

T.C.
KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**KRONİK BÖBREK HASTALIĞI VE SON DÖNEM BÖBREK
YETMEZLİĞİ OLAN HASTALARDA HEPsİDİN DÜZEYİ ÖLÇÜMÜ**

Dr Berna ÜSTÜNER

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Betül KALENDER
Anabilim Dalı Başkanı: Prof. Dr. Sadettin HÜLAGÜ

Etik Proje No: KKA EK 2012/29

Karar No: 4/6

2014

ÖNSÖZ

Tezim süresince benden yardım ve desteklerini esirgemeyen, bilgi ve deneyimleri ile bana yol gösteren değerli hocam, tez danışmanım Prof Dr Betül KALENDER'e ,

Asistanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerini esirgemeyen değerli hocalarım Prof Dr İtir YEĞENAĞA, Prof Dr Saadettin HÜLAGÜ, Prof Dr Berrin ÇETİNARSLAN ARSLAN, Prof Dr Ömer ŞENTÜRK, Prof Dr Kazım UYGUN, Prof Dr Abdullah HACIHANEFİOĞLU, Prof Dr Ayşe ERGÜNEY ÇEFLE Prof Dr Zeynep CANTÜRK, Prof Dr İlhan TARKUN, Doç Dr Altay ÇELEBİ, Doç Dr Erkan DERVİŞOĞLU, Yrd Doç Elif BİRTAŞ ATEŞOĞLU, Yrd Doç Pınar TARKUN, Yrd Doç Ayten YAZICI, Yrd Doç Dr Devrim CABUK'a

Bu süreçte yardım ve desteğini esirgemeyen Dr. Sibel GÖKÇAY BEK'e,

Başta Prof Dr Hale Maral Kır ve Dr Berrin ÖZTAŞ olmak üzere tüm laboratuvar çalışanlarına,

Burada geçirdiğim süre zarfında benden sevgi ve yardımlarını esirgemeyen başta Dr Alev SELEK olmak üzere tüm uzman abi ve ablalarım ve asistan arkadaşlarıma

ve

Her zaman yanımda olan, bana sevgi ve desteği ile güç veren sevgili eşime

Teşekkür ederim

İÇİNDEKİLER

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
TABLolar DİZİNİ	ix
1.AMAÇ VE KAPSAM.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI.....	3
2.1.1. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI TANIMI	3
2.1.2. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI EVRELERİ	4
2.1.3. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI EPİDEMİYOLOJİSİ	5
2.1.4. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI ETYOLOJİSİ	5
2.1.5. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI PATOFİZYOLOJİSİ.....	6
2.1.6. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI KLİNİĞİ.....	7
2.1.7. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI TEDAVİSİ	9
2.1.7.1.HEMODİYALİZ.....	10
2.1.7.2PERİTON DİYALİZİ	11
2.1.7.2.1 SÜREKLİ AYAKTAN PERİTON DİYALİZİ (SAPD).....	11
2.1.7.2.2 ALETLİ PERİTON DİYALİZİ (APD).....	12
2.1.7.2.2.1 DEVAMLILIK DEVİRLİ PERİTON DİYALİZİ (CCPD).....	12
2.1.7.2.2.2 GECE ARALIKLI PERİTON DİYALİZİ (NIPD)	12
2.1.7.2.2.3 TİDAL PERİTON DİYALİZİ:	12
2.1.7.3 RENAL TRANSPLANTASYON.....	13
2.2.KRONİK BÖBREK HASTALIĞINDA İNFLAMASYON	13
2.3 KRONİK BÖBREK HASTALIĞINDA İNFLAMASYON ANEMİSİ	14
2.3.1KRONİK BÖBREK HASTALIĞI ANEMİSİNİN LABORATUAR ÖZELLİKLERİ.....	15
2.3.2KRONİK BÖBREK HASTALIĞINDA ANEMİ NEDENLERİ.....	16
2.3.3KRONİK BÖBREK HASTALIĞI ANEMİSİNDE SİTOKİNLERİN ROLÜ	17
2.4 KRONİK BÖBREK HASTALIĞINDA DEMİR EKSİKLİĞİ	20
3.HEPSİDİN.....	22
3.1.HEPSİDİN TARİHÇESİ.....	22
3.2 HEPSİDİNİN YAPISI.....	23
3.3. HEPSİDİN SENTEZİ VE YIKIMI.....	24
3.4 HEPSİDİN KİNETİĞİ	25
3.5 HEPSİDİN FONKSİYONU.....	25
3.5.1 ANTİMİKROBİYAL ETKİ.....	25
3.5.2 DEMİR-DÜZENLEYİCİ İŞLEV	26
3.5.2.1 DEMİRİN DUODENAL EMİLİMİ VE HEPSİDİN:	27
3.5.2.2 DEMİRİN HÜCRELER TARAFINDAN ALINMASI VE HEPSİDİN.....	29
3.6 HEPSİDİN SENTEZİNİN DÜZENLENMESİ:	31
3.6.1 DEMİR İLE HEPSİDİN SENTEZİNİN DÜZENLENMESİ:	31
3.6.2 ANEMİ İLE HEPSİDİN SENTEZİNİN DÜZENLENMESİ:	32
3.6.3 HİPOKSİ İLE HEPSİDİN SENTEZİNİN DÜZENLENMESİ	32
3.6.4 İNFLAMASYON İLE HEPSİDİN SENTEZİNİN DÜZENLENMESİ:	33
4.KRONİK BÖBREK HASTALIĞI VE HEPSİDİN:	34
5.HEPSİDİNİN TEDAVİ AMAÇLI KULLANIMI	35
6.GEREÇ VE YÖNTEM	36
6.1. ÇALIŞMA GRUPLARININ SEÇİMİ	37
6.2 LABORATUVAR ANALİZİ	38

6.3. İSTATİSTİKSEL İŞLEMLER.....	38
7. BULGULAR	39
8.TARTIŞMA	49
9. SONUÇ ve ÖNERİLER.....	56
10. ÖZET.....	57
11. ABSTRACT.....	57
12. KAYNAKLAR.....	58



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

A	:Albuminüri
Aa	:Aminoasit
ABD	:Amerika Birleşik Devletleri
ACE	:Anjiotensin Dönüştürücü Enzim
Anti HBs	:Hepatit B'nin Yüzey Antikoru
Anti HCV	:Hepatit C Antikoru
A/K	:Albumin/Kreatin
APD	:Aletli Periton Diyalizi
ARB	:Anjiotensin Reseptör Blokeri
BUN	:Kan Üre Azotu
BMP/SMAD	:Kemik Morfogenetik Protein (Bone Morphogenetic protein)
CCPD	:Devamlı Devirli Periton Diyalizi
Cm	:Santimetre
Cr	:Kreatin
C/EBP	: CCAAT/Güçlendirici Bağlayıcı Protein
CRP	:C-Reaktif Protein
DM	:Diabetes Mellitus
DMT 1	:Divalan Metal Taşıyıcı 1 (Divalan Metal Transporter 1)
EPO	:Eritropoetin
ESAs	:Eritropoez Uyarıcı Ajanlar (Erythropoiesis-Stimulating Agents)
Fe	:Demir
FeII	:Ferröz
Fe III	:Ferrik
GFH	:Glomerüler Filtrasyon Hızı
Gr	:Gram
GDF 15	:Büyüme Farklılaşma Faktör (Growth Differentiation Factor 15)
Hb	:Hemoglobin
HbsAg	:Hepatit B Yüzey Antijeni
HCT	:Hematokrit
HD	:Hemodiyaliz
HFE2	: Hemokromatozis Demir Protein2
HIF	:Hipoksi İndüklenebilir Faktör (Hypoksia-İnducible Factor)

HJV	:Homojüvelin
HT	:Hipertansiyon
IL-6	:İnterlökin-6
IL-1	:İnterlökin-1
IRP	:Demir Düzenleyici Proteinler (İron Regulator Proteins)
IRE	:Demir Duyarlı Elementler (İron Responsive Elements)
KBH	:Kronik Böbrek Hastalığı
KDOQI	:Böbrek Hastalıkları:Küresel Sonuçların İyileştirilmesi (Kidney Disease Outcomes Quality Initiative)
Kg	:Kilogram
Kg/m ²	:Kilogram/Metre Kare
LEAP-1 Peptide	:Karaciğer Kaynaklı Antimikrobiyal Peptit (Liver-Expressed Antimicrobial Peptide)
MDRD	:Böbrek Hastalıklarında Diyet Modifikasyonu (Modification of Diet in Renal Disease)
Mg	:Miligram
Mg/dl	:Miligram/desilitre
mRNA	: Mesajcı Ribonükleik Acid (Messenger Ribonucleic Acid)
µM	:Mikrometre
NKF-KDOQI	:Ulusal Böbrek Vakfı-Böbrek Hastalıkları:Küresel Sonuçların İyileştirilmesi (National Kidney Foundation-Kidney Disease Outcomes Quality Initiative)
nM	:Nanometre
ng/mL	:Nanogram/mililitre
NIPD	:Gece Aralıklı Periton Diyalizi
PTH	:Paratiroid Hormon
PD	:Periton Diyalizi
RT-PCR	: Reverse Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu
SAPD	:Sürekli Ayaktan Periton Diyalizi
SDBY	:Son Dönem Böbrek Yetmezliği
STAT3	: Transkripsiyon sinyal iletisi aktivatörü-3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3)
TDBK	:Total Demir Bağlama Kapasitesi
Tf	:Transferrin
Tfr1	:Transferrin Reseptörü 1

TSAT	:Transferrin Saturasyonu
TNF-alfa	:Tumör Nekrosis Faktör –Alfa
TDBK	:Total Demir Bağlama Kapasitesi
TGSGI	: Kıvrımlı Gastrulasyon (twisted gastrulation I)
USF2	:Akış Uyarıcı Faktör 2 (Upstream stimulatory factor 2)
VKİ	:Vücut Kitle İndeksi
WHO	:Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organization)



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Kronik böbrek hastalığında anemi mekanizması	17
Şekil 2: Epo direncinde sitokinlerin rolü.....	19
Şekil 3: Hepsidin yapısı	24
Şekil 4: Hepsidin başlıca fonksiyonu.....	27
Şekil 5: Duedonumdan demir emilimi (Enterosit)	29
Şekil 6: Demir dengesi	30
Şekil 7: Hepatik hepsidin transkripsiyonunun sinyal yolları.....	33

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1: GFH 'a göre KBH sınıflaması	4
Tablo 2: Albuminüriye göre KBH sınıflaması	5
Tablo 3: 2011 yıl sonu itibarıyla kronik HD programında izlemde olan hastaların etyolojik nedenlere göre dağılımı	6
Tablo 4: Kronik böbrek hastaları ve kontrol grubunun demografik ve biyokimyasal özellikleri	39
Tablo 5: Hastaların Kronik Böbrek Hastalığı etyolojisine göre dağılımı	41
Tablo 6: Hasta ve kontrol grubunun hepsidin ve demir parametrelerinin karşılaştırılması	41
Tablo 7: Hasta ve kontrol grubunda CRP, sCRP, Sedimentasyon düzeylerinin karşılaştırılması	42
Tablo 8: Hasta grubunda hepsidin düzeyi ile venöz kan gazı parametreleri arasındaki ilişki ..	42
Tablo 9: Hasta sayılarının kronik böbrek hastalığı evrelerine göre dağılımı	43
Tablo 10: Hastaların MDRD evresine göre hepsidin değerleri	43
Tablo 11: Hastalarda hepsidin düzeyi ile diğer bağımsız değişkenlerin karşılaştırılması	44
Tablo 12: Hastalarda kronik hastalık tanısı ile hepsidin düzeyinin karşılaştırılması	45
Tablo 13: Hastalarda hepsidin düzeyi ile medikal ilaçlar arasındaki ilişkinin karşılaştırılması	46
Tablo 14: Hasta grubunda Hepsidin ile pozitif korelasyon gösteren belirteçler	47
Tablo 15: Hasta grubunda Hepsidin ile negatif korelasyon gösteren belirteçler	48

1.AMAÇ VE KAPSAM

Kronik böbrek hastalığı dünyada ve ülkemizde sık görülen önemli bir halk sağlığı sorunudur. Çeşitli hastalıklara ve etyolojilere bağlı olarak gelişen kronik, progresif ve irreversible nefron kaybı ile karakterizedir. Buna göre kronik böbrek hastalığı (KBH), temelde yatan böbrek hastalığının etyolojisi ne olursa olsun en az 3 ay süren objektif böbrek hasarı ve/veya glomerüler filtrasyon hızının (GFH) 60 ml/dk/1,73 m² nin altına inmesi durumu olarak tanımlanmaktadır. Ülkemizde Türk Nefroloji Derneği verilerine göre son 10 yılda son dönem böbrek yetmezliği (SDBY) insidansında 2 kat, prevalansında da 5 kat artış gözlenmiştir. Son dönem böbrek yetmezliğinin en sık nedenleri yetişkinlerde diabetes mellitus ve hipertansiyondur. Kronik böbrek hastalığı tanısı olan hastalarda sık görülen komplikasyonlardan biri de anemidir. Anemi, hastaların yaşam kalitesini olumsuz etkilemekte, fiziksel performanslarını azaltmakta, kardiovasküler hastalık riskini ve mortaliteyi artırmaktadır. Üremik toksinlere bağlı kemik iliği inhibisyonu, gizli kan kayıpları, hemoliz, demir eksikliği, eritropoetin (EPO) sentezinin azalması, akut veya kronik inflamasyon anemiye yol açan nedenlerdendir. Kronik böbrek hastalığında EPO sentezinin azalması aneminin en sık görülen nedenidir. İnflamasyon ise sitokin salınımını başlatarak eritropoezi baskılamasının yanısıra, fonksiyonel demir eksikliğine ve demir absorpsiyonunun bozulmasına sebep olmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalarla hepsidinin demir metabolizmasının moleküler kontrolündeki yeri netleşmiştir. Hepsidin, başlıca karaciğerde sentezlenen dolaşımda bulunan antimikrobiyal bir peptiddir. İnflamasyon ile düzeyi artmaktadır. Hepsidin bir akut faz proteini olup, inflamasyonda demir metabolizmasında görülen değişikliklerden sorumlu tutulmaktadır. Çalışmamızda amacımız; kronik inflamatuvar bir durum olan kronik böbrek hastalığı tanılı hastalarda demir parametreleri ile hepsidin

düzeyi arasındaki ilişkinin gösterilmesi ve KBH evrelerine göre hepsidin düzeyinin ölçümü amaçlanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI

Kronik böbrek Hastalığı, böbrekle ilgili veya böbrek dışı bir nedene bağlı olarak nefron fonksiyonlarının ilerleyici ve geri dönüşümsüz kaybolması sonrasında ortaya çıkan klinik tablodur. Kronik böbrek hastalığı, hem ülkemizde hem de dünyada günden güne hızla artan önemli bir halk sağlığı sorunudur.

2.1.1. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI TANIMI

Kronik böbrek hastalığı'nın tanımı ve evrelerine ilişkin kılavuz 2002 yılında Ulusal böbrek vakfı-Böbrek Hastalıkları:Küresel Sonuçların İyileştirilmesi (NKF-KDOQI) tarafından yayınlamıştır. 2004 yılında da Böbrek Hastalıkları:Küresel Sonuçların İyileştirilmesi (KDIGO) Tartışma Konferansında modifiye edilmiştir.

Kronik böbrek hastalığı, temelde yatan böbrek hastalığının etyolojisi ne olursa olsun;

- 1- En az üç ay süren objektif böbrek hasarı [glomerüler filtrasyon hızında azalma olsun ya da olmasın, kan ve idrar testlerinde ya da görüntüleme testlerinde bozukluklar ile kendini gösteren, böbrek hasarı göstergeleri ya da patolojik bozukluklar şeklinde tarif edilen böbrekte yapısal veya fonksiyonel bozukluklar] veya
- 2- Böbrek hasarı göstergeleri olsun ya da olmasın, üç ay ve ya daha fazla süre boyunca GFH'nın 60 ml/ dk/ 1.73 m² nin altına inmesi şeklinde tanımlanmaktadır(1).

Basit laboratuvar testleri ile KBH tespit edilebilmektedir. Böbrek hasarına ait belirteçler yapısal veya fonksiyonel nitelikte olabilmektedir. Bu bulgular idrar, kan testleri, görüntüleme çalışmalarından ve böbrek biyopsisinden elde edilebilmektedir. Kronik böbrek hastalığı nedenini belirlemek ve böbrek hastalığının progresyonunu yavaşlatmak veya durdurmak, tedavi önerileri sağlamak amacıyla bu hastalar bir nefrolog ya da uzmana sevk edilmelidir.

2.1.2. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI EVRELERİ

Kronik böbrek hastalığı'nın evrelere ayrılması ile hastalığın ağırlığının belirlenmesi, her evreye göre progresyon ve komplikasyon durumuna göre risk sınıflaması yapılması ve böylece hastalığın doğru yönetimi amaçlanmaktadır . İki bin üç yılında yılında Amerika Birleşik Devletlerin (ABD)'de kurulan, kar amacı gütmeyen, uluslararası bir idare meclisi tarafından yönetilen ve bağımsız olarak kurulmuş bir vakıf olan Böbrek Hastalıkları: Küresel Sonuçların İyileştirilmesi (KDOQI) tarafından KBH; tahmini GFH'na, etyolojik nedene ve albuminüri (A) durumuna göre sınıflandırılmıştır (1, 2). KBH tahmin edilen GFH'na göre beş evreye ayrılmıştır (Tablo-1)

Tablo 1: GFH 'a göre KBH sınıflaması

EVRE	GFH (ml/dk/1.73 m ²)	TANIM
EVRE I	>90	Normal veya artmış GFR ile birlikte proteinüri veya albüminürinin bulunması veya böbrek görüntülemesinde değişikliklerin bulunması
EVRE II	60 - 89	Böbrek hasarı ile birlikte azalmış GFH'nın bulunması
EVRE IIIA	45 - 59	GFH'nda orta derecede azalma
EVRE IIIB	30- 44	GFH'nda orta derecede azalma
EVRE IV	15 – 29	Ciddi GFH azalması
EVRE V	<GFH 15	Böbrek yetmezliği
EVRE VD	<GFH 15	Son dönem böbrek yetmezliği, renal replasman tedavi ihtiyacı mevcut
EVRE VT	<GFH 15	Böbrek nakli olmuş hasta

KDOQI tarafından yapılan sınıflamaya göre evre III; IIIa(45- 59 mL/dk/1.73 m²) ve IIIb (30- 44 mL/dk/1.73 m²) olmak üzere ikiye ayrılmıştır (1).

Evre V olup renal replasman tedavisinin gerekli olduğu hastalara ‘D’ ekinin eklenmesi ve böbrek nakli olmuş hastalar için ‘T’ ekinin eklenmesi önerilmiştir (1). (Tablo-1)

KDOQI tarafından son olarak albuminüri sınıflamasını da eklemiştir (2, 3). Albuminüri (A) durumuna göre üçe ayrılmıştır. (Tablo-2)

Tablo 2: Albuminüriye göre KBH sınıflaması(1, 2)

Albuminüri evreleri	Albumin/Kreatin oranı mg/gün	TANIM
A1	<30mg/g (<3.4 mg/mmol)	Normal veya hafif artmış
A2	30-299 (3.4 to 34.0 mg/mmol)	Orta derecede artmış
A3	≥300 mg/g (>34.0 mg/mmol)	Ciddi artmış (Nefrotik veya non-nefrotik)

Albuminüri arttıkça mortalitede ve son dönem böbrek hastalığına (SDBH) ilerleme hızında GFH'dan bağımsız olarak artış görülmüştür(1, 3). Bu risk GFH>60ml/dk/1.73 m² olsa bile A/K>30mg/g'da çok yüksek bulunmuştur. Ancak A/K=10-29mg/g olsa bile risk artmaktadır. Bu nedenle A/K<30 durumunda bile dikkatli olmak gerekmektedir.

2.1.3. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI EPİDEMİYOLOJİSİ

Kronik böbrek hastalığı, dünyada ve ülkemizde epidemi halini almış önemli bir halk sağlığı sorunudur. Son dönem böbrek hastalığı (SDBH) tüm dünyada artmakta ve gelişmiş ülkelerde 75 – 350 milyon insanı etkilemektedir. Türkiye 'de yılda ortalama 15000 hastaya SDBH tanısı konmaktadır. Türk Nefroloji Derneği'nin kayıtlarına göre 2011 yılında Türkiye'de renal replasman tedavisi gerektiren son dönem kronik böbrek hastalığı nokta prevalansı milyon nüfus başına 809 olarak saptanmıştır (bu sayıya çocuk hastalar dahildir)(4). Türk Nefroloji Derneği verilerine göre 2011 yılı sonu itibarı ile Türkiye' de SDBY tanısı ile renal replasman tedavisi alan hasta sayısı 60443 tür (bu sayıya çocuk hastalar dahildir)(5).

2.1.4. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI ETYOLOJİSİ

Kronik böbrek hastalığının etyolojisinin bilinmesi (diabet mellitus, ilaç toksisitesi, otoimmün hastalık, idrar yolu obstrüksiyonu,böbrek nakli v.b.) hastalığın ilerleme hızının yavaşlatılması bakımından spesifik tedavi olanağı sağlamaktadır. Özellikle son yirmi yılda KBH 'nın etyolojisinde rölatif bir değişme olmuştur. Geçmişte KBH 'na neden olan en sık

sebepler, glomerulonefrit iken günümüzde ise sıklıkla diyabetik ve hipertansif nefropatilerdir. Glomerulonefritlerden korunma ve etkin tedavi, özellikle diyabetik ve hipertansiyonlu kişilerde azalmış mortalite etiyojideki değişimin önemli nedenlerindedir(4). Kronik böbrek hastalığı bir çok nedenle gelişebilir ve ülkelere göre bu nedenlerin sıklığı değişmektedir. Ülkemizde KBH saptanan olgularda son dönem böbrek hastalığına neden olan ilk üç neden diyabetik nefropati (% 32.4), hipertansif nefroskleroz (% 27,9) ve kronik glomerulonefritlerdir (% 7.0). Bu üç etiyojik neden % 67.3 gibi büyük bir bölümünü kapsamaktadır. Diğer etiyojik nedenler ise sırasıyla polikistik böbrek hastalığı (%4.8), pyelonefrit (%3), amiloidoz (%1.7), renal vasküler hastalık (%1.1)'dir(4). (Tablo-3)

Tablo 3: 2011 yıl sonu itibarıyla kronik HD programında izlemde olan hastaların etiyojik nedenlere göre dağılımı(4).

	<i>SAYI</i>	<i>%</i>
Diabetes mellitus (DM)	13193	32.4
Tip 1 DM	10926	26.8
Tip 2 DM	2267	5.6
Hipertansiyon (HT)	11380	27.9
Glomerülonefrit	2842	7.0
Polikistik böbrek hastalıkları	1949	4.8
Piyelonefrit	1210	3.0
Amiloidoz	702	1.7
Renal vasküler hastalık	449	1.1
Diğer	2902	7.1
Etyoloji bilinmiyor	5662	13.9
Kayıp (bilgi yok)	483	1.2
Toplam	40772	

2.1.5. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI PATOFİZYOLOJİSİ

Kronik böbrek hastalığında altta yatan neden ne olursa olsun son dönemde histolojik incelemede glomerüller skleroz, ekstrasellüler matriks artışı, intertisiyel fibrozis ve tübüler

atrofi saptanmaktadır. Bu durum primer hastalıktan bağımsız olarak ilerleyici böbrek hasarında ortak mekanizmaların rol oynadığını düşündürmektedir.

Nefron kaybına yol açan faktörler;

1-Kronik böbrek hastalığının primer nedeninin etkisi

2-Proteinüri

3-Tubulointerstisyel lezyonların devam etmesi

4-Hiperlipidemi

5-Yeni gelişen ve böbreğe zarar veren akut olaylar (kontrast nefropatisi, aminoglikozid toksisitesi gibi).

6-Sistemik hipertansiyon

7-Glomerüler hipertansiyon

8-Diyette yüksek fosfor ve protein alınması

9-Glomerül içi pıhtılaşma

10-İnterstisyel Nefrit durumlarıdır(6, 7).

İlerleyici kronik böbrek hastalığında karşılaşılan ilerleyici nefron kaybı ve GFH azalmasının sonuçları;

1-Su, elektrolit ve ph dengesinde bozukluklar

2-Normalde böbrekle atılan artık ürünlerin birikmesi

3-Belirli hormonların (eritropoetin, aktif D vitamini gibi) üretiminde ve metabolizmasında bozukluklardır.

Bunun yanında , GFH azaldıkça, bazı kompensatuar mekanizmalar uyarılır; bunların arasında en önemli olanı geriye kalan ve normal fonksiyon gören nefronlardaki glomeruler hiperfiltrasyondur. Bu kompensatuar mekanizmaya bağlı olarak bir hasta böbrek fonksiyonunun %70'ini kaybettiği halde tamamen asemptomatik olabilmektedir. Buna karşılık, glomerular hiperfiltrasyon geriye kalan ve normal fonksiyon gören nefronlarda glomeruloskleroz gelişmesine ve daha fazla nefron kaybına yolaçmaktadır.

2.1.6. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI KLİNİĞİ

Glomeruler filtrasyon değerinde azalmanın sonucu böbreğin sıvı ve solüt dengesinde ve metabolik-endokrin fonksiyonlarında kronik ve ilerleyici bozulma ortaya çıkmaktadır(8). Hastaların klinik semptom ve bulguları böbrek yetmezliğinin derecesi ve gelişme hızı ile

yakından ilişkilidir. Kronik böbrek hastalığı'nın neden olduğu tüm klinik ve biyokimyasal anormalliklere 'üremi' denmektedir(9). Üremide görülen belirtileri sistemlere göre sıralayacak olursak ;

-Merkezi sinir sisteminde; uyku bozukluğu, halsizlik, baş ağrısından stupor, komaya varan geniş bir yelpazede bulgular

-Gastrointestinal sistemde; anoreksi, bulantı, kusma, kilo kaybı, gastrit, peptik ülser, üremik koku, gastrointestinal kanama

-Hematolojik sistemde; anemi, hiperkoagülabilite, kanama, lenfositopeni

-Kardiyovasküler sistemde; perikardit, hipertansiyon, ödem, kardiyomiyopati, ateroskleroz, aritmiler görülebilmekte,

-Solunum sisteminde; plörit, akciğer ödemi, üremik akciğer

-Ciltte; kaşıntı, melanozis, yara iyileşmesinde gecikme, tırnak atrofisi

- İmmun sistemde; enfeksiyona yatkınlık, antikor oluşumunda yetersizlik

- Endokrin sistemde; bozulmuş glukoz intoleransı, amenore, infertilite, libido azalması, impotans, gelişme geriliği, sekonder hiperparatiroidizm ve renal osteodistrofi gibi klinik belirtiler görülebilmektedir(9).

Böbreğin ilk bozulan fonksiyonu genellikle idrarı konsantre etme yeteneğinin azalmasıdır. Diurnal ritim bozulur ve hastalarda gece idrara kalkma (noktüri) başlar.

Klinik tabloların oluşumuna hastalıkların ve kişinin bireysel özellikleri yanında böbreklerin hasarlanma varlığında geliştirdikleri uyum mekanizmaları da katkıda bulunur. Sağlıklı durumdaki, hastalıktan etkilenmemiş nefronlar, filtrasyon miktarını arttırarak ciddi nefron hasarı/kaybı bulunan bir olguda glomerüler filtrasyon değerini ve kreatinini normale yakın korumaya çalışırlar. Bu süreç çoğu zaman uzun yıllar içine yayılmıştır ve giderek artan tuz ve sıvı retansiyonu sonucunda hipertansiyon meydana gelmektedir. Ortaya çıkan hipertansiyon kardiyovasküler sistemde ilerleyici yapısal (endotel disfonksiyonu, intima-media değişiklikleri, ateroskleroz, sol ventrikül hipertrofisi), fonksiyonel (kalpte yüklenme, önceleri ejeksiyon fraksiyon artışı, daha sonra kalp yetmezliği, sistolik ve diyastolik disfonksiyon, aritmi, miyokard infarktüsü) ve sistemik bozukluklara (inme, böbrek yetmezliğinin son safhaya ilerlemesi, anemi, görmenin bozulması, nöropatiler, osteodistrofiler) yol açmaktadır.

Hipertansiyon dışında, evre I ve II hastalar genellikle asemptomatiktir. Kan üre azotu (BUN) ve kreatinin (Cr) seviyeleri genellikle normaldir. Bu evrelerde asit-baz, sıvı ve elektrolit dengesi kalan nefronların fonksiyonlarındaki artış ile sürdürülmektedir. Kronik böbrek hastalığı'nın diğer semptomları ve komplikasyonları genellikle evre III, özellikle de

evre IV'ten itibaren ortaya çıkmaya başlamaktadır. Evre III'te BUN ve Cr seviyeleri artmaktadır. Eritropoetin (Epo) ve kalsitriol düzeyi azalırken ve paratiroid hormon (PTH) düzeyi ise artmaktadır. Bu evrede de çoğunlukla hastalar asemptomatiktir. Ancak genellikle noktüri ve anemiye bağlı halsizlik görülebilir. Evre IV'te GFH ileri düzeyde azalmış olup anemi, metabolik asidoz, hipokalsemi, hiperfosfatemi ve hiperpotasemi gelişebilmektedir. Evre V ise KBH'nın birçok komplikasyonunun ortaya çıktığı, klinik bulguların aşikar olduğu ve son dönem böbrek yetersizliği olarak tanımlanan evredir. Bu evrede renal replasman tedavisinin başlanması gereklidir (10, 11).

2.1.7. KRONİK BÖBREK HASTALIĞI TEDAVİSİ

Böbreklerin en önemli görevi, zararlı ve atık maddeleri (üre, kreatinin, ürik asit gibi) süzerek vücuttan idrar yolu ile atmak ve bazı minerallerin, (tuz, potasyum, fosfor, kalsiyum, magnezyum) suyun, glukozun ve proteinlerin dengede tutulmasını sağlamaktır.

Salgıladığı hormonlar ile tansiyonu düzenlemekte, eritropoizde ve D vitamininin metabolizmasında görev almaktadır. Böbrek yetmezliği durumlarında, tüm bu dengeler bozulmaya başlamakta ancak öncelikle atık maddelerin kanda birikmesi ortaya çıkmaktadır. Bunun sonucu hastalarda halsizlik, iştahsızlık, kaşıntı, sabah bulantısı, ağızda ve nefesinde kötü koku şikayetleri olmaktadır. Böbrek yetmezliği tedavisindeki amaç, bu zararlı maddeleri kandan uzaklaştırmak ve bozulmuş dengeyi düzenlemektir.

Kronik böbrek hastalığı olan hastalarda kreatinin klirensi 10 ml/dak. altına inince renal replasman tedavisine başlanmaktadır. Renal replasman tedavisine başlama endikasyonları:

- * Diüretiklere dirençli volüm yüklenmesi, akciğer ödemi
- * Antihipertansif tedaviye yeterli yanıt vermeyen hipertansiyon
- * Perikardit
- * Üremik ensefalopati
- * Üremik kanama diyatezi
- * İnatçı bulantı ve kusma
- * Plazma kreatinin klirensi 10 mg/dl.

Bu amaçla kullanılan 3 önemli tedavi yöntemi vardır;

1-Hemodiyaliz (HD) (Evde veya bir merkezde)

2-Periton diyalizi

3-Böbrek transplantasyonu şeklindedir.

Son dönem böbrek hastalığı bulunan hastalar her üç tedaviden de zaman içerisinde yararlanmak durumunda kalabilirler(12-14).

GFH 15 ml/dk/1.73 m² nin altında olan hastalar düzenli takip edilmelidir ve üremik semptomlar başladığında diyaliz tedavisi başlanmalıdır(15). Diyaliz tedavisi başlangıcındaki ortalama GFH değeri, ülkeden ülkeye değişmektedir ve yıllar içinde bu değer yükselmiştir. Örneğin Birleşik Krallıkta bu değer 1997 yılında 6 ml/dk/1.73 m² iken 2006 yılında 8.5 ml/dk/1.73 m², Amerika Birleşik Devletleri (ABD)' de ise aynı yıllarda bu değer 11 ml/dk/1.73 m² ye yükselmiştir. Diyabetik hastalar ise üremiyi daha zor tolere edebildikleri için, GFH'nın daha yüksek olduğu değerlerde diyaliz tedavisine ihtiyaç göstermektedirler(15). Bazı hastalarda tedaviye dirençli hipervolemi ve hiperkalemi, üremiye bağlı malnutrisyon, üremik nörolojik bulgular, üremik serozit gibi bulgular ortaya çıktığında GFH düzeyi dikkate alınmaksızın renal replasman tedavisine başlanmalıdır(15).

2.1.7.1.HEMODİYALİZ

Vücutta birikmiş üre gibi zararlı maddelerin ve aşırı suyun bir membran aracılığı ile vücuttan uzaklaştırılması işlemidir. İlerlemiş böbrek yetmezliğinin tedavisinde kullanılmaktadır. Hemodiyaliz tedavisi, bozulmuş böbrek işlevlerinin bir kısmını düzenleyerek yaşamın idamesini sağlamaktadır. Otuz-kırk yıl önce ilerlemiş böbrek yetmezliği olan hastalar günler-haftalar içinde kaybedilmekteyken diyaliz teknolojisinde sağlanan gelişmeler, bu hastalarda önce yaşam süresini uzatmış, daha sonra yaşam kalitesinin artmasını sağlamıştır.

Ülkemizde 2011 yılı sonu itibari ile 694 merkezde 49404 hasta hemodiyaliz ile tedavi edilmektedir(5). Hemodiyaliz , yeterli kan akımını sağlayan bir damar yolu ile hastadan alınan kanın bir membran aracılığı ve bir makine yardımı ile sıvı ve solüt içeriğinin yeniden düzenlenmesidir (16, 17). Diyaliz sistemi ekstrakorporeal kan dolaşım sistemi, diyalizör (yarı geçirgen membran), diyaliz makinesi ve su arıtma sisteminden oluşmaktadır. Diyalizör yarı geçirgen membran aracılığı ile su ve solüt transportunun kontrollü bir şekilde olmasını sağlamaktadır. Diyalizat ve kan akımı birbirinden ayrılmıştır ve ters akım şeklindedir. Diyalizörün kan ve diyalizat için biri çıkış, biri giriş olmak üzere toplam dört bağlantı noktası vardır. Sıvı ve solüt değişiminin difüzyon (diyaliz) ve ultrafiltrasyon (konveksiyon) olmak üzere iki temel prensibi vardır. Solütün konsantrasyonu yüksek olan taraftan düşük olan tarafa

hareketi difüzyon, ultrafiltrasyon ise basınç farkı nedeni ile, membranın bir yanından diğer yanına sıvı transferidir. Sıvı transferine solüt transferide eşlik ettiğinden ultrafiltrasyon solüt değişimine de katkıda bulunmaktadır(18).

2.1.7.2 PERİTON DİYALİZİ

Periton, karın boşluğunda bulunan organların etrafındaki zar için kullanılan tıbbi terimdir. Periton zarının (membran) insanlardaki yüzey alanı yaklaşık 2 m² dir. Periton diyalizinde, hemodiyalizden farklı olarak özel bir membran yerine, periton membranı kullanılmaktadır. Periton diyalizi (PD) karın boşluğuna küçük bir ameliyat ile yerleştirilen ince, yumuşak, silikondan yapılmış kalıcı bir tüp (kateter) aracılığı ile yapılmaktadır. Periton diyalizi akut (geçici) ve kronik (kalıcı) şekilde uygulanmaktadır. Akut periton diyalizi genellikle 72 saat boyunca yapılır ve sonra kateter çıkarılarak sonlandırılır. Kronik (kalıcı) periton diyalizi hayat boyunca devam eder. Bu da iki şekilde uygulanır(7, 19);

1-SAPD (Sürekli Ayaktan Periton Diyalizi)

2-APD (Aletli Periton Diyalizi)

Periton diyalizinin uygulanabilmesi için üç temel unsura ihtiyaç vardır;

1. Kateter
2. Uygun formüllerde diyaliz solüsyonları
3. Bağlantı sistemleri

2.1.7.2.1 SÜREKLİ AYAKTAN PERİTON DİYALİZİ (SAPD)

Periton diyalizi halen tüm dünyada yaklaşık 170 bin son dönem böbrek yetmezliği hastasının (tüm diyaliz popülasyonunun % 8'i) uyguladığı bir tedavi yöntemidir(20, 21). Türk Nefroloji Derneği verilerine göre, ülkemizde 2011 yılı sonu itibarı ile 122 merkezde 5105 son dönem böbrek yetmezlikli hasta PD ile tedavi edilmektedir(5).

Periton diyalizi tedavisi, kalıcı olarak yerleştirilmiş kateter aracılığı ile günde dört veya beş kez, steril, değişik oranda glukoz konsantrasyonu içeren 2-2,5 litrelik solüsyonların peritoneal boşluğa doldurulup 4-6 saat kadar karın boşluğunda kaldıktan sonra boşaltılması esasına dayanmaktadır. Karın boşluğuna diyaliz sıvısının verilmesi ve boşaltılması, yer çekimi ile gerçekleştirilmektedir. Bu işleme "diyaliz torba değiştirme işlemi" denir. Periton zarı, peritoneal kapillerler aracılığı ile endojen diyaliz membranı gibi görev yapar. Bu

membran aracılığı ile üremik artıklar diffüzyon yolu ile diyalizata geçmekte, fazla olan vücut sıvısı ise diyaliz solüsyonundaki glukoz ve diğer ozmotik ajanların neden olduğu ozmotik basınç yolu ile uzaklaştırılmaktadır. Periton diyalizi, rezidüel renal fonksiyonu daha iyi koruması, küçük solütlerin ve fazla vücut sıvısının yavaş ve sürekli olarak uzaklaştırılması, buna bağlı daha stabil kan biyokimyası ve kuru ağırlığa neden olması nedeniyle sık tercih edilmektedir(22).

2.1.7.2.2 ALETLİ PERİTON DİYALİZİ (APD)

Periton diyaliz solüsyonlarının periton boşluğuna verilmesinin ve alınmasının cihaz yardımı ile yapıldığı periton diyaliz yöntemidir. Aletli periton diyalizi cihazı, değişim zamanlamasını hesaplar, ultrafiltrat hacmini ölçer. Boşaltım, dolum sürelerini ve akım hızlarını ölçerek periton diyalizinin yapılmasını sağlamaktadır. Aletli periton diyalizi için kullanılan solüsyonlarla, SAPD için kullanılan solüsyonların içeriği aynıdır. Devamlı Devirli Periton Diyalizi (CCPD), Gece Aralıklı Periton Diyalizi (NIPD) ve Tidal Periton Diyalizi APD'nin en sık kullanılan farklı tipleridir(20).

2.1.7.2.2.1 DEVAMLİ DEVİRLİ PERİTON DİYALİZİ (CCPD):

Bu yöntemle gün içinde daha uzun değişimler gerçekleştirilirken gece otomatik olarak daha kısa değişimler gerçekleştirilir. Değişim için makine kullanılır. Gece her 2,5-3 saatte bir toplam 3-5 değişim yapılır . Gündüz periton boşluğunda diyaliz sıvısı bırakılır(23).

2.1.7.2.2.2 GECE ARALIKLI PERİTON DİYALİZİ (NIPD):

Bir makine aracılığıyla gece değişim zamanı 20-60 dakika olan 8-10 değişim yapılır . Diğer sistemlere göre daha fazla diyaliz sıvısı (16-20 L) kullanılır. Bu periton diyalizi, periton geçirgenliği yüksek olan hastalar ve peritonda 2-3 L diyalizat taşıyamayacak hastalar için uygun olabilir(24).

2.1.7.2.2.3 TİDAL PERİTON DİYALİZİ:

Bu sistemde periton boşluğundaki sıvı hiçbir zaman tam olarak boşaltılmaz. Bir rezidüel sıvı volümü periton boşluğunda sürekli olarak vardır . Belirli miktarda diyaliz sıvısı makine ile verilir, beklenir ve geri alınır(25).

2.1.7.3 RENAL TRANSPLANTASYON

Bir başka insandan (yaşayan veya ölü) alınan böbreğin, böbrek fonksiyonlarını yitirmiş olan hasta insana, cerrahi operasyonla nakledilmesidir.

Hemodiyaliz ve periton diyalizi SDBY hastalarında etkili bir tedavi seçeneği olmakla birlikte, bu tedavi seçenekleri ile doğal böbreklerin tüm işlevlerini yerine getiremediği için böbrek nakli bu hasta grubunda tercih edilmesi gereken esas tedavi seçeneğini oluşturmaktadır. Bireyler arasında farklılık olmakla beraber, renal transplantasyon diyaliz tedavisine kıyasla yaşam kalitesi ve süresini arttıran bir tedavi yöntemidir(26). Ayrıca böbrek nakli ile bir yıllık hasta sağ kalım oranı % 90-98, beş yıllık hasta sağ kalım oranı ise % 80-90 iken, HD hastalarında birinci ve beşinci yıl sonunda hasta sağkalım oranları %84 ve %55 bulunmuştur. PD hastalarında ise, birinci ve beşinci yıl sonunda sağkalım oranları %93 ve %81 olarak bulunmuştur. Bu nedenle son yıllarda SDBY hastaları için böbrek transplantasyonu en seçkin tedavi yöntemi olmuştur(27).

2.2.KRONİK BÖBREK HASTALIĞINDA İNFLAMASYON

Kronik böbrek hastalığı ve son dönem böbrek yetmezliği akut veya kronik inflamasyonun görüldüğü bir tablodur. Hemodiyaliz hastalarının %35-60'ında inflamasyon bulgularına rastlanırken, bu oran prediyaliz hastalarında biraz daha düşüktür(28). Son dönem böbrek yetmezliği hastalarının da normal popülasyona göre 10 kat daha yüksek serum proinflamatuvar sitokin düzeylerine sahip olduğu bilinmektedir. Bu hastalarda inflamatuvar belirteçlerden C-reaktive protein , sitokinlerden interlökin-1 (IL-1), interlökin-6 (IL-6), İnterferon-gama ve tümör nekrosis faktör düzeylerinin arttığı gösterilmiştir(29, 30). İnflamasyon durumunda hepatositlerin iki majör akut faz yanıtı vardır. Bunlar;

Tip-1: IL-1 , TNF- alfa ve TNF-beta tarafından indüklenen, sonucunda serum amiloid-A, CRP ve C3 düzeylerini arttıran;

Tip-2 ise IL-6 benzeri sitokinler aracılığı ile indüklenen, sonucunda fibrinojen, haptoglobulin ve alfa 1-antitripsin üretimini artıran akut faz yanıtlarıdır(31, 32). Nemeth ve arkadaşları(31) yaptıkları çalışmalarında, hepsidin üretiminin IL-6 ile ilişkili, tip 2 akut faz yanıtı olduğunu bildirmişlerdir.

Stenvinkel ve arkadaşları(33) prediyaliz hastalarında CRP düzeyinin artmış olduğunu göstermişlerdir. Diyaliz hastalarında 5-50 mg/dl arasında değişmekte iken enfeksiyon

varlığında düzeyi çoğunlukla 50mg/dl'nin üzerinde bulunmuştur(34). Artan serum pro-inflamatuar sitokinlerinin ateş, iştahsızlık, bulantı-kusma, anemi aterosklerotik plak gelişimi ve albümin sentezinin baskılanması, protein enerji malnutrisyonu gibi birçok sistemik etkileri mevcuttur(35).

Son dönem böbrek yetmezliği hastalarında görülen inflamasyonun ve artmış serum proinflamatuvar sitokin düzeylerinin çeşitli nedenleri vardır;

1-Üremi

2-Dolaşımdaki proinflamatuvar sitokinler

3-Oksidatif stres

4-Karbonil stres

5-Artmış enfeksiyon riski

6-Protein –enerji malnütrisyonu

7-Antioksidan düzeylerinin azalması

8-Komorbid hastalıkların varlığı

9-Ağız boşluğu ve dişeti enfeksiyonları gibi persistan enfeksiyonların varlığı kronik inflamasyona yol açan nedenler arasında bulunmaktadır. Bunun yanında HD hastalarında greft ve fistül enfeksiyonları, biyoyumsuz diyalizat ve membran kullanımı inflamasyona neden olurken, PD hastalarında ise peritonitler, kontamine diyalizattan endotoksine maruz kalma inflamasyona neden olmaktadır(36, 37). Diyaliz esnasında kullanılan biyoyumsuz membranlar ve kontamine diyalizat sıvıları IL-1, IL-6, tümör nekrosis faktör –alfa (TNF-alfa) gibi proinflamatuvar sitokinlerin salınmasına yol açmaktadır. Sitokinlerin uyarısı ile oluşan reaktif oksijen ürünleri, sitokinlerin transkripsiyon faktörü olan nükleer faktör kappa-B (NF- κ B)'yi aktive etmektedir(38, 39).

2.3 KRONİK BÖBREK HASTALIĞINDA İNFLAMASYON ANEMİSİ

Kronik böbrek hastalarında ilk defa anemi 170 yıl önce Richard Bright tarafından tespit edilmiştir. Böbrek hastalığının progresyonu ile anemi sıklığı artmakta olup, Evre V KBH'larının hemen hemen hepsinde anemi görülmektedir(40). Kronik hastalık anemisi, demir eksikliğine bağlı gelişen anemilerden sonra en sık prevalansa sahip olup, akut veya kronik immün aktivasyonun geliştiği hastalarda ortaya çıkan bir anemi şeklidir(41, 42). 'İnflamasyon anemisi' olarak da adlandırılmaktadır. 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(43). Transgenik farelerde aşırı hepsidin yapımı tıpkı inflamasyon anemisindeki gibi demirden fakir eritropoezise ve hipoferremik anemiye neden olmaktadır(44). İnflamasyon anemisi olan hastalarda üriner hepsidin düzeylerinin serum ferritini ile paralel olarak arttığı görülmektedir(31).

Anemi oksijen kullanımında azalma, kardiyak dilatasyon, sol ventrikül hipertrofisi, kapiller deri perfüzyonunda ve pulmoner difüzyonda azalma ayrıca kognitif fonksiyonlarda ve immun yanıtta bozulmaya yol açmaktadır. Hastaların yaşam kalitesini olumsuz etkilemektedir. Bu nedenle önemli ve tedavi edilmesi gereken bir bulgudur(45, 46).

2.3.1KRONİK BÖBREK HASTALIĞI ANEMİSİNİN LABORATUAR ÖZELLİKLERİ

Kronik böbrek hastalığında anemi, genellikle normositer normokrom şeklindedir ve $GFR < 60 \text{ml/dk/1.73m}^2$ sık görülmektedir(47). Azalmış demir ve demir bağlama kapasitesi (transferrin), artmış ferritin ve kemik iliği makrofajlarında demirin varlığı ile karakterizedir. Bu durum depo demir mobilizasyonunun bozulmuş olduğunun bir göstergesidir. Sonuçta infeksiyon ve inflamasyona hipoferremik cevap nedeni ile , hemoglobin sentezi ve eritrosit üretimi için gerekli olan demir miktarı azalmakta ve inflamasyon anemisi oluşmaktadır(31, 48). Bunun yanında beyaz küre sayısı genellikle normaldir. Trombositopeni görülebilir. Retikülosit sayısı ve serum eritropoetin düzeyleri aneminin derecesine oranla genellikle düşüktür. Kemik iliği sellülaritesi artmış, azalmış veya normal olabilir. Myeloid/eritroid oranında düşüş görülebilir. Kemik iliğinin eritroid aktivitesindeki artış, mevcut anemiyi kompanse etmede yetersiz kalabilir. Ancak azalmış eritrosit kitlesine karşın, normal plazma hacmi mevcuttur(49).

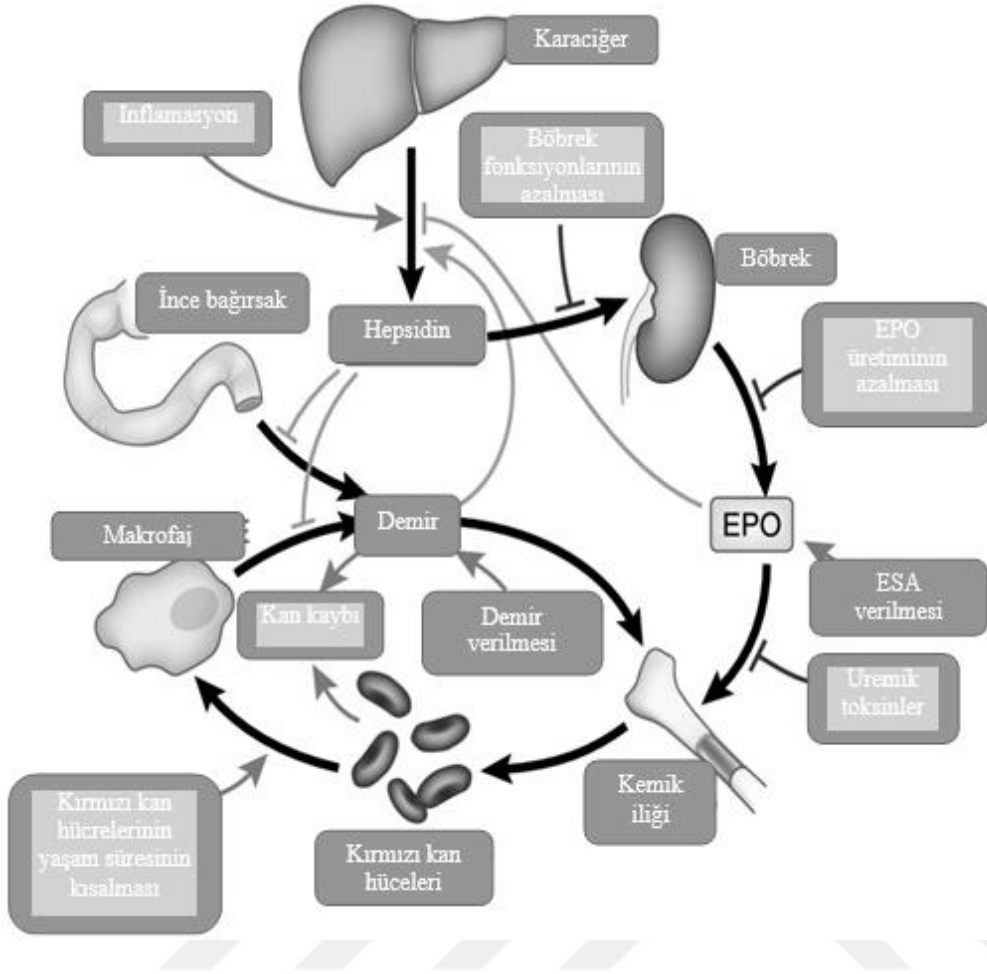
Aneminin derecesi KBH'nin ağırlığıyla paralellik göstermektedir(50). Üremik olmayan kişilerde görülen Hemoglobin (Hb), hematokrit (Hct) düzeyleri ile EPO düzeyi arasındaki ters ilişki üremik anemide görülmemektedir. Üremide, EPO üretimindeki yetersizlikten kaynaklanan aneminin ağırlığıyla orantısız derecede düşük EPO düzeyleri bulunmaktadır(51, 52). Yapılan bir çalışmada normal böbrek fonksiyonuna sahip anemik hastalarda EPO düzeyi 10-100 kat yüksek bulunmuştur(53, 54). Ancak tüm immunojenik EPO fragmanlarının ölçülmüş olması ve biyolojik aktiviteyi yansıtmaması bu çalışmanın kısıtlılığı olarak gösterilmiştir(55, 56).

Kronik böbrek hastalarında anemi takibini 2012 KDIGO guideline'a göre evre III KBH'da yıllık, evre IV-V KBH'da 6 ayda bir, diyaliz hastalarında ise her 3 ayda bir tetkik edilmesi önerilmektedir. Hedef hemoglobin seviyesi 11-12g/dl önerilmektedir. Erkeklerde 13g/dl, bayanlarda 12g/dl'nin altında anemi açısından tetkik ve tedavi edilmesi önerilmektedir(1).

2.3.2KRONİK BÖBREK HASTALIĞINDA ANEMİ NEDENLERİ

Kronik böbrek hastılığında anemi bir çok nedene bağlı gelişebilir. Bunlar:

- 1-EPO'in sentezinin azalması
- 2-Üremik toksinlere bağlı kemik iliği inhibisyonu
- 3-Gizli kan kayıpları
- 4-Hemoliz
- 5-Alüminyum toksisitesi
- 6-Demir eksikliği
- 7-Folik asit eksikliği
- 8-Eritrosit yaşam süresinin kısalması
- 9-Sekonder hiperparatiroidizm
- 10-Akut veya kronik inflamasyon(57, 58). (Şekil-1)



Şekil 1: Kronik böbrek hastalığında anemi mekanizması(59) (Türkçeleştirilerek alınmıştır)

2.3.3KRONİK BÖBREK HASTALIĞI ANEMİSİNDE SİTOKİNLERİN ROLÜ

Hematopoez ile KBH arasındaki ilişki ve EPO'nun etkisi bir asırdan uzun süredir bilinmektedir. Ekim 1983'de EPO geni klonlanmıştır. Aralık 1985'te ilk defa bir hastada rekombinan EPO kullanılmıştır. Haziran 1986'da Seattle grubu ve Londra/Oxford grubu tarafından SDBY anemisini düzeltmede EPO'nun etkili olduğu gösterilmiştir(60, 61). Pluripotent kök hücre, IL-1 varlığında myeloid, lenfoid, eritroid ve megakaryoid serinin öncüllerine diferansiye olmaktadır. Eritroid seride bu farklılaşma için büyüme faktörleri ve EPO gereklidir. Eritropoetin, eritroid serinin geç öncül hücreleri için büyüme ve "hayatta kalma" faktörü olarak etki eder ve apoptozislerini önler, bu hücrelerin daha geç

diferansiasyon basamaklarına taşınmasını sağlar, sonuçta olgun eritrositler üretilir. Eritropoetin eritroid öncül hücrelerinin yüzeyindeki EPO reseptörleri aracılığıyla etkisini göstermektedir(60, 62).

Son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda;

-Böbrekte EPO üretimi veya regülasyonundan sorumlu hücrelerin hasara uğraması, transformasyona uğrayarak hormon yapma yeteneklerini kaybetmeleri

-Oksijene duyarlı EPO üretimini sağlayan sistemin KBH'da duyarlılığının az oluşu

-İmmünomodülatör sitokinler (IL-1, IL-6, TNF-alfa, IFN gama)

-Tübüler fonksiyonların azalması

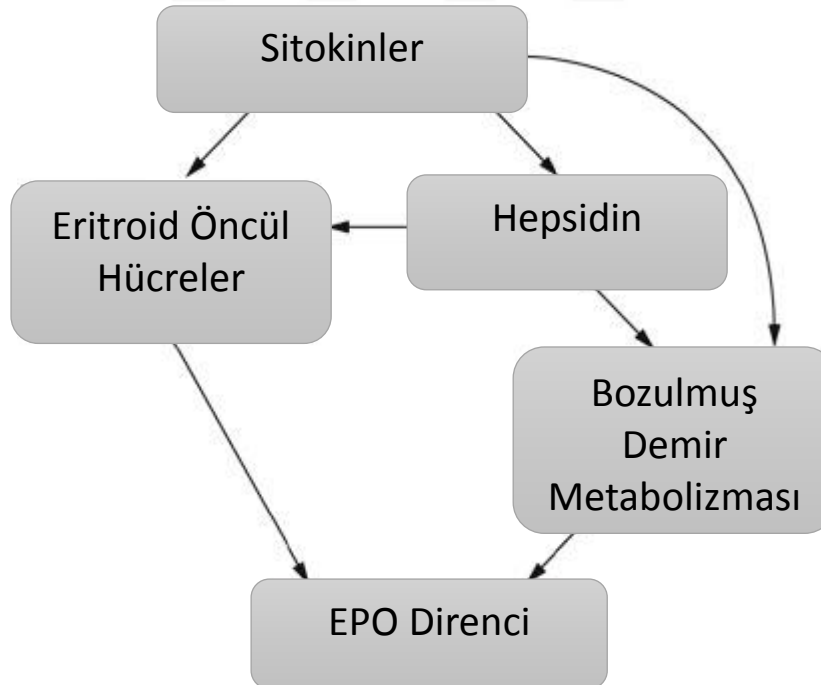
-Eritrosit süspansiyonu transfüzyonları nedeniyle endojen EPO 'nun baskılanmasına ve üretiminin azalmasına yol açmaktadır(60, 63). IL-1 ve TNF alfa'nın in vitro olarak eritropoietin ekspresyonunu direkt olarak baskıladığı, eritropoetin aracılı transkripsiyon faktörlerinin bağlanma afinitelerini etkilediği ve ayrıca eritropoietin üreten hücreleri hasara uğrattığı gösterilmiştir(64). Kronik böbrek hastalığında EPO eksikliği aneminin tek etyolojik nedeni değildir. Yüzde 10-20 hastada Epo direnci ile karşılaşmaktadır(40). Artan sitokinler eritroid öncül hücrelerde direkt inhibitör etki yaparak, hepsidin sentezini artırarak ve indirek olarak demir metabolizmasını etkileyerek EPO direncine neden olmaktadır(65, 66). (Şekil-2).

Kronik hastalık anemili hastalarda eritroid öncüllerinin proliferasyonunu ve diferansiyasyonunu sağlayan "Erythroid Burst-Forming Unit (E-BFU)" ve "Erythroid Colony Forming Unit (ECFU)" IFN-alfa, IFN-beta, IFN-gama, TNF-alfa ve IL-1'in inhibitör etkisiyle bozulmuştur. Sonuçta bu mekanizma ile eritroid öncül hücrelerin apoptozisi artmaktadır(67, 68). Taniguchi ve arkadaşları IFN-gama'nın mRNA'yı inhibe ederek EPO reseptör ekspresyonunu azalttığını ve eritroid öncül hücrelerin apoptozisine yol açtığını göstermiştir(69). Eritroid öncül hücrelerin eritropoetine cevabı altta yatan kronik hastalığın ciddiyeti ile ve IFN-gama veya TNF-alfa gibi sitokinlerin konsantrasyonları ile ters orantılıdır. Bu oranın artması E-CFU formasyonu düzeltmek için daha yüksek miktarda eritropoetine ihtiyaç duyulmasına yol açmaktadır(70). Bunun yanında sitokinler nitrik oksit (NO) ve superoksit anyonları gibi labil serbest radikallerini uyararak öncül hücreler üzerinde direkt toksik etki de yapmaktadır(71).

Kronik inflamasyonda proinflamatuvar sitokinler özellikle IL-6 hepsidin sentezini stimule etmektedir. Bu da EPO direncine neden olmaktadır. Hepsidin enterositlerde divalan metal taşıyıcı 1'in ekspresyonunu azaltarak ince barsaklardan demir emilimini engellemektedir(72). Ayrıca serum transferrine demir salınımını sağlayan ferroportini inhibe etmekte böylece makrofaj, enterositlerde demir birikimine neden olmaktadır. Bunların

yanında hepsidin direk olarak eritroid öncül hücrelerin proliferasyonunu inhibe ederek EPO direncine neden olmaktadır(73). Tüm bunlar hücre içi demiri arttırmakta ve plazma demir konsantrasyonunu azaltmaktadır(74).

Demir, hemoglobin üretiminin yanında birçok proteinin hücresel büyüme ve canlılığı için gerekli bir elementtir. İnsan vücudunda bulunan demir kaynakları; diyetle alınan demir, karaciğerdeki demir depoları ve yaşlı kırmızı kan hücrelerinde bulunan demirden oluşmaktadır. Demir ihtiyacı çoğunlukla da yaşlı kırmızı kan hücrelerinin yıkımından elde edilmektedir. Bu hücreler makrofajlar tarafından fagosite edilir. Hemoglobin yıkımı ile elde edilen demir ferroportin aracılığı ile dolaşıma salınır(75). Transferrin ile plazmada taşınır. Hücrelerdeki transferrin reseptörü ile demir hücreye aktarılır(76). TNF, IL-1, ve IL-6 makrofajlarda divalan metal taşıyıcı 1'in ekspresyonunu arttırarak demirin makrofajlarda depolanmasını sağlamakta ve bunun yanında ferroportini de baskılamaktadır. Makrofaj membranındaki transferrin receptör aracılığı ile hücre içine demir alımını arttırmaktadır. Bu nedenle dolaşımdaki demirin retikuloendotelyal sistemde depolanması sonucunda eritroid öncül hücelere demir aktarılamamakta ve demir kısıtlı eritropoiezis meydana gelmektedir.



Şekil 2: Epo direncinde sitokinlerin rolü (77)

2.4 KRONİK BÖBREK HASTALIĞINDA DEMİR EKSİKLİĞİ

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre (WHO) anemi erkeklerde ve postmenopozal bayanlarda 13g/dl'nin, premenopozal bayanlarda 12g/dl'nin altında olması şeklinde tanımlanmıştır.

Demirin biyolojik önemi eski çağlardan itibaren bilinmektedir. Ancak, özellikle son on yılda emilim, depolanma, moleküler kontrol ve hücrelerdeki döngüsünün moleküler yolları ile ilgili yeni proteinlerin keşfi ile demir metabolizması ile ilgili bilgilerimizde büyük ilerlemeler kaydedilmiştir. 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, lakroferrin, siderokalin), deoksiribonükleik asit (DNA), ribonükleik asit (RNA) ve protein sentezinde önemli fonksiyonları vardır(78, 79). Erişkin bir erkekte yaklaşık 3–4 gram demir bulunur. Organizmadaki demirin % 60–70 kadarı hemoglobin (Hb), % 10 kadarı miyogloblin, sitokromlar ve demir içeren enzimlerin yapısında bulunur. Kalan %20–30'luk kısım ise gereğinde kullanılmak üzere başlıca karaciğer ve retiküloendotelial sistem (RES) makrofajlarında depolanır.

Demir, vücutta sıkı bir şekilde korunmaktadır. Günlük demir kaybı 1–2 mg (tüm vücut Fe'inin sadece %0.02'si) olup, bu kayıp gastrointestinal sistem (GİS) ve deriden dökülen epitelial hücreler ve kadınlarda menstrüel kanamalar yoluyla olmaktadır. Bunun dışında organizmadan demir atılımını sağlayan fizyolojik bir mekanizma yoktur. Absorbsiyon, demir eksikliği ve eritropoezin arttığı durumlarda artar, Fe yüklenmesi olduğunda ise azalmaktadır. Erişkinlerde ve üremik olmayan kişilerde kronik kanama yoksa demir eksikliği zor gelişmektedir(80). 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 ve serum demiri 10-30 microM gibi dar bir aralıkta tutulmaktadır. Bunu da demir algılayıcı proteinler sayesinde yapmaktadır. Demirin organizmadaki miktarı ve dengesi büyük oranda proksimal ince barsaktan emiliminin ve makrofajlardan ve karaciğerden salınımının kontrolü ile sağlanmaktadır(81).

Kronik böbrek hastalarında trombosit disfonksiyonuna bağlı kronik kanama, diyaliz sırasında cihazda dolaşan kan gibi nedenlerle yılda yaklaşık 1-3 gr demir kaybı olmaktadır(82). Bu hastalarda intestinal sistemden demir emilimi de bozulmaktadır. Bunun yanında EPO alan KBH olan hastalar eritropoezde kullanılmak üzere dolaşımdaki demir havuzunu tüketmektedir. Böylece hastalar demir eksikliğine eğilimli olmaktadır. Bu nedenle anemi tedavisinde demir replasmanı tedavinin ana parçası olmalıdır. Genellikle intravenöz demir replasmanı tercih edilmelidir(40).

Demir eksikliği tanısında en sık kullanılan iki tanısal test, serum ferritin ve transferrin saturasyonu (TSAT) düzeyidir. Üremik olmayan kişilerde depo Fe 'inin en hassas göstergesi olan ve demir eksikliği tanısında güvenle kullanılan serum ferritin düzeyinin KBH hastalarında kullanımını kısıtlayan iki önemli faktör vardır:

Birincisi ; inflamasyon varlığında serum ferritin düzeyi, depo Fe düzeylerinden bağımsız olarak yükselir, SDBY olan hastalarda da sıklıkla gizli inflamasyon bulunduğundan, serum ferritini beklenenden yüksek bulunmaktadır.

İkincisi; SDBY olan hastalarda Fe retiküloendotelyal sistemde bloke edilme eğiliminde olduğundan yüksek bulunabilir ve gerçekte var olan demir eksikliğini göstermede yetersiz kalmaktadır(62, 63, 83, 84). Serum demiri dolaşımdaki transferrine bağlı olan Fe'i gösterir, direkt ölçüm olarak kullanılmaz, TSAT ile değerlendirilir. Üremik hastalarda malnutrisyondan dolayı Fe durumundan bağımsız olarak transferrinde ve bunun göstergesi olan total demir bağlama kapasitesi (TDBK)'nde azalma olur. Üremik olmayan kişilerde düzeyi %16'nın altında olduğunda demir eksikliğine işaret eden TSAT'nun, üremik hastaların pek çoğunda demir eksikliği olduğu halde daha yüksek düzeylerde bulunması ve demir eksikliğini göstermede yetersiz kalması bu nedenledir. Son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda TSAT <%20 ise mutlak veya fonksiyonel demir eksikliği olabilir(84).

3.HEPSİDİN

3.1.HEPSİDİN TARİHÇESİ

Bin dokuz yüz otuz (1930)'larda Mc Cance ve Widdowson tarafından intestinal demir emilim miktarı diyetle alınan demiri, feces ve idrarla atılan demirden çıkartılarak gösterilmiştir. Buradan yola çıkarak demir eksikliğinde intestinal demir emiliminin arttığını, demir eksikliği olmayanlara ise parenteral demir verildiğinde demir atılımında değişiklik olmadığını kaydedilmiştir. Hahn ve Whipple insan ve hayvan modellerinde intestinal radioizotop işaretli demirin emilimini göstermiş ancak belirgin atılım olmadığını kaydedilmiştir.

Bin dokuz yüz elli (1950)'lerde Finch ve Saylor demir emiliminin eritropoetik aktivite ile arttığını transfüzyon ile azaldığını kaydetmişlerdir. Eritrositlerin yıkımı ile ortaya çıkan radyoizotop işaretli demir Noyes, Bothwell, ve Finch tarafından ölçülmüştür. Demir ihtiyacı olduğunda ise demirin büyük çoğunluğunu retiküloendotelyal sistemden karşılandığını ve Freireich, Wintrobe, Cartright, Finch ve arkadaşları ise inflamasyonda makrofajlarda demirin sekestre olduğunu göstermişlerdir.

Manis ve Schachter ve Wheby ve arkadaşları 1960'larda demirin proksimal duodenumdan emildiğini (mukozal emilim), enterosite alındıktan sonra ya ferritin olarak depolandığını ya da kan dolaşımına salındığını göstermişlerdir (mukozal transfer). Enterositlerin kısa ömrü nedeni ile emilen demirin kaderi basolateral membranlar tarafından belirlenmekte, emilen demir ya dolaşıma gönderilmekte ya da dökülen enterositler ile birlikte feces ile atılmaktadır.

Hepsidin geninin küçük boyutlu olması, spontan mutasyonların nadir görülmesi nedeni ile hepsidinin keşfi genetik yöntemlerle olmamıştır. İki bin bir (2001) yılında Park C.H. ve çalışma arkadaşları tarafından insan idrarında Beta defensin-1 adlı, böbrekte üretilen doğal bağışıklıkla alakalı bir peptid üzerinde çalışırken 25 aa'li 4 disülfid bağ içeren yeni bir peptid bulunmuştur. mRNA'sının yüksek miktarda karaciğerde eksprese edilmesi (hep-) ve in vitro antibakteriyel özelliklere (-cidin) sahip olması nedeni ile "hepcidin" (hepatik bakterisidal protein) olarak adlandırmıştır. Ayrıca septik bir hastanın idrarında ve inflamasyon sırasında hepsidin düzeyinin >100 kat arttığı görülmüştür(85). Krause A. ve ark. Park ve arkadaşlarından bağımsız olarak 2000'de aynı peptidi plazma ultrafiltratından izole etmiş ve karaciğer kaynaklı antimikrobiyal peptid (liver-expressed antimicrobial peptide, LEAP-1)

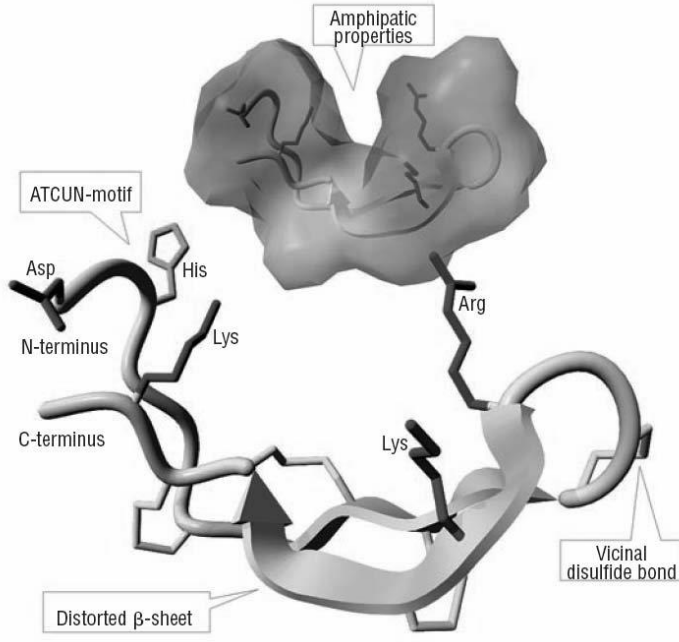
olarak adlandırmıştır(86). Antimikrobiyal peptid olarak keşfedilen hepsidin, sistemik demir homeostazı ile bağlantısı ilk olarak Pigeon ve arkadaşları tarafından diyetle demir yüklenen farelerin karaciğerlerinde hepsidin Mesajcı Ribonükleik Asid (mRNA) 'sının aşırı eksprese olduğunun gözlenmesi ile farkedilmiştir(87).

Hepsidin demir metabolizmasındaki rolü 2001 yılında Nicolas ve arkadaşları tarafından da gösterilmiştir. Glikoz metabolizmasına bağlı transkripsiyon faktör USF2 (upstream stimulatory factor 2= akış uyarıcı faktör)'yi fareler üzerinde çalışırken beklenmedik bir şekilde demirin aşırı yüklenmesi olduğu tespit edilmiştir. Bu farelerde USF2 geninin yanında hepsidin geninin de hasarlandığı bulunmuştur(88). Hepsidin keşfi ile ilk olarak onun antimikrobial ve antifungal etkisi tanımlansa da günümüzde hepsidin, demir metabolizmasının düzenlenmesinde temel hormon olarak kabul edilmektedir(89).

3.2 HEPSİDİNİN YAPISI

İnsanda 25 aminoasit (aa) içeren biyoaktif hepsidin peptidi sistinden zengin saç tokası şeklinde ve 4 disülfid bağ içermektedir. 25 aa kalıntısı ile katyonik bir peptiddir(85). Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi ile yapılan çalışmalarda biyoaktif hepsidin, 4 disülfid bağı ile stabilize olan b-tabaka firkete yapısına sahip olduğu ve bu bağlardan birinin alışılmışın dışında, dönüşte yer alan, komşu bir disülfid bağ olduğu gösterilmiştir(90) (Şekil-3)

İnsan hepsidin geni (Hamp) 19. kromozomun uzun kolunda (19q13) yer almaktadır(91). İnsanlar ve ratlar tek Hamp genine sahipken, fareler 2 fonksiyonel hepsidin genine sahiptir. Bu gen 84 aa'lık öncü protein pre-prohepsidini kodlamaktadır. Propeptid konvertaz ile 20, 22 ve 25 amino asid içeren hepsidin formları oluşmaktadır.



Şekil 3: Hepsidin yapısı(92)

3.3. HEPSİDİN SENTEZİ VE YIKIMI

Hepsidin üretimini çoğunlukla karaciğerde olmaktadır. Az miktarda da böbrekler, çizgili kas, kalp ve beyinde üretildiği saptanmıştır. Bakteriyal enfeksiyon sırasında nötrofil ve makrofajlarda da üretilmektedir(91). Yıkımı ise böbrekte olmaktadır(86).

Kulaksız ve arkadaşları(93) tarafından yapılan bir çalışmada memelilerin böbreğinde toplayıcı kanal ve tübüllerin epitelyal hücrelerinde intrinsek peptid olarak hepsidin üretildiği ve idrara luminal olarak salınabildiği rapor edilmiştir. Böbrekte hepsidin renal tübüler sistem içinde demir taşıyıcısı olan Divalan Metal Taşıyıcı 1 ile ilişkili olduğu bulunmuştur. Divalan Metal Taşıyıcı 1 ekspresyonunun distal tübül ve toplayıcı kanal epitelyal hücrelerin apikal kutbunda en yüksek olduğu ve bu bölgelerde hepsidin de bulunduğu gösterilmiştir. Yine başka bir çalışmada Kulaksız ve arkadaşları(93) hepsidin böbrekte demir transportunun düzenlenmesinde bir rol oynadığını ortaya koymuşlar ve onlar RT-PCR (Reverse Transkripsiyon Polimeraz Zincir Reaksiyonu) ile deneysel çalışmalarında hepsidin böbrekte intrinsek olarak üretildiğini göstermişlerdir.

İnsan kan ve idrarında, farklı amino asit içeriği olan ve farklı moleküler ağırlıkta, üç hepsidin formu saptanmıştır. Seksendört aminoasitten oluşan PreProhepsidinden propeptid

konvertaz ile 20, 22 ve 25 amino asid içeren hepsidin formları oluşmaktadır. Hepsidin Propeptid konvertaz, kan ve kapiller membran hücrelerinde bulunmaktadır(79).

Hepsidin geni 84 aa'lık öncü protein pre-prohepsidini kodlamaktadır. Pre-prohepsidin, enzimatik ayrılma sonrası 64 aa'lık pro-hepsidin peptidi olarak endoplazmik retikulum lümenine aktarılmaktadır. Otuzdokuz aa'lık öncü peptidin posttranslasyonel olarak ayrılması sonucu, 25 aa'lık matür demir metabolizmasının düzenlenmesinde görev alan antimikrobiyal özelliklere sahip biyolojik olarak aktif hepsidin-25 oluşmaktadır. Hepsidin-25'in yıkımı sonucu ise 20 ve 22 aa'lık formları oluşmaktadır(92, 94). Hepsidin-25, hem demir metabolizmasını düzenler hem de antimikrobiyal özelliklere sahiptir. Hepsidin-22'nin in vitro ortamda güçlü antimikrobiyal aktivitesi vardır. Fakat hepsidin-20'nin hiçbir demir düzenleyici fonksiyonu tanımlanmamıştır. Hepsidin-25 ve hepsidin-20 idrarda hepsidinin majör formuyken hepsidin-22 minör formu olarak bulunmaktadır(85).

3.4 HEPSİDİN KİNETİĞİ

Hepsidinin dolaşımında yüksek afinite ile alfa2 makroglobuline nispeten daha düşük afinite ile albümine bağlı olduğu bulunmuştur. Yüzde 11'inin dolaşımında serbest olduğu tahmin edilmektedir(95, 96). Hepsidinin vücuttan uzaklaştırılması ferroportin ile eş zamanlı yıkılması ve böbrekler yolu ile atılımı ile sağlanmaktadır. İnsan çalışmalarında hepsidinin fraksiyonel ekskresyonu % 0-5 olarak hesaplanmıştır(97).

Serumda bağlı olmayan hepsidin düşük moleküler ağırlığı nedeni ile glomerullardan serbestçe süzulebilmektedir. Glomerular disfonksiyon durumunda ise hepsidinin geri emilimi artmaktadır. Proteinlere bağlı olması nedeniyle böbrekten serbest süzulemeyen hepsidinin serumdaki düzeyinin 6 kat arttığı bulunmuştur(98, 99).

3.5 HEPSİDİN FONKSİYONU

Hepsidin vücutta bilinen iki farklı etkisi vardır.

3.5.1 Antimikrobiyal Etki: İnsan hepsidini invitro olarak, 10–30 µM gibi çok yüksek konsantrasyonlarda antibakteriyel ve antifungal özellikler göstermektedir. İdrar hepsidin konsantrasyonları 3–30 nM (10–100 ng/mL) aralığındadır ve infeksiyonlar sırasında 10 kata

kadar artabilmektedir(48). Bunun yanında hepsidin serum demir miktarını azaltarak da konak savunmasına katkı sağlamaktadır. Diğer antimikrobiyal peptidlere benzer olarak bakteri membranını parçalamakta ve bakteriyel enfeksiyonlarda enflamatuvar cevapta rol oynamaktadır. Sow ve arkadaşları tarafından hepsidinin Mikobakterium Tüberkülosiste yapısal hasar oluşturarak çoğalmasını engellediği gösterilmiştir. Bu invitro çalışma hepsidinin direkt antimikrobiyal özelliğini de kanıtlamaktadır(100).

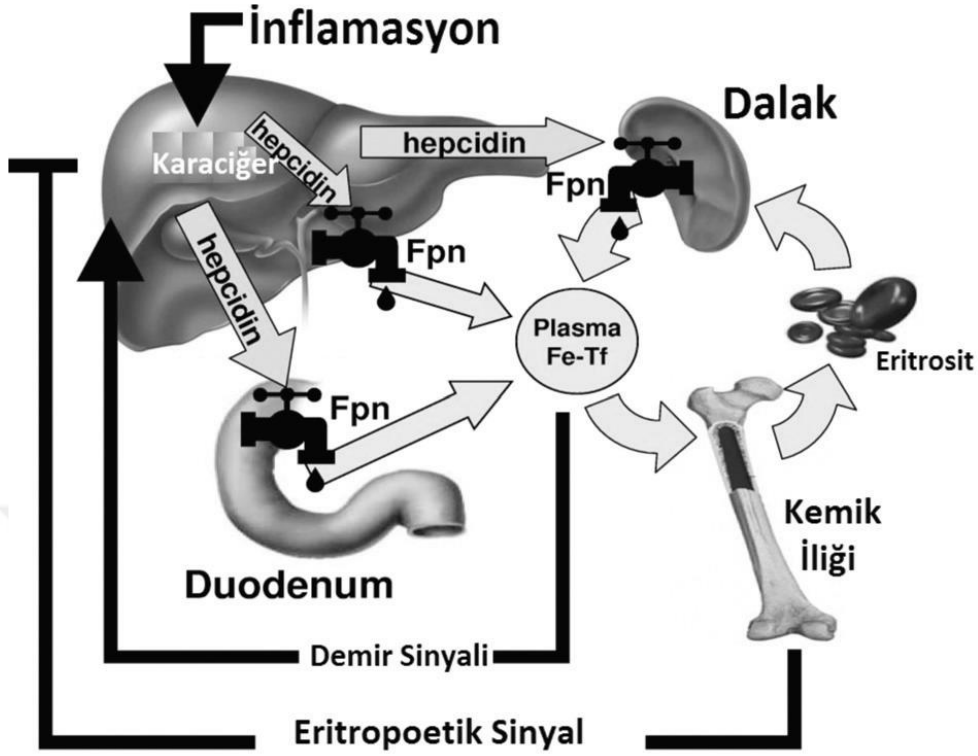
3.5.2 Demir - Düzenleyici İşlev: Demir metabolizmasının ana düzenleyicisi hepsidin – ferroportin etkileşimidir (Şekil-4) . Ferroportin Hepsidinin reseptörüdür. Ferroportin demirin hücreden plazmaya atılmasını ve bir ferriksidaz olan hefastinin yardımı ile plazma transferinine yüklenerek taşınmasını sağlamaktadır. Ferroportin plasentada, barsakta, retiküloendotelial makrofajlarda ve hepatositlerde bulunmaktadır. Hepsidinin ferroportine bağlanması, onun internalizasyonuna ve lizozomal degradasyonuna sonuç olarak da ferroportinin membrandan kaybına yol açmaktadır. Ferroportinin hücre yüzeyinden kaybı demirin plazmaya geçişini engellemektedir. Bunun sonucunda intestinal demir Emilimi azalır, makrofajlarda ve enterositlerde demir birikimi artar, plazmaya daha az demir çıkar, transferrin saturasyonunda ve eritropoeze giden demir miktarında azalma görülür.

Ferroportin geninde homozigot mutasyon olan farelerde enterositlerden plazmaya demir transferinin olmadığı ve demirin enterosit içinde biriktiği gösterilmiştir(101). Ferroportin mutasyonları otozomal dominant kalıtmıli hemakromatosis tip 4 e yol açmaktadır. İki farklı tip mutasyon tanımlanmıştır. Birinci grupta ferroportinin makrofaj membranında eksikliği olmakta ve hepsidin resistansı oluşmaktadır. Bunda makrofaj tipi demir birikimi olur. İkinci tip mutasyonda hepsidin bağlanması olur fakat ferroportin hücre içine alınıp degrade edilemez. Bunda görülen demir birikimi ise parankimaldir.

Hepsidin ayrıca diyetle fazla demir alındığında duodenal enterositlerden plazmaya fazla demir çıkışını da kısıtlamaktadır. Diyetteki demir ile hepsidin sentezinin arttığı gözlenmesi, hepsidinin demir metabolizmasında yer aldığını düşündürmüştür. Transgenik fare modellerinde yapılan çalışmalarda hepsidin düzeyinin, barsakta demir Emiliminin, plasentadan demir taşınmasının ve makrofajlardan demir salımının üzerine negatif etkisi olduğu gösterilmiştir(48).

Anemi ve hipokside ise tersine hepsidin sentezi azalmakta, hücre yüzeyinde ferroportin artmaktadır. Bunun sonucunda demir Emilimi ve makrofajlardan dolaşıma verilen demir miktarı artmaktadır. Yapılan bir çalışmada farelere intraperitoneal 50 microg hepsidin enjekte edildikten 1 saat sonrasında hipoferrinemi gözlenmiştir(102). Serum demiri ise 48 saat

sonrasına kadar düşük seyretmiştir(103). Sağlıklı gönüllülerde yapılan bir çalışmada ise 65 mg demirin oral verilmesinden sonra 1 gün içinde hepsidin >5 kat arttığı gösterilmiştir.



Şekil 4: Hepsidin başlıca fonksiyonu(104) (Türkçeleştirilerek alınmıştır).

3.5.2.1 DEMİRİN DUODENAL EMİLİMİ VE HEPSİDİN

Demir duodenumdan ve proksimal jejunumdan emilmektedir. Besinlerle alınan demirin %90'ı non-hem, %10'u hem demiridir. Non-hem demirinin ancak %5'i emilmektedir. Hem demiri ise yüksek emilim oranına sahip olup, diyetdeki faktörlerden çok az etkilenmektedir. Diyetle demir hemoglobin ve miyoglobinden kaynaklanan organik hayvansal kaynaklı hem demiri ve hayvansal kaynaklı olmayan inorganik demir olmak üzere iki şekilde bulunmaktadır. Hem demiri ve inorganik demirin emilim yolları birbirinden farklıdır.

Hem Demirin Emilimi: Hem demiri ferröz (FeII) formda olup, demir eksikliği olduğunda emilimi 2-3 kat artmaktadır. Hem demiri, duodenal enterosite **hem taşıyıcı protein 1** denilen özel bir taşıyıcı ile girmektedir. Enterositte plazmaya çıkarken inorganik demirle aynı yolu kullanmaktadır.

Non-Hem Demirin Emilimi: Besinlerle alınan hem dışı demirin çoğu ferrik (FeIII) demir şeklindedir. Solubilitesi ve lümen duodenal villusta enterosite alımı için lümen içi

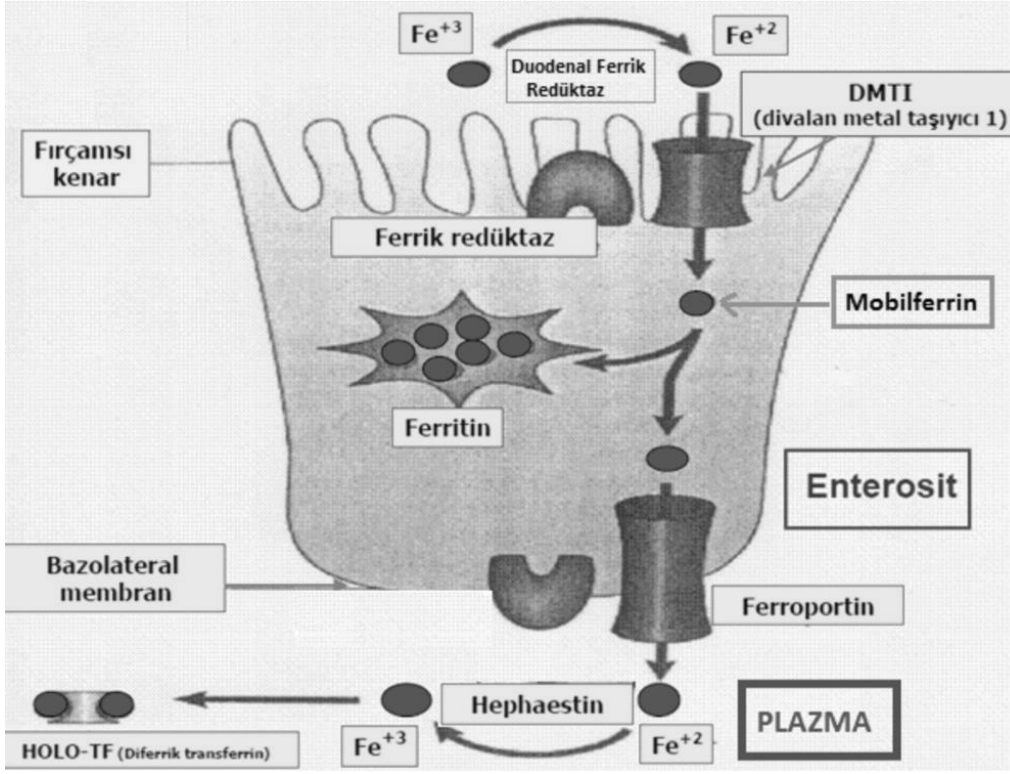
pH 'yı düşüren mide asiditesine gereksinimi vardır. Emilimde ilk basamak bu ferrik demirin membrana bağlı bir redüktaz olan ve **askorbat bağımlı duodenal sitokrom b (DCytb)** tarafından ferröz şekle (FeII) redükte edilmesidir. Ferröz demir olgun enterositin lümen bakan yüzeyinde bulunan **divalan metal transportör 1 (DMT 1)** ile enterosit içine alınmaktadır. Divalan metal transportör 1 non-hem demir alımını sağlayan en önemli proteindir. Gerek DCytb'in gerekse DMT1'in sentezi demir eksikliğinde artmaktadır. Enterosit içindeki ferröz demir seruloplazmin homoloğu ve bir transmembran proteinini olan **hefastin** ile FeII'den FeIII haline okside edildikten sonra enterositin bazolateral tarafına taşınan demir, insanda bilinen tek demir atıcısı olan ferroportin ile plazmadaki transferine yüklenir ve ihtiyacı olan hücrelerin yüzeyinde bulunan transferrin reseptörü 1 (Tfr1) aracılığı ile hücrelere alınmaktadır (Şekil-5).

İntestinal demir emilimi vücudun demir ihtiyacına ve eritropoetik aktiviteye göre düzenlenmektedir. Bu düzenleme hepsidin aracılığı ile olmaktadır. Demir depoları yeterli veya yüksek olduğunda, karaciğer hepsidin üretimini arttırmaktadır(105). Hepsidin, ince bağırsakta ferroportini internalize ederek degradasyonuna neden olmakta ve demiri enterositlerden plazmaya taşıyan tek yolu bloke etmektedir. Ayrıca makrofajlardaki ve karaciğerdeki depo demirin salınımını da bu yolla inhibe etmektedir. Demir makrofajlar içerisinde hapis kalır. Hepsidin üretiminin yüksek olduğu inflamatuvar durumlarda demir-yüklü makrofajların varlığına işaret etmektedir(106).

Demir depoları düşük olduğunda ise, hepsidin üretimi azalır, oral alınan demir enterositler tarafından absorbe edilir ve ferroportin aracılığı ile kana geçer, kanda serbest demir transferine bağlı olarak dolaşır. Serum demir içeriği azaldığında, hepatosit ve makrofajlarda yer alan ferritin gibi depolardan demir salınır ve ferroportin aracılığı ile hücre dışına çıkarak kana karışmaktadır(48, 107).

Hücresel düzeyde demirin moleküler kontrolü; demirin taşınması, depolanması, kullanımını ile ilgili tüm ana proteinlerin (TfR1, DMT1, ferritin, ferroportin, delta aminolevulinik asit sentetaz) sentezi post-transkripsiyonel düzeyde hücre içi demirle düzenlenmektedir. Bu düzenleme stoplazmada bulunan ve hücresel demir düzeyini algılayan demir düzenleyici proteinler ('iron regulatuar proteinler') IRP'ler ile yapılmaktadır. Bu protein, demir metabolizmasıyla ilgili diğer proteinlerin mRNA'ları üzerindeki demir duyarlı elementler ('iron responsive elementler, IRE) denilen, 30 nükleotidlik bir bölgeye bağlanarak iş yapmaktadır(106). Sonuç olarak; IRP/IRE bağlanması TfR1 ve DMT1'in yapımını artırırken, ferritin, ferroportin ve delta aminolevulinik asit sentetazın yapımını azaltmaktadır. 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(108).



Şekil 5: Duedonumdan demir emilimi (Enterosit)

3.5.2.2 DEMİRİN HÜCRELER TARAFINDAN ALINMASI VE HEPSİDİN

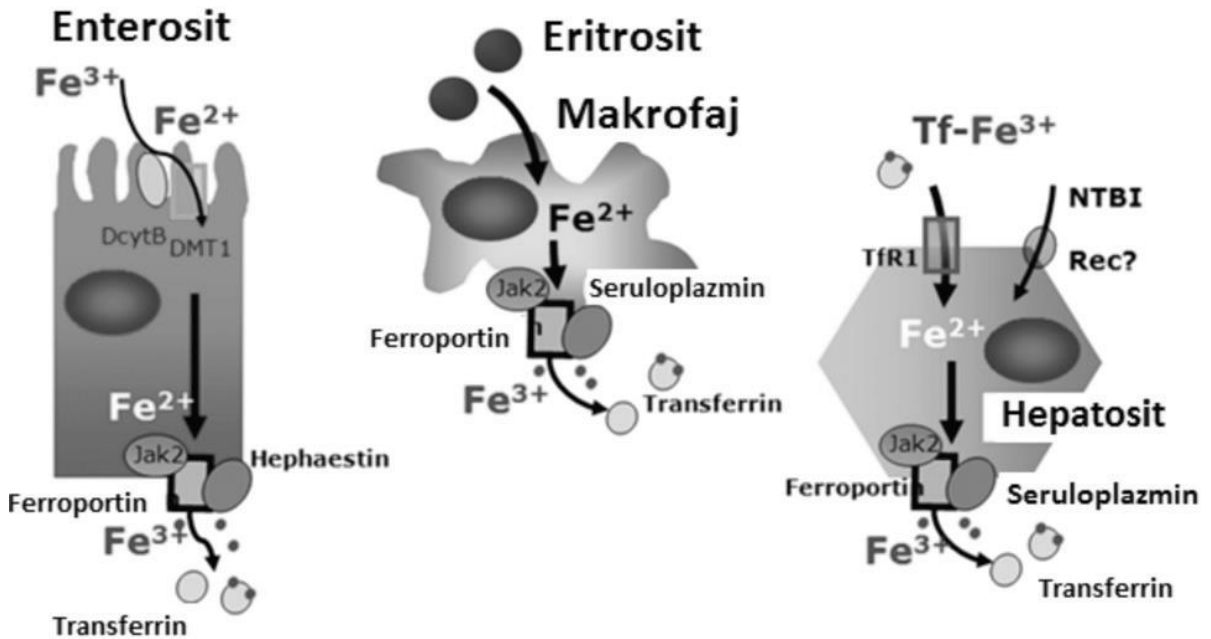
Demir, plazmada çoğunlukla karaciğerden sentezlenen ve glukoprotein yapısında olan transferin tarafından taşınmaktadır. Enterositin bazolateral tarafında hefastin ile okside edilerek ferrik (FeIII) hale getirtildikten sonra ferroportin ile dışarı verilen ve transferine yüklenen demir, portal dolaşımdan çoğunluğu kemik iliğinde eritrosit öncü hücrelere olmak üzere birçok hücreye taşınmaktadır. Her transferin molekülü iki tane Fe III'ü güçlü bir şekilde bağlamaktadır. Hefastin eksikliğinde duodenal enterositlerde demir fazlalığı ve demir emilim bozukluğuna bağlı hipokrom mikrositer anemi olduğu gösterilmiştir.

Hücreler demiri farklı yollardan almaktadır.(Şekil-6) Diyet demiri enterosit tarafından apikal membranda bulunan DMT1 ile alınırken, makrofajlar önce fagosite ettikleri yaşlı eritrositlerdeki hemoglobinden demir almaktadır. Makrofajların vakuolar membranlarından

demir alımı gene DMT1 ile olmaktadır. Makrofajlarda açığa çıkan demir ya tekrar organizmada dolaşan demir olması için makrofaj ferroportini ile plazmaya verilmekte ya da makrofaj içinde ferritin şeklinde depolanmaktadır. Makrofajdan demir plazmada transferine yüklenebilmesi için FeIII şekline okside edilmelidir. Bu işi plazmada bakıra bağlı ferriksidaz olan ve karaciğerde sentezlenen seruloplazmin yapmaktadır.

Hepatositlerin demir alımı TfR1 ve TfR2 ile olmaktadır. Hepatositler portal dolaşımdan aldıkları demiri depolar ve gerektiğinde ferroportin yolu ile tekrar dolaşıma vermektedir.

Bunlar dışında tüm hücreler demiri yüzeylerinde bulunan transferin reseptörlerini kullanarak plazma transferrininden almaktadırlar. Transferin reseptörü disülfid bağları ile bağlı iki subünitten oluşmaktadır. İki ayrı genle kodlanan TfR1 ve TfR2 şeklinde iki farklı Tfr türü vardır. Transferin reseptör 1 demiri transferrinden alan tüm hücre yüzeylerinde bulunmaktadır. Transferrin, hücre yüzeyindeki TfR1'e bağlanarak demirin hücre içine aktarılmasını sağlamaktadır(109). Transferrin reseptör 2 TfR1'in homologudur ve çoğunlukla karaciğerde, kan hücrelerinde, duodenal kript hücrelerde eksprese edilmektedir. Transferrin reseptör 2'ye diferrik transferrin bağlanır. Karaciğere demir depoları sinyallerini iletmede görevlidir. Hemokromatozis Demir Protein BMP6-SMAD yolağını etkileyerek hepsidin ekspresyonunu düzenlemektedir(110)



Şekil 6: Demir dengesi

3.6 HEPSİDİN SENTEZİNİN DÜZENLENMESİ:

Hepsidin sentezinin düzenlenmesi dört yolla olmaktadır:

- 1-Demir
- 2-Anemi ve hipoksi
- 3-Eritropoetik aktivite
- 4-İnflamasyon

3.6.1 DEMİR İLE HEPSİDİN SENTEZİNİN DÜZENLENMESİ:

Kemik Morfogenetik protein'ler (BMPs) TGF-beta ailesinden bir çeşit büyüme faktörleridir. Hücre proliferasyonunda, diferansiyasyonunda, apoptosiste, dokulara migrasyonda anahtar rol oynamaktadırlar. Kemik Morfogenetik Protein'ler özellikle kardiak, nöral ve kıkırdak diferasyonunda rol almaktadır. Hücre içinde ve hücre dışındaki demir varlığını algılayarak hepsidin sentezini düzenleyen hücre içi yolaklardır.

Kemik morfogenetik proteinler, tip I ve tip II BMP reseptörlerine bağlandığında R-Smad denilen hücre içi proteininin fosforilasyonu gerçekleştirmektedir. Ardından Smad4 aktive olarak hücrenin çekirdeğine girer ve oradaki hedef geni olan HAMP genini aktive etmektedir. Karaciğere özgü Smad4 inaktivasyonu yapılan farelerde tıpkı hepsidin geni çıkarılmış farelerde olduğu gibi hepsidin mRNA'sı dramatik olarak azalmakta ve ağır demir birikimi görülmektedir(111). Bu farelerde demir yüklenmesi ve İL-6 injeksiyonuna hepsidin cevabının yetersiz olduğu da gösterilmiştir.

Kemik morfogenetik proteinlerin hücrede etkisini gösterebilmesi için koreseptörlere gereksinimi vardır. İskelet kası, kalp kası ve karaciğerde sentezlenen homojüvelin (HJV:HFE2=hemokromatozis demir protein olarak da bilinir), BMP'nin demire özgül koreseptörüdür. BMP sinyalini arttırmaktadır(112). Serum demirinin düşük olduğu durumda membrana bağlı HJV transmembran proteazlar tarafından yıkılmakta, BMP sinyali iletilmemekte ve hepsidin sentezi azalmaktadır.

Plazma demir düzeylerinin ve dokulardaki demir depolarının artması ile hepatosit yüzeyinde bulunan Bone morfogenetik protein (BMP6) ekspresyonunu arttırmaktadır. BMP6 hepsidinin ana düzenleyicisidir ve in vivo ve in vitro olarak hepsidini arttırdığı gösterilmiştir. BMP6 HJV'ne bağlanır, BMP/SMAD (Kemik morfogenetik protein) yolu aktive olur ve

hepsidin ekspresyonunu arttırmaktadır(80). Artan hepsidin ince barsaktan demir emilimini azaltır, makrofajlar tarafından yaşlı eritrositlerden çıkarılan ve tekrar plazmaya verilen demirin makrofaj çıkışını ve plazmaya verilmesini ve hepatik depolardan mobilizasyonunu engellemektedir. Bu homeostatik denge plazma demirinin sabit bir aralıkta tutulmasını sağlarken, aşırı demir emilimini ve dokularda demir birikimini önlemektedir(113).

3.6.2 ANEMİ İLE HEPSİDİN SENTEZİNİN DÜZENLENMESİ:

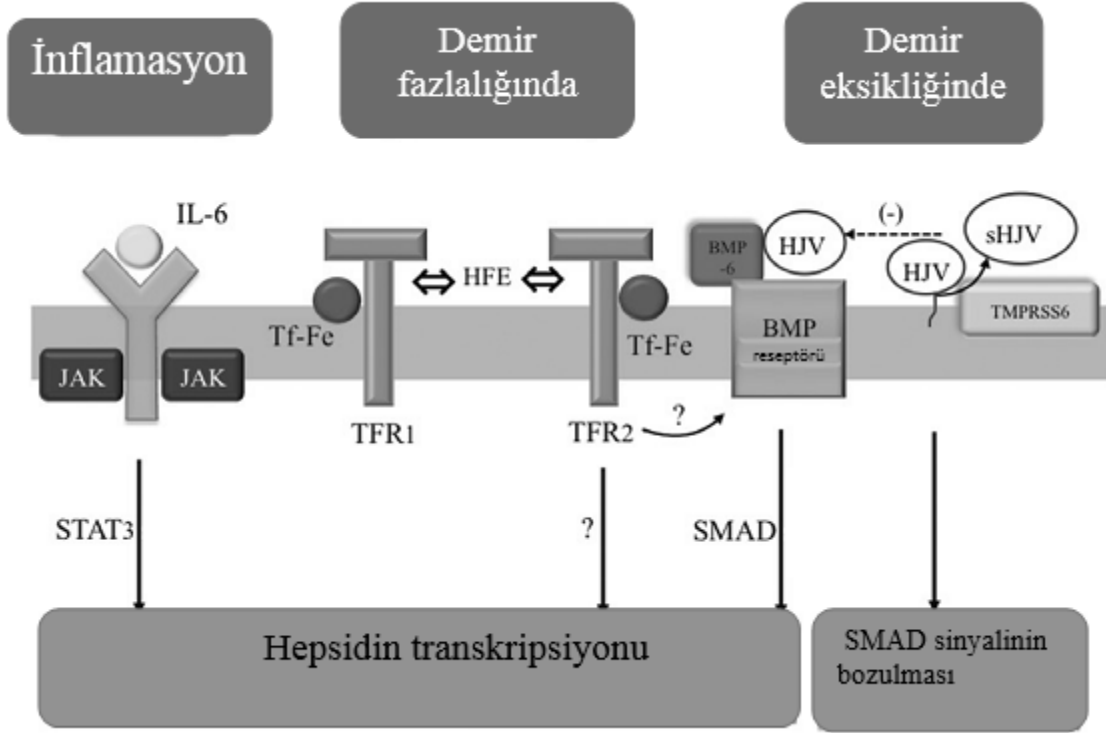
Kan kaybı, anemi ve hipoksi sonucunda eritropoetik aktivitenin artışı ile hepsidin sentezi azalmaktadır. Hepsidin, makrofajlardan demir salınımı üzerine olan inhibitör etkisini ortadan kaldırarak, daha fazla demirin eritropoez için kullanılmasını sağlamaktadır. Geçici olarak oluşan hipoferrinemi hepsidin sentezini baskılamaktadır. Çalışmalarda eritropoetik aktivitenin hepsidin sentezinin baskılanmasında en güçlü inhibitör etkiye sahip olduğu gösterilmiştir(43, 114). İnsanda tek doz EPO uygulanması sonucunda 24 saat içinde hepsidin sentezinin azaldığı görülmüştür(115).

Hereditör hemokromatosis veya talasemi durumlarında inefektif eritropoez sırasında eritroblastlardan growth differentiation factor 15 (GDF 15) ve twisted gastrulation I (TGSGI) adlı iki adet protein üretilmekte ve demir fazlalığı olmasına rağmen bu proteinlerin hepsidinin baskılanmasından sorumlu olduğu düşünülmektedir(116, 117).

3.6.3 HİPOKSİ İLE HEPSİDİN SENTEZİNİN DÜZENLENMESİ

Hipoksik atmosferde bekletilen hepatik hücrelerde hepsidin yapımının azaldığı görülmüştür Hipoksi hepsidin sentezini BMP/SMAD hücre içi sinyal yolunu inhibe eden hipoksi ile indüklenen faktör (HIF-1) sayesinde azaltmaktadır(43). Transkripsiyonel faktörlerden biri olan ‘Hypoksia-inducible factor’ (HIF), oksijenle düzenlenen genlerin üretiminde yer almaktadır. Peyssonau ve ark.(118) farelerde HIF üretimini 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(119). İn

in vitro olarak yapılan bir başka çalışmada ise hipoksik ortamda açığa çıkan reaktif oksijen türlerinin de hepsidin baskılanmasıyla ilişkili olduğu düşünülmüştür(119). Reaktif oksijen türlerinin bu etkisini C/EBP (CCAAT/güçlendirici bağlayıcı protein) ve STAT3 (sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü) transkripsiyon faktörlerinin hepsidin promotoruna bağlanmasını transkripsiyon faktörlerinin hepsidin promotoruna bağlanmasını düzenleyerek yaptığı tahmin edilmektedir(119) (Şekil-7)



Şekil 7: Hepatik hepsidin transkripsiyonunun sinyal yolları(120)

3.6.4 İNFLAMASYON İLE HEPSİDİN SENTEZİNİN DÜZENLENMESİ:

İnflamasyon sırasında aktive olan makrofajlardan çeşitli sitokinler salınmaktadır. Bunlardan bir tanesi de IL-6 'dır. Genetik olarak İL-6 eksikliği oluşturulmuş farelerde endotoksin verilmesi sonucunda hepsidin artışının ve akut hipoferremik cevabın olmadığı görülmüştür(105). IL6 hepsidinin geni olan HAMP transkripsiyonunu STAT3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3= Transkripsiyon sinyal iletisi aktivatörü-3) aktivasyonu ile yapmaktadır. STAT3, HAMP promotorundaki regülatuar elemente bağlanması ile hepsidin ekspresyonu indüklenmektedir. Yani enflamasyonda hepsidin artışı IL6/STAT yolu ile olmaktadır(121). 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. Gönüllü kişilerde yapılan bir çalışmada IL-6 enjeksiyonu sonrası saatler içinde idrar hepsidin seviyesinin yaklaşık >7 kat arttığı ve hipoferrinemi gözlenmiştir(105, 122).

Enflamasyon ister akut isterse kronik olsun hipoferrinemi ile sonuçlanır. Aslında bu olay vücudumuzun enfeksiyona karşı savunma mekanizmasıdır. Hepsidin makrofajlardan demir salınımını, barsaklardan demir emilimini engeller. Hepsidin demir metabolizmasına negatif etkisi ve hipoferrinemi oluşturması yanında in vitro olarak eritroid öncü hücrelerin proliferasyonlarını ve yaşam sürelerini de azalttığı, eritropoezi bozduğu da gösterilmiştir(106).

4.KRONİK BÖBREK HASTALIĞI VE HEPSİDİN:

Kronik böbrek hastalığında anemi tedavisinde Eritropoez stimüle edici ajanlar (ESAs) etkili bir tedavi yöntemidir. Ancak bazı hastalarda EPO direnci gözlenmektedir. EPO direnci ile demir homeostazisi arasındaki dengesizlikten ise hepsidin sorumlu tutulmaktadır. ESA yanıtını değerlendirmede veya ESA ile intravenöz demir tedavisini yönetmede hepsidin umut vadeden tanısal bir belirteç olarak görülmektedir(123, 124).

Yapılan çalışmalarda KBH ve SDBY olan hastalarda hepsidin düzeyinin sağlıklı kontrollere göre yüksek olduğu gösterilmiştir(91, 97-99, 125, 126). Bunun yanında GFH ile de ters ilişki gösterilmiştir(125, 127). Bu hastalarda serumda hepsidin artışından azalmış GFH'nin sorumlu olduğu bilinmektedir(128). Kronik böbrek hastalarında hepsidin ile ilgili yapılan bir çok çalışmada ferritin ile güçlü pozitif ilişki tespit edilmiştir. Demir ve transferrin saturasyonu ile arasında negatif korelasyon saptanmıştır(97, 125, 128, 129). Çoklu değişken analizlerde ferritinin serum hepsidin düzeyini belirleyen, en güçlü belirteç olduğu bildirilmiştir(98, 125, 127). Demir replasmanı ile hepsidin düzeylerinin KBH grubunda, kontrol grubuna göre arttığı gösterilmiştir(97, 127). Kronik böbrek hastalığı olan demir kısıtlı eritropoezi bulunan hastalarda hepsidin düzeyi ile düşük hemoglobin ve/veya retikülosit sayısı arasında korelasyon saptanmıştır(128). Yapılan çalışmalarda EPO sonrası hepsidin düzeyinde azalma olduğu rapor edilmiştir. Kronik böbrek hastalığı olan hastalarda hepsidin ile anemi arasında ilişki olduğu bilinmektedir. Hemodiyaliz hastaları arasında yapılan kesitsel çalışmalarda ve KBH ve Kronik Kalp yetmezliği olan hastalar arasında yapılan prospektif çalışmalar EPO'ya yanıtız hastaların düşük hepsidin düzeyine sahip olduğu gösterilmiştir(130). Bu nedenle hepsidin ESA tedavisine dirençten ziyade tedaviye yanıtın bir

belirteci olarak kabul edilebileceği belirtilmiştir. Bununla beraber ESA dozu ile hepsidin arasında ters ilişkinin olması hepsidinin ESA direncinde rol almadığını düşündürmektedir(127, 129). Çalışmalarda da ESA sonrası KBH'larda hepsidin ekspresyonunun azaldığı gösterilmiştir(128). ESA sonrası hepsidinin azalması uzun dönem ESA yanıtı için iyi bir göstergedir(131). Kronik böbrek hastalığı olan hastalarda demir metabolizmasının bir belirteci olmasının yanında böbrek hasarının da göstergesi olabileceği belirtilmektedir. Normal böbrek fonksiyonuna sahip koroner arter bypass operasyonu olan hastaların idrarında artan hepsidin düzeylerinin operasyon sonrası gelişen akut böbrek hasarının göstergesi olabileceğini düşündürmektedir(132). Lupus nefriti olan hastalarda idrardaki biyolojik belirteçler üzerinde yapılan bir araştırmada, muhtemelen interstisyel inflamatuvar hücreler tarafından salgılanan hepsidinin idrar konsantrasyonlarına bakıldığında renal lupus nefrit alevlenmesinin bir belirteci olduğu tespit edilmiştir.

Hepsidinin tedavide ve yanıt değerlendirilmesinde kullanılabileceği düşünülmektedir.

5.HEPSİDİNİN TEDAVİ AMAÇLI KULLANIMI

Hepsidinin tanısal amaçlı kullanımının yanısıra gelecekte demir metabolizması ile ilişkili çeşitli hastalıkların tedavisinde yer alacağı düşünülmektedir. Örneğin hepsidin agonistleri, Hereditör Hemokromatozis tedavisinde ve ayrıca talasemi hastalarında olduğu gibi hipoksik veya anemik bir uyarana ikincil olarak hepsidinin baskılandığı durumlarda demir yükünün azaltılmasında terapötik bir ajan olarak kullanılabileceği düşünülmektedir(133). Hepsidinin aşırı ekspresyonu ve retikuloendotelial sistem hücrelerinde hepsidin aracılı demir sekestrasyonu sonucu meydana gelen inflamasyon anemisinde, hepsidin antagonistlerinin kullanımı inflamasyon anemisinin geriye döndürülmesinde etkili olabileceği düşünülmektedir(134, 135). Eritropoetin (EPO) üretiminin bozulduğu ve özellikle rekombinan EPO'ya cevabı düşük olan kronik böbrek yetmezlikli anemik hastalarda, hepsidin antagonistleri EPO tedavisini desteklemek amacı ile kullanılabileceği düşünülmektedir(136).

Kronik hastalık anemisi olan fare modelinde hepsidine karşı oluşturulan antikorlar Epo ile kombine edilerek uygulanmıştır. Sonucunda retikülosit yanıtının arttığı gözlenmiş ve normal hemoglobin seviyeleri elde edilmiştir. Bu yanıt tek başına EPO veya EPO ile birlikte demir verildiğinde elde edilmemiştir.

Hepsidin ekspresyonunun düzenlenmesinde BMPs hedef olabileceği ve BMP sinyalini inhibe eden 'dorsomorphin' adlı ilacın hepsidin sistemi üzerinde etkisi olabileceği

düşünülmektedir. İnflamatuar anemisi olan hayvanlarla yapılan çalışmada BMPs antagonisti kullanılarak hemoglobin düzeylerinin arttığı saptanmıştır(137). Bunun yanında çözünebilir hemojuvelin BMP sinyal iletimini ve hepsidin ekspresyonunu engellemektedir. Farelerde çözünebilir hemojuvelinin hepsidin sentezini azalttığı karaciğerde demir konsantrasyonunu arttırdığı gösterilmiştir(138).

Heparinin hepsidin üzerinde inhibitör etkisi umut vadeci bir bilgi olarak kaydedilmiştir. Heparan sülfat proteoglikans (HSPGs) birçok hücre yüzeyinde ve ekstraselüler matrikste eksprese edilmekte ve BMP osteogenetik aktiviteyi düzenlemektedir. HSPGs'nin proteoglikan analogu olan heparin güçlü bir şekilde in vivo ve in vitro olarak hepsidin salınımını baskıladığı ve sonuçta serum demirinin arttığı, dalaktaki demir seviyesinin azaldığı görülmüştür(139). Anti IL-6 'nın kullanımı ile hepsidin sentezinin baskılandığı ve hastalarda anemiyi düzelttiği gösterilmiştir(140, 141). Hidroksiprolin inhibitörlerinin hepsidini inhibe edebileceği düşünülmektedir(142).

Sonuç olarak, hepsidinin keşfi normal demir metabolizmasının fizyolojisine ve demir metabolizma anormallikleri ile ilişkili hastalıkların patofizyolojisine yeni bir bakış açısı getirmiştir. Ancak hepsidin ile ilişkili yanıtlanması gereken birçok soru vardır. Bu konunun aydınlatılması, hepsidinin demirle ilişkili hastalıkların tanı ve tedavisindeki potansiyelinin değerlendirilmesine olanak sağlayacaktır.

6.GEREÇ VE YÖNTEM

Randomize, açık etiketli, iki kollu, paralel gruplardan oluşan hepsidin düzeyi değerlendirme amaçlı tez çalışması olarak planlandı. Tez protokolü Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Etik Kurulu tarafından 15 Mayıs 2012 tarihinde KKAEK 2012/29 nolu kararla onaylandı. Çalışmanın yöntemi, amacı, olası risklerini içeren bilgilendirme formu hazırlanılarak hasta onamları alındı. Hasta alım süreci ortalama 12 ay olarak gerçekleşti.

Gönüllülerin çalışmaya uygun olup olmadığını incelemek için bir tarama viziti yapıldı.

6.1. Çalışma Gruplarının Seçimi

Olgular Haziran 2012- Haziran 2013 tarihleri arasında Kocaeli Üniversitesi Tıp Fakültesi Nefroloji Polikliniğine başvuran veya Nefroloji servisinde yatmakta olan yaşları 18–80 arasında değişen kronik böbrek hastalığı olan 88 hasta ve son dönem böbrek yetmezliği tanısı olan 15 hasta toplam 103 hasta ve anemisi veya bilinen herhangi bir hastalığı olmayan 18-80 yaş arası 59 sağlıklı gönüllü alındı. Tüm hastalar ve kontrol grubu çalışma öncesi bilgilendirilerek yazılı onayları alındı.

Tüm hastaların yaş, cins, kilo, boy, vücut kitle indeksi (VKİ) gibi demografik özellikleri yanında böbrek hastalıkları, sigara kullanımı, diyabetes mellitus, hipertansiyon gibi eşlik eden hastalıkları, kullandıkları ilaçlar, hemodiyaliz veya periton diyalizi alma durumları ve diyaliz süreleri kaydedilmiştir.

Tüm gruplardaki olguların venöz kan örnekleri, en az 8 saat açlığı takiben ve diyaliz öncesi alındı. Rutin biyokimyasal belirteçleri alınan kandan merkez laboratuvarında tayin edilmiştir. Hepsidin analizleri için 3 cc kan ayrıldı. Ayrılan kan örnekleri 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra elde edilen serumlar -20° C'de saklandı.

Gönüllülerin araştırmaya dahil edilme kriterleri

- 18-80 yaş arası
- Kronik böbrek hastalığı veya Son Dönem Böbrek Hastalığı tanısı olan hastalar

Gönüllülerin araştırmaya dahil edilmeme kriterleri

- 18 yaş altı ve 80 yaş üstü hastalar
- Son 6 ay içinde parenteral demir tedavisi veya kan replasmanı alanlar
- Son 4 hafta içinde aktif kanama öyküsü olan
- Kanama bozukluğu olan
- Son 2 ay içinde EPO tedavisi alanlar
- Hematolojik ve diğer malignitesi olanlar
- Aktif enfeksiyonu, Hepatit B ve C'si olan ,akut veya kronik karaciğer hastalığı olan
- Steroid tedavisi alan
- Talasemi veya hemakromatozis gibi demir metabolizma hastalığı olan hastalar
- Akut enfeksiyon, inflamasyon
- Şiddetli hiperparatiroidizm tablosu olanlar çalışmaya alınmamıştır.

6.2 Laboratuvar Analizi:

Alınan kanlardan rutin biyokimya testleri, tam kan sayımı, CRP, yüksek duyarlılıklı CRP, parathormon (PTH), 25 OH D vitamini, serum demir düzeyi, total demir bağlama kapasitesi (TDBK), ferritin, Vitamin B12, folik asit, ürik asit, hepatit B yüzey antijeni (HbsAg), hepatit B'nin yüzey antikoru (Anti HBs), hepatit C antikoru (Anti HCV), tiroid hormonları, lipid profili, 24 saatlik idrarda kreatin klerensi, albümin ve protein atılım düzeyi, venöz kan gazı aynı gün Kocaeli üniversitesi Tıp fakültesi Merkez laboratuvarında çalışıldı.

Kontrol ve hasta gruplarında biyokimyasal parametreler Abbott (Architect: 2000SR , ABD) , tam kan sayımı ve sedimentasyon değerleri Abbott (Celt-dyn 3700, ABD) diyagnostik otoanalizör cihazı ile saptandı. Hormonal parametreler Beckman Coulter (Unicel™ DxI 800. Acces^R İmmunassay system, ABD) ve hepatit belirteçleri ise Abbott (Architect :2000 SR,ABD) marka otoanalizörü kullanılarak yapıldı.

25 OH D vitamini kemiluminesans yöntem ile çalışıldı. İmmunodiagnostic systems (IDS) ltd Tyne and Wear İngiltere.

Kan gazı ise Radiometer , Copenhagen ABL 700 series, ABD marka otoanalizörü kullanılarak yapıldı.

Hepsidin düzeyleri için ELİSA kit (Competition ELİSA; DRG İnternational inc, USA) kullanıldı. Sonuçlar ng/ml olarak belirlendi.

6.3. İSTATİSTİKSEL İŞLEMLER

Verilerin istatistiksel analizi SPSS for Windows 17,0 (Chicago, USA) programı kullanılarak yapıldı. Öncelikle bağımsız değişkenlerin normal dağılıma uyup uymadığına bakıldı. Sayısal göstergeler arasındaki ilişkilerin analizi için Spearman'ın ro (rho) korelasyon testi yapıldı. Kategorik ölçümlerde sayı ve yüzde olarak, sürekli değişkenlerde ise normal dağılımlı olanlar; ortalama değer \pm standart sapma ile, dağılımı normal olmayanlar ise ortanca değer (minimum-maksimum) olarak verildi. Verilerin değerlendirilmesinde tanımlayıcı istatistiksel metotların (ortalama, standart sapma) yanı sıra ikili grupların karşılaştırılmasında veriler nonparametrik ise Mann-Whitney U Testi, parametrik ise student T testi kullanıldı. Birden fazla grupta bağımsız değişkenleri karşılaştırırken non parametrik testlerden Crus Kalvalis testi kullanıldı. Bağımlı grupta 2 farklı değişkeni karşılaştırırken non-parametrik test olan Wilcoxon testi kullanıldı. $p < 0.05$ istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi

7. BULGULAR

Çalışmaya toplam 103 kronik böbrek hastası (ortalama yaşı 58.63±11.8) ve kontrol grubu olarak da 59 sağlıklı gönüllü (ortalama yaşı 49.0±10.5) alındı. Hastalar minimum 22, maximum 80 yaşında, kontrol grubunda ise minimum 31, maximum 68 yaşında idi. Hasta grubunun 46'sı (%44.7) kadın, 57'si (%55.3) erkek, kontrol grubunun ise 29'u (%49.2) kadın, 30'u (%50.8) erkek idi. Kronik böbrek hastaları ve kontrol grubunun demografik ve biyokimyasal özellikleri tablo-4'de sunulmuştur.

Tablo 4: Kronik böbrek hastaları ve kontrol grubunun demografik ve biyokimyasal özellikleri

	Hasta (n:103)	Kontrol (n=59)
Yaş	58.6±11.8	49.0±10.5
Erkek cinsiyet <i>n</i> (%)	57 (55.3)	30 (50.8)
Bayan cinsiyet <i>n</i> (%)	46 (44.7)	29 (49.2)
Boy (cm)	163.3±8.7	163.4±9.5
Kilo (kg)	77.3±13.5	72.9±12.1
VKİ (kg/m ²)	28.3±5.5	27.0±4.4
Glukoz (mg/dl)	131.7±65.8	88.5±13.3
Serum kreatinin (mg/dl)	2.1±2.1	0.7±0.1
MDRD (ml/dk/1.73m ²)	44.2±30.6	100.8±15.8
Serum BUN (mg/dl)	34.87±25.9	13.97±3.1
Serum Üre (mg/dl)	74.8±56.5	29.9±6.6
Hemoglobin (g/dL)	12.6±1.8	14.2±1.3
Hemotokrit (%)	38.3±5.6	43.2±3.7
MCV (fL)	90.3±5.4	91.4±4.6
Sedimentasyon (mm/h)	20.4±16.2	9.5±7.9
sCRP (mg/dl)	0.82±1.2	0.34±0.37
CRP (mg/dl)	0.78±1.2	0.51±1.15
Serum ferritin (ng/ml)	90.6±149.7	47.4±44.1
Serum demir (mcg/dl)	61.7± 25.7	82.5±30.8
Serum transferrin saturasyonu (%)	%21.7±%9.0	27.6±11.0

Tablo-4 (Devamı):Kronik böbrek hastaları ve kontrol grubunun demografik ve biyokimyasal özellikleri

	Hasta (n:103)	Kontrol (n=59)
Vitamin B12 (pg/ml)	328±252	234±134
Folik asit (ng/ml)	9.2±13.4	8±2.8
TSH (mIU/L)	1.9±2.9	2.3±4.5
HDL (mg/dl)	42.7±11.4	46.8±11.6
LDL (mg/dl)	118.1±35.1	127.9±32.4
24saatlik idrarda KK (ml/dk)	52.1±38.4	
24saatlik idrarda albümin (mg/gün)	900.6±1787.0	
24saatlik idrarda protein (mg/gün)	1454.1±2632.4	
Paratiroid hormon düzeyi (pmol/L)	101.0±114.7	47.5±17.7
25 Hidroksi D vitamini (ng/mL)	18.7±11.8	17.0±6.9
Serum albümin (g/dl)	4.0±0.4	4.4±0.2
Serum kalsiyum (mg/dL)	9.1±0.6	8.8±0.3
Serum fosfor (mg/dL)	3.7±1.2	3.1±0.5
Serum magnezyum (mg/dL)	2.2±0.2	2.3±0.3
Serum alkalen fosfataz (U/L)	86.3±28.9	84.2±28.9
Serum ürik asit (mg/dL)	6.3±1.9	4.6±1.1

Kısaltmalar: MDRD (Böbrek Hastalıklarında Diyet Modifikasyonu), BUN (Kan Üre Azotu), MCV (Ortalama Eritrosit Volümü), sCRP (Yüksek Duyarlıklı C-Reaktif Protein), CRP (C-Reaktif Protein), TSH (Tiroid Uyarıcı Hormon), HDL (Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein), LDL (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein), KK (Kreatin Klerensi)

103 hastanın 61'inde (%59.2) DM, 90'ında (%87.4) HT, 24'ünde (%23.3) KAH, 13'ünde (%12.6) KKY, 5'inde (%4.9) SVO hikayesi, 3'ünde (%2.9) PAH , 9'unda (%8.7) hipotiroidi, 4'ünde (%3.9) nefrolithiasis hikayesi bulunmaktaydı.

Hastaların 58 (%56.3)'inde diyabetik nefropati, 29 (%28.2)'inde hipertansif nefroskleroz, 3 (%2.9)'ünde polikistik böbrek hastalığı, 7 (%6.8)'sinde kronik glomerulonefrit, 1 (%1)'inde amiloidoz mevcuttu. 6 (%5.8) hastada kronik böbrek hastalığının diğer nedenleri mevcuttu.

Tablo 5: Hastaların Kronik Böbrek Hastalığı etyolojisine göre dağılımı

Kronik Böbrek Hastalığı etyoloji	Hasta (n=103) n (%)
Diyabetik nefropati	58 (56.3)
Hipertansif nefroskleroz	29 (28.2)
Polikistik böbrek hastalığı	3 (2.9)
Kronik glomerulonefrit	7 (6.8)
Amiloidoz	1 (1)
Diğer	6 (5.8)

Kronik böbrek hastalığı olan hastalarda hemoglobin, hematokrit, demir ve transferrin saturasyonu kontrol grubuna göre anlamlı olarak düşük bulunurken, hepsidin, ferritin ise anlamlı yüksek bulundu. Sonuç olarak hasta ile kontrol grubu karşılaştırıldığında hepsidin, MDRD, Hemoglobin, Hemotokrit, ferritin ,transferrin saturasyonu ve demir düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunurken (**Mann-Whitney U testi, p<0.05**) , MCV, MPV parametreleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı (**Mann-Whitney U testi, p>0.05**)

Tablo 6: Hasta ve kontrol grubunun hepsidin ve demir parametrelerinin karşılaştırılması

	Hasta (n=103)	Kontrol(n=59)	Pdeğeri
Hepsidin(ng/ml)	30.3±24.7	17.8±8.4	0.016
MDRD (ml/dk/1.73m ²)	44.2±30.6	100.8±15.8	0.0001
Hemoglobin (g/dL)	12.6±1.8	14.2±1.3	0.01
Hemotokrit (%)	38.3±5.6	43.2±3.7	0.002
MCV (fL)	90.3±5.4	91.4±4.6	0.368
MPV (fL)	7.9±1	7.7±1.1	0.545
Serum Ferritin (ng/ml)	90.6±149.7	47.4±44.1	0.041
Serum Demir (mcg/dl)	61.7± 25.7	82.5±30.8	0.0001
Serum Transferrin Saturasyonu (%)	%21.7±%9.0	27.6±11.0	0.001

Kısaltmalar: MDRD (Böbrek Hastalıklarında Diyet Modifikasyonu), MCV (Ortalama Eritrosit Volümü), MPV (Ortalama Trombosit Volümü)

Hasta grubunda inflamatuvar belirteçlerden CRP, sCRP, sedimentasyon düzeylerinde kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı (**Mann-Whitney U testi, p<0.05**). Hasta grubunda sedimentasyon (min:2, max:95), sCRP(min:0.03, max:7.12), CRP (min:0.03, max:9.72) idi. Kontrol grubunda ise sedimentasyon (min:0.1, max:39), sCRP (min:0.01, max:1.6), CRP (min:0.02, max:8.73) bulundu. Sonuç olarak hasta grubunun CRP, s CRP ve sedimentasyon değerleri anlamlı olarak kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu.

Tablo 7: Hasta ve kontrol grubunda CRP, sCRP, Sedimentasyon düzeylerinin karşılaştırılması

	Hasta(n=103)	Kontrol(n:59)	P değeri
Serum CRP (mg/dL)	0.7±1.2	0.51±1.1	0.003
Serum yüksek duyarlıklı CRP (mg/dl)	0.8±1.2	0.34±0.37	0.0001
Sedimentasyon (mm/h)	20.4±16.2	9.5±7.9	0.0001

Kısaltmalar: CRP (C-Reaktif Protein)

Hasta grubunda venöz kan gazı parametrelerinden Ph, laktat, PO2 ve PCO2 düzeyleriyle hepsidin arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanırken, bikarbonat ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır (**Wilcoxon test p>0.05**). Hastaların hiçbirinde metabolik asidoz tablosu bulunmamaktaydı.

Tablo 8: Hasta grubunda hepsidin düzeyi ile venöz kan gazı parametreleri arasındaki ilişki

HEPSİDİN düzeyi ile	Hasta (n=103)	P değeri
Venöz kan gazında Ph	7.33±0.05	0.0001
Venözkan gazında bikarbonat (mmol/L)	23±3.5	0.659
Venözkan gazında laktat (mg/dl)	14.1±7.7	0.0001
Venözkan gazında PO2	35.9±18	0.005
Venözkan gazında PCO2	44.7±7	0.0001

Kısaltmalar:Ph (Potansiyel Hidrojen)

Hastaların ortalama MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) değerleri 44.2 ±30.6 bulundu. 103 hastanın 16'sı (%15.5) Evre I, 26 (%25.2) Evre II, 27 (%26.2) Evre III, 19 (%18.4) Evre IV, 15 (%14.6) Evre V idi. Evre V'deki hastaların 9'u hemodiyaliz tedavisi, 2'si periton diyalizi tedavisi almaktaydı.

Tablo 9: Hasta sayılarının kronik böbrek hastalığı evrelerine göre dağılımı

	Hasta n:103
Evre I	16 (%15.5)
Evre II	26 (%25.2)
Evre III	27 (%26.2)
Evre IV	19 (%18.4)
Evre V	15 (%14.6)

Kronik böbrek hastalığı evrelerine göre hepsidin düzeyi Tablo 10 'da verilmiştir. Evreye göre ortalama Hepsidin düzeyleri Evre I'de 26.9 ± 23.6 , Evre II'de 12.1 ± 8.1 , Evre III'de 21.1 ± 17.3 , Evre IV 'de 40.4 ± 27.0 , Evre V'de 52.8 ± 23.9 bulundu.

Hasta grubunda Hepsidin düzeyleri ile MDRD evreleri (Evre I-II-III-IV-V) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu. ($p=0.0001$) (**Kruskal-Wallis testi**). Kronik böbrek hastalığı evresi arttıkça hepsidin düzeyinin anlamlı olarak yükseldiği görüldü.

Tablo 10: Hastaların MDRD evresine göre hepsidin değerleri

	Hepsidin değerleri (ng/ml)
Evre I	26.9 ± 23.6
Evre II	12.1 ± 8.1
Evre III	21.1 ± 17.3
Evre IV	40.4 ± 27.0
Evre V	52.8 ± 23.9

Hasta grubunda MDRD evresine göre Hg ($p=0.0001$), ferritin ($p=0.01$) düzeyleri ile anlamlı fark saptanırken, demir ($p=0.599$), transferrin saturasyonu ($p=0.264$) ile anlamlı fark saptanmadı. (**Kruskal-Wallis testi**)

Hastalarda hepsidin düzeyi ile ferritin, serum folik asit, serum Vitamin B12, serum demir, serum transferrin saturasyonu, TDBK, serum ürik asit, MPV, magnezyum, serum fosfor, kalsiyum düzeyleri ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. (**Wilcoxon testi, $p<0.05$**)

Tablo 11: Hastalarda hepsidin düzeyi ile diğer bağımsız değişkenlerin karşılaştırılması

HASTALARDA HEPİİİN DÜZEYİ İLE;	P değeri
Cinsiyet	0.913
Yaş	0.0001
VKİ (kg/m^2)	0.635
Ferritin (ng/ml)	0.0001
Serum Folik asit düzeyi (ng/ml)	0.0001
Serum Vitamin B12 düzeyi (pg/ml)	0.0001
TDBK (mcg/dl)	0.001
Serum Demir (mcg/dl)	0.0001
Transferrin Saturasyonu (%)	0.032
Serum Ürik asit (mg/dL)	0.0001
MPV (fL)	0.0001
Magnezyum (mg/dl)	0.0001
Serum fosfor (mg/dL)	0.0001
Serum Kalsiyum (mg/dL)	0.0001

Kısaltmalar: VKİ (Vücut Kitle İndeksi), MPV (Ortalama Trombosit Hacmi)

Diyalize tedavisi almayan 92 hastada ($p=0.0001$, Wilcoxon) ve diyaliz tedavisi alan 11 hastada ($p=0.003$, Wilcoxon) hepsidin ile hemoglobin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı.

Hasta grubunda hepsidin düzeyi ile hipertansiyon hastalığı ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptanırken (**Mann Whitney U**, $p=0.004$), DM, KAH, KKY, SVO, PAH, Hipotiroidi, KOAH, nefrolithiasis ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ((**Mann Whitney U**, $p>0.05$))

Tablo 12: Hastalarda kronik hastalık tanısı ile hepsidin düzeyinin karşılaştırılması

HASTALARDA HEPSİDİN DÜZEYİ İLE;	P değeri
Diabetes Mellitus	0.891
Hipertansiyon	0.004
Koroner Arter Hastalığı	0.077
Konjestif Kalp Yetmezliği	0.124
Serebrovasküler Olay	0.299
Periferik Arter Hastalığı	0.524
Hipotiroidi	0.316
KOAH	0.873
Nefrolitiasis	0.222

Kısaltmalar: KOAH (Kronik Obstruktif Akciğer Hastalığı)

103 hastanın 63'ü (%61.2) anjiotensin reseptör blokeri (ARB), 25'i (%24.3) anjiotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörü, 26'sı (%25.2) kalsiyum kanal blokeri, 7'si (%6.8) aminoasit preparatları, 14'ü (%13.6) alfa bloker, 29'u (%28.2) diüretik, 42'si (%40.8) beta bloker, 34'ü (%33) statin, 11'i (%10.7) fosfor bağlayıcı ajan, 8'i (%7.8) aktif D vitamini, 30'u (%29.1) insülin, 21'i (%20.4) oral antidiyabetik ajan, 31'i (%30.1) asetilsalisilik asit, 25'i (%24.3) proton pompa inhibitörü kullanmaktaydı.

Hastalarda hepsidin düzeyi ile bikarbonat replasmanı alımı (p:0.001), esansiyel aminoasit (p:0.016), fosfor bağlayıcı (p:0.002) ,ürrikoliz (p:0.001), aktif D vitamini (p:0.002), oral antidiyabetik kullanımı (p:0.013) ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptanırken, statin (p:0.398), ACE inhibitörü (p:0.193) , ARB(p:0.242) , KKB(p:0.356), alfa bloker (p:0.223), diüretik (p:0.540), beta-bloker (p:0.555), vitamin D replasmanı (p:0.330), kalsiyum replasmanı (p:0.210), PPI kullanımı (p:0.484), vitamin B12 kullanımı (p:0.177), asetilsalisilik asit kullanımı (0.192) kullanımı, insülin kullanımı (p:0.769) ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. (**Mann Whitney U testi**)

Tablo 13: Hastalarda hepsidin düzeyi ile medikal ilaçlar arasındaki ilişkinin karşılaştırılması

HASTALARDA HEPSİDİN DÜZEYİ İLE;	P değeri
Bikarbonat replasman alımı	0.001
Esansiyel aminoasit kullanımı	0.016
Fosfor bağlayıcı kullanımı	0.002
Ürikoliz kullanımı	0.001
Aktif D Vitamini	0.002
Oral Antidiyabetik kullanımı	0.013
Statin	0.398
ACE inhibitörü kullanımı	0.193
ARB kullanımı	0.242
KKB kullanımı	0.356
Alfa bloker kullanımı	0.223
Diüretik kullanımı	0.540
Beta bloker kullanımı	0.555
Vitamin D kullanımı	0.330
Kalsiyum replasmanı	0.210
PPI kullanımı	0.484
Vitamin B12 kullanımı	0.177
Asetilsalisilik asit kullanımı	0.192
İnsülin kullanımı	0.769

Kısaltmalar: ACE (Anjiotensin dönüştürücü enzim), ARB(Anjiotensin reseptör blokleri), KKB (Kalsiyum kanal blokleri), PPI(Proton pompa inhibitörü)

Hasta grubunda hepsidin ile kreatin, BUN, üre, sedimentasyon, sCRP, CRP, ferritin, PTH, 24 saatlik idrarda albümin, 24 satlik idrarda protein, ALP, fosfor düzeyleri ile pozitif korelasyon , MDRD, Hg, Hct, 24 saatlik idrarda kreatinin klirensi, venöz kan gazında Ph, venöz kan gazında bikarbonat, 25 OH D vitamini, albümin , kalsiyum düzeyleri ile negatif korelasyon saptandı. Hepsidin ile glukoz, MCV, MPV, demir, transferrin saturasyonu, folik asit, vitamin B12, LDL, ürik asit, TSH, venöz kan gazında laktat, TSH, magnezyum arasında korelasyon saptanmadı.

Tablo 14: Hasta grubunda Hepsidin ile pozitif korelasyon gösteren belirteçler

Hepsidin ile korelasyon	R	P değeri
Kreatinin (<i>mg/dl</i>)	0.529	0.0001
BUN (<i>mg/dl</i>)	0.615	0.0001
Üre (<i>mg/dl</i>)	0.617	0.0001
MCV(Ortalama Eritrosit Hacmi) (<i>fL</i>)	0.120	0.229
Sedimentasyon (<i>mm/h</i>)	0.374	0.0001
SCRp (<i>mg/dL</i>)	0.397	0.0001
CRP (<i>mg/dL</i>)	0.343	0.0001
Ferritin (<i>ng/ml</i>)	0.737	0.0001
Transferrin Saturasyonu (%)	0.155	0.119
Vitamin B12 (<i>pg/ml</i>)	0.129	0.195
LDL (<i>mg/dl</i>)	0.071	0.477
Ürik asit (<i>mg/dL</i>)	0.152	0.125
24saatlik idrarda albümin (<i>mg/gün</i>)	0.305	0.002
24saatlik idrarda protein (<i>mg/gün</i>)	0.300	0.002
TSH (<i>mIU/L</i>)	0.009	0.930
PTH (<i>pmol/L</i>)	0.436	0.0001
Alkalen Fosfataz (<i>U/L</i>)	0.320	0.001
Fosfor (<i>mg/dL</i>)	0.454	0.0001
Magnezyum (<i>mg/dl</i>)	0.028	0.782

Kısaltmalar: BUN (Kan Üre Azotu), MCV (Ortalama Eritrosit Volümü), sCRP (yüksek duyarlıklı C-Reaktif Protein), CRP (C-Reaktif Protein), TSH (Tiroid Uyarıcı Hormon), LDL (Düşük Yoğunluklu Lipoprotein), Ph (Potansiyel Hidrojen), TSH (Tiroid Uyarıcı Hormon), PTH (Paratiroid Hormon)

Tablo 15: Hasta grubunda Hepsidin ile negatif korelasyon gösteren belirteçler

Hepsidin ile korelasyon	R	P değeri
Glukoz (<i>mg/dl</i>)	-0.051	0.611
MDRD (<i>ml/dk/1.73m²</i>)	-0.522	0.0001
Hemoglobin (<i>g/dL</i>)	-0.431	0.0001
Hemotokrit (%)	-0.454	0.0001
MPV (Ortalama Trombosit Hacmi) (<i>fL</i>)	-0.041	0.678
Demir (<i>mcg/dl</i>)	-0.177	0.074
Folik asit (<i>ng/ml</i>)	-0.146	0.140
24 saat idrarda kreatin klerensi (<i>ml/dk</i>)	-0.549	0.0001
Venöz Kan Gazında Ph	-0.241	0.014
Venöz Kan Gazında Bikarbonat (<i>mmol/L</i>)	-0.437	0.0001
Venöz Kan Gazında Laktat (<i>mgdl</i>)	-0.167	0.094
25 Hidroksi D vitamin (<i>ng/mL</i>)	-0.374	0.0001
Serum albümin (<i>g/dl</i>)	-0.396	0.0001
Kalsiyum (<i>mg/dL</i>)	-0.428	0.0001

Kısaltmalar: MDRD (Böbrek Hastalıklarında Diyet Modifikasyonu), MPV (Ortalama Trombosit Hacmi)

8.TARTIŞMA

Hepsidin, çoğunlukla hepatositler tarafından üretilen antimikrobial etkiye sahip bir peptittir. Demir metabolizmasının temel düzenleyicisi kabul edilen hepsidin, intestinal demir emilimini ve retiküloendotelyal sistemden demir salınımını negatif yönde düzenlemektedir. Hepsidin üretimini bir çok faktör etkilemektedir. İnflamasyon, demir fazlalığı durumunda hepsidin düzeyi artmakta; anemi, hipoksi ve demir eksikliğinde ise azalmaktadır. Kronik böbrek hastalarında mutlak, fonksiyonel veya inflamasyona bağlı anemi görülmektedir. Bu hasta grubunda genellikle hepsidin düzeyleri daha yüksek bulunmaktadır(120).

Çalışma verilerini incelediğimizde hasta grubunda hepsidin düzeylerinin (30.3 ± 24.7 ng/ml), kontrol grubuna (17.8 ± 8.4 ng/ml) kıyasla istatistiksel olarak anlamlı derecede ($p=0.016$) yüksek olduğu tespit edilmiştir. Bu bilgi literatür verileri ile uyumludur. Tomosugi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada hepsidin düzeyinin hasta grubunda kontrol grubuna göre 2-3 kat daha yüksek olduğu saptanmıştır (91, 97, 127, 128, 143). Bu hastalarda serumda hepsidin artışında renal fonksiyon kaybı sorumlu bulunmuştur(128). Bunun yanında hepsidin, akut faz proteini olarak kabul edilmektedir(144). Kronik inflamasyonda veya infeksiyonda hepsidin düzeyi artmaktadır(145, 146). Kronik böbrek hastalığının inflamatuvar bir durum olması ve hepsidin renal klirensinin azalması nedeni ile hepsidin düzeyleri yüksek bulunmaktadır.

Kronik böbrek hastalarında hepsidin ile ilgili yapılan bir çok çalışmada ferritin ile güçlü pozitif korelasyon saptanmıştır. Demir ve transferrin saturasyonu ile hepsidin arasında ise negatif korelasyon saptanmıştır(97, 125, 128, 129). Çoklu değişken analizlerde ferritin serum hepsidin düzeyini belirleyen en güçlü belirteç olduğu bildirilmiştir (98, 125, 127). Literatürdeki çalışmalara bakıldığında kronik böbrek hastalarında ferritin ve hepsidin düzeyi arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (31, 143). Bizim çalışmamızda ise hepsidin ile ferritin arasında pozitif korelasyon saptanırken, demir ve transferrin saturasyonu ile hepsidin arasında herhangi bir korelasyon saptanmamıştır. Ancak hepsidin ile TDBK arasında negatif korelasyon saptanmıştır.

Literatür verilerine benzer şekilde çalışmamızda hepsidin ile kreatin arasında pozitif ($r=0.529$, $p=0.0001$), MDRD ile negatif ($r=-0.522$, $p=0.0001$) korelasyon bulunmuştur(143). Bu sonuçlar kronik böbrek hastalığında hepsidin klirensinin vücutta böbrekler yoluyla olması ve azalan GFH ile klirensin azalmasını desteklemektedir.

Hepsidin ESA 'lara yanıt değerlendirilmesinde önemli bir belirteç olduğu düşünölmektedir. Van Der Putten ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada eritropoetin tedavisi ile retikölosit sayısı, transferrin saturasyonu düzeyinin arttığı, hepsidin düzeyinin azaldığı bulunmuştur(147). Birçok randomize-kontrollö alışma, KBH'da hepsidin, demir durumunu tayin etmede, anemi tedavisini yönetmede ferritine üstün olduğunu göstermektedir. Hepsidin direkt olarak demir depo fazlalığını ve eritropoez ihtiyacının arttığını yansıtmaktadır(85, 87).

Ashby ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada kronik böbrek hastalarında hepsidin düzeyi ile GFR arasında negatif korelasyon saptanmıştır. Bu sonuç bizim çalışmamızdaki veriler ile ($r=-0.522$, $p=0.0001$) uyumlu bulunmuştur(127). Glomerular filtrasyon hızı azaldıkça hepsidin klirensi azalmaktadır.

Çalışmamızda diyaliz tedavisi almayan 92 hastada ($p=0.0001$, Wilcoxon) ve diyaliz tedavisi alan 11 hastada ($p=0.003$, Wilcoxon) hepsidin ile hemoglobin düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Diyaliz tedavisi almayan hastalarda hepsidin ile hemoglobin arasında negatif korelasyon ($r=-0.165$, $p=0.04$) bulunmuştur. Ancak diyaliz tedavisi alan hastalarda hepsidin ile hemoglobin arasında korelasyon saptanmamıştır ($r=-0.146$, $p>0.05$). Valenti ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 65 hemodiyaliz hastasının serum hepsidin düzeyleri kontrol grubu ile kıyaslandıkında anlamlı yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada hemodiyaliz tedavisi alan ve hemoglobin seviyeleri hedefte, CRP düzeyleri normal olan, 1 yıldır komplikasyonu olmayan hastalarda ise hepsidin ile hemoglobin seviyesi arasında negatif korelasyon saptanmıştır. Sonuç olarak hemodiyaliz tedavisi alan hastalarda hepsidin düzeyi yüksek, hemoglobin seviyesi düşük olmaktadır. Bizim alışmamızda hemodiyaliz hastalarında hemoglobin ile hepsidin arasında korelasyon saptanmamasının nedeni hasta sayısının az olmasından kaynaklandıkı düşünölmektedir(148). Amerika'da yapılan bir çalışmada ise hemodiyaliz tedavisi almayan 32 erişkin ve 48 ocuk KBH hasta ile yapılan çalışmada hemoglobin ile hepsidin arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır(98, 125). Hepsidin ile anemi arasındaki ilişki, demir eksikliği veya demir yeterliliği durumunda farklılık göstermektedir. Sonuçlardaki bu çelişkinin nedeni inflamasyon durumu, örnekleme sayısı ve çalışmadaki hastaların demir durumunun farklılığından kaynaklanıyor olabileceği düşünölmektedir.

Hamada ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada ne kronik böbrek hastalarında ne de hemodiyaliz hastalarında hepsidin ile CRP arasında korelasyon saptanmamıştır(149). Bu çalışmada inflamatuvar belirteç düzeyleri düşük düzeyde olduğu belirtilmiştir. Bizim

çalışmamızda ise hepsidin ile CRP ($r=0.343$, $p=0.0001$), sCRP ($r=0.397$, $p=0.0001$) ve sedimentasyon ($r=0.374$, $p=0.0001$) arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Hasta ile kontrol grubu arasında inflamatuvar belirteçlerden CRP ($p=0.003$), sCRP ($p=0.0001$), sedimentasyon ($p=0.0001$) düzeyleri ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Sonuç olarak hasta grubunun CRP, sCRP ve sedimentasyon değerleri anlamlı olarak kontrol grubuna göre daha yüksek bulundu. Maruyama ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da hepsidin ile sCRP arasında pozitif korelasyon elde edilmiştir(150). Sonuç olarak inflamasyon sonucunda hepsidin düzeyi artmaktadır.

Demir metabolizmasının ana düzenleyicisi olarak bilinen hepsidin, pankreas beta hücrelerinden de üretilmektedir. Aigner ve arkadaşlarının(151) yaptığı çalışmada 75 gr glukoz sonrası serum demir konsantrasyonlarının 180 dk içinde 109.8 ± 45.4 mg/L'dan 94.4 ± 40.4 mg/L'ye azaldığı görülmüştür ($P<0.001$). Hepsidin konsantrasyonlarının ise glukoz sonrası 120 dk içinde (19.7 ± 9.9 nmol/L'den 31.4 ± 21.0 nmol/L) arttığı tespit edilmiştir ($P<0.001$). Bu sonuçlar glukozun demir metabolizmasını negatif yönde düzenlediğini ve pankreas beta hücrelerinden hepsidin salınımını pozitif yönde uyardığını göstermektedir. Bizim çalışmamızda ise hepsidin ile glukoz seviyesi arasında korelasyon saptanmamıştır. Ancak glukoz ile demir arasında negatif korelasyon saptanmıştır($p=0.004$, $r=-0.227$). Hasta grubunda DM tanısı olan ve olmayanlar hepsidin düzeyi açısından karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark ve korelasyon saptanmamıştır (Mann-Whitney U, $p=0.072$, $r=-0.178$, $p=0.072$). Bununla birlikte diyabet olmayan hastaların ortalama hepsidin düzeyi (22.8 ± 26.4 ng/ml), DM olan hastalara göre (19.2 ± 23 ng/ml) daha yüksek bulunmuştur.

Artmış demir depoları metabolik hastalıklar için (hipertansiyon, metabolik sendrom, kardiovasküler hastalıklar) risk oluşturmaktadır(152-154). Aynı zamanda demir depolarının fazlalığı pankreas beta hücrelerini hasara uğratmakta ve insülin direncine yol açmakta ve tip II DM gelişmesine neden olmaktadır(155). Wang ve arkadaşlarının (156) yaptığı çalışmada streptozosin ile diyabet oluşturulan ratlarda karaciğer hepsidin düzeyinin belirgin azaldığı buna bağlı olarak intestinal demir emiliminin, serum demirinin ve hepatik demirin arttığı saptanmıştır. Tip II DM'de çoğunlukla demir birikimi gözlenmektedir. Sonuç olarak görülmüştür ki diyabet hastalarında pankreas beta hücre hasarı sonucunda hepsidin üretimi de azalmaktadır.

Hepsidin düzeyinin idiopatik pulmoner arteriyel hipertansiyon bulunan hastalarda arttığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir(157). Demir eksikliği bu hastalarda sık görülmekte ve hastalığın şiddeti ve kötü prognozla ilişkili bulunmaktadır. Primer hipertansiyonla hepsidin

düzeyi arasındaki ilişki ile ilgili yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Bizim çalışmamızda ise hepsidin ile hipertansiyon hastalığı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p=0.004$) ve pozitif korelasyon ($p=0.003$, $r=0,229$) saptanmıştır. Endotel disfonksiyonu nedeni ile oluşan kronik inflamasyon nedeni ile hipertansiyonda hepsidin düzeyinin arttığı düşünülmüştür. Ancak antihipertansif ilaç kullanımı ile hepsidin arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Literatürde hepsidin ile KOAH arasındaki ilişki Duru ve arkadaşları(158) yaptığı bir çalışmada gösterilmiştir. Bu çalışmada semptomu olan KOAH'lı hasta grubunda kontrol grubuna göre hepsidin düzeyinin daha düşük olduğu bulunmuştur. Serum hepsidin düzeyinin düşük olması hipoksemiye önleme mekanizması olduğu düşünülmektedir. KOAH'lı hastalarda hepsidin bir belirteç olarak kullanılabilceği belirtilmiş ancak daha çok çalışmaya ihtiyaç olduğu vurgulanmıştır. Bizim çalışmamızda ise hepsidin ile KOAH arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmamıştır($p>0.05$) ve bu sonuç KOAH'lı hasta sayısının az olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir.

Hepsidin hücre içi demiri arttırmaktadır. Bunun yanında hücre içi kalsiyum üzerine etkisi ile ilgili çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Li ve arkadaşlarının(159) insan osteoblastlarında hücre içi kalsiyuma hepsidin etkisini araştırmıştır. Sonuç olarak hepsidin <100 nmol/L düzeyinde ve yüksek demir konsantrasyonlarında hücre içi kalsiyumun arttığı saptanmıştır. Hepsidin voltaj bağımlı L tipi kalsiyum kanalları aracılığı ile hücre içi kalsiyumu arttırmaktadır. Bu hepsidin antiosteoporotik etkisini göstermektedir. Ancak klinik ve gözlemsel çalışmalarla kanıtlanması gerekmektedir. Sonuç olarak hepsidin hücre içi kalsiyumu arttırdığı saptanmıştır. Bizim çalışmamızda da hastalarda hepsidin ile kalsiyum düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır ($p=0.0001$) ve hepsidin ile kalsiyum ($r=-0.428$, $p=0.0001$) arasında negatif korelasyon, hepsidin ile ALP ($r=0.320$, $p=0.001$) arasında pozitif korelasyon bulunmuştur. Sonuç olarak hepsidin düzeyi arttığında hücre içi kalsiyum artmakta, hücre dışı kalsiyum azalmakta, kalsiyum duyarlı reseptörler tarafından PTH düzeyi artmakta ve PTH böbrekten kalsiyum emilimini ve kemikten kalsiyum salınımını arttırmakta ve kemikten kalsiyum salınımına bağlı ALP düzeylerinin arttığı düşünülmektedir.

Hepsidin ile fosfor ve hepsidin ile PTH arasındaki pozitif korelasyon ve hepsidin ile 25 Hidroksi D vitamini arasındaki negatif korelasyon literatür verileri ile benzer bulunmuştur(160). Kronik böbrek hastalarında artmış hepsidin düzeyi ve vitamin D eksikliği ile ilişkili bulunmuştur. Hepatosit ve monosit hücre kültürlerine 25 Hidroksi D vitamini veya 1.25 dihidroksivitamin D verildiğinde hepsidin ekspresyonunun 0.5 kat azaldığı gösterilmiştir.

Vitamin D'nin demir metabolizmasındaki olası rolünü araştıran Bacchetta ve arkadaşlarının(161) yaptığı bir çalışmada sağlıklı gönüllülere tek doz 100.000 IU vitamin D2 oral olarak verilmiş ve serum 25 Hidroksi vitamin D düzeyleri llmştir. Replasman sonrası 25OH D vitamin düzeyinin ($27\pm 2\text{ng/ml}$ 'den $44\pm 3\text{ng/ml}$) yükseldiği grlmştir($p=0.001$). Vitamin D replasmanı sonrası bir gün içinde hepsidin düzeyinin de %34 azaldığı saptanmıştır($p<0.05$). Bu sonuç insanlarda D vitamininin hepsidin düzeyi üzerinde negatif yönde düzenleyici olduğunu göstermektedir. Bunun yanında kronik böbrek hastalığı olsun veya olmasın D vitamini düşük, anemisi olan hastalarda anemi yönetiminde yeni bir tedavi stratejisi olabileceği dşnlmektedir. Bu konuda daha çok çalışmalara ihtiyaç vardır. Bizim alışmamızda hasta grubunda hepsidin düzeyi ile aktif d vitamini ($p:0.002$) kullanımı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ve pozitif korelasyon ($p=0.001$, $r=0.311$) saptanmıştır. Aktif D vitamini böbrekten kalsiyum ve fosfor emilimini arttırmakta hücre dışı kalsiyum artışı nedeni ile hepsidin düzeyi artıyor olabilir. Vitamin D replasmanı kullanımı ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır ($p:0.330$). Hastalardan yalnız 5 tanesi vit D replasmanı almakta idi. Hasta sayısının yetersiz olması nedeni ile anlamlı fark saptanmadığı dşnlmektedir. Ancak hasta grubunda 25OH vit D düzeyi ile negatif korelasyon saptanmıştır($p=0.0001$, $r=-0.374$). Sonuç olarak 25 OH D vitamini düzeyi arttıka hepsidin düzeyi azalmaktadır. Bu da son zamanlarda çalışmalarla gösterilmiş D vitamininin anti enflamatuar etkisine bağlı olabileceği dşnlmektedir(162).

Çalışmamızda hasta grubunda hepsidin düzeyi ile serum folik asit ($p=0.0001$) ve serum Vitamin B12 düzeyleri ($p=0.0001$) arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Ancak herhangi bir korelasyon saptanmamıştır. Literatüre bakıldığında bu konuda yapılan bir çalışma tespit bulunmamaktadır. Hastalarda Vit B12 kullananlarda hepsidin düzeyi daha düşük bulunmuştur. Yapılan bir çalışmada Vitamin B6 replasmanı sonucunda inflamatuvar belirteçlerin azaldığı bulunmuştur(163). Bizim çalışmada ise vit B12 kullananlarda hepsidin düzeyinin düşük olması anti enflamatuar etkisi ile açıklanabilir. Folik asidin etkisi de aynı mekanizma ile açıklanabilir.

Dört hafta boyunca magnezyumdan fakir diyetle beslenen ratlarla yapılan bir çalışmada kontrol grubuna göre karaciğerde daha yüksek demir birikimi saptanmıştır. Yapılan çalışmalarda demir birikiminin BMP6 aracılığı ile hepsidin ekspresyonunu arttırdığı bilinmektedir. Ancak magnezyum eksikliğinde BMP receptör ekspresyonu kontrol grubundaki ratlara göre daha yüksek bulunmuştur. Bunun sonucunda hepsidin ekspresyonu artmaktadır. Bunun yanında magnezyum eksikliğinin oksidatif strese neden olması da hepsidin artışına neden olmaktadır. Sonuç olarak magnezyum eksikliğinde karaciğerde demir miktarı arttığı

tespit edilmiştir(164). Literatürdeki magnezyum ile hepsidin ilişkisini gösteren tek çalışmadır. Bizim çalışmamızda da hastalarda hepsidin düzeyi ile magnezyum düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır (p=0.0001). Sonuç olarak magnezyum düzeyi azaldıkça hepsidin düzeyi artmaktadır.

Çalışma verilerini incelediğimizde hasta grubunda MDRD evresine göre hepsidin düzeylerinin literatür verilerine benzer şekilde, evre arttıkça yükseldiği görülmüştür(165). Hasta grubunda MDRD evresine göre Hg (p=0.0001), ferritin (p=0.01) düzeyleri ile anlamlı fark saptanırken, demir (p=0.599), transferrin saturasyonu (p=0.264) ile anlamlı fark saptanmamıştır. Kronik böbrek hastalığı evresi arttıkça ferritin artmakta, Hg, demir ve transferrin saturasyonu azalmaktadır.

Çalışmamızda hepsidin düzeyi ile bikarbonat replasmanı (p:0.001), esansiyel aminoasit (p:0.016), fosfor bağlayıcı (p:0.002) ,ürikoliz (p:0.001) ve oral antidiyabetik kullanımı (p:0.013) ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır. Bu konularla ilgili literatürde yapılmış çalışma bulunmamaktadır. Aminoasit, fosfor bağlayıcı, ürikoliz ve bikarbonat replasmanı alan hastalarda hepsidin düzeyi daha yüksek bulunmuştur. Bu ilaçları kullanan hastaların ileri evre KBH olmasına bağlı olabilir. Oral antidiyabetik kullananlarda ise hepsidin düzeyi daha düşük bulunmuştur. Beta hücre hasarı olan diyabetik hastalarda hepsidin düzeyinin düşük olması beklenen bir bulgudur.

Hasta grubunda venöz kan gazı parametrelerinden Ph (p=0.0001), laktat (0.0001), PO2 (p=0.005) ve PCO2 (p=0.0001) düzeyleriyle hepsidin arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanırken, bikarbonat düzeyi (p=0.659) ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır. Bunun yanında hasta grubunda hepsidin ile venöz kan gazında Ph (r=-0.241, p=0.014), bikarbonat (r=-0.437, p=0.0001) arasında negatif korelasyon saptanmıştır. Kronik böbrek hastalığı evresi arttıkça hastada asidoza eğilim ve bikarbonat düşüşü ve hepsidin artışı gözlenmektedir. Hepsidin ile venöz kan gazında laktat düzeyi (r=-0.167, p=0.094) arasında ise korelasyon saptanmamıştır. Maisetta ve arkadaşlarının(166) yaptığı çalışmada asidik Ph'da hepsidinin bakterisidal etkinliğinin arttığı ve bakteriyi öldürme zamanının da kısaldığı saptanmıştır. Bu sonuç hepsidinin vücudun asidik Ph bölgelerinde meydana gelen enfeksiyonların tedavisi için alternatif tedavi seçeneği oluşturabileceği düşünülmektedir. Literatürde hepsidin ile venöz kan gazında laktat ve bikarbonat ile ilgili çalışma bulunmamaktadır.

Çalışmamızda hepsidin ile statin (p:0.398), ACE inhibitörü (p:0.193) , ARB (p:0.242), KKB(p:0.356), Alfa bloker (p:0.223), diüretik (p:0.540), B bloker (p:0.555), Kalsiyum replasmanı (p:0.210), PPI kullanımı (p:0.484), Vitamin B12 kullanımı (p:0.177),

asetilsalisilik asit kullanımı (0.192) kullanımı ile istatistiksel olarak arasında fark saptanmamıştır. Chia-Chu CHANG ve arkadaşlarının(167) yaptığı bir çalışmada hepsidin üreten hücre kültürlerinde çeşitli dozlarda verilen statin (simvastatin) tedavisinin hepsidin üretimi, EPO reseptör ekspresyonu üzerine etkisi araştırılmıştır. Çeşitli miktarda verilen (0.5, 1, 3, 5 veya 10 µM) statin sonrası hepsidin ekspresyonunun kontrol grubuna göre belirgin olarak tüm konsantrasyonlarda azaldığı ($p<0.005$), en fazla azalmanın simvastatin 3µM dozunda olduğu saptanmıştır. Aynı şekilde statinin tüm konsantrasyonlarında kontrol grubu ile kıyaslandığında EPO reseptör ve EPO ekspresyonunun, hepsidine göre daha fazla azaltmakta olduğu bulunmuştur($p=<0.005$). En fazla azalma 10 µM dozunda saptanmıştır. Sonuç olarak statin tedavisi son dönem böbrek yetmezliği olan hastalarda hepsidin , EPO reseptör ve EPO ekspresyonunu doza bağımlı olarak azaltmaktadır. Ancak düşük dozlarda hepsidini hedef olarak eritropoezisi arttırmaktadır. Bizim çalışmamızda statin ($p:0.398$) kullanımı ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Ishizaka ve arkadaşları(168) anjiyotensin II enjeksiyonu sonrası rat böbreğinde transferrin reseptör, DMT1 , ferroportin1, ve hepsidin ekspresyonunun kontrol grubuna göre arttığını saptamıştır. Losartan sonrası ekspresyonların baskılandığı görülmüştür. Daha çok çalışmaya ihtiyaç olmakla birlikte renin-anjiyotensin sisteminin demir metabolizmasının negatif yönde düzenlenmesinde görev alabileceğini düşündürmektedir. Ancak bizim çalışmamızda ACE inhibitörü ($p:0.193$) ve ARB ($p:0.242$) kullanımı ile hepsidin düzeyi arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Çalışmamızda hastalarda hepsidin düzeyi ile serum ürik asit arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmıştır($p=0.0001$). Hasta grubunda ürik asit düzeyleri ile sCRP, CRP, sedimentasyon düzeyleri arasında da istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p=0.0001$). Lobo ve arkadaşları hemodiyaliz hastalarında ürik asit ile inflamasyon arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. Sonuç olarak ürik asit düzeyi ile inflamatuvar belirteçler arasında pozitif korelasyon saptanmıştır. Hemodiyaliz hastalarında ürik asit düzeylerinin kontrol grubuna göre daha yüksek olduğu bulunmuştur(169). Literatürde hepsidin ile ürik asit düzeylerini karşılaştıran benzer çalışma bulunmamaktadır. Ancak dolaylı olarak ürik asit düzeylerinin inflamasyonda arttığı söylenebilir.

9. SONUÇ ve ÖNERİLER

Hepsidin demir metabolizmasının temel düzenleyici hormonu olarak kabul edilmektedir. Kronik böbrek hastalığında demir metabolizma hastalıklarının tanı ve tedavisinde önemli role sahiptir.

Hepsidin düzeyi ferritin, kreatin, PTH, fosfor, ALP ve inflamatuvar belirteçler (CRP, sCRP, sedimentasyon) ile pozitif korelasyon, GFH, hemoglobin, kalsiyum, 25 OH D vitamini ile negatif korelasyon göstermektedir. Hepsidin düzeyi anemi, hipoksi durumunda azalmakta, inflamasyon ve demir fazlalığında artmaktadır. Hepsidinin yüksek olduğu hastalarda anemi ile birlikte inflamasyon göstergeleri de daha yüksek bulundu. İnflamasyona yönelik tedavi girişimleri inflamasyona bağlı anemi tedavisinde rol oynayabilir.

Hücre içi kalsiyum artışına neden olan hepsidin osteoporoz tedavisinde alternatif olarak düşünülmektedir. Bu konuyla ilgili randomize kontrollü daha çok çalışmaya ihtiyaç vardır.

Hipertansiyon ile hepsidin arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptanırken, glukoz, DM, KOAH ile istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmamıştır.

Kronik böbrek hastalığında renal fonksiyonlar kötüleştikçe oral veya parenteral demir ihtiyacı ile birlikte EPO ihtiyacı artmaktadır. İnflamasyonun artması ve hepsidinin renal klirensinin azalması ile birlikte de hepsidin düzeyi de artmaktadır. Tüm bunlar demir kısıtlı eritropoez ve EPO direncine neden olmaktadır. Parenteral demir ve yüksek doz EPO ihtiyacını arttırmaktadır. Bunun yanında düşük hepsidin düzeylerinde oral demir tedavisine daha iyi yanıt alınmaktadır. Bu nedenle hepsidin konsantrasyonları kronik böbrek hastalarında demir tedavisini yönetmede bir belirteç olarak görülmektedir. Ferritin ile hepsidin düzeyine birlikte bakılması tanı ve tedavinin planlanması açısından daha yararlı olabileceği düşünülmektedir.

10. ÖZET

AMAÇ: Hepsidin antimikrobiyal peptid olarak bilinen, karaciğerde sentezlenen demir metabolizmasında görev alan temel hormondur. Kronik böbrek hastalığında düzeyi artmaktadır. Kronik inflamatuvar bir durum olan kronik böbrek hastalığı tanılı hastalarda demir parametreleri ile hepsidin düzeyi arasındaki ilişkinin gösterilmesi ve KBH evrelerine göre hepsidin düzeyinin ölçümü amaçlanmıştır.

METHOD: Kontrol gruplu çalışmaya kronik böbrek hastalığı ve son dönem böbrek yetmezliği olan parenteral demir tedavisi almayan toplam 103 hasta ve 59 sağlıklı gönüllü alındı. Hastaların serum hepsidin düzeyleri Eliza yöntemi ile çalışıldı. Hastaların yaş, cins, vücut-kitle indeksi (VKİ) gibi demografik verilerinin yanında böbrek hastalıkları, biyokimyasal incelemeleri, tam kan sayımı, demir, total demir bağlama kapasitesi (TDBK), ferritin, high sensitive C-reaktif protein (hsCRP), CRP, sedimentasyon ve hepsidin düzeyleri çalışıldı.

BULGULAR: Çalışmaya toplam 103 kronik böbrek hastası (ortalama yaşı 58.63 ± 11.8) ve kontrol grubu olarak da 59 sağlıklı gönüllü (ortalama yaşı 49.0 ± 10.5) alındı. 103 hastanın 16'sı Evre I, 26 Evre II, 27 Evre III, 19 Evre IV, 15 Evre V idi. Evre V'deki hastaların 9'u hemodiyaliz tedavisi, 2'si periton diyalizi tedavisi almaktaydı. Hasta grubunun ortalama hepsidin düzeyi ($30.3 \pm 24.7 \text{ ng/ml}$) kontrol grubuna ($17.8 \pm 8.4 \text{ ng/ml}$) göre daha yüksek bulundu ($p < 0.05$). Kronik böbrek hastalığı evresi arttıkça hepsidin düzeyinin de arttığı saptandı. Hepsidin ile hipertansiyon hastalığı arasında istatistiksel olarak anlamlı fark ($p < 0.05$) ve pozitif korelasyon saptandı. Hepsidin ile kalsiyum, folik asit, vitamin b12, magnezyum, ürik asit, Ph arasında istatistiksel olarak anlamlı fark saptandı. Hasta grubunda hepsidin ile üre, kreatin, ferritin, fosfor, sedimentasyon, sCRP, CRP, PTH arasında anlamlı pozitif, GFH, Hemoglobin hemotokrit, 25OH D vitamini, albümin, kalsiyum arasında anlamlı negatif korelasyon saptandı. Ancak hepsidin ile demir ve transferin saturasyonu arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı. Ancak hepsidin ile TDBK arasında negatif korelasyon saptandı.

SONUÇ: Hepsidin demir metabolizmasını düzenleyen bir hormondur. Hepsidin gelecekte anemi tedavi ve yönetiminde belirteç olarak kullanılacağı düşünülmektedir.

ANAHTAR KELİMELELER: Demir, Hepsidin, İnflamasyon Anemisi, Kronik Böbrek Hastalığı

11. ABSTRACT:

BACKGROUND: Hepcidin, a recently discovered antimicrobial peptide synthesized in the liver, is central regulator of iron homeostasis. Levels of hepcidin are increased in chronic kidney diseases. In a prospective study was conducted to evaluate the association between hepcidin and iron parameters in patients with chronic kidney disease and hepcidin levels according to chronic kidney disease stage.

METHOD : A total of 103 CKD patients and end- stage renal failure patients and 50 healthy volunteers not treated with parenteral iron were recruited, and serum hepcidin-25 levels were measured by Eliza method. Patients' age, sex, body - mass index (BMI), renal diseases, biochemical examination , complete blood count, iron, total iron binding capacity (TIBC) , ferritin, high sensitive C-reactive protein (hsCRP) , CRP, sedimentation were evaluated.

RESULTS : A total of 103 chronic kidney disease patients (mean age 58.63 ± 11.8 years) and 59 healthy volunteers as a control group (mean age 49.0 ± 10.5 years) were recruited. Sixteen of 103 patients with stage I , 26 patients with stage II , 27 patients with stage III, and 19 patients with stage IV , 15 patients with stage V, respectively. Stage V of 9 patients were receiving hemodialysis, 2 patients of them were receiving peritoneal dialysis treatment . The mean hepcidin levels (30.3 ± 24.7 ng/ml) in patients was higher than the control group's hepcidin levels (17.8 ± 8.4 ng/ml), ($p < 0.05$). Chronic kidney disease stage also increased with increasing hepcidin levels were detected. Hepcidin was significantly associated with hypertension disease ($p < 0.05$) and positive association were found between them. In addition, hepcidin was significantly associated with calcium, folic acid, vitamin B12, magnesium, uric acid and Ph. The positive association between hepcidin and urea, creatinine, ferritin, phosphorus, sedimentation, sCRP , CRP, PTH were observed. In addition to, the negative association between hepcidin and GFR , hemoglobin, hematocrit , 25 OH vitamin D, albumin , calcium were observed. Between the hepcidin and iron and transferrin saturation were not found any association. But negative association were found between hepcidin and TIBC

CONCLUSIONS: Hepcidin is a hormone that regulates iron metabolism . Hepcidin is expected to be used as markers of management of anemia in the future

KEY WORDS: Anemia of inflammation , Chronic Kidney Disease, Hepcidin, Iron

12. KAYNAKLAR

1. KDIGO. Chapter 1: Definition and classification of CKD. *Kidney Int Suppl* 2013; 3:19.
2. National Kidney F. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2002 Feb;39(2 Suppl 1):S1-266. PubMed PMID: 11904577.
3. Levey AS, de Jong PE, Coresh J, El Nahas M, Astor BC, Matsushita K, et al. The definition, classification, and prognosis of chronic kidney disease: a KDIGO Controversies Conference report. *Kidney international*. 2011 Jul;80(1):17-28. PubMed PMID: 21150873.
4. Registry of The Nephrology, Dialysis and Transplantation In Turkey, Registry 2010, Published by The Turkish Society of Nephrology.
5. Serdengeçti K, Süleymanlar G, Altıparmak MR, Seyahi N, editors. Türkiye' de Nefroloji diyaliz ve transplantasyon-Registry 2010. İstanbul: Türk Nefroloji Derneği yayınları; 2011.
6. Nefroloji ve Hipertansiyon tanı ve tedavi, *Current Diagnosis and Treatment*,2009
7. Akpolat T, Yalçın A. U. Kronik Böbrek Yetmezliği. *Nefroloji El Kitabı*, Akpolat T, Utaş C, Süleymanlar G (Editörler). Nobel Kitabevi, 2. baskı,1999: 273-305.
8. Akpolat T, Utaş C, Süleymanlar G: *Nefroloji El Kitabı*. 3. Basım: 2002; 328-329, Nobel Tıp Kitabevi İstanbul.
9. Sav T, Utaş C. Kronik Böbrek Yetmezliğinin Semptom ve Bulguları. *Türkiye Klinikleri J Int Med Sci* 2005, 1 (21): 21-23.
10. Wheeler DC. Clinical evaluation and management of chronic kidney disease. In: Floege J, Johnson RJ, Feehaly J, editors. *Comprehensive Clinical Nephrology*. Fourth ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders; 2010. p:927-934.
11. Kalender B. Kronik böbrek hastalarında beslenme durumu. *Klinik Aktüel Tıp Nefroloji Forumu* 2008; 2: 39-44.
12. Liu KD, Chertow GM. Dialysis in the treatment of renal failure. In: Fauci AS, Braunwald E, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 17th ed. New York: McGraw-Hill Company; 2008. p:1772-1775.
13. Akoğlu E, Süleymanlar G. Kronik Böbrek Yetersizliği, *Temel İç Hastalıkları*,1996: 769-776, Güneş Kitapevi
14. Türkmen F. : *Hemodiyaliz Seminer El Kitabı*. 1. Baskı, S: 52-67, Deniz Ofset Matbaacılık, İstanbul, 2002.
15. Rayner HC, Imai E. Approach to renal replacement therapy. In: Floege J, Johnson RJ, Feehaly J, editors. *Comprehensive Clinical Nephrology*. Fourth ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders; 2010. p: 1019-1030.
16. Akpolat T, Utaş C, Süleymanlar G: *Nefroloji El Kitabı*. 3. Basım: 2002; 328-329, Nobel Tıp Kitabevi İstanbul
17. Guyton A, Halls: *Textbook Medikal Physiology*. Ed. Hayrunisa Ç. 10 th Edition. 1220-1242, Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul, 2001.
18. Kotanko P, Kuhlmann MK, Levin NW. Hemodialysis: Principles and techniques. In: Floege J, Johnson RJ, Feehaly J, editors. *Comprehensive Clinical Nephrology*. Fourth ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders; 2010. p: 1053-1059.
19. Yenice M. Kronik Böbrek Yetmezliği. Arık N (Editör). *Deniz matbaacılık*, 1.baskı, 2001: 212-224.

20. Venkataraman V, Nolph KD: Utilization of PD modalities: evolution. *Semin Dial* 15: 380-384, 2002.
21. Collins AJ, Foley RN, Herzog C, et al. United States Renal Data System 2008 Annual Data Report Abstract. *Am J Kidney Dis*. 2009;5:vi-vii, S8-374.
22. Rippe B. Peritoneal dialysis: principles, techniques, and adequacy. In: Floege J, Johnson RJ, Feehally J, editors. *Comprehensive Clinical Nephrology*. Fourth ed. St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders; 2010. p: 1081-1091.
23. Dell'Aquila, R., Rodighiero, MP, Spano, E, Advances in the technology of automated, tidal, and continuous flow peritoneal dialysis. *Perit Dial Int*. 2007. 27 Suppl 2:S130.
24. Rabindranath, K., Adams, J, Ali, TZ, Automated vs continuous ambulatory peritoneal dialysis: a systematic review of randomized controlled trials. *Nephrol Dial Transplant*. 2007. 22:29-91.
25. Author John M Burkart, M.S.E.S.J.S., MD Deputy Editor Theodore W Post, MD, Choosing a modality for chronic peritoneal dialysis. uptodate. 18.2: Mays 2010//<http://www.uptodate.com>.
26. Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL, et al. Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med*. 1999;341: 1725-1730.
27. Suleymanlar G, Serdengeçti K, Altıparmak MR, Jager K, Seyahi N, Erek E. Trends in renal replacement therapy in Turkey, 1996-2008. *Am J Kidney Dis*. 2011 Mar;57(3):456-65.
28. Heimbürger O, Qureshi AR, Blauer WS. et al. Hand-grip muscle strength, lean body mass, and plasma proteins as marker of nutritional status in patients with chronic renal failure close to start to dialysis therapy. *Am J Kidney Dis* 2000; 6; 1213-1225.
29. Stenvinkel P (2001) Inflammatory and atherosclerotic interactions in the depleted uremic patient. *Blood Purif* 19: 53–61.
30. Bergstrom J et al. (2000) What are the causes and consequences of the chronic inflammatory state in chronic dialysis patients? *Semin Dial* 13: 163–175.
31. 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.
32. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999; 340: 448-54.
33. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paulsen F. et al. Strong association between malnutrition, inflammation and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999; 55: 1899-1911.
34. Kalantar-Zadeh K. Inflammatory marker mania in chronic kidney disease: pentraxins at the crossroad of universal soldiers of inflammation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2:872.
35. Kalantar-Zadeh K, Ikizler TA, Block G. et al. Malnutrition-Inflammation complex syndrome in dialysis patients: Causes and consequences. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: 864-881.
36. Stenvinkel P. The role of inflammation in the anaemia of endstage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 1: 36-40.
37. Memoli B, Postiglione L, Cianciaruso B. et al. Role of different dialysis membranes in the release of interleukin-6-soluble receptor in uremic patients. *Kidney Int* 2000; 58: 417-424.
38. Herbelin A, Nguyen AT, Zingraff J. et al. Influence of uremia and hemodialysis on circulation interleukin-1 and tumor necrosis factor. *Kidney Int*, 1990; 37:116- 125.
39. Lander H. An essential role for free radicals and derived species in signal transduction. *FASEB J*, 1997; 11:118- 124.
40. KDOQI National Kidney Foundation : KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Anemia in Chronic Kidney Disease. *Am J Kidney Dis* 47[Suppl 3]: S11–S145, 2006.

41. Weiss G. Pathogenesis and treatment of anaemia of chronic disease. *Blood Rev* 2002;16:87-96.
42. World Health Organization. Nutritional anemias: Report of a WHO scientific Group. Geneva, Switzerland: World Health Organization, 1968.
43. 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.
44. 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.
45. Eschbach W: The future of r-HuEPO. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10 :96-109.
46. Moreno F, Valderrabano F, Aracil F, Perez R: Improvement of the quality of life of elderly patients on hemodialysis treated with erythropoietin. *Kidney Int* 1993; 44 : 1413.
47. Astor BC, Muntner P, Levin A, et al. Association of kidney function with anemia: the third National Health and Nutrition Examination Survey (1988-1994). *Arch Intern Med* 2002;162:1401.
48. Ganz T. Hepcidin-a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages. *Best Practice & Research Clinical Haematology* 2005; 18 (2):171.
49. Cotes PM, Pippard MJ, Reid CDL. et al. Characterization of the anaemia of chronic renal failure and the mode of its correction by a preparation of human erythropoietin (r-HuEPO). *Quarterly J Med* 1989;70:113-137.
50. McGonigle RJS, Wallin JD, Shadduk RK, Fisher JW. Erythropoietin deficiency and inhibition of erythropoiesis in renal insufficiency. *Kidney Int* 1984;25:437-444.
51. Malysako S, Hrysako T, Pawlak K. Is hepcidin a link between anemia, inflammation and liver function in hemodialyzed patients; *Am J Nephrol*. 2005; 25; 586-590.
52. Sloand JA, Shelly MA, Brien JM, Schiff MJ, Dhakal MP. Prevalence of hypertension (HTN) and adequacy of blood pressure (BP) control in hemodialysis (HD) patients (Pts) in the 90's. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: 1444.
53. Cotes PM.: Immunoreactive erythropoietin in serum. I. Evidence for the validity of the assay method and the physiological relevance of estimates. *Br J Haematol* 50: 427–438, 1982.
54. Garcia JF, Ebbe SN, Hollander L, Cutting HO, Miller ME, Cronkite EP.: Radioimmunoassay of erythropoietin: Circulating levels in normal and polycythemic human beings. *J Lab Clin Med* 99: 624–635, 1982.
55. Sherwood JB, Carmichael LD, Goldwasser E.: The heterogeneity of circulating human serum erythropoietin. *Endocrinology* 122: 1472–1477, 1988.
56. Cotes PM, Tam RC, Reed P, Hellebostad M.: An immunological cross-reactant of erythropoietin in serum which may invalidate EPO radioimmunoassay. *Br J Haematol* 73: 265–268, 1989.
57. Erslev A and Besarab A: Erythropoietin in the pathogenesis and treatment of the anemia of chronic renal failure. *Kidney Int* 1997; 51: 622 – 630.
58. Muirhead N, Bargman J, Burgess E. et al: Evidencebased recommendations for the clinical use of recombinant human erythropoietin. *Am J Kidney Dis* 1995; 26 : 1-24.
59. Babitt JL, Lin HY. Mechanisms of anemia in CKD. *J Am Soc Nephrol*. 2012 Oct;23(10):1631-4. PubMed PMID: 22935483. Pubmed Central PMCID: 3458456.
60. Macdoughall IC, Eckardt KU. Haematological disorders. In: Davison AM, Cameron JS, Grünfeld JP, Kerr DNS, Ritz E, Winearls CG(eds). *Oxford Textbook of Clinical Nephrology*. Oxford Medical Publications, Oxford 1998, 1935-1954.
61. Winearls CG. Historical review on the use of recombinant human erythropoietin in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 1995;10:3-9.

62. Gahl GM, Eckardt KU. Erythropoietin 1997: A brief update. *Perit Dial Int* 1997;17:84-90.
63. Warady BA, Jabs K. New hormones in the therapeutic arsenal of chronic renal failure. *Ped Clin North Am* 1995;42:1551-1577.
64. Jelkmann W (1998) Proinflammatory cytokines lowering erythropoietin production. *J Interferon Cytokine Res* 18: 555.
65. Means RT Jr, Krantz SB. Progress in understanding the pathogenesis of the anemia of chronic disease. *Blood* 1992; 80: 1639-1647.
66. Bologna RM, Levine DM, Parker TS. et al. Interleukin-6 predicts hypoalbuminemia, hypocholesterolemia and mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1998; 32: 107-114.
67. Macdougall IC and Cooper AC (2002) Erythropoietin resistance: the role of inflammation and proinflammatory cytokines. *Nephrol Dial Transplant* 17 (Suppl 11): S39–S43
68. Means RT Jr (2003) Recent developments in the anemia of chronic disease. *Curr Hematol Rep* 2: 116–121.
69. Taniguchi S et al. (1997) Interferon gamma downregulates stem cell factor and erythropoietin receptors but not insulin-like growth factor-I receptors in human erythroid colony-forming cells. *Blood* 90: 2244–2252.
70. Means RT Jr, Krantz SB. Inhibition of human erythroid colony-forming units by gamma interferon can be corrected by recombinant human erythropoietin. *Blood* 1991;78:2564-7.
71. Maciejewski JP et al. (1995) Nitric oxide suppression of human hematopoiesis in vitro: contribution to inhibitory action of interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha. *J Clin Invest* 96: 1085–1092.
72. Mena NP et al. (2006) Regulation of transepithelial transport of iron by hepcidin. *Biol Res* 39: 191–193.
73. Dallaglio G et al. (2006) Hepcidin inhibits in vitro erythroid colony formation at reduced erythropoietin concentrations. *Blood* 107: 2702–2704.
74. Weiss G and Goodnough LT (2005) Anemia of chronic disease. *N Engl J Med* 352: 1011–1023.
75. Jelkmann W, Pagel H, Wolff M, Fandrey J. Monokines inhibiting erythropoietin production in human hepatoma cultures and in isolated perfused rat kidneys. *Life Sci* 1992; 50: 301-308.
76. Lawrence CM et al. (1999) Crystal structure of the ectodomain of human transferrin receptor. *Science* 286: 779–782.
77. *Nature Clinical Practice Nephrology* (2008) 4, 47-57doi:10.1038/ncpneph0655
Mechanisms of Disease: erythropoietin resistance in patients with both heart and kidney failure.
78. Ganz T. Molecular control of iron transport. *J Am Soc Nephrol* 18: 394–400, 2007.
79. Ganz T, Nemeth E. Iron imports. IV. Hepcidin and regulation of body iron metabolism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 290: 199-203, 2006.
80. Babitt JL, Lin HY.: Molecular mechanisms of hepcidin regulation: Implications for the anemia of CKD. *Am J Kidney Dis* 55: 726–741, 2010.
81. Andrews NJ. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* 341: 1986–1995, 1999.
82. Besarab A, Ayyoub F.: Anemia in renal disease. In: *Diseases of the Kidney and Urinary Tract*, edited by Schrier RW, editor. , 8th Ed., Philadelphia, Lippincott Williams and Wilkins, 2007, pp 2406–2430.
83. Sunder-Plassmann G, Hörl WH. Erythropoietin and iron. *Clin Nephrol* 1997;47:141-157.

84. Cappelini M.D, Bruntti C, Feo D.T: Uremia Inhibitors of Erythropoietin. *AmJ.Nephrol* 1992; 12,9-13.
85. Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Heparin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *The Journal of Biological Chemistry* 2001;276(11):7806–10.
86. Krause A, Neitz S, Magert HJ et al. LEAP-1; a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Letters* 2000; 480:147–50.
87. Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B. A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *Journal of Biological Chemistry* 2001; 276:7811–9.
88. Nicolas G, Bennoun M, Devaux I, Beaumont C, Grandchamp B. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 knockout mice. *Proc Natl Acad Sci.* 2001;98:8780–8785.
89. Fleming RE, Bacon BR. Orchestration of Iron Homeostasis. *New England Journal of Medicine* 2005; 352(17):1741–4.
90. Hunter HN, Fulton DB, Ganz T, Vogel HJ. The solution structure of human hepcidin, a peptide hormone with antimicrobial activity that is involved in iron uptake and hereditary hemochromatosis. *J Biol Chem* 2002; 277(40): 37597-603.
91. Tomosugi N, Kawabata H, Wakatabe R, et al. Detection of serum hepcidin in renal failure and inflammation by using Protein Chip System. *Blood.* 2006;108:1381- 87.
92. Kemna EHJM, Tjalsma H, Willems HL, Swinkels DW. Heparin: from discovery to differential diagnosis. *Haematologica* 93: 90–97, 2008.
93. Kulaksiz H, Theilig F, Bachmann S, Gehrke SG. The iron-regulatory peptide hormone hepcidin: expression and cellular localization in the mammalian kidney. *J Endocrinol.* 2005;184:361–370.
94. Ganz T, Nemeth E. Regulation of iron acquisition and iron distribution in mammals. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1763(7): 690-9.
95. Peslova G, Petrak J, Kuzelova K et al. Heparin, the hormone of iron metabolism, is bound specifically to alpha-2-macroglobulin in blood. *Blood* 2009;113:6225–36.
96. Joyce JC Kroot, Harold Tjalsma, Robert E Fleming, Dorine W. Swinkels. Heparin in Human Iron Disorders: Diagnostic Implications. *Clinical Chemistry.* 2011; 57:12;1650–69.
97. Ganz T, Olbina G, Girelli D, Nemeth E, Westerman M. Immunoassay for human serum hepcidin. *Blood.* 2008;112:4292–97.
98. Peters HP, Laarakkers CM, Swinkels DW, Wetzels JF. Serum hepcidin-25 levels in patients with chronic kidney disease are independent of glomerular filtration rate. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25:848 –53.
99. Costa E, Swinkels DW, Laarakkers CM, Rocha- Pereira P, Rocha S, Reis F. et al. Heparin serum levels and resistance to recombinant human erythropoietin therapy in haemodialysis patients. *Acta Haematol.* 2009;122:226 –29.
100. Sow FB, Florence WC, Satoskar AR, Schlesinger LS, Zwilling BS, Lafuse WP: Expression and localization of hepcidin in macrophages: a role in host defense against tuberculosis. *Journal of Leukocyte Biology* 82:1-12, 2007.
101. 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.
102. Rivera S, Nemeth E, Gabayan V, Lopez MA, Farshidi D, Ganz T: Synthetic hepcidin causes rapid dose-dependent hypoferrremia and is concentrated in ferroportin-containing organs. *Blood* 106: 2196–2199, 2005.
103. 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.
104. Goodnough LT, Nemeth E, Ganz T. Detection, evaluation, and management of iron-restricted erythropoiesis. *Blood*. 2010;116:4754-4761.
105. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, et al. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest*. 2004;113(9):1271–1276.
106. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM, et al. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004; 306(5704): 2090-3.
107. Ganz T. Hepcidin and its role in regulating systemic iron metabolism. *Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology American Society of Hematology Education Program*. 2006:29-35, 507. PubMed PMID: 17124036.
108. 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.
109. Hentze MW, Muckenthaler MU, Andrews NC. Balancing acts: molecular control of mammalian iron metabolism. *Cell* 2004;117(3):285–97.
110. Corradini E, Garuti C, Montosi G, et al. Bone Morphogenetic Protein Signaling Is Impaired in a Hfe Knockout Mouse Model of Hemochromatosis. *Gastroenterology* 2009;137(4):1489–1497.
111. 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.
112. Babitt JL, Huang FW, Wrighting DM, et al. Bone morphogenetic protein signaling by hemojuvelin regulates hepcidin expression. *Nat Genet* 2006;38:531-9.
113. Anderson GJ, Darshan D, Wilkins SJ, Frazer DM. Regulation of systemic iron homeostasis: how the body responds to changes in iron demand. *Biometals* 2007; 20: 665-74.
114. Tomas Ganz. Hepcidin and Its Role in Regulating Systemic Iron Metabolism. *Hematology*. 2006;29-35.
115. Ashby DR, Gale DP, Busbridge M, et al. Erythropoietin administration in humans causes a marked and prolonged reduction in circulating hepcidin. *Haematologica* 2010;95:505-8.
116. Tanno T, Bhanu NV, Oneal PA, et al. High levels of GDF15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin. *Nat Med* 2007;13:1096-101.
117. Tanno T, Porayette P, Sripichai O, et al. Identification of TWSG1 as a second novel erythroid regulator of hepcidin expression in murine and human cells. *Blood* 2009;114:181-6.
118. Peyssonnaud C, Zinkernagel AS, Schuepbach RA, Rankin E, Vaultont 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.
119. 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.
120. Tsuchiya K, Nitta K. Hepcidin is a potential regulator of iron status in chronic kidney disease. *Therapeutic apheresis and dialysis : official peer-reviewed journal of the International Society for Apheresis, the Japanese Society for Apheresis, the Japanese Society for Dialysis Therapy*. 2013 Feb;17(1):1-8. PubMed PMID: 23379486.
121. Wrighting DM, Andrews NC. Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3. *Blood* 2006; 108: 3204 –9.

122. Kemna E, Pickkers P, Nemeth E, van der Hoeven H, Swinkels D. Time-course analysis of hepcidin, serum iron, and plasma cytokine levels in humans injected with LPS. *Blood*.2005;106(5):1864–1866.
123. Silvestri L, Pagani A, Nai A, De D, I, Kaplan J, Camaschella C. The serine protease matriptase-2 (TMPRSS6) inhibits hepcidin activation by cleaving membrane hemojuvelin. *Cell Metab* 2008;8:502–11.
124. Swinkels DW, Wetzels JF. Hepcidin: a new tool in the management of anaemia in patients with chronic kidney disease? *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:2450 –3.
125. Zaritsky J, Young B, Wang HJ, et al. Hepcidin--a potential novel biomarker for iron status in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:1051–1056.
126. Ashby DR, Gale DP, Busbridge M, Murphy KG, Duncan ND, Cairns TD, et al. Plasma hepcidin levels are elevated but responsive to erythropoietin therapy in renal disease. *Kidney Int* 2009; 75:976–81.
127. Ashby DR, Gale DP, Busbridge M, et al. Plasma hepcidin levels are elevated but responsive to erythropoietin therapy in renal disease. *Kidney Int* 2009;75(9):976–981.
128. Weiss G, Theurl I, Eder S, et al. Serum hepcidin concentration in chronic haemodialysis patients: associations and effects of dialysis, iron and erythropoietin therapy. *Eur J Clin Invest* 2009;39(10): 883–890.
129. Kato A, Tsuji T, Luo J, Sakao Y, Yasuda H, Hishida A. Association of prohepcidin and hepcidin-25 with erythropoietin response and ferritin in hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 2008;28(1):115– 121.
130. Silverberg DS, Wexler D, Palazzuoli A, Iaina A, Schwartz D. The Anemia of Heart Failure. *Acta Haematol.* 2009;122:109–19.
131. Swinkels DW, Wetzels JF. Hepcidin: a new tool in the management of anaemia in patients with chronic kidney disease? *Nephrol Dial Transplant* 2008;23(8):2450–2453.
132. Prowle JR, Westerman M, Bellomo R. Urinary hepcidin: an inverse biomarker of acute kidney injury after cardiopulmonary bypass? *Current opinion in critical care.* 2010 Dec;16(6):540-4. PubMed PMID: 20736824.
133. Hugman A. Hepcidin: an important new regulator of iron homeostasis. *Clin Lab Haem* 2006; 28: 75-83.
134. Atanasiu V, Manolescu B, Stoian I. Hepcidin- central regulator of iron metabolism. *European Journal of Haematology* 2007; 78: 1-10.
135. Lor.al O, Haziza-Pigeon C, Troadec MB, Detivaud L, Turlin B, Courselaud B, et al. Hepcidin in iron metabolism. *Curr Protein Pept Sci* 2005; 6(3): 279-91.
136. Vyoral D, Petrak J. Hepcidin: A direct link between iron metabolism and immunity. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2005; 37: 1768-73.
137. Wang L, Trebicka E, Fu Y et al. protein-hepcidin axis as a therapeutic target in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 112–119.
138. Babitt JL, Huang FW, Xia Y, Sidis Y, Andrews NC, Lin HY. Modulation of bone morphogenetic protein signaling in vivo regulates systemic iron balance. *J Clin Invest* 2007;117:1933-9.
139. Poli M, Girelli D, Campostrini N, Maccarinelli F, Finazzi D, Luscieti S, Nai A, Arosio P. Heparin: a potent inhibitor of hepcidin expression in vitro and in vivo. *Blood* 2011; 117: 997-1004.
140. Nishimoto N, Kanakura Y, Aozasa K, et al. Humanized anti-interleukin-6 receptor antibody treatment of multicentric Castleman disease. *Blood* 2005;106:2627-32.
141. Kawabata H, Tomosugi N, Kanda J, Tanaka Y, Yoshizaki K, Uchiyama T. Anti-interleukin 6 receptor antibody tocilizumab reduces the level of serum hepcidin in patients with multicentric Castleman's disease. *Haematologica* 2007;92:857-8.

142. Klaus S, Arend M, Fourney P, et al. Induction of erythropoiesis and iron utilization by the HIF prolyl hydroxylase inhibitor FG-4592. *J Am Soc Nephrol* 2005;16(Suppl):49A(abst 050).
143. Troutt JS, Butterfield AM, Konrad RJ. Heparin-25 concentrations are markedly increased in patients with chronic kidney disease and are inversely correlated with estimated glomerular filtration rates. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2013 Nov;27(6):504-10. PubMed PMID: 24218134.
144. Bode JG, Albrecht U, Haussinger D et al. Hepatic acute phase proteins—regulation by IL-6- and IL-1-type cytokines involving STAT3 and its crosstalk with NF-kappaB-dependent signaling. *Eur J Cell Biol* 2012; 91: 496–505.
145. Ganz T. Heparin and iron regulation, 10 years later. *Blood* 2011; 117: 4425–4433.
146. Nakanishi T, Hasuike Y, Otaki Y et al. Heparin: another culprit for complications in patients with chronic kidney disease? *Nephrol Dial Transpl* 2011; 26: 3092–3100.
147. van der Putten K, Jie KE, van den Broek D, Kraaijenhagen RJ, Laarakkers C, Swinkels DW, et al. Heparin-25 is a marker of the response rather than resistance to exogenous erythropoietin in chronic kidney disease/chronic heart failure patients. *European journal of heart failure*. 2010 Sep;12(9):943-50. PubMed PMID: 20601671.
148. Valenti L, Girelli D, Valenti GF et al. HFE mutations modulate the effect of iron on serum heparin-25 in chronic hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 1331–1337.
149. Hamada Y, Kono TN, Moriguchi Y et al. Alteration of mRNA expression of molecules related to iron metabolism in adenine-induced renal failure rats: a possible mechanism of iron deficiency in chronic kidney disease patients on treatment . *Nephrol Dial Transplant* 2008 ; 23 : 1886 –1 891.
150. Maruyama Y, Yokoyama K, Yamamoto H, Nakayama M, Hosoya T. Do serum heparin-25 levels correlate with oxidative stress in patients with chronic kidney disease not receiving dialysis? *Clinical nephrology*. 2012 Oct;78(4):281-6. PubMed PMID: 22541685.
151. Aigner E, Felder TK, Oberkofler H, Hahne P, Auer S, Soyal S, et al. Glucose acts as a regulator of serum iron by increasing serum heparin concentrations. *The Journal of nutritional biochemistry*. 2013 Jan;24(1):112-7. PubMed PMID: 22819549.
152. Piperno A, Trombini P, Gelosa M, Mauri V, Pecci V, et al. (2002) Increased serum ferritin is common in men with essential hypertension. *J Hypertens* 20:1513–1518.
153. Sheu WH, Chen YT, Lee WJ, Wang CW, Lin LY (2003) A relationship between serum ferritin and the insulin resistance syndrome is present in non-diabetic women but not in non-diabetic men. *Clin Endocrinol (Oxf)* 58: 380–385.
154. Ma J, Stampfer MJ (2002) Body iron stores and coronary heart disease. *Clin Chem* 48: 601–603.
155. Opara EC (2004) Role of oxidative stress in the etiology of type 2 diabetes and the effect of antioxidant supplementation on glycemic control. *J Investig Med* 52:19–23.
156. Wang H, Li H, Jiang X, Shi W, Shen Z, Li M. Heparin is Directly Regulated by Insulin and Plays an Important Role in Iron Overload in Stz-Induced Diabetic Rats. *Diabetes*. 2013 Dec 30. PubMed PMID: 24379355.
157. Rhodes CJ, Howard LS, Busbridge M, Ashby D, Kondili E, Gibbs JS, et al. Iron deficiency and raised heparin in idiopathic pulmonary arterial hypertension: clinical prevalence, outcomes, and mechanistic insights. *Journal of the American College of Cardiology*. 2011 Jul 12;58(3):300-9. PubMed PMID: 21737024.
158. Duru S, Bilgin E, Ardic S. Heparin: A useful marker in chronic obstructive pulmonary disease. *Annals of thoracic medicine*. 2012 Jan;7(1):31-5. PubMed PMID: 22347348. Pubmed Central PMCID: 3277039.

159. Li GF, Xu YJ, He YF, Du BC, Zhang P, Zhao DY, et al. Effect of hepcidin on intracellular calcium in human osteoblasts. *Molecular and cellular biochemistry*. 2012 Jul;366(1-2):169-74. PubMed PMID: 22555956.
160. Carvalho C, Isakova T, Collerone G, Olbina G, Wolf M, Westerman M, et al. Hepcidin and disordered mineral metabolism in chronic kidney disease. *Clinical nephrology*. 2011 Aug;76(2):90-8. PubMed PMID: 21762639.
161. Bacchetta J, Zaritsky JJ, Sea JL, Chun RF, Lisse TS, Zavala K, et al. Suppression of Iron-Regulatory Hepcidin by Vitamin D. *J Am Soc Nephrol*. 2013 Nov 7. PubMed PMID: 24204002.
162. Donate-Correa J, Dominguez-Pimentel V, Mendez-Perez ML, Muros-de-Fuentes M, Mora-Fernandez C, Martin-Nunez E, et al. Selective vitamin D receptor activation as anti-inflammatory target in chronic kidney disease. *Mediators of inflammation*. 2014;2014:670475. PubMed PMID: 24511210. Pubmed Central PMCID: 3913352.
163. Cohick PL, Bhattacharjee M. Monitoring vitamin B6 treatment of inflammation in rheumatoid arthritis with hemoglobin and ferritin. *European journal of clinical nutrition*. 2011 Mar;65(3):423-4. PubMed PMID: 21102614.
164. Ishizaki N, Kotani M, Funaba M, Matsui T. Hepcidin expression in the liver of rats fed a magnesium-deficient diet. *The British journal of nutrition*. 2011 Oct;106(8):1169-72. PubMed PMID: 21736832.
165. Uehata T, Tomosugi N, Shoji T, Sakaguchi Y, Suzuki A, Kaneko T, et al. Serum hepcidin-25 levels and anemia in non-dialysis chronic kidney disease patients: a cross-sectional study. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2012 Mar;27(3):1076-83. PubMed PMID: 21799206.
166. Maisetta G, Petruzzelli R, Brancatisano FL, Esin S, Vitali A, Campa M, et al. Antimicrobial activity of human hepcidin 20 and 25 against clinically relevant bacterial strains: effect of copper and acidic pH. *Peptides*. 2010 Nov;31(11):1995-2002. PubMed PMID: 20713108.
167. Chang CC, Chiu PF, Chen HL, Chang TL, Chang YJ, Huang CH. Simvastatin downregulates the expression of hepcidin and erythropoietin in HepG2 cells. *Hemodialysis international International Symposium on Home Hemodialysis*. 2013 Jan;17(1):116-21. PubMed PMID: 22716163.
168. Ishizaka N, Saito K, Furuta K, Matsuzaki G, Koike K, Noiri E, Nagai R. Angiotensin II-induced regulation of the expression and localization of iron metabolism-related genes in the rat kidney. *Hypertens Res*. 2007 Feb;30(2):195-202.
169. Lobo JC, Stockler-Pinto MB, da Nobrega AC, Carraro-Eduardo JC, Mafra D. Is there association between uric acid and inflammation in hemodialysis patients? *Renal failure*. 2013;35(3):361-6. PubMed PMID: 23394103.

