalder C, Walters AS, International Restless Legs Syndrome Study Group. (2014). Consensus clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of restless legs syndrome/Willis-Ekbom disease during pregnancy and lactation. *Sleep medicine reviews*

- Picchiatti D, Winkelman JW. (2005). Restless legs syndrome, periodic limb movements in sleep, and depression. *Sleep*, 28(7), 891-898.
- Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, Leroyer P, Turlin B, Brissot P, Loréal, O. (2001). A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *Journal of Biological Chemistry*, 276(11), 7811-7819.
- Poss KD, Tonegawa S. (1997). Heme oxygenase 1 is required for mammalian iron reutilization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(20), 10919-10924.
- Rankin EB, Biju MP, Liu Q, Unger TL, Rha J, Johnson RS, Simon MC, Keith B, Haase VH. (2007). Hypoxia-inducible factor-2 (HIF-2) regulates hepatic erythropoietin in vivo. *The Journal of clinical investigation*, 117(4), 1068-1077.
- Rivera S, Nemeth E, Gabayan V, Lopez MA, Farshidi D, Ganz T. (2005). Synthetic hepcidin causes rapid dose-dependent hypoferremia and is concentrated in ferroportin-containing organs. *Blood*, 106(6), 2196-2199.
- Rizzo G, Manners D, Testa C, Tonon C, Vetrugno R, Marconi S, Plazzi G, Pizza F, Provini F, Malucelli E, Gramegna LL. (2013). Low brain iron content in idiopathic restless legs syndrome patients detected by phase imaging. *Movement Disorders*, 28(13), 1886-1890
- Rochette L, Gudjoncik A, Guenancia C, Zeller M, Cottin Y, Vergely, C. (2015). The iron-regulatory hormone hepcidin: a possible therapeutic target?. *Pharmacology & therapeutics*, 146, 35-52.
- Rye DB, Trotti LM. Restless legs syndrome and periodic leg movements of sleep. *Neurol Clin* 2012;30:1137-66
- San Martin CD, Garri C, Pizarro F, Walter T, Theil EC, Núñez MT. (2008). Caco-2 intestinal epithelial cells absorb soybean ferritin by μ 2 (AP2)-dependent endocytosis. *The Journal of nutrition*, 138(4), 659-666.
- Scalise A, Pittaro-Cadore I, Janes F, Marinig R, Gigli GL. (2010). Changes of cortical excitability after dopaminergic treatment in restless legs syndrome. *Sleep medicine*, 11(1), 75-81
- Scalise A, Pittaro-Cadore I, Gigli GL. (2004). Motor cortex excitability in restless legs syndrome. *Sleep medicine*, 5(4), 393-396
- Shi H, Bencze KZ, Stemmler TL, Philpott CC. (2008). A cytosolic iron chaperone that delivers iron to ferritin. *Science*, 320(5880), 1207-1210.

- Schmidt PJ. (2015). Regulation of iron metabolism by hepcidin under conditions of inflammation. *Journal of Biological Chemistry*, 290(31), 18975-18983.
- Schormair B, Plag J, Kaffe M, Groß N, Czamara D, Samtleben W, Ströhle A, Stefanidis I, Vainas A, Dardiotis E, Sakkas GK, Gieger C, Müller-Myhsok B, Meitinger T, Heemann U, Hadjigeorgiou GM, Oexle K, Winkelmann J. (2011) MEIS1 and BTBD9: genetic association with restless leg syndrome in end stage renal disease. *Journal of medical genetics*, 48(7), 462-466
- Sezgin Evim M, Baytan B, Güneş MA. (2012). Demir ve Demir Metabolizması. *Journal of Current Pediatrics/Güncel Pediatri*, 10(2).
- Silber MH, Becker PM, Earley C, Garcia-Borreguero D, Ondo WG; for the Medical Advisory Board of the WED Foundation .(2013). Willis-Ekbom Disease Foundation revised consensus statement on the management of restless legs syndrome. In *Mayo Clinic Proceedings* (Vol. 88, No. 9, pp. 977-986).
- Silva B, Faustino P. (2015). An overview of molecular basis of iron metabolism regulation and the associated pathologies. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1852(7), 1347-1359.
- Skomro RP, Ludwig S, Salamon E, Kryger MH. Sleep complaints and restless legs syndrome in adult type 2 diabetics. *Sleep Medicine*. 2001;2(5):417–422
- Stiasny-Kolster K, Möller JC, Zschocke J, Bandmann O, Cassel W, Oertel WH, Hoffmann GF. (2004). Normal dopaminergic and serotonergic metabolites in cerebrospinal fluid and blood of restless legs syndrome patients. *Movement disorders*, 19(2), 192-196
- Stiasny K, Oertel WH, Trenkwalder C. (2002) Clinical symptomatology and treatment of restless legs syndrome and periodic limb movement disorder. *Sleep Med Rev*, 6, pp. 253–265
- Sun ER, Chen CA, Ho G, Earley CJ, Allen RP. (1998). Iron and the restless legs syndrome. *Sleep*, 21(4), p. 371-377
- Tachibana N. (2015). Living with Restless Legs Syndrome/Willis-Ekbom Disease. *Sleep medicine clinics*, 10(3), 359-367
- Taşdemir M, Erdoğan H, Börü UT, Dilaver E, Kumaş A. (2010) Epidemiology of restless legs syndrome in Turkish adults on the western Black Sea coast of Turkey: A door-to-door study in a rural area. *Sleep Med*. 11(1) P:82-6

- Trenkwalder C, Allen R, Högl B, Paulus W, Winkelmann J. (2016). Restless legs syndrome associated with major diseases A systematic review and new concept. *Neurology*, 86(14), 1336-1343
- Trenkwalder C, Hening WA, Montagna P, Oertel WH, Allen RP, Walters AS, Costa J, Stiasny-Kolster K, Sampaio C. (2008). Treatment of restless legs syndrome: An evidence-based review and implications for clinical practice. *Movement Disorders*, 23(16), 2267-2302.
- Trenkwalder C, Hundemer HP, Lledo A, Swieca J, Polo O, Wetter TC, Ferini-Strambi L, Groen H, Quail D, Brandenburg U, PEARLS Study Group. (2004). Efficacy of pergolide in treatment of restless legs syndrome The PEARLS Study. *Neurology*, 62(8), 1391-1397.
- Trenkwalder C, Seidel VC, Kazenwadel J, Wetter TC, Oertel W, Selzer R, Kohlen R. (2003). One-year treatment with standard and sustained-release levodopa: Appropriate long-term treatment of restless legs syndrome?. *Movement Disorders*, 18(10), 1184-1189.
- Turjanski N, Lees AJ, Brooks DJ. (1999). Striatal dopaminergic function in restless legs syndrome 18F-dopa and 11C-raclopride PET studies. *Neurology*, 52(5), 932-932
- Urrutia P, Aguirre P, Esparza A, Tapia V, Mena NP, Arredondo M, González-Billault C, Núñez MT. (2013). Inflammation alters the expression of DMT1, FPN1 and hepcidin, and it causes iron accumulation in central nervous system cells. *Journal of neurochemistry*, 126(4), 541-549.
- Venkateshiah SB, Ioachimescu OC. (2015). Restless Legs Syndrome. *Critical Care Clinics*. Volume 31, Issue 3, pp. 459-479
- Wählin Larsson B, Kadi F, Ulfberg J, Piehl Aulin K. (2007). Skeletal muscle morphology in patients with restless legs syndrome. *European neurology*, 58(3), 133-137
- Walters AS, Ondo WG, Zhu W, Le W. (2009). Does the endogenous opiate system play a role in the Restless Legs Syndrome?: A pilot post-mortem study. *Journal of the neurological sciences*, 279(1), 62-65
- Ward RJ, Zucca FA, Duyn JH, Crichton RR, Zecca L. (2014). The role of iron in brain ageing and neurodegenerative disorders. *The Lancet Neurology*, 13(10), 1045-1060.
- Wang X, Wiesinger J, Beard J, Felt B, Menzies S, Earley C, Allen R, Connor J. (2004). Thy1 expression in the brain is affected by iron and is decreased in Restless Legs Syndrome. *Journal of the neurological sciences*, 220(1), 59-66
- Weinstock LB, Walters AS, Paueksakon P. (2012). Restless legs syndrome—theoretical roles of inflammatory and immune mechanisms. *Sleep medicine reviews*, 16(4), 341-354.

- Wijemanne S, Jankovic J. (2015). Restless legs syndrome: clinical presentation diagnosis and treatment. *Sleep medicine*, 16(6), 678-690.
- Winkelmann J, Czamara D, Schormair B, Knauf F, Schulte EC, Trenkwalder C, Dauviliers Y, Polo O, Högl B, Berger K, Fuhs A, Gross N, Stiasny-Kolster K, Oertel W, Bachmann CG, Paulus W, Xiong L, Montplaisir J, Rouleau GA, Fietze I, Vávrová J, Kemlink D, Sonka K, Nevsimalova S, Lin S, Wszolek Z, Vilariño-Güell C, Farrer MJ, Gschliesser V, Frauscher B, Falkenstetter T, Poewe W, Allen RP, Earley CJ, Ondo WG, Le W, Spieler D, Kaffe M, Zimprich A, Kettunen J, Perola M, Silander K, Cournu-Rebeix I, Francavilla M, Fontenille C, Fontaine B, Vodicka P, Prokisch H, Lichtner P, Peppard P, Faraco J, Mignot E, Gieger C, Illig T, Wichmann HE, Müller-Myhsok B, Meitinger T. (2011). Genome-wide association study identifies novel restless legs syndrome susceptibility loci on 2p14 and 16q12. *PLoS Genet*, 7(7), e1002171
- Winkelmann J, Stautner A, Samtleben W, Trenkwalder, C (2002). Long-term course of restless legs syndrome in dialysis patients after kidney transplantation. *Movement disorders*, 17(5), 1072-1076
- Wrighting DM, Andrews NC. (2006). Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3. *Blood*, 108(9), 3204-3209.
- Xia Y, Babitt JL, Sidis Y, Chung RT, Lin HY. (2008). Hemojuvelin regulates hepcidin expression via a selective subset of BMP ligands and receptors independently of neogenin. *Blood*, 111(10), 5195-5204.
- Yeh KY, Yeh M, Mims L, Glass J. (2009). Iron feeding induces ferroportin 1 and hephaestin migration and interaction in rat duodenal epithelium. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 296(1), G55-G65.
- Zhang AS, Gao J, Koeberl DD, Enns CA. (2010). The role of hepatocyte hemojuvelin in the regulation of bone morphogenic protein-6 and hepcidin expression in vivo. *Journal of Biological Chemistry*, 285(22), 16416-16423.
- Zobeiri M, Shokoohi A. (2014). Restless leg syndrome in diabetics compared with normal controls. *Sleep disorders*. Vol. 2014

EKLER

Ek-1

Huzursuz bacak sendromu şiddet derecelendirme skalası

1. Bacaklarıңызdaki veya kollarıңызdaki HBS kaynaklı rahatsızlık hissini nasıl değerlendirirsiniz?

- (4) Çok şiddetli
- (3) Şiddetli
- (2) Orta derecede
- (1) Hafif
- (0) Hiç olmuyor

2. HBS semptomları nedeniyle hareket etme ihtiyacınızı nasıl değerlendirirsiniz?

- (4) Çok şiddetli
- (3) Şiddetli
- (2) Orta derecede
- (1) Hafif
- (0) Hiç olmuyor

3. Hareket ettirmek, kol veya bacağıңызdaki HBS kaynaklı rahatsızlık hissini ne kadar rahatlatıyor?

- (4) Hiç rahatlama olmuyor
- (3) Hafif derecede rahatlatıyor
- (2) Orta derecede rahatlatıyor
- (1) Tam veya tama yakın rahatlatıyor
- (0) HBS semptomu yok

4. HBS semptomlarınız nedeniyle yaşadığınız uyku bozukluğu ne kadar şiddetli?

- (4) Çok şiddetli
- (3) Şiddetli
- (2) Orta derecede
- (1) Hafif
- (0) Hiç olmuyor

5. HBS semptomlarınız nedeniyle yaşadığınız yorgunluk veya uykulu olma hali ne kadar şiddetli?

- (4) Çok şiddetli
- (3) Şiddetli
- (2) Orta derecede
- (1) Hafif
- (0) Hiç olmuyor

6. Bir bütün olarak HBS semptomlarınız ne kadar şiddetli?

- (4) Çok şiddetli
- (3) Şiddetli
- (2) Orta derecede
- (1) Hafif
- (0) Hiç olmuyor

7. HBS semptomlarınız ne sıklıkta oluyor?

- (4) Çok şiddetli (haftada 6-7 gün)
- (3) Şiddetli (haftada 4-5 gün)
- (2) Orta derecede (haftada 2-3 gün)
- (1) Hafif (haftada 1 gün veya daha az sıklıkta)
- (0) Hiç olmuyor

8. HBS semptomlarınız olduğunda, ortalama bir günde ne kadar şiddette oluyor?

- (4) Çok şiddetli (24 saatte 8 saat veya daha fazla)
- (3) Şiddetli (24 saatte 3-8 saat arası)
- (2) Orta derecede (24 saatte 1-3 saat arası)
- (1) Hafif (24 saatte 1 saatten az)
- (0) Hiç olmuyor

9. HBS semptomlarınız aile, ev, sosyal, okul ya da iş hayatınızı yürütmenizi ne şiddette etkiliyor?

- (4) Çok şiddetli
- (3) Şiddetli
- (2) Orta derecede
- (1) Hafif
- (0) Hiç olmuyor

10. HBS semptomlarınız nedeniyle yaşadığınız kızgınlık, çökkünlük, üzüntü, kaygı veya huzursuzluk gibi duygudurum bozukluklarınız ne kadar şiddetli?

- (4) Çok şiddetli
- (3) Şiddetli
- (2) Orta derecede
- (1) Hafif
- (0) Hiç olmuyor

Ek-2

Pittsburg Uyku Kalitesi İndeksi

İsim:..... Yaş:..... Tarih:.....

Açıklamalar: Aşağıdaki sorular, yalnızca geçen ayki mutad uyku alışkanlıklarınızla ilgilidir. Cevaplarınız geçen ay içindeki gün ve gecelerin çoğuna uyan en doğru karşılığı belirtmelidir. Lütfen tüm soruları cevaplandırınız.

1. Geçen ay geceleri genellikle ne zaman yattınız?.....
2. Geçen ay geceleri uykuya dalmanız genellikle ne kadar zaman(dakika olarak) aldı?.....
3. Geçen ay sabahları ne zaman kalktınız?.....
4. Geçen ay, geceleri kaç saat gerçekten uyudunuz? (Bu süre yatakta geçirdiğiniz süreden farklı olabilir).....

Aşağıdaki soruların her biri için uygun cevabı seçiniz. Lütfen tüm soruları cevaplandırınız. Geçen ay aşağıdaki durumlarda belirtilen uyku problemlerini ne kadar sıklıkta yaşadınız?

5a. 30 dakika içinde uykuya dalamadınız.

- | | |
|-------------------------|-------------------------------|
| 1. Geçen ay boyunca hiç | 3. Haftada bir veya iki kez |
| 2. Haftada birden az | 4. Haftada üç veya daha fazla |

5b. Gece yarısı veya sabah erkenden uyandınız.

- | | |
|-------------------------|-------------------------------|
| 1. Geçen ay boyunca hiç | 3. Haftada bir veya iki kez |
| 2. Haftada birden az | 4. Haftada üç veya daha fazla |

5c. Banyo yapmak üzere kalkmak zorunda kaldınız.

- | | |
|-------------------------|-------------------------------|
| 1. Geçen ay boyunca hiç | 3. Haftada bir veya iki kez |
| 2. Haftada birden az | 4. Haftada üç veya daha fazla |

5d. Rahat bir şekilde nefes alıp veremediniz.

- | | |
|-------------------------|-------------------------------|
| 1. Geçen ay boyunca hiç | 3. Haftada bir veya iki kez |
| 2. Haftada birden az | 4. Haftada üç veya daha fazla |

5e. Öksürdünüz veya gürültülü bir şekilde horladınız.

- | | |
|-------------------------|-------------------------------|
| 1. Geçen ay boyunca hiç | 3. Haftada bir veya iki kez |
| 2. Haftada birden az | 4. Haftada üç veya daha fazla |

5f. Aşırı derecede üşüdünüz.

- | | |
|-------------------------|------------------------------|
| 1. Geçen ay boyunca hiç | 3.Haftada bir veya iki kez |
| 2. Haftada birden az | 4.Haftada üç veya daha fazla |

5g. Aşırı derecede sıcaklık hissettiniz.

- | | |
|-------------------------|------------------------------|
| 1. Geçen ay boyunca hiç | 3.Haftada bir veya iki kez |
| 2. Haftada birden az | 4.Haftada üç veya daha fazla |

5h. Kötü rüyalar gördünüz.

- | | |
|-------------------------|------------------------------|
| 1. Geçen ay boyunca hiç | 3.Haftada bir veya iki kez |
| 2. Haftada birden az | 4.Haftada üç veya daha fazla |

5i. Ağrı duydunuz.

- | | |
|-------------------------|------------------------------|
| 1. Geçen ay boyunca hiç | 3.Haftada bir veya iki kez |
| 2. Haftada birden az | 4.Haftada üç veya daha fazla |

Diğer neden(ler). Lütfen belirtiniz:.....
.....

5j. Geçen ay bu neden(ler)den dolayı ne kadar sıklıkta uyku problemi yaşadınız?

- | | |
|-------------------------|------------------------------|
| 1. Geçen ay boyunca hiç | 3.Haftada bir veya iki kez |
| 2. Haftada birden az | 4.Haftada üç veya daha fazla |

6. Geçen ay, uyku kalitenizi tümüyle nasıl değerlendirebilirsiniz?

- | | |
|----------------|-----------------|
| 1. Çok iyi | 3. Oldukça kötü |
| 2. Oldukça iyi | 4. Çok kötü |

7. Geçen ay, uyumanıza yardımcı olması için ne kadar sıklıkla uyku ilacı (reçeteli veya reçetesiz) aldınız?

- | | |
|-------------------------|------------------------------|
| 1. Geçen ay boyunca hiç | 3.Haftada bir veya iki kez |
| 2. Haftada birden az | 4.Haftada üç veya daha fazla |

8. Geçen ay, araba sürerken, yemek yerken veya sosyal bir aktivite sırasında ne kadar sıklıkla uyanık kalmak için zorlandınız?

- | | |
|-------------------------|------------------------------|
| 1. Geçen ay boyunca hiç | 3.Haftada bir veya iki kez |
| 2. Haftada birden az | 4.Haftada üç veya daha fazla |

9. Geçen ay, bu durum işlerinizi yeteri kadar istekle yapmanızda ne derecede problem oluşturdu?

1. Hiç problem oluşturmadı
2. Yalnızca çok az problem oluşturdu
3. Bir dereceye kadar problem oluşturdu
4. Çok büyük problem oluşturdu

10. Bir yatak partneriniz veya oda arkadaşınız var mı?

1. Bir yatak partneri veya oda arkadaşı yok
2. Diğer odada bir yatak partneri veya oda arkadaşı var
3. Partner aynı odada fakat aynı yatakta değil
4. Partner aynı yatakta

Eğer bir oda arkadaşınız veya yatak partneriniz varsa ona geçen ay aşağıdaki durumları ne kadar sıklıkta yaşadığınızı sorun.

11. Gürültülü horlama

- | | |
|-------------------------|-------------------------------|
| 1. Geçen ay boyunca hiç | 3. Haftada bir veya iki kez |
| 2. Haftada birden az | 4. Haftada üç veya daha fazla |

12. Uykuda iken nefes alıp vermeler arasında uzun aralıklar

- | | |
|-------------------------|-------------------------------|
| 1. Geçen ay boyunca hiç | 3. Haftada bir veya iki kez |
| 2. Haftada birden az | 4. Haftada üç veya daha fazla |

13. Uyurken bacaklarda seğirme ya da sıçrama

- | | |
|-------------------------|-------------------------------|
| 1. Geçen ay boyunca hiç | 3. Haftada bir veya iki kez |
| 2. Haftada birden az | 4. Haftada üç veya daha fazla |

14. Uyku esnasında uyumsuzluk veya şaşkınlık

- | | |
|-------------------------|-------------------------------|
| 1. Geçen ay boyunca hiç | 3. Haftada bir veya iki kez |
| 2. Haftada birden az | 4. Haftada üç veya daha fazla |

15. Uyurken olan diğer huzursuzluklarınız, lütfen belirtiniz

- | | |
|-------------------------|-------------------------------|
| 1. Geçen ay boyunca hiç | 3. Haftada bir veya iki kez |
| 2. Haftada birden az | 4. Haftada üç veya daha fazla |

Pittsburg Uyku Kalitesi İndeksi Değerlendirme

Öznel uyku kalitesi (ÖÜK): Soru 6

Uyku latensi (UL): Soru 2 ve soru 5a

Uyku süresi (US): Soru 4

Alışılmış uyku etkinliği (AUE): Soru 1 ve soru 3

Uyku bozukluğu (UB): 5b-j

Uyku ilacı kullanımı(UİK): Soru 7

Gündüz işlev bozukluğu(GİB): Soru 8 ve soru 9

Ek-3

Beck Depresyon Envanteri (BDE)

Yönerge: Aşağıda, kişilerin ruh durumlarını ifade ederken kullandıkları bazı cümleler verilmiştir. Her madde, bir çeşit ruh durumunu anlatmaktadır. Her maddede o durumun derecesini belirleyen 4 seçenek vardır. Lütfen bu seçenekleri dikkatle okuyunuz. Son bir hafta içindeki (şu an dahil) kendi ruh durumunuzu göz önünde bulundurarak, size en uygun olan ifadeyi işaretleyiniz.

- (a) Kendimi üzgün hissetmiyorum

(b) Kendimi üzgün hissediyorum

(c) Her zaman üzgünüm ve kendimi bu duygudan kurtaramıyorum

(d) Öylesine üzgün ve mutsuzum ki dayanamıyorum
- (a) Gelecekte umutsuz değilim

(b) Gelecek konusunda umutsuzum

(c) Gelecekte beklediğim hiçbir şey yok

(d) Benim için gelecek olmadığı gibi bu durum düzelmeyecek
- (a) Kendimi başarısız görmüyorum

(b) Herkesten daha fazla başarısızlıklarım oldu sayılır

(c) Geriye dönüp baktığımda, pek çok başarısızlığımın olduğunu görüyorum

(d) Kendimi bir insan olarak tümüyle başarısız görüyorum
- (a) Her şeyden eskisi kadar zevk alabiliyorum

(b) Her şeyden eskisi kadar zevk alamıyorum

(c) Artık hiçbir şeyden gerçek bir zevk alamıyorum

(d) Ben doyuran hiçbir şey yok. Herşey çok can sıkıcı
- (a) Kendimi suçlu hissetmiyorum

(b) Arada bir kendimi suçlu hissettiğim oluyor

(c) Kendimi çoğunlukla suçlu hissediyorum

(d) Kendimi her an için suçlu hissediyorum

6. (a) Cezalandırılıyormuşum gibi duygular içinde değilim
(b) Sanki, bazı şeyler için cezalandırılabilirmişim gibi duygular içindeyim
(c) Cezalandırılacakmışım gibi duygular yaşıyorum
(d) Bazı şeyler için cezalandırılıyorum
7. (a) Kendimi hayal kırıklığına uğratmadım
(b) Kendimi hayal kırıklığına uğrattım
(c) Kendimden hiç hoşlanmıyorum
(d) Kendimden nefret ediyorum
8. (a) Kendimi diğer insanlardan daha kötü durumda görmüyorum
(b) Kendimi zayıflıklarım ve hatalarım için eleştiriyorum
(c) Kendimi hatalarım için her zaman suçluyorum
(d) Her kötü olayda kendimi suçluyorum
9. (a) Kendimi öldürmek gibi düşüncülerim yok
(b) Bazen kendimi öldürmeyi düşünüyorum ama böyle bir şeyi yapamam
(c) Kendimi öldürmeyi çok isterdim
(d) Eğer fırsatını bulursam kendimi öldürürüm
10. (a) Herkesten daha fazla ağladığımı sanmıyorum
(b) Eskisine göre şimdilerde daha çok ağlıyorum
(c) Şimdilerde her an ağlıyorum
(d) Eskiden ağlayabilirdim. Şimdilerde istesem de ağlayamıyorum
11. (a) Eskisine göre daha sinirli ve tedirgin sayılmam
(b) Her zamankine göre biraz daha fazla tedirginim
(c) Çoğu zaman sinirli ve tedirginim
(d) Şimdilerde her an için tedirgin ve sinirliyim
12. (a) Diğer insanlara karşı ilgimi kaybetmedim
(b) Eskisine göre insanlarla daha az ilgiliyim
(c) Diğer insanlara karşı ilgimin çoğunu kaybettim
(d) Diğer insanlara karşı hiç ilgim kalmadı
13. (a) Eskisi gibi rahat ve kolay kararlar verebiliyorum
(b) Eskisine kıyasla, şimdilerde karar vermeyi daha çok erteliyorum
(c) Eskisine göre, karar vermekte oldukça güçlük çekiyorum
(d) Artık hiç karar veremiyorum
14. (a) Eskisinden daha kötü bir dış görünüşüm olduğunu sanmıyorum
(b) Sanki yaşlanmış ve çekiciliğimi kaybetmişim gibi düşünüyor ve üzülüyorum
(c) Dış görünüşümde artık değiştirilmesi mümkün olmayan ve beni çirkinleştiren değişiklikler olduğunu hissediyorum
(d) Çok çirkin olduğumu düşünüyorum

15. (a) Eskisi kadar iyi çalışabiliyorum
(b) Bir işe başlayabilmek için eskisine göre daha fazla çaba gösteriyorum
(c) Ne iş olursa olsun, yapabilmek için kendimi çok zorluyorum
(d) Hiç çalışmıyorum
16. (a) Eskisi kadar rahat ve kolay uyuyabiliyorum
(b) Şimdilerde eskisi kadar kolay ve rahat uyuyamıyorum
(c) Eskisine göre 1 veya 2 saat erken uyanıyor ve tekrar uyumakta güçlük çekiyorum
(d) Eskisine göre çok erken uyanıyor ve tekrar uyuyamıyorum
17. (a) Eskisine göre daha çabuk yorulduğumu sanmıyorum
(b) Eskisiden daha çabuk ve kolay yoruluyorum
(c) Şimdilerde neredeyse herşeyden kolay ve çabuk yoruluyorum
(d) Artık hiçbirşey yapamayacak kadar yoruluyorum
18. (a) İştahım eskisinden pek farklı değil
(b) İştahım eskisi kadar iyi değil
(c) Şimdilerde iştahım epey kötü
(d) Artık hiç iştahım yok
19. (a) Son zamanlarda pek kilo kaybettiğimi sanmıyorum
(b) Son zamanlarda istemediğim halde iki buçuk kilodan fazla kaybettim
(c) Son zamanlarda beş kilodan fazla kaybettim
(d) Son zamanlarda yedi buçuk kilodan fazla kaybettim
20. (a) Sağlığım beni pek endişelendirmiyor
(b) Son zamanlarda ağrı, sızı, mide bozukluğu, kabızlık gibi sıkıntılarım var
(c) Ağrı, sızı gibi bu sıkıntılarım beni epey endişelendirdiği için başka şeyleri düşünmek zor geliyor
(d) Bu tür sıkıntılar beni öylesine endişelendiriyor ki, artık başka şeyleri düşünemiyorum
21. (a) Son zamanlarda cinsel yaşantımda dikkat çeken bir şey yok
(b) Eskisine göre cinsel konularla daha az ilgileniyorum
(c) Şimdilerde cinsellikle pek ilgili değilim
(d) Artık cinsellikle hiçbir ilgim kalmadı