

**T.C.  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ÇOCUKLUK ÇAĞINDAKİ KARACİĞER HASTALIKLARINDA DEMİR  
METABOLİZMASI**

**Uzmanlık Tezi**

**Dr. Elif SAĞ**

**TRABZON - 2011**

**T.C.  
KARADENİZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ÇOCUKLUK ÇAĞINDAKİ KARACİĞER HASTALIKLARINDA DEMİR  
METABOLİZMASI**

**Uzmanlık Tezi**

**Dr. Elif SAĞ**

**Tez Danışmanları  
Prof. Dr. Erol ERDURAN**

**TRABZON - 2011**

## İÇİNDEKİLER

|   | Sayfa No |
|---|----------|
| İÇİNDEKİLER.....  | i        |
| TABLolar DİZİNİ .....   | iii      |
| ŞEKİLLER DİZİNİ.....  | iv       |
| KISALTMALAR .....   | v        |
| 1. GİRİŞ VE AMAÇ .....  | 1        |
| 2. GENEL BİLGİLER.....  | 3        |
| 2.1. Demir ve Demir Metabolizması .....   | 3        |
| 2.1.1. Demirin Vücutta Dağılımı .....   | 3        |
| 2.1.2. Demirin Fizyolojisi .....  | 4        |
| 2.1.3. Demir Emilimi .....  | 6        |
| 2.1.4. Hücre İçi ve Hücre Dışı Demir Konsantrasyonunun Düzenlenmesi .....   | 12       |
| 2.2. Hepsidin (LEAP-1-karaciğerin eksprese ettiği antimikrobiyal protein-liver expressed antimicrobial protein) ..... | 13       |
| 2.2.1. Hepsidin Yapısı.....   | 15       |
| 2.2.2. Hepsidin Biyolojik İşlevleri.....  | 15       |
| 2.2.3. Hepsidin Sentezinin Düzenlenmesi .....   | 15       |
| 2.2.3.1. Demir ile Hepsidin Sentezinin Düzenlenmesi.....  | 15       |
| 2.2.3.2. Kemik Morfojenik Protein Sinyal Yolağı .....   | 16       |
| 2.2.3.3. Anemi ile Hepsidin Sentezinin Düzenlenmesi .....   | 16       |
| 2.2.3.4. İnflamasyon ile Hepsidin Sentezinin Düzenlenmesi .....   | 16       |
| 2.2.3.5. Hipoksi ile Hepsidin Sentezinin Düzenlenmesi .....   | 17       |
| 2.2.4. Demir Metabolizma Bozuklukları ve Hepsidinle Düzenlenmesi .....  | 18       |
| 2.2.4.1. Hereditör Hemokromatozis.....  | 18       |
| 2.2.4.2. Hemojuvelin .....  | 18       |
| 2.2.4.3. Talasemi.....  | 19       |
| 2.2.4.4. İnflamasyon Anemisi.....   | 19       |
| 2.3. Total Oksidatif Durum - Total Antioksidatif Durum .....  | 20       |
| 2.3.1. Serbest Oksijen Radikalleri.....   | 21       |
| 2.3.2. Antioksidan Sistemler .....  | 22       |
| 2.4. Karaciğer Hastalıkları.....  | 23       |

|   |    |
|---|----|
| 2.4.1. Akut Hepatit.....                          | 23 |
| 2.4.2. Kronik Hepatit .....                       | 24 |
| 2.4.3. Fulminan Hepatit.....                      | 26 |
| 2.4.4. Siroz .....                                | 26 |
| 2.5. Karaciğer Hastalıkları ve Hepsidin .....     | 27 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM .....                          | 29 |
| 3.1. Çalışma Gruplarının Seçimi .....             | 29 |
| 3.1.1. Akut Hepatitli Grup .....                  | 29 |
| 3.1.2. Kronik Hepatitli Grup .....                | 30 |
| 3.1.3. Biyopsi Yapılan Grup .....                 | 30 |
| 3.2. Araç-Gereçler ve Laboratuvar Yöntemleri..... | 30 |
| 3.3. İstatiksel Analiz .....                      | 33 |
| 4. BULGULAR .....                                 | 35 |
| 5. TARTIŞMA .....                                 | 48 |
| 6. SONUÇLAR .....                                 | 53 |
| 6.1. Sonuçlar .....                               | 53 |
| 6.2. Öneriler .....                               | 55 |
| 7. ÖZET.....                                      | 56 |
| 8. SUMMARY .....                                  | 58 |
| 9. KAYNAKLAR.....                                 | 60 |

## TABLolar DİZİNİ

|  | <b>Sayfa No</b> |
|--|-----------------|
| Tablo I. Demir kompartmanları.....   | 4               |
| Tablo II. Non-hem demirin absorpsiyonunu etkileyen faktörler.....  | 6               |
| Tablo III. Hepsidin sentezini etkileyen faktörler.....   | 20              |
| Tablo IV. Çocuklardaki akut hepatit nedenleri.....   | 24              |
| Tablo V. Kronik karaciğer hastalıkları nedenleri.....  | 25              |
| Tablo VI. Child-Pugh Skorlaması.....   | 33              |
| Tablo VII. Akut hepatitli (grup 1) ve akut hepatitin iyileşme dönemindeki (grup 2) grubun laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.....  | 37              |
| Tablo VIII. Akut hepatitli (grup 1) ve kronik hepatitli (grup 3) grubun laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.....  | 38              |
| Tablo IX. Akut hepatitin iyileşme dönemi (grup 2) ve kronik hepatitli (grup 3) grubun laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.....  | 39              |
| Tablo X: Akut hepatit (grup 1), akut hepatitin iyileşme dönemi (grup 2) ve kronik hepatitli (grup 3) grubun laboratuvar bulgularının ortalama değerleri ve standart sapması..... | 40              |
| Tablo XI: Akut hepatitli (grup 1) ve Wilson hastalığı olan (grup 3a) grubun laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.....  | 42              |
| Tablo XII: Akut hepatitli (grup 1) ve glikojen depo hastalığı olan (grup 3b) grubun laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.....  | 43              |
| Tablo XIII: Akut hepatitin iyileşme dönemi (grup 2) ve glikojen depo hastalığı olan (grup 3b) grubun laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.....                             | 44              |
| Tablo XIV: Akut hepatitin iyileşme dönemi (grup 2) ve Wilson hastalığı olan (grup 3a) grubun laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.....                                     | 45              |
| Tablo XV: Wilson hastalığı (grup 3a) ve glikojen depo hastalığı (grup 3b) olan grubun laboratuvar bulgularının karşılaştırılması.....  | 46              |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|   | <b>Sayfa No</b> |
|---|-----------------|
| Şekil 1: Demirin duodenumdan emilimi .....  | 8               |
| Şekil 2: Düşük ya da yüksek serum hepsidin seviyelerinde, ferroportin ile ilişkili hücrelerden ferröz demir atılımı görülmektedir ..... | 9               |
| Şekil 3: Endostatik transferrin döngüsü .....   | 11              |
| Şekil 4: Plazma hepsidin düzeyinin demir düzeyi, anemi ve hipoksi ile düzenlenmesi .....  | 13              |
| Şekil 5: Hepsidin ile ferroportin ilişkisi .....  | 14              |
| Şekil 6: Fibrozis derecesini belirlemede kullanılan Ishak Sınıflaması .....   | 32              |
| Şekil 7: Akut hepatit (grup 1) ve akut hepatitin iyileşme dönemindeki (grup 2) hastalık grupları.....                                   | 35              |
| Şekil 8: Kronik hepatitteki (grup 3) hastalık grupları .....  | 36              |

## KISALTMALAR

|                                   |  |
|-----------------------------------|--|
| <b>AKH</b>                        | : Alkolik karaciğer hastalığı                                    |
| <b>ALT</b>                        | : Alanin aminotransferaz   |
| <b>AST</b>                        | : Aspartat aminotransferaz                                       |
| <b>ALP</b>                        | : Alkalen fosfataz (alkalen phosphatas)                          |
| <b>BMP</b>                        | : Kemik morfojenik protein (bone morphogenetic protein)          |
| <b>CMV</b>                        | : Sitomegalovirus  |
| <b>Ca<sup>+2</sup></b>            | : Kalsiyum   |
| <b>Co<sup>+2</sup></b>            | : Kobalt   |
| <b>Cu<sup>+2</sup></b>            | : Bakır  |
| <b>CRP</b>                        | : C-reaktif protein  |
| <b>DBK</b>                        | : Demir bağlama kapasitesi                                       |
| <b>DE</b>                         | : Demir eksikliği  |
| <b>DEA</b>                        | : Demir eksikliği anemisi  |
| <b>DMT1</b>                       | : İki değerlikli metal taşıyıcı 1 (divalent metal transporter 1) |
| <b>DNA</b>                        | : Deoksiribonükleik asit   |
| <b>EBV</b>                        | : Epstein barr virus   |
| <b>EPO</b>                        | : Eritropoetin   |
| <b>FPN</b>                        | : Ferroportin  |
| <b>Fe<sup>+3</sup></b>            | : Ferrik demir   |
| <b>Fe<sup>+2</sup></b>            | : Ferröz demir   |
| <b>FKY</b>                        | : Fulminan karaciğer yetersizliği                                |
| <b>GGT</b>                        | : Gama-glutamil transferaz                                       |
| <b>GPI</b>                        | : Glikozil fosfotidil inositol (glikosil phosphatidyl inositol)  |
| <b>HAV</b>                        | : Hepatit A virus  |
| <b>HBV</b>                        | : Hepatit B virus  |
| <b>HCV</b>                        | : Hepatit C virus  |
| <b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b> | : Hidrojen peroksit  |
| <b>HH</b>                         | : Herediter hemokromatozis                                       |
| <b>HIF</b>                        | : Hipoksi ile uyarılan faktör (hypoxia inducible factor)         |
| <b>HJV</b>                        | : Hemojuvelin  |

|                                  |   |
|----------------------------------|---|
| <b>HSV</b>                       | : Herpes simpleks virus   |
| <b>IRE-BP</b>                    | : Demir düzenleyici elementi bağlayan protein (iron regulatory element binding protein)             |
| <b>IRE</b>                       | : Demir düzenleyici elementler (iron regulatory elements)   |
| <b>İA</b>                        | : İnflamasyon anemisi   |
| <b>İL-1</b>                      | : İnterlökin-1  |
| <b>İL-6</b>                      | : İnterlökin-6  |
| <b>KC</b>                        | : Karaciğer   |
| <b>LDL</b>                       | : Düşük dansiteli lipoprotein (low density lipoprotein)   |
| <b>LPS</b>                       | : Lipopolisakkarid  |
| <b>MELD</b>                      | : Son dönem karaciğer hastalığı skorlaması ( model for end-stage liver disease scoring)             |
| <b>mRNA</b>                      | : Mesajcı ribonükleik asit (messenger ribonucleik asid)   |
| <b>Mn<sup>+2</sup></b>           | : Mangan  |
| <b>MRG</b>                       | : Manyetik rezonans görüntüleme   |
| <b>NASH</b>                      | : Alkolik olmayan karaciğer yağlanması (nonalcoholic steatohepatitis)                               |
| <b>O<sub>2</sub>↑↓</b>           | : Singlet oksijen   |
| <b>OH·</b>                       | : Hidroksil radikaller  |
| <b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b> | : Süperoksit  |
| <b>OSİ</b>                       | : Oksidatif stres indeksi   |
| <b>Pb<sup>+2</sup></b>           | : Kurşun  |
| <b>PBS</b>                       | : Primer biliyer siroz  |
| <b>PELD</b>                      | : Çocuklardaki son dönem karaciğer hastalığı skorlaması (Pediatric End-Stage Liver Disease Scoring) |
| <b>PFIC</b>                      | : Progresif familial intrahepatik kolestaz (progressive familial intrahepatic cholestasis)          |
| <b>PT</b>                        | : Protrombin zamanı (prothrombin time)  |
| <b>PTT</b>                       | : Aktive parsiyel tromboplastin zamanı (active partial tromboplastin time)                          |
| <b>RGM</b>                       | : İtici rehber proteinler (repulsive guidance proteins)   |
| <b>RNA</b>                       | : Ribonükleik asit  |
| <b>RES</b>                       | : Retiküloendotelial sistem   |
| <b>SD</b>                        | : Serum demiri  |
| <b>STEAP3</b>                    | : Six-transmembrane epithelial antigen of prostate 3  |
| <b>sTfR</b>                      | : Çözünür transferrin reseptörü (soluble transferrin receptor)                                      |
| <b>TAS</b>                       | : Total antioksidan durum (total antioxidant status)  |
| <b>Tf</b>                        | : Transferrin   |



- TGF- $\beta$**  : Transforme eden büyüme faktörü- $\beta$  (transforming growth factor- beta)  
**TOS** : Total oksidan durum (total oxidant status)  
**TfR-1** : Transferrin reseptörü 1  
**TNF- $\alpha$**  : Tümör nekrozis faktör- $\alpha$   
**Zn<sup>+2</sup>** : Çinko

## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Demirin hücresele düzeyde moleküler kontrolü, emilimi, depolanması ile ilgili yeni proteinlerin keşfiyle özellikle son iki-üç yılda büyük değişiklikler ve ilerlemeler olmuştur.

Son yıllarda hepsidin keşfi ile demir hemostazıyla ilgili farklı görüşler ortaya çıkmıştır. Hepsidin esas olarak karaciğer (KC)'den, nadiren kalp, spinal kord, mide, bağırsak ve akciğerden sentezlenen bir antimikrobiyal protein olup demir metabolizmasını düzenleyen ana hormondur. Hepsidin, transmembran yerleşimli bir protein olan ferroportin (FPN) ile etkileşime geçerek hücresele demir salınımını düzenlemektedir (1). Demir depoları yeterli ve yüksek olduğunda KC hepsidin üretimini artırır. Hepsidin, demirin makrofajlardan hücre dışına ve proksimal ince bağırsaklarda enterositte plazmaya taşınmasını bloke eder. En güçlü uyarıcı inflamasyondur, özellikle de inflamatuvar sitokin olan İnterlökin-6 (İL-6)'dır. Hipoksi ve demir depolarının düşük olduğu durumlarda ise, hepsidin üretimi azalır ve serum demiri (SD) artar (2).

Akut ve kronik KC hastalıklarında genellikle makrositik anemi gelişir. Periferik kan yaymasında makrositer eritrositler, hedef hücre ve akantositler görülebilir. KC hastalıklarında fosfolipid ve kolesterolün artması, eritrosit membran lipitlerinde de artmaya sebep olarak eritrosit değişikliklerini yapmaktadır. KC hastalıklarında diğer anemi nedenleri; portal hipertansiyona bağlı gelişen hipersplenizm, otoimmün hastalıklarla beraber seyreden B<sub>12</sub> veya folik asit eksikliğine bağlı gelişen pernisiyöz anemi, demir alım eksikliği ve özefagus varisinden kaynaklanan kronik kan kaybıdır. Kronik KC hastalığında, KC'de demir birikimi artar ve KC hasarı daha da artar. Biriken demir, hepatositlerde serbest oksijen radikali oluşturur ve membran lipit peroksidasyonu geliştirerek hücre hasarını daha da artırır (3). Ayrıca KC yıldızı (stellar) hücreler uyarılarak kollajen sentezi artar ve KC'de fibrozis gelişir (4,5). KC'deki oksidatif hasarın derecesini belirlemek için total antioksidan durum (total antioxidant status-TAS) veya total oksidan durum (total oxidant status-TOS) seviyesine bakılabilir (6).

Normolipidemik alkolik olmayan KC yağlanması olan vakalarda yapılan bir çalışmada; TAS ve TOS bakılarak KC'deki oksidatif hasar değerlendirilmiştir. Bu çalışmada; postprandial lipidemi daha belirgin, oksidatif düşük dansiteli lipoprotein (low density lipoprotein-LDL) seviyesi daha yüksek ve TAS seviyesi daha düşük bulunmuştur (6).

Erişkin hastalarda yapılan bir çalışmada, kronik KC hastalıklarından; özellikle alkolik KC hastalığında ve kronik Hepatit C virus (HCV) infeksiyonunda serum hepsidin seviyesinde belirgin azalma görülmüştür. Kronik Hepatit B virus (HBV) infeksiyonu ve primer biliyer sirozda (PBS) ise serum hepsidin seviyesinde, sağlıklı insanlarla kıyaslandığında belirgin fark görülmemiştir (7).

Literatürde yapılan başka bir çalışmada ise, kronik KC hastalarında serum hepsidin seviyesi ölçülmüş. Hepsidin seviyesi; ferritin, transaminazlar, bilirubin ve vücuttaki demir depoları ile ilişkili bulunmuştur. Hiperferritinemide, hepsidin seviyesinin arttığı saptanmıştır. Ayrıca herediter hemokromatozis (HH), talasemi, kronik böbrek yetmezliği (hemodiyaliz yoluyla), eritropoetik aktivitenin arttığı durumlarda ve anemide serum hepsidin seviyesinde azalma, oral demir tedavisi ve kronik hastalıklarda ise artış görülmüştür (8).

Hepsidin düzeyleri değişiminin tanısal amaçlı kullanımı yanı sıra gelecekte demir metabolizması ile ilişkili çeşitli hastalıkların tedavisinde yer alacağı düşünülmektedir (9). Bu nedenle biz de akut ve kronik KC hastalıklarında, SD, demir bağlama kapasitesi (DBK), feritin ve hepsidin düzeylerini ölçerek demir metabolizmasındaki değişiklikleri saptayıp, bu hastalarda KC kuru demir ağırlığına göre demir birikimini belirlemeyi hedefledik. Ayrıca KC hastalıklarında İL-6, transforme eden büyüme faktörü- $\beta$  (transforming growth factor-beta-TGF- $\beta$ ) ve C-reaktif protein (CRP) düzeylerini ölçerek demir metabolizmasının ve hepsidin inflamasyonla ilişkisini, buna bağlı olarak akut ve kronik KC hastalıklarında KC'deki demir birikiminin, KC patolojisinin daha da kötüleşmesinde rolü olup olmadığını araştırmayı hedefledik.

## 2.GENEL BİLGİLER

Demir özellikle memeli organizmalar için gerekli olan bir mineral olup, organizmada birçok önemli işlevi bulunmaktadır. Türkiye de dahil olmak üzere birçok gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde demir eksikliği (DE) ve demir eksikliği anemisi (DEA) önemli bir sağlık problemidir.

### 2.1.Demir ve Demir Metabolizması

Demirin biyolojik önemi eski çağlardan beri bilinmektedir. Tüm memeli hücreleri için esansiyel bir element olup, hemoglobin, miyoglobin gibi oksijen taşınmasında rol alan proteinlerin yapısında bulunur. Sitokrom, peroksidaz, katalaz enzimi gibi yaşamsal öneme sahip olan enzimlerin de yapısında bulunarak önemli olaylarda rol alır. Son yıllarda hücresel düzeyde yeni proteinlerin keşfi ile moleküler kontrol, emilim, depolanma ve organizma demir döngüsünün moleküler yolları ile ilgili demir metabolizmasında çok büyük değişiklikler ve ilerlemeler olmuştur (10). Kolay değişebilen redoks özellikleri ve oksijenle girdiği etkileşimler, demirin hem yaşamsal öneme sahip olmasına, hem de proteinlere bağlanmadan serbest olarak bulunması durumunda hücre zedelenmesine neden olmaktadır.

#### 2.1.1. Demirin Vücutta Dağılımı

Erişkinde vücutta ortalama 4-5 gr kadar demir bulunmaktadır ve bu miktar diyetdeki demir alımı ve kayıplar arasındaki hassas bir denge ile sağlanmaktadır. Her gün 0.5-1 mg demir, deri ve mukozal epitelin dökülmesi sonucu kaybedilmektedir. Bunun yanı sıra menstrual dönemde kadınlar yaklaşık 1 mg/gün demir kaybetmektedir. Her gebelik ortalama 680 mg demir kaybına yol açmaktadır. Emziren annelerde sütle günlük demir kaybı 0.5-1 mg dır. Maternal demir depoları azalmış olsa da anne sütünün demir içeriği etkilenmemektedir. Miadında doğan bir yenidoğanda 75 mg/kg (260 mg) olan vücut demiri, bir yaşında 40-50 mg/kg'a kadar düşmektedir (11).

Organizmada bulunan demirin %60-70'i hemoglobinde ve dolaşan eritrositlerde, %10'u miyoglobin, sitokromlar ve demir içeren enzimlerde dir. Demirin kalan %20-30'u

gerektiğinde kullanılmak üzere başlıca KC ve retikuloendotelial sistem (RES) makrofajlarında depolanır (12). Besinlerden alınan demirin 1-2 mg/gün kadarı bağırsaklardan emilmektedir. Eritropoez için gerekli olan demir asıl olarak depolardan alınmaktadır (13,14).

Kimyasal karakteristikleri ve fonksiyonları esas alınarak tanımlanan üç ana demir kompartmanı bulunmaktadır (Tablo I).

Tablo I: Demir kompartmanları

| Kompartmanlar       | Demir konsantrasyonu (mg/dl) |         |
|---------------------|------------------------------|---------|
|                     | Erkek                        | Kadın   |
| 1-Fonksiyonel demir |                              |         |
| -Hemoglobin         | 31                           | 28      |
| -Miyoglobin         | 5                            | 4       |
| -Hem enzimleri      | 1                            | 1       |
| -Non-hem enzimler   | 1                            | 1       |
| 2-Transport demir   |                              |         |
| -Transferrin        | <1(0,2)                      | <1(0,2) |
| 3-Depo demir        |                              |         |
| -Ferritin           | 8                            | 4       |
| -Hemosiderin        | 4                            | 2       |

Ayrıca vücutta hücrel ve anatomik lokalizasyonu saptanamayan, vücut demirinin % 2,2 sini içeren ‘labil havuz’ demiri adı verilen dördüncü bir kompartman mevcuttur (15).

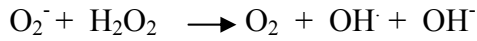
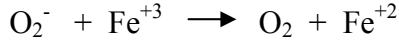
### 2.1.2.Demirin Fizyolojisi

Demir elektron alıp verme özelliği nedeniyle oksijen taşınması, enerji yapımı, deoksiribonükleik asit (DNA), ribonükleik asit (RNA) ve protein sentezinde yer alır (10). Demirin Fenton reaksiyonları da serbest oksijen radikallerinin hidroksil radikaller (OH<sup>-</sup>)’ine dönüşümünü sağlar. Demir, reaktif özelliğinden dolayı organizmada hasar oluşturabildiğinden, canlılar esansiyel fonksiyonları yerine getirecek ama hasar oluşturmayacak kadar demirin sağlanabilmesi için çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir. İnsanlarda demir yüklenmesi durumlarında demir atılımını arttıran fizyolojik bir yol bulunmadığından, demir metabolizması sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir (10,16). Bu

düzenleme mekanizması bozulursa veya dışarıdan parenteral demir veya kan alınırsa fazla demir dokularda birikerek reaktif oksijen radikallerinin oluşmasına neden olur. Demir alımında veya ihtiyacında dalgalanmalar olsa da plazma ve ekstraselüler sıvı demir konsantrasyonu dar bir aralıkta tutulur. Bu demirin hücre içine veya dışına transportu, demir absorpsiyonu, depolanması ve geri dönüşümünün sıkı düzenlenmesi sayesinde sağlanır (16).

Diyetten demir emilimini sağlayan duodenal enterositler, temel demir deposu olan hepatositler, eski eritrositlerdeki demirin geri dönüşümünü sağlayan makrofajlar ve gebelikte anneden bebeğe demir transportunu sağlayan sinsityotrofoblastlar demirin plazma konsantrasyonunu dengeleyen başlıca hücre ve dokulardır (16).

Demirin redoks reaksiyonlarını katalize etme özelliği toksisitesinin de başlıca nedenidir. Normal hücresel reaksiyonlar sonucu oluşan reaktif oksijen ara ürünleri olan süperoksit ( $O_2^-$ ) ve hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ), vücuttan uzaklaştırılmadığında oksidatif stres oluşturmaktadır. Oksijen ara ürünleri demire bağımlı Fenton reaksiyonu ile hücresel zedelenme yapabilecek oksijen radikallerine dönüşebilmektedir (12,17).



Hidroksil radikaller, DNA ve protein gibi makromoleküllere zarar verebileceği gibi hücre membranındaki lipidlerin peroksidasyonunu da artırır. Hücre içi yapılar ve özellikle lizozomlar bu çeşit peroksidasyona çok duyarlı olduğundan böylesi bir hücre zedelenmesi lizozom membranının da zarar görmesi sonucu lizozomal enzimler hücre proteolizine neden olur, sonuçta hücre ölümü gerçekleşir. Tüm bu reaksiyonlar ve hücre zedelenmesi demirin aşırı birikimi ile giden klinik durumlarda daha fazla olarak görülür ve bu da aşırı demir birikiminde görülen doku ve buna bağlı organ zedelenmesi ve yetmezliklerinin başlıca nedenidir (12).

### 2.1.3. Demir Emilimi

Normal diyet ile alınan demirin sadece %10'luk kısmı emilirken, bu oran demir eksikliğinde belirgin şekilde artmaktadır.

Demir absorpsiyonu primer olarak duodenum ve proksimal jejunumda olur. Demirin emilebilir formda olup olmaması, demirin diyetteki miktarı, gastrik sekresyon, intestinal motilite, cerrahi işlemler ve intestinal hastalıklar gibi gastrointestinal faktörler, demir absorpsiyon hızını etkiler. Diyetle alınan demirin % 90 kadarı demir tuzları şeklinde olan non-hem demiri ( ferrik;  $Fe^{+3}$ ), %10'u hem ( ferröz;  $Fe^{+2}$ ) demiridir (11,18). Ferröz demir, ferrik demire göre daha kolay emilir ve ferrik demirin % 5'i, ferröz demirin ise %30'u emilmektedir.

Non-hem demirin absorpsiyonunu etkileyen faktörler Tablo II'de özetlenmiştir (19).

Tablo II: Non-hem demirin absorpsiyonunu etkileyen faktörler

---

|  |
|--|
| 1-Diyetle ilgili faktörler                         |
| a)Emilimi arttıran faktörler                       |
| - Askorbik asit (C vitamini), sitrat, aminoasitler |
| - Et, balık ve diğer deniz ürünleri                |
| - Düşük pH   |
| b) Emilimi inhibe eden faktörler                   |
| - Fitatlar, fosfat, kalsiyum                       |
| - Polifenoller (çaydaki tanin), yumurta sarısı     |
| - Oksalat, kepek                                   |
| 2) Konak faktörleri                                |
| a) Demir durumu                                    |
| b) Sağlık durumu (infeksiyonlar, malabsorpsiyon)   |

---

Duodenuma giren demirin fiziksel durumu demirin emilimini etkilemektedir. Midenin asidik içeriği proksimal duodenumun pH'sını düşürmekte ve bu da demirin çözünürlüğünü artırmaktadır. Asidik pH demirin  $Fe^{+2}$  şeklinde bulunmasına ve demir emiliminde artışa neden olmaktadır. Demir emilimini etkileyen bazı nutrisyonel elementler de bulunmaktadır. Örneğin askorbik asit ve sitrat emilimi artırırken, fitat ve tanin demirin emilimini olumsuz yönde etkiler (13,20).

Diyetle alınan non-hem demir duodenumun fırçasms kenarında sitokrom  $\beta$  benzeri duodenal ferriredüktaz ile  $Fe^{+2}$ 'ye indirgenmekte ve 'divalent metal transporter 1' (iki değerlikli metal taşıyıcı 1-DMT1) aracılığı ile fırçasms kenar membranından enterositlere alınmaktadır. Duodenal ferriredüktaz enzim aktivitesi demir eksikliğinde artar ve DMT1'in işlevsel olabilmesi ancak düşük pH'larda mümkün olmaktadır ve DE olanlarda ekspresyonunun çok arttığı gösterilmiştir.

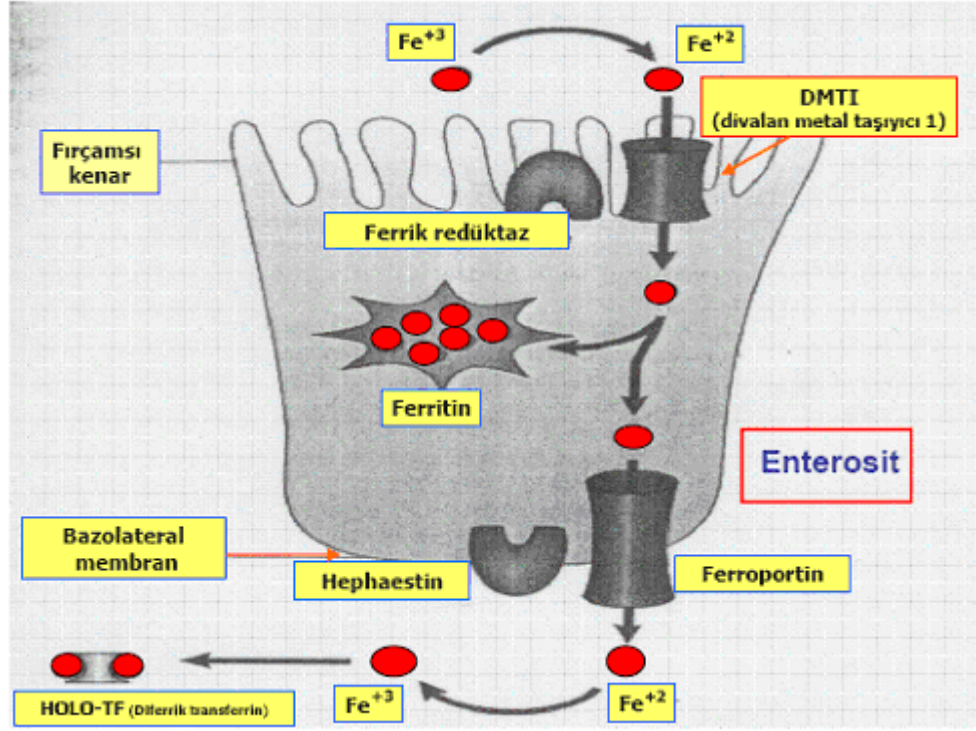
İki değerlikli metal taşıyıcı 1 sadece  $Fe^{+2}$  değil, kadminyum ( $Cd^{+2}$ ), kalsiyum ( $Ca^{+2}$ ), kobalt ( $Co^{+2}$ ), alüminyum, bakır ( $Cu^{+2}$ ), mangan ( $Mn^{+2}$ ), kurşun ( $Pb^{+2}$ ), Çinko ( $Zn^{+2}$ ) gibi diğer iki değerlikli metal iyonlarını da taşıyabilmektedir.  $Pb^{+2}$ ,  $Mn^{+2}$ ,  $Co^{+2}$ ,  $Ca^{+2}$  ve  $Zn^{+2}$ 'nin demir ile absorpsiyonda yarıştığı gösterilmiştir. Demir eksikliğinde kompensatuvar olarak artan demir absorpsiyonu bu metallerin de emilimini arttırmaktadır.

Gıdalarla alınan ferrik demir, ferröz demire çevirildikten sonra DMT1 aracılığıyla enterosite alınır. DMT1 mutasyonu bulunan hastalarda konjenital mikrositik anemi, artmış transferrin saturasyonu (TS) ve KC'de aşırı demir birikim bildirilmiştir. Bu durum hastaların çok fazla transfüzon alması ya da olası alternatif bir yoldan bu hastalarda hem demir emiliminin gerçekleşmesi ile açıklanabilir (13,21).

Hem demirinin emilimi özel hem taşıyıcı proteinler aracılığı ile olmaktadır. Non-hem demirin emilimine göre daha kolaydır ve kontrol mekanizmalarına daha az duyarlıdır.

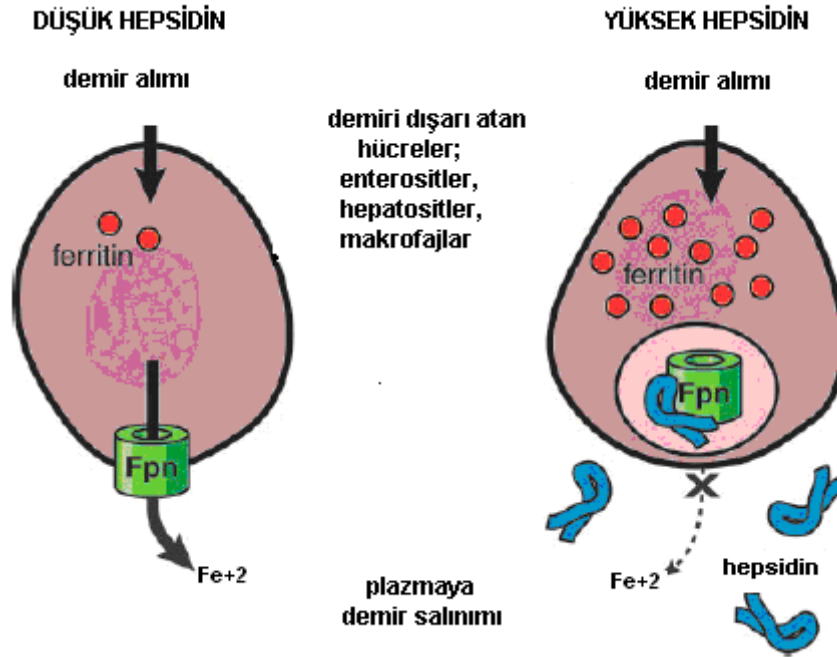
Enterosit içindeki  $Fe^{+2}$ , ferritin şeklinde depolanarak enterosit öldüğünde mukozal yüzeyle kaybedilen demir olarak atılır ya da FPN aracılığı ile bazolateral membrandan plazmaya transfer olur (Şekil-1).





Şekil 1: Demirin duodenumdan emilimi

Ferroportin; enterositin bazolateral membranında demirin plazmaya verilmesinden sorumlu olan proteindir. DMT1 gibi FPN de ferröz demiri taşıyan bir hücre membran proteindir. FPN; plasental sinsityotrofoblastlarda, enterositlerin bazolateral yüzeyinde, hepatosit ve makrofajlarda eksprese olur. Demiri, bulunduğu hücre çeşidine göre anneden fetusa, enterositten dolaşıma taşır ya da makrofajda demir döngüsünde görev alır. FPN ekspresyonu, postranskripsiyonel olarak hepsidin ile azalmaktadır (14,21,22). Hepsidin düzeyi arttıkça, FPN'e bağlanmakta ve FPN'in hücre içine alınmasına ve lizozomlarca parçalanmasına neden olmaktadır. Bu mekanizma duodenum ve makrofajlardan dolaşıma demir salınmasını engellemektedir (Şekil-2).



Şekil 2: Düşük ya da yüksek serum hepsidin seviyelerinde, ferroportin ile ilişkili hücrelerden ferröz demir atılımı görülmektedir  
 FPN: ferroportin, Fe: Demir

Otozomal dominant geçiş gösteren bazı hemakromatozisli hastalarda FPN mutasyonu gösterilmiştir (13,14,21).

Ferritin; moleküler ağırlığı 440 kd olan ve yirmi dört subünitesi bulunan, ana depo demiridir. Her bir ferritin molekülü iki bin demir atomu içerir. H (ağır) ve L (hafif) olmak üzere başlıca iki ferritin subünit vardır (16). Değişik hücreler biyokimyasal ve fizyolojik özelliklerine göre değişik miktarda H ya da L izoferritini içerirler (11). Ferritin mRNA (mesajcı ribonükleik asit)'sı içinde yer alan ve 'demir düzenleyici element' (iron regulatory elements-IRE) adı verilen kısım, ferritin molekülünün sentezinin düzenlenmesini kontrol eder. IRE' e bağlanarak ferritin translasyonunu inhibe eden 'demir düzenleyici elementi bağlayan protein' (iron regulatory element binding protein-IRE-BP) adı verilen proteinler tanımlanmıştır. Hücresel demir konsantrasyonu düşük olduğunda IRE-BP ekspresyonu artar ve ferritin sentezi azalır (16,23).

Ferritin sentezi bilinen iki mekanizma ile kontrol edilmektedir. Biri promotor bölgesi ile DNA transkripsiyonu üzerinden, diğeri ise demir düzenleyici proteinler aracılığı ile mRNA

translasyonu düzeyinde olmaktadır (14,24). Ferritin molekülleri agregatlar şeklinde bir araya gelerek lizozomlar tarafından yıkılır. Bunun sonucunda hemosiderin denilen demir oksit molekülleri ve denature proteinler oluşur. Demirle aşırı yüklenmiş hücrelerin lizozomlarındaki hemosiderin Prusya mavisi ile boyanarak tespit edilebilir.

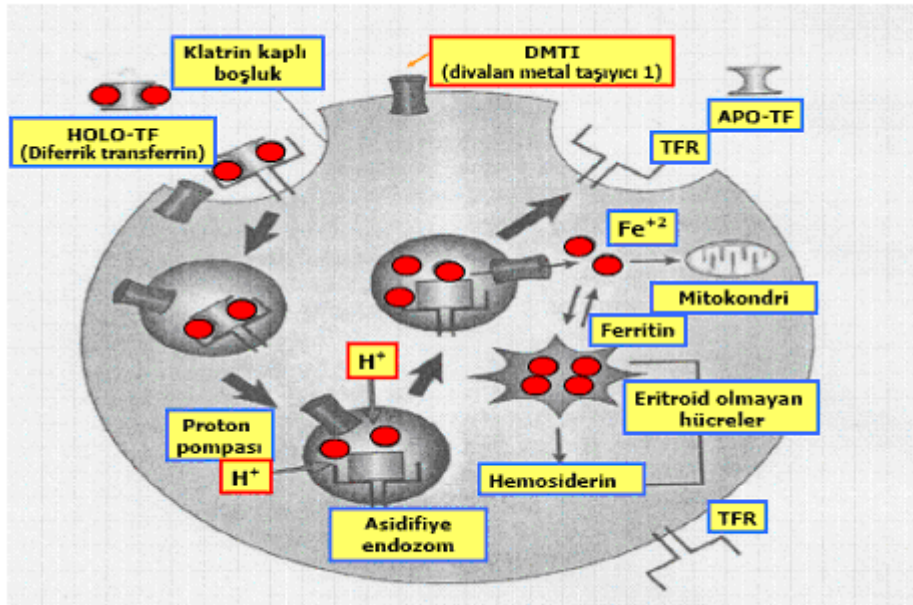
$Fe^{+2}$ , hephaestin aracılığı ile  $Fe^{+3}$ 'e dönüşerek dolaşıma salınmaktadır. Hephaestin bir transmembran protein olup, seruloplazmin ile belirgin bir yapısal benzerlik gösterir (24). Demirin, demir transfer eden hücreler olan enterosit, hepatosit ve makrofajlardan çıkışını sağlayan tek protein olan FPN aracılı salınımı, demir homeostazının önemli bir belirteçidir. Dolaşıma salınan demir transferrine bağlanmakta, demir ihtiyacı olan hücrelerin yüzeyinde bulunan transferrin reseptörü 1 (TfR-1) aracılığı ile hücrelere alınmaktadır (23).

Transferrin (Tf);  $Fe^{+3}$ 'ü yüksek afinite ile bağlar, hepatositlerde sentezlenir, her bir transferrin molekülünün iki demir atomu bağlama bölgesi bulunur. Tf,  $Fe^{+3}$  vücut sıvılarında çözünür olmadığından demirin diğer moleküllerle reaksiyona girmesini önler ve dokulara toksik etki göstermeden demiri dokulara teslim eder. TfR geni 3 nolu kromozomun uzun kolunda yer alır. KC ve RES makrofajları temel demir depoları olarak işlev görmektedir. RES makrofajları demiri, yüzey Tf aracılığı ile veya yaşanan eritrositlerin fagositozu ile elde etmektedir (25).

Transferrin, demiri dokulara hücre membranındaki TfR reseptörü aracılığı ile verir. Olgun ve farklılaşmış hücrelerin çoğunda TfR bulunmazken, özellikle eritrosit öncülleri, tümör hücreleri ve aktive lenfositler gibi gibi demir gereksinimi yüksek olan hücrelerde yüksek oranda eksprese olur. Diferrik Tf, monoferrik Tf e göre TfR'e daha yüksek afinite ile bağlanır. Serum ya da çözünür TfR (sTfR), TfR'nin proteolitik bir parçalanma ürünüdür ve molekülün hücre dışındaki kısmının tamamını oluşturur. Serum Tf, eritroid kütle ile ilişkili olarak dolaşımda bulunur, DE ve inefektif eritropoezde sTfR konsantrasyonu artmıştır (13).

Transferrin, reseptöre bağlandığı zaman Tf-TfR kompleksinin üzerinde bulunduğu hücre membranı hücre içinde bir vezikül oluşturarak hücre içine endozomal olarak alınır. Endozomun pH'sı ATP bağımlı bir proton pompası aracılığı ile 5.5' e düşer ve Tf-TfR kompleksinde değişiklikler olur ve demir kompleksten ayrılır. Serbest kalan  $Fe^{+3}$ , ferriredüktaz STEAP3 (six-transmembrane epithelial antigen of prostate 3) proteini ile  $Fe^{+2}$ 'ye indirgenerek endozomal membrandan hücre stoplazmasına DMT1 proteini

yardımıyla geçer. İntestinal apikal yüzeyde olduğu gibi asidik olan endozomal pH, DMT1 aracılığı ile demirin stoplazmaya taşınmasını kolaylaştırır. İntestinal ve endozomal DMT1 proteinleri farklı izoform olmakla birlikte çok benzerdir ve aynı gen tarafından kodlanırlar. Sitoplazmaya geçen demir biyosentez için kullanılabilir, ferritin şeklinde depolanabilir ya da bazı hücrelerde mitokondriye geçer. Eritroid hücrelerde demir mitokondriyal membrandan mitoferrin 1 aracılığıyla içeri alınmakta ve ferroselataz enzimi ile hem proteinin yapısına girmektedir. Demirin TfR-Tf aracılıklı endositozu diğer endositozlardan farklı olarak lizozomal yıkıma uğramaz ve TfR hücre yüzeyine tekrar dönerek başka sikluslarda kullanılır. Tf ise dolaşıma katılır. TfR'nün tekrar kullanılmasına 'TfR döngüsü' denir (13,21). TfR döngüsü Şekil 3'de şematize edilmiştir (13).



Şekil 3: Endostatik Transferrin Döngüsü

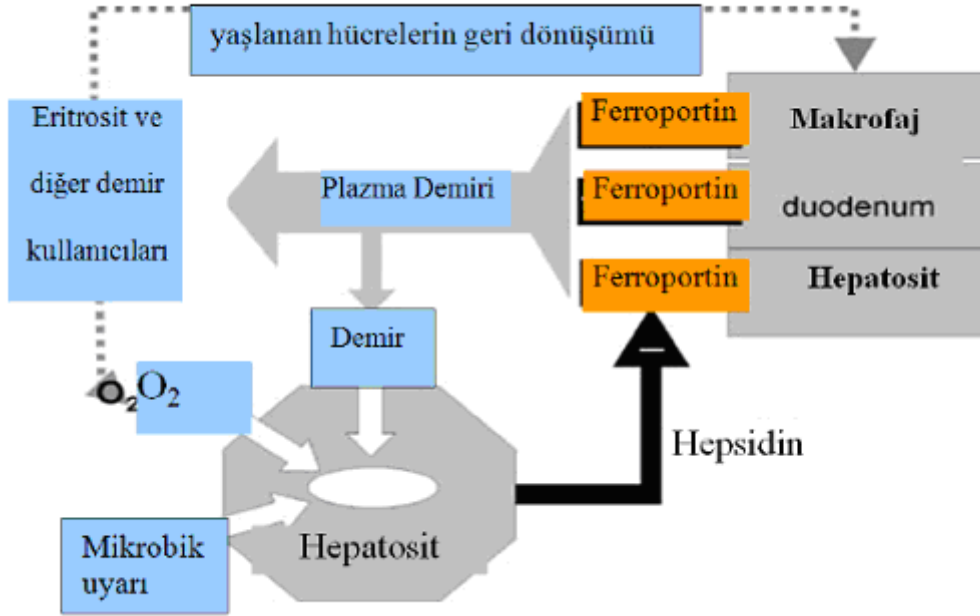
Aşırı demir yükü varlığında Tf tamamen doygunluğa erişir ve Tf'ne bağlı olmayan demir, zayıf olarak albumin, sitrat, aminoasit ya da diğer küçük moleküllere bağlanır ve Tf'e bağlı demirden farklı davranışlar sergilerler. Endokrin organ, böbrek ve kalp dokusu gibi hematopoetik olmayan dokuların Tf'e bağlı olmayan demire yüksek afiniteleri vardır. Yapılan çalışmalarda bu demirin ilk olarak KC ve pankreasta biriktiği gösterilmiştir. Bu demir hücreler için oldukça toksiktir. Fenton reaksiyonu ile plazmada serbest oksijen radikalleri oluşur. Bu nedenle aşırı demir birikiminde Tf'e bağlı olmayan demirin şelasyon tedavisi ile plazmadan uzaklaştırılması sağlanmalıdır (13).

#### **2.1.4. Hücre İçi ve Hücre Dışı Demir Konsantrasyonunun Düzenlenmesi**

Hücre içi demir konsantrasyonu IRE-BP-1 ve IRE-BP-2 proteinleri tarafından düzenlenir. Sitoplazmik demir düzeyi düştüğü zaman IRE-BP'ler, IRE-BP'lerin mRNA'sında sentezlenen IRE'ye bağlanır. IRE'lerin pozisyonuna bağlı olarak (5' ve 3' untranslated alan) IRE-BP bağlanması iki zıt etki gösterir; IRE-BP, 3'IRE ye bağlanırsa mRNA stabilize olur ve protein sentezi artar, 5'IRE bağlanırsa mRNA translasyonu tetiklenir ve protein sentezi azalır.

Hücre dışı demir konsantrasyonu normal aralıkta olduğu sürece sitoplazmik demir konsantrasyonuna bağlı olarak hücrel demir konsantrasyonu, hücrel demir alımı, depolanması ve salınımını IRE-BP/IRE sistemi tarafından düzenlenir (16,23).

Demirin plazmaya salınması; yaşlı eritrositlerdeki hemoglobinin makrofajlar tarafından fagosit edilerek geri dönüşümü, hepatositlerden demirin salınımı, duodenal enterositler tarafından diyetdeki demirin absorpsiyonu ve plazmaya salınımı sayesinde gerçekleşir. İnflamasyon ve plazmada demir fazlalığı sonucu, hepatositlerden hepsidin salınımı gerçekleşir. Hepsidin, makrofaj, hepatosit ve enterosit membranında yer alan FNP'in hücre içine alınarak yıkılmasına neden olur ve demirin plazmaya akışını inhibe eder (16), (Şekil-4).



Şekil-4: Plazma hepsidin düzeyinin demir düzeyi, anemi ve hipoksi ile düzenlenmesi

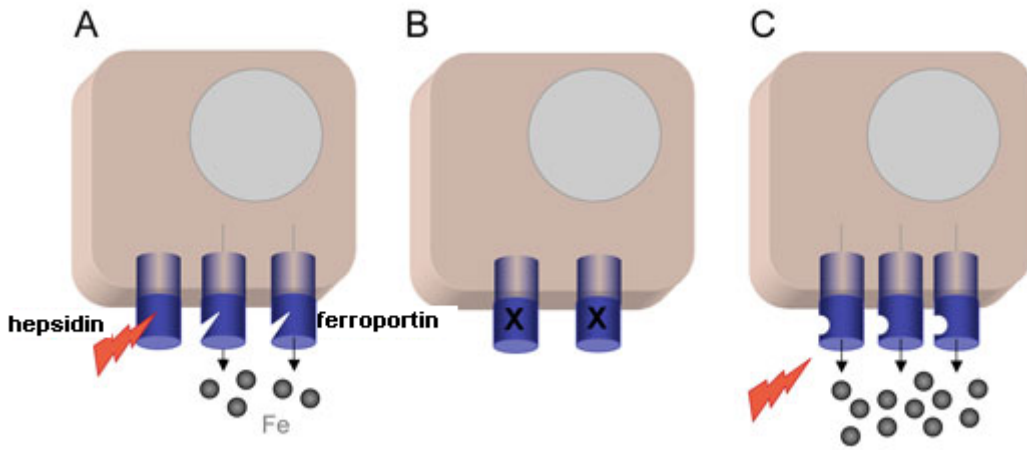
HFE proteini, 6. kromozomda bulunan HFE geninin bir ürünüdür ve hemen her hücrede bulunmakla birlikte en fazla hepatositlerden eksprese olmaktadır. Bu gen mutasyonları hemakromatozis hastalığının büyük kısmından sorumludur. HFE proteini TfR ile kompleks oluşturmaktadır. Bu komplekste HFE'nin rolü tam olarak bilinmemektedir (14, 26, 27).

## 2.2 HEPSİDİN (KC'in eksprese ettiği antimikrobiyal protein - liver-expressed antimicrobial protein, LEAP-1)

Hepsidin KC'de sentezlenen bir akut faz reaktanı olup 25 aminoasitten oluşur ve antimikrobiyal özellikleri bulunur. Park ve ark. (28) 2001 yılında çeşitli insan vücut sıvılarının antimikrobiyal özelliklerini incelerken, idrarda KC kaynaklı (hep-) ve in vitro antibakteriyel özelliklere (-cidin) sahip yeni bir peptid bulmuş ve onu 'hepcidin' (hepatik bakterisidal protein) olarak adlandırmıştır.

Plazmada bulunan hepsidin böbreklerden filtrasyona uğrar ve idrarla atılır. Hepsidin plazmada bulunması intestinal epitel hücrelere ve makrofajlara etkili olarak demirin

negatif yönde kontrolünü sağlar. İntestinal bazolateral yüzdeki FPN sadece demirin dolaşıma salınmasında rol almaz, aynı zamanda kendisini regüle eden hepsidinin de reseptörüdür. Hepsidin arttığında FPN'e bağlanır ve FPN'in intraselüler halkasında bulunan aminoasitleri fosforile ederek, hepsidin-FPN kompleksinin hücre içine alınmasına yol açar. Sonrasında FPN ubiquitizasyona uğrar ve her iki protein de lizozomal yıkıma gider (16) (Şekil-5).



Şekil 5: Hepsidin ile ferroportin ilişkisi

- A: Hepsidin ferroportin'e bağlanarak demirin hücre dışına çıkmasını engeller.
- B: Hepsidin-ferroportin kompleksi hücre içine alınmasına olur ve ferroportin lizozomlarda yıkılır.
- C: Hepsidin ferroportin'e bağlanmadığında hücre içinden dışarıya demir salınır.

Hepsidin demir düzenlenmesindeki anahtar rolü ilk kez farelerde gösterilmiştir. Hepsidin azaldığı durumlarda farelerde aşırı demir birikimi gelişirken, aşırı eksprese olduğu durumlarda doğumda başlayan ağır DE görülmektedir. Öte yandan sentetik hepsidin verildiğinde demirde hızlı bir azalma (4-24 saat) gözlenmektedir. Hepsidin sadece intestinal FPN üzerinde etkili değildir, aynı zamanda makrofajlarda bulunan ve dolaşıma demir salınmasında görevli FPN üzerine de aynı şekilde etkili olmaktadır. Sonuç olarak hepsidin, makrofaj ve intestinal hücrelere etki ederek vücudun demir dengesinin negatif regülasyonunu sağlamaktadır (23). Böylece eritropoez için gerekli olan demir azalmaktadır.

### 2.2.1. Hepsidin Yapısı

19q13.1 kromozomunda yer alan insan hepsidin geni, 84 aminoasitlik (aa) öncü protein pre-prohepsidini kodlar. Pre-prohepsidin, 64 aa'lık pro-hepsidin peptidi olarak endoplazmik retikulum lümenine aktarılır. 39 aa'lık öncü peptidin ayrılması sonucu, 25 aa'lık olgun biyoaktif hepsidin-25 oluşur (29). KC'de sentezlenen, plazmada bulunan ve idrarla atılan hepsidinin 25 aa'lık formun yanı sıra idrarda, muhtemelen 25 aa'lık formun yıkım ürünleri olan 20 ve 22 aa'lık formları da bulunur (25,30).

### 2.2.2 Hepsidin Biyolojik İşlevleri

Hepsidin vücutta bilinen en az iki farklı işlevi vardır.

1) *Antimikrobiyal İşlev:* İnsan hepsidini in vitro olarak, 10-30  $\mu\text{M}$  gibi çok yüksek konsantrasyonlarda antibakteriyal ve antifungal özellikler göstermektedir. İdrar hepsidin konsantrasyonları 3-30 nM (10-100 ng/mL) aralığındadır ve infeksiyonlar sırasında 10 kata kadar artabilmektedir. Bu yüzden hepsidin idrarda antimikrobiyal etki göstermesi olası değildir (31).

2) *Demir-Düzenleyici İşlev:* Diyetle alınan demir ile hepsidin sentezinin arttığı gözlenmesi, hepsidin demir metabolizmasında yer aldığını düşündürmüştü ve transgenik fare modellerinde yapılan bir çalışmada hepsidin eksikliği ve fazlalığının etkileri incelendiğinde; fare hepsidin düzeyinin bağırsakta demir emiliminin, plasentadan demir taşınmasının ve makrofajlardan demir salımının negatif düzenleyicisi olduğu gösterilmiştir (31).

### 2.2.3. Hepsidin Sentezinin Düzenlenmesi

#### 2.2.3.1. Demir ile Hepsidin Sentezinin Düzenlenmesi

Farelerde oral veya parenteral demir yüklemesi hepatik hepsidin mRNA ekspresyonunu artırır. İnsanlarda tek doz oral demir bile (65 mg  $\text{FeSO}_4$ ) birkaç saat içinde üriner hepsidin ekskresyonunu arttırmıştır (32). Artmış plazma hepsidin düzeyi; demirin intestinal emilimini ve depolardan salımını inhibe eder. Hepsidin mRNA'sı Fe-regülatör proteinleri bağlamak için gerekli IRE içeren yapıdan yoksundur. Hepsidin demirle regülasyonu ile ilgili bilgiler herediter hemokromatozis gen çalışmalarından elde edilir. Demir aşırı



yüklenmesine rağmen homozigot HFE, Tfr-2 ve hemojuvelin (HJV) mutasyonu olan hastalarda veya farelerde hepsidin oranı düşük bulunur. Sonuç olarak bu moleküllerin demir bağımlı olarak hepsidin sentezini düzenlediği gösterilmiştir (16,33,34).

### **2.2.3.2. Kemik morfojenik protein (bone morphogenetic protein-BMP) sinyal yolağı**

Hepsidin sentezinin uyarılmasında BMP önemli rol oynar. TGF- $\beta$  ailesinin üyesi olan BMP, hücre proliferasyonu, apoptozisi ve farklılaşmasında rol alır. Hepsidin gen transkripsiyonunu da uyararak sentezinde rol alır. HJV, BMP'nin etkisini artırır (35,36).

Hemojuvelin, iskelet kası ve hepatositlerde eksprese olan glikozil fosfotidil inositol'e (GPI) bağlı bir hücre yüzey proteindir. Santral sinir sisteminde nöronal gelişim için önemli olan ve BMP ko-reseptörü olarak çalışan 'repulsive guidance proteins' (itici rehber proteinler-RGM) ile yapısal benzerlik gösterir. BMP'ler hücre yüzeyindeki BMP reseptörlerine bağlanarak otokrin ya da parakrin etki gösterilebilen çözünür proteinlerdir. Tip 1 BMP reseptörlerinin fosforilasyonu, hücre içi bir sinyal yolağı olan 'sons of mothers against decapentaplegic homologue' (SMAD) proteinlerini fosforile eder ve SMAD proteinleri BMP yanıtı DNA elemanlarına bağlanarak gen transkripsiyonunu uyarır. Böylece BMP-SMAD yolağı ile hepsidin ekspresyonu artar. HJV ise BMP'nin ko-reseptörüdür ve hepsidin ekspresyonunun aktivasyonunda bu yolak aracılığıyla görev alır (20).

### **2.2.3.3. Anemi ile Hepsidin Sentezinin Düzenlenmesi**

Diyetle alınan ve hemoglobinden açığa çıkan demir, kan kaybı veya hipoksi gibi eritropoetik uyarıcıların ardından üretimi artan eritrositlere yönelir (31). Eritropoetik uyarılar hepsidin üretimini azaltır. Hepsidin üretiminin azalması, demir emilimi ve makrofajlardan demir salınımı üzerine olan inhibitör etkisini de ortadan kaldırarak, daha fazla demirin eritropoez için kullanılmasını sağlar.

### **2.2.3.4. İnflamasyon ile Hepsidin Sentezinin Düzenlenmesi**

Hepsidin inflamasyon veya infeksiyon durumlarında sentezi, vücut demirinden ve eritropoetik aktiviteden bağımsız olarak belirgin şekilde artar. İnterlökin-6 önemli bir hepsidin aktivatörüdür (37,38). Gönüllülere yapılan İL-6 infüzyonu sonrasında, üriner hepsidin ekskresyonunun 7,5 kat arttığı, SD'nin ve transferrin saturasyonunun %30

azaldığı tespit edilmiştir. İnfeksiyondaki hipoferriden başlıca İL-6'nın, dolayısıyla da hepsidinin rolü olduğu görülmüştür (37,39). Ayrıca, farelerde yapılan başka bir çalışmada; BMP 2, 4, 9 ve TGF-β'nin hepsidin sentezini uyardığı, İL-1 ve tümör nekrozis faktör-α (TNF-α)'nın hepsidin mRNA' sını indüklenmediği gözlenmiştir (40).

İnterlökin-6 yaklaşık 26 kD luk bir sitokin olup, mononükleer fagositler, damar endotel hücreleri, fibroblastlar ve epitel hücreleri ile bazı aktive T hücreleri tarafından sentez edilir, İL-1 ile TNF-α'nın etkisiyle salgılanır, bu sitokinlerle sinerjistik etkilere sahiptir. İnterlökin-6'nın en iyi tanımlanan etkileri hepatositler ve B lenfositleri üzerine olup, akut faz yanıtına katkıda bulunan birçok plazma proteininin hepatositler tarafından sentezine neden olur (36).

C-reaktif protein akut faz proteinlerinin öncüsüdür. Pnömonokların 'capsule' antijenine bağlandığı için CRP adını almıştır. CRP hepatositlerde üretilen ve pek çok stimulan sorumlu olan akut faz proteindir. KC fonksiyonu normal olan kişilerde serum düzeyi inflamatuvar aktivasyonu gösteren iyi bir parametredir ve serumdaki konsantrasyonu, İL-6 ve TNF-α seviyeleri ile ilişkilidir (36). CRP yapımı insanda İL-1, İL-6 ve TNF-α dengesi sonucu etkilenir. Son zamanlarda serum konsantrasyonunun, yağ dokusu ve İL-6 salınımı ile düzenlendiği düşünülmektedir (41,42). Serum İL-6 ve CRP konsantrasyonları arasında doğrusal bir ilişki vardır.

Transforme eden büyüme faktörü-β; trombosit, makrofaj ve fibroblast gibi çeşitli hücrelerden salınır. Aktivasyonu için spesifik hücre yüzey reseptörlerine bağlanır ve sinyal iletim kaskadını başlatır. TGF-β ekspresyonu sonucu inflamatuvar hücrelerin arttığı görülmüştür.

Farelerde yapılan bir çalışmada hepsidinin; İL-6, TGF-β ya da lipopolisakkarid (LPS) tarafından uyarıldıktan sonra, hızlıca serum seviyesinde arttığı, 6 saatte pik yapıp 4-24 saat içinde demir seviyesini azalttığı görülmüştür (38).

### **2.2.3.5. Hipoksi ile hepsidin sentezinin düzenlenmesi**

Hipoksi ile uyarılan faktör [hypoxia inducible factor-(HIF) ]'ün; HIF-1 α, HIF-2 α ve HIF-3 α'dan oluşan regülatuar alt birimleri, oksijen varlığında, demir bağımlı prolyl hidroksilaz tarafından modifiye edilir ve 'von-Hippel-Lindau proteini' ile etkileşir.

Sonrasında bu alt birimler yıkılır. Hipoksi veya DE durumunda ise prolyl hidroksilaz enzimi inaktifleşir ve HIF-  $\alpha$  regülatuar alt birimi artarak çekirdeğe transloke olur. Çekirdekte HIF-1 $\beta$  ile etkileşen  $\alpha$  alt birimi, eritropoetinin (EPO) üretimini arttıran genlerle etkileşir ve hepsidin gen transkripsiyonu negatif yönde modifiye edilmiş olur (43,44).

## **2.2.4. Demir Metabolizma Bozuklukları ve Hepsidinle Düzenlenmesi**

### **2.2.4.1. Herediter Hemokromatozis (HH)**

Herediter hemokromatozis; aşırı demir emilimi, transferrin, ferritin ve diğer demir bağlayıcı proteinlerin saturasyon bozuklukları ve vital organlarda demir birikimi ile karakterize bir grup hastalığı içermektedir. Serbest demir, reaktif oksijen ürünlerinin sentezini arttırdığından toksik bir maddedir. Bu nedenle HH; KC yetmezliği, kardiyomiyopati, endokrin bezlerde harabiyet ve eklem hasarına neden olmaktadır. Günümüzde HH' den sorumlu spesifik genler belirlenmiştir (31,39). HH aşırı demir yüklenmesine rağmen hepsidin eksikliği ile karakterizedir ve HFE, TfR-2 ve HJV'in homozigot bozukluğuna bağlı olarak oluşur. Bu proteinlerden, hepsidin regülasyonunda en etkilisi HJV'dir. Çünkü HJV gen dağılımı, hepsidin homozigot gen dağılımını tıpa tıpa taklit eder. Her ikisinin eksikliği de en ciddi HH olan Juvenil HH ile sonuçlanır (29,34).

Homozigot HFE gen bozukluğu olan insanlarda ve farelerde aşırı demir yüklenmesine karşın KC hepsidin mRNA düzeyleri düşüktür (45,46). HFE mutasyonuna bağlı hemokromatozis daha ılımlıdır. Bu nedenle HFE, hepsidin esansiyel fonksiyon düzenleyicisinden çok demir reseptörü ve sinyal düzenleyicisi olarak fonksiyon görür. Aksine TfR-2 homozigot bozukluğuna bağlı oluşan hemokromatozis daha ciddidir ve üriner hepsidin düzeyleri çok daha düşüktür (47).

### **2.2.4.2. Hemojuvelin**

Hemojuvelin son zamanlarda bulunan nöronal farklılaşma, göç ve apoptozis ile ilişkili olan RGM ailesine ait bir proteindir (34). *In vitro* hepsidin salımını düzenler. Nöronal dokuda sentezlenen diğer RGM'lerden farklı olarak HJV esas olarak iskelet kaslarında, KC'de ve kalpte sentezlenir. HJV'in membrana bağlı bir GPI-bağımlı formu vardır. Bu membran ilişkili formun, hücre bölünmesinde etkili olduğu ve hücre bölünmesi sonrasında

çözünebilir HJV olarak ortama salındığı gösterilmiştir (48). HJV; BMP'nin ko-reseptörüdür ve hepsidin ekspresyonunu arttırır ( 19,35), salınımının baskılanmasıyla hepsidin mRNA' sının salımı azalır (49).

#### **2.2.4.3. Talasemi**

Talasemi sendromları, konjenital diseritropoetik anemi ve sideroblastik anemi gibi hemoliz veya diseritropoeze bağlı kronik anemisi olan hastalarda, aşırı demir yüklenmesi ve anormal demir dağılımı görülür. Bu hastalarda artmış serum ferritini ile gösterilen aşırı demir yüklenmesine karşın, üriner hepsidin düzeylerinin düşük olduğu gösterilmiştir. Üriner hepsidinin serum ferritine oranının düşük olması hepsidinin demir yüküne uygunsuz cevabını yansıtan bir indeks olarak kullanılmaktadır (50).

Talasemi, eritrosit membran bozuklukları ve eritrosit enzim eksiklikleri sonucu oluşan anemiler gibi genetik geçişli anemilerde hepsidin düzeyinin düşük olması, demir emiliminin artması sonucu aşırı demir yüklenmesi ve ilgili organ hasarına neden olur (51).

#### **2.2.4.4. İnflamasyon Anemisi**

İnflamasyon anemisi (İA) kronik hastalık anemisi olarak da bilinir, akut ve kronik infeksiyon ve romatolojik hastalıklar, inflamatuvar bağırsak hastalıkları ve maligniteleri de içine alan hastalıklara bağlı oluşur. İnflamasyon anemisi; azalmış SD ve DBK, artmış ferritin ve kemik iliği makofajlarında birikmiş demir ile karakterizedir. Bakterilerin demiri kullanmasını önlemeye yönelik geliştirilmiş bir savunma mekanizmasıdır (52,53). İnflamasyon anemisi, eritropoetin yanıtında ve eritrosit yaşam süresinde azalma ile karakterizedir.

İnflamasyon sırasında artan İL-6 ve hepsidin düzeyleri, makrofajlar, hepatositler ve duodenal enterositlerde FPN'in hücre içine alınımını ve yıkımını uyarır, böylece demirin bu hücrelerde tutulmasına neden olur ve plazmaya demir akışı önlenir. Saatler içerisinde, genç eritrositler tarafından demirin sürekli kullanılması plazma demirini azaltarak, hipoferremiye yol açar. Böylece inflamasyona bağlı anemi İL-6 dan hepsidine, hepsidinden hipoferremiye ve anemiye doğru uzanan bir kaskadı içermektedir (16). Hepsidin sentezinde etkili olan faktörler Tablo III'de gösterilmiştir (25).

Tablo III: Hepsidin sentezini etkileyen faktörler

| <b>Hepsidini artıran nedenler</b>         |
|---|
| İnflamasyon                               |
| İnfeksiyon                                |
| Eritropoetik aktivitenin azalması         |
| Serbest oksijen radikalleri               |
| Serum demir fazlalığı                     |
| Ferritin yükseklığı                       |
| HJV, BMP                                  |
| Sitokinler                                |
| <b>Hepsidini azaltan nedenler</b>         |
| Son dönem böbrek yetmezliği (hemodiyaliz) |
| Hiperparatiroidizm                        |
| Eritropoetik aktivitenin artması          |
| Alüminyum toksisitesi                     |
| Talasemi major                            |
| Hemokromatozis                            |
| Hipoksi (EPO artmasına bağlı)             |
| Anemi                                     |

HJV: Hemojuvelin, EPO: Eritropoetin, BMP: Kemik morfojenik protein (bone morphogenetic protein)

### 2.3 Total oksidatif durum - total antioksidatif durum

Bütün biyolojik sistemlerde enerji oluşturmak için karbonhidrat ve yağların yakılması, yani oksidasyona maruz kalmaları gerekmektedir. Böylece biyolojik sistemlerde gerekli enerji temin edildiği gibi pek çok sayıda da serbest oksijen radikalinin oluşumuna neden olan reaksiyonlar gerçekleşir. Serbest radikaller, çiftleşmemiş elektrona sahip kimyasal ürünlerdir. Serbest oksijen radikal reaksiyonları, normal metabolik yolların işleyişinin doğal bir sonucudur. Bunlar organizmanın yabancı maddelere ve infeksiyöz ajanlara karşı mücadelesinde önemli rol oynamaktadırlar.

Organizmada, sistemi etkileyen çeşitli preoksidatif faktörler ile bunları dengelemek amacıyla oluşan antioksidatif sistem arasında bir denge bulunmaktadır. Serbest radikallerin üretimi artarsa ve antioksidan sistemler ile arasındaki denge bozulursa, vücudun temel yapı elemanları olan proteinlerin, lipidlerin, nükleik asitlerin ve enzimlerin yapıları ve fonksiyonları bozulabilir. Oksidatif stresin boyutlarının fazla olması veya yanıtın yetersiz kalması durumunda oksidatif hasar oluşmaktadır (54-56).

### 2.3.1 Serbest Oksijen Radikalleri

En önemli serbest oksijen radikalleri şunlardır:

#### 1) Süperoksit Radikali ( $O_2^-$ )

Canlılarda oluştuğu ilk gösterilen radikal olan  $O_2^-$ , zedeleyici özelliği fazla olmayan bir serbest radikal türevidir. Oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkisi vardır. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin %1-5 kadarı  $O_2^-$  yapımı ile sonlanır. (57).

#### 2) Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ )

Hidrojen peroksit, oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi ya da  $O_2^-$  'lerin enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimeleri sonucunda oluşur. Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturur. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilir (57).

#### 3) Hidroksil Radikali ( $OH^-$ )

Çok reaktif bir ajandır. Normal biyolojik fonksiyonlarda da kullanılmaktadır. Fagositoz ve çeşitli enzimatik katalizlerde üretilmektedir.  $OH^-$  en reaktif radikal olarak bilinmekte ve her moleküle saldırarak hasar meydana getirebilir. DNA'nın pürin ve pirimidin bazları ile etkileşebilir (57).

#### 4) Singlet Oksijen ( $O_2^{\uparrow\downarrow}$ )

Oksijenin uyarılmış şekline 'singlet oksijen' denir. Reaktivitesi çok yüksek bir oksijen türüdür. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini oluşturmakta ve  $OH^-$  kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatmaktadır (57).

Yüzden fazla hastalık, serbest oksijen radikalleri ile ilişkilendirilir. Serbest radikaller; sinir sisteminde intraventriküler hemoraji, periventriküler lökomalazi, travmatik beyin hasarı ve beyin tümörleri etiopatogenezinde rol almaktadır. Gözlerde ise katarakt, retinopati, maküler dejenerasyon oluşumuna neden olabilir. Akciğer ve solunum

sisteminde astım, amfizem, respiratuar distress sendromu ve kronik obstrüktif akciğer hastalığına, böbreklerde ise glomerulonefrit ve renal yetmezlik sırasında doku hasarına neden olmaktadır. Gastrointestinal sistemde nekrotizan enterokolit ve crohn hastalığı patogenezinde rol oynamakta, ayrıca hemoglobin ve immun sistem defektleri oluşturmaktadır (57,58).

### 2.3.2. Antioksidan Sistemler

Vücutta reaktif oksijen türlerinin düzeylerini kontrol altında tutmak ve oluşturabilecekleri hasarları engellemek için birçok savunma mekanizmaları bulunmaktadır (54,55).

Serbest radikalleri metabolize eden, serbest radikal oluşumunu önleyen veya serbest radikallerin temizlenmesini arttıran bu maddelere antioksidan maddeler denilir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ya da reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe ederler. Aerobik hücrelerde pek çok antioksidan bulunur. Bu antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olarak ikiye ayrılır (56,57,59). Endojen antioksidanlar; enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenir. Enzim olan antioksidanlar, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz, katalaz, glutatyon transferaz, glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise, bilirubin, albumin, ürik asit,  $\alpha$ -tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluştururlar. Eksojen antioksidanlar; allopurinol, folik asit, C vitamini, E vitamini, asetilsistein, mannitol, adenozin, kalsiyum kanal blokerleri, non steroid antienflamatuar ilaçlar ve demir şelatörleridir (57,59,60).

Total antioksidan kapasiteye en büyük katkı plazmadaki antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada bilirubin, serbest demiri toplayan transferrin ve seruloplazmin, ürik asit, E vitamini, C vitamini gibi proteinler yanında serbest radikalleri tutan zincir kırıcı antioksidanlarda bulunmaktadır. Albumin, ürik asit ve askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan kapasitenin %85'inden fazlasını oluşturur. Bunun nedeni, kanda bilirubin, glutatyon, flavinoidler, alfa tokoferol ve beta karoten gibi antioksidan sistemin komponentlerine nazaran albumin, ürik asit ve askorbik asitin seviyelerinin fazla olmasına bağlıdır.

Kronik KC hastalığında, tüm parankim organlarda, özellikle de KC'de biriken demir KC hasarını arttırarak hepatositlerde serbest oksijen radikali oluşturur ve membran lipit peroksidasyonu geliştirerek hücre hasarına neden olur (3).

#### **2.4. Karaciğer Hastalıkları**

Karaciğer, vücuttaki en büyük organ olup 1200 - 1500 gram ağırlığındadır. Anatomik olarak sağ ve sol olmak üzere iki lobdan oluşan KC; hepatositler, damarlar, safra boşaltım sistemi ve bağ dokusu olmak üzere başlıca dört ayrı yapıdan oluşur (61). KC metabolik fonksiyonların düzenlenmesinde geniş ölçüde rol oynar. Ayrıca, birçok temel fizyolojik olaylarda da merkezi bir rolü vardır.

Doğuştan olan metabolik hastalıklar enzim defektleri sonucu meydana gelir. Protein, yağ ya da karbonhidratların sentez/katabolizma bozukluklarına neden olur. Enzim ya da protein defekti, tüm metabolik yolun yön değiştirmesine yol açar. Bu hastalıklar KC yağlanması, siroz, diğer organ hasarı ile seyreden yapısal KC hasarına yol açar. Alfa-1 antitripsin eksikliği, kistik fibrozis, hiperoksalüri ve üre siklus defekti gibi hastalıklarda temel hasar KC'de olmakla birlikte diğer dokularda da hasar görülmektedir (62). Pediatrik hastalarda % 10 oranında KC nakli yapılmaktadır ve en sık neden ise metabolik hastalıklar, ikinci olarak bilier atrezi'dir. (63,64).

##### **2.4.1. Akut Hepatit**

Akut hepatit KC hücresi nekrozu ve KC'in inflamasyonu ile giden bir tablodur. Son 25 yılda yapılan çalışmalarda, akut hepatit tablosuna sıklıkla infeksiyonların, metabolik, kardiyovasküler nedenlerin ve ilaçların yol açtığı tespit edilmiştir. Eğer vücut içinden veya dışından gelen zehirli maddeler nedeniyle oluşmuşsa toksik hepatit olarak tanımlanır.

Günümüzde infeksiyöz hepatitlerin % 90'ının virüs kaynaklı olduğu bilinmektedir. İnfeksiyöz hepatit hastalığının sebepleri; virüsler, protozoonlar, spiroketler, riketsiyalar ve streptomiçeslerdir. Hemodinaminin bozulduğu durumlarda ortaya çıkabilen iskemik hepatit ve otoimmün hepatit de diğer akut hepatit nedenleri arasındadır. Wilson hastalığı, otoimmün hepatit gibi durumlarda hastalar, altta yatan kronik hastalığın akut alevlenmesi şeklinde de karşımıza çıkabilir. Günümüzde en sık viral hepatit nedeni Hepatit A virusu



(HAV) virusüdür. Ardından Hepatit B virüsü (HBV), non A-E virus infeksiyonları gelmektedir (65).

Çocuklarda sık görülen akut hepatit nedenleri Tablo IV’de gösterilmiştir.

Tablo IV: Çocuklardaki akut hepatit nedenleri

| Yaş Grubu             | Akut Hepatit Nedenleri   |
|-----------------------|--|
| <b>Yenidoğan-6 ay</b> |  |
| İnfeksiyonlar         | HSV, Echovirus, HBV, Adenovirus, Coxackie virus, Parvovirus, CMV |
| Metabolik             | Galaktozemi, tirozinemi, neonatal hemokromatozis                 |
| İskemik               | KKH, Miyokardit, Asfiksi   |
| <b>&gt;6 ay</b>       |  |
| İnfeksiyon            | HAV, HBV, non A-E virus, HSV, sepsis, EBV, Parvovirus            |
| İlaç                  | Valproat, izoniazid, parasetamol, karbamazepin                   |
| Toksik                | Amanita Falloides, fosfor  |
| Metabolik             | Hereditör fruktoz intoleransı, Wilson hastalığı                  |
| Otoimmün              | Otoimmün hepatit   |
| İskemi                | KKH, kalp cerrahisi, asfiksi, miyokardit, Budd-Chiari Sendromu   |

HSV: Herpes simpleks virus, CMV: Sitomegalovirus, KKH: Konjenital kalp hastalığı, HAV: Hepatit A virus, HBV: Hepatit B virus, EBV: Epstein barr virus

#### 2.4.2. Kronik Hepatit

Kronik hepatit en az altı ay süren, çeşitli nedenlere bağlı olarak ortaya çıkan ve değişik derecelerde hepatic inflamasyon ve nekrozla karakterize KC hastalıklarını ifade etmektedir. Ancak Wilson hastalığı, otoimmün hepatit gibi bazı kronik KC hastalıklarında bu süre beklenmeden tanı konulup hastalığın tedavisine başlanabilir. Bunun yanında histopatolojik görünümünde hepatoselüler inflamasyon ve nekroz bulunan bazı hastalıklar da kronik hepatit tanımı altına alınmaktadır. Kronik hepatitler’in hafif formları

ilerleme göstermez veya yavaş ilerlerken, daha şiddetli formlarında skarlaşma ve yapısal reorganizasyon görülebilir, progresyon göstererek sonunda siroza gidebilir (66).

Kronik hepatite neden olan kronik KC hastalıkları nedenleri Tablo V'de gösterilmiştir (67).

Tablo V: Kronik karaciğer hastalıkları nedenleri

| <b>Kronik Karaciğer Hastalıkları</b>   |
|--|
| <p>Metabolik karaciğer hastalıkları:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Tirozinemi</li> <li>- Primer hiperokzalüri</li> <li>- Alfa-1 antitripsin eksikliği</li> <li>- Peroksizomal hastalıklar</li> <li>- Safra asit sentez bozuklukları</li> <li>- Galaktozemi</li> <li>- Üre siklus defektleri</li> <li>- Yağ asit oksidasyon defektleri</li> <li>- Herediter fruktoz intoleransı</li> <li>- Metilmalonik asidemi</li> <li>- Propionik asidemi</li> </ul> <p>Depo Hastalıkları</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Glikojen depo hastalığı</li> <li>- Lizozomal depo hastalığı</li> <li>- Niemann Pick Tip A,B,C</li> <li>- NASH</li> </ul> <p>Wilson hastalığı</p> <p>Kronik viral hepatitler</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-HBV</li> <li>-HCV</li> </ul> <p>Otoimmün hepatitler</p> <p>Kolestatik karaciğer hastalıkları</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- PFİC</li> <li>- Alagille hastalığı</li> <li>- Caroli hastalığı</li> <li>- Biliyer atrezi</li> <li>- Koledok kistleri</li> </ul> <p>Vasküler problemler</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Budd Chiari hastalığı</li> <li>- Konstriktif perikardit</li> </ul> <p>Kriptojenik hepatitler</p> |

PFİC: Progresif familial intrahepatik kolestaz (progressive familial intrahepatic cholestasis)

NASH: Alkolik olmayan KC yağlanması (nonalcoholic steatohepatitis)

HBV: Hepatit B virus

HCV: Hepatit C virus

### 2.4.3 Fulminan Hepatit

Fulminan KC yetersizliği (FKY), önceden herhangi bir KC hastalığı bulunmaksızın ya da bazı kronik KC hastalıklarının akut alevlenmesi sonucu gelişen, KC fonksiyonlarının aniden ve ciddi bir şekilde bozulmasıyla karakterize, sıklıkla ensefalopatinin eşlik ettiği, potansiyel olarak geri dönüşümlü olabilen, ancak mortalitesi oldukça yüksek bir klinik sendromdur (68). Fulminan KC yetersizliği için önceden bir KC hastalığının olmaması şartının yanı sıra, Wilson hastalığı, otoimmün hepatit ya da HBsAg pozitif bir hastada gelişen delta süperenfeksiyonunun sonucu olarak da ortaya çıkmaktadır (68). Fulminan KC yetersizliği olgularının %60-80'inde etyolojik ajan belirlenebilmekte, ilk sırayı hepatit virüsleri, ikinci sırayı ise toksin ve ilaçlar oluşturmaktadır. Paramixovirüs, CMV, HSV ve EBV gibi hepatrop virüsler de FKY'ne yol açabilir. Diğer görülen nedenler arasında ise akut Budd-Chiari sendromu, Wilson hastalığı, sepsis, iskemik hepatit, gebeliğin yağlı KC'i ve KC'in habis tümör infiltrasyonları yer almaktadır (69).

### 2.4.4 Siroz

Karaciğer sirozu, birçok kronik KC hastalığının ulaştığı son evredir. KC sirozunun histopatolojisi, laboratuvar bulguları, kliniği ve doğal seyri sebebi olan hastalığa göre çeşitli farklılıklar göstermektedir. Bununla birlikte sirozu oluşturan patogenetik süreç başlangıçtaki küçük farklılıkların dışında büyük bir benzerlik içerir. Hastalığın başlangıcında etyolojik nedene bağlı olarak gelişen bir hepatoselüler hasar ve buna eşlik eden iltihabi infiltrasyon söz konusudur. Uzun süre devam eden iltihabi infiltrasyon KC'de aşırı bağ dokusu birikimi ve fibroze neden olmakta, gelişen fibrozis KC'in normal yapısı ile mikrovasküler ilişkilerini bozmakta ve devam eden bu süre neticesinde siroz gelişmektedir.

Karaciğer sirozunun temel morfolojik görünümünü oluşturan fibrozis, ekstrasellüler matriksin yapımı (fibrogenesis) ile yıkımı (fibrolizis) arasındaki dengenin bozulmasının bir neticesidir.

İltihabi infiltrasyon ortamında yapısal değişikliğe uğrayan bu hücrelerin lipid içeriği ve retinoid konsantrasyonu azalırken, hücre yüzey reseptörlerinde de bazı değişiklikler meydana gelir. Morfolojik olarak da değişen hücrenin bu yeni formu 'miyofibroblast'

olarak adlandırılır. Miyofibroblastlar ekstraselüler matriks proteinlerinin sentez ve sekresyonu yanısıra çok sayıda profibrojenik sitokin sentezinden de sorumludur (70).

## 2.5 Karaciğer Hastalıkları ve Hepsidin

Vücutta demir fazlalığı olan durumlarda demir parankimal organlarda, özellikle de KC'de birikir. Biriken demir KC yıldızlı hücreleri aktive ederek kollajen ve diğer hücre dışı matriks proteinlerin sentezini arttırır. Sonuçta konnektif doku birikimi olur, fibrozis ve KC sirozu gelişir. Ayrıca serbest oksijen radikalleri, membran lipit peroksidasyonu yaparak KC'de hücre hasarı yapar.

Kronik KC hastalıklarında, hepatik demir birikiminin oluşturduğu inflamatuvar hepatosit hasarına ikincil kupffer hücre hasarı başlar. Son dönem KC sirozunda, KC yetmezliğine sekonder olarak, transferrin ve hepsidin sentezi azalır ve böylece parankimal demir birikimi artar. Bu tablo psödo-hemakromatozis örneği olup; HH gen mutasyonu olmadan, artmış serum TS ve ferritin seviyesi ile tanımlanır. KC'de biriken demir manyetik rezonans görüntüleme (MRG) ve KC biyopsisi ile tespit edilebilir (71).

Son yıllarda yapılan bir çalışmada, hepsidin seviyesinin yaş, cinsiyet ve KC enzimleri ile ilişkisinin olmadığı tespit edilmiştir. En düşük hepsidin değeri son dönem KC yetmezliği olan, Child-Pugh skoru yüksek olan hastalarda tespit edilmiş. Child-Pugh Class C skoru olan hastalarda, class A ve B 'ye göre prohepsidin/ferritin oranı düşük bulunmuş. Ayrıca hepsidin, albumin ile pozitif, INR ile negatif korelasyon göstermiş. KC sirozunun etiyojisinin de hepsidin düzeyini ilgilendirdiği görülmüş; en düşük seviye HCV ve alkolik sirozda iken, HBV veya PBS'lu hastaların serum hepsidin düzeylerinde belirgin fark görülmemiş. Hepatik ensefalopatisi olan hastalarda ise serum prohepsidin düzeyinde belirgin artış saptanmıştır (7).

Karaciğer hastalarında prognozu belirlemede kullanılan en önemli objektif parametre; KC yetmezliğinin derecesini gösteren Child-Pugh ve çocuklardaki son dönem KC hastalığı skorlaması (Pediatric End-Stage Liver Disease Scoring-PELD) / son dönem KC hastalığı skorlaması ( Model For End-Stage Liver Disease Scoring-MELD)'dır. On iki yaşından büyüklere MELD, 12 yaşından küçüklere PELD skorlaması yapılmaktadır (67).

Child-Pugh evresi hastanın prognozu ve serum prohepsidin seviyesi ile pozitif korelasyon gösterir ve klinikte çok sık kullanılır (7). Child-Pugh sınıflamasına göre siroz hastaları sınıf A, B ve C olmak üzere 3 evreye ayrılır. Her olgu için parametrelerin puanlarının toplanması ile elde edilen toplam puanlar değerlendirilir.

Child-Pugh ve PELD/MELD skorlamaları sirotik hastanın yaşam süresini belirlemede oldukça güvenilir sınıflamalardır. Bununla birlikte bu yöntemler kendi içerisinde eksikleriyle tartışılmakta ve ideal sınıflama arayışı devam etmektedir.

### 3.GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1 Çalışma Gruplarının Seçimi

Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Ana Bilim Dalı Gastroenteroloji bölümüne 02/02/2009 ile 01/09/2010 tarihleri arasında başvuran, akut ve kronik KC hastalığı tanısı almış tüm bireyler çalışma grubuna dahil edildi. Çalışmaya bir buçuk yıl boyunca polikliniklerimize başvuran hastalardan, cinsiyet ve yaş ayrımı yapılmadan toplam 44 hasta alındı; bunların 10'u akut hepatitli hasta, diğer 34'ü ise kronik KC hastası idi. Vakalar üç grupta incelendi; akut hepatitli vakalar Grup 1, akut hepatit sonrası iyileşen vakalar Grup 2, kronik hepatitli vakalar ise Grup 3 olarak sınıflandırıldı.

Çalışma öncesi Karadeniz Teknik Üniversitesi Etik Kurulun'dan ( dosya no: 2009/13, karar no: 6 ) onay alındı. Çalışmamız, K.T.Ü. Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırma Fonu tarafından desteklendi ( proje kodu: 2009.114.003.11).

#### 3.1.1.Akut Hepatitli Grup

- 1) Akut HAV infeksiyonu; hastalarda KC enzimleri normalin 7–10 katından daha fazla, Anti-HAV IgM (+)'liği ve/veya direk hiperbilirubinemi (direk bilirubin, total bilirubinin %20'sinden fazla ise) mevcut ise,
- 2) Akut HBV infeksiyonu; hastalarda KC enzimleri normalin 7–10 katından daha fazla, HbsAg (+) ve Anti HBc IgM (+)'liği mevcut ise,
- 3) İlaç ya da başka bir etkene bağlı olarak gelişen toksik hepatit varlığında; KC enzimleri normalin 7–10 katından daha fazla ve/veya direk hiperbilirubinemi mevcut ise,
- 4) Akut hepatit bulguları ile başvurmuş Wilson hastaları,
- 5) Akut hepatit bulguları (KC enzimleri normalin 7–10 katından daha fazla ve/veya direk hiperbilirubinemi) ile başvurmuş otoimmün hepatit tanısı almış hastalar,
- 6) Diğer viral infeksiyonların seyri sırasında gelişen akut hepatitli (KC enzimleri normalin 7–10 katından daha fazla ve/veya direk hiperbilirubinemi ile beraber viruse ait PCR ya da antijenemi pozitifliği) hastalar bu gruba alındı (73).

### 3.1.2.Kronik Hepatitli Grup

Altı aydan uzun süren transaminaz enzim yüksekliği veya transaminaz yüksekliğine eşlik eden büyüme gelişme geriliği, çomak parmağı ve hepatosplenomegalisi olan hastalar kronik hepatitli gruba alındı.

### 3.1.3.Biyopsi Yapılan Grup

- 1) Kronik hepatit ya da siroz bulgularıyla başvuran Wilson hastalarında KC histopatolojisi ve kuru KC bakır tayini için,
- 2) Otoimmün hepatit tedavi öncesi KC histopatolojisini değerlendirmek için,
- 3) Metabolik hastalıklarda KC histopatolojisini değerlendirmek için,
- 4) En az 6 ay devam eden izole transaminaz yüksekliklerinde KC hasarının derecesi ve tanı için,
- 5) Safra yolu problemi (Biliyer atrezi, Allagile's sendromu, PFIC ve diğer neonatal direk hiperbilirubinemili olgular) olan vakalarda etiyojiye yönelik, hastaların koagülasyon parametreleri uygunsa ve aile onamı alındıktan sonra KC biyopsisi yapıldı (74).

Çalışmaya; en erken bir ay öncesinde eritrosit süspansiyonu veya tam kan transfüzyonu yapılanlar, onam formunu imzalamayanlar dahil edilmedi.

### 3.2. Araç-Gereçler ve Laboratuvar Yöntemleri

Çalışmaya alınan KC hastalığı olan bireylerden başlangıçta tanı koymaya yönelik hemogram, alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), bilirubin, albümin, gama-glutamil transferaz (GGT), alkalen fosfataz (alkalen phosphatas-ALP), SD, DBK, ferritin, CRP, koagülasyon testleri [protrombin zamanı (prothrombin time-PT) - aktive parsiyel tromboplastin zamanı (active partial tromboplastin time-aPTT)-INR], hepatit belirleyicileri (Anti HCV IgM, Anti HBs IgM, Anti HAV IgM, AntiHbc IgM), hepsidin, İL-6, TGF- $\beta$ , TOS, TAS tetkikleri çalışıldı. TOS ve TAS sonuçları, TOS/TAS oranı ile elde edilen oksidatif stres indeksi (OSİ) kullanılarak değerlendirildi. Akut hepatitli bireylerin (Grup 1) tanı almalarını takiben, dört hafta sonra iyileşme döneminde (Grup 2);

AST-ALT, bilirubin, GGT, SD, ferritin, hepsidin, İL-6, TGF- $\beta$ , TOS ve TAS tekrar çalışıldı. Aktif hastalık ile iyileşme dönemindeki parametreler karşılaştırıldı.

Hiperbilirubinemisi ve ikteri olmayıp sadece akut izole transaminaz yüksekliği olup, spesifik bir infeksiyöz ajan ya da etken saptanmayan ve takibinde transaminaz yüksekliği düzelen olgular akut hepatitli gruba alınmadı.

Tanı almış kronik KC hastalığı (Grup 3) olan bireylerden; hemogram, AST, ALT, bilirubin, albümin, GGT, ALP, SD, DBK, ferritin, CRP, PT-PTT-INR, hepsidin, İL-6, TGF- $\beta$  ve TOS, TAS çalışıldı. Kronik KC hastalığı olan vakalardan bir kez kan örneği alındı. Ayrıca kronik KC hastalığı olduğunu düşündüğümüz tüm bireylerde, etiyojiye yönelik olarak çeşitli ayrıntılı testler çalışıldı. Otoimmün KC hastalığına yönelik; anti nükleer antikor, düz kas hücre antikor, KC-böbrek mikrozomal antikor, immunglobulin G,A,M. Wilson hastalığına yönelik; seruloplazmin ve 24 saatlik idrar bakır atılımı, viral hepatitlere yönelik; HBsAg, Anti HCV IgM, anti HBs IgM, anti HAV IgM antikorları bakıldı.

Tüm olguların tam kan sayımları, biyokimya laboratuvarında Beckman Coulter LH 750 tam otomatik kan sayımı cihazı ile kendi orijinal solüsyonları kullanılarak ölçüm yapıldı.

Bilirubin, AST, ALT, albümin, GGT, ALP, SD, DBK, enzimatik kalorimetrik yöntemle COBAS 8000; CRP ise enzimatik kalorimetrik yöntemle COBAS 6000; ferritin electrochemiluminescence immunassay 'ECLIA' yöntemi ile Roche Moduler E170 cihazlarında ticari Roche Diyagnostik Kiti kullanılarak ölçüldü.

Koagülasyon testleri, STA 1116900 Compact cihazı ile türbidimetrik yöntem ile çalışıldı.

Hepsidin ( Katolog no: CSB-E13062h, Cusabio Biotech Co. Ltd, China), İL-6 ( Katolog no: KHC0061, California, USA), TGF- $\beta$ 1 ( Katolog no: KAC1688/KAC1689, California, USA), TOS ( Katolog no: RL0024, Mega Tıp Sanayi ve Ltd), TAS ( Katolog no: RL0017, Mega Tıp Sanayi ve Ltd) çalışılması için 5 ml kan alındı ve serumları ayrıldıktan sonra çalışılincaya kadar -80°C de saklandı. Ölçümler ELİZA yöntemi ile manuel olarak çalışıldı.



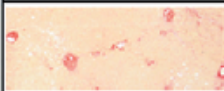
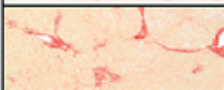
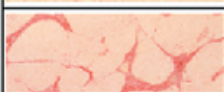

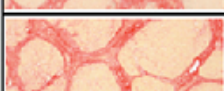
Doku örneklerinden; demir boyama, histopatolojik değerlendirme (fibrozis skoru) ve KC kuru demir ağırlığı bakıldı. KC kuru demir ağırlığı ölçümü için doku örnekleri



tartıldıktan sonra üzerine derişik nitrik asit konulup CEM MARS (microwave accelerated reaction system) markalı mikrodalga bozundurma sistemi hazırlandı. Agilent modeli 7500-ce markalı ICP-MS (inductively coupled mass spectrometry) cihazına hazır hale getirilen örneklerde analiz yapıldı (75). Kuru KC demir ağırlığı 3,2-7 mg/g: hafif, 7-15 mg/g: orta, >15mg/g: ağır derecede patolojik kabul edildi (76).

Karaciğerdeki demir birikimi tespit etmek için kesitler, Prusya mavisi ile boyanarak hepatosit ve kupffer hücrelerindeki demir birikimi incelendi. Kesitlerdeki boyanmalar sıfırdan dörde kadar evrelendirildi (grade 0-4). Boyanma olmayan kesitler grade 0 olarak kabul edildi (77).

Kesitlerin histopatolojik incelenmesinde fibrozis değerlendirilmesi Ishak Sınıflamasına göre yapıldı (78), (Şekil 6).

| görünüm   | ishak sınıflaması  |   | fibrozis derecesi |
|---|--|---|-------------------|
|  | fibrozis yok (normal)  | 0 | 1.9%              |
|  | bazı portal alanlarda fibroz genişleme ve/veya kısa fibroz septa                   | 1 | 3.0%              |
|  | bir çok portal alanda fibroz genişleme ve/veya kısa fibroz septa                   | 2 | 3.6%              |
|  | portal-portal köprüleşme ile beraber bir çok portal alanda fibroz genişleme        | 3 | 6.5%              |
|  | portal-portal köprüleşme ile beraber portal-santral köprüleşme ve fibröz genişleme | 4 | 13.7%             |
|  | belirgin köprüleşme (P-P/P-S) ile beraber nadir nodül (inkomplet siroz)            | 5 | 24.3%             |
|  | komplet siroz  | 6 | 27.8%             |

Şekil 6: Fibrozis derecesini belirlemede kullanılan Ishak Sınıflaması

Karaciğerdeki hasarının derecesini belirlemek için, laboratuvar (albumin, bilirubin, INR) ve klinik (asit, ensefalopati) bulguları göz önüne alınarak Child-Pugh (Tablo VI) ve PELD/MELD skorlaması yapıldı (67,72).

Tablo VI: Child-Pugh Skorlaması

|                    | <b>1 puan</b> | <b>2 puan</b> | <b>3 puan</b> |
|--------------------|---------------|---------------|---------------|
| <b>Bilirubin</b>   | <2 mg/dl      | 2-3 mg/dl     | >3 mg/dl      |
| <b>Albumin</b>     | >3.5 g/dl     | 3.5-2.8 g/dl  | <2.8 g/dl     |
| <b>INR</b>         | <1.7          | 1.7-2.3       | >2.3          |
| <b>Asit</b>        | yok           | orta derecede | şiddetli      |
| <b>Esefalopati</b> | yok           | orta derecede | şiddetli      |

Sınıf A: 5-6 puan

Sınıf B:7-9 puan

Sınıf C:10-15 puan

Child-Pugh sınıflamasına göre KC hastaları sınıf A, B ve C olmak üzere 3 evreye ayrılır. Her olgu için parametrelerin puanlarının toplanması ile elde edilen toplam puanlar değerlendirilir. Sınıf A iyi prognozu, sınıf C kötü prognozu gösterir. PELD/MELD skorlaması; KC nakli için bekleyen hastalarda kullanılan, ölüm riskini ve önceliği belirlemede yardımcı olan sayısal skorlama sistemidir (67,79).

PELD hesaplaması;  $4.8 \times [\text{bilirubin (mg/dL)}] + 18.57 \times (\text{INR}) - 6.87 \times [\text{albumin (g/dL)}]$  formülü ile hesaplandı. Hesaplanan sonuca, bir yaş altı hastalar için 4.35, gelişme geriliği olan hastalar için 6.67 katsayısı eklendi (79).

MELD hesaplaması;  $3.78 \times [\text{bilirubin (mg/dl)}] + 11.2 \times (\text{INR}) + 9.57 \times [\text{kreatinin (mgr/dl)}] + 6.4$  formülü ile hesaplandı (79).

İki hastada koagülopati olduğundan, beş hastanın biyopsisi dış merkezde yapılarak tanısı konduğundan, iki hasta ise biyopsiye onay vermediğinden KC biyopsisi yapılamadı. Toplam 25 biyopsi preparatı incelendi; bir hastanın dış merkezde yapılan KC biyopsi blokları incelendi, diğer 24 kişiye kliniğimizde biyopsi yapıldı.

### 3.3. İstatiksel Analiz

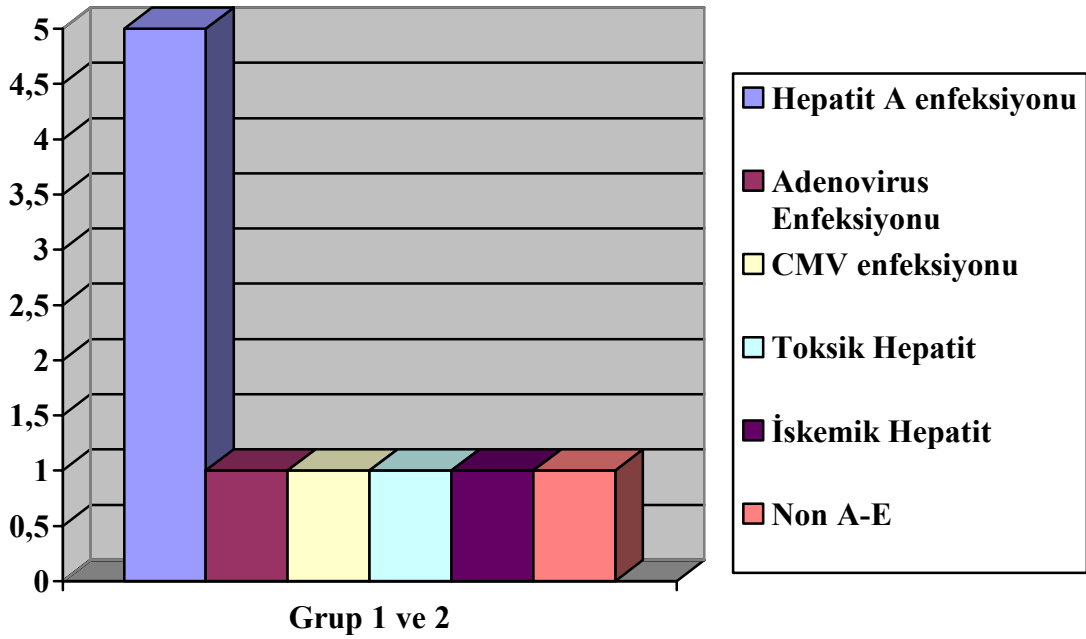
Çalışmadaki veriler SPSS 16.0 istatistiksel program paketi kullanılarak değerlendirildi. Kategorik ölçümler (yüzdesele değerler; cinsiyet, child/pugh skoru gibi...) sayı ve yüzde olarak, sürekli ölçümlerse (sayısal değerler) ortalama ve standart sapma (SS) olarak özetlendi. Tüm testlerde istatistiksel önem düzeyi 0.05 olarak alındı.  $p < 0.05$  olanlar anlamlı olarak kabul edildi. Kategorik ölçümlerin gruplar arasında karşılaştırılmasında Ki - Kare testi kullanıldı. Gruplar arasında sürekli ölçümlerin karşılaştırılmasında normal dağılıma uyanlarda Student-t

testi, normal dağılıma uymayanlarda ise Mann Whitney U testi kullanıldı. Sürekli ölçümler arasındaki korelasyon Pearson Korelasyon katsayısı ile normal dağılım varsayımının sağlanamaması durumunda ise Sperman Korelasyon katsayısı ile yapıldı ve  $p < 0,05$  olanlar anlamlı kabul edilerek r değerleri incelendi (r değerinin sınıflandırılması; ilişki yok: 0,0-0.25, zayıf-orta ilişki: 0,25-0,5, iyi ilişki: 0,5-0,75, çok iyi ilişki: 0,75-1).

#### 4.BULGULAR

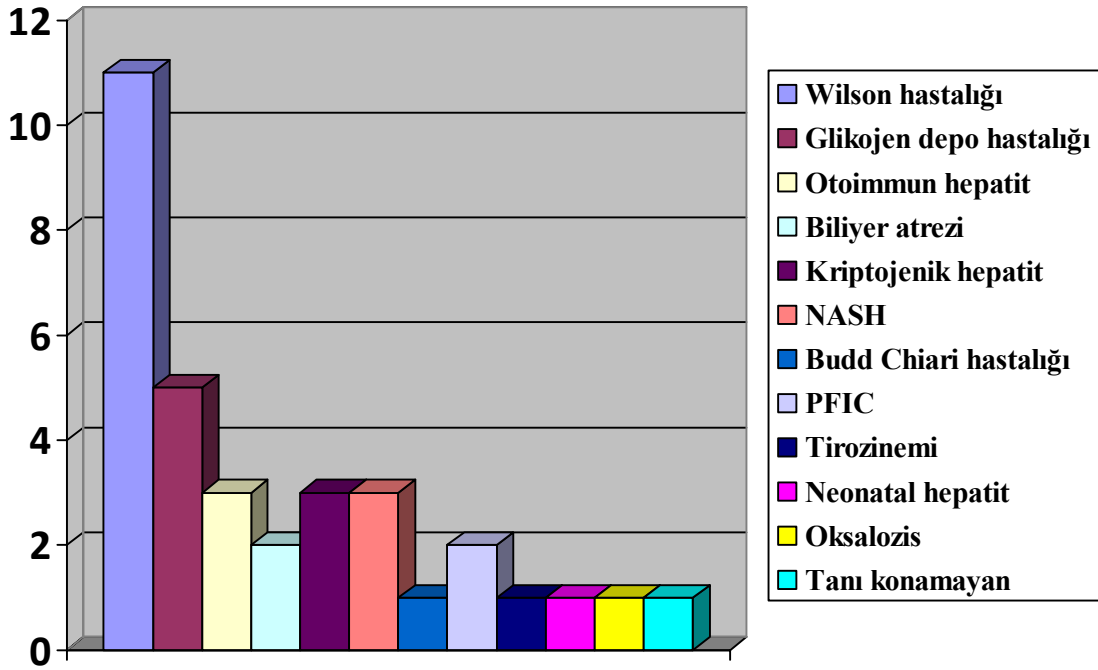
Çalışma grubunu; akut hepatitli 10 hasta (Grup 1), akut hepatitin iyileşme dönemi (Grup 2) ve kronik hepatitli 34 hasta (Grup 3) oluşturdu. Grup 1-2 'nin üçü kız (% 30) ve yedisi erkek (% 70) idi. Grup 3'ün ise 16'sı kız (% 47,1) ve 18'i erkek (% 52,9) idi.

Grup 1 ve 2'de; HAV enfeksiyonu olan 5 kişi (%50), iskemik hepatit 1 kişi ( %10) , toksik hepatit 1 kişi (%10), CMV hepatiti 1 kişi (%10), Adenovirus hepatiti 1 kişi (%10) ve non A-E virus hepatiti 1 kişi (%10) mevcuttu (Şekil 7).



Şekil 7: Akut hepatit (grup 1) ve akut hepatitin iyileşme dönemindeki (grup 2) hastalık grupları

Grup 3'de; Wilson hastalığı (3a) olan 11 kişi (%32,3), glikojen depo hastalığı (3b) olan 5 kişi (%14,7), otoimmün hepatit, kriptojenik hepatit ve NASH olan üçer kişi (%8,8), Budd Chiari hastalığı, tirozinemi, oksalozis, neonatal hepatiti olan ve tanı konamayan birer kişi (%2,9), PFIC ve biliyer atrezi'li olan ikişer kişi (%5,8) idi (Şekil 8).



Şekil 8: Kronik hepatitteki (grup 3) hastalık grupları

Elde edilen veriler değerlendirildiğinde; Grup 1 ve 2'nin yaş ortalaması  $8,1 \pm 5,5$  yıl, Grup 3'ün yaş ortalaması ise  $8,9 \pm 5,4$  yıl idi. Yaş ve cinsiyet ortalamaları ve dağılımlarına göre gruplar karşılaştırıldığında; Grup 1 ve 3 (akut ve kronik hepatitli hastalar) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p=0.47$ ).

Grup 1 ve Grup 2'deki hastaların laboratuvar bulguları Tablo VII'de gösterilmiştir.

Tablo VII: Akut hepatitli (grup 1) ve akut hepatitin iyileşme dönemindeki (grup 2) grubun laboratuvar bulgularının karşılaştırılması

|                                    | <b>Grup 1<br/>n=10</b>                       | <b>Grup 2<br/>n=10</b>                       |              |
|------------------------------------|--|--|--------------|
|                                    | <b>ortalama ± SS<br/>(minimum- maksimum)</b> | <b>ortalama ± SS<br/>(minimum- maksimum)</b> | <b>P</b>     |
| <b>AST (U/L)</b>                   | 1249,4 ± 1114,4<br>(234,0-3318,0)            | 36,1 ± 9,6<br>(24,0-54,0)                    | <b>0,003</b> |
| <b>ALT (U/L)</b>                   | 962,3 ± 742,9<br>(247,0-2794,0)              | 34,6 ± 19,7<br>(14,0-70,0)                   | <b>0,001</b> |
| <b>Hepsidin (ng/ml)</b>            | 195,9 ± 107,7<br>(71,5-426,1)                | 93,9 ± 61,0<br>(7,8-211,5)                   | <b>0,01</b>  |
| <b>SD (ug/dl)</b>                  | 119,0 ± 75,1<br>(22,0-233,0)                 | 81,1 ± 34,0<br>(26,0-119,0)                  | 0,1          |
| <b>Ferritin (ng/ml)</b>            | 1632,7 ± 3464,8<br>(37,0-10.552,0)           | 50,5±32,2<br>(15,0-110,0)                    | <b>0,003</b> |
| <b>İL-6 (pg/ml)</b>                | 249,6±44,1<br>(180,6-330,9)                  | 218,5±38,2<br>(177,7-310,6)                  | 0,1          |
| <b>TGF-β (ng/ml)</b>               | 15,9±4,8<br>(9,2-25,6)                       | 17,9±5,0<br>(10,9-26,9)                      | 0,4          |
| <b>TAS<br/>(mmolTroloxEquiv/L)</b> | 22,4±8,9<br>(6,6-36,7)                       | 22,9±16,4<br>(1,7-57,1)                      | 0,9          |
| <b>TOS<br/>(μmolsuEQUIV/L)</b>     | 8,2±6,0<br>(2,7-22,6)                        | 6,6±3,3<br>(3,5-13,7)                        | 0,4          |
| <b>OSİ</b>                         | 0,4±0,3<br>(0,1-0,8)                         | 0,4±0,3<br>(0,1-0,8)                         | 0,7          |

Grup 1 ve Grup 2'nin laboratuvar bulguları karşılaştırıldığında; hepsidin, ferritin, ALT ve AST düzeyinin Grup1'de, Grup 2'den istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edildi (sırasıyla p=0.01, p=0.003, p=0,003, p=0,001). Diğer parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p>0,05)

Grup 1 ve Grup 3'deki hastaların laboratuvar bulguları Tablo VIII'de gösterilmiştir.

Tablo VIII: Akut hepatitli (grup 1) ve kronik hepatitli (grup 3) grubun laboratuvar bulgularının karşılaştırılması

|                                    | <b>Grup 1<br/>n=10</b>                       | <b>Grup 3<br/>n=34</b>                       |                   |
|------------------------------------|--|--|-------------------|
|                                    | <b>ortalama ± SS<br/>(minimum- maksimum)</b> | <b>ortalama ± SS<br/>(minimum- maksimum)</b> | <b>P</b>          |
| <b>AST (U/L)</b>                   | 1249,4 ± 1114,4<br>(234,0-3318,0)            | 300,2 ± 531,4<br>(41,0-2688,0)               | <b>&lt;0,0001</b> |
| <b>ALT (U/L)</b>                   | 962,3 ± 742,9<br>(247,0-2794,0)              | 284,4 ± 461,9<br>(31,0-2161,0)               | <b>&lt;0,0001</b> |
| <b>Hepsidin (ng/ml)</b>            | 195,9 ± 107,7<br>(71,5-426,1)                | 121,7 ± 88,0<br>(10,0-289,5)                 | <b>0,03</b>       |
| <b>SD (ug/dl)</b>                  | 119,0 ± 75,1<br>(22,0-233,0)                 | 77,1 ± 50,3<br>(24,0-226,0)                  | <b>0,04</b>       |
| <b>DBK</b>                         | 260,8 ± 110,5<br>(12,0-368,0)                | 329,8 ± 113,5<br>(113,0-523,0)               | <b>0,09</b>       |
| <b>Ferritin (ng/ml)</b>            | 1632,7 ± 3464,8<br>(37,0-10.552,0)           | 142,6 ± 223,9<br>(3,2-1202,0)                | <b>0,02</b>       |
| <b>İL-6 (pg/ml)</b>                | 249,6±44,1<br>(180,6-330,9)                  | 235,9±42,1<br>(162,0-317,8)                  | 0,4               |
| <b>CRP (mg/dL)</b>                 | 1,3±1,7<br>(0,2-4,5)                         | 0,8±0,9<br>(0,0-3,1)                         | 0,2               |
| <b>TGF-β (ng/ml)</b>               | 15,9±4,8<br>(9,2-25,6)                       | 19,6±10,0<br>(3,4-40,6)                      | 0,3               |
| <b>TAS<br/>(mmolTroloxEquiv/L)</b> | 22,4±8,9<br>(6,6-36,7)                       | 20,0±12,1<br>(1,9-58,3)                      | 0,7               |
| <b>TOS<br/>(μmolsuEQUIV/L)</b>     | 8,2±6,0<br>(2,7-22,6)                        | 7,5±6,8<br>(2,1-36,5)                        | 0,6               |
| <b>OSİ</b>                         | 0,4±0,3<br>(0,1-0,8)                         | 0,7±0,8<br>(0,0-3,6)                         | 0,8               |

Grup 1 ve Grup 3'ün laboratuvar bulguları karşılaştırıldığında; hepsidin, SD, DBK, ferritin AST ve ALT düzeyinin, Grup1'de, Grup 3'e göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edildi (sırasıyla p=0.03, p=0.04, p=0,09, p=0.02, p=<0,0001, p=<0,0001). Diğer parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p>0,05).

Grup 2 ve Grup 3'deki hastaların laboratuvar bulguları Tablo IX'de gösterilmiştir.

Tablo IX: Akut hepatitin iyileşme dönemi (grup 2) ve kronik hepatitli (grup 3) grubun laboratuvar bulgularının karşılaştırılması

|                                    | <b>Grup 2<br/>n=10</b>                       | <b>Grup 3<br/>n=34</b>                       |                   |
|------------------------------------|--|--|-------------------|
|                                    | <b>ortalama ± SS<br/>(minimum- maksimum)</b> | <b>ortalama ± SS<br/>(minimum- maksimum)</b> | <b>P</b>          |
| <b>AST (U/L)</b>                   | 36,1 ± 9,6<br>(24,0-54,0)                    | 300,2 ± 531,4<br>(41,0-2688,0)               | <b>&lt;0,0001</b> |
| <b>ALT (U/L)</b>                   | 34,6 ± 19,7<br>(14,0-70,0)                   | 284,4 ± 461,9<br>(31,0-2161,0)               | <b>&lt;0,0001</b> |
| <b>Hepsidin (ng/ml)</b>            | 93,9 ± 61,0<br>(7,8-211,5)                   | 121,7 ± 88,0<br>(10,0-289,5)                 | 0,3               |
| <b>SD (ug/dl)</b>                  | 81,1 ± 34,0<br>(26,0-119,0)                  | 77,1 ± 50,3<br>(24,0-226,0)                  | 0,8               |
| <b>Ferritin (ng/ml)</b>            | 50,5±32,2<br>(15,0-110,0)                    | 142,6 ± 223,9<br>(3,2-1202,0)                | 0,3               |
| <b>İL-6 (pg/ml)</b>                | 218,5±38,2<br>(177,7-310,6)                  | 235,9±42,1<br>(162,0-317,8)                  | 0,2               |
| <b>TGF-β (ng/ml)</b>               | 17,9±5,0<br>(10,9-26,9)                      | 19,6±10,0<br>(3,4-40,6)                      | 0,6               |
| <b>TAS<br/>(mmolTroloxEquiv/L)</b> | 22,9±16,4<br>(1,7-57,1)                      | 20,0±12,1<br>(1,9-58,3)                      | 0,5               |
| <b>TOS<br/>(μmolsuEQUIV/L)</b>     | 6,6±3,3<br>(3,5-13,7)                        | 7,5±6,8<br>(2,1-36,5)                        | 0,9               |
| <b>OSİ</b>                         | 0,4±0,3<br>(0,1-0,8)                         | 0,7±0,8<br>(0,0-3,6)                         | 0,7               |

Grup 2 ile Grup 3'ün laboratuvar bulguları karşılaştırıldığında; AST ve ALT düzeyinin, Grup 3'de, Grup 2'e göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edildi ( $p=<0,0001$ ). Diğer parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p>0,05$ ). Hepsidin ve ferritin seviyelerinin ortalama değerleri Grup 3'de daha yüksek olmasına rağmen, aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p=0,3$ ).



Üç gruptaki hastaların laboratuvar bulguları Tablo X'de gösterilmiştir.

Tablo X: Akut hepatit (grup 1), akut hepatitin iyileşme dönemi (grup 2) ve kronik hepatitli (grup 3) grubun laboratuvar bulgularının ortalama değerleri ve standart sapması

| <b>GRUP</b>                        | <b>Grup 1<br/>n=10</b>                       | <b>Grup 2<br/>n=10</b>                       | <b>Grup 3<br/>n=34</b>                       |
|------------------------------------|--|--|--|
|                                    | <b>ortalama ± SS<br/>(minimum- maksimum)</b> | <b>ortalama ± SS<br/>(minimum- maksimum)</b> | <b>ortalama ± SS<br/>(minimum- maksimum)</b> |
| <b>AST (U/L)</b>                   | 1249,4 ± 1114,4<br>(234,0-3318,0)            | 36,1 ± 9,6<br>(24,0-54,0)                    | 300,2 ± 531,4<br>(41,0-2688,0)               |
| <b>ALT (U/L)</b>                   | 962,3 ± 742,9<br>(247,0-2794,0)              | 34,6 ± 19,7<br>(14,0-70,0)                   | 284,4 ± 461,9<br>(31,0-2161,0)               |
| <b>Hepsidin (ng/ml)</b>            | 195,9 ± 107,7<br>(71,5-426,1)                | 93,9 ± 61,0<br>(7,8-211,5)                   | 121,7 ± 88,0<br>(10,0-289,5)                 |
| <b>SD (ug/Dl)</b>                  | 119,0 ± 75,1<br>(22,0-233,0)                 | 81,1 ± 34,0<br>(26,0-119,0)                  | 77,1 ± 50,3<br>(24,0-226,0)                  |
| <b>DBK</b>                         | 260,8 ± 110,5<br>(12,0-368,0)                | -  | 329,8 ± 113,5<br>(113,0-523,0)               |
| <b>Ferritin (ng/ml)</b>            | 1632,7 ± 3464,8<br>(37,0-10.552,0)           | 50,5±32,2<br>(15,0-110,0)                    | 142,6 ± 223,9<br>(3,2-1202,0)                |
| <b>İL-6 (pg/ml)</b>                | 249,6±44,1<br>(180,6-330,9)                  | 218,5±38,2<br>(177,7-310,6)                  | 235,9±42,1<br>(162,0-317,8)                  |
| <b>TGF-β (ng/ml)</b>               | 15,9±4,8<br>(9,2-25,6)                       | 17,9±5,0<br>(10,9-26,9)                      | 19,6±10,0<br>(3,4-40,6)                      |
| <b>CRP (mg/dL)</b>                 | 1,3±1,7<br>(0,2-4,5)                         | -  | 0,8±0,9<br>(0,0-3,1)                         |
| <b>TAS<br/>(mmolTroloxEquiv/L)</b> | 22,4±8,9<br>(6,6-36,7)                       | 22,9±16,4<br>(1,7-57,1)                      | 20,0±12,1<br>(1,9-58,3)                      |
| <b>TOS<br/>(μmolsuEQUIV/L)</b>     | 8,2±6,0<br>(2,7-22,6)                        | 6,6±3,3<br>(3,5-13,7)                        | 7,5±6,8<br>(2,1-36,5)                        |
| <b>OSİ</b>                         | 0,4±0,3<br>(0,1-0,8)                         | 0,4±0,3<br>(0,1-0,8)                         | 0,7±0,8<br>(0,0-3,6)                         |
| <b>Fibrozis</b>                    | -  | -  | 2,2 ± 1,7<br>(0,0-6,0)                       |
| <b>Demir boyama</b>                | -  | -  | 0,1 ± 0,4<br>(0,0-2,0)                       |
| <b>KC kuru demir<br/>(mg/g)</b>    | -  | -  | 86,3 ± 73,2<br>(23,1-308,0)                  |
| <b>PELD</b>                        | -  | -  | 5,0 ± 10,2<br>[(-8,0)-27,0]                  |

Hepsidin seviyesi, DEA'nde düşüktür (25). Kronik KC hastalığında DEA de görülebileceğinden, tartışmanın sağlıklı olması için grup 3'deki kronik KC hastalarında DEA tespit edilen vakalar dışlandı ve sonuçlar tekrar hesaplandı. Yaşa göre hemoglobin değeri düşük, MCV < 80 fl, TS < %16 olan vakalar DEA olarak kabul edildi (80,81). DEA sadece Grup 3 hastalarında tespit edildi. DE olan vakalar çıkarıldıktan sonra Grup 2 ile 3 ve Grup 1 ile Grup 3 arasındaki hepsidin, İL-6, TGF- $\beta$  ve TOS, TAS, SD, OSİ, ferritin değerleri karşılaştırıldığında; sadece ferritinde anlamlı fark bulundu ( $p=0,04$ ). DE olan vakalar çıkarıldıktan sonra Grup 3'ün hepsidin ve ferritin ortalamaları;  $134,4 \pm 87,6$  ve  $175,9 \pm 245,9$  idi. Grup 1'in hepsidin ortalaması Grup 3'den, Grup 3'ün hepsidin ortalaması Grup 2'den fazla olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu (sırasıyla  $p=0,09$ ,  $p=0,1$ ). DE olan vakalar çıkarıldıktan sonra Grup 3 'de hepsidin ile ferritin arasında pozitif korelasyon bulundu ( $p<0,0001$ ,  $r= 0,827$ ).

Grup 1'deki hastaların hepsidin, İL-6, TGF- $\beta$  ve TOS, TAS, SD, DBK, OSİ, ferritin değerleri karşılaştırıldığında; ferritin ile SD ( $p=0,01$ ,  $r=0,721$ ), İL-6 ile CRP ( $p=0,02$ ,  $r=0,687$ ) arasında pozitif korelasyon tespit edildi. Hepsidin ile ferritin ve İL-6 ile TGF- $\beta$  arasında korelasyon yoktu ( $p=0,3$ ). Hepsidin ile İL-6, TGF- $\beta$  ve CRP arasında (sırasıyla  $p=0,3$ ,  $p=0,9$ ,  $p=0,06$ ); ferritin ile İL-6, TGF- $\beta$  ve CRP arasında da korelasyon yoktu (sırasıyla  $p=0,6$ ,  $p=0,4$ ,  $p=0,06$ ).

Grup 2'deki hastaların hepsidin, İL-6, TGF- $\beta$  ve TOS, TAS, SD, OSİ, ferritin değerleri karşılaştırıldığında; sadece hepsidin ile ferritin arasında ( $p<0,0001$ ,  $r=0,926$ ) pozitif korelasyon bulundu.

Grup 3'de Child A oranı %61,7 ( $n=21$ ), Child B oranı %23,5 ( $n=8$ ) ve Child C oranı %14,7 ( $n=5$ ) idi. Kronik hepatitli vakaların %24'ünde ( $n=6$ ) fibrozis yoktu, 1. derece %12 ( $n=3$ ), 2. ve 3. derece %20 ( $n=5$ ), 4. Derece %12 ( $n=3$ ) ve 5. derece % 8 ( $n=2$ ) ve 6. derece % 4 ( $n=1$ ) oranında idi. Demir boyama sadece 1 vakada vardı (%4,  $n=1$ ). PELD skoru; ortalama  $5 \pm 10,2$  idi.

Grup 3'deki hastaların hepsidin, İL-6, TGF- $\beta$  ve TOS, TAS, SD, DBK, OSİ, ferritin, KC demir, PELD, fibrozis-demir boyanma skoru karşılaştırıldığında; hepsidin ile ferritin ( $p<0,0001$ ,  $r=0,778$ ), hepsidin ile PELD ( $p=0,004$ ,  $r=0,515$ ), ferritin ile PELD ( $p=0,005$ ,  $r=0,481$ ) arasında pozitif korelasyon tespit edildi. Diğer parametrelerde anlamlı korelasyon bulunmadı.

Grup 3 hasta grubunda; 11 kişi Wilson hastası (3a), 5 kişi GDH (3b) idi. Grup 1 ile Grup 3a'nın laboratuvar bulguları Tablo XI'de gösterilmiştir.

Tablo XI: Akut hepatitli (grup 1) ve Wilson hastalığı olan (grup3a) grubun laboratuvar bulgularının karşılaştırılması

|                                    | <b>Grup 1<br/>n=10</b>                       | <b>Grup 3a<br/>n=11</b>                      |              |
|------------------------------------|--|--|--------------|
|                                    | <b>ortalama ± SS<br/>(minimum- maksimum)</b> | <b>ortalama ± SS<br/>(minimum- maksimum)</b> | <b>P</b>     |
| <b>AST (U/L)</b>                   | 1249,4 ± 1114,4<br>(234,0-3318,0)            | 230,0 ± 311,0<br>(41-1125)                   | <b>0,009</b> |
| <b>ALT (U/L)</b>                   | 962,3 ± 742,9<br>(247,0-2794,0)              | 183,6 ± 124,7<br>(43,0-436,0)                | <b>0,003</b> |
| <b>Hepsidin (ng/ml)</b>            | 195,9 ± 107,7<br>(71,5-426,1)                | 126,8± 74,9<br>(11,3-274,5)                  | 0,1          |
| <b>SD (ug/dl)</b>                  | 119,0 ± 75,1<br>(22,0-233,0)                 | 51,2 ± 22,5<br>(31,0-98,0)                   | <b>0,01</b>  |
| <b>DBK</b>                         | 260,8 ± 110,5<br>(12,0-368,0)                | 399,9 ± 123,1<br>(113,0-497,0)               | 0,1          |
| <b>Ferritin (ng/ml)</b>            | 1632,7 ± 3464,8<br>(37,0-10.552,0)           | 102,7 ± 94,1<br>(10,6-311,4)                 | <b>0,04</b>  |
| <b>İL-6 (pg/ml)</b>                | 249,6±44,1<br>(180,6-330,9)                  | 237,4±38,5<br>(191,0-317,8)                  | 0,50         |
| <b>TGF-β (ng/ml)</b>               | 15,9±4,8<br>(9,2-25,6)                       | 13,4±6,6<br>(3,5-27,0)                       | 0,3          |
| <b>CRP (mg/dL)</b>                 | 1,3±1,7<br>(0,2-4,5)                         | 0,9±1,0<br>(0,3-3,1)                         | 0,5          |
| <b>TAS<br/>(mmolTroloxEquiv/L)</b> | 22,4±8,9<br>(6,6-36,7)                       | 19,3±9,5<br>(2,0-34,4)                       | 0,4          |
| <b>TOS<br/>(μmolsuEQUIV/L)</b>     | 8,2±6,0<br>(2,7-22,6)                        | 5,2±2,4<br>(2,1-10,5)                        | 0,1          |
| <b>OSİ</b>                         | 0,4±0,3<br>(0,1-0,8)                         | 0,6±1,1<br>(0,2-3,6)                         | 0,6          |

Grup 1 ile Grup 3a'nın laboratuvar bulguları karşılaştırıldığında; SD, ferritin AST ve ALT düzeyinin akut hepatitli grupta istatistiksel olarak yüksek olduğu tespit edildi ( sırasıyla p=0.01, p=0.04, p=0,009, p=0,003). Hepsidin ve TOS seviyeleri Grup 1'de 3a'dan daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (p=0,1).

Grup 1 ile Grup 3b'nin laboratuvar bulguları Tablo XII'de gösterilmiştir.

Tablo XII: Akut hepatitli (grup 1) ve glikojen depo hastalığı olan (grup 3b) grubun laboratuvar bulgularının karşılaştırılması

|                                    | <b>Grup 1<br/>n=10</b>                       | <b>Grup 3b<br/>n=5</b>                       |             |
|------------------------------------|--|--|-------------|
|                                    | <b>ortalama ± SS<br/>(minimum- maksimum)</b> | <b>ortalama ± SS<br/>(minimum- maksimum)</b> | <b>P</b>    |
| <b>AST (U/L)</b>                   | 1249,4 ± 1114,4<br>(234,0-3318,0)            | 273,2 ± 223,5<br>(71,0-639,0)                | 0,07        |
| <b>ALT (U/L)</b>                   | 962,3 ± 742,9<br>(247,0-2794,0)              | 198,0 ± 128,6<br>(73,0-381,0)                | <b>0,04</b> |
| <b>Hepsidin (ng/ml)</b>            | 195,9 ± 107,7<br>(71,5-426,1)                | 90,5 ± 16,0<br>(77,4-112,6)                  | 0,08        |
| <b>SD (ug/dl)</b>                  | 119,0 ± 75,1<br>(22,0-233,0)                 | 115,0 ± 87,2<br>(40,0-226,0)                 | 0,9         |
| <b>DBK</b>                         | 260,8 ± 110,5<br>(12,0-368,0)                | 290,8 ± 136,8<br>(143,0-448,0)               | 0,6         |
| <b>Ferritin (ng/ml)</b>            | 1632,7 ± 3464,8<br>(37,0-10.552,0)           | 276,9 ± 517,4<br>(23,6-1202,0)               | 0,2         |
| <b>İL-6 (pg/ml)</b>                | 249,6 ± 44,1<br>(180,6-330,9)                | 278,9 ± 44,5<br>(216,5-313,2)                | 0,2         |
| <b>TGF-β (ng/ml)</b>               | 15,9 ± 4,8<br>(9,2-25,6)                     | 26,5 ± 10,2<br>(13,3-40,6)                   | <b>0,01</b> |
| <b>CRP (mg/dL)</b>                 | 1,3 ± 1,7<br>(0,2-4,5)                       | 0,8 ± 0,8<br>(0,1-1,9)                       | 0,4         |
| <b>TAS<br/>(mmolTroloxEquiv/L)</b> | 22,4 ± 8,9<br>(6,6-36,7)                     | 17,7 ± 18,9<br>(4,5-39,3)                    | 0,5         |
| <b>TOS<br/>(μmolsuEQUIV/L)</b>     | 8,2 ± 6,0<br>(2,7-22,6)                      | 6,3 ± 2,0<br>(3,6-9,3)                       | 0,5         |
| <b>OSİ</b>                         | 0,4 ± 0,3<br>(0,1-0,8)                       | 1,0 ± 1,0<br>(0,1-2,1)                       | 0,1         |

Grup 1 ile Grup 3b laboratuvar bulguları karşılaştırıldığında; ALT düzeyinin Grup 1'de, TGF-β düzeyinin Grup 3b'de istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edildi (sırasıyla p=0,04 ve p=0,01). Hepsidin, ferritin ve AST seviyeleri Grup 1'de 3b'den daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla p=0,08, p=0,2, p=0,07).

Grup 2 ile Grup 3b'nin laboratuvar bulguları Tablo XIII'de gösterilmiştir.

Tablo XIII: Akut hepatitin iyileşme dönemi (grup 2) ve glikojen depo hastalığı olan (grup 3b) grubun laboratuvar bulgularının karşılaştırılması

|                                    | <b>Grup 2<br/>n=10</b>                       | <b>Grup 3b<br/>n=5</b>                       |              |
|------------------------------------|--|--|--------------|
|                                    | <b>ortalama ± SS<br/>(minimum- maksimum)</b> | <b>ortalama ± SS<br/>(minimum- maksimum)</b> | <b>P</b>     |
| <b>AST (U/L)</b>                   | 36,1 ± 9,6<br>(24,0-54,0)                    | 273,2 ± 223,5<br>(71,0-639,0)                | <b>0,004</b> |
| <b>ALT (U/L)</b>                   | 34,6 ± 19,7<br>(14,0-70,0)                   | 198,0 ± 128,6<br>(73,0-381,0)                | <b>0,001</b> |
| <b>Hepsidin (ng/ml)</b>            | 93,9 ± 61,0<br>(7,8-211,5)                   | 90,5 ± 16,0<br>(77,4-112,6)                  | 0,9          |
| <b>SD (ug/dl)</b>                  | 81,1 ± 34,0<br>(26,0-119,0)                  | 115,0 ± 87,2<br>(40,0-226,0)                 | 0,3          |
| <b>Ferritin (ng/ml)</b>            | 50,5 ± 32,2<br>(15,0-110,0)                  | 276,9 ± 517,4<br>(23,6-1202,0)               | 0,5          |
| <b>İL-6 (pg/ml)</b>                | 218,5 ± 38,2<br>(177,7-310,6)                | 278,9 ± 44,5<br>(216,5-313,2)                | <b>0,01</b>  |
| <b>TGF-β (ng/ml)</b>               | 17,9 ± 5,0<br>(10,9-26,9)                    | 26,5 ± 10,2<br>(13,3-40,6)                   | <b>0,04</b>  |
| <b>TAS<br/>(mmolTroloxEquiv/L)</b> | 22,9 ± 16,4<br>(1,7-57,1)                    | 17,7 ± 18,9<br>(4,5-39,3)                    | 0,6          |
| <b>TOS<br/>(μmolsuEQUIV/L)</b>     | 6,6 ± 3,3<br>(3,5-13,7)                      | 6,3 ± 2,0<br>(3,6-9,3)                       | 0,8          |
| <b>OSİ</b>                         | 0,4 ± 0,3<br>(0,1-0,8)                       | 1,0 ± 1,0<br>(0,1-2,1)                       | 0,4          |

Grup 2 ile Grup 3b'nin laboratuvar bulguları karşılaştırıldığında; İL-6, TGF-β, AST ve ALT düzeylerinin Grup 3b'de istatistiksel olarak yüksek olduğu tespit edildi (sırasıyla p=0.01, p=0,04, p=0,004, p=0,001). Ferritin ve OSİ değerlerinin Grup 3b'de Grup 2'den daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla p=0,5, p=0,4).

Grup 2 ile Grup 3a'nın laboratuvar bulguları Tablo XIV'de gösterilmiştir.

Tablo XIV: Akut hepatitin iyileşme dönemi (grup 2) ve Wilson hastalığı olan (grup 3a) grubun laboratuvar bulgularının karşılaştırılması

|                                    | <b>Grup 2<br/>n=10</b>                       | <b>Grup 3a<br/>n=11</b>                      |                   |
|------------------------------------|--|--|-------------------|
|                                    | <b>ortalama ± SS<br/>(minimum- maksimum)</b> | <b>ortalama ± SS<br/>(minimum- maksimum)</b> | <b>P</b>          |
| <b>AST (U/L)</b>                   | 36,1 ± 9,6<br>(24,0-54,0)                    | 230,0 ± 311,0<br>(41,0-1125,0)               | <b>&lt;0,0001</b> |
| <b>ALT (U/L)</b>                   | 34,6 ± 19,7<br>(14,0-70,0)                   | 183,6 ± 124,7<br>(43,0-436,0)                | <b>0,001</b>      |
| <b>Hepsidin (ng/ml)</b>            | 93,9 ± 61,0<br>(7,8-211,5)                   | 126,8 ± 74,9<br>(11,3-274,5)                 | 0,2               |
| <b>SD (ug/dl)</b>                  | 81,1 ± 34,0<br>(26,0-119,0)                  | 51,2 ± 22,5<br>(31,0-98,0)                   | <b>0,02</b>       |
| <b>Ferritin (ng/ml)</b>            | 50,5 ± 32,2<br>(15,0-110,0)                  | 102,7 ± 94,1<br>(10,6-311,4)                 | 0,1               |
| <b>İL-6 (pg/ml)</b>                | 218,5 ± 38,2<br>(177,7-310,6)                | 237,4 ± 38,5<br>(191,0-317,8)                | 0,2               |
| <b>TGF-β (ng/ml)</b>               | 17,9 ± 5,0<br>(10,9-26,9)                    | 13,4 ± 6,6<br>(3,5-27,0)                     | 0,09              |
| <b>TAS<br/>(mmolTroloxEquiv/L)</b> | 22,9 ± 16,4<br>(1,7-57,1)                    | 19,3 ± 9,5<br>(2,0-34,4)                     | 0,5               |
| <b>TOS<br/>(μmolsuEQUIV/L)</b>     | 6,6 ± 3,3<br>(3,5-13,7)                      | 5,2 ± 2,4<br>(2,1-10,5)                      | 0,2               |
| <b>OSİ</b>                         | 0,4 ± 0,3<br>(0,1-0,8)                       | 0,9 ± 1,0<br>(0,3-3,1)                       | 0,7               |

Grup 2 ile Grup 3a'nın laboratuvar bulguları karşılaştırıldığında; SD düzeyinin Grup 2'de, AST ve ALT düzeyinin Grup 3a'da istatistiksel olarak yüksek olduğu tespit edildi (sırasıyla p=0.02, p=<0,0001, p=0,001). Hepsidin ve ferritin seviyeleri Grup 3a'da, Grup 2'den daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla p=0,2, p=0,1).

Grup 3a ile Grup 3b'nin laboratuvar bulguları Tablo XV'de gösterilmiştir.

Tablo XV: Wilson hastalığı (grup 3a) ve glikojen depo hastalığı (grup 3b) olan grubun laboratuvar bulgularının karşılaştırılması

|                                    | <b>Grup 3a<br/>n=11</b>                      | <b>Grup 3b<br/>n=5</b>                       |              |
|------------------------------------|--|--|--------------|
|                                    | <b>ortalama ± SS<br/>(minimum- maksimum)</b> | <b>ortalama ± SS<br/>(minimum- maksimum)</b> | <b>P</b>     |
| <b>AST (U/L)</b>                   | 230,0 ± 311,0<br>(41,0-1125,0)               | 273,2 ± 223,5<br>(71,0-639,0)                | 0,8          |
| <b>ALT (U/L)</b>                   | 183,6 ± 124,7<br>(43,0-436,0)                | 198,0 ± 128,6<br>(73,0-381,0)                | 0,8          |
| <b>Hepsidin (ng/ml)</b>            | 126,8± 74,9<br>(11,3-274,5)                  | 90,5± 16,0<br>(77,4-112,6)                   | 0,3          |
| <b>SD (ug/dl)</b>                  | 51,2 ± 22,5<br>(31,0-98,0)                   | 115,0 ± 87,2<br>(40,0-226,0)                 | <b>0,03</b>  |
| <b>DBK</b>                         | 399,9 ± 123,1<br>(113,0-497,0)               | 290,8 ± 136,8<br>(143,0-448,0)               | 0,5          |
| <b>Ferritin (ng/ml)</b>            | 102,7 ± 94,1<br>(10,6-311,4)                 | 276,9 ± 517,4<br>(23,6-1202,0)               | 0,3          |
| <b>İL-6 (pg/ml)</b>                | 237,4±38,5<br>(191,0-317,8)                  | 278,9±44,5<br>(216,5-313,2)                  | 0,07         |
| <b>TGF-β (ng/ml)</b>               | 13,4±6,6<br>(3,5-27,0)                       | 26,5±10,2<br>(13,3-40,6)                     | <b>0,008</b> |
| <b>CRP (mg/dL)</b>                 | 0,9±1,0<br>(0,2-3,1)                         | 0,8±0,8<br>(0,1-1,9)                         | 0,4          |
| <b>TAS<br/>(mmolTroloxEquiv/L)</b> | 19,3±9,5<br>(2,0-34,4)                       | 17,7±18,9<br>(4,5-39,3)                      | 0,8          |
| <b>TOS<br/>(μmolsuEQUIV/L)</b>     | 5,2±2,4<br>(2,1-10,5)                        | 6,3±2,0<br>(3,6-9,3)                         | 0,3          |
| <b>OSİ</b>                         | 0,6±1,1<br>(0,2-3,6)                         | 1,0±1,0<br>(0,09-2,1)                        | 0,1          |
| <b>KC kuru demir<br/>(mg/g)</b>    | 49,3 ± 23,7<br>(23,1-101,0)                  | 80,7 ± 81,2<br>(23,7-200,0)                  | 0,3          |
| <b>Fibrozis</b>                    | 2,4 ± 1,7<br>(0,0-5,0)                       | 1,2 ± 1,7<br>(0,0-4,0)                       | 0,2          |
| <b>PELD</b>                        | 5,0 ± 11,9<br>[(-8,0)-27,0]                  | -0,2 ± 7,2<br>[(-8,0)-6,0]                   | 0,2          |
| <b>Demir boyama</b>                | -  | -  | -            |

Grup 3a'daki hastaların hepsidin, İL-6, TGF-β ve TOS, TAS, SD, DBK, OSİ, ferritin, AST, ALT, KC kuru demir ağırlığı, fibrozis-demir boyanma skorları ve PELD değerleri karşılaştırıldığında; demir ile KC kuru demir ağırlığı (p=0,002, r=0,900), İL-6 ile ferritin (p=0,001, r=0,845), hepsidin ile PELD (p=0,04, r=0,618), TOS ile fibrozis (p=<0,0001, r=

0,973), ferritin ve PELD ( $p=0,01$ ,  $r=0,705$ ) arasında pozitif korelasyon, tespit edildi. Diğer parametrelerde anlamlı korelasyon bulunmadı ( $p>0,05$ )

Grup 3b'deki hastaların hepsidin, İL-6, TGF- $\beta$  ve TOS, TAS, SD, DBK, OSİ, ferritin, AST, ALT, KC kuru demir ağırlığı, fibrozis-demir boyanma skorları ve PELD değerleri karşılaştırıldığında; KC kuru demir ağırlığı ile fibrozis ( $p=0,02$ ,  $r=0,979$ ), ALT ve ferritin ( $p=0,03$ ,  $r=0,911$ ) arasında pozitif korelasyon tespit edildi. Diğer parametrelerde anlamlı korelasyon bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Grup 3'deki kronik KC hastalarımızda, Child A (iyi prognozlu) ile Child B ve C (sirotik) hastalar iki grup olarak karşılaştırıldığında, iki grup arasında hepsidin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaz iken ( $p=0,07$ ), ferritin düzeyi ve PELD skoru Child B ve C olan grupta, Child A'dan (sırasıyla  $p=0,02$ ,  $p=<0,0001$ ), albümin düzeyi Child A olan grupta, Child B ve C'den istatistiksel olarak daha yüksekti ( $p=<0,0001$ ).



## 5. TARTIŞMA

Çalışmamızda; akut hepatitin akut döneminde (Grup 1) hepsidin seviyesi, kronik hepatitler (Grup 3) ve akut hepatitlerin iyileşme dönemine (Grup 2) göre istatistiksel olarak daha yüksek bulunmuştur. Bunun akut hepatit vakalarında inflamasyonun daha şiddetli olmasından kaynaklandığını düşünüyoruz. Hepsidin, sentezini uyaran İL-6 ve TGF- $\beta$  gibi sitokinlerden bağımsız olarak yükseldiğini veya inflamasyona sekonder bir akut faz reaktanı olarak otoregülasyon yoluyla yükselmiş olabileceğini düşünüyoruz. Akut hepatitlerde, serum hepsidin seviyesi ile ilgili yapılan çalışmaya literatürde rastlanmadığından çıkan sonuçlarla ilgili yorum yapmak zorunda kaldık. Ayrıca hepsidindeki artışa rağmen akut hepatitlerde SD seviyesinde beklenen düşüş görülmemiştir. Bu durumun vaka sayısının az olmasından kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Çalışmamızda; akut hepatitin akut döneminde; hepsidin ile birlikte serum ferritin seviyesi de yüksek bulundu. Ferritin, KC'deki inflamasyona yanıt olarak akut faz reaktanı gibi veya KC'deki harabiyetin yaygınlığına bağlı olarak hücre içinde depolanmış ferritin kan dolaşımına geçmesi nedeniyle yükselmiş olabilir. Ayrıca yüksek serum ferritini KC'den hepsidin sentezini de arttırmış olabilir. Akut hepatitlerde ferritin ile doğru orantılı olarak, AST ve ALT yüksekliği tespit edilmiştir. AST ve ALT düzeyinin ferritin ile beraber yüksek olması; KC'deki inflamasyon ve doku hasarını göstermektedir.

Kemna ve ark. (82) yaptığı bir çalışmada, 10 sağlıklı gönüllüye LPS enjeksiyonu yaparak oluşturdukları in vivo insan endotoksemi modelinde, enjeksiyon sonrası 3 saatte İL-6 düzeylerinin, 6 saatte idrar hepsidin düzeylerinin arttığını, bunu takiben SD düzeylerinin belirgin olarak azaldığını gözlenlemiştir.

Tuncer ve ark. (83) yaptığı bir çalışmada İL-1, İL6, İL-8 ve TNF- $\alpha$  gibi sitokinlerin NASH hastalığında patogeneze etkili olduğu, ancak sadece İL-8 'in bu hastalarda yüksek bulunduğu tespit edilmiştir. İL-6 seviyesinin alkolik KC hastalığı olan bireylerde daha yüksek olduğu gösterilmiştir.

Nemeth ve ark. (37,38) yaptığı çalışmalarda transfüzyon sonrası KC demir birikiminin geliştiği, infeksiyon ve inflamatuvar hastalığı olan hastalarda idrarda hepsidin atılımının belirgin olarak arttığı, in vitro İL-6 ile hepsidin mRNA'sının belirgin olarak indüklendiği,

İL-1 ve TNF- $\alpha$  ile hepsidin mRNA'sının indüklenmediği gözlenmiş; İL-6-hepsidin aksının inflamasyondaki SD düşüşünden sorumlu olduğu gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda; hepsidin artışı ile İL-6 arasında ilişki bulunamamış olup, hepsidindeki artıştan başka bir sitokinin sorumlu olduğu olabileceğini düşünmekteyiz.

Yapılan çalışmalarda akut ve kronik KC hastalıklarındaki serum ferritin düzeyinin, SD ve DBK ile ilişkili olmadığı görülmektedir. Serum ferritin düzeyinin doğrudan serum ALT-AST aktivitesi ile ve KC demir depo düzeyi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bu nedenle akut ve kronik KC zedelenmesinde kandaki ferritin düzeyinin hem KC dokusundaki zedelenme miktarıyla hem de KC'deki demir depo düzeyi ile ilişkili olduğu düşünülmektedir (84).

Milman ve ark. (85) yaptığı bir çalışmada; üç'ü Hepatit A, üç'ü de Hepatit B olan altı akut viral hepatitli hastada, başvurudan iyileşmeye kadar, eşit aralıklı seri ölçümlerle ferritin, SD ve DBK parametrelerini değerlendirmişler. Ferritinin, hastalığın başında ALT, AST, bilirubin, ALP gibi biyokimyasal parametrelerle uyumlu olarak yüksek saptandığı ve takipte de yine bu parametrelere paralel olarak azaldığı gösterilmiştir.

Atono ve ark. (86) yaptığı bir çalışmada, CRP seviyesi, HAV ve HBV hepatitlerinin akut döneminde yüksek, iyileşme döneminde düşük bulunmuş, non A ve B hepatitlerinde ise CRP de belirgin değişiklik saptanmamıştır. CRP değerleri başlangıçta  $2,4 \pm 9,5$  mg/dl iken hastalığın 30. gününde  $0,43 \pm 0,85$  mg / dL olarak tespit edilmiş, ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu çalışmada, CRP ve diğer inflamatuvar sitokinlerin, viral hepatitlerde duyarlı testler olmadığı tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda; akut hepatit (Grup 1) ile akut hepatitin iyileşme dönemi (Grup 2) ve akut hepatit (Grup 1) ile kronik hepatit (Grup 3) arasındaki inflamasyon belirteçleri (İL-6, TGF- $\beta$ , CRP) karşılaştırıldığında; İL-6, TGF- $\beta$  ve CRP düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik olmadığını saptadığımızdan akut ve kronik hepatitlerde İL-6, TGF- $\beta$  ve CRP'nin duyarlı testler olmadığı kanısındayız.

Bizim kronik KC hastalarımızın (Grup 3) KC demir düzeyleri normalin üzerinde olarak tespit edilmesine rağmen, bu hastaların serum hepsidin ile KC kuru demir ağırlığı arasında ilişki bulunamamıştır ( $p=0,2$ ). KC kuru demir ağırlığı ile diğer parametreler arasında da ilişki bulunamamıştır. Sadece Wilson hastaları incelendiğinde; SD ile KC kuru demir ağırlığı arasında ( $p=0,002$ ,  $r=0,900$ ), GDH da ise; KC kuru demir ağırlığı ile fibrozis ( $p=0,02$ ,  $r=0,979$ ) arasında pozitif ilişki saptanmıştır. KC'de biriken demirin hepatositlerde oksidatif

hasar oluşturduğunu, hücre hasarına ve sonrasında ise KC'de fibrozise neden olduğunu düşünmekteyiz. KC demir birikimiyle artan KC doku hasarı, hastalığın prognozunda kötüleşmeye, KC fonksiyonlarında bozulmaya ve nakil ihtiyacında artışa neden olmaktadır. Bizim çalışmamızda da; kronik hepatitlerde ferritin ile PELD ( $p=0,002$ ,  $r=0,514$ ) ve hepsidin ile PELD ( $p=0,01$ ,  $r=0,583$ ) arasında, Wilson hastalarında ferritin ve PELD ( $p=0,01$ ,  $r=0,705$ ) arasında pozitif ilişki saptanmıştır. Kronik KC hastalarında ferritin ve hepsidinin prognostik önemi olduğunu, serum ferritin seviyesinin PELD skoru ve serum albümin seviyesine ilaveten kronik KC hastalıklarında mortalite ve KC hasarının belirlenmesinde önemli bir parametre olduğunu düşünüyoruz. Serum ferritin düzeyi KC'deki harabiyet için de tahmin ettirici olabilir ve  $>1000$   $\mu\text{g/l}$  eşik değeri KC fibrozisinin başlayabileceğini düşündürebilir. Ancak serum ferritin seviyesi akut faz reaktanı olarak da yükseldiğinden sensitivitesi düşüktür (87). GDH'da (Grup 3b), serum İL-6 ve TGF- $\beta$  seviyeleri Grup 1, Grup 2 ve Grup 3a vakalarından daha yüksek bulundu. Serum ferritin seviyesinin de Grup 2 ve Grup 3a vakalarından istatistiksel olarak anlamlı olmayan düzeyde yüksek bulunması, GDH'da inflamasyonun fazla olduğuna yorumlanabilir. Ancak GDH sayımız düşük olduğundan daha fazla vaka ile ileri çalışmalara gerek olduğunu düşünüyoruz.

Kronik KC hastalarının oluşturduğu Grup 3'de, Child/Pugh sınıflamasın göre hastaları Child A (iyi prognozlu) ile Child B ve C skrouna göre ayırıp iki grup halinde incelediğimizde; Child B ve C'li grupta ferritin seviyesi istatistiksel olarak daha yüksek bulundu ( $p=0,02$ ). Hepsidin seviyesinin ortalama değeri, sirotik hastalarda daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p=0,07$ ). Child B ve C'li grupta hepsidin ile SD, ferritin ve PELD arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (sırasıyla  $p=0,02$ - $r=0,620$ ,  $p=0,000$ - $r=0,880$ ,  $p=0,007$ - $r=0,710$ ). Yapılan bir çalışmada Child skorunun yüksek olduğu sirotik hastalarda hepsidin seviyesi daha düşük tespit edilmiştir (7). Bizim çalışmamızda; hepsidinin Child B ve C'li grupta düşük beklenirken yüksek olmasını iki nedene bağlıyoruz. Birincisi; hasta grubumuz heterojen olması, ikincisi ise Child C'li grubumuzun çoğunun Wilson hastalarından oluşmasıdır. Wilson hastalarının demir emiliminin düşük olduğu ve sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında hepsidin seviyelerinde fark olmadığı bilinmektedir (88).

Akut ve kronik KC hastalıklarında TOS, TAS ve OSİ arasında istatistiksel fark olmaması, İL-6, TGF- $\beta$  ve CRP'nin de anlamlı olarak yükselmemesi, akut ve kronik hepatitte KC'de oluşan inflamasyonun, vucud oksidan sistemlerini ve inflamatuvar yanıtı etkileyecek kadar şiddetli olmadığını düşündürmektedir. Bu durum ayrıca hastaların teşhislerinin erken

aşamasında olmalarından, henüz KC'deki inflamasyon ve hasarın belirgin olarak başlamamış olabileceğinden de kaynaklanabilir. Çünkü bizim kronik KC hastalarımızın Child-Pugh skoru ile klinik ve laboratuvar belirtileri göz önüne alındığında, vakalarımızın çoğunu %61,7 (n=21) Child A yani iyi prognozlu KC hastaları oluşturuyordu.

Horoz ve ark. (89) yaptığı çalışmada, NASH'lı hastalarda TOS ve OSİ indeksi sağlıklı kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Antioksidan stresin azalması, TOS'un artmasına ve oksidatif stresin artmasına yol açmaktadır. Ayrıca, TOS ile KC fibrozis skoru arasında pozitif ilişki saptanmıştır. KC'deki oksidatif stresin gerçekteki değerini saptamak için KC dokusundaki antioksidan bileşenleri ölçmek daha anlamlıdır.

Koruk ve ark. (90) yaptığı çalışmada, NASH'lı ve sağlıklı kontrollerde TAS seviyelerinin benzer olduğu görülmüş, bunu bozulmuş antioksidan yanıtı bağlı olabileceği düşünülmüştür.

Literatürde, normolipidemik NASH olan vakalarda yapılan bir çalışmada; TAS ve TOS bakılarak KC'deki oksidatif hasarı değerlendirilmiştir. Bu çalışmada, postprandial lipide mi daha belirgin, oksidatif LDL seviyesi daha yüksek ve TAS seviyesi daha düşük gözlenmiştir (6).

Fierbinteanu-Braticevici ve ark. (91) yaptığı bir çalışmada, OSİ indeksinin, NASH'daki fibrozis için bağımsız bir risk faktörü olduğu bildirilmiştir.

Hepsidin; sitokin uyarısıyla hepatositlerden sentezlenir. Ancak demirin dokularda aşırı birikiminin hepatositlerde hepsidin üretimini arttırdığı görülmüştür. Bu durumun demir metabolizmasında görev alan TfR-2'nin, hepsidin transkripsiyonunu uyarması sonucu olabileceği düşünülmektedir (92,93).

Ohtake ve ark. (94) yaptığı çalışmada, AKH ve kronik HCV enfeksiyonunda hepsidin regülasyonunda bozukluk olduğu tespit edilmiş, AKH olanlarda hepsidinin inaktif formunun sağlıklı bireylere göre iki kat daha fazla sentezlendiği gösterilmiştir.

Nagashima ve ark. (95) yaptığı bir çalışmada, PBS ve HCV sirozlu hastaların, HBV sirozlu hastalara ve sağlıklı bireylere göre hepsidin seviyesinin daha düşük olduğu tespit edilmiştir.

Fujita ve ark. (96) yaptığı çalışmada; hepsidin salınımının serum ferritin ve SD ile ilişkili olduğu, hipoksi ve oksidatif stres durumunda ise hepsidin sentezinin gen seviyesinde azaltıldığı tespit edilmiştir.

Merle ve ark. (88), serum seruloplazmin oksidaz enzim kapasitesi düşük olan ve KC'de bakır depolanması saptanan farelerde yaptığı bir çalışmada; SD, hemoglobin ve TS'nun daha düşük olduğu, ancak hepsidin mRNA salınımında sağlıklı grupla karşılaştırıldığında fark olmadığı tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda Wilson hastaları ile akut hepatitin iyileşme dönemindeki hastalar karşılaştırıldığında; hepsidin seviyesinde istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı tespit edilmiştir (p=0,2).

Demirin bağırsaklardan emilimi sırasında Cu bağımlı enzimler rol oynamaktadır (DMT1, DCYTB). Wilson hastalığında ferrokسيداز enzim aktivitesi bozuk olduğundan, demirin bağırsaklardan emilimi azalmıştır. Ayrıca Wilson hastalarında ferroportinin stabilizasyonu bozulacağından enterositlerden demirin atılımı da bozulmuştur (88).

Jaroszewicz ve ark. (7) yaptığı bir çalışmada ise, en düşük hepsidin seviyesi HCV sirozlu hastalarda bulunmuş, ayrıca HBV sirozlu ve primer bilier sirozlu hastaların hepsidin seviyesi düşük bulunmuş ancak sağlıklı bireylerle karşılaştırıldığında belirgin fark görülmemiştir. Serum hepsidin seviyesinin farklılıkları, etiyolojik nedenlerin farklılığına bağlanmış ve bu nedenle hepsidin regülasyonunun tam olarak anlaşılamadığına değinilmiştir. Ayrıca serum hepsidin seviyesinin, albümin ile doğru, Child/Pugh skoru ve INR ile ters orantılı olduğu tespit edilmiştir. Sirotik KC hastalığında, fonksiyon bozukluğuna bağlı olarak hepsidin üretimini azaldığı, buna bağlı olarak KC'de demir biriktiği, demir birikiminin KC fonksiyonlarını daha fazla bozduğu düşünülmüştür.

Sonuç olarak, hepsidin keşfi normal demir metabolizmasının fizyolojisine ve demir metabolizma anormallikleri ile ilişkili hastalıkların patofizyolojisine yeni bir bakış açısı getirmiştir. Ancak hepsidin ile ilgili yanıtlanması gereken birçok soru vardır. Bu konunun aydınlatılması, hepsidin demirle ilişkili hastalıkların tanı ve tedavisindeki potansiyelinin değerlendirilmesine olanak sağlayacaktır. Bu nedenle daha fazla klinik ve laboratuvar çalışmaları ile elde olan verilerin desteklenmesi ve bu şekilde yeni tanı ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesi gerekmektedir.

## 6. SONUÇLAR

### 6.1. Sonuçlar

1. Grup 1 (akut hepatit) ve Grup 2 (akut hepatitin iyileşme dönemi)'nin yaş ortalaması  $8,1 \pm 5,5$  yıl, Grup 3 (kronik KC hastaları)'ün yaş ortalaması ise  $8,9 \pm 5,4$  yıl idi. Yaş ve cinsiyet ortalamaları ve dağılımlarına göre gruplar karşılaştırıldığında; Grup 1 ve 3 arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p=0.47$ ).
2. Grup 1 ve Grup 2'nin laboratuvar bulguları (SD, DBK, ferritin, hepsidin, İL-6, TAS, TOS, OSİ, TGF- $\beta$ , AST, ALT, CRP) karşılaştırıldığında; hepsidin, ferritin, ALT ve AST düzeyinin Grup1'de, Grup 2'den istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edildi (sırasıyla  $p=0.01$ ,  $p=0.003$ ,  $p=0,003$ ,  $p=0,001$ ). Diğer parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı.
3. Grup 1 ve Grup 3'ün laboratuvar bulguları karşılaştırıldığında; hepsidin, SD, DBK, ferritin AST ve ALT düzeyinin, Grup1'de, Grup 3'e göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edildi ( sırasıyla  $p=0.03$ ,  $p=0.04$ ,  $p=0,09$ ,  $p=0.02$ ,  $p=<0,0001$ ,  $p=<0,0001$ ). Diğer parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.
4. Grup 2 ile Grup 3'ün laboratuvar bulguları karşılaştırıldığında; AST ve ALT düzeyinin, Grup 3'de, Grup 2'e göre istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edildi ( sırasıyla  $p=<0,0001$ ,  $p=<0,0001$  ). Diğer parametrelerde istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı. Hepsidin ve ferritin seviyelerinin ortalama değerleri Grup 3'de daha yüksek olmasına rağmen, aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu ( $p=0,3$ ).
5. Grup 1 ile Grup 3a (Wilson hastaları)'nın laboratuvar bulguları karşılaştırıldığında; SD, ferritin, AST ve ALT düzeyinin Grup 1'de Grup 3a'dan istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edildi ( sırasıyla  $p=0.01$ ,  $p=0.04$ ,  $p=0,009$ ,  $p=0,003$ ). Hepsidin ve TOS seviyeleri Grup 1'de 3a'dan daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p=0,1$ ).
6. Grup 1 ile Grup 3b (glikojen depo hastalığı)'nin laboratuvar bulguları karşılaştırıldığında; ALT düzeyinin Grup 1'de, TGF- $\beta$  düzeyinin Grup 3b'de istatistiksel olarak daha yüksek olduğu tespit edildi (sırasıyla  $p=0,04$  ve  $p=0,01$ ). Hepsidin ve AST seviyeleri Grup 1'de 3b'den daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla  $p=0,08$ ,  $p=0,07$ ).
7. Grup 2 ile Grup 3b'nin laboratuvar bulguları karşılaştırıldığında; İL-6, TGF- $\beta$ , AST ve ALT düzeylerinin Grup 3b'de istatistiksel olarak yüksek olduğu tespit edildi (sırasıyla  $p=0.01$ ,  $p=0,04$ ,  $p=0,004$ ,  $p=0,001$ ). Ferritin ve OSİ değerlerinin Grup 3b'de Grup 2'den

- daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla  $p=0,5$ ,  $p=0,4$ ).
8. Grup 2 ile Grup 3a'nın laboratuvar bulguları karşılaştırıldığında; SD düzeyinin Grup 2'de, AST ve ALT düzeyinin Grup 3a'da istatistiksel olarak yüksek olduğu tespit edildi (sırasıyla  $p=0,02$ ,  $p<0,0001$ ,  $p=0,001$ ). Hepsidin ve ferritin seviyeleri Grup 3a'da, Grup 2'den daha yüksek olmasına rağmen istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı (sırasıyla  $p=0,2$ ,  $p=0,1$ ).
  9. Grup 1'deki hastalarda ferritin ile SD ( $p=0,01$ ,  $r=0,721$ ), İL-6 ile CRP ( $p=0,02$ ,  $r=0,687$ ) arasında pozitif korelasyon tespit edildi. Hepsidin ile ferritin arasında da korelasyon bulunmadı ( $p=0,3$ ,  $r=-0,341$ )
  10. Grup 2'deki hastalarda sadece hepsidin ile ferritin arasında ( $p<0,0001$ ,  $r=0,926$ ) pozitif korelasyon bulundu.
  11. Grup 3'deki hastaların hepsidin, İL-6, TGF- $\beta$  ve TOS, TAS, SD, DBK, OSİ, ferritin, KC demir, PELD, fibrozis-demir boyanma skoru karşılaştırıldığında; hepsidin ile ferritin ( $p<0,0001$ ,  $r=0,778$ ), hepsidin ile PELD ( $p=0,004$ ,  $r=0,515$ ), ferritin ile PELD ( $p=0,005$ ,  $r=0,481$ ) arasında pozitif korelasyon tespit edildi. Diğer parametrelerde anlamlı korelasyon bulunmadı.
  12. Grup 3a'daki hastaların hepsidin, İL-6, TGF- $\beta$  ve TOS, TAS, SD, DBK, OSİ, ferritin, AST, ALT, KC kuru demir ağırlığı, fibrozis-demir boyanma skorları ve PELD değerleri karşılaştırıldığında; demir ile KC kuru demir ağırlığı ( $p=0,002$ ,  $r=0,900$ ), İL-6 ile ferritin ( $p=0,001$ ,  $r=0,845$ ), hepsidin ile PELD ( $p=0,04$ ,  $r=0,618$ ), TOS ile fibrozis ( $p<0,0001$ ,  $r=0,973$ ), ferritin ve PELD ( $p=0,01$ ,  $r=0,705$ ) arasında pozitif korelasyon, tespit edildi. Diğer parametrelerde anlamlı korelasyon bulunmadı.
  13. Grup 3b'deki hastaların hepsidin, İL-6, TGF- $\beta$  ve TOS, TAS, SD, DBK, OSİ, ferritin, AST, ALT, KC kuru demir ağırlığı, fibrozis-demir boyanma skorları ve PELD değerleri karşılaştırıldığında; KC kuru demir ağırlığı ile fibrozis ( $p=0,02$ ,  $r=0,979$ ), ALT ve ferritin ( $p=0,03$ ,  $r=0,911$ ) arasında pozitif korelasyon tespit edildi.
  14. Grup 3'deki kronik KC hastalarımızda, Child A (iyi prognozlu) ile Child B ve C (sirotik) hastalar iki grup olarak karşılaştırıldığında, iki grup arasında hepsidin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmaz iken ( $p=0,07$ ), ferritin düzeyi ve PELD skoru Child B ve C olan grupta (sırasıyla  $p=0,02$ ,  $p<0,0001$ ), albümin düzeyi Child A olan grupta istatistiksel olarak daha yüksekti ( $p<0,0001$ ).

## 6.2. Öneriler

1. Hepsidin; akut hepatitlerde akut faz reaktanı olarak kullanılabilceği, hepsidin sentezinin İL-6, TGF- $\beta$  ve ferritin'den bağımsız olarak uyarıldığı düşünölmektedir.
2. Ferritin; akut hepatitlerde, hepsidin ile birlikte akut faz reaktanı olarak kullanılabilceğini, ALT ve AST ile ferritin seviyesi beraber değerlendirilerek, KC'deki inflamasyon ve hasar hakkında bilgi sahibi olunabileceği düşünölmektedir.
3. Akut hepatitlerde serum hepsidin ve ferritin seviyeleri kronik hepatitlere göre daha yüksek bulunmuş, bu yüksekliğin inflamasyonla orantılı olduğunu düşünölmektedir. Buna rağmen TAS, TOS, İL-6, TGF- $\beta$  ve CRP seviyelerinde üç grup arasında fark olmaması; akut hepatitlerdeki KC harabiyetinin ciddi inflamasyona neden olmadığını ve vücuttaki oksidan sistemi etkileyecek boyutta olmadığını düşünörmektedir.
4. Glikojen depo hastalarında, Wilson hastalarına göre KC demir ağırlığı ve serum ferritin seviyesinin yüksek bulunması ve hepsidin seviyesinin düşük bulunması; Wilson hastalığındaki demir emiliminin azlığına ve KC'deki demir birikiminin daha az olmasına bağlanmıştır.
5. Kronik KC hastalarında hepsidin ve ferritinin prognostik önemi olduğunu; serum ferritin seviyesinin PELD skoru ve serum albümin seviyesine ilaveten kronik KC hastalıklarında mortalite ve KC hasarını belirlemede önemli bir parametre olduğunu düşünöyoruz.
6. Glikojen depo hastalarında İL-6 ve TGF- $\beta$ 'nın istatistiksel olarak yüksek, ferritin seviyesinin ise anlamlı olmayan yüksek bulunması, GDH'da inflamasyonun fazla olduğuna yorumlanabilir. Ancak vaka sayımız az olduğundan bunun doğrulanması için daha çok vakada, daha ileri çalışmalar yapılmalıdır.

Sonuç olarak; akut hepatitlerde KC hasarının ve inflamasyonunun şiddetini belirlemede hepsidin ve ferritin bir reaktan olarak kullanılabilir. Oksidan sistemin KC'deki hasarın gelişmesinde rolü olmadığı, kronik hepatitlerde hepsidin ve ferritinin KC hasarını belirlemede anlamlı bir belirteç olmadığı sonucuna varılmıştır. Bu çalışma; çocuklarda KC hastalıklarında demir metabolizmasını inceleyen bir ön çalışmadır, bu bulguların doğruluğunu değerlendirmek için daha ileri çalışmalara gerek vardır.



## ÖZET

### ÇOCUKLUK ÇAĞINDAKİ KARACİĞER HASTALIKLARINDA DEMİR METABOLİZMASI

**Amaç:** Akut ve kronik karaciğer (KC) hastalıklarında, demir metabolizmasındaki değişiklikleri saptayıp, bu hastalarda KC'deki demir birikimini belirlemeyi, demir metabolizmasının mevcut inflamasyonla ilişkisini, buna bağlı olarak akut ve kronik KC hastalıklarında KC'deki demir birikiminin, KC patolojisinin daha da kötüleşmesinde rolü olup olmadığını araştırmayı hedefledik.

**Gereç ve Yöntem:** Karadeniz Teknik Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Ana Bilim Dalı Gastroenteroloji bölümüne 02/02/2009 ile 01/09/2010 tarihleri arasında başvuran, akut ve kronik KC hastalığı tanısı almış tüm bireyler, cinsiyet ve yaş ayrımı yapılmadan çalışma grubuna dahil edildi. Bir buçuk yıl boyunca toplam 44 hasta alındı; bunların 10 tanesi akut hepatitli hasta, diğer 34 tanesi ise kronik KC hastası idi. Vakalar üç grupta incelendi; akut hepatitli vakalar; Grup 1, akut hepatitten dört hafta sonra iyileşen vakalar; Grup 2, kronik KC hastaları; Grup 3 olarak sınıflandırıldı.

Grup 1 ve Grup 3'deki hastalarda; hemogram, alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), bilirubin, albümin, gama-glutamil transferaz (GGT), alkalen fosfataz (alkalen phosphatas-ALP), serum demiri (SD), demir bağlama kapasitesi (DBK), ferritin, C-reaktif protein (CRP), koagülasyon testleri [protrombin zamanı (prothrombin time-PT) - aktive parsiyel tromboplastin zamanı (active partial tromboplastin time-aPTT)], hepatit belirleyicileri (Anti HCV IgM, Anti HBs IgM, Anti HAV IgM, AntiHbc IgM), hepsidin, interlökin-6 (İL-6), transforme eden büyüme faktörü- $\beta$  [transforming growth factor-beta, (TGF- $\beta$ )], total oksidatif durum (total oxidant satus-TOS), total antioksidatif durum (total antioxidant status-TAS) tetkikleri çalışıldı. TOS ve TAS sonuçları, TOS/TAS oranı ile elde edilen oksidatif stres indeksi (OSİ) kullanılarak değerlendirildi. Grup 2'deki hastalarda AST-ALT, bilirubin, GGT, hepsidin, İL-6, TGF- $\beta$ , TOS, TAS, ferritin ve SD'yi çalışıldı.

Karaciğerdeki hasarının derecesini belirlemek için, Child-Pugh ve PELD/MELD skorlaması yapıldı. Toplam 25 KC biyopsi preperatı incelendi KC doku örneklerinden, demir boyama, histopatolojik sınıflama (fibrozis skoru) ve KC kuru demir ağırlığı çalışıldı. Çalışmaya; öncesinde en az bir ay önce eritrosit süspansiyonu veya tam kan transfüzyonu yapılanlar, onam formunu imzalamayanlar dahil edilmedi. Üç grubun verileri SPSS 16.0 istatistik programı ile karşılaştırıldı.

**Bulgular:** Grup 1'deki hastaların ferritin, hepsidin, AST ve ALT düzeyleri, Grup 2 ve Grup 3'e göre istatistiksel olarak daha yüksek idi ( $p < 0,05$ ). Grup 3'deki hastaların hepsidin ve ferritin ortalamaları Grup 2'den yüksek olmasına rağmen, istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p > 0,05$ ). İL-6, TAS, TOS, TGF- $\beta$ , CRP, OSİ (TOS/TAS) düzeylerinde her üç grupta da istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmadı ( $p > 0,05$ ). Hepsidinin ve ferritin ile inflamasyon belirteçleri (İL-6, TGF- $\beta$ , CRP) ve KC'deki fibrozis ve demir boyanması

arasında korelasyon bulunmazken, hepsidin ve ferritin ile PELD arasında pozitif korelasyon bulundu ( $p<0,05$ ).

**Sonuç:** Hepsidin ve ferritin; akut hepatitlerde KC'deki inflamasyonla orantılı bir şekilde yüksek bulunmuştur. Ancak akut hepatitlerde hepsidin; ferritin, İL-6 ve TGF- $\beta$  ile aralarında pozitif korelasyon olmaması, hepsidin bu parametrelerden bağımsız olarak yükseldiğini göstermektedir. Kronik KC hastalarında ise, hepsidin ve ferritin seviyesinde iyileşen vakalara göre istatistiksel olmayan bir yüksekliğin olması, vakaların heterojen olmasına bağlanmıştır. Oksidan ve antioksidan sistemin akut ve kronik KC hastalarında fazla etkilenmemesi, mevcut inflamasyonun oksidan sistemi aktive edecek kadar şiddetli olmadığını düşündürmüştür.

## SUMMARY

### METABOLISM OF IRON IN LIVER DISEASES IN CHILDHOOD

**Objective:** We aimed to specify the changes of iron metabolism in acute and chronic liver diseases, to determine iron accumulation in these patients, to investigate the correlation between iron metabolism and the present inflammation and whether iron accumulation in the liver in case of acute and chronic liver diseases plays a role in worsening of liver pathology accordingly.

**Material and Method:** All the individuals diagnosed with acute and chronic liver disease who presented to Karadeniz Technical University, Faculty of Medicine, Department of Pediatrics, Division of Gastroenterology on 02/02/2009 to 01/09/2010 were included in the study group independently of age and gender. A total of 44 patients were included during a period of 1,5 years. 10 of these had acute hepatitis and 34 had chronic liver disease. The cases were examined in three groups: cases with acute hepatitis was classified as Group 1; cases who recovered 4 weeks after acute hepatitis were classified as Group 2 and cases with chronic liver disease were classified as Group 3.

In patients in Group 1 and Group 3, hemogram, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), bilirubin, albumin, gamma-glutamyl transferase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), serum iron (SI), iron binding capacity (IBC), ferritin, C-reactive protein (CRP), coagulation tests (prothrombin time (PT)-activated partial thromboplastin time (aPTT)), hepatitis markers (Anti HCV IgM, anti HBs IgM, Anti HAV IgM, AntiHbC IgM), hepcidin, interleukin-6(IL-6), transforming growth factor-beta (TGF- $\beta$ ), total oxidative status (TOS), total antioxidant status (TAS) tests were performed. TOS and TAS results were evaluated using oxidative stress index (OSI) which is obtained by TOS/TAS ratio. In patients in Group 2, AST-ALT, bilirubin, GGT, hepcidin, IL-6, TGF- $\beta$ , TOS, TAS, ferritin and serum iron were measured.

To determine the severity of damage in the liver, Child-Pugh and PELD/MELD scoring was performed. Totally 25 liver biopsy specimens were examined. Iron staining, histopathological classification (fibrosis score) and liver dry iron weight were studied in liver specimens. Subjects who received erythrocyte transfusion or whole blood transfusion at least one month before the study and who did not sign informed consent form were excluded from the study. The data of the three groups were compared using SPSS 16.0 statistical program.

**Results:** Ferritin, hepcidin, AST and ALT levels in Group 1 were statistically higher than Group 2 and Group 3 ( $p < 0.05$ ). Although mean hepcidin and ferritin levels in Group 3 were higher than Group 2, no difference was found to be statistically significant ( $p > 0.05$ ). A statistically significant difference was not found in IL-6, TAS, TOS, TGF- $\beta$ , CRP, OSI (TOS/TAS) levels between the three groups ( $p > 0.05$ ). While no correlation was found between hepcidin and ferritin and inflammatory markers (IL-6, TGF- $\beta$ , CRP) and between

hepatic fat accumulation/fibrosis and iron staining, a positive correlation was found between hepcidin and ferritin and PELD ( $p < 0.05$ ).

**Conclusion:** Hpcidin and ferritin have been found to be higher proportionally to liver inflammation in acute hepatitis. However, the fact that there is no positive correlation between hepcidin and ferritin, IL-6 and TGF- $\beta$  in acute hepatitis indicates that hepcidin increases independently of ferritin, IL-6 and TGF- $\beta$ . In patients with chronic liver disease, a non-statistical increase in hepcidin and ferritin levels compared to subjects who recovered was attributed to the heterogeneity of cases. The fact that the oxidant and antioxidant systems were not effected to a high degree in patients with acute and chronic liver disease suggested that the present inflammation was not severe enough to activate the oxidant system.

**KAYNAKLAR**

1. Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, Leroyer P, Turlin B, Brissot P, Loreal O. A new mouse liver specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *Biol Chem* 2001;276(11); 7811-7819.
2. Rossi E. Hepcidin-the iron regulatory hormone. *Clin Biochem Rev* 2005; 26(3):47-49.
3. Shaw S, Jayatilleke E, Lieber CS. Lipid peroxidation as a mechanism of alcoholic liver injury: role of iron mobilization and microsomal induction. *Alcohol* 1988;5:135-140.
4. Friedman SL. Parenchymal Fe and collagen gene expression: an iron-clad association? *Hepatology* 1995; 21(4):1197-1199.
5. Guo L, Enzan H, Hayashi Y, Miyazaki E, Jin Y, Toi M, Kuroda N, Hiroi M. Increased iron deposition in rat liver fibrosis induced by a high-dose injection of dimethylnitrosamine. *Exp & Mol Pathol* 2006;81:255-261.
6. Owens D. The extended postprandial phase in diabetes. *Biochem Soc Transact* 2003;31(5):1085-1089.
7. Jaroszewicz J, Rogalska M, Flisiak R. Serum prohepcidin reflects the degree of liver function impairment in liver cirrhosis. *Biomarkers* 2008; 13(5):478-485.
8. Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danaan JL, Bigard X, Devaux L, Beaumont C, Kahn A, Vaulont S. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin. Invest.* 2002;110(7):1037-1044.
9. Hugman A. Hepcidin: an important new regulator of iron homeostasis. *Clin Lab Haem* 2006; 28(2):75-83.
10. Ganz T. Hepcidin in iron metabolism. *Curr Opin in Hematol* 2004; 11(4):251-254.
11. Gümrük F, Altay Ç. Demir metabolizması ve demir eksikliği anemisi. *Katkı Pediatri Dergisi* 1995; 16(3):265-287.
12. Wu AC, Lesperance L, Bernstein H. Screening for iron deficiency. *Pediatr Review* 2002; 23(5):171-178.
13. Andrews NC, Ullrich CK, Fleming MD: Disorders of iron metabolism and sideroblastic anemia. In: Nathan DG, Orkin SH, eds: *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood*, 7th ed. Philadelphia, WB Saunders, 2009:521-570.
14. Njajuo OT, Vaessen N, Joosse M, Berghuis B, van Dongen JW, Breuning MH, Snijders PJ, Rutten WP, Sandkuijl LA, Oostra BA, van Duijn CM. A mutation in SLC11A3 is associated with autosomal dominant hemochromatosis. *Nat Genet* 2001;28(3):213-214.

15. Fairbanks VF. Iron in medicine and nutrition. In: Shils M, Olson J, Shike M eds. *Modern Nutrition in Health and Disease*, 8 th ed. Philadelphia, Lea & Febiger 1994:185-213.
16. Nemeth E, Ganz T. Regulation of iron metabolism by hepcidin. *Annu Rev Nutr* 2006; 26:323–342.
17. Saltman P. Oxidative stress: A radical view. *Semin Hematol* 1989;26(4):249-256.
18. Oski FA. Iron deficiency in infancy and childhood, *N Engl J Med* 1993; 329(3):190-193.
19. Demaeger EM. World Health Organisation: Preventing and controlling iron deficiency anemia through primary health care. Geneva 1989.
20. Fleming MD. The regulation of hepcidin and its effects on systemic and cellular iron metabolism. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2008:151-158.
21. Brittenham GM: Disorders of iron metabolism: Iron deficiency and overload. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, et al ed. *Hematology: Basic Principles and Practice* 4th ed. Philadelphia, Elsevier;2005:481-497.
22. Yamaji S, Sharp P, Ramesh B, Srani SK. Inhibition of iron transport across human intestinal epithelial cells by hepcidin. *Blood* 2004;104(7):2178-2180.
23. Fleming RE, Bacon BR. Orchestration of Iron Homeostasis. *N Engl J Med* 2005; 352(17):1741-1744.
24. Chen H, Su T, Attieh ZK, Fox TC, McKie AT, Anderson GJ, Vulpe CD. Systemic regulation of Hfe and Irf1 revealed in studies of genetic and nutritional iron deficiency. *Blood* 2003;102(5):1893-1899.
25. Kemna EH, Tjalsma H, Willems HL, Swinkels DW. Hepcidin: from discovery to differential diagnosis. *Haematologica* 2008; 93(1):90-97.
26. Zhang AS, Xiong S, Tsukamoto H, Enns CA. Localization of iron metabolism – related mRNAs in rat liver indicate that HFE is expressed predominantly in hepatocytes. *Blood* 2004;103(4):1509-1514.
27. Bridle KR, Frazer DM, Wilkins SJ, Dixon JL, Purdie DM, Crawford DH, Subramaniam VN, Powell LW, Anderson GJ, Ramm GA. Disrupted hepcidin regulation in HFE-associated haemochromatosis and the liver as a regulator of body iron homeostasis. *Lancet* 2003;361(9358):669-673.
28. Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 2001; 276(11):7806-7810.

29. Roetto A, Papanikolaou G, Politou M, Alberti F, Girelli D, Christakis J, Loukopoulos D, Camaschella C. Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nature Genet* 2003; 33(1):21-22.
30. Ganz T, Nemeth E. Regulation of iron acquisition and iron distribution in mammals. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1763(7):690-699.
31. Ganz T. Hepcidin-a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages. *Best Pract Res Clin Haematol* 2005; 18 (2):171-182.
32. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, Ganz T. IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest* 2004;113(9): 1271-1276.
33. Anderson GJ, Darshan D, Wilkins SJ, Frazer DM. Regulation of systemic iron homeostasis: how the body responds to changes in iron demand. *Biometals* 2007; 20(3-4):665-674.
34. Papanikolaou G, Samuels ME, Ludwig EH, MacDonald ML, Franchini PL, Dube MP, Andres L, Macfarlane J, Sakellaropoulos N, Politou M, Nemeth E, Thompson J, Risler JK, Zaborowska C, Babakaiff R, Radomski CC, Pape TD, Davidas O, Christakis J, Brissot P, Lockitch G, Ganz T, Hayden MR, Goldberg YP. Mutations in HFE2 cause iron overload in chromosome 1q-linked juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 2004; 36(1):77-82.
35. Wang RH, Li C, Xu X, Zheng Y, Xiao C, Zervas P, Cooperman S, Eckhaus M, Rouault T, Mishra L, Deng CX. A role of SMAD4 in iron metabolism through the positive regulation of hepcidin expression. *Cell Metabolism* 2005;2(6):399-409.
36. Gumusdis G, Doganavsargil E. *Klinik Romatoloji. Deniz matbaası, İstanbul,1999:148-152.*
37. Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G, Lichtenstein A, Ganz T. Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood* 2003; 101(7): 2461-2463.
38. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, Ganz T. IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest* 2004;113(9): 1271-1276.
39. Ganz T. Hepcidin and Its role in regulating systemic iron metabolism. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2006: 29-35, 507.
40. Babitt JL, Huang FW, Wrighting DM, Xia Y, Sidis Y, Samad TA, Campagna JA, Chung RT, Woolf CJ, Andrews NC, LinHY. BMP signaling by hemojuvelin regulates hepcidin expression. *Nat Genet* 2006;38(5):531-539.
41. Bastard JP, Jardel C, Delattre J, Hainque B, Bruckert E, Oberlin F. 1999 Evidence for a link between adipose tissue interleukin-6 content and serum C-reactive protein concentrations in obese subjects. *Circulation* 1999; 19(4):2221-2222.

42. Yudkin JS, Stehouwer CDA, Emeis JJ, Coppack SW. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction. A potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vase Biol* 1999;19:972-978.
43. Peyssonnaud C, Zinkernagel AS, Schuepbach RA, Rankin E, Vaulont S, Haase VH, Jhonson VS, Nizet V. Regulation of iron homeostasis by the hypoxia-inducible transcription factors (HIFs) Johnson, *J Clin Invest*. 2007;117(7):1926–1932.
44. Peyssonnaud C, Nizet V, Johnson RS, Role of hypoxia inducible factors HIF in iron metabolism. *Cell Cycle* 2008;7(1):28-32.
45. Ahmad KA, Ahmann JR, Migas MC, Waheed A, Britton RS, Bacon BR, Sly WS, Fleming RE. Decreased liver hepcidin expression in the HFE knockout mouse. *Blood Cells Mol Dis* 2002; 29(3):361–366.
46. Bridle KR, Frazer DM, Wilkins SJ, Dixon JL, Purdie DM. Disrupted hepcidin regulation in HFE associated hemochromatosis and the liver as a regulator of body iron homeostasis. *Lancet* 2003; 361:669–673.
47. Muckenthaler M, Roy CN, CustodioAO, Minana B, de Graaf J, Montross LK, Andrews NC, Hentze MW. Regulatory defects in liver and intestine implicate abnormal hepcidin and *Cybrd1* expression in mouse hemochromatosis. *Nat Genet* 2003; 34(1):102–107.
48. Zhang AS, West APJ, Wyman AE, Bjorkman PJ, Enns CA. Interaction of HJV with neogenin results in iron accumulation in HEK293 cells. *J. Biol. Chem.* 2005; 280(40):33885–33894.
49. Lin L, Goldberg YP, Ganz T. Competitive regulation of hepcidin mRNA by soluble and cell associated hemojuvelin. *Blood* 2005; 106(8):2884–2889.
50. Origa R, Galanello R, Ganz T, Giagu N, Maccioni L, Faa G. Liver iron concentrations and urinary hepcidin in beta-thalassemia. *Haematologica* 2007; 92(5):583-588.
51. Papanikolaou G, Tzilianos M, Christakis JI, Bogdanos D, Tsimirika K, MacFarlane J, Goldberk YP, Sakellaropoulos N, Ganz T, Nemeth E. Hepcidin in iron overload disorders. *Blood* 2005;105(10):4103–4105.
52. Jurado RL. Iron, infections, and anemia of inflammation. *Clin. Infect.Dis.* 1997; 25(4):888–895.
53. Knight K, Wade S, Balducci L. Prevalence and outcomes of anemia in cancer: a systematic review of the literature. *Am J Med* 2004; 116(Suppl. 7A):11–16.
54. Yesilkaya A, Altinayak R, Korgun DK. The antioxidant effect of free bilirubin on cumene-hydroperoxide treated human leukocytes. *Gen Pharmacol* 2000; 35(1):17-20.
55. Dani C, Mertelli E, Bertini G, Pezzati M, Filippi L, Rozetti G, Rubaltelli FF. Plasma bilirubin level and oxidative stress in preterm infants. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 2003; 88(2):119-123.



56. Kremer TM, Rinne ML, Xu Y, Chen XM, Kelley MR. Protection of pulmonary epithelial cells from oxidative stress by hMYH adenine glycosylase. *Respir Res* 2004; 27:5-16.
57. Yamamoto Y. Role of active oxygen species and antioxidants in photoaging. *J Dermatol Sci* 2001; 27(1):1-4.
58. Raha S, Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *TIBS* 2000; 25(10): 502-507.
59. Yiğit S, Yurdakök M, Kilin K ve ark. Yenidoğanlarda serbest radikallere bağlı hastalıklar. *Ç Sağ Hast Derg* 1997;39:749-765.
60. Tomaro ML, Batlle AMC. Bilirubin: its role in cytoprotection against oxidative stress. *Int J Biochem Cell Biol* 2002; 34(3): 216-220.
61. Canchis W, Gonzalez SA, Isabel Fiel M, Chiriboga L, Yee H, Eldin BR, Jacobson IM, Talah AH. Hepatocyte proliferation in chronic hepatitis C: correlation with degree of liver disease and serum alpha-fetoprotein. *Liver Internat* 2004;24(3):198-203.
62. McDiarmid SV, Gish R, Horslen S, Mazariegos G. Model for End-Stage Liver Disease (MELD) exception for unusual metabolic liver diseases. *Liver Transpl* 2006;12(3):124–127.
63. Organ Procurement and Transplantation Network. Available at: <http://www.optn.org/latestdata/rptdata.asp>. Accessed November 5, 2007.
64. Burdelski M, Rodeck B, Latta A, Latta K, Brodehl J, Ringe B, Pichlmayr R. Treatment of inherited metabolic disorders by liver transplantation. *J Inherit Metab Dis* 1991; 14(4):604-618.
65. Jeong SH, Lee HS. Hepatitis A: clinical manifestations and management. *Intervirolgy* 2010;53(1):15-19.
66. Nguyen MH, Garcia RT, Simpson PW, Wright TL, Keeffe EB. Racial differences in effectiveness of alpha-fetoprotein for diagnosis of hepatocellular carcinoma in hepatitis C virus cirrhosis. *hepatology* 2002; 36(2):410-417.
67. Hensen K, Horslen S. Metabolic liver disease in children. *Liver Transpl* 2008; 14(5):713-733.
68. Sherlock S, Dooley J. Diseases of the liver and miliary system. 10. ed. Oxford, Black Sci Public 1997;103-117.
69. Lidofsky SD. Liver transplantation for fulminant hepatic failure. *Gastroenterol Clin North Am* 1993;22(2): 257-269.
70. Paradise V, Dargere D, Vidaud M, De Gouville AC, Huet S, Martinez V, Gauthier JM, Ba N, Sobesky R, Ratziu V, Bedossaet P. Expression of connective tissue growth factor in experimental rat and human liver fibrosis. *Hepatology* 1999; 30(4):968-976.

71. Guo L, Enzan H, Hayashi Y, Miyazaki E, Jin Y, Toi M, Kuroda N, Hiroi M. Increased iron deposition in rat liver fibrosis induced by a high-dose injection of dimethylnitrosamine. *Exp Mol Pathol* 2006;81(3):255-261.
72. Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Hepsidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 2001;276(11):7806-7810.
73. Squires RH Jr, Shneider BL, Bucuvalas J, Alonso E, Sokol RJ, Narkewicz MR, Dhawan A, Rosenthal P, Rodriguez-Baez N, Murray KF, Horslen S, Martin MG, Lopez MJ, Soriano H, McGuire BM, Jonas MM, Yazigi N, Shepherd RW, Schwarz K, Lobritto S, Thomas DW, Lavine JE, Karpen S, Ng V, Kelly D, Simonds N, Hynan LS. Acute liver failure in children: the first 348 patients in the pediatric acute liver failure study group. *J Pediatr* 2006 May;148(5):652-658.
74. Sheela H, Seela S, Caldwell C, Boyer JL, Jain D. Liver Biopsy: Evolving role in the new millennium. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39(7):603-610.
75. J. Szpunar, J. Bettmer, M. Robert, H. Chassaing, K. Cammann, R. Lobinski, O.F.X. Donard. Validation of the determination of copper and zinc in blood and urine by ICP-MS with cross-flow and direct injection nebulization. *Talanta* 44, 1997;1389-1396.
76. Nilesh R Ghugre, Ignacio Gonzalez-Gomez, Ellen Butensky, Leila Noetzli, Roland Fischer, Roger Williams, Paul Harmatz, Thomas D Coates and John C Wood. Patterns of hepatic iron distribution in patients with chronically transfused thalassemia and sickle cell disease. *Am J Hematol* 2009;84(8):480-483.
77. Nash S, Marconi S, Sikorska K, Naeem R, Nash G. Role of liver biopsy in the diagnosis of hepatic iron overload in the Era of Genetic Testing. *Am J Clin Pathol* 2002; 118:73-81.
78. Standish RA, Cholongitas E, Dhillon A, Burroughs AK, Dhillon AP. An appraisal of the histopathological assessment of liver fibrosis. *Gut* 2006;55:569-578.
79. McDiarmid S, Anand R, Lindblad AS. Development of a pediatric end-stage liver disease score to predict poor outcome in children awaiting liver transplantation. *Transplantation*, 2002;74(2):173-181.
80. Bayraktar UD, Bayraktar S. Treatment of iron deficiency anemia associated with gastrointestinal tract diseases. *World J Gastroenterol* 2010;16(22): 2720-2725.
81. Dilek İ, Altun S, Tuncer İ, Uygan İ, Topal C, Aksoy H. Demir eksikliği anemisinde hemoglobin, hematokrit değerleri, eritrosit indeksleri ve etyolojik nedenlerin değerlendirilmesi. *Van Tıp Dergisi* 2000;7(2):51-56.
82. Kemna E, Pickkers P, Nemeth E, van der Hoeven H, Swinkels D. Time-course analysis of hepcidin, serum iron, and plasma cytokine levels in humans injected with LPS. *Blood* 2005; 106(5): 1864-1866.
83. Tuncer İ, Hanefi Ö, Cevat T, İsmail U. The Serum levels of IL-1B, IL-6, IL-8 and TNF- $\alpha$  in nonalcoholic fatty liver. *Turk J Med Sci* 2003; 33: 381-386.

84. Tosun S. HAV enfeksiyonunda klinik ve korunma. In: Tabak F, Balık İ, Tekeli E, editors. *Viral Hepatit 2007*. 1. basım. İstanbul: Viral Hepatitle Savaşım Derneği; 2007: 62-93
85. Milman N, Graudal N. Serum ferritin in acute viral hepatitis. *Scand J Gastroenterol* 1984;19(1):38-40.
86. Atono Y, Sata M, Tanikawa K. Kinetics of C-reactive protein in acute viral hepatitis. *Gastroenterol Jpn* 1989; 24(6): 655-662
87. Nagano T, Yamamoto K, Matsumoto S, Okamoto R, Tagashira M, Ibuki N, Matsumura S, Yabushita K, Okano T, Tsuji T. Cytokine profile in the liver of primere biliary cirrhosis. *J Clin Immunol* 1999;19(6):422-427.
88. Merle U, Tuma S, Herrmann T, Muntean V, Volkmann M, Gehrkeand SG. Evidence for a critical role of ceruloplasmin oxidase activity in iron metabolism of Wilson disease gene knockout mice. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25:1144–1150.
89. Horoz M, Bolukbas C, Bolukbas FF, Sabuncu T, Aslan M, Sarifakiogullari S, Gunaydin N, Erel O. Measurement of the total antioxidant response using a novel automated method in subjects with nonalcoholic steatohepatitis. *BMC Gastroenterol*, 2005; 11:5-35.
90. Koruk M, Taysi S, Savas MC, Yilmaz O, Akcay F, Karakok M. Oxidative stress and enzymatic antioxidant status in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Ann Clin Lab Sci* 2004; 34(1):57-62.
91. Fierbinteanu-Braticevici C, Bengus A, Neamtu M, Usvat R: The risk factors of fibrosis in nonalcoholic steatohepatitis. *Rom J intern Med*, 2002; 40:81-88.
92. Beutler E. Hemochromatosis: genetics and pathophysiology. *Annu Rev Med* 2006;57:331-347.
93. Uysal Z. Hepsidin ve demir metabolizması. 6. Hematoloji İlk Basamak Kursu Eğitim Kitabı;14-20; 33. Ulusal Hematoloji Kongresi; 16-19 Ekim 2007, Ankara.
- 94.Ohtake T, Saito H, Hosoki Y, Inoue M, Miyoshi S, Suzuki Y, Fujimoto Y, Kohgo Y.. Hepsidin is down-regulated in alcohol loading. *Alcoholism. Clin Exp Res* 2007;31(1):2-8.
95. Nagashima M, Kudo M, Chung H, Ishikawa E, Hagiwara S, Nakatani T, Doke K. Regulatory failure of serum prohepcidin levels in patients with hepatitis C. *Hepatol Res* 2006; 36(4):288-293.
96. Fujita N, Sugimoto R, Takeo M, Urawa N, Mifuji R, Tanaka H, Kobayashi Y, Iwasa M, Watanabe S, Adachi Y, Kaito M. Hepsidin expression in the liver: relatively low level in patients with chronic hepatitis C. *Molecular Medicine*, 2007;13(1-2):97-104.