

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**KARACİĞER NAKLİNDE VE KRONİK VİRAL
HEPATİTLİ HASTALARDA PROHEPSİDİN VE
DEMİR PARAMETRELERİNİN DEĞİŞİMİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Özlem ÖZDEMİR

İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ

İZMİR-2011

T.C.
DOKUZ EYLÜL ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI
ANABİLİM DALI

**KARACİĞER NAKLİNDE VE KRONİK VİRAL
HEPATİTLİ HASTALARDA PROHEPSİDİN VE
DEMİR PARAMETRELERİNİN DEĞİŞİMİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Dr. Özlem ÖZDEMİR

TEZ DANIŞMANI: Doç. Dr. Mesut AKARSU

İÇ HASTALIKLARI UZMANLIK TEZİ

TEŞEKKÜR

İç hastalıkları uzmanlık eğitimi sürecinde bilgi, birikim, sabır ve özenleri ile yetişmeye katkıda bulunan başta Anabilim Dalı Başkanımız Prof. Dr. İlkay Şimşek olmak üzere tüm değerli hocalarıma teşekkür ederim.

Tezimin her aşamasında destekleyici ve güven arttırıcı yaklaşımı, bilgi ve tecrübeleri ile yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Doç. Dr. Mesut Akarsu'ya teşekkür ederim.

Çok büyük desteğini gördüğüm, yardımlarını büyük bir mutlulukla sunan değerli meslektaşım Dr. Aylın Bacakoğlu'na, tezin istatistiğini sabır ve özveriyle gerçekleştiren Dr.Kaan Sözmen'e ve PCR çalışmalarını büyük bir titizlikle gerçekleştiren Faize Yüksel'e teşekkür ederim.

İç hastalıkları asistanlığı süresince desteklerini esirgemeyen çok değerli arkadaşlarım Murat Matur, Pınar Tosun Taşar, Emine Mercan, Yasin Bakır, Doğuş Türkyılmaz, Sinan Ünal, M.Ali Kıyak ve tezin hazırlanma sürecinde katkısı olan sevgili hemşehrim güzel insan Çetin Mercan'a teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum İç hastalıkları Anabilim dalındaki değerli uzman ve asistan doktor arkadaşlarıma ve göstermiş olduğu anlayış ve özenden ötürü sevgili abimiz Mustafa Yarıcı' ya teşekkür ederim.

Eğitim sürecimde desteklerini esirgemeyen aileme, hayatımın en güzel rengi sevgili eşim maviye ve hayatımdaki en değerli kazanımım oğlum Kuzey'e yanımda oldukları için sonsuz teşekkür ediyorum.

Saygılarımla

Dr.Özlem Özdemir

İÇİNDEKİLER

No	Sayfa
Teşekkür	I
İçindekiler	II
Şekiller dizini	III
Tablolar dizini	IV
Simgeler ve kısaltmalar dizini	V
ÖZET	VIII
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)	XI
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Demir Emilimi	3
2.2. Hepcidin	5
2.2.1 Hepcidinin Yapısı	5
2.2.2. Hepcidinin Biyolojik Özellikleri	6
2.2.3. Hepcidin Sentezinin Düzenlenmesi	7
2.2.4. Hepcidinin Etki Mekanizmaları	10
2.3. Demir Metabolizması ve Herediter Hemokromatozis	11
2.4. Karaciğer ve Demir Metabolizması	14
2.5. Kronik Viral Hepatitler	16
2.5.1. Hepatit B	17
2.5.2. Hepatit C	18
2.6. Son Dönem Karaciğer Yetmezliği	25
2.7. KC Transplantasyonu	28
3. GEREÇ VE YÖNTEM	32
3.1. Çalışma Grupları	32
3.2. Serum Örneğinin Toplanması	33
3.3. Analitik Metod	33
3.4. İstatistiksel Metodlar	33
4. BULGULAR	34
5. TARTIŞMA	45
6. SONUÇ	54
7. KAYNAKLAR	55

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil No		Sayfa
2.1	Demir Emilimi	3
2.2.1	Hepsidininin solüsyon yapısı	6
2.2.3	Demir Hemostazı	9
2.2.4	Hepsidin Ferroportin ilişkisi	11
2.3	Hemokromatozis proteini HFE'nin kristal yapısı	13
2.5.2.1	HCV'nin Genotip Sıklığı	19
2.5.2.2	Hepatit C'nin viral döngüsü.	25
2.7.1	ELTR (European Liver Transplant Registry) verilerine göre karaciğer nakli nedenleri 01/1988 - 06/2009	29

TABLolar DİZİNİ

Tablo No		Sayfa
2.3.1	Genetik Geçişli Demir Birikim Hastalıklarının Sınıflaması	12
2.6.1	Gözlenen en iyi hematolojik ve sitogenetik yanıt oranları	26
2.6.2	Karaciğer Naklinde Kontrendikasyonlar	28
2.6.3	Karaciğer Nakli İçin Rölatif Kontrendikasyonlar	28
2.7.1	Milan Kriterleri	30
4.1	Hastaların Gruplara Ve Cinsiyete Göre Dağılımı	34
4.2	Dört grupta bakılan parametreler ve dağılımı	34
4.3	Grup1 ve Grup 2 Karşılaştırması	35
4.4	Grup1 ve Grup 3 Karşılaştırması	36
4.5	Grup1 ve Grup 4 Karşılaştırması	37
4.6	Grup2 ve Grup 3 Karşılaştırması	38
4.7	Grup2 ve Grup 4 Karşılaştırması	39
4.8	Grup3 ve Grup 4 Karşılaştırması	40
4.9	Prohepcidinin Gruplar arası dağılımı (Tanı-1:Kronik İnaktif HBV, Tanı-2:Kronik HCV, Tanı-3:siroz. Tanı-4:Karaciğer Nakil)	42
4.10	Ferritin Prohepcidin arasındaki Pozitif Korelasyon Eğrisi	43
4.11	Prohepcidin Hemoglobin Arasındaki Negatif Korelasyon Eğrisi	43
4.12	Ferritin gruplar arası dağılımı(Tanı-1:Kronik İnaktif HBV, Tanı-2:Kronik HCV, Tanı-3:siroz. Tanı-4:Karaciğer Nakil)	44

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ALB	Albumin
ALT	Alanin aminotransferaz
ALP	Alkalen fosfataz
AST	Asparat aminotransferaz
BNP	Bone morphogenetic protein
Child	Child-Pugh skoru
CMV	Sitomegalovirus
DEÜTF	Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi
DM	Diabetes mellitus
DMT1	Divalent metal transporter 1
DNA	Deoksiribonükleik asit
ELISA	Enzyme – linked immunosorbent assay
ELTR	European liver transplant registry
EMK	Esansiyel mikst kryoglobulinemi
Fe	Demir
FEA	Demir eksikliği anemisi
FPN	Ferroportin
GGT	Gamaglutamil transferaz
GVHD	Graft-versus-host disease
HAI	Histolojik aktivasyon indeksi
HAMP	Hepcidin antimicrobial peptide
HAV	Hepatit A virüsü
HBV	Hepatit B virüsü
HCC	Hepatoselluler kanser
HCV	Hepatit C virüsü
HDL	Yüksek dansiteli lipoprotein
HDV	Hepatit D virüsü
HEV	Hepatit E virüsü
HGV	Hepatit G virüsü
HFE	Human hemochromatosis protein
HIC	Hepatic iron concentration

HJV	Hemojuvelin
HH	Hemokromatozis
HIF	Hipoksi ile indüklenen faktör
IFN	Interferon
IL	Interlokin
INR	International normalisation ratio
IRE	Iron regulatory protein
JAK	Janus kinaz
KC	Karaciğer
KC Tx	Karaciğer nakli
KHC	Kronik hepatit C
LDH	Laktaz dehidrohenaz
LDL	Düşük dansiteli lipoprotein
LEAP – 1	Liver-expressed antimicrobial peptide
LP	Liken planus
MELD	Model for end-stage liver disease
MKÜ	Mooren's korneal ülserasyon
MPGN	Membranoproliferatif glomerulonefrit
MNG	Membranöz glomerulonefrit
mRNA	Messenger RNA
NASH	Nonalcoholic steatohepatitis
OT	Otoimmün tiroidit
PAN	Poliarteritis nodoza
PEG-INF	Pegylated interferon
PF	İdiyopatik pulmoner
PKT	Porfiriya kutanea tarda
RE	Retikuloendoteliyal
RNA	Ribonükleik asit
SDBK	Serum demir bağlama kapasitesi
SS	Sjögren's sendromu
STAT	Signal transducer and activator of transcription
SVR	Sustained virological responders

T. Bil	Total Billuribin
TfR1	Transferrin reseptörü 1
T.KOL	Total kolesterol
TNFα	Tumor necrosis factor
T.SAT	Transterrin saturasyonu
TTV	Transfusion transmitted virüs
UNOS	United network for organ sharing
WHO	Dünya sağlık örgütü

ÖZET

KARACİĞER NAKLİNDE VE KRONİK VİRAL HEPATİTLİ HASTALARDA PROHEPCİDİN VE DEMİR PARAMETRELERİNİN DEĞİŞİMİNİN ARAŞTIRILMASI

Dr. Özlem Özdemir

Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ana Bilim Dalı

Dokuz Eylül Üniversite Hastanesi İç Hastalıkları Anabilim Dalı Inciraltı/İZMİR 35340

ozdemir.ozlem@deu.edu.tr

Amaç: Karaciğerde sentezlenen ve demir regülasyonunda anahtar role sahip olan hepsidinin kronik viral hepatit, siroz ve nakil sonrası değişiminin araştırılması ve ayrıca hepsidin düzeyindeki değişimin karaciğer fonksiyon testleri (AST, ALT, T.Billurubin, Albumin, LDH, ALP, GGT) demir parametreleri ile ilişkisinin saptaması amaçlanmıştır. Bunun yanısıra karaciğer transplantasyonun hepsidin regülasyonuna dolayısıyla da demir metabolizmasına olası etkisi araştırılmak istenmiştir.

Gereç ve Yöntem: Çalışmaya Kasım 2010- Haziran 2011 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Polikliniği ve Karaciğer Nakil polikliniğinde takip edilen hastalar dahil edilmiştir. Kronik hepatit B ve C'li hastalar ve hepatit B –C nedeniyle dekompanse siroz gelişen hasta grupları ile hepatit B ve C nedeniyle karaciğer nakli yapılan olgular çalışmaya alınmıştır.

Bu amaçla kronik inaktif hepatit B (n: 31), Kronik hepatit C (n: 30) ve bunlara bağlı dekompanse siroz gelişen hasta (n: 29) grupları ile HCV ya da HBV nedeniyle dekompanse siroz gelişip karaciğer nakli yapılan hastalar (n: 31) çalışmaya alınmıştır. Herhangi bir antiviral tedavi alan hastalar ayrıca demir eksikliği anemisi (FEA) tanısı konan ya da demir (Fe) replasman tedavisi alan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Diğer kronik hepatit nedenleri olan Wilson hastalığı, hemokromatozis, otoimmün hepatit, alkolik hepatit, toksik hepatit ile hepatosellüler kanseri (HCC) olan ve kronik böbrek yetmezliği (KBY) olan hastalar çalışmaya alınmamıştır.

Hastaların serum örneklerinden ELISA yöntemiyle hemotoloji laboratuvarında prohepsidin düzeyi, biyokimya laboratuvarında Hemogloblin (Hb), Aspartat Amino Transferaz (AST), Alanin Aminotransferaz (ALT), Alkalen fosfataz (ALP), Gamaglutamil Transferaz (GGT), Laktat Dehidrogenaz (LDH), Total

Billurubin (T.BİL), Albumin(ALB), Total Kolesterol (T.KOL), Yüksek Dansiteli Lipoprotein (HDL), Düşük Dansiteli Lipoprotein (LDL), Demir (Fe), Serum Demiri Bağlama Kapasitesi (SDBK), Transferin Saturasyonu (T.SAT) Ferritin çalışılmış olup, ayrıca hastaların karaciğer takip dosyaları retrospektif olarak incelenmiştir.

Ölçüm değerlerinin normal dağılıma uygunluğu Kolmogrov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Verilerin normal dağılıma uymaması ve gruplardan birinde 30'dan az gözlem olması nedeniyle non-parametrik testlerin uygulanmasına karar verildi. Ölçüm değerlerinin bir kısmında (Yaş, Hb, Alb, T.Kol, HDL, LDL, Fe, SDBK, T.Sat, Ferritin, Prohepcidin) ortalama ve SD diğer ölçüm parametreleri ortancaları ve en küçük-en büyük değerleri ile birlikte verildi. Sürekli verileri içeren değişkenlerin ortancaları arasındaki farkın anlamlılığı Kruskal-Wallis testi ile değerlendirilmiştir. Gruplar arasında fark bulunması durumunda, farkın hangi gruplardan kaynaklandığını bulmak için ikili karşılaştırmalar Mann Whitney-U testi ile değerlendirilmiştir.

Sonuç: Hastaların 83'ü (%68) erkek, 38'i (%32) kadın, yaş ortalamaları $46,19 \pm 10,2$ yıl idi. Tüm guruplar ele alındığında yaş, cinsiyet, Hb, AST, ALP, GGT, LDH, T.bil; Albumin, T. Kolesterol, HDL, SDBK ve T.Sat'da fark saptanmıştır. Kronik İnaktif HBV ile HCV hastalarının ikili karşılaştırmasında Hb, AST, ALP, Albumin ve prohepcidin düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmış olup prohepcidin düzeyi HCV olgularında daha fazla saptanmıştır. Kronik İnaktif HBV ve Dekonpanse siroz olgularında Hb, AST, ALP, GGT, LDH, T.bil, Alb, T.Kol, HDL, SDBK, T.sat ve Ferritin değerlerinde anlamlı fark çıkmıştır. Kronik İnaktif HBV ile KC Tx olgularının karşılaştırmasında Hb, ALP, GGT, T.Bil, HDL, Fe ve Ferritin değerleri arasında anlamlı fark çıkmış olup Ferritin KC Tx olgularında daha yüksek bulunmuştur. Kronik HCV ve Siroz olguları kıyaslandığında AST, ALP, GGT, T.bil, Alb, T.Kol, HDL, SDBK ve T.Sat değerleri arasında anlamlı fark bulunmuştur. Kronik HCV ve KC Tx yapılan olgular kıyaslandığında Hb, ALP, LDH, T.Bil, Albumin değerleri arasında anlamlı fark bulunmuştur. Dekonpanse siroz hastaları ile Karaciğer Tx hastaları karşılaştırıldığında Hb, AST, LDH, T.Bil Alb, T.kol, Fe ve T.Sat arasında anlamlı fark bulunmuştur. Prohepcidin özellikle kronik HCV olgularında yüksek saptanmıştır. Prohepcidin tüm gruplar ele alındığında ferritin

ile pozitif korelasyon içerisinde olduğu, Hb ile negatif korelasyon içerisinde olduğu saptanmıştır.

Prohepcidin ile AST, ALT, ALP, GGT, LDH, T.BİL ve lipid paneli arasında herhangi bir ilişki saptanmadı. Bütün gruplar ele alındığında prohepcidinin anlamlı düzeyde albumin ile negatif korelasyon içinde olduğu saptandı.

Ferritinin prohepcidin, Fe, SDBK, T.Sat ile pozitif albuminle negatif korelasyon içerisinde olduğu görüldü. Ferritinin gruplar arası dağılımına bakıldığında en fazla Kc Tx yapılan grupta saptanmış olduğunu bunu sırasıyla Siroz olguları, HCV ve Kronik inaktif HBV hastalarının izlediği görülmekte olup aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı.

Yorum: Yapılan çalışmalarda karaciğer nakil öncesi serum ferritin düzeyinin karaciğer ilişkili mortalitede önemli olduğunu ve serum ferritin düzeyinin yüksek olduğu grubun genel sağkalım oranlarının ferritin düzeyi düşük olan gruba kıyasla daha kısa olduğu saptanmıştır. Literatürde karaciğer transplantasyonu yapılan olgularda prohepcidin düzeyini araştıran çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda karaciğer nakil hastalarında prohepcidin düzeyi, kronik inaktif HBV ve siroz hastalarından yüksek ancak HCV hastalarından düşük saptanmıştır. Diğer yandan bizim çalışmamızda HBV ya da HCV nedeniyle KC nakli yapılan hastaların AST ve ALT değerleri ile prohepcidin düzeyleri arasında anlamlı düzeyde pozitif korelasyon saptanmıştır. Bu korelasyon transplantasyon sonrası takip parametresi olarak prohepcidinin kullanılabileceğini ve ferritinin karaciğer nakil kararı verilmesi için kullanılan skorlama sistemine dahil edilmesi gerektiğini göstermektedir.

Anahtar sözcükler: Karaciğer nakli, kronik viral hepatit, prohepcidin.

ABSTRACT

ANALYSIS OF THE PROHEPCIDIN AND IRON PARAMETERS OF LIVER TRANSPLANTATION PATIENTS AND PATIENTS WITH CHRONIC VIRAL HEPATITIS

Objectives: An analyse of hepcidin, which is synthesized in liver and plays a key role in the regulation of blood iron, initiated in the aim of understanding the changes of hepcidin parameters in chronic viral hepatitis, cirrhosis and liver transplantation cases and determining the relations between changes of hepcidin parameters, liver function tests (AST, ALT, T. Bilirubin, Albumin, LDH, ALP, GGT) and iron parameters. Additionally, potential effects of liver transplatation on hepcidin regulation and thereby ferrous metabolism are looked into.

Material and Method: Patients, who were being monitored in Dokuz Eylül University Medical Faculty Gastroenterology and Liver Transplantation Policlinics between the dates of November 2010 – June 2011, are included in the research. Patients with chronic hepatitis B and C, decompansated cirrhosis caused by hepatitis B and C and liver transplantation caused by hepatitis B and C are taken into analyse.

For this purpose, patients with; chronic inactive hepatitis B (n: 31), chronic hepatitis C (n: 30), decompansated cirrhosis caused by hepatitis B and C (n: 29) and patients who had liver transplantation after decompansated cirrhosis caused by HCV and HBV (n: 31) are involved in the reseach. Patients; which were taking any kind of anti-viral treatment, with iron deficiency anemia and which were taking Fe-replacement treatment are left out of the research. Patients with other chronic hepatitis factors such as; Wilson's Disease, hemochromatosis, autoimmune hepatitis, alcoholic hepatitis, toxic hepatitis, hepatocellular carcinoma (HCC) and chronic renal failure aren't taken into analyse.

In Haematology laboratory, Prohepcidin levels and in Biochemistry laboratory; Haemoglobine (Hb), Aspartate Amino Transferase (AST), Alanine Amino Transferase (ALT), Alcaline Phosphatase (ALP), Gamma Glutamile Tranferase (GGT), Lactate Dehydrogenase (LDH), Total Bilirubine, Albumine

(Alb), Total Cholesterol (T.Chol), High-Density Lipoprotein (HDL), Low-Density Lipoprotein (LDL), Iron (Fe), Serum Iron Binding Capacity (SIBC), Transferin Saturation (T.SAT), Ferritin levels are studied from the blood serum samples of the patients. In addition liver observation files of the patients are retrospectively surveyed.

Normal distribution conformity of the laboratory results are evaluated with Kolmogorov-Smirnov test. Due to data not matching the normal distribution and one of the groups having observation count less than 30, using of non-parametric tests is decided. On some of the quantities (Age, Hb, Alb, T.Chol, HDL, LDL, Fe, SIBC, T.SAT, Ferritin, Prohepcidin), average and SD values; and on other quantities, median, minimum and maximum values are given together. Significance of the difference between median values of the variables which include continuous values is evaluated with Kruskal-Wallis test. In case of finding a difference between groups, Mann Whitney-U test is used to determine the source of the difference in dual comparisons.

Results: There were 83 male patients (68%), 38 female patients (32%) and the age average was $46,19 \pm 10,2$ years. When all of the groups are addressed; no differences were found in age, gender, Hb, AST, ALP, GGT, LDH, T.bil, Albumine, T. Chol, HDL, SIBC and T.Sat. In the dual comparison of chronic inactive HBV and HCV patients, significant differences in Hb, AST, ALP, Albumine and prohepcidin levels were established as prohepcidin levels of HCV patients were higher. Between chronic inactive HBV and decompensated cirrhosis patients, significant differences in Hb, AST, ALP, GGT, LDH, T.bil, Alb, T.Chol, HDL, SIBC, T.sat and Ferritin levels were found. In the dual comparison of chronic inactive HBV and liver transplantation patients, significant differences in Hb, ALP, GGT, T.Bil, HDL, Fe and Ferritin levels were established as ferritin levels of liver transplantation patients were higher. When chronic HCV and cirrhosis patients are compared; significant differences in AST, ALP, GGT, T.bil, Alb, T.Chol, HDL, SIBC and T.Sat levels were found. When chronic HCV and liver transplantation patients are compared; significant differences in Hb, ALP, LDH, T.Bil, Albumine levels were established. In the comparison of decompensated cirrhosis and liver transplantation patients; significant differences in Hb, AST, LDH, T.Bil, Alb, T.Chol,

Fe and T.Sat were found. High Prohepcidin levels were especially found in chronic HCV patients. When all of the groups are addressed; Prohepcidin was determined to be in positive correlation with ferritin and negative correlation with Hb.

No correlation was found between Prohepcidin and AST, ALT, ALP, GGT, LDH, T.BİL, lipid levels. When all of the groups are addressed; Prohepcidin was found to be in positive correlation with albumin significantly.

Ferritin is noted to be in positive correlation with prohepcidin, Fe, SIBC, T.Sat and negative correlation with albumine. When the Ferritin level distribution between groups are taken into account, the highest level was found in the liver transplantation group followed by cirrhosis, HCV and chronic inactive HBV groups but statistically no significant difference between these groups was found.

Conclusions: Performed analyses indicate that, serum Ferritin levels before the liver transplantation is important in liver related mortality and the group with higher Ferritin levels has much shorter surveillance than the group with lower Ferritin levels. There are no studies on the Prohepcidin levels in liver transplantation cases in literature. In our study, Prohepcidin levels were found high in liver transplantation patients from chronic inactive HBV and cirrhosis patients but low in HCV patients. On the other hand, in our study, significantly positive correlation between AST/ALT and Prohepcidin levels in patients who had liver transplantation caused by HBV or HCV was established. This correlation shows that, Prohepcidin can be used as a post-transplantation monitoring parameter and should be included in the scoring system which uses Ferritin as a transplantation indicator.

Key Words: Liver transplantation, chronic viral hepatitis, prohepcidin.

1. GİRİŞ

Tüm canlı organizmalar için esansiyel bir element olan demirin, insanlarda yaklaşık üçte ikisi hemoglobin yapısında, kalanı miyoglobinde, solunum zinciri enzimlerinde ve hepatik ferritin olarak depo halinde bulunur.

Demir pek çok canlı için esansiyel bir elementtir ve yaşamsal öneme sahiptir. Elektron alıp verme özelliği nedeniyle oksijen taşınması, enerji yapımı, DNA, RNA ve protein sentezinde yer alır. Pek çok enzimin yapı ve fonksiyonu için gereklidir. Demir fonksiyonları, taşınması ve depolanması sırasında hücrelerde ve vücut sıvılarında daima iki oksidasyon durumu olan ferrik (FeIII) veya ferröz (FeII) şekilde bulunur. Demirin bu elektron değişimi, redoks aktivitesi, bir taraftan gerekli ve yararlı olurken, diğer taraftan, demir fazlalığı durumlarında oluşan serbest demir, preoksidan olarak serbest oksijen radikallerinin yapılmasına yol açar. Antioksidanlar tarafından yeteri kadar detoksifiye edilemeyen serbest oksijen radikalleri özellikle de hidrosil radikal, hücresel elemanlar için ileri derecede zararlı ve toksiktir (Fenton ve Heber-Weis reaksiyonları). Bu nedenle demir hiçbir zaman serbest bırakılmamaya çalışılır. Transferinle taşınır, canlılar ferritinde depolanan demirin esansiyel fonksiyonları yerine getirecek ama hasar oluşturmayacak kadar sağlanabilmesi için çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir. İnsanlarda demir yüklenmesi durumlarında demir atılımını arttıran fizyolojik bir yol bulunmadığından, demir metabolizması sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir [1, 2]. Gastrointestinal sistemden dökülen epitel hücrelerle az miktarda ve kanamalar dışında demir kaybı olmaz. Fazlası toksik olan bu elementin sistemik dengesi tamamen emilimin kontrolü ile sağlanmaktadır. Demir; transferrine, ferritine veya başka demir taşıma ve depolama proteinlerine bağlı olduğunda oksidatif reaksiyonlara katılamaz ve bu nedenle hücresel hasara neden olamaz. Aşırı demir yüklü hastalarda bu proteinlerin demirin zararlı etkilerini nötralize edebilme kapasitesi aşılır. Fazla demir, plazma ve hücrelerde çeşitli diğer düşük molekül ağırlıklı proteinlere zayıf bir şekilde bağlanır ve bu şekilde mitokondri, lizozomlar ve sarkoplastik membranlar gibi organellerin peroksidasyonu yoluyla hücre zararına neden olur.

Plazmada yüksek transferrin doygunluğu, transferrine bağlanmayan demirin (TBD) dolaşımına sebep olur. Ağır aşırı demir yükü olan hastalarda, TBD plazmada tespit edilebilir düzeydedir [3]. Hücresel demir depolama proteinleri doygun

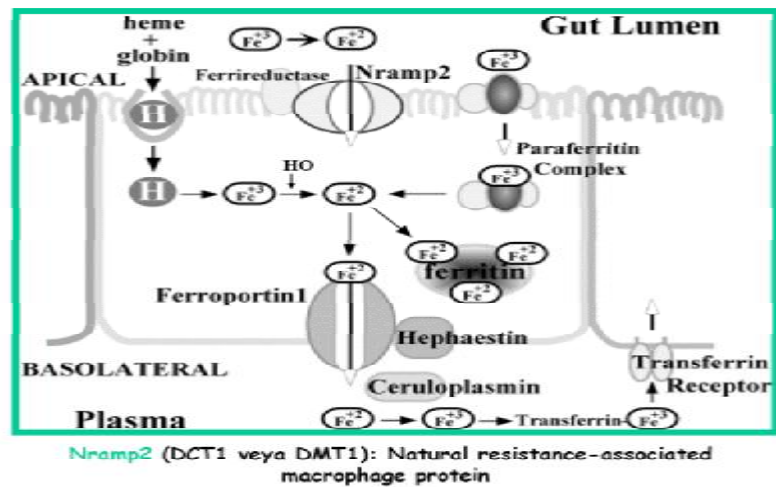
olduğunda, TBD en çok hücrel hasara neden olan intrasellüler labil (kararsız) demir havuzunu (LDH) oluşturur. Retikuloendotelyal makrofajlar büyük miktarda depo proteini üretir ve bu şekilde büyük miktarda TBD'yi nötralize edebilirler. Parankim dokularının güvenli bir şekilde demir depolama kapasitesi sınırlı olup, bu kapasite aşıldığında TBD hücrel hasara neden olur [4].

Hepsidin gibi önemli homeostatik mekanizmalar, duodenumdan aşırı demir emilimini önlemekte ve makrofajlardan demir salınım hızını düzenlemektedir. Diğer ferroproteinlerce kullanılmayan hücrel demir, demir kapasitesi sınırlı olan ferritinin yapısında birikmektedir. Demir emiliminin bozulduğu, ihtiyaçtan daha fazla demirin emildiği ve total vücut demirinin normalin 5-10 katı düzeylerde olduğu Hemokromatozis'li veya demir yüklenmesi olan hastalarda aşırı demir, yaygın organ hasarına yol açmaktadır [5]. Diğer yandan demir miktarının çok olduğu ortamlarda bakteriler daha hızlı çoğaldığından, aşırı demir yüklenmesi olan hastalar patojenlere karşı daha savunmasızdır ve demir alımındaki orta dereceli artış bile enfeksiyona karşı vücut direncini azaltmaktadır [6].

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Demir Emilimi

İnsanlarda demir, yaşlanan eritrositlerden (yaklaşık 20 mg/gün) ve diğer kaynaklardan geri dönüşüm ile sıkı bir şekilde korunmaktadır. Dengeli beslenme ile gıdalarla ortalama olarak günde 20-25 mg demir alınmasına rağmen bunun 1-2 mg'ı absorbe edilir. Yaşam süresini tamamlamış eritrositlerin yıkılması ile her gün yaklaşık 20 mg kadar demir açığa çıkar ve 2,5 mg kadar demir tekrar hemoglobin yapısına girer. Günlük demir kaybı ise, günde sadece 1-2 mg demirin absorbe olması ile karşılanacak kadar azdır. Büyük bir bölümü duodenumda gerçekleşen demir emilimi, ferrik demirin (Fe^{+3}) ferroz demire (Fe^{+2}) indirgenmesi, apikal alım, hücre içi depolama veya hücreler arası etkileşim ve basolateral salınımı gibi çeşitli basamaklardan oluşmaktadır. Diyetle alınan Fe^{+3} , duodenumun fırçamsı kenarında Dcytb (duodenal ferric reductase) ile Fe^{+2} 'ye indirgenmekte ve DMT1 (divalent metal transporter 1) aracılığı ile fırçamsı kenar membranından enterositlere alınmaktadır. Fe^{+2} hücrede ferritin olarak depolanıp, dökülen enterositlerle birlikte atılmakta ya da ferroportin (FPN) aracılığı ile basolateral membrandan plazmaya transfer olmaktadır. Demiri absorbe eden enterositlerin basolateral yüzeyinde yer alan hephaestin, ferroportin yoluyla salınan demiri okside ederek demirin enterositlerden çıkışını kolaylaştırır [7]. Seruloplazmin (plazmada bulunur) makrofajlarda benzer bir rol oynayarak Fe^{2+} (ferröz demirin) Fe^{3+} (ferrik demire) oksidasyonu ile demirin transferine bağlanabilmesini sağlar (Şekil 2.1).



Şekil 2.1: Demir Emilimi

Demirin enterosit, hepatosit ve makrofajlardan çıkışını sağlayan ferroportin aracılı salınımı, demir homeostazında önemli bir basamaktır. Dolaşıma salınan demir transferrine bağlanmakta, demir ihtiyacı olan hücrelerin yüzeyinde bulunan transferrin reseptörü 1 (TfR1) aracılığı ile hücrelere alınmaktadır [8]. TfR1 enterosit kript bazolateral kısımda ve demiri transferinden alan tüm hücrelerde milyonlarcası da kemik iliği eritrosit öncülerinde bulunurken, TfR2 TfR1'in homoloğu olup buna da diferrik transferin bağlanır. TfR1'in tersine TfR2 tüm hücrelerde değil en çok karaciğerde, kan hücrelerinde, duodenal kript hücrelerinde, karaciğere demir depoları sinyallerini iletmede önemlidir. TfR2 gen mutasyonunun herediter hemakromatozise yol açması sonucu hepsidin ile ilişkisi belirlenmiştir. Vücudun demir durumu transferin saturasyonu ile HFE-TfR1 kompleksine yansıtılmakta ve TfR2' ye iletilmektedir. Sonuçta transferin saturasyonu arttığında, potansiyel olarak demiri azaltmaya yönelik sinyallerin karaciğere iletildiğini ve bu sinyaller dolayımı ile hepsidin sentezinin düzenlendiği düşünülmektedir.

Transferrin hedef hücreye ulaştığında hücre yüzeyinde bulunan transferrin reseptörüne bağlanır. Transferrin-transferrin reseptör kompleksi endositozla hücre içine alınır, hücre içinde bir proton pompası ile oluşturulan asit ortamla demir ayrılır. Apotransferrin-transferrin reseptör kompleksi hücre yüzeyine geri itilir, yüzeydeki nötral pH'da transferrin reseptörü ve apotransferrin birbirinden ayrılır. Eritroid seri hücrelerinde serbest demir hemoglobin yapımı için kullanılırken, diğer hücrelerde demir ferritin veya hemosiderin içinde depolanır. Hemosiderin, genellikle apoferritin sentezinin ve demiri tutuşunun maksimal olduğu aşırı demir yüklenmesi hallerinde oluşur ve mikroskobik olarak saptanır. Hemosiderinin ağırlığının %35'ini Fe³⁺ oluşturur; fakat hemosiderinden demirin mobilizasyonu yavaştır.

Demir metabolizması sitoplazmik mRNA düzeyinde demir düzenleyici protein (iron regulatory protein-IRP) ve demir düzenleyici element (iron regulatory element-IRE) mRNA'ları tarafından belirlenir. Hücre içinde demir konsantrasyonu düşerse IRP-1 IRE'ye bağlanır. Bu durum apoferritin mRNA'sının translasyonunu engellerken, transferrin reseptörünün yapımını artırır. Böylece hücre içine girecek demir miktarı arttırılmış olur.

Karaciğer ve retikuloendoteliyal (RE) makrofajlar temel demir depoları olarak işlev görmektedir. RE makrofajlar demiri yüzey TfR aracılığı ile veya yaşlanan

eritrositlerin fagositozu ile elde etmektedir. Hem oksijenaz ile açığa çıkan demir, ferritin olarak depolanmakta ya da gerektiğinde FPN1 (ferroportin) aracılığı ile plazmaya salınmaktadır. Salınan demir, seruloplazmin yoluyla okside olarak ferrik (Fe+3) hale dönüşür ve bu reaksiyon demirin transferrine bağlanmasını sağlar.

2.2. Hepsidin

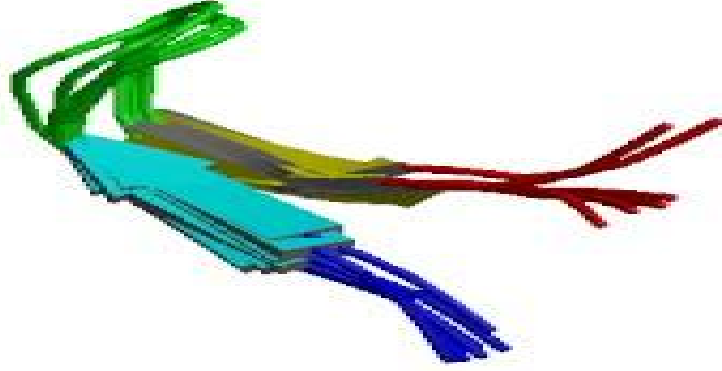
Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda, demir hemostazının düzenlenmesinde rol alan yeni moleküllerin tanımlanması ile demir metabolizması hakkındaki bilgiler güncellenmiştir. Peptid yapısında küçük bir hormon olan hepsidin, demir metabolizmasının düzenlenmesinde ve vücut savunmasında, inflamasyonda aracı olarak görev aldığı keşfi ile birlikte herediter hemokromatozisin (HH) çeşitli tiplerinin patogenezinde ışık tutulmuş ve inflamasyon anemisinin patofizyolojisine bakış değişmiştir [9, 10].

2001 yılında Park ve ark. [11] çeşitli insan vücut sıvılarının antimikrobiyal özelliklerini incelerken, idrarda karaciğer kaynaklı (hep-) ve in vitro antibakteriyel özelliklere (-cidin) sahip yeni bir peptid bulmuş ve onu hepcidin (hepatik bakterisidal protein) olarak adlandırmıştır. 2000'de Krause ve ark. [12] aynı peptidi plazma ultrafiltratından izole etmiş ve LEAP-1 (liver-expressed antimicrobial peptide) olarak adlandırmıştır. Antimikrobiyal peptid olarak keşfedilen hepsidin, sistemik demir homeostazındaki rolü ise diyetle demir yüklenen farelerin karaciğerlerinde hepsidin mRNA'sının aşırı ekspresyonu gözlenmesiyle saptanmıştır [13]. Günümüzde hepsidin, demir metabolizmasının düzenlenmesinde temel hormon olarak kabul edilmektedir.

2.2.1. Hepsidin Yapısı

19q13.1 kromozomunda yer alan insan hepsidin geni (HAMP; OMIM 606464), 84 aminoasidlik (aa) öncü protein pre-prohepsidini kodlar. Pre-prohepsidin, enzimatik ayrılma sonrası 64 aa'lik pro-hepsidin peptidi olarak endoplazmik retikulum lümenine aktarılır. 39 aa'lik öncü peptidin posttranslasyonel olarak ayrılması sonucu, 25 aa'lik matür biyoaktif hepsidin-25 oluşur. Karaciğerde sentezlenen, plazmada bulunan ve idrarla atılan hepsidin 25 aa'lik formun yanı sıra idrarda, muhtemelen 25 aa'lik formun yıkım ürünleri olan 20 ve 22 aa'lik formları

da bulunur [2, 14]. Majör hepsidin formu dört disülfid bağlantısı ve 25 aminoasit kalıntısı ile katyonik bir peptiddir. Predominant kısmı 25 aminoasit içermesine rağmen iki kısa formu 20 ve 22 aminoasitlik formu da bulunmuştur. Diğer antimikrobiyal peptidlere benzer olarak bakteri membranını parçalamaktadır (Şekil 2.2.1).



Şekil 2.2.1: Hepsidininin solüsyon yapısı

2.2.2. Hepsidin'in Biyolojik İşlevleri

Hepsidin'in vücutta en az iki farklı işlevi vardır;

Antimikrobiyal İşlev: İnsan hepsidini in vitro olarak, 10-30 μM 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 [9]. Hepsidin/ferroportin sistemi patojenlerin demiri almalarını engelleyerek konakçı savunmasına katkı sağlamaktadır. Sow ve arkadaşları tarafından hepsidin'in Mikobakterium Tüberkülozis'te yapısal hasar oluşturarak çoğalmasını engellediği gösterilmiştir. Bu in vitro çalışma hepsidin'in mikroorganizmaların kullanacağı demiri azaltarak antimikrobiyal özelliği yanında, direkt antimikrobiyal özelliğini de kanıtlamaktadır [15].

Demir Düzenleyici İşlev: Diyetsetel demir ile hepsidin sentezinin arttığının gözlenmesi ile hepsidin'in demir metabolizmasında yer aldığı düşünülmüş ve transgenik fare modellerinde hepsidin eksikliği ve fazlalığının etkileri incelenerek hepsidin'in spesifik rolü araştırılmaya başlanmıştır. Yapılan çalışmaların sonuçları,

fare hepsidinin, barsakta demir emiliminin, plasentadan demir taşınmasının ve makrofajlardan demir salınımının negatif düzenleyicisi olduğunu göstermiştir.

2.2.3. Hepsidin Sentezinin Düzenlenmesi

Plazma demir düzeylerinin ve dokulardaki demir depolarının artışı ile sentezi uyarılan hepsidin, makrofajlardan ve duodenal enterositlerden plazmaya demir salınımını azaltmaktadır. Bu homeostatik denge, plazma demirinin sabit bir aralıkta tutulmasını sağlarken, aşırı demir emilimini ve dokularda demir birikimini önlemektedir [16].

Diyetle alınan veya hemoglobinden açığa çıkan demirin büyük bir kısmı, kan kaybı veya hipoksi gibi eritropoetik uyarıcıların ardından üretimi artan eritrositlere yönelir [9]. Bu uyarılar hepsidin üretimini azaltıp, hepsidinin demir emilimi ve makrofajlardan demir salınımı üzerine olan inhibitör etkisini ortadan kaldırarak, daha fazla demirin eritropoez için kullanılmasını sağlar. Ancak anemi ve hipoksinin hepsidin üretimini baskılamada rol aldığı moleküler mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir.

Aneminin, hepsidini iki yolla regüle edebileceği düşünülmektedir. Bunlar, hepsidin gen ekspresyonunu düzenleyen muhtemel bir hipoksi ile indüklenen faktörün (HIF) yer aldığı doku hipoksisi ve eritropoezi uyararak hepsidin sentezini baskılayan transferin saturasyonunun azalmasıdır. Hangi yolla olursa olsun, hepsidin sentezi talasemiler gibi inefektif eritropoezle giden hastalıklarda eşlik eden demir yüklenmesine rağmen azalmış olarak bulunur. Bu durum hepsidin üretiminin anemi ile baskılanmasının, hepsidin sentezinin demir yüklenmesi ile uyarılmasına kıyasla daha güçlü bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir [6]. Hepsidinin kompensatuar cevabın bir parçası olarak demir eksikliğinde ekspresyonun azaldığı, demir yükünün arttığı durumlarda ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir. Ayrıca intestinal demir absorpsiyonu ve makrofajlardan demir salınımı üzerinde negatif regülatör etkisiyle kronik hastalık anemisi patogenezinde direk etkili mediyatördür. Hepsidin ayrıca intrinsik antimikrobiyal aktivitelidir ve inflamasyon hepsidin ekspresyonunu stimüle eder.

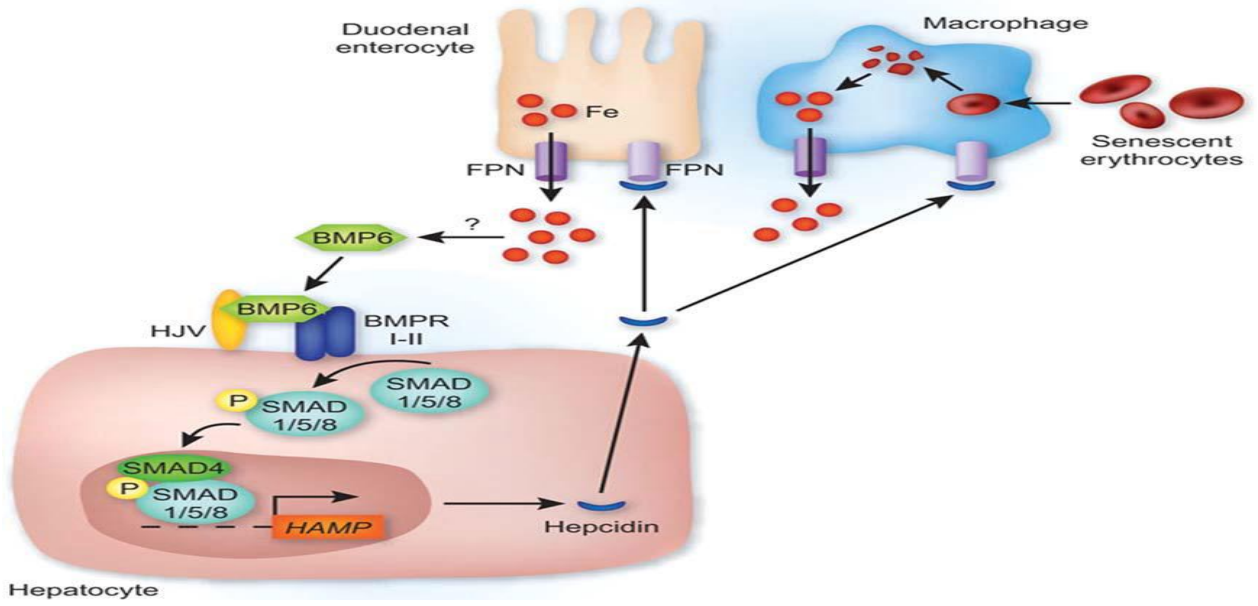
Hepsidin, vücut savunması, inflamasyon ve demir metabolizması arasında önemli bir bağ oluşturur. İnfeksiyon ve inflamasyonla hepsidin sentezinin belirgin

olarak arttığı ve IL-6'nın bu artıştan sorumlu uyarıcı olduğu çeşitli hayvan ve insan çalışmalarında gösterilmiştir.

İnflamasyon olduğunda IL-6 salınır ve reseptörüne bağlanır. IL-6 ligand-reseptör ilişkisi Janus kinazların (JAK'lar) aktivasyonuna yol açar. Bunlar da sinyal ileten ve transkripsiyon aktivatörleri proteinlerinin (STAT) fosforilasyonuna sebep olurlar. Özellikle fosforile olan STAT3, hücre çekirdeğine giderek hedef genlerinin transkripsiyonuna neden olur. IL-6 hepsidinin geni olan HAMP transkripsiyonunu STAT3 aktivasyonu ile yapmaktadır. STAT3, HAMP promotorundaki regülatuar elemente bağlanması ile hepsidin ekspresyonu indüklenmektedir [17].

Hepsidin regülasyonunun ikinci şekli kemik morfojenetik protein(BMP) BMP /Smad yolu ile dir. BMP'ler TGF-b ailesinden sitokinler olup bir çeşit otokrin hormonlardır. Hücre proliferasyonunda, diferasyonunda, apoptosiste, dokulara migrasyonda anahtar rol oynarlar. BMP'ler özellikle kardiyak, nöral ve kıkırdak diferasyonunda esansiyal rol alırlar.

BMP'ler, BMP'nin tip I ve tip II hücre serin/treonin kinaz reseptörlerine bağlanarak RSad denilen intrasellüler proteinin fosforilasyonunu sağlar. Hemojuvelin BMP'nin koreseptörü olarak BMP sinyalini artırır, o da hepsidin ekspresyonunu artırır. HJV mutasyonunda BMP sinyali bozulur ve hepsidin artmadığı için çok erken yaşta başlayan demir birikimi ortaya çıkar. Babitt ve ark. önce hemojuvelinin Bone morfojenetik protein (BMP) sinyalinin koreseptörü olduğunu, BMP sinyalinin karaciğerde in vitro olarak hepsidin ekspresyonunu düzenlediğini, sonra da in vivo olarak BMP-2 verilmesinin hepsidin ekspresyonunu artırdığını ve serum demir düzeyini düşürdüğünü göstermişlerdir [18].



Şekil 2.2.3: Hepsidin tarafından regüle edilen demir hemostazında duodenal enterosit, hepatosit, makrofaj arasındaki ilişki özetlenmiştir. FPN:Ferroportin BMP: Bone morphogenetic protein

IL-6 infüzyonu yapılan gönüllü kişilerde saatler içerisinde idrarda hepsidin atılımının 7,5 kat arttığı, bu artışa serum demirinde ve transferrin saturasyonunda %30 azalmanın eşlik ettiği gösterilmiştir. Benzer şekilde subkutan turpentin (terebentin, nefit yağı) enjeksiyonu ile oluşturulan inflamasyon sırasında, normal farelerin serum demirinde belirgin azalma görülürken, hepsidinden ve IL-6'dan yoksun farelerde bu cevabın kaybolduğu gözlenmiştir [1, 6].

Nemeth ve ark. [19]'nın 2003 yılında yaptığı bir çalışmada transfüzyonla indüklenmiş demir yüklenmesi, infeksiyonu ve inflamatuvar hastalığı olan hastalarda idrarda hepsidin atılımının belirgin olarak arttığı, in vitro IL-6 ile hepsidin mRNA'sının belirgin olarak indüklendiği gözlenmiştir.

Kemna ve ark. [20] 2005 yılında 10 sağlıklı gönüllüye lipopolisakkarid enjeksiyonu yaparak oluşturdukları in vivo insan endotoksemi modelinde, enjeksiyon sonrası 3 saatte IL-6 düzeylerinin, 6 saatte idrar hepsidin düzeylerinin arttığını bunu takiben serum demir düzeylerinin belirgin olarak azaldığını gözlemlemiştir. Tüm bu çalışmalar inflamasyon sonucu artan hepsidin ekspresyonunun demir açlığı yaparak eritropoezi baskılamasının kronik inflamasyona bağlı anemi patogenezinde önemli bir rolü olduğunu ortaya koymaktadır

Inflamasyon sırasında artan hepsidin düzeyleri, makrofajlar, hepatositler ve duodenal enterositlerde ferroportinin hücre içine alınımını ve yıkımını uyarmakta, böylece demirin bu hücrelerde tutulmasına ve plazmaya demir akışının önlenmesine yol açmaktadır. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar, IL-6-hepsidin aksının hipoferrremik cevapta kritik bir öneme sahip olduğunu ve hepsidinin inflamasyondaki hipoferrremide rol alan temel aracı olduğunu göstermektedir.

Inflamasyon ve IL-6, insan hepsidin üretimi için güçlü uyarı teşkil ettiğinden ve insanlarda inflamasyon sırasında hepsidin salınımı büyük ölçüde arttığından, IL-6 tarafından indüklenen hepsidin, kronik hastalık anemisinde demir kısıtlanmasından ve yetersiz eritrosit oluşumundan sorumlu aracı olabilir. Bu nedenle, geliştirilen hepsidin antagonistleri ileride terapötik uygulamalarda kullanılabilir [21].

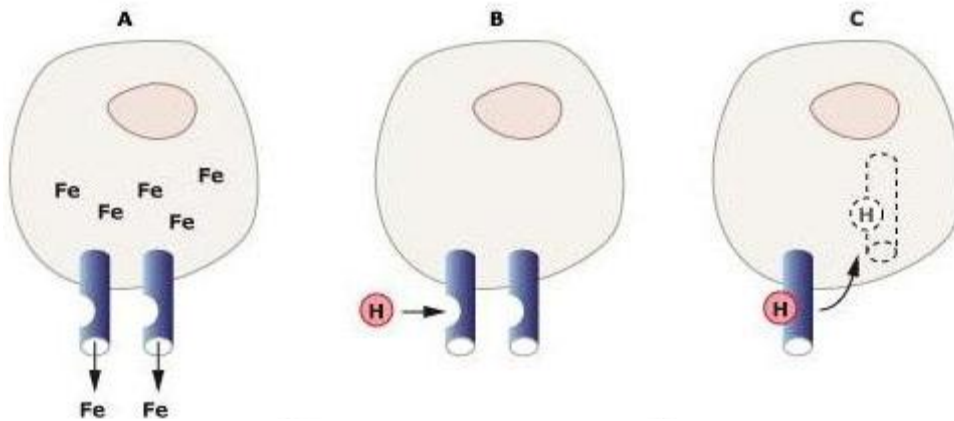
2.2.4. Hepsidinin Etki Mekanizmaları

Hepsidinin etki mekanizmalarını tanımlayabilmek için, ilk kez 2000 yılında tanımlanan bir protein olan ferroportinin fonksiyonunu anlamak gerekir. Ferroportin, plazmaya demir salımında rol alan temel hücreler olan enterositler, makrofajlar, hepatositler, plasental trofoblastların yüzeyinde bulunan ve demirin bu hücrelerden atılımını sağlayan transmembran yerleşimli bir proteindir. Demir dengesinin merkezinde kemik iliği, hepatic Kupffer hücreleri ve dalakta bulunan makrofajlar tarafından yaşlanan eritrositlerin yıkımı yer almaktadır. Bu makrofajlardan demirin çıkışı ferroportin tarafından kontrol edilir. Hepatositler vücudun demir durumuna göre hepsidinin salınımını arttırmakta ya da azaltmakta olduğundan, ferroportinin etkisinde merkezi bir işleve sahiptir.

Hepsidinin reseptörü bazolateral transmembran proteini olan ferroportindir. Ferroportin demirin hücreden plazmaya atılmasını ve bir ferriksidaz olan hefastinin yardımı ile plazma transferine yüklenerek taşınmasını sağlar. Hepsidinin ferroportine bağlanması, onun internalizasyonuna ve lizozomal degradasyonuna sonuç olarak da ferroportinin membrandan kaybına yol açmaktadır. Ferroportinin hücre yüzeyinden kaybı demirin plazmaya geçişini engeller. Bunun sonucunda intestinal demir Emilimi azalır, makrofajlarda ve enterositlerde demir birikimi artar, plazmaya daha az demir geçer, transferrin saturasyonunda azalma olur ve eritropoeze giden demir miktarı azalır [22]. Nemeth ve arkadaşları hepsidinin ferroportine direkt olarak bağlandığına,

bu bağlanmanın ferroportinin degradasyonuna yol açtığına ve ferroportinin hücre membranından kaybinın hücresel demir atılımının azaldığına dair bir rapor yayınlamıştır [23].

Demir depoları yeterli veya yüksek olduğunda, karaciğer hepsidin üretimini artırır. Hepsidin, ince bağırsakta ferroportinin yapısını bozarak, demiri enterositlerden plazmaya taşıyan tek yolu bloke eder (Şekil 2.2.4). Demir depoları düşük olduğunda ise, hepsidin üretimi azalır, ferroportin molekülleri enterositlerin bazolateral membranlarında yer alarak, demiri enterosit sitoplazmasından plazma transferrine aktarır. Benzer şekilde hepsidin-ferroportin etkileşimi makrofajlardaki demir döngüsünün nasıl düzenlendiğini açıklık getirir ve hepsidin üretiminin yüksek olduğu inflamatuvar durumlarda demir-yüklü makrofajların varlığına işaret eder.



Şekil 2.2.4: A, B, C Ferroportinin (mavi) demir export fonksiyonu, demir regülatör protein olan Hepsidin (kırmızı) ferroportine bağlanmasıyla engellenir.

2.3. Demir Metabolizması Ve Hedefler Hemokromatozis

Vücutta aşırı miktarlarda demir birikimi özellikle karaciğer, pankreas ve diğer endokrin organlar ve kalp başta olmak üzere çeşitli organ ve sistemlerde hasara yol açar. Hemokromatozis terimi, bütün demir birikim hastalıklarını kapsamaktadır. Demir birikim hastalıklarından bazısının altında hastalığı oluşturacak herhangi ikincil bir bozukluk bulunmamaktadır ve bunlar primer hemokromatozis olarak isimlendirilir. Diğerleri başka bir hastalığa, özellikle inefektif eritropoez ile ilişkili hastalıklara bağlı gelişir ki bunlar sekonder olarak tanımlanır. Geleneksel olarak genetik aşırı demir

birikimi herediter veya idiopatik hemokromatozis olarak isimlendirilir. Feder ve arkadaşları tarafından 1996 yılında herediter hemokromatozisten (HH) sorumlu olduğu tespit edilen HFE'nin iki major mutasyonu olan C282Y ve H63D'nin 6. kromozomda tespiti HH'in major formlarının belirlenmesinde dönüm noktası olmuştur [24].

Yakın zamanda hemojuvelin, ferroportin, hepsidin, divalent metal transporter-1 ve transferin reseptör-2 proteinlerini kodlayan genlerdeki bozukluklarda demir birikimi ile sonuçlandığı gösterilmiş olup bunlar hemokromatozisin non-HFE formları olarak sınıflandırılmaktadırlar.

HH demir homeostazisi ile ilgili çeşitli genlerde mutasyonlardan kaynaklanan, otozomal resesif geçişli bir demir metabolizma hastalığıdır. Dokulara aşırı demir birikimi sonucunda karaciğer sirozu, hepatosellüler karsinom, diyabetes mellitus ve diğer endokrinopatiler, artropati, kardiyomiyopati görülebilmektedir. Hastalığın erken dönemde tespit edilmesi ile zamanında uygulanan flebotomi ile bu komplikasyonlar önlenilmekte ve normal sağkalım sürelerine ulaşılabilmektedir [25].

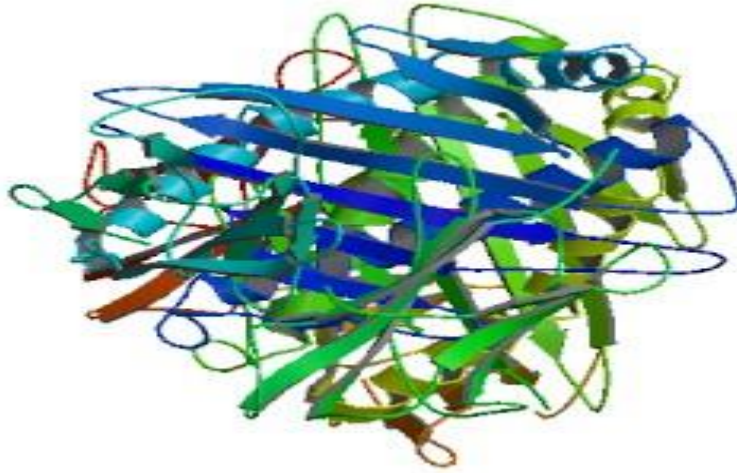
Serum transferrin saturasyonu (kadınlarda açlık değeri > %50 ve erkeklerde > %60) ile birlikte menopoza öncesi kadınlarda serum ferritininin > 200 mcg/L ve erkeklerde post-menopozal kadınlarda > 300 mcg/L olması, demir fazlalığı için duyarlı bir göstergedir [26, 27]. HH'de serum ferritininin > 1000 mcg/L olması, hepatik fibroz (siroz) derecesini doğru bir şekilde önceden tahmin eder [28].

Tablo 2.3.1: Genetik Geçişli Demir Birikim Hastalıklarının Sınıflaması

Tanım	Tip	Kromozom	Mutant Protein	Geçiş Şekli
Hemokromatozis	1	6	HFE	Otozomal resesif
Juvenil Hemokromatozis	2A	1	Hemojuvelin (HJV)	Otozomal resesif
Juvenil Hemokromatozis	2B	19	Hepsidin (HAMP)	Otozomal resesif
Hemokromatozis	3	7	Transferin Reseptör 2	Otozomal resesif
Ferroportin Hastalığı (Hemokromatozis)	4	2	Ferroportin (SLC40A1)	Otozomal dominant
Aseruloplazminemi	-	3	Seruloplazmin	Otozomal resesif

En ağır jüvenil hemokromatozis tipleri hepsidin geninde (HAMP) mutasyonla olan ve fenotipik olarak ondan ayırt edilemeyen hemojuvelin mutasyonu (HJV, HFE2) sonucu olmaktadır. Bunlara jüvenil hemokromatozisler denilir. Erişkin tipi hemokromatozise yol açanlar ise HFE1, ve TFR2 mutasyonlarıdır.

Birçok herediter hemokromatozis tipinde hepsidin üretiminde yetersizlik veya reseptöre bağlanmada yetersizlik dikkati çekmektedir. Bu da hepsidinin herediter demir birikim hastalıklarında ve demir regülasyonunda ortak nokta olduğunu vurgulamaktadır. HFE geni 343 aminoasitlik bir protein olan HFE proteini kodlar. Bu yapısıyla HFE proteini major histokompatibilite kompleksi sınıf 1 (MHC-I) proteinleri ile benzerlik göstermektedir ancak antijen sunma özelliği yoktur. Bununla beraber MHC-I molekülleri gibi beta 2-mikroglobulin ile fiziksel olarak ilişkilidir.



Şekil 2.3: Hemokromatozis proteini HFE'nin kristal yapısı ve transferrin reseptörü ile etkileşiminin karakterize edilmesi.

Hemokromatozis geni (HFE) 6. kromozomda, HLA-A lokusunda bulunur. Herediter hemokromatozis genellikle HFE geninde C282Y ve/veya H63D mutasyonu ile karakterizedir. Toplumda HH'li hastalarda %69-100 arasında C282Y homozigotluğu saptanır [29].

HFE proteini hücre içi ve hücre dışı komponenti olan bir transmembran proteinidir. HFE proteini beta 2-mikroglobulin bağlanması için bir alana sahiptir. HFE ve beta 2-mikroglobulin normal demir metabolizmasının düzenlenmesi için gereklidir. HFE geninin görevi plazma membranında bulunan transferrin reseptörü (Tfr) ile etkileşerek, Tfr'nin transferine olan afinitesini 5-10 kat azaltmaktır. HFE mutant gen

(C282Y) beta-2 mikroglobulinle bağlanamaz. HFE beta-2 mikroglobulin kompleksi hücre membranında Tfr ile etkileşemez ve transferine olan ilgisini azaltamaz. Bunun sonucunda duodenumdan ve üst ince barsaktan fazla miktarda demir emilmesine neden olur [30].

Aşırı demir yükü olan nispeten az sayıda hastada C282Y dışındaki HFE mutasyonları tanımlanmıştır. Bunların arasında en yaygını H63D'dir. HFE geninin yok edildiği farelerle veya C282Y homozigot farelerle karşılaştırıldığında, H63D için homozigot farelerin demir statüsü parametrelerinde hafif artışlar bulunmaktadır [31]. Hemakromatozis sonucu karaciğerde biriken demirin doku hasarı ve sirozla ilişkili olduğu ve hepatoselüler kansere (HCC) yol açtığı bilinmektedir [30].

2.4. Karaciğer Ve Demir Metabolizması

Karaciğer; inflamasyon, artmış vücut demiri, hipoksi ve anemi gibi birçok fizyolojik duruma yanıt olarak hepsidin salgısını düzenler. Bu durumlara yanıt olarak, şu ana kadar netlikle tanımlanamamış birtakım sinyaller; transferrin reseptörü 2, IL-6 reseptörü, HFE ve hemojuvelin aracılığıyla hepsidin salgılamak için hepatositleri etkileyen reseptör mekanizmalarına iletilir. Bu değişik sinyaller ve reseptör mekanizmaları arasında etkileşim olabilir, fakat bunların hepsidini ayarlamak için nasıl işlendiği halen bilinmemektedir. Ancak, değişik hemokromatozis türlerinde transferrin reseptörü 2, IL-6 reseptörü, HFE ve hemojuvelinin fonksiyon bozukluğunun hepsidin üretimini azalttığı bilinmektedir. Hepsidin demir hemostazında rol oynayan antimikrobiyal bir peptiddir. Karaciğerde üretilen bu peptid inflamasyon ve demir depoları arttığında sirkülasyona aktarılır [13, 32].

Hepsidin demir absorpsiyonunu ve hücrelerden demir salınımının negatif regülatörü gibi davranır. İnsanlardaki hepsidin mutasyonu ve fare deneylerinde hepsidin geninin yok edilmesi ağır bir hemokromatozis tablosuna yol açar [33, 34]. İnflamasyon durumlarında hepsidin regülasyonu karaciğer demir düzeyinden bağımsız olarak IL-6, IL-1 β ile sağlanmaktadır [35].

Hepatosit demir uptake için birçok yolak kullanır. Transferine bağlı demir transferin reseptörü (TfR) aracılığıyla hücre içine alınır. İki tane TfR molekülü tanımlanmış olup TfR-1 serum transferine yüksek affinite gösterirken TfR-2 fonksiyonu yeterince açık olmasa da hemokromatozis ile ilişkili bulunmuştur [36, 37].

TfR1 hücrel demir miktarı ve post-transkripsiyonal oksidatif stres tarafından regüle edilmektedir. Hepatositlerde normal durumlarda TfR2 predominant eksprese edilir [38].

TfR-2 demir regülasyonunda rol alan bir molekül olup insanlardaki mutasyonu Tip-3 hemokromatozise ve farelerde ise aşırı demir birikimi ile sonuçlanmaktadır. Wallace ve arkadaşları homozigot TfR2 yok edilmiş farelerde TfR-2 proteinin eksprese edilmediğini TfR-2 ilişkili hemokromatoziste olduğu gibi tipik olarak demir birikiminin arttığını gözlemlemişlerdir. Ayrıca demir birikimine yanıt olarak hepsidin mRNA ekspresyonunun ya da hepsidin proteininin artmadığı saptanmıştır. Sonuç olarak TfR2' nin hepsidin tarafından regüle edildiğini ve regülasyon yolağında HFE ve hemojuvenilinde rol aldığını savunmuşlardır [39, 40].

Fazla demir fenton reaksiyonu yoluyla serbest radikallerin üretimini indüklemekte özellikle hidroksi radikalleri yüksek reaktivite özelliğine sahip olup lipid, protein ve DNA hasarına yol açmaktadır. Mitokondrial membranlar oksidatif strese karşı duyarlıdır ve mitokondrial fonksiyon bozukluğu hepatositlere zarar vermektedir. Karaciğer stellat hücreleri de ayrıca oksidatif stresten etkilenmektedir. Mevcut hasar stellat hücrelerin kollagen üreten hücrelere transforme olmasına ve fibrozis gelişimine katkıda bulunabilir. Ayrıca demir fazlalığı ile oluşan reaktif oksijen radikalleri normal karaciğer fonksiyonunu bozan inflamatuvar bir ortam üretebilir.

Takeo ve arkadaşları yapmış olduğu bir çalışmada; 11 kronik HBV; 43 kronik Hepatit C'li olgunun karaciğer biyopsisinde TfR-1, TfR-2 ve ferroportin mRNA düzeyini incelemişler. Çalışmanın sonunda serum ferritin konsantrasyonunu anlamlı olarak HCV'li olgularda HBV'li olgulara nazaran daha yüksek saptamışlar. Ayrıca TfR-2 mRNA ekspresyonunun TfR-1'e nazaran 10-26 kat daha fazla olduğunu saptamışlar. TfR-2 ve ferroportinin HCV'li olgularda anlamlı düzeyde fazla olduğunu ve karaciğer demir düzeyiyle korele olduğunu göstermişlerdir [41]. Diğer yandan Saito H. ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada kronik HCV'li hastalarda DMT-1 ekspresyonunun regülasyonu demir bağımlı iken TfR1 ekspresyonu regülasyonunun demir bağımsız olduğunu savunmuşlardır [42].

Kronik HCV olgularında IL-1 β , IL-6 ve TNF α gibi inflamatuvar sitokinler, normal popülasyona nazaran daha yüksek saptanmıştır. Buna ek olarak TfR-1 IL-1 β , IL-6 ve TNF α , hepsidin tarafından artırılır. Bu bulgular kronik HCV olgularında saptanan

artmış TfR-1 ekspresyonunun artmış demir birikimi ile ilişkili olabileceğini ortaya koymaktadır. Demir metabolizmasında birçok faktörün rol aldığı bilinmektedir. Alkol ve Hepatit C enfeksiyonunun demir birikimini artırması bunun örneklerindedir. Bilindiği gibi demir hepatosit ve kupfer hücrelerinde depo edilmekte ve fenton reaksiyonu sonucu ortaya çıkan reaktif oksijen türlerinin transferine bağlı demirin hücre alımını kolaylaştırdığı bilinmektedir [43].

Demir fazlalığının karaciğerde birikmesinin ana klinik belirtileri, fibroz / siroz ve hepatosellüler karsinomadır. Düzenli şekilde transfüzyon alan hastalarda ilk transfüzyondan 2 yıl sonra kollajen formasyonu ve portal fibroz oluşabilirse de, demir fazlalığı giderilmezse yaşamın ilk on yılında karaciğer sirozu gelişebilir [44].

Çalışmalar, karaciğer fibrozunun gelişimi ile yüksek karaciğer demiri [45] ve serum ferritin düzeyleri arasında bir korelasyon göstermiştir [46]. Karaciğer demirini değerlendiren bir çalışma, başlangıç karaciğer demir seviyeleri yüksek olan hastalar ile hepatit C pozitif olan hastalarda fibroz skorunu daha yüksek bulmuştur.

Hepatik demir yükü, invaziv olmayan bir şekilde serum ferritin seviyelerinin düzenli bir şekilde izlenmesiyle değerlendirilebilir. Serum ferritin değeri >1000 mcg/L olanlarda siroz, değerleri bundan düşük olanlara kıyasla daha yaygındır [47].

2.5. Kronik Viral Hepatitler

Çeşitli mikroorganizmaların viral hepatite yol açtığı bilinmekte olup 2000'li yıllara gelindiğinde başlıca hedefleri karaciğer olan ve "hepatotrop" virüsler olarak tanımlanan yedi etken gerçek "viral hepatit" virüsleri olarak ayrı bir grupta ele alınmıştır. Sırasıyla Hepatit A virüsü (HAV), Hepatit B virüsü (HBV), Hepatit C virüsü (HCV), Hepatit D virüsü (HDV), Hepatit E virüsü (HEV), Hepatit G virüsü (HGV) ve kısaca TTV olarak tanımlanan "Transfusion Transmitted Virus" dur. Bu etkenlerin ana hedefi KC olsa da; bulaş yolları, inkübasyon süreleri, replikasyon şemaları ya da vücutta kalış süreleri gibi bir dizi özellikleri açısından birbirlerinden farklılıklar gösterdikleri bilinmektedir.

Hepadnaviridae ailesinin Ortohepadnavirus genusunda yer alan HBV, 42 nm çapında, sferik bir biçimde ve zarflı bir virüstür. Hepatositlerde replike olur ve karaciğer fonksiyon bozukluğuna yol açar. Kısmen çift sarmallı olan 3,2 kb uzunluğunda, sirküler DNA genomu içerir.

2.5.1. Hepatit B

HBV'nin plazma yarı ömrü 24 saat olup günlük virion üretimi 10^{11} kadardır. Prodüktif infeksiyon kısıtlı sayıda hücrede gerçekleşir, HBV'nin tek kanıtlanmış infeksiyon bölgesi hepatositlerdir. Safra kanalı epitelyum hücreleri, böbrek ve lenfoid dokuda replikasyon bölgesi olabilir fakat hepatosit dışındaki replikasyon bölgelerinin viral patogeneze rolü olmadığı düşünülmektedir. Lenfositlerdeki replikasyon viral persistans için ikincil bir rezervuar olabilir [48]. HBV temel olarak parenteral yolla, infekte kan ve sıvılarla perkutan ve mukozal temas, infekte kişiyle cinsel ilişki ve perinatal yolla bulaşmaktadır.

Hepatit B virüsü (HBV) kronik hepatit, siroz ve hepatoselüler karsinomun en önemli nedeni olup ciddi bir sağlık sorunudur. Tüm dünyada yaklaşık 2 milyara yakın insanın hepatit B virüsü ile karşılaştığı serolojik bulgulardan anlaşılmaktadır. Kronik HBV taşıyıcılarının sayısı günümüzde 350 milyonu geçmiş olup her yıl tahminen 500.000 ile 1,2 milyon arasında insan HBV infeksiyonundan ölmektedir [49, 50].

Replikatif HBV infeksiyonu uzun yıllar yüksek titrelerde HBV DNA düzeyi (HBeAg pozitif) ve normal veya normale yakın ALT düzeyi ile karakterli bir evreden (immuntolerans dönemi) sonra, ALT yüksekliği (biyopside nekroinflamatuvar aktivite), HBV DNA titresinde azalma ve HBeAg / anti-HBe serokonversiyonu ile karakterli ikinci evreye girer (immunklirens dönemi). Bu ikinci evre sonunda iyileşme (HBeAg negatif, anti-HBe pozitif ve HBV DNA negatif) olur veya HBeAg negatif, anti-HBe pozitif ve HBV DNA pozitifliği ile tanımlanan mutant ("precore" veya "core promoter" mutasyonları) HBV infeksiyonu gelişir. Bu mutant HBV infeksiyonu, HBV genotipi (genotip D) ile ilgilidir ve ülkemizde siktir. Son dönem ise HBV DNA negatifleşmesinden sonraki evredir. Oluşmuş olan karaciğer hasarı klinik durumu ve prognozu belirler [51, 52].

a) Akut Enfeksiyon: İnkübasyon dönemi alınan virüs miktarı ve kişinin immunité durumuna bağılı olarak 45-180 gün olarak belirlenmiştir. Akut infeksiyon, asemptomatik infeksiyon, kolestatik hepatit nadiren de fulminan hepatit olarak farklı klinik tablolarda görülebilir. Fulminan seyreden infeksiyonda hepatik ensefalopati, hepatorenal sendrom ve kanama diyatezi ile akut karaciğer yetmezliği gelişebilir.

Fulminan hepatitte mortalite riski %75'in üzerindedir ve yaşla birlikte artar. Akut HBV enfeksiyonu geçirenlerin %10-20'sinde antijen antikor komplekslerine bağlı olarak ekstrahepatik belirtiler görülür (serum hastalığı benzeri sendrom, poliarteritis nodoza (PAN), membranoproliferatif glomerulonefrit (MPGN) ve çocuklarda papüler akrodermatitistir).

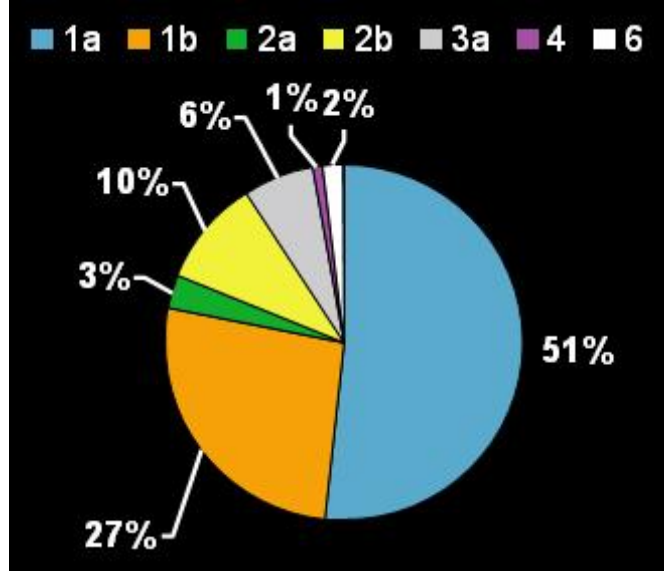
b) Kronik Enfeksiyon: Akut enfeksiyondan 6 ay sonra HBsAg / anti-HBs serokonversiyonu olmamış ise kronik HBV enfeksiyonu söz konusudur. Kronik HBV enfeksiyonu ya inaktif taşıyıcılık (%50) ya da kronik hepatit (%50) şeklinde seyrederek. Kronik hepatitlilerin %60'ında zamanla siroz gelişir (10-50 yıl arası değişen bir süreç). HCC ise sıklıkla (>%80) siroz zemininde, seyrek olarak normal karaciğere sahip inaktif taşıyıcıda ortaya çıkar. HBV enfeksiyonunun edinildiği yaş, bulaşım şekli, erkek cinsiyet, viral genotip ve immunosüpresif durumlar hastalığın seyrini etkiler.

2.5.2. Hepatit C

Hepatit C virüsü (HCV) , zarflı ve yaklaşık 50 nm büyüklüğünde bir RNA virüsüdür. Flaviviridae ailesinde Hepacivirus adıyla ayrı bir cins olarak sınıflandırılmıştır. Dünya nüfusunun %3 hepatit C virüsü (HCV) ile enfekte olup toplam 170-200 milyon insan kronik HCV taşıyıcısı olarak rapor edilmektedir [53]. Ülkelere göre değişen seropozitiflik %0,1 - 5 arasındadır. Gelişmiş ülkelerde akut viral hepatitlerin %20, kronik viral hepatitlerin %70, sirozla sonlanan viral hepatitlerin %40, hepatosellüler kanserlerin % 60 ve karaciğer transplantasyonu yapılan olguların %30'dan HCV sorumludur [54].

Değişik ülkelerden elde edilen HCV suşları arasında genomun değişik bölgelerinde nükleotid ve aminoasit sekansları bakımından önemli farklılıklar saptanmıştır. Bunun nedeni HCV RNA polimerazının 3' 5' ekzonükleaz düzeltici okuma etkinliğinden yoksun olmasıdır. Bu yüzden HCV sürekli mutasyona uğrar ve asla özde RNA genomlarının homojen bir topluluğu olarak in vivo bulunmaz. Altı genotip ve doksandandan fazla subtip tanımlanmıştır. Genomun kısalığı, mutasyon oranının fazlalığı sonucunda birbirinden bir veya birden fazla nükleotid farkı olan virüsler ortaya çıkar. Genomik sekanslarda % 35'lere, subtiplerde ise % 20'lere varan farklar vardır [55]. Bu farklılıkların hem tedavi direncinde hem de aşı çalışmalarındaki

başarısızlıkta rolü olduğu düşünülmektedir [56]. HCV'nin 1-6 şeklinde numaralandırılan 6 genotipi ve çok sayıda subtipi tanımlanmıştır [57].



Şekil 2.5.2.1: HCV'nin Genotip Sıklığı

Genotip 1 (subtip 1a ve 1b) tüm dünyada en sık görülen tip olup genotip 1b Avrupa'da, 1a Amerika'da sık saptanmaktadır. Genotip 3a Avrupa'da intravenöz ilaç kullananlarda sıklıkla saptanmaktadır [58].

Türkiye'deki HCV suşlarının çoğunluğunu subtip 1b (% 66, 7-100) oluşturmaktadır. Bunu subtip 1a (% 3,45 - 33,7) ve 4 (% 3,7) izlemektedir [59]. HCV genotip 1 enfeksiyonu IFN tedavisine olumsuz yanıtta sorumlu tutulmaktadır [60]. Genotip 1b enfeksiyonu karaciğer kanseri gelişmesinde büyük ölçüde bağımsız bir risk faktörüdür [60, 61]. Genotip 1b'li hastalarda hastalığın süresi ile siroz gelişimi arasında bir ilişki bulunmuştur.

HCV'nin başlıca bulaşma yolu parenteral olup, bu yol vakaların %50'den fazlasında sorumludur. Non parenteral yolla bulaşmalar tanımlanmasına rağmen, %30 vakada bulaşma yolu açıklanamamıştır. Diğer yandan HCV enfeksiyonunun patogenezi henüz ayrıntılarıyla açıklığa kavuşmamıştır. Enfeksiyon sırasında oluşan karaciğer hücre hasarının hem doğrudan HCV'ye karşı hem de enfeksiyona gelişen bağışık yanıt elemanlarına karşı olması olasıdır. HCV enfeksiyonu geçirmiş olguların

başka HCV suşlarıyla enfekte olabilecekleri gösterilmiştir. İnsanlarda HCV enfeksiyonlarının yüksek oranda kronikleşiyor olması da bağışık yanıtın yetersiz kaldığının bir başka kanıtıdır.

HCV ile enfekte hastaların %20-30'unda başlıca IgM sınıfından olan romatoid faktör (RF) monoklonal yapıda saptanmış olup, soğukta presipite olan immün kompleksler ile miks kriyoglobulinemi gelişimine neden olurlar. Kronik hepatit-C (KHC) virüs enfeksiyonunda en çok görülen ekstrahepatik bulgular; esansiyel mikst kriyoglobulinemi (EMK), membranöz glomerulonefrit (MNG) ve membranoproliferatif glomerulonefrit (MPGN), poliarteritis nodosa (PAN), porfiriya kutanea tarda (PKT), Sjögren sendromu (SS), liken planus (LP), idiopatik pulmoner fibrozis (PF), Mooren's korneal ülserasyon (MKÜ), otoimmün tiroidit (OT), tip-2 diabetes mellitus (DM), Behçet Hastalığı ve çeşitli otoantikör pozitifliğidir. Diğer yandan Non-Hodgkin Lenfoma ile HCV arasında ilişki bulunmaktadır [62].

Bu ekstrahepatik bulguların büyük çoğunluğuna HCV'nin ya otoimmünitenin bir mediatörü olarak ya da immün kompleks formasyonu ile neden olduğu bildirilmiştir [63]. Diğer yandan Pellicano ve ark. ise HCV'nin CD-8 reseptör taşıyan hücreleri enfekte ettiğini ve hepatositlere, kemik iliğindeki staminal hücrelere ve dolaşımdaki lenfomonositlere belirgin tropizm gösterdiğini yayınlamışlardır [64].

Kronik C hepatitinde karaciğerin histomorfolojisi, öteki kronik hepatitlere benzer şekilde geniş bir yelpaze oluşturmaktadır. Diffuz portal inflamasyon, güve yeniği nekrozu, spotly nekroz ve apoptoz ile nekroinflamasyonun sekelleri (periportal fibroz, köprüleme fibrozu ve siroz) şeklindedir. Steatoz HBV'ye oranla daha sık görülmektedir. Kronik HCV'li enfeksiyonların bir bölümünde portal alanlarda, merkezinde kazeifikasyon olsun veya olmasın, granülomlar saptanır, bunlar akut C hepatitin seyrinde görülmez.

a) Akut Hepatit C: Hepatit C olguları genellikle asemptomatik seyreder ve ALT yükselmeleri genelde dördüncü haftadan sonra görülür. HCV enfeksiyonu akut ve kronik seyirli olsa da, çoğunun anikterik ve asemptomatik seyretmesi nedeniyle hepatit C enfeksiyonunun akut dönemde tanınması oldukça güçtür. İkterik Akut HCV oranı %25'in altındadır. Akut HCV enfeksiyonu, temastan bir-üç hafta sonra kanda HCV-RNA'nın ortaya çıkması yanında, semptomatik ve ikterik vakalarda; halsizlik,

iştahsızlık, hafif kas ağrıları, sarılık gibi belirtilerle seyrederek. Bu belirtiler genellikle düzelir. Akut HCV enfeksiyonunun inkübasyon periyodu ortalama 7-8 haftadır. Kan ve kan ürünleriyle bulaşan HCV'nin inkübasyon periyodu daha kısadır (2-4 hafta). Akut HCV 'de serum ALT düzeyi, genellikle 600 U/L 'yi aşmaz ve ikter varsa ikter 4 haftadan daha fazla sürmez. Fulminan hepatit gelişimi çok nadirdir. Virüs ile teması takiben olguların %15-25'inde iyileşme gözlenirken, %75-85'inde kronik hepatit gelişmektedir. Kronikleşen hastaların yaklaşık %20'sinde siroz gelişir (ortalama 20-25 yılda) ve sirotik evredeki hepatit C'li hastalarda HCC insidensi %3 civarındadır [65]. Kronik alkol kullanımı, erkek cinsiyet, ileri yaş (>40 yıl), ikili-üçlü (HCV+HBV, HCV+HIV veya HCV+HBV+HIV gibi) enfeksiyonlar ile kronik C hepatiti tanısı konulduğunda, ciddi histopatolojik bulguların (evre 3-4, orta-ağır aktivite gibi) olması olumsuz prognostik faktörlerdir ve siroza gidişi hızlandırır. Kadınlarda ve çocuklarda HCV enfeksiyonu daha selim seyretilmektedir.

b) Kronik Hepatit C: HCV enfeksiyonlarının %80-85'i kronikleşir. Kronik hepatit döneminde en sık bildirilen semptom yorgunluktur. Bununla birlikte, iştahsızlık, bulantı, halsizlik, eklem ağrıları, karın sağ üst kadranda ağrı, kaşıntı ve kilo kaybı görülebilir. Kronik hepatit C'de transaminaz düzeyleri genellikle normal düzeylerin üç katını geçmez. Serum bilirubin ve alkalen fosfataz düzeyleri ise genellikle normal sınırlardadır.

HCV tedavisinde klasik olarak HCV RNA pozitif, ALT düzeyi yüksek ve biyopside kronik hepatiti olan hastalar tedavi adayıdır. 2011 EASL "consensus" toplantılarında; ciddi kronik hepatit C'li hastaların, biyopside orta ağır nekroinflamatuvar aktivite ile evre 2 –3 fibrozisi (periportal fibroz septalar veya portal-portal, portal-santral fibroz bantların gelişmesi) olan kişilerin progresif bir seyirle siroza ilerleme riski yüksektir ve tedavi edilmesi gerekir denilmiştir. Diğer taraftan biyopside minimal-hafif nekroinflamatuvar aktivite ve evre 0-1 arası fibrozis saptanan kişiler ve hastalığı ilerlemiş, yani siroz gelişmiş hastalarda tedavi kararının hastaya göre verilmesi benimsenmiştir [66]. Viral genotip tayini tedavi süresini belirlemek ve tedaviye yanıt olasılığını belirlemek için yapılmalıdır. Hepatit C'de yüksek transaminaz düzeyleri karaciğerde inflamasyon ve fibrozis gelişimiyle uyumlu olmakla beraber, normal olmaları karaciğer hasarının olmadığını göstermez. Tedaviye

cevabın en önemli ölçütü HCV-RNA'nın kaybı olduğundan, tedavi öncesi her hastada HCV-RNA (mümkünse genotip ve viral yük) bakılmalıdır.

Türkiye'de HCV RNA pozitif her hasta genotip 1b gibi kabul edilerek tedavi edilebilir. Çünkü olguların çoğu genotip 1b'dir [67]. Tedaviye cevabın ölçütleri tedavi sonunda HCV RNA negatifliği ve ALT'nin normal olmasıdır. Tedavi sonrası 24. haftada HCV RNA <50 IU/nl ise kalıcı virolojik yanıt olarak kabul edilir. Kalıcı virolojik yanıt siroz gelişmeyen hastalarda karaciğer hasar gelişimini engellemektedir, diğer yandan sirozlu olgularda hayatı tehdit eden komplikasyon riski azalır. Kalıcı virolojik yanıt oranları genotip 2, 3, 5 ve 6'da yüksektir (%80). Genotip tip 4'deki hastaların tedavi sonuçları genotip tip 1'deki gibi hatta biraz daha iyidir [68].

Kronik C hepatiti tedavisinde etkin olan ilk ilaç interferonlardır (özellikle interferon-alfa). Interferon-alfa (IFN-alfa) monoterapisi (6-12 ay, 3-10 MU/haftada 3 gün) ile hastaların %15-20'sinde kalıcı HCV RNA kaybı sağlanır ve ancak bu oran genotip 1 vakalarda %10 civarındadır [69]. İkinci önemli ilaç ribavirindir. Ribavirin hepatit C tedavisinde tek başına etkili değildir. IFN-alfa ve ribavirin kombinasyonu kronik C hepatiti tedavisinde önemli bir aşama olmuş ve kalıcı cevap oranlarında ciddi yükselmeler saptanmıştır. Ribavirin IFN ile kombinasyonu, özellikle nüksü azaltarak kalıcı cevabın yüksek olmasını sağlamıştır.

HCV tedavisinde en son gelişme ise "Pegylated" Interferonların (PEG-IFN) geliştirilmesi olmuştur. "Polyethylene glycol" (PEG) suda eriyen bir polimer olup, proteinlere (interferon-alfa) kovalan bağlarla bağlanır ve onların yarılanma sürelerini arttırarak uzun süreli terapötik kan düzeyleri oluşması sağlar. Bu hem haftada bir kez yapılan derialtı injeksiyonla hastanın tedaviye uyumunu olumlu etkilemekte, hem de stabil ve yüksek kan düzeyi sağlayarak IFN-alfa'nın antiviral etkisini artırır. PEG ile bileştirilen IFN alfa'ya pegylated IFN-alfa (PEG-IFN alfa) denir. PEG-IFN'ların klasik IFN'lara göre serum klerens oranı 100 kat daha düşüktür ve terminal yarı ömrü 99 kat daha uzundur. PEG-IFN'lar da klasik IFN gibi bifazik viral düşüş sağlar [70].

Kronik hepatit C tedavisinde peginterferon ve ribavirin kombinasyonu tedavi süresi ve tedavi yanıtı genotipe ve virolojik yanıtı bağlı olarak değişmektedir. Tedavi süresi için 12. hafta erken virolojik yanıtı bakılarak karar verilir. Tedavinin 12. haftasında HCV RNA negatifleşmesi veya en az iki log düşmesi "erken viral yanıt" olarak değerlendirilir. Erken viral yanıt alındığında tedavi süresi genotip 1

hastalarında 48 haftaya tamamlanır, genotip 2 ve 3 hastalarında 24 haftalık tedavi yeterli görülmektedir. 12. haftada PCR ile HCV RNA negatifleşmemiş fakat iki log düşmüş hastalarda da tedaviye devam edilerek 24. haftada HCV RNA değerine tekrar bakılır. Bu hastaların tedavilerinin 24 haftasında HCV RNA halen pozitif ise kalıcı yanıt beklenmemektedir.

Tedavinin 12. haftasında HCV RNA 2 log düşen hastaların tedavileri 48 haftaya tamamlanır. Tedavi sonunda HCV RNA negatif olan hastalar tedavi sonu yanıtı elde edilen hasta grubunu oluşturur. Tedavi sonu viral yanıt elde edilen bu olgularda, tedavinin bitiminden 24 hafta sonra yine HCV RNA PCR değerine bakılır ve HCV RNA negatif kalmaya devam eden hastalarda kalıcı viral yanıt alınmış kabul edilir. Erken viral yanıt alınamayan hastaların kalıcı viral yanıt şansı sadece %3 olmaktadır ve tedavinin devamı maliyet-etkin olmadığı için önerilmemektedir [71]. Pegile IFN ve ribavirin tedavisi sonrası yaklaşık %15-25 oranında relaps gelişmektedir. Diğer yandan relaps sonrası tedavi edilen hastalarda da yeniden %32-53 oranında relaps görülebilmektedir [72]. Diğer yanda pegile IFN ve ribavirin tedavisi sırasında 12. haftada iki log HCV RNA IU/ml düşüş saptanmayan ya da 24. haftada HCV RNA negatifliği saptanmayan hastalar tedaviye yanıtız olarak kabul edilir. Son yıllarda yapılan birçok çalışmada daha önce pegile IFN ve ribavirin tedavisi alan genotip 1 hastaların yeniden tedavi edilme oranları %4-14 arasında değişmektedir. Bu nedenle pegile IFN+ribavirin tedavisi alıp yanıt alınamayan genotip 1'li hastalarda aynı tedavi rejimi verilmesi önerilmemektedir [73, 74].

HCV tedavisinin mutlak kontrendikasyonları kontrol dışı psikoz, depresyon ve epilepsi, kontrol dışı otoimmün hastalık, Child-B ve üstü, gebelik, kötü kontrollü hipertansiyon, kalp yetmezliği, kötü kontrollü DM ve kronik obstrüktif akciğer hastalığıdır. Rölatif kontrendikasyonlar erkekte hb<13 mg/dl kadında hb<12 mg/dl olması, notrofil miktarı <1500/mm³, trombosit <90.000 /mm³, serum kreatin konsantrasyonu >1,5 mg/dl, koroner arter hastalığı, tedavi edilmemiş tiroid hastalıklarıdır.

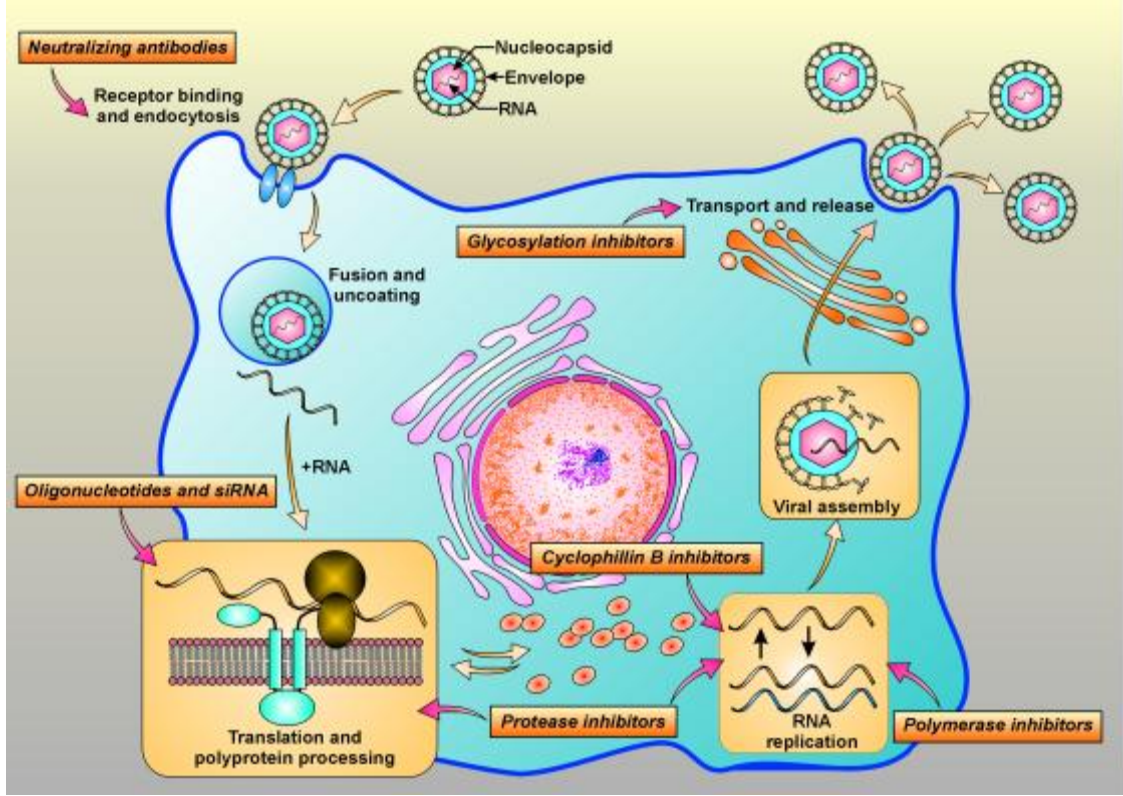
Hepatit C tedavisinin yan etki, hasta uyumu ve maliyetine dönük sıkıntılar yeni tedavi arayışlarını gündeme getirmiştir (Şekil 2.5.2.2). HCV tedavisinde amaç kalıcı virolojik yanıt sağlamaktır zira kalıcı virolojik yanıt sağlanması hem siroz hem de HCC riskini azaltmaktadır. Yakın dönemde standart Peg-IFN- Ribavirin tedavisine

proteaz inhibitörleri(Şekil 2.5.2.2) olan boseprevir, telaprevir eklenmesi gündemdedir. Standart tedaviye boseprevir ya da telaprevir eklenmesinin kalıcı virolojik yanıtı anlamlı oranda artırdığı saptanmıştır (Peg-IFN – Ribavirin <%50, proteaz inh.-Peg-IFN – Ribavirin %70). Kombinasyon tedavisinin çapraz direnç gelişimini engellediği saptanmıştır. Diğer yandan gelecekte INF tedavisiz, daha güvenli tedavi rejimlerinin oluşturulmasında, mevcut gelişmelerin önemli olduğunu ve HCV enzim inhibitörlerinin geliştirilme çalışmalarının devam etmekte olduğunu belirtmek gerekiyor.

Telaprevir (VX950) HCV NS3 / NS4A proteaz inhibitörüdür. McHutchison ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada 24 hafta telaprevir alan grubun 12 hafta telaprevir alan gruba nazaran daha fazla kalıcı virolojik yanıt oranları sağladığı saptanmıştır (sırasıyla %61 ve %35). Relaps oranlarına bakıldığında 12 hafta telaprevir alanda oran %33 iken bu oran 24 hafta telaprevir alan grupta %2 saptanmıştır [75].

Boseprevir viral proteaz NS3/4A'nın spesifik inhibitörüdür. Peg IFN ve ribavirin tedavisine yanıtızsız hastalarda etkin olduğu düşünülmektedir. Tedavi > 24 hafta olarak önerilmekte olup en iyi cevap 12. haftada iki log düşme saptanan hastalarda görülmüştür [76].

Yapılan faz 2 ve faz 3 çalışmalar göstermiştir ki boseprevir- PEG-IFN-Ribavirin tedavisi standart tedavi koluna (sadece PEG IFN –Ribavirin) nazaran yaklaşık %70 oranında kalıcı viral yanıtta artışa neden olmuştur [77].



Şekil 2.5.2.2: Hepatit C'nin viral döngüsü. Virus döngüsünün her adımına dönük ilaç geliştirilmesi hedeflenmiştir. HCV yaşam döngüsü virionun henüz net olarak saptanamayan spesifik reseptörüne bağlanması ile başlar. HCV genomu viral replikasyon ve mRNA için kalıp görevi görür. Proteazlar tarafından bölünerek poliproteine çevrilir. Ardından virüs replikasyonu gerçekleşir.

2.6. Son Dönem Karaciğer Yetmezliği

Karaciğer sirozu, çeşitli nedenlere bağlı olarak ortaya çıkmasına rağmen, oluşum sürecinde hep aynı mekanizma rol oynamaktadır. Siroz oluşum sürecinde hücre ölümü, bağ doku artışı ve nodüler biçimde doku yenilenmesi görülmektedir. En önemli belirtileri ise portal ven sisteminde kan basıncı yükselmesi ve ilerleyen karaciğer yetmezliğidir. Karaciğer sirozunun prognozu, hastalığın etiyolojisine, evresine ve tedavi olanaklarına bağlı olarak farklılık göstermektedir.

1996' da siroz hastalığının şiddetini belirlemek için Child-Turcotte-Pugh (CTP) sistemi geliştirilmiştir. Bu sistemde hastalar şu şekilde sınıflandırılmaktadır.

Tablo 2.6.1: Child-Pugh Skorlama Sistemi

Puanlama	1	2	3
Ensefalopati	Yok	Evre 1- 2	Evre 3 - 4
Asit	Yok	İlımlı	Şiddetli
Bilurubin (mg/dl)	1-2	2-3	>3
Kolestatik hastalar için	<4	4-10	>10
Albümin (gr/dl)	>3,5	2,8-3,5	<2,8
Protrombin zamanındaki uzama (sn) / INR	1-4 <1,7	4-6 1,7-2,3	>6 >2,3
Child A: 5-6 puan, Child B: 7-9 puan, Child C: 10-15 puan			

Prognostik gösterge olarak karaciğer transplantasyonu yapılmayan hastalar Child A sirozda %90, Child B sirozda %80 oranında beş yıllık sağ kalıma sahiptir. Child-Pugh skoru 10 ve üzerinde olan (Child C) hastaların üçte biri, bir yıl içinde kaybedilmektedir [78].

Diğer yandan CTP sınıflamasının çeşitli kısıtlılıkları vardır. Parametrelerin güvenilirliği bunlardan bir tanesidir. Hepatik ensefalopati, asit, INR'nin çeşitli merkezlerce tekrarı durumunda ilk çıkan sonuçlarla benzer sonuçlar saptanmamıştır. Bir diğer kısıtlılık CTP skorunun üst sınırıdır. Bu durum üst sınırı aşan parametrelere sahip hasta grupları arasında ayırım yapılmasını elverişsiz hale getirmektedir. Tüm bu kısıtlılıklar temelinde yeni skorlama sistemleri üzerinde çalışılmış ve MELD skorlama sistemi geliştirilmiştir. MELD skorunda üç biyokimyasal parametre kullanılmaktadır. Bunlar total bilirubin, INR ve serum kreatinin düzeyleridir.

$$\text{MELD} = 9,57 \times \log e (\text{kreatinin}) + 3,78 \times \log e (\text{total bilirubin}) + 11,2 \times \log e (\text{INR}) + 6,43$$

MELD ile hastaların yaklaşık 3 aylık sağkalım oranı hesaplanmaya çalışılır. Yüksek MELD değerleri azalmış sağkalım oranlarını yansıtır. MELD skorlama sisteminde hastalar 6 ile 40 arası değerlerde derecelendirilmekte olup, üç aylık

dönemde sağ kalım oranları %90'dan % 7'ye kadar değişen aralıklarda hesaplanabilmektedir. MELD skalası 15-17'ye vardığında karaciğer transplantasyonu kararı verilmelidir [78].

Karaciğer sirozu gelişmiş olan hastalar yüksek mortalite riskine sahiptir. Bu hastalarda, karaciğer hastalığından çok, bu hastalığın neden olduğu komplikasyonlar nedeniyle kritik bir süreç söz konusudur. Bu kritik süreç multidisipliner bir izlem ve tedaviyi gerekli kılmaktadır. Sirozlu hastalarda hepatik disfonksiyon bulgularının olması (Child ≥ 7 veya MELD ≥ 10) veya ilk major komplikasyon (asit, varis kanaması veya hepatik ensefalopati) ya da HCC gelişmesi durumunda, organ teminindeki güçlükler göz önüne alınarak hastalar erken dönemde transplantasyon merkezlerine yönlendirilmelidir.

Son dönem karaciğer yetmezliği olan hastalarda altı temel transplantasyon endikasyonu belirlenmiştir;

1. Tekrarlayan ensefalopati (beyin fonksiyonlarında yavaşlama, konsantrasyon kaybı, bilinçte bulanmaya neden olan konfüzyon, koma),
2. Özefagus varis kanamaları, tedavi edilemeyen asit ve/veya peritonit epizodları ile birlikte olan portal hipertansiyon,
3. Aşırı yüksek serum bilirubin düzeyi,
4. Karaciğer sentezinde belirgin sınırlanma (buna bağlı olarak koagülasyon defektleri, düşük albumin düzeyi),
5. Yaşam kalitesinde bozulma (fiziksel zayıflık, tükenmişlik, dayanılmaz kaşıntılar, aşırı bitkinlik),
6. Çocuklarda gelişme geriliği.

Tablo 2.6.2: Karaciğer Naklinde Kontrendikasyonlar

Extrahepatik malignite
Makrovasküler ya da diffüz yayılımla beraber olan hepatik malignite
Tedavi edilemeyen sepsis
İleri kardiyopulmoner hastalıklar
Aktif alkol ya da ilaç bağımlılığı
Transplantasyona engel olabilecek anatomik anormallikler

Tablo 2.6.3: Karaciğer Nakli İçin Rölatif Kontrendikasyonlar

Yaş
Portal Ven Trombozu
HIV
Önceki Malignite Öyküsü
Aktif Psikiyatrik Durum

2.7. KC Transplantasyonu

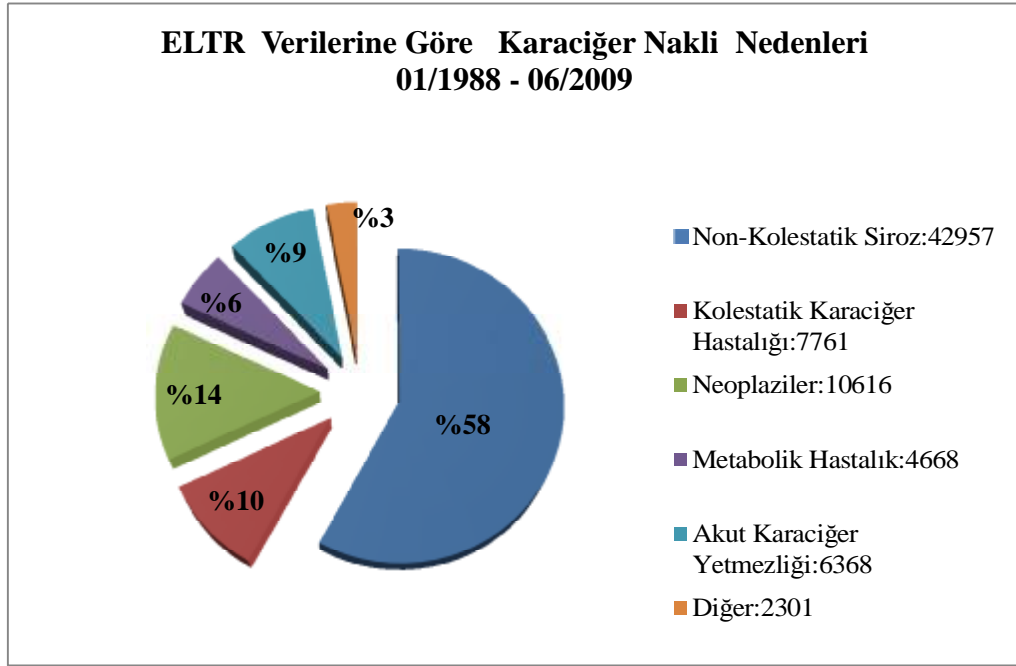
1963 yılında Thomas E. Starzl, biliyer atrezili bir çocuğa bir yıllık yaşam sağlayan karaciğer naklini yaparak insanda ilk karaciğer naklini gerçekleştirmiştir [79].

Ancak son dönem karaciğer hastalarının tedavisinde çığır açacak olan bu tedavi yöntemi 1980'lerin başına kadar, başarı oranları çok düşük olduğu için tedavide bir seçenek olarak kabul edilmemiştir. 1970'lerde %30'lar civarında olan bir yıllık sağkalım oranları 1980'lerde %60'ların üzerine çıkmış ve 1983 yılında son dönem karaciğer hastalarında uygulanabilir bir seçenek olarak kabul edilmiştir.

Karaciğer transplantasyon cerrahisine ek olarak, yoğun bakımdaki tedavi ve teknolojik gelişmelerin katkısıyla hasta sağkalımında yüksek başarılar elde edilebilmektedir. Özellikle 1981 yılında siklosporinin bulunması ve immünsüpresyon sahasındaki diğer gelişmeler sayesinde bir yıllık sağkalım oranı %90'a kadar çıkmıştır [80].

Son yıllarda karaciğer nakli için endikasyon yol açan hastalıkların dağılımında bir değişiklik ve genişleme söz konusudur. Geçmiş dönemlerde kanserler nakil için

endikasyonların %50 den fazlasını oluştururken günümüzde bu endikasyonun oranı %13 ile %15 arasındadır. Benzer özellik primer biliyer siroz (PBS) içinde geçerli olup bu endikasyonla yapılan nakillerin de oranı azalmıştır. Buna karşıt olarak alkol ve Hepatit-C ye bağlı siroz nedeni ile yapılan nakillerin oranı giderek artmış ve günümüzde Avrupa ve ABD de en yaygın endikasyonlar haline gelmiştir. ELTR (European Liver Transplant Registry) verilerine göre karaciğer transplantasyonu endikasyonlarındaki değişim Şekil 2.7.1'deki gibidir [81].



Şekil 2.7.1: ELTR (European Liver Transplant Registry) verilerine göre karaciğer nakli nedenleri 01/1988-06/2009

En son ELTR verilerine (01/1988 - 06/2009) göre yetişkin hastalarda non kolestatik siroz, karaciğer transplantasyonu yapılan hastaların %58' inde endikasyon olarak karşımıza çıkmaktadır (Şekil 2.7.1). Siroz hastaları içerisinde de alkol ve Hepatit-C sırası ile %18 ve %15'le altta yatan en yaygın iki nedendir. Diğer nakil endikasyonları arasında kolestatik karaciğer hastalıkları (primer biliyer siroz ve primer sklerozan kolanjit) metabolik hastalıklar (Wilson hastalığı, alfa-1 antitripsin eksikliği) ve kronik hepatitler (non sirotik) bulunmaktadır.

Nakil aynı zamanda karaciğer kanserleri için de yapılmaktadır. Karaciğer transplantasyonu malign neoplaziler (%14) için ve özellikle de non metastatik hepatosellüler karsinom (HCC) (%9) için yapılmaktaysa da diğer tümör tipleri için de (primer ve sekonder) günümüzde nakil yapılabilir. HCC olgularının, KC nakli kararı Milan Kriterleri' ne göre verilir.

Tablo 2.7.1: Milan Kriterleri

5 cm'ye eşit ya da küçük tek lezyonu olanlar
İki ya da üç lezyonu olup hepsi de 3 cm den küçük olanlar
Nodal ya da uzak metastaz olmayanlar
Vasküler invazyonu olmayalar

HBV ilişkili sirozda yapılan karaciğer transplantasyonunda en önemli sorun nakil sonrası görülebilen nükslerdir. Günümüzde ise yeni geliştirilen tedavi ajanları ile rekürrenslerin önlenmesi ve tedavisinde önemli başarılar elde edilmektedir. Bugün HBV ye bağlı siroz sebebi ile yapılan nakillerde bir ve beş yıllık sağkalım oranları sırası ile % 85 ve 75 civarındadır [82]. HBV reenfeksiyonunu önleme stratejisi nakil öncesi antiviral tedavi kullanımı ve nakil sonrası bu tedavilere HB-IG'in eklenmesinden oluşur. Bu strateji nakil sonrası HBV reenfeksiyon oranını %10'un altına indirir. Sirotik hastalardaki antiviral tedavinin amacı viral supresyon yolu ile karaciğer hastalığını stabilize etmek, karaciğer nakline olan ihtiyacı ertelemek ve transplantasyona giden hastalarda HBV reenfeksiyon riskini azaltmaktır.

Benzer sorun HCV sonrası da görülmektedir. Hastalarda vireminin ortadan kaldırılması ile rekürrens olasılığının en aza indirilmiş olması, transplantasyon öncesi en uygun yaklaşımın HCV eradikasyonu olduğu fikrini doğurmaktadır. HCV genotipinin rekürrens varlığında hastalığın şiddetine olan katkısı tartışmalıdır. HCV enfeksiyonunun prognozuna etki eden değişkenlikler tam olarak anlaşılacakla beraber donör karakteristikleri, viral karakteristikler (genotip viral yük) ve alıcının immün durumu önemli olabilir. HCV genotip1b ile ilgili olumsuz sonuçlar ağırlıktadır [83].

ÇALIŞMANIN AMACI

Karaciğerde sentezlenen ve demir regulasyonunda anahtar role sahip olan hepsidin kronik viral hepatit, siroz ve nakil sonrası değişiminin araştırılması ayrıca hepsidin düzeyindeki değişimin karaciğer fonksiyon testleri (AST, ALT, T.Billurubin, Albumin, LDH, ALP, GGT) ve demir parametreleri ile olan ilişkisinin saptaması amaçlanmıştır. Bunun yanı sıra karaciğer transplantasyonunun hepsidin regulasyonuna dolayısıyla da demir metabolizmasına olası etkisi araştırılmak istenmiştir.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grupları

Bu çalışma retrospektif olup Dokuz Eylül Üniversitesi yerel etik kurulundan onay alınarak yapılmıştır. Çalışmaya Kasım 2010- Haziran 2011 tarihleri arasında Dokuz Eylül Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Polikliniği ve Karaciğer Nakil Polikliniğinde takip edilen hastalar dahil edilmiştir. Kronik hepatit B ve C'li hastalar, hepatit B –C nedeniyle dekompanse siroz gelişen hasta grupları ve hepatit B ve C nedeniyle karaciğer nakli uygulanan olgular çalışmaya alınmıştır.

Bu amaçla kronik inaktif hepatit B (n: 31), kronik hepatit C (n: 30) ve bunlara bağlı dekompanse siroz gelişen hasta (n: 29) grupları ile HCV ya da HBV nedeniyle dekompanse siroz gelişip karaciğer nakli yapılan hastalar (n: 31) çalışmaya alınmıştır. HCV enfeksiyonunun tanısı Anti HCV (+) ve HCV RNA (+), HBs ag (-)'liği; Kronik inaktif HBV enfeksiyon tanısı ise HBs ag (+) HBV DNA (-)'liği ve KCFT normal olması ile konmuştur. Herhangi bir antiviral tedavi alan hastalar ayrıca demir eksikliği anemisi (FEA) tanısı konan ya da Fe replasman tedavisi alan hastalar çalışma dışı bırakılmıştır. Diğer kronik hepatit nedenleri olan Wilson hastalığı, hemokromatozis, otoimmün hepatit, alkolik hepatit, toksik hepatit, hepatosellüler kanseri (HCC) olan ve kronik böbrek yetmezliği (KBY) olan hastalar çalışmaya alınmamıştır.

Tüm hastalara yapılacak olan çalışma hakkında bilgi verilip hasta onamları alınmıştır. Yapılacak olan çalışma Dokuz Eylül Tıp Fakültesi Etik Kurulu onayıyla planlandı. Hastaların serum örneklerinden ELISA yöntemiyle hematoloji laboratuvarında prohepsidin düzeyi, biyokimya laboratuvarında Hemogloblin (Hb), Aspartat Aminotransferaz (AST), Alanin Aminotransferaz (ALT), Alkalen Fosfataz (ALP), Gamaglutamil Transferaz (GGT), Laktat Dehidrogenaz (LDH), Total Bilurubin (T.BİL), Albumin (ALB), Total Kolesterol (T.KOL), Yüksek Dansiteli Lipoprotein (HDL), Düşük Dansiteli Lipoprotein (LDL), Demir (Fe), Serum Demiri Bağlama Kapasitesi (SDBK), Transferin Saturasyonu (T.SAT) ve Ferritin çalışılmış olup ayrıca hastaların karaciğer takip dosyaları retrospektif olarak incelenmiştir.

3.2. Serum Örneğinin Toplanması

7 cc kan örneği üst ekstremitelerde periferik veneden, BD vakutainer kuru (eser elementlerden arındırılmış) kırmızı ve mor kapaklı tüplere aktarıldı. Hastaların serumları sekiz saatlik açlık sonrası alındı. Her kan örneği alındıktan sonra 2500 devir / dakika da ,10 dakika boyunca santrifüj edilerek serumları ayrıldı. Toplanan serumlar çalışma için -70 santigrat derecede saklandı.

3.3. Analitik Metod

Prohepsidin serum düzeyi için orijinal ELİSA kitleri (Pro-hepsidin: EIA-4644 DRG Diagnostics DRG Instruments GmbH, Marburg, Germany) kullanıldı.

3.4. İstatistiksel Metodlar

Çözümlemelerde SPSS 15.0 kullanıldı. Anlamlılık için p değerinin 0.05'den küçük saptanması koşulu arandı. Ölçüm değerlerinin normal dağılıma uygunluğu Kolmogrov-Smirnov testi ile değerlendirildi. Verilerin normal dağılıma uymaması ve gruplardan birinde 30'dan az gözlem olması nedeniyle non-parametrik testlerin uygulanmasına karar verildi. Ölçüm değerlerinin bir kısmında (Yaş, Hb, Alb, T.Kol, HDL, LDL, Fe, SDBK, T.Sat, Ferritin, Prohepsidin) ortalama ve SD diğer ölçüm parametreleri ortancaları, en küçük ve en büyük değerleri ile birlikte verildi. Sürekli verileri içeren değişkenlerin ortancaları arasındaki farkın anlamlılığı Kruskal-Wallis testi ile değerlendirildi. Gruplar arasında fark bulunması durumunda, farkın hangi gruplardan kaynaklandığını bulmak için ikili karşılaştırmalar Mann Whitney-U testi ile değerlendirildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya alınan hastaların yaş aralığı 18-70 y olup 83 tanesi erkek 38 tanesi kadındı. Cinsiyetin gruplara göre dağılımı Tablo 4.1 gibidir.

Tablo 4.1: Hastaların Gruplara Ve Cinsiyete Göre Dağılımı

GRUPLAR	Erkek	Kadın
Grup1:Kronik İnaktif HBV (n: 31)	19	12
Grup-2:Kronik HCV (n: 30)	13	17
Grup-3:Siroz (n: 29)	24	5
Grup-4:Karaciğer nakli (n: 31)	27	4

Tablo 4.2: Dört grupta bakılan parametreler ve dağılımı

	KİH (n: 31)	HCV (n: 30)	SİROZ (n: 29)	KC TX (n: 31)	p
Cinsiyet	E: %61,3 K: %38,7	E: %43,3 K: %56,7	E: %82,8 K: %17,2	E: %87,1 K: %12,9	
Yaş	51,7 ± 2,56	58,8 ± 1,8	58,6 ± 1,4	51,6 ± 1,9	0,009
Hb (mg/dl)	14,6 ± 0,2	12,5 ± 0,3	11,9 ± 0,3	13,3 ± 0,3	0,001
AST	21 (15-37)	27(13-140)	44 (13-133)	25 (13-107)	0,001
ALT	21 (12-56)	23 (9-166)	25 (3-154)	23 (8-125)	0,79
ALP	70 (31-99)	93 (31-510)	107 (59-315)	134 (63-497)	0,001
GGT	22 (14-64)	23 (8-474)	47 (12-294)	50 (10-305)	0,001
LDH	171 (26-305)	205 (63-399)	202 (112-370)	176 (132-327)	0,018
T.BİL	0,6 (0,2-1,5)	0,68 (0,3-2,3)	1,7(0,8-5,9)	0,9 (0,2-5,7)	0,001
ALB.	4,5 ± 0,05	4,2 ± 0,6	2,7 ± 0,1	4,3 ± 0,07	0,001
T.KOL	180 ± 5,6	181 ± 9,4	156 ± 5,9	178 ± 8,7	0,041
HDL	46,6 ± 2,1	48,7 ± 3,2	40,6 ± 3,6	39,6 ± 1,8	0,014
LDL	117 ± 4,3	116 ± 6,4	102 ± 5,3	114 ± 6,5	0,455
FE	79 ± 3,7	80,7 ± 7,4	88,9 ± 8,9	65 ± 5,5	0,082
SDBK	328 ± 6	348 ± 16	279 ± 15	315 ± 13	0,004
T.SAT (%)	23,7 ± 1,1	24,5 ± 2,3	36,2 ± 4,3	21,7±2,2	0,022
FERRİTİN	59,8 ± 10,7	128,5 ± 34,8	131,7 ± 25,5	138,6 ± 26,9	0,052
PROHEPSİDİN	91 ± 7,2	116,9 ± 7,4	108,4 ± 7,9	109,9 ± 8,8	0,087

Veriler ortalama \pm SD ya da ortanca (minimum-maksimum) şeklinde verilmiştir.

Tablo 4.2'de dört grubun bakılan tüm parametreler ve dağılımı görülmektedir. Yaş, cinsiyet, Hb, AST, ALP, GGT, LDH, T.bil; Albumin, T. Kolesterol, HDL, SDBK ve T.Sat'da gruplar arasında anlamlı fark saptanmıştır.

Kronik İnaktif HBV ile HCV hastalarının ikili karşılaştırmasında Hb, AST, ALP, Albumin ve prohepsidin düzeyleri arasında anlamlı fark saptanmış olup prohepsidin düzeyi HCV olgularında daha fazla saptanmıştır (Tablo 4.3).

Tablo 4.3: Grup1 ve Grup 2 Karşılaştırması

	KİH (n: 31)	HCV (n: 30)	P
Cinsiyet	E: %61,3 K: %38,7	E: %43,3 K: %56,7	
Yaş	51,7 \pm 2.56	58,8 \pm 1,8	0,042
Hb (mg/dl)	14,6 \pm 0,2	12,5 \pm 0,3	0,001
AST	21 (15-37)	27 (13-140)	0,014
ALT	21 (12-56)	23 (9-166)	0,525
ALP	70 (31-99)	93 (31-510)	0,003
GGT	22 (14-64)	23 (8-474)	0,263
LDH	171 (26-305)	205 (63-399)	0,067
T.BİL	0,6 (0,2-1,5)	0,68 (0,3-2,3)	0,230
ALB.	4,5 \pm 0.05	4,2 \pm 0,6	0,001
T.KOL	180 \pm 5,6	181 \pm 9,4	0,834
HDL	46,6 \pm 2,1	48,7 \pm 3,2	0,937
LDL	117 \pm 4,3	116 \pm 6,4	0,681
FE	79 \pm 3,7	80,7 \pm 7,4	0,891
SDBK	328 \pm 6	348 \pm 16	0,068
T.SAT	23,7 \pm 1,1	24,5 \pm 2,3	0,885
FERRİTİN	59,8 \pm 10,7	128,5 \pm 34,8	0,243
PROHEPSİDİN	91 \pm 7,2	116,9 \pm 7,4	0,009

Tablo 4.4: Grup1 ve Grup 3 Karşılaştırması

	KİH (n: 31)	SİROZ (n: 29)	P
Cinsiyet	E: %61,3 K: %38,7	E: % 82,8 K: % 17,2	
Yaş	51,7 ± 2,56	58,6 ± 1,4	0.105
Hb (mg/dl)	14,6 ± 0,2	11,9 ± 0,3	0.001
AST	21 (15-37)	44 (13-133)	0.001
ALT	21 (12-56)	25 (3-154)	0.270
ALP	70 (31-99)	107 (59-315)	0.001
GGT	22 (14-64)	47 (12-294)	0.001
LDH	171 (26-305)	202 (112-370)	0.022
T.BİL	0.6 (0,2-1,5)	1,7 (0,8-5,9)	0.001
ALB.	4,5 ± 0,05	2,7 ± 0,1	0.001
T.KOL	180 ± 5,6	156 ± 5,9	0.011
HDL	46,6 ± 2,1	40,6 ± 3,6	0.012
LDL	117 ± 4,3	102 ± 5,3	0.139
FE	79 ± 3,7	88,9 ± 8,9	0.510
SDBK	328 ± 6	279 ± 15	0.003
T.SAT	23,7 ± 1,1	36,2 ± 4,3	0.019
FERRİTİN	59,8 ± 10,7	131,7 ± 25,5	0.003
PROHEPSİDİN	91 ± 7,2	108,4 ± 7,9	0.137

Kronik İnaktif HBV ve dekompanse siroz olgularında Hb, AST, ALP, GGT, LDH, T.bil., Alb., T.Kol, HDL, SDBK, T.sat ve Ferritin değerlerinde anlamlı fark çıkmıştır (Tablo 4.4).

Tablo 4.5: Grup1 ve Grup 4 Karşılaştırması

	KİH (n: 31)	KC TX (n: 31)	P
Cinsiyet	E: %61,3 K :%38,7	E: %87,1 K: %12,9	
Yaş	51,7 ± 2,56	51,6 ± 1,9	0,783
Hb (mg/dl)	14,6 ± 0,2	13,3 ± 0,3	0,011
AST	21 (15-37)	25 (13-107)	0,139
ALT	21 (12-56)	23 (8-125)	0,667
ALP	70 (31-99)	134 (63-497)	0,001
GGT	22 (14-64)	50 (10-305)	0,001
LDH	171 (26-305)	176 (132-327)	0,789
T.BİL	0,6 (0,2-1,5)	0,9 (0,2-5,7)	0,001
ALB.	4,5 ± 0,05	4,3 ± 0,07	0,179
T.KOL	180 ± 5,6	178 ± 8,7	0,866
HDL	46,6 ± 2,1	39,6 ± 1,8	0,013
LDL	117 ± 4,3	114 ± 6,5	0,331
FE	79 ± 3,7	65 ± 5,5	0,021
SDBK	328 ± 6	315 ± 13	0,508
T.SAT	23,7 ± 1,1	21,7 ± 2,2	0,155
FERRİTİN	59,8 ± 10,7	138,6 ± 26,9	0,038
PROHEPSİDİN	91 ± 7,2	109,9 ± 8,8	0,116

Kronik İnaktif HBV ile KC Tx olgularının karşılaştırmasında Hb, ALP, GGT, T.Bil., HDL, Fe ve Ferritin değerleri arasında anlamlı fark çıkmış olup Ferritin, KC Tx olgularında daha yüksek bulunmuştur (Tablo 4.4).

Tablo 4.6: Grup2 ve Grup 3 Karşılaştırması

	HCV (n: 30)	SİROZ (n: 29)	P
Cinsiyet	E: %43,3 K: %56,7	E: %82,8 K: %17,2	
Yaş	58,8 ± 1,8	58,6 ± 1,4	0,382
Hb (mg/dl)	12,5 ± 0,3	11,9 ± 0,3	0,387
AST	27 (13-140)	44 (13-133)	0,018
ALT	23 (9-166)	25 (3-154)	0,750
ALP	93 (31-510)	107 (59-315)	0,094
GGT	23 (8-474)	47 (12-294)	0,024
LDH	205 (63-399)	202 (112-370)	0,802
T.BİL	0,68 (0,3-2,3)	1,7 (0,8-5,9)	0,001
ALB.	4,2 ± 0,6	2,7 ± 0,1	0,001
T.KOL	181 ± 9,4	156 ± 5,9	0,047
HDL	48,7 ± 3,2	40,6 ± 3,6	0,029
LDL	116 ± 6,4	102 ± 5,3	0,268
FE	80,7 ± 7,4	88,9 ± 8,9	0,606
SDBK	348 ± 16	279 ± 15	0,002
T.SAT	24,5 ± 2,3	36,2 ± 4,3	0,056
FERRİTİN	128,5 ± 34,8	131,7 ± 25,5	0,396
PROHEPSİDİN	116,9 ± 7,4	108,4 ± 7,9	0,275

Kronik HCV ve Siroz olguları kıyaslandığında AST, ALP, GGT, T.bil, Alb, T.Kol, HDL, SDBK ve T.Sat değerleri arasında anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 4.6).

Tablo 4.7: Grup2 ve Grup 4 Karşılaştırması

	HCV (n: 30)	KC TX (n: 31)	p
Cinsiyet	E: %43,3 K: %56,7	E: %87,1 K: %12,9	
Yaş	58,8 ± 1,8	51,6 ± 1,9	0,002
Hb (mg/dl)	12,5 ± 0,3	13,3 ± 0,3	0,04
AST	27 (13-140)	25 (13-107)	0,309
ALT	23 (9-166)	23 (8-125)	0,920
ALP	93 (31-510)	134 (63-497)	0,016
GGT	23 (8-474)	50 (10-305)	0,055
LDH	205 (63-399)	176 (132-327)	0,039
T.BİL	0,68 (0,3-2,3)	0,9 (0,2-5,7)	0,004
ALB.	4,2 ± 0,6	4,3 ± 0,07	0,020
T.KOL	181 ± 9,4	178 ± 8,7	0,718
HDL	48,7 ± 3,2	39.6±1,8	0,051
LDL	116 ± 6,4	114 ± 6,5	0,767
FE	80,7 ± 7,4	65 ± 5,5	0,143
SDBK	348 ± 16	315 ± 13	0,096
T.SAT	24,5 ± 2,3	21,7 ± 2,2	0,289
FERRİTİN	128,5 ± 34,8	138,6 ± 26,9	0,428
PROHEPSİDİN	116,9 ± 7,4	109,9 ± 8,8	0,530

Kronik HCV ve KC Tx yapılan olgular kıyaslandığında Hb, ALP, LDH, T.Bil, Albumin değerleri arasında anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 4.7).

Tablo 4.8: Grup3 ve Grup 4 Karşılaştırması

	SİROZ (n: 29)	KC TX (n: 31)	p
Cinsiyet	E: %82,8 K: %17,2	E: %87,1 K: %12,9	
Yaş	58,6 ± 1,4	51,6 ± 1,9	0,014
Hb (mg/dl)	11,9 ± 0,3	13,3 ± 0,3	0,007
AST	44 (13-133)	25 (13-107)	0,001
ALT	25 (3-154)	23 (8-125)	0,673
ALP	107 (59-315)	134 (63-497)	0,387
GGT	47 (12-294)	50 (10-305)	0,929
LDH	202 (112-370)	176 (132-327)	0,007
T.BİL	1,7 (0,8-5,9)	0,9 (0,2-5,7)	0,001
ALB.	2,7 ± 0,1	4,3 ± 0,07	0,001
T.KOL	156 ± 5,9	178 ± 8,7	0,014
HDL	40,6 ± 3,6	39,6 ± 1,8	0,641
LDL	102 ± 5,3	114 ± 6,5	0,424
FE	88,9 ± 8,9	65 ± 5,5	0,021
SDBK	279 ± 15	315 ± 13	0,090
T.SAT	36,2 ± 4,3	21,7 ± 2,2	0,007
FERRİTİN	131,7 ± 25,5	138,6 ± 26,9	0,830
PROHEPSİDİN	108,4 ± 7,9	109,9 ± 8,8	0,877

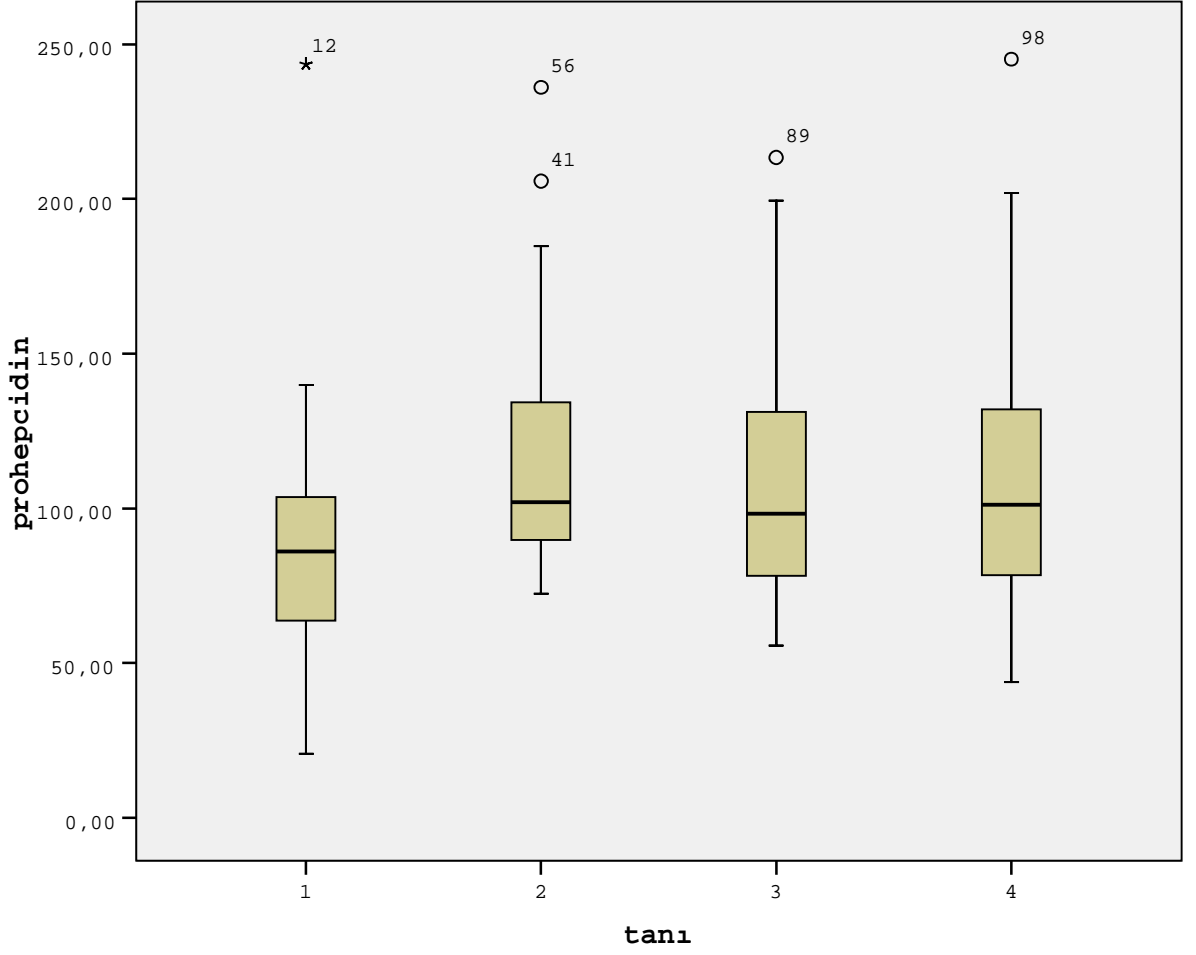
Dekompanse siroz hastaları ile Karaciğer Tx hastaları karşılaştırıldığında Hb, AST, LDH, T.Bil Alb, T.kol, Fe ve T.Sat arasında anlamlı fark bulunmuştur (Tablo 4.8).

Prohepsidin gruplar arası dağılımı Tablo 4.9' da görülmekte olup özellikle kronik HCV olgularında yüksek saptanmıştır. Prohepsidin tüm gruplar ele alındığında ferritin ile pozitif korelasyon içerisinde olduğu (Tablo 4.10), Hb ile negatif korelasyon içerisinde olduğu saptanmıştır (Tablo 4.11).

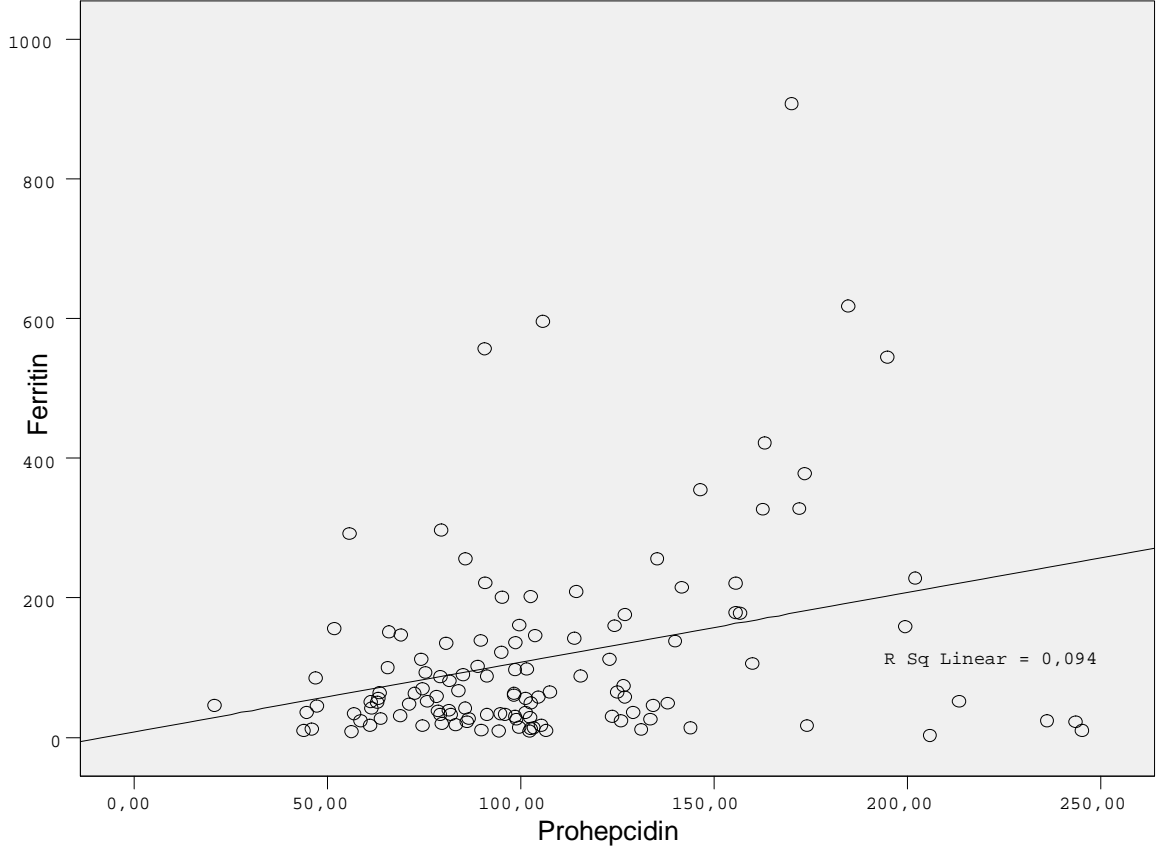
Prohepsidin ile AST, ALT, ALP, GGT, LDH, T.BİL ve lipid paneli arasında herhangi bir ilişki saptanmadı. Bütün gruplar ele alındığında prohepsidin anlamlı düzeyde albumin ile negatif korelasyon içinde olduğu saptandı.

Ferritinin prohepsidin, Fe, SDBK, T.Sat ile pozitif albuminle negatif korelasyon içerisinde olduğu görüldü. Ferritinin gruplar arası dağılımına bakıldığında en fazla KC TX yapılan grupta saptanmış olduğunu, bunu sırasıyla siroz olguları, HCV ve kronik inaktif HBV hastalarının izlediği görülmekte olup aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (Tablo 4.12).

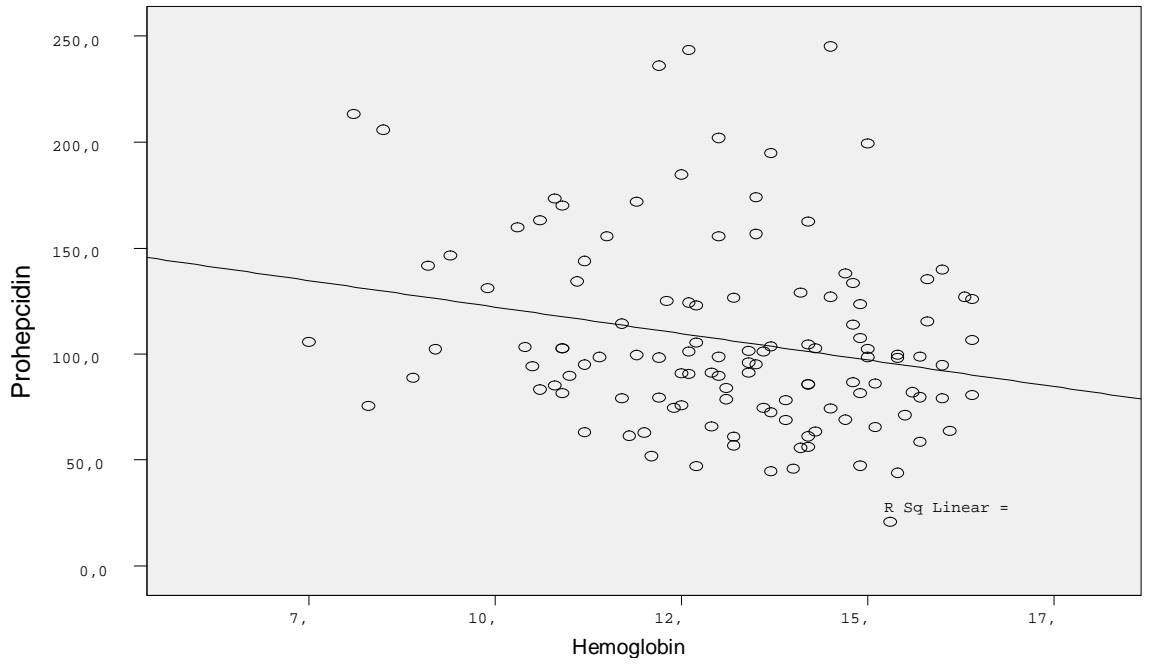
Tablo 4.9: Prohepsidin Gruplar arası dağılımı (Tanı-1:Kronik İnaktif HBV
Tanı-2:Kronik HCV, Tanı-3:siroz. Tanı-4:Karaciğer Nakil)



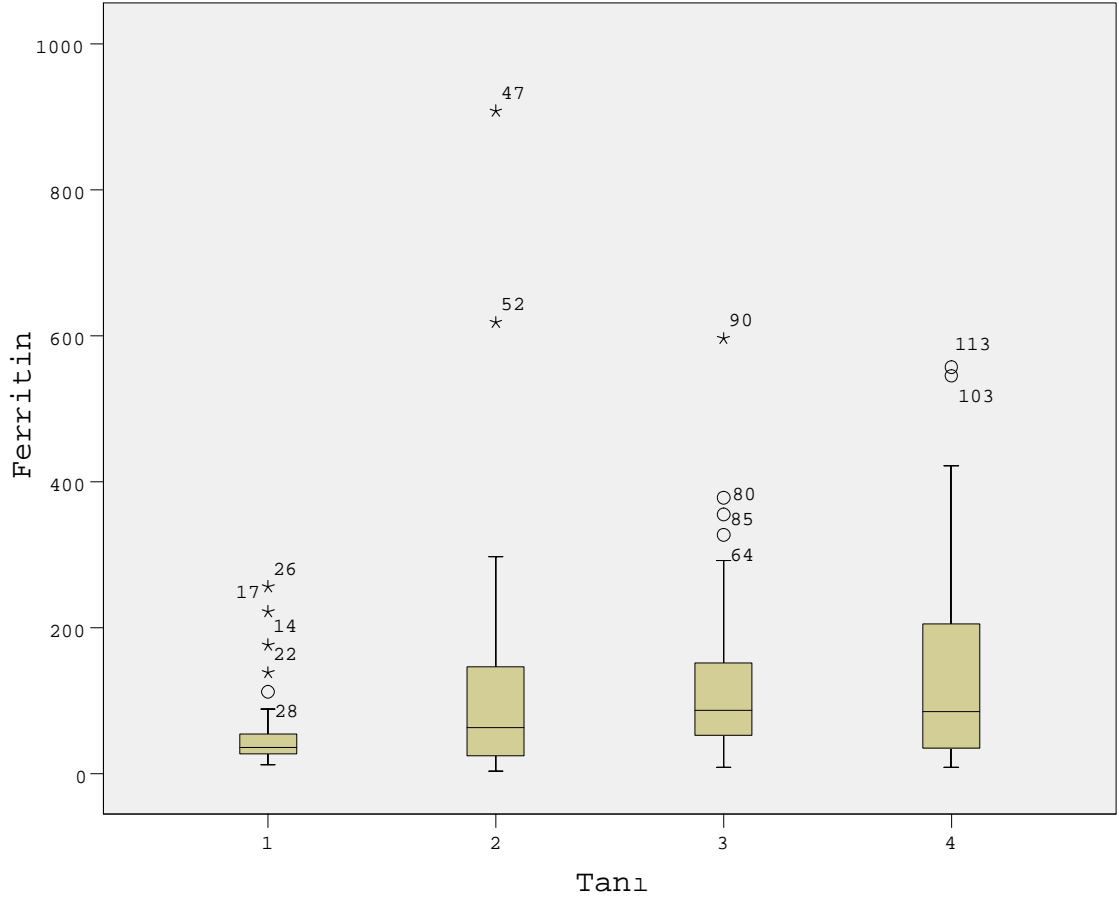
Tablo 4.10: Ferritin Prohepsidin arasındaki Pozitif Korelasyon Eğrisi



Tablo 4.11: Prohepsidin Hemoglobin Arasındaki Negatif Korelasyon Eğrisi



Tablo 4.12: Ferritinin gruplar arası dağılımı(Tanı-1:Kronik İnaktif HBV,
Tanı- 2:Kronik HCV, Tanı-3:siroz. Tanı-4:Karaciğer Nakil



5. TARTIŞMA

Hepatotropik virüsler olan hepatit B-C tüm dünyada kronik karaciğer hastalığının, progresif karaciğer fibrozisinin, sirozun ve hepatoselüler kanserin major nedenlerinden biridir. Her ne kadar kronik hepatitde karaciğer hasarının mekanizması bütünüyle açıklanamasa da, aşırı demir birikiminin bu süreçte rol aldığı bilinmektedir. Öncelikle araştırmacılar serum ferritin, demir ve transferin saturasyonunun kronik hepatit B ve C olgularında sıklıkla arttığını göstermişlerdir [84, 85].

Kronik hepatit C' de demir regülasyon mekanizması tam anlamıyla açıklanamamıştır. Takeo ve ark [41] Hepatit C'li hastalarda hepatit B'li hastalara nazaran karaciğerlerinde transferin reseptör 2 ve ferroportin mRNA ekspresyonunun anlamlı derecede daha fazla olduğunu göstermişlerdir. Otörler hepatic demir transporter artışının hepatic demir birikimine yol açtığını savunmaktadırlar.

Fujika ve arkadaşları [86] 103 hepatit C ve 34 HBV hastasının karaciğer doku örneğinde total demir skorunu (Total iron score: TIS) ölçmüşlerdir. HCV'li hastalarda HBV'li hastalara oranla total demir skorunu anlamlı düzeyde yüksek saptamışlardır. Ayrıca TIS'in alkol alımı, karaciğer taransaminaz düzeyleri, histolojik grade ile anlamlı düzeyde korele olduğunu saptamışlardır. Diğer yandan 70 genotip-b olgusunun IFN/Ribavirin tedavi öncesi TIS düzeyi, kalıcı virolojik yanıt alınmayan (non-sustained virological responders: SVR) hasta grubunda, kalıcı virolojik yanıt alınan olgulara nazaran anlamlı düzeyde daha yüksek saptanmıştır.

Kronik karaciğer hastalarında demir birikiminin artışı ve bunun karaciğer hasarı ile ilişkisini irdeleyen birçok çalışma yayınlanmış prohepsidin keşfi ile demir metabolizmasındaki karanlık noktalar açıklığa kavuşmuştur. Diğer yandan kronik hepatit seyrinde prohepsidin potansiyel rolüne dönük Aoki ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada, kronik HCV'li hastalarda karaciğer hepsidin mRNA ekspresyonunun hepatic demir konsantrasyonu ve serum ferritin ile anlamlı düzeyde korele olduğunu ancak karaciğer inflamasyon düzeyi ve fibrosis derecesiyle hepsidin mRNA arasında korelasyon olmadığını saptamışlardır [87]. Aoki ve arkadaşları ayrıca kronik HCV enfeksiyonunda hücre aracılı immun yanıtın söz konusu olduğunu ve salgılanan IL-2, IL-4, IL-10, TNF- α , INFgamma'nın hepsidin mRNA ekspresyonunu etkilediğini ancak hepsidin mRNA ekspresyonunun hepatic inflamasyonla korele olmadığını, karaciğer demir birikimi ve serum ferritini ile korele olduğunu

göstermişlerdir. Bu gözlem bize depo demirinin artmasına yanıt olarak karaciğer hepsidin üretiminin arttığını ve bunun sonucunda demir absorpsiyonunun azaltıldığını göstermektedir [87].

Shan Y. ve arkadaşları yapmış olduğu bir çalışmada 14,462 kişide demir parametrelerini incelemişlerdir. HCV hastalarında serum ferritin ve Fe düzeyinin herhangi bir karaciğer hastalığı olmayan hastalara oranla anlamlı derecede daha yüksek olduğunu; ayrıca serum ferritin düzeyinin ALT; AST ve GGT ile korele olduğunu saptamışlardır [88].

Sang Hyub Lee ve arkadaşlarının HCV, alkolik karaciğer hastalığı ve nonalkolik steatohepatit(NASH) olgularında serum prohepsidin ve IL-6 düzeyini karşılaştırdığı bir çalışmada prohepsidin ve IL-6 düzeyinin kronik HCV'li olgularda sağlıklı gruba oranla anlamlı derecede yüksek olduğunu saptamışlardır. Ancak ne alkolik karaciğer hastaları ne de NASH olgularının sağlıklı grupla kıyaslandığında prohepsidin ve IL-6 düzeyleri arasında anlamlı bir fark olmadığını saptamışlardır [89].

Takeo ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada; 11 kronik HBV; 43 kronik Hepatit C'li olgunun karaciğer biyopsisinde TfR-1, TfR-2 ve ferroportin mRNA düzeyini incelemişlerdir. Çalışmanın sonunda serum ferritin konsantrasyonunun anlamlı olarak HCV'li olgularda HBV'li olgulara nazaran daha yüksek saptanmıştır. Ayrıca TfR-2 ve ferroportinin HCV'li olgularda anlamlı düzeyde fazla olduğunu ve karaciğer demir düzeyiyle korele olduğunu göstermişlerdir [41]. Diğer bir çalışmada HCV olgularında hepsidin mRNA ekspresyonu ile hepatik demir konsantrasyonu, serum ferritin düzeyleri arasında pozitif korelasyon mevcutken ALT, AST, HAI (Histolojik aktivasyon İndeksi), viral yük arasında benzer bir korelasyon saptanmamıştır [90].

Ölmez ve arkadaşlarının [91] yapmış olduğu diğer bir çalışmada kronik hepatitli olgularda plazma prohepsidin düzeyi ile demir parametreleri, histolojik aktivite indeksi (HAI) ve karaciğer fibrozis skoru arasındaki ilişki irdelenmiştir. Prohepsidin düzeyi kronik hepatit C'li olgularda kronik hepatit B'li olgulara nazaran anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Benzer sonuç prohepsidin/ferritin oranında da saptanmıştır. Diğer yandan kronik hepatit C'li olgulardaki prohepsidin düzeyi ile HAI ve fibrozis derecesi arasında negatif korelasyon saptanmış ancak HBV olgularında herhangi bir korelasyon saptanmamıştır. Ayrıca her iki hepatit grubunun demir parametreleri ile prohepsidin düzeyleri arasında anlamlı ilişki bulunmamıştır.

Serum prohepsidin düzeylerinin sirozlu olgulardaki karaciğer fonksiyon kaybıyla ilişkili olduğunu savunan bir çalışmada PEG-INF/Ribavirin tedavisi etkinliği ile prohepsidin düzeyleri arasındaki ilişki incelenmiştir. Serum prohepsidin düzeyi antiviral tedavi sonrası anlamlı bir şekilde azalmıştır. Prohepsidin konsantrasyonunda genotip 1'de %31 (48 hf'lık tedavi sonrası) ve genotip 3a'da (24 hf'lık tedavi) %27'lik bir düşüşe neden olmuştur. Genotip 3a'lı olgulardaki serum prohepsidin düzeyi genotip 1'e nazaran daha fazla saptanmıştır. Bazal prohepsidin düzeyi kronik hepatit C'li olgulardaki serum ferritin ve AST ile pozitif korelasyon göstermiştir. Ancak yaş, cinsiyet, karaciğer histolojisi, bazal viral yük, serum demiri ve total demir bağlama kapasitesi (TDBK) ile prohepsidin düzeyi arasında korelasyon saptanmamıştır. Sonuç olarak mevcut çalışma ile başarılı PEG-INF / Ribavirin tedavisi ile kronik hepatit C'li hastalardaki prohepsidin miktarı arasındaki azalma arasında ilişki saptanmış olup, bu ilişkinin HCV ve karaciğerdeki hepsidin maturasyonu ile ilişkili olabileceği ortaya konmuştur [92].

Bununla birlikte kronik HCV olgularında serum prohepsidin regülasyonunun bozulup düzeyinin azaldığını savunan çalışmalar da mevcuttur. Nagashima ve ark. [93] kronik hepatit C'li hastalarda prohepsidin düzeyini kronik hepatit B'liler ve sağlıklı kişilere nazaran daha düşük bulmuşlar ve prohepsidin regülasyonundaki bozukluğun HCV enfeksiyonundan kaynaklandığını iddia etmişlerdir. Fujita ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada hepsidin mRNA düzeylerinin ferritin düzeyleri ya da karaciğer depo demiri ile pozitif korelasyon içinde olduğunu göstermişlerdir. HBV olgularına nazaran HCV olgularında prohepsidin düzeyi daha düşük bulunmuştur. Diğer yandan bu araştırmacılar karaciğer prohepsidin üretiminin bozulmasının kronik HCV'li olgularda hastalık progresyonuna neden olabileceğini saptamışlardır [94]. Ayrıca Nishina ve arkadaşları HCV ilişkili oksijen türlerinin hepsidin transkripsiyonunu azaltabileceğini yapmış oldukları bir çalışmada göstermişlerdir [95].

Bizim çalışmamızda da HBV olgularına nazaran HCV olgularında prohepsidin düzeyi anlamlı derecede daha yüksek bulunmuştur. Ancak her iki grupta prohepsidin ile AST, ALT, ALP, GGT, T.BİL, lipid panelinde arasında ilişki saptanmamıştır. Ayrıca HBV olgularına nazaran HCV olgularında Fe, Transferin saturasyonu ve ferritin düzeyleri daha yüksek saptanmıştır. Karaciğer fonksiyon testleri ile Fe parametreleri arasında pozitif korelasyon saptanmış ancak bu fark anlamlı düzeye ulaşmamıştır.

Prohepsidin gruplar arası dağılımı (Tablo 4.9) görülmekte olup özellikle kronik HCV olgularında yüksek saptanmıştır. Prohepsidin tüm gruplar ele alındığında ferritin ile pozitif korelasyon içerisinde olduğu (Tablo 4.10) görülmüştür. Depo demiri olan ferritin artmasına yanıt olarak karaciğer hepsidin üretiminin arttığını göstermektedir. Ayrıca prohepsidin albuminle negatif korelasyon içerisinde olduğu saptanmış olup bu bulgu, akut faz reaktanı olarak görev alan her iki molekül arasındaki zıt korelasyonun ispatı niteliğindedir.

Kohgo ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada demir depo markırları ile persistan HCV enfeksiyonundaki oksidatif DNA hasarı arasındaki güçlü ilişki üzerinde durmuşlardır. Karaciğerdeki demir birikimi, reaktif oksijen türlerinin üretimini katalize etme kapasitesine sahip olduğu ve sonuç olarak protein yapısında bozulmaya ve DNA hasarına yol açtığı ileri sürülmüştür [96].

Bilindiği gibi demir hepatosit ve kuppfer hücrelerinde depo edilmektedir. Karaciğerde artan demir yükü daha şiddetli fibrozis, artan hepatoselüler kanser (HCC) riski ve antiviral tedaviye dirençle birliktedir. Viral hepatit olgularında karaciğer demir yükündeki artışla bağlantılı karaciğer hasarı görülmektedir. Artan demir birikiminin özellikle kronik viral hepatitlerde uygulanan tedaviye yanıtı da olumsuz etkilediği rapor edilmektedir. Bayraktar ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada desferoksaminle karaciğerden demirin uzaklaştırılmasının interferon yanıtını arttırdığı gösterilmiştir [97].

Fujita ve arkadaşlarının [94] yapmış olduğu çalışmada; flebotomi sonucunda kronik Hepatit C hastalarında demir ile ilişkili belirteçlerde olduğu kadar DNA hasar oluşumunda ve eş zamanlı serum transaminazlarda anlamlı düşme saptanmıştır. Demir birikimi ayrıca HCV'li hastalardaki insülin rezistansı ve karaciğer yağlanması ile ilişkili bulunmuştur [98, 99]. Ayrıca deneysel sonuçlar demir birikiminin hepatik stellat hücreleri aktivasyonunu tetiklediği ve böylece karaciğer fibrozisine neden olduğunu göstermektedir [100]. Kronik hepatit C ile demir metabolizması arasında diğer bir ilişki ise serum demirinin, HCV replikasyon artışına neden olduğunu varsayan deneysel çalışmalardır [101]. Fujita ve arkadaşları [94] total demir miktarı ile Kronik hepatit-C olgularındaki transaminaz aktivitesi, histolojik derecesi ve evresi arasındaki pozitif korelasyonu saptamış ve demir birikimi ile hepatit C tedavisine direnç ilişkisini ortaya koymuşlardır.

Bizim çalışmamızda benzer şekilde özellikle kronik HCV, siroz ve karaciğer nakli yapılan olgularda ferritin düzeyi yüksek saptanmıştır. Literatürde kronik inaktif HBV olguları yerine kronik HBV olguları çalışmalara dahil edilmiştir. Çalışmamızda ferritin düzeyi kronik inaktif HBV hastalarında HCV ve siroz olgularına nazaran daha düşük ölçülmüştür. Diğer yandan HCV olgularına nazaran siroz olgularında ferritin düzeyi daha yüksek saptanmış olup, bu bulgu ferritin düzeyi ile fibrozis derecesi arasındaki korelasyonu desteklemektedir.

Hepsidin, anemi, hipoksiye yol açan durumlarda azalırken demirin artması durumunda ise sentezi artar. Diğer yandan hızlı plazma demir azalmasına neden olan enfeksiyon ve inflamasyon durumlarında hepsidin sentezi indüklenebilir [102]. Literatürde Hb, hepsidin arasındaki ilişkiyi saptamaya dönük çalışmaların bir kısmında prohepsidin ekspresyonunun azalması beklenirken yüksek saptandığı görülmüştür. FEA patogenezinde intestinal Fe absorpsiyonun azaltılması, makrofajlardan Fe aktarımının ferroportin aracılığıyla engellenmesi gibi etkilerinden ötürü hepsidin sentezinin azaltıldığı bilinmektedir. Diğer yandan, hepsidinin sitokinler aracılığıyla kronik hastalık anemisinin patogenezinde önemli rol oynadığı Hb'de düşüşe yol açtığı da bilinmektedir. Ayrıca Hepsidinin demir metabolizmasına negatif etkisi ve hipoferrinemi oluşturması yanında in vitro olarak eritroid öncü hücrelerin proliferasyonlarını ve yaşam sürelerini de azalttığı, eritropoezi bozduğu da gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da FEA olguları ve Fe replasman tedavisi alan olgular dışlanmış olup prohepsidin ile Hb arasında negatif korelasyon saptanmıştır.

Literatürde HCV-prohepsidin ilişkisine dair farklı sonuçlar dikkati çekmektedir. Bunun nedenleri prohepsidin düzeyinin belirlenmesinde demir dışında birçok faktörün rol oynaması ve HCV olgularında genetik değişikliklerin karaciğerde aşırı demir birikimine yol açması gibi nedenlerden kaynaklandığı düşünülmektedir. Örneğin; beta globülindeki mutasyon sonucu ortaya çıkan ve anemiyi kompanze etmek için kemik iliğinde kırmızı kan hücre sentezinin artışı ile seyreden talasemi olgularında hepsidin sentezinin baskılandığını ve demirin karaciğerde depolandığı bilinmektedir [103]. Ayrıca çalışmaların bir kısmında hepsidin mRNA ekspresyonu, bir kısmında prohepsidin düzeylerine bakılmış olup, prohepsidin hepsidine dönüşümündeki mekanizmalar ve aktivite dereceleri henüz yeterince açık değildir.

HCV enfeksiyonunda saptanan beta globulin mutasyonunun karaciğer fibrozis artışı ve karaciğer hasarına yol açtığı bilinmektedir. Sartori ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada herhangi bir antiviral tedavi almayan 100 HCV olgusunun 12 tanesinde heterozigot beta globulin mutasyonu, 29'da HFE gen mutasyonu, bir hastada HFE+beta globulin mutasyonu saptanan ve herhangi bir mutasyon saptanmayan 58 HCV olgusunun alınan karaciğer biyopsi örnekleri kıyaslandığında, karaciğer demir miktarı ve demir boyanmasının beta globulin mutasyonu saptanan hastalarda diğer olgulara nazaran daha yüksek saptamışlardır. Sonuç olarak; heterozigot beta- globulin mutasyonunun HCV olgularındaki hepatik demir birikiminin ve karaciğer fibrozisi gelişinde rol oynayan bir risk faktörü olduğu iddia edilmektedir [104].

Nagashima ve arkadaşları [93] yapmış olduğu başka bir çalışmada serum prohepsidin ve ferritin değerleri arasında hepatit C'li hastalarda negatif korelasyon, hepatit B 'li hastalarda ve sağlıklı grupta pozitif korelasyon saptamışlardır. Ayrıca HCV'li olgulardan alınan karaciğer dokusundaki demir miktarı ile prohepsidin arasında negatif korelasyon saptanmıştır. Sirozlu hastalarındaki serum prohepsidin düzeyi Kronik HCV olgulara nazaran düşük bulunmuştur. Jaroszewicz ve arkadaşları [105] yaptığı bir çalışmada sirozlu hastalarda düşük düzeyde saptanan prohepsidin düzeyinin karaciğer fonksiyonunun kaybının bir göstergesi olarak kabul etmişlerdir. Ölmez ve arkadaşları yapmış olduğu çalışmada kronik hepatit C'li olgularda karaciğer fibrozis düzeyi ile prohepsidin arasında negatif korelasyon olduğunu ancak hepatit B'li olgularda herhangi bir ilişki olmadığını göstermişlerdir [91].

Diğer yandan Wang ve arkadaşları yapmış olduğu bir çalışmada karaciğer hasarı ve fibrozisde anahtar role sahip olan Transforming Growth β faktörün hepsidin transkripsiyon aktivitesini ortadan kaldırdığını göstermişlerdir[106]. Literatüre karaciğer fibrozis derecesi ve prohepsidin arasındaki ilişki hala belirsizdir. Bizim çalışmamızda fibrozis derecesi daha fazla olan dekompanse siroz olgularının prohepsidin düzeyi HCV olgularına kıyasla daha düşük bulunmuştur. Bu bulgu sirozlu hastalarda düşük düzeyde saptanan prohepsidin düzeyinin karaciğer fonksiyonunun kaybının bir göstergesi olarak kabul eden çalışmalarını destekler niteliktedir.

Nicole M. Walker ve arkadaşları yapmış olduğu bir çalışmada ferritin düzeyinin karaciğer nakil bekleyen hasta prognozuyla olan ilişkisini irdemişlerdir.

2000-2006 yılları arasında karaciğer nakil listesine dahil edilen 191 hasta yaklaşık bir yıl boyunca takip edilmiştir. Bu hastalardan serum ferritin düzeyi >400 mcg olan 63 kişinin MELD skorunun ve karaciğer demir birikiminin çalışmaya dahil edilen diğer hastalara nazaran anlamlı derecede daha yüksek olduğu; 180. gün ve birinci yılın sonunda yapılan mortalite analizinde yine serum ferritin düzeyi yüksek olan hastalarda mortalite oranlarının anlamlı derecede yüksek olduğu saptanmıştır. Takip boyunca saptanan karaciğer ilişkili komplikasyonların (spontan bakteriyel peritonit, hepatorenal sendrom, hepatic ensefalopati.) ferritin düzeyi yüksek olan grupta daha çok saptanmıştır. Ayrıca çalışmaya dahil edilen 191 hastadan 27 tanesi nakil bekleme süresinde kaybedilmiş olup bu hastalarında serum ferritin düzeyleri >400 mcg/l saptanmıştır. Sonuçta karaciğer nakil bekleme sürecini ve nakil kararını belirlemede ferritin dikkate alınması gerektiği görülmektedir. Nicole ve arkadaşları ferritin düzeyinin MELD skoru ve HCC'den bağımsız bir prognostik faktör olduğunu göstermişlerdir [107].

Siroz hastalarında saptanan artmış ferritin düzeyinin prognoz ve gelişen komplikasyonlarla olan etkisi henüz tam anlamıyla açıklığa kavuşmamıştır. Artmış karaciğer demir yükünün hepatosit hasarı ile olan ilişkisi yapılan birçok çalışmada gösterilmiştir. Ayrıca artmış karaciğer demir miktarının transplantasyon sonrası süreci olumsuz etkilediği iddia edilmektedir. Suart ve arkadaşları siroz nedeniyle karaciğer nakli yapılan 282 hastanın transplantasyon sonrası sonuçlarını inceledikleri bir çalışmada hastaların %37'sinde karaciğerde demir birikimi saptanmış ve demir birikimi; yaygın karaciğer hastalığı ile anlamlı düzeyde ilişkili bulunmuştur. Ayrıca HFE gen mutasyonu karaciğer demir birikimi artmış olan hastalarda yaygın olarak saptanmamıştır [108].

Tung BY ve arkadaşları yapmış olduğu bir çalışmada hemokromatozis nedeniyle karaciğer nakli yapılan olguların izleminde çalışmaya katılan 37 hastadan 14 tanesinin ancak beş yıl yaşayabildiğini saptamışlardır. Hemokromatozis nedeniyle karaciğer nakli yapılan hastaların, farklı endikasyonlarla karaciğer nakli yapılan benzer yaş grubundaki hastalarla kıyaslandığında transplantasyon sonrası 5 yıllık sağkalım sırasıyla %40 ve %62 olduğunu saptamışlardır [109].

Tobias J. Weismüller ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada karaciğer nakil öncesi serum ferritin düzeyinin karaciğer ilişkili mortalitenin belirleyicisi olup

olmadığını karaciğer transplantasyon sonrası surviye etkisini araştırılmıştır. Çalışmaya 328 hasta dahil edilmiş olup, %20,7 alkole bağlı siroz, %18 HCV'ye bağlı siroz, %17,1 HCC, %12,2 HBV ilişkili siroz, %15,5 primer sklerozan kolanjite bağlı siroz, %6,1 primer bilier siroz %5,5 otoimmün hepatit olgularından oluşturulmuş. Sonuçta serum ferritin düzeyinin yüksek olduğu grubun genel sağkalım oranlarının ferritin düzeyi düşük olan gruba kıyasla daha kısa olduğu saptanmıştır (sırasıyla %61 ve %74) [110].

Kowdley KV ve arkadaşları yapmış olduğu bir çalışmada artmış karaciğer demir birikiminin transplantasyon sonrası surveyi olumsuz etkilediğine dair çalışmalara farklı bir çerçeveden ışık tutmuşlardır. Bu amaçla 260 son dönem karaciğer hastalığı ve artmış karaciğer demir birikimi olan hasta çalışmaya dahil edilmiştir. Karaciğer demir birikimi (Hepatic iron concentration: HIC), karaciğer demir indeksi (hepatic iron index :HII), HFE mutasyonu ve karaciğer nakil sonrası yaşam sürelerine bakılmıştır. HFE ilişkili hemokromatozis hastaların %12,8'de (HFE mutasyonu %7,2 homozigot, %5,6 heterozigot) pozitif saptanmış olup bu hasta grubunda anlamlı olarak transplantasyon sonrası yaşam süresi daha düşük bulunmuştur (1, 3, 5. yaşam süresi oranları sırasıyla %64, %48, %34). Diğer yandan herediter hemokromatozis grubuna dahil edilmeyen ancak karaciğer demir birikimi yüksek olan hastalarında diğer nakil yapılan popülasyona kıyasla yaşam sürelerinin daha kısa olduğunu saptamışlardır [111].

De'tivaud ve arkadaşları [112] karaciğer kanseri (primer ya da sekonder) ya da karaciğer nakli nedeniyle opere edilen toplam 36 hastanın, nontümoral karaciğer dokusundaki karaciğer fibroz düzeyi ile hepsidin mRNA ekspresyonu ve üriner hepsidin düzeyi arasında negatif korelasyon saptamışlardır. Ancak hem hasta gruplarının heterojenitesi, hem de fibrozis derecesinin değişkenliği çalışma sonuçlarını etkilemiştir. Çalışmada hafif fibrozis saptanan hastalar dışlandığında ancak negatif korelasyon saptanabilmiştir. Diğer yandan Hb konsantrasyonu ve karaciğer demir birikimi ile hepsidin arasında pozitif korelasyon saptamışlardır. Bizim çalışmamızda hepatit B ya da C'ye bağlı KC nakli yapılan hastalarda prohepsidin düzeyi, kronik inaktif HBV, HCV ve dekonpanse sirozlu olgularla kıyaslandığında anlamlı fark çıkmamıştır.

Karaciğer transplantasyon sonrası saptanan anemi için birçok faktör (transplantasyon sırasındaki kan kaybı, medikasyon, immunsupresif tedavi, hemoliz, renal yetmezlik, aplastik anemi, Graft-versus-host disease (GVHD)...) suçlanmakta olup; anemi sıklığı %4,3 ile %28,2 arasında değişmektedir. Nakil sonrası anemi etiyolojisi intervaller arası farklılık göstermekte olup 0-14.gün anemi nedeni sıklıkla kanama, sepsis, medikasyon, hemolizken; 2-6. haftalarda aplastik anemi, medikasyon, GVHD, sitomegalovirüs (CMV), parvovirus B19: 6. haftadan sonra medikasyon, demir eksikliği, böbrek yetmezliği, posttransplant lenfoproliferatif hastalık olarak saptanmıştır [113, 114]. Karaciğer nakil sonrası 6. aydan sonra hemoglobin değişiminin minimize olduğu bilinmektedir. Bu nedenle çalışmamıza nakil sonrası en az birinci yılını doldurmuş hastalar alınmıştır. Sonuç olarak ferritin düzeyleri karaciğer nakilli olgularda diğer üç gruba nazaran daha yüksek saptanmıştır. Çalışmamızda ferritin ile KCFT arasında ilişki saptanmamıştır.

Diğer yandan literatürde karaciğer transplantasyonu yapılan olgularda prohepsidin düzeyini araştıran çalışma bulunmamakla birlikte bizim çalışmamızda HBV ya da HCV nedeniyle KC nakli yapılan hastaların AST ve ALT değerleri ile prohepsidin düzeyleri arasında anlamlı düzeyde pozitif korelasyon saptanmıştır. Bu korelasyon transplantasyon sonrası takip parametresi olarak prohepsidinin kullanılabilmesine dair ip uçları vermektedir.

6. SONUÇ

Yapılan çalışmalarda karaciğer nakil öncesi serum ferritin düzeyinin karaciğer ilişkili mortalitede önemli olduğunu ve serum ferritin düzeyinin yüksek olduğu grubun genel sağkalım oranlarının ferritin düzeyi düşük olan gruba kıyasla daha kısa olduğu saptanmıştır. Literatürde karaciğer transplantasyonu yapılan olgularda prohepsidin düzeyini araştıran çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızda karaciğer nakil hastalarında prohepsidin düzeyi kronik inaktif HBV ve siroz hastalarından yüksek ancak HCV hastalarından düşük saptanmıştır. Diğer yandan bizim çalışmamızda HBV ya da HCV nedeniyle KC nakli yapılan hastaların AST ve ALT değerleri ile prohepsidin düzeyleri arasında anlamlı düzeyde pozitif korelasyon saptanmıştır. Karaciğer nakli sonrası karaciğer demir birikimi prognozu gösteren bir faktör olabilir. Bu çalışma karaciğer nakli sonrası Fe metabolizmasında önemli bir faktör olan prohepsidin rolünü araştıran öncül bir çalışmadır. Karaciğer nakli sonrası prohepsidin rolünün daha aydınlatılması için Fe parametrelerinde ve prohepsidin düzeylerindeki değişimlerin ileri dönük uzun dönem izlendiği çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKÇA

1. Ganz, T., *Hepcidin and its role in regulating systemic iron metabolism*. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2006: p. 29-35, 507.
2. Kemna, E.H., et al., *Hepcidin: from discovery to differential diagnosis*. Haematologica, 2008. 93(1): p. 90-7.
3. Hershko, C. and T.E. Peto, *Non-transferrin plasma iron*. Br J Haematol, 1987. 66(2): p. 149-51.
4. Ahmed, N.K., M. Hanna, and W. Wang, *Nontransferrin-bound serum iron in thalassemia and sickle cell patients*. Int J Biochem, 1986. 18(10): p. 953-6.
5. Beutler, E., *Iron storage disease: facts, fiction and progress*. Blood Cells Mol Dis, 2007. 39(2): p. 140-7.
6. Ganz, T., *Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation*. Blood, 2003. 102(3): p. 783-8.
7. Zoller, H., et al., *Duodenal cytochrome b and hephaestin expression in patients with iron deficiency and hemochromatosis*. Gastroenterology, 2003. 125(3): p. 746-54.
8. Fleming, R.E. and B.R. Bacon, *Orchestration of iron homeostasis*. N Engl J Med, 2005. 352(17): p. 1741-4.
9. Ganz, T., *Hepcidin--a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages*. Best Pract Res Clin Haematol, 2005. 18(2): p. 171-82.
10. Atanasiu, V., B. Manolescu, and I. Stoian, *Hepcidin--central regulator of iron metabolism*. Eur J Haematol, 2007. 78(1): p. 1-10.
11. Park, C.H., et al., *Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver*. J Biol Chem, 2001. 276(11): p. 7806-10.
12. Krause, A., et al., *LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity*. FEBS Lett, 2000. 480(2-3): p. 147-50.
13. Pigeon, C., et al., *A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload*. J Biol Chem, 2001. 276(11): p. 7811-9.
14. Ganz, T. and E. Nemeth, *Regulation of iron acquisition and iron distribution in mammals*. Biochim Biophys Acta, 2006. 1763(7): p. 690-9.

15. Sow, F.B., et al., *Expression and localization of hepcidin in macrophages: a role in host defense against tuberculosis*. J Leukoc Biol, 2007. 82(4): p. 934-45.
16. Anderson, G.J., et al., *Regulation of systemic iron homeostasis: how the body responds to changes in iron demand*. Biometals, 2007. 20(3-4): p. 665-74.
17. Wrighting, D.M. and N.C. Andrews, *Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3*. Blood, 2006. 108(9): p. 3204-9.
18. Babitt, J.L., et al., *Modulation of bone morphogenetic protein signaling in vivo regulates systemic iron balance*. J Clin Invest, 2007. 117(7): p. 1933-9.
19. Nemeth, E., et al., *Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein*. Blood, 2003. 101(7): p. 2461-3.
20. Kemna, E., et al., *Time-course analysis of hepcidin, serum iron, and plasma cytokine levels in humans injected with LPS*. Blood, 2005. 106(5): p. 1864-6.
21. Hugman, A., *Hepcidin: an important new regulator of iron homeostasis*. Clin Lab Haematol, 2006. 28(2): p. 75-83.
22. Rossi, E., *Hepcidin--the iron regulatory hormone*. Clin Biochem Rev, 2005. 26(3): p. 47-9.
23. Nemeth, E., et al., *Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization*. Science, 2004. 306(5704): p. 2090-3.
24. Feder, J.N., et al., *A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis*. Nat Genet, 1996. 13(4): p. 399-408.
25. Beutler, E., *Hemochromatosis: genetics and pathophysiology*. Annu Rev Med, 2006. 57: p. 331-47.
26. Edwards, C.Q., et al., *Twenty-four hour variation of transferrin saturation in treated and untreated haemochromatosis homozygotes*. J Intern Med, 1989. 226(5): p. 373-9.
27. Borwein, S., C.N. Ghent, and L.S. Valberg, *Diagnostic efficacy of screening tests for hereditary hemochromatosis*. Can Med Assoc J, 1984. 131(8): p. 895-901.

28. Bassett, M.L., J.W. Halliday, and L.W. Powell, *Value of hepatic iron measurements in early hemochromatosis and determination of the critical iron level associated with fibrosis*. *Hepatology*, 1986. 6(1): p. 24-9.
29. Carella, M., et al., *Mutation analysis of the HLA-H gene in Italian hemochromatosis patients*. *Am J Hum Genet*, 1997. 60(4): p. 828-32.
30. Waheed, A., et al., *Hereditary hemochromatosis: effects of C282Y and H63D mutations on association with beta2-microglobulin, intracellular processing, and cell surface expression of the HFE protein in COS-7 cells*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1997. 94(23): p. 12384-9.
31. Fleming, R.E. and R.S. Britton, *Iron Imports. VI. HFE and regulation of intestinal iron absorption*. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2006. 290(4): p. G590-4.
32. Nicolas, G., et al., *The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation*. *J Clin Invest*, 2002. 110(7): p. 1037-44.
33. Nicolas, G., et al., *Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2001. 98(15): p. 8780-5.
34. Roetto, A., et al., *Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis*. *Nat Genet*, 2003. 33(1): p. 21-2.
35. Lee, P., et al., *Regulation of hepcidin transcription by interleukin-1 and interleukin-6*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2005. 102(6): p. 1906-10.
36. Fleming, R.E., et al., *Pathophysiology of hereditary hemochromatosis*. *Semin Liver Dis*, 2005. 25(4): p. 411-9.
37. Ikuta, K., O. Zak, and P. Aisen, *Recycling, degradation and sensitivity to the synergistic anion of transferrin in the receptor-independent route of iron uptake by human hepatoma (HuH-7) cells*. *Int J Biochem Cell Biol*, 2004. 36(2): p. 340-52.
38. Kawabata, H., et al., *Molecular cloning of transferrin receptor 2. A new member of the transferrin receptor-like family*. *J Biol Chem*, 1999. 274(30): p. 20826-32.

39. Wallace, D.F., et al., *First phenotypic description of transferrin receptor 2 knockout mouse, and the role of hepcidin*. Gut, 2005. 54(7): p. 980-6.
40. Kawabata, H., et al., *Expression of hepcidin is down-regulated in TfR2 mutant mice manifesting a phenotype of hereditary hemochromatosis*. Blood, 2005. 105(1): p. 376-81.
41. Takeo, M., et al., *Upregulation of transferrin receptor 2 and ferroportin 1 mRNA in the liver of patients with chronic hepatitis C*. J Gastroenterol Hepatol, 2005. 20(4): p. 562-9.
42. Saito, H., et al., *Up-regulation of transferrin receptor 1 in chronic hepatitis C: Implication in excess hepatic iron accumulation*. Hepatol Res, 2005. 31(4): p. 203-10.
43. Yutaka Kohgo, K.I., Takaaki Ohtake, Yoshihiro Torimoto, Junji Kato, *Iron overload and cofactors with special reference to alcohol, hepatitis C virus infection and steatosis/insulin resistance* World J Gastroenterol 2007. 13(35): p. 4699-4706
44. Conte, D., et al., *Clinical, biochemical and histological features of primary haemochromatosis: a report of 67 cases*. Liver, 1986. 6(5): p. 310-5.
45. Tsukamoto, H., et al., *Experimental liver cirrhosis induced by alcohol and iron*. J Clin Invest, 1995. 96(1): p. 620-30.
46. Berdoukas V, B.T., Tobias V, et al. , *Liver iron concentration and fibrosis in a cohort of transfusion-dependent patients on long-term desferrioxamine therapy*. Hematol J. , 2004: p.:572-8.
47. Morrison ED, B.D., Phatak PD, et al. , *Serum ferritin level predicts advanced hepatic fibrosis among U.S. patients with phenotypic hemochromatosis*. . Ann Intern Med. , 2003. 138: p. 627-33.
48. Seeger, C. and W.S. Mason, *Hepatitis B virus biology*. Microbiol Mol Biol Rev, 2000. 64(1): p. 51-68.
49. Perz, J.F., et al., *The contributions of hepatitis B virus and hepatitis C virus infections to cirrhosis and primary liver cancer worldwide*. J Hepatol, 2006. 45(4): p. 529-38.
50. Lee, W.M., *Hepatitis B virus infection*. N Engl J Med, 1997. 337(24): p. 1733-45.

51. Farrell, G.C., S.K. Lam, and N. Sato, *Gastroenterology in the Asian-Pacific region in the new millennium: the role of the Journal of Gastroenterology and Hepatology*. J Gastroenterol Hepatol, 2000. 15(4): p. i-ii.
52. Lok, A.S. and B.J. McMahon, *Chronic hepatitis B*. Hepatology, 2001. 34(6): p. 1225-41.
53. Asselah, T., et al., *Management of chronic hepatitis C*. Minerva Gastroenterol Dietol, 2007. 53(1): p. 9-23.
54. Guidelines., C.c.T.o.h.C., *Gastroenterol Clin Biol* 2004: p. B312-B320
55. Gomez, J., et al., *Hepatitis C viral quasispecies*. J Viral Hepat, 1999. 6(1): p. 3-16.
56. Salmeron, J., et al., *Quasispecies as predictive factor of rapid, early and sustained virological responses in chronic hepatitis C, genotype 1, treated with peginterferon-ribavirin*. J Clin Virol, 2008. 41(4): p. 264-9.
57. Simmonds, P., et al., *Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes*. Hepatology, 2005. 42(4): p. 962-73.
58. Esteban, J.I., S. Sauleda, and J. Quer, *The changing epidemiology of hepatitis C virus infection in Europe*. J Hepatol, 2008. 48(1): p. 148-62.
59. Durmaz R.Tabak F, B.İ., Tekeli E, , . *HCV mutasyonları*. Viral Hepatitle Savaşım Derneği Yayını, 2005(1.): p. 170-4.
60. Zein, N.N., *Clinical significance of hepatitis C virus genotypes*. Clin Microbiol Rev, 2000. 13(2): p. 223-35.
61. Bruno, S., et al., *Hepatitis C virus genotypes and risk of hepatocellular carcinoma in cirrhosis: a prospective study*. Hepatology, 1997. 25(3): p. 754-8.
62. Zignego, A.L. and A. Craxi, *Extrahepatic manifestations of hepatitis C virus infection*. Clin Liver Dis, 2008. 12(3): p. 611-36, ix.
63. Gordon, S.C., *Extrahepatic manifestations of hepatitis C*. Dig Dis, 1996. 14(3): p. 157-68.
64. Pellicano, R., et al., *[Chronic HCV hepatopathy and cryoglobulinemia. The associated clinical spectrum]*. Minerva Med, 1999. 90(1-2): p. 1-5.

65. Alter, H.J. and L.B. Seeff, *Recovery, persistence, and sequelae in hepatitis C virus infection: a perspective on long-term outcome*. Semin Liver Dis, 2000. 20(1): p. 17-35.
66. Hepatitis, C.S.E.I.C.C.o. and C". Journal of Hepatology, 2011. 55.
67. Abacioglu, Y.H., et al., *The distribution of hepatitis C virus genotypes in Turkish patients*. J Viral Hepat, 1995. 2(6): p. 297-301.
68. Antaki, N., et al., *The neglected hepatitis C virus genotypes 4, 5 and 6: an international consensus report*. Liver Int. 30(3): p. 342-55.
69. Poynard, T., et al., *Meta-analysis of interferon randomized trials in the treatment of viral hepatitis C: effects of dose and duration*. Hepatology, 1996. 24(4): p. 778-89.
70. Paulon, E. and N.V. Naoumov, *Individualization of antiviral treatment regimens for chronic hepatitis C*. Eur J Gastroenterol Hepatol, 2006. 18(4): p. 321-5.
71. Lukasiewicz, E., et al., *Predicting treatment outcome following 24 weeks peginterferon alpha-2a/ribavirin therapy in patients infected with HCV genotype 1: utility of HCV-RNA at day 0, day 22, day 29, and week 6*. Hepatology, 2007. 45(1): p. 258-9.
72. Sarrazin, C., et al., *Importance of IL28B gene polymorphisms in hepatitis C virus genotype 2 and 3 infected patients*. J Hepatol. 54(3): p. 415-21.
73. Poynard, T., et al., *Peginterferon alfa-2b and ribavirin: effective in patients with hepatitis C who failed interferon alfa/ribavirin therapy*. Gastroenterology, 2009. 136(5): p. 1618-28 e2.
74. Jensen, D.M., et al., *Re-treatment of patients with chronic hepatitis C who do not respond to peginterferon-alpha2b: a randomized trial*. Ann Intern Med, 2009. 150(8): p. 528-40.
75. McHutchison, J.G., et al., *Telaprevir with peginterferon and ribavirin for chronic HCV genotype 1 infection*. N Engl J Med, 2009. 360(18): p. 1827-38.
76. Kwo, P.Y., et al., *Efficacy of boceprevir, an NS3 protease inhibitor, in combination with peginterferon alfa-2b and ribavirin in treatment-naive patients with genotype 1 hepatitis C infection (SPRINT-1): an open-label, randomised, multicentre phase 2 trial*. Lancet. 376(9742): p. 705-16.

77. Asselah, T. and P. Marcellin, *New direct-acting antivirals' combination for the treatment of chronic hepatitis C*. Liver Int. 31 Suppl 1: p. 68-77.
78. Murray, K.F. and R.L. Carithers, Jr., *AASLD practice guidelines: Evaluation of the patient for liver transplantation*. Hepatology, 2005. 41(6): p. 1407-32.
79. Starzl, T.E., *Liver transplantation*. Gastroenterology, 1997. 112(1): p. 288-91.
80. David JK\Fink MP, A.E., Vincent JL, Kochanek PM *Liver transplantation*. Textbook of Critical Care, 2005(5.).
81. Adam, R. and E. Hoti, *Liver transplantation: the current situation*. Semin Liver Dis, 2009. 29(1): p. 3-18.
82. Kim, W.R., et al., *Outcome of liver transplantation for hepatitis B in the United States*. Liver Transpl, 2004. 10(8): p. 968-74.
83. Feray, C., et al., *Influence of the genotypes of hepatitis C virus on the severity of recurrent liver disease after liver transplantation*. Gastroenterology, 1995. 108(4): p. 1088-96.
84. Drakesmith, H. and A. Prentice, *Viral infection and iron metabolism*. Nat Rev Microbiol, 2008. 6(7): p. 541-52.
85. Piperno, A., et al., *Liver iron concentration in chronic viral hepatitis: a study of 98 patients*. Eur J Gastroenterol Hepatol, 1995. 7(12): p. 1203-8.
86. Fujita, N., et al., *Hepatic iron accumulation is associated with disease progression and resistance to interferon/ribavirin combination therapy in chronic hepatitis C*. J Gastroenterol Hepatol, 2007. 22(11): p. 1886-93.
87. Aoki, C.A., et al., *Liver hepcidin mRNA correlates with iron stores, but not inflammation, in patients with chronic hepatitis C*. J Clin Gastroenterol, 2005. 39(1): p. 71-4.
88. Shan, Y., R.W. Lambrecht, and H.L. Bonkovsky, *Association of hepatitis C virus infection with serum iron status: analysis of data from the third National Health and Nutrition Examination Survey*. Clin Infect Dis, 2005. 40(6): p. 834-41.
89. Sang Hyub Lee, S.-H.J., Young Soo Park, Jin-Hyeok Hwang, Jin-Wook Kim, Nayoung Kim, Dong Ho Lee, *Serum prohepcidin levels in chronic hepatitis C, alcoholic liver disease, and nonalcoholic fatty liver disease*. The Korean Journal of Hepatology 2010: p. 288-294

90. Yutaka Kohgo, K.I., Takaaki Ohtake, Yoshihiro Torimoto, Junji Kato, *Iron overload and cofactors with special reference to alcohol, hepatitis C virus infection and steatosis/insulin resistance* World J Gastroenterol, 2007: p. 4699-4706
91. Olmez, O.F., S. Gurel, and Y. Yilmaz, *Plasma prohepcidin levels in patients with chronic viral hepatitis: relationship with liver fibrosis*. Eur J Gastroenterol Hepatol. 22(4): p. 461-5.
92. Jerzy Jaroszewicz, M.R., Iwona Flisiak, Robert Flisiak *Successful antiviral therapy is associated with a decrease of serum prohepcidin in chronic hepatitis C*. World J Gastroenterol 2010: p. 1747-1752.
93. Nagashima, M., et al., *Regulatory failure of serum prohepcidin levels in patients with hepatitis C*. Hepatol Res, 2006. 36(4): p. 288-93.
94. Fujita, N., et al., *Influence of phlebotomy on iron-related gene expression levels in the livers of patients with chronic hepatitis C*. J Gastroenterol, 2007. 42(4): p. 326-7.
95. Nishina, S., et al., *Hepatitis C virus-induced reactive oxygen species raise hepatic iron level in mice by reducing hepcidin transcription*. Gastroenterology, 2008. 134(1): p. 226-38.
96. Kohgo, Y., et al., *Iron overload and cofactors with special reference to alcohol, hepatitis C virus infection and steatosis/insulin resistance*. World J Gastroenterol, 2007. 13(35): p. 4699-706.
97. Bayraktar, Y., et al., *The use of deferoxamine infusions to enhance the response rate to interferon-alpha treatment of chronic viral hepatitis B*. J Viral Hepat, 1996. 3(3): p. 129-35.
98. Sumida, Y., et al., *Hepatic iron accumulation may be associated with insulin resistance in patients with chronic hepatitis C*. Hepatol Res, 2007. 37(11): p. 932-40.
99. Sebastiani, G., et al., *Hepatic iron, liver steatosis and viral genotypes in patients with chronic hepatitis C*. J Viral Hepat, 2006. 13(3): p. 199-205.
100. Martinelli, A.L., L.N. Ramalho, and S. Zucoloto, *Hepatic stellate cells in hepatitis C patients: relationship with liver iron deposits and severity of liver disease*. J Gastroenterol Hepatol, 2004. 19(1): p. 91-8.

101. Kakizaki, S., et al., *Iron enhances hepatitis C virus replication in cultured human hepatocytes*. Liver, 2000. 20(2): p. 125-8.
102. Peyssonnaud, C., et al., *Regulation of iron homeostasis by the hypoxia-inducible transcription factors (HIFs)*. J Clin Invest, 2007. 117(7): p. 1926-32.
103. Gardenghi, S., et al., *Ineffective erythropoiesis in beta-thalassemia is characterized by increased iron absorption mediated by down-regulation of hepcidin and up-regulation of ferroportin*. Blood, 2007. 109(11): p. 5027-35.
104. Sartori, M., et al., *Heterozygous beta-globin gene mutations as a risk factor for iron accumulation and liver fibrosis in chronic hepatitis C*. Gut, 2007. 56(5): p. 693-8.
105. Jaroszewicz, J., M. Rogalska, and R. Flisiak, *Serum prohepcidin reflects the degree of liver function impairment in liver cirrhosis*. Biomarkers, 2008. 13(5): p. 478-85.
106. Wang, R.H., et al., *A role of SMAD4 in iron metabolism through the positive regulation of hepcidin expression*. Cell Metab, 2005. 2(6): p. 399-409.
107. Walker, N.M., et al., *Serum ferritin concentration predicts mortality in patients awaiting liver transplantation*. Hepatology. 51(5): p. 1683-91.
108. Stuart, K.A., et al., *Increased hepatic iron and cirrhosis: no evidence for an adverse effect on patient outcome following liver transplantation*. Hepatology, 2000. 32(6): p. 1200-7.
109. Tung, B.Y., et al., *Long-term follow-up after liver transplantation in patients with hepatic iron overload*. Liver Transpl Surg, 1999. 5(5): p. 369-74.
110. Weismuller, T.J., et al., *Serum ferritin concentration and transferrin saturation before liver transplantation predict decreased long-term recipient survival*. Hepatology.
111. Kowdley, K.V., et al., *Survival after liver transplantation in patients with hepatic iron overload: the national hemochromatosis transplant registry*. Gastroenterology, 2005. 129(2): p. 494-503.
112. De´ tivaud L, N.E., Boudjema K, Turlin B, Troadec MB, Leroyer P, et al., *Hepcidin levels in humans are correlated with hepatic iron stores, hemoglobin levels, and hepatic function*. 2005: p. 746-748.

113. Maheshwari, A., R. Mishra, and P.J. Thuluvath, *Post-liver-transplant anemia: etiology and management*. Liver Transpl, 2004. 10(2): p. 165-73.
114. Misra, S., et al., *Profile of anemia in children after liver transplantation*. Transplantation, 2000. 70(10): p. 1459-63.