



T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI

**TALASEMİ MAJOR VE İNTERMEDİALİ  
HASTALARDA SERUM PROHEPSİDİN  
DÜZEYLERİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. CELİL YILMAZ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Yusuf Ziya ARAL

**AYDIN-2008**

T.C.  
ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI  
ANABİLİM DALI

**TALASEMİ MAJOR VE İNTERMEDİALİ  
HASTALARDA SERUM PROHEPSİDİN  
DÜZEYLERİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. CELİL YILMAZ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Yusuf Ziya ARAL

**AYDIN-2008**

## ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR

Uzmanlık eğitimimde ve tezimin oluşmasındaki büyük katkılarından dolayı sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Yusuf Ziya Aral'a, uzmanlık eğitimim sırasında mesleki bilgilerini benden esirgemeyen ve bu süre boyunca desteklerini her an hissettiren değerli hocalarım sayın Prof. Dr. Ayşe Yenigün'e Prof. Dr. Ferah Sönmez'e, Prof. Dr. Ali Rahmi Bakiler'e, Doç. Dr. Münevver Kaynak Türkmen'e, Yrd. Doç. Dr. Ayvaz Aydoğdu'ya, Yrd. Doç. Dr. Ayşe Tosun'a, Yrd. Doç. Dr. Tolga Ünüvar'a, Yrd. Doç. Dr. Emre Çeçen'e, Yrd. Doç. Dr. Bilin Çetinkaya Çakmak'a teşekkür ederim.

Tezimin çalışılmasında sağladıkları büyük destek için Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Klinik Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi sayın Doç. Dr. Aslıhan Karul ve Doç. Dr. Didem Kozacı'ya teşekkür ederim.

Hasta desteği için Aydın Atatürk Devlet Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanı Dr. Betül Akçanal'a teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca dostluklarını paylaştığım, tüm asistan ve uzman doktor arkadaşlarıma ve Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları hemşirelerine teşekkür ederim.

Asistanlığım boyunca desteğini beni destekleyen eşime teşekkür ederim.

Tezimi en güzel varlıklarımıza armağan ediyorum.

Celil YILMAZ

## İÇİNDEKİLER

1.	ÖNSÖZ VE TEŞEKKÜR	
2.	DİZİNLER	
3.	GİRİŞ VE AMAÇ	1
4.	GENEL BİLGİLER	2-17
	4.1 TALASEMİ	2-3
	4.2 DEMİR BİRİKİMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ	4-6
	4.3 DEMİR ŞELATÖRLERİ ve DİĞER TEDAVİ YÖNTEMLERİ	6-8
	4.4 DEMİRİN ÖNEMİ ve DEMİR METABOLİZMASI	8-12
	4.5 DEMİR DENGESİNİN DÜZENLENMESİ	12-17
5.	GEREÇ VE YÖNTEM	18-20
6.	BULGULAR	21-22
7.	SONUÇLAR	23-26
8.	TARTIŞMA	27-32
9.	ÖZET	33
10.	İNGİLİZCE ÖZET	34
11.	KAYNAKLAR	35-41
12.	EKLER	42-49

## TABLO DİZİNİ

1. Tablo I. Şelasyon tedavisinin monitorizasyonu.
2. Tablo II. Genetik demir yüklenmesi hastalıkları.
3. Tablo III. Talasemi major, talasemi intermedia ve kontrol grubu yaş, cinsiyet, ferritin ve prohepsidin düzeyleri.
4. Tablo IV. Talasemi major ve talasemi intermedia hastalarının ortalama serum prohepsidin ve ferritin düzeylerinin karşılaştırılması.
5. Tablo V. Talasemi major ve kontrol grubunun ortalama serum prohepsidin ve ferritin düzeylerinin karşılaştırılması.
6. Tablo VI. Talasemi intermedia ve kontrol grubunun ortalama serum prohepsidin ve ferritin düzeylerinin karşılaştırılması.
7. Tablo VII. Talasemi major hasta grubunda karaciğer fonksiyon testleri yüksek ve normal olan hastaların ortalama serum prohepsidin ve ferritin düzeylerinin karşılaştırılması.
8. Tablo VIII. Splenektomi yapılan ve yapılmayan talasemi majorlu hastaların ortalama serum prohepsidin ve ferritin düzeylerinin karşılaştırılması.
9. Tablo IX. Splenektomi yapılan ve yapılmayan talasemi intermedia hastalarının ortalama serum prohepsidin düzeylerinin karşılaştırılması.
10. Tablo X. Düzenli kan transfüzyonu yapılan ve yapılmayan talasemi intermedialı hastaların ortalama serum prohepsidin ve ferritin düzeylerinin karşılaştırılması.
11. Tablo XI. İlk 10 yaş, 11-18 yaş ve 18 yaş üzeri talasemi major hastalarının ortalama serum prohepsidin ve ferritin düzeylerinin karşılaştırılması.

## ŒEKİL DİZİNİ

1. Œekil 1. Duedonal enterosit, hepatosit, eritroblast ve makrofajlardaki demir metabolizması.
2. Œekil 2. Karaciğer hücresine transferrine bağlı olan ve olmayan demirin alınma yolları.
3. Œekil 3. Hücresel demir dengesinin düzenlenmesi.
4. Œekil 4. Hepsidin görünümü.
5. Œekil 5. Hepsidin düzeyini azaltan ve artıran faktörler ve vücut demirine etkisi.
6. Œekil 6. Hepsidin sentezinin düzenlenmesi.
7. Œekil 7. Talasemi major, talasemi intermedia ve kontrol grubu serum ferritin düzeyleri.
8. Œekil 8. Talasemi major, talasemi intermedia ve kontrol grubu serum prohepsidin düzeyleri.

## **SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ**

TM	: Talasemi Major
Tİ	: Talasemi İntermedia
LIC	: Liver Iron Concentration (Karaciğer Demir Yükü)
HbF	: Hemoglobin F
SQUID	: Superconducting Quantum Interference Device (Superiletken Kuantum Girişim Cihazı)
MRI	: Magnetik Rezonans Görüntüleme
NTBI	: Transferrine Bağlı Olmayan Demir
DFO	: Desferrioksamin
DFP	: Deferipiron
DFS	: Deferasiroks
RNA	: Ribonükleik Asit
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DMT1	: Divalent Metal Transporter 1
HCP-1	: Heme Carrier Protein-1 (Hem Taşıyıcı Protein-1)
HO-1	: Hem Oksijenaz-1 (HO-1)
TfR	: Transferrin Reseptörü
TfR1	: Transferrin Reseptörü 1
TfR2	: Transferrin Reseptörü 2
IL-6	: İnterlökin-6
TGF	: Transforming Growth Factor (Transforme Edici Büyüme Faktörü)
ZIP-14	: Zrt-Irt-like Protein 14
ATP	: Adenozin Trifosfat
STEAP	: Six-Transmembran Epitelyal Antijen Prostat Protein
STEAP3	: Six-Transmembran Epitelyal Antijen Prostat Protein 3
DCytb	: Askorbat Bağımlı Duodenal Sitokrom b
IRE	: Iron Responsive Elements (Demir Yanıtlı Elementler)
IRP	: Iron Regulatuar Proteins (Demir Düzenleyici Proteinler)
HFE	: Hemokromatozis Proteini
ALAS	: Aminolevulinik Asit Sentaz

MtF	: Mitokondrial Ferritin
Fe-S	: Demir Sülfür
HAMP	: İnsan Hepsidin Geni
BMP	: Bone Morphogenetic Protein
SMAD	: Drosophila protein [MAD] ve C.elegans protein [SMA]'nın kombinasyonu
HJV	: Hemojuvelin
KCFT	: Karaciğer Fonksiyon Testleri
CRP	: C-Reaktif Protein
SGOT	: Serum Glutamin Oksalasetat Transaminaz
SGPT	: Serum Glutamin Piruvat Oksalasetat Transaminaz
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
GDF 15	: Growth Differentiation Factor 15 (Büyüme Farklılaştırma Faktörü 15)
OHA	: Orak Hücreli Anemi
HH	: Herediter Hemokromatozis
KBY	: Kronik Böbrek Yetmezliği



## **EKLER DİZİNİ**

- 1.Ek.1. Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu Başkanlığı izin yazısı.
2. Ek.2. Hasta bilgilendirme metni.
3. Ek.3. Bilgilendirilmiş olur formu.
4. Ek.4. Hasta bilgi formu.
5. Ek.5. Talasemi major ve intermedialı hastaların verileri.
6. Ek-6. Yaşa göre ortalama hemoglobin değerleri.

## GİRİŞ VE AMAÇ

Talasemi major (TM) ve talasemi intermedia (Tİ)'lı hastalarda vücutta aşırı demir birikimi olmaktadır. Vücutta biriken demirin başlıca kaynağı; TM'lu hastalarda verilen kan transfüzyonu iken, Tİ'lı hastalarda barsaktan aşırı demir emilimidir. TM'lu hastalarda da barsaktan demir emilimi artmaktadır. Düzenli kan transfüzyonu yanı sıra vücutta biriken demirin demir şelatörleri ile atılmasının sağlanması talasemide tedavinin esasını oluşturmaktadır. Bu koruyucu tedavi ile vücutta fazla olan demirin başlıca kalp, karaciğer ve endokrin organlarda birikmesi önlenerek, komplikasyonlara bağlı morbidite ve mortalitenin en aza indirilmesi sağlanır (1,2).

Son yıllarda demir metabolizmasının negatif düzenleyicisi olan hepsidin keşfinden sonra talasemi hastalarında yapılan çalışmalarda barsaktan demir emilim artış nedeninin hepsidin sentezinde azalma olabileceği ifade edilmektedir (3). İnsan hepsidin geni 84 aminoasitlik preprohepsidini kodlamakta, bu form endoplazmik retikulumda enzimatik parçalanma ile 60 aminoasitlik prekürsör olan prohepsidin haline gelmekte ve daha sonra 25 aminoasitlik aktif hepsidine ya da 22 ve 20 aminoasitlik izoformlara dönüşmektedir (4).

Bu çalışmada amacımız, TM ve Tİ hastalarındaki hepsidin hormonunun öncülü olan prohepsidin düzeylerini inceleyerek barsaktan demir emilim artışının bu hormona bağlı olup olmadığını araştırmak ve bu hormonun talasemi hastalarının tedavisinde kullanılabilme olasılığını değerlendirmektir.

## GENEL BİLGİLER

### TALASEMİ

#### Tanım

Talasemi, hemoglobin molekülünü oluşturan globin zincirlerinden birinin veya daha fazlasının yapılamaması veya az miktarda yapılması ile karakterize sıklıkla otozomal resesif nadiren de otozomal dominant geçişli kalıtsal bir hastalıktır. İlk defa 1925 yılında Thomas Cooley ve Peart Lee isimli araştırmacılar tarafından İtalyan kökenli çocuklarda tarif edilmiştir. İlk olguların çoğu Akdeniz kökenli çocuklar olduğu için, hastalık daha sonra Yunanca'da "deniz" demek olan thalassa'dan yola çıkılarak talasemi olarak adlandırılmıştır (5,6).

Beta globin geni 11. kromozom, alfa globin geni ise 16. kromozom üzerindedir. Beta globin zincir sentezi azlığı veya yokluğunda beta-talasemi, alfa-globin zincir sentezi azlığı veya yokluğunda alfa-talasemi ortaya çıkar.

#### Patofizyoloji

TM'de beta globin zincir yapım hızının azalmasına karşın alfa globin zincir yapım hızı normal düzeyde kalır. Bunun sonucu olarak alfa globin zincirleri eritroid öncüllerde birikerek inklüzyon cisimcikleri oluşturur. Inklüzyon cisimleri membrandan iyon geçişini bozarak eritrosit ölümüne neden olurlar. Ayrıca eritrositlerde artmış demir ve serbest plazma demiride hücre membranında lipid peroksidasyonu yaparak serbest oksijen radikallerinin oluşumu ile hücre ölümüne yol açarlar. Bu olaylar, hem eritrositlerde hemolize hem de kemik iliğinde etkili olmayan eritropoeze neden olarak anemiye yol açmaktadır. Kronik anemi eritropoetin sentezini artırarak kemik iliğinde etkili olmayan eritropoezi daha çok artırmakta ve dolayısıyla medüller aralık genişlemektedir. Ayrıca artmış demir yükü de hem eritrositlerde hem de diğer organlarda hücre hasarına yol açarak komplikasyonlara neden olur (7).

Beta talasemiler klinik olarak üç grupta toplanır.

1. Semptomuz taşıyıcılar (beta talasemi taşıyıcılığı, beta talasemi minör, beta talasemi trait): Bir beta globin geni defektiftir. Türkiye'deki sıklığı %2.1'dir. Klinik olarak bulgu vermez ve tedavi gereksinimi yoktur (8).

2. Talasemi İntermedia: Talasemi minor ile TM arası klinik ile karakterize talasemiler Tİ olarak adlandırılmaktadır. Klinik ve hematolojik olarak TM kadar ağır olmayan ancak talasemi minorden daha ağır seyirle karakterize hastalar Tİ kabul edilmektedirler. Ancak günümüzde moleküler ve genetik tekniklerdeki ilerlemeler ile Tİ'ya yol açan moleküler genetik defektlerin belirlenmiş olması Tİ kliniğinin daha iyi tanımlanmasını ve ayırt edilmesini sağlamıştır. Tİ'da klinik çok heterojendir erişkin hayata kadar tamamen asemptomatik hastalar olabileceği gibi hastaların büyük çoğunluğu genellikle transfüzyon gereksinimi olmaksızın sadece hafif bir anemi ile karakterizedirler. Daha ağır klinik ile karakterize Tİ'lı hastalar ise genellikle 2-6 yaş arasında tanı alırlar nadiren veya transfüzyon gereksinimleri olmaksızın yaşamlarını devam ettirirler, ancak büyüme ve gelişmelerinde gecikmeler eşlik edebilir. Tİ'lı hastalarda uygun tedavi yapılabilmesi için Tİ kliniğinin erken dönemde belirlenmesi, TM tanısı alarak gereksiz erken tranfüzyon ve transfüzyon komplikasyonlarını önleyecektir. Ancak her zaman TM-Tİ ayrımı kolaylıkla yapılamamaktadır, bu nedenle klinik, hematolojik, genetik ve moleküler teknikler kullanılarak uygun tedavi yapılabilmesi için ayırt edilmelidirler (9).

3. Beta Talasemi Major (Cooley Anemisi): Klinik bulgular postnatal dönemde yavaş gelişir. Fetus ve yenidoğan klinik olarak normaldir. Yenidoğanda hemoglobin F (HbF) oranı yüksektir (%70-90), 12 aylıkta HbF %1'e iner. Üç aylıktan sonra gama gen yapımı durur ve beta gen yapımı başlar. Anemi bundan sonra belirginleşir. Yaşın ilerlemesi ile ekstramedüller hematopoez bulguları ve demir birikimine ait bulgular görülür.

- Hepatik fibroz ve siroz
- Ciltte koyulaşma (demir melanin üretimini artırır)
- Kardiyomiyopati (aritmiler, konjestif kalp yetmezliği, tekrarlayan perikardit)
- Endokrinopati [diyabet (bronz diyabet), sekonder hipopitüitarizm, hipoparatroidi, hipotroidi, büyüme gecikmesi, puberte gecikmesi, adrenal yetmezlik]

Büyüme ve gelişmeyi sağlamak, ekstramedüller hematopoezisi ve barsaklardan demir emilimini azaltmak, splenomegali ve hipersplenizm gelişimini ertelemek için TM'lu çocuklara düzenli kan transfüzyonu yapmak gerekir. Ancak bir ünite eritrosit süspansiyonu yaklaşık olarak 200-250 mg demir içermektedir (10,11).

## **DEMİR BİRİKİMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

### **1.Karaciğer Demirinin Ölçümü**

Vücutta depolanan demirin %90'dan fazlası karaciğerde depolanır. Bu nedenle de karaciğer demir yükünün (LIC) ölçümü vücut demir yükünü belirlemede büyük önem taşır. LIC ile total vücut demir yükü arasında lineer bir ilişki vardır ve demir şelasyon tedavisinin etkinliğini belirleme ve dozunu ayarlama da önem taşımaktadır. LIC ölçümünde altın standart olarak kabul edilen yöntem karaciğer biyopsisidir. Bu yöntemle aynı zamanda histopatolojik inceleme de yapılabilmektedir. Ancak invaziv; ağrılı bir girişim olması, kanama ve enfeksiyon riski taşıması, tecrübeli doktorlara ve gelişmiş laboratuvar tekniklerine ihtiyaç duyulması, elde edilen örnek büyüklüğünün karaciğere göre küçük olması ve karaciğeri temsil edemeyebilmesi, fibrotik bantlara rastlayan biyopsi örneklerinde demirin yanıltıcı olarak düşük bulunabilmesi ve kalpteki demir ile korelasyon göstermemesi bu yöntemin dezavantajlı yanlarıdır (12,13).

Normalde mg/g kuru karaciğer ağırlığı olarak LIC değeri 1.2 iken, 3-7 hafif, 7-15 orta derece, >15 ağır demir birikimini işaret etmektedir (14).

### **2.Serum Ferritin Düzeyinin Ölçümü**

Vücut demir depolarının en sık kullanılan indirekt göstergesidir. Ölçümünün basit ve ucuz olması, tekrarlanan ölçümlerin şelasyon tedavisinin izleminde faydalı olması, morbidite ve mortalite ile pozitif korelasyon göstermesi gibi avantajları; demir birikiminin indirekt göstergesi olması, akut faz proteini olduğu için hepatit, diğer enfeksiyonlar, enflamasyon ve karaciğer hasarı gibi durumlarda artması, C vitamini eksikliğinde azalması, seri ölçümler gerektirmesi gibi dezavantajları söz konusudur. Serum ferritin düzeyi normalde <300 ng/ml olup, 1000- 2500 ng/ml arası değerler orta, 2500 ng/ml üzerindeki değerler ağır demir yüklenmesine işaret eder (15).

### **3. Superiletken Kuantum Girişim Cihazı (Superconducting Quantum Interference Cihazı; SQUID)**

Karaciğer demir yoğunluğunun doğrudan ölçümü için başarılı, invaziv olmayan bir teknik olarak kabul edilmekte ise de çok pahalı ve uygulaması zor bir teknolojidir. Dünyada sadece birkaç merkezde bulunmaktadır. Biyopsi sonucu saptanan LIC değeri ile lineer korelasyon gösterdiği kanıtlanmıştır (16).

#### 4. Magnetik Rezonans Görüntüleme Yöntemi (MRI)

Güvenli, girişimsel olmayan bir tekniktir. Ancak henüz yaygınlaşmamıştır. MRI R2 ölçümleri, karaciğer biopsisi LIC değerleri ile korele bulunmuştur. 1.8 mg/g kuru karaciğer ağırlığı üzerindeki demir düzeylerini doğru olarak saptayabilmektedir. Pahalı olması ve yaygın bulunmaması kullanımını sınırlamaktadır (12). Kalpte demir birikimi ile ilişkili kalp yetmezliği talasemi olgularında en sık ölüm nedenidir. Bu nedenle, miyokardiyal demir birikimine ışık tutacak invaziv olmayan yöntemler, kardiyak riski belirlemek amacı ile sürekli araştırılmaktadır. Kardiyak T2\* MRI, gradient eko görüntüler aracılığı ile kalp demir yoğunluğunu belirlemede artık standardize olmuş bir yöntemdir. Kalp yetmezliği olan talasemi hastalarının çoğunda (%89), kalp MRI T2\* şiddetli demir birikimini göstermiştir (17). Karaciğer demir birikimi ile kalp demir birikimi arasında anlamlı korelasyon olmadığı da bu yöntemle gösterilmiştir. Ejeksiyon fraksiyonu %55'in altına düşüncüye kadar kalple ilgili semptomlar ortaya çıkmamaktadır. Bu nedenle kalpte demir birikimi takibi için ekokardiografi kullanılamamakta, bu invaziv olmayan yöntem ile ancak kalp fonksiyonu bozulunca bilgi sahibi olunmaktadır. Kalp fonksiyonu bozulmadan önce kalpte demir birikiminin varlığını ve şiddetini bize bildirecek olan invaziv olmayan yöntem ise kardiyak T2\* gradient eko ölçümleridir. Normal kalp MRI T2\*; >20 msn olup 14-20 msn; hafif, 8-14 msn; orta, <8msn ise şiddetli demir yüküne karşılık gelmektedir (18). Şelasyon tedavisinin monitorizasyonu Tablo I'de gösterilmiştir.

Tablo I. Şelasyon tedavisinin monitorizasyonu (18).

İzlem aracı	Amaç	Monitorizasyon
Serum ferritin düzeyi	500-1000 ng/ml	3 ay ara ile kontrol
Karaciğer R2 MRI	3.2-7 mg/g kuru ağırlık	1-2 yıl ara ile kontrol
Kalp T2*MRI	>20 msn	1-2 yıl ara ile kontrol

Kan transfüzyonları, hemoliz ve barsaktan demir emiliminin artması nedeniyle vücutta demir birikimi olur. İntrasellüler demir yükünü azaltmak, serbest ekstrasellüler demiri bağlamak ve demir yükünü normale indirmek için için:

1. Ferritin düzeyi >1000 g/L ye ulaşıncaya da,

2. Düzenli transfüzyon 1. yılını doldurduğunda ya da,
3. Yaklaşık 12-15 kez transfüze edildikten sonra ya da,
4. Karaciğer demir yoğunluğu 3.2 mg/g kuru karaciğer dokusu düzeyine ulaşanlarda demir bağlayıcı tedavi başlanır.

LIC, hastaların klinik seyri uygun transfüzyon ve demir şelasyon tedavisi alıp almamasına bağlıdır. Demir şelatörü olarak günümüzde, desferrioksamin (DFO), deferipiron (DFP), desferrioksamin-oral deferipiron kombinasyonu ya da oral deferasiroks (DFS) kullanılmaktadır (1,2).

## **DEMİR ŞELATÖRLERİ ve DİĞER TEDAVİ YÖNTEMLERİ**

### **Desferrioksamin (DFO)**

Hekzadentate (6 dişli) bir demir şelatörüdür. Tek bir DFO molekülü 1 demir atomunun 6 koordinasyon alanının tamamını bağlar ve stabil demir:şelatör kompleksi (1:1) oluşturur. Büyük molekül ağırlıklı olup gastrointestinal sistemden emilmez. Karaciğer ve retikuloendotelial sistemdeki şelate edilebilir demir havuzuna ve transferrine bağlı olmayan demire (NTBI) bağlandıktan sonra hem karaciğer hem de böbrek yolu ile atılır. Talasemi major olgularında DFO subkutan veya sürekli infüzyon ile 25-50 mg/kg dozunda ve 8-12 saatte, haftanın 5-7 günü uygulanmaktadır. En önemli özelliği kardiyak komplikasyon riskini azaltması ve mortalite oranını düşürmesidir (2). Yan etkileri infüzyona bağlı endurasyon ve eritem, çinko eksikliği, yüksek dozlarda sensorinöral işitme kaybı, retinal ve optik sinir hasarı, büyüme geriliği, iskelet değişiklikleri ve pulmoner toksisiteye bağlı solunum sıkıntısıdır (19).

### **Deferipron (DFP)**

Oral olarak kullanılan bidentate bir demir şelatörüdür. Bir demir atomunun 6 koordinasyon alanını bağlamak için 3 defepiron molekülü (1:3) gerekir. Glukuronidasyonu izleyerek başlıca böbrekler yoluyla atılır. DFP'nin 75-100 mg/kg/gün dozunda 8 saat aralarla, ana öğünlerle, bol su ile alınması önerilir. DFO'dan farklı olarak kalpte yüklenmiş olan demirin atılımında daha etkindir (2). DFO ile kombine kullanımı DFO kullanım sıklığını azalttığı için hasta uyumunu artırmış, daha etkin bir demir atılımına olanak sağlamıştır. En sık görülen yan etkisi bulantı ve kusma, en ciddi yan etkisi ise nötropeni ve agranülositozdur. Artralji, çinko eksikliği görülebilir (20).

### **Deferasiroks (DFS)**

Günde tek ve doz oral kullanılan tridentate bir demir şelatörüdür. Bir demir atomunun 6 koordinasyon bölgesini bağlamak için 2 deferasiroks (1:2) molekülü gerekir. Karaciğerde metabolize edilip feçesle (<%10 idrarla) atılır. Suda eriyebilir tablet formundadır. Günde tek doz kullanımı 24 saat yeterli şelasyon etkinliği sağlar. Yemekten 30 dakika önce 100-200 ml su, elma suyu ya da portakal suyu içinde süspansiyon haline getirilip içilir. Önerilen başlangıç dozu aylık kan tüketimi 14 ml/kg'ın altında eritrosit transfüzyonu alanlarda 20 mg/kg, 14 ml/kg'ın üzerinde transfüzyon alanlarda 30 mg/kg'dır. Gastrointestinal sistem bulguları, serum kreatinin düzeyinde artma, karaciğer fonksiyonlarında bozulma, ciltte döküntü, lens opasitesi ve işitme kaybı gibi yan etkiler görülebilir (2).

İnvitro olarak kalp hücreleri ve subsellüler kompartmanlara girebildiği ve kalp hücrelerinden demiri uzaklaştırdığı prelinik çalışmalarda gösterilmiştir (21).

### **Talasemi İntermediada Şelasyon Yönetimi**

TM olgularına göre Tİ olgularında demir daha yavaş birikime uğramakta ve serum ferritin düzeyleri vücut demir birikimini yansıtmakta yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle serum ferritin değerleri 500-1000 ng/ml bulunan olgularda karaciğer demir düzeyinin ölçümü önerilmekte ve karaciğer demir yoğunluğu >7 mg/g kuru karaciğer ağırlığı üzerinde ise demir şelasyonu başlatılmaktadır. Bu olgularda demir birikiminde azalma çok daha hızlı olduğu için DFP ve DFO'in standart dozlarından daha düşük dozlarda ve yakın monitorizasyonla uygulanması önerilir (2).

### **Talasemi Majorda Splenektomi**

TM'de etkin transfüzyon rejimi splenomegali ve hipersplenizm gelişimini geciktirmektedir. Böylece splenektomi yaşamın 2. dekadı ve sonrasına ertelenebilmektedir. Postsplenektomik enfeksiyon riski nedeniyle 5 yaş öncesinde splenektomi önerilmemektedir. Splenektomi kararı transfüzyon öncesi hemoglobin seviyelerini 9-9,5 gr/dl seviyelerinde sürdürebilmek için gerekli eritrosit süspansiyonu tüketimi 200-250 ml/kg/yılı aştığında verilir (2).

### **Talasemi Majorda Hematopoetik Kök Hücre Transplantasyonu**

Günümüzde talasemi major hastaları için tek küratif tedavi yöntemi hematopoetik kök hücre transplantasyonudur. Transplantasyon başarısı açısından hastaların hematopoietik kök hücre transplantasyon öncesi yeterli düzeyde, düzenli olarak ve güvenli kan transfüzyonu almış olmaları ve demir şelasyon tedavisini en etkin düzeyde kullanmış olmalarının önemi



çok fazladır. Doku tipi tam uygun kardeş varlığında demir birikimine bağlı doku hasarı gelişmeden önce en kısa süre içerisinde kardeşten hematopoietik kök hücre transplantasyon uygulanması önerilmektedir. Doku tipi uygun kardeşi olmayan TM hastaları için preimplantasyon genetik tanı ve HLA uygun kardeşin seçiminden sonra doku tip uygun kardeşten transplantasyon da önerilmektedir (22).

## **DEMİRİN ÖNEMİ ve DEMİR METABOLİZMASI**

### **Demirin Önemi**

Demir, insanlar ve tüm memeliler için esansiyel olan bir elementtir ve yasamsal öneme sahiptir. Elektron alıp verme özelliği nedeni ile oksijen taşınması, enerji yapımı, ribonükleik asit (RNA), deoksiribonükleik asit (DNA) ve protein sentezinde yer alır. Pek çok enzimin yapısı ve fonksiyonu için gereklidir (23).

### **Demir Dağılımı**

İnsan vücudadaki demir miktarı 3-4 gramdır. Vücuttaki demirin %65'i hemoglobinde, %22'si hemosiderin ve ferritinde, %10'u miyoglobinde, %3'ü sitokrom, katalaz gibi enzimlerde ve %0.1 oranında da transferrinde bulunmaktadır (24).

### **Demir Emilimi**

Diyette demir, hemoglobin ve myoglobinden kaynaklanan organik hem demiri ve et dışı kaynaklardan alınan hem kaynaklı olmayan demir (inorganik demir) şeklindedir. Bu demirin, %90'ı hem kaynaklı olmayan demiri, %10'u hem demiri formundadır. Demir duodenum ve jejunum proksimalinden emilir. Bu iki demirin emilim yolları birbirinden farklıdır (25).

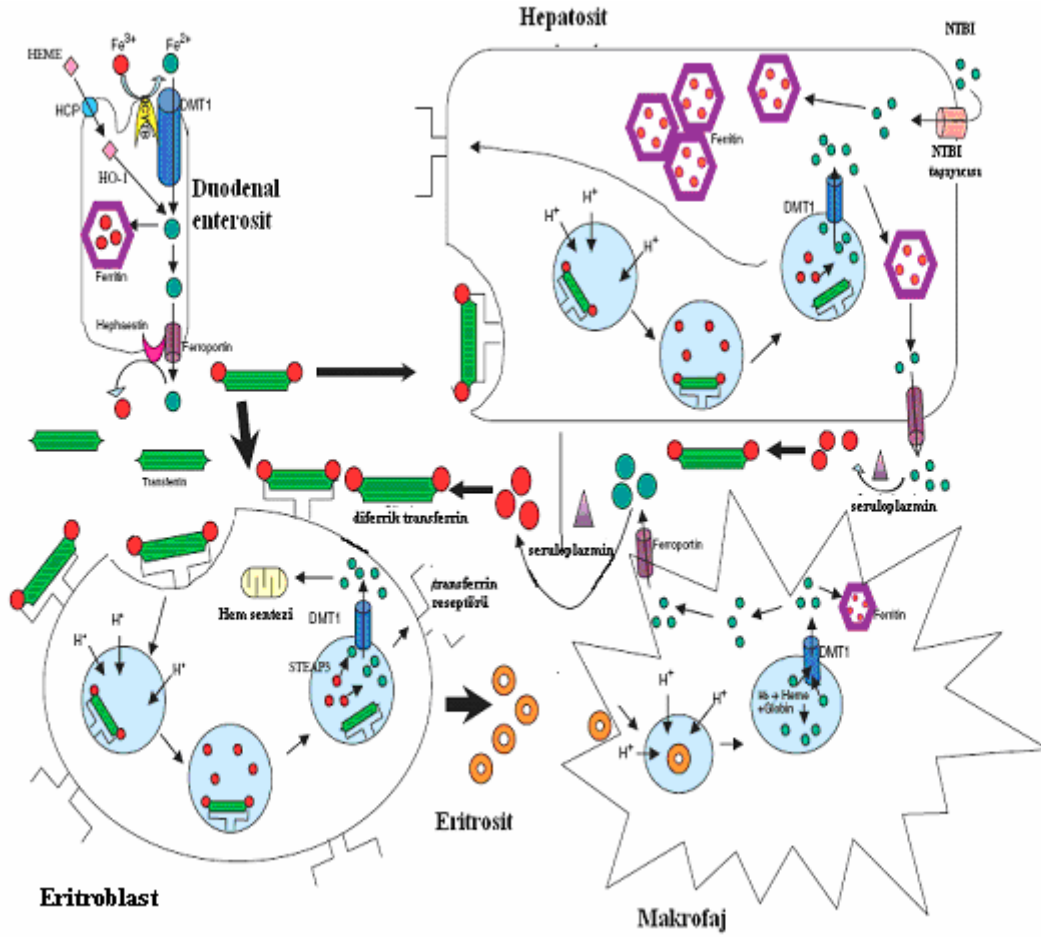
Hem kaynaklı olmayan demir, üç değerlikli olup ferrik redüktaz ile iki değerlikli demire indirgindikten sonra Divalent Metal Transporter 1 (DMT1) yoluyla barsak hücrelerine alınır (Şekil 1) (26).

Hem kaynaklı olmayan demir emilimi için bu demirin mide asidiyle teması gerekir. Besinlerde bulunan oksalat, fosfat, fitat ve tanninler demir ile suda çözünmeyen bileşikler oluşturarak emilimi azaltırken, askorbik asit ve aminoasitler emilimi artırır. Diyetle alınan non hem demirin %5 gibi çok az bir kısmı emilir (27).

Hem demiri iki değerliklidir ve barsak epitel hücresi üzerindeki heme-carrier-protein-1; hem taşıyıcı protein-1 (HCP-1) ile hücre içine alınır ve hem oksijenaz-1 (HO-1) ile

serbest demire ve biliverdine ayrıştır (Şekil 1). Hem demirinin %30'u emilir ve diyetel faktörlerden ve mide asiditesinden emilim etkilenmez (4, 26).

HCP-1 ile serbestlenen hem demiri ve DMT1 ile emilen hem kaynaklı olmayan demiri aynı yolu izleyerek. ferritin şeklinde depolanır ya da demir ihtiyacına göre enterosit basolateral membranında bulunan insandaki tek demir atıcısı olan ferroportin ile transferrine taşınır (28). Transferrine bağlanabilmesi için öncelikle seruloplazmin benzeri bir transmembran proteini olan hephaestin ile üç değerlikli demire okside edilir (Şekil 1) (26). Demir gereksinimi olan hücre tarafından transferrin reseptörü 1 (TfR1) ile hücre içine alınır (28).



Şekil 1. Duedonal enterosit, hepatosit, eritroblast ve makrofajlardaki demir metabolizması (26).

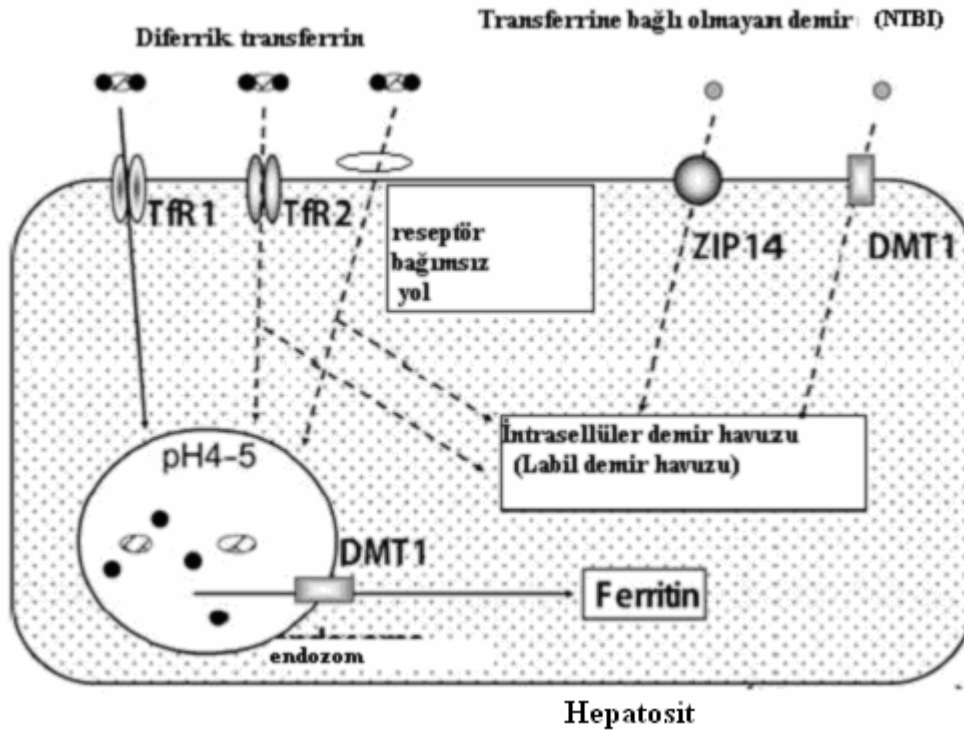
## Demirin Taşınması

Transferrine yüklenen demir, portal dolaşımdan çoğu eritropoezde kullanılmak üzere kemik iliğindeki eritrosit öncül hücrelerine taşınır. Her transferrin molekülü iki tane ferrik demiri güçlü bir şekilde bağlar (Şekil 1) (29).

### Demirin Hücreler Tarafından Alınması

Transferrine bağlı demir hücre içine transferrin reseptörü (TfR) aracılığıyla alınır. İki ayrı genle kodlanan, TfR1 ve transferrin reseptör 2 (TfR2) şeklinde iki farklı TfR vardır. TfR1 enterosit kript bazolateral kısmında ve demiri transferrinden alan tüm hücrelerde en çokta kemik iliği eritrosit öncüllerinde eksprese edilirken, TfR2 en çok karaciğerde eksprese edilmektedir. Transferrine bağlı demirin reseptör bağımsız emilimi de söz konusudur (Şekil 2) (29).

Normal koşullarda transferrinin demirle saturasyonu %30 oranındadır. Transferrinin demir bağlama kapasitesi tamamen dolduğunda plazmada NTBI oluşur (30). Bu demir özellikle karaciğer, kalp hücresi ve endokrin hücelere kolaylıkla girebilir. Karaciğer hücresi tarafından DMT-1 ve Zrt-Irt-like protein 14 (ZIP-14) aracılığıyla hücreye alınırken (Şekil 2), kalp kası hücresine kalsiyum kanalları aracılığıyla girmektedir (29,31).



Şekil 2. Karaciğer hücresine transferrine bağlı olan ve olmayan demirin alınma yolları (29).

Karaciğer tarafından NTBI alımı kobalt, çinko, mangan ve nikel gibi divalan metallere inhibe edilir. Hücre içinde demir depo proteinleri satüre olduğu zaman sitrat, adenosin difosfat gibi çeşitli düşük molekül ağırlıklı proteinlere zayıf olarak bağlanır (labil demir) ve serbest oksijen radikalleri oluşturarak hücre hasarına neden olur (32). Labil demir en toksik NTBI fraksiyonudur (29).

Demir hücre içine TfR aracılığıyla endositoz yoluyla alınır. Bu metabolik olay plazmada dolaşan monoferrik veya diferrik transferrinin hücre yüzeyindeki reseptörüne bağlanması ile başlar. Tf-Fe molekülünün hücre yüzeyindeki reseptöre bağlanmasından sonra TfR-Tf/Fe kompleksi klatrin kaplı çukurcukların invajinasyonu ile endozom şeklinde hücre içine alınır ve adenosin trifosfata (ATP) bağımlı proton pompası tarafından endozom içindeki pH 5.5'lere düşürülür. Buradaki asit ortamda transferrinin demire karşı afinitesi azalır ve demir transferrinden ayrılır (26). Ferrik demir endozomda bulunan bir metalloredüktaz olan six-transmembran epitelyal antijen prostat protein (STEAP) ailesinden olan STEAP3 tarafından ferröz demire dönüştürülür ve DMT-1 ile sitoplazmaya salınır. Yapılan çalışmalarda askorbat bağımlı duodenal sitokrom b (DCytb)'si olmayan farelerde vücut demir depolarının etkilenmediği gösterilmiş ve başka ferreredüktazların etkin olabileceği düşünülmüştür. En olası adayda STEAP olarak gösterilmiştir (33).

Sitoplazmada demir ya mitokondride hem sentezine ya ferritin şeklinde depolanmaya ya da diğer metabolik işlerde kullanılmaya gider. Bunun için hücre içindeki demirin tek atıcısı olan ferroportin ile hücre dışına çıktıktan sonra seruloplazmin ile ferrik demire dönüştürülüp transferrine bağlanır. Apotransferrin-reseptör kompleksi ise endozom ile birlikte tekrar hücre yüzeyine transfer edilir. Hücre yüzeyindeki nötral pH ile temas sonucu apotransferrin reseptöre afinitesini kaybeder ve membrandan ayrılır. Böylece reseptör yüzeyi tekrar kullanım için hazır olur (Şekil 1) (26,34).

TfR1, matür eritrositler dışında tüm hücrelerde eksprese edilir. Bu ekspresyon en yüksek eritroblastlar, sinsityotrofoblastlar ve hızlı proliferasyon gösteren hücrelerde belirgindir. TfR ekspresyonu, demir yanıtı elementler; iron responsive elements (IRE)-demir düzenleyici proteinler; iron regulatuar proteins (IRP) sistemi tarafından intrasellüler demir seviyelerine göre düzenlenir. Düşük intrasellüler demir düzeylerinde artarken, yüksek demir seviyelerinde azalma olur (Şekil 3) (29,35).

TfR2 yapısal olarak TfR1'e benzeyen bir tip transmembran glikoproteinidir. TfR2, transferrine pH'a bağımlı olarak ve TfR1'den 25-30 kez daha düşük afiniteyle bağlanır (34).

Makrofajlar, demir döngüsünün sürdürülmesinde ana rolü oynayan hücrelerdir. Makrofajlar demiri TfR1 aracılığıyla veya yaşlanan eritrositlerin fagositozu ile elde etmektedir. HO-1 ile açığa çıkan demir, ferritin olarak depolanmakta ya da gerektiğinde ferroportin aracılığıyla plazmaya salınmaktadır (Şekil 1) (26, 36).

Karaciğer demir metabolizmasında, dolaşımdaki demirin depolanması ve tekrar kullanılmasında santral bir rol oynar. Karaciğer insanlarda plazma demir döngüsünün yaklaşık %8'inden sorumludur ve bunun çoğunluğu hepatositler tarafından gerçekleştirilir (34). Karaciğerdeki demirin %80'i ferritin veya hemosiderin şeklinde kupffer hücrelerinde depo edilirken %5'i transferrine bağlı %2'si hem demiri kalanı ise labil ya da transit demir havuzunda bulunur. Histolojik olarak, demir karaciğerin periportal bölgelerinin etrafında dağılmış halde bulunur ve daha az bir kısmı ise sentrilobuler bölgelere doğru dağılmıştır. Aşırı demir yüklenmesi hastalıklarında sentrilobuler kısım daha baskın hale gelir (37).

Ferritin suda eriyen 24 subunitten oluşmuş, 4500 demir atomu içeren bir moleküldür. Her bir ferritin, molekül ağırlığı 21 ve 19 kilodalton olan hafif ve ağır subunitten birini içerir (29). Bu subunitlerin oranı hücre tipine göre farklıdır. Karaciğer, dalak ve plesentada daha çok hafif formda ferritin (L-ferritin) içerirken, kalp, eritrositler ve monositlerde başlıca ağır subunit (H-ferritin) içerir (38). Ferritin sentezi hücre içi demir yüksekliğinde artarken, demir azlığında azalır. Bu düzenleme IRE-IRP ile yönlendirilir.

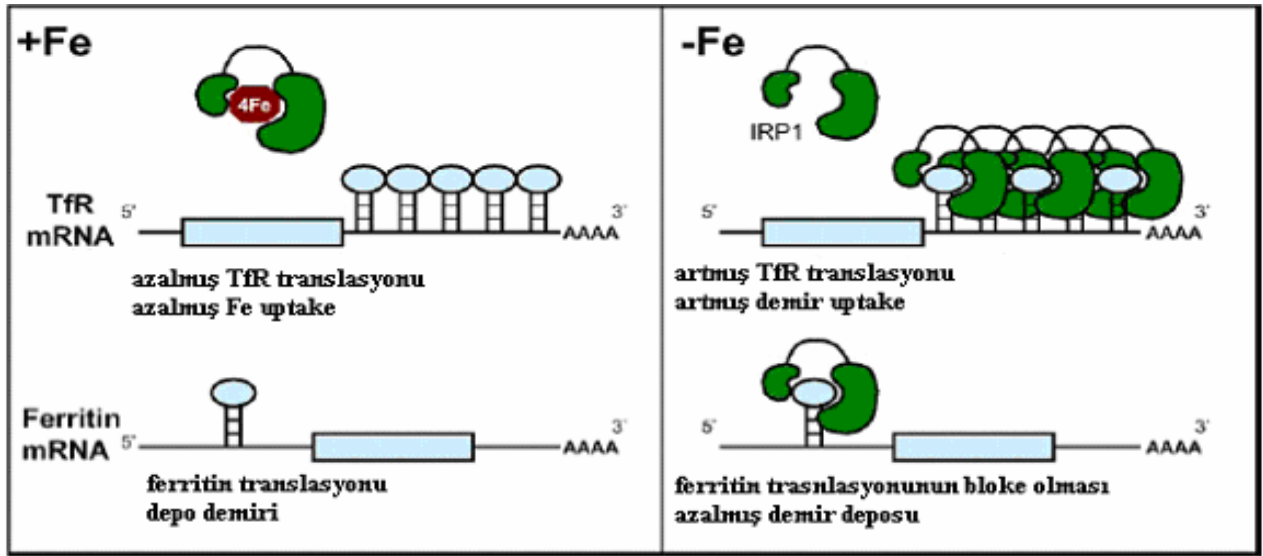
Hemosiderin, suda erimeyen bir molekül olup en çok kemik iliği ve karaciğer kupffer hücrelerinde lizozomlarda bulunur (39).

## **DEMİR DENGESİNİN DÜZENLENMESİ**

Demir, reaktif özelliğinden dolayı organizmada hasar oluşturabildiğinden, canlılar esansiyel fonksiyonları yerine getirecek ama hasar oluşturmayacak kadar demirin sağlanabilmesi için çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir. İnsanlarda demir yüklenmesi durumlarında demir atılımını arttıran fizyolojik bir yol bulunmadığından, demir metabolizması sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir (4, 40).

### **Hücrel Demir Dengesinin Düzenlenmesi**

Hücrel demir dengesinin düzenlenmesi ferritin, TfR, DMT1, ferroportin, mitokondrial akonitaz ve aminolevulinik asit sentaz gibi demir proteinlerinin mRNA'ları üzerindeki IRE ile IRP arasındaki ilişkiye bağlıdır. Ferritin, ferroportin ve aminolevulinik asit sentazdaki (ALAS) IRE motifleri 5' bölgesindedir. Transferrin resöptör 1 ve DMT1 gibi demir transportunda yer alan proteinlerin IRE bölgeleri onları kodlayan mRNA'ların 3' bölgesinde bulunurlar (Şekil 3). Hücre içinde demir eksikliği olduğunda IRP'lerle IRE'ler bağlanırlar. Bu bağlanma TfR ve DMT1'in degradasyonunu azaltıp, translasyonunu artırırken, ferritin, ferroportin ve ALAS'ın sentezlerini durdurur. Hücre dışı demir konsantrasyonu normal sınırlarda iken hücrel demir dengesi IRP/IRE sistemi ile düzeyleri ayarlanan proteinlerle düzenlenmekte, stoplazmik demir miktarına göre gereğinde demir alımı gereğinde depolama yapılmaktadır. Hücrel demir fazlalığında ise IRP yapısal olarak değişip IRE'lere bağlanamayacağı için TfR mRNA stabilizasyonu bozulup, degradasyonu artıp hücre demir alımı dururken, ferritin sentezi artarak ortalıkta bulunan demir de depolanır. IRP1 ve IRP2 şeklinde iki farklı moleküler formda IRP vardır ve her ikisi de IRE' lere yüksek bağlanma afinitesine sahiptir (35).



Şekil 3. Hücrel demir dengesinin düzenlenmesi (35).

Hücrel demir dengesinin düzenlenmesinde sitokinlerin de rolü vardır. TNF-alfa, interlökin 1, interlökin 6 (IL-6) ve interferon gama H-ferritin ve TfR1 sentezini uyarmaktadır (41).

### Sistemik Demir Dengesinin Düzenlenmesi

Hepsidin keşfi ile sistemik demir dengesinin bu hormon ile sağlandığı anlaşılmıştır.

### **Hepsidin Keşfi**

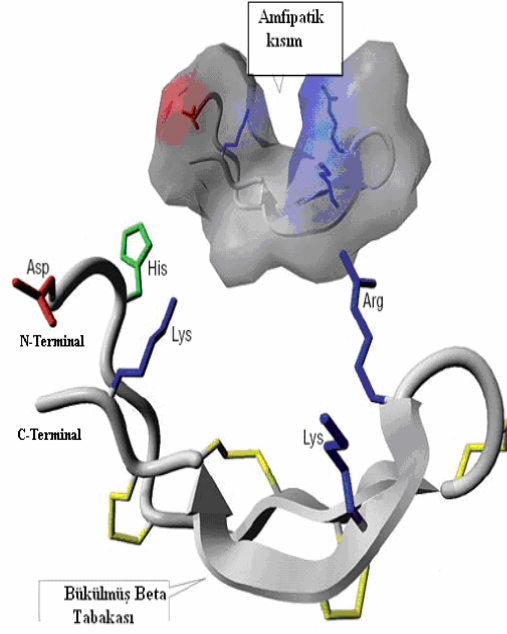
Hepsidin ilk olarak 2000 yılında, Krause ve ark. (42) tarafından plazma ultrafiltratından izole edilmiş ve liver-expressed antimicrobial peptid (LEAP-1) olarak adlandırılmıştır. Bağımsız olarak, Park ve ark.(43) 2001 yılında çeşitli insan vücut sıvılarının antimikrobiyal özelliklerini incelerken, idrarda karaciğer kaynaklı (hep-) ve invitro antimikrobiyal özelliklere (-cidin) sahip yeni bir peptit bulmuş ve hepatik bakteriyel protein (hepcidin) olarak adlandırmışlardır.

### **Hepsidin Yapısı**

İnsan hepsidini, 19. kromozomun kısa kolunda (19q13.1) lokalize insan hepsidin geni (HAMP) tarafından eksprese edilmektedir. Fareler, domuzlar ve çeşitli balık türleri olmak üzere diğer vertebralılarda da bu gen tanımlanmıştır (4).

İnsanlarda hepsidin büyük oranda karaciğerde hepatositler olmak üzere, böbrek, kalp, iskelet kası, beyin, makrofajlarda ve bakterilerle aktive olmuş nötrofillerde sentez edilmektedir (4).

HAMP geni iki intron ve üç ekzon içermekte olup 84 aminoasitlik preprohepsidini kodlar. Bu form daha sonra, endoplazmik retikulumda enzimatik parçalanma ile 60 aminoasitlik prekürsör olan prohepsidin haline gelir. Daha sonra furin benzeri proprotein konvertaz ile bioaktif 25 aminoasitlik hepsidin ortaya çıkar. Ayrıca hepsidin N-terminalinden kesilmiş 22 ve 20 aminoasitlik izoformları da idrarda tespit edilmiştir. Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi ile yapılan çalışmalarda, hepsidin 8 sistein içeren ve 4 disülfid bağı ile stabilize, bükülmüş beta-tabakası ile saç tokası görünümünde bir peptit olduğu gösterilmiştir (Şekil 4) (4).



Şekil 4. Hepsidin görünümü (4).

### Hepsidin Etki Mekanizması

Hepsidin, etkisini hepatositlerde, enterositlerde, retikuloendotelial makrofajlarda ve plasental trofoblastların yüzeyinde yoğun bir şekilde bulunan bir bazolateral transmembran proteini olan ferroportin üzerinden gösterir. Ferroportine bağlanması, onun internalizasyonuna ve lizozomal degradasyonuna, sonuç olarak ta ferroportinin membrandan kaybına yol açmaktadır (4).

Bu şekilde demirin plazmaya geçişi engellenir. Demir depoları yeterli veya yüksek olduğunda, karaciğerde hepsidin üretimi artar, demir depoları düşük olduğunda ise hepsidin üretimi azalır (28).

### Hepsidin Regülasyonu

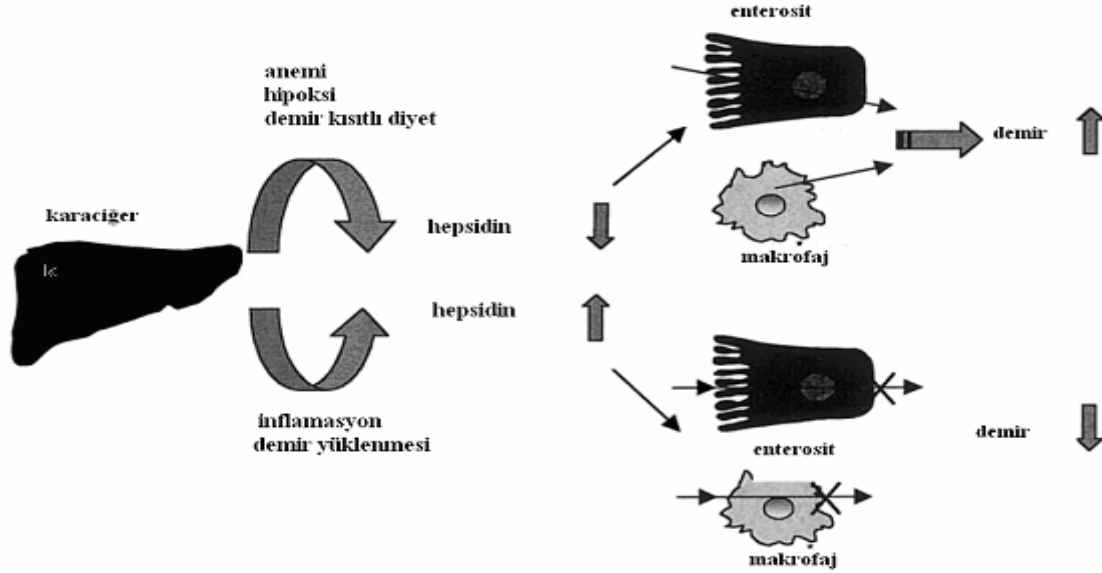
Hepsidin ekspresyonunun regülasyonunda depo regülatörlerinin, eritropoetik regülatörlerin, enflamasyon regülatörlerinin rolü vardır (4).

Eritropoetik regülatörler, kemik iliğinden gelen sinyaller ile çalışmaktadır. Eğer eritropoetik aktivite çok artmış ise kemik iliğinde eritropoezin demir ihtiyacını karşılamak için depolar dolu olsa da intestinal demir emilimi olmaktadır (30).

Depo regülatörleri, karaciğer, iskelet kası ve dolaşımdaki demir miktarı azaldığında bunu algılayarak emilimi artıran regülatörlerdir. Hepsidin sentezi artmış plazma

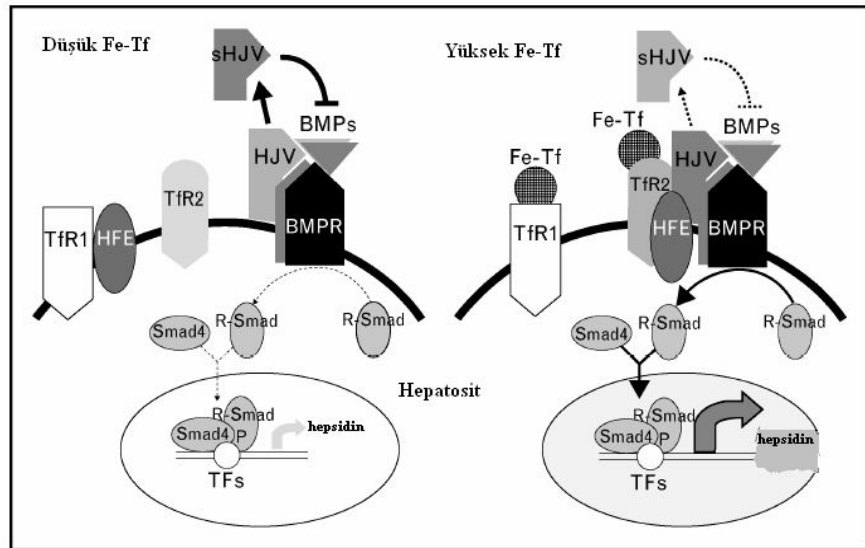


demiri, demir deposu, enfeksiyon ve enflamasyon ile artarken, anemi ve hipoksemi ile azalmaktadır (Şekil5)(30).



Şekil 5. Hepsidin düzeyini azaltan ve artıran faktörler ve vücut demirine etkisi (43).

Hepsidin sentezinin regülasyonu BMP (Bone Morphogenic Protein), SMAD (Drosophila protein [MAD] ve C.elegans protein [SMA]'nın kombinasyonu) ile gerçekleşen BMP/SMAD sinyali ve IL-6 ve sinyal transdusörleri ve transkripsiyon aktivatörü 3 (STAT3) ile gerçekleşen IL-6/STAT3 sinyali ile sağlanmaktadır (Şekil 6). Bu sinyaller arasında bağlantı mevcuttur (44).



Şekil 6. Hepsidin sentezinin regülasyonu (45).

Enflamasyonda hepsidin artışı IL-6/STAT yolu ile olmaktadır. Enflamasyon olduğunda IL-6 salınır ve reseptörüne bağlanır. IL-6 ligand-reseptör ilişkisi Janus kinazların aktivasyonuna yol açar. Bunlar da STAT proteinlerinin fosforilasyonuna sebep olur. Özellikle fosforile olan STAT3, hücre çekirdeğinde HAMP promoterindeki regülatuar elemente bağlanarak hepsidin mRNA ekspresyonu indüklenmektedir (Şekil 6) (45) .

Hepsidin regülasyonunun ikinci şekli BMP/SMAD yolağı iledir. BMP'ler Transforme Edici Büyüme Faktörü Beta (TGF-beta) ailesinin bir üyesidir ve hücre proliferasyonunda, farklılaşmasında, apoptoziste, dokulara migrasyonda anahtar rol oynarlar. Parakrin veya otokrin hormonlar gibi etki gösterebilir (45). Hemojuvelin (HJV), BMP'nin koreseptörü olarak görev yapar ve BMP sinyalini artırır. HJV mutasyonunda BMP sinyali bozulur ve hepsidin artmadığı için çok erken yaşta başlayan demir birikimi ortaya çıkar. Tüm BMP'ler, BMP reseptörleri tip I ve tip II'ye bağlanarak sinyalizasyon yaparlar, bu sinyalizasyon RSmad denilen intrasellüler proteinin fosforilasyonunu sağlar. Bunlar ana mediatör olan Smad 4 ile ilişki kurar ve bu protein nükleusuna taşınarak hepsidin gen transkripsiyonunu artırır (Şekil 6) (46).

### **Hepsidin Hemokromatozisteki Rolü**

Genetik demir yüklenmesi hastalıkları (Tablo II) içinde tip 1, 2 ve 3 hemokromatoziste hepsidin eksikliği mevcuttur. Tip 1 hemokromatoziste hemokromatozis proteinini kodlayan HFE gen mutasyonu, juvenil hemokromatozis Tip 2A'da HJV gen mutasyonu, juvenil hemokromatozis tip 2B'de hepsidin gen mutasyonu, Tip 3 hemokromatoziste ise transferrin reseptör 2 gen mutasyonu söz konusudur. Tip 4 hemokromatoziste ise ferroportin gen mutasyonu nedeniyle hepsidin inaktivitesi vardır ve fonksiyonel hepsidin eksikliği sözkonusudur. Herediter aseruloplazminemi de ise ferröz demirin ferrik demire dönüşümü gerçekleşemeyeceği için aşırı ferroportin degradasyonu ve sonucunda demirin hücre dışına çıkmasında bozukluk ortaya çıkmaktadır. HFE, TfR2 ve TfR1 arasında fiziksel etkileşim HFE ve TfR2 gen mutasyonu sonucu oluşan hepsidin eksiliğinde olası mekanizma olarak ileri sürülmüştür (47).

Tablo II. Genetik demir yüklenmesi hastalıkları (47).

Tip	Etkilenmiş Defektif protein kromozom	Kalıtım
-----	--------------------------------------	---------

---

Hemokromatozis	1	6	HFE	OR
Juvenil hemokromatozis	2A	1	HJV	OR
Juvenil hemokromatozis	2B	19	Hepsidin	OR
Hemokromatozis	3	7	TfR2	OR
Ferroportin hastalığı	4	2	Ferroportin	OD
Aseruloplazminemi	–	3	Seruloplazmin	OR

---

OR: otozomal resesif, OD: otozomal dominant

## **GEREÇ VE YÖNTEM**

Çalışma, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Çocuk Hematolojisi BD tarafından yapıldı. Çalışma için Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan onay alındı (Ek 1). Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hematolojisi Bilimdalı ve Aydın Atatürk Devlet Hastanesi Çocuk Bölümü'nde TM tanısı ile izlenen 34 hasta, Tİ tanısı ile izlenen 10 hasta ve kontrol grubu olarak Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Pediatri polikliniğinde değerlendirilen enfeksiyon ve anemisi olmayan 40 olgu olmak üzere toplam 84 olgu çalışmaya alındı.

Olguların ebeveynlerine çalışma hakkında yazılı bilgi veren 'Hasta bilgilendirme metni (Ek 2) verildi ve yazılı izinlerinin olduğu 'Bilgilendirilmiş olur formu formu' (Ek 3) okutularak imzalatıldı.

TM ve Tİ'lı hastaların cinsiyeti, yaşı ve fizik muayene bulguları, ilk tanı yaşları, ilk transfüzyon yaşları, hangi aralıklar ile transfüzyon aldıkları, ilk demir şelasyonuna başlama yaşları, splenektomi öyküsü ve en son bakılan karaciğer fonksiyon testleri (KCFT) kaydedildi (Ek-4,5).

### **Çalışma gruplarının oluşturulması**

- Grup 1: Talasemi major tanısı ile çocuk hematoloji polikliniğinde izlenen 34 hasta
- Grup 2: Talasemi intermedia tanısı ile çocuk hematoloji polikliniğinde izlenen 10 hasta
- Grup 3: Kontrol grubu 40 olgu

### **Çalışmaya alınma kriterleri**

- Grup 1 ve 2: Enfeksiyonu, enflamasyonu, hepatiti, karaciğer yetmezliği olmayan TM ve Tİ hastaları.
- Grup 3: Fizik muayene bulguları normal olan, akut faz reaktanları ile enfeksiyonu, ferritin değeri ile demir eksikliği ve demir birikimi, karaciğer fonksiyon testleri ile karaciğer yetmezliği dışlanmış olan 1-16 yaş arasındaki olgular.

Enfeksiyon ve enflamasyon için CRP'nin negatif olması (<6 mg/L), kronik enflamasyona neden olan bir hastalığının olmaması, enfeksiyonu düşündürecek öykü (ateş, öksürük, ishal, burun akıntısı, boğaz ağrısı vs) ve fizik inceleme bulgusunun (tonsillit, otitis media vs) olmaması kriter olarak alındı.

Hepatit ve karaciğer yetmezliği için, talasemi hastalarında rutin izlemlerinde hepatit virüs göstergelerinin negatif, bilirubin düzeylerinin normal olması ve fizik incelemede sarılığının ve karaciğer yetmezliğinin fizik inceleme bulgularının (jinekomasti, spider anjioma, asit vs) olmaması kriter olarak alındı.

Kontrol grubunda hemoglobin düzeyinin normal sınırlar içinde olması (anemisinin olmaması) amaçlandı. Hemoglobinin normal değerleri için Ek-6'daki tablo referans olarak alındı (48).

Kontrol grubunda ferritin düzeyinin 15 ng/ml den düşük olmaması demir eksikliğinin olmadığını göstergesi olarak kabul edildi (49)

### **Hasta dışlama kriterleri**

- Grup 1 ve 2'de enfeksiyon, enflamasyon ve hepatit ve karaciğer yetmezliği saptanması
- Grup 3'te anemi, enfeksiyon, enflamasyon, hepatit ve karaciğer yetmezliği saptanması

### **Yöntem**

Kan örnekleri antekubital bölge %70'lik alkol ile temizlendikten sonra venöz yoldan enjektörle alındı. Prohepsidin için düz tüplere 2 cc, tam kan sayımı için EDTA'lı tüpe, KCFT ve ferritin ve C-reaktif protein (CRP) için düz tüpe 3 cc kan alındı. Örnekler hasta grubunda eritrosit transfüzyonu öncesi alındı. Prohepsidin için alınan kan, Hettich Rotina 38R santrifüj cihazında 4000 rpm'de yedi dakika santrifüj edildi ve serumları epondorf tüplere konularak -20 °C'de derin dondurucuda örnekler çalışılncaya kadar saklandı. Ferritin, tam kan sayımı, CRP ve KCFT kan alındığı gün çalışıldı.

Hemogramlar, Beckman Coulter Gen serisi hematoloji analizörü yöntemi ile çalışıldı. Serum Glutamin Oksalasetat Transaminaz (SGOT) ve Serum Glutamin Piruvat Oksalasetat Transaminaz (SGPT); Abbott C 8000 cihazında, spektrofotometrik yöntemle Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi biyokimya laboratuvarında çalışıldı. SGOT; 15-55 U/L, ve SGPT; 1-19 yaş arası 5-45 U/L aralıkları normal kabul edildi (50). CRP; Prestige 24 İ, cihazı ile türbidimetrik yöntem ile Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi seroloji laboratuvarında çalışıldı çalışıldı; 0-6 mg/L normal kabul edildi. Ferritin, Immulite 2000 cihazında kemilüminesans yöntemi ile Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi biyokimya laboratuvarında çalışıldı (51). Serum prohepsidin düzeyi, Adnan Menderes Üniversitesi Merkez Laboratuvarı'nda, Biyokimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Aslıhan Karul ve Doç. Dr. Didem Kozacı tarafından DRG Hepsidin Prohormone ELISA EIA-4644 (Germany) kiti kullanılarak, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) yöntemi ile çalışıldı. Bu

yöntemde, prohepsidin antikoruna ile kaplanmış kuyucuklara serum örnekleri yerleştirildi. Oluşan antikor-antijen kompleksinin rengi 540 nm'de okunarak standart grafiğe göre (ng/ml) hastaların sonuçları elde edildi (52, 53).

### **İstatistiksel analiz**

Veriler (Ek-5) SPSS 11.5 istatistik programı ile değerlendirildi. Tüm grupların tanımlayıcı ve sıklık analizleri yapıldı. Ortalama değerleri, standart sapma, yüzde, en düşük ve en yüksek değerler belirtildi. Verilerin normal dağılıma uygun olup olmadığı One Sample-Kolmogorov testi ile değerlendirildi. Araştırma grubunun serum ferritin ve prohepsidin değerleri arasında Pearson korelasyon analizi yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmada Student *t* ve Mann-Whitney U ve Kruskal-Wallis testleri kullanıldı ve  $p < 0.05$  değerleri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## BULGULAR

Grup 1'i oluşturan 34 TM'lu hastanın yaş ortalaması  $12,97 \pm 8,55$  (dağılım; 1-32 yaş) olup 18'i kız (%52,9) 16'sı (%47,1) erkekti. Ortalama serum ferritin düzeyi  $2347,97 \pm 1724,81$  ng/ml (dağılım; 144-8015 ng/ml), ortalama serum prohepsidin düzeyi  $221,78 \pm 74,38$  ng/ml (dağılım; 78,14-446,57 ng/ml) idi.

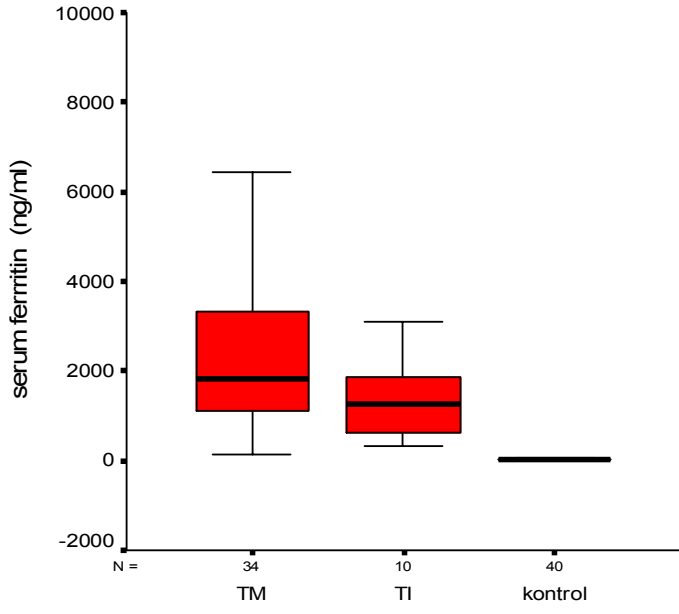
Grup 2'yi oluşturan 10 Tİ'lı hastanın yaş ortalaması  $10,9 \pm 5,21$  (dağılım; 4-21 yaş) olup 4'ü kız (%40), 6'sı (%60) erkekti. Ortalama serum ferritin düzeyi  $1352,40 \pm 918,94$  ng/ml (dağılım; 311-3109 ng/ml), ortalama serum prohepsidin düzeyi  $173,31 \pm 52,14$  ng/ml (dağılım; 100,83-267,69 ng/ml) idi.

Kontrol grubunu oluşturan 40 olgunun yaş ortalaması  $8,88 \pm 4,14$  (dağılım; 1-16 yaş) olup ferritin düzeyleri  $33,35 \pm 12,03$  ng/ml (dağılım; 20-69,1 ng/ml), ortalama serum prohepsidin düzeyi  $218,20 \pm 50,37$  ng/ml (dağılım; 116,18-330,43 ng/ml) saptandı.

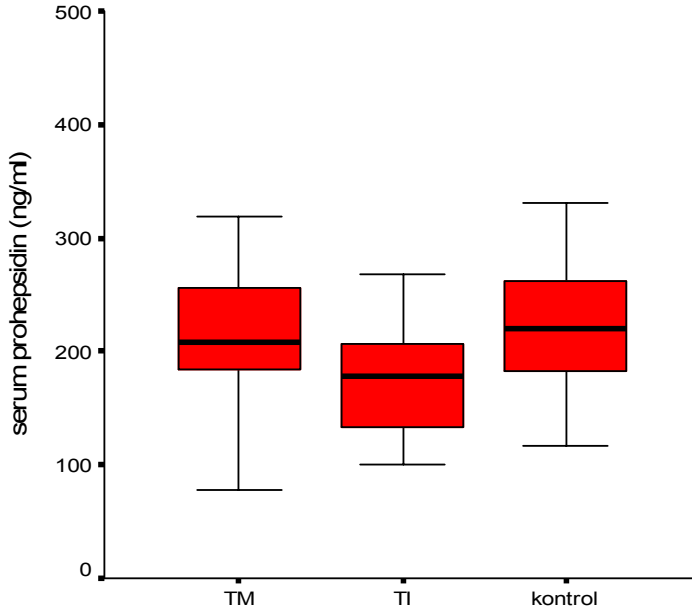
Tablo III'de TM, Tİ ve kontrol grubu yaş, cinsiyet, ferritin ve prohepsidin düzeyi ortalama ve dağılımları, Şekil 7 ve Şekil 8'de ise serum ferritin ve prohepsidin düzeyleri gösterilmiştir.

Tablo III. Talasemi major, talasemi intermedia ve kontrol grubu yaş, cinsiyet, ferritin ve serum prohepsidin düzeyleri.

	Talasemi major (n=34)	Talasemi intermedia (n=10)	Kontrol (n=40)
Cinsiyet (Kız/Erkek)	18/16	4/ 6	22 /18
Yaş (yıl) ortalaması Dağılım	$12,97 \pm 8,55$ (1-32)	$10,9 \pm 5,21$ (4-21)	$8,88 \pm 4,14$ (1-16)
Ferritin (ng/ml) ortalama dağılım	$2347,97 \pm 1724,81$ (144-8015)	$1352,40 \pm 918,94$ (311-3109)	$33,35 \pm 12,03$ (20-69,1 )
Prohepsidin (ng/ml) ortalama dağılım	$221,78 \pm 74,38$ (78,14-446,57)	$173,31 \pm 52,14$ (100,83-267,69)	$218,20 \pm 50,37$ (116,18-330,43)



Şekil 7. Talasemi major (TM), talasemi intermedia (Tİ) ve kontrol grubu serum ferritin düzeyleri.



Şekil 8. Talasemi major (TM), talasemi intermedia (Tİ) ve kontrol grubu serum prohepsidin düzeyleri.

Araştırma grubunun serum ferritin ve prohepsidin değerleri arasında yapılan pearson korelasyon analizi sonucunda zayıf ve istatistiksel olarak anlamsız bir ilişki saptandı ( $r = -0.023$ ,  $p = 0.839$ )



## SONUÇLAR

Talasemi majorlü ve intermedialı hastaların ortalama serum prohepsidin düzeyleri sırasıyla  $221,78 \pm 74,38$  ng/ml ve  $173,31 \pm 52,14$  olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0,807$ ) (Tablo IV).

Talasemi majorlü ve intermedialı hastaların ortalama serum ferritin düzeyleri sırasıyla  $2347,97 \pm 1724,81$  ng/ml ve  $1352,40 \pm 918,94$  olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0,088$ ) (Tablo IV).

Tablo IV. Talasemi major ve talasemi intermedia hastalarının ortalama serum prohepsidin ve ferritin düzeylerinin karşılaştırılması.

	Prohepsidin (ng/ml)	P Değeri	Ferritin (ng/ml)	P değeri
Talasemi major	$221,78 \pm 74,38$	0,807	$2347,97 \pm 1724,81$	0,088
Talasemi intermedia	$173,31 \pm 52,14$		$1352,40 \pm 918,94$	

Talasemi major ve kontrol grubunun ortalama serum prohepsidin düzeyleri sırasıyla  $221,78 \pm 74,38$  ng/ml ve  $218,20 \pm 50,37$  ng/ml olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0,062$ ) (Tablo V).

Talasemi major ve kontrol grubunun ortalama serum ferritin düzeyleri sırasıyla  $2347,97 \pm 1724,81$  ng/ml ve  $33,35 \pm 12,03$  ng/ml olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p=0,001$ ) (Tablo V).

Tablo V. Talasemi major ve kontrol grubunun ortalama serum prohepsidin ve ferritin düzeylerinin karşılaştırılması.

	Prohepsidin (ng/ml)	P Değeri	Ferritin (ng/ml)	P değeri
Talasemi major	$221,78 \pm 74,38$	0,062	$2347,97 \pm 1724,81$	0,001
Kontrol grubu	$218,20 \pm 50,37$		$33,35 \pm 12,03$	

Talasemi intermedia ve kontrol grubunun ortalama serum prohepsidin düzeyleri sırasıyla  $173,31 \pm 52,14$  ng/ml ve  $218,20 \pm 50,37$  ng/ml olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p=0,016$ ) (Tablo VI).

Talasemi intermedia ve kontrol grubunun ortalama serum ferritin düzeyleri sırasıyla  $1352,40 \pm 918,94$  ng/ml ve  $33,35 \pm 12,03$  ng/ml olup aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı idi ( $p=0,001$ ) (Tablo VI).

Tablo VI. Talasemi intermedia ve kontrol grubunun ortalama serum prohepsidin ve ferritin düzeylerinin karşılaştırılması.

	Prohepsidin (ng/ml)	P Değeri	Ferritin (ng/ml)	P değeri
Talasemi intermedia	$173,31 \pm 52,14$	0,016	$1352,40 \pm 918,94$	0,001
Kontrol grubu	$218,20 \pm 50,37$		$33,35 \pm 12,03$	

TM hastalarında KCFT düzeyi normal olan 29 hastanın serum prohepsidin düzeyi ortalama  $224,51 \pm 79,10$  ng/ml, KCFT düzeyi yüksek olan beş hastanın serum prohepsidin düzeyi ortalama  $205,89 \pm 37,89$  ng/ml olup bu iki grubun serum prohepsidin düzeyleri arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p=0,539$ ) ( Tablo VII).

TM hastalarında KCFT düzeyi normal olan 29 hastanın serum ferritin düzeyi ortalama  $2029,06 \pm 1416,14$  ng/ml, KCFT düzeyi yüksek olan beş hastanın serum ferritin düzeyi ortalama  $4197,60 \pm 2343,41$  ng/ml olup bu iki grubun serum ferritin düzeyleri arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulundu ( $p=0,014$ ) (Tablo VII).

Tablo VII. Talasemi major hasta grubunda karaciğer fonksiyon testleri yüksek ve normal olan hastaların ortalama serum prohepsidin ve ferritin düzeylerinin karşılaştırılması.

	Prohepsidin (ng/ml)	P Değeri	Ferritin (ng/ml)	P değeri
KCFT yüksek	$205,89 \pm 37,89$	0,539	$4197,60 \pm 2343,41$	0,014
KCFT normal	$224,51 \pm 79,10$		$2029,06 \pm 1416,14$	

Tİ hastalarında KCFT yüksekliği saptanmadı.

TM hastalarında splenektomi yapılan 17 hastanın serum ferritin düzeyi ortalama 2904,70±2042,83 ng/ml, splenektomi yapılmayan 17 hastanın serum ferritin düzeyi ortalama 1791,23 ±1141,96 ng/ml olup bu iki grubun serum ferritin düzeyleri arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,059) (Tablo VIII).

TM grubunda splenektomi yapılan 17 hastanın serum prohepsidin düzeyi ortalama 238,68±92,04 ng/ml, splenektomi yapılmayan 17 hastanın serum prohepsidin düzeyi ortalama 204,87±48,21 ng/ml olup bu iki grup arasında serum prohepsidin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (p=0,375) (Tablo VIII).

Tablo VIII. Splenektomi yapılan ve yapılmayan talasemi majorlu hastaların ortalama serum prohepsidin ve ferritin düzeylerinin karşılaştırılması.

Splenektomi	Prohepsidin (ng/ml)	P Değeri	Ferritin (ng/ml)	P değeri
Var	238,68±92,04	0,375	2904,70±2042,83	0,059
Yok	204,87±48,21		1791,23±1141,96	

Tİ hastalarında splenektomi yapılan üç hastanın serum prohepsidin düzeyi ortalama 222,53±42,14 ng/ml, splenektomi yapılmayan yedi hastanın serum prohepsidin düzeyi ortalama 152,22±41,90 ng/ml olup bu iki grubun serum prohepsidin düzeyleri arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı (p=0,067) (Tablo IX).

Tablo IX. Splenektomi yapılan ve yapılmayan talasemi intermedia hastalarının ortalama serum prohepsidin düzeylerinin karşılaştırılması.

Splenektomi	Prohepsidin (ng/ml)	P Değeri	Ferritin (ng/ml)	P Değeri
Var	222,53±42,14	0,067	2204,52±1552,54	0,255
Yok	152,22±41,90		1985,22±1152,25	

Tİ hastalarında düzenli kan transfüzyonu yapılan dört hastanın serum ferritin düzeyi ortalama  $1639,75 \pm 1055,24$  ng/ml, düzenli kan transfüzyonu yapılmayan altı hastanın serum ferritin düzeyi ortalama  $1160,83 \pm 86,21$  ng/ml olup bu iki grubun serum ferritin düzeyleri arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p=0,452$ ) (Tablo X).

Tİ hastalarında düzenli kan transfüzyonu yapılan 4 hastanın serum prohepsidin düzeyi ortalama  $167,24 \pm 49,38$  ng/ml, düzenli kan transfüzyonu yapılmayan 6 hastanın serum prohepsidin düzeyi ortalama  $177,36 \pm 58,14$  ng/ml olup bu iki grubun serum prohepsidin düzeyleri arasında fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmadı ( $p=0,783$ ) (Tablo X).

Tablo X. Düzenli kan transfüzyonu yapılan ve yapılmayan talasemi intermedialı hastaların ortalama serum prohepsidin ve ferritin düzeylerinin karşılaştırılması.

Düzenli kan transfüzyonu	Prohepsidin (ng/ml)	P Değeri	Ferritin (ng/ml)	P Değeri
Var	$167,24 \pm 49,38$	0,783	$1639,75 \pm 1055,24$	0,452
Yok	$177,36 \pm 58,14$		$1160,83 \pm 86,21$	

TM'li hastaların ortalama serum prohepsidin düzeyleri ilk 10 yaş grubunda  $213,04 \pm 54,79$  ng/ml, 11-18 yaş grubunda  $229,56 \pm 34,81$  ng/ml, 18 yaş üzeri grupta  $231,35 \pm 124,15$  ng/ml olup aradaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0,407$ ) (Tablo XI).

TM'li hastaların ortalama serum ferritin düzeyleri ilk 10 yaş grubunda  $1660,58 \pm 1080,70$  ng/ml, 11-18 yaş grubunda  $3509,87 \pm 2122,08$  ng/ml, 18 yaş üzeri grupta  $2613,55 \pm 1887,37$  ng/ml olup aradaki farklar istatistiksel olarak anlamlı değildi ( $p=0,060$ ) (Tablo XI).

Tablo XI. İlk 10 yaş, 11-18 yaş ve 18 yaş üzeri talasemi major hastalarının ortalama serum prohepsidin ve ferritin düzeylerinin karşılaştırılması.

Yaş grubu (yıl)	n (%)	Prohepsidin (ng/ml)	P değeri	Ferritin (ng/ml)	P Değeri
0-10	17 (50)	$213,04 \pm 54,79$	0,407	$1660,58 \pm 1080,70$	0,060
11-18	8(23,8)	$229,56 \pm 34,81$		$3509,87 \pm 2122,08$	
>18	9(26,2)	$231,35 \pm 124,15$		$2613,55 \pm 1887,37$	

## TARTIŞMA

Talasemi major tedavisinin ana basamakları on yıllarla özetlenebilir: 1960'lar-transfüzyon tedavisi ile hipoksinin düzeltilmesi; 1970'ler-şelasyon tedavisiyle demir yükünün azaltılması; 1980'ler-kemik iliği transplantasyonu ile tam şifa sağlanması. 2000'li yıllarda ise talasemi tedavisine oral demir şelatörleri damgalarını vurmuştur (54). Kırmızı et ve karaciğer gibi hem demir içeriği yüksek besinlerin ve demir emilimini artıran askorbik asit alımının azaltılması, demir emilimini azaltan çay gibi içeceklerin öğünlerde alımının artırılması yanı sıra demir atılımını sağlayan ilaçların kullanılması kök hücre nakli şansı olmayan olgularda güncel tedavi seçeneklerini oluşturmaktadır (12).

Hepsidin keşfinden sonra sekonder demir yüklenmesinin en sık nedeni olan talasemi sendromlarında hepsidin yoğun bir şekilde çalışılmıştır. Adamsky ve ark. (55) talasemili fare karaciğerinde hepsidin gen ekspresyonuna bakmışlar ve demir yüklenmesine karşın hepsidin gen ekspresyonunda önemli derecede düşüklük saptamışlardır. Hepsidin düşüklüğünün barsaktan demir absorpsiyonunun artması ile ilişkili olabileceğini düşünmüşlerdir. Kearney ve ark. (56) TM ve Tİ hastalarında üriner hepsidin seviyeleri düşük bulmuşlardır. Franceschi ve ark. (57) TM fare modelinde iki ve sekiz aylıkken ve Tİ fare modelinde dört ve on aylıkken realtime PCR ile karaciğer hepsidin, TfR2, HJV, HFE, ferroportin RNA ekspresyonuna, ELISA ile de IL-6, IL-1 beta, IL-10 ve GM-CSF düzeyine bakmışlar ve Tİ hayvan modelindeki yaşlı farelerde aşırı demir yüklenmesi ve defektif demir regülasyonu gözlemişler ve Tİ'deki demir yüklenmesinin zaman bağımlı olduğunu düşünmüşlerdir. Talasemili hastalarında hepsidin demir sirkülasyonu ve demir toksitesinde santral düzenleyici rol oynadığı ve hepsidin ölçümünün tanısal ve prognostik değerlendirmede rol oynayabileceği, eksojen hepsidin uygulamalarının talasemili hastalarında demir homeostazının sağlanmasında yararlı olabileceği öngörülmüştür (3,53). Çalışmamızda, talasemi intermedialı hastalarda eritropoezin aktif olması ve baskılanmaması nedeniyle prohepsidin düzeyinde düşüklük saptamamız bu hastalarda hepsidin analoglarının barsaktan kontrolsüz demir emilimini engelleyebileceğini düşündürmüştür.

Organizma demir dengesini sağlayan iki regülatör vardır: eritropoetik ve depo regülatörleri. Eritropoetik regülatör kemik iliğinden gelen sinyaller ile çalışmaktadır. Eritropoetik aktivite çok artmış ise kemik iliğinde eritropoezin demir ihtiyacını karşılamak için ve depolar dolu olsa da intestinal demir emilimi olmaktadır (58,59). Depo regülatörü karaciğer, iskelet kası ve dolaşan kandaki demir miktarı azaldığında bunu hissederek emilimi

artıran bir regülatördür. Eritropoetik regülatör, depo regülatörüne göre 20 kat fazla aktif demir emilimi sağlamaktadır (30). Eritropoetik aktivite hepsidin ekspresyonunun ana düzenleyicisi olarak düşünülmektedir (60). Camberlein ve ark. (61) 10 TM, 13 Tİ ve 10 kontrol olguda yaptıkları çalışmada, hepsidin ekspresyonunun demir yüklenmesinden ziyade, artmış eritropoetik aktivite ile regüle edildiğini ve hepsidin mRNA modülasyonunda diğer düzenleyici genlerin önemli bir etkisinin olmadığını ileri sürmüşlerdir. Weizer-Stern ve ark. (62), TM ve Tİ fare modellerinde hepsidin ve TfR2 ekspresyonunda azalma, TfR1 ekspresyonunda artış saptamışlar ve TM'de demir birikimine rağmen hepsidin ekspresyonunda önemli derecede azalma olmasının demir emiliminden sorumlu olabileceğini ileri sürmüşlerdir. Papanikolaou ve ark. (63) sekiz TM, yedi Tİ ve iki konjenital diseritropoetik anemi tip-1 tanılı erişkin hastada üriner hepsidin düzeylerini ölçmüşler; bir Tİ ve üç TM'lu olguda üriner hepsidin düzeyini normal, diğerlerinde ise düşük saptamışlar ve hepsidin konsantrasyonundaki farklılığın, birlikte olan minör enfeksiyonlar, diğer inflamatuvar stimulus gibi çevresel faktörler ve diğer genetik faktörler nedeniyle olabileceğini düşünmüşler, talasemi ve konjenital diseritropoetik anemi tip-1'li hastalardaki üriner hepsidin düzeylerinin düşüklüğünü de eritroid sinyalin hepsidin sentezinin düzenlenmesinde baskın olmasıyla açıklamışlardır. Camberlein ve ark. (61) eritropoezdeki artıştan hepsidin sentezini azaltan Growth Differentiation Factor 15 (Büyüme Farklılaştırma Faktörü 15, GDF-15)'in sorumlu olduğunu ileri sürmüşlerdir. TM'lu hastalarda kan transfüzyonları nedeniyle eritropoez baskılanmaktadır. Origa ve ark. (64) TM'lu hastalarda transfüzyon nedeni ile eritropoetik aktivitenin baskılanması sonucu hepsidin seviyesinin yüksek, Tİ'lı hastalarda ise düşük bulmuşlardır. Huang ve ark. (65) 45 sağlıklı postmenopozal kişide ferritin, sTfR1, ELISA ile prohepsidin ve SELDI TOS MS ile hepsidin düzeyine bakmışlar ve prohepsidin seviyesi ile sTfR1 arasında ve hepsidin ile de ferritin arasında pozitif korelasyon saptamışlardır. Prohepsidin hipoferremi veya eritropoez ile ilişkili olabileceğini, hepsidin ise demir yüklenmesinin bir belirteci olduğunu düşündürmüştür. Hepsidin ile ferritin arasında pozitif korelasyon hemodiyaliz hastalarında, hepatosellüler karsinomlu hastalarda ve sağlıklı kontrol gruplarında da gösterilmiştir. Çalışmamızda, prohepsidin düzeyi ile ferritin arasında korelasyon bulmadık, Tİ'lı hastaların serum prohepsidin düzeyini kontrol grubundan anlamlı düşük bulduk. TM ile kontrol grubu ve Tİ grubu arasında anlamlı fark saptamadık. Bu da bize TM hastalarında kan transfüzyonları ile eritropoezin baskılanması nedeniyle prohepsidin düzeylerinin eritropoezin aktif olduğu Tİ'lı hastalardan daha yüksek olduğunu,

prohepsidin düşükliğünün eritropoezin aktif bir göstergesi olduğunu, demir yüklenmesinin bir göstergesi olamayacağını düşündürdü. Düzenli kan transfüzyonu alan dört Tİ olgusu ile düzensiz kan transfüzyonu olan altı Tİ olgusunda prohepsidin düzeyleri arasında anlamlı fark olmaması eritropoezin tam olarak baskılanmadığını düşündürmekte ancak tam bir yorum yapılabilmesi için daha geniş vaka serilerinde, eritropoez göstergeleri ve transfüzyon sürelerinin de dikkate alındığı çalışmaları yapılması gerekmektedir.

Literatürde, splenektominin prohepsidin ve hepsidin düzeyleri üzerine etkisini değerlendiren bir çalışmaya rastlamadık. Çalışmamızda, splenektomi yapılan ve yapılmayan TM ve Tİ'li hastaların prohepsidin düzeyleri arasında anlamlı fark olmaması splenektominin, splenektomi yapılmayanlardaki erken hemolizin ya da splenektomi yapılanlarda dolaşımda eritrositlerin daha uzun süre kalmasının prohepsidin düzeyleri üzerinde önemli etkisi olmadığını düşündürdü.

Hepsidin, prohepsidin bir ürünü olmasına karşın normal fizyolojik durumlarda hepsidin ve prohepsidin miktarı birbiri ile ilişkili bulunmamıştır (66). ELISA ile bakılan prohepsidin düzeyi, hepsidin aktivitesini tam olarak yansıtmayabilir. Çünkü prekürsörler hepsidin değil aynı zamanda 20 ve 22 amino asitlik hepsidin sentezine de neden olur (67). Serum prohepsidin düzeyi ile serum ferritin gibi demir yüklenmesi belirteçleri arasında pozitif korelasyon gözlenmemiştir. Ayrıca, serum prohepsidin düzeyinin aktif hepsidini ölçüp ölçmediği veya non fonksiyonel prekürsörü olup olmadığı açık değerdir. Serum prohepsidin seviyesindeki değişikler, demir durumunu tam olarak yansıtmamaktadır (53,68,69). Yüksek ferritin düzeyi olan HH' li ve orak hücre anemili hastalarda serum prohepsidin düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı bulunmamıştır (68,69). Benzer şekilde Kulaksız ve ark. (53) serum prohepsidin seviyesi ile serum demiri, transferrin saturasyonu veya serum ferritini arasında ilişki bulmamışlardır. Ulukol ve ark. (70) demir eksikliği olan 16 ve anemisi olmayan 54 bebekte prohepsidin seviyesini anemik bebeklerde  $179,6\pm 106$  ng/ml, anemisi olmayan bebeklerde  $147,4\pm 107,8$  ng/ml bulmuşlar ve istatistiksel anlamlı fark saptanmamasını, prohepsidin gerçek hepsidin seviyesini yansıtmayabileceğini ve klinik çalışmalar için yararlı bir belirteç olamayacağı şeklinde yorumlamışlardır. Çalışmamızda, hepsidin düzeyi bakmadığımız için prohepsidin hepsidin düzeyini tam olarak yansıtıp yansıtamayacağını değerlendiremedik. Ancak ferritin ile prohepsidin arasında korelasyon saptamamız demir birikimi yönünden güvenilir bir gösterge olmadığını düşündürdü.

Talasemi majorlü hastalarımızda kan transfüzyon sıklığının prohepsidin düzeyleri üzerine etkisini değerlendirmek için yaş hastalarımızı 0-10 yaş, 11-18 yaş ve 18 yaş üzeri 3 gruba ayırdığımızda prohepsidin düzeyleri arasında anlamlı bir fark saptamadık (Tablo XI). Bu da bize eritropoezin erken dönemde baskılandığını düşündürdü. Gastrointestinal sistemden aşırı demir Emilimi için eritroid aktivitede beş kat fazla artışın olması gerektiği ileri sürülmüştür (52). Kan transfüzyonuna yeni başlanan yedi aylık TM hastamızda serum prohepsidin düzeyinin (206.96 ng/ml) kontrol grubu ortalamasına yakın olması, ferritinin 144 ng/ml olması eritropoezin bu oranda artmadığını düşündürdü.

Farklı demir yüklenmesi bozukluklarında demir birikimi ve dağılımında farklı mekanizmalar ve etkiler söz konusudur. Tİ ve hemokromatoziste demir birikimi TM'e göre daha yavaş olmaktadır (71). Wichinsky ve ark. (72) ferritin ortalaması 2122±289 ng/ml, karaciğer demiri 14.8±2.2 (mg Fe/gr kuru ağırlık) ve yıllık transfüzyon sayısı 12.2±1.8 olan TM hastalarında, ferritin ortalaması 2916±223 ng/ml, karaciğer demiri 14.3±1.4 (mg Fe/gr kuru ağırlık) ve yıllık transfüzyon sayısı 6.0±0.6 olan benzer yaş ve cinsiyetteki orak hücreli anemili (OHA) hastalara göre kardiyak hastalık, gonadal yetmezlik, viral hepatit ve fibrozis sıklığında anlamlı yükseklik saptamışlardır. Ortalama karaciğer demiri TM'lu olgulardan anlamlı derecede yüksek olan OHA'li olgularda CRP, IL-6, IL-10, IL-5 daha yüksek ve NTBI daha düşük saptanmış ve OHA'li olguların inflamatuvar durumlarıyla kısmen korunabileceği düşünülmüştür (73). Çalışmamızda, hasta seçiminde enfeksiyonu, enflamasyonu ve hepatiti olan olguları dışlamamız ve CRP değerlerinin normal olması prohepsidin ve ferritin değerleri üzerinde enfeksiyon ve enflamasyon etkisinin olmadığını düşündürdü.

Karaciğer fonksiyon testleri yüksek TM hastaları ile KCFT normal olan TM hastaları karşılaştırıldığında, ferritin düzeylerinin KCFT yüksek saptanan hastalarda daha yüksek bulunması (Tablo VII), akut viral hepatit saptanmayan bu hastalarda KCFT yüksekliğinin karaciğerdeki demir birikimine bağlı olabileceğini düşündürdü.

Kulaksız ve ark. (53) prohepsidini ölçen ELISA yöntemini geliştirmişlerdir. Geliştirdikleri bu yöntemle sağlıklı kontrol grubunda prohepsidin serum seviyesini ortalama 106,2±32,1 ng/ml (dağılım 51,6-153,4 ng/ml), herediter hemokromatozis (HH) grubunda 73,2±38,1 ng/ml (dağılım 12,1-153,9 ng/ml), kronik böbrek yetmezliği (KBY) grubunda 148,1±88 ng/ml (dağılım 31,1-473,3 ng/ml), renal anemili hemodiyaliz hastalarında 115±43,1 ng/ml (dağılım 20,5-252,4 ng/ml) saptamışlardır. HH grubunda kontrole göre anlamlı düşük ( $p<0,05$ ), KBY grubunda, kontrol ve HH grubuna göre anlamlı yüksek (sırasıyla  $p<0,01$ ,



$p < 0,001$ ) renal anemili hemodiyaliz hastalarında KBY grubuna göre anlamlı düşük ( $p = 0,05$ ) saptamışlardır. HH, KBY ve renal anemili hastalarda prohepsidin seviyesi ile demir, transferrin ve ferritin arasında korelasyon saptamamışlardır. Azalmış prohepsidin düzeyinin HH'in patogenezinde önemli rol oynayabileceğini ileri sürmüşlerdir. Shinzato ve ark. (74) eritropoetin dirençli anemi, demir eksikliği anemisi ve anemi ve demir eksikliği olmayan grup olmak üzere 3 gruba ayırdıkları 57 hemodiyaliz hastasında ve kontrol grubunda serum prohepsidin, CRP, IL-6, TfR ve ferritin düzeyini ölçmüşler ve serum prohepsidin düzeyini demir eksikliği grubunda anlamlı düşük, serum ferritin, CRP ve IL-6 seviyesini eritropoetin dirençli grupta anlamlı yüksek, serum TfR düzeyini eritropoetin dirençli grupta ve demir eksikliği anemili grupta kontrolden yüksek bulmuşlar, eritropoetin dirençli grupta prohepsidin düzeyini kontrolden farklı bulmamışlardır. Hepsidin üretimini etkileyen demir eksikliği, anemi, eritropoetin uygulaması ve enflamasyon gibi faktörlerin eritropoetin dirençli anemiden sorumlu olabileceğini düşünmüşlerdir. Papanikalou ve ark. (63) talasemi hastalarında demir yüklenmesine rağmen üriner hepsidin konsantrasyonlarını kontrol grubuna göre düşük saptamışlardır. Hsu ve ark. (75) serum prohepsidin konsantrasyonunu hemodiyaliz hastalarında hematokrit ile pozitif korele bulmuşlardır. Kattamis ve ark. (1) talasemi hastalarında karaciğer hepsidin mRNA ekspresyonunu demir profili ile korele bulmamışlar fakat hemoglobin ile pozitif korele bulmuşlar ve hepsidin üretimde anemi etkisinin demir yüklenmesine göre daha fazla rol oynadığını düşünmüşlerdir. Eritropoetin uygulanması hepsidin üretimi suprese ettiği ileri sürülmüş ancak son çalışmalar (76) bu hipotezi desteklememiştir. Kulaksız ve ark. (53) eritropoetin ile tedavi edilen KBY li hastalarda serum prohepsidin konsantrasyonunu kontrol grubuna göre daha yüksek bulmuşlardır. Vokurka ve ark. (60) hepsidin üretiminin eritropoetin ile tedavi edilen radyasyon oluşturulan farelerde suprese olmadığını ileri sürmüşlerdir. Prohepsidin moleküler ağırlığı yaklaşık olarak 10 bin dalton, hepsidin ise 2700 daltondur. Hepsidin düşük molekül ağırlığı nedeni ile hemodiyaliz hastalarında diyalizle atılabilme olasılığı vardır. Tomosugi ve ark. (77) hemodiyaliz hastalarında serum hepsidin seviyesini kontrol grubundan anlamlı yüksek ve ferritin ve IL-6 ile pozitif korele bulmuşlardır. Kato ve ark. (78) hemodiyaliz hastalarında serum hepsidin konsantrasyonu ferritin ile korele bulmuşlar fakat CRP ile korele bulmamışlardır. Eritropoetin yanıtı olan ve olmayan kişilerde serum hepsidinde fark saptanmamıştır. Tsuchihashi ve ark. (67) prohepsidin hemodiyaliz hastalarında demir eksikliğini fonksiyonel bir belirteci olabileceğini ileri sürmüşlerdir: enflamasyonu olmayan 23 hemodiyaliz hastasında ve 10 sağlıklı kontrolde serum prohepsidin

seviyesini farklı bulmamış; hemodiyaliz hastalarını demir eksikliği olan ve olmayan iki gruba ayırdıklarında demir eksikliği grubunda prohepsidin seviyesi demir eksikliği olmayan gruba göre anlamlı düşük saptanmış, demir eksikliği saptanan hastalarda demir tedavisi verilince prohepsidin seviyesi artmış, demir tedavisi verilmeyenlerde ise prohepsidin seviyesi daha da azalmış olarak saptanmış (67). Çalışmamızda, kontrol grubunda anemili hastaları almadık. Bu şekilde aneminin ve olası eritropoetin artışının prohepsidin düzeyini etkilemesini engellemeye çalıştık. Talasemi major ve transfüzyon alan Tİ grubunda ise transfüzyon öncesi tam kan sayımı ve prohepsidin düzeyi için kan alarak kan transfüzyonunun neden olabileceği hatalı sonuçları minimize etmeye çalıştık.

Sonuç olarak; Tİ'li hastalarda prohepsidin düzeyinin düşüklüğü, artmış gastrointestinal demir emilimi ve artmış eritropoetik aktivite ile ilişkili olabilir. Bu araştırma, sentetik hepsidin analoglarının talasemili intermedialı hastaların tedavisine eklenmesi ile, barsaktan kontrolsüz demir emiliminin önüne geçilebileceğini düşündürmüştür.

## ÖZET

**Giriş ve Amaç:** Talasemi major (TM) ve talasemi intermedia (Tİ)'li hastalarda morbidite ve mortalitenin en önemli nedeni sekonder demir birikimidir. Vücutta biriken demirin başlıca kaynağı; TM'lu hastalarda verilen kan transfüzyonu iken, Tİ'li hastalarda barsaktan aşırı demir emilimidir. Son yıllarda, karaciğerde sentezlenen hepsidin hormonunun demir metabolizmasının santral regülatörü olduğu anlaşılmıştır. Bu çalışmada TM ve Tİ olgularındaki hepsidin hormonunun öncülü olan prohepsidin düzeyleri incelenerek bu hormonun demir birikimindeki rolü değerlendirilmiştir.

**Gereç ve Yöntem:** Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hematoloji Bilim Dalı ve Aydın Atatürk Devlet Hastanesi'nde izlenen ve enfeksiyon, enflamasyon ve hepatit ve karaciğer yetmezliği olmayan 34 TM, 10 Tİ'li hastada ve 40 sağlıklı kontrol grubunda serum prohepsidin, serum ferritin, düzeyine bakıldı. Ferritin, Immulite 2000 cihazında kemilüminesans yöntemi ile, prohepsidin DRG International, Inc. Marburg, Germany kiti ile, ELISA yöntemi ile çalışıldı.

**Bulgular:** Ortalama serum ferritin düzeyleri TM, Tİ ve kontrol grubunda sırasıyla 2347,97±1724,81 ng/ml (dağılım; 144-8015 ng/ml), 1352,40±918,94 ng/ml (dağılım; 311/3109 ng/ml), 33,35±12,03ng/ml (dağılım; 20-69,1 ng/ml), serum prohepsidin düzeyleri ise sırasıyla 221,78 ±74, 38 ng/ml (dağılım; 78,14-446,57 ng/ml), 173,31±52,14 ng/ml (dağılım 100,83-267,69 ng/ml), 218,20±50,37 ng/ml (dağılım 116,18-330,43 ng/ml) saptandı. TM, Tİ ve kontrol grubu prohepsidin düzeyleri karşılaştırıldığında yalnızca Tİ grubunda kontrol grubuna göre prohepsidin düzeyleri arasında anlamlı düşüklük saptandı (p=0.016). Üç grupta da prohepsidin ile ferritin arasında korelasyon saptanmadı.

**Sonuç:** Tİ'li hastalarda prohepsidin düzeyinin düşüklüğü, artmış gastrointestinal demir emilimi ve artmış eritropoetik aktivite ile ilişkili olabilir. Bu araştırma, sentetik hepsidin analoglarının talasemili intermedialı hastaların tedavisine eklenmesi ile, barsaktan kontrolsüz demir emiliminin önüne geçilebileceğini düşündürmüştür.

**Anahtar kelimeler:** Prohepsidin, talasemi major, talasemi intermedia, eritropoez

## SUMMARY

**Introduction and aim:** The most important reason of morbidity and mortality in patient with thalassemia major (TM) and thalassemia intermedia (TI) is secondary iron storage. While the main source of the iron storage in the body is the blood transfusions in patients with TM, TI patients experience iron overload because of increased iron absorption. Lately, hepcidin synthesized in the liver is considered as the central regulator in the iron metabolism. In this study prohepcidin, the antecedent of hepcidin hormone levels are determined in patients with TM and TI to determine the role of this hormone in iron accumulation.

**Material and Methods:** Serum prohepcidin and ferritin levels are determined in 34 patient with TM, 10 patient with TI and 40 control patients without infection/inflammation, hepatitis or liver failure in Adnan Menderes University Medical Faculty Department of Pediatric Hematology and Aydın Atatürk State Hospital. Serum prohepcidin levels were measured using a commercial enzyme-linked immunosorbent assay (DRG International, Inc. Marburg, Germany), ferritin was studied with chemiluminescence method in immulite 2000 machine.

**Results:** Mean serum ferritin levels in TM, TI and control groups were 2347,97±1724,81 ng/ml (range; 144-8015 ng/ml), 1352,40±918,94 ng/ml (range, 311-3109 ng/ml), 33,35±12,03 ng/ml (range; 20-69,1 ng/ml) respectively. Also serum prohepcidin levels in the same groups were 221,78 ±74, 38 ng/ml (range, 71,14-446,57 ng/ml), 173,31±52,14 ng/ml (range; 100,83-267,69 ng/ml), 218,20±50,37 ng/ml (range; 116,18-330,43 ng/ml) respectively. Only prohepcidin in patients with TI and control group were statistically significantly ( $p=0.016$ ). No correlation was found between prohepcidin and ferritin levels in all groups.

**Conclusions:** The low levels of prohepcidin in patients with TI may be related to increased gastrointestinal iron absorption and increased eritropoietic activity. Addition of synthetic analogs of hepcidin to the treatment of patients with thalassemia can prevent uncontrolled intestinal iron absorption in these patients.

**Key words:** Prohepcidin, thalassemia major, thalassemia intermedia, erythropoiesis

## KAYNAKLAR

1. Jensen PD. Evaluation of iron overload. *Br J Haematol* 2004; 124: 697-711.
2. Aydınok Y. Beta talasemi tedavisi. *Türkiye Klinikleri Pediatrik Bilimler* 2007; 3: 42-55.
3. Kattamis A, Papassotiriou I, Palaiologou D, Galani FAA, Ladis V, Sakellaropoulos N, Papanikolaou G. The effects of erythropoietic activity and iron burden on hepcidin expression in patients with thalassemia major. *Haematologica* 2006; 91: 809-12.
4. Kemna EHJM, Tjalsma H, Willems HL, Swinkels DW. Hepcidin: from discovery to differential diagnosis. *Haematologica* 2008; 93: 90-7.
5. Özyüncü Ö, Beksaç M.S. Talasemi ve hemoglobinopatilerde prenatal tanı. Canatan D, Aydınok Y (ed.ler). *Talasemi ve Hemoglobinopatiler: tanı ve tedavi*, Birinci baskı, Antalya: Retma Matbaa Ltd, 2007: 73-81.
6. Thein SL, Hesketh C, Taylor P, Temperley IJ, Hutchinson RM, Old JM, Wood WG, Clegg JB, Weatherall DJ. Molecular basis for dominantly inherited inclusion body beta thalassemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 3924-8.
7. Güneş AM. Talasemi majorlu olgularda klinik bulgular. *Türkiye Klinikleri Pediatrik Bilimler* 2007; 3: 24-8.
8. T.C. Sağlık Bakanlığı AÇSAP Genel Müdürlüğü. Hemoglobinopati kontrol programı. Canatan D, Aydınok Y (ed.ler). *Talasemi ve Hemoglobinopatiler: tanı ve tedavi*, Birinci baskı, Antalya: Retma Matbaa Ltd, 2007: 29-34.
9. McDonagh KT, Nienhuis AW. The thalassemyias. In: Nathan DG, Oski FA (eds). *Haematology of infancy and childhood*. 4 th ed. Philadelphia: WB Saunders company, 1993: 783-879.
10. Cunningham MJ. Update on thalassemia: clinical care and complications. *Pediatr Clin North Am* 2008; 55: 447-60.
11. Bridges KR. Iron metabolism and sideroblastic anemia. In: Nathan DG, Oski FA (eds). *Hematology of infancy and childhood*. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1993: - 391-412.
12. Kwiatkowski JL. Oral iron chelators. *Pediatr Clin North Am* 2008; 55: 461-82.
13. Angelucci E, Brittenham GM, McLaren CE, Ripalti M, Baronciani D, Giardini C, Galimberti M, Polchi P, Lucarelli G. Hepatic iron concentration and total body iron stores in thalassemia major. *N Engl J Med* 2000; 343: 327-31.

14. Olivieri NF, Brittenham GM. Long-term trials of deferiprone Cooley's anemia. *Ann N Y Acad Sci* 1998; 850:217-22.
15. Thalassemia International Federation. Iron overload. In: Cappellini MA, Cohen A, Eleftheiou A, Piga A, Porter J, Taher A (eds). *Guidelines for the clinical management of thalassemia*. 2nd edition. Cyprus: Team up Creations Ltd, 2007: 31-63.
16. Nielsen P, Engelhardt R, Dullmann J, Fischer R. Non-invasive liver iron quantification by SQUID biosusceptometry and serum ferritin iron as new diagnostic parameters in hereditary hemochromatosis. *Blood Cells Mol Dis* 2002; 29: 451-8.
17. Wood JC, Tyszka JM, Carson S, Nelson MD, Coates TD. Myocardial iron loading in transfusion-dependent thalassemia and sickle cell disease. *Blood* 2004; 103: 1934-6.
18. Aydınok Y. Talasemide demir yükü ve şelasyon. Canatan D, Aydınok Y (ed.ler). *Talasemi ve hemoglobinopatiler: tanı ve tedavi*, Birinci baskı, Antalya: Retma Matbaa Ltd, 2007: 159-73.
19. Feedman MH, Grisaru D, Oliveri N, MacLusky I, Thorner PS. Pulmonary syndrome in patients with thalassemia major receiving intravenous deferoxamine infusions. *Am J Dis Child* 1990; 144: 565-9.
20. Aydınok Y, Nisli G, Kavaklı K, Coker C, Kantar M, Cetingül N. Sequential use of defopriprone and desferrioksamine in primary school children with thalassemia major in Turkey. *Acta Haematol* 1999; 102: 17-21.
21. Cappellini MD, Cohen A, Piga A, Bejaoui M, et al. A phase 3 study of deferasirox (ICL 670), a once daily oral iron chelator, in patients with beta-thalassemia. *Blood* 2006; 107: 3455-62.
22. Ertem M. Hemoglobinopatilerde hematopoetik kök hücre transplantasyonu. *Türkiye Klinikleri Pediatrik Bilimler* 2007; 3: 55-65.
23. Lieu PT, Heiskala M, Peterson PA, Yang Y. The roles of iron in health and disease. *Mol Aspects Med* 2001; 22: 1-87.
24. Dallman PR, Yip R, Oski FA. Iron deficiency and related nutritional anemias. In: Nathan DG, Oski FA (eds). *Hematology of infancy and childhood*. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1993: 413-50.
25. Carpenter CE, Mahoney AW. Contributions of heme and nonheme iron to human nutrition. *Crit Rev Food Sci Nutr* 1992; 31: 333-67.

26. Edison ES, Bajel A, Chandy M. Iron homeostasis: new players, newer insights. *Eur J Haematol* 2008; 81: 411-24.
27. Ünüsan N, Okulöncesi dönem çocuklarında demirin önemi ve bilişsel davranış üzerine etkisi. *M.Ü. Atatürk Eğitim Fakültesi Eğitim Bilimleri Dergisi* 2003; 17: 87-98.
28. 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.
29. Kohgo Y, Ikuta K, Ohtake T, Torimoto Y, Kato J. Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *Int J Haematol* 2008; 88: 7-15.
30. Uysal Z. Hepsidin ve demir metabolizması. 33. ulusal hematoloji kongresi kitabı, Ankara, 2007; 9-15.
31. Oudit GY, Sun H, Trivieri MG, Koch SE, Dawood F, Ackerley C, Yazdanpanah M, Wilson GJ, Schwartz A, Liu PP, Backx PH. L-type Ca<sup>2+</sup> channels provide a major pathway for iron entry into cardiomyocytes in iron-overload cardiomyopathy. *Nat Med* 2003; 9: 1187-94.
32. Kushner JP, Porter JP, Olivieri NF. Secondary iron overload. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2001: 47-61.
33. Ohgami RS, Campagna DR, McDonald A, Fleming MD. The Steap proteins are metalloreductases. *Blood* 2006; 108: 1388-94.
34. Chua ACG, Graham RM, Trinder D, Olynyk JK. The regulation of cellular iron metabolism. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2007; 44: 413-59.
35. Levenson CW, Tassabehji NM. Iron and ageing: an introduction to iron regulatory mechanisms. *Ageing Res Rev* 2004; 3: 251-63.
36. Falzacappa MV, Muckenthaler MU. Hepsidin: iron-hormone and anti-microbial peptide. *Gene* 2005; 364: 37-44.
37. Morgan EH. Iron metabolism and transport. In: Zakim D, Boyer TD (eds). *Hepatology A textbook of liver disease*. 3rd edition. Sydney: W.B. Saunders Company, 1996: 526-54.
38. Halliday JW, Ramm GA, Powell LW. Cellular iron processing and storage: The role of ferritin. In: Brock JH, Halliday JW, Pippard MJ, Powell LW (eds). *Iron metabolism in health and disease*. London: W. B. Saunders Company, 1994: 97-121.

39. Richter GW. Studies of iron overload. Lysosomal proteolysis of rat liver ferritin. *Pathol Res Pract* 1986; 181: 159–67.
40. Ganz T. Heparin and its role in regulating systemic iron metabolism. *Hematology* 2006; 29-35.
41. Torti FM, Torti SV. Regulation of ferritin genes and protein. *Blood* 2002; 99: 3505-16.
42. Krause A, Neitz S, Magert HJ, et al. LEAP 1, a novel highly disulphide bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett* 2001; 480: 147-50.
43. Nicolas G, Viatte L, Bennoun M, Beaumont C, Kahn A, Vaulont S. Heparin, a new iron regulatory peptide. *Blood Cells Mol Dis.* 2002; 29: 327-35.
44. Domenico ID, Ward DM, Kaplan J. Heparin regulation: ironing out the details. *J Clin* 2007; 117:1755–8.
45. Nemeth E. Iron regulation and erythropoiesis. *Curr Opin Hematol* 2008, 15: 169–75.
46. Babitt JL, Huang FW, Xia Y, Sidis Y, Andrews NC, Lin HY. Modulation of bone morphogenetic protein signaling in vivo regulates systemic iron balance. *J Clin Invest* 2007; 117: 1933-9.
47. Brissot P, Troadec M, Bardou-Jacquet E, Lan CL, Jounanolle AM, Deugnier Y, Loréal O. Current approach to hemochromatosis. *Blood Rev* 2008; 22: 195-210.
48. Oski FA. Differential diagnosis of anemia. In: Nathan DG, Oski FA (eds). *Hematology of infancy and childhood*. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1993: 346-53.
49. Dallman PR, Yip R, Oski FA. Iron deficiency and related nutritional anemias. In: Nathan DG, Oski FA (eds). *Hematology of infancy and childhood*. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 1993: 413-50.
50. Nicholson JF, Pesce MA. Reference ranges for laboratory tests and procedures. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB. *Nelson textbook of pediatrics*. 16 th ed. Philadelphia: WB Saunders Company, 2000: 2181-224.
51. Drysdale JW, Adelman TG, Arosio P, Casareale D, Fitzpatrick P, Harzard JT, Yokota M. Human isoferritins in normal and disease state. *Semin Haematol* 1977; 14: 71-8.
52. Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Heparin a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 2001; 276:7806-10
53. Kulaksiz H, Gehrke SG, Janetzko A, Rost D, et al. Pro-heparin: expression and cell specific localisation in the liver and its regulation in hereditary haemochromatosis, chronic renal insufficiency, and renal anaemia. *Gut* 2004; 53: 735-43.



54. Ağaoğlu L. Talasemi majorda yaşam. Canatan D, Aydınok Y (ed.ler). Talasemi ve hemoglobinopatiler: tanı ve tedavi, Birinci baskı, Antalya: Retma Matbaa Ltd, 2007: 21-7.
55. Adamsky K, Weizer O, Amariglio N, Breda L, et al. Decreased hepcidin mRNA expression in thalassemic mice. *Br J Haematol* 2004; 124: 123-4.
56. Kearney SL, Nemeth E, Neufeld EJ, Thapa D, Ganz T, Weinstein DA et al. Urinary hepcidin in congenital chronic anemias. *Pediatr Blood Cancer* 2007; 48: 57-63.
57. Franceschi LD, Daraio F, Filippini A, Carturan S, Muchitsch EM, Roetto A, Camaschella C. Liver expression of hepcidin and other iron genes in two mouse models of beta thalassemia. *Haematologica* 2006; 91: 1336-42.
58. 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 USA* 2002; 99: 4596-601.
59. 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: 1509-15.
60. Vokurka M, Krijt J, Sulc K, Necas E. Hepcidin mRNA levels in mouse liver respond to inhibition of erythropoiesis. *Physiol Res* 2006; 55: 667-74.
61. Camberlein E, Zanninelli G, Détivaud L, Lizzi AR, Sorrentino F, Vacquer S, et al. Anemia in beta-thalassemia patients targets hepatic hepcidin transcript levels independently of iron metabolism genes controlling hepcidin expression *Haematologica* 2008; 93:111-5.
62. Weizer-Stern O, Adamsky A, Amariglio N, Rachmilewitz E, Breda L, Rivella S, Rechavi G. mRNA expression of iron regulatory genes in beta-thalassemia intermedia and beta-thalassemia major mouse models. *Am J Hematol* 2006; 81: 479–83.
63. Papanikolaou G, Tzilianos M, Christakis JI, Bogdanos D, Tsimirika K, MacFarlane J, Goldberg YP, Sakellaropoulos N, Ganz T, Nemeth E. Hepcidin in iron overload disorders *Blood* 2005; 105: 4103-05.
64. Origa R, Galanello R, Ganz T, Giagu N, Maccioni L, Faa G, Nemeth E. Liver iron concentrations and urinary hepcidin in beta-thalassemia. *Haematologica* 2007; 92: 583-8.
65. Kijima H, Sawada T, Tomosugi N, Kubota K. Expression of hepcidin mRNA is uniformly suppressed in hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer* 2008; 8: 167.

66. Huang X, Fung ET, Yip C, Zeleniuch-Jacquotte A. Serum prohepcidin is associated with soluble transferrin receptor-1 but not ferritin in healthy post-menopausal women. *Blood Cells Mol Dis* 2008; 41: 265-9.
67. Tsuchihashi D, Abe T, Kobama H, Fujii H, Hamada Y, Nii-Kono T. Serum prohepcidin as an indicator of iron status in dialysis patients. *Ther Apher Dial* 2008; 3; 226-31.
68. Roe MA, Spinks C, Heath AL, Harvey LJ, et al. Serum prohepcidin concentration: noassociation with iron absorption in healthy men; and no relationship with ironstatus in men carrying HFE mutations, hereditary haemochromatosis patients undergoing phlebotomy treatment, or pregnant women. *Br J Nutr* 2007; 97: 544-9.
69. Ezeh C, Ugochukwu CC, Weinstein J, Okpala I. Hcpidin, haemoglobin and ferritin levels in sickle cell anaemia. *Eur J Haematol* 2005; 74: 86-8.
70. Ulukol B, Orhon FS, Hanoluk A, Akar N. Serum pro-hepcidin levels and relationship with ferritin in healthy non-anaemic infants. *Acta Haematol* 2007; 118: 70-2.
71. Olivieri NF, Brittenham GM. Iron-chelating therapy and the treatment of thalassemia. *Blood* 1997; 89: 739-61.
72. Vichinsky E, Butensky E, Fung E, Hudes M, Theil E, Ferrell L, et al. Comparasion of organ dysfunction in transfused patients with sickle cell disease or beta thalassemia. *Am J Hematol* 2005; 80: 70-4.
73. Walter PB, Fung EB, Killilea DW, et al. Oxidative stress and inflammation in iron-overloaded patients with beta thalassemia or sickle cell disease. *Br J Haematol* 2006; 235: 245-63.
74. Shinzato T, Katsushige Abe K, Furusu A, Harada T, Shinzato K, Miyazaki M, Kohno S. Serum pro-hepcidin level and iron homeostasis in japanese dialysis patients with erythropoietin (EPO)-resistant anemia. *Med Sci Monit* 2008; 9: 431-7.
75. Hsu SP, Chiang CK, Chien CT, Hung KY. Plasma prohepcidin positively correlates with hematocrit in chronic hemodialysis patients. *Blood Purif* 2006; 24: 311-6.
76. Nicolas G, Viatte L, Bennoun M, Beaumont C, Kahn A, Vaulont S. Hcpidin, a new iron regulatory peptide. *Blood Cells Mol Dis* 2002; 29: 327-35.
77. Tomosugi N, Kawabata H, Wakatabe R, Higuchi M, Yamaya H, Umehara H, Ishikawa I. Detection of serum hepcidin in renal failure and inflammation by using ProteinChip System. *Blood* 2006; 108: 1381-7.

78. Kato A, Tsuji T, Luo J, Sakao Y, Yasuda H, Hishida A. Association of prohepcidin and hepcidin-25 with erythropoietin response and ferritin in hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 2008; 28: 115–21.



## EK-2

### HASTA BİLGİLENDİRİLME METNİ

Sayın veli,

- Katılınan çalışma bir araştırmadır.

Araştırmanın amacı, Talasemi major ve intermedialı hastalarda serum prohepsidin düzeylerinin saptanmasıdır.

- Araştırmada herhangi bir tedavi uygulanmayacaktır.
- Araştırma sırasında uygulanacak olan tek invaziv işlem Dr. Celil Yılmaz tarafından venöz kan örneğinin alınmasını içermektedir.
- Gönüllü için söz konusu olabilecek riskler veya rahatsızlıklar mevcut değildir.

Hepsidin hormonu ilk olarak 2000 yılında insan kanında ve idrarında saptanmıştır. Önceleri bakteriler karşı vücudumuzun savunma mekanizmasında rol alan bir antibakteriyel peptit olarak tanımlanmıştır. Daha sonra yapılan çalışmalarda vücudumuzun demir dengesinin düzenlenmesinde anahtar rolü olduğu gösterilmiştir. Organizmamız yaşamsal fonksiyonlarımızı yerine getirmek için tam bir denge içerisinde çalışır. Eğer vücudumuzda demir birikimi olursa; karaciğerden hepsidin üretimi artar ve barsaktan demir emilimi engellenir. Tersisi durumda vücudumuzda demir eksikliği oluşursa, karaciğerimizden hepsidin üretimi azalır ve barsaklarımızdan demir emilimi artırılır. Bu şekilde vücudumuzun demir dengesi düzenlenir. Talasemide aşırı demir vücutta toksik etki gösterir. Özellikle kalp, karaciğer, pankreas ve testiste birikir ve bu organların fonksiyonlarını bozarak yaşamsal fonksiyonları etkiler.

Araştırmanın amacı, talasemili hastalarda demir emilimini düzenleyen hepsidin hormonunun öncülüne bakarak hepsidin tedavisinin bu hastalarda mümkün olup olmayacağını değerlendirmektir.

Çalışma, Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hematolojisi Bölümü tarafından yürütülecek olup çocuğunuzun bu çalışmaya katılabilmesi için ekteki bilgi formu, bilgilendirilmiş olur formu ve bilgilendirilmiş olur metni formlarını doldurmanız ve velisi olarak imzalamanız yeterlidir.

Veli Adı Soyadı

Adresi:

İmza.

İrtibat telefonu

Yrd. Doç. Dr.Yusuf Ziya Aral-Dr Celil Yılmaz

4441256

Adnan Menderes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hematolojisi Bölümü

### EK.3

#### BİLGİLENDİRİLMİŞ OLUR FORMU

1. Aşağıda imzası olan ben .....“ Talasemi major ve intermedialı hastalarda serum prohepsidin düzeyleri ” başlıklı çalışmaya katılmayı kabul ediyorum.
2. Bu çalışmayı yürüten Dr. Yusuf Ziya Aral ve Dr. Celil Yılmaz çalışmanın yapısı, amacı ve muhtemel süresi, ne yapmam istendiği ve yan etkilerle karşılaşsam ne yapmam gerektiği hakkında ayrıntılı sözlü ve yazılı bilgi verdi.
3. Dr.Yusuf Ziya Aral ve Dr. Celil Yılmaz’a çalışmasıyla ilgili her soruyu sorma fırsatını buldum. Cevapları ve bana verilen bilgiyi anladım.
4. Dr. Yusuf Ziya Aral ve Dr. Celil Yılmaz’a hastalığımızın geçmişini ve kullandığım ilaçları anlattım ve onu bu bilgilerin ayrıntılarını açıklamaya, hasta ve doktor arasındaki sırları koruması şartıyla yetkili kılıyorum.
5. Çalışma boyunca tüm kurallara uyacağıma, Dr. .Yusuf Ziya Aral ve Dr. Celil Yılmaz ile tam bir uyum içinde çalışacağıma ve sağlığımla ilgili herhangi bir sorun çıktığında hemen onu arayacağımı kabul ediyorum.
6. Bu çalışmanın sonuçlarının kullanılmasını kısıtlamayacağımı ve özellikle dünya çapında tıp yetkililerine verebileceğini kabul ediyorum.
7. Bu çalışmadan istediğim zaman çıkabileceğimi anladım.

OKUDUM VE ONAYLADIM.

Hastanın adı, soyadı, adresi .

İmza, tarih :

Doktorun adı, soyadı, adresi :

Yrd. Doç. Dr. Yusuf Ziya Aral

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD. Çocuk Hematolojisi BD.

İmza, tarih :

Dr. Celil Yılmaz

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD, Çocuk BD

Tanıgın adı, soyadı, adresi :

İmza, tarih :

**Ek.4**

### **HASTA BİLGİ FORMU**

Adı:

Soyadı:

Cinsiyet.

Yaş:

Tanı:

Tanı yaşı:

İlk kan transfüzyon yaşı:

Fizik muayene bulguları:

Son ferritin düzeyi:

Son hemoglobin ve KCFT düzeyi:

Splenektomi operasyonu öyküsü:



**EK-5:****TALASEMİ MAJORLU (TM) 34 VE TALASEMİ İNTERMEDİALİ (TI) 10  
HASTANIN VERİLERİ**

Tanı	Cinsiyet	Yaş	Transfüzyon?	Düzenli transfüzyon?	Hb(gr/dl)	Ferritin (ng/ml)	Prohepsidin (ng/ml)	CRP (mg/L)	AST IU/ml	ALT IU/ml
T.M	kız	25	evet	evet	9,00	1890,00	419,8753	3,2	39	25
T.M	erkek	17	evet	evet	8,10	4047,00	257,6850	3,1	33	59
T.M	erkek	21	evet	evet	9,60	571,00	164,2420	2,2	30	20
T.M	erkek	32	evet	evet	8,10	1446,00	186,2678	4,5	32	23
T.M	erkek	10	evet	evet	8,10	362,00	199,6168	4,8	25	10
T.M	erkek	20	evet	evet	8,10	6420,00	82,1456	2,0	29	9
T.M	erkek	10	evet	evet	8,90	2110,00	318,4229	4,3	23	12
T.M	kız	32	evet	evet	9,50	1062,00	446,5733	3,3	21	19
T.M	erkek	18	evet	evet	11,10	2947,00	278,3759	5,6	29	22
T.M	erkek	19	evet	evet	8,70	1500,00	269,0316	4,3	30	21
T.M	kız	14	evet	evet	8,70	3337,00	228,3172	4,4	38	23
T.M	kız	19	evet	evet	8,60	3271,00	155,5651	3,2	30	10
T.M	erkek	8	evet	evet	8,90	1400,00	199,6168	3,1	29	15
T.M	erkek	15	evet	evet	8,90	8015,00	237,6615	3,1	25	13
T.M	erkek	21	evet	evet	8,60	2789,00	184,9329	3,3	25	20
T.M	kız	11	evet	evet	7,45	3640,00	255,6826	3,5	25	20
T.M	erkek	30	evet	evet	8,51	4573,00	173,5863	3,8	53	106
T.M	kız	8	evet	evet	8,60	3795,00	316,4206	3,9	18	19
T.M	erkek	4	evet	evet	7,10	1113,00	230,3195	3,7	31	23
T.M	kız	4	evet	evet	9,30	1129,00	190,9400	4,4	33	29
T.M	kız	7	evet	evet	9,80	1575,00	78,1409	2,3	25	11
T.M	kız	9	evet	evet	8,50	1346,00	218,9729	3,4	25	20
T.M	kız	7	evet	evet	9,50	1833,00	184,2655	3,6	24	12
T.M	erkek	8	evet	evet	10,20	4152,00	222,3101	2,5	20	20
T.M	kız	1	evet	evet	8,70	401,00	263,0246	3,3	27	12
T.M	erkek	7	evet	evet	9,50	2571,00	222,9776	3	32	35
T.M	kız	3	evet	evet	9,70	1060,00	216,9705	2,2	20	25
T.M	kız	7	evet	evet	10,80	1828,00	168,2467	3,1	134	68
T.M	kız	11	evet	evet	8,25	3613,00	177,5910	3,1	66	125

T.M	erkek	18	evet	evet	8,30	880,00	190,9400	3,3	72	76
T.M	kız	2	evet	evet	7,50	1440,00	206,9588	3,5	99	144
T.M	kız	12	evet	evet	8,50	1600,00	210,2960	3,6	31	21
T.M	kız	1	evet	hayır *	6,60	144,00	206,9588	3,2	40	27
T.M	kız	10	evet	evet	6,40	1971,00	177,5910	3	30	20
T.İ	erkek	15	evet	evet	8,60	1582,00	177,5910	3,2	30	20
T.İ	kız	15	evet	hayır	10,00	2435,00	215,6356	3,4	31	12
T.İ	erkek	17	evet	hayır	6,20	1851,00	184,2655	3,5	37	23
T.İ	erkek	21	evet	evet	8,60	3109,00	267,6967	3,9	23	22
T.İ	erkek	5	evet	evet	8,70	1236,00	202,9541	4,6	25	17
T.İ	kız	5	evet	evet	8,80	632,00	134,2067	3,6	22	13
T.İ	erkek	8	evet	hayır	7,80	342,00	116,1856	3,5	37	30
T.İ	kız	9	evet	hayır	8,40	719,00	206,2913	3	35	21
T.İ	erkek	4	evet	hayır	8,10	311,00	100,8342	2,2	18	10
<i>T.İ</i>	<i>kız</i>	<i>10</i>	<i>evet</i>	hayır	<i>9,00</i>	<i>1307,00</i>	<i>132,8718</i>	<i>3,2</i>	30	16

**EK-6****YAŞA GÖRE ORTALAMA HEMOGLOBİN DEĞERLERİ.**

Yaş	Hemoglobin (g/dl)	
	Ortalama	Alt limit
0,5-1,9	12,5	11
2-4	12,5	11
5-7	13	11,5
8-11	13,5	12
12-14 (kız)	13,5	12
12-14 (erkek)	14	12,5
15-17 (kız)	14	12
15-17 (erkek)	15	13
18-49 (kız)	14	12
18-49 (erkek)	16	14