

**T. C.  
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI  
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ  
HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ  
İÇ HASTALIKLARI SERVİS ŞEFLİĞİ**

**AKTİF AKCİĞER TÜBERKÜLOZUNDA  
SERUM PROHEPSİDİN DÜZEYİNİN ÖNEMİ**

**Mustafa KAPLAN  
TBP. YZB.**

**UZMANLIK TEZİ**

**İSTANBUL  
2007**

**T. C.  
GENELKURMAY BAŐKANLIĐI  
GÜLHANE ASKERİ TIP AKADEMİSİ  
HAYDARPAŞA EĞİTİM HASTANESİ  
İÇ HASTALIKLARI SERVİS ŞEFLİĞİ**

**AKTİF AKCİĞER TÜBERKÜLOZUNDA  
SERUM PROHEPSİDİN DÜZEYİNİN ÖNEMİ**

**Mustafa KAPLAN  
TBP. YZB.**

**Gülhane Askeri Tıp Akademisi  
Haydarpaşa Eğitim Hastanesi'nin  
İç Hastalıkları Servisi Programı  
İçin Öngördüğü  
UZMANLIK TEZİ  
olarak hazırlanmıŐtır.**

**TEZ DANIŞMANI  
Ahmet ÖZTÜRK  
Prof. Hv. Tbp. Kd. Alb.**

**İSTANBUL  
2007**

Gülhane Askeri Tıp Akademisi /  
Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Komutanlığına;

“Aktif Akciğer Tüberkülozunda Serum Prohepsidin Düzeyinin Önemi ”  
konulu bu çalışma jürimiz tarafından İç Hastalıkları Anabilim Dalı'nda  
Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : Prof.Hv.Tbp.Kd.Alb.Ahmet ÖZTÜRK

Üye : Doç.Dz.Tbp.Kd.Alb.Ahmet Kemal GÜRBÜZ

Üye : Prof.Tbp.Kd.Alb.Selahattin ERİKÇİ

Üye : Prof.Tbp.Kd.Alb.Metin ÖZATA

Üye : Prof.Tbp.Kd.Alb.Levent DEMİRTÜRK

ONAY:

Tbp. Yzb. Mustafa KAPLAN'nın 15/10/2007 tarihinde savunduğu bu tez  
Akademi Kurulu'nca belirlenen yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun  
görölmüş ve kabul edilmiştir.

M.Zeki BAYRAKTAR  
Prof.Tbp.Tümgeneral  
Askeri Tıp Fakültesi Dekanı  
Eğitim Hastanesi Baştabibi

## TEŞEKKÜR

“Aktif Akciğer Tüberkülozunda Serum Prohepsidin Düzeyinin Önemi” konulu uzmanlık tezi GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi İç Hastalıkları Servis Şefliği'nin 13.01.2004 tarih ve İÇ HST. SRV.: 4000-04-04/12 sayılı emri ile verilmiş ve çalışmaya başlanmıştır.

Uzmanlık öğrenciliğim süresince yetişmemde büyük katkıları ve emekleri olan değerli hocalarım Prof. Tbp. Kd. Alb. Metin ÖZATA, Prof. Tbp. Kd. Alb. Levent DEMİRTÜRK, Prof. Tbp. Kd. Alb. E.Gökhan KANDEMİR, Prof. Tbp. Kd. Alb. Rifki EVRENKAYA, Doç. Hv. Tbp. Kd. Alb. M. Emin ÖNDE, Doç. Dz. Tbp. Kd. Alb. A. Kemal GÜRBÜZ, Doç. Tbp. Kd. Alb. Orhan TÜRKEN, Doç. Tbp. Alb. Yaşar KÜÇÜKARDALI, Doç. Tbp. Kd. Alb. A.Melih ÖZEL, Doç. Tbp. Kd. Alb. Yusuf YAZGAN, Doç. Tbp. Alb. Arif YÖNEM, Doç. Tbp. Alb. E.Murat ATASOYU, Uz. Hv. Tbp. Alb. Özkan SAYAN, Doç. Tbp. Yb. Cihan TOP, Doç. Tbp. Yb. Selim NALBANT, Yrd. Doç. Hv. Tbp. Kd. Bnb. Yalçın ÖNEM, Yrd. Doç. Dz. Tbp. Bnb. Hakan TEREKECİ ve Uz. Hv. Tbp. Kd. Yzb. Burak ŞAHAN'a saygılarımı ve şükranlarımı arz ederim. Eğitim rotasyonlarım sırasında ve birlikte çalıştığım süre içinde bilgi ve tecrübeleri ile eğitimime olan değerli katkılarından dolayı Prof. Tbp. Kd. Alb. Mehmet DİNÇTÜRK, Prof. Tbp. Kd. Alb. Mustafa GÜLTEPE, Prof. Tbp. Kd. Alb. Şaban ÇAVUŞLU, Prof. Dz. Tbp. Kd. Alb. B. Sıtkı CEBECİ, Prof. Dz. Tbp. Kd. Alb. Zafer KARTALOĞLU, Doç. Tbp. Alb. Yılmaz CİNGÖZBAY ve Doç. Tbp. Yb. Oral ÖNCÜL'e teşekkürlerimi arz ederim. Eğitimimde olduğu kadar tezimin hazırlanmasında da bana yol gösterip, bilgi ve deneyimlerini aktaran Prof. Tbp. Kd. Alb. Ahmet ÖZTÜRK'e, tezimin her aşamasında bana yol gösterip destek olan Yrd. Doç. Hv. Tbp. Bnb. Emrullah SOLMAZGÜL, Yrd. Doç. Dz. Tbp. Bnb. Alev Akyol ERİKÇİ'ye teşekkürlerimi arz ederim. Aynı ekipte çalışma mutluluğuna eriştiğim İç Hastalıkları Servis Şefliğinde görevli bütün uzmanlık öğrencisi arkadaşlarıma, aileme (sevgili eşim Ayşin ve biricik kızım Eylül'e) sonsuz sevgilerimi sunarım.

Dr. Mustafa KAPLAN  
İstanbul  
Ekim 2007

## ÖZET

### AKTİF AKCİĞER TÜBERKÜLOZUNDA SERUM PROHEPSİDİN DÜZEYİNİN ÖNEMİ

Kronik hastalık anemisi, demir eksikliğine bağlı gelişen anemilerden sonra en sık prevalansa sahip olup, akut veya kronik immün aktivasyonun geliştiği hastalarda ortaya çıkan bir anemi şeklidir. Akciğer tüberkülozu da ciddi bir enflamasyona yol açan, aynı zamanda sıkça anemiye neden olan bir enfeksiyon hastalığıdır. Bu nedenle aktif akciğer tüberkülozlu hastalarda anemi nedenini ortaya koymada ve tedaviye cevabı değerlendirmede prohepsidin düzeyinin faydalı olup olamayacağını araştırdık.

Çalışma Ocak-Haziran 2007 tarihleri arasında GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Hematoloji ve Tüberküloz ve Göğüs Hastalıkları Servislerinde yaşları 19 ile 30 arasında değişmekte olan toplam 40 erkek olgu ve 15 sağlıklı erkek üzerinde yapılmıştır. Hastaların hepsi balgam yayma pozitif akciğer tüberkülozlu ve daha önce tedavi almamış hastalardı. İki ay boyunca izoniazid tablet, rifampisin kapsül, morfazinamid tablet ve etambutol tablet ve takip eden 3 ay da, sadece izoniazid tablet ve rifampisin kapsül tedavisi verildi. Tedavi sonrası hastaların balgam incelemesi yapıldı ve hepsinde yayma negatif olduğu saptandı.

Bizim çalışmamızda aktif akciğer tüberkülozlu hastalarda serum prohepsidin düzeyi sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $t:-8,251$ ;  $p:0,001$ ;  $p<0,01$ ). Ayrıca hasta grubunun tedavi sonu 5. ay prohepsidin düzeyi kontrol grubuna göre ve hasta grubunda tedavi öncesi prohepsidin düzeyi tedavi sonrası prohepsidin ölçümüne göre ( $t:2,843$ ;  $p:0,007$ ;  $p<0,01$ ) anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Diğer taraftan Serum Demir ve Serum Demir Bağlama Kapasitesi düzeylerinin hasta grubu tedavi öncesi veya tedavi sonrası değerleri ile kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı fark olmaması, aktif akciğer tüberkülozunda demir eksikliği anemisinden çok, kronik hastalık anemisi veya diğer adıyla enflamasyon anemisinin etkin olduğunu düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler :**Enflamasyon anemisi, Prohepsidin, Akciğer Tüberkülozu

**Destekleyen Kurumlar:** Çalışmayı destekleyen kuruluş yoktur.

**Yazar Adı** : Tbp. Yzb. Mustafa KAPLAN

**Danışman** : Prof. Hv. Tbp. Kd. Alb. Ahmet ÖZTÜRK

## SUMMARY

### THE IMPORTANCE OF SERUM PROHEPCIDIN LEVEL IN ACTIVE PULMONARY TUBERCULOSIS

Anemia of chronic disease is the second most prevalent after anemia caused by iron deficiency, occurs in patients with acute or chronic immune activation. Pulmonary tuberculosis is another infectious disease that causes anemia as well as inflammation. The purpose of this study is to detect the reasons of anemia and the role of prohepcidin in response to therapy.

The study is performed in 40 male patients with tuberculosis and 15 healthy controls between January and June 2007 hospitalized in Pulmonary and Tuberculosis Department. The patient group consisted of previously untreated positive sputum smears for tuberculosis. The patients were treated with isoniazide tablets, rifampicine capsules, morphazinamide tablets and ethambutol tablets for two months followed by isoniazide and rifampicine tablets for the three consecutive months. After treatment peripheral sputum smears were examined all of them were negative for tuberculosis.

In our study patients with pulmonary tuberculosis had significantly higher prohepcidin levels when compared to healthy controls ( $t:-8,251$ ;  $p:0,001$ ;  $p<0,01$ ). Additionally patients had higher prohepcidin levels before and at the end of fifth month when compared to control group ( $t:2,843$ ;  $p:0,007$ ;  $p<0,01$ ). On the other hand, no difference between in serum iron and iron binding capacity levels before and after therapy when compared to control group. Our results suggest that anemia in pulmonary tuberculosis is not iron deficiency anemia but chronic disease anemia or another terms of anemia of inflammation.

**Keywords** :Anemia of inflammation, Prohepcidin, Pulmonary Tuberculosis

**Supported by:** None

**Author** : Tbp. Yzb. Mustafa KAPLAN

**Counsellor** : Prof. Hv. Tbp. Kd. Alb. Ahmet ÖZTÜRK

## İÇİNDEKİLER

Sayfa

<b>ONAY SAYFASI</b> .....	iii
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	iv
<b>ÖZET</b> .....	v
<b>İNGİLİZCE ÖZET</b> .....	vi
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	vii
<b>SİMGELER ve KISALTMALAR</b> .....	viii
<b>ŞEKİLLER</b> .....	ix
<b>TABLolar</b> .....	x
<b>GİRİŞ</b> .....	1
<b>GENEL BİLGİLER</b> .....	2
2.1. Kronik Hastalık Anemisi.....	2
2.1.1. Patofizyolojik Özellikleri.....	3
2.1.2. Demir Homeostazisi .....	3
2.1.3. Laboratuvar Değerlendirilmesi .....	5
2.1.4 Tedavi Seçenekleri .....	9
2.2. Hepsidin Yapısı ve Aktivitesi .....	11
2.2.1. Hepsidin Sentezinin Düzenlenmesi.....	16
2.2.2. Hepsidin'in Etki Mekanizması.....	18
2.3. Akciğer Tüberkülozu .....	21
<b>GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	25
3.1. Çalışma Dışlama Kriterleri.....	26
3.2. Araştırmanın Olanakları.....	26
3.3. İstatistik.....	27
<b>BULGULAR</b> .....	28
<b>TARTIŞMA VE SONUÇ</b> .....	40
<b>KAYNAKLAR</b> .....	51

## SİMGELER VE KISALTMALAR

GATA	: Gülhane Askeri Tıp Akademisi
HIV	: Human Immunodeficiency Virus
tb	: Tablet
kap	: Kapsül
SD	: Serum Demir
SDBK	: Serum Demir Bağlama Kapasitesi
DMT-1	: Divalent metal transporter 1
TNF- $\alpha$	: Tümör nekroz faktör-alfa
IL-1	: İnterlökin-1
IL-6	: İnterlökin-6
IL-10	: İnterlökin-10
Fe <sup>+2</sup>	: Ferröz demir
GIS	: Gastrointestinal sistem
HLA	: Human Lökosit Antijen
RES	: Retiküloendotelyal sistem
IRP1	: Demir regülatuar protein-1
IRP2	: Demir regülatuar protein-2
IRE	: Demir regülatör element
RNA	: Ribonükleik asit
Cys	: Sistein
HFE	: Hemokromatozis gen mutasyonu
MM	: Multipl myelom
GFR	: Glomerüler filtrasyon oranı
HIF	: Hipoksi-indükleyen faktör
LPS	: Lipopolisakkarit
HH	: Herediter hemokromatozis
GGT	: Gama Glutamil transaminaz
WHO	: The World Health Organization
DOTS	: Directly Observed Therapy
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
H	: İzoniazid
R	: Rifampisin
Z	: Pirazinamid
MDR	: Çoklu ilaç direnci
CRP	: C-Reaktif protein
AST	: Aspartat transaminaz
ALT	: Alanin transaminaz
ELISA	: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
WBC	: Lökosit
Hb	: Hemoglobin
Htc	: Hematokrit
MCV	: Ortalama eritrosit hacmi
Plt	: Platelet
r	: Korelasyon katsayısı
sTFR	: Solubl Transferin Reseptörü
hsCRP	: High sensitive C Reaktif Protein

## ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
2.1.1 Kronik hastalık anemisinde demir metabolizmasının düzenlenmesi.....	6
2.1.2 Kronik hastalık anemisinin ayırıcı tanı algoritması.....	8
2.2.1 Demir mebolizmasında hepsidin'in rolü.....	13
2.2.2 84 aminoasitten oluşan preprohepsidin.....	14
2.2.3 Hepsidin'in nükleer magnetik rezonans görüntüsü.....	14
4.1 Hasta ve Kontrol gruplarında prohepsidin düzeyi dağılımı.....	34
4.2 Hasta ve Kontrol gruplarında ferritin düzeyi grafiği.....	34
4.3 Beşinci ayda Hasta ve Kontrol grupları prohepsidin düzeyi grafiği.....	36
4.4 Hasta Grupta tedavi öncesi ve sonrası beşinci aydaki Prohepsidin düzeyleri değişim grafiği .....	38

## TABLULAR DİZİNİ

<b>Tablo</b>	<b>Sayfa</b>
2.1.1 Kronik hastalık anemisinde altta yatan bazı hastalıklar.....	2
2.1.2 Kronik hastalık anemisi ile demir eksikliği anemisi arasındaki farklar.....	7
2.1.3 Kronik hastalık anemisinde tedavi seçenekleri.....	10
4.1 Çalışma grubu olgularına ait tedavi öncesi veriler.....	28
4.2 Çalışma grubu olgularına ait 5. ayın verileri.....	29
4.3 Çalışma grubu olgularına ait tedavi öncesi ve tedavi sonrası 5. ayın verileri.....	30
4.4 Kontrol grubu olgularına ait veriler.....	31
4.5 Kontrol grubu olgularına ait veriler.....	31
4.6 Hasta grubunun kan sayımı yönünden başlangıç ve 5. ay değerlerinin karşılaştırılması.....	32
4.7 Hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırılması.....	33
4.8 Hasta grubunun 5. ay ile kontrol grubu değerlerinin karşılaştırılması.....	35
4.9 Hasta grubunun başlangıç ve 5. ay değerlerinin karşılaştırılması.....	37
4.10 Hasta ve kontrol gruplarının sedimantasyon karşılaştırılması .....	39
4.11 Hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırılması .....	39
4.12 Tedavi öncesi ve sonrasında Prohepsidin düzeyi ile Sedimantasyon ve CRP arasındaki korelasyon.....	39

## I-GİRİŞ

Kronik hastalık anemisi, demir eksikliğine bağlı gelişen anemilerden sonra en sık prevalansa sahip olup, akut veya kronik immün aktivasyonun geliştiği hastalıklarda ortaya çıkan bir anemi şeklidir. Bu anemi tipi enflamasyon anemisi olarak da isimlendirilmektedir. Retiküloendotelial sistem (RES) hücreleri ve sitokinler demir homeostazisini, eritroid progenitör hücrelerin proliferasyonunu, eritropoietin üretimini ve eritrositlerin yaşam süresini kontrol ederler.

Hepsidin sentezi enflamasyonda veya aşırı demir yüklenmesinde yaklaşık 100 kat artış göstermektedir. Hepsidin'in keşfi ve demir metabolizmasındaki rolünün tespiti enflamasyon anemisi ve hemokromatoziste yeni tedavi yaklaşımlarını sağlayacak gibi görünmektedir. Eritropoietine cevapsızlık, bozulmuş demir homeostazisi ve eritroid öncüllerinin proliferasyonundaki problemler gibi durumlar için yeni tedavi stratejilerine ihtiyaç olduğu kronik hastalık anemisinin patofizyolojisi anlaşıldıkça ortaya çıkmıştır. Bu yöntemlerin başında altta yatan hastalığın tedavisi, eritropoietin kullanımı, demir ve kan transfüzyonları olarak sayılabilir. Eğer hepsidin diğer peptid hormonlar veya sitokinler gibi etki gösteriyorsa, yüzeyel reseptörlerinin uyarılmasıyla aktive olabilir. Reseptörler ve transdüksiyon yolu açığa çıktığında hepsidin antagonistlerinin kullanımını sağlayacaktır. Bu bize enflamasyona bağlı anemi tedavisinde ve eritropoietin tedavisine direnç gelişmesi durumunda hepsidin antagonistlerinin kullanılmasına olanak sağlayacaktır.

Akciğer tüberkülozu da ciddi enflamatuvar cevap oluşturan ve sık olarak anemiye yol açan kronik granülomatöz bir enfeksiyon hastalığıdır. Bu nedenle çalışmamızda aktif akciğer tüberkülozlu hastaları kronik hastalık anemisine bir model olarak kullanıp, bu tip hastalarda anemi nedenini ortaya koymakta ve tedaviye cevabı değerlendirmede prohepsidin düzeyinin faydalı olup olamayacağını incelemeyi amaçladık.

## II-GENEL BİLGİLER

### 2.1. Kronik Hastalık Anemisi

Kronik hastalık anemisi, demir eksikliğine bağlı gelişen anemilerden sonra en sık prevalansa sahip olup, akut veya kronik immün aktivasyonun geliştiği hastalarda ortaya çıkan bir anemi şeklidir (52,91). Bu anemiye enflamasyon anemisi de denmektedir. Kronik hastalık anemisi ile ilgili en sık rastlanan hastalıklar tablo 2.1.1’de görülmektedir.

**Tablo 2.1.1:** Kronik hastalık anemisinde altta yatan bazı hastalıklar.

Hastalıklar	Prevalansı %
Enfeksiyonlar (akut veya kronik)	18-95
• Viral enfeksiyonlar (HIV)	
• Bakteriyel	
• Parazitik	
• Fungal	
Maligniteler	30-77
• Hematolojik	
• Solid tümörler	
Otoimmün hastalıklar	8-71
• Romatoid artrit	
• SLE	
• Sarkoidozis	
• Enflamatuar Barsak Hastalıkları	
Solid organ transplantasyonu sonrası kronik rejeksiyon	8-70
Kronik böbrek yetmezliği ve enflamasyon	23-50

### **2.1.1. Kronik hastalık anemisinin patofizyolojik özellikleri**

Kronik hastalık anemisinin patogeneğinde immün mekanizmalar rol oynar. Retiküloendotelyal sistem hücreleri ve sitokinler; demir homeostazisini, eritroid progenitör hücrelerin proliferasyonunu, eritropoetin üretimini ve eritrositlerin yaşam süresini etkilemektedirler. Eritropoiezis, kronik hastalık anemisi nedene bağlı olarak muhtemel kemik iliğinin tümör hücreleri tarafından infiltrasyonu, HIV enfeksiyonu, hepatit C enfeksiyonu, malaria gibi mikroorganizmalar tarafından infiltrasyonu sonucu etkileniyor (31). Diğer taraftan tümöral durumlarda, tümör hücreleri tarafından üretilen proinflamatuvar sitokinler ve serbest radikaller üreterek eritroid progenitor hücrelerine de zarar vermektedir. Kanama epizodları, vitamin eksikliği (kobalamin ve folik asit), hipersplenizm, otoimmün hemoliz, renal disfonksiyon, radyoterapi ve kemoterapi uygulamaları olduğunda da aneminin daha da derinleşmesi muhtemeldir (76).

Renal yetmezliğe bağlı olarak gelişen üremik toksinlerin birikimi durumunda ise, antiproliferatif etki gösterip eritropoietin üretimini azaltmakla beraber, yukarıda bahsedilen diğer nedenler de geçerliliğini muhafaza etmektedir. Örneğin, bu hastalarda immün hücrelerinin diyaliz membranı ile etkileşimi veya sık tekrarlayan enfeksiyon atakları kronik immün uyarıya neden olarak, kronik hastalık anemisindeki gibi tipik vücut demir homeostazisinde değişiklikler olabilir (20,28).

### **2.1.2. Demir homeostazisi**

Kronik hastalık anemisinin bir belirtisi olarak demir homeostazisinin bozulması, artmış emilime ve retiküloendotelyal sistem hücrelerinde demir retansiyonuna bağlı olarak gelişmektedir. Bu nedenle dolaşımdaki demirin retiküloendotelyal sistemde depolanması sonucunda eritroid progeniter hücrelere demir aktarılamamakta ve demir kısıtlı eritropoiezis meydana gelmektedir.

Kronik enflamasyonlarda demirin makrofajlara geçişi özellikle eritrofagositozis veya *protein divalent metal transporter 1* (DMT-1) transmembran proteini yoluyla gerçekleşmektedir (5). Mikroorganizmaların invazyonu, malign hücrelerin dolaşımda bulunması veya otoimmün

disregülasyon T Hücrelerinin (CD3+) ve monositlerin aktivasyonuna neden olarak kronik hastalık anemisinin altında yatan temel patofizyolojik mekanizmayı oluşturmaktadırlar. Bu hücreler immün mekanizmayı uyarmakta ve T hücrelerinden interferon- $\gamma$ , monosit ve makrofajlardan; Tümör nekrotize edici faktör-alfa (TNF- $\alpha$ ), İnterlökin-1 (IL-1), İnterlökin-6 (IL-6) ve İnterlökin-10 (IL-10) salgılanmasına yol açmaktadırlar. IL-6 ve liposakkaritler akut faz reaktanı olarak hepsidin'in hepatik sekresyonunu artırır ve hepsidin demirin duodenal emilimini engeller. İnterferon- $\gamma$ , lipopolisakkaritler ve her ikisi de makrofajlardaki DMT-1 ekspresyonunu ve ferröz demir (Fe<sup>+2</sup>) alımını arttırır (Şekil 2.1.1), (47). Anti-enflamatuar sitokin olan IL-10, monositlere, transferrine bağlı demir alımını ve transferrin reseptör ekspresyonunu arttırarak transferrin reseptör ekspresyonunu düzenler (85).

Sonuç olarak, TNF- $\alpha$ 'nın etkilediği makrofajlar, eritrositlerin membranlarını hasara uğratmakta ve fagositozuna neden olurlar. İnterferon- $\gamma$  ve lipopolisakkaritler makrofajlardaki demir transportunu sağlayan ferroportin-1 ekspresyonunu baskılamakta ve bunu da hepsidin aracılığıyla gerçekleştirmektedirler. Aynı zamanda TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6 ve IL-10, ferritin ekspresyonunu arttırarak makrofajlarda demir retansiyonunu stimule etmektedir. Özet olarak bu mekanizmalar dolaşımdaki demir konsantrasyonunu azaltmakta ve böylece eritrositlerin üretimindeki demir kullanımını azaltmaktadırlar. TNF- $\alpha$  ve interferon- $\gamma$  böbreklerdeki eritropoietin üretimine de engel olmaktadır. TNF- $\alpha$ , interferon- $\gamma$  ve IL-1 direkt olarak eritroid progenitör hücrelerin çoğalmasını ve olgunlaşmasını inhibe etmektedirler. Ek olarak demir kullanımının sınırlanması, eritropoietinin biyolojik aktivitesinin inhibisyonu ile anemi gelişmektedir.

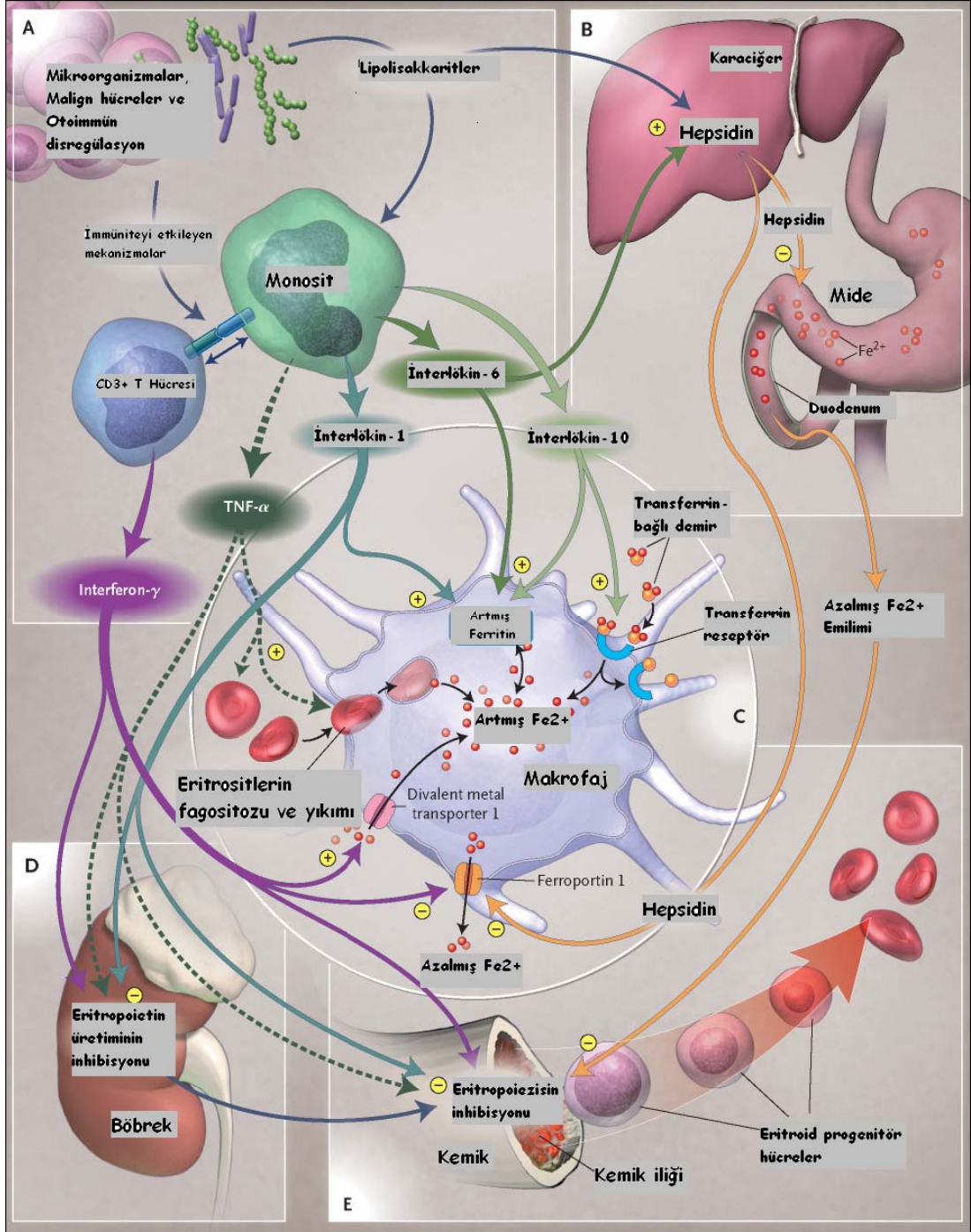
Eritropoietin cevabı daha sonra proenflamatuar sitokinlerin inhibitör etkileriyle azaltılır. Buna eritropoietin reseptörlerinin *down regülasyonu*, demirin hücre proliferasyonu ve hemoglobin sentezi için kullanılabilirliğinin kısıtlanması eşlik eder. Sonuç olarak enflamasyon sırasında artmış eritrofagositoz, azalmış eritrosit yarı ömrüne ve bununla beraber sitokinler ve serbest radikaller tarafından oluşturulan eritrosit hasarına neden olur (53,82).

### 2.1.3. Kronik hastalık anemisinde laboratuvar değerlendirmesi

Kronik hastalık anemisi normokrom normositik bir anemi olup genellikle ılımlı (hemogloblin düzeyi 9,5 gr/l'ten 8,5 gr/l'te orta seviyeye değişen hemogloblin düzeyi) bir özellik gösterir. Düşük retikülosit sayımı, düşük eritrosit üretimine işaret eder. Kesin tanı eşlik eden kan kaybı, kullanılan ilaçların etkileri ve talasemi gibi doğumsal hemogloblin sentez bozukluklarının dışlanmasıyla konur. Kronik hastalık anemisinin değerlendirilmesinde ayrıca, hipokrom mikrositer anemi olan demir eksikliği anemisinin ayırt edilmesi için tüm vücut demir tayini de gereklidir. Bu iki aneminin arasındaki fark, demir eksikliği anemisinde kesin bir demir eksikliği varken, kronik hastalık anemisi patofizyolojisinin multifaktöryel olmasıdır.

Hem kronik hastalık anemisinde hem de demir eksikliği anemisinde serum demir ve transferrin saturasyonları azalmıştır. Buna karşılık demir eksikliği anemisinde kesin demir eksikliği ve hipoferrinemi varken kronik hastalık anemisinde transferrin saturasyonu düşüşü primer olarak serum demir seviyeleri düşüşüne, bu da retiküloendotelial sistemde demir akümülyasyonuna bağlıdır. Demir eksikliği anemisinde transferrin saturasyonu daha da düşük seviyelerde bulunabilir. Çünkü demir taşıyıcısı olan transferrinin serum konsantrasyonları artmıştır. Bununla beraber kronik hastalık anemisinde transferrin seviyeleri normal veya düşüktür. Demir eksikliğinin altta yatan nedeni araştırılırken, hikâye muhtemel bir diyet nedenini ekarte edecek şekilde incelenmelidir. Sıklıkla demir eksikliği artmış menstrüel kanama, ülseratif gastrointestinal sistem (GİS) hastalıkları, GİS kanamaları, enflamatuvar barsak hastalıkları, anjiodisplaziler, kolon adenomları, GİS kanserleri ve parazitik enfeksiyonlar gibi patolojik kan kaybı nedenlerini işaret eder.

Ferritin demir depolarının belirteci olarak kullanılır ve 15 ng/ml'nin altında demir depolarının eksildiğini gösterir. Buna rağmen 30 ng/ml'lik bir ferritin seviyesi birçok toplumda demir eksikliği anemisi için daha iyi bir pozitif prediktif değer sağlamaktadır.



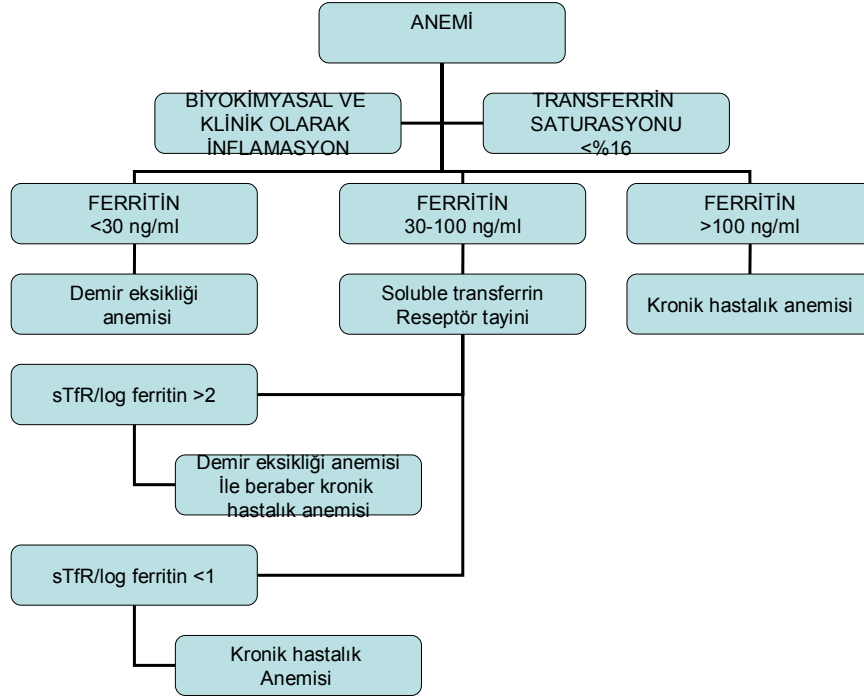
**Şekil 2.1.1:** Kronik hastalık anemisinde demir metabolizmasının düzenlenmesi.

Kronik hastalık anemili hastalarda ferritin seviyeleri normal veya artmıştır, ancak bu durumda demirin retikuloendotelial sistemde artmış depolanma ve retansiyonu ile birlikte immün aktivasyona bağlı ferritin seviyelerinin artışı da rol oynamaktadır (Tablo 2.1.2), (86).

**Tablo 2.1.2:** Kronik hastalık anemisi ile demir eksikliği anemisi arasındaki farklar.

	<b>Kronik hastalık anemisi</b>	<b>Demir eksikliği anemisi</b>	<b>Her iki durumda</b>
Serum demir	Azalmış	Azalmış	Azalmış
Transferrin	Azalmış veya normal	Artmış	Azalmış
Transferrin saturasyon	Azalmış	Azalmış	Azalmış
Ferritin	Normal veya artmış	Azalmış	Azalmış veya normal
Soluble transferrin reseptör	Normal	Artmış	Normal veya artmış
Soluble transferrin reseptörünün log ferritine oranı	Düşük (<1)	Yüksek(>2)	Yüksek(>2)
Sitokin düzeyi	Artmış	Normal	Artmış

Soluble transferrin reseptörü membran reseptörünün bir parçası olup, eritropoiezis için demirin düşük olduğu durumlarda, demir eksikliği anemisinde artar. Buna karşılık soluble transferrin reseptörleri kronik hastalık anemisinde enflamatuvar sitokinler tarafından negatif olarak etkilenmesi nedeniyle normalden pek farklılık göstermez. Soluble transferrin reseptör tayini ile saf kronik hastalık anemisini (normal veya yüksek ferritin düzeyi ve düşük soluble transferrin reseptör düzeyli), demir eksikliği anemisinin eşlik ettiği kronik hastalık anemisinden (düşük ferritin düzeyi ve yüksek soluble transferrin düzeyli) ayırımında yardımcıdır (Şekil 2.1.2). Saf kronik hastalık anemili hastalarla karşılaştırıldığında demir eksikliği anemisinin eşlik ettiği kronik hastalık anemili hastalar daha sıklıkla mikrositik anemili olup anemileri daha ciddi olmaya eğilimlidir (10,73).



**Şekil 2.1.2:** Kronik hastalık anemisinin ayırıcı tanı algoritması

Soluble transferin reseptör konsantrasyonlarının logaritmik ferritin seviyelerine oranı da ayırıcı tanıda yardımcı olabilir. Oranın 1'den düşük olması kronik hastalık anemisine işaret ederken, 2'den yüksek olması demir eksikliğin eşlik ettiği kronik hastalık anemisini gösterir. Hipokromik eritrositlerin veya retikülosit hemoglobin içeriğinin tayini de kronik hastalık anemili hastalarda demir kısıtlı eritropoezin tespitinde yararlı olabilir.

Eritropoietin seviyesinin ölçümleri ancak 10 gr/dl'nin altındaki hemoglobin değerlerinde yararlıdır. Çünkü daha yüksek hemoglobin konsantrasyonlarında eritropoietin seviyeleri normal sınırlardadır. Eritropoietin seviyeleri kronik hastalık anemilerin eritropoetik ajanlarla tedavisinde oluşan cevabın tahmin edilmesi için analiz edilmiştir. Hemoglobin seviyelerinde veya retikülosit seviyelerindeki değişiklikler eritropoietin tedavisine cevabı göstermektedir.

#### **2.1.4. Kronik Hastalık Anemisinde Tedavi Seçenekleri**

Kronik hastalık anemisi tedavisinde iki temel prensibin göz önünde bulundurulması gerekir. Birincisi, anemi kompensatuar mekanizmaların devreye girmesine (kardiyak output artışı gibi) yol açabilir, diğeri de anemiye yol açan beraberinde bulunduğu durumların göz önüne alınması gerekmektedir. Böylece özellikle 65 yaş üstü koroner arter hastalığı, kronik böbrek hastalığı gibi durumların bulunması halinde aneminin tedavi edilmesi gerekir. Bu hastalarda hemoglobinin 12 gr/dl'nin üstünde tutulması hayat kalitesinde artışa yol açar.

Konjestif kalp yetmezliği, koroner arter hastalığı ve benzeri durumlarda kronik hastalık anemisi sıklıkla izlenir. Kronik hemodiyaliz hastaları, kronik hastalık anemisi için genel bir örnektir. Kronik böbrek yetmezliği hastalarında hemoglobinin 8 mg/dl civarında olması, hemoglobinin 12 mg/dl civarında olmasına göre 2 kat fazla ölüm riskine sahiptir (46). Bu durum yüz bin hastayla yapılan çalışmada gösterilmiştir (48). Aynı çalışmada hematokritin %33-36 civarında olmasının diyaliz hastalarında düşük ölüm riski ile beraber olduğu gösterilmiştir.

#### **Transfüzyon**

Sıklıkla kullanılan hızlı ve efektif bir tedavi seçeneğidir. Hemoglobin 8 gr/dl'nin altında olduğu ciddi anemilerde kanama gibi durumlarla beraber olan komplike durumlarda ve hemoglobin 6,5 gr/dl'nin altında ise etkili bir yaklaşımdır.

#### **Demir tedavisi**

Oral demir duodenumdan zayıfça emilmektedir (3). Kronik hastalık anemisinde demir tedavisi tartışmalıdır. Mikroorganizmalar ve tümör hücrelerinden demirin RES'e aktarılması önemli bir savunma mekanizmasıdır. Proliferasyonu inhibe etmektedir. Hemodiyaliz hastalarında bakteriyemi riskini tespit etmek için yapılan bir çalışmada parenteral demir alan hastalarda transferrin saturasyonu yüzde 20'nin üstünde ve ferritin 100 ng/ml üstünde olduğunda belirgin yüksek bakteriyemi riskinin bulunduğu tespit edilmiştir (79). Yine de demir tedavisi anti-TNF etki ile romatoid artrit hastalığının aktivitesini azaltabilir, kronik enflamatuar barsak hastalarında

hemoglobin seviyelerinin yükselmesine yol açabilir. Yüksek ve normal ferritin seviyelerinde kronik hastalık anemili hastalarda demir desteğine gerek olmadığı bildirilmektedir. (Tablo 2.1.3).

### **Eritropoietik ajanlar**

Kemoterapi alan hastalarda, kronik böbrek yetmezliği hastalarında ve myelosüpresyon yapılan HIV enfeksiyonlu hastalarda bu ajanlar kullanılabilir. Myelodisplastik sendromda %25, multiple myelomda %80, romatoid artrit ve kronik böbrek hastalığında ise tedavi etkinliği %95'tir.

**Tablo 2.1.3:** Kronik hastalık anemisinde tedavi seçenekleri.

<b>TEDAVİ</b>	<b>KRONİK HASTALIK ANEMİSİ</b>	<b>KRONİK HASTALIK ANEMİSİ İLE BERABER DEMİR EKSİKLİĞİ</b>
Altta yatan hastalığın tedavisi	Evet	Evet
Transfüzyon	Evet	Evet
Demir tedavisi	Hayır	Evet
Eritropoetik ajanlar	Evet	Evet, demir tedavisine cevap vermeyen hastalarda

Rutin uygulamalarda eritropoietin alan tümör hastalarında hedef hemoglobin seviyesinin 11-12 gr/dl olması gerektiği bildirilmektedir (93). Tedavinin monitörizasyonunda, eritropoietin kullanımı öncesi demir eksikliği dışlanmalıdır. Tedavinin ilk 4 haftası boyunca haftada bir, bu süre sonunda ise 2 haftalık aralarla hemoglobin seviyeleri takip edilmelidir. Hemoglobin seviyeleri 1 gr/dl'den daha az artış gösterirse, demir durumu değerlendirilmelidir. Demir kısıtlı eritropoez yok ise eritropoietin dozunda %50 artış yapılmalıdır.

## **2.2. Hepsidin Yapısı ve Aktivitesi**

Hepsidin karaciğerde üretilen ve temel olarak sistemik demir homeostazisini sağlayan bir hormondur.

Hepsidin bu işlevini;

- plazma demir konsantrasyonunu
- dokulardaki demir dağılımını
- gastrointestinal sistemden demir emilimini
- makrofajlardaki demirin tekrar kullanımını
- karaciğerdeki depo demirinin mobilizasyonunu inhibe etmesi yolu ile sağlamaktadır.

Hepsidin hücrel demir salınımını, hücrelerdeki demir taşıyıcısı olan ferroportini bağlayıp yıkımına neden olarak engellemektedir. Hepsidin sentezi hemostatik olarak demir yüklenmesi durumunda artmakta, anemi ve hipoksi durumunda ise azalmaktadır. Hepsidin bu nedenle enflamasyon ve enfeksiyon durumunda artmaktadır, çünkü savunma mekanizması olarak mikroorganizmaların demir kullanımını engellemek için serum demir düzeyi azalmakta ve gelişen enflamasyona bağlı olarak anemi oluşmaktadır. Diğer taraftan hepsidin ile ilgili bozukluklarda ise hemokromatozisin birçok formu ortaya çıkmaktadır. Bunların nedeni ise hepsidin sentezinde rol olan genlerdeki mutasyonlara bağlıdır.

### **Demir homeostazisi**

Demir oksijen taşıyan proteinler (hemoglobin, myoglobin) için temel element olmakla beraber hücrel birçok redoks enzimleri tarafından da kullanılmaktadır. Ortalama yetişkin bir insanda 2-4 gr kadar demir bulunmaktadır. Demirin büyük bir bölümü kandaki eritrositlerde yer alan hemoglobinin içindedir ve uzamış sistemik demir eksikliğinde ise hemoglobin üretimi azalmakta ve anemi gelişmektedir. Kemik iliğindeki eritrosit prekürsörlerinde ve diğer dokularda ortalama 20 mg kadar demir günlük döngüde kullanılmaktadır. Günlük olarak sadece 1-2 mg diyet demirine ihtiyaç vardır. Demir insanlarda proksimal duodenumdan emilmekte, elemental demir ve heme ise duodenal enterositler tarafından dolaşıma katılmaktadır. Demir emilimi vücuttaki demir dengesi ile yakın ilişki içindedir

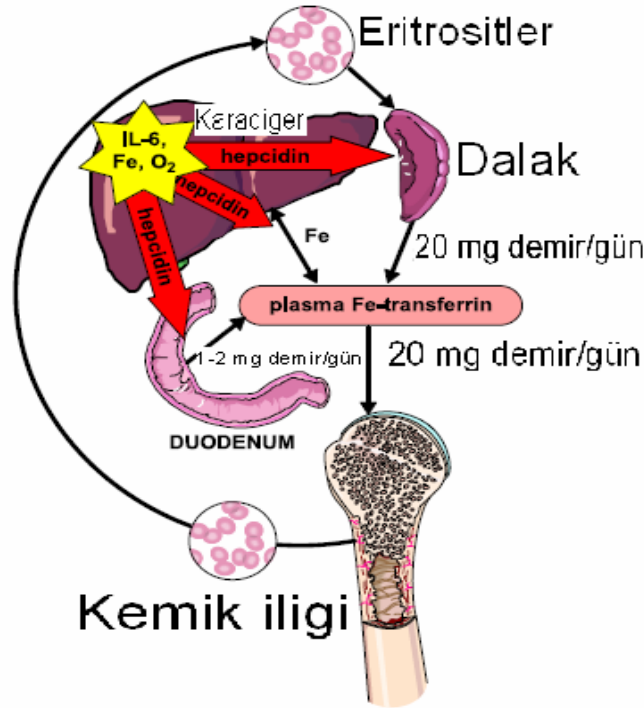
ve fazla alımı söz konusu değildir. Parenteral demir yüklenmesi gibi dengenin bozulduğu durumlarda demir birikimine bağlı olarak serbest oksijen radikalleri gelişmekte ve buna bağlı olarak doku hasarı ve organ kayıpları söz konusu olmaktadır. Normal şartlar altında demir plazma konsantrasyonu ve ekstrasellüler miktarı dar bir aralıkta olmasına ve sürekli kullanılmasına rağmen dengede kalmaktadır. Bu ise demir transportunun sıkı düzenlenmesi ile sağlanmaktadır (Şekil 2.2.1).

Plazma demir konsantrasyonunu sağlayan dokular ve hücrelere örnek verilecek olursa, temel demir kaynaklarından olan duodenal enterositler diyetle alınan demiri, hepatositler depo demirini, makrofajlar fagosite ettikleri eritrositlerden sağladıkları demiri ve plasental sinsityotroblastlar ise anneden aldıkları demiri fetüse verip plazma demir konsantrasyonuna göre sürekli demir ihtiyacını karşılamaktadırlar (4,32). Birçok farklı hücre demir alımı için farklı yol kullanmalarına rağmen, plazmaya demir salınımı için tek yol kullanılmaktadır. Duodenal eritrositler ferrik demir alımını *ferrik reduktaz* (duodenal sitokrom B) ve *divalent metal transporter-1* (DMT-1) sağlamaktadırlar. Heme ise heme taşıyıcıları ile diyetten alınmaktadır (81). Makrofajlar demiri fagosite ettikleri eritrositlerdeki hemoglobinden sağlarlar. Hepatositler, plaseenta hücreleri ve diğer organlar ise demiri transferrine bağlı demir ile karşılarlar. Buna karşın hücre sel demir salınımı duodenal hücrelerden, hepatositlerden, makrofajlardan ve plaseenta hücrelerinde bilinen tek yol olan demir taşıyıcısı ferroportin ile gerçekleştirirler (18). Plazma transferrine ferröz demir yüklenmeden önce ferooksidaz (hefastin veya seruloplazmin) ile ferrik forma çevrilir.

### **Hücre sel ve hücre dışı demir konsantrasyonunun düzenlenmesi**

Demir konsantrasyonu ve salınımı hücre sel ve sistemik düzeylere göre ayarlanmaktadır. Hücre içi demir konsantrasyonu iki demir regülatör proteinler tarafından düzenlenmektedir (IRP1 ve IRP2). Sitoplazmik demir azaldığı zaman, IRP'ler demir regülatör elementi (IRE) bağlanıp demir regülatör protein sentezi yapan mRNA'nın sentezine neden olurlar. IRP'ler 3'IRE'ların ucuna bağlanıp protein sentezine 5'IRE ucuna bağlanıp sentez inhibisyonuna neden olurlar. Transferrin reseptör, ferritin, DMT-1 ve ferroportin

sentezini sağlarlar. Son yapılan çalışmalarda plazmaya demir salınımının membran transporter ferroportin tarafından yapıldığı ve bunun da dolaşan peptid yapılı hormon olan hepsidin'in posttranslasyonel regülasyonu yoluyla sağladığı yönündedir (58). Hepsidin ferroportin yıkımına neden olduğu ve böylece plazmaya demir salınımına engel olduğu görüldü. Plazma hepsidin düzeyi ise sistemik demir konsantrasyonu ve anemi/hipoksi düzeyi ile ayarlanmaktadır.



Şekil 2.2.1: Demir mebolizmasında hepsidin'in rolü

Hepsidin'in veya onun reseptörü olan ferroportin'in disregülasyonu durumunda geniş spektrumlu demir hastalıklarına neden olmaktadır (29). Bir yandan enflamatuvar hastalıklarda ve enfeksiyon durumunda, sitokine bağlı olarak hepsidin miktarı artacak, yeterince demir olmasına rağmen hipoferremi ve anemi ile karakterize kronik hastalık anemisine neden olacaktır. Diğer yandan ise uygun olmayan miktarda hepsidin üretiminde hepsidin gen mutasyonlarına bağlı olarak gelişen azalmanın sonucunda da aşırı miktarda diyet demir emilimine ve vital organlarda demir birikimine neden olan birçok tipte herediter hemokromatozise neden olacaktır (14,19,69).

Hepsidin doğuştan immünitenin yeni bir mediatörüdür. Farklı vücut sıvılarının antimikrobiyal özelliklerinin çalışmaları sırasında Park isimli araştırmacı tarafından insan idrarından hepsidin adı verilen yeni bir peptid elde edildi. Karaciğerde sentez edilmesi nedeni ile “hep” adını, in vitro antimikrobiyal özelliği nedeniyle de “cidin” tanımı yapılmıştır (69).

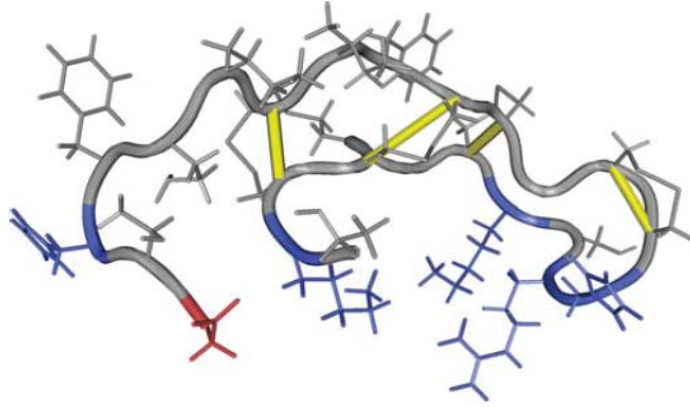
Hepsidin geni üç ekson içermekte ve bu da 84 aminoasit'ten oluşan, signal peptid ve karakteristik N-terminal matur biyoaktif bölümüde içeren preprohepsidini oluşturmaktadır (Şekil 2.2.2).



**Şekil 2.2.2:** 84 aminoasitten oluşan preprohepsidin.

Biyoaktif insan hepsidini 25 aminoasitten oluşmakta ve ilk defa insan idrar ve plazmasında tespit edilmiştir (40,69). Aslında insan idrarında tespit edilen hepsidin N-Terminal ucundan itibaren 20-22 aminositten oluşmakta ve bu da demir miktarını azaltan en önemli bölümü oluşturmaktadır. Bu kısımda 25 aminoasitlik bölümün parçalanmasından elde edildiği düşünülmektedir (55,75).

Kitle spektrometrik ve sirküler dikroizm spektroskopide 25 aminoasitten oluşan hepsidin 4 disülfid bağı ve bol miktarda *beta-sheet* içerdiği görülmektedir (69). Nükleer magnetik rezonans spektroskopisi ile saç tokası şeklindeki hepsidin içerdiği 3 disülfid bağı antiparalel tarafları stabillediği ve dördüncü disülfid bağı ise bitişik sistein (Cys) bağladığı gösterilmiştir (Şekil 2.2.3).



**Şekil 2.2.3:** Hepsidin nükleer magnetik rezonans görüntüsü.

Bu yüksek derece disülfid bağları hepsidin dolaşımında stabilizasyonunu sağlamakta fakat bu bağların kaldırılması ile de hepsidin in vitro demir düzenleyici etkisinin kaybolmadığı gösterilmiştir (55).

Antimikrobiyal ve antifungal etkinliğe de sahip olan hepsidin amfipatik yapıya sahiptir. Konveks taraftaki hidrofobik yapılar ve pozitif şarj olan konkav taraftaki yapı şekil 2.5’de gösterilmektedir. Bu özelliği daha çok in vitro hepsidin antimikrobiyal etkinliği gösterilmiştir (45). Antimikrobiyal etkinliği idrarda tespit edilen konsantrasyonu (10-30  $\mu\text{M}$ ) da oldukça güçlüdür. Hepsidin konsantrasyonu idrarda normal aralığı 3-30 nM ve ciddi enflamasyonlarda birkaç  $\mu\text{M}$  artmaktadır. Bununla beraber hepsidin plazma ve doku konsantrasyonu henüz tam olarak ölçülememiştir, bu nedenle antimikrobiyal aktivite ile ilgili daha geniş çalışmalara ihtiyaç vardır.

Demir düzenleyici aktiviteye sahip hepsidin diğer taraftan antimikrobiyal aktivite dozuna göre 100 kat daha düşük düzeyde etkili olduğu gösterilmiştir (58,75). Ek olarak antimikrobiyal aktiviteye hem 25 aminoasitlik hem de N-terminal uçtan itibaren 20 aminoasitlik bölümünde etkin olmasına karşın demir düzenleyici etkinliğe ise sadece tam 25 aminoasitlik hepsidin etkili olduğu belirtilmektedir. 5’ N-terminal ucundaki, ciddi delesyonlar hepsidin demir düzenleyici etkinliğini azaltmakta, öyle ki 20 aminoasitlik hepsidin in vivo ve in vitro olarak inaktiftir (55). Antimikrobiyal etkinliğe sahip hepsidin diğer canlıların hepsidin sekansları ile yakın benzerlik göstermektedir.

## **Hepsidin'in Demir Düzenleyici Aktivitesi**

Demir metabolizmasındaki hepsidin'in önemli rolü, hepsidin yetmezliği veya aşırı miktarda hepsidin üretimi görülen fare modellerinde tespit edilmiştir. Hepsidin eksikliği ilk defa *knock out*  retilen USF2 gen mutasyonu içeren fare modellerinde gösterilmiştir (60). Farelerde karaciğer dalak ve makrofajlardan zengin dalakta demir depositleri içeren aşırı demir birikimi geliştiği görülmüştür. Benzer birikim insanlarda görülen Herediter Hemokromatozise benzediği ve bundan da intestinal demir emilimini ve makrofajlardan demir salınımını engelleyen hepsidin'in rolü olduğu yönündedir. Bağımsız USF2 *Knock out* normal düzeyde hepsidin mRNA sentezleyen fare modellerinde demir metabolizmasında problem görülmemiŐ ve hepsidin eksikliği yüzünden demir aşırı birimi görülen tiplerle doğrulanmıştır (61). İnsanlarda hepsidin'in demir homeostazisinin sağlanmasında önemli rolü kanıtlanmıŐtır. Herediter Hemokromatozis'in en ağır formu olan Juvenil Hemokromatozis'li birkaç hastada hepsidin'in inaktive edici gen mutasyonları olduğu tespit edilmiştir (77). Tam tersine otonom hepsidin aşırı sentezleyen karaciğer tümörü gelişen nadir glukojen depo hastalığı olan bazı hastalarda ciddi demir eksikliği anemisi gelişmekte ve bu ancak tümör rezeksiyonu veya karaciğer transplantasyonu sonrası düzeldiği görülmüştür (90).

Hepsidin'in biyoaktif formu 25 aminoasitten oluşmaktadır ve makrofajlardan demir sirkülasyonunu, hepatik demir salınımını ve intestinal demir emilimini inhibe ederek sağlamaktadır (Şekil 2.2.2). Aslında 25 aminoasitlik sentetik (20 aa N-terminal uclu hepsidin hariç) hepsidin'in tek doz enjeksiyonu farelerde bir saat içinde derin hipoferremiye neden olmakta ve yaklaşık 72 saat etkisi sürmektedir (74).

### **2.2.1. Hepsidin Sentezinin Düzenlenmesi**

#### **Demir metabolizmasının düzenlenmesi**

Farelerde oral veya parenteral demir yüklenmesi hepatik hepsidin mRNA sentezini arttırmaktadır (56,71). İnsanlarda hatta tek doz oral demir (65 mg Demir sülfat) alımı sonrası birkaç saat içinde üriner hepsidin ekskresyonunda artış olmaktadır (56). Demir homeostazisi için hepsidin'in

indüksiyonu gereklidir, çünkü artmış plazma hepsidin'i daha fazla intestinal demir emilimini ve demir depolarından demirin salınımını inhibe etmektedir. Bununla beraber demirin düzenlenmesindeki mekanizması hala beklenmedik şekilde oldukça kompleksdir. Hepsidin'in ana kaynağı hepatositler olmasına rağmen demir sensörlerinin hepatositlerde olduğu gösterilen basit demir regülasyonu şemalarında hala kesin değildir. İn vitro olarak fare ve insan karaciğer hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarında demir-transferrin ve demirin diğer formlarının yüklenmesine rağmen hepsidin mRNA miktarında artış olmamıştır (30,60,71). Belki de en iyi sonuçlar demir yükünün artmasına rağmen hepsidin eksikliği görülen hastalarda ve farelerde gen çalışmaları ile gösterilen HFE, transferin reseptör-2 (TfR2) ve hemojuvelin (HJV) homozigot mutasyonları ile açıklanabilir ki bu moleküller ile demir bağlı hepsidin sentezinin düzenlenmesini sağlanmaktadır (2,9,33,36,54,57,63,68).

#### **Oksijen ve anemi ile ilişkisi**

Hepsidin üretimi anemi ve hipoksemi varlığında baskılanmaktadır. Farelerde kanama nedeniyle meydana gelen anemi varlığında hepsidin mRNA düzeylerinin düştüğü yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (8,25,43,62). Hepsidin mRNA düzeyleri hipobarik odada 2 gün kalan farelerde ve 30 gün %10 oksijen verilen fare çalışmalarında baskılandığı gösterilmiştir (45,62). Kan kaybı ve hipoksemi eritropoietin salınımına neden olmakta ve bu da eritrosit üretimini artırmaktadır. Hepsidin miktarının azalması adaptif bir cevap olarak gelişmektedir. Çünkü hepsidin azalması ile diyet demir emilimi artmakta, makrofaj ve karaciğerden demir salınımı ile eritrosit üretimi için gerekli olan demir sağlanmaktadır.

Demir metabolizmasının düzenlenmesinde önemli rol oynayan hepsidin, %2'lik oksijene 24 saat maruz kalınması durumunda hipoksiye cevap olarak hepsidin üretiminde rol oynayan HepG2 ve Hep3B karaciğer hücrelerinin rol oynadığı düşünülmektedir (62). Bununla beraber hipoksiye bağlı olarak hepsidin regülasyonun moleküler düzeydeki yolağı tam olarak bilinmemektedir. Hipoksi-indükleyen faktör (HIF)'ün hipoksiye adaptasyonel cevapta rol oynayan en önemli transkripsiyonel regülatuar gen olduğu düşünülmektedir (36). Hepsidin üretiminde rol oynayan HIF için hepsidin

promotor bağlayan bölgeler insanlarda tespit edilmesine rağmen diğer memeli hayvanlarda gösterilememiş ve oynadığı rol laboratuvar olarak test edilmemiştir. Hipoksiye bağlı olarak hepsidin regülasyonun anlaşılması, demir birikiminin ve kronik konjenital anemilerdeki anormal dağılımının tespitinde çok önemli rol oynayacağı kesindir.

### **Enflamasyon ile düzenlenmesi**

Enflamasyon ve enfeksiyon durumunda hepsidin sentezi anlamlı olarak artmaktadır (37,59,62). Bu etki enflamatuvar sitokinler özellikle de IL-6 aracılığı ile olmaktadır. Gönüllü insanlar üzerinde yapılan çalışmalarda IL-6 infüzyonundan 2 saat sonra üriner hepsidin atılımı 7,5 kat artmaktadır (56). In vitro olarak hepatositlere IL-6 uygulandığında, Lipopolisakkarit (LPS) veya peptidoglikan veya LPS- veya peptidoglikan ile stimule edilmiş makrofajlardan alınan supernatant kısımda hepsidin mRNA sentezinin artmış olduğu görüldü ve bunun da anti-IL-6 antikoları bloke edildiği yapılan çalışmada gösterilmiştir (56). IL-1 in vitro olarak hepsidin mRNA sentezini arttırdığı fakat in vitro insan ve fare karaciğer hücrelerine verilen anti-IL-6 antikoları ile bu etkinin kaybolduğu tespit edildi. Bunun nedeni olarak da IL-1'in IL-6 aracılığı ile etki gösterdiği düşünülmektedir (44). TNF- $\alpha$  diğer taraftan insan karaciğer hücrelerinde in vitro olarak hepsidin mRNA sentezini baskılamaktadır (56).

### **2.2.2. Hepsidin'in Etki Mekanizması**

#### **Ferroportin**

Hepsidin reseptörü olan ferroportin bilinen vertebralılardaki tek hücresel demir taşıyıcısıdır (1,17,51). Zebrafish ve farelerde yapılan çalışmalarda, ferroportin'in komplet yokluğu anneden embriyoya demir taşınmasını engelleyeceğinden bu durum embriyo için ölümcül olmaktadır (17,18). Plasental trofoblastlara ek olarak ferroportin demir dolaşımının düzenlenmesinde rol oynayan diğer tüm dokularda (duodenal enterositler, makrofajlar ve hepatositler) bulunmaktadır. Gerçekte selektif ferroportin *knock out* farelerde yapılan çalışmalarda, yeni doğan farelerde hızlıca diyet demir alımı bozulduğunda ciddi demir eksikliği gelişmektedir (18). İlaveten, hepatositlerin demir depolarından demir salınımı ve makrofajlardaki

resirkülasyona uğruyan demir salınımı bozulmaktadır. Bu çalışma demirin emiliminde, resirküle olmasında ve depolanmasında ferroportin'in çok önemli bir taşıyıcı olduğunu göstermektedir.

### **Hepsidin'in hücresel demir transportunu düzenlemesi**

Hepsidin etkisini direkt ferroportine bağlanarak göstermekte ve ferroportin'in hücre içerisine girerek lizozomlara bağlanmasını ve yıkımını sağlamaktadır.

Hepsidin direkt olarak hücre membranındaki ferroportin'in ekspresyonunu düzenlemektedir. Yapılan bir çalışma da;

- 1) Hepsidin direkt olarak ferroportin'e bağlanmakta,
- 2) Hepsidin'in bağlanması ile ferroportin hücre içine alındığı ve yıkıldığı,
- 3) Hücre membranından ferroportin'in kaybı ile hücresel demir transportunun tamamen ortadan kalktığı gösterilmiştir (39,58).

Hücre membranından ferroportin'in kaybı hücresel demir transportunun bozulmasına neden olur. Ferroportin'in dokulardaki dağılımı dikkate alındığında, hepsidin-ferroportin etkileşimi de demir regülasyonunun efferent kolunu etkilemektedir çünkü; bu etkileşim duodenumdan demir emilimine, makrofajlardan ve hepatositlerden demir salınımına etki edecektir. Demir depoları dolduğu zaman karaciğer intestinal dolaşıma salınan hepsidini sentezleyecektir. Bu salınan hepsidin enterositlerin bazolateral membranında yer alan ferroportine bağlanacak ve plazmada transferrine bağlanan diyet demirinin emiliminin engellenmesine neden olacaktır. Bir veya iki gün içinde kısa ömürlü enterositler intestinal sistemin içine düşecek ve demirin böylelikle vücuttan uzaklaştırılması sağlanacaktır. Demir depoları azalmış ise hepsidin üretimi baskılanır ve enterositlerin bazolateral membranındaki ferroportin ile demir plazma transferrine taşınacaktır. Benzer şekilde makrofajlar tarafından fagosite edilen yaşlı eritrositlerdeki demir de hepsidine bağlı ferroportin parçalanması sonucu dolaşıma verilecektir. Enflamasyon durumunda artan hepsidin miktarına bağlı olarak makrofajlardaki demir birikimi düşük plazma demir seviyesine rağmen artacaktır. İlaveten hepsidin'e bağlı olarak hücre membranındaki ferroportin'in

posttranslasyonel regülasyonu demir homeostazisine göre ferroportinin oranı da değişim gösterecektir. Gerçekte demir ve enflamasyon hepsidin'den bağımsız olarak ferroportin mRNA ekspresyonunu baskılamaktadır (15,26,46,47,51).

Hepsidin hücresel IRE/IRP sistemi üzerine indirekt etki göstermektedir. Demir salınımının baskılanması ile hepsidin intraselüler demir miktarının artmasına neden olur. Bu da transferrin reseptörü olan DMT1 içeren IRE'nin ekspresyonuna neden olarak diğer tam olarak belirlenememiş hücre içine alım mekanizmalarının (hem, nontransferrin demir) devreye girmesini sağlar.

### **Hepsidin'in Hipoferrinemi'ye neden olması**

Farelere hepsidin'in tek doz (50 µgr) enjeksiyonu sonrası serum demiri bir saat içinde hızlı bir cevapla hemen düşmektedir (75). Farelere turpentine enjeksiyonu da hepsidin mRNA ekspresyonunu arttırması nedeni ile serum demirini düşürmektedir (56,62). İnsanlarda hepsidin IL-6 infüzyonu sonrası artmakta ve saatler içinde serum demir miktarını %30 oranında ve transferrin saturasyonunu da azaltmaktadır (56). Benzer cevap gönüllüler üzerine yapılan LPS enjeksiyonu sonrasında da görülmektedir (37). Bütün bunların sonucunda hepsidin enflamasyonda hipoferrininin temel mediatörü ve nedeni ve bu mekanizmada da IL-6 kritik rol oynamaktadır. Bu demek değil ki diğer sitokinler hepsidin düzenlenmesinde rol oynamıyorlar. Elbette diğer alternatif yollar olmasına rağmen insanlar ve farelerde bu yollar farklı olması nedeni ile çözülmeyi bekleyen problemler olarak kalmaktadır (44).

Neden hipoferrinemi bu kadar hızlı gelişmektedir? Plazma transferrin kompartmanı 3 mg kadar demir içermektedir. Transport olan günlük dolaşımdaki demir miktarı ise 20 mg kadardır ve büyük kısmı parçalanmış eritrositlerden sağlanmaktadır. Bundan dolayı plazma demiri günde 3-4 kez sirküle olmaktadır. Hepsidin demir sirkülasyonunu komple bloke ettiği zaman plazma demiri bir saat içinde %25 azalmaktadır. Bu durumda IL-6 infüzyonu yapılan sağlıklı gönüllüler üzerinde gösterilmiştir. Enflamasyonda gelişen anlamlı derecedeki hipoferrinemi'nin nedeni savunma mekanizması olarak enfekte olan patojenlerin demir kullanımını engellemek için olduğu düşünülmektedir (34,89). Bununla beraber enfeksiyon durumunda

hipoferreminin olması anlamlı fakat hepsidin'in buradaki etkisi sadece deneysel olarak doğrulanmıştır.

### **Klinik Potansiyel (Tanı ve Tedavi)**

Temel olarak hepsidin uygulamasının, Herediter Hemokromatozis'in birçok tipinde etkili olacağı beklentisi vardır. Sentetik hepsidin'in HFE Hemokromatozisli farelere akut uygulanması sonrasında hızlıca serum demiri azaldığı ve etkinin de en az 84 saat kadar sürdüğü gözlenmiştir (75). Burada ayrıca tedavi için hepsidin'in sık aralıklarla uygulanmasına gerek kalmadığı da söylenebilir. Talasemili hastalarda, hemokromatozisli gibi kan alınması tedavi için bir seçenek olmamaktadır. Fakat talasemililer de artmış intestinal demir emiliminin engellenmesi için hepsidin kullanılması yeni bir tedavi seçeneği olabilir. Özellikle de transfüzyona ihtiyaç duyulmayan intermedia grubunda daha da önem teşkil edecektir (72).

### **2.3. Akciğer Tüberkülozu**

*The World Health Organization* (WHO)'ya göre dünya nüfusunun 1/3'ü mikobakterium tüberkülozis ile enfektedir. Enfekte olanların birçoğunda latent enfeksiyon devam etmektedir. Dünyada her yıl 8 milyon insanda tüberküloz hastalığı gelişmekte ve yaklaşık 3 milyon kişi bu hastalıktan ölmektedir. Bunların %95'ten fazlası geri kalmış ve gelişmekte olan ülkelerdedir. Bu ülkelerde enfekte olan erişkinlerin oranı yaklaşık %30-60 dolaylarındadır. Hastalık 5 yaş üzerindeki enfeksiyona bağlı ölümlerde ilk sırayı almaktadır. Tüberküloz kontrolunda, WHO'nun önerilerinden en önemlisi kısa süreli gözetim altında kısa süreli tedavi(Directly Observed Therapy = DOTS) dir (21,94). Enfeksiyon hızının ülkemizde % 1'in altında olduğu, hasta sayısının 30/100.000 dolaylarında bulunduğu tahmin edilmektedir.

### **Tüberküloz enfeksiyonu ve hastalığı nasıl gelişir?**

Bazı insanlarda doğal immunité ile basiller yok edilirler (23). Bunlarda bulaşmaya rağmen primer enfeksiyon gelişmez (6). Hastalığa duyarlılıkta çeşitli faktörler örneğin vitamin D geni etkilidir. *25-hydroxycholecalciferol* yetmezliği tüberküloza risk oluşturmaktadır (75,76) Basilin antijenlerine karşı gelişen, Th1 ve Th2 cevabında IL-2, IL-8, IL-12 gibi sitokinler, ve birçok mediyatörün henüz net olarak açıklanamamış önemli fonksiyonları

bulunmaktadır. Sonuçta hastalık tablosunda, tüberküloz basiline karşı gelişen granülomatoz lezyonda makrofajlar, dev hücreler, T hücreleri, B hücreleri ve fibroblastlar yer alır. Bu şekilde hastalık kontrol edilmeye çalışılır. Enfekte hücreler sitotoksik yanıtla veya fagolizozomal füzyonla basiller ortadan kaldırılabılır. Fagozom-lizozom birleşimini önleyen, hücre içinde nitrojen metabolitleri, reaktif oksijen bileşikleri ve bakterisidal enzimlere karşı superoksit dismutaz gibi basili koruyan faktörler, hücre duvarındaki toksik lipidler, *isocitrate lyase* gibi dormant pozisyona geçişi sağlayan enzimler ve bilinmeyen başka faktörler, tüberküloz basiline virulansını tayin ederler (13).

#### **Akciğer tüberkülozunun tanısı:**

- Hastalık belirti ve bulguları,
- Radyolojik görüntüleme yöntemlerindeki anormallikler,
- Elde edilen vücut salgı ve sıvılarında veya dokularında basilin gösterilmesi ve üretilmesi,
- Dokulardan alınan örneklerde tüberkülozla uyumlu enflamasyonun varlığı, ve içerisinde basilin gösterilmesi, ile tanı konulabilir.

#### **Hastalık belirti ve bulguları:**

Sık görülen belirtilerden birisi (%40-80) ateştir. Genellikle düşük derecelerde (*low grade fever*-subfebril ateş) akşamları yükselerek seyreder ve orantısız olarak çok fazla terleme bulunur. Normal bulunabileceği gibi zıt olarak yüksek derecelerde ateşle seyredebilir. Hatta sebebi bilinmeyen ateş varlığında tüberküloz öncelikli tanılar arasında düşünülmelidir. En fazla karşılaşılan kronik hastalık tablosudur. Sık rastlanan belirtiler halsizlik, dermansızlık, iştahsızlık ve kilo kaybıdır. Böyle bir klinik tablonun 3 haftadan uzun sürdüğü hastalarda tüberküloz mutlaka düşünülmelidir. Düzensiz menstrüasyon, eritema nodosum nadir olarak gelişebilir. Artmış eritrosit sedimentasyon hızı ve ferritin, anemi, nötrofillerle hafif lökositoz, lenfopeni, trombositoz, hipoalbuminemi ve hiponatremi saptanabilir.

### **Pulmoner belirtiler;**

Öksürük en sık rastlanan belirtidir. Hastaları çok rahatsız etmez, bazan çevrenin dikkatini çeker. Başlangıçta non-produktiftir. Balgam bronşiyektazi olmadıkça fazla değildir. Önceden eski tüberküloz sekeli ve/veya bronşiyektazisi bulunmayanlarda balgama eşlik eden hemoptizi genellikle aktif hastalığın göstergesidir. Hemoptizi aktif hastalık ve bronşiyektazi dışında kavite içine yerleşmiş fungal infeksiyon özellikle aspergillus'a ait miçetoma, nadiren kavite duvarında dilate damarların (Rasmussen anevrizması) rüptürüne bağlı olabilir. Plevraya komşu lezyonlar göğüs ağrısı ve/veya göğüste rahatsızlık hissi yaratabilir. Yaygın hastalık olmadıkça nefes darlığı altta bulunan başka bir hastalığa veya masif plevral effüzyona bağlıdır.

### **Bakteriyolojik inceleme:**

Tüberküloz tanısının esası bakteriyolojik incelemeye dayanır. Akciğer tüberkülozunda, pahalı olmayan, kolay ve klinik radyolojik bulguların desteklediği hastalarda kesine yakın olasılıkla tanı veren yöntem balgam yaymasının mikroskopik incelemesidir. Balgam yaymasının mikroskopik incelenmesi pozitif hastalarda erken tanı, erken tedavi hastalığın kontrolünde çok önemlidir. Yayma hızlı, çabuk ve kolay yöntem olmasına karşın, hastaların büyük bölümünde negatiftir ve spesifitesi düşüktür (85). Alınan balgam dahil örneklerden yapılan klasik kültür tanıyı kesinleştirdiği gibi ilaç direnci için de kullanılır. En az 3 en fazla 6 balgam örneği alınmalıdır. Balgam veremeyenlerde % 3-15 'lik hipertonic tuzlu su aerosol şeklinde nebülizatörle inhale ettirilerek örnek alınabilir. Çocuklarda gastrik aspirasyon erişkinlerde bronş lavajı, transbronşiyal biyopsi yapılabilir. Biyopsilerde kazeifiye granülomatoz iltihap ve özellikle boyama ile içinde basillerin gösterilmesi tanı için çok değerlidir. Bütün bu örneklerden, direkt olarak boyama ile basil aranmalı ve kültür yapılmalıdır. Dokular dışındaki balgam gibi örneklerde basilin görülebilmesi için milimetreküpte ez az 5000-10.000 basil bulunmalıdır. Kesin tanı kültürde basilin üretilmesiyledir. Ancak üreme ortalama 6 haftada gerçekleşir. Kültürle ilaçlara direnç durumu saptanabilir.

### **Akciğer tüberkülozunda tedavi:**

Tüberküloz basili, aktif hastalığı olanlarda, değişik popülasyonlar halinde bulunur. Metabolizmalarına göre aktif olanlar, dormant halinde ve bunlar arasında değişen şekilde olabilir. Basillerin bol miktarda bulunduğu aktif inflamasyon alanı ve hücre sitoplazmasında pH asittir. Aktif hastalıkta basillerin doğal olarak  $1/10^{6-8}$  'i bir ilaca mutant olarak dirençlidir. Aktif hastalıkta 2 ilaca mutant yoldan doğal direnç, çok zayıf olasılıktır.

İzoniazid (H) aktif bölünen basillere, rifampisin (R) metabolizmasını değiştiren basillere, pirazinamid (Z) asit ortamda ve hücre içindeki basillere etkilidir. Direnç olmadığı durumlarda bu 3 ilaçla aktif hastalıktaki basiller en kısa sürede tedavi sağlanır. Diğer ilaçların eklenmesi tedavi süresini kısaltmaz, temel ilaçlara direnç olduğunda yararlı olurlar. Uzun yıllardan beri tedavi rejimlerine H,R ve Z'e alternatif, onların etkilerine sahip yerlerine kullanılabilecek yeni ilaç eklenmemiştir. 3 ilaç dışında kalan ilaçlar ethambutol (E), streptomisin (S), rifabutin, sikloserin, siprofloksasin, ofloksasin, moksifloksasin, gatifloksasin, etyonamid, protiyonamid, tiasetazon, para amino salisilik asit (PAS), klofazimin, amikasin, kapreomisin'dir. Mikobakteriyum tüberkülozisin genom sıralaması bulunduktan sonra yeni aşılarla, yeni ilaçlar gündeme gelecektir.

Çocuk, kemik, eklem ve meninks tüberkülozlarında süre 12 aya uzatılabilir. Diğerlerinde ise 6 aydır. HIV pozitiflerde tedavi cevabı yakından takip edilmelidir. Gebelerde H, R, E güvenli, Z için yeterli deneyim yoktur. Renal yetmezliği olanlarda S kullanılmamalı, E dozu ayarlanarak verilmelidir. Renal yetmezlikle diyaliz yapılanlarda ilaçların klerensi değişmektedir. H direnci olanlarda alternatif rejim R, Z, E'le 12 aydır. Z kullanılmayan rejimlerde R+H'le tedavi 9 aydır. R' ne izole direnç nadirdir fakat varsa H, E, Z'le tedavi süresi 18 aydır. R, H direnci olanların, çoklu ilaç direnci (MDR) tedavileri mutlak izole edilerek, hastanede gözlem altında yapılmalıdır. Direnç olasılığı az olan en az 5 ilaç kombinasyonu ile tedavi rejimi uygulanmalıdır. MDR'lılarda gerektiğinde cerrahi rezeksiyon yapılabilir. İlaçlara direnç yetersiz rejimlerle ve düzensiz kullanımlarla gelişmektedir (70).

### III-GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışma Ocak - Haziran 2007 tarihleri arasında GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Servisinde yatarak tedavi gören, yaşları 19 ile 30 arasında değişmekte olan aktif akciğer tüberkülozlu toplam 40 erkek olgu üzerinde yapıldı. Hasta grubu ile benzer yaş ve cins özelliklerine sahip 15 sağlıklı gönüllü kontrol grubunu oluşturdu. Hasta gruptaki olguların yaş ortalaması  $21.72 \pm 2.48$  yıl; kontrol grubundaki olguların yaş ortalaması  $22.60 \pm 1.88$  yıldır. Tüm olguların yaş ortalaması ise  $21.96 \pm 2.35$  yıldır.

Çalışma için GATA Ankara Etik Kurulu'ndan onay alındı, her hasta ve kontrol olgusundan bilgilendirilmiş onam formu alındı. Çalışmanın proje, olgu dizaynı, özel testlerin gerçekleştirilmesi GATA Haydarpaşa Hematoloji Servisi'nde takip edildi. Çalışmaya alınan olguların genel bilgileri ve aktif akciğer tüberkülozunun gelişimi ayrıntılı olarak kayıt edildi.

Hastalar tedaviye başlamadan önce tam kan, sedim, C-Reaktif protein (CRP), serum demiri (SD), serum demiri bağlama kapasitesi (SDBK), ferritin, vitamin B12, Aspartat transaminaz (AST), Alanin transaminaz (ALT) için periferik venöz kan alındı. Alınan venöz kandan 10 cc serum örneği - 20°C'de saklanarak prohepsidin düzeyi topluca çalışıldı. Hasta grubunda tedavi başlamasından 5 (beş) ay sonra prohepsidin ve diğer test parametreleri tekrarlandı. Kontrol grubuna da aynı test parametreleri uygulandı ve prohepsidin ölçümü için periferik venöz kan alındı.

Hastaların hepsi balgam yayma pozitif akciğer tüberkülozlu ve daha önce tedavi almamış hastalardı. Hastalara tedavi olarak başlangıçta klasik 4'lü akciğer tüberkülozu tedavisi verildi. 2 ay boyunca İzoniazid (H) 100 mg 1x3 tablet (tb), Rifampisin 300 mg 1x2 kapsül (kap), Morfazinamid 500 mg 1x6 tb ve Ethambutol 500 mg 1x3 tb ve takip eden 4 ay da, sadece INH 100 mg 1x2 tb ve Rifampisin 300 mg 1x2 kap. tedavisi verildi. Tedavi sonrası hastaların balgam incelemesi yapıldı ve hepsinde yayma negatif olduğu saptandı. Hastaların hepsinin tedaviden fayda gördüğü ve uygulanan protokole göre altıncı ayın sonunda tedavinin tamamlanmasına karar verildi.

Çalışmanın tamamlanması ile toplanan örnekler GATA Hardarpaşa Eğitim Hastanesi Hematoloji ve Mikrobiyoloji servislerince ELİSA yöntemiyle Prohepsidin düzeyi çalışıldı. Hepsidin ölçümü *Hepcidin Prohormone ELISA (Solid Phase Enzyme-Linked Immunosorbent Assay )* test kit'i kullanılarak yapıldı. Toplanan örnekler (10cc) serum tüplerine alındı ve 4 °C'de 2500 devir/10 dak. santrifüje edildi. Hazırlanan serumlar, 200 µl tavşan antihepsidin antikoru EG(2)-HepN ile kaplanmış 96'lık Elisa kuyucuklarına alındı ve 40 mM Tris HCl (pH 7,3), 100 mM NaCl içeren 1/4000 *Tris buffered salin* solusyonu ile dilüe edildi (41). Standartlar (50 µl) değişik miktarda sentetik peptid (0, 20 ,100, 500 ve 1000 ng/ml) veya insan serum örnekleri ve 150 µl *N -Terminal biotinylated hepsidin-[28-47] (Peptide Specialty Laboratories GmbH, Heidelberg, Germany)*. Her Elisa kuyucuğuna (2 ng/kuyucuk) eklendi ve oda ısısında bir saat inkübasyona bırakıldı. TBST (TBS ile %0,05 *Tween 20*) ile yıkandıktan sonra biotinylated antijen-antikor kompleksleri, streptavin-peroksidaz enzimi (*Dako, Hamburg, Germany*) ve tetrametilbenzidin substratı ile tespit edildi (*DRG Instruments GmbH, Marburg, Germany*). Renk reaksiyonu 1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ile durduruldu ve reaksiyonun sonlandırılmasından sonra solusyonlar 450/630 nm dalga boyunda okundu.

### **3.1. Çalışma Dışlama Kriterleri :**

- a. Vücut kitle endeksi > 40 kg/m<sup>2</sup>
- b. Hipertansiyon ve Diyabetes Mellitus olan hastalar
- c. Tüberküloz tanısı nedeniyle daha önce tedavi alan hastalar
- d. Ekstrapulmoner tüberkülozlu hastalar (Tüberküloz lenfadenit, kemik tüberkülozu)
- e. Herhangi bir kronik enflamatuvar-otoimmün hastalığı mevcut hastalar (kronik osteomyelit, kronik karaciğer hastalığı, kronik böbrek yetmezliği, malignite, SLE ,...)
- f. Yoğun alkol, yarım paket/gün'den fazla sigara kullanım hikayesi
- g. Tıbbi tedavi gerektiren psikiyatrik hastalığı bulunanlar
- h. Kognitif fonksiyonları bozuk olan hastalar
- ı. Çalışmayı kabul ettiğini gösterir yazılı belge imzalamayan hastalar

### 3.2. Araştırmanın Olanakları :

Çalışmaya alınan hastalar, GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Göğüs Hastalıkları ve Tüberküloz Servisinde yatarak tedavi gören hastalardır. Çalışma için kullanılan test parametreleri, GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi (HEH) Biyokimya ve Mikrobiyoloji Servisleri'nin imkanları kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Prohepsidin kiti, serbest piyasadan 1000 Amerikan Doları karşılığı temin edilmiştir. Prohepsidin düzeyi, mevcut kit kullanılarak GATA HEH Mikrobiyoloji laboratuvarında ELİSA yöntemiyle saptanmıştır.

### 3.3. İstatistik:

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (*Statistical Package for Social Sciences*) for Windows 13.0 programı kullanıldı. Çalışma verileri değerlendirilirken tanımlayıcı istatistiksel metodların (Ortalama, Standart sapma) yanısıra niceliksel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım gösteren parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında Student-t testi ve normal dağılım göstermeyen parametrelerin gruplar arası karşılaştırmalarında *Mann Whitney-U* test kullanıldı. Normal dağılım gösteren parametrelerin grup içi karşılaştırmalarında *Paired Sample-t Test*, normal dağılım göstermeyen parametrelerin grup içi karşılaştırmalarında ise *Wilcoxon işaret testi* kullanıldı. Prohepsidin, Sedimantasyon ve CRP arasında *Pearson* korelasyon testi uygulandı. Sonuçlar % 95'lik güven aralığında, anlamlılık  $p < 0,05$  düzeyinde değerlendirildi.

## IV- BULGULAR

**Tablo 4.1:** Çalışma Grubu Olgularına Ait Tedavi Öncesi Veriler

Olgu no	Ad-soyad	Yaş (Yıl)	Prohepsidin (ng/ml)	Serum demir (µg/dl)	SDBK (µg/dl)	Ferritin (ng/ml)	Vitamin B12 (pg/ml)	Sedim (mm/saat)	CRP (mg/L)	AST (U/L)	ALT (U/L)
1	SC	20	764,37	21	176	291	648	69	17	33	32
2	RÜ	28	673,61	30	336	168	360	48	17	28	26
3	AL	19	914,46	71	491	70	452	12	02	32	35
4	YV	22	710,26	86	296	161	251	76	03	27	25
5	AS	20	644,06	68	368	49	258	14	02	31	20
6	CP	20	725,82	23	312	208	330	85	48	34	51
7	HD	20	697,04	63	312	239	496	77	42	40	38
8	SY	21	611,16	38	330	949	662	168	30	28	24
9	CH	23	712,48	30	343	56	910	78	42	31	18
10	GP	20	642,86	15	246	278	282	81	36	46	54
11	SB	24	643,18	59	352	13	240	76	24	36	42
12	ÖB	21	670,08	54	313	14	218	91	38	46	09
13	UT	25	672,58	69	345	94	871	62	26	30	17
14	NZ	27	618,36	222	324	23	282	71	18	83	43
15	AO	20	664,84	32	367	239	475	28	06	24	14
16	MAE	20	701,08	39	232	55	474	46	16	28	14
17	NÖ	20	682,28	55	228	580	676	112	54	20	05
18	NZ	21	717,24	77	385	94	374	24	12	36	87
19	SÖ	21	654,42	49	451	229	464	105	158	24	25
20	ŞK	21	617,38	36	374	116	323	08	02	35	21
21	SA	20	810,56	298	497	151	649	45	08	51	44
22	FÇ	20	693,46	26	323	102	445	55	16	45	28
23	ME	23	722,78	61	403	108	295	48	12	36	38
24	FK	20	657,64	83	205	1.013	369	38	06	26	36
25	AY	24	606,46	10	219	203	719	78	24	30	56
26	İA	20	530,12	16	120	2.000	165	78	28	44	42
27	AA	21	542,26	24	336	603	595	87	26	58	29
28	FY	22	747,94	11	260	180	484	38	06	10	15
29	FNH	19	487,42	20	229	334	388	78	26	27	23
30	ÖS	20	706,15	137	349	95	385	77	16	23	27
31	BP	20	638,23	85	251	58	301	06	03	37	23
32	NA	21	678,64	150	460	45	313	17	09	21	06
33	SSA	21	491,49	19	245	173	839	72	18	38	32
34	FN	30	449,17	31	324	150	425	08	03	22	22
35	Tİ	21	495,09	114	397	14	366	03	04	16	18
36	SH	23	548,11	117	400	170	308	62	16	22	28
37	CP	24	557,35	47	314	375	688	68	12	22	25
38	ÖT	25	535,24	05	224	180	317	30	07	26	19
39	RA	21	675,64	50	395	71	295	18	06	24	14
40	TP	21	681,86	212	434	506	664	38	09	36	38

**Tablo 4.2: Çalışma Grubu Olgularına Ait 5. Ayın Verileri**

<i>Olgu no</i>	<i>Ad-soyad</i>	<i>Yaş (Yıl)</i>	<i>Prohepsidin (ng/ml)</i>	<i>Serum demir (µg/dl)</i>	<i>SDBK (µg/dl)</i>	<i>Ferritin (ng/ml)</i>	<i>Vitamin B12 (pg/ml)</i>	<i>Sedim (mm/saat)</i>	<i>CRP (mg/L)</i>	<i>AST (U/L)</i>	<i>ALT (U/L)</i>
1	HK	20	716,26	84	217	206	465	26	10	48	56
2	RÜ	28	534,36	39	236	94	330	24	10	46	44
3	AA	19	647,24	86	227	43	389	10	04	44	46
4	YV	22	631,78	185	249	43	221	18	07	38	47
5	AS	20	587,52	85	227	246	466	12	02	67	73
6	CP	20	680,67	62	336	120	308	28	07	46	48
7	HD	20	661,84	119	304	38	284	24	06	48	52
8	SY	21	635,21	55	464	27	395	16	03	36	42
9	CH	23	607,42	40	360	77	868	26	06	46	38
10	GÇ	20	690,34	35	180	452	539	34	12	67	80
11	SB	24	485,16	66	273	154	260	18	03	40	44
12	ÖB	21	598,26	69	278	11	216	46	16	42	54
13	UT	25	517,11	85	229	67	658	46	16	48	46
14	NZ	27	711,24	240	365	23	252	32	12	96	58
15	AO	20	688,18	56	383	45	348	10	03	40	39
16	MAE	20	546,34	56	286	14	506	22	10	36	38
17	NÖ	20	448,30	109	426	118	586	36	12	36	34
18	NZ	21	533,22	46	317	97	406	16	04	60	62
19	SÖ	21	611,24	33	327	282	342	36	07	38	42
20	ŞK	21	561,45	106	383	17	247	12	04	46	38
21	SA	20	557,73	05	310	31	286	14	04	38	62
22	FÇ	20	711,12	33	440	120	267	21	07	52	54
23	ME	23	645,39	152	471	16	208	16	04	40	60
24	FK	20	735,27	22	396	50	377	26	05	46	47
25	AY	24	520,16	14	199	87	469	22	06	39	64
26	İA	20	498,64	52	314	88	863	18	04	77	69
27	AA	21	585,69	50	243	59	191	16	02	66	46
28	FY	22	719,16	107	302	158	577	12	03	32	44
29	FNM	19	498,74	48	476	239	406	26	04	48	56
30	ÖS	20	726,64	146	373	97	376	19	05	57	55
31	HO	20	611,09	106	346	87	368	16	07	49	52
32	NA	21	532,16	85	221	70	406	16	03	32	32
33	SSA	21	727,52	29	328	102	626	26	07	52	48
34	FN	30	618,24	66	273	109	486	12	04	38	42
35	Tİ	21	407,42	68	402	78	408	12	04	45	47
36	EA	23	536,31	30	343	109	410	28	07	34	48
37	CP	24	709,36	85	227	109	698	37	09	48	46
38	ÖT	25	582,25	31	374	87	248	26	06	40	44
39	RA	21	689,16	71	380	74	378	20	06	34	54
40	EB	21	659,48	98	341	502	636	28	07	40	62

**Tablo 4.3: Çalışma Grubu Olgularına Ait Tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası  
5.Ayın Verileri**

<i>Olgu no</i>	<i>Ad-Soyad</i>	<i>WBC (x10<sup>3</sup>/μl)</i>	<i>Hb (gr/dl)</i>	<i>Htc(%)</i>	<i>MCV(fl)</i>	<i>Plt (x10<sup>3</sup>/μl)</i>	<i>WBC(5) (x10<sup>3</sup>/μl)</i>	<i>Hb(5) (gr/dl)</i>	<i>Htc(5) (%)</i>	<i>MCV(5) (fl)</i>	<i>Plt(5) (x10<sup>3</sup>/μl)</i>
1	HK	7,4	10,4	32,3	75,2	372	7,4	11,2	35,6	81,3	412
2	RÜ	15,3	12	36,4	66,8	477	9,6	13,3	38,2	86,4	368
3	AA	10,6	12,2	37,2	74,8	217	11,2	14,2	42,2	83,2	233
4	YV	6,2	8,8	30,6	79,1	234	5,6	15,6	38,6	81,7	227
5	AS	7,4	11,2	34,8	64,6	148	7,4	15,1	42,4	90,4	192
6	CP	13,2	12,4	38,1	75,2	361	8,4	13,4	40,6	86,6	207
7	HD	9,8	11,8	34,6	67,8	358	7,2	14	46,2	91,2	214
8	SY	10,2	13,1	39	72,6	401	7,6	14,2	45,4	86,3	286
9	CH	9,8	12,2	37	70,8	336	8,5	12,3	35,8	80,5	326
10	GÇ	7,6	12	36	79,6	337	8,2	11,3	35,6	78,4	298
11	SB	14,2	11,8	34,2	85,2	228	8,1	16,6	46,2	97,6	217
12	ÖB	10,7	10,6	30,8	76,2	523	7,4	12,2	33,8	77,8	546
13	UT	10,9	9,6	28,8	82,2	325	10,2	12,8	36,6	83,9	218
14	NZ	9,8	11	34	80,8	310	7,6	11,7	34,8	80,4	276
15	AO	12,8	10,8	34,6	80,1	208	10,2	12,2	41,2	78,8	186
16	MAE	16,5	12	35,8	84,2	185	10,6	13,2	36,8	80,6	206
17	NÖ	14,7	10	31,8	72,1	500	11,5	12,6	32,6	78,4	468
18	NZ	17,2	12,6	37,8	71,3	294	7,1	13,8	39,4	80,6	318
19	SÖ	15,1	10	32,4	77,2	603	10,6	14,2	42,2	83,8	239
20	ŞK	9,5	11,6	34,6	71,6	278	6,4	16,2	45,6	86,6	339
21	SA	12,4	13	38,2	78,6	342	8,4	14	38,4	86,4	321
22	FÇ	11,1	11	34	73,5	494	9,2	14,2	39,8	78,4	385
23	ME	9,8	13,6	38	86,2	257	6,7	16,4	46	92,6	198
24	FK	10,8	10,4	34,8	85,3	187	10,3	16,8	45,2	82,5	210
25	AY	14,6	10	31	73,4	596	7,8	11,4	33,8	76,2	498
26	İA	18,1	9,4	27	86,2	309	11,2	10,4	32,8	83,8	279
27	AA	9,4	8,2	26	77,2	484	8,6	16,2	46,4	87,6	345
28	FY	16,4	10	32,6	84,2	577	9,1	13,6	38,4	83,4	488
29	FNM	10,6	12	34,3	82,2	408	8,7	13,4	36,8	82,8	398
30	ÖS	13,2	12,2	34	76,9	376	9,4	12,2	35,6	78,7	356
31	HO	8,7	11,8	34,7	81,1	252	6,4	15,2	42,6	78,9	186
32	NA	11,4	12,6	36,4	83,2	267	10,8	15,4	42,8	81,5	316
33	SSA	11,9	12	35,6	74,6	318	11,6	11,8	35,6	82,4	298
34	FN	8,6	10,6	33,4	69,9	215	8,6	14,2	39,2	83,6	312
35	Tİ	14,8	9,6	28,7	68,3	175	7,9	14,4	42,2	80,4	210
36	EA	12,4	11	34	70,2	328	9,8	12,8	35,8	83,5	340
37	CP	10,8	8,6	29,6	78,2	320	6,5	16,2	46,4	94,6	256
38	ÖT	14,1	10,4	32,5	80,7	280	6,4	12,8	40,8	90,2	248
39	RA	9,2	11,6	34,8	82,2	187	7,2	13,6	38,2	80,8	230
40	EB	9,4	11,4	34	69,2	200	7,6	13,4	34,8	72,4	217

**Tablo 4.4:** Kontrol Grubu Olgularına Ait Veriler

<i>Olgu no</i>	<i>Ad-Soyad</i>	<i>Yaş (Yıl)</i>	<i>Prohepsidin (ng/ml)</i>	<i>Serum demir (µg/dl)</i>	<i>SDBK (µg/dl)</i>	<i>Ferritin (ng/ml)</i>	<i>Vitamin B12 (pg/ml)</i>	<i>Sedim (mm/saat)</i>	<i>CRP (mg/L)</i>	<i>AST (U/L)</i>	<i>ALT (U/L)</i>
1	AT	22	313,86	66	307	23	371	08	02	28	24
2	MD	24	410,08	104	466	49	348	16	04	14	26
3	LG	23	370,64	89	437	88	475	18	04	26	30
4	FT	22	585,86	46	397	13	354	16	04	27	30
5	SG	21	449,74	160	312	29	559	18	04	36	40
6	SA	21	602,80	173	388	22	328	16	04	18	26
7	İP	21	483,50	95	338	25	316	08	02	28	36
8	KÖ	26	366,40	59	346	10	360	08	02	16	18
9	FY	23	323,14	86	386	10	209	16	04	26	30
10	BÖ	24	499,08	161	408	58	358	16	04	17	15
11	AK	26	292,16	46	317	36	298	10	03	26	24
12	MG	24	450,24	50	248	77	308	14	04	18	22
13	MS	20	285,12	36	236	56	478	08	02	16	12
14	RS	21	396,76	66	273	29	576	16	04	28	32
15	TS	21	385,24	92	293	118	603	12	04	28	32

**Tablo 4.5:** Kontrol Grubu Olgularına Ait Veriler

<i>Olgu no</i>	<i>Ad-Soyad</i>	<i>WBC (x10<sup>3</sup>/µl)</i>	<i>Hb (gr/dl)</i>	<i>Htc(%)</i>	<i>MCV(fl)</i>	<i>Plt (x10<sup>3</sup>/µl)</i>
1	AT	7,5	15,2	43,4	91,6	150
2	MD	10,2	15,4	48,2	93,5	320
3	LG	9,3	17,2	50,4	87,4	225
4	FT	8,2	16,2	49,4	90,8	244
5	SG	6,4	16,4	47,8	89,7	263
6	SA	5,8	16,6	48,8	90,6	185
7	İP	5,3	15,8	48,4	93,4	220
8	KÖ	5,2	15,4	48,2	93,6	229
9	FY	7,9	14,8	43,6	96,1	252
10	BÖ	5,2	15,4	45,4	91,1	264
11	AK	7,8	14,8	41,6	83,5	224
12	MG	5,6	15,2	42,4	86,7	241
13	MS	9,8	16,4	44,8	86,9	205
14	RS	5,1	14,8	39,8	84,3	241
15	TS	9,2	16,2	45,6	91,4	205

Çalışma Ocak-Haziran 2007 tarihleri arasında GATA Haydarpaşa Eğitim Hastanesi Hematoloji ile Tüberküloz ve Göğüs Hastalıkları Servislerinde yaşları 19 ile 30 arasında değişmekte olan toplam 40 erkek olgu ve 15 sağlıklı erkek kontrol grubu üzerinde yapılmıştır. Olgular “Hasta” (n=40) ve “Kontrol” (n=15) olmak üzere iki grup altında incelenmiştir.

Hasta grubunun tedavi öncesi hemoglobin (Hb) değerleri  $11,13 \pm 1,28$  gr/dl, tedavi sonrası  $13,71 \pm 1,64$  gr/dl ve kontrol grubunun Hb değeri ise  $15,72 \pm 0,74$  gr/dl bulunmuştur. Yapılan istatistiksel incelemede tedavi öncesi ve sonrası Hb değerleri arasındaki fark anlamlıdır ( $p<0,05$ ;  $t:7,824$ ). Hastaların tedavi öncesi ve 5. ayda tedavi sonrası Lökosit (WBC), Hb, Hematokrit (Htc), Ortalama eritrosit hacmi (MCV) ve Platelet (Plt) sayımı arasındaki ilişki istatistiksel olarak incelendi.

**Tablo 4.6:** Hasta grubunun kan sayımı yönünden başlangıç ve 5. ay değerlerinin karşılaştırılması

	Tedavi öncesi		5.ay Tedavi sonrası		Test ist.; p
	Ort.	SD	Ort.	SD	
<b>WBC (<math>\times 10^3/\mu\text{l}</math>)</b>	11,66	2,92	8,57	1,61	<b>t:7,463; p:0,001*</b>
<b>Hb (gr/dl)</b>	11,13	1,28	13,71	1,64	<b>t:7,824; p:0,001</b>
<b>Htc(%)</b>	33,86	3,06	39,53	4,26	<b>t:-7,362; p:0,001</b>
<b>MCV(fl)</b>	76,71	5,89	83,38	5,15	<b>t:-5,703; p:0,001*</b>
<b>Plt (<math>\times 10^3/\mu\text{l}</math>)</b>	331,67	122,05	296,67	93,49	<b>t:2,723; p:0,1</b>

t: Student t testi \*  $p<0.05$  düzeyinde anlamlı

Lökosit (WBC), Hb, Hematokrit (Htc), Ortalama eritrosit hacmi (MCV) ve Platelet (Plt)

**Tablo 4.7:** Hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırılması

	Kontrol Grubu		Hasta Grup		Test ist.; p
	Ort.	SD	Ort.	SD	
<b>Prohepsidin(ng/ml)</b>	414,02	98,03	649,37	92,80	<b>t:-8,251; p:0,001**</b>
<b>Serum Demir(µg/dl)</b>	88,60	44,35	66,32	62,61	<b>t:1,261; p:0,213</b>
<b>Serum Demir Bağlama Kapasitesi (µg/dl)</b>	410,13	259,97	324,15	85,92	<b>Z:-1,143; p:0,253</b>
<b>Ferritin(ng/ml)</b>	42,87	31,61	261,41	362,50	<b>Z:-4,082; p:0,001**</b>
<b>Vit B12(pg/ml)</b>	413,92	122,25	476,40	216,22	<b>t:-0,952; p:0,346</b>
<b>Sedim(mm/saat)</b>	13,33	3,90	56,87	34,56	<b>Z:-4,221; p:0,001**</b>
<b>CRP(mg/L)</b>	3,40	0,91	21,19	26,07	<b>Z:-4,257; p:0,001**</b>
<b>AST(U/L)</b>	23,47	6,40	32,65	12,70	<b>t:-2,666; p:0,010*</b>
<b>ALT(U/L)</b>	26,47	7,64	29,07	15,62	<b>t:-0,617; p:0,540</b>

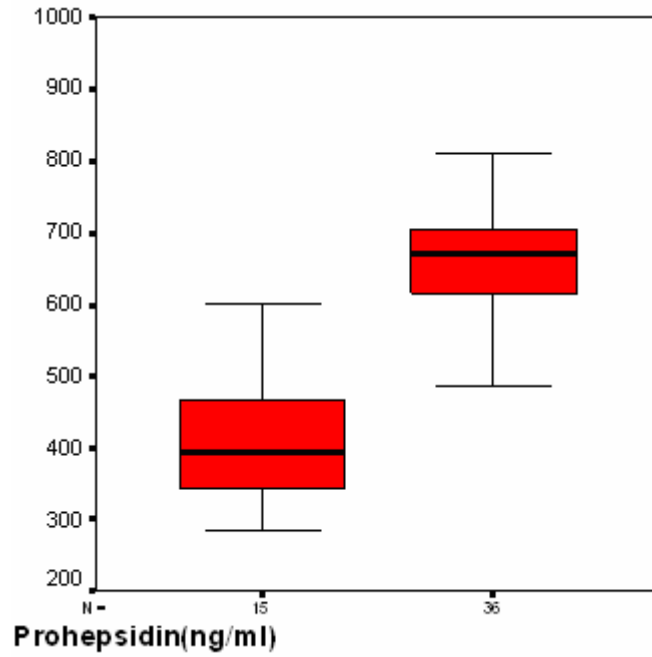
t: Student t testi

Z: Mann Whitney U Testi

\* p&lt;0.05 düzeyinde anlamlı

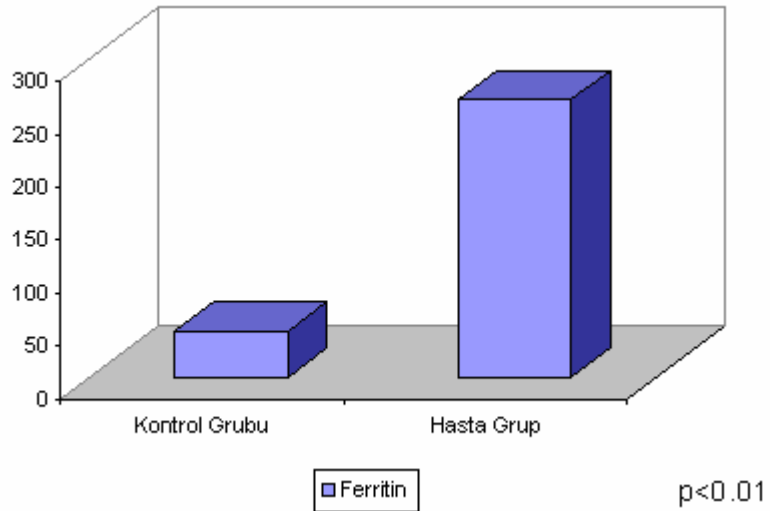
\*\* p&lt;0.01 ileri düzeyde anlamlı

Hasta grubun prohepsidin düzeyi, kontrol grubunun prohepsidin düzeyinden istatistiksel olarak anlamlı yüksektir (p<0,01). Serum demir düzeyine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0,05). Hasta grubun AST düzeyi, kontrol grubunun AST düzeyinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksektir (p<0,05). ALT düzeyine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır (p>0,05).



**Şekil 4.1:** Hasta ve Kontrol gruplarında prohepsidin düzeyi dağılımı(p<0,01)

Serum demir bağlama kapasitesine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ). Hasta grubun ferritin düzeyi, kontrol grubunun ferritin düzeyinden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yüksektir ( $p<0,01$ ).



**Şekil 4.2:** Hasta ve Kontrol gruplarında ferritin düzeyi grafiği(p<0,01)

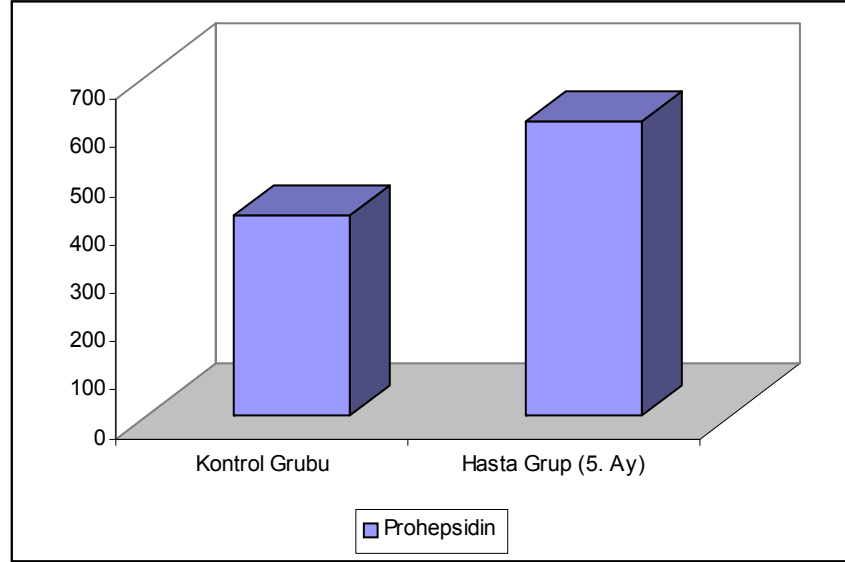
Vit B12 düzeyine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ). Hasta grubun sedim düzeyi, kontrol grubunun sedim düzeyinden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yüksektir ( $p<0,01$ ). Hasta grubun CRP düzeyi, kontrol grubunun CRP düzeyinden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yüksektir ( $p<0,01$ ).

**Tablo 4.8:** Hasta grubunun 5. ay ile Kontrol grubu değerlerinin karşılaştırılması

	Kontrol Grubu		Hasta Grup (5. ay)		Test ist.; p
	Ort.	SD	Ort.	SD	
<b>Prohepsidin(ng/ml)</b>	414,02	98,03	609,19	88,06	<b>t:-7,041; p:0,001**</b>
<b>Serum Demir(<math>\mu</math>g/dl)</b>	88,60	44,35	73,85	47,19	<b>t:1,049; p:0,299</b>
<b>Serum Demir Bağlama Kapasitesi (<math>\mu</math>g/dl)</b>	410,13	259,97	320,65	79,07	<b>Z:-1,474; p:0,140</b>
<b>Ferritin(ng/ml)</b>	42,87	31,61	111,02	106,22	<b>Z:-3,100; p:0,002**</b>
<b>Vit B12(pg/ml)</b>	413,92	122,25	419,25	167,87	<b>t:-0,102; p:0,919</b>
<b>Sedim(mm/saat)</b>	13,33	3,90	22,57	9,25	<b>Z:-3,617; p:0,001**</b>
<b>CRP(mg/L)</b>	3,40	0,91	6,45	3,51	<b>Z:-3,418; p:0,001**</b>
<b>AST(U/L)</b>	23,47	6,40	48,97	13,59	<b>t:-6,889; p:0,001**</b>
<b>ALT(U/L)</b>	26,47	7,64	49,15	11,05	<b>t:-7,167; p:0,001**</b>

t: Student t testi Z: Mann Whitney U Testi\*\*  $p<0.01$  ileri düzeyde anlamlı, CRP: C-Reaktif protein, AST: Aspartat transaminaz , ALT: Alanin transaminaz

Hasta grubunun 5. aydaki prohepsidin düzeyi, kontrol grubunun prohepsidin düzeyinden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yüksektir ( $p<0,01$ ).



**Şekil 4.3:** Beşinci ay Hasta ve Kontrol gruplarında prohepsidin düzeyi grafiği ( $p<0,01$ )

Beşinci aydaki serum demir ve serum demir bağlama kapasitesi düzeyine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ). Hasta grubun 5. aydaki ferritin düzeyi, kontrol grubunun ferritin düzeyinden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yüksektir ( $p<0,01$ ).

Beşinci aydaki Vit B12 düzeyine göre gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmamaktadır ( $p>0,05$ ). Hasta grubun 5. aydaki sedim düzeyi, kontrol grubunun sedim düzeyinden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yüksektir ( $p<0,01$ ). Hasta grubun 5. aydaki CRP, AST ve ALT düzeyi kontrol grubunun CRP, AST ve ALT düzeyinden istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlı yüksektir ( $p<0,01$ ).

Başlangıç prohepsidin düzeyine göre 5. ay prohepsidin düzeyinde görülen düşüş istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlıdır ( $p<0,01$ ).

**Tablo 4.9:** Hasta grubunun başlangıç ve 5. ay değerlerinin karşılaştırılması

	Hasta Grup				Test ist.; p
	Başlangıç		5. ay		
	Ort.	SD	Ort.	SD	
Prohepsidin(ng/ml)	649,37	92,80	609,19	88,06	<b>t:2,843;</b> <b>p:0,007**</b>
Serum Demir(µg/dl)	66,32	62,61	73,85	47,19	<b>t:-0,722;</b> <b>p:0,475</b>
Serum Demir Bağlama Kapasitesi (µg/dl)	324,15	85,92	320,65	79,07	<b>Z:-0,249;</b> <b>p:0,804</b>
Ferritin(ng/ml)	261,41	362,50	111,02	106,22	<b>Z:-3,159;</b> <b>p:0,002**</b>
Vit B12(pg/ml)	476,40	216,22	419,25	167,87	<b>t:2,502;</b> <b>p:0,017*</b>
Sedim(mm/saat)	56,87	34,56	22,57	9,25	<b>Z:-5,048;</b> <b>p:0,001**</b>
CRP(mg/L)	21,19	26,07	6,45	3,51	<b>Z:-4,784;</b> <b>p:0,001**</b>
AST(U/L)	32,65	12,70	48,97	13,59	<b>t:-11,095;</b> <b>p:0,001**</b>
ALT(U/L)	29,07	15,62	49,15	11,05	<b>t:-8,613;</b> <b>p:0,001**</b>

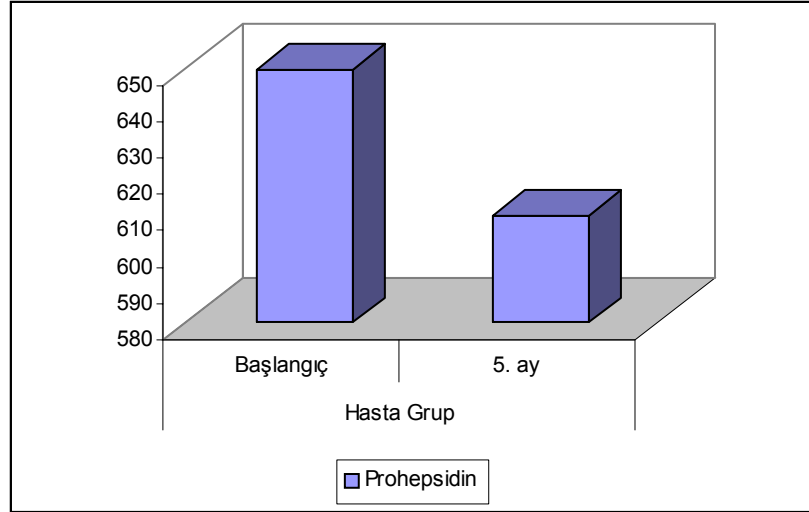
t: Paired sample t testi

Z: Wilcoxon işaret testi

\* p<0.05 düzeyinde anlamlı

\*\* p<0.01 ileri düzeyde anlamlı

CRP: C-Reaktif protein, AST: Aspartat transaminaz , ALT: Alanin transaminaz



**Şekil 4.4:** Hasta Grupta tedavi öncesi ve sonrası beşinci aydaki Prohepsidin düzeyleri değişim grafiği( $p<0,01$ )

Başlangıç serum demir ve serum demir bağlama kapasitesi düzeyine göre 5. ay serum demir düzeyinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişim görülmemiştir ( $p>0,05$ ).

Başlangıç ferritin düzeyine göre 5. ay ferritin ve vit B12 düzeyinde görülen düşüş istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlıdır ( $p<0,01$ ).

Başlangıç sedim düzeyine göre 5. ay sedim düzeyinde görülen düşüş istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlıdır ( $p<0,01$ ). Başlangıç CRP düzeyine göre 5. ay CRP düzeyinde görülen düşüş istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlıdır ( $p<0,01$ ).

Başlangıç AST ve ALT düzeyine göre 5. ay AST ve ALT düzeyinde görülen artış istatistiksel olarak ileri düzeyde anlamlıdır ( $p<0,01$ ).

Hasta grubu ile kontrol grubu akut faz yanıtı yönünden sedimantasyonu ve CRP düzeyleri karşılaştırıldığında prohepsidin gibi artmış oldukları tespit edildi.

**Tablo 4.10:** Hasta ve kontrol gruplarının sedimantasyon karşılaştırılması  
( $p < 0,05$ )

		Kontrol	Hasta
Sedim (mm/saat)	r	0,99	0,483
	p	0,0001	0,002

**Tablo 4.11:** Hasta ve kontrol gruplarının karşılaştırılması ( $p < 0,05$ )

		Kontrol	Hasta
CRP (mg/L)	r	0,99	0,241
	p	0,0001	0,134

**Tablo 4.12:** Tedavi öncesi ve sonrasında Prohepsidin düzeyi ile Sedimantasyon ve CRP arasındaki korelasyon. ( $p < 0,05$ )

		Sedim(mm/saat)	CRP(mg/L)
Prohepsidin(ng/ml)	r	0,130	0,085
	p	0,085	0,616

Çalışmamızda tedavi öncesi ve 5.ay sonrası prohepsidin değişim oranı ile sedimantasyon ve CRP'deki değişim oranı arasında korelasyon uygunladığında prohepsidin'in düzeyinin tedavi sonrası azaldığı fakat sedimantasyon ve CRP ile aralarında korelasyon olmadığı saptandı. Ancak sedimantasyon ve CRP arasında korelasyon uygulandığında ise tedavi öncesi ve sonrasındaki değişim oranları arasında istatistiksel olarak korelasyon olduğu saptandı.

## V-TARTIŞMA ve SONUÇ

Kronik hastalık anemisinin patofizyolojisi anlaşıldıkça, demir homeostazisindeki bozulmalar, eritroid öncüllerinin bozulmuş proliferasyonu, eritropoietine cevapsızlık gibi durumlarda yeni tedavi stratejilerinin gerekli olduğu üzerinde durulmuştur. Demir eksikliği anemisinden herediter hemokromatoza kadar uzanan yelpazede altta yatan hastalıkların, demir absorpsiyonu ve demir kaybı arasındaki dengesizliğin temel nedeni klinisyenlerce uzun yıllardır inceleme konusu olmuştur. Akciğer tüberkülozu da ciddi bir enflamasyona yol açan, aynı zamanda sıkça anemiye neden olan (demir eksikliği veya enflamasyon anemisi) bir enfeksiyon hastalığıdır. Literatür taramamızda, akciğer tüberkülozu ile ilişkili anemide prohepsidin ölçümünü inceleyen bir çalışmaya rastlamadık.

Bizim çalışmamızda aktif akciğer tüberkülozlu hastalarda serum prohepsidin düzeyi sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Ayrıca hasta grubunda tedavinin 5. ay prohepsidin düzeyi kontrol grubuna göre ( $p<0.001$ ) ve tedavi öncesi düzeyine göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur. Bulgularımız, akciğer tüberkülozunda prohepsidin düzeyinin arttığını, tedavinin 5. ayı sonunda azalmakla birlikte sağlıklı kontrollere göre yine de yüksek seyrettiğini göstermiştir. Diğer taraftan SD ve SDBK düzeylerinin hasta grubu tedavi öncesi veya tedavi sonrası değerleri ile kontrol grubu arasında istatistiksel anlamlı fark olmaması, aktif akciğer tüberkülozunda demir eksikliği anemisinden çok, kronik hastalık anemisi veya diğer adıyla enflamasyon anemisinin etkin olduğunu göstermektedir.

Oğuz ve ark.'larının 2006 yılında yayınlanan bir çalışmasında enflamatuar bir hastalık olarak değerlendirilen koroner aterosklerozda prohepsidin düzeyi ELİSA yöntemiyle ölçülerek sağlıklı kontrollerle aynı bulunurken, romatoid artritli kontrol grubunda prohepsidin düzeyi sağlıklı kontrol ve hasta grubuna göre yüksek bulunmuştur ( $p=0.001$ ) (66). Bu bulgular enflamatuar bir belirteç olduğu bildirilen hepsidin düzeyinin koroner aterosklerozda yüksek olabileceği hipotezini desteklemediği şeklinde değerlendirilmiştir. Ancak çalışmada hastalıklı kontrol grubunu oluşturan

romatoid artritli hastalarda aktivite durumunun ne olduğu bildirilmemiştir. Remisyonda olmayan (aktivasyon gösteren) romatoid artritli olgularda enflamasyon daha fazla olacağından prohepsidin düzeyinin yüksek olması beklenebilecek bir durumdur. Çalışma sonuçlarında hasta grubu, sağlıklı kontrol grubu ve romatoid artritli grup arasında bir akut faz reaktanı olan ferritin düzeyinin istatistiksel anlamlı fark olmaması, romatoid artritli hastaların remisyonda olduğunu düşündürebilir. Bizim sonuçlarımızda belirgin bir enflamatuar hastalık olan aktif akciğer tüberkülozunda serum prohepsidin düzeyi sağlıklı kontrollere göre yüksektir. Bu sonucumuz Oğuz ve arkadaşlarının çalışmasındaki romatoid artritli kontrol grubunun sonuçları ile uyumludur.

Malyszko ve ark.'larının 2006 yılında yayınlanan bir çalışmasında, koroner arter hastalığı olan ve olmayan böbrek trasplantasyonu alıcılarında bir akut faz proteini ve enflamasyon belirteci olarak serum hepsidin düzeyi ölçümü yapılmıştır (49). Çalışma gruplarındaki hepsidin düzeyleri bilinen diğer enflamasyon belirteçleri olan, ferritin, lökosit, high sensitive CRP (hsCRP), IL-6, TNF $\alpha$  ve solubl transferin reseptörü (sTFR) gibi parametrelerle karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada koroner arter hastalığı olan grup, olmayan gruba göre daha yüksek yaş, yüksek hepsidin, hsCRP, IL-6, TNF $\alpha$ , sTFR ve ferritin düzeyine sahip olduğu görülmüştür. Böbrek transplant alıcılarında değerlerin tek değişkenli analizinde serum hepsidin düzeyi, total protein, ferritin, transplant sonrası süre, kreatinin, glomerüler filtrasyon oranı (GFR), kolesterol, nötrofil sayısı, hsCRP ve IL-6 düzeyi ile anlamlı korelasyon göstermiştir. TNF $\alpha$  ile ise zayıf korelasyon göstermiştir. Çoklu regresyon analizinde hepsidin, GFR, kolesterol ve hsCRP ile bağımsız olarak ilişki göstermiştir. Yazarlar bu sonuçları, böbrek transplant alıcılarında artmış hepsidin düzeyinin sadece böbrek fonksiyon bozukluğuna bağlanamayacağını, aynı zamanda hepsidin'in hsCRP, IL-6 ve ferritin ile korelasyon gösteren düşük yoğunluklu enflamasyon durumunu yansıtacağı şeklinde yorumlamışlardır. Bizim çalışmamızda da hasta grupta kontrol grubuna göre yüksek prohepsidin, ferritin, sedimantasyon ve CRP değerleri saptanmıştır. Enflamasyon belirteci olan bu parametrelerin yüksekliği literatür

bilgisi ile uyumludur. Prohepsidin'in diğer enflamasyon belirteçleri ile korelasyonuna bakıldığında ferritin ile korele olduğu çalışmamızda saptanmıştır. CRP ve sedimantasyon düzeylerinde, tedavi öncesi ve sonrası yapılan incelemelerde yine yüksek olduğu ve tedavi ile gerilediği görülmüştür. Prohepsidin düzeyinin de tedavi ile azaldığı ancak CRP ve sedimantasyon ile korelasyon göstermediği saptanmıştır. Bunun nedeni tedavi sonrası değerlendirmemizin 5. ayda olması ve laboratuvar değerlerinin normale dönmesi için 5 aylık sürenin yeterli olmayacağı şeklinde değerlendirilebilir. Çalışmamızda IL-6 ve TNF $\alpha$  gibi parametreler kontrol edilmediğinden literatür bilgisi ile karşılaştıramıyoruz. Ancak çalışma grubumuzun Malyszko ve ark.'larının çalışma grubundan oldukça farklı olduğunu, bizim çalışma grubumuzda böbrek yetmezliği olan hastaların dışlama kriteri olduğunu göz önünde bulundurmak gerekir.

Cucuianu ve ark.'larının 2006 yılında yayınlanan bir hipotez yazısında multipl myelom (MM) hastalarının yaklaşık %80'inde anemi saptandığını, IL-6 düzeyinin MM hastalarında sürviyi gösteren önemli bir belirteç olduğunu, kronik hastalık anemisinde hepsidin düzeyinin önemli bir belirteç olduğunu, bunun yanında hepsidin düzeyinin bir enflamasyon belirteci olarak IL-6 düzeyi ile yüksek korelasyon gösterdiğinin bilindiğini, şimdiye kadar MM hastalarında hepsidin düzeyini araştıran bir çalışma yapılmadığını, muhtemelen MM hastalarındaki aneminin patogenezinde hepsidin düzeyinin önemli bir rolü olabileceğini, ancak henüz böyle bir çalışmanın yapılmamış olduğunu vurgulayarak, araştırmacıların bu konuya ilgisini çekmek istemişlerdir (11). Bizim çalışmamızda solid ya da hematolojik malignite mevcudiyeti dışlama kriteri olduğundan, MM hastalarında hepsidin düzeyinin ölçümü ayrı bir çalışma konusu olarak görülmelidir.

Dallalio ve ark.'larının 2003 yılında yayınlanan bir çalışmada demir durumu ve ferritin düzeyi için ölçüm yapılan 55 hasta ve anemi nedeniyle kemik iliği yapılması düşünülen 37 hastada serum hepsidin düzeyleri *western blot* yöntemiyle ölçülmüştür (12). Her iki grupta da hepsidin düzeyi, ferritin düzeyi ile yüksek korelasyon gösterirken, diğer demir durumunu gösteren laboratuvar parametreleri veya anemi tanısıyla korelasyon göstermemiştir.

Yazarlar bu sonuçları değerlendirirken, literatür bilgisine göre üriner hepsidin ölçümünün önemli olması kadar klinik tanıya bakılmaksızın kronik hastalık anemisinde hepsidin ölçümünün önemine vurgu yapmışlardır. Bizim çalışmamızda da anemili hastalar olmasına karşın, hepsidin düzeyi SD veya SDBK düzeyi ile değil, ferritin düzeyi ile korelasyon göstermiştir. Bu sonuçlarımız literatür ile uyumludur.

Ohtake ve ark.'larının 2007 yılında yayınlanan bir çalışmasında 47 alkolik karaciğer hastası ile 9 sağlıklı gönüllüde ELİSA yöntemiyle serum prohepsidin düzeyi ölçümü yapılmıştır (67). Alkolik karaciğer hastalarında serum prohepsidin düzeyi sağlıklı kontrollere göre anlamlı olarak düşük bulunmuştur ( $p<0.001$ ). Buna karşılık hasta grupta sağlıklı kontrol grubuna göre ALT ( $p=0.003$ ), Gamaglutamil transaminaz (GGT) ( $p<0.001$ ) ve ferritin ( $p<0.001$ ) düzeyleri yüksek bulunmuştur. Yazarlar bu sonuçları, alkolün karaciğerde hepsidin üretiminde baskılamaya, buna karşın barsakta demir emiliminin artışına yol açtığı şeklinde yorumlamışlardır. Bizim çalışmamızda yoğun alkol kullanımı ve kronik karaciğer hastalığı varlığının dışlama kriterleri olduğu dikkate alınmalıdır.

Malyszko ve ark.'larının 2006 yılında yayınlanan bir başka çalışmasında, konservatif tedavi alan 33 kronik böbrek yetmezliği hastası, hemodiyaliz uygulanan 104 hasta, böbrek transplantasyonu yapılmış 70 hasta ve 30 sağlıklı gönüllüde hepsidin düzeyi, demir durumu ve böbrek fonksiyonları incelenmiştir (50). Çalışma sonucunda her üç hasta grubunda ferritin ve hepsidin düzeyi kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur. Çoklu regresyon analizinde hemodiyaliz hastalarında hepsidin düzeyi bağımsız olarak kreatinin, trigliserit ve rezidüel renal fonksiyon ile ilişkili bulunmuştur. Çoklu regresyon analizinde böbrek transplant alıcılarında ise hepsidin düzeyi bağımsız olarak GFR ve ferritin ile ilişkili bulunmuştur. Yazarlar her üç hasta grubundaki hepsidin düzeyi yüksekliğini düşük dereceli enflamasyon ve renal fonksiyon bozukluğuyla ilişkili olduğu şeklinde yorumlamışlardır. Bizim çalışma grubumuzda kronik böbrek yetmezliği varlığı bir dışlama kriteridir.

Detivaud ve ark.'larının 2005 yılında yayınlanan bir çalışmasında karaciğer tümörü veya karaciğer transplantasyonu yapılan 36 hastadan

alınan karaciğer dokusunda demir yükü, idrar hepsidin düzeyi, karaciğer hepsidin mRNA düzeyi, hemoglobin düzeyi ve karaciğer fonksiyonları değerlendirilmiştir (16). Hemakromatozlu hastalar çalışmadan dışlanmıştır. Çalışmada idrar hepsidin düzeyi karaciğer hepsidin mRNA konsantrasyonu ile güçlü korelasyon gösterdiği saptanmıştır. Çalışma sonuçlarına göre hepsidin düzeyleri, hepatik demir yükü, hemoglobin düzeyi ve hepatik disfonksiyonla korelasyon gösterdiği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda kronik karaciğer hastaları ve maligniteli hastaların çalışmadan dışlandığı dikkate alınmalıdır.

Kulaksız ve arkadaşlarının 2005 yılında yayınlanan bir çalışmasında hipernefroma nedeniyle nefrektomi yapılan 5 olgu ve karaciğer metastazı nedeniyle sağ hepatektomi yapılan 7 olgu ile yapılan bir çalışmada hepsidin'in sadece karaciğerde değil böbrekte de üretildiğini göstermişlerdir (42). Çalışma sonucunda böbreğin sadece hepsidin eliminasyonu değil, aynı zamanda tubül epiteli ve kanal hücrelerinde hepsidin üretimi olduğunu göstermişlerdir. İdrar hepsidin düzeyinin artıp-artmamasında, hepsidin eliminasyonu kadar böbrekten üretilip tubül lümenine salınan hepsidin de rolünün olduğu belirtilmiştir. Bizim çalışmamızda maligniteli hastaların çalışmadan dışlandığı dikkate alınmalıdır.

Oğuz ve ark.'larının çalışma sonuçlarına göre subklinik bir enflamatuar hastalık olan koroner aterosklerozda idrarla hepsidin kaybının olabileceğini, belirgin enflamasyonun görüldüğü romatoid artrit gibi hastalıklarda ise serum hepsidin düzeylerinin çok artmasının beklenebileceğini, ancak idrar hepsidin düzeyi ölçümünün yapılmamış olmasının, çalışmanın eksik bir yönü olduğunu vurgulamışlardır (66). Bizim çalışmamızda da idrar hepsidin düzeyi ölçümünün yapılmamış olması çalışmanın eksik bir yönü olarak değerlendirilecek olsa da, hasta grubunda sağlıklı kontrollere göre anlamlı yüksek bulunması, idrar hepsidin ölçümü yapılmaması eksikliğinin önemini azaltmaktadır.

Türken ve ark.'larının 2002 yılında yayınlanan çalışmasında, aktif akciğer tuberkülozlu 45 hasta ve 20 sağlıklı kontrol grubunda , tüberküloza bağlı olarak gelişen hemostatik değişiklikler araştırılmış (87). Gelişen

enflamasyona bağlı olarak monosit ve makrofajların aktive olmasıyla akut faz yanıtı olarak interlökinlerin üretiminde artış olduğu ve bunun sonucunda da hepatik disfonksiyonun ve hemostatik bozuklukların geliştiği tespit edilmiştir. Aktif akciğer tüberkülozu olan hastalara tüberküloz tedavisi başlanmış ve bir ay takip edilmiştir. Hastalarda tedavi öncesi anemi, lökositoz, trombositoz, fibrinojen, faktör VIII ve Plazminojen aktivatör inhibitör 1 düzeylerinde artış, antitrombin III ve protein C düzeylerinde ise azalma tespit edilmiş. Bir aylık tedavi sonrasında ise; anemi, lökositoz ve trombositozun düzeldiği, fibrinojen ve faktör VIII düzeyinin normale indiği ve protein C ve antitrombin III'ün normal düzeylere çıktığı, plazminojen aktivatör inhibitör 1 düzeyinde ise değişiklik olmadığı tespit edilmiş. Aktive protein C rezistansı tespit edilmemiştir. Platelet agregasyon testlerinde ise platelet aktivasyonunun arttığı fakat hiçbir vakada derin ven trombozu tespit edilmemiştir. Çalışma sonucunda azalmış antitrombin III, protein C ve artmış plazma fibrinojen düzeyinin ve artmış platelet agregasyonunun sonucunda aktif akciğer tüberkülozlu hastalarda hiperkoagülasyon durumunun olduğu ve bunun da tedavi ile düzeldiği tespit edilmiş. Buna neden olan temel nedenin ise enflamasyona bağlı olarak gelişen akut faz yanıtının sonucu olduğu düşünölmüştür. Bizim çalışmamızda da tedavi öncesinde yine aneminin, lökositozun ve artmış Prohepsidin, Sedimantasyon ve CRP düzeyinin varlığı yine aynı şekilde enflamasyona bağlı olarak gelişen akut faz yanıtını düşöndürmektedir. Çalışmamızda da tedavi sonrasında aneminin düzeldiği, CRP ve Sedimantasyon düzeylerinin düştüğü ve tedavi öncesi değerle karşılaştırılınca Prohepsidin düzeyinin anlamlı ölçüde düştüğü tespit edilmiştir. Bu nedenle aktif akciğer tüberkülozlu hastalarda gelişen aneminin nedeni olarak demir eksikliği anemisinden ziyade temel nedenin gelişen akut faz yanıtına bağlı olarak enflamatuvar aneminin ön planda olduğu görüşümüzü desteklemektedir.

Çalışmamızdaki aktif akciğer tüberkülozunda olduğu gibi enfeksiyon sırasında, mikroorganizmalar konağı enfekte edebilmeleri için kendi metabolik ihtiyacı nedeniyle demire gereksinim duymaktadırlar. Özellikle de respiratuvar sitokromlar gibi gerekli moleküllerin sentezinde kullanılmaktadırlar.

Omurgalı hayvanlar mikroorganizmaları enfeksiyon sırasında demirden mahrum bırakmak için birçok mekanizma geliştirmişlerdir. Bazı durumlarda demiri mikroorganizmalardan uzak tutmak için özel demir taşıyıcıları geliştirmişlerdir. Lökositler ve epitelyal hücreler laktoferrin üreterek demiri sekestre edip plazmada taşıyan transporter ve transferrin üretirler. Makrofajların fagositik vakuelleri DMT içerirler. Nramp 1, duodenal demir transporter DMT 1'in (Nramp 2) homolog varyantıdır. Nramp 1 fagosite edilen vakuoldeki mikroorganizmanın veya parazitik ajanın demir kullanımını engeller (23). Son yapılan çalışmalarda yine, nötrofiller ve bazı epitelyal hücreler tarafından üretilen lipocalin (sidercalin) ise, bazı bakterilerin demir alımında kullandıkları küçük organik molekül olan bakteriyel sideroforları bağlayarak demir kullanmalarını engellenmektedir (21).

Çalışmamızda tedavi öncesi ve 5.ay sonrası prohepsidin değişim oranı ile sedimantasyon ve CRP'deki değişim oranı arasında korelasyon uyguladığında prohepsidin düzeyinin tedavi sonrası azaldığı fakat sedimantasyon ve CRP ile aralarında korelasyon yönünden istatistiksel olarak fark olmadığı tespit edildi. Ayrıca sedimantasyon ve CRP arasında korelasyon uyguladığında ise tedavi öncesi ve sonrasındaki değişim oranları arasında istatistiksel olarak korelasyon olduğu tespit edildi. Prohepsidin düzeyinin azalmasına rağmen enflamatuar belirteçler ile aralarında istatistiksel olarak fark olmamasının nedeni aslında tedavinin halen devam ettiği, aralarındaki korelasyonun ise ancak klasik akciğer tübekülozu tedavisinin sonlandırıldığı 9. ayın sonunda veya tedavinin birinci yılında serum prohepsidin düzeyinin bakılması ile istatistiksel olarak değişimin korele olabileceği şeklinde düşünülmektedir. Bu nedenle tedavi öncesi ve sonrası bir yıllık takibin olacağı, enflamatuar belirteçleride ( TNF- $\alpha$ , IL-6, Sedimantasyon, CRP, hsCRP gibi...) içeren bir çalışma planlanabilir.

Özet olarak bu lokalize mekanizmalar ile plazma demir konsantrasyonu azaltılmakta ve sistemik enfeksiyona karşı savunma sağlanmaktadır. Genel olarak bu tür enfeksiyonlara hemokromatozuların daha duyarlı olması bu görüşü desteklemektedir (95). Son yapılan çalışmalarda gelişen hipoferreminin artmış sitokin aracılı olarak hepsidin

salınımına neden olduğu bunun da duodenal ve makrofajlardaki ferroportinin yıkımına neden olduğu görülmektedir (56,59,62). Sonuç olarak makrofajlarda sirküle olan demir ve duodenal enterositlerden emilen demir plazmaya verilememekte ve hücrelerin sitoplazmalarında sekestre olmaktadır. Çalışmamızda olduğu gibi akciğer tüberkülozu gibi enfeksiyonlarda da uzamış dönemde bu da kronik hastalık anemisine neden olmaktadır.

Ogawa ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, tüberkülin negatif sağlıklılarda, tüberkülin pozitif sağlıklılarda ve tüberkülin pozitif aktif akciğer tüberkülozu olan hastalarında Elisa yöntemiyle IL-6 ve TNF- $\alpha$  düzeyleri çalışılmıştır (65). Tüberkülin testi için purifiye protein derivesi (PPD) 0,05  $\mu$ g intradermal olarak uygulanmış ve 48 saat sonra 10 mm büyük endürasyon gösterenler pozitif kabul edilmiş. Çalışmanın sonunda tüberkülin pozitif sağlıklılar ile tüberkülin pozitif aktif akciğer tüberkülozu olan hasta gruplarında IL-6 ve TNF- $\alpha$  düzeylerinin, tüberkülin negatif sağlıklılara göre yüksek olduğunu tespit etmişlerdir. Bizim çalışmamızda da serum prohepsidin düzeyini, sağlıklı kontrol grubuna göre hem tedavi öncesi hem de tedavi sonrası yüksek olduğunu tespit ettik. Ancak tedavi öncesi ve sonrası serum prohepsidin düzeyi arasındaki fark da istatistiksel olarak anlamlı idi. Aktif akciğer tüberkülozunda tedavi süresi oldukça uzun olduğu için, tedavinin 5. ayında serum prohepsidin düzeyini ölçmemiz nedeni ile serum prohepsidin düzeyi kontrol grubuna göre hala yüksek tespit edildi. Ogawa ve ark. yaptığı bu çalışmada da tüberkülin pozitif ancak aktif hastalığı olmayan grupta da IL-6 ve TNF- $\alpha$  düzeyinin yüksek olduğu tespit edilmişti (65). Bu nedenle karaciğerden prohepsidin salgılatan ana inflamatuvar mediatörlerin IL-6 ve TNF- $\alpha$  olduğu düşünülecek olursa, hastalarımızın tedavi almasına ve 5.ayda balgam yayma negatif olmalarına rağmen altta halen enflamasyonun devam ettiği ve buna bağlı olarak halen karaciğerin bir savunma mekanizması olarak prohepsidin salgıladığı ve bunun sonucunda da bu hastalarda enflamasyon anemisinin geliştiği düşünülmektedir.

Ünsal ve arkadaşlarının 2005 yılında yaptıkları ayrı bir çalışmada ise aktif akciğer tüberkülozu olan hastalarda IL-6, CRP, Sedimantasyon ve Trombositoz yönünden değerlendirilmiştir (88). Hastalar, trombositozu olan

ve olmayanlar olarak iki gruba ayrılmış ve hem sağlıklı kontrol grubu hem de gruplar arasında karşılaştırma yapılmış. Çalışma sonucunda hastalık aktivitesi yüksek olanlarda IL-6, CRP ve Sedimentasyon düzeylerinin yüksek olduğu ve üçü arasında korelasyon olduğu gösterilmiştir. IL-6'nın hepatik akut faz reaktanlarını salgılatan ana mediatör olduğu bilinmektedir (7,38,84). CRP ise IL-6 aracılığı ile karaciğerde üretilen bir akut faz reaktandır (64). Ünsal ve arkadaşlarının yaptıkları bu çalışmada CRP ile IL-6 arasında korelasyon olduğu görülmektedir. Bizim çalışmamızda da aktif akciğer tüberkülozu olanlarda enflamasyon anemisinin bir göstergesi olarak serum prohepsidin düzeyini inceledik. Ancak prohepsidin'in karaciğer kaynaklı ve IL-6 ve TNF- $\alpha$  aracılığı ile salgılandığını bilmekteyiz. Çalışmamızda IL-6 düzeyine bakmadık, fakat CRP ve Sedimentasyon düzeylerini tedavi öncesi ve sonrası değerlendirdik. Çalışmamızda CRP ve Sedimentasyonun, serum prohepsidin düzeyinde olduğu gibi çalışma sonunda azaldığını gösterdik. Bu nedenle çalışmanın planlanmasında IL-6 düzeyinin yerine onun aracılığı ile salgılanan CRP düzeyine bakılmış olunması sonucunda; serum prohepsidin düzeyinin IL-6 aracılığı ile gelişen enflamasyonun ve buna bağlı olarak gelişen enflamasyon anemisinin bir göstergesi olabileceği çalışmamızın sonucunda ortaya çıktığı düşünülmektedir.

Çalışmamızda tedavi süresi 5 ay olduğundan bir enflamasyon belirteci olarak prohepsidin düzeyinin ve diğer enflamatuvar belirteçlerin kontrol ölçümü tedavinin 5. ayında yapılmıştır. Tedavinin 5. ayında yapılan ölçümlerde prohepsidin, ferritin, sedim ve CRP ölçümleri kontrol grubuna göre anlamlı yüksek çıkması, enflamasyonun halen devam ettiği şeklinde yorumlanabilir. Tedavinin 5. ayında yapılan balgam incelemesi negatif olduğundan, enflamasyon belirteçleri yüksek çıksa bile olgunun tedavi edildiği şeklinde yorumlanmıştır. Olgularda mikroorganizmalar eradike olmakla birlikte muhtemelen tedavinin 5. ayında halen olgularda enflamasyon devam etmektedir. Nitekim hasta grupta tedaviden önceki enflamasyon belirteci değerleri ile tedavi sonundaki değerler karşılaştırıldığında, enflamasyon belirteci değerlerinde istatistiksel anlamlı bir düşüş saptanmıştır. Bu düşüşün ne zaman sağlıklı kontrollerle aynı düzeye geleceğini incelemek için daha

uzun bir süreye ihtiyaç olduğu aşıkardır. Süreyi daha uzun tutarak (örneğin 1 yıl) sağlıklı kontrollerle aynı düzeye ne zaman geldiğini inceleyen farklı bir çalışma yapılabilir.

Hasta grupta tedavi sonrası AST ve ALT değerleri tedavi öncesi değerlere göre anlamlı olarak yüksek çıkmıştır. Bu yükselme olasılıkla tedavide kullanılan ilaçların yan etkilerine bağlanabilir. Ancak hiçbir olguda tedaviyi bırakmayı gerektirecek ölçüde AST-ALT yüksekliği saptanmamıştır.

Çalışmamızdaki asıl etkin ana hormon hepsidin olmasına rağmen biz çalışmada prohepsidin düzeyini tespit edebildik. Bunun nedeni ise hepsidin'in antijenik yapısını oluşturan epitopun sadece 4-5 aminoasitten oluşması nedeni ile bunu tespit edebilecek ve ELİSA yönteminde kullanılacak antikorun oluşturulması günümüzde tam olarak sağlanamadığından ancak prohepsidin düzeyini ölçebiliyoruz. Fakat ilerleyen yıllarda bu antikorların elde edilmesi ile direkt olarak enflamasyonun neden olduğu kronik hastalık anemisinin diğer anemilerden ayrımını sağlayabilecek serum veya idrar hepsidin düzeyini ölçebilen kitlere sahip olacağız. Bunun da tedavi seçimimizde çok önemli bir rol oynayacağı muhakkaktır.

Sonuç olarak aktif akciğer tüberkülozunda serum prohepsidin düzeyinin arttığı ve tedaviyle azaldığı saptanmıştır. Serum prohepsidin düzeyinin ferritin ile korelasyon göstermesine rağmen ve bu hastalarda serum demir ve demir bağlama kapasitesi düzeyinin normal olması nedeniyle aktif enflamasyonda prohepsidin, enflamasyon anemisinin bir göstergesi olabileceği düşünülmektedir.

## Sonuçlar:

1. Aktif akciğer tüberkülozunda serum prohepsidin düzeyi artıyor ve tedaviyle düzeyi azalıyor.
2. Serum prohepsidin düzeyi ferritin ile korelasyon gösteriyor.
3. Tedavi öncesi ve tedavi sonrasında enflamasyonun azaldığı bu nedenle CRP ile Sedimantasyon arasında korelasyon olduğu görüldü.
4. Aktif akciğer tüberkülozunda demir eksikliği anemisinin çok enflamasyon anemisinin rolü var.
5. Tedavinin sonunda serum prohepsidin düzeyinin tamamen normale dönmemesinin nedeni halen tedavinin devam ettiği ve ancak tedavinin birinci yılında normale döneceği düşünülmektedir.
6. Bu nedenle tedavi öncesi ve sonrası bir yıllık takip içeren daha geniş hasta popülasyonlu, enflamatuar belirteçleride ( TNF- $\alpha$ , IL-6, Sedimantasyon, CRP, hsCRP gibi...) içeren çalışmalara ihtiyaç vardır.
7. Kronik hastalık anemisinde hepsidin antagonistlerinin kullanılması, en yaygın olarak görülen bu aneminin tedavisinde oldukça ekonomik olmasını sağlayacaktır. Gelecekteki çalışmalar in vivo olarak uygun hepsidin antagonistlerinin bulunması yönünde olacaktır.

## VI-KAYNAKLAR

1. Abboud, S., Haile, D.J., A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism, *J. Biol. Chem.*, 275, 19906–12, 2000.
2. Ahmad, K.A., Ahmann, J.R., Migas, M.C., Waheed, A., Britton, R.S., et al., Decreased liver hepcidin expression in the Hfe knockout Mouse, *Blood Cells Mol. Dis.*, 29, 361–66, 2002.
3. Andrews, N.C., Anemia of inflammation: the cytokine-hepcidin link, *J Clin Invest.*, 113, 1251-3, 2004.
4. Andrews, N.C., Molecular control of iron metabolism, *Best Pract. Res. Clin. Haematol.*, 18, 159–69, 2005.
5. Andrews, N.C., The iron transporter DMT1, *Int J Biochem Cell Biol.*, 31, 991-4, 1999.
6. Awomoyl, A.A., Marchant, A., Howson, J.M.M., McAdam, K.P.W.J., Blackwell, J.M., Newport, J.M., Interleukin-10, polymorphism in SLC 11A1 (formerly NRAMP1), and susceptibility to tuberculosis, *J Infect Dis.*, 186, 1808-1814, 2002.
7. Bauer, J., Herrmann, F., Interleukin 6 in clinical medicine, *Ann Hematol.*, 62, 203–10, 1991.
8. Bondi, A., Valentino, P., Daraio, F., et al., Expression of hemochromatosis genes in two mouse strains after phlebotomy and iron overload, *Haematologica.*, 90, 1161–67, 2005.
9. Bridle, K.R., Frazer, D.M., Wilkins, S.J., Dixon, J.L., Purdie, D.M., et al., Disrupted hepcidin regulation in HFE-associated hemochromatosis and the liver as a regulator of body iron homeostasis, *Lancet.*, 361, 669–73, 2003.
10. Brugnara, C., Iron deficiency and erythropoiesis: new diagnostic approaches, *Clin Chem.*, 49, 1573-8, 2003.
11. Cucuianu, A., Patiu, M., Rusu, A., Hepcidin and multiple myeloma related anemia, *Medical Hypotheses*, 66, 352–354, 2006.

- 12.** Dallalio, G., Fleury, T., Robert, T., Means, Jr., Serum hepcidin in clinical specimens, *British Journal of Haematology.*, 122, 996–1000, 2003.
- 13.** Davies, P.D.O., Grange, J.M., Factors affecting susceptibility and resistance to tuberculosis, *Thorax*, 56(suppl 12), ii23-ii29, 2001.
- 14.** De Domenico, I., Ward, D.M., Nemeth, E., Vaughn, M.B., Musci, G., et al., The molecular basis of ferroportin-linked hemochromatosis, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 102, 8955–60, 2005.
- 15.** Delaby, C., Pilard, N., Hetet, G., Driss, F., Grandchamp, B., et al., A physiological model to study iron recycling in macrophages, *Exp. Cell Res.*, 310, 43–53, 2005.
- 16.** Detivaud, L., Nemeth, E., Boudjema, K., et al., Hepcidin levels in humans are correlated with hepatic iron stores, hemoglobin levels, and hepatic function, *Blood*, Volume 106, Number 2, 2005.
- 17.** Donovan, A., Brownlie, A., Zhou, Y., Shepard, J., Pratt, S.J., et al., Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter, *Nature.*, 403, 776–81, 2000.
- 18.** Donovan, A., Lima, C.A., Pinkus, J.L., Pinkus, G.S., Zon, L.I., et al., The iron exporter ferroportin (Slc40a) is essential for iron homeostasis, *Cell Metab.*, 1, 191–200, 2005.
- 19.** Drakesmith, H., Schimanski, L.M., Ormerod, E., Merryweather-Clarke, A.T., Viprakasit, V., et al., Resistance to hepcidin is conferred by hemochromatosis-associated mutations of ferroportin, *Blood.*, 106, 1092–97, 2005.
- 20.** Eschbach, J.W., Anemia management in chronic kidney disease:role of factors affecting epoetin responsiveness, *J Am Soc Nephrol.*, 13, 142-4, 2002.
- 21.** Fact Sheet No; 104, WHO, 2002.

- 22.** Flo, T.H., Smith, K.D., Sato, S., Rodriguez, D.J., Holmes, M.A., et al., Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron, *Nature*, 432, 917–21, 2004.
- 23.** Flynn, J.L., Chan J., Immunology of tuberculosis, *Annu Rev Immunol.*, 19, 93-129, 2001.
- 24.** Fortier, A., Min-Oo, G., Forbes, J., Lam-Yuk-Tseung, S., Gros, P., Single gene effects in mouse models of host:pathogen interactions, *J. Leukoc. Biol.*, 77, 868–77, 2005.
- 25.** Frazer, D.M., Inglis, H.R., Wilkins, S.J., Millard, K.N., Steele, T.M., et al., Delayed hepcidin response explains the lag period in iron absorption following a stimulus to increase erythropoiesis, *Gut.*, 53, 1509–15, 2004.
- 26.** Frazer, D.M., Wilkins, S.J., Becker, E.M., Vulpe, C.D., McKie, A.T., et al., Hepcidin expression inversely correlates with the expression of duodenal iron transporters and iron absorption in rats, *Gastroenterology.*, 123, 835–44, 2002.
- 27.** Gangaidzo, I.T., Moyo, V.M., Mvundura, E., Aggrey, G., Murphree, N.L., et al., Association of pulmonary tuberculosis with increased dietary iron, *J. Infect. Dis.*, 184, 936–39, 2001.
- 28.** Ganz, T., Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation, *An Review articles, Blood.*, 03, 783-88, 2003.
- 29.** Ganz, T., Hepcidin—a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages, *Best Pract. Res. Clin. Haematol.*, 18, 171–82, 2005.
- 30.** Gehrke, S.G., Kulaksiz, H., Herrmann, T., Riedel, H.D., Bents, K., et al., Expression of hepcidin in hereditary hemochromatosis: evidence for a regulation in response to the serum transferrin saturation and to nontransferrin-bound iron, *Blood.*, 102, 371–76, 2003.
- 31.** Gordeuk, V.R., Delanghe, J.R., Langlois, M.R., Boelaert, J.R., Iron status and outcome of HIV infection: an Overview, *J Clin Virol.*, 20, 111-5, 2001.

- 32.** Hentze, M.W., Muckenthaler, M.U., Andrews, N.C., Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism, *Cell.*, 117, 285–97, 2004.
- 33.** Huang, F.W., Pinkus, J.L., Pinkus, G.S., Fleming, M.D., Andrews, N.C., A Mouse model of juvenile hemochromatosis, *J.Clin. Invest.*, 115,2187–91, 2005.
- 34.** Jurado, R.L., Iron, infections, and anemia of inflammation, *Clin. Infect. Dis.*, 25, 888–95, 1997.
- 35.** Kaelin, W.G., Proline hydroxylation and gene expression, *Annu. Rev. Biochem.*, 74, 115–28, 2005.
- 36.** Kawabata, H., Fleming, R.E., Gui, D., et al., Expression of hepcidin is down-regulated in TfR2 mutant mice manifesting a phenotype of hereditary hemochromatosis, *Blood.*, 105, 376–81, 2005.
- 37.** Kemna, E., Pickkers, P., Nemeth, E., van der H.H., Swinkels, D., Time-course analysis of hepcidin, serum iron, and plasma cytokine levels in humans injected with LPS, *Blood.*, 106, 1864–66, 2005.
- 38.** Kishimoto, T., The biology of interleukin 6, *Blood.*, 74, 1–10, 1989.
- 39.** Knutson, M.D., Oukka, M., Koss, L.M., Aydemir, F., Wessling-Resnick, M., Iron release from macrophages after erythrophagocytosis is up-regulated by ferroportin 1 overexpression and downregulated by hepcidin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 102, 1324–28, 2005.
- 40.** Krause, A., Neitz, S., Magert, H.J., et al., LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity, *FEBS Lett.*, 480,147–50, 2000.
- 41.** Kulaksız, H., Gehrke, S., Janetzko, A., et al., Pro-hepcidin: expression and cell specific localisation in the liver and its regulation in hereditary haemochromatosis, chronic renal insufficiency, and renal anaemia, *Gut*, 53, 735–743, 2004.

- 42.** Kulaksız, H., Theilig, F., Bachmann, S., et al., The iron-regulatory peptide hormone hepcidin: expression and cellular localization in the mammalian kidney, *Journal of Endocrinology*, 184, 361–370, 2005.
- 43.** Latunde-Dada, G.O., Vulpe, C.D., Anderson, G.J., Simpson, R.J., McKie, A.T., Tissue-specific changes in iron metabolism genes in mice following phenylhydrazine-induced hemolysis, *Biochim. Biophys. Acta.*, 1690, 169–76, 2004.
- 44.** Lee, P., Peng, H., Gelbart, T., Wang, L., Beutler, E., Regulation of hepcidin transcription by interleukin-1 and interleukin-6, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 102, 1906–10, 2005.
- 45.** Leung, P.S., Srai, S.K., Mascarenhas, M., et al., Increased duodenal iron uptake and transfer in a rat model of chronic hypoxia is accompanied by reduced hepcidin expression, *Gut.*, 54,1391–95, 2005.
- 46.** Liu, X.B., Nguyen, N.B., Marquess, K.D., Yang, F., Haile, D.J., Regulation of hepcidin and ferroportin expression by lipopolysaccharide in splenic macrophages, *Blood Cells Mol. Dis.*, 35, 47–56, 2005.
- 47.** Ludwiczek, S., Aigner, E., Theurl, I., Weiss, G., Cytokine-mediated regulation of iron transport in human monocytic cells, *Blood.*, 101, 4148-54, 2003.
- 48.** Ma, J.Z., Eben, J., Xia, H., Collins, A.J., Hematocrit level and associated mortality in hemodialysis patients, *J Am Soc Nephrol.*, 10, 610-19, 1999.
- 49.** Malyszko, J., Malyszko, J.S., Pawlak, K., Mysliwiec, M., Hepcidin, an Acute-Phase Protein and a Marker of Inflammation in Kidney Transplant Recipients With and Without Coronary Artery Disease, *Transplantation Proceedings*, 38, 2895–2898, 2006.
- 50.** Malyszko, J., Jacek, S., Malyszko, Pawlak, K., Mysliwiec, M., Hepcidin, Iron Status, and Renal Function in Chronic Renal Failure, Kidney Transplantation, and Hemodialysis, *American Journal of Hematology*, 81, 832–837, 2006.

- 51.** McKie, A.T., Marciani, P., Rolfs, A., et al., A novel duodenal iron-regulated transporter, IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation, *Mol. Cell.*, 5, 299–309, 2000.
- 52.** Means, R.T Jr., Recent developments in the anemia of chronic disease, *Curr. Hematol Rep.*, 2, 116-21, 2003.
- 53.** Moldawer, L.L., Marano, M.A., Wei, H., et al., Cachectin/tumor necrosis factor-alpha alters red blood cell kinetics and induces in vivo, *FASEB J.*, 3, 1637-43, 1989.
- 54.** Muckenthaler, M., Roy, C.N., Custodio, A.O., et al., Regulatory defects in liver and intestine implicate abnormal hepcidin and *Cybrd1* expression in mouse hemochromatosis, *Nat. Genet.*, 34,102–7, 2003.
- 55.** Nemeth, E., Preza, G.C., Jung, C.L., Kaplan, J., Waring, A.J., Ganz, T., The N terminus of hepcidin is essential for its interaction with ferroportin: structure function study. *Blood.*, 107, 328–33, 2005.
- 56.** Nemeth, E., Rivera, S., Gabayan, V., et al., IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin, *J. Clin. Invest.*, 113,1271–76, 2004.
- 57.** Nemeth, E., Roetto, A., Garozzo, G., Ganz, T., Camaschella, C., Hepcidin is decreased in TFR2 hemochromatosis, *Blood.*, 105, 1803–6, 2004.
- 58.** Nemeth, E., Tuttle, M.S., Powelson, J., et al., Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization, *Science.*, 306, 2090–93, 2004.
- 59.** Nemeth, E., Valore, E.V., Territo, M., Schiller, G., Lichtenstein, A., Ganz, T., Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein, *Blood.*, 101, 2461–63, 2003.
- 60.** Nicolas, G., Bennoun, M., Devaux, I., et al., Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 98, 8780–85, 2001.

- 61.** Nicolas, G., Bennoun, M., Porteu, A., et al., Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, 99, 4596–601, 2002.
- 62.** Nicolas, G., Chauvet, C., Viatte, L., et al., The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation, *J. Clin. Invest.*, 110, 1037–44, 2002.
- 63.** Niederkofler, V., Salie, R., Arber, S., Hemojuvelin is essential for dietary iron sensing, and its mutation leads to severe iron overload, *J. Clin. Invest.*, 115, 2180–86, 2005.
- 64.** Nijsten, M.W.N., de Groot, E.R., ten Duis, H.J., et al., Serum levels of interleukin 6 and acute phase responses, *Lancet.*, ii, 921, 1987.
- 65.** Ogawa, T., Uchida, H., Kusumoto, Y., et al., Increase in tumor necrosis factor alpha- and Interleukin-6- secreting cells in peripheral blood mononuclear cells from subjects infected with mycobacterium tuberculosis, *Infection and Immunity.*, 59, 3021-3025, 1991.
- 66.** Oguz, A., Uzunlulu, M., Hekim, N., Hepcidin is a not marker of chronic inflammation in atherosclerosis, *Anadol Kardiyol Derg.*, 6, 239-42, 2006.
- 67.** Ohtake, T., Saito, H., Hosoki, Y., Inoue, M., Miyoshi, S., Suzuki, Y., Fujimoto, Y., Kohgo, Y., Hepcidin Is Down-Regulated in Alcohol Loading, *Alcohol Clin Exp Res.*, Vol 31, No S1, pp 2S 2S–8S, 2007.
- 68.** Papanikolaou, G., Samuels, M.E., Ludwig, E.H., et al., Mutations in HFE2 cause iron overload in chromosome 1q-linked juvenile hemochromatosis, *Nat. Genet.*, 36, 77–82, 2004.
- 69.** Park, C.H.,Valore, E.V., Waring, A.J., Ganz, T., Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver, *J. Biol. Chem.*, 276, 7806–10, 2001.
- 70.** Parson, L.M., Driscoll, J.R., Taber, H.W., Salfinger, M., Drug resistance in mycobacteria, *Infect Dis Clin North Am.*, 11, 905-928, 1997.

- 71.** Pigeon, C., Ilyin, G., Courselaud, B., et al., A new Mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload, *J. Biol. Chem.*, 276, 7811–19, 2001.
- 72.** Pippard, M.J., Callender, S.T., Warner, G.T., Weatherall, D.J., Iron absorption and loading in beta-thalassaemia intermedia, *Lancet.*, 2, 819–21, 1979.
- 73.** Punnonen, K., Irjala, K., Rajamaki, A., Serum transferrin receptor and its ratio to serum ferritin in the diagnosis of iron deficiency, *Blood.*, 89, 1052–7, 1997.
- 74.** Rivera, S., Liu, L., Nemeth, E., Gabayan, V., Sorensen, O.E., Ganz, T., Hepcidin excess induces the sequestration of iron and exacerbates tumor-associated anemia. *Blood.*, 105, 1797–802, 2004.
- 75.** Rivera, S., Nemeth, E., Gabayan, V., Lopez, M.A., Farshidi, D., Ganz, T., Synthetic hepcidin causes rapid dosedependent hypoferremia and is concentrated in ferroportin-containing organs, *Blood.*, 106, 2196–99, 2005.
- 76.** Rodriguez, R.M., Corwin, M.J., Gubler, D., Pearl, R.G., Nutritional deficiencies and blunted erythropoietin response as causes of the anemia of critical illness, *J Critt Care.*, 16, 36–41, 2001.
- 77.** Roetto, A., Camaschella, C., New insights into iron homeostasis through the study of non-HFE hereditary hemochromatosis, *Best Pract. Res. Clin. Haematol.*, 18, 235–50, 2005.
- 78.** Schimanski, L.M., Drakesmith, H., Merryweather-Clarke, A.T., et al., In vitro functional analysis of human ferroportin, *Annu. Rev. Nutr.*, 26, 323–342, 2006.
- 79.** Schluger, N.W., Changing approaches to the diagnosis of tuberculosis, *Am J respir Crit Care Med.*, 164, 2020–2024, 2001.
- 80.** Schluger, N.W., Recent advances in our understanding of human host responses to tuberculosis, *Respir Res.*, 2, 157–163, 2001.

- 81.** Shayeghi, M., Latunde-Dada, G.O., Oakhill, J.S., et al., Identification of an intestinal heme transporter, *Cell.*, 122, 789–801, 2005.
- 82.** Spivak, J.L., Iron and the anemia of chronic disease, *Oncology.*, 16, Suppl 10, 25-33, 2002.
- 83.** Teehan, G.S., Bahdouch, D., Ruthazer, R., et al., Iron storage indices: novel predictors of bacteremia in hemodialysis patients initiating intravenous iron therapy, *Clin Infect Dis.*, 38, 1090-4, 2004.
- 84.** Tefferi A., Ho T.C., Ahmann G.J., et al., Plasma interleukin 6 and C reactive protein levels in reactive versus clonal thrombocytosis, *Am J Med.*, 97, 374–8, 1994.
- 85.** Tilg, H., Ulmer, H., Kaser, A., Weiss, G., Role of IL-10 for induction of anemia during inflammation, *J Immunol.*, 169, 2204-9, 2002.
- 86.** Torti, F.M., Torti, S.V., Regulation of ferritin genes and protein, *Blood.*, 99, 3505-16, 2002.
- 87.** Turken, O., Kunter, E., Sezer, M., Hemostatic changes in active pulmonary tuberculosis, *Int. J. Tuberc. Lung Dis.*, 6(10), 927-932, 2002.
- 88.** Ünsal, E., Aksaray, S., Köksal, D., ve ark., Potential role of interleukin 6 in reactive thrombocytosis and acute phase response in pulmonary tuberculosis, *Postgrad. Med. J.*, 81, 604-607, 2005.
- 89.** Weinberg, E.D., Iron withholding: a defense against infection and neoplasia, *Physiol. Rev.*, 64, 65–102, 1984.
- 90.** Weinstein, D.A., Roy, C.N., Fleming, M.D., et al., Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: implications for the anemia of chronic disease, *Blood*, 100, 3776–81, 2002.
- 91.** Weiss, G., Pathogenesis and treatment of anaemia of chronic disease, *Blood Rev.*, 16, 87-96, 2002.
- 92.** Wilkinson, R.J., Llewelyn, M., Toossi, Z., et al., Influence of vitamin D deficiency and vitamin D receptor polymorphism on tuberculosis among

Gujarati Asians in west London: a case control study, *Thorax*, 56(suppl 11), ii23-ii29, 2001.

**93.** Winn, R.J., The NCCN guidelines development process and infrastructure, *Oncology.*, 14, 26-30, 2000.

**94.** World Health Organization. Global tuberculosis control, WHO report WHO/CDC/CPC/TB99.259., Geneva: World Health Organization, 1999.

**95.** Zhang, A.S., West, A.P.J., Wyman, A.E., Bjorkman, P.J., Enns, C.A., Interaction of HJV with neogenin results in iron accumulation in HEK293 cells., *J. Biol. Chem.*, 280, 33885–94, 2005.