



**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ÇOCUK SAĞLIĞI VE  
HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
ÇOCUK HEMATOLOJİ BİLİM DALI**

**KARACİĞER NAKLİ YAPILAN ÇOCUKLARDA  
SERUM PROHEPSİDİN DÜZEYİNİN  
ERİTROSİT GÖSTERGELERİ, SERUM DEMİR DEĞİŞKENLERİ VE  
KARACİĞER DEMİR YOĞUNLUĞU İLE İLİŞKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**ÇOCUK HEMATOLOJİ  
YANDAL UZMANLIK TEZİ  
Uzm. Dr. Zekai AVCI**

**ANKARA, 2008**



**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ ÇOCUK SAĞLIĞI VE  
HASTALIKLARI ANABİLİM DALI  
ÇOCUK HEMATOLOJİ BİLİM DALI**

**KARACİĞER NAKLİ YAPILAN ÇOCUKLARDA  
SERUM PROHEPSİDİN DÜZEYİNİN  
ERİTROSİT GÖSTERGELERİ, SERUM DEMİR DEĞİŞKENLERİ VE  
KARACİĞER DEMİR YOĞUNLUĞU İLE İLİŞKİSİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**ÇOCUK HEMATOLOJİ  
YANDAL UZMANLIK TEZİ  
Uzm. Dr. Zekai Avcı**

**Tez Danışmanı: Prof. Dr. Namık ÖZBEK**

**ANKARA, 2008**

**Bu tez çalışması Başkent Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından desteklenmiştir.**

**Proje No: KA07/154**

## TEŞEKKÜR

Ülkemizde değerli birçok bilim adamının yetiştirilmesi ve sağlık hizmetlerinde kalitenin yükseltilmesi adına hiçbir fedakârlıktan kaçınmayan, Başkent Üniversitesi Rektörü Sayın Prof. Dr. Mehmet Haberal'a gerek yandal eğitimim gerekse tez çalışmam için sağladığı imkânlardan dolayı saygı ve şükranlarımı sunarım.

Alanındaki bilgisi, deneyimi, ulusal ve uluslararası alanda Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ve Çocuk Hematoloji alanında getirdiği yeniliklerle olduğu kadar saygın kişiliği, alçakgönüllülüğü, özverili çalışma azmi ve sürekli pozitif enerjisiyle tanınan, birlikte çalışmaktan onur duyduğum ve her konuda örnek aldığım Hocam Sayın Prof. Dr. Namık Özbek'e, yandal eğitimim sürecinde, kanıta dayalı tıbbi bizzat uygulayarak öğretmesinden çalışma alanımızdaki sağladığı imkânlara kadar sayamayacağım birçok katkısından dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Eğitimim süresince bilgi ve katkılarını esirgemeyen, çalışmaktan büyük zevk aldığım Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nın çok değerli öğretim üyeleri başta merhum Sayın Prof. Dr. Ümit Saatçi olmak üzere Sayın Prof. Dr. Faik Sarıaliğlu, Prof. Dr. Berkan Gürakan, Prof. Dr. Kürşad Tokel, Prof. Dr. Esra Baskın, Doç. Dr. Emel Özyürek ve Pediatri ailesinin diğer tüm öğretim üyelerine, Tıbbi Genetik Anabilim Dalı ve Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Feride İffet Şahin ve Doç. Dr. Belgin Ataç'a katkılarından dolayı çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamda büyük desteğini gördüğüm Sayın Doç. Dr. Figen Özçay'a, yandal ihtisasım süresince yardımlarını hiçbir zaman esirgemeyen yakın çalışma arkadaşlarım Dr. Bülent Alioğlu ve Dr. Barış Malbora'ya çok teşekkür ederim.

Hayatımın her anında sürekli desteğini gördüğüm sevgili eşim Doç. Dr. Aslıhan Avcı ve biricik çocuklarım Y. Emre Avcı ve E. Bilge Avcı'ya fedakârlıkları ve sabırları nedeniyle ayrıca teşekkür ederim.

Dr. Zekai Avcı

## ÖZET

Hepsidin, demir metabolizmasının ve vücutta demir dağılımının düzenlenmesinde anahtar rol oynayan, aynı zamanda antimikrobiyal etkisi de bulunan bir peptiddir. Organizma sistemik demir düzenlenmesini ince barsaktan demir emilimini ve makrofajlardan demir salınımını etkileyerek yapmaktadır. Hepsidin eksikliğinde serum demir ve ferritin düzeyi yükselerek organlarda demir birikmekte, fazlalığında ise demir eksikliği anemisi gelişmektedir. Hepsidin sağlıklı insanlarda serum demiri ve ferritin yüksekliğine ve inflamasyona artarak, anemi, hipoksi ve eritropoezis artışına ise azalarak cevap vermektedir. Karaciğer hastalıklarında hepsidin eritrosit göstergeleri, serum demir değişkenleri ve karaciğer demir yoğunluğuyla ilişkisi çalışmalar arasında farklılık göstermektedir. Önemli bir kısmı karaciğerden üretilmekte olan hepsidin hematolojik sorunların sık görüldüğü karaciğer nakil alıcılarındaki seyri ve eritrosit göstergeleri, serum demir değişkenleri ve karaciğer demir yoğunluğu ile ilişkisi bilinmemektedir.

Çalışmamıza farklı nedenlerle karaciğer nakli yapılan 35 [20 kız 15 erkek, ortanca yaş 75 ay (2–194 ay arası)] hasta ve kontrol amaçlı yaş ve cinsiyet uyumlu 44 sağlıklı çocuk alındı. Hastaların nakil öncesi ve nakil sonrası 1. gün, 7. gün, 1. ay, 3. ay, 6. ay ve 6. ay sonrasındaki son izlemlerinde (ortanca 27 ay) serum prohepsidin düzeyleri, tam kan sayımı, demir değişkenleri, eritropoetin, C-reaktif protein ve karaciğer fonksiyonları ile kontrollerin serum prohepsidinleri çalışıldı. Karaciğer demir yoğunluğu atomik absorpsiyon spektrofotometre ile, karaciğer demir, fibrozis ve inflamatuvar aktivite düzeyleri histopatolojik olarak belirlendi. Ek olarak nakil öncesi ve sonrası yaşa göre normal değerler göz önüne alınarak hastalardaki hematolojik sorunlar saptandı.

Nakil öncesi serum prohepsidin düzeyleri ortalama  $55.4 \pm 28.5$  ng/mL, ortanca 51.7 ng/mL (13–147 arası) olup kontrol grubuna [ortalama  $119.6 \pm 31$  ng/mL, ortanca 123 ng/mL (46–196 arası)] göre belirgin düşük bulundu ( $p < 0.001$ ). Nakil öncesi düşük olan serum prohepsidin düzeyinin, hemoglobin, hematokrit ve eritrosit sayıları ile birlikte nakil sonrası anlamlı şekilde yükseldiği, nakil öncesi normalin üst sınırında olan serum demiri ve normalden yüksek olan retikülosit, ferritin ve eritropoetin düzeylerinin, nakil sonrası izlemde anlamlı şekilde düştüğü gözlemlendi. Nakil öncesi serum prohepsidin düzeyinin karaciğer demir yoğunluğu, karaciğer demir ve fibrozis derecesi, nakil öncesi tam kan sayımı ve demir değişkenleri ile ilişkisi saptanmazken, C-reaktif protein, alanin aminotransferaz, aspartat aminotransferaz, total ve direk bilirubin ve alkalin fosfataz ile pozitif, karaciğer inflamatuvar aktivite derecesiyle negatif ilişkisi saptandı. Hastaların biri hariç hepsinde nakil öncesi bir veya birden fazla hematolojik bozukluk

(koagülopati, anemi, lökopeni, trombositopeni) saptanırken bunların nakil sonrası dönemde belirgin azalmakla birlikte devam ettiği görüldü.

Karaciğer hastalarında nakil öncesi dönemde serum prohepsidin düşüklüğünün, karaciğerin sentez fonksiyonunun azlığı ile anemi ve eritropoetik aktivitenin artmasına bağlı olabileceği düşünöldü. Serum prohepsidin düşüklüğüne ikincil nakil öncesi dönemde serum demiri, ferritin ve karaciğer demir yoğunluğu artmaktadır. Nakil sonrası karaciğer fonksiyonlarının düzelmesiyle hematolojik bozukluklar azalmakta ve serum prohepsidin düzeyleri 6. ayda kontrol değerlere ulaşmaktadır.

**Anahtar kelimeler:** Karaciğer yetmezliğı, karaciğer nakli, anemi, hepsidin, demir metabolizması

## ABSTRACT

### **Investigation of the Relationship between Serum Prohepcidin Levels with Erythrocyte Indices, Serum Iron Parameters, and Liver Iron Concentration in Liver Transplanted Children**

Hepcidin is an antimicrobial peptide playing a key role in the regulation of iron metabolism and distribution of iron in the body. Human body regulates iron metabolism and justed with iron absorption in the small intestine and iron release from macrophages. In the absence of hepcidin, plasma iron and ferritin levels increase resulting in iron accumulation in the organs. In the excess of hepcidin, iron deficiency anemia occurs. Hepcidin increases in response to increase in plasma iron, ferritin and in response to inflammation, whereas decreases in hypoxia and increased erythropoiesis in healthy people. The studies show different results about the relationship between complete blood count, plasma iron parameters and liver iron concentration with hepcidin in liver diseases. The plasma level of hepcidin that is mostly produced in the liver and its relations with erythrocyte indices, plasma iron parameters and liver iron concentration, is not well known in the liver recipients that frequently have hematological problems.

In our study, 35 liver transplanted children due to different causes [20 girls, 15 boys, median age 75 months (range, 2-194 months)] and 44 healthy children (control group) compatible to these transplanted patients in age and gender were included. The plasma prohepcidin levels, complete blood count, iron parameters, erythropoietin, C-reactive protein and liver function tests before transplantation and on the first, seventh days, first month, third month, six month and the last follow up (median 27 month) were analyzed. In the control group, only the plasma prohepcidin levels are studied. The liver iron concentrations are determined with atomic absorption spectrophotometer whereas liver iron, fibrosis and inflammatory activity degrees are determined histopathologically. In addition, considering the normal levels for age, pre- and post-operative hematological problems are established.

Pre-operative serum prohepcidin levels [mean  $55.4 \pm 28.5$  ng/mL, median 51.7 ng/mL (range, 13-147)] are found statistically low compared to the levels of the control group [mean  $119.6 \pm 31$  ng/mL, median 123 ng/mL (range, 46-196)] ( $p < 0.001$ ). The pre-operative low serum prohepcidin levels have improved with hemoglobin, hematocrit and erythrocyte count after transplantation, and pre-operation plasma levels of iron, close to the upper limit of the normal range, and the elevated reticulocyte, ferritin and erythropoietin levels have significantly

decreased after transplantation. Before the operation, a relationship between plasma prohepcidin levels and liver iron concentration, liver fibrosis degree, pre-operative erythrocyte indices and iron parameters could not be determined. There was positive correlation between C-reactive protein, alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, total and direct bilirubin and alkaline phosphatase and negative correlation with liver inflammatory activity level. There was at least one hematological problem (coagulopathy, anemia, leukopenia, and thrombocytopenia) in all the patients except one. These problems persisted with a marked regression after transplantation.

The low level of serum prohepcidin in the patients with liver diseases before the operation is suggested to associate with the decreased synthesis function of the liver and anemia as well as the increased erythropoietic activity. Pre-operatively, the plasma iron level, ferritin and liver iron concentration are increasing secondary to the low serum prohepcidin level. As the liver functions improve after transplantation, the hematological problems regress and the plasma prohepcidin levels reach to the control levels on the sixth month of the transplantation.

**Keywords:** hepatic failure, liver transplantation, anemia, hepcidin, iron metabolism

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	viii
KISALTMALAR VE SİMGELER.....	x
ŞEKİLLER.....	xi
TABLolar.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	2
2.1. Demir Metabolizması ve Hepsidin.....	2
2.1.1. Demir Emilimi.....	3
2.1.1.1. Hem Demirinin Emilimi.....	3
2.1.1.2. İnorganik Demirin Emilimi.....	4
2.1.2. Demir Döngüsü ve Depolanması.....	5
2.1.3. Organizmada Demir Dengesi.....	7
2.1.3.1. Hücre İçi Demir Dengesi.....	7
2.1.3.2. Sistemik Demir Dengesi.....	8
2.1.4. Hepsidin.....	9
2.1.4.1. Hepsidin Ferroportin İlişkisi.....	11
2.1.4.2. Hepsidin Üretiminin Düzenlenmesi.....	11
• Hepsidin Üretiminin Düzenlenmesinde İnflamasyon.....	12
• Hepsidin Üretiminin Düzenlenmesinde Kemik Morfojenetik Protein Yolu.....	12
• Hepsidin Üretiminin Düzenlenmesinde Demir.....	14
• Hepsidin Üretiminin Düzenlenmesinde Anemi ve Eritropoezis....	14
• Hepsidin Üretiminin Düzenlenmesinde Hipoksi.....	15
2.1.4.3. Hepsidin ve Demir Birikim Hastalıkları.....	17
2.1.4.4. Hepsidin ve İnflamasyon (Kronik Hastalık) Anemisi.....	17
2.2. Karaciğer Nakli ve Anemi.....	18



<b>3. GEREÇ VE YÖNTEM</b> .....	22
<b>3.1. Olgular ve Çalışma Planı</b> .....	22
<b>3.2. Örnekler</b> .....	22
<b>3.3. Hematolojik ve Biyokimyasal ölçümler</b> .....	23
<b>3.4. Karaciğer Demir Yoğunluğu Ölçümü</b> .....	24
<b>3.5. Histopatolojik İnceleme</b> .....	24
<b>3.6. İstatistiksel Analiz</b> .....	25
<b>4. BULGULAR</b> .....	26
<b>4.1. Tam Kan Sayımı Sonuçları</b> .....	27
<b>4.2. Prohepsidin, Demir Değişkenleri ve İnfeksiyon Belirteçleri</b> .....	30
<b>4.3. Karaciğer Demir Yoğunluğu ve Histopatolojik Sonuçlar</b> .....	33
<b>4.4. Karaciğer Fonksiyon ve Koagülasyon Testleri Sonuçları</b> .....	34
<b>4.5. Vitamin B<sub>12</sub>, Folat ve Çinko Sonuçları</b> .....	35
<b>4.6. Hastalarda Saptanan Hematolojik Sorunlar</b> .....	37
<b>4.7. Nakil Öncesi Prohepsidin ve Karaciğer Demir Yoğunluğunun         Hastalıklarla İlişkisi</b> .....	39
<b>5. TARTIŞMA</b> .....	44
<b>5.1. Karaciğer Nakli, Hematolojik Sorunlar ve Anemi</b> .....	44
<b>5.2. Karaciğer Nakli ve Eritrosit Göstergeleri</b> .....	45
<b>5.3. Karaciğer Naklinde Serum Prohepsidin Düzeyinin Seyri</b> .....	46
<b>5.4. Karaciğer Naklinde Serum Prohepsidin Düzeylerinin Serum Demir         Değişkenleri, Karaciğer Fibrozis ve Demir Yoğunluğu ile İlişkisi</b> .....	48
<b>5.5. Karaciğer Naklinde Serum Prohepsidin Düzeylerinin Karaciğer         Fonksiyon Testleri ve CRP ile İlişkisi</b> .....	50
<b>5.6. Karaciğer Demir Yoğunluğunun Eritrosit İndeksleri ve Serum         Demir Değişkenleriyle İlişkisi</b> .....	51
<b>6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER</b> .....	53
<b>7. KAYNAKLAR</b> .....	55

## KISALTMALAR ve SİMGELER

<b>ALP</b> : Alkalen fosfataz	<b>IFN</b> : İnterferon
<b>ALT</b> : Alanin aminotransferaz	<b>INR</b> : ‘ <i>International normalized ratio</i> ’
<b>ApoTf</b> : Apotransferrin	<b>İL</b> : İnterlökin
<b>aPTT</b> : Aktive parsiyel tromboplastin zamanı	<b>IRE</b> : ‘ <i>Iron responsive element</i> ’
<b>AST</b> : Aspartat aminotransferaz	<b>IRP</b> : ‘ <i>Iron responsive protein</i> ’
<b>BMP</b> : Kemik morfogenetik protein	<b>JAK</b> : Janus kinaz
<b>CMV</b> : Sitomegalovirüs	<b>KDY</b> : Karaciğer demir yoğunluğu
<b>CRP</b> : C-reaktif protein	<b>MCH</b> : Ortalama eritrosit hemoglobini
<b>DcytB</b> : Duodenal sitokrom b	<b>MCHC</b> : Ortalama eritrosit Hb yoğunluğu
<b>DE</b> : Demir eksikliği	<b>MCV</b> : Ortalama eritrosit hacmi
<b>DEA</b> : Demir eksikliği anemisi	<b>MMF</b> : Mikofenolat mofetil
<b>dL</b> : Desilitre	<b>mRNA</b> : Haberci RNA
<b>DMT</b> : Divalan metal taşıyıcı	<b>MPV</b> : Ortalama platelet volümü
<b>DNA</b> : Deoksiribonükleik asit	<b>pg</b> : Pikogram
<b>EBV</b> : <i>Ebstein Barr</i> Virüs	<b>PTLD</b> : Nakil sonrası lenfoproliferatif hastalık
<b>EPO</b> : Eritopoetin	<b>PVB-19</b> : Parvovirüs B-19
<b>Fe<sub>2</sub>-Tf</b> : Diferrik transferrin	<b>RDW</b> : Eritrosit dağılım genişliği
<b>fL</b> : Fentolitre	<b>RNA</b> : Ribonükleik asit
<b>g</b> : Gram	<b>ROS</b> : Reaktif oksijen türleri
<b>G6PD</b> : Glukoz 6 fosfat dehidrogenaz	<b>STAT</b> : ‘ <i>Signal transducer and activator of transcription</i> ’
<b>GDF</b> : ‘ <i>Growth differentiatin factor</i> ’	<b>SDBK</b> : Toplam demir bağlama kapasitesi
<b>GGT</b> : Gama glutamil transferaz	<b>Tf</b> : Transferrin
<b>GİS</b> : Gastrointestinal sistem	<b>TfR</b> : Transferrin reseptörü
<b>GvHD</b> : Graft versus host hastalığı	<b>TGF-β</b> : ‘ <i>Transforming growth factor beta</i> ’
<b>H<sup>+</sup></b> : Hidrojen	<b>TNF</b> : Tümör nekrozis faktör
<b>Hb</b> : Hemoglobin	<b>Vit B<sub>12</sub></b> : Vitamin B <sub>12</sub>
<b>HCP</b> : Hem taşıyıcı protein	<b>μL</b> : Mikrolitre
<b>Hct</b> : Hematokrit	

## ŞEKİLLER

	Sayfa
Şekil 2.1. Sağlıklı erişkin bir erkekte demir dağılımı ve döngüsü.....	2
Şekil 2.2. Enterositten demir emilimi.....	5
Şekil 2.3. Hücreye demir alımı ve transferrin döngüsü.....	7
Şekil 2.4. Hepsidinin yapısı.....	9
Şekil 2.5. Hepsidinin sistemik demir metabolizmasındaki işlevleri.....	10
Şekil 2.6. Hepsidin üretiminin demir miktarıyla düzenlenmesi.....	13
Şekil 2.7. Hepsidin üretiminin kontrolü ve düzenlenmesi.....	16
Şekil 4.1. Eritrosit göstergelerinin nakil sonrası seyri ve nakil öncesi değerleriyle kıyaslanması .....	29
Şekil 4.2. Kontrol grubunun ve nakil öncesinde hastaların ve karaciğer vericilerinin prohepsidin düzeyleri.....	31
Şekil 4.3. Prohepsidin düzeylerinin nakil sonrası seyri, nakil öncesi ve kontrolle kıyaslanması .....	32
Şekil 4.4. Serum demir değişkenlerinin ve EPO düzeylerinin nakil sonrası seyri ve nakil öncesi değerleriyle kıyaslanması .....	33
Şekil 4.5. A: Karaciğer demir ve fibrozis derecesine göre hasta sayı ve oranları, B: Karaciğer inflamuar aktivite düzeyine göre hasta sayı ve oranları.....	34
Şekil 4.6. Karaciğer fonksiyon ve koagülasyon testlerinin nakil sonrası seyri ve nakil öncesi değerleriyle kıyaslanması .....	35
Şekil 4.7. Vitamin B12, folat ve çinko düzeylerinin nakil sonrası seyri.....	36
Şekil 4.8. Nakil öncesi anemi nedenleri.....	38
Şekil 4.9. Nakil sonrası 6. ay ve son izlemde anemi nedenleri .....	38

## TABLÖLAR

	Sayfa
<b>Tablo 2.1.</b> Hepsidin demir metabolizmasını ilgilendiren bazı hastalıklarla ilişkisi .....	18
<b>Tablo 2.2.</b> Karaciğer nakillerinden sonra anemi nedenleri.....	19
<b>Tablo 2.3.</b> Karaciğer nakillerinden sonra süreye göre anemi nedenleri.....	20
<b>Tablo 4.1.</b> Hastaların nakil gerektiren karaciğer hastalıkları.....	26
<b>Tablo 4.2.</b> Tam kan sayımı bulguları .....	27
<b>Tablo 4.3.</b> Prohepsidin, demir değişkenleri ve infeksiyon belirteçleri .....	30
<b>Tablo 4.4.</b> Karaciğer fonksiyon ve koagölasyon testleri .....	34
<b>Tablo 4.5.</b> Vitamin B <sub>12</sub> , folat ve çinko düzeyleri ile eksiklik olan hasta sayıları .....	36
<b>Tablo 4.6.</b> Hematolojik sorunlar, infeksiyon ve doku reddi sayıları.....	37
<b>Tablo 4.7.</b> Eritrosit süspansiyonu verilen hasta sayısı, verilen eritrosit süspansiyonu miktarı ve demir tedavisi uygulanan hasta sayısı.....	39
<b>Tablo 4.8.</b> Nakil öncesi prohepsidin, KDY ve ferritin eritrosit göstergeleri, demir değişkenleri, EPO, CRP, karaciğer fonksiyonları, koagölasyon testleri, vit B <sub>12</sub> , folat ve çinko düzeyleriyle ilişkisi .....	40
<b>Tablo 4.9.</b> Nakil öncesi prohepsidin, KDY, hematokrit, serum demiri, ferritin ve EPO düzeylerinin çeşitli klinik durumlarla, karaciğer histopatoloji sonuçları ve hastalık gruplarıyla ilişkisi .....	42

## 1. GİRİŞ

Hepsidin, demir metabolizmasının ve vücutta demir dağılımının düzenlenmesinde anahtar rol oynayan, aynı zamanda antimikrobiyal etkisi de bulunan bir peptiddir (1–6). Organizma sistemik demir düzenlenmesini ince barsaktan demir emilimini ve makrofajlardan demir salınımını etkileyerek yapmaktadır. Antimikrobiyal etkisini ise mikroorganizma membranında hasar yaparak ve serum demirini düşürüp mikroorganizmalara uygunsuz bir çevre oluşturarak göstermektedir. Önemli bir kısmı karaciğerden üretilmektedir. Hepsidin eksikliğinde serum demir ve ferritin düzeyi yükselerek organlarda demir birikmekte, fazlalığında ise demir eksikliği anemisi gelişmektedir (2,5-7). Hepsidin sağlıklı insanlarda serum demiri ve ferritin yüksekliğine ve inflamasyona artarak, anemi, hipoksi ve eritropoezis artışına ise azalarak cevap vermektedir (2,5,6).

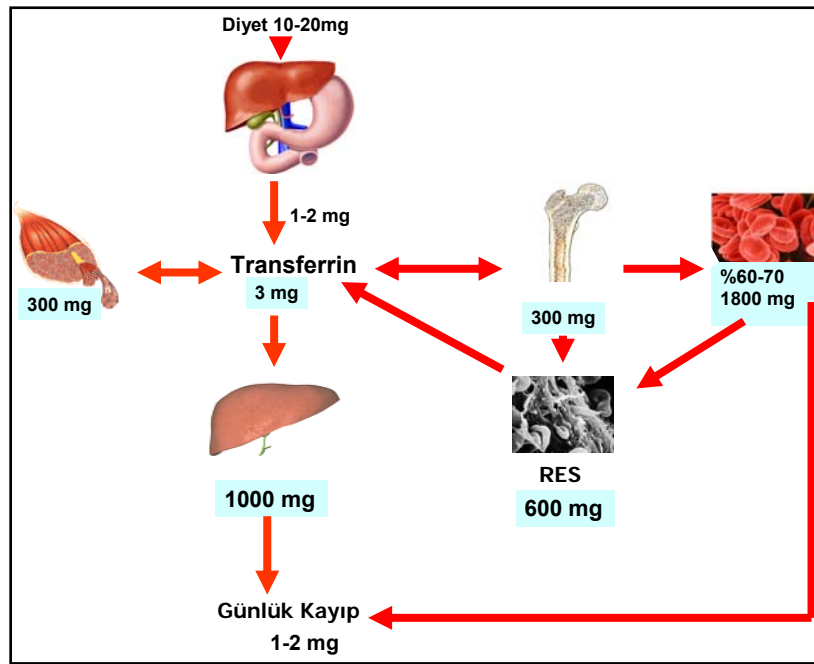
Karaciğer, böbrek ve kalp alıcılarında anemi, lökopeni, trombositopeni ve çoğul sitopeni gibi hematolojik bozukluklar hastaların yaklaşık üçte birinde saptanmaktadır (8). Hematolojik sorunların yaklaşık %60-80'ini ise anemi oluşturmaktadır. Bu hastalardaki aneminin nedeni çok çeşitli olup cerrahi kan kaybı, gastrointestinal sistem (GİS) kanamaları, viral infeksiyonlar, demir eksikliği (DE) ve ilaçlar bunların başlıcalarıdır (9). Çocuk karaciğer alıcılarında gelişen hematolojik sorunlar ve anemiyle ilgili çalışmalar çok kısıtlı olup bu hastalarda gelişen aneminin nedeni çoğu olguda tam olarak saptanamamaktadır.

Karaciğer hastalarında yapılan çalışmalarda, karaciğer hepsidin ve serum prohepsidin düzeyinin eritrosit göstergeleri, serum demir değişkenleri ve karaciğer fonksiyonlarıyla olan ilişkisinde farklı sonuçlar saptanmıştır. Temel olarak karaciğerden üretilen bu molekülün karaciğer naklinde nasıl bir seyir izlediği, nakil öncesi ve sonrası eritrosit göstergeleri ve demir değişkenleri ile olan ilişkisi şimdiye kadar incelenmemiştir. Bu çalışmadaki amacımız karaciğer nakli yapılan çocuklarda serum prohepsidin, eritrosit göstergeleri, serum demir değişkenleri ve karaciğer demir yoğunluğu (KDY)'nin nakil öncesi değerleri ile nakil sonrası seyirlerini belirlemek ve bunlar arasındaki ilişkiyi incelemektir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Demir Metabolizması ve Hepsidin

Demirin biyolojik önemi eski çağlardan beri bilinmektedir. Ancak, özellikle son onyılıda emilim, depolanma, moleküler kontrol ve hücrelerdeki döngüsünün moleküler yolları ile ilgili yeni proteinlerin keşfi ile demir metabolizması ile ilgili bilgilerimizde büyük ilerlemeler olmuştur. Demir pek çok canlı ve insan için yaşamsal öneme sahip temel bir elementtir. Elektron alıp verme özelliği nedeniyle oksijen taşınmasında, enerji yapımındaki birçok enzimin katalizlenmesinde (örn. sitokromlar), bağışıklık sisteminde (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz, laktoferrin, siderokalin), deoksiribonükleik asit (DNA), ribonükleik asit (RNA) ve protein sentezinde önemli fonksiyonları vardır (10–13). Erişkin bir erkekte yaklaşık 3–4 gram demir bulunur. Sağlıklı erişkin bir erkekte organizmadaki demir dağılımı ve döngüsü Şekil 2.1’de görülmektedir. Organizmadaki demirin % 60–70 kadarı hemoglobin (Hb), % 10 kadarı miyoglobin, sitokromlar ve demir içeren enzimlerin yapısında bulunur. Kalan %20–30’luk kısım ise gereğinde kullanılmak üzere başlıca karaciğer ve retiküloendotelial sistem (RES) makrofajlarında depolanır.



Şekil 2.1. Sağlıklı erişkin bir erkekte demir dağılımı ve döngüsü

Demir, vücutta sıkı bir şekilde korunmaktadır. Günlük demir kaybı 1–2 mg olup, bu kayıp gastrointestinal sistem (GİS) ve deriden dökülen epitelyal hücreler ve kadınlarda menstrüel

kanamalar yoluyla olmaktadır. Bunun dışında organizmadan demir atılımını sağlayan fizyolojik bir mekanizma yoktur. Batı diyetleri günlük ortalama 10–20 mg demir içerir, ancak bunun sadece 1–2 mg'ı barsaktan emilerek günlük kaybı karşılar. Bunun dışında organizmada gerekli olan demirin çoğu, mevcut demirin yeniden kullanımıyla sağlanmaktadır. Eritrositlerin her gün yaklaşık %1'i makrofajlar tarafından fagosite edilmekte ve bu yolla yaklaşık 20–25 mg demir makrofajlara geçmektedir. Diyetle alınan demir ile makrofajlardan sağlanan demir kanda transferrin (Tf) ile taşınarak büyük oranda kemik iliğine ulaştırılmaktadır. Plazma Tf kompartmanında göreceli olarak az miktarda (~ 3 mg) demir bulunmaktadır, ancak bu demir sürekli hareket halinde olup birkaç saat içinde yenilenmektedir.

Demir işlevleri, taşınması ve depolanması sırasında hücrelerde ve vücut sıvılarında daima iki oksidasyon formu olan ferrik ( $Fe^{+3}$ ) veya ferröz ( $Fe^{+2}$ ) şekilde bulunur. Demirin bu redoks aktivitesi, organizmaya bir taraftan gerekli ve yararlı iken, fazlalığı zararlıdır. Demir fazlalığında oluşan serbest demir, serbest oksijen radikallerinin yapılmasına yol açar. Antioksidanlar tarafından yeteri kadar temizlenemeyen serbest oksijen radikalleri, özellikle de hidroksil radikaller, hücreler için son derecede zararlıdır. Bu nedenle organizma demiri hiçbir zaman serbest halde bırakmamaya çalışır. Demirin organizmadaki miktarı ve dengesi büyük oranda üst ince barsaktan emiliminin ve makrofajlardan salınımının kontrolü ile sağlanmaktadır (14).

### **2.1.1. Demir Emilimi**

Diyetteki demir, Hb ve miyoglobinden elde edilen, et kaynaklı organik Hem demiri ve et dışı kaynaklardan alınan inorganik demir olmak üzere iki şekilde bulunur. Hem demiri ve inorganik demirin ince barsaktan emilim yolları birbirinden farklıdır.

#### **2.1.1.1. Hem Demirinin Emilimi**

Vücut depo demirini sağlamada et kaynaklı Hem demiri çok önemli yer tutar. Batılı ülke diyetleri 1/3 oranında et içermesine rağmen, buradaki insanlar günlük demir gereksiniminin 2/3'ünü Hem demirinden karşılarlar. Çünkü diyetle alınan hem demirinin %30 kadarı emilmektedir. Bu nedenle bu ülkelerde demir eksikliği görülme oranı düşüktür. Ette bulunan Hb barsakta enzimlerle Hem ve globine ayrılmakta, globin yıkım ürünleri Hem ve inorganik demiri çözünür halde tutarak emilimi kolaylaştırmaktadır. Hem demirin emilimi için, inorganik demir için gerekli olan düşük duodenal pH ve emilimi kolaylaştıran askorbik asit, sitrik asit

gibi faktörlere gereksinim yoktur. Hem demiri besinlerde bulunan demir bağlayıcılarından da etkilenmez. Sadece kalsiyumun emilimi olumsuz olarak etkilediği gösterilmiştir.

Hem demiri ferröz ( $Fe^{+2}$ ) formda olup, demir eksikliği olduğunda emilimi 2–3 kat artmakta, duodenal enterositlere *hem taşıyıcı protein (HCP) 1* denilen ve yeni keşfedilen özel bir taşıyıcı ile girmektedir (Şekil 2.2) (15). Demir metabolizmasında ve demir eksikliğinde önemli yeri olan bu proteinin bakteriyel metal-tetrasiklin taşıyıcısının benzeri olduğu, en çok duodenumda üretildiği ve hipoksiye duyarlı olduğu gösterilmiştir. Enterosite alınan Hem demiri, plazmaya geçiş için inorganik demirle aynı yolu kullanmaktadır.

### 2.1.1.2. İnorganik Demirin Emilimi

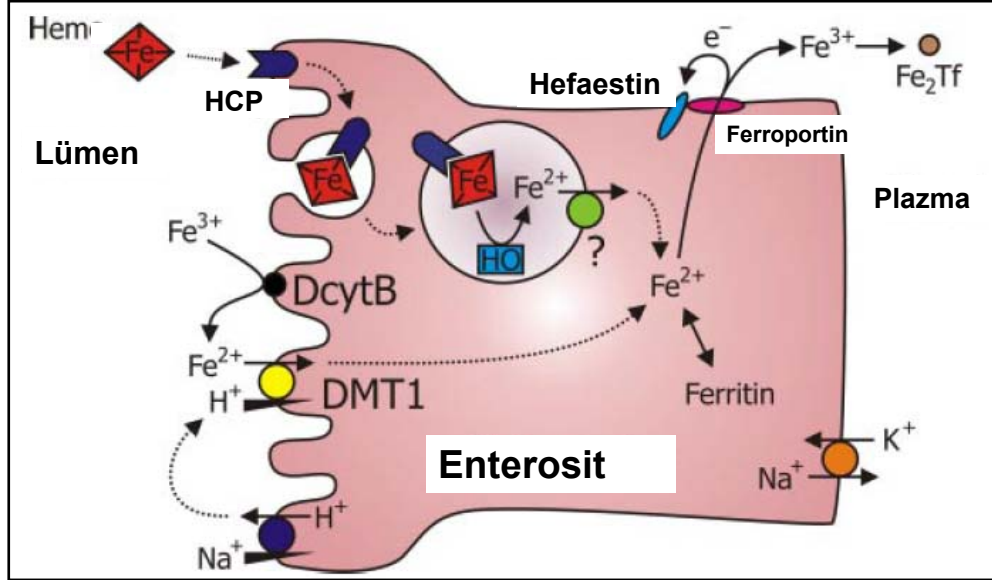
Besinlerle alınan Hem dışı demirin çoğu ferrik ( $Fe^{+3}$ ) demir şeklinde olup, ferritin ve fitatlarla birlikte makromoleküler demir kompleksi şeklinde bulunur. Enterosite alınımı için lümen içi pH'yı düşüren mide asiditesine gereksinim vardır. İnorganik demirin emilimi, oldukça karmaşık ve moleküler olarak sıkı kontrol edilen bir sistemle düzenlenmektedir. Emilim için önce ferrik ( $Fe^{+3}$ ) demirin epitelyal yüzeyde redüktazlar tarafından ferröz şekle ( $Fe^{+2}$ ) indirgenmesi gerekmektedir. Bunların en iyi bilineni membrana bağlı bir redüktaz olan askorbat bağımlı *duodenal sitokrom b (DcytB)*'dir. Ferröz ( $Fe^{+2}$ ) hale gelen demir olgun enterositin lümen bakan yüzeyinde bulunan *divalan metal taşıyıcı (DMT) 1* yoluyla enterosit içine alınır (16). Bu yapı, Hem dışı demirin enterosite alınımını sağlayan en önemli proteindir ve emilim için proton gradiyenti gerektirir. Gerek DcytB'nin gerekse DMT1'in üretimi demir eksikliği durumunda artmaktadır.

Hem ve Hem dışı demir enterosite alındıktan sonra organizmanın demir gereksinimine göre ya hücre içinde ferritin şeklinde depolanır ya da enterositin bazolateral tarafına taşınır. Burada çok önemli bir demir taşıyıcısı olan *ferroportin* [ '*iron regulated transporter 1*' (*IREG1*), metal transport protein 1 ve SLC40A1] ile plazmaya verilir (17–19). Bu işlem sırasında seruloplazmin benzeri bir transmembran proteini olan *hefaestin*, ferröz ( $Fe^{+2}$ ) demiri yeniden ferrik ( $Fe^{+3}$ ) hale çevirerek plazma Tf'ine yüklenmeye hazır hale getirir. Bunun nedeni kandaki demir taşıyıcısı olan Tf'in ferrik ( $Fe^{+3}$ ) demire afinitesinin çok daha fazla olmasıdır.

Ferroportin barsaktan demir emiliminin doğal kontrol moleküllerindedir. Ferroportin genlerinin homozigot bozukluğu veya yokluğu demirin enterositlerden plazmaya geçişini azaltır veya tamamen durdurur (20). Bunun sonucunda da enterositlerde ağır demir birikimi gelişir. Yine hefaestin eksikliğinde duodenal enterositlerde demir fazlalığı ve demir emilimindeki bozukluğa bağlı hipokrom mikrositer anemi gelişebileceği gösterilmiştir.



Enterosit ömrü yaklaşık iki gün gibi kısa bir süre olduğu için organizmanın ihtiyacı olmayan demir, dökülen enterositlerle kaybedilir. Hem ve Hem dışı demirin enterositte emilimi Şekil 2.2’de görülmektedir.



Şekil 2.2. Enterositten demir emilimi (Kaynak 16’ dan uyarlanmıştır)

### 2.1.2. Demir Döngüsü ve Depolanması

Demir plazmada karaciğerde üretilen bir glikoprotein olan Tf’e bağlanarak taşınmaktadır. Enterositin bazolateral tarafından ferroportin ile dışarı verildikten ve hephaestin ile ferrik ( $Fe^{+3}$ ) hale getirildikten sonra Tf’e bağlanan demir, başta kemik iliği eritrosit öncülleri olmak üzere tüm vücut hücrelerine taşınır. Her Tf molekülü iki tane ferrik ( $Fe^{+3}$ ) demiri güçlü bir şekilde bağlar.

Değişik hücreler demiri farklı yollardan almaktadırlar. Makrofajlardaki demir döngüsü demir metabolizmasının en az anlaşılan konularından birisidir. Yaşam sürelerinin sonunda insan eritrositleri özellikle dalak ve karaciğerde makrofajlar tarafından fagosite edilerek sindirilir ve Hb’den ayrılan demir fagozom membranından DMT1 yoluyla makrofajlara geçer. Makrofajlara geçen demir ya yeniden kullanım için makrofaj ferroportini yoluyla plazmaya verilmekte, ya da makrofaj içinde diğer hücrelerde olduğu gibi ferritin şeklinde depolanmaktadır. Enterositte olduğu gibi, makrofaj dışına demir taşıyan tek molekül ferroportindir. Makrofaj içinde asidik etkiyle ferröz ( $Fe^{+2}$ ) hale gelen demirin, Tf’e yüklenebilmesi için plazmaya verilmeden tekrar ferrik ( $Fe^{+3}$ ) hale getirilmesi gereklidir. Bu oksidasyon işini plazmada bakır bağlayan bir ferooksidaz olan ve karaciğerde sentezlenen

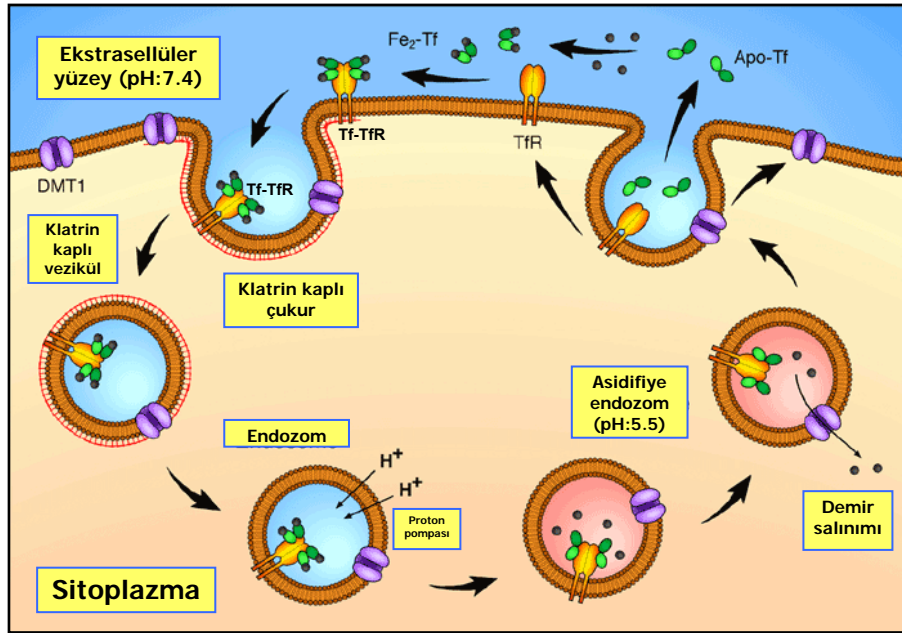
seruloplazmin yapmaktadır. Seruloplazminin ferroportinle doğrudan ilişkisinin olup olmadığı hala açık değildir (10). Seruloplazmin eksikliği olan hastalarda makrofajlardan demir salınımında bir yetersizlik, buna bağlı orta düzeyde anemi ve makrofajlarda orta derecede demir birikimi olmaktadır. Bu da seruloplazminin oksidasyon işleminde kısmi görev aldığını düşündürmektedir. Bunun yanında ferroportin makrofaj demir döngüsünde zorunludur ve ferroportin eksikliği olan farelerde şiddetli anemi ile makrofajlarda şiddetli demir birikimi gözlenmektedir (20).

Bunların dışındaki tüm hücreler, demiri yüzeylelerinde bulunan transferrin reseptörünü (TfR) kullanarak plazma Tf'inden almaktadır. Normal şartlarda Tf'in demirle saturasyonu yaklaşık % 30 oranındadır. Transferrinin demir bağlama kapasitesi tamamen dolduğunda plazmada Tf'e bağlı olmayan serbest demir oluşur. Bu demir özellikle karaciğer ve kalp hücrelerine kolaylıkla girebilir ve hücresel düzeyde hasar oluşturabilir. Hepatositler TfR ile portal dolaşımdan alıp depoladıkları demiri gerektiğinde ferroportin yardımıyla tekrar dolaşıma verirler. Hepatositlerin diğer hücrelere göre serbest demiri alım hızları daha fazladır ve diğer hücrelere göre göreceli daha düşük ferroportin içerikleri nedeniyle demir depolanmasında ana bölge haline gelmişlerdir (19).

Plazmadaki diferrik Tf ( $Fe_2$ -Tf veya holotransferrin), hücrenin membranında bulunan ve hücre içi demir gereksinimine göre belirlenmiş miktardaki TfR'ne bağlanarak hücre içine geçmektedir. Oluşan Tf-TfR kompleksi hücre içine alınmakta ve bir endozom oluşmaktadır. Bu endozomun içindeki pH, proton pompası yardımıyla endozom içine alınan hidrojen ( $H^+$ ) iyonları tarafından düşürülmektedir. Asidik etkiyle Tf demirden ayrılmakta ve ferrik ( $Fe^{+3}$ ) demir tekrar ferröz ( $Fe^{+2}$ ) şekline redükte edilmektedir. Demirin endozomal membrandan sitoplazmaya geçişi ise DMT1 yoluyla olur (Şekil 2.3). Sitoplazmadaki demir ya mitokondride Hem sentezinde, ya da diğer metabolik işlerde kullanılır. Gereksinim fazlası demir ise ferritin şeklinde depolanır. Demirini hücre içine bırakmış apotransferrin (apoTf)-TfR kompleksi tekrar hücre yüzeyine gönderilir ve Tf yeniden kullanılmak üzere plazmaya salınır (Şekil 2.3).

Transferrin reseptörü disülfid bağları ile bağlı iki subünitten oluşmuştur. İki ayrı genle kodlanan iki farklı tür TfR vardır (TfR1 ve TfR2). Bunlardan TfR1 duodenal kript bazolateral membranında ve demiri transferrinden alan tüm hücrelerde (özellikle de kemik iliği eritroid öncüllerinde) bulunurken, TfR2 ençok karaciğerde, kan hücrelerinde ve duodenal kript hücrelerinde bulunur. Karaciğere demir depoları ile ilgili sinyalleri iletmede TfR2 önemli rol oynar. Transferrin reseptörünün ekstrasellüler parçası serumda bulunur. Serum TfR'nün kaynağı olgunlaşan eritrositlerden dökülen TfR olduğu için, serum TfR ölçümü direkt olarak

organizmanın demire olan ihtiyacını, plazma demir döngüsü ve eritropoetik aktivite düzeyini öngörmek amacıyla kullanılabilir.



Şekil 2.3. Hücreye demir alımı ve transferrin döngüsü

### 2.1.3. Organizmada Demir Dengesi

#### 2.1.3.1. Hücre İçi Demir Dengesi

Demirin hücre düzeyinde taşınması, depolanması, kullanımı ile ilgili tüm ana proteinlerin (TfR1, DMT1, ferritin, ferroportin, delta aminolevulinik asit sentetazın) üretimi, hücre içi demir miktarına göre ilgili proteinlerin haberci RNA (mRNA)'ları üzerinden düzenlenmektedir (21–23). Bu düzenleme sitoplazmada bulunan ve hücre demir düzeyini algılayan bir protein olan 'iron responsive protein' (IRP) tarafından yapılmaktadır (16, 21, 22, 24–28). Bu protein, demir metabolizmasıyla ilgili diğer proteinlerin mRNA'ları üzerindeki 'iron responsive element' (IRE) denilen, 30 nükleotidlik bir bölgeye bağlanarak iş yapar (16, 29). İki farklı moleküler formda IRP vardır (IRP1 ve IRP2) ve her ikisi de IRE'lere yüksek oranda bağlanma özelliğine sahiptir.

Ferritin, ferroportin ve delta aminolevulinik asit sentetaz mRNA'larının IRE motifleri 5' bölgesindeki kodlanmayan kısımdadır. Transferrin reseptör 1 ve DMT1 gibi demirin hücreye alınımında yer alan proteinlerin IRE bölgeleri ise ilgili proteinlerin mRNA'larının 3' bölgesinde bulunurlar. IRP/IRE bağlanması, 3' veya 5' bölgesinde oluşuna göre tamamen farklı sonuçlara yol açar. Bu bağlanma mRNA'nın 3' bölgesinde gerçekleşirse mRNA'nın stabilitesi artar, dolayısıyla ilgili proteinlerin (TfR1, DMT1) üretimi artar. Eğer bu bağlanma 5'

bölgesinden gerçekleşirse mRNA'nın stabilitesi azalır, sonuç olarak da ilgili proteinlerin (ferritin, ferroportin ve delta aminolevulinik asit sentetaz) üretimi azalır. Hücre içinde demir eksikliği olduğunda IRP1 ve IRP 2 aktif halde olup IRE'lere bağlanır. Demir fazlalığında ise IRP1 şekil değiştirerek akonitaz haline gelerek, IRP2 ise parçalanarak IRE'lere bağlanamaz hale gelir. Sonuç olarak; IRP/IRE bağlanması TfR1 ve DMT1'in yapımını artırırken, ferritin, ferroportin ve delta aminolevulinik asit sentetazın yapımını azaltır. Bunun net sonucu hücreye demir alımının artması, demirin plazmaya verilmesinin azalması ve hücre sitoplazmasında demir düzeyinin artmasıdır. Hücresel demir fazlalığında ise IRP'ler IRE'lere bağlanamayacağı için TfR1 ve DMT1 mRNA stabilitesi azalıp yıkımı artacak, ferritin ve ferroportin mRNA'larının ise stabilitesi artıp üretimi artacaktır. Bunun sonucunda ise hücreye demir alımı dururken, sitoplazmadaki demir ya depolanacak ya da ferroportin yoluyla plazmaya verilecektir. Fizyolojik önemi tam bilinmemekle birlikte IRP2 mutasyonunda hipokrom mikrositik anemiyle karakterize demir metabolizması bozukluğu ve geç dönem nörodejeneratif bozukluklar geliştiği gösterilmiştir (30,31).

### **2.1.3.2. Sistemik Demir Dengesi**

Normal şartlarda vücudun demir düzeyini, ince barsaktaki kriptlerde bulunan, henüz lümeden demir emilimi yapamayan kript hücreleri algırlar ve bu safhadayken, 1-2 gün sonra olgun enterosit haline geldiklerinde ne düzeyde demir emilimi yapacakları konusunda programlanırlar (32). Bu işlemde önce kriptik enterositteki HFE (HLA-H), bazolateral taraftaki plazma TfR1 ile ilişkiye geçerek organizmanın demir durumunu algılar. Sonra organizmadan kript içine yansıyan demir düzeyine göre IRP/IRE sistemi kullanılarak kript yüzeyindeki DMT1 miktarı belirlenir. Kriptik enterosit 2-3 gün içinde olgun enterosit haline geçerken villus yüzeyine doğru ilerler. Bu yüzeye geldiğinde, kriptik enterosit formundayken edindiği DMT1 miktarına göre hücre içine demir alımı gerçekleşir. Otozomal resesif mutasyonlara ikincil HFE eksikliğinde kript içinde demir eksikliği oluşur ve kript eksik demire göre programlanarak hücre yüzeyinde fazla DMT1 sentezlenir. Bu kript olgun enterosit haline geldiğinde, üretilen fazla miktardaki DMT1 nedeniyle hücre içine fazla demir alır. Demir miktarının artışına bağlı olarak IRP/IRE bağlanması bozulur ve ferroportin üretimi artarak demir plazmaya verilir. Sonucunda erişkin tipi olan ve en sık görülen klasik hemokromatozis gelişir.

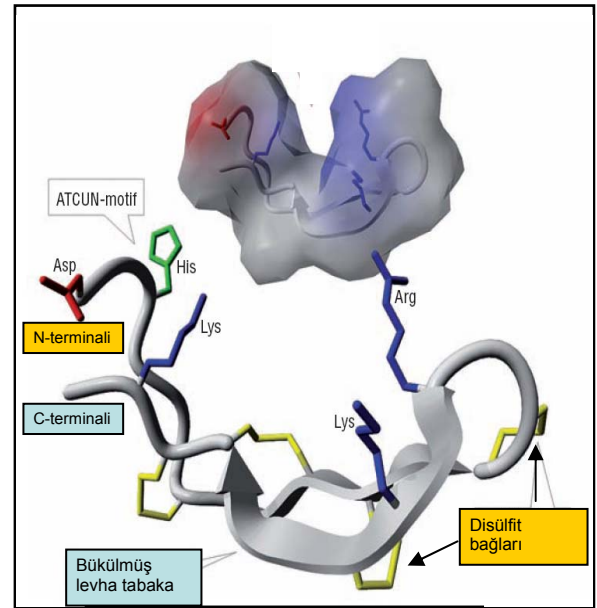
Tüm çalışmalarda organizma sistemik demir dengesinin asıl olarak iki düzenleyici tarafından kontrol edildiği ileri sürülmektedir. Bunlar eritropoetik düzenleyici ve depo düzenleyicisidir (2,

10, 11, 13, 23). Eritropoetik düzenleyicinin, hangi molekülün aracılık ettiği henüz kesin gösterilmemiş olmasıyla birlikte kemik iliğinden gelen sinyallerle çalıştığı öne sürülmektedir. Eritropoetik aktivitenin çok arttığı durumlarda kemik iliğindeki demir ihtiyacını karşılamak için depolar dolu bile olsa barsaktan demir Emilimi artmaktadır. Depo düzenleyicisi ise karaciğer, iskelet kası ve dolaşan kandaki demir miktarı azaldığında, bunu algılayarak barsaktan demir Emilimini artırmaktadır. Eritropoetik düzenleyici, aktif demir Emilimini depo düzenleyicisine göre 20 kat daha fazla etkilemektedir. Bu iki düzenleyiciye ek olarak organizma sistemik demir dengesi üzerine etki eden diğer faktörler inflamasyon ve hipoksidir (2, 10, 11, 13, 23).

Hepsidin keşfinden ve bu hormonun demir metabolizmasındaki önemi anlaşıldıktan sonra sistemik demir metabolizması yoğun bir şekilde tekrar gözden geçirilmeye başlanmış ve bu konuda pek çok bilinmeyen olduğu anlaşılmıştır.

#### 2.1.4. Hepsidin

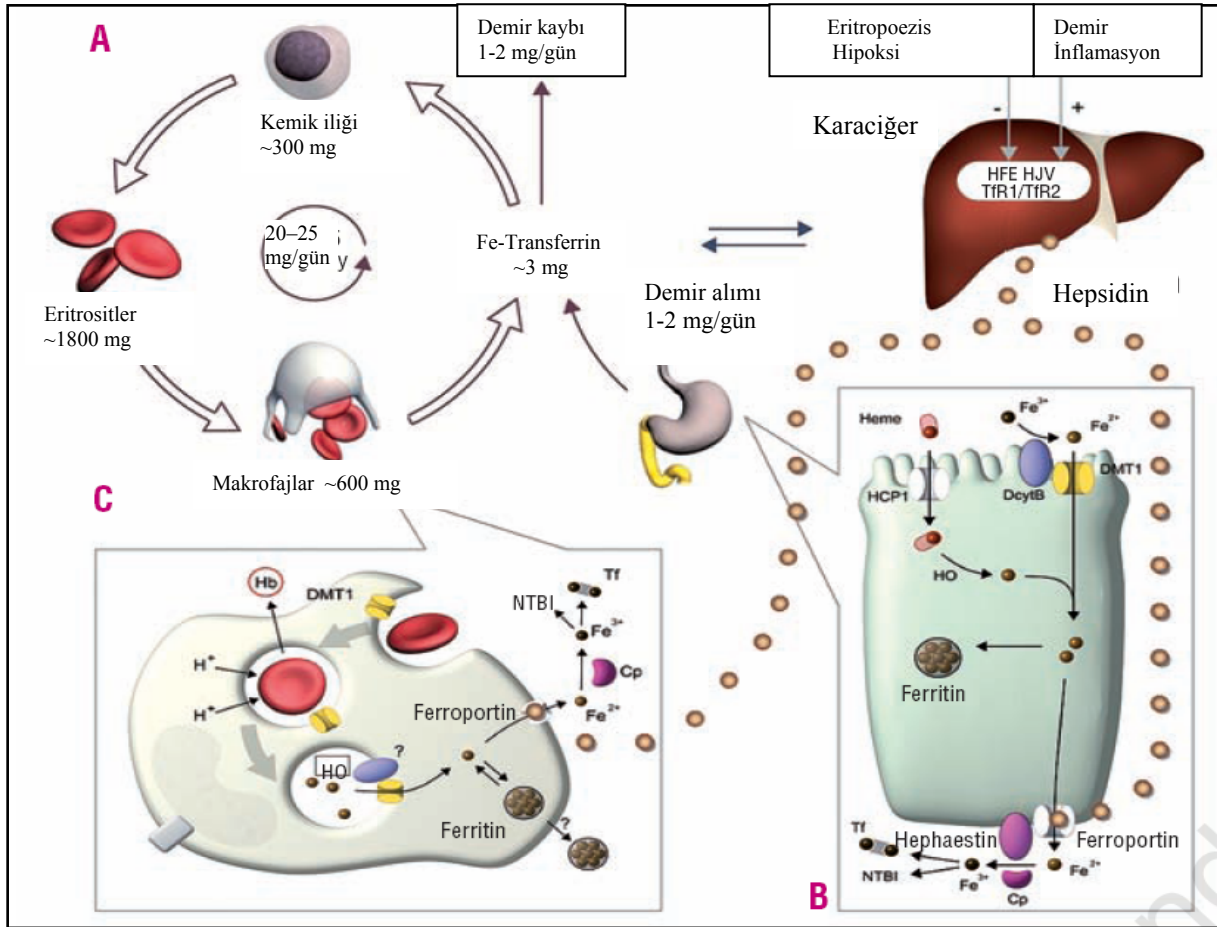
Hepsidin, ağırlıklı olarak karaciğerde sentezlenen, biyoaktif formu 25 aminoasitten oluşan, 2-3 kDa molekül ağırlığında, sistein içeriği yüksek, disülfid köprüleri içeren, saç tokası şeklinde yapısı olan (Şekil 2.4), demir metabolizmasının düzenlenmesinde anahtar rol oynayan, aynı zamanda antibakteriyel ve antifungal aktivitesi de bulunan, küçük katyonik bir peptid hormondur (1-6). Hepatositlerde 84 aminoasitlik pre-propeptid (pre-prohepsidin) şeklinde sentezlenir. Pre-prohepsidin N-terminalinden bir parça ayrılarak hepsidin oluşmaktadır. İlk olarak



Şekil 2.4. Hepsidin yapısı  
(Kaynak 2'den uyarlanmıştır)

2000 yılında karaciğerden salgılanan antimikrobiyal bir peptid (*'liver-expressed antimicrobial peptide'* LAEP-1) olarak tanımlanmış, hemen ardından hem karaciğerde sentezlendiği hem de antimikrobiyal etkisi olduğu için "hepsidin" olarak adlandırılmıştır (1, 33). Çok az miktarda böbrekte de yapıldığı gösterilmiştir (34). Geni, kromozom 19q13.1 bölgesinde bulunan HAMP (*'hepcidin antimicrobial peptide'*; MIM# 606464) genidir (2). Sistemik demir metabolizmasındaki işlevini barsaktan demir Emilimi ve makrofajların demir salınımının düzenlenmesi yoluyla yapmaktadır (Şekil 2.5). Antimikrobiyal etkisini ise mikroorganizma

membranında hasar yaparak ve inflamasyonda serum demirini düşürüp mikroorganizmalara uygunsuz bir çevre oluşturarak göstermektedir.



**Şekil 2.5. Hepsidin sistematik demir metabolizmasındaki işlevleri**  
(Kaynak 2'den uyarlanmıştır)

Farelere sentetik hepsidin enjekte edildiğinde 1 saat içinde hipoferremi meydana gelmektedir (5). Hepsidin ince barsaktan demir emilimini azaltır, makrofajlar tarafından yaşlı eritrositlerden alınan demirin plazmaya çıkışını ve karaciğerdeki depolardan demir hareketini engeller. Hepsidin eksikliği ve aşırı salınımı durumlarında meydana gelen değişiklikler transgenik fare modellerinde ve insanlardaki hastalıklarda araştırılmıştır (35-39). Hepsidin tam eksikliği demir emiliminde artış ve aşırı demir depolanması görülen juvenil hemakromatozis hastalığına yol açmaktadır. Hepsidin aşırı salınımı durumlarında ise yüksek ya da normal demir içeren diyet alınmasına rağmen demir emilimi azaldığı için ağır demir eksikliği anemisi (DEA) meydana gelmektedir.

Hepsidin vücuttan atılımı idrarla olur. İdrarda ağırlıklı olarak 25 aminoasitlik biyoaktif formunun yanında inaktif 20 ve 22 aminoasitlik formu ile çok az miktarda aktif yıkılım

ürünleri saptanmaktadır (1, 6). Hepsidin vücuttan atılımı böbrek yetmezliğinde azalır (40). Çok küçük yapıda olduğu için hemodiyalizle etkili biçimde temizlenebilir (33, 40).

#### **2.1.4.1. Hepsidin Ferroportin İlişkisi**

Ferroportin demirin hücreden plazmaya geçişini ve bir ferooksidaz olan hefaestin yardımıyla plazmadaki Tf'e bağlanarak taşınmasını sağlayan tek membran proteindir (20). Ferroportin özellikle duodenumda olmak üzere en çok ince barsaklarda, hepatositlerde, makrofajlarda, embriyonik ve plasental hücrelerde bulunur.

Vücuttaki demir yoğunluğuna paralel olarak artan hepsidin ferroportine bağlanarak, bu yapının hücre içine alınıp lizozomlarda yıkımına, dolayısıyla hücre membranından kaybına yol açar. Ferroportinin hücre yüzeyinden kaybı, demirin hücreden plazmaya geçişini engeller. Bunun sonucunda ince barsaktan demir emilimi azalır, makrofajlarda ve enterositlerde demir birikimi artar, plazmaya daha az demir geçer, Tf saturasyonunda azalma olur ve eritropoeze ayrılan demir miktarı azalır. Ferroportin mutasyonları otozomal dominant kalıtmıli hemakromatosis tip 4'e yol açar (41–43).

Ferroportinle ilgili farklı sonuçlara yol açan mutasyonlar tanımlanmıştır. Bunlardan birinde makrofaj membranında tam ferroportin eksikliği olmakta, hepsidin direnci oluşmakta ve makrofaj tipi demir birikimi gelişmektedir. İkinci tip mutasyonda ise ferroportin içeren tüm hücrelerde, ağırlıklı olarak da makrofajlarda hepsidin/ferroportin bağlanması olur, ancak ferroportin hücre içine alınıp parçalanamaz. Bu hastalıkta parankimal demir birikimi görülür. Ferroportinin hepsidinle bağlanmasıyla ilgili otozomal dominant mutasyonlar da bildirilmiştir (44, 45). Bu tip mutasyonlarda sistemik demir yüklenmesinin yanında hepsidin eksikliği de görülmektedir. Özetle organizmada plazma demir miktarı çok sıkı kontrol edilmekte ve belirli bir aralıkta tutulmaktadır (10–30 µmol/L). Sistemik demir dengesinin sağlanmasında hepsidin ve ferroportin ilişkisi anahtar öneme sahiptir (Bkz. Şekil 2.5).

#### **2.1.4.2. Hepsidin Üretiminin Düzenlenmesi**

Eritropoetik aktivite artışı, hipoksi, organizma demir depolarının azalması durumlarında karaciğer hepsidin üretimi baskılanırken organizmaya demir yüklenmesi ve inflamasyon durumlarında hepsidin üretimi artmaktadır (3, 46–50).

### ***Hepsidin Üretimini Düzenlenmesinde İnflamasyon***

İnflamasyon ister akut, isterse kronik olsun hipoferrami ile sonuçlanmaktadır. Buna neden olan faktörlerden en önemlisi bir akut faz proteini de olan hepsidindir. Özellikle interlökin (İL)-6'nın hepsidin yapımını arttırdığı, İL-6'nın bloke edilmesinin ise bu yapımı azalttığı gösterilmiştir. Genetik olarak İL-6 eksikliği oluşturulmuş farelerde endotoksin verilmesi sonucunda hepsidin artışının ve akut hipoferramik cevabın olmadığı görülmüştür (46). İnterlökin-6/İL-6 reseptörü ilişkisi sonrası hücre içi sinyal iletim sistemi faaliyete geçmekte, bu sistemde görevli protein tirozin kinazlardan önce janus kinaz (JAK), ardından 'Signal transducer and activator of transcription' (STAT) fosforile olarak aktive olmakta bunlardan özellikle STAT 3, HAMP geninin promotor bölgesini uyararak hepsidin üretimini arttırmaktadır (46, 51-54). STAT3 artışı İL-6 artışı olmadan da hepsidin düzeylerinde artışa yol açmaktadır. Yine STAT3'ün baskılandığı durumlarda hepsidin sentezi gerçekleşmemektedir. Bu da STAT3'ün inflamasyondaki hepsidin artışında önemli rol aldığını göstermektedir. Bazı malign hastalıklarda İL-6 artışı olmadan STAT3 aktivasyonu olmakta ve bu da hepsidini arttırarak bu hastalarda anemiye neden olmaktadır. Fare hepatositlerinde yapılan deneyler, İL-1'in de İL-6 gibi direk hepsidin düzenleyicisi olduğunu göstermiştir (55).

### ***Hepsidin Üretimini Düzenlenmesinde Kemik Morfogenetik Protein Yolu***

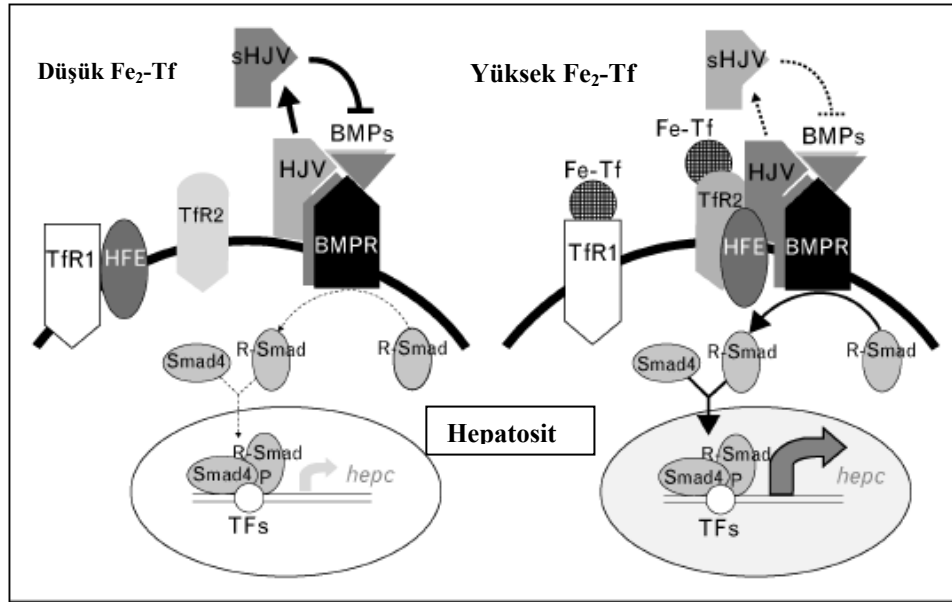
Hepsidin üretimi ve düzenlenmesinde diğer bir kritik yol kemik morfogenetik protein (BMP) yoludur (47, 56-58). Kemik morfogenetik proteinler 'transforming growth factor beta' (TGF- $\beta$ ) ailesinden otokrin hormonlardır. Hücre çoğalmasında, farklılaşmasında, apoptoziste ve dokulara migrasyonda önemli düzenleyici rol oynarlar (59). Özellikle de kalp, nöron ve kıkırdak farklılaşmasında kritik rol alırlar.

Kemik morfogenetik proteinler, tip I ve tip II BMP reseptörlerine bağlandığında R-Smad denilen hücre içi proteininin fosforilasyonu gerçekleşir. Ardından Smad4 aktive olarak hücrenin çekirdeğine girer ve oradaki hedef geni olan HAMP genini aktive eder (Şekil 2.6, Şekil 2.7). Karaciğere özgü Smad4 inaktivasyonu yapılan farelerde tıpkı hepsidin geni çıkarılmış farelerde olduğu gibi hepsidin mRNA'sı dramatik olarak azalmakta ve ağır demir birikimi görülmektedir (58). Bu farelerde demir yüklenmesi ve İL-6 injeksiyonuna hepsidin cevabının yetersiz olduğu da gösterilmiştir. Bununla birlikte İL-6<sup>-/-</sup>, HFE<sup>-/-</sup> ve TfR2 mutant farelerin karaciğerlerinde BMP yoluyla gerçekleşen hepsidin uyarısı normaldir. Bu da BMP'nin hepsidini etkilemesi için bu yollara gereksinimi olmadığını göstermektedir (57). Kemik morfogenetik protein 2, 4, 5, 6, 7 ve 9'un in vitro karaciğer hücrelerinde hepsidin üretimini arttırdığı gösterilmiştir (60).



Kemik morfogenetik proteinlerin hücrede etkisini gösterebilmesi için koreseptörlere gereksinimi vardır. İskelet kası, kalp kası ve karaciğerde sentezlenen hemojüvelin (HJV) (HFE2 olarak da bilinir), BMP nin demire özgül koreseptörüdür. Hemojüvelin ‘*Repulsive Guidance Molekül*’ ailesinin bir üyesi olup sisteinden zengindir. Nöronal farklılaşma, migrasyon ve apoptoziste rol alırlar. Hemojüvelin iki şekilde bulunmaktadır: Birincisi hücre membranına bağlı şekil olup BMP’yi uyararak hepsidin yapımını arttırırken, ikincisi solubl (sHJV) şekil olup BMP’yi baskılar ve hepsidin yapımını azaltır (Şekil 2.6) (56, 61–63). Solubl HJV düzeyi organizma demir durumundan etkilenmektedir. Plazma demir düzeyinin yüksek oluşu sHJV’yi azaltırken, demir eksikliği sHJV düzeylerini arttırmaktadır (61,63).

Membran HJV mutasyonunda BMP sinyali azalır ve hepsidin geni yokluğundaki gibi erken yaşta başlayan hemakromatozis ortaya çıkar (56, 64–66). Çalışmalarda HJV ile hepsidin düzeylerinin paralellik göstermesi, HJV’nin demir yüklenmesine cevapta hepsidin kadar kuvvetli bir aracı olduğunu düşündürmektedir. Rekombinant sHJV verilmesinin in vivo ve in vitro olarak hepsidin sentezini azalttığı, bunun sonucunda ferroportinin arttığı, dalak demir depolarının mobilize olduğu ve serum demir düzeyinin arttığı gözlenmiştir.



**Şekil 2.6. Hepsidin üretiminin demir miktarıyla düzenlenmesi**  
(Kaynak 47’den uyarlanmıştır)

### ***Hepsidin Üretimini Düzenlenmesinde Demir***

Canlılara oral veya parenteral demir verilmesi hepsidin uyarılmasıyla sonuçlanmaktadır. (3, 46). Bu uyarılma normal plazma demir düzeylerine erişinceye kadar devam etmektedir. Plazma demir yüksekliği ve dokulardaki demir depolarının artışı hepsidin sentezini arttırmaktadır. Cevap olarak hepsidin de yükselmekte, demirin enterosit ve makrofajlardan plazmaya salınımını azaltmaktadır. Demire hepsidin cevabının gelişmesindeki detaylar hala tam bilinmemektedir. Ancak son çalışmalar plazma Fe<sub>2</sub>-Tf yoğunluğunun hepsidini düzenlemede önemli rolü olduğunu göstermektedir. İn vitro ortamda Fe<sub>2</sub>-Tf, hepatositlerde hepsidin mRNA'sını doza bağımlı olarak arttırmaktadır (62). Tek doz demir verilen insanlarda üriner hepsidin ve Tf saturasyonunun arttığı gösterilmiştir. Sistemik demir durumundaki değişiklikler serum Tf saturasyonunda değişikliğe neden olmakta, bu da hepatositlere Fe<sub>2</sub>-Tf tarafından yansıtılmakta ve demir durumunun algılanmasını sağlamaktadır.

Fe<sub>2</sub>-Tf organizmanın demir durumunu nasıl algılar? Bunu sağlayan araçların TfR2 ve HFE/TfR1 kompleksi olduğu gösterilmiştir (Bkz. Şekil 2.6) (67–70). Demir miktarı algılayıcısı olan HFE demir eksikliği durumunda TfR1 ile etkileşmekte, ancak bu komplekse Fe<sub>2</sub>-Tf bağlandığında HFE serbestleşmektedir (67–73). Plazma Fe<sub>2</sub>-Tf miktarı arttığında, HFE TfR1'den ayrılarak TfR2 ile etkileşime girmektedir (67). HFE ve TfR2 kompleksi membrandaki HJV'yi sabitleştirmekte ve sHJV miktarı azalmaktadır. Böylece sHJV'in BMP üzerindeki inhibisyonu oluşmamakta ve BMP yolağı aktif hale gelerek hepsidin üretimini arttırmaktadır. Dolayısıyla artmış plazma Fe<sub>2</sub>-Tf yoğunluğunun HFE, TfR2, HJV, BMP'ler ve BMP reseptörlerinden oluşan kompleksi uyararak BMP sinyalizasyonunu ve hepsidin mRNA üretimini arttırdığı kuvvetle düşünülmektedir (Şekil 2.6) (47).

HFE veya TfR2 mutasyonları hepsidin eksikliğine yol açarak erişkin tip hemokromatozise neden olmaktadır (64, 73–75). Aynı zamanda HFE ilişkili herediter hemokromatozis (C282 homozigot ve C282/H63D heterozigot) olan hastalarda demir alımına hepsidin artışının kontrole göre yetersiz olduğu da gösterilmiştir (71).

### ***Hepsidin Üretimini Düzenlenmesinde Anemi ve Eritropoezis***

Demir eksikliği anemisi, infektif eritropoezisle giden herediter anemiler, kanama ve hemoliz durumlarında hepsidin düzeyi düşmektedir (76–79). Anemi birden fazla mekanizmayla hepsidini baskılayabilmektedir (47). Bunlar aneminin kendisi, karaciğerdeki hipoksi, eritropoetin ve eritropoetik aktivitenin artışı ve demir yararlanımının artmasıdır. Pak ve ark. (80), kanama ve eritropoetin (EPO) verilmesiyle hepsidin baskılanma mekanizmasını çeşitli

ajanlarla eritropoezisi inhibe ederek incelemişlerdir. Eritropoezisin inhibe edilmesinin, kanama ve EPO verilmesiyle oluşan hepsidin baskılanmasını önlediği, çelişkili olarak anemiye rağmen hepsidinin arttığı tespit edilmiştir. Bu çalışmanın sonuçları hepsidin üretiminin, anemi ve hipoksiden bağımsız olarak direk eritropoetik aktivite tarafından düzenlendiğini göstermektedir. Benzer şekilde başka bir çalışmada radyasyon ve eritrosit transfüzyonuna ikincil polisitemi ile eritropoezisin inhibe edilmesi sonrasında hepsidinin dramatik olarak arttığı görülmüştür (50).

Hepsidinin eritropoetik aktivite ile düzenlenmesi, beta talasemi ve konjenital diseritropoetik anemi gibi demir birikimi olan anemilerde önemlidir. Transfüzyon yapılmayan beta talasemi intermediyalı hastalarda yüksek serum ve doku demirine karşılık üriner hepsidin düzeyleri oldukça düşüktür (76, 77, 81, 82). Bu durum eritropoetik aktivitenin hepsidini regüle etme özelliğinin demire göre çok daha yüksek olduğunu göstermektedir. Hepsidinin çok güçlü baskılanması, artmış demir emilimi ve sistemik demir yüklenmesine neden olmakta, talasemi intermediyada olduğu gibi kan transfüzyonu olmasa bile karaciğer ve miyokarda demir birikerek ölümcül hasara yol açabilmektedir (76, 82). Bu hastalarda gelecekte dışarıdan hepsidin verilerek demir birikimi ve buna bağlı hasar önlenabilir.

Gerçekte hepsidini düzenleyen eritropoetik molekülün ne olduğu tam olarak bilinmemektedir. Eritropoezis sırasında eritroblastlardan salgılandığı düşünülen bir veya daha fazla proteinin bu işi yaptığı sanılmaktadır. Yakın zamanda TGF- $\beta$  ailesinden olan kemik iliği kökenli, eritroblast matürasyonu sırasında salınan,  $\beta$ -talasemili hastaların serumlarında çok yüksek düzeyde bulunan '*Growth differentiatin factor*' (GDF) 15'in talasemideki hepsidin baskılanmasına aracılık ettiği bildirilmiştir (83). Talasemili hasta serumlarının insan hepatositlerinde hepsidin mRNA üretimini baskıladığı izlenmiştir. GDF 15'in anti-GDF 15 ile bloke edilmesiyle bu baskılanmanın tam olmasa da kısmen geri döndüğü görülmüştür. Bu sitokinin hepsidin ile ilişkisinin  $\beta$ -talasemi dışındaki eritropoetik aktivite artışıyla giden hastalıklarda daha ayrıntılı araştırılmasına gereksinim vardır.

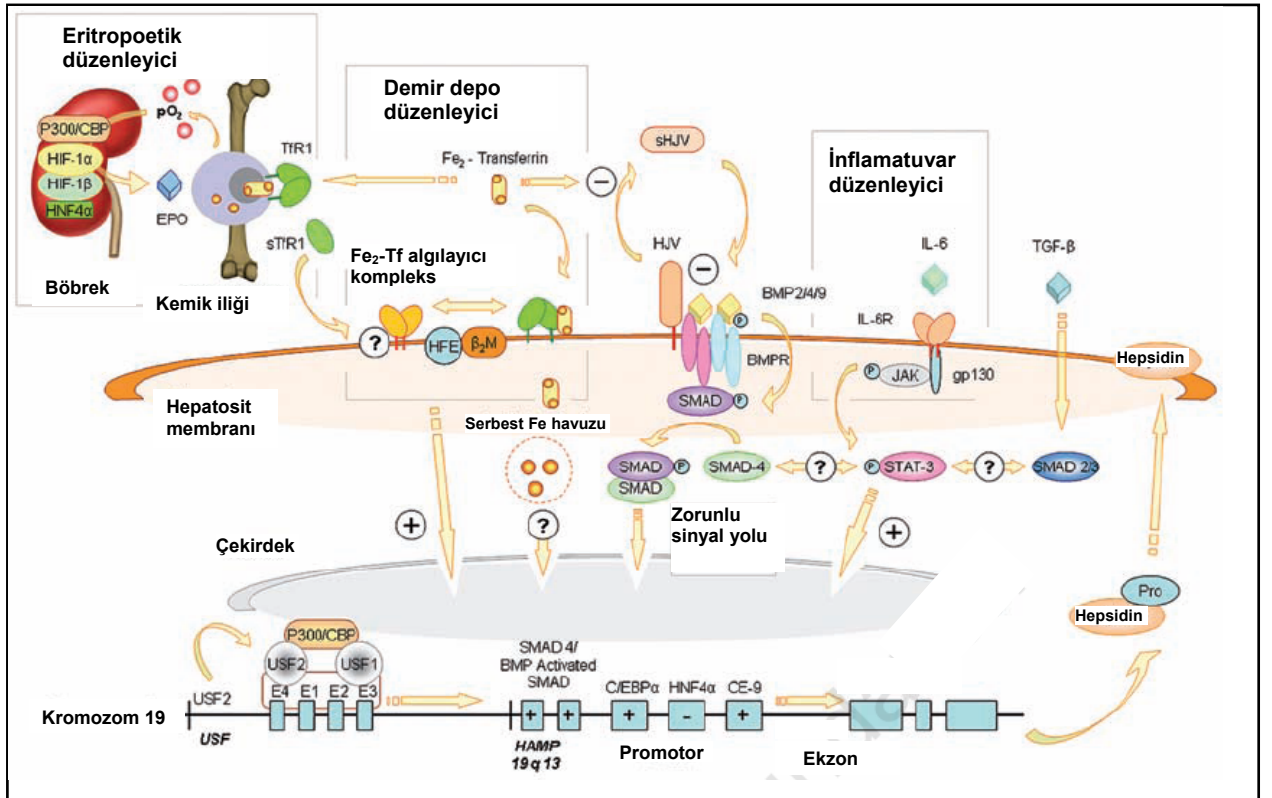
### ***Hepsidin Üretiminin Düzenlenmesinde Hipoksi***

Hipoksik atmosferde bekletilen hepatik hücrelerde hepsidin yapımı azalmaktadır (49, 84). Hipoksinin hepsidini nasıl baskıladığı tam bilinmemektedir. Transkripsiyonel faktörlerden biri olan '*Hypoksia-inducible factor*' (HIF), oksijenle düzenlenen genlerin üretiminde yer alan en önemli araçtır. Peyssonnaux ve ark. (85), farelerde HIF üretiminin arttırılmasıyla hepsidin

mRNA değerlerinin önemli ölçüde düştüğünü göstermişlerdir. Bu ve benzeri çalışmalar, HIF'in in vivo olarak hepsidin üretimini düzenlediğini düşündürmektedir.

Karaciğer dokularında ve kültür hücrelerinde yapılan çalışmalarda, HIF1 fare ve insan hepsidin geni promotorlarına bağlanarak hepsidin üretimini düzenlediği izlenmiştir (84). İn vitro olarak yapılan bir başka çalışmada ise hipoksik ortamda açığa çıkan reaktif oksijen türlerinin de hepsidin baskılanmasıyla ilişkili olduğu düşünülmüştür (84). Reaktif oksijen türlerinin bu etkisini C/EBP ve STAT3 transkripsiyon faktörlerinin hepsidin promotoruna bağlanmasını düzenleyerek yaptığı tahmin edilmektedir (84).

Hepsidin üretiminin kontrolü ve düzenlenmesi Şekil 2.7'de özetlenmiştir.



Şekil 2.7. Hepsidin üretiminin kontrolü ve düzenlenmesi  
(Kaynak 2'den uyarlanmıştır)

### **2.1.4.3. Hepsidin ve Demir Birikim Hastalıkları**

Diyet demirinin kontrolsüz bir şekilde emildiği ve dokularda patolojik demir yüklenmesinin görüldüğü diğer bir hastalık grubu herediter hemokromatozislerdir. Herediter hemokromatozis Tip 1'den HFE, Tip 2a'dan HJV (veya HFE2), tip 2b'den hepsidin molekülünü kodlayan HAMP ve tip 3'den TfR2 genlerindeki otozomal resesif, tip 4'den ise ferroportin genindeki otozomal dominant mutasyonlar sorumludur (7). Tip 4 hariç bunların hepsinde demir fazlalığına rağmen hepsidin eksikliği veya yokluğu, ferroportin mutasyonunda ise hepsidin direnci hemokromatozisin gelişimine neden olmaktadır. Ferroportin mutasyonu hariç hepsinde hastalığın ağırlık derecesi hepsidin düzeyinin ne kadar az olduğuna bağlıdır. En ağır tipleri olan Tip 2a ve Tip 2b juvenil hemokromatozisler olarak adlandırılır. Erişkin tipi hemokromatozise yol açanlar ise Tip 1 ve 3'dür. Hemokromatozisin patogenezinde ana rolü oynayan hepsidin, HFE mutasyonu olan fare modelinde araştırılmıştır. Transgenik düzeltme yapıldıktan ve böylece hepsidin sentezi başlatıldıktan sonra demirin parankimal hücrelerden makrofajlara doğru yeniden dağılımı sağlanmış ve göreceli olarak doku hasarının azaldığı gösterilmiştir (86). Bu da demir birikimiyle giden hastalık gruplarında ileriki dönemlerde geliştirilecek tedavilere ışık tutmaktadır.

### **2.1.4.4. Hepsidin ve İnflamasyon (Kronik Hastalık) Anemisi**

İnflamasyonda normal demir depolarına karşın orta şiddette normokrom normositer anemi ve serum demir düşüklüğü görülmektedir. Kemik iliği makrofajlarındaki demir deposu da normal olan bu hastalarda, akut faz reaksiyonu nedeniyle serum ferritin değeri normal veya artmış bulunmaktadır. İnflamasyondaki bu serum demir düşüklüğü aslında konakçının mikroorganizmalara karşı bir savunma mekanizmasıdır. Burada ana mekanizma, hepsidinin inflamatuvar sitokinlerce (özellikle İL-6) uyarılması sonucunda hepsidin ilişkili ferroportin yıkımının artması, buna ikincil barsaktan demir emilimi ve makrofajlardan demir salınımının azalması ve demirden fakir eritropoezis olmasıdır. (3, 49, 51, 87). Transgenik farelerde aşırı hepsidin yapımı tıpkı inflamasyon anemisindeki gibi demirden fakir eritropoezise ve hipoferremik anemiye neden olmaktadır (36). Bu durum aşırı hepsidin üretimi yapan karaciğer tümürlü insan ve farelerde de böyledir (88, 89). İnflamasyon anemisi olan hastalarda üriner hepsidin düzeylerinin serum ferritini ile paralel olarak arttığı görülmektedir (87). Yine bu hastalarda inflamatuvar sitokinlerin [İL-1, tümör nekrozis faktör (TNF)- $\alpha$ , İL-6 ve interferon (IFN)- $\gamma$ ] hepsidinden bağımsız olarak EPO'yu baskılayarak veya direkt kemik iliği üzerinden eritropoezisi etkileyebildiği gösterilmiştir (90, 91). Bunun yanında hepsidinin demir metabolizmasına negatif etkisi yanında in vitro olarak eritroid öncü hücrelerin çoğalmalarını ve

yaşam sürelerini azalttığı ve eritropoezi bozduğu da gösterilmiştir. Hepsidinden bağımsız mekanizmalarla inflamatuvar sitokinler, ferroportin mRNA düzeylerini toll-like reseptör üzerinden etkileyebilmektedirler (92). Ayrıca infeksiyonlarda oluşan süperoksit ve hidrojen peroksitin de, IRP/IRE bağlanmasını azaltarak demir metabolizmasına olumsuz etki ettikleri bilinmektedir.

Hepsidinin demir metabolizmasını ilgilendiren bazı hastalıklar ve klinik durumlarla ilişkisi Tablo 2.1’de verilmiştir.

**Tablo 2.1. Hepsidinin demir metabolizmasını ilgilendiren bazı hastalıklarla ilişkisi**  
(HH: Hereditör hemakromatozis, OD: Otozomal dominant)

Hastalık	Serum demiri	Ferritin	Tf satürasyonu	Hepsidin
Demir eksikliği	Düşük	Düşük	Düşük	Düşük
İnflamasyon anemisi	Düşük	Yüksek	Düşük	Yüksek
HH tip 1-3	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Düşük
HH tip 4 (bazı OD ferroportin mutasyonları)	Değişken	Yüksek	Normal	Yüksek
HH tip 4 (bazı OD ferroportin mutasyonları)	Değişken	Yüksek (erken yaşlarda düşük)	Çok yüksek	Bilinmiyor
Transfüzyonel demir yüklenmesi	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Yüksek
İnefektif eritropoezisli anemiler	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Düşük
Hipoksi-hemoliz	Yüksek	Yüksek	Yüksek	Düşük

## 2.2. Karaciğer Nakli ve Anemi

Erişkin ve çocuklarda böbrek, kalp ve akciğer nakillerinden sonra kronik anemi sık karşılaşılan sorunlardandır (93–96). Karaciğer nakil alıcılarında yapılan çok kısıtlı sayıdaki çalışmada anemi sıklığı değişkenlik göstermektedir. Erişkinlerde anemi sınırını hemoglobin <9 g/dL olarak alan bir çalışmada bu oran %4.3 iken, anemiyi Dünya Sağlık Örgütü ölçütlerine (Hb kadınlarda < 12 g/dL, erkeklerde < 13 g/dL) göre tanımlayan çalışmalarda bu oran %50’yi bulmaktadır (97–99). Yakın zamanda erişkin karaciğer nakil alıcılarında yapılan bir çalışmada nakil öncesi anemi sıklığı %64 iken, nakil sonrası 6. ve 12. aylarda bu oran sırasıyla %50 ve %47 olarak bulunmuştur (98). Bu çalışmada DEA sıklığı nakil öncesi %14 iken, nakil sonrası 6. ay ve 1. yılda sırasıyla %10.5 ve %8 olarak bulunmuştur. Çocuk hastaları içeren başka bir çalışmada 175 olgunun %28.2’sinde nakil sonrası 6. ayda anemi saptanmıştır (97). Bunların %7.1’inde DEA, %7.1’inde viral infeksiyon ve nakil sonrası lenfoproliferatif hastalık (PTLD)

saptanmış olup %86'sında etken gösterilememiştir. Erişkin hastaları içeren bir çalışmada da hastaların sadece %47'sinde anemi nedeni gösterilebilmiştir (99). Karaciğer alıcılarında anemi nedenleri Tablo 2.2'de özetlenmiştir.

**Tablo 2.2. Karaciğer nakillerinden sonra anemi nedenleri**  
(Anemi sıklığı bilinenler parantez içerisinde belirtilmiştir)

---

1. İlaçlar
a. Bağışıklık baskılayıcı ilaçlar
i. Siklosporin (%1–38)
ii. Takrolimus (%5–47)
iii. Sirolimus (%23–37)
iv. MMF (%7–43)
v. Azatioprin (%29–53)
vi. Antitimosit globulin
vii. Alkilleyici ajanlar
viii. Kortikosteroidler
b. Diğer ilaçlar (nadir) (ko-trimaksazol, IFN- $\alpha$ , dapson, furosemid, kloramfenikol, gansiklovir, steroid olmayan antiinflamatuvarlar)
2. Viral infeksiyonlar (Hepatit virüsleri, CMV, EBV, HIV, PVB-19)
3. Demir eksikliği anemisi
a. Perioperatif kan kaybı
b. Demir depo yetersizliği
c. GİS kanaması (%10)
d. Nutrisyonel eksiklik (%7)
4. Hemolitik anemi
a. İmmün (nadir) (ABO uyumsuzluğu, ilaçlar)
b. Non-immün (G6PD eksikliği, kalıtsal sferositoz, PTLD, Wilson hastalığı, dissemine intravasküler koagülasyon, ilaçlar)
5. Akut kan kaybı
6. İnfeksiyonlar
7. Böbrek yetmezliği (genellikle siklosporin, takrolimus, diyabet ve hipertansiyona bağlı gelişir, EPO eksikliği anemiden sorumlu)
8. Hipersplenizm
9. İzole eritroid aplazi (Azatioprin, MMF, takrolimus, PVB-19 gibi etkenlerle)
10. Aplastik anemi
11. Vitamin B <sub>12</sub> ve folat eksikliği (nadir)
12. Malignansi ve PTLD (nadir)
13. Ağır renal osteodistrofi ve myelofibrozis
14. GvHD (%1 den az)
15. Çok nedenli veya nedeni bilinmeyen (%47-57)

---

Karaciğer naklinden sonra erken dönemdeki aneminin nedenleri sıklıkla kanama, infeksiyonlar, hemoliz, ilaçlar ve diğer tedavi uygulamaları olurken, daha sonraki dönemlerde görülen aneminin nedenleri bağışıklık baskılayıcı ilaçlar, DEA, böbrek yetmezliği, PTLD ve çoğu hastada birden fazla/belirlenemeyen nedenlerdir (9) (Tablo 2.3).

**Tablo 2.3. Karaciğer nakillerinden sonra süreye göre anemi nedenleri**

**0-14 gün:** Kanama, sepsis, ilaçlar ve diğer tedavi uygulamaları, hemoliz

**2-6 hafta:** İlaçlar, aplastik anemi, GvHD, CMV, PVB-19

**>6 hafta:** İlaçlar, demir eksikliği, böbrek yetmezliği, PTLD, çok nedenli/bilinmeyen

Bağışıklık baskılayıcı ilaçlar nakil sonrası geç dönem anemilerin en sık nedenlerindedir. Bu ilaçların çoğunun kemik iliğini baskılayıcı etkisi olup, bunların neden olduğu anemi sıklığı %1–53 arasındadır. *Avrupa Takrolimus Çalışma Grubu*'nun yaptığı geniş bir çalışmada karaciğer alıcılarında siklosporine bağlı anemi sıklığı %1 iken takrolimusa bağlı anemi sıklığı %5 bulunmuştur (100). *Amerika Takrolimus Çalışma Grubu*'nun yaptığı çalışmada ise bu oranlar çok daha yüksek olup siklosporine bağlı anemi sıklığı %38, takrolimusa bağlı anemi sıklığı ise %47 bulunmuştur (101). Sık kullanılan bağışıklık baskılayıcılarından bir diğeri olan MMF'in % 4–7 oranında anemi yapıcı etkisi saptanmıştır (102). Mikofenolat mofetil veya azatioprinin steroid ve siklosporinle kombine edildiği başka bir çalışmada mikofenolat mofetil (MMF) alanlarda %43, azatioprin alanlarda ise %53 oranında anemi saptanmıştır. Takrolimus ve siklosporinin kemik iliği baskılayıcı etkilerinin yanında mikroanjiopatik hemolitik anemi yapıcı etkileri de anemiye yol açabilir (103–105). Nadir olmakla birlikte, takrolimusun çocuk ve erişkin karaciğer alıcılarında izole eritroid aplazi yapıcı etkisi de bildirilmiştir (106). Bu ilaçların dışında karaciğer alıcılarında sıklıkla kullanılan ko-trimaksazol, IFN- $\alpha$ , dapson, furosemid gibi diğer ilaçların da anemi yapıcı etkileri vardır.

Karaciğer nakil alıcılarında aplastik anemi nadir fakat önemli bir sorundur. Hepatit ilişkili aplastik anemi, özellikle non A-non E etkeniyle gelişmekte ve çocuklarda fulminan hepatit sonrası karaciğer nakli yapılan hastalarda 1/3 oranında izlenmektedir (107–109). Nakil gerektirmeyen viral hepatitli hastalarda aplastik anemi sıklığı 1–2/10000 iken, non A-non E'ye bağlı fulminan hepatit tanılı hastalarda bu oran erişkinlerde %5 çocuklarda %28–33 bulunmuştur (109). Non A-non E hepatite bağlı aplastik anemilerin incelendiği bir derlemede hastaların daha çok erkek olduğu, çocuklarda (en sık 10 yaş) daha sık olduğu ve nakilden ortalama 48 gün sonra aplastik anemi geliştiği görülmüştür (110). Bu hastalardaki aplastik aneminin nedeni tam bilinmemekle birlikte belirlenemeyen bir virüsün hem karaciğeri hem de kemik iliğini etkilemiş olabileceği düşünülmektedir (111). Bunun dışında bilinen hepatit virüslerinin (hepatit A, B, C, PVB–19, CMV ve EBV) direk veya immün mekanizmayla kemik iliği kök hücre harabiyeti yaparak aplastik anemiye neden oldukları bilinmektedir.



Karaciğer alıcılarında çeşitli ilaçlar, hipersplenizm, çeşitli infeksiyon etkenleri, ABO uyumsuzluğu, G6PD eksikliği ve GvHD gibi nedenlerle immün ve nonimmün hemolitik anemiler gelişebilmektedir (9). ABO uyumsuzluğuna bağlı hemolitik anemi nakilden 7–10 gün sonra başlar ve 1. aya kadar sürebilir. Daha çok 0 grubu verici/A grubu alıcı durumlarında görülür. Tedavi için plazmaferez faydalıdır.

GvHD karaciğer alıcılarında seyrek görülmesine rağmen önemli anemi nedenlerinden biridir. Sıklığı %1 den az olsa da, mortalitesi yüksek olan bu durum daha çok erişkinlerde görülmektedir.

Hipersplenizm sirozlu hastalarda nakilden sonra da belli süre devam edebilir. Çalışmalar hipersplenizmin nakilden sonra 2–4 hafta içerisinde düzelmeye başladığını fakat 1 yıl süreyle devam ettiğini göstermektedir (112, 113).

Demir eksikliği (DE) karaciğer nakli yapılan hastalarda, özellikle de çocuklarda sık görülen anemi nedenlerindedir. Nakil öncesi ve sonrasında beslenme bozukluğuna bağlı gelişen DE, üriner ve GİS'den kaynaklanan kan kayıpları DEA'nin başlıca nedenleridir. Fakat bununla ilgili çok az ve sınırlı çalışma vardır. Başlıca hepsidin olmak üzere demir metabolizmasının ana düzenleyicilerinin çoğu hepatositlerde yapılmaktadır. Ancak bunun hastalardaki demir eksikliği anemisi üzerindeki etkisi bilinmemektedir. Bazı çalışmalar solid organ nakli yapılan hastalara profilaktik demir verilmesini öngörmektedir (96, 97). Yine EPO tedavisinin solid organ alıcılarında hemoglobini yükselttiği ve özellikle böbrek nakillerinde düzenli kullanımı önerilmektedir (93). Karaciğer alıcılarında ise düzenli EPO tedavisi vermek için bu ilacın etkinliğini gösteren kontrollü çalışmalara ihtiyaç vardır. Eğer EPO verilecekse bu hastaların demir depoları az olduğu için beraberinde mutlaka demir de verilmelidir.

Karaciğer nakli yapılan erişkin hastaların nakil sonra 7.yılda % 6-8'inde 13.yılda %18'inde ağır böbrek yetmezliği geliştiği görülmüştür (114–116). Böbrek yetmezliği de karaciğer nakil alıcılarında önemli bir anemi nedenidir.

Özetle karaciğer alıcılarında geç dönemde anemi sıklığı %50'yi bulabilmektedir. Gösterilebilen en sık nedenler immüsupressif ilaçlar, demir eksikliği, PTLD ve böbrek yetmezliğidir.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Olgular ve Çalışma Planı

Bu ileriye dönük-kontrollü çalışmada, Başkent Üniversitesi Hastanesinde Eylül 2004-Haziran 2007 tarihleri arasında karaciğer nakli yapılan 18 yaşından küçük hastalar ile bunların canlı karaciğer vericileri değerlendirildi. Çalışma Başkent Üniversitesi Araştırma Kurulu (Sayı No: 2007/AP-818) ve Etik Kurulu (Karar sayısı: 07/152) tarafından onaylandı. Hastalar ve kontrollerin ailelerinden ve canlı karaciğer vericilerinden ayrı ayrı yazılı bilgilendirilmiş onam alındı. Hastaların ve canlı vericilerin demografik, klinik ve laboratuvar verileri ailelerinden, kendilerinden, hastane dosya ve bilgisayar kayıtlarından edinildi. Kadavra vericilerin bilgilerine ulaşılamadı. Hastaların yaşları, cinsiyetleri, karaciğer nakli gerektiren hastalıklarının tipi, hastanemize başvurusundan nakile kadar geçen süre, nakil öncesi antropometrik ölçümleri, nakil öncesi dönemde ve nakilden sonra kullandıkları ilaçlar, nakil öncesi üç aylık dönemden başlayarak aldıkları eritrosit süspansiyonu miktarları kaydedildi. Klinik ve laboratuvar bulguları dikkate alınarak enfeksiyon, hemolitik anemi, koagülasyon bozukluğu ve doku reddinin olup olmadığı belirlendi. Kaynakta belirtildiği şekilde yaşa göre normal veriler dikkate alınarak anemi, lökopeni, nötropeni, trombositopeni, anemi olmadan izole DE ve DEA tanıları konarak kaydedildi (117, 118).

Yaş ve cinsiyet uyumuna dikkat edilerek, kronik hastalığı, akut ve kronik enfeksiyon bulguları, bilinen anemisi ve başka hematolojik hastalığı olmayan, demir tedavisi almayan, önceden hiç kan nakli yapılmamış, genel sağlık kontrolü için çocuk polikliniğine başvuran ve tam kan sayımlarında anemisi olmayan 44 sağlıklı çocuk kontrol olarak değerlendirmeye alındı.

#### 3.2. Örnekler

Hastalardan nakilden önceki bir hafta içinde, nakilden sonra ise 1.gün, 7.gün, 1.ay, 3.ay, 6.ay ve 6. ay sonrasındaki son izlemlerinde venöz kan alındı. Tam kan sayımı, lökosit formülü, serum demiri, serum demir bağlama kapasitesi (SDBK), ferritin, Tf saturasyonu, Tf, retikülosit, vitamin B<sub>12</sub> (vit B<sub>12</sub>), folat, çinko, C-reaktif protein (CRP), prokalsitonin, EPO, serum prohepsidin, serum alanin aminotransferaz (ALT), aspartat aminotransferaz (AST), total bilirubin, direkt bilirubin, alkalen fosfataz (ALP), gama glutamil transferaz (GGT), albumin düzeyleriyle, aktive parsiyel tromboplastin zamanı (aPTT) ve '*international normalized ratio*' (INR) çalışıldı. Hemoliz düşünülen hastalarda ek olarak ışık mikroskopuyla periferik yayma incelemesi, direkt *Coombs* testi, haptogloblin ve laktik dehidrogenaz tetkikleri çalışıldı.

Canlı karaciğer vericilerinden nakil öncesi bir kez venöz kan alınarak tam kan sayımı, serum demiri, SDBK, ferritin, Tf saturasyonu, Tf, retikülosit, vit B<sub>12</sub>, folat, çinko, CRP, prokalsitonin, EPO ve serum prohepsidin düzeyleri çalışıldı. Kontrollerden sadece serum prohepsidin düzeyleri çalışıldı

Tam kan sayımı için K3-etilendiamintetraasetik asit içeren tüpe 2 cc, PTT-INR için sitratlı tüpe 4 cc kan konarak hemen çalışıldı. Diğer testler için 6 cc kan boş steril tüpe alınarak 2000 devirde 10 dakika santrifüj edilerek serum ayrıldı. Demir değişkenleri, karaciğer fonksiyon testleri, CRP, prokalsitonin, çinko ve vit B<sub>12</sub> bu serumdan hemen çalışılırken, EPO ve prohepsidin çalışmaları için 1–2 cc serum -80 derecede dondurularak saklandı.

### **3.3. Hematolojik ve Biyokimyasal ölçümler**

Tam kan sayımı ve lökosit formülü, ölçüm kalibrasyonu günlük yapılan otomatik hemositometreyle (Cell-Dyn 3700, Abbott, USA); PTT ve INR yine kalibrasyonu günlük yapılan otomatik koagulometreyle (Diagnostica Stago, France); CRP düzeyleri nefelometre yöntemiyle (Nefelometre BN 100, Boehringer); prokalsitonin düzeyleri kolorimetrik semikantitatif yöntemle (negatif: <0.5 ng/mL, eser: 0,5-2 ng/mL, pozitif:>2 ng/mL) (PCT<sup>®</sup>-Q, Brahms, Germany) ölçüldü. Serum demir düzeyi kolorimetre yöntemiyle (Roche/Hitachi, MODULAR P ANALYTICS, Japan); SDBK spektrofotometre yöntemiyle (Roche/Hitachi, MODULAR P ANALYTICS, Japan); ferritin ve transferrin düzeyleri immünötürbidimetre yöntemiyle (Roche/Hitachi, MODULAR P ANALYTICS, Japan) ölçüldü. Vitamin B<sub>12</sub> düzeyleri kemiluminesens enzim immünoassay (IMMULITE 2000, USA); folat düzeyi kompetitif immünoassay (IMMULITE 2000, USA); EPO düzeyi kemiluminesens immünometre (IMMULITE 2000, USA) yöntemleriyle ve çinko düzeyleri de atomik absorpsiyon spektrofotometre (Atomic Absorption Spectrophotometer AA-6701F SHIMADZU, Japan) yöntemiyle ölçüldü.

Serum prohepsidinin düzeyi enzim immünoassay yöntemi ile '*DRG hepsidin prohormone ELISA (EIA-4644)*' kitiyle çalışıldı (DRG Instruments, Marburg, Germany). Bu yöntemde N terminal'e özgül hepsidin antikoru (EG(2)-HepN) kullanıldığı için testin duyarlılığı ve verimliliği yüksektir (34)

### 3.4. Karaciğer Demir Yoğunluğu Ölçümü

Karaciğer dokuları deparafinize edilip, tartılıp temiz bir tüpe alındıktan sonra üzerine 2 ml %65'lik nitrik asit konup bek alevinde eritildi. Bu örnekler %0.1'lik nitrik asitle 1/8 oranında sulandırılarak kalibrasyonu yapılmış atomik absorpsiyon spektrofotometre cihazında (Atomic Absorption Spectrophotometer AA-6701F SHIMADZU, JAPAN) demir ölçümü yapıldı. Bulunan sonuçlar, kuru dokuda bulunan miktara dönüştürülmek için faktör 4 ile çarpıldı. Sonuçlar "*mikromol/g kuru doku*" olarak verildi. Karaciğer demir yoğunluğu >30 *mikromol/g kuru doku* ise artmış olarak kabul edildi.

### 3.5. Histopatolojik İnceleme

Karaciğer biyopsi kesitleri standart teknikle hematoksilen eosin ve retikulum boyalarıyla boyanarak hepatosit hasarı, inflamatuvar infiltrasyon, yağ miktarı ve yapısal değişiklikler (fibrozis, siroz) değerlendirildi. Demir boyası olarak modifiye Perls' Prusya mavisi kullanıldı. Hepatositlerdeki demir miktarı Sheuer ve arkadaşlarının belirttiği yöntemle göre derecelendirildi (119). Buna göre Derece 0: boyanabilen demir yok, Derece 1: hepatositlerin %25'inden azında boyanabilen demir, Derece 2: hepatositlerin %25-75'inde boyanabilen demir, Derece 3: hepatositlerin %75-90'ında boyanabilen demir olduğunu, Derece 4 ise tüm hepatositlerde ağır demir birikimi olduğunu göstermektedir. Derece 0 ve 1 normal, diğerleri patolojik olarak değerlendirildi.

Karaciğer fibrozis düzeyi 0-4 arasında kaynakta belirtildiği şekilde derecelendirildi (120). Buna göre derece 0: fibrozis yok, derece 1: hafif fibrozis (fibröz portal genişleme), derece 2: orta derece fibrozis (porto-portal septa  $\geq$  1 septum), derece 4: ağır fibrozis (köprüleşme fibrozisi) derece 4: siroz.

Karaciğer inflamatuvar aktivite düzeyi ise periportal ve periseptal hepatit-birleşik nekroz-fokal litik nekroz, apoptozis ve fokal inflamasyon-portal inflamasyon olmak üzere 4 ayrı özelliğin her biri kendi içinde inflamasyonun şiddetine göre 0-4 ve 0-6 arasında derecelendirilmesiyle yapıldı (121). Toplam derece 0-18 arasında olup inflamasyonun şiddeti arttıkça derece de artmaktadır.

Hastanemizde nakil sonrası tüm hastalara doku reddi önleyici olarak takrolimus (sürekli) ve prednisolon (3-6 ay) tedavisi, CMV önleyici olarak asiklovir (3 ay), Pnömonitis jiroveci için ko-trimoksazol tedavisi (1 yıl), hepatik arter trombozunu önleyici olarak aspirin ve dipridamol (3-6 ay) kullanılmaktadır. Takrolimusa bağlı yan etki gelişen hastalarda bu ilaç siklosporin veya siklosporin+MMF ile değiştirilmektedir.

### 3.6. İstatistiksel Analiz

Sürekli değişkenlerin normal dağılıma uyumu Shapiro-Wilk testi ile kontrol edildi. Grup varyanslarının homojenliği Levene testi ile analiz edildi. Normal dağılım göstermeyen ve heterojen varyanslı bağımsız iki grup ortalamasının karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi, ikiden fazla grup ortalamasının karşılaştırılmasında ise Kruskal-Wallis testi ve ardından çoklu karşılaştırma yöntemlerinden Dunn testi kullanıldı. Bağımlı ikiden fazla grup ortalamasının karşılaştırılmasında Friedman testi ve çoklu karşılaştırma yöntemlerinden Dunn testi kullanıldı. Normal dağılımlı ve homojen varyanslı bağımlı ikiden fazla grup ortalamasının karşılaştırılmasında ise Tekrarlanan Ölçümler Varyans Analizi yöntemi ve çoklu karşılaştırma yöntemlerinden Bonferroni testi kullanıldı. Sonuçlar Ortalama  $\pm$  standart sapma ( $\bar{x} \pm s_x$ ), ortanca değer (O.D.) ve en küçük-en büyük değerler olarak ifade edildi. Değişkenler arasındaki doğrusal ilişkinin derecesi Spearman rho korelasyon katsayısı ile belirlendi. Kategorik değişkenlerin analizinde çapraz tablolardaki hücrelerin büyük çoğunluğundaki küçük frekanslar nedeniyle Likelihood yaklaşımıyla ki-kare analizi kullanıldı. Anlamlılık düzeyi  $p < 0.05$  olarak dikkate alınmıştır. İstatistik analizler için SPSS 13.0 istatistik paket programı (SPSS 13.0, Chicago IL, USA) kullanılmıştır.

## 4. BULGULAR

Çalışmamızda canlı vericiden nakil yapılan 30, kadavradan nakil yapılan 5 hasta olmak üzere toplam 35 hasta geleceğe dönük olarak incelendi. Hastaların ortalama yaşları 78±60 ay, ortanca yaşları 75 ay (2–194 ay arası) olup, 20’si kız, 15’i erkekti. Kontrollerin ortalama yaşları 81±63 ay, ortanca yaşları 75 ay (3–190 ay arası) olup, 24’ü kız, 20’si erkekti. Hastaların boya göre ağırlıkları değerlendirildiğinde 10’unda (%28.6) hafif-orta malnütrisyon, boy persentilleri dikkate alındığında 9’unda (%25.7) büyüme geriliği tespit edildi. Hastanemize başvurudan sonra nakil yapılana kadar geçen süre ortalama 46 (1–270) gündü. Hastaların nakil yapılmasını gerektirecek karaciğer hastalıkları Tablo 4.1’de verilmiştir.

**Tablo 4.1. Hastaların nakil gerektiren karaciğer hastalıkları**

Hastalık	Hasta sayısı
Biliyer atrezi*	6
İlerleyici ailesel intrahepatik kolestaz*	5
Wilson hastalığı	5
Fulminan hepatit	4 (ikisi hepatit A, ikisi non A-non E)
Tirozinemi+hepatosellüler karsinom	3
Kriptojenik siroz	3
Otoimmün hepatit	2
Hepatoblastom	1
Nöroblastom+ciddi karaciğer tutulumu	1
Caroli hastalığı	1
Crigler-Najjar sendromu	1
Alfa-1 antitripsin eksikliği	1
Kronik HBV ilişkili siroz	1
Tirozinemi	1

\*: Hastalık gruplarının prohepsidin ve demir değişkenleriyle ilişkisi değerlendirilirken bu iki hastalık kolestaz grubu olarak değerlendirildi

Hastaların biri nakledilen karaciğerin çalışmaması, bir diğeri ise evde ani gelişen diyafragma rüptürü ve solunum yetmezliği nedeniyle erken dönemde kaybedildi. Ancak her iki hastanın da nakil öncesi ve nakil sonrası birinci gün ve birinci haftada elde edilen kan değerleri çalışmamıza katıldı. Altıncı ay değerlendirmelerinin ardından bir hasta sepsisten, bir hasta ise evde nedeni belirlenemeyen ani ölümlerle kaybedildi. Son dönemde çalışmaya alınan 4 hastanın en son incelemeleri 6. ayda yapıldı. Diğer 27 hastanın en son incelemeleri 6. aydan sonraki

dönemde de yapıldı ve bu değerlendirme zamanı ‘son izlem’ olarak adlandırıldı. Nakil sonrası izlem süresi ölen hastalar dahil edilmediğinde ortalama  $23.9 \pm 10.5$  ay, ortanca 26 ay (6–40 ay arası) idi. Ölen hastalar dahil edilince tüm hastalarımızın izlem süresi ortalama  $21.6 \pm 11.9$  ay, ortanca 25 (0.5–40 ay arası) aydı. Altıncı ay sonrasın son izlemi yapılan 27 hastanın izlem süresi ortalama  $26.6 \pm 8.4$ , ortanca 27 (10–40 ay arası) aydı.

Canlı karaciğer vericilerinin ortalama yaşları  $33 \pm 6$  yaş (23–49 arası) olup, 17’si erkek, 13’ü kadındı. Nakil yapılan kişiyle yakınlık derecesine bakıldığında, 14’ü hastanın babası, 12’si annesi, biri ablası, biri abisi, biri dedesi, biri eniştesi idi. Vericilerin üçünde anemi (ikisinde DEA, birinde akut inflamasyon anemisi), altısında DE saptandı. Demir eksikliği anemisi olan iki hastanın demir tedavisi almakta olduğu belirlendi. Vericilerin birinde anemi olmadan vit B<sub>12</sub> düzeyi düşüklüğü (153 pg/mL), üçünde ise çinko düşüklüğü olduğu izlendi.

#### 4.1. Tam Kan Sayımı Sonuçları

Verici ve hastaların nakil öncesi ve sonrası dönemlerdeki tam kan sayımı sonuçları Tablo 4.2’de verilmiştir.

**Tablo 4.2. Tam kan sayımı bulguları** (Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir)

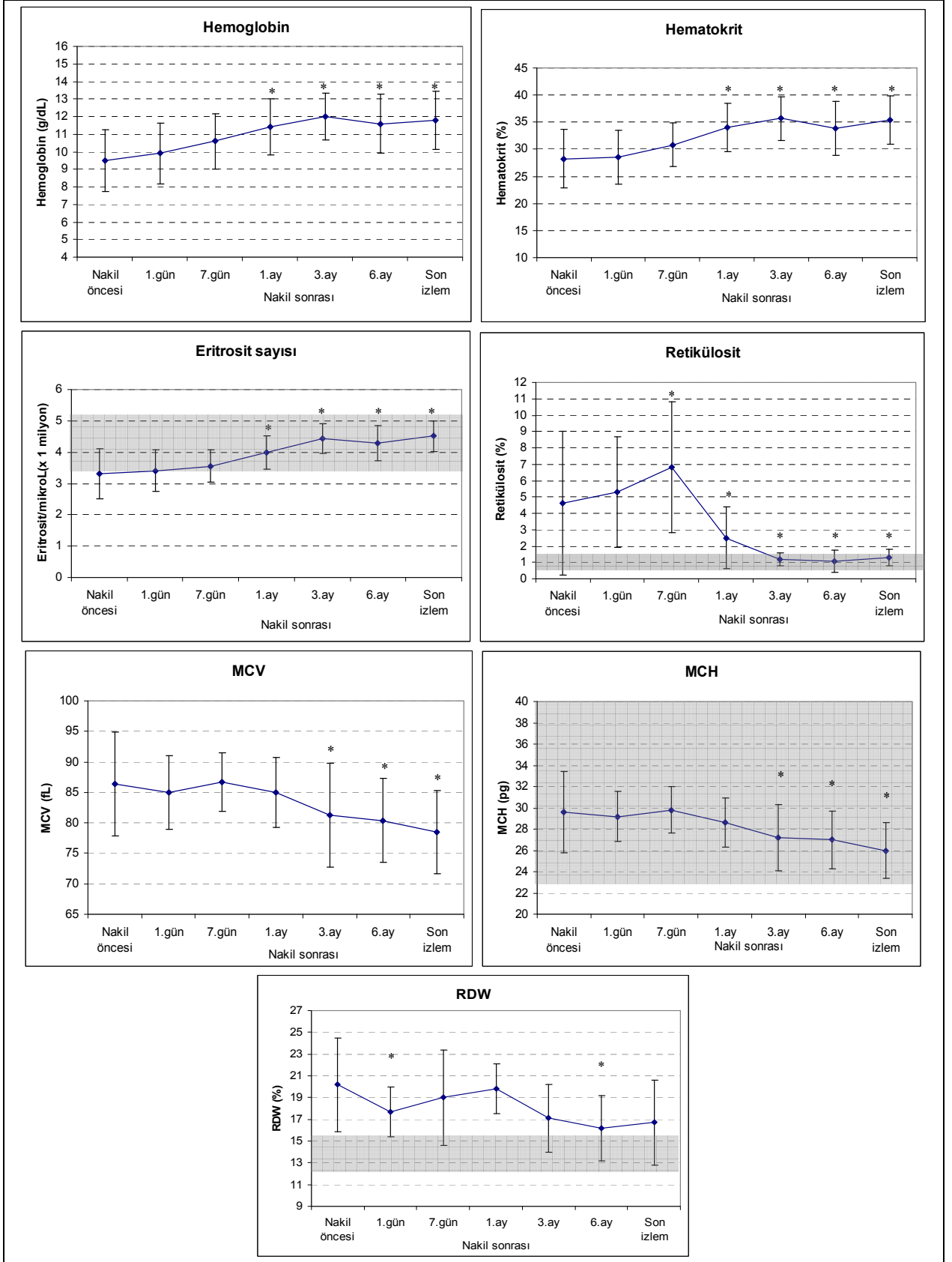
	Vericiler n=30	Hastalar						
		Nakil öncesi n=35	Nakil Sonrası					
			1.gün n=35	7.gün n=35	1.ay n=33	3.ay n=33	6.ay n=33	Son izlem n=27
Hb (g/dL)	13.9±1.7	9.6±1.7	9.9±1.7	10.4±1.6	11.3±1.8	11.9±1.3	11.4±1.6	11.8±1.6
Hct (%)	40.5±4	28.6±5.2	28.9±4.9	30±4.3	33.5±5	35.3±3.9	33.4±4.8	35.4±4.5
Eritrositx10 <sup>6</sup> /µL (N:3,5-5,2)	4.8±0.49	3.35±0.76	3.5±0.63	3.47±0.53	3.94±0.63	4.38±0.48	4.17±0.6	4.51±0.47
Retikülosit (%) (N:0.5-1.5)	1.2±0.4	4.7±4.4	5.3±3.4	6.8±4	2.5±1.9	1.3±0.4	1.07±0.7	1.3±0.5
MCV (fL)	84.5±4	85.7±8.5	85±5.9	86.7±4.8	85±5.7	81.2±8.5	80.4±6.9	78.5±6.8
RDW (%) (N:12-15,5)	15.4±1.4	20.3±5	18.1±2.8	18.8±4.1	19.2±3	16.8±2.9	16±2.8	16.7±3.9
MCH (pg) (N:23-40)	28.3±1.7	29.7±3.7	29.2±2.3	29.8±2.1	28.6±2.1	27.5±3	27.3±2.6	26±2.6
MCHC (%) (N:30-36)	33.5±1.1	34.1±1.5	34.3±1	34.4±1.3	33.5±0.9	33.7±1	34±1	35±9
Lökosit /µL	7155±1880	7263±5159	9917±4345	9500±5680	8513±3458	6813±2926	6177±3374	6738±3054
Nötrofil (%)	47±16	55±15	79±11	71±13.5	63±12	49±18	50±19	52±17
Lenfosit (%)	44±15	33±14	16±10	20±12.3	26±11	40±17	38±16	37±16
Monosit (%)	6±2	9±4	5±2	8±4	8±2	8±4	7±2	7±2
Eozinofil (%)	2±2	2±2	0	1±2	2±3	2±3	4±4	4±3
Bazofil (%)	1±0.8	1±0.7	0	0	1±1	1±1	1±1	0
Trombosit/µl x 10 <sup>3</sup>	257.6±71.4	125.2±93.1	93.3±43.8	130±90.8	250±123.2	218±97.4	227.7±111	223.3±96
MPV (fL) (N:7-12)	9.5±1.4	10.4±2.3	9.8±1.8	10.2±2.1	8.7±1.5	8.6±1.1	9±1.4	9.2±1.8

Altıncı aydan sonra izlem yapılabilen toplam 27 hastanın tam kan sayımı sonuçları incelendiğinde Hb, hematokrit (Hct) ve eritrosit sayılarının nakil sonrası dönemde yükseldiği gözlemlendi. Nakil öncesinde saptanan Hb, Hct ve eritrosit sayıları birinci, üçüncü, altıncı ve altı aydan sonraki değerlerle karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı yükselme olduğu görüldü. (Şekil 4.1).

Retikülosit sayılarının nakil öncesi dönemde normalden yüksek olduğu, nakil sonrası 1. ve 7. gün daha da yükseldiği, daha sonra düşerek 3. ayda normale geldiği ve sonrasında da normal seyrettiği gözlemlendi (Şekil 4.1). Ortalama eritrosit hacminin (MCV) nakil sonrası 3. aya kadar düşüş eğilimi gösterdiği, 3. aydan sonra da devam eden bu düşüşün anlamlı hale geldiği izlendi. Ortalama eritrosit hemoglobin (MCH) değerlerinin nakil sonrası ilk gün hafifçe düştüğü, 7. gün nakil öncesi değerlere döndüğü, altıncı ay sonrasında son izlem zamanına kadar sürekli düşüş gösterdiği saptandı (Şekil 4.1). Eritrosit dağılım genişliğinin (RDW) ise nakil öncesi normalin üstünde olduğu, nakil sonrası 3. aya kadar düşerek 6. ayda en düşük düzeye geldiği, ancak tüm izlem süresince normal düzeyin üzerinde seyrettiği görüldü (Şekil 4.1).

Lökosit sayılarının nakil sonrası 1. ve 7. günlerde yükseldiği ve yine bu günlerde nötrofili olduğu, daha sonra ise lökosit sayı ve dağılımlarının normal olduğu, trombosit sayılarının nakil öncesi ve nakil sonrası erken dönemde düşük olduğu, 1. ayda normale geldiği ve sonrasında normal seyrettiği saptandı.





**Şekil 4.1. Eritrosit göstergelerinin nakil sonrası seyri ve nakil öncesi değerleriyle kıyaslanması** (Nakil öncesine göre kıyaslandığında \*:  $p < 0,01$ . Boyalı alanlar normal sınırları göstermektedir)

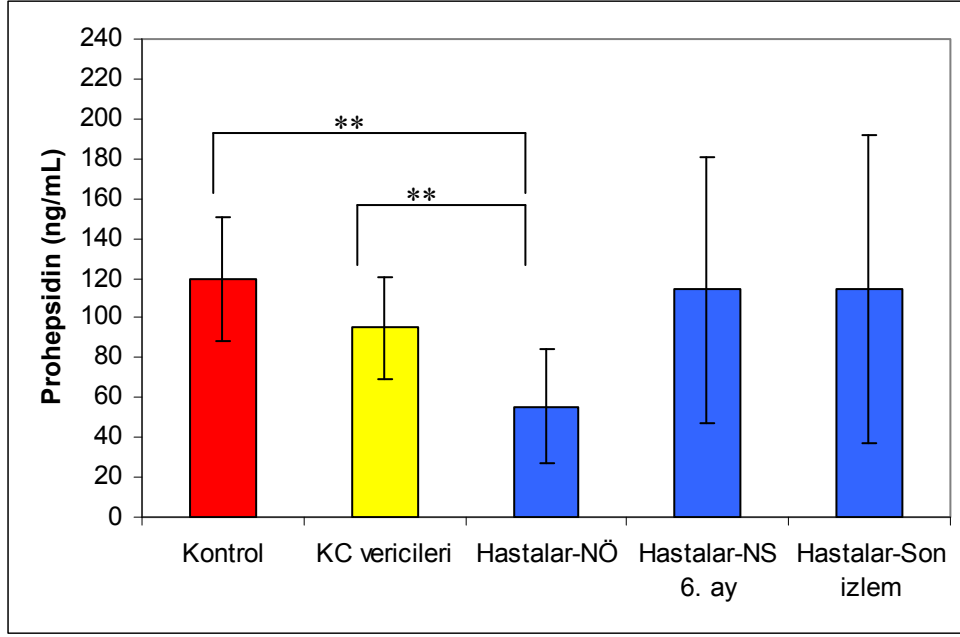
## 4.2. Prohepsidin, Demir Değişkenleri ve İnfeksiyon Belirteçleri

Karaciğer vericilerinin nakil öncesi ve alıcıların nakil öncesi ve sonrası serum prohepsidin, demir, SDBK, Tf satürasyonu, Tf, ferritin, EPO, CRP ve prokalsitonin sonuçları Tablo 4.3'te görülmektedir.

**Tablo 4.3. Prohepsidin, demir değişkenleri ve infeksiyon belirteçleri**  
(Sonuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. N: normal aralık)

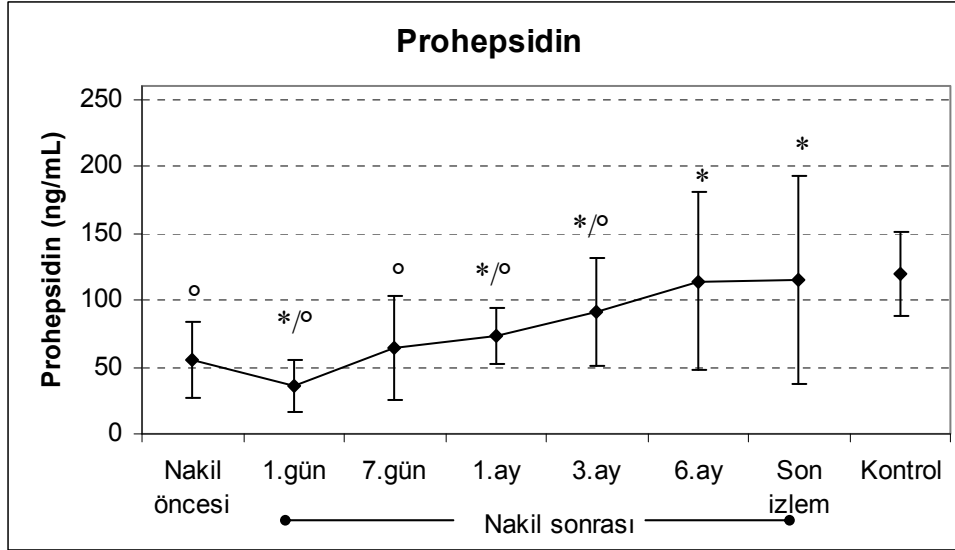
	Vericiler n=30	Hastalar						
		Nakil öncesi n=35	Nakil Sonrası					
			1.gün n=35	7.gün n=35	1.ay n=33	3.ay n=33	6.ay n=33	Son izlem n=27
<b>Prohepsidin (ng/mL)</b> (Kontrol:119,6±31)	95±26	55.4±28.5	35,4±19	65±39	72.6±21	90.9±40	114±67	114.6±77.5
<b>Serum demiri (µg/dL)</b> (N:50-140)	80±34	135.5±94	81±46	70±48	56±40	74±39	66±36	51±24
<b>SDBK (µg/dL)</b> (N:130-350)	285±69	198±144	121±109	138±60	247±92	248±86	247±90	304±69
<b>Tf Satürasyonu (%)</b> (N:20-50)	22.8±13	45±32	41±23	46.5±34	20±17	25±16	22.7±14	14.5±8
<b>Transferrin (mg/dL)</b> (N:200-360)	279±54	222±66	124±38	155±41	262±69	263±72	269±73	280±39
<b>Ferritin (ng/mL)</b> (N: 50-200)	56.6±43	304±390	1355±3890	376±452	404±520	248±477	240±537	59±57
<b>EPO (mİÜ/mL)</b> (N:3.7-31.5)	18.3±12.5	89±75	75.8±71	55±61	45.4±53	20±20	27±41	23±18
<b>CRP (mg/L) (N: 0-10)</b>	2.6±3.3	9.7±11	34.4±22	21.6±38	31±52	8±19	11±31	8.8±16
<b>Prokalsitonin</b>								
Pozitif	0	4 (%11)	18 (%51)	7 (%20)	0	0	0	0
Eser	0	6 (%17)	8 (%23)	2 (%6)	1 (%3)	1 (%3)	2 (%6)	0

Hastaların nakil öncesi serum prohepsidin düzeyleri ortalama 55.4±28.5 ng/mL, ortanca 51.7 ng/mL (13–147 arası) olup kontrol grubuna [ortalama 119.6±31, ortanca 123 (46–196 arası)] ve vericilerin prohepsidin düzeylerine göre belirgin düşük bulundu (p<0.001) (Şekil 4.2). Karaciğer vericilerinin prohepsidin düzeyleriyle (ortalama 95±26 ng/mL, ortanca 96 ng/mL; dağılımı 40–178), kontrol grubunun prohepsidin düzeyleri arasında fark saptanmadı. Hasta, verici ve kontrol prohepsidin düzeylerinin cinsiyetler arasında farkı yoktu (sırasıyla p: 0.822, p: 0.420 ve p: 0.823).



**Şekil 4.2. Kontrol grubunun ve nakil öncesinde hastaların ve karaciğer vericilerinin prohepsidin düzeyleri** (KC: Karaciğer, NÖ: nakil öncesi, NS: Nakil sonrası, \*\*:  $p<0.001$ )

Altıncı ay sonrasında da izlemi yapılabilen toplam 27 hastanın nakil sonrası serum prohepsidin değerlerinin seyrine bakıldığında nakil öncesinde kontrol grubuna göre düşük olan prohepsidin düzeylerinin, nakil sonrasındaki ilk gün daha da düştüğü, daha sonra 6. aya kadar sürekli yükseldiği ve 6. ay sonrasında düzeyin değişmediği gözlemlendi (Şekil 4.3). Hastaların nakil öncesi ve sonrasındaki serum prohepsidin düzeyleri kıyaslandığında; 1. aydan itibaren olan yükselmenin nakil öncesine göre istatistiksel anlamlı olduğu saptandı. Bu değerler kontrol grubunun serum prohepsidin düzeyleriyle karşılaştırıldığında, daha önce anlamlı olarak düşük seyreden prohepsidin düzeylerinin 6. ay ve sonrasında kontrol grubunun değerlerine ulaştığı gözlemlendi (Şekil 4.3) Serum prohepsidin düzeylerinin nakil sonrasındaki seyrine bakıldığında; Hb, Hct ve eritrosit sayılarıyla paralel, retikülosit, RDW, MCV ve MCH ile zıt seyir gösterdiği gözlemlendi.

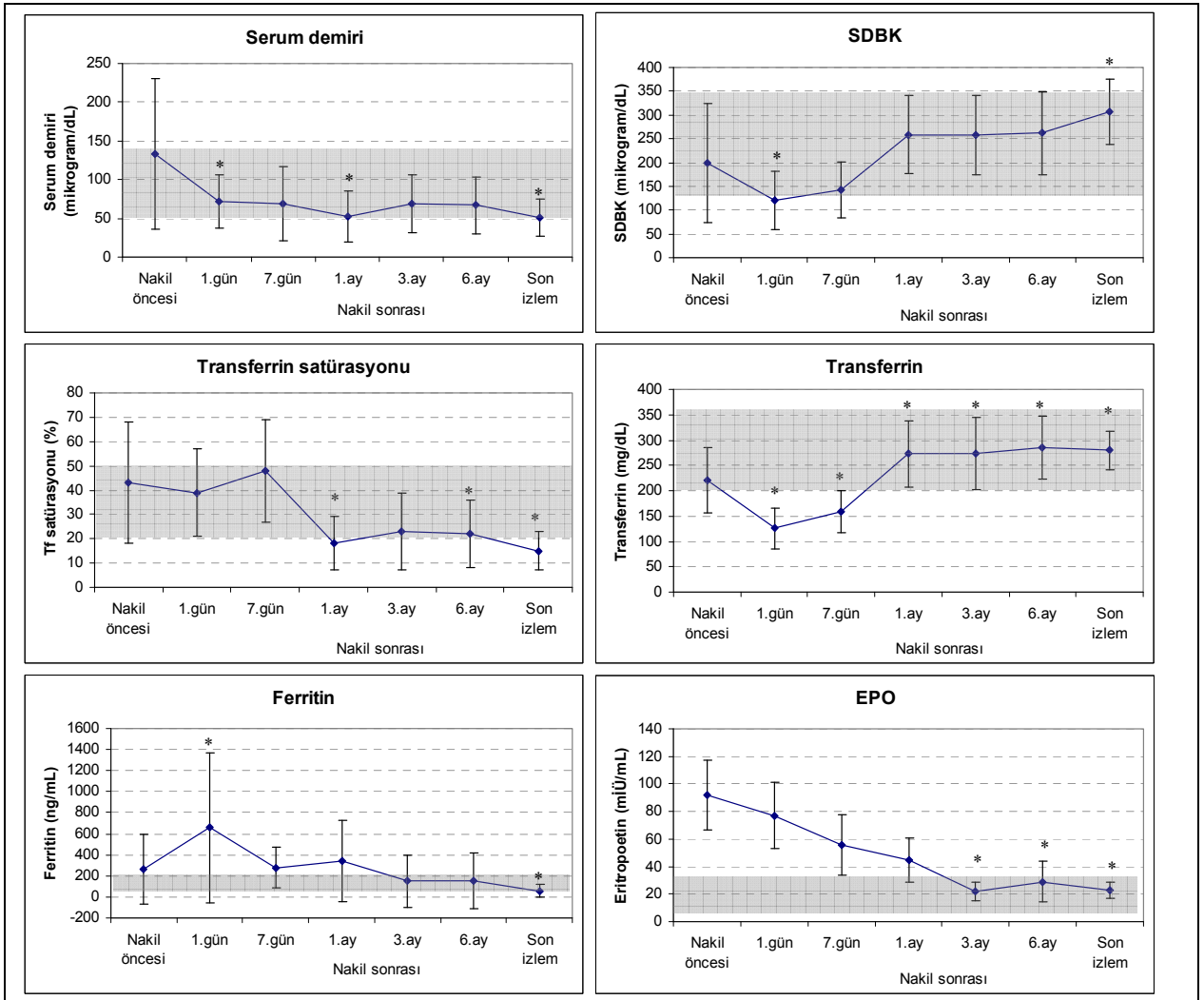


**Şekil 4.3. Prohepsidin düzeylerinin nakil sonrası seyri, nakil öncesi ve kontrolle kıyaslanması** (Nakil öncesine göre \*:  $p < 0.01$ , kontrole göre °:  $p < 0.01$ )

Serum demir değerlerinin nakil öncesi normalin üst sınırında olduğu, nakil sonrasında 1. aya kadar düşme gösterdiği, 3. ve 6. aylarda hafifçe yükseldiği, 6. ay sonrasında hafif düşerek normalin alt sınırında seyrettiği saptandı (Şekil 4.4). Nakil öncesinde SDBK'nin normal olduğu, nakil sonrası 1. gün normalin altına düştüğü, ilerleyen zamanlarda giderek yükseldiği ve normal sınırlarda seyrettiği, son izlem zamanında ise nakil öncesine göre anlamlı yüksek bulunduğu saptandı. Serum demiri ve SDBK'nin izlem sürecinde birbirine zıt şekilde değişim gösterdiği izlendi.

Transferrin saturasyonunun nakil öncesi normalin üst sınırında olduğu, nakil sonrasında 7. günden itibaren sürekli azalma gösterdiği, 6. ay sonrasında ise normalin altına indiği görülmektedir (Şekil 4.4). Transferrin düzeyinin nakil öncesi normal olduğu, nakil sonrasında ise 1. gün belirgin düşüş gösterdiği, daha sonra yükselerek 1. ayda normal düzeye ulaştığı ve sonrasında belirgin değişiklik göstermediği görüldü (Şekil 4.4). Serum demiri ve Tf saturasyonunun birbiriyle paralel değişim gösterdiği saptandı. Aynı paralellik, SDBK ve Tf düzeyi arasında da mevcuttu.

Ferritin düzeylerinin nakil öncesi normalden yüksek olduğu, nakil sonrası 1. gün çok daha yüksek düzeylere eriştiği, 1. gün sonrasında zamanla düşerek 3. ayda normal sınırlara indiği, düşüşün 6. ay sonrasında da devam ederek normalin alt sınırına indiği izlenmiştir (Şekil 4.4). Hastaların serum EPO düzeylerinin ise nakil öncesi normalden çok yüksek olduğu, nakilden sonra zamanla azalarak 3. ayda normal düzeylere indiği ve sonrasında normal düzeylerde seyrettiği saptandı (Şekil 4.4). Serum ferritin düzeyleriyle EPO düzeyleri arasında da nakil sonrası 1. gün hariç paralel bir seyir mevcuttu.

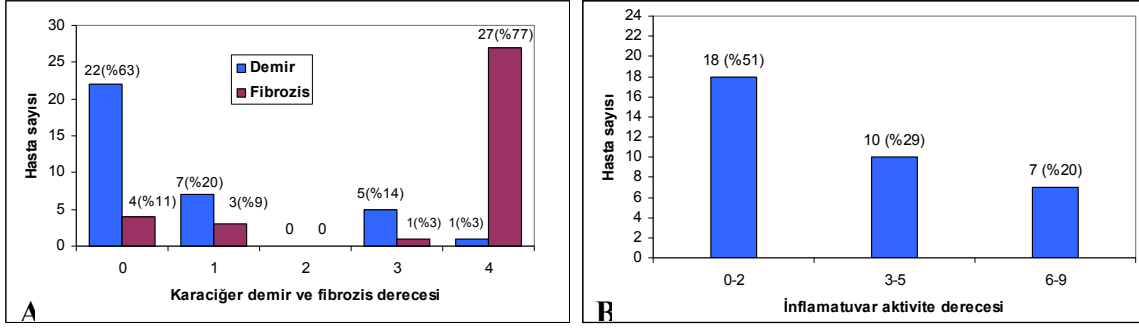


**Şekil 4.4. Serum demir değişkenlerinin ve EPO düzeylerinin nakil sonrası seyri ve nakil öncesi değerleriyle kıyaslanması** (Nakil öncesine göre kıyaslandığında \*:  $p < 0.01$ . Boyalı alan normal sınırları göstermektedir)

### 4.3. Karaciğer Demir Yoğunluğu ve Histopatolojik Sonuçlar

Hastalarımızın KDY ortalama  $9.55 \pm 9.1$ , ortanca  $5.7 \mu\text{mol/g}$  kuru doku ( $0.3-32$  arası) olarak bulundu. Bu değer sadece bir hastada  $32 \mu\text{mol/g}$  kuru doku olarak bulundu, diğer hastaların hepsinde anlamlı demir birikimini gösteren  $30 \mu\text{mol/g}$  kuru doku'nun altındaydı.

Histopatolojik yöntemle karaciğer demiri derecelendirildiğinde hastaların çoğunda (%83) patolojik demir birikiminin olmadığı, patolojik derecede fibrozisin ise çoğu hastada (%80) mevcut olduğu görüldü (Şekil 4.5.A) Karaciğer inflamatuvar aktivite derecelendirme sonuçları Şekil 4.5.B'de verildi.



**Şekil 4.5. A: Karaciğer demir ve fibrozis derecesine göre hasta sayısı ve oranları. B: Karaciğer inflamatuvar aktivite düzeyine göre hasta sayısı ve oranları**

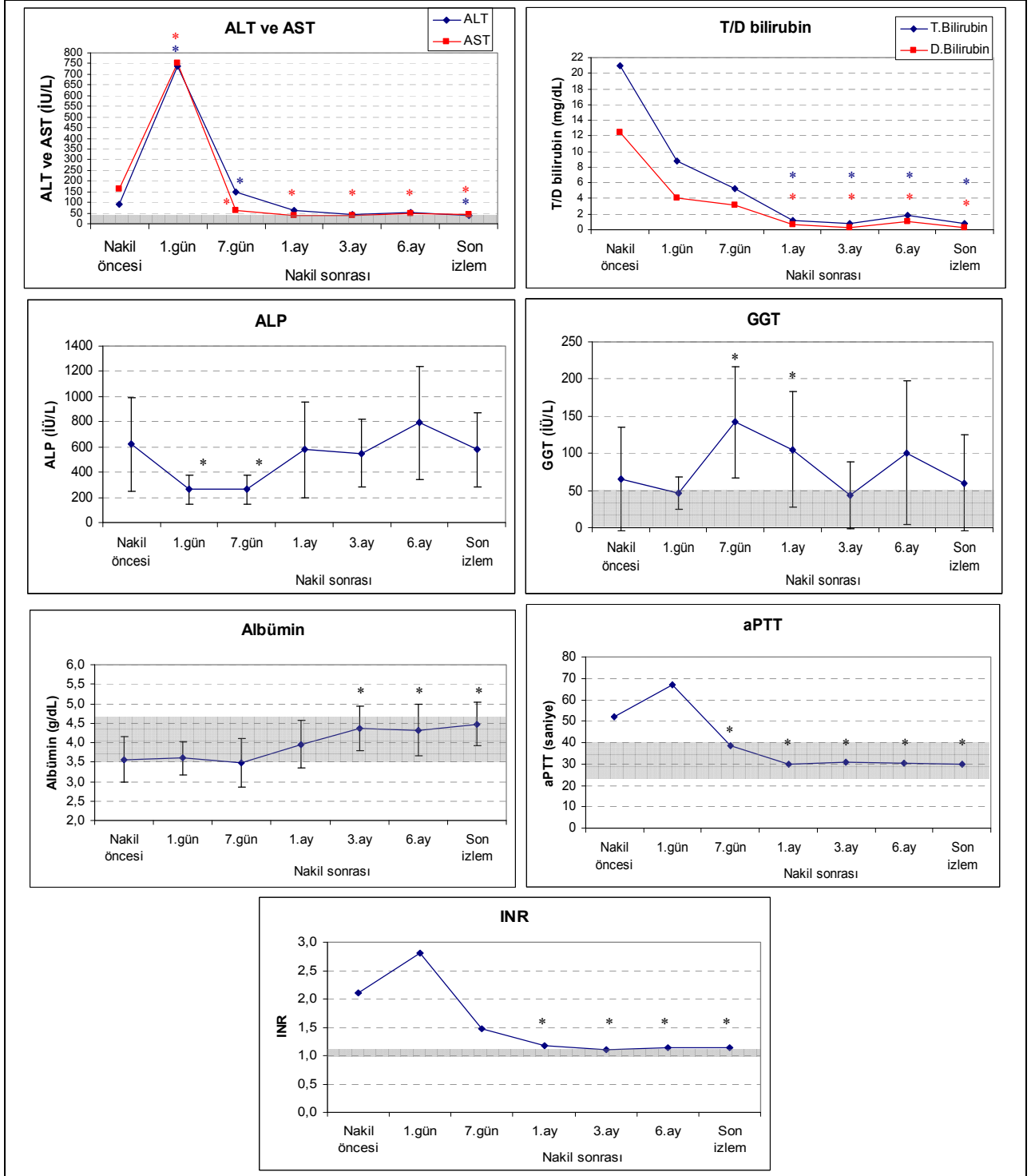
#### 4.4. Karaciğer Fonksiyon ve Koagülasyon Testleri Sonuçları

Nakil öncesi ve sonrası serum ALT, AST, total bilirubin, direkt bilirubin, GGT, ALP, albümin, aPTT ve INR sonuçları Tablo 4.3'te verilmiştir.

**Tablo 4.4. Karaciğer fonksiyon ve koagülasyon testleri**  
(Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. N: normal aralık)

	Hastalar						
	Nakil öncesi n=35	Nakil Sonrası					
		1.gün n=35	7.gün n=35	1.ay n=33	3.ay n=33	6.ay n=33	Son izlem n=27
ALT (İÜ/L) (N:0-41)	89±90	739±1106	146±125	61±46	45±39	52±57	37±32
AST (İÜ/L) (N:0-40)	161±150	750±1291	64±52	40±24	39±22	48±40	42±24
T.Bilirubin (mg/dL) (N:0-1.2)	21±22	8.7±6	5.2±4.5	1.24±0.9	0.8±0.7	1.8±4.7	0.8±0.8
D.Bilirubin (mg/dL) (N:0-0.3)	12.6±13.6	4.1±3.5	3.3±3.4	0.64±0.7	0.3±0.3	1.05±3.5	0.3±0.5
GGT (İÜ/L) (N:5-36)	68±80	34±20	149±97	138±119	51±52	90±125	60±75
ALP (İÜ/L) (N:15-1000)	711±515	291±158	306±199	585±361	581±322	765±413	578±296
Albümin (g/dL) (N:3.5-4.7)	3.6±0.6	3.6±0.4	3.54±0.6	3.96±0.6	4.36±0.6	4.3±0.7	4.5±0.5
PTT (s) (N:24-40)	52±31.2	67±37	39.7±23	29.7±5.4	30.8±3.6	30.3±4	30.1±2.8
INR (N:1-1.2)	2.11±1.2	2.8±1.3	1.48±0.7	1.18±0.4	1.1±0.1	1.13±0.2	1.14±0.09

Nakil sonrası izlemleri 6. ay sonrasında da yapılabilen 27 hastanın nakil sonrası serum ALT, AST, total bilirubin, direkt bilirubin, GGT, ALP, albümin, aPTT ve INR değerlerinin seyri ve nakil öncesi düzeyleriyle kıyaslanması Şekil 4.6'da görülmektedir. Nakil sonrasında karaciğer fonksiyonlarının düzeldiği, buna paralel olarak serum prohepsidin düzeylerinin yükselerek kontrol grubunun değerlerine ulaştığı izlendi.



**Şekil 4.6. Karaciğer fonksiyon ve koagülasyon testlerinin nakil sonrası seyri ve nakil öncesi değerleriyle kıyaslanması (nakil öncesiyle kıyaslandığında \*:  $p < 0.01$ . Boyalı alan normal sınırları göstermektedir)**

#### 4.5. Vitamin B<sub>12</sub>, Folat ve Çinko Sonuçları

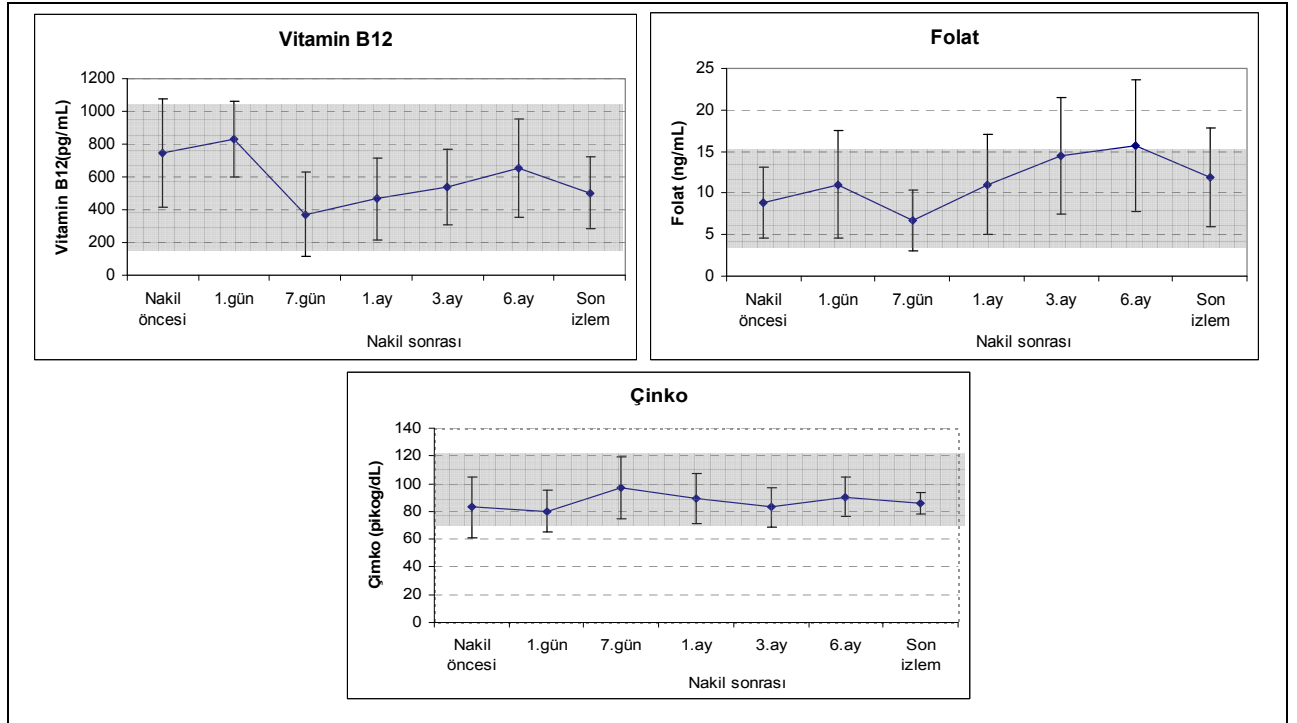
Verici ve hastaların nakil öncesi ve sonrası vit B<sub>12</sub>, folat ve çinko düzeylerinin ortalamaları normal sınırlar içerisinde bulundu (Tablo 5). Nakil öncesi ve sonrası hastalarımızın hiçbirinde

vit B<sub>12</sub> eksikliği saptanmazken, 2 hastada nakil öncesi, 2 hastada nakil sonrası 7. günde, bir hastada ise nakil sonrası 1. ayda folat düşüklüğü saptandı. Bu hastaların hiçbirinde makrositoz veya anemi yoktu. Çinko düşüklüğü ise nakil öncesi 6 hastada saptandı. Bu hastaların birinde mikrositer anemi olup beraberinde DEA'de vardı. Üç hastada ise mikrositoz olmadan anemi mevcuttu. Nakil sonrası 6. aydan sonra da izlemleri yapılabilen 27 hastanın vit B<sub>12</sub>, folat ve çinko değerlerinin seyri Şekil 4.7'de görülmektedir.

**Tablo 4.5. Vitamin B<sub>12</sub>, folat ve çinko düzeyleri ile eksiklik olan hasta sayıları**

(Sonnuçlar ortalama±standart sapma olarak verilmiştir. N: normal aralık)

	Vericiler n=30	Hastalar						
		Nakil öncesi n=35	Nakil Sonrası					
			1.gün n=35	7.gün n=35	1.ay n=33	3.ay n=33	6.ay n=33	Son izlem n=27
Vitamin B <sub>12</sub> (pg/mL) (N:157-1059)	352±215	710±337	831±357	372±263	469±256	540±232	654±300	503±223
Folat (ng/mL) (N:3-15)	6.7±3.1	9.2±4.3	11±6.5	6.7±3.7	11±6	14.5±7	15.7±7.8	11.9±6.4
Çinko (µg/dL) (N:70-120)	90.5±18	81±22	80±15	97±22	89±18	83±14	90.4±14	86±8
Vit B12 eksikliği/anemi	1/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
Folat eksikliği/anemi	0/0	2/1	0/0	2/1	1/0	0/0	0/0	0/0
Çinko eksikliği/anemi	3/0	6/4	2/2	1/1	2/0	2/1	0/0	0/0



**Şekil 4.7. Vitamin B<sub>12</sub>, folat ve çinko düzeylerinin nakil sonrası seyri**



#### 4.6. Hastalarda Saptanan Hematolojik Sorunlar

Verici ve hastaların nakil öncesi ve sonrası izlemlerinde saptanan hematolojik sorunlar, infeksiyon ve doku reddi sayı ve oranları Tablo 4.5'te özetlenmiştir.

**Tablo 4.6. Hematolojik sorunlar, infeksiyon ve doku reddi sayıları\***  
(DC: direk Coombs)

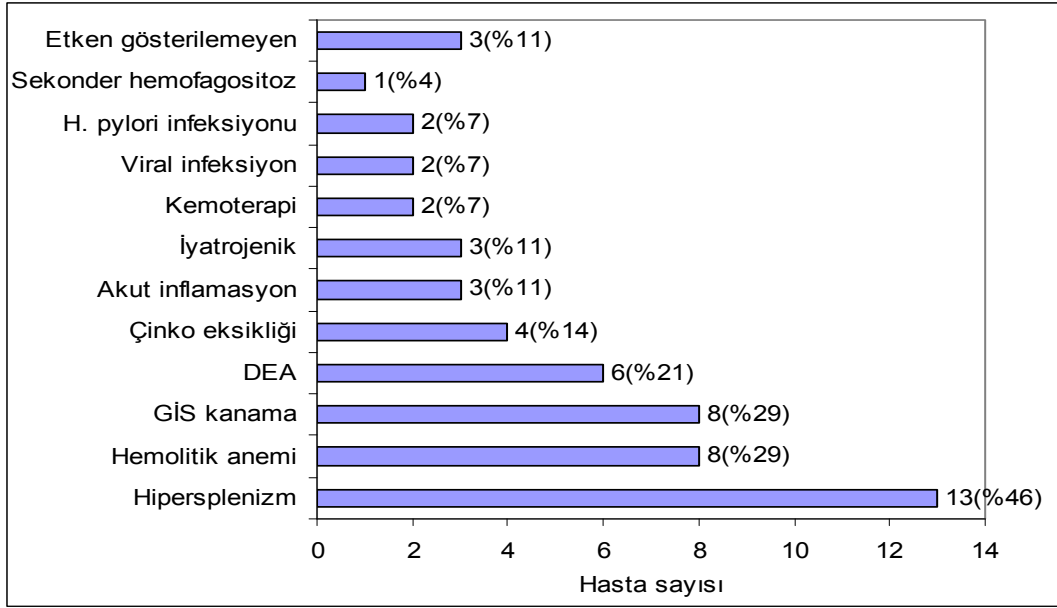
	Vericiler n=30	Hastalar						
		Nakil öncesi n=35	Nakil Sonrası					
			1.gün n=35	7.gün n=35	1.ay n=33	3.ay n=33	6.ay n=33	Son izlem n=27
Anemi	3 (%10)	28 (%80)	27 (%77)	26 (%74)	11(%33)	6 (%18)	15 (%45)	11 (%41)
İzole DE	6 (%20)	2 (%6)	0	0	7 (%21)	5 (%15)	9 (+27)	4 (%15)
DEA	2 (%7)	6 (%17)	5 (%14)	4 (%11)	3 (%9)	3 (%9)	7 (%21)	9 (%33)
Hemolitik anemi	0	8 (%23)	6 (%17)	3 (%9)	1(%3)	0	1 (%3)	0
Çinko eksikliği	0	6 (%17)	2 (%6)	1 (%3)	2 (%6)	2 (%6)	0	0
Lökopeni	0	13 (%37)	5 (%14)	6 (%17)	6(%18)	7 (%21)	9 (%27)	4 (%15)
Nötropeni <sup>#</sup>								
Toplam	0	5 (%14)	0	1 (%3)	1(%3)	1 (%3)	4 (%12)	2 (%7)
Ağır		0		0	0	0	0	1
Orta		2		0	0	1	2	1
Hafif		3		1	1	0	2	0
Trombositopeni <sup>§</sup>								
Toplam	0	24 (%69)	32 (%91)	20 (%57)	7(%21)	8 (%24)	7 (%21)	6 (%22)
Ağır		7	3	6	0	0	0	1
Orta		12	21	11	3	4	3	1
Hafif		5	8	3	4	4	4	4
DC pozitifliği	0	6 (%17)/	4 (%11)	1 (%3)	0	0	0	0
Koagülopati	0	29 (%83)	35(%100)	20 (%57)	6(%18)	2 (%6)	3 (%9)	1 (%4)
İnfeksiyon	0	3 (%9)	2 (%6)	4 (%11)	9(%27)	1 (%3)	5 (%15)	4 (%15)
Doku reddi			0	6 (%17)	8(%24)	4 (%12)	4 (%12)	2 (%7)

\* Tüm veriler yaşa göre normal değerler göz önünde bulundurularak değerlendirilmiştir.

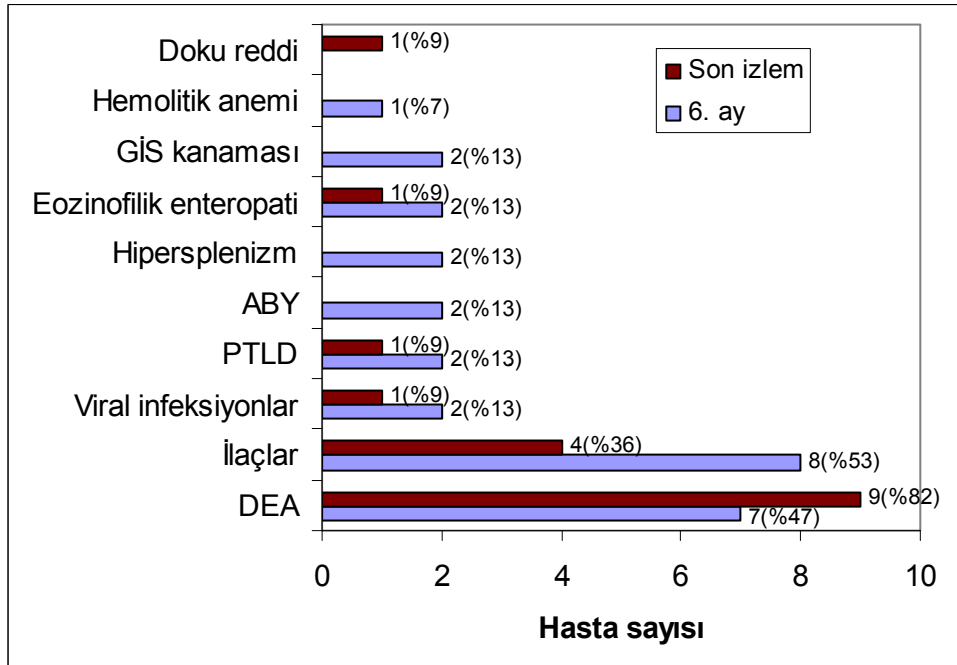
# Mutlak nötrofil sayısı, <500 / $\mu$ L ise ağır, 500-1000/ $\mu$ L ise orta, 1000-1500/ $\mu$ L ise hafif nötropeni olarak değerlendirildi

§ Trombosit sayısı, <50000/ $\mu$ L ise hafif, 50000-100000/ $\mu$ L ise orta, 100000-150000/ $\mu$ L ise hafif trombositopeni olarak değerlendirildi

Nakil öncesi anemisi bulunan 28 hastada anemi nedenleri Şekil 4.8'de verilmiştir. Hastaların bir kısmında birden fazla anemi nedeni saptanmıştır. Nakil sonrası 6. ayda anemisi olan 15 hastadaki anemi nedenleri ve 6. aydan sonraki son izlemlerinde anemi saptanan 11 hastada belirlenebilen anemi nedenleri Şekil 4.9'da görülmektedir. Burada da yine hastaların bir kısmında birden fazla anemi nedeni vardı.



**Şekil 4.8. Nakil öncesi anemi nedenleri**



**Şekil 4.9. Nakil sonrası 6. ay ve son izlemde anemi nedenleri**

(6. ayda 15 hastada, son izlemde 11 hastada anemi saptanmıştır. ABY: akut böbrek yetmezliği)

Eritrosit süspansiyonu verilen hasta sayısı, verilen eritrosit süspansiyonu miktarı ve demir tedavisi uygulanan hasta sayısı Tablo 4.7’de görülmektedir.

**Tablo 4.7. Eritrosit süspansiyonu verilen hasta sayısı, verilen eritrosit süspansiyonu miktarı ve demir tedavisi uygulanan hasta sayısı** (ES: eritrosit süspansiyonu, ES miktarı ortalama±standart sapma olarak verilmiştir)

	Nakil öncesi 3 ay n=35	Nakil Sonrası					
		1-3.gün n=35	4-7.gün n=35	8-30.gün n=33	1-3.ay n=33	3-6.ay n=33	Son 4 ay n=27
<b>ES verilen hasta sayısı</b>	22 (%63)	35 (%100)	12 (%36)	12 (%36)	4 (%12)	3 (%9)	1 (%4)
<b>ES miktarı (ml/kg/hasta)</b>	29±22.5	33±27	13.2±7	10.7±2.8	11.2±4.2	9±1.7	30
<b>Demir tedavisi</b>	4 (%11)	0	0	0	0	5 (%15)	6 (%22)

#### 4.7. Nakil Öncesi Prohepsidin ve Karaciğer Demir Yoğunluğunun Hastalıklarla İlişkisi

Nakil öncesi prohepsidin, KDY ve ferritinin nakil öncesi eritrosit göstergeleri, serum demir değişkenleri, EPO, CRP, karaciğer fonksiyonları, koagülasyon tetkikleri, vit B<sub>12</sub>, folat ve çinko düzeyleriyle ilişkisi Tablo 4.8’de verilmiştir. Nakil öncesi serum prohepsidin düzeyleriyle CRP, ALT, AST, total ve direk bilirubin ve ALP düzeyleri arasında anlamlı pozitif ilişki saptandı. Prohepsidin ile ferritin arasında istatistiksel anlamı olmasa da negatif bir ilişki mevcuttu. Nakil sonrası 6. ay ve 6. aydan sonraki izlemlerde böyle bir ilişki saptanmadı (veriler gösterilmedi).

Karaciğer demir yoğunluğunun nakil öncesi serum demiri, Tf satürasyonu, ferritin, MCH, EPO, CRP, AST, total ve direk bilirubin, INR ve vit B<sub>12</sub> ile anlamlı pozitif ilişkisi, Hb, Hct, eritrosit sayısı, SDBK ve ALP ile anlamlı negatif ilişkisi saptandı (Tablo 4.8).

Ferritin düzeylerinin MCV, MCH, MCHC, serum demiri, Tf satürasyonu, EPO, CRP, ALT, AST, total bilirubin, direk bilirubin, PTT, INR, vit B<sub>12</sub> ile anlamlı pozitif, Hb, Hct, eritrosit sayısı, SDBK ve Tf ile anlamlı negatif ilişkisi saptandı (Tablo 4.8).

**Tablo 4.8. Nakil öncesi prohepsidin, KDY ve ferritinin eritrosit göstergeleri, demir değişkenleri, EPO, CRP, karaciğer fonksiyonları, koagülasyon testleri, vit B<sub>12</sub>, folat ve çinko düzeyleriyle ilişkisi** (Verilen değerler ilgileşim katsayısıdır. \*: p<0.05, \*\*: p<0.01)

	Prohepsidin	KDY	Ferritin
Hemoglobin	0.038	<b>-0.496**</b>	<b>-0.495**</b>
Hematokrit	0.056	<b>-0.542**</b>	<b>-0.531**</b>
Eritrosit sayısı	-0.069	<b>-0.518**</b>	<b>-0.605**</b>
MCV	0.210	0.279	<b>0.397*</b>
RDW	-0.115	0.128	0.136
MCH	0.044	<b>0.353*</b>	<b>0.521**</b>
MCHC	0.103	0.272	<b>0.440**</b>
MPV	0.070	-0.229	-0.166
Serum demiri	0.246	<b>0.607**</b>	<b>0.674**</b>
SDBK	-0.244	<b>-0.575**</b>	<b>-0.700**</b>
Transferrin Satürasyonu	-0.286	<b>0.677**</b>	<b>0.775**</b>
Transferrin	0.061	-0.306	<b>-0.540**</b>
Ferritin	-0.257	<b>0.819**</b>	1
EPO	0.256	<b>0.426*</b>	<b>0.424*</b>
CRP	<b>0.472**</b>	<b>0.346*</b>	<b>0.411*</b>
ALT	<b>0.403*</b>	0.069	<b>0.367*</b>
AST	<b>0.465**</b>	<b>0.366*</b>	<b>0.407*</b>
T.Bilirubin	<b>0.570**</b>	<b>0.548**</b>	<b>0.669**</b>
D.Bilirubin	<b>0.520**</b>	<b>0.541**</b>	<b>0.593**</b>
GGT	-0.41	-0.257	-0.317
ALP	<b>0.361*</b>	<b>-0.414*</b>	-0.254
Albümin	0.022	0.123	0.174
PTT	-0.014	0.287	<b>0.362*</b>
INR	-0.016	<b>0.374*</b>	<b>0.434**</b>
Vitamin B <sub>12</sub>	0.228	<b>0.353*</b>	<b>0.383*</b>
Folat	0.085	-0.052	-0.040
Çinko	-0.130	-0.009	-0.030
Prohepsidin	1	-0.089	0.257

Nakil öncesi serum prohepsidin, KDY, Hct, serum demiri, ferritin ve EPO değerlerinin cinsiyet, malnütrisyon, büyüme geriliği, anemi, DE+DEA, hemolitik anemi, eritrosit süspansiyonu verilmesi, karaciğer demir, fibrozis ve inflamatuvar aktivite derecesi ve hastalık gruplarıyla ilişkisi Tablo 4.9'da özetlenmiştir. Nakil öncesi serum prohepsidin, KDY, Hct, serum demiri, ferritin ve EPO değerlerinin cinsiyet, malnütrisyon ve büyüme geriliği ile ilişkisi saptanmadı. Nakil öncesi serum prohepsidin düzeyinin anemi, DE+DEA, hemolitik anemi, eritrosit süspansiyonu verilmesi ve karaciğer fibrozis derecesiyle ilişkisi saptanmadı. Karaciğer demir derecesi yüksek olan hastaların serum prohepsidin düzeyleri daha düşük olmasına rağmen istatistiksel fark saptanmadı. Karaciğer inflamatuvar aktivite derecesi yüksek olanların serum prohepsidin seviyeleri anlamlı olarak düşük bulundu

Demir eksikliği+DEA olan hastaların KDY anlamlı olarak düşük iken hemolitik anemi olanların KDY anlamlı olarak yüksekti. Karaciğer demir derecesi yüksek olanların KDY daha yüksek bulundu ancak istatistiksel fark saptanmadı. Karaciğer demir yoğunluğunun eritrosit süspansiyonu alımıyla, karaciğer inflamatuvar aktivite ve fibrozis derecesiyle ilişkisi saptanmadı.

Nakil öncesi Hct düzeyinin anemi ve hemolitik anemi olanlar ile eritrosit süspansiyonu alanlarda anlamlı olarak daha düşük olduğu, karaciğer demir, fibrozis ve inflamatuvar aktivite derecesiyle ilişkisinin olmadığı saptandı.

Serum demiri DE+DEA olanlarda anlamlı olarak daha düşük, hemolitik anemi olanlarda ise anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Serum demirinin eritrosit süspansiyonu alımı ile karaciğer demir, fibrozis ve inflamatuvar aktivite derecesiyle anlamlı ilişkisi saptanmadı.

Ferritinin anemi, eritrosit süspansiyonu alımı, karaciğer fibrozis ve inflamatuvar aktivite derecesiyle ilişkisi saptanmazken, DE+DEA olanlarda anlamlı olarak daha düşük, hemolitik anemi olanlarda ve karaciğer demir derecesi yüksek olanlarda anlamlı olarak daha yüksek bulundu.

Eritropoetin düzeyi anemi olanlarda ve eritrosit süspansiyonu alanlarda anlamlı olarak daha yüksek bulundu. Eritropoetin DE+DEA, hemolitik anemi, karaciğer demir, fibrozis ve inflamatuvar aktiviteyle ilişkisi saptanmadı.

**Tablo 4.9. Nakil öncesi prohepsidin, KDY, hematokrit, serum demiri, ferritin ve EPO düzeylerinin çeşitli klinik durumlarla, karaciğer histopatoloji sonuçları ve hastalık gruplarıyla ilişkisi** [Sonuçlar ilk satır ortalama±standart sapma, ikinci satır ortanca (en düşük-en yüksek aralık) olarak verilmiştir. KC: karaciğer]

	Prohepsidin	p	KDY	p	Hct	p	Serum demiri	p	Ferritin	p	EPO	p
<b>Cinsiyet</b>												
Erkek, n:15	53±22		7.5±8.4		29±4.7		112±82		282±416		89±84	
Kadın, n:20	54 (14-98) 58±33 51(13-147)	0.822	4.2(0.3-29) 11±9.6 8.2(0.5-32)	0.194	30(23-37) 28±5.8 28(14-41)	0.665	98(21-271) 154±101 152(24-377)	0.161	120(24-1542) 321±379 121(12-1252)	0.764	80(5-260) 88±70 66(7-200)	0.738
<b>Malnütrisyon</b>												
Olanlar, n:10	55±39		8.6±8.7		27±5.6		154±112		251±326		98±74	
Olmayanlar, n:25	44(13-147) 55±25 54(14-121)	0.320	4.4(0.6-24) 9.9±9.5 5.9(0.3-32)	0.742	28(14-35) 29±5 29(19-41)	0.499	126(29-377) 128±88 140(21-302)	0.559	101(12-1034) 326±417 134(24-1542)	0.635	65(14-200) 85±77 79(5-260)	0.453
<b>Büyüme geriliği</b>												
Olanlar, n:9	64±46		10.3±10.5		28±6.2		177±111		319±392		91±80	
Olmayanlar, n:26	46(13-147) 53±21 53(14-98)	0.839	5.1(1.2-29) 9.3±8.6 5.8(0.3-32)	0.850	28(14-35) 29±5 29(19-41)	0.720	141(63-377) 121±86 119(21-302)	0.168	114(15-1034) 300±397 131(12-1542)	0.940	56(13-200) 88±75 80(5-260)	0.880
<b>Anemi</b>												
Olanlar, n:28	56±31		10.6±9.7		27±4.3		139±101		350±420		107±73	
Olmayanlar, n:7	53(13-147) 54±19 49(30-85)	0.949	6(0.3-32) 5.3±5.3 4.2(0.4-16)	0.248	28(14-35) 35±2.8 35(33-41)	<0.001	141(21-377) 122±66 98(55-212)	0.967	137(12-1542) 123±146 76(31-422)	0.232	85(7-260) 14±5 14(5-21)	<0.001
<b>DE+DEA</b>												
Olanlar, n:8	58±12		2.3±1.5		30±3.3		46±40		32±24		94±72	
Olmayanlar, n:27	61(34-71) 55±32 47(13-147)	0.273	2.5(0.3-4.1) 11.7±9.4 9.5(0.4-32)	0.002	29(25-35) 28±5.7 28(14-41)	0.326	30(21-141) 162±90 161(34-377)	<0.001	26(12-89) 385±411 217(31-1542)	<0.001	80(13-260) 87±77 56(5-200)	0.478
<b>Hemolitik anemi</b>												
Olanlar, n:8	51±33		19±8.7		23.8±4.7		222±84		609±401		127±78	
Olmayanlar, n:26	45(14-121) 56±28 53(13-147)	0.355	19(5-32) 6.7±7 4(0.4-29)	0.001	25(14-28) 30±4.7 30(22-41)	0.004	192(140-377) 113±82 87(24-302)	0.006	483(147-1252) 222±349 88(12-1542)	0.002	140(7-200) 70±62 59(5-200)	0.099
<b>Eritrosit süsp</b>												
Alanlar, n:22	60±32		11.6±9.6		26.6±4.6		149±103		370±372		114±76	
Almayanlar, n:13	55(14-147) 48±20 49(13-85)	0.312	10(0.3-32) 6±7.5 3.6(0.4-29)	0.094	27.5(14-34) 32±4.7 33(23-41)	0.003	141(21-377) 113±77 70(29-255)	0.366	250(24-1252) 194±409 87(12-1542)	0.060	89(5-260) 45±49 21(10-182)	0.008
<b>KC demir derecesi</b>												
0-1, n:29	57±30		8.7±9.5		28.5±5.6		131±96		279±402		91±72	
2-4, n:6	54(13-147) 44±12 45(30-59)	0.274	5.1(0.3-32) 13.5±6.4 14.4(2.5-21)	0.125	28.4(14-41) 29.4±3.6 29(24-34)	0.710	110(21-377) 160±90 164(34-296)	0.358	89(12-1542) 429±331 408(127-1034)	0.049	79(10-260) 76±96 23(5-200)	0.313
<b>KC fibrozis derecesi</b>												
0-1, n:7	39.5±13.5		13.3±10.7		29.7±9		211±88		421±523		73±85	
2-4, n:28	43(16-59) 59.5±30 49(13-147)	0.103	14(0.4-29) 8.6±8.7 5.1(0.3-32)	0.332	33(14-41) 28±4 28(19-35)	0.483	194(98-377) 117±88 90(21-302)	0.019	147(76-1542) 276±356 102(12-1252)	0.174	17(5-200) 92±73 74(7-260)	0.223
<b>KC inflamatuvar aktivite derecesi</b>												
0-2, n:18	70±30		10.6±9.8		28±5.6		136±115		335±395		83±69	
3-5, n:10	45±21	0.008	7±6.4	0.784	28±3.7	0.978	115±56	0.463	223±264	0.865	94±92	0.961
6-9, n:7	36±16		10.5±11.2		30±6.6		163±82		344±548		95±73	
<b>Temel hastalık</b>												
Wilson, n:5	39.5±16		14.7±11.8		24±3.2		136±65		478±455		91±72	
Tirozinemi, n:4	45(14-55) 65.7±14 62(53-85)	0.002	12.9(3.2-32) 5.3±4.4 5(0.3-11)	0.309	24.4(19-28) 30.6±3 29.8(28-35)	0.174	141(29-203) 39±22 32(21-70)	0.014	374(89-1252) 56±48 36(24-127)	0.028	94(7-200) 98±111 55(21-260)	0.665
Kolestaz, n:11	98±65.5		11.2±9.1		28.5±4.3		173±98		430±385		114±84	
Fulminan hepatit, n:4	73(39-147) 35±12 41(16-42)		9.5(1.2-29) 12.6±12.3 10.5(0.4-29)		28(22-35) 31.7±8.5 31(23-41)		163(44-302) 210±33 203(180-255)		282(36-1034) 468±717 126(76-1542)		100(13-200) 72±80 48(10-182)	
Diğer, n:11	42±19 46(13-71)		5.9±7.3 3.6(0.5-24)		28.8±5.6 29(14-34)		106±100 75(24-377)		131±174 52(12-503)		62±57 58(5-200)	

Hastalık grupları karşılaştırıldığında, nakil öncesi serum prohepsidin ( $p=0.002$ ), serum demiri ( $p=0.014$ ) ve ferritin ( $p=0.028$ ) değerlerinde anlamlı fark saptandı. Fulminan hepatitte serum prohepsidin düzeyi, Wilson hastalığına göre anlamlı ( $p<0.05$ ) düşük, tirozinemi, kolestaz ve diğer hastalık gruplarına göre belirgin anlamlı düşük ( $p<0.001$ ) saptandı. Wilson hastalığında ise serum prohepsidin düzeyi tirozinemi ve kolestaz grubuna göre belirgin anlamlı düşük bulundu ( $p<0.001$ ). Hastalık grupları arasında KDY açısından fark saptanmadı. Serum demir düzeyleri açısından bütün hastalık grupları birbirlerinden farklı ( $p<0.05$ ) bulundu. Serum demiri fulminan hepatitte tüm hastalık gruplarına göre belirgin anlamlı yüksek ( $p<0.001$ ), kolestaz grubu ve Wilson hastalığında, tirozinemi ve diğer hastalık grubuna göre belirgin anlamlı yüksek ( $p<0.001$ ) bulundu. Nakil öncesi ferritin düzeyi Wilson hastalığında kolestaz grubu hariç tüm hastalık gruplarına göre anlamlı yüksek (fulminan hepatitle  $p<0.05$ , tirozinemi ve diğer gruplarıyla  $p<0.001$ ) bulundu. Kolestaz ve fulminan hepatit arasında ferritin düzeyi yönünden fark anlamlı değilken, her iki grubun da ferritin düzeyleri tirozinemi ve diğer hastalıklara göre belirgin anlamlı yüksek ( $p<0.001$ ) bulundu.

Önemli bir bulgu olarak, nakil sonrası dönemde bazı hastalarda saptadığımız doku reddinin ve klinik ve laboratuvar kanıtlı infeksiyonların prohepsidinle anlamlı ilişkisi saptanmadı.

## 5. TARTIŞMA

### 5.1. Karaciğer Nakli, Hematolojik Sorunlar ve Anemi

Çalışmamıza alınan 35 hastanın biri hariç tümünde nakil öncesinde bir veya birden fazla hematolojik sorun saptandı. Bu vakaların da ikisi hariç hepsinde (32 hasta) tekli veya çoklu sitopeni saptandı. Nakil öncesi dönemde en sık saptanan hematolojik sorunlar sıklık sırasına göre koagülopati (%83), anemi (%80), trombositopeni (%69), lökopeni (%37) ve nötropeniydi (%14). Bu sorunların hepsi karaciğer nakli sonrası belirgin azalmakta ancak tamamen düzelmemektedir. Hastalarımızın nakil sonrası ortalama 27. ayda yapılan son değerlendirmelerindeki hematolojik sorunlar ise sıklık sırasına göre anemi (%41), trombositopeni (%22), lökopeni (%15), nötropeni (%7) ve koagülopatiydi (%4). Farklı nedenlerle karaciğer nakli yapılmış 70 çocuk hastanın ortalama 6 yıllık izleminde, nakil sonrasında hastaların %36'sında çeşitli hematolojik bozukluklar saptanmıştır (8). Anemi için Hb alt sınırının 10 g/dL, nötropeni için mutlak nötrofil sayısının <1000/µL ve trombositopeni için trombosit sayısının <100000/µL alındığı bu çalışmada, hastaların %30'unda anemi, %13'ünde nötropeni, %7'sinde trombositopeni saptanmış, bazı hastalarda çoklu sitopeni olduğu gözlenmiştir. Çalışmamızdaki hematolojik bozuklukların bu çalışmaya göre bir miktar yüksek olmasının nedeninin sitopeni için alınan sınırların farklılığı olabileceğini düşünmekteyiz. Bir başka çalışmada 97 erişkin karaciğer alıcısı incelenmiş, nakil öncesi dönemde hastaların %65'inde anemi tespit edilmiştir (98). Bağışıklık baskılayıcı olarak bizim hasta grubumuzdaki gibi takrolimus ve steroid kullanılan bu çalışmadaki hastaların nakil sonrası 6. aydaki anemi sıklığı %50, birinci yıldaki anemi sıklığı ise %47 bulunmuştur. Aynı çalışmada DEA sıklığı nakil öncesi %14, nakil sonrası 6. ayda %10.5, birinci yılda ise %8 bulunmuştur. Geriye dönük ve kesitsel olarak 175 karaciğer alıcısı çocuğun incelendiği bir çalışmada nakil sonrası 6. ayda anemi sıklığı %28.2 bulunmuştur (97). Bu çalışmada anemisi olan 56 hastanın 47'sinde (%86) etken gösterilememiş, 4 (%7) hastada DEA, 2 (%3.6) hastada PTLD, 2 (%3.6) hastada viral enfeksiyon (HIV ve PVB-19) bir hastada da hipersplenizm saptanmıştır. Bizim çalışmamız ve diğer çalışmalar, karaciğer nakli olan hastalarda hematolojik sorunların hem nakil öncesi hem de sonrasında sık olduğuna işaret etmektedir.

Anemi kronik karaciğer hastalıklarında sık görülen durumlardandır (98, 122, 123). Karaciğer nakli sonrası gelişen aneminin nedenleri çok çeşitlidir ve bir hastada birden çok etken saptanabilmektedir (Bkz. Tablo 2.2) (9). Nakil sonrası erken dönemdeki anemi nedenleri daha çok ameliyata bağlı kanama, enfeksiyonlar, tedavi uygulamaları ve böbrek yetmezliği iken, geç dönemdeki anemi nedenleri ise bağışıklık baskılayıcı ilaçlar, viral enfeksiyonlar, böbrek



yetmezliği, PTLD ve özellikle çocuklarda DEA'dir (9). Ancak nakil sonrası geç dönemde gelişen aneminin nedenleri çoğu hastada gösterilememektedir (9, 97, 99). Çalışmamızda hastaların çoğunda anemi nedenleri gösterilebilmiştir. Bunun nedeninin hastalarımızın geleceğe dönük olarak incelenmesi olduğunu düşünmekteyiz. Araştırmamızda nakil öncesi dönemde saptanabilen etkenler sıklık sırasına göre hipersplenizm, hemolitik anemi, GİS kanaması, DEA, inko eksikliği, akut inflamasyon, iyatrojenik nedenler, kemoterapi uygulanması, viral infeksiyonların kemik iliğini baskılaması, H. pylori infeksiyonu ve sekonder hemofagositozdur. Bu etkenlerin neredeyse hepsi birbiriyle bağlantılı olup çoğu hastada birden fazla etken bulunmakta ve genellikle kronik karaciğer hastalıklarındaki anemi nedenleriyle örtüşmektedir. Örneğin hipersplenizm olanların bir kısmında özefagus varis kanaması ve buna bağlı demir eksikliği anemisi birlikte görülebilmektedir. Çalışmamızda nakil sonrası 6. ay ve sonraki izlemlerdeki anemi nedenleri farklı bir dağılım göstermekte, bu konudaki diğer çalışmalarla uyumlu olarak bağışıklık baskılayıcı ilaçlar, DEA, viral infeksiyonlar, PTLD, akut böbrek yetmezliği, hipersplenizm, eozinofilik enteropati, GİS kanaması ve daha nadir olarak da hemolitik anemi ve doku reddi olarak ortaya çıkmaktadır. Çalışmamızda geç dönemde hastaların hâlihazırda %22'si demir tedavisi almasına rağmen DEA oranı %33 olup literatürdeki (97, 98). diğer çalışmalardan daha yüksek bulunmuştur. Bu duruma, çalışma grubumuzdaki hastaların sosyoekonomik yapısının farklılığı, beslenme alışkanlıklarının farklılığı, altta yatan hastalıkların ve şiddetinin farklılığı ve hastalarımızda tromboz önleyici olarak kullanılan aspirinin etkisi gibi birçok faktörün neden olabileceğini düşündük. Ek olarak izlem süresince serum prohepsidin düzeyinin giderek yükselmesinin de DEA gelişiminde kolaylaştırıcı bir faktör olabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızdaki ilginç bir bulgu, 3 hastada anemi nedeni olarak akkiz besin alerjisine bağlı eozinofilik enteropatinin saptanmasıydı. Karaciğer nakil alıcılarında kullanılan bağışıklık baskılayıcı ilaçlara, özellikle de takrolimusa ikincil hastaların bağışıklık yapılanması Th-1'den Th-2'ye doğru değişmekte, barsaktan besin antijenlerinin kana geçi artmakta, bunun sonucunda hastalarda eozinofili ve eozinofilik gastroenterokolit gelişmektedir (124–126). Bu 3 hastada da GİS kanaması ve buna bağlı ağır DEA geliştiğini gözlemledik.

## **5.2. Karaciğer Nakli ve Eritrosit Göstergeleri**

Literatürde karaciğer alıcılarında nakil öncesi ve sonrası hematolojik değişkenlerin sistemli olarak incelendiği ileriye dönük-kontrollü bir çalışma yoktur. Çalışmamızda nakil öncesi düşük olan Hb, Hct ve eritrosit sayılarının nakil sonrası dönemde yükseldiği, bu yükselişin 1. aydan sonra nakil öncesi değerlere göre anlamlı hale geldiği, 6. ayda DE ve DEA sıklığının artışına bağlı hafif bir düşüş yaptığı ve sonra tekrar yükseldiği görülmektedir. Bunun yanında MCV ve

MCH değerlerinin nakil sonrası son izlem zamanına kadar sürekli düşüş gösterdiği, RDW değerlerinin ise nakil sonrası 6. aya kadar düşüp son izlemde hafif yükseliş gösterdiği, ancak tüm zamanlarda normalin üzerinde seyrettiği görülmektedir. Karaciğer hastalarında MCV değerinin normalden yüksek oluşu, nakil öncesi dönemdeki yüksek MCV değerlerinden sorumlu olabilir. Hastalarımızda nakil sonrasında izlenen MCH değerlerindeki düşmeden ve RDW değerlerinin hep yüksek oluşundan ise, DEA sıklığının zaman içinde artışının sorumlu olabileceğini düşünmekteyiz. Eritrosit göstergeleri, serum demir değişkenleriyle birlikte değerlendirildiğinde, hastaların nakil sonrası birinci aydan itibaren DE, 3. aydan itibaren de DEA gelişimi yönünden risk altında olduğu gözlenmektedir. Nakil sonrası anemi sıklığı 3. aya kadar sürekli düşüş göstermekte ancak 3. aydan sonra DEA sıklığının artışına paralel olarak anemi sıklığı da artmaktadır. Bu bulgunun, hastaların izlemi sırasında yararlanılabilecek bir veri olduğunu düşünmekteyiz.

### **5.3. Karaciğer Naklinde Serum Prohepsidin Düzeyinin Seyri**

Çalışmamızda hastaların nakil öncesi serum prohepsidin düzeyi kontrol grubuna göre belirgin olarak düşük bulundu. Yakın dönemde yapılan birkaç çalışmada kronik karaciğer hastalarında ve sirozlu hastalarda, bizim sonuçlarımıza benzer şekilde karaciğerde hepsidin yapımının azaldığı gözlenmiş, bu azalmanın alkolik karaciğer ve kronik hepatit C'li hastalarda daha belirgin olduğu bildirilmiştir. (127–130). Alkolik karaciğer ve kronik hepatit C hastalığı olanlarda karaciğerde demir birikiminin daha belirgin oluşu, bu hastalarda hepsidin düzeylerinin diğer hastalık gruplarına göre daha düşük oluşuna bağlanmaktadır. Yapılan çalışmaların hiçbirinde kronik hepatit ve sirozlu hastalarda karaciğer hepsidin ve serum prohepsidin düşüklüğünün nedeni tam açıklanamamıştır. Özellikle de farklı nedenlere bağlı sirozlarda farklı hepsidin düzeylerinin bulunması, bu bulgunun açıklanmasını daha da zorlaştırmaktadır. Yakın dönemde yapılan bir başka çalışmada (130), çeşitli nedenlere bağlı siroz olan 70 erişkin hastanın serum prohepsidin düzeyleri, bizim çalışmamızla aynı yöntemle ve aynı ticari kit kullanılarak çalışılmıştır. Çalışmamızda olduğu gibi, sirozlu hastaların serum prohepsidin düzeyleri sağlıklı kontrollere göre belirgin düşük bulunmuş (hastalar 52.6 ng/mL, kontroller 79.5 ng/mL,  $p < 0.01$ ), bu düşüklük yine HCV'ye bağlı sirozu olanlarda daha belirgin bulunmuştur. Bu çalışmada serum prohepsidin düzeyleriyle, karaciğerin sentez fonksiyonunun göstergesi olan albümin düzeyinin pozitif, INR düzeyi ve sirozun şiddetinin negatif ilişim gösterdiği gözlenmiştir. Sirozlu hastalardaki prohepsidin düşüklüğünün nedeni tam açıklanamamakla birlikte, bu düşüklüğün karaciğerin sentez fonksiyonunun yetersiz oluşuyla ilişkili olabileceği belirtilmiştir. Hepsidin ana yapım yeri karaciğer olması nedeniyle, sentez fonksiyonu ne kadar bozulduysa hepsidin yapımının da o denli azalması beklenmektedir.

Ancak bizim çalışmamızda nakil öncesi serum prohepsidin düzeyiyle, albümin ve INR arasında ilişki bulunamadı. Bu durumun; çalışmamızın farklı hastalık gruplarını içermesi, hastalık derecelerinin farklı olması, hastalarımıza nakil öncesi dönemde yoğun plazma ve albümin uygulanması ve hasta sayımızın az olması gibi birçok nedeni olabilir. Ancak nakil sonrası döneme bakıldığında transaminazların en yüksek, albüminin en düşük, PTT ve INR'nin en yüksek olduğu ilk gün serum prohepsidin düzeyinin anlamlı ölçüde düşük olduğu gözlemlendi. Daha sonraki izlemlerde ise transaminazlar, bilirubin, sentez fonksiyonunu gösteren albümin, PTT ve INR'nin düzeldiği ve normal düzeye geldiği, bunlara paralel olarak serum prohepsidin düzeylerinin de anlamlı şekilde artarak kontrol değerlere ulaştığı görülmektedir. Bu bulgular nakil edilen karaciğerin sentez fonksiyonlarını yerine getirmesinin, hepsidin üretimi için en önemli faktörlerden biri olduğunu göstermektedir.

Çalışmamızda nakil öncesi prohepsidin düzeyleriyle karaciğer fibrozis derecesi arasında negatif ilişki gösterilememiş, hatta istatistiksel anlamı olmasa bile pozitif ilişki gösterilmiştir. Bu bulgu, hastalarımızdaki hepsidin düşüklüğünün tek nedeninin hepatosit kitlesi ve sentez fonksiyonunda azalma olmadığını düşündürmektedir. Çalışmamızdaki sonuçlarımızı bir başka açıdan değerlendirdiğimizde, nakil öncesi dönemde çok miktarda kan transfüzyonu yapılmasına rağmen hastaların anemilerinin olduğu, bununla birlikte retikülosit ve EPO düzeylerinin çok yüksek olduğu görülmektedir. Çalışma grubumuzda en sık anemi nedenleri arasında hipersplenizm, hemolitik anemi, GIS kanaması gibi eritropoezis artışıyla giden durumlar görülmektedir. Nakil sonrası ilk günler ise kanama ve kan kaybının en sık olduğu dönemlerdir. Buna ikincil olarak hastalarımızda retikülosit sayısının nakil sonrası ilk hafta arttığı, daha sonra azalarak 3. ayda normale geldiği görülmektedir. Nakil öncesi yüksek olan eritropoetin de nakil sonrası düşerek 3. ayda normal düzeye geldiği görülmektedir. Hatta nakil öncesi dönemde anemisi olanlar ve eritrosit transfüzyonu yapılanlarda EPO düzeyi istatistiksel olarak daha da yüksek bulunmuştur. Bu veriler hastalarımızda nakil öncesi eritropoetik aktivitenin yüksek olduğunu, nakil sonrası ilk günler kanamanın etkisiyle bu aktivitenin daha da arttığını, 1. haftadan sonra ise azalarak 3. ayda normal düzeylere geldiğini ve bu şekilde seyrettiğini dolaylı olarak göstermektedir. Karaciğerden hepsidin yapımını etkileyen en güçlü mekanizmalardan biri eritropoetik düzenleyicidir (47, 50, 80,). Eritropoezisin artması hepsidini kuvvetli şekilde baskılamakta, hatta talasemi intermediya gibi inefektif eritropoezis izlenen hastalarda, bu baskılanmaya bağlı olarak hayati organlarda demir birikimi görülmektedir (47). Hastalarımızda nakil öncesi düşük olan serum prohepsidin düzeyinin nakil sonrası ilk gün daha da düştüğü, 1. haftadan sonra da yükselerek ilerleyen zamanlarda kontrol düzeyine yükseldiği ve bu düzeyde kaldığı görülmektedir. Bu durum bize

hasta grubumuzdaki nakil öncesi ve sonrasında prohepsidin düzeylerinin seyri üzerinde, karaciğer sentez fonksiyonlarının yanısıra eritropoetik aktivitenin de önemli etkisi olabileceğini göstermektedir. Karaciğer yetmezliği durumlarında eritropoetik düzenleyicinin hepsidin üzerindeki etkisi daha önceki çalışmalarda araştırılmamıştır. Bizim hipotezimizi daha güçlü şekilde destekleyebilmek için eritropoetik aktiviteyi dolaylı olarak gösteren solubl TfR ve yakın zamanda talasemili hastalarda hepsidin üzerinde negatif etkili bir eritropoetik faktör olarak tanımlanan GDF 15'in (83) araştırılmasının yararlı olacağını düşünmekteyiz.

Anemi hepsidin düzenlenmesinde tek başına rol alan bir diğer mekanizmadır. Etkisiz eritropoezisle giden kalıtsal anemiler, kanama ve hemoliz durumlarında hepsidin düzeyi düşmektedir (76–79) Anemi birden fazla mekanizmayla hepsidini baskılayabilmektedir (47). Bunlar aneminin kendisi, karaciğerdeki hipoksi, eritropoetin ve eritropoetik aktivitenin artışı ve demir yararlanımının artmasıdır. Bazı çalışmalarda karaciğer hastalarında karaciğer hepsidin ve serum prohepsidin düzeyleri ile Hb düzeyleri arasında pozitif ilişki bulunmuştur (129, 131). Çalışmamızda nakil öncesi Hb ve serum prohepsidin düzeyleri arasında anlamlı ilişki saptanamamıştır. Ancak nakil öncesi ve nakil sonrasındaki Hb ve serum prohepsidin düzeylerinin seyrine bakıldığında, bunların birbirleriyle paralel değiştiği görülmektedir. Bu durum hasta grubumuzda aneminin nakil öncesi izlenen prohepsidin düşüklüğü ve nakil sonrası prohepsidin seyri üzerine etki eden önemli bir faktör olduğunu düşündürmektedir.

Sonuç olarak hastalarımızdaki hepsidin düzeyleri ve nakil sonrası seyri üzerinde birden çok faktörün etkili olabileceğini düşünmekteyiz.

#### **5.4. Karaciğer Naklinde Serum Prohepsidin Düzeylerinin Serum Demir Değişkenleri, Karaciğer Fibrozis ve Demir Yoğunluğu ile İlişkisi**

Karaciğer hepsidin ve serum prohepsidin düzeylerinin serum demir değişkenleriyle olan ilişkisi klinik durumlara göre farklılık göstermektedir. Sağlıklı insanlarda serum demiri ve ferritini yükseldiğinde buna cevap olarak hepsidin üretimi de artmaktadır. Bu artış serum demiri normale düşene kadar devam etmektedir. Dolayısıyla sağlıklı insanlarda hepsidin, serum demiri ve ferritin ile pozitif ilişki göstermektedir. İnflamasyonda, kronik böbrek yetmezliği ve diyaliz hastalarında, inflamatuvar sitokinlerin etkisi ve eritropoezisin azalması sonucu akut faz proteinleri olan ferritin ve hepsidin yapımı artmaktadır (87). Bu hastalarda hepsidin ve serum prohepsidin düzeyleriyle ferritin kuvvetli pozitif ilişki göstermektedir. Özetle, serum demir ve ferritin artışına cevap olarak veya inflamasyona ikincil durumlarda hepsidin yükselmesi ile demir değişkenleri arasında pozitif ilişki mevcuttur. Ancak hemakromatozis gibi hepsidin yapımını birincil dereceden etkileyen durumlarda ve eritropoezisin arttığı durumlarda hepsidin, serum demiri, ferritin ve doku demir miktarıyla negatif ilişki göstermektedir. Bu iki farklı

durumun bir arada olması halinde ise hepsidin üzerindeki düzenleyicilerden hangisi kuvvetli ise onun etkisi görülmektedir. Örneğin talasemili hastalarda infeksiyon durumunda dahi eritropoetik etki daha güçlü olduğu için hepsidin düzeyi düşük bulunmaktadır. Çalışmamızda da kanıtlanmış infeksiyonu bulunan hastaların serum prohepsidin seviyelerinin infeksiyonu olmayanlardan farklı olmadığı izlenmiştir. Bu durumun hastalarımızda hepsidin üzerindeki eritropoetik etkinin daha kuvvetli olmasından kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda nakil öncesi ve sonrası serum prohepsidin seyrinin serum demiri, ferritin, Tf satürasyonu ve EPO ile negatif, Tf ve SDBK ile paralel seyrettiği görülmektedir. Nakil öncesi istatistiksel anlamı olmasa da prohepsidin düzeyleriyle KDY negatif ilişki mevcuttur. Histolojik olarak karaciğer demir derecesi yüksek olanların serum prohepsidin düzeyleri daha düşük, serum demir ve ferritin düzeylerinin de daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum, hastalarımızdaki prohepsidin düşüklüğünün, serum demir ve ferritin düzeylerinin yükselmesine ve karaciğer demir miktarını arttırmasına neden olduğunu düşündürmektedir. Çalışmamızda nakil öncesi serum prohepsidin düzeylerinin yaş, cinsiyet, malnütrisyon, büyüme geriliği, eritrosit süspansiyonu alıp almamaya ilişkin olmadığı görüldü.

Kronik karaciğer hastalarında karaciğer hepsidin ve serum prohepsidin düzeylerinin yaş, cinsiyet, demir değişkenleri, KDY, karaciğerdeki fibrozis ve inflamatuvar aktivite düzeyi ve karaciğer fonksiyonlarıyla ilişkisi konusunda farklı sonuçlar bildirilmiştir. Erişkin kronik HCV ve HBV'li hastaların incelendiği bir çalışmada, karaciğer hepsidin düzeylerinin yaşla ilişkisi saptanmazken, düzey kadınlarda erkeklere göre daha düşük bulunmuştur (129). Bu çalışmada bizim çalışmamızda olduğu gibi hepsidin düzeyleriyle ALT, AST ve bilirubin düzeyleri arasında pozitif ilişki bulunmuştur. Aynı çalışmada karaciğer fibrozisi ve inflamatuvar aktivitesiyle serum prohepsidin düzeyi arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır. Sirozlu hastaların incelendiği başka bir çalışmada serum prohepsidin düzeylerinin yaş, cinsiyet, ALT, serum demiri, SDBK ve ferritin ile ilişkili olmadığı belirtilmiştir (130).

Karaciğer karsinomu ve nedeni belirtilmemiş sirozu olan ve çoğunluğunda fibrozis derecesi düşük olan hastaları içeren bir çalışmada, karaciğer hepsidin miktarıyla yaş, cinsiyet, serum demiri, Tf, ferritin, eritrosit sayısı ve CRP arasında ilişki saptanmamıştır (131). Ancak, karaciğer hepsidin miktarıyla Hb, KDY ve serum albümini arasında pozitif, karaciğer hepsidin miktarıyla fibrozis derecesi arasında ise negatif ilişki saptanmıştır. Bu çalışmada fibrozis olan ve olmayan hastalar ayrı ayrı değerlendirildiğinde fibrozis olmayan hastalarda sağlıklı insanlardaki gibi hepsidin düzeyinin ferritin ve KDY ile daha kuvvetli pozitif ilişki gösterdiği, fibrozisi ağır olan hastalarda ise ilişki olmadığı saptanmıştır. Fibrozis olmayan hastalarda hepsidin ferritin ve KDY'la pozitif ilişkili olması, hepsidin primer hastalığa bağlı demir

birikimine ikincil olarak yükselmesine bağlanmıştır. Alkolik karaciğer hastalarında yapılan bir çalışmada bizim sonuçlarımızla uyumlu şekilde serum prohepsidin seviyeleri kontrollere göre belirgin düşük bulunmuş, ferritin seviyeleri ise yüksek bulunmuştur (127). Erişkin hastaları içeren başka bir çalışmada, hepatit B ve hepatit C'ye bağlı kronik hepatit ve HCV pozitif sirozlu hastalar incelenmiş, HCV'li hastalarda serum prohepsidin düzeyleriyle ferritin ve KDY arasında negatif ilişki olduğu, ancak hepatit B'li ve sağlıklı kontrollerde pozitif ilişki olduğu belirtilmiştir (128). Aynı çalışmada sirozlu hastaların serum prohepsidin seviyelerinin kronik hepatitli olanlara göre anlamlı düşük olduğu gösterilmiştir. Bununla birlikte hem kronik hepatit hem de siroz olan HCV+ hastaların prohepsidin seviyelerini HBV+ olanlara göre daha düşük bulmuşlardır. Yazarlar bu sonuçlarla HCV'ye bağlı kronik hepatit ve sirozlu hastalarda hepsidin düzenlenmesinin bozulduğunu belirtmişler ancak bunun nedenini açıklayamamışlardır. Bizim hasta grubumuzda hastaların çoğunda ağır fibrozis vardı ve nakil öncesi serum prohepsidin düzeyleriyle ferritin ve KDY arasında anlamlı ilişki yoktu. İstatistiksel anlamı olmasa da serum prohepsidin seviyesi KDY ile negatif ilişki göstermekteydi. Yine patolojik olarak demir yüklenmesi fazla olan hastaların prohepsidin seviyeleri de daha düşüktü. Bu ilişki, yukarıda bahsettiğimiz gibi hastalarımızdaki serum prohepsidin düşüklüğünden karaciğer sentez fonksiyonunun azlığı yanında, eritropoetik aktivitenin artmış olmasının sorumlu olduğunu düşündürmektedir. İleriki çalışmalarda, eritropoetik aktiviteyi gösteren solubl TfR gibi belirteçlerin incelenmesiyle bu konu daha açık olarak anlaşılabilir.

### **5.5. Karaciğer Naklinde Serum Prohepsidin Düzeylerinin Karaciğer Fonksiyon Testleri ve CRP ile İlişkisi**

Hastalarımızda nakil öncesi serum prohepsidin düzeyinin ALT, AST, total ve direkt bilirubin ve ALP ile pozitif ilişkisi vardı. Bu durum Fujita ve ark'nın (129) bir çalışmasında da aynı şekilde izlenmiştir. Bu ilişkinin sebebini tam açıklayamamaktayız. Transaminaz ve bilirubin düzeyleri kronik karaciğer ve sirozlu hastalarda hastalığın şiddetini tam olarak göstermemektedir. Hatta kronik hepatitli hastaların erken döneminde transaminazlar yüksek, geç sirotik dönemlerinde ise düşük bulunmaktadır. Bir çalışmada karaciğer siroz derecesi arttığında prohepsidin düzeyinin daha düşük bulunduğu gösterilmiştir (130). Başka bir çalışmada ise bilier atrezinin erken döneminde karaciğer hepsidin yapımının ve serum prohepsidin seviyesinin arttığı, geç döneminde ise karaciğer hepsidin ve serum prohepsidin yapımının anlamlı olarak azaldığı gösterilmiştir (132). Bu bulgular çalışma grubumuzdaki nakil öncesi prohepsidin düzeylerinin karaciğer fonksiyonlarıyla olan bu ilişkisini kısmen açıklayabilir. Nakil sonrası ise fibrotik ve sirotik karaciğerin sağlıklı karaciğerle

değiştirilmesinin hemen ardından bu ilişkinin tersine döndüğü görülmektedir. Hastalarımızda hem transaminaz ve bilirubin düzeylerinin düşüp sentez fonksiyonlarının düzelmesi, hem de eritropoezisi arttıran etkenlerin (kanama, hemoliz vb) ortadan kalkmasının nakil sonrası hepsidin yapımını arttırdığını düşünmekteyiz.

Sağlıklı insanlarda bir akut faz proteini olan hepsidin CRP ve karaciğer inflamasyon düzeyiyle pozitif ilişki göstermesi beklenmektedir. Karaciğer hastalıklarında ise bu ilişkiyi gösterecek yeterli veri literatürde bulunamadı. Karaciğer hastalarını içeren bir çalışmada karaciğer hepsidin düzeyi ile CRP arasında ilişki bulunamamıştır (131). Bu durum tam açıklanamamakla birlikte hasta grubunun heterojenitesi ve hastaların az bir kısmında CRP yüksekliği olmasına bağlanmıştır. Kronik hepatit C'li erişkin vakaların incelendiği bir çalışmada da karaciğer hepsidin düzeyi ile karaciğer inflamatuvar aktivite düzeyi arasında ilişki saptanmamıştır (129). Çalışmamızda nakil öncesi serum prohepsidin düzeyiyle CRP arasında kuvvetli pozitif ilişki vardı. Ancak nakil sonrası CRP ve serum prohepsidin düzeylerinin seyri hiç ilişki göstermemektedir. Çalışmamızda nakil öncesi serum prohepsidin düzeyi ile karaciğer inflamatuvar aktivitesi arasında anlamlı negatif ilişki saptandı. Bu durum çalışmamızdaki hastaların çoğunun karaciğer inflamatuvar aktivitesinin düşük olması ve çalışma grubumuzdaki hastalıkların çok çeşitli olmasından kaynaklanabilir. Çalışmamızda ayrıca nakil öncesi ve sonrası erken dönemde görülen infeksiyonlarla serum prohepsidin düzeyleri arasında ilişki saptanmamıştır. Az sayıdaki diğer çalışmalar ve bizim çalışmamızın sonuçları, karaciğer hastalarında inflamasyona hepsidin cevabının bozulduğunu göstermektedir. Bu durumun, eritropoetik düzenleyicinin hepsidin üzerine etkisinin inflamatuvar düzenleyiciye göre daha baskın olmasıyla ilişkili olabileceğini düşünmekteyiz.

## **5.6. Karaciğer Demir Yoğunluğunun Eritrosit Göstergeleri ve Serum Demir Değişkenleriyle İlişkisi**

Çalışmamızda KDY ortalama  $9.55 \pm 9.1$ , ortanca  $5.7 \mu\text{mol/g}$  kuru doku ( $0.3-32$  arası) olarak bulundu. Karaciğerde anlamlı demir birikimini gösteren alt sınırın  $30 \mu\text{mol/g}$  kuru doku olduğu kabul edilmektedir. Erişkin karaciğer hastalarının incelendiği çalışmaların birinde bu değer ortalama  $34.6 \mu\text{mol/g}$  kuru doku ( $1.9-194.6$  arası) bulunmuştur (131). Bir diğerinde ise ortalama  $12.5 \pm 14 \mu\text{mol/g}$  kuru doku, ortanca  $9.3 \mu\text{mol/g}$  kuru doku ( $0.2-113.7$  arası) bulunmuş olup 96 hastanın 5'inde anlamlı demir birikimi olduğu bildirilmiştir (133). Çalışmamızda KDY sadece bir hastada  $32 \mu\text{mol/g}$  kuru doku olarak bulundu, diğer hastaların hepsinde  $30 \mu\text{mol/g}$  kuru doku'nun altındaydı. Bu sonuç hastalarımızda karaciğerde anlamlı demir birikiminin olmadığını göstermektedir. Çalışmamızda histopatolojik yöntemle karaciğer demiri

incelendiğinde de, hastalarımızın çoğunda (%83) patolojik demir birikiminin olmadığı görülmektedir. Bu durumun hasta grubumuzun çocuk olması, hastaların bir kısmında DEA olması, tanıdan nakile kadar geçen sürenin uzun olmaması ve hastalık gruplarının farklı olmasıyla ilgili olabileceğini düşünmekteyiz.

Hastalarımızdaki nakil öncesi KDY ile hemoglobin, hematokrit, eritrosit sayısı, SDBK arasında negatif, serum demiri, Tf saturasyonu, ferritin, EPO ve INR arasında pozitif ilişki bulundu. Çalışmamızda, istatistiksel anlamı bulunamasa da anemisi olan hastaların KDY'ları olmayanlara göre yüksek bulundu. Hemolitik anemili hastaların KDY'ları olmayanlara göre ise istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha yüksek bulundu. Anemili hastaların EPO değerleri ise olmayanlara göre istatistiksel olarak daha yüksek bulundu. Bu sonuçların hepsini birlikte değerlendirdiğimizde anemi sonucunda EPO ve eritropoezisin arttığını, buna ikincil prohepsidin baskılandığını, bunun sonucunda da serum demiri ve ferritinin yükseldiğini düşünmekteyiz.

Çalışmamızda fulminan hepatit ve Wilson hastalığı olanlarda serum prohepsidin düzeyleri diğer hastalıklara göre daha düşük, serum demiri ve ferritin değerleri daha yüksek bulundu. Wilson hastalığı olan 5 hastanın 4'ünde hemolitik anemi mevcuttu. Wilson hastalığındaki serum prohepsidin düşüklüğünün hemolitik anemi ve buna bağlı artan eritropoezisin etkisiyle olduğunu düşünmekteyiz. Bu bulgu, kısmen de olsa yukarıda savunduğumuz eritropoetik aktivitenin hepsidin üzerine olan etkisini desteklemektedir. Fulminan hepatitlerdeki serum prohepsidin düzeyinin daha düşük olmasının nedeni ise bu hastaların yaygın ve şiddetli karaciğer hasarının olması ve sentez fonksiyonunun daha az olmasıyla ilişkilendirilebilir.

Bazı yazılarda prohepsidin aktif formu olan hepsidin öncül maddesi olduğu, demir metabolizmasında direk olarak biyolojik role sahip olmadığından bunun ölçümünün inflamatuvar fizyoloji ve demir metabolizmasını yansıtmaya yönünden daha az hassas olabileceğini belirtmektedirler (2, 130, 134). Bu durum çalışmamızın kısıtlayıcı bir özelliği olabilir. Ancak hem karaciğer hepsidin mRNA düzeyi hem de serum prohepsidin düzeyi ölçümünün birlikte yapıldığı klinik çalışmalarda serum prohepsidin düzeyiyle karaciğer hepsidin mRNA düzeyinin paralel seyrettiği ve demir değişkenleriyle aynı ilgileşimi gösterdiği görülmüştür (127, 132). Son zamanlarda hepsidin ölçümünde spektrofotometriyi temel alan yöntemler geliştirilmiş olup yüksek hepsidin miktarlarının ölçümünde bu yöntemlerin daha hassas olduğu belirtilmektedir (40, 135). Bununla birlikte ileri ölçüm metodları geliştirilmesine ihtiyaç vardır.



## 6. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

1. Karaciğer hastalarında nakil öncesi hematolojik sorunlar yüksek oranda görülmektedir. Nakil sonrası bu sorunlar azalma göstermekle birlikte tam düzelmemektedir. Bu nedenle karaciğer alıcısı çocukların hematolojik sorunlar açısından yakın izlenmesi faydalı olacaktır.

2. Nakil sonrası 3. aydan sonra demir eksikliği anemisi önemli sorunlardan biri olarak görülmektedir. Bu nedenle hastaların nakil sonrası izlemlerinde DEA yönünden dikkat edilmelidir. Bu hastalarda DEA'nin altta yatan nedenini araştırıp uygun şekilde tedavisinin yapılması bu sorunu azaltacaktır.

3. Karaciğer yetmezliğinde hastaların serum prohepsidin düzeyi kontrole göre belirgin düşük bulunmaktadır. Bu durumun karaciğerin sentez fonksiyonu yetersizliği ve bu hastalarda artmış eritropoezisin hepsidini baskılayıcı özelliği ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. İleriki çalışmalarda karaciğer yetmezliği olan hastalarda serum prohepsidin düzeyiyle birlikte, serum soluble TfR düzeyi ve GDF 15'in ilişkisinin araştırılması, artmış eritropoezisin hepsidin üzerindeki bu etkisini daha net ortaya koyabilir.

4. Organizmanın sistemik demir dengesinde ana düzenleyicilerden biri olan hepsidinin düşüklüğü sirozlu hastalarda serum demirinin ve ferritininin yükselmesine ve karaciğer demir yoğunluğunun artmasına dolayısıyla karaciğer hasarının daha da artmasına neden olabilmektedir. Nakil yapılamayan veya henüz nakil ihtiyacı göstermeyen kronik karaciğer hastalarında hipersplenizm ve hemoliz gibi nedenlerle gelişebilen aneminin önlenmesi veya düzeltilmesi, bu hastalarda karaciğer demir birikimini yavaşlatabileceğini düşündürmektedir.

5. Karaciğer alıcılarında, nakil sonrası karaciğer fonksiyonlarındaki düzelme, anemi ve diğer hematolojik sorunların azalmasıyla birlikte serum prohepsidin düzeyi yükselmekte ve 6. ayda normal değere ulaşmaktadır.

6. Gelecekte vücut sıvılarında hepsidin seviyesi ölçümünün inflamasyon anemisi ve demir eksikliği anemisinin ayırıcı tanısının yanısıra herediter hemokromatozislerin ayırıcı tanısında da yararlı olabileceği düşünülmektedir.

7. İnflamasyon anemisi tedavisinde hepsidin karşıtı ilaçlardan yararlanılabilir. Hemakromatoziste sentetik hepsidin verilmesi, talasemi ve diğer demir birikimiyle giden anemilerde ise hepsidin verilmesi veya üretimini artırıcı moleküllerin kullanılmasıyla, demirin hayati organlarda birikmesinin engellenebileceğini, hatta demir birikimi olan hastalarda doku demiri ve organ hasarının azaltılabileceğini düşünmekteyiz. Nakil yapılamayan hastalarda da düşük olan hepsidin seviyesinin sentetik hepsidin verilmesiyle yükseltilmesi, bu hastalarda gelişebilecek demir birikimini önleyebilir.

Tüm bunlar yakın zamanda sentetik hepsidin, hepsidin artırıcı veya azaltıcı tedavi yaklaşımlarının yukarıda sayılan hastalıkların tedavilerinde uygulanabileceğini düşündürmektedir.

## 7. KAYNAKLAR

1. Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 276: 7806–7810, 2001.
2. Kemna EHJM, Tjalsma H, Willems HL, Swinkels DW. Hepcidin: from discovery to differential diagnosis. *Haematologica* 93: 90–97, 2008.
3. Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, Leroyer P, Turlin B, Brissot P, Loreal O. A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem* 276: 7811–7819, 2001.
4. Hunter HN, Fulton DB, Ganz T, Vogel HJ. The solution structure of human hepcidin, a peptide hormone with antimicrobial activity that is involved in iron uptake and hereditary hemochromatosis. *J Biol Chem* 277: 37597–37603, 2002.
5. Rivera S, Nemeth E, Gabayan V, Lopez MA, Farshidi D, Ganz T. Synthetic hepcidin causes rapid dose-dependent hypoferremia and is concentrated in ferroportin-containing organs. *Blood* 106: 2196–2199, 2005.
6. Nemeth E, Preza GC, Jung CL, Kaplan J, Waring AJ, Ganz T. The N-terminus of hepcidin is essential for its interaction with ferroportin: Structure-function study. *Blood* 107: 328–333, 2006.
7. Pietrangelo A: Hereditary hemochromatosis. *Annu Rev Nutr* 26: 251–270, 2006.
8. Iglesias-Berengue J, Lopez-Espinosa JA, Ortega-Lopez J, Sanchez-Sanchez L, Asensio-Llorente M, Margarit-Creixell C, Diaz-Heredia C. Hematologic abnormalities in liver-transplanted children during medium- to long-term follow-up. *Transplant Proc* 35: 1904-1906, 2003.
9. Maheshwari A, Mishra R, Thuluvath PJ. Post-liver-transplant anemia: etiology and management. *Liver Transpl* 10: 165-173, 2004.
10. Ganz T. Molecular control of iron transport. *J Am Soc Nephrol* 18: 394–400, 2007.
11. Ganz T. Hepcidin in iron metabolism. *Curr Opin Hematol* 11: 251-254, 2004.
12. Ganz T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 102:783-788, 2003.
13. Ganz T, Nemeth E. Iron imports. IV. Hepcidin and regulation of body iron metabolism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 290: 199-203, 2006.
14. Andrews NJ. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* 341: 1986–1995, 1999.
15. Shayeghi M, Latunde-Dada GO, Oakhill JS, Laftah AH, Takeuchi K, Halliday N, Khan Y, Warley A, McCann FE, Hider RC, Frazer DM, Anderson GJ, Vulpe CD, Simpson RJ, McKie AT. Identification of an intestinal heme transporter. *Cell* 122: 789–801, 2005.

16. Mackenzie B, Garrick MD. Iron imports. II. Iron uptake at the apical membrane in the intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 289: 981–986, 2005.
17. Donovan A, Brownlie A, Zhou Y, Shepard J, Pratt SJ, Moynihan J, Paw BH, Drejer A, Barut B, Zapata A, Law TC, Brugnara C, Lux SE, Pinkus GS, Pinkus JL, Kingsley PD, Palis J, Fleming MD, Andrews NC, Zon LI. Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature* 403: 776–781, 2000.
18. McKie AT, Marciani P, Rolfs A, Brennan K, Wehr K, Barrow D, Miret S, Bomford A, Peters TJ, Farzaneh F, Hediger MA, Hentze MW, Simpson RJ. A novel duodenal iron-regulated transporter, IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation. *Mol Cell* 5: 299–309, 2000.
19. Abboud S, Haile DJ. A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism. *J Biol Chem* 275: 19906–19912, 2000.
20. Donovan A, Lima CA, Pinkus JL, Pinkus GS, Zon LI, Robine S, Andrews NC: The iron exporter ferroportin/Slc40a1 is essential for iron homeostasis. *Cell Metabolism* 1: 191–200, 2005.
21. Meyron-Holtz EG, Ghosh MC, Iwai K, LaVaute T, Brazzolotto X, Berger UV, Land W, Ollivierre-Wilson H, Grinberg A, Love P, Rouault TA. Genetic ablations of iron regulatory proteins 1 and 2 reveal why iron regulatory protein 2 dominates iron homeostasis. *EMBO J* 23: 386–395, 2004.
22. Smith SR, Ghosh MC, Ollivierre-Wilson H, Hang Tong W, Rouault TA. Complete loss of iron regulatory proteins 1 and 2 prevents viability of murine zygotes beyond the blastocyst stage of embryonic development. *Blood Cells Mol Dis* 36: 283–287, 2006.
23. Andrews NC. Forging a field: the golden age of iron biology. *Blood* 112: 219–230, 2008.
24. Casey JL, Hentze MW, Koeller DM, Caughman SW, Rouault TA, Klausner RD, Harford JB. Iron-responsive elements: regulatory RNA sequences that control mRNA levels and translation. *Science* 240: 924–928, 1988.
25. Caughman SW, Hentze MW, Rouault TA, Harford JB, Klausner RD. The iron-responsive element is the single element responsible for iron-dependent translational regulation of ferritin biosynthesis: evidence for function as the binding site for a translational repressor. *J Biol Chem* 263: 19048–19052, 1988.
26. Hentze MW, Caughman SW, Rouault TA, Barriocanal JG, Dancis A, Harford JB, Klausner RD. Identification of the iron-responsive element for the translational regulation of human ferritin mRNA. *Science* 238: 1570–1573, 1987.
27. Leibold EA, Munro HN. Cytoplasmic protein binds in vitro to a highly conserved sequence in the 5' untranslated region of ferritin heavy- and light-subunit mRNAs. *Proc Natl Acad Sci U S A* 85: 2171–2175, 1988.

28. Rouault TA, Hentze MW, Caughman SW, Harford JB, Klausner RD. Binding of a cytosolic protein to the iron-responsive element of human ferritin messenger RNA. *Science* 241: 1207–1210, 1988.
29. Eisenstein RS. Iron regulatory proteins and the molecular control of mammalian iron metabolism. *Annu Rev Nutr* 20: 627–62, 2000.
30. Cooperman SS, Meyron-Holtz EG, Olivierre-Wilson H, Ghosh MC, McConnell JP, Rouault TA. Microcytic anemia, erythropoietic protoporphyria and neurodegeneration in mice with targeted deletion of iron regulatory protein 2. *Blood* 106: 1084–1091, 2005.
31. Galy B, Ferring D, Minana B, Bell O, Janser HG, Muckenthaler M, Schümann K, Hentze MW. Altered body iron distribution and microcytosis in mice deficient in iron regulatory protein 2 (IRP2). *Blood* 106: 2580–2589, 2005.
32. Roy CN, Enns CA. Iron homeostasis: new tales from the crypt. *Blood* 96: 4020–4027, 2000.
33. Schulz A, Forssmann WG, Schulz-Knappe P, Krause A, Neitz S, Magert HJ, Schulz A, Forssmann WG, Schulz-Knappe P, Adermann K. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett* 480: 147–150, 2000.
34. Kulaksiz H, Gehrke SG, Janetzko A, Rost D, Bruckner T, Kallinowski B, Stremmel W. Pro-hepcidin: expression and cell specific localisation in the liver and its regulation in hereditary haemochromatosis, chronic renal insufficiency, and renal anaemia. *Gut* 53: 735–43, 2004.
35. Nicolas G, Bennoun M, Devaux I, Beaumont C, Grandchamp B, Kahn A, Vaulont S. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 98: 8780–8785, 2001.
36. Nicolas G, Bennoun M, Porteu A, Mativet S, Beaumont C, Grandchamp B, Siritto M, Sawadogo M, Kahn A, Vaulont S. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99: 4596–4601, 2002.
37. Viatte L, Lesbordes-Brion JC, Lou DQ, Bennoun M, Nicolas G, Kahn A, Canonne-Hergaux F, Vaulont S. Deregulation of proteins involved in iron metabolism in hepcidin-deficient mice. *Blood* 105: 4861–4864, 2005.
38. Roetto A, Papanikolaou G, Politou M, Alberti F, Girelli D, Christakis J, Loukopoulos D, Camaschella C. Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 33: 21–22, 2003.
39. Weinstein DA, Roy CN, Fleming MD, Loda MF, Wolfsdorf JI, Andrews NC. Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: Implications for the anemia of chronic disease. *Blood* 100: 3776–3781, 2002.
40. Tomosugi N, Kawabata H, Wakatabe R, Higuchi M, Yamaya H, Umehara H, Ishikawa I. Detection of serum hepcidin in renal failure and inflammation by using Protein-Chip System. *Blood* 108: 1381–1387, 2006.

41. De Domenico I, Ward DM, Nemeth E, Vaughn MB, Musci G, Ganz T, Kaplan J. The molecular basis of ferroportin-linked hemochromatosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102: 8955–8960, 2005.
42. De Domenico I, Ward DM, Musci G, Kaplan J. Iron overload due to mutations in ferroportin. *Haematologica* 91: 92–95, 2006.
43. Schimanski LM, Drakesmith H, Merryweather-Clarke AT, Viprakasit V, Edwards JP, Sweetland E, Bastin JM, Cowley D, Chinthammitr Y, Robson KJ, Townsend AR. In vitro functional analysis of human ferroportin (FPN) and hemochromatosis-associated FPN mutations. *Blood* 105: 4096–4102, 2005.
44. Drakesmith H, Schimanski LM, Ormerod E, Merryweather-Clarke AT, Viprakasit V, Edwards JP, Sweetland E, Bastin JM, Cowley D, Chinthammitr Y, Robson KJ, Townsend AR. Resistance to hepcidin is conferred by hemochromatosis-associated mutations of ferroportin. *Blood* 106: 1092–1097, 2005.
45. Liu XB, Yang F, Haile DJ. Functional consequences of ferroportin 1 mutations. *Blood Cells Mol Dis* 35: 33–46, 2005.
46. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, Ganz T. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest* 113: 1271–1276, 2004.
47. Nemeth E. Iron regulation and erythropoiesis. *Curr Opin Hematol* 15: 169–175, 2008.
48. Papanikolaou G, Tzilianos M, Christakis JI, Bogdanos D, Tsimirika K, MacFarlane J, Goldberg YP, Sakellaropoulos N, Ganz T, Nemeth E: Hepcidin in iron overload disorders. *Blood* 105: 4103–4105, 2005.
49. Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, Devaux I, Beaumont C, Kahn A, Vaulont S. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest* 110: 1037–1044, 2002.
50. Vokurka M, Krijt J, Sulc K, Necas E. Hepcidin mRNA levels in mouse liver respond to inhibition of erythropoiesis. *Physiol Res* 55: 667–674, 2006.
51. Kemna E, Pickkers P, Nemeth E, van der HH, Swinkels D: Time-course analysis of hepcidin, serum iron, and plasma cytokine levels in humans injected with LPS. *Blood* 106: 1864–1866, 2005.
52. Wrighting DM, Andrews NC. Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3. *Blood* 108: 3204–3209, 2006.
53. Verga Falzacappa MV, Vujic Spasic M, Kessler R, Stolte J, Hentze MW, Muckenthaler MU. STAT3 mediates hepatic hepcidin expression and its inflammatory stimulation. *Blood* 109: 353–358, 2007.

54. Pietrangelo A, Dierssen U, Valli L, et al. STAT3 is required for IL-6-gp130-dependent activation of hepcidin in vivo. *Gastroenterology* 132: 294–300, 2007.
55. Lee P, Peng H, Gelbart T, Wang L, Beutler E. Regulation of hepcidin transcription by interleukin-1 and interleukin-6. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102: 1906–1910, 2005.
56. Babitt JL, Huang FW, Wrighting DM, Xia Y, Sidis Y, Samad TA, Campagna JA, Chung RT, Schneyer AL, Woolf CJ, Andrews NC, Lin HY. Bone morphogenetic protein signaling by hemojuvelin regulates hepcidin expression. *Nat Genet* 38: 531–539, 2006.
57. Truksa J, Peng H, Lee P, Beutler E. Bone morphogenetic proteins 2, 4, and 9 stimulate murine hepcidin 1 expression independently of HFE, transferrin receptor 2 (Tfr2), and IL-6. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 10289–10293, 2006.
58. Wang RH, Li C, Xu X, Zheng Y, Xiao C, Zerfas P, Cooperman S, Eckhaus M, Rouault T, Mishra L, Deng CX. A role of SMAD4 in iron metabolism through the positive regulation of hepcidin expression. *Cell Metab* 2: 399–409, 2005.
59. Xiao YT, Xiang LX, Shao JZ. Bone morphogenetic protein. *Biochem Biophys Res Commun* 362: 550–553, 2007.
60. Babitt JL, Huang FW, Xia Y, Sidis Y, Andrews NC, Lin HY. Modulation of bone morphogenetic protein signaling in vivo regulates systemic iron balance. *J Clin Invest* 117: 1933–1939, 2007.
61. Lin L, Goldberg YP, Ganz T. Competitive regulation of hepcidin mRNA by soluble and cell-associated hemojuvelin. *Blood* 106: 2884–2889, 2005.
62. Lin L, Valore EV, Nemeth E, Goodnough JB, Gabayan V, Ganz T. Iron transferrin regulates hepcidin synthesis in primary hepatocyte culture through hemojuvelin and BMP2/4. *Blood* 110: 2182–2189, 2007.
63. Zhang AS, West AP Jr, Wyman AE, Bjorkman PJ, Enns CA. Interaction of hemojuvelin with neogenin results in iron accumulation in human embryonic kidney 293 cells. *J Biol Chem* 280: 33885–33894, 2005.
64. Papanikolaou G, Samuels ME, Ludwig EH, MacDonald ML, Franchini PL, Dube MP, Andres L, MacFarlane J, Sakellaropoulos N, Politou M, Nemeth E, Thompson J, Risler JK, Zaborowska C, Babakaiff R, Radomski CC, Pape TD, Davidas O, Christakis J, Brissot P, Lockitch G, Ganz T, Hayden MR, Goldberg YP: Mutations in HFE2 cause iron overload in chromosome 1q-linked juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 36: 77–82, 2004.
65. Huang FW, Pinkus JL, Pinkus GS, Fleming MD, Andrews NC. A mouse model of juvenile hemochromatosis. *J Clin Invest* 115: 2187–2191, 2005.
66. 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: 2180–2186, 2005.

67. Goswami T, Andrews NC. Hereditary hemochromatosis protein, HFE, interaction with transferrin receptor 2 suggests a molecular mechanism for mammalian iron sensing. *J Biol Chem* 281: 28494–28498, 2006.
68. Johnson MB, Enns CA. Diferric transferrin regulates transferrin receptor 2 protein stability. *Blood* 104: 4287–4293, 2004.
69. Schmidt PJ, Huang FW, Wrighting DM. Heparin expression is regulated by a complex of hemochromatosis-associated proteins. *ASH Annu Meeting Abstr* 108: 267, 2006.
70. Robb A, Wessling-Resnick M. Regulation of transferrin receptor 2 protein levels by transferrin. *Blood* 104: 4294–4299, 2004.
71. Piperno A, Girelli D, Nemeth E, Trombini P, Bozzini C, Poggiali E, Phung Y, Ganz T, Camaschella C. Blunted hepcidin response to oral iron challenge in HFE-related hemochromatosis. *Blood* 110: 4096–4100, 2007.
72. Giannetti AM, Bjorkman PJ. HFE and transferrin directly compete for transferrin receptor in solution and at the cell surface. *J Biol Chem* 279: 25866–25875, 2004.
73. Nemeth E, Roetto A, Garozzo G, Ganz T, Camaschella C. Heparin is decreased in TFR2 hemochromatosis. *Blood* 105: 1803–1806, 2005.
74. Gehrke SG, Kulaksiz H, Herrmann T, Riedel HD, Bents K, Veltkamp C, Stremmel W. Expression of hepcidin in hereditary hemochromatosis: Evidence for a regulation in response to the serum transferrin saturation and non-transferrin-bound iron. *Blood* 102: 371–376, 2003.
75. Muckenthaler M, Roy CN, Custodio AO, Minana B, de-Graaf J, Montross LK, Andrews NC, Hentze MW. Regulatory defects in liver and intestine implicate abnormal hepcidin and *Cybrd1* expression in mouse hemochromatosis. *Nat Genet* 34: 102–107, 2003.
76. Kearney SL, Nemeth E, Neufeld EJ, Thapa D, Ganz T, Weinstein DA, Cunningham MJ. Urinary hepcidin in congenital chronic anemias. *Pediatr Blood Cancer* 48: 57–63, 2007.
77. Origa R, Galanello R, Ganz T, Giagu N, Maccioni L, Faa G, Nemeth E. Liver iron concentrations and urinary hepcidin in beta-thalassemia. *Haematologica* 92: 583–588, 2007.
78. Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, Danan JL, Bigard X, Devaux I, Beaumont C, Kahn A, Vaulont S. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest* 110: 1037–1044, 2002.
79. Bondi A, Valentino P, Daraio F, Porporato P, Gramaglia E, Carturan S, Gottardi E, Camaschella C, Roetto A. Hepatic expression of hemochromatosis genes in two mouse strains after phlebotomy and iron overload. *Haematologica* 90: 1161–1167, 2005.
80. Pak M, Lopez MA, Gabayan V, Ganz T, Rivera S. Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity. *Blood* 108: 3730–3735, 2006.
81. Ganz T. Iron homeostasis: fitting the puzzle pieces together. *Cell Metab* 7: 288–290, 2008.



82. Papanikolaou G, Tzilianos M, Christakis JI, Bogdanos D, Tsimirika K, MacFarlane J, Goldberg YP, Sakellaropoulos N, Ganz T, Nemeth E. Hepcidin in iron overload disorders. *Blood* 105: 4103–4105, 2005.
83. Tanno T, Bhanu NV, Oneal PA, Goh SH, Staker P, Lee YT, Moroney JW, Reed CH, Luban NL, Wang RH, Eling TE, Childs R, Ganz T, Leitman SF, Fucharoen S, Miller JL. High levels of GDF15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin. *Nat Med* 13: 1096–1101, 2007.
84. Choi SO, Cho YS, Kim HL, Park JW. ROS mediate the hypoxic repression of the hepcidin gene by inhibiting C/EBPalpha and STAT-3. *Biochem Biophys Res Commun* 356: 312–317, 2007.
85. Peyssonnaud C, Zinkernagel AS, Schuepbach RA, Rankin E, Vaulont S, Haase VH, Nizet V, Johnson RS. Regulation of iron homeostasis by the hypoxia-inducible transcription factors (HIFs). *J Clin Invest* 117: 1926–1932, 2007.
86. Viatte L, Nicolas G, Lou DQ, Bennoun M, Lesbordes-Brion JC, Canonne-Hergaux F, Schonig K, Bujard H, Kahn A, Andrews NC, Vaulont S. Chronic hepcidin induction causes hyposideremia and alters the pattern of cellular iron accumulation in hemochromatotic mice. *Blood* 107: 2952–2958, 2006.
87. Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G, Lichtenstein A, Ganz T. Heparin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood* 101: 2461–2463, 2003.
88. Weinstein DA, Roy CN, Fleming MD, Loda MF, Wolfsdorf JI, Andrews NC. Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: Implications for the anemia of chronic disease. *Blood* 100: 3776–3781, 2002.
89. Rivera S, Liu L, Nemeth E, Gabayan V, Sorensen OE, Ganz T. Heparin excess induces the sequestration of iron and exacerbates tumor-associated anemia. *Blood* 105: 1797–1802, 2005.
90. Means RT Jr, Krantz SB. Inhibition of human erythroid colony-forming units by interferons alpha and beta: Differing mechanisms despite shared receptor. *Exp Hematol* 24: 204–208, 1996.
91. Theurl I, Mattle V, Seifert M, Mariani M, Marth C, Weiss G. Dysregulated monocyte iron homeostasis and erythropoietin formation in patients with anemia of chronic disease. *Blood* 107: 4142–4148, 2006.
92. Liu XB, Nguyen NB, Marquess KD, Yang F, Haile DJ. Regulation of hepcidin and ferroportin expression by lipopolysaccharide in splenic macrophages. *Blood Cells Mol Dis* 35: 47–56, 2005.
93. Hunt BJ, Amin S, Halil O, Yacoub M. The prevalence, course, and characteristics of chronic anemia after heart and lung transplantation. *Transplantation* 53: 1251–1256, 1992.

94. Yorgin PD, Belson A, Sanchez J, Al Uzri AY, Sarwal M, Bloch DA, Oehlert J, Salvatierra O, Alexander SR. Unexpectedly high prevalence of post-transplant anemia in pediatric and young adult renal transplant recipients. *Am J Kidney Dis* 40: 1306-1318, 2002.
95. Vanrenterghem Y, Ponticelli C, Morales JM, Abramowicz D, Baboolal K, Eklund B, Kliem V, Legendre C, Morais Sarmiento AL, Vincenti F. Prevalence and management of anemia in renal transplant recipients: a European survey. *Am J Transplant* 3: 835-845, 2003.
96. Embleton ND, O'Sullivan JJ, Hamilton JR, Dark JH, Summerfield GP. High prevalence of anemia after cardiac transplantation in children. *Transplantation* 64: 1590-1594, 1997.
97. Misra S, Moore TB, Ament ME, Vargas JH, Busutill RW, McDiarmid SV. Profile of anemia in children after liver transplantation. *Transplantation* 70: 1459-1463, 2000.
98. Guitard J, Ribes D, Kamar N, Muscari F, Lavayssière L, Suc B, Esposito L, Perron JM, Rostaing L. Predictive factors for anemia within the first year after orthotopic liver transplantation. *Transplant Proc* 38: 2342-2345, 2006.
99. Ndimbie OK, Frezza E, Jordan JA, Koch W, van Thiel DH. Parvovirus B19 in anemic liver transplant recipients. *Clin Diagn Lab Immunol* 3: 756-760, 1996.
100. European FK506 Multicentre liver study group. Randomised trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporine in prevention of liver allograft rejection. *Lancet* 344: 423-428, 1994.
101. The US multicenter FK506 liver study group. A comparison of Tacrolimus (FK506) and Cyclosporine for immunosuppression in liver transplantation. *N Eng J Med* 331: 1110-1115, 1994.
102. European mycophenolate mofetil cooperative study group. Placebo-controlled study of mycophenolate mofetil combined with Cyclosporine and corticosteroids for prevention of acute rejection. *Lancet* 345: 1321-1325, 1995.
103. Rerolle JP, Akposso K, Lerolle N, Mougenot B, Ponnelle T, Rondeau E, Sraer JD. Tacrolimus-induced hemolytic uremic syndrome and end-stage renal failure after liver transplantation. *Clin Transplant* 14: 262-265, 2000.
104. Mach-Pascual S, Samii K, Beris P. Microangiopathic hemolytic anemia complicating FK506 (Tacrolimus) therapy. *Am J Hematol* 52: 310-312, 1996.
105. Oteo J, Alonso-Pulpon L, Diez JL, Camacho C, Exposito C, Gonzalez A, Serrano-Fiz S. Microangiopathic hemolytic anemia secondary to cyclosporine therapy in a heart and lung transplant recipient. *J Heart Lung Transplant* 15: 322-324, 1996.
106. Misra S, Moore TB, Ament ME, Bussutill RW, McDiarmid SV. Red cell aplasia in children in tacrolimus after liver transplantation. *Transplantation* 65: 575-577, 1998.
107. Stock PG, Steiner ME, Freese D, Sharp H, Ascher NL. Hepatitis associated aplastic anemia after liver transplantation. *Transplantation* 43: 595-597, 1987.

108. Cattral MS, Langnas AN, Markin RS, Antonson DL, Heffron TG, Fox IJ, Sorrel MF, Shaw BW Jr. Aplastic anemia after liver transplantation for fulminant liver failure. *Hepatology* 20: 813–818, 1994.
109. Tzakis AG, Arditì M, Whittington PF, Yananga K, Esquivel C, Andrews WA, Makowka L, et al. Aplastic anemia complicating orthotopic liver transplantation for non-A, non-B hepatitis. *N Eng J Med* 319: 393–396, 1988.
110. Itterbeek P, Vandenberghe P, Nevens F, Fevery J, Aerts R, Yap SH, Demuyneck H, et al. Aplastic anemia after transplantation for non-A, non-B, non-C fulminant hepatic failure: case report and review of literature. *Transpl Int* 15: 117-123, 2002.
111. Honkaniemi E, Gustafsson B, Fischler B, Nemeth A, Frost BM, Papadogiannakis N, Winiarski J. Acquired aplastic anaemia in seven children with severe hepatitis with or without liver failure. *Acta Paediatr* 96: 1660-4166, 2007.
112. Yanaga K, Tzakis AG, Shimada M, Campbell WE, Marsh JW, Stieber AC, Makowka L, et al. Reversal of hypersplenism following orthotopic liver transplantation. *Ann Surg* 210: 180-183, 1989.
113. Witte M, Langnas AN, Hirst K, Stratta RJ, Shaw BW Jr. Impact of liver transplantation on the reversal of hypersplenism. *Transpl Proc* 25: 1987, 1993.
114. Cohen AJ, Stegall MD, Rosen CB, Wiesner RH, Leung N, Kremers WK, Zein NN. Chronic renal dysfunction late after liver transplantation. *Liver Transpl* 8: 912–922, 2002.
115. Pawarode A, Fine DM, Thuluvath PJ. Independent risk factors and natural history of renal dysfunction in liver transplant recipients. *Liver Transpl* 9: 741-747, 2003.
116. Gonwa TA, Mai ML, Melton LB, Hays SR, Goldstein RM, Levy MF, Klintmalm GB. End-stage renal disease (ESRD) after orthotopic liver transplantation (OLT) using calcineurin-based immunotherapy. *Transplantation* 72: 1934-1939, 2001.
117. Andrews NC. Disorders of iron metabolism and sideroblastic anemia. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood (Nathan DG, Gingsburg D, Orkin SH, Look AT, editors). 6<sup>th</sup> Edition. Pennsylvania, Saunders, vol 1, 456–497, 2003.
118. Brugnara C. Reference values in infancy and Childhood. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood (Nathan DG, Gingsburg D, Orkin SH, Look AT, editors). 6<sup>th</sup> Edition. Pennsylvania, Saunders, vol 2, 1835–1864, 2003.
119. Scheuer PJ, Williams R, Muir AR. Hepatic pathology in relatives of patients with haemochromatosis. *J Pathol Bacteriol* 84: 53-64, 1962.
120. Desmet VJ, Gerber M, Hoofnagle JH, Manns M, Scheuer PJ. Classification of chronic hepatitis: diagnosis, grading and staging. *Hepatology* 19: 1513–1520, 1994.
121. Ishak K, Baptista A, Bianchi L, Callea F, De Groote J, Gudat F, Denk H, Desmet V, Korb G, MacSween RN, et al. Histological grading and staging of chronic hepatitis. *J Hepatol* 22: 696–699, 1995.

122. Maruyama S, Hirayama C, Yamamoto S, Koda M, Udagawa A, Kadowaki Y, Inoue M, Sagayama A, Umeki K. Red blood cell status in alcoholic and non-alcoholic liver disease. *J Lab Clin Med* 138: 332-337, 2001.
123. Al-Uzri A, Yorgin PD, Kling PJ. Anemia in children after transplantation: etiology and the effect of immunosuppressive therapy on erythropoiesis. *Pediatr Transplant* 7: 253-264, 2003.
124. Romero R, Abramowsky CR, Pillen T, Smallwood GA, Heffron TG. Peripheral eosinophilia and eosinophilic gastroenteritis after pediatric liver transplantation. *Pediatr Transplant* 7: 484-488, 2003.
125. Lee JH, Park HY, Choe YH, Lee SK, Lee SI. The development of eosinophilic colitis after liver transplantation in children. *Pediatr Transplant* 11: 518-23, 2007.
126. Saeed SA, Integlia MJ, Pleskow RG, Calenda KA, Rohrer RJ, Dayal Y, Grand RJ. Tacrolimus-associated eosinophilic gastroenterocolitis in pediatric liver transplant recipients: role of potential food allergies in pathogenesis. *Pediatr Transplant* 10: 730-735, 2006.
127. 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* 31: 2-8, 2007.
128. Nagashima M, Kudo M, Chung H, Ishikawa E, Hagiwara S, Nakatani T, Dote K. Regulatory failure of serum prohepcidin levels in patients with hepatitis C. *Hepatol Res* 36: 288-293, 2006.
129. Fujita N, Sugimoto R, Takeo M, Urawa N, Mifuji R, Tanaka H, Kobayashi Y, Iwasa M, Watanabe S, Adachi Y, Kaito M. Hepcidin expression in the liver: relatively low level in patients with chronic hepatitis C. *Mol Med*. 13: 97-104, 2007.
130. Jaroszewicz J, Rogalska M, Flisiak R. Serum prohepcidin reflects the degree of liver function impairment in liver cirrhosis. *Biomarkers Apr* 3: 1-8, 2008. [Epub ahead of print]
131. D tivaud L, Nemeth E, Boudjema K, Turlin B, Troadec MB, Leroyer P, Ropert M, Jacquelinet S, Courselaud B, Ganz T, Brissot P, Lor al O. Hepcidin levels in humans are correlated with hepatic iron stores, hemoglobin levels, and hepatic function. *Blood* 106: 746-748, 2005.
132. Huang YH, Yu-Hsieh H, Huang CC, Shin-Mu VT, Tai MH, Chen CL, Chuang JH. Liver hepcidin and stainable iron expression in biliary atresia. *Pediatr Res* 59: 662-666, 2006.
133. Silva IS, Perez RM, Oliveira PV, Cantagalo MI, Dantas E, Sisti C, Figueiredo-Mendes C, Lanzoni VP, Silva AE, Ferraz ML. Iron overload in patients with chronic hepatitis C virus infection: clinical and histological study. *J Gastroenterol Hepatol* 20: 243-248, 2005.
134. Kemna EHJM, Tjalsma H, Podust VN, Swinkels DW. Mass spectrometry- based hepcidin measurements in serum and urine: analytical aspects and clinical implications. *Clin Chem* 53: 620-628. 2007.
135. Kemna E, Tjalsma H, Laarakkers C, Nemeth E, Willems H, Swinkels D. Novel urine hepcidin assay by mass spectrometry. *Blood* 106: 3268-3270, 2005.