



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI**

**KRONİK HEPATİT-C HASTALARINDA PLAZMA PROHEPCİDİN
VE DEMİR PARAMETRELERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

Dr. Ömer Fatih ÖLMEZ

UZMANLIK TEZİ

Bursa – 2009



**T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI
GASTROENTEROLOJİ BİLİM DALI**

**KRONİK HEPATİT-C HASTALARINDA PLAZMA PROHEPCİDİN
VE DEMİR PARAMETRELERİ ARASINDAKİ İLİŞKİ**

Dr. Ömer Fatih ÖLMEZ

UZMANLIK TEZİ

Danışman: Prof. Dr. Selim GÜREL

Bursa – 2009

İÇİNDEKİLER

Türkçe Özet	ii-iii
İngilizce Özet	iv-v
Giriş ve Amaç	1-2
Gereç ve Yöntem	30-34
Bulgular	35-43
Tartışma	44-48
Sonuç	49
Kaynaklar	50-62
Özgeçmiş	63
Teşekkür	64

ÖZET

Kronik hepatit C hastalarında karaciğer hasarının gelişimindeki fizyopatolojik süreçte demir merkezi bir rol almaktadır. Bu vakalarda plazma ve karaciğer demir miktarında artma gösterilmiştir. Kronik hepatit C hastalarındaki bu demir birikiminin fizyopatogenezi açık değildir. Son zamanlarda karaciğerden sentez edilip salınan hepcidin demir metabolizması üzerindeki düzenleyici rolü üstüne çalışmalar yapılmaktadır. Hecpidin ekspresyonu inflamasyon ve enfeksiyon durumlarında artmaktadır. Biz çalışmamızda kronik hepatit C (KHC) vakalarındaki plazma prohepcidin seviyesi ve demir parametreleri arasındaki ilişkiyi, kronik hepatit B (KHB) ve kontrol grubu ile kronik hepatit C grubu arasındaki farklılıkları ortaya koymayı amaçladık.

Çalışmaya 35 kronik hepatit C'li, 27 kronik hepatit B'li hasta ve 21 sağlıklı gönüllü dahil edildi. Çalışmaya katılan hastalarda plazma prohepcidin seviyesi ile demir parametreleri, hepatik aktivite indeksleri, fibrozis ve gruplar arası farklılıklar analiz edildi. Kronik hepatit C ve kontrol grubunda plazma prohepcidin seviyesi ile demir parametreleri arasında negatif korelasyon olmasına rağmen bu anlamlı düzeyde değildi ($p>0,05$). Kronik hepatit B ile plazma prohepcidin seviyesi arasında da anlamlı ilişki saptanmadı ($p>0,05$). KHC grubunda hepatik aktivite indeksi ile plazma prohepcidin seviyesi arasında negatif ilişki anlamlı düzeyde iken tüm gruplar analiz edildiğinde fibrozis ile plazma prohepcidin seviyesi arasında anlamlı negatif ilişki bulundu ($p<0,05$). Plazma demir ve ferritin seviyesi en yüksek KHB grubunda ve en düşük kontrol grubunda saptandı ve fark anlamlı düzeyde idi ($p<0,05$). Her üç grup arasında plazma prohepcidin seviyeleri karşılaştırıldığında, kadınlarda prohepcidin seviyesi her üç grupta da

erkeklere göre daha yüksek bulundu. Plazma prohepcidin seviyesi en düşük KHB grubunda iken en yüksek kontrol grubunda tespit edildi ve fark istatistiki olarak anlamlı idi ($p<0,05$). KHC grubundaki prohepcidin seviyesi kontrol grubuna göre daha düşük tespit edildi ancak istatistiki anlamlılık saptanmadı.

KHB ve KHC grubundaki prohepcidin seviyesinin kontrol grubuna göre düşük olması kronik hepatit vakalarındaki hepcidin salınım bozukluğuna işaret etmektedir. Özellikle KHC vakalarındaki artmış serbest oksijen radikallerinin hepcidinin bozulmuş regülasyonundaki yeri literatür tarafından ortaya koyulmaya başlanmıştır.

Sonuç olarak aşırı demir birikiminin kronik hepatit sürecindeki karaciğerde yol açtığı hasar bilinmektedir. Plazma demirinin negatif düzenleyici faktörü olan hepcidinin aşırı demir birikimindeki rolünü açığa çıkarmak için çok merkezli, randomize ve hasta sayısı fazla olan çalışmalara ihtiyacı vardır.

Anahtar kelimeler: Kronik hepatit C, kronik hepatit B, demir, prohepcidin, histopatoloji

SUMMARY

THE RELATIONSHIP BETWEEN IRON PARAMETERS AND PLASMA PROHEPCIDIN LEVELS IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS C

Iron plays a central role in the physiopathological process of liver damage development in patients with chronic hepatitis C (CH-C). It has been showed that the amount of plasma and hepatic iron load is increased in these cases. Physiopathogenesis of iron accumulation in CH-C patients is not clear. In recent years, studies have been conducted on the regulatory role of hepcidin in iron metabolism. In this study we aimed to show the relationship between plasma prohepcidin levels and iron parameters in CH-C patients and the difference between the CH-C group and chronic hepatitis B (CH-B) and control groups.

Totally, 35 CH-C patients, 27 CH-B patients and 21 healthy volunteers were included in the study. The associations between plasma prohepcidin levels and iron parameters, hepatic activity index, fibrosis were analyzed, and intergroup differences were assessed. Although it is not significant, there was a negative correlation between plasma prohepcidin levels and iron parameters in CH-C and control groups ($p>0.05$). There was no significant correlation between iron parameters and plasma prohepcidin levels in CH-B patients ($p>0.05$). While a negative significant correlation was observed between hepatic activity index and plasma prohepcidin level in CH-C group also a negative correlation was detected between fibrosis and plasma prohepcidin levels, when all groups were taken into analysis ($p<0.05$). The highest plasma iron and ferritin levels were detected in CH-B group and the lowest levels were detected in control group and the differences were found to be significant ($p<0.05$).

It has been noted that the plasma prohepcidin levels were significantly high in all women in all 3 groups. It was statistically significant that the lowest

plasma prohepcidin levels were in CH-B group and the highest levels were in control group ($p < 0,05$). The prohepcidin levels found lower than control group but it wasn't statistically significant.

Lower levels of prohepcidin in CH-B and CH-C groups compared with the control group indicated the defective release of hepcidin in the cases of chronic hepatitis. The importance of increased free oxygen radicals in the regulation of the defective release of hepcidin, especially in CH-C cases, has been revealed with clinical trials.

In conclusion, excess iron accumulation is known to lead to liver damage in chronic hepatitis course. Multicenter, randomized studies with larger patient groups are required to reveal the role of the hepcidin, which is a negative regulatory factor of the plasma iron, in iron over accumulation.

Key Words: Chronic hepatitis C, chronic hepatitis B, iron, prohepcidin, histopathology.

GİRİŞ

Hepatit C virus (HCV) enfeksiyonu batılı ülkelerde kronik karaciğer hastalığı yapan en yaygın nedenlerden biridir. HCV enfeksiyonu geçiren kişilerde, kronik ve yavaş ilerleyen kronik karaciğer hastalığı gelişmekte sonuç olarak da siroz ve hepatosellüler karsinom (HCC) gelişebilmektedir (1). Bu istenmeyen sonuçların oluşmasında cinsiyet, hastalık yaşı ve alkol alımı gibi faktörler suçlanmaktadır (2-4). Günümüzde demir, kronik HCV enfeksiyonunun doğal seyrine etki eden önemli faktörlerden biri olarak karşımıza çıkmaktadır.

Demir birçok hücresel işlev için gerekli olan temel bir elementdir. Bununla birlikte artmış serbest demir toksiktir ve serbest oksijen radikallerinin üretimine neden olarak hücre hasarına neden olur. Oksidatif stresin birçok çeşidi kronik HCV enfeksiyonundaki karaciğer hücre hasarının gelişimine katkıda bulunur. Serum ferritin ve karaciğer demir konsantrasyon seviyeleri kronik HCV hastalarında sıklıkla artmıştır (5,6). HCV enfeksiyonunun bu özelliği onun daha agresif seyretmesi (7) ve interferon tedavisine daha az yanıtı ile ilişkilidir (8-13). Ek olarak, kronik HCV hastalarında uygulanan flebotomi tedavisi ile serum ALT seviyelerinin normalleşmesinin sağlanması (14) artmış demirin hepatosellüler hasar için merkezi rolünü göstermektedir ve bununla ilgili ileri araştırmalar yapılmaktadır.

Hepcidin 25 amino asit (aa.) içeren bir peptiddir ve onun 84 aa. içeren inaktif prohormonu olan prohepcidin karaciğerde sentez edilir. Prohepcidin serum ve idrar örneklerinden elde edilebilir. Hepcidin intestinal demir emiliminde

ve makrofajlar tarafından demir depolanmasında merkezi bir rol almaktadır. Hepsidin üretimi inflamasyon ve demir birikiminde aşırı şekilde uyarılmaktadır (16-18). Hepsidin akut faz proteini olarak infeksiyon ve inflamasyona artmış antimikrobiyal aktivite ile yanıt verir (19). Hepsidin eksik olan farelerin karaciğerinde demir birikimi (20) olurken, yetersiz hepsidin salınımında ise kronik hastalık anemisi gelişir (21,22).

HCV enfeksiyonunda ortaya çıkan patolojik demir birikiminin nedeni yapılan çalışmalar ile aydınlatılmaya başlanmıştır. HCV enfeksiyonunda demir birikimini hepsidinin düzenlediğini gösteren ilk çalışmalardan (23) sonra günümüzde demir birikimi sonrası oluşan reaktif oksijen radikallerinin hepsidin transkripsiyonu üzerine olan etkileri çalışılmaktadır (24).

AMAÇ

Biz bu çalışmada kronik hepatit C hastalarındaki karaciğer demir birikiminin serum göstergeleri ile serum prohepsidin seviyesi arasındaki ilişkiyi ve bu parametrelerin aynı zamanda kronik hepatit B ve sağlıklı kontrol grubu ile kronik hepatit C hastalarındaki değişimlerinin karşılaştırılmasını amaçladık.

GENEL BİLGİLER

Kronik Hepatit C Virüs Enfeksiyonu

Hepatit C virus (HCV), Flaviviridae ailesinden küçük bir RNA virüsüdür, dünyada kronik karaciğer hastalıklarının ana nedenlerinden biridir. Dünyada yaklaşık 170 milyon kişi (%3) HCV ile kronik olarak enfektedir. HCV ile enfekte bireylerin çoğunluğunda kronik hepatit gelişir ve bunların da önemli bir kısmı siroz veya hepatosellüler karsinoma ile komplike olur. ABD`de son dönem karaciğer hastalıkları nedeniyle yapılan karaciğer transplantasyonlarında ilk sırada HCV ile ilişkili karaciğer hastalıkları bulunmaktadır.

Epidemiyoloji

HCV enfeksiyon prevalansı dünyada oldukça değişiklik gösterir. İskandinav ülkelerinde %5`in altındayken Mısır`da bu oran %20`nin üzerindedir. ABD`de ise yaklaşık 3 milyon insan (%1) HCV ile enfektedir. ABD`de HCV`ye sekonder gelişmiş kronik hepatite bağlı yıllık ölüm sayısı 8000-13000 arasındadır.

ABD`de Anti-HCV prevalansı yaklaşık %1.6 (4.1 milyon anti-HCV pozitif kişi) civarındadır (25). Pozitif HCV prevalansı ise %1.3 (3.2 milyon HCV-RNA pozitif kişi) civarındadır. Hastalık en fazla 40-49 yaş arasında görülmektedir. Anti-HCV pozitifliği, dünyada ve Türkiye`de ortalama olarak %1 dolayındadır.

Ancak Türkiye için %3'e varan oranların bildirildiği çalışmalar da vardır. Türkiye'de hastanede yatan 1004 hasta üzerinde yapılan bir araştırmada anti-HCV prevalansı %2.6 olarak bulunmuştur (26).

Risk Faktörleri

Avrupa ve ABD`de HCV enfekte kişilerin çoğu, hastalığı iv uyuşturucu kullanımı veya kan transfüzyonuyla almıştır.

İV Yasadışı İlaç Bağımlılığı: Uyuşturucu bağımlılarının % 40-80'i, bir yıllık süre sonunda HCV ile enfekte hale gelmektedir.

Kan Transfüzyonu: 1990`lı yıllarda rutin serolojik testlerin uygulanmaya başlanmasıyla kan transfüzyonu ile ilişkili HCV bulaşma riski 1/100000 oranına kadar gerilemiştir.

Seksüel Yolla Geçiş: Tek eşli seksüel hayat yaşayanlarda HCV`nin seksüel yolla bulaşması çok nadirdir (yıllık <%1) (27), risk çoklu eşle seksüel hayat yaşayanlarda artmaktadır.

Perinatal Geçiş: HCV`nin perinatal bulaşma oranı yüksek HCV-RNA düzeyi ile ilişkilidir ve bu oran % 5 olarak kabul edilmektedir (28).

Hemodiyaliz: Diyalize giren hastalarda son yıllarda HCV prevalansı ve insidansı giderek azalmaktadır. Avrupa`da hemodiyalize giren hastalarda prevalans 1992`de %21 iken 1993`de %17.7`ye gerilemiştir (29). Ülkemizde ise bu oran %43.6-51.2 arasında değişmektedir (30,31).

Diğer Nadir Nedenler: Endoskopik girişimler, dövme, piercing, kazayla iğne batması, vb.

Patogenez

Virüs 40-50 nm. büyüklüğünde, lipid zarflı (organik çözücülere duyarlı zarf yapısı), tek iplikçikli, pozitif kutuplu 9500 nükleotid içeren bir RNA virüsüdür. Pek çok RNA virüsü gibi HCV'nin de genom düzeyinde değişkenliği fazladır. Bu durum, RNA bağımlı RNA polimerazların "proofreading" (düzeltme) aktivitelerinin olmamasından kaynaklanır (32). Böylece, türümsüler de denen quasispecies adlı, enfekte kişideki nükleotidleri az çok farklı virüsler topluluğu ortaya çıkmaktadır. Bu özellik virüsün immün yanıtta kaçarak dirençli bir biçimde var olmasını ve enfeksiyonun sürekliliğini sağlar. Böylece virüse karşı oluşan antikor yanıtları yeterli olmamakta ve virüs etkisizleştirilememektedir (33). Hücresel immün cevap ve T hücreleri aracılığıyla salgılanan sitokinler de şüphe götürmez bir şekilde Hepatit C`nin yaptığı karaciğer hasarında ve klinik tablonun gelişmesinde etkilidir. Muhtemelen HCV tarafından enfekte edilmiş olan lenfoid hücreler HCV`ye karşı verilecek olan immün cevapta düzenleyici rol oynamaktadır. Veriler, virüsün doğrudan sitotoksik etkisinin varsa bile çok küçük oranda olduğunu düşündürmektedir; çünkü dolaşımdaki viral yüke karşın karaciğer hasarının hafif kalabilmesi bu hasardan konak immün yanıtının sorumlu olduğunu göstermektedir. İnflamasyon alanlarında CD-8 lenfositlerinin bulunduğunu gösteren çalışmalar desteğinde süregiden karaciğer inflamasyonunda sitotoksik T lenfositlerin rol aldığını düşündürmektedir. Yalnız bu sitotoksik T lenfosit yanıtı virüsü ortadan kaldırmaya yetmemektedir (34,36).

HCV`nin 6 major genotipi tanımlanmıştır (37), aynı zamanda 50`den fazla alt tipi olduğu belirlenmiştir, en sık görülen alttipler 1a,1b, 2a ve 2b`dir (38). Genotipler arasında %30 veya daha fazla oranda farklılıklar olabilmektedir. Genotip 1 Amerika ve Avrupa`da en yaygın görülen tiptir (39,40), bunları genotip 2 ve 3 takip eder. Genotip 4, Afrika ve Ortadoğu`da; genotip 5 Güney Afrika`da; genotip 6 ise Avustralya`da daha yaygındır. Ülkemizde prognozu daha ciddi sayılan tip1b siktir. Tip 1b genel olarak dünyada en yaygın görülen tiptir.

Patoloji

Karaciğer biyopsisi kronik hepatit C`de karaciğer hasarının değerlendirilmesinde hala altın standart olarak kabul edilmektedir. Biyopsi aynı zamanda, benzer klinik tabloya yol açabilecek diğer karaciğer hastalıklarını ekarte etmeye yardımcı olabilir (41). Bu nedenle karaciğer biyopsisi kronik HCV enfeksiyonlu hastaların başlangıç değerlendirilmesinde genellikle tavsiye edilir (42,43). Kronik HCV enfeksiyonunda karaciğer biyopsi bulguları fibrozis olmadan veya hafif fibrozisin eşlik ettiği minimal portal inflamasyondan, yaygın fibrozisle birlikte önemli derecede nekroinflamatuvar değişikliklerin olduğu ve karaciğer yapısının bozulduğu tabloya kadar değişir.

Kronik hepatitin 'derecesi' nekroz ve inflamasyon bakımından hastalığın aktivitesi anlamını taşır. Hastalığın `evresi` denildiğinde fibrozun ne kadar ilerlemiş olduğu, sirozun varlığı anlaşılır. Nekroinflamatuvar değişikliklerin yoğunluğunu ve fibrozisin yaygınlığını değerlendirmek için skorlama sistemleri geliştirilmiştir. En sık kullanılan derecelendirme ve evrelendirme sistemi Knodell'in histolojik aktivite indeksidir.

Klinik

HCV enfeksiyonu asemptomatik seyredebileceği gibi dekompanse siroz ve HCC`ye neden olabilen şiddetli kronik karaciğer hastalığına da yol açabilir. HCV enfeksiyonu aynı zamanda ekstrahepatik bozukluklara yol açabilir, bu bozuklukların çoğu otoimmün mekanizmalarla ortaya çıkar.

Akut Hepatit C

Sessiz seyretmesi ve yüksek oranda kronikleşmeye meyilli olması (%55-85) akut hepatit C`nin belirgin özellikleridir. Genellikle asemptomatik seyreder. Vakaların %25`inde yorgunluk, iştahsızlık, bulantı, miyalji, baş ağrısı

gibi semptomlar görülebilir, sarılık ise daha az oranda ortaya çıkar. Fulminan hepatik yetmezlik çok nadirdir, ancak altta yatan kronik hepatit B enfeksiyonu olan hastalarda daha yaygın olabilir (44,45). Akut hepatit C iyileşme eğiliminde olacak ise; maruziyetten 1-2 hafta sonra HCV-RNA pozitifliği, bunu takiben ALT artışı görülür. Yaklaşık 8 hafta sonra ise anti-HCV pozitifleşir. Akut hepatit C, vakaların %10-40`ında kendiliğinden geriler. İyileşme döneminde önce HCV-RNA temizlenir ve ALT seviyeleri normalleşir, uzun dönemde de anti-HCV kaybolur. Bu anti-HCV`den temizlenme süresi yıllar alabilir (46).

Kronik Hepatit ve Siroz

Akut hepatit C`den sonra kronik enfeksiyon gelişme riski oldukça yüksektir. Birçok çalışmada hastaların %80-100`ünde HCV-RNA`nın pozitif kaldığı, %60-80`inde ise transaminazların sürekli yüksek kaldığı gösterilmiştir (47,48). Kronik enfeksiyonun bu yüksek prevalansından sorumlu mekanizmalar açık değildir. Virüsün genetik çeşitliliği, hızlı mutasyona eğilimi olması gibi faktörler immün sistemden kaçmasını sağlıyor olabilir (49,50).

Kronik hepatit C persistan transaminaz yüksekliği ve HCV-RNA pozitifliği ile karakterizedir. Ama bazı hastalarda serum transaminaz düzeyleri uzun zaman periyodları boyunca normal kalabilir. Bu hastalar genellikle hafif karaciğer hastalığına sahiptirler.

Kronik HCV enfeksiyonlu hastaların çoğunluğu asemptomatiktir. En sık görülen semptom halsizliktir (51). Hastaların yaklaşık 1/3`ü normal aminotransferaz seviyesine sahiptir (48,52). Hastaların yalnızca %25`inde ALT düzeyi normalin 2 katından yüksektir, normalin 10 katından fazla artış ise çok nadirdir. Hastaların geri kalanında ise hafif transaminaz yükseklikleri görülür.

Siroza ilerleyiş genellikle sessizdir, kronik HCV enfeksiyonlu hastaların yaklaşık %50`sinde 10-20 yıllık takiplerinin sonucunda siroz gelişir (53-55). Trombosit sayısının azalması veya AST/ALT oranının ters dönmesiyle siroza gidişten şüphelenilmelidir. Ek olarak, ultrasonografik anormallikler siroza işaret

edebilir. Sirozlu hastalar genellikle birçok yıl kompanse kalır, 200 hastalık bir çalışmada 5 yıllık takip sonunda kompanse sirozlu hastaların yaklaşık %51`inde dekompanseasyon gelişmiştir (56).

Hepatosellüler Karsinoma

Kronik hepatit C ile HCC arasındaki ilişki iyi bilinmektedir. ABD`de HCC`li hastaların yaklaşık 1/3`ünde HCV`ye rastlanmaktadır. HCV ilişkili siroz geliştiğinde yılda % 0-3 arasında HCC gelişme riskinin olduğu tahmin edilmektedir (58,59).

Ekstrahepatik Manifestasyonlar

Çeşitli ekstrahepatik bozuklukların HCV enfeksiyonu ile ilişkili olduğu dökümanente edilmiştir (Kriyoglobulinemi, membranöz proliferatif glomerulonefrit, serum otoantikorları, non Hodgkin lenfoma, porfiria kutanea tarda, liken planus). Mikst kriyoglobulinemi ile HCV enfeksiyonu arasındaki ilişki belirgindir ve bu hastaların yaklaşık %95`inde anti-HCV pozitif bulunur (60-62). Kronik hepatit C`li hastaların ise yaklaşık %30`unda kriyoglobulinler saptanabilir fakat kriyoglobulinemi ile ilişkili semptomlar nadirdir. 321 hastanın bulunduğu bir seride ekstrahepatik manifestasyonlardan en az birinin bulunduğu hastaların oranı %38 olarak bulunmuştur (63).

Ayırıcı Tanı

Kronik hepatit klinik olarak benzer özelliklere sahip olan ancak tedaviye farklı yanıtlar veren ve bireysel olarak ele alınması gereken birçok hastalığa bağlı olarak gelişebilir. Kronik hepatit şüphesi taşıyan bireyler karaciğer yağlanması, alkole veya ilaca bağlı karaciğer hastalığı ve metabolik karaciğer hastalığı açısından araştırılmalıdır çünkü bu hastalıklar hem kronik hepatite yol

açan hastalıkları taklit edebilir hem de kronik hepatite yol açan hastalıklarla eş zamanlı olarak görülebilir. Viral hepatitin risk faktörlerini belirlemek üzere tasarlanmış bir hikaye alındıktan sonra özgül ve uygun serolojik testler tanı koymak için kullanılabilir. Özel boyaların kullanıldığı karaciğer biyopsisi tanıyı doğrulamak, hasarın aktivitesini ve ağırlığını değerlendirmek, hastalığın evresini belirlemek için kullanılabilir (64).

Tanısal Metodlar

Anti-HCV Testi

Anti-HCV, enfeksiyondan 3-6 hafta kadar sonra ELISA ile saptanabilir, akut hepatit tanısı için yararlı bir testtir. Kronik enfeksiyonlu hastalarda oldukça yüksek pozitif reaksiyon verir. Yanlış negatif sonuçlar immunsuprese hastalarda (HIV enfeksiyonu, renal yetmezlikli hasta) meydana gelebilirken, yanlış pozitif sonuçlar (düşük riskli grupta, örneğin kan donörlerinde %0.5-1) nadirdir (65).

HCV RNA Saptanması

Klinik uygulamalarda HCV-RNA'nın kalitatif veya kantitatif saptanması yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunun için ticari kitler geliştirilmiştir. Oldukça yüksek sensitiviteye sahiptirler, 100 IU/mL'den daha az HCV-RNA'yı dahi saptayabilirler (66). HCV enfeksiyonunun ilk biyokimyasal kanıtı HCV-RNA'nın serumda veya karaciğerde bulunmasıdır. HCV-RNA PCR yöntemiyle serumda HCV'ye maruziyetten günler sonra veya 8 haftaya kadar değişen süre içerisinde saptanabilir.

HCV Genotip Testi

HCV genotipinin belirlenmesi tanı için gereksizdir, ancak tedavi süresinin belirlenmesinde ve tedaviye verilecek cevabın tahmin edilmesinde faydalıdır. Genotip 2 ve 3, genotip 1`e göre antiviral tedaviye daha iyi cevap verir (67,68). HCV genotipinin belirlenmesi için birçok test geliştirilmiştir, ancak çoğunun temeli PCR yöntemine dayanır.

Tedavi

Hepatit C`nin tedavisi hızlı bir gelişim içindedir. İnterferon alfa kronik hepatit C`nin tedavisinde on yılı aşkın bir süredir başarıyla kullanılmaktaysa da bir kür interferon alfa monoterapisine kalıcı virolojik yanıt oranı sadece %10-20`dir. İnterferon alfa ve ribavirinin kombine olarak kullanılmasıyla kalıcı virolojik yanıt oranı önemli ölçüde artarak %35-45`e ulaşmıştır. Peginterferon ve ribavirinin kombine olarak verildiği 48 haftalık bir kürde alınan ortalama virolojik yanıt oranı %54-56`dır (67,68). Tedavi öncesinde, kombinasyon tedavisine alınacak yanıtı olumlu yönde etkileyen faktörler kısa hastalık süresi, ağır hepatik fibroz ve siroz bulunmaması, düşük HCV-RNA düzeyi, genotip 2 ve 3`dür. Virolojik yanıtın uzun süreli olması HCV-RNA`nın erken klirensinin sağlanması (tedavinin başlangıcından itibaren 3 ay içinde) ve uzun süreli tedaviyle orantılıdır. Genotip 2 ve 3`lü hastalarda kalıcı yanıt oranları %70-80`dir ve bu oranlara 24 haftalık daha düşük doz ribavirin (günlük 800mg) kürüyle ulaşılabilir. Bunun tersine genotip 1`li hastalarda kalıcı yanıt sağlanması, 48 haftalık kürde (%40-45) 24 haftalık küre göre daha sıktır ve optimal yanıt oranlarını elde edilebilmesi için ribavirinin tam doz kullanılması gerekir (günlük 1000-1200 mg).

Kronik hepatit C tedavisinde tam yanıtın tanımlanması için kullanılan kriterler:

- 1- Serumda HCV-RNA'nın negatifleşmesi,
- 2- Serum aminotransferaz düzeylerinin normale dönmesi
- 3- Karaciğer histolojisinde iyileşme sağlanmasıdır.

Tam yanıt tanımlanırken kullanılabilecek en kesin nokta tedavinin sonlandırılmasından itibaren en az 6 ay HCV-RNA tesbit edilememesi, uzun süreli bir remisyonun göstergesi olan kalıcı virolojik yanıt ve karaciğer hastalığının düzelmesidir.

Kombinasyon tedavisiyle bile hepatit C'de interferon tedavisine kalıcı yanıt oranı sadece %50'dir ve hastaların çoğu tedaviyi zorlukla tolere edebilmektedir. Hepatit C'ye sekonder dekompanse karaciğer hastalığı olanlarda karaciğer transplantasyonu endikedir.

Gelecekteki potansiyel yaklaşımlar arasında HCV proteazına , helikaza, ve polimeraz enzimlerine karşı ve HCV'nin tutulumunu, membrana bağlanmasını veya translokasyonunun başlatılmasını engelleyen spesifik inhibitörler bulunmaktadır.

Demir Metabolizması ve Toksikite

Demir çeşitli metalloproteinlerin bileşenidir ve oksijen transportu, elektron transferi ve katalizi gibi birtakım biyokimyasal olaylarda merkezi bir rol üstlenir (69). Bu yüzden demir yaşam için vazgeçilmezdir.

Hücre sel demirin önemli bir bölümü hem proteini formunda bulunur. Bu proteinin yapı taşı protoporfirin IX ve Fe (II) iyonudur. Tetrapirrol porfirin halka 5-aminolevulinikasit (ALA) prekürsörü yardımı ile sitozol ve mitokondrideki bir seri reaksiyon ile sentez edilir. ALA, glisin ve süksinil-CoA'nın birleşmesini sağlayan 5-aminolevulinikasit sentetaz (ALAS) enziminin kataliz ettiği reaksiyon ile oluşur (70). Hem biyosentezinin son basamağını oluşturan protoporfirin IX'a Fe (II)

eklenmesi ferroşelataz enzimi ile mitokondride gerçekleşir. Daha sonra hem hemoproteinler ile birleşmek için sitozole transfer edilir. Hem yıkılımı mikrozomal hem oksijenaz 1 (HO-1) ve onun hologları olan HO-2 ve HO-3 enzimlerinin kataliz ettiği reaksiyon ile yıkılır (70). Serbest kalan Fe(II) tekrar kullanılırken, biliverdin ileri enzimatik reaksiyonlar ile antioksidan olan bilirubine çevrilir.

Memelilerdeki hemoproteinlerin büyük kısmını hemoglobin ve myoglobin oluşturur. Bu moleküller sırası ile eritroid ve kas dokusunda oksijen transportunu sağlarlar. Diğer hemoproteinler ise oksijenaz, peroksidaz, nitrikoksit sentetaz ve guanilatsiklaz gibi çeşitli sitokrom ve enzimlerden oluşur.

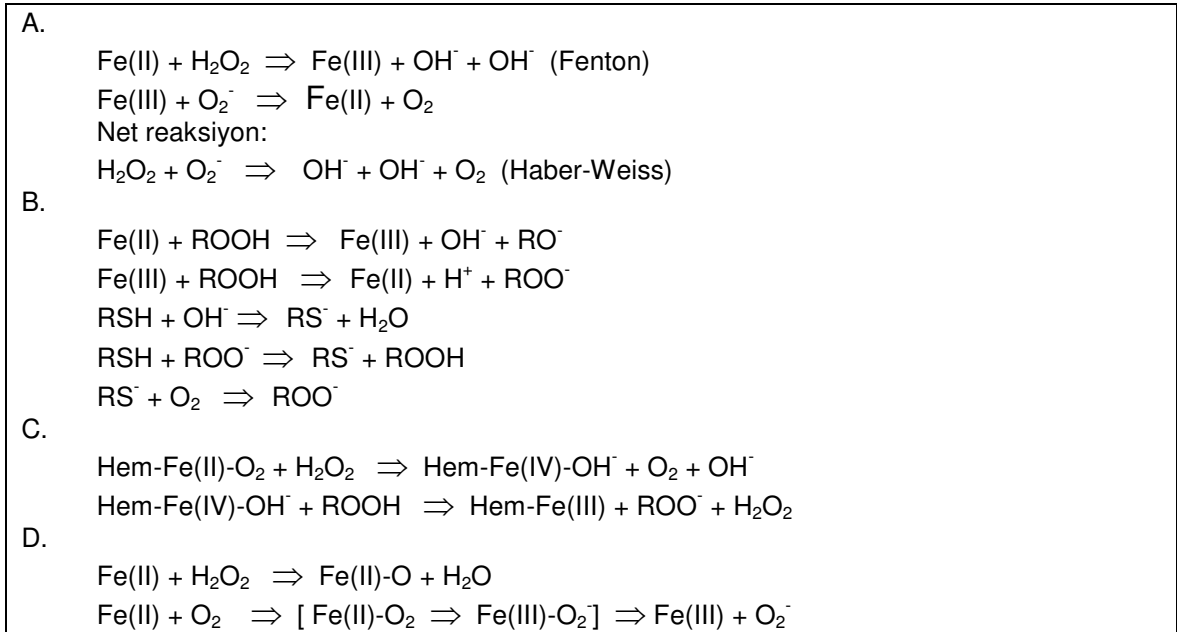
Hem yapısına girmeyen (Non-Hem) demirin çoğu metaloproteinlerin yapısında bulunur ki bunun büyük kısmını demir-sülfür kümeleri oluşturur (2Fe-2S, 3Fe-4S, 4Fe-4S) (71). Demirin bu formu elektron transferi, transkripsiyonel regülasyon, yapısal stabilizasyon gibi olaylarda fonksiyonel rol almaktadır. Diğer demir formları ise DNA sentezindeki ribonükleotid redüktaz veya iltihabi yanıtta rol alan siklooksijenaz ve lipooksijenaz enzimlerinin yapısında bulunur. Non-Hem demiri son zamanlarda oksijen duyarlılık mekanizmasında keşfedilen hipoksi-uyarılma faktörü (HIF) konusunda da merkezi rol almaktadır. Bu kontrol mekanizması eritropoez, angiogenez, hücre çoğalması, glikoliz ve oksijen kullanımına cevap olarak demir metabolizmasında etki göstermektedir (72).

Demir Toksisitesi

Fe (II) elektron vericisi olarak, Fe (III) elektron alıcısı olarak hücresel çevre içinde uyum içinde çalışmaktadır. Bununla birlikte, birçok özelliğe sahip olan demir potansiyel biyolojik tehlike olarak karşımızda durmaktadır. Çünkü demir oksijenli ortamlarda zararlı radikallerin oluşumunu kolaylıkla katalize edebilir. Demirin toksitesinin ana temelini Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları oluşturmaktadır (Şekil-1A). Kataliz miktarını hidrojen peroksit (H_2O_2) ve süperoksit (O_2^-) den oluşan hidroksil radikalleri belirler. Bunlar serbest oksijen radikalleri olarak bilinir (73). Önemli olarak, serbest oksijen radikalleri oksijenli

solunumun kaçınılmaz ürünüdür ve oksijen molekülünün inkomplet azalması ile mitokondride ortaya çıkarlar. Serbest oksijen radikalleri aynı zamanda fagositik nötrofil ve makrofajlardan eksprese edilen membran ilişkili NADPH oksidaz kompleksi ile de üretilir (74).

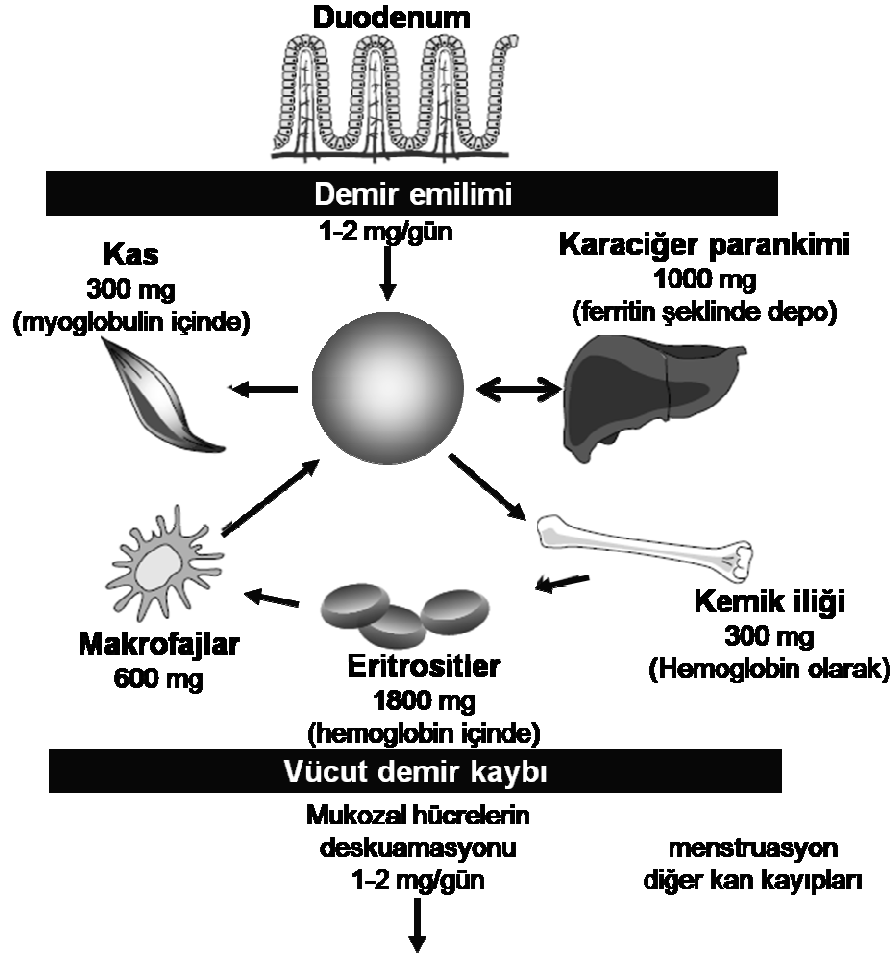
Bu çevre içinde redoks aktif demir sadece hidroksil radikallerinin oluşumunu değil aynı zamanda peroksil (ROO^-), alkoksil (RO^-), tiyl (RS^-) ve tiyl-peroksil (RSOO^-) gibi organik reaktif radikallerin ortaya çıkmasına neden olur (Şekil-1B). İlginç olarak, hem demiri oksoferril radikallerinin oluşunda görev alır (70) (Şekil-1C). Sonuç olarak, Fe (II) oksijen ile ferril ($\text{Fe}^{2+}\text{-O}$) veya perferril ($\text{Fe}^{2+}\text{-O}_2$) demir ara ürünleri vasıtası ile etkileşime girerek serbest radikal oluşumuna katkıda bulunur (Şekil-1D).



Şekil-1. Demirin oksijenli ortamda toksisitesini sağlayan ana reaksiyonlar. (A) demir fenton reaksiyonu ile hidroksil radikal oluşumunu sağlar; net Haber-Weiss reaksiyonu. (B) demir organik radikallerin oluşumunu katalize ediyor. (C) hem oksijen radikallerinin oluşumunu katalize ediyor. (D) demir ile oksijen arasındaki direkt etkileşim (135).

Vücut Demir Dengesi

İnsan vücudu yaklaşık 3-5 gr demir içerir (45-55 mg/kg vücut ağırlığı erişkinlerde kadın ve erkek sırasıyla). Demirin büyük bir bölümü (%60-70) dolaşımdaki kırmızı kan hücrelerinde bulunur (75,76). Diğer demirden zengin organlar ise karaciğer ve kas dokusudur. Demirin yaklaşık %20-30'luk bölümü karaciğer ve retiküloendotelyal sistem makrofajlarında depo halinde bulunur. Büyük miktarda ferritin ve onun parçalanma ürünü olan hemosiderin şeklinde depo edilir. Geri kalan vücut demiri ise myoglobin, sitokromlar ve demir içeren enzimlerde bulunur. Sağlıklı kişiler diyet yolu ile günde 1-2 mg demir alırlar ki bu alınan demir deskuamasyon yolu ile cilt ve barsaktan dökülerek dengelenir. Ek olarak bayanlarda fizyolojik olarak menstruasyon kanaması ile kayıp olur. Eritropoez için günde 30 mg demir kullanılır ve bu ihtiyaç çoğunlukla retiküloendotelyal sistem makrofajlarından sağlanır. Kırmızı kan hücrelerinden ve diğer dokulardan salgılanan demir dolaşımda transferrin ile taşınır. Transferrine bağlı demir havuzu yaklaşık 3 mg olup çok dinamiktir ve günde 10 kereden fazla dolup boşalır (Şekil-2).



Şekil-2 Demirin erişkindeki dağılımı (75)

Demir Emilimi

Ortalama batı diyetinde günde 15 mg demir alınır ve bunun 1-2 mg kadarı absorbe edilir (Şekil-2). Absorbe edilen demirin üçte ikisi hem derivesi şeklinde iken geri kalan demir inorganik formdadır. Hem ve inorganik demirin herikisinde duodenumun apikal membranından emilir. Duodenum epitelinden hem emilimi henüz tam olarak karakterize edilememişken inorganik demir emilim yolu ile ilgili geçtiğimiz bir kaç yılda geniş çaplı araştırmalar yapılmış ve emilim şekli keşif edilmiştir.

Düşük mide sıvısı pH değeri alınan inorganik demiri parçalar ve ferroz demirin duodenal fırça kenarındaki ferreredüktaz (Dcytb) tarafından yapımını kolaylaştırır (77). Ferroz demir, divalen metal taşıyıcı 1 (DMT1) tarafından apikal membrandan taşınarak emilir. DMT geniş bir seçiciliğe sahiptir ve manganez, bakır, kobalt, çinko ve kadmiyum gibi katyonları kapsar (78,79). DMT1 eksik olan hayvan modellerinde (mk^{-/-} fare ve Belgrad rat) bozulmuş demir Emilimi ve depolanmasına bağlı ciddi hipokromik mikrositik anemi gelişir.

Emilim yapılan enterositlerin içerisinde, hem demiri enzimatik olarak hem oksijenaz ile ayrılır ve daha sonra inorganik demirin yolunu takip eder. İnorganik demir ferritin şeklinde enterositlerde depolanacağı gibi bazolateral membrana taşınarak plazma transferrin yapısına katılabilir. Bazolateral demir taşınması ferroportin 1 (80) tarafından sağlanır ve literatürde IREG1 (81) veya MTP1 (82) olarakda bilinir. Bu molekülün çalışmasının membran ferrokسيداز hephaestin tarafından yönlendirildiği düşünülür. Hephaestin demir Emilimindeki önemi seks-bağlantılı anemili (sla) farelerde görüldü ve yapılan incelemede diet ile alınan demirin normal şekilde Emilime uğradığı ve fakat enterositden dolaşıma geçişinde bozukluk olduğu bulundu (83). Sonuç olarak sla farelerinde mikrositik anemi gelişti. Enterositden demirin dışarı atılımında ve onun transferrine bağlanmasında plazma ferrokسيداز seruloplazmin (84) kolaylaştırıcı bir rol üstlenir ki bu hephaestin ile benzerlik gösterir.

Vücut Demir Dengesinin Yönetimi

Memeliler demir atılımı için herhangi bir fizyolojik yola sahip değildir (Şekil-2). Buyüzden, vücut demir dengesi demir Emilim derecesine göre düzenlenir. Demir Emilim düzenlenmesinin bozulması durumunda demir eksikliği veya yüklenmesi tabloları karşımıza çıkar. Demir Dengesinin sürdürülmesinde üç düzenleyici mekanizmanın etkisi olduğuna inanıldı (75,85). Bunlardan ilki "diet düzenleyici" olarak anıldı. Bu mekanizma uzun zamandır biliniyordu, dietdeki demir bolusundan sonra, Emilimi sağlayan enterositlerde birkaç gün içinde ek

demir emilimi için direnç geliyordu (86). Bu fenomen aynı zamanda "mukozal blok" olarak tanımlandı ve muhtemelen hücre içi demir birikiminin sonucu olarak gelişti. Yüksek hücre içi demir, IRE-IRP (demir düzenleyici element-demir düzenleyici protein) vasıtası ile DMT1 salınımını baskılıya bilir (87).

İkinci sinyal mekanizması "depo düzenleyici" olarak anıldı. Demir emilimi, vücut demir depolarına cevap olarak düzenlenir. Bu mekanizma özellikle demir eksikliği durumlarında iyi anlaşıldı ve demir emiliminin anlamlı bir şekilde (iki ile üç kat) arttığı gözlemlendi. Demir depoları geri dolduğunda demir emilimi bazal seviyelere geriledi (88).

Üçüncü sinyal mekanizması "eritropoetik düzenleme" olarak anıldı. Demir emilimi eritropoezise cevap olarak düzenlenir. Çünkü vücut demir depolarının en büyük kısmı kemik iliğinde üretilen kırmızı kan hücrelerinde bulunur. Bu bilgi ile bu mekanizmanın demir regülasyonundaki dominant fonksiyonu süpriz değildir. Diğer bir deyişle, depo düzenleyici mekanizma ile kıyaslandığında eritropoetik mekanizma demir emilimini arttırmada daha büyük kapasiteye sahiptir (75,85). Üstelik bu mekanizma vücut demir depolarından bağımsız olarak demir emilimini arttırabilir. Vücut demir depoları dolu olmasına rağmen inefektif eritropoez ile giden hastalıklardaki (thalasemi, konjenital diseritropoetik anemi, sideroblastik anemi veya atranferrinemi gibi) patolojik demir birikimi ile karşılaşmamızın nedeni bu mekanizmadır. Son yıllarda ikili fonksiyon yapısı ile "depo" ve "eritropoetik" mekanizmaları bir arada barındıran hepcidin molekülünün demir metabolizmasındaki merkezi rolü anlaşılmıştır (89,135).

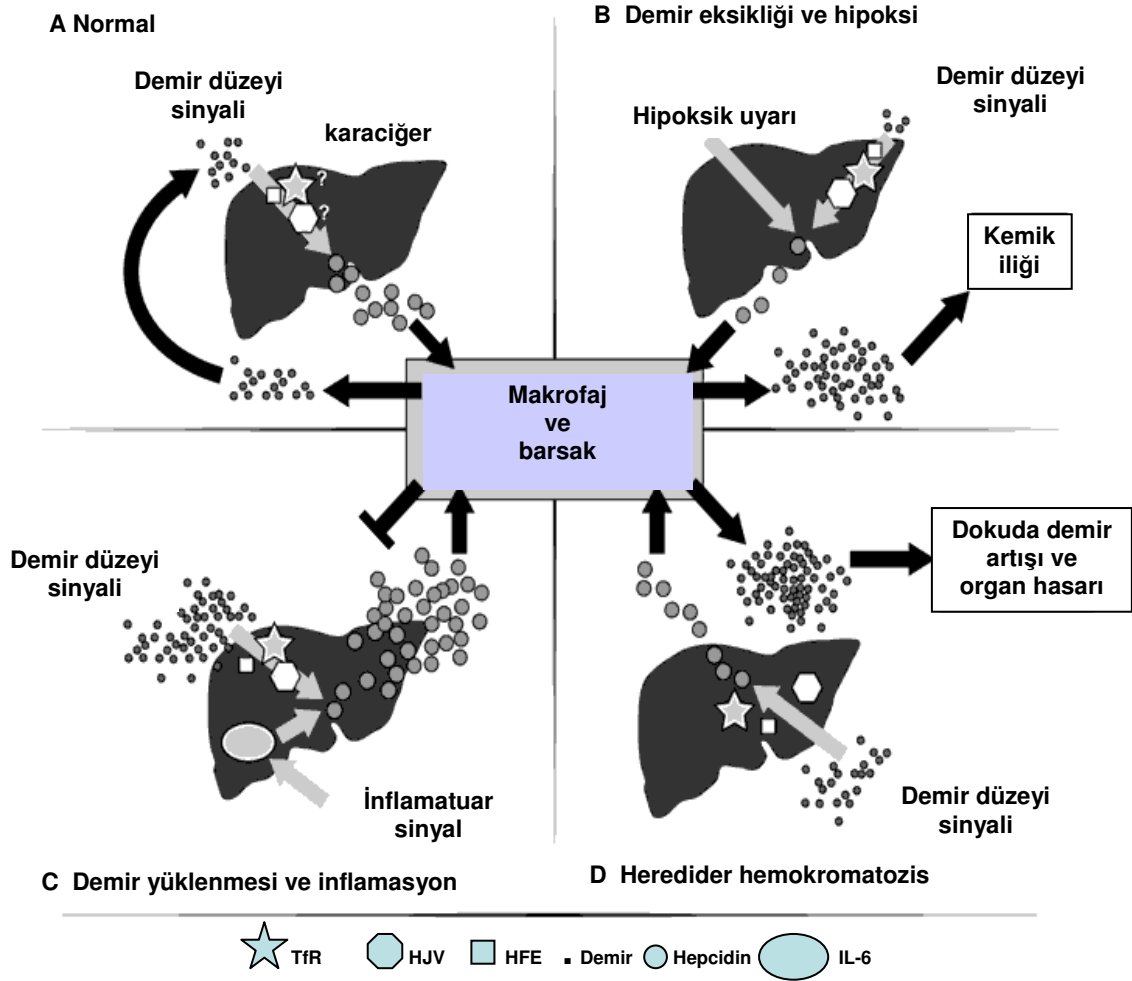
Hepcidin

Hepcidin son yıllarda keşfedilen sistein'den zengin katyonik bir peptittir. Bağımsız iki grup araştırmacının keşfettiği, ilk etapta antimikrobiyal etkinliği ortaya konan bir peptittir. 2000 yılında Krause ve ark. (90) ilk olarak plazmadan izole etmişlerdir. İlk önceleri; ismi, KC'den sentezlenmesi ve antimikrobiyal etkisinden dolayı LEAP-1 (Liver-Expressed Antimicrobial Peptid, LEAP-1) olarak

belirtilmiştir. Hepsidin (Hepatic-bakterisidal protein) ismini ilk etapta Park ve ark.'ları (16) kullanmışlardır. Bu grup, hepsidini ilk olarak insan idrarından izole etmişlerdir. Hepsidin ve demir metabolizmasındaki ilişki ilk olarak Nicolas ve ark.(20) ile Pigeon ve ark. (91) tarafından ortaya konmuştur. Nicolas ve ark. glikoz metabolizması bağlantılı transkripsiyon faktör USF2 (upstream stimulatory faktör-2)'nin ortadan kaldırıldığı sıçanlarda çalışırken, beklenmedik biçimde aşırı demir yüklenmesini saptamışlardı. Daha sonra çalışma gözden geçirildiğinde, USF-2 ortadan kaldırılmış sıçanlar yerine, hepsidin geni defektif sıçanlar oldukları belirlenmiştir. Pigeon ve ark. demiri regüle eden genleri araştırırken, demir yüklendiğinde artan, demir azaldığında azalan sıçan prohepsidin mRNA'sını keşfettiler.

Prohepsidin üç akson, iki intron içerip, 19. kromozomun uzun koluna lokalize HAMP geni tarafından kodlanır. İnsan ve ratlarda tek tip HAMP geni bulunurken farelerde iki fonksiyonel HAMP geni mevcuttur. Prohepsidin, 24 aminoasidin (aa) öncülük ettiği 84 aa.'lik bir peptittir. 24 aa.'lik kısım N-terminal ucundan ayrıldıktan sonra, 60 aa.lik prohepsidin hepatosit basolateral membranından dolaşıma salınır. Dolaşımda bulunan şu an bilebildiğimiz, C-terminal kısmı ile adlandırılan, 22,24 ve 25 aa.'lik üç formu vardır (91,92). Hepsidin tam anlamıyla hangi noktada olgunlaştığı ve matür hepsidin hangisi olduğu şu an için bilinmezdir. Prohepsidin, 60 aa.'lik formuyla kolaylıkla serumda saptanabilir (15). Hepsidin-25, matür hepsidin major formu olup, konvertaz enzimleri vasıtasıyla prohepsidinden direkt meydana gelir. Hepsidin-22 ve 24'de aynı şekilde oluşabilmekte ve aynı zamanda hepsidin-25'in degradasyonu ile de meydana gelebilmektedir. Hepsidin-25, hem demir regülasyonunda, hem de antimikrobiyal aktivitede rol alır. Hepsidin-22'nin in vitro potent antimikrobiyal aktivitesi gösterilmiştir, fakat demir metabolizmasına katkısı gösterilememiştir. İnsan idrarında majör olarak hepsidin-20 ve 25 bulunmaktadır. Aynı durum serum için de geçerli olabilir (16,93).

Prohepcidin majör olarak KC'de üretilir, fakat düşük miktarda da olsa böbrek, kalp, iskelet kasları ve beyinde de sentezlenir. Kulaksız ve ark. (15) karaciğerde (KC) en yüksek prohepcidin konsantrasyonlarını periportal bölgede saptamışlardır. Santral venlere ve sinusoidlere doğru konsantrasyonunun azaldığı gösterilmiştir.



Şekil-3: Hepsidin Metabolizması

Hepcidin ve Demir

Dietten absorbe edilen ve hemoglobin yıkımından meydana gelen demirin çoğu tekrar eritrosit üretimine katılır. Birçok çalışmada demir metabolizmasında prohepcidin rolü gösterilmiştir. Prohepcidin geninin ortadan kaldırıldığı farelerde demir yüklenmesi gözlenmiştir (20,94,95). Farelerde, prohepcidin over-ekspresyonun ciddi demir eksikliğine neden olduğu saptanmıştır (94). HFE (6. kromozomun kısa kolunda lokalize Hemokramatozis geni) gen eksikliği bulunan farelerde prohepcidin üretiminin uyarılmasıyla demir dengesinin normale döndüğü gösterilmiştir (96,97). Farelerde prohepcidin injeksiyonu sonrasında, demir düzeyinden bağımsız olarak intestinal demir emilimi azalmıştır (98). Sentetik prohepcidin injeksiyonu sonrası, ferroportinden zengin organlarda (KC, dalak, proksimal duodenum) prohepcidin artışı ile birlikte erken ve geç dönemde serum demirindeki azalma gösterilmiştir (93).

Bugüne kadar yapılan çalışmalarda, demirin aşırı yüklenmesiyle prohepcidin ekspresyonundaki artış gösterilmiştir (91,99). Hepcidin, buraya kadar anlattığımız çalışmalar doğrultusunda, olasılıkla demir artışını dengelemeye çalışan orkestra şefi olarak rol almaktadır (Şekil-4). Demir homeostazisinde prohepcidin ekspresyonunu artıran sinyal yakın zamana kadar bilinmiyordu. Nemeth, Rivera ve ark. (100) demirin regülasyonunda IL-6'nın etkisini gösterememişlerdir. Oysa inflamasyona bağlı prohepcidin artışının stimülatörü IL-6'dır. Bu bilgi bize, artmış demir depolarına cevaben düzeyleri değişen prohepcidin seviyelerinin basit bir dengede olmadığını göstermektedir. Yani, inflamasyon ve anemi sözkonusu olunca, demir metabolizmasının direkt etkilenmesi durumunda IL-6 etkisi geri planda kalabilir. Gönüllü insan çalışmaları üriner prohepcidin düzeylerinin tek doz oral demir alımıyla çok zaman geçmeksizin arttığını göstermiştir. Demir depolarını etkileyecek düzeyde olmayan tek doz demir preparatının prohepcidin seviyelerini etkilemesi, prohepcidin depo demirinden ziyade serum transferininden etkilendiğini göstermektedir.

Eğer transferrin satürasyonu prohepcidin ekspresyonunu düzenleyebiliyorsa, diğer sinyaller (sitokinler gibi) bu etkinin üzerine çıkabilir. Demirden fakir diet, anemik durumlarda ve hipoksik hallerde hepcidin üretimi azalır. Oysa akut inflamasyonun olduğu durumlarda anemiye meyil olsa bile hepcidin düzeyleri artmıştır (100,103). IL-6'nın stimüle ettiği hepcidin, inflamatuvar indüksiyonun erken döneminde, demirin düzenlenmesinde aldığı rol net değildir.

Prohepcidin ve ferroportin gibi moleküller, intestinal demir absorpsiyonunda, hepatositlerden ve makrofajlardan demir salınımında negatif rol üstlenirler (89,102) ve demirin kullanımını engellerler (104) (Şekil-4). Hemojuvelin de olasılıkla prohepcidin'in çoğalmasında anahtar rol üstlenir. Hemojuvelin prohepcidin mRNA'sını artıran bone morfojenik proteinin yapımına katkıda bulunur.

Serum demir düzeyleri artmış talasemi intermedialı farelerde, prohepcidin düzeyleri azalmıştır (105). Artmış demir ihtiyacı olan fare modellerinde de aynı olay meydana gelir.

Sonuç olarak; prohepcidin'in demir metabolizmasındaki net etkisi, dietle alınan demirin absorpsiyonunu engellemek, makrofajlardan ve hepatik demir depolarından demirin salınımını azaltmak olarak özetlenebilir (Şekil-4). Hpcidin düzeylerinin artarak, kronik hastalık anemisinin patogenezinde (19,21,99,101,103) ve düzeylerinin azalmasına bağlı olarak herediter hemokromatozisin patogenezinde oynadığı rol çalışmalarla gösterilmiştir (22,96,99,106,107) (Şekil-3).

Prohepcidin ve İnflamasyon

Prohepcidin'in demir metabolizması, antimikrobiyal aktivite ile immün sisteme sağladığı fayda ve inflamasyonda oynadığı önemli rol çalışmalar arttıkça netleşmektedir. İnsanlarda, KC'in immun cevaptan sorumlu birçok akut faz reaktanın üretimine bulunduğu katkı bilinmektedir. İnflamasyona eşlik eden

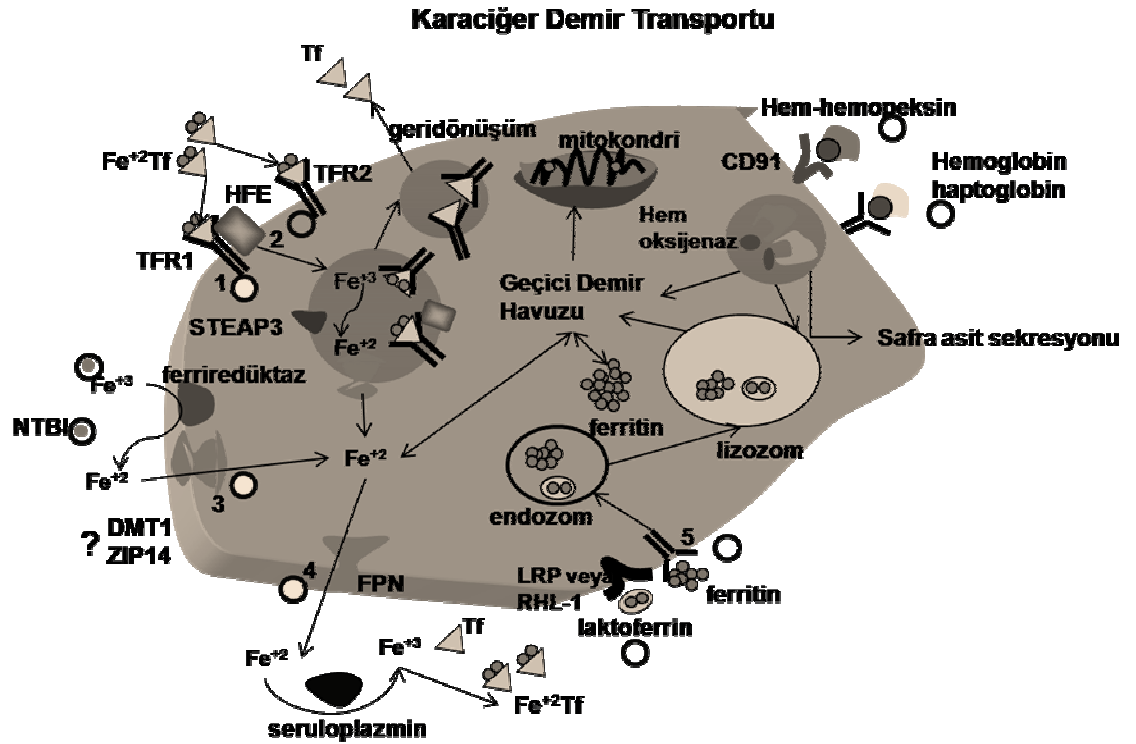
major patofizyolojik fenomen pozitif akut faz reaktanlarının artışı, negatif akut faz reaktanlarının azalmasıdır (108,109). Bu reaksiyonun olası etkisi defans mekanizmasını güçlendirmek ve adaptasyon mekanizmalarına katkıda bulunmaktır. İnfeksiyonlara, travmaya, infarktlara, malignitelere, romatizmal ve vaskülitik hastalıklara bağlı pozitif akut faz reaktanların düzeyinde anlamlı artış bilinmektedir. Son birkaç yıldır çeşitli çalışmalar ile demir metabolizmasının anahtar düzenleyicisi olarak bilinen karaciğer kaynaklı prohepcidin, inflamasyonda oynadığı rol gösterilmiştir (19,21). İlk kez 2001 yılında, Pigeon ve ark. (91), lipopolisakkaridin (gram pozitif bakterilerin hücre yüzeyinde bulunur) infüzyonu sonrası diğer akut faz proteinleri (CRP, ferritin v.s) ile birlikte prohepcidin düzeylerinin arttığını gösterdi. Prohepcidin infeksiyon ve inflamasyonun bulunduğu durumlarda düzeylerinin anlamlı olarak arttığı ve serum demir düzeylerinin azaldığı sonraki çalışmalarla desteklenmiştir.

Journal of Clinical Investigation'da Nemeth, Rivera ve ark. (110)'nın ortaya koyduğu inflamasyon-prohepcidin ilişkisine dair çalışma dikkate değerdir. Deneysel insan ve hayvan modellerin ikisinde de IL-6'nın direkt olarak hepatositleri uyararak, prohepcidin üretimini artırdığı gösterilmiştir. Hpcidin, intestinal demir absorpsiyonunu, makrofajlardan demir salınımını negatif olarak etkilemektedir. Farelerde turpentin injeksiyonuyla inflamatuvar bir abse oluşturulmuş, daha sonra IL-6 nötralizan antikor injekte edilmiştir. Bu çalışmada hpcidin seviyelerinin artmadığı ve demir düzeylerinin değişmediği gösterilmiştir. Yine bunu destekleyecek bir gönüllü insan çalışmasında, IL-6 infüzyonundan 2 saat sonra idrarda hpcidin düzeylerinin arttığı ve demir düzeylerinin düştüğü ortaya konmuştur (111). Bu iki çalışma ele alındığında şu anda en güçlü olarak söylenecek iddia; IL-6, prohepcidin primer indükleyicisidir ve bunun neticesi demir düzeylerinde azalmadır. İnfamasyonun başlangıcından hemen sonra demir düzeylerinin hızlıca azalması iddiayı yeterince güçlü kılmaktadır (110). En son Wrighting ve Andrews (112), IL-6'nın STAT-3 (signal transducer and activator of transcription) vasıtasıyla prohepcidini uyardığını göstermişlerdir.

Karaciğer Demir Transportu

Karaciğer demir metabolizmasında merkezi bir rol almaktadır. Karaciğer demir için büyük bir depo vazifesi gördüğü gibi aynı zamanda demir metabolizmasının homeostazisinde ve demir taşınmasında rol alan kompleks molekülleri eksprese eder. Karaciğer demir transport ve regülasyonunda artan sayıda gen bulundu. Bu genleri sıralayacak olursak;

Transferrin reseptörleri (TFR1 ve 2), ferriredüktaz (STEAP3), diavalen metal transporter-1 (DMT1) ve ferroportin (FPN) dir. Bunlar ile birlikte hemakromatosis protein, HFE ve hemojuvelin (HJV) gibi sinyal molekülleride bulunmaktadır (1) (şekil-4).



Şekil-4. Karaciğer demir transportunun şematik gösterimi.

TFR, transferrin reseptör; DMT1, diavalen metal taşıyıcı1; NTBI, transferrine bağlı olmayan demir; ZIP14, çinko ve demir düzenleyici taşıyıcı; LRP, düşük dansiteli lipoprotein reseptör; FPN, ferroportin.

Transferrin Reseptör 1 (TFR1)

TFR1 ilişkili diferrik transferrinin emilimi karaciğer demir alımındaki belkide en iyi tanımlanan yoldur. Özetleyecek olursak transferrin TFR1'e bağlanır ve endositoz ile karaciğere sokulur (113,114) (Şekil-4, yolak-1). Ekstrasellüler sıvı pH'sında diferrik transferrin molekülü reseptöre bağlanır. TFR afinitesi monoferrik veya apo-transferrine nazaran diferrik transferrin için yüksektir (115,116). Transferrin endosoma alındıktan sonra ortam asitleştirilir ve bunun sonucunda transferrinin demire olan afinitesi azalır. Sonuç olarak metal ayrılmış olur (117,118). Asidik çevrede apotransferrinin reseptör afinitesi artar, endosomda apotransferrin kalıntısı reseptöre sıkıca bağlanır ve plazma membranına ulaşır. Yüksek pH değerine sahip olan ekstrasellüler sıvıda apotransferrinin reseptör afinitesi azalarak (115) tekrar plazmaya salınır (113). Tüm bu süreç 3.8 ile 15 dakika arasında sürer (119).

HFE

HFE mutasyonu ilk olarak demir birikimi hastalıklarından olan hemokromatoziste gösterildi (120). HFE; MHC (major histokompatibilite kompleksi) benzeri proteindir ve orjinal gösterimi HLA-H şeklindedir. Gen yüksek miktarda karaciğer ve ince barsak tarafından eksprese edilir. HFE hücre yüzeyindeki doğru lokalizasyonunu bulabilmek için β 2 mikroglobuline ihtiyaç duyar (121).

Bu bilgilere rağmen bu proteinin normal fonksiyonunu açıklanması oldukça güçtür. Ancak yapılan araştırmaların işaret edebildiği kadarı ile HFE

TFR1 aracılığı ile demir alım düzenlenmesinde bulunmaktadır ve olasılıkla transferrinden demir salınımını kısıtlamaktadır (122) (Şekil-4, yolak-2).

STEAP3 (Six-Transmembrane Epithelial Antigen of the Prostate 3)

Son zamanlarda yapılan çalışmalar ile karaciğer demir alımındaki endosomal düşük pH değerinin ferrik demirin redüksiyon potansiyelini arttırdığı gözlenmiştir (123). Endosomal ferriredüktaz aktivitesinin kanıtına rağmen (124) ferriredüktaz bulunana kadar belirsizlik devam etti (125). STEAP3 ("six-transmembrane epithelial antigen of the prostate 3") geni, dört genin bir tanesinin tamamen silindiği *nm1054* farelerinde demir eksikliği anemisine neden oldu. Normal şartlar altında gen yüksek miktarda karaciğerden eksprese olur ve protein ürünüdür. Çok önemli olarak, *nm1054* ve *steap3* çıkarılmış farelerde endosome ferriredüktaz aktivitesi ve karaciğer demir alımı düşük tespit edildi⁽⁵¹⁾. Aynı araştırmacılar *steap* ailesinin 3 üyesini daha keşif etti (STEAP1, 2 ve 4).

DMT1 (Divalent Metal Taşıyıcı-1)

Endosome içinde serbestlenen ferroz demirin sitozole taşınması DMT1 tarafından yapılır (Şekil-5, yolak-3). DMT1 ile TFR1'in lokalizasyon çalışmaları yapıldıktan sonra DMT1'in endosomal taşıyıcı olduğu kanıtlanmış oldu (126). DMT1 demiri optimum pH 5.5 de taşır. Demirin taşınmasındaki kullanılan enerjinin proton gradienti ile sağlanması ve endosomun asidik olması bu bulguyu destekler niteliktedir. DMT1 demir seviyesine göre regüle ediliyor gibi görünmektedir. Demir birikimi hastalarında protein ekspresyonu artarken, kontrol grupta normal ve demir eksikliği olan karaciğerde ise bulunamamıştır (119).

TFR2 (Transferrin Reseptör-2)

1999 yılında Kawabata ve colleagues (127) tarafından rapor edildi. TFR2'nin diferrik transferrin afinitesi TFR1'e göre 25-30 kat daha düşüktür. Karaciğerde özellikle hepatositler tarafından eksprese edilir ve hücrenel transferrin ve demir alımı tarafından kontrol edilir (119) (Şekil-4, yolak-2). TFR2 protein seviyesi demir eksikliğinde azalır ve demir yüklenme hastalarında ise artar. Kanıtlar TFR2'nin transferrin saturasyonunu algılaya bildiğini ve hepcidin ekspresyonunu düzenleyerek demir metabolizmasını kontrol ettiğini göstermektedir (128).

Transferrine Bağlı Olmayan Demirin Karaciğere Alımı

Düşük molekül ağırlıklı şelat şeklindeki demirin ana depolanma alanı karaciğerdir. Deneysel çalışmalarda, hepatositler ve onların türevleri çeşitli şelatörleri kullanarak demiri alırlar ve karaciğer içine hem ve ferritin şeklinde dağıtırlar (129). Transferrine bağlı olmayan demirin (NTBI) karaciğer hücresine alımı doğrusaldır ve enaz ilk 15 ila 60 dakika içinde demir karaciğere ulaşır (119).

NTBI alımı arttığında DMT1 mRNA ve proteini salınımı artar. DMT1 karaciğer dokusuna NTBI alımının ana sorumlusudur (Şekil-4, yolak-3). Bu ana sorumlu dışında ZIP14 ve kalsiyum kanallarında açık olmayarkda olsa NTBI taşınmasında rolleri çalışmalar ile gösterilmiştir (130).

Demir Salınımı

Dokulardan demir atılımını sağlayacak olan taşıyıcı molekül, 2000 yılında bağımsız 3 araştırma grubu tarafından tanımlanan ferroportin (FPN)'dir. Metal taşıyıcı protein 1 (MTP1) olarakda bilinir. Karaciğerden demir salınımını yapan tek moleküldür. Direkt olarak gösterilememesine rağmen FPN ferröz demir

taşımasını yapar. Taşıma sırasında ihtiyacı olan ferooksidaz aktivitesi bunun kanıtıdır (119) (Şekil-4, yolak-4).

Günümüzde FPN'nin yapısal ve membran topolojisi net değildir. Membran boyunca dokuz ila yirmi arasında helikalden oluşan değişik modeller öne sürülmüştür. Güncel çalışmalar FPN'nin dimerik yapıda olduğunu göstermektedir (131).

Haemojuvelin (HJV)

HJV karaciğer demir dengesinde çok önemli bir role sahiptir. Erişkin iskelet kasından ve fetal ve erişkin karaciğerindeki periportal hepatositlerden salınır. Jüvenil hemakromatosisin bazı vakalarında proteinin mutasyonu gösterilmiştir. HJV yokluğunda plazma transferrin saturasyonu ve ferritin artar. HJV olmayan farelerde yapılan çalışmalarda karaciğer hepcidin salgısında azalma ve demir yüklenmesinde artma gösterilmiştir. Yapılan bu çalışmalardanda anlaşılabilceği gibi HJV'nin ana fonksiyonu hepcidin seviyesini düzenlemektir. HJV TGF- β süperailisine mensup olan kemik morfojenik protein 2 (BMP-2) ye bağlanarak SMAD-4 vasıtası ile hepcidin transkripsiyonunu aktive eder. Bu yolak HFE, TFR2 ve IL-6'dan bağımsız olarak işlev görmektedir (119,132) (Şekil-4).

Kupffer Hücresi

Kupffer hücreleri karaciğerin doku makrofajlarıdır. Bu hücrelerin demir metabolizmasındaki ana fonksiyonları fagosite edilen kırmızı kan hücrelerinden çıkan demiri temizlemektir. Demir bu hücrelerde ferritin şeklinde depo edilir. (Şekil-4, yolak-5) Kupffer hücreleri kuvvetli bir şekilde FPN transkripsiyonu ve proteinlerini salgılar; aslında, FPN hepatositlere nazaran kupffer hücrelerinden daha fazla salınır. Kupffer hücreindeki FPN'nin artması sonucunda demir salınımı artar ve onun azalmasında ise demir salınımı azalır (119,133).

Hepcidin Regülasyonunun Moleküler Temeli

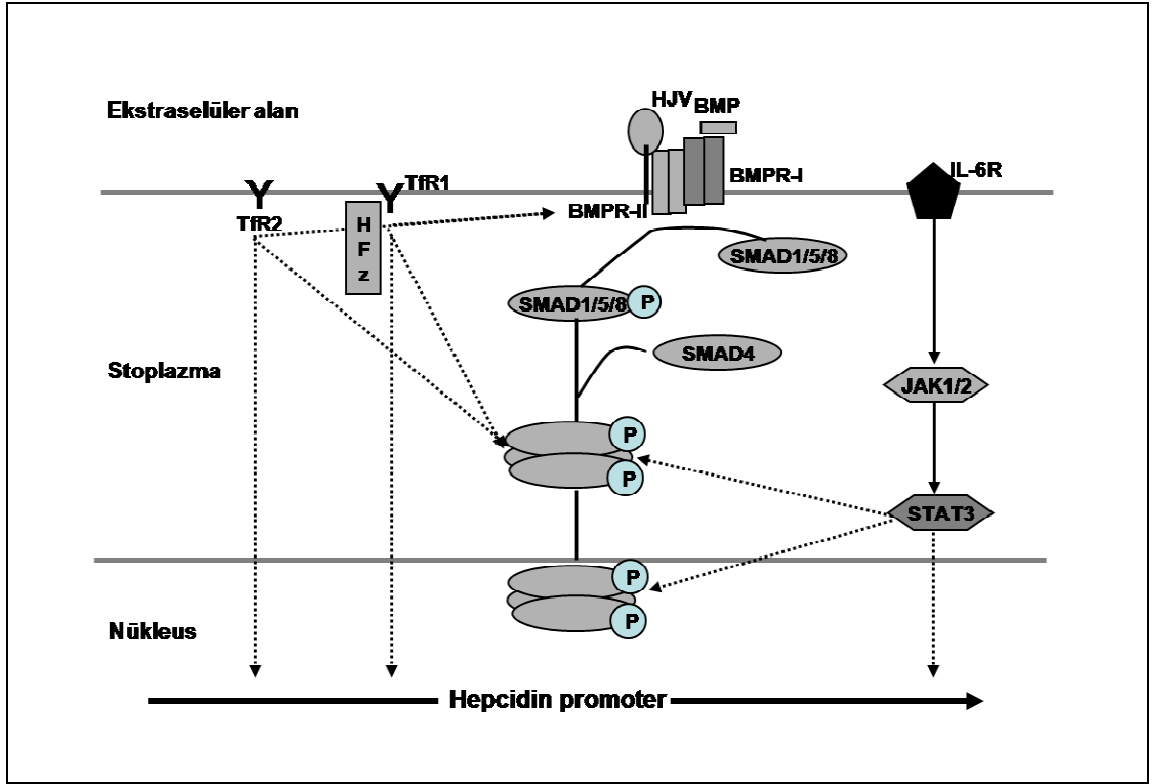
Hepcidin direkt olarak demir taşıyıcı molekül olan ferroportine (FPN) etki ederek onun internalize ve sonuç olarak parçalanmasına neden olarak hücrelerden plazmaya demir salınımını bloke eder . Hepcidin sistemik demir dengesini koruma amacı ile çoğunlukla karaciğerde üretilir . Bazı kaynaklarda adiposit ve makrofajlardada üretimi gösterilmiştir . Fakat bu bölgelerdeki üretim düşük seviyelerdedir (104,134).

Hepcidin üretimi vücut demirinin artışında ve enflamasyonda artar iken anemi ve hipoksi durumlarında üretimi azalır . Hepcidin üretiminin düzenlenmesi ise çoğunlukla transkripsiyonel derecesini etkileyen çeşitli yollar vasıtası ile olmaktadır (134) (Şekil-5).

Kemik morfojenik protein (BMP) yolağı bulmacanın en önemli parçasını oluşturmaktadır. TGF β süperailisine mensup olan protein, hücre çoğalması, farklılaşması ve apoptoz gibi biyolojik olaylarda görev alır. BMP BMP1 ve BMP2 reseptörlerine bağlanarak SMAD 1,5 ve 8 fosforilasyonunu sağlar ve sonrasında SMAD 4 ile etkileşim başlar. Bu kompleks nükleusa göç ederek DNA üzerindeki hepcidin promoter bölgesine bağlanır ve hepcidin gen transkripsiyonu düzenlenir. HJV, HFE ve TfR2 BMP yolağı vasıtası ile hepcidin ekspresyonunu düzenler (Şekil-5).

Hepcidin üretimindeki artıştan sorumlu olan diğer yolak ise STAT3 yolağıdır. Bu yolak IL-6 tarafından aktive edilir ve sonrasında JAK 1\2 vasıtası ile STAT3 ve SMAD devreye sokularak hepcidin transkripsiyonu düzenlenir.

Karaciğer-zenginleştirilmiş transkripsiyonel faktör (C/EBP α) molekülüde hepcidin üretimindeki hepatik değişim aşamasında bulunur ve hepcidin transkripsiyonunu kontrol eder (134)(Şekil-5).



Şekil-5. Hcpidin gen transkripsiyon regülasyonunun şematik gösterimi.

BMP, kemik morfojenik protein; BMPR-I ve BMPR-II, kemik morfojenik protein reseptör-1 ve 2; HJV, hemojuvelin; Tfr, transferrin reseptör; STAT, transkripsiyon sinyalini aktive edip dönüştüren molekül; JAK, janus kinaz; IL-6R, IL-6 reseptörü; kesikli çizgiler, hipotez halindeki yollar; devamlı çizgi, bilinen yollar.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Katılımcıları

Çalışmaya mart 2007 ile şubat 2008 tarihleri arasında Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi (U.Ü.T.F) Gastroenteroloji kliniğine ve polikliniğine başvuran kronik HCV enfeksiyonu tanısı alan 35 hasta (24 kadın ve 11 erkek, 19-66 yaş aralığında), kronik hepatit B virus enfeksiyonu öntanısı alan 27 hasta (23 kadın ve 4 erkek, 20-71 yaş aralığında) ve U.Ü.T.F Genel Dahiliye Polikliniği'ne check-up amacı ile başvuran 21 sağlıklı kontrol grubu (14 kadın ve 7 erkek, 19-66 yaş aralığında) çalışmaya dahil edildi.

HCV enfeksiyon tanısı anti-HCV antikor pozitifliği ile birlikte serum HCV RNA saptanması ve hepatit B yüzey antijeninin negatifliği ile konuldu. HBV enfeksiyon tanısı hepatit B yüzey antijen pozitifliği ile birlikte HBV DNA saptanması ve anti-HCV negatifliği ile konuldu. Hastalara kronik hepatit tanısı koymak için en az 6 ay boyunca serum aminotransferaz yüksekliği arandı. Kronik hepatit ve siroz tanısı klinik, ultrasonografik, laboratuvar ve histolojik bulgulara göre koyuldu.

Çalışmaya Alınma Kriterleri

1. 18-75 yaş aralığında olmak
2. Klinik, laboratuvar olarak kronik hepatit tanısı almış olmak

Çalışmadan Dışlanma Kriterleri

1. Dekompanse karaciğer sirozu, HCC, Wilson hastalığı, otoimmün hepatit, hemokromatozis, alkolik hepatit, toksik hepatit gibi diğer kronik karaciğer hastalığı bulunması
2. Hastaların daha önce anti viral tedavi almış olması
3. HCV ve HBV enfeksiyonunun birlikteliği
4. Malign hastalığı bulunması
5. Organ transplantasyonu olması

Çalışma Helsinki Deklarasyonu'na uygun olarak yürütülmüştür ve U.Ü.T.F. Etik Komitesi'nden onay alınmıştır. Çalışma öncesinde tüm hastalar çalışma hakkında bilgilendirilmiş ve yazılı onam vermişlerdir.

Klinik Değerlendirme

Çalışmaya katılan bütün bireylere ayrıntılı fizik muayene, antropometrik ölçümler ve laboratuvar tetkikleri yapıldı. Yapılan tetkikler sonucunda çalışma dışlama kriterleri referans alınarak kronik hepatit B tanısı kesinleşmeyen hastalar (n=7) çalışma dışı bırakıldı. Kronik HCV tanısı koyulan hastaların birinde (n=1) HBV enfeksiyonunda saptanması üzerine çalışma dışı bırakıldı.

Histolojik Değerlendirme

Karaciğer biyopsileri lokal anestezi ile 16-gauge Tru-cut iğne kullanılarak ultrason rehberliği altında yapıldı. Histolojik numunelerin boyutu 2,5 cm'den az değildi. Bütün biyopsi materyalleri işlemden hemen sonra formalin ile fikse edildi ve parafin bloklara gömüldü. Mevcut bloklardan 4 mikronluk kesitler alınıp hematoxilen-eozin ve Mason-trikrom ile boyandı.

Kronik HCV enfeksiyonlu hastaların karaciğer biyopsi materyalleri patalog tarafından Knodell Histolojik Aktivite İndeksine göre sınıflandırıldı (35). Hastalığın aktivite derecesi (grade) periportal ve/veya köprüleşme nekrozu, portal inflamasyon, intralobüler dejenerasyon ve fokal nekrozis olup olmamasına göre puanlanarak belirlendi. Bu skorlar toplanarak histolojik aktivite indeksi (HAİ) hesaplandı: 1-3 puan alanlar minimal kronik hepatit, 4-8 puan alanlar hafif kronik hepatit, 9-12 puan alanlar orta derecede kronik hepatit, 13-18 puan alanlar şiddetli kronik hepatit olarak kabul edildi. Puanlamaya dahil edilmeyen fibrozis evresi ise (stage) şu şekilde değerlendirildi: fibrozis yoksa evre 0, fibroz portal genişleme varsa evre 1, köprüleşme fibrozisi (portal-portal veya portal-santral bağlantı) varsa Evre 3, siroz saptanırsa Evre 4.

Laboratuvar Ölçümleri

Hastalar karaciğer biyopsi işlemi öncesinde değerlendirildiler. Kan örnekleri 12 saatlik açlığı takiben, iki kuru tüp ve bir hemogram tüpüne, 0.18 x 40 mm'lik iğne yardımı ile (Vacutainer, İngiltere) antekubital venden alındı. Kuru tüpteki kan örnekleri 3000 x g'da 10 dakika santrifüj edilerek serum ve plazmaları ayrıldı. Hemen çalışılmayacak olan parametrelerden prohepcidin için ayrılan örnekler -20°C'de saklandı.

Serum glikoz, üre, kreatinin, ürik asit, albümin, Fe, total Fe bağlama kapasitesi (TDBK) otoanalizatör (Aeroset System Abbott, Abbott Laboratories, Diagnostic Division, Illinois, USA); Hgb, hematokrit (Htc), eritrosit (kırmızı kan hücresi, RBC), lenfosit ve trombosit değerlerini içeren tam kan sayımı otoanalizatör (Abbott Cell-Dyn 3700SL, Abbott Laboratories, Diagnostic Division, Illinois, USA); ferritin kemilüminesans yöntemi (DPC Immulite 2000, Scientific Affairs, DPC Biermann, Germany) ile ölçülmüştür. Prohepcidin ve hsCRP, -20°C'da saklanmış olan örneklerden ELISA metod (BNII, Dade Behring, Marburg GmbH, USA) ile bakılmıştır.

TS yüzdesi hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır:

$$TS (\%) = Fe/TDBK \times 100$$

Prohepcidin Ölçümü

DRG Hepcidin prohormon kiti, insan serumundaki prohepcidin kantitatif olarak saptanmasına yardımcı olur. DRG Hepcidin prohormon kompetitif inhibisyon temelinde ELISA metoduyla bakılmaktadır. Poliklonal antikolar, hepcidin antijenik bölgesini kaplar. Endojen hepcidin, prohormon antikolarla kaplanmış hepcidin prohormon-biotin konjugatı ile yarışır. Substrat solüsyonu eklendikten sonra, renk yoğunluğu hasta örneğindeki prohepcidin yoğunluğuna göre orantılı olarak azalır. Venöz yoldan toplanan kan, serum ve kan içeriği 2500 devir ile 10°C, 10 dk santrifüje edilir. Kan-20°C'de saklanır.

Teste başlanırken, 10 mikrolitre+90 mikrolitre tamponize solüsyon ile sulandırılır. 1/10'luk mevcut solüsyona tekrar 90 ml tamponize solüsyon eklenir. Mai 1/100'luk hale getirilir. Test esnasında kullanılacak tüm kitlerin oda sıcaklığına gelmesi beklenir. Diğer yardımcı solüsyonlar çalışılırken köpürtülmemelidir ve test süreci kesintiye uğratılmamalıdır. Kontrol ve test solüsyonlarında kullanılan materyaller karıştırılmamalıdır.

Standart ve kontrol örneklerin içerisine 50'şer ml. Tampon sıvısı konur. Yine standart ve kontrol örneklerin içerisine 100 ml biotin konjugatı ilave edilerek 10 sn karıştırılır. Bu basamakta tam karışım önemlidir. Oda sıcaklığında 120 dk inkübe edilir. Numuneler hızlıca tekrar karıştırılır. Her bir numune 400 mikrolitre yıkama solüsyonu ile 5 kez seyreltilir. Sensitivitede yıkama basamağı önemlidir. Kontrol ve standart tüplerin her birine 100 mikrolitre enzim kompleksi konulur. Oda sıcaklığında 60 dk inkübe edilir. Biraz önceki gibi yıkama basamağı tekrar edilir. Yine her tüpe 100 mikrolitre substrat solüsyonu konulur. 30 dk oda sıcaklığında inkübe edilir. Enzimatik reaksiyonunu durdurmak için her bir numuneye 100 mikrolitre stop solüsyonu konulur. Stop solüsyonu eklendikten 10 dk sonra netice okunur.

İstatistiksel Analiz

Çalışmanın analizlerinde SPSS 13.0 for Windows (Chicago, IL) paket programı kullanıldı. Çalışmada sürekli değer alan değişkenler arasındaki ilişkiler pearson korelasyon katsayısıyla, kategorik değer alan değişkenin sürekli değişkenlerle olan ilişkisi spearman korelasyon katsayısı yardımıyla hesaplandı. Çalışmada sürekli değer alan değişkenler ortalama, medyan, standart sapma, standart hata, min-max değerleriyle birlikte verildi. Kategorik değer alan değişkenler çapraz tablolarda gösterildi ve bu değişkenler arasındaki ilişkiler ki-kare testiyle test edildi. Sürekli değer alan değişkenlerden parametrik dağılım gösterenler 3 grup arasında tek yönlü varyans analiziyle, 3 grup arasında anlamlı çıkanlar post hoc testlerinden LSD testiyle ve bağımsız örneklem t testiyle karşılaştırıldı. Nümerik değişkenlerden non-parametrik dağılım gösterenler ise 3 grup arasında Kruskal-Wallis, 2 grup arasında da Mann-Whitney U testiyle test edildi. Çalışmada anlamlılık düzeyi için $p \leq 0,05$ değeri alındı.

BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen kronik hepatit C (KHC), kronik hepatit B (KHB) ve sağlıklı kontrol grubunun demografik ve laboratuvar verileri Tablo-1’de özetlenmiştir. Çalışmaya 35 KHC, 27 KHB ve 21 sağlıklı gönüllü dahil edildi. KHC grubunda yaş ortalaması $51,4 \pm 11,8$ iken KHB grubunda $41,4 \pm 13,7$ ve kontrol grubunda ise $45,9 \pm 12,4$ bulundu. KHC ve KHB grubu arasındaki yaş farkı istatistiksel olarak anlamlı saptandı ($p < 0,05$). KHC ve kontrol grubu, KHB ve kontrol grubu arasında yaş açısından anlamlı farklılık saptanmadı. KHC grubunda erkek cinsiyet %31,4 iken bu oran KHB grubunda %85,2 ve sağlıklı gönüllülerde ise %33,3 bulundu (Tablo-1).

KHC ve kontrol grubu arasında yaş, lökosit, hemoglobin, eritrosit sedimentasyon hızı, trigliserid ve HDL değerlerinde istatistiksel anlamlılık saptanmazken, iki grup arasında T.kolesterol*, LDL*, AST**, ALT**,trombosit*, T.protein* ve ALP* arasında istatistiksel anlamlılık saptandı (Tablo-1).

KHB ve kontrol grubu arasında yaş, lökosit, hemoglobin, sedim, ALP, arasında Trombosit*, AST**, ALT**, trigliserid* değerleri arasında istatistiksel anlamlılık saptandı (Tablo-1).

KHC ve KHB grubu karşılaştırıldığında INR, AST, ALT, AFP, ALP, Trombosit, T.kolesterol, trigliserid değerlerinde istatistiksel anlamlılık saptanmazken yaş*, sedim*, T.protein* ve LDL* değerleri arasında istatistiksel anlamlılık saptandı (Tablo-1).

* $p < 0,05$, ** $p < 0,001$

Tablo-1. Çalışmaya Katılan Bireylerin Klinik ve Laboratuvar Özellikleri

	KHC (n=35)	KHB (n=27)	Sağlıklı kontrol (n=21)
Erkek cinsiyet	%31,4	%85,2	%33,3
Yaş (yıl)	51,4 ± 11,8	41,4 ± 13,7	45,9 ± 12,4
Vücut kitle indeksi (kg/m ²)	28,0 ± 4,3	24,7 ± 3,4	-
Hemoglobin (g/dl)	13,9 ± 1,2	14,3 ± 1,5	13,7 ± 1,2
Trombosit (10 ⁴ /ml)	21,7 ± 5,5	21,9 ± 7,8	26,1±5,0
AST (IU/L) ¹	44 (22-248)	41 (17-362)	18 (14-32)
ALT (IU/L) ¹	51 (20-398)	56 (19-366)	17 (6-42)
ALP (UI/L) ¹	91 (40-160)	79 (53-149)	69 (47-175)
GGT (UI/L) ¹	37,5 (16-586)	37,5 (12-495)	-
LDH (UI/L) ¹	192 (110-308)	231 (134-646)	160 (131-272)
T.Bilirubin (mg/dl) ¹	0,7 (0,4-1,8)	0,8 (0,4-4,0)	0,72 (0,43-1,73)
Albumin (mg/ml)	4,56 ± 0,34	4,54 ± 0,58	4,73 ± 0,21
T. kolesterol(mg/dL)	165,1 ± 35,5	182,0 ± 37,9	194,5 ± 39,8
HDL (mg/dL)	48,8 ± 14,1	51,8 ± 21,0	46,6 ± 11,1
Trigliserid (mg/dL)	97,2 ± 36,0	89,2 ± 25,7	113,0 ± 41,5
AFP	6,48 ± 6,17	9,26 ± 15,2	-

¹Veriler ortanca (minumum-maksimum) olarak ifade edilmiştir.

KHC: Kronik hepatit C enfeksiyonlu hastalar

KHB: Kronik hepatit B enfeksiyonlu hastalar

Çalışmaya dahil edilen KHC, KHB ve kontrol grubunun demir parametreleri ve karaciğer histolojileri Tablo-2'de özetlendi. KHC grubunda plazma demir seviyesi 93,25±42,11 iken KHB grubunda 121,58±56,06 ve kontrol grubunda 76,11±27,10 bulundu. Demir seviyesi her üç grup arasında karşılaştırıldığında KHB grubunda kontrol ve KHC grubuna göre anlamlı yükseklik tespit edildi. KHC grubunda demir seviyesi kontrol grubuna göre daha yüksek olmakla beraber anlamlı farklılık saptanmadı (Tablo-2).

Demir bağlama kapasitesi (DBK) KHC grubunda 427,44±94,11 saptandı. Bu değer KHB ve kontrol grubu ile karşılaştırıldığında yüksek bulundu ve

istatistiki olarak anlamlı idi. KHB grubunda DBK $295\pm 82,65$ bulundu. KHB ve kontrol grubu karşılaştırıldığında bu değer KHB grubunda anlamlı düşük saptandı (Tablo-2).

Vücut depo demirinin dolaylı göstergesi olan ferritin değerlerinin her üç gruptaki ortalama değerleri karşılaştırıldığında KHB grubunda KHC grubuna göre yükseklik olmasına rağmen iki grup arasında istatistiksel anlamlılık saptanmadı. KHC ve kontrol grubu karşılaştırıldığında KHC grubunda daha yüksek ferritin seviyesi bulunmasına rağmen istatistiki anlamlılık saptanmadı. KHB grubundaki yüksek ferritin seviyesi ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiki olarak anlamlı idi (Tablo-2).

Plazma demir/DBK'nin yüzde değerinden ifadesi olan transferin satürasyonu (TS) her üç grupta hesaplandı. KHC grubunda $22,93\pm 10,15$ iken KHB grubunda $44,33\pm 24,56$ olarak saptandı ve iki grup arasında istatistiksel anlamlılık saptandı (Tablo-2). KHB ve kontrol grubu arasında yapılan karşılaştırmada iki grup arasında anlamlı farklılık saptandı (Tablo-2).

Karaciğer histopatolojik değerlendirmeleri aynı patolog tarafından okundu. Knodell Histolojik Aktivite İndeksine (HAI) ve fibrozis derecesine göre gruplar değerlendirildi. KHC grubundaki ortalama HAI: $8,94\pm 4,24$ iken KHB grubunda $5,25\pm 4,64$ bulundu. Yapılan karşılaştırmada iki grup arasında istatistiksel anlamlılık saptandı (Tablo-2). Yine iki grup arasındaki fibrozis skorları karşılaştırıldı ancak istatistiksel anlamlılık saptanmadı (Tablo-2).

Tablo-2. Demir Parametreleri-Karaciğer Histopatolojik Özellikleri ve Gruplar Arası Korelasyon

	KHC	KHB	Kontrol	p		
				KHC ve KHB	KHC ve kontrol	KHB ve kontrol
Demir (µg/dl)	93,25±42,11	121,58±56,06	76,11±27,10	<0,05	A.D.	<0,05
DBK	427,44±94,11	295,13±82,65	363,16±49,38	<0,0001	<0,05	<0,05
Ferritin (ng/ml)	102,42±96,11	251,62±385,5	68,19±51,45	A.D.	A.D.	<0,05
TS (%)	22,93±10,15	44,33±24,56	21,24±7,61	<0,0001	A.D.	<0,05
Histopatoloji						
HAI	8,94±4,24	5,25±4,64	-	<0,05	-	-
Fibrozis, 0/1/2/3/4	8/11/0/14/1	4/8/0/4/0	-	A.D.	A.D.	-
HCVRNA(IU/L)	2,19±2,73.10 ⁶	-	-	-	-	-
HBV DNA (IU/ml)	-	11,4±30,99.10 ⁶	-	-	-	-

Veriler ortalama ± SD şeklindedir. DBK, demir bağlama kapasitesi; TS, transferin saturasyonu; HAI, histolojik aktivite indeksi; A.D., anlamlı değil; p, p değeri; 0, fibrozis yok; 1,septa olmadan portal fibrozis; 2,az septa ile portal fibrozis; 3, birçok septa ile portal fibrozis; 4,siroz

Her üç gruptaki katılımcıların prohepcidin değerleri Tablo-3a'da özetlendi. Çalışmaya katılan hastaların plazma prohepcidin seviyesi grup ve cinsiyet farkına göre kategorize edildi ve elde edilen değerlerin grup içi korelasyonlarına bakıldı (Tablo-3b,c,d).

Çalışmaya katılan tüm katılımcıların ortalama plazma prohepcidin seviyesi 198,53±51,46 ng/ml bulundu (n=77). Katılan 40 bayanın plazma prohepcidin seviyesi 218,21±46,85 iken 37 erkek hastanın ortalama prohepcidin seviyesi ise 177,25±48,14 bulundu.

KHC grubunda ortalama plazma prohepcidin seviyesi 210,82±56,29 (103,9-356) iken bu değer KHB grubunda 165,64±39,03 (44,6-224,6) ve kontrol grubunda ise 217,73±37,38 (165,8-315) bulundu (Tablo-3a). Her üç gruptaki kadın cinsiyetde prohepcidin seviyeleri erkeklere göre daha yüksek bulundu.

Gruplar arası istatistiksel analiz yapıldığında KHC grubunda KHB ile kıyaslandığında prohepcidin seviyeleri anlamlı olarak daha yüksek iken kontrol grubu ile arasında anlamlı fark saptanmadı, ancak kontrol grubuna göre daha düşük bulundu. KHB grubunda ise KHC ve kontrol grubuna göre plazma prohepcidin seviyesi istatistiki olarak anlamlı düşük tespit edildi. Bu düşüklük kontrol grubu ve KHB arasında daha belirgin saptandı.

Yine her üç grup arasında plazma prohepcidin seviyesinin plazma ferritin seviyesine bölünmesi ile elde olunan oran bulunarak bir kıyaslama yapıldı. Elde olunan bu oran KHC grubunda ortalama $4,87 \pm 4,86$ iken KHB grubunda $1,75 \pm 1,14$ ve kontrol grubunda ise $7,21 \pm 12,48$ bulundu. Bu oranda plazma prohepcidin seviyesi ile orantılı olarak, KHB grubunda en düşük seviyede saptandı. Bu fark istatistiki olarak anlamlı idi. KHC grubundaki bu oran kontrol grubuna göre daha düşük idi fakat yapılan değerlendirmede istatistiki anlamlılık saptanmadı (Tablo-3a).

Tablo-3a. Gruplardaki Plazma Prohepcidin ve Phep/ferritin Seviyeleri.

	KHC	KHB	Kontrol	P		
				KHC ve KHB	KHC ve Kontrol	KHB ve Kontrol
Prohepcidin (ng/ml)						
kadın	218,44±54,57	194,82±10,72	225,02±37,59			
erkek	193,29±59,13	159,81±40,14	204,19±35,63			
toplam	210,82±56,29	165,64±39,03	217,73±37,38	<0,05	A.D.	<0,001
Phep/ferritin	4,87 ± 4,86	1,75 ± 1,14	7,21 ± 12,48	<0,05	A.D.	<0,001

Veriler ortalama \pm SD şeklindedir. Phep, prohepcidin; p, p değeri; A.D, anlamlı değil.

KHC grubundaki hastaların ortalama plazma prohepcidin seviyesi ve prohepcidin/ferritin oranının ortalamasının diğ er parametreler arasındaki ilişkileri tablo-3b de özetlendi. Plazma prohepcidin seviyesi ile yaş arasında anlamlı pozitif korelasyon bulundu.

Prohepcidin ve alkalen fosfataz arasında anlamlı pozitif korelasyon varken histolojik aktivite indeksi ve prohepcidin arasında ise negatif korelasyon saptandı. Prohepcidin ile hemoglobin, demir, ferritin, TS, AST, ALT ve HCV RNA arasında anlamlı korelasyon tespit edilmedi (Tablo-3b).

Plazma prohepcidin/ferritin arasındaki oran ile diğ er parametreler arasındaki korelasyon karşılaştırıldığında istatistiki anlamlılık saptanmadı (Tablo-3b).

Tablo-3b. Kronik Hepatit C Grubundaki Plazma Prohepcidin, Prohepcidin/Ferritin Oranı ve Diğ er Değ işkenler Arasındaki Korelasyon

	Prohepcidin			Phep/ferritin		
	n	r	p	n	r	p
Yaş	33	0,392	0,024	30	-0,022	0,909
Hemoglobin	33	0,068	0,706	30	-0,314	0,091
Demir	30	-0,094	0,616	29	-0,062	0,749
Ferritin	30	-0,022	0,907	30	-0,665	0,000
TS	30	-0,049	0,799	29	-0,151	0,453
AST	33	-0,168	0,349	30	-0,216	0,252
ALT	33	-0,191	0,287	30	-0,263	0,161
ALP	33	0,419	0,015	30	0,082	0,667
HCV RNA	33	0,272	0,126	30	-0,008	0,968
HAI	32	-0,362	0,042	29	-0,287	0,131

n, hasta sayısı; r, pearson katsayısı; p, istatistiki anlamlılık; TS, transferin saturasyonu; ALP, alkalen fosfataz; HAI, histolojik aktivite indeksi.

KHB grubundaki hastaların ortalama plazma prohepcidin ve prohepcidin/ferritin oranlarının diğer parametreler arasındaki korelasyon sonuçları Tablo-3c'de özetlendi.

Bu grupta plazma prohepcidin ve diğer parametreler arasında anlamlı korelasyon saptanmadı (Tablo-3c).

Plazma prohepcidin ve ferritin arasındaki oranın diğer parametreler ile arasındaki korelasyon değerlendirildiğinde ALP ve GGT ile bu oran arasında anlamlı düzeyde negatif korelasyon vardı (Tablo-3c).

Tablo-3c. Kronik Hepatit B grubundaki Plazma Prohepcidin, Prohepcidin/Ferritin Oranı ve Diğer Değişkenler Arasındaki Korelasyon

	Prohepcidin			Phep/ferritin		
	n	r	p	n	r	p
Yaş	24	-0,149	0,488	19	-0,176	0,472
Hemoglobin	23	0,061	0,784	18	0,261	0,295
Demir	23	0,111	0,615	19	0,021	0,932
Ferritin	19	0,244	0,313	19	-0,632	0,004
TS	22	0,292	0,187	18	0,083	0,742
AST	24	0,126	0,557	19	-0,375	0,113
ALT	24	0,240	0,258	19	-0,244	0,313
ALP	24	-0,002	0,992	19	-0,509	0,026
GGT	23	-0,159	0,468	18	-0,486	0,041
HBV DNA	24	-0,150	0,483	19	-0,018	0,942
HAI	15	0,165	0,556	12	0,124	0,702

n, hasta sayısı; r, pearson katsayısı; p, istatistiki anlamlılık; TS, transferin saturasyonu; ALP, alkalin fosfataz; HAI, histolojik aktivite indeksi; GGT, gamaglutamil transpeptidaz.

Çalışmaya dahil edilen KHC, KHB ve sağlıklı kontrol grubundaki 77 hastadaki ortalama plazma prohepcidin ve prohepcidin/ferritin oranı ile diğer değişkenler arasındaki korelasyon Tablo-3d'de özetlendi.

Plazma prohepcidin seviyesi ile alkalen fosfataz arasında anlamlı düzeyde pozitif korelasyon saptandı (Tablo-3d). Plazma prohepcidin / ferritin oranı ile hemoglobin arasında negatif korelasyon bulundu (Tablo-3d). KHB ve KHC grubundaki hastaların ortalama plazma prohepcidin seviyesi ile karaciğer biyopsilerindeki fibrozis skorlaması arasında anlamlı düzeyde negatif korelasyon saptandı (Tablo-3d). Yine KHC ve KHB grubundaki hastalardaki yapılan korelasyon analizinde fibrozis ile HAI arasında anlamlı düzeyde pozitif korelasyon tespit edildi (n= 50, r: 0,770, p<0,001).

KHC ve KHB grubu birlikte değerlendirildiğinde fibrozis olan hastalardaki ortalama plazma prohepcidin seviyesi $220,36 \pm 41,48$ (n=10) iken fibrozis olmayan hastalarda ise bu değer $190,09 \pm 53,38$ (n=37) bulundu. İki grup arasındaki bu farka rağmen istatistiki anlamlılık saptanmadı (p>0,05).

Tablo-3d. Çalışmaya Katılan Tüm Gruplardaki Ortalama Plazma Prohepcidin, Prohepcidin/Ferritin Oranı ve Diğer Değişkenler Arasındaki Korelasyon.

	Prohepcidin			Phep/ferritin		
	n	r	p	n	r	p
Yaş	77	0,213	0,063	69	-0,058	0,637
Hemoglobin	75	0,036	0,760	67	-0,243	0,048
Demir	71	-0,131	0,277	66	-0,156	0,212
Ferritin	69	-0,056	0,647	69	-0,252	0,037
TS	70	-0,136	0,262	65	-0,198	0,114
AST	75	-0,096	0,411	67	-0,156	0,208
ALT	75	-0,128	0,275	67	-0,194	0,115
ALP	75	0,233	0,044	67	-0,094	0,451
GGT	55	-0,203	0,137	47	-0,229	0,121
Fibrozis	47	-0,393	0,006	-	-	-
HAI	47	-0,036	0,811	41	-0,089	0,578

n, hasta sayısı; r, pearson katsayısı; p, istatistiki anlamlılık; TS, transferin saturasyonu; ALP, alkalin fosfataz; HAI, hepatik aktivite indeksi; GGT, gamaglutamil transpeptidaz.

KHB grubundaki alt grup analizinde, Anti-Hbe pozitif olan ile negatif olan alt gruplarda plazma prohepcidin seviyesi, prohepcidin/ferritin oranı arasında istatistiki anlamlılık saptanmadı (Tablo-4).

Tablo-4. KHB Grubundaki AntiHbe Pozitif ve Negatif Olan Altgruplar Arasındaki Prohepcidin Plazma Seviyeleri Arasındaki İlişki

	Prohepcidin	Phep/Ferritin	İstatistik
AntiHbe			
negatif (n)	161,48±44,2(3)	2,44±1,41(3)	p>0,05
pozitif (n)	163,66±41,38(18)	1,63±1,03(14)	p>0,05

TARTIŞMA

Kronik hepatit C, kronik karaciğer hastalığı ve sirozun en yaygın sebeplerindendir. Bazı ülkelerde görülen en yaygın karaciğer transplantasyonu endikasyonudur. Tüm dünyada küresel nüfusun yaklaşık %2'si olmak üzere yaklaşık olarak 170 milyon insan HCV'den etkilenmektedir (1,102).

Kronik hepatit C enfeksiyonunun neden olduğu siroz ve hepatosellüler karsinom batı ülkelerindeki karaciğer ile ilişkili ölüm nedenleri arasında hatırı sayılır yer işgal etmektedir (5). Kronik hepatit C hastalarındaki serum ferritin ve demir konsantrasyonları sıklıkla artmış bulunur (6). Bunun daha agresif bir hastalığa (7) ve daha düşük interferon tedavi yanıtına (8-13) neden olduğu literatürde gösterilmiştir. Artmış karaciğer demir yükü, fibrozisi artırarak hepatosellüler karsinom riskine neden olmaktadır (14-20). Artmış demir yükünün fenton reaksiyonu sonucu ortaya çıkan hidroksil radikalleri, yüksek derecede toksik etki gösterir ve karaciğer hasarındaki ana mekanizması bu radikallerin ortaya çıkardığı oksidatif stresdir (22). Bunlara ek olarak kronik hepatit C hastalarında flebotomi yapmanın ALT seviyelerinde normalleşme yaptığı gösterilmiştir (14). Artan demir oranı hastaların sadece bir kısmında görülmektedir ve bu da demir birikim patogenezinin aydınlatılmasının önemini göstermektedir (14-20).

Hepcidin sadece karaciğerde sentez edilir ve insan serum ve idrarından izole edilmiştir. Anti mikrobiyal özelliği olan bu peptid 25aa yapısındadır ve karaciğerden inaktif prohormon şeklinde sentez edilir (16,90). Hepcidin

ekspresyonunun azaltıldığı knock-out farelerde yapılan çalışmalarda demir birikimi saptanmışken (20), ekspresyonun aşırı olduğu transgenik farelerde ise demir eksikliği saptanmıştır (94). Bundan başka hepcidin mutasyonu şiddetli tip juvenile hemakromatozis ile ilişkili bulunmuştur (136). Normal farelerde, demir birikimi karaciğer hepcidin sentezini artırırken, demir eksikliği sentezi azaltmaktadır (91,101). Son zamanlarda, hepcidin molekülünün ferroportine bağlanarak onun internalize ve degrade olmasını sağladığı gösterilmiştir. Bunun sonucu olarak enterosit, makrofaj ve karaciğerden demir salınımı azalmaktadır (104). Bundan dolayı, hepcidin demir dengesinde major negatif düzenleyici bir moleküldür.

Kronik hepatit C hastalarındaki orta derecedeki demir birikiminin altında yatan nedeni açık değildir. Ancak son zamanlarda transgenik fareler üzerinde yapılan deneysel çalışmalarda hepatit C proteinlerinin reaktif oksijen metabolitlerini arttırdığı ve bununda CHOP miktarını arttırdığı bulundu. Artan CHOP C/EBP α 'nın hepcidin promoter bölgesine bağlanmayı azaltarak hepcidin salınımını azalttığı gösterilmiştir (24). Fareler üzerinde yapılan bu çalışma ile hepatit C proteinlerinin hepcidin ekspresyonunu nasıl azalttığıнын fizyopatogenezi aydınlatılmaya çalışılmıştır.

Biz çalışmamızda kronik hepatit C, kronik hepatit B ve kontrol grubu arasında plazma prohepcidin seviyeleri arasındaki ilişkiyi, prohepcidin seviyesi ve demir parametreleri arasındaki korelasyonları ve kronik hepatit vakalarındaki demir birikiminin prohepcidin ile bağlantısını açığa çıkarmayı amaçladık.

Bizim yaptığımız çalışmada, kronik hepatit tanısı alan hepatit C ve hepatit B hastalarında, ortalama plazma prohepcidin seviyesi, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı derecede düşük saptandı. Bu bulgumuz literatürde yapılan plazma prohepcidin seviyesi ve karaciğer hepcidin mRNA ekspresyon çalışmaları ile uyumluluk gösterdi (137,138). Kronik hepatit C grubu ile kontrol grubu arasında prohepcidin seviyesinde anlamlı farklılık saptanamamasına rağmen KHC grubunda plazma prohepcidin seviyesi daha düşük bulundu. Kronik hepatit B grubunda ise KHC ve Kontrol grubuna göre anlamlı düşüklük saptandı.

KHB ile kontrol grubu arasındaki anlamlı düşüklük literatür ile uyumlu bulundu(137). Ancak KHC ile kontrol ve KHB grupları arasındaki farkın anlamsızlığı literatürden farklı bulundu. Nagashima ve arkadaşlarının yaptığı benzer çalışmada KHC grubundaki plazma prohepcidin seviyesi KHB ve kontrol grubuna göre istatistiki olarak anlamlı derecede düşük tespit edilmişti (137). Yine karaciğer hepcidin mRNA ekspresyonu ile ilgili yapılan çalışmada KHC grubundaki hepcidin ekspresyonu kontrol ve KHB grubuna göre daha düşüktü. Bizim çalışmamızdaki sonucun, literatürdeki sonuçtan farklı olması, KHC hastalarının heterojen bir grup olmalarından kaynaklanmış olabilir. Hepatit C hastalarındaki genotipik farklılıklar bu sonucu doğrulamış olabilir. Yinede kontrol grubuna göre kronik hepatit gruplarında daha düşük çıkan plazma prohepcidin seviyesi hepcidin regülasyonundaki bozulmaya işaret etmektedir.

KHC grubunda plazma prohepcidin seviyesi ile yaş ve ALP arasında pozitif korelasyon varken HAI ile negatif korelasyon tespit edildi. Prohepcidin ve AST, ALT, demir, ferritin ve TS arasında, KHC, KHB ve kontrol grubunda korelasyon tespit edilemedi. Tüm hepatitli hastalardaki plazma prohepcidin seviyesi ile diğer değişkenler arasındaki korelasyonlara bakıldığında HAI ile bir korelasyon yok iken fibrozis skoru ile negatif korelasyon gösterdiği bulundu.

Bu bulgular göz önünde bulundurulduğunda ileri dönem kronik hepatit vakalarındaki açığa çıkan fibrozis ile birlikte hepcidin sentez ve salınımında bozulma ortaya çıkmaktadır. Dolayısı ile plazma prohepcidin seviyesi fibrozisi dolaylı olarak bize gösterebilir ve ilerliyen çalışmalar ile de marker olarak kullanılabilir. Fibrozis ve HAI ile prohepcidin arasındaki bu ilişki literatürdeki diğer yayınlar ile de benzerlik göstermektedir (137,138). Nishina ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada transgenik ve non-transgenik farelerin karaciğerine verilen LPS ile inflamasyon indüklenmiş ve her iki grupta IL-1 β , IL-6 ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin arttığı gösterilmiştir. Açığa çıkarılan deneysel inflamasyonun sonucunda her iki grupta hepcidin artışı gösterilmiştir (24). Biz daha önce yapılan çalışmalarda HCV ilişkili karaciğer hastalarında IL-6 seviyesinin artmış olduğunu biliyoruz (119). Bizim yaptığımız çalışmada ve

literatürdeki diğer çalışmalarda ortaya çıkan KHC ve KHB hastalarındaki hepcidin ekspresyonunun bozulması inflamatuvar süreç sonucu açığa çıkan hepcidin ile tezat oluşturmaktadır. Ancak biz yukarıda da bahsettiğimiz gibi hepcidin regülasyonunda tek yolak olmadığını biliyoruz (119). KHC hastalarında yapılan çalışmalarda, açığa çıkan reaktif oksijen metabolitleri CHOP miktarını arttırarak C/EBP α 'nın DNA'ya bağlanmasını engellediğini ve hepcidin promoter bölgesinin aktifleşmemesi ile de hepcidin ekspresyonunun bozulduğunu bilmekteyiz (24). Bu bilgiler ışığında akut inflamatuvar süreçlerdeki anlaşılması basit olan hepcidin ekspresyon yolağı, kronik inflamatuvar süreçlerde daha kompleks ve anlaşılması güç olmaktadır.

Kronik hepatit C hastalarında demir, DBK, TS ve ferritin değerleri kontrol grubuna göre daha yüksek olmasına rağmen istatistiki anlamlılık saptanmadı. 2005 yılında Amerika birleşik devletlerinde yapılan ve 14.462 kişi kayıtlarında yapılan çalışmada KHC grubu hastalarında plazma demir ve ferritin normal kişilere göre istatitiki olarak anlamlı yüksek bulunmuştur. Aynı çalışmada TS ve DBK ise yüksek saptanmasına rağmen istatistikî anlamlı değildi (139). Bizim çalışmamızı bu geniş tarama ile kıyaslayacak olursak KHC grubundaki DBK ve TS benzer fakat demir ve ferritin seviyelerinin istatistiki anlamlığa ulaşmaması farklı bulgulardır. Ancak KHB grubunuda analiz edecek olursak bu gruptaki demir, ferritin, DBK ve TS değerleri diğer gruplara göre anlamlı yüksek tespit edildi. Buradan hareketle Kronik hepatit B olgularındada karaciğer demir birikiminin, karaciğer hasarındaki fizyopatogenetik mekanizmalardaki rolü araştırılmaya değerdir.

Karaciğer testlerinden bilirubin, AST, ALT ve viral yük değerleri ile prohepcidin arasında korelasyon saptanmadı. Bu bulgularda kronik inflamatuvar süreçlerde akut sürece ters orantılı olarak hepcidin ekspresyonunun bozulmasını desteklemektedir. Yine de karaciğer fonksiyonları ile plazma prohepcidin arasındaki korelasyon için ileri çalışmalara ihtiyaç vardır.

Aynı parametreler her üç grupta plazma prohepcidin/ferritin oranı ile analiz edildi. KHC grubunda elde olunan oran ile diğer parametreler arasında anlamlı

ilişki saptanamazken, KHB grubunda ise ALP ve GGT ile negatif korelasyon tespit edildi. Bu sonuç ile kolestaz enzimleri ile arasındaki bu ilişki plazma prohepcidin seviyesinin karaciğer fonksiyon testleri ile etkileşiminin daha ileri çalışmalar ile desteklenmesi savını güçlendirmektedir. Yine bu değerinde plazma demir, ferritin, TS, AST, ALT ve viral yük arasında ilişkisi saptanmadı.

Tüm gruplardaki bu oranın ortalama değeri diğer parametreler ile kıyaslandığında ise hemoglobin ve Phep/ferritin arasında anlamlı düzeyde negatif korelasyon bulundu.

Bizim çalışmamızdaki eksik olan taraf plazma hepcidin seviyesini direkt olarak ölçen ELISA kit olmadığı için prohepcidin seviyesini ölçmek zorunda kalmamızdır. Daha ileri düzey çalışmalarda yapılan direkt karaciğer dokusunda çalışılan hepcidin mRNA ekspresyonuna bakılması daha doğru sonuçlar verebilir.

Bizim çalışmamıza katılan sağlıklı gönüllülerdeki ortalama prohepcidin seviyesi ve sınırı (165,5-315), Japonya'da aynı kit ile yapılan çalışma ile benzerlik göstermezken (137), Avrupa kaynaklı çalışmaya katılanlar ile benzerlik göstermektedir (15,111). Bu da Japonya ve Avrupa arasındaki ırksal farklılıktan kaynaklanıyor olabilir.

SONUÇ

Kronik hepatit C ve kronik hepatit B, kronik karaciğer hastalığına bağlı gelişen siroz ve hepatosellüler karsinomun en sık nedenlerindedir. Kronik hepatitler arasında özellikle kronik hepatit C'ye bağlı gelişen tümorogenesisde karaciğer demir birikiminin önemi bilinmektedir. Biz çalışmamızda vücut demir dengesinde merkezi bir rolü olan hepcidin ve kronik hepatitler arasındaki ilişkiyi analiz ettik. Kontrol grubuna göre kronik hepatit C ve kronik hepatit B grubunda prohepcidin düzeyini daha düşük bulduk ve bu düşüklük kronik hepatit B grubunda anlamlı düzeyde idi. Biz çalışmamızda, literatürle paralel olarak kronik hepatitlerde hepcidin düzeyinin düşük olduğunu ve literatürden farklı olarak bu düşüklüğün kronik hepatit B grubunda daha fazla ve anlamlı olduğunu saptadık. Hecpidin ve kronik inflamatuvar süreç arasındaki kompleks ve çok yönlü ilişkinin kronik hepatitlerdeki demir birikimine neden olabileceğini açıklamaya çalıştık. Sonuç olarak gruplarımızdaki heterojineteğe rağmen, hepcidin seviyesi ile vücut demiri, fibrozis ve histolojik aktivite indeksi arasındaki ilişkinin varlığı bize hepcidin çok faktörlü bir düzenleme mekanizması ile etki ettiğini gösterdi. Hecpidin seviyesinin kronik hepatit B ve C vakalarındaki göreceli düşüklüğü bize bu vakalardaki demir birikimini açıklayabilmektedir. İlerleyen yıllardaki ileri araştırmalar ile bu vakalara yapılacak olan hepcidin ilavesi ile yararlı etkiler gösterilebilir.

KAYNAKLAR

1. Kiyosawa K, Sodeyama T, Tanaka E et al. Interrelationship of blood transfusion, non-A, non-B hepatitis and hepatocellular carcinoma: analysis by detection of antibody to hepatitis C virus. *Hepatology*. 1990; 12: 671–5.
2. Powell E, Edwards-Smit CJ, Hay JL, Goodman Z, Mchutchison J, Albrecht J. Host genetic factors influence disease progression in chronic hepatitis C. *Hepatology*. 2000; 31: 828–33.
3. Poynard T, Rantziu V, Charlotte F et al. Rates and risk factors of liver fibrosis progression in patients with chronic hepatitis C. *J. Hepatol*. 2001; 34: 730–9.
4. Suzabo G. Pathogenic interactions between alcohol and hepatitis C. *Curr. Gastroenterol. Rep*. 2003; 5: 86–92.
5. Koziel MJ. The role of immune responses in the pathogenesis of hepatitis C virus infection. *J Viral Hepat*. 1997;4:31-41.
6. Piperno A, D'Alba R, Fargion S, et al. Liver iron concentration in chronic viral hepatitis: A study of 98 patients. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1995;7: 1203-8.
7. Di Bisceglie AM, Axiotis CA, Hoofnagle JH, et al. Measurements of iron status in patients with chronic hepatitis. *Gastroenterology*. 1992;102:2108-13.
8. Barton AL, Banner BF, Cable EE, et al. Distribution of iron in the liver predicts the response of chronic hepatitis C infection to interferon therapy. *Am J Clin Pathol*. 1995;103:419-24.

9. Fargion S, Fracanzani AL, Sampietro M, et al. Liver iron influences the response to interferon alpha therapy in chronic hepatitis C. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1997;9:497-503.
10. Ikura Y, Morimoto H, Johmura H, et al. Relationship between hepatic iron deposits and response to interferon in chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol*. 1996;91:1367-73.
11. Olynyk JK, Reddy KR, Di Bisceglie AM, et al. Hepatic iron concentration as a predictor of response to interferon alfa therapy in chronic hepatitis C. *Gastroenterology*. 1995;108:1104-9.
12. Piperno A, Sampietro M, D'Alba R, et al. Iron stores, response to alpha interferon therapy, and effect of iron depletion in chronic hepatitis C. *Liver*. 1996;16:248-54.
13. Van Thiel DH, Friedlander L, Faggioli S, et al. Response to interferon alpha therapy is influenced by the iron content of the liver. *J Hepatol*. 1994;20:410-5
14. Hayashi H, Takikawa T, Nishimura N, et al. Improvement of serum aminotransferase levels after phlebotomy in patients with chronic active hepatitis C and excess hepatic iron. *Am J Gastroenterol*. 1994;89:986-8.
15. Kulaksiz H, Gehrke SG, Janetzko A, et al. Pro-hepcidin: Expression and cell specific localization in the liver and its regulation in hereditary haemochromatosis, chronic renal insufficiency, and renal anaemia. *GUT*. 2004;53:735-43.
16. Park CH, Valore EV, Waring AJ, et al. Heparin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem*. 2001;276:7806-10.
17. Fleming RE, Sly WS. Heparin: A putative iron regulatory hormone relevant to hereditary hemochromatosis and the anemia of chronic disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98:8160-2.
18. Ganz T. Heparin, a key regulatory of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood*. 2003;102:783-8.
19. Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G, Lichtenstein A, Ganz T. Heparin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood*. 2003;101:2461-3.

20. Nicolas G, Bennoun M, Devaux I, et al. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98:8780-5.
21. Weinstein DA, Roy CN, Fleming MD, et al. Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: Implications for the anemia of chronic disease. *Blood*. 2002;100:3776-81.
22. Gehrke SG, Kulaksiz H, Herrmann T, et al. Expression of hepcidin in hereditary hemochromatosis: Evidence for a regulation in response to the serum transferrin saturation and to non-transferrin-bound iron. *Blood*. 2003;102:371-6.
23. Aoki CA, Rossaro L, Ramsomooj R, et al. Liver hepcidin mRNA correlates with iron stores, but not inflammation, in patients with chronic hepatitis C. *J Clin Gastroenterol*. 2005;39:71-4.
24. Nishina S, Hino K, Korenaga M, Vecchi C, et al. Hepatitis C Virus-Induced reactive oxygen species raise hepatic iron level in mice by reducing hepcidin transcription. *Gastroenterology*. 2008;134:226-238.
25. Armstrong GL, Wasley A, Simard EP, et al. The prevalence of hepatitis C virus infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med*. 2006;144:705.
26. Polat SA. Yatarak tedavi gören psikiyatri hastalarında hepatit B ve hepatit C seroprevalansı. *C. Ü. Tıp Fakültesi Dergisi*. 2002;24(1):15-20.
27. Terrault NA, Busch M, Murphy E, et al. Sexual transmission of hepatitis C virus in heterosexual monogamous couples-the HCV Partners study (abstract). *Hepatology*. 2003; 38:183A.
28. Ohto H, Terazawa S, Sasaki N, et al. Transmission of hepatitis C virus from mothers to infants. *N Engl J Med*. 1994; 330:744.
29. Geerlings W, Tufveson G, Ehrich JH, et al. Report on management of renal failure in Europe, XXIII. *Nephrol Dial Transplant*. 1994; 9 Suppl 1:6.
30. Koksall I, Biberoglu K, Biberoglu S, Koc F, Ayma Y, Aker F, Koksall H. Hepatitis C virus antibodies among risk groups in Turkey. *Infection*. 1991;19(4):228-9.

31. Bozdayi G, Rota S, Verdi H, Derici U, Sindel S, Bali M, Basay T. The presence of hepatitis C virus (HCV) infection in hemodialysis patients and determination of HCV genotype distribution. *Mikrobiyol Bul.* 2002;36(3-4):291-300.
32. Houghton M, Weiner A, Han J, et al. Molecular biology of the hepatitis C viruses: Implications for diagnosis, development and control of viral disease. *Hepatology.* 1991; 14:381.
33. Farci P, Alter H, Govindarajan S, et al. Lack of protective immunity against reinfection with hepatitis C virus. *Science.* 1992; 258:135.
34. Koziel MJ, Dudley D, Afdhal N, et al. HLA class I-restricted cytotoxic T lymphocytes specific for hepatitis C virus: identification of multiple epitopes and characterization of patterns of cytokine release. *J Clin Invest.* 1995;96:2311-21.
35. Lechner F, Wong DK, Dunbar PR, et al. Analysis of successful immune responses in persons infected with hepatitis C virus. *J Exp Med.* 2000;191:1499-512.
36. Takaki A, Wiese M, Maertens G, et al. Cellular immune responses persist and humoral responses decrease two decades after recovery from a single-source outbreak of hepatitis C. *Nat Med.* 2000;6:578-82.
37. Simmonds P, Alberti A, Alter HJ, et al. A proposed system for the nomenclature of hepatitis C viral genotypes (letter). *Hepatology.* 1994;19:1321.
38. Simmonds P, Bukh J, Combet C, et al. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology.* 2005; 42:962.
39. Lau JY, Davis GL, Prescott LE, et al. Distribution of hepatitis C virus genotypes determined by line probe assay in patients with chronic hepatitis C seen in tertiary referral centers in the United States. *Ann Intern Med.* 1996;124:868.
40. Dusheiko G, Schmilovitz-Weiss H, Brown D, et al. Hepatitis C virus genotypes: An investigation of type-specific differences in geographic origin and disease. *Hepatology.* 1994;19:13.
41. Yano M, Kumada H, Kage M, et al. The long-term pathological evolution of chronic hepatitis C. *Hepatology.* 1996;23:1334-40.

42. National Institutes of Health Consensus Development Conference Panel statement: management of hepatitis C. *Hepatology*. 1997;26:Suppl 1:2S-10S.
43. EASL International Consensus Conference on Hepatitis C: Paris, 26-28, February 1999, consensus statement. *J Hepatol*. 1999;30:956-61.
44. Hoofnagle JH, Carithers RL, Shapiro C, Ascher N. Fulminant hepatic failure: Summary of a workshop. . *Hepatology*. 1995;21:240.
45. .Chu CM, Yeh CT, Liaw YF. Fulminant hepatic failure in acute hepatitis C: Increased risk in chronic carriers of hepatitis B virus. *Gut*. 1999; 45:613.
46. Hoofnagle JH. Course and outcome of hepatitis C. *Hepatology*. 2002;36(5 Suppl 1):S21-9.
47. Farci P, Alter HJ, Wong D, et al. A long-term study of hepatitis C virus replication in non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med*. 1991;325:98.
48. Barrera JM, Bruguera M, Ercilla MG, et al. Persistent hepatitis C viremia after acute self-limiting posttransfusion hepatitis C. *Hepatology*. 1995;21:639.
49. Gonzalez-Peralta RP, Qian K, She YS, et al. Clinical implications of viral quasispecies in chronic hepatitis C. *J Med Virol*. 1996;49:242.
50. Farci P, Shimoda A, Coiana A, et al. The outcome of acute hepatitis C predicted by the evolution of the viral quasispecies. *Science*. 2000;288:339.
51. Merican I, Sherlock S, McIntyre N, et al. Clinical, biochemical and histological features in 102 patients with chronic hepatitis C virus infection. *Q J Med*. 1993;86:119.
52. Conry-Cantilena C, Van Raden M, Gibble J, et al. Routes of infection, viremia, and liver disease in blood donors found to have hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*. 1996;334:1691.
53. Tong MJ, El-Farra NS, Reikes AR, Co RL. Clinical outcomes after transfusion-associated hepatitis C. *N Engl J Med*. 1995;332:1463.
54. Takahashi M, Yamada G, Miyamoto R, et al. Natural course of chronic hepatitis C. *Am J Gastroenterol*. 1993;88:240.
55. Yano M, Kumada H, Kage M, et al. The long-term pathological evolution of chronic hepatitis C. *Hepatology*. 1996;23:1334.

56. Garcia-Suarez J, Burgaleta C, Hernanz N, et al. HCV-associated thrombocytopenia: Clinical characteristics and platelet response after recombinant alpha2b-interferon therapy. *Br J Haematol.* 2000; 110:98.
57. Planas R, Balleste B, Antonio Alvarez M, et al. Natural history of decompensated hepatitis C virus-related cirrhosis. A study of 200 patients. *J Hepatol.* 2004;40:823.
58. Fattovich G, Giustina G, Degos F, et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: A retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology.* 1997;112:463.
59. Hu KQ, Tong MJ. The long-term outcomes of patients with compensated hepatitis C virus- related cirrhosis and history of parenteral exposure in the United States. *Hepatology.* 1999;29:1311.
60. Cacoub P, Renou C, Rosenthal E, et al. Extrahepatic manifestations associated with hepatitis C virus infection. A prospective multicenter study of 321 patients. *The GERMIVIC. Medicine (Baltimore).* 2000; 79:47.
61. Agnello V, Chung RT, Kaplan LM. A role for hepatitis C virus infection in type II cryoglobulinemia. *N Engl J Med.* 1992; 327:1490.
62. Pozzato G, Mazzaro C, Crovatto M, et al. Low-grade malignant lymphoma, hepatitis C virus infection, and mixed cryoglobulinemia. *Blood.* 1994;84:3047.
63. Misiani R, Bellavita P, Fenili D, et al. Hepatitis C virus infection in patients with essential mixed cryoglobulinemia. *Ann Intern Med.* 1992;117:573.
64. Lindsay KL, Hoofnagle JH. Kronik hepatitler. In: Goldman L, Ausiello D (eds). *Cecil textbook of medicine Türkçe.* 22`nci baskı Ankara: Güneş kitabevi. 2006;921-23.
65. Vrieling H, Reesink HW, van den Burg PJ, et al. Performance of three generations of anti-hepatitis C virus enzyme-linked immunosorbent assays in donors and patients. *Transfusion.* 1997;37:845-9.
66. Beld M, Habibuw MR, Rebers SP, Boom R, Reesink HW. Evaluation of automated RNA extraction technology and a qualitative HCV assay for sensitivity and detection of HCV RNA in pool-screening systems. *Transfusion.* 2000;40:575-9.

67. Poynard T, Marcellin P, Lee SS, et al. Randomised trial of interferon alpha2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *Lancet*. 1998;352 :1426-32.
68. McHutchison JG, Gordon SC, Schiff ER, et al. Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. *N Engl J Med*. 1998;339:1485-92.
69. Aisen P, Enns C, Wessling-Resnick M, Chemistry and biology of eukaryotic iron metabolism. *Int. J. Biochem. Cell Biol*. 2001;33, 940–959.
70. Rytter SW, Tyrrell RM. The heme synthesis and degradation pathways: role in oxidant sensitivity. Heme oxygenase has both pro- and antioxidant properties. *Free Radical Biol Med*. 2000;28:289– 309.
71. Beinert H, Holm RH, Mqnck E. Iron–sulfur clusters: nature’s modular, multipurpose structures. *Science*. 1997;277:653– 659.
72. Bruick RK, Oxygen sensing in the hypoxic response pathway: regulation of the hypoxia-inducible transcription factor. *Genes Dev*. 2003;17:2614– 2623.
73. Halliwell B, Gutteridge JMC. The role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. *Methods Enzymol*. 1990;186:1 – 85.
74. Hampton MB, Kettle AJ, Winterbourn CC. Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing. *Blood*. 1998;92:3007–3017.
75. Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med*. 1999;341:1986– 1995.
76. Ponka P . Tissue-specific regulation of iron metabolism and heme synthesis: distinct control mechanisms in erythroid cells. *Blood*. 1997;89:1 – 25.
77. McKie AT, Barrow D, Latunde-Dada GO, Rolfs A, Sager G, Mudaly E, Mudaly M, Richardson C, Barlow D, Bomford A, Peters TJ, Raja KB, Shirali S, Hediger MA, Farzaneh F, Simpson RJ. An iron-regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. *Science*. 2001;291:1755– 1759.
78. Fleming MD, Trenor CCI, Su MA, Foernzler D, Beier DR, Dietrich WF, Andrews NC. Microcytic anaemia mice have a mutation in Nramp2, a candidate iron transporter gene. *Nat. Genet*. 1997;16:383– 386.

79. Gunshin H, Mackenzie B, Berger UV, Gunshin Y, Romero MF, Boron WF, Nussberger S, Gollan JL, Hediger MA. Cloning and characterization of a mammalian protein-coupled metal ion transporter. *Nature*. 1997;388:482–488.
80. Donovan A, Brownlie A, Zhou Y, Shepard J, Pratt SJ, Moynihan J, Paw BH, Drejer A, Barut B, Zapata A, Law TC, Brugnara C, Lux SE, Pinkus GS, Pinkus JL, Kingsley PD, Palis J, Fleming MD, Andrews NC, Zon LI. Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature*. 2000;403:776–781.
81. McKie AT, Marciani P, Rolfs A, Brennan K, Wehr K, Barrow D, Miret S, Bomford A, Peters TJ, Farzaneh F, Hediger MA, Hentze MW, Simpson RJ. A novel duodenal iron-regulated transporter IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation. *Mol Cell*. 2000;5:299–309.
82. Abboud S, Haile DJ. A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism. *J Biol Chem*. 2000;275:19906–19912.
83. Vulpe CD, Kuo YM, Murphy TL, Cowley L, Askwith C, Libina N, Gitschier J, Anderson GJ. Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the sla mouse. *Nat Genet*. 1999;21:195–199.
84. Hellman NE, Gitlin JD. Ceruloplasmin metabolism and function. *Annu Rev Nutr*. 2002; 22:439–458.
85. Finch C. Regulators of iron balance in humans. *Blood*. 1994;84:1697–1702.
86. Stewart WB, Yuile CL, Claiborne HA, Snowman RT, Whipple GH. Radioiron absorption in anemic dogs; fluctuations in the mucosal block and evidence for a gradient of absorption in the gastrointestinal tract. *J Exp Med*. 1950;92:375–382.
87. Frazer DM, Wilkins SJ, Becker EM, Murphy TL, Vulpe CD, McKie AT, Anderson GJ. A rapid decrease in the expression of DMT1 and Dcytb but not Ireg1 or hephaestin explains the mucosal block phenomenon of iron absorption. *Gut*. 2003;52:340–346.
88. Roy CN, Enns CA. Iron homeostasis: new tales from the crypt. *Blood*. 2000;96:4020–4027.
89. Ganz T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood*. 2003;102:783–788.

90. Krause A, Neitz S, Magert HJ, Schlytz A, Forssmann WG, Schulz-Knappe P, Adermann L: LEAP-1, a novel highly disulfidebonded human peptide exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett.* 2000; 480: 147–150.
91. Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, Leroyer P, Turlin B, Brissot P, Loreal O. A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J. Biol Chem* 2001; 276: 7811–7819.
92. Hunter HN, Fulton DB, Ganz T, Vogel HJ: The solution structure of human hepcidin, a peptide-hormone with antimicrobial activity that is involved in iron uptake and hereditary hemochromatosis *J Biol Chem* 2002; 277: 37597–37603.
93. Rivera S, Nemeth E, Gabayan V, Lopez MA, Farshidi D, Ganz T: Synthetic hepcidin causes rapid dose-dependent hypoferremia and is concentrated in ferroportin-containing organs. *Blood* 2005; 106: 2196–2199.
94. Nicolas G; Bennoun M; Porteu A; Mativet S; Beaumont C; Grandchamp B; Siritto M; Sawadogo M; Kahn A; Vaulont S. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin - *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002 Apr 2;99(7):4596-601.
95. Lesbordes-Brion JC; Viatte L; Bennoun M; Lou DQ; Ramey G; Houbron C; Hamard G; Kahn A; Vaulont S. Targeted disruption of the hepcidin 1 gene results in severe hemochromatosis. *Blood.* 2006 Aug 15;108(4):1402-5.
96. Nicolas G; Viatte L; Lou DQ; Bennoun M; Beaumont C; Kahn A; Andrews NC; Vaulont S. Constitutive hepcidin expression prevents iron overload in a mouse model of hemochromatosis. *Nat Genet* 2003 May;34(1):97-101.
97. Viatte L; Nicolas G; Lou DQ; Bennoun M; Lesbordes-Brion JC; Canonne-Hergaux F; Schonig K; Bujard H; Kahn A; Andrews NC; Vaulont S. Chronic hepcidin induction causes hyposideremia and alters the pattern of cellular iron accumulation in hemochromatotic mice. *Blood.* 2006 Apr 1;107(7):2952-8.
98. Laftah AH; Ramesh B; Simpson RJ; Solanky N; Bahram S; Schumann K; Debnam ES; Srai SK. Effect of hepcidin on intestinal iron absorption in mice. *Blood* 2004 May 15;103(10):3940-4.
99. Muckenthaler, M., et al. Regulatory defects in liver and intestine implicate abnormal hepcidin and *Cybrd1* expression in mouse hemochromatosis. *Nat. Genet.* 2003;34:102–107.

100. Nemeth, E., et al. IL-6 mediates hypoferraemia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest.* 2004;113:1271–1276.
101. Frazer DM; Wilkins SJ; Becker EM; Vulpe CD; McKie AT; Trinder D; Anderson GJ. Hepcidin expression inversely correlates with the expression of duodenal iron transporters and iron absorption in rats. *Gastroenterology.* 2002;123(3):835-44.
102. Frazer DM, Inglis HR, Wilkins SJ, Millard KN, Steele TM, McLaren GD, McKie AT, Vulpe CD, Anderson GJ .Delayed hepcidin response explains the lag period in iron absorption following a stimulus to increase erythropoiesis. *Gut.* 2004;53(10):1509-15.
103. Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, Devaux I, Beaumont C, Kahn A, Vaulont S: The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest.* 2002;110:1037–1044.
104. Nemeth E; Tuttle MS; Powelson J; Vaughn MB; Donovan A; Ward DM; Ganz T; Kaplan J .Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science.* 2004;306(5704):2090-3.
105. Adamsky, K., et al. Decreased hepcidin mRNA expression in thalassemic mice. *Br J Haematol.* 2004;124:123–124.
106. Bridle KR, Frazer DM, Wilkins SJ, Dixon JL, Purdie DM, Crawford DH, Subramaniam VN, Powell LW, Anderson GJ, Ramm GA. Disrupted hepcidin regulation in HFE-associated haemochromatosis and the liver as a regulator of body iron homeostasis. *Lancet.* 2003;361(9358):669-73.
107. Nemeth E, Roetto A, Garozzo G, Ganz T, Camaschella C. Hepcidin is decreased in TFR2 hemochromatosis. *Blood.* 2005;105(4):1803-6.
108. Kushner I: The phenomenon of the acute phase response. *Ann NY Acad Sci* 1982;389:39–48.
109. Gabay C, Kushner I: Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999;340: 448–454.
110. Andrews NC. Anemia of inflammation: the cytokine-hepcidin link. *J Clin Invest.* 2004;113(9):1271-6.

111. Kulaksiz H, Theilig F, Bachmann S, Gehrke SG, Rost D, Janetzko A, Cetin Y, Stremmel W: The iron-regulatory peptide hormone hepcidin: expression and cellular localization in the mammalian kidney. *J Endocrinol.* 2005; 184: 361–370.
112. Wrighting DM, Andrews NC: Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3. *Blood.* 2006;108:3204–3209.
113. Young SP, Roberts S, Bomford A. Intracellular processing of transferrin and iron by isolated rat hepatocytes. *Biochem J.* 1985;232: 819-823.
114. Morgan EH, Smith GD, Peters TJ. Uptake and subcellular processing of ⁵⁹Fe-¹²⁵I-labelled transferrin by rat liver. *Biochem J.* 1986;237:163-173.
115. Dautry-Varsat A, Ciechanover A, Lodish HF. pH and the recycling of transferrin during receptor-mediated endocytosis. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1983; 80: 2258-2262.
116. Young SP, Bomford A, Williams R. The effect of the iron saturation of transferrin on its binding and uptake by rabbit reticulocytes. *Biochem J.* 1984; 219: 505-510.
117. Baldwin DA, De Sousa DM, Von Wandruszka RM. The effect of pH on the kinetics of iron release from human transferrin. *Biochim Biophys Acta.* 1982; 719: 140-146.
118. Bali PK, Aisen P. Receptor-modulated iron release from transferrin: differential effects on N- and C-terminal sites. *Biochemistry.* 1991; 30: 9947-9952.
119. Graham RM, Anita CG, Herbison CE, Olynyk JK, Trinder D. Liver Iron Transport. *World J Gastroenterol.* 2007;13(35):4725-4736.
120. Feder JN, Gnirke A, Thomas W, Tsuchihashi Z, Ruddy DA, Basava A, Dormishian F et al. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet.* 1996;13: 399-408.
121. Feder JN, Tsuchihashi Z, Irrinki A, Lee VK, Mapa FA, Morikang E, Prass CE, Starnes SM, Wolff RK, Parkkila S, Sly WS, Schatzman RC. The hemochromatosis founder mutation in HLA-H disrupts beta2-microglobulin interaction and cell surface expression. *J Biol Chem.* 1997; 272: 14025-14028.

122. Roy CN, Penny DM, Feder JN, Enns CA. The hereditary hemochromatosis protein, HFE, specifically regulates transferrin-mediated iron uptake in HeLa cells. *J Biol Chem.* 1999; 274: 9022-9028.
123. Dhungana S, Taboy CH, Zak O, Larvie M, Crumbliss AL, Aisen P. Redox properties of human transferrin bound to its receptor. *Biochemistry.* 2004; 43: 205-209.
124. Scheiber B, Goldenberg H. NAD(P)H:ferric iron reductase in endosomal membranes from rat liver. *Arch Biochem Biophys.* 1993; 305: 225-230.
125. Ohgami RS, Campagna DR, Greer EL, Antiochos B, McDonald A, Chen J, Sharp JJ, Fujiwara Y, Barker JE, Fleming MD. Identification of a ferrireductase required for efficient transferrin-dependent iron uptake in erythroid cells. *Nat Genet.* 2005; 37: 1264-1269.
126. Garrick MD, Kuo HC, Vargas F, Singleton S, Zhao L, Smith JJ, Paradkar P, Roth JA, Garrick LM. Comparison of mammalian cell lines expressing distinct isoforms of divalent metal transporter 1 in a tetracycline-regulated fashion. *Biochem J.* 2006; 398: 539-546.
127. Kawabata H, Yang R, Hirama T, Vuong PT, Kawano S, Gombart AF, Koeffler HP. Molecular cloning of transferrin receptor 2. A new member of the transferrin receptor-like family. *J Biol Chem.* 1999; 274: 20826-20832.
128. Camaschella C. Why do humans need two types of transferrin receptor? Lessons from a rare genetic disorder. *Haematologica.* 2005; 90: 296.
129. Wright TL, Fitz JG, Weisiger RA. Non-transferrin-bound iron uptake by rat liver. Role of membrane potential difference. *J Biol Chem.* 1988; 263: 1842-1847.
130. Tsushima RG, Wickenden AD, Bouchard RA, Oudit GY, Liu PP, Backx PH. Modulation of iron uptake in heart by L-type Ca²⁺ channel modifiers: possible implications in iron overload. *Circ Res.* 1999; 84: 1302-1309.
131. De Domenico I, Ward DM, Musci G, Kaplan J. Evidence for the multimeric structure of ferroportin. *Blood.* 2007; 109: 2205-2209.
132. Babitt JL, Huang FW, Wrighting DM, Xia Y, Sidis Y, Samad TA, Campagna JA, Chung RT, Schneyer AL, Woolf CJ, Andrews NC, Lin HY. Bone morphogenetic protein signaling by hemojuvelin regulates hepcidin expression. *Nat Genet.* 2006; 38: 531-539.

133. Knutson MD, Oukka M, Koss LM, Aydemir F, Wessling-Resnick M. Iron release from macrophages after erythrophagocytosis is up-regulated by ferroportin 1 overexpression and downregulated by hepcidin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005; 102: 1324-1328.
134. Deugnier Y, Brissot P, Loreal O. Iron and the liver: Update 2008. *Journal of Hepatology*. 2008;48:113-23
135. Papanikolaou G, Pantopoulos K. Iron metabolism and toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2005;202:199-211.
136. Roetto A et al. Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nat. Genet*. 2003;33:21-2
137. Nagashima M, Kudo M, Chung H et al. Regulatory failure of serum prohepcidin levels in patients with hepatitis C. *Hepatology research*. 2006;36:288-293.
138. Fujita N, Sugimoto R, Takeo M et al. Hepcidin Expression in the liver: Relatively low Level in patients with chronic hepatitis C. *Mol. Med*. 2007;13(1-2):97-104.
139. Ying Shan, Richard W. Lambrecht, Herbert L. Bonkovsky. Association of Hepatitis C Virus Infection with Serum Iron Status: Analysis of Data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Clinical Infectious Diseases*. 2005; 40:834–41

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Trabzon'da dünyaya geldim. İlk-orta öğrenimimi Samsun Gülsüm Sami Kefeli İlköğretim Okulu'nda tamamladım.

1992–1995 yılları arasında lise öğrenimimi Trabzon Yomra Fen Lisesi'nde tamamladım.

1995–2001 yılları arasında Samsun 19 Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi'ni bitirdim.

2001 yılında Samsun 19 Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi Radyodiagnostik Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım.

2003 yılında tekrar uzmanlık sınavına girdim ve radyoloji eğitimimi yarıda bırakarak Uludağ üniversitesi Tıp Fakültesi iç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda uzmanlık eğitimime başladım.

Halen İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda Araştırma Görevlisi olarak çalışmaktayım.

TEŞEKKÜR

Eđitim hayatımın başından beri bana maddi ve manevi desteğini esirgemeyen, benim bugünlere gelmemde pay sahibi olan annem ve babama, İç Hastalıkları uzmanlık eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım başta İç Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Şazi İmamoğlu ve diğer İç Hastalıkları AD öğretim üyeleri olmak üzere, Kardiyoloji, Göğüs Hastalıkları, Enfeksiyon Hastalıkları ve Biyokimya AD öğretim üyelerine, tezimin hazırlanmasında bilgi ve tecrübesi ile beni yönlendiren başta tez hocam Prof. Dr. Selim Gürel olmak üzere Gastroenteroloji Bilim Dalı öğretim üyelerine, tezimin hasta alım aşamasında bana desteğini esirgemeyen başta Gastroenteroloji Bilim Dalı Endoskopi Ünitesi Başhemşiresi Gülnaz Çalışkan olmak üzere Gastroenteroloji Bilim Dalı klinik ve poliklinik çalışanlarına, Tezimin tamamlanmasında bilgi ve laboratuvar desteğini sağlayarak yardımda bulunan Patoloji AD Başkanı Prof. Dr. Ömer Yerci ve Biyokimya AD öğretim üyesi Doç. Dr. Emre Sarandöl'e, tezimde ve uzmanlık eğitimimde emeği geçen İç Hastalıkları AD asistanlarına ve Mehmet Kovaciođlu'na teşekkür ederim.

Yođun uzmanlık eğitimim boyunca bana daima destek olan ve bu süreci atlatmamda büyük pay sahibi olan eşim Dr. Fatma Ölmez'e ve dünyadaki en değerli varlığımız Ağra Emir'e gösterdikleri sabırdan dolayı teşekkür ederim.

