



T.C
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
İÇ HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**KRİPTOJENİK SİROZLARDA VE HBV İLİŞKİLİ SİROZLARDA HFE GEN
MUTASYONLARI**

(Gastroenteroloji Yan Dal Tezi)

Uzman Dr.Ahmet Yekta TÜZÜN

TEZ DANIŞMANI

Prof.Dr. Fikri CANORUÇ

Gastroenteroloji Bilim Dalı

DİYARBAKIR

2008

TEŞEKKÜR

Gastroenteroloji yan dal eğitimim süresince yetişmemde katkısı olan Gastroenteroloji bilim dalı başkanımız sayın Prof.Dr. Fikri Canoruç ve İç Hastalıkları AD başkanımız sayın Prof.Dr. Ekrem Müftüoğlu'na, İç Hastalıkları AD diğer öğretim üyeleri Prof.Dr.M.Emin Yılmaz, Prof.Dr.Vedat Göral, Prof.Dr. Mithat Bahçeci, Prof.Dr. Orhan Ayyıldız, Doç.Dr.Kendal Yalçın, Doç.Dr.Alparslan Tuzcu, Doç.Dr. Abdurrahman Işıkdogan, Doç.Dr. Ali Kemal Kadiroğlu, Yrd.Doç.Dr. Kadim Bayan, Yrd.Doç.Dr. Şenay Arıkan, Yrd.Doç.Dr.Şehmus Özmen, Yrd.Doç.Dr.Davut Akın, Yrd.Doç.Dr.Deniz Gökalp, Yrd.Doç.Dr. Timuçin Çil'e ve ismini yazamadığım diğer öğretim üyelerine teşekkür ederim.

Eğitimim süresince katkılarına her zaman şükran borçlu olacağım sayın Doç.Dr. Mehmet Dursun'a, Doç.Dr. Şerif Yılmaz'a ve Yrd. Doç.Dr. Abdullah Altıntaş'a teşekkür ederim.

Birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma, endoskopi ünitesi ve gastroenteroloji kliniği hemşire ve personeline teşekkür ederim.

Bu yoğun çalışma sürecimde genellikle ihmal ettiğim ancak her zaman yanımda hissettiğim sevgili eşime ve canım kızıma sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ahmet Yekta Tüzün

Diyarbakır; Kasım 2008

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
TEŞEKKÜR	2
İÇİNDEKİLER	3
KISALTMALAR VE SİMGELER	4
TABLolar VE ŞEKİLLER	5
ÖZET	6
ABSTRACT	7
1.GİRİŞ VE AMAÇ	8-10
2.GENEL BİLGİLER	11
2.1.KARACİĞER SİROZU	
2.1.1.Karaciğer Sirozunun Tanımı ve Epidemiyolojisi	11
2.1.2.Karaciğer Sirozunda Etyopatogenez	11
2.1.3.Kriptojenik Siroz	17
2.1.4.Karaciğer Sirozunda Tanı	20
2.1.5.Siroz Komplikasyonları	22
2.1.6.Karaciğer Sirozunda Tedavi	
2.2.HEREDİTER HEMOKROMATOZİS	30
2.2.1.Tanım ve Tarihçe	31
2.2.2.Demir Metabolizması	32
2.2.3.Herediter Hemokromatozis'in Patogenezi	39
2.2.4.Herediter Hemokromatozis'te Klinik Özellikler	44
2.2.5.Herediter Hemokromatozis'te Tanı	45
2.2.6.Herediter Hemokromatozis'te Tedavi	46
2.2.7.Herediter Hemokromatozis'te Aile Taraması	47
3.GEREÇ VE YÖNTEM	48
4.BULGULAR	52
5.TARTIŞMA VE SONUÇ	54
6.KAYNAKLAR	59

KISALTMALAR VE SİMGELER

HH:	Hereditör Homokromatozis
TS:	Transferin Satürasyonu
MMP:	Metalloproteinaz
PDGF:	Trombositlerden köken alan büyüme faktörü
TNF:	Tümör nekroz faktörü
NO:	Nitrik oksit
ANA:	Anti-nükleer antikor
SMA:	Düz kas antikor
AMA:	Anti-mitokondrial antikor
LKM1:	Liver/kidney mikrozom tip 1 antikor
NASH:	Non-alkolik steatohepatit
PBS:	Primer biliyer siroz
PSK:	Primer sklerozan kolanjit
ALT:	Alanin Transaminaz
AST:	Aspartat Transaminaz
TIPS:	Transjuguler intrahepatik portosistemik şant
HCC:	Hepatosellüler karsinom
HRS:	Hepatorenal sendrom
HPS:	Hepatopulmoner sendrom
SBP:	Spontan bakteriyel peritonit
MNB:	Monobakteriyel non-nötroitik bakterisit
KNNA:	Kültür negatif nötroitik asit
DMT1:	Divalan metal transporter 1
TfR:	Transferin reseptörü
HJV:	Hemojuvelin

TABLolar VE ŞEKİLLER

Tablo 1: Genetik geçişli demir birikim hastalıklarının sınıflaması

Tablo 2: Hasta gruplarına göre mutasyonların dağılımı

Tablo 3: Mutasyon olan ve olmayan grupta seçilen bazı fenotipik özelliklerin sonuçları.

Şekil 1: Vücutta demir dengesi.

Şekil 2: HFE proteininin yapısı

Şekil 3: Mutasyon stripleri

ÖZET

Giriş ve amaç: HFE gen mutasyonları ile ilişkili hereditör hemokromatozis, Avrupa popülasyonunda yaygın görülen otozomal resesif geçişli bir hastalıktır. Mutasyonlardaki yüksek frekans sıklığıyla uyumsuz olacak şekilde tipik hastalık fenotipiyle nisbeten az karşılaşılmasından dolayı, popülasyon bazlı tarama programları taraftar bulmamaktadır. Bu sebeple HFE'nin mutasyonlarını yüksek riskli hasta gruplarında taramak daha mantıklı görünmektedir. Çalışmamızda kriptojenik ve hepatit B'li sirozlularda HFE gen mutasyonlarının sıklığını belirlemeyi amaçladık.

Gereç ve yöntem: Bu çalışmada, 29 hepatit B'li ve 29 kriptojenik sirozlu olgu incelendi. HFE gen mutasyonları, "Haemochromatosis StripAssay A of ViennaLab" yöntemi ile çalışıldı.

Bulgular: Yirmidokuz kriptojenik sirozlu olgunun 1'inde C282Y heterozigotluğu, 2'sinde H63D homozigotluğu ve 5'inde de H63D mutasyonu heterozigotluğu tespit edildi. Hepatit B'li 29 olgunun 1'inde H63D ve E168Q birleşik heterozigotluğu ve 5'inde H63D mutasyonu heterozigotluğu bulundu. Hepatit B'li ve kriptojenik sirozlu hasta gruplarında mutasyon oranları açısından istatistiksel fark yoktu. İki grupta toplamda H63D mutasyon oranı 58 hastanın 13'ünde (13/58) %22.4, C282Y mutasyonu 58 hastanın 1'inde (%1.72) tespit edildi. Kriptojenik sirozlularda allel sayısına göre H63D mutasyon oranı %31.03 (9/29) bulundu.

Sonuç: Sonuç olarak HFE mutasyonları bölgemiz için önemli bir sağlık problemi gibi görünmemektedir. Kriptojenik siroz hastalarında bulduğumuz heterozigot C282Y ve iki hastada da homozigot H63D varlığı değerlendirildiğinde seçilmiş hasta gruplarında bu mutasyonların taranması önerilebilir. Özellikle kriptojenik sirozlu olgularda gerek HH tanısı için gerekse ılımlı demir birikimi ile bu mutasyonların hepatik hasarı artırıcı etkisini ortaya koymak ve belki de flebotomi ile sirozun ilerleyişini yavaşlatabilmek amacıyla bu mutasyonları araştırılabilir bulmaktayız. Klinisyenler karaciğer hastalarında bu mutasyonların morbidite ve mortaliteye olan olası katkısı açısından uyanık olmalıdır.

Anahtar kelimeler: Kriptojenik siroz, HFE, Hereditör hemokromatozis

ABSTRACT

Background and aim: Mutations of HFE gene are associated with hereditary hemochromatosis (HH), the most common autosomal recessive disorder in European population. To early detection, population screening is not currently advocated because of the discrepancy between the common mutation prevalence and apparently lower frequency of clinical disease. It is reasonable that screen high-risk patient populations for the abnormal mutation of HFE.

We aimed to identify the frequency of mutations in the HFE gene in patients with cryptogenic cirrhosis and cirrhosis due to chronic hepatitis B.

Material and method: In this study we analyzed 29 patients with hepatitis B cirrhosis and 29 patients with a diagnosis of cryptogenic cirrhosis. HFE gene mutation was analysed by the “Haemochromatosis StripAssay A of ViennaLab”.

Results: Of the 29 cases of with cryptogenic cirrhosis, 1 was found to be heterozygous for the C282Y mutation, 2 were found to be homozygous for the H63D and 5 were found to be heterozygous for the H63D mutation. Of the 29 cases of hepatitis B cirrhosis, 1 was found to be compound heterozygous for the H63D and E168Q mutation and 5 were found to be heterozygous for H63D mutation. Mutation rates were not statistically different in patients with hepatitis B and cryptogenic cirrhosis. In a total H63D mutation was present in 13 out of 58 patients (22.4%) and C282Y mutation was present in 1 out of 58 patients (1.72%). According to the number of allele the rate of H63D mutation was 31.03% (9/29) among patients with cryptogenic cirrhosis.

Conclusion: The prevalences of HFE gene mutations associated with HH are high among east-southern of Anatolian cases with cryptogenic cirrhosis. Mutation of HFE gene may play role in worsen hepatic inflammation and progressing cirrhosis in our population.

Key Words: Cryptogenic cirrhosis, HFE, Hereditary hemochromatosis.

1-GİRİŞ VE AMAÇ

Karaciğer sirozu, çeşitli etiyolojik faktörlere bağlı görülen son dönem karaciğer yetersizliği tablosudur. Siroz, hepatosit hasarına bağlı olarak, karaciğer parankiminin inflamasyonu ve nekrozu, nodül oluşturarak rejenerasyonu, yaygın fibrozis ve parankim içinde oluşan fibröz bantlar ile karakterize kronik ve ilerleyici bir hastalıktır. Karaciğer sirozuna sebep olan faktörler ülkeden ülkeye değişiklik gösterir ancak alkol ve viral hepatitler önde gelen siroz etkenleridir (1). Yoğun tanısal değerlendirme sonrasında tanınabilir bir sebebin belirlenemediği hastalar kriptojenik siroz olarak sınıflandırılırlar. Kriptojenik siroz tanısı konulmadan önce hastalarda viral, metabolik, otoimmün, vasküler siroz nedenleri açısından değerlendirilip ilgili hastalıklar ekarte edilmelidir. Karaciğer sirozunun erken tespit edilirse önlenabilen sebeplerinden biri de Herediter Hemokromatozis'tir (HH).

HH, Kafkaslarda ve Kuzey Avrupa popülasyonunda sık görülen otozomal resesif geçişli, progresif demir birikimiyle karakterize, zamanında uygun şekilde tedavi edilmezse geri dönüşsüz organ hasarına sebep olabilen bir hastalıktır. Hastalığın tanımlanması 19. yüzyıla dayanmaktayken genetik temelinin ortaya konması günümüzden birkaç yıl öncesine dayanmaktadır. Feder ve arkadaşları (2), 1996 yılında ilgili geni ve iki önemli mutasyonunu bildirmiştir. Avrupada tespit edilen HH olgularının çoğundan sorumlu olan homozigot C282Y mutasyonunun sıklığı yaklaşık olarak 1000'de 5 iken genotipin klinik etkisinin zayıf olmasından kaynaklanarak tipik hastalık çok daha az görülmektedir. Feder ve arkadaşlarının sorumlu geni ortaya koydukları çalışmalarında 178 HH'li olgunun %83'ünde bu mutasyonların varlığını göstermişlerdir (2). Homozigot C282Y mutasyonu Kuzey Avrupalı HH vakalarının %90'ında, Kuzey Amerikalı vakaların %80'inden fazlasında tespit edilmiştir (3). HFE'nin major mutasyonu olan C282Y'nin sıklığı Avrupa'da kuzeyden güneye doğru azalma göstermektedir. HFE ilişkili HH'li olgularda C282 mutasyon sıklığı Avrupada en yüksek oranda %96 ile İngilterede (2) tespit edilmişken, en düşük oran %39 ile Yunanistan'da (4) tespit edilmiştir. Diğer mutasyon olan H63D mutasyonu ise dünya genelinde daha yaygın izlenmekle birlikte klinik etkisi henüz açık değildir ve bu mutasyon, Avrupada en yaygın olarak Bask bölgesinde belirlenmiştir (5). HH ile en yakın klinik ilişkisi olan C282Y mutasyonu Afrika ve Asya populasyonlarında çok ender tespit edilmiştir (5). H63D mutasyonu Suudi Arabistan'da %8.5, türklerde %17.7, Meksika'da %2.2, yunanlılarda %17.5 bulunmuştur (5). Bu önlenabilir hastalığın kalıtsal geçişi ve sorumlu olan genlerin tespit

edilmesi hastalığın tanısı ve taraması konusunda yeni gelişmeler kaydedilmesiyle sonuçlanmıştır.

Ülkemizde hemokromatozisli hastalarda 2005 yılında yapılan bir çalışmada hiç bir hastada C282Y mutasyonu izlenmemiş, çalışmadaki hastaların tamamı H63D açısından heterozigot tespit edilmiştir (6). Ülkemizde toplum taramasının gerekliliğini ortaya koymak için kan donörleri üzerinde yapılan ve 3060 kişinin tarandığı bir çalışmada, donörlerden transferin satürasyonu %45'in üzerinde olanlarda HFE gen mutasyonunun incelenmiştir. Transferin satürasyonu (TS) yüksek tespit edilen 75 vakadan hiçbirinde C282Y mutasyonu saptanamamış, %11,6'sında H63D mutasyonu heterozigot tespit edilmiştir (7). Yine benzer şekilde tasarlanmış bir çalışmada C282Y mutasyonu tespit edilmemiş ve H63D mutasyonu TS yüksek olanlarda %27.32 tespit edilmiştir (8). Bu çalışmalara istinaden ülkemizde tipik fenotipik özellikleri ile HFE ilişkili HH'in çok nadir olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Bu sebeple ülkemizde toplum taramasının uygun bir strateji olmadığı vurgulanmıştır. Yönel ve arkadaşları 2007 yılında ülkemizden ilk defa C282Y homozigot mutasyonu tespit ettikleri Karadeniz kökenli (Giresun) bir aileyi literatüre sunmuşlardır. (9).

HH erken tanı ve tedavi ile oldukça mortal olabilen sonuçları engellenebilen bir hastalıktır. Bu tip hastalıkların yönetiminde temel hedefi tarama programları oluşturmaktadır. Popülasyon temelli tarama programlarında hedef, organ hasarı oluşmadan uygun tedaviye başlamaktır. HH'li hastalarda presirotik dönemde tespit edilip flebotomi ile tedavi edilirlerse normal yaşam süresi umulmaktadır. Ancak mutasyonların coğrafik dağılımları ve klinik etkisi oldukça heterojen olduğundan ve maliyetli olduğundan genetik temelli tarama programları tam kabul görmemiştir. Biyokimyasal tarama yöntemleriyle hastaların %94-98'inin tespit edilebildiği bildirilmektedir. Mutasyonun yüksek olduğu toplumlarda genetik tarama uygulanabilirken ülkemizdeki gibi düşük toplumlarda fenotipik tarama ve riskli gruplarda genetik tarama önerilmektedir (10). Ancak son yıllarda mutasyon tespit edilen hastaların yakınlarında yapılan genetik taramalar çok daha fazla hastanın daha erken dönemde tanı almasını ve uygun zamanda tedavi almasını sağlamıştır. Bu da seçilmiş riskli gruplarda genetik taramanın önemini göstermektedir.

Ülkemizde yapılan çalışmalarda bu mutasyonların toplum taramasını gerektirmeyecek derecede nadir görülen bir hastalık olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca bu yöntemle tarama toplumumuz için maliyet etkin bir yöntem gibi görünmemektedir. Bu sebeple ülkemizde

hastalığın etken olabileceği kronik karaciğer hastalığı, artropati, bronz diyabet ve hipogonadizm gibi durumlarda selektif tarama programlarının uygulanması daha uygun görünmektedir. Çalışmamızda HH'in en önemli fenotipik özelliklerinden biri olan ve klinik uygulamalarımızda sık karşılaştığımız karaciğer sirozunda ve özellikle spesifik tanısını koyamadığımız kriptojenik sirozda HFE gen mutasyonlarının mevcudiyetini araştırmayı amaçladık.

2-GENEL BİLGİLER

2.1 KARACİĞER SİROZU

2.1.1 Karaciğer Sirozunun Tanımı ve Epidemiyolojisi

Karaciğer sirozu hepatosit hasarına bağlı olarak, karaciğer parankiminin inflamasyonu ve nekrozu, nodül oluşturarak rejenerasyonu, yaygın fibrozis ve parankim içinde oluşan fibröz bantlar ile karakterize kronik ve ilerleyici bir karaciğer hastalığıdır. Siroz terimi ilk kez 1826 yılında Laennec tarafından ortaya atılmıştır. Otopsilerde karaciğerin portakal kabuğu görünümü için kullanılan eski yunanca bir terim olan “scirrhous” kelimesinden köken almaktadır (11). Etiyolojik etmenler farklı olsa da sirotik karaciğerde ortak bulgular yaygın fibrozis ve nodül oluşumudur. Bu iki parametrenin birlikteliği gerekmektedir. Konjenital hepatik fibrozda ve interlobüler granümatöz hastalıklarda zon 1’de Konjestif Kalp Yetersizliği’nde zon 3’de fibrozis görülmekte ancak karaciğerde sirozdan söz edilememektedir. Benzer şekilde parsiyel nodüler transformasyonda nodül oluşmasına rağmen gerçek anlamda siroz oluşmamaktadır (11).

Tanı ve tedavideki hızlı gelişmelere rağmen karaciğer sirozu hala dünyada ve ülkemizde mortalitesi ve morbiditesi yüksek bir sağlık sorunu olarak kabul edilmektedir. Kronik karaciğer hastalığı ve siroza bağlı ABD’de yılda yaklaşık 35000 kişi ölmekte ve ölüm sıralamasında siroz 12. sırayı almaktadır (12). Blumberg’in 1964 yılında hepatit B virüsünü saptaması, 1977 yılında hepatit D’nin, 1989 yılında hepatit C’nin saptanması sirozun etiyolojisinde ve takibinde önemli değişimler yaratmıştır. Siroz sıklığı 200-300/100 000 kişidir. Prevalanstaki coğrafi farklılık toplumlar arasında değişiklik gösteren alkol tüketimi yaygınlığı ve viral enfeksiyon sıklığına bağlıdır (11). Erkeklerde görülme sıklığı 90/100 000 iken kadınlarda görülme sıklığı 50/100 000 olup vakaların yaklaşık %80’i 25-64 yaşları arasındadır. Karaciğer sirozunun ABD’deki yıllık maliyeti yaklaşık olarak 1.5 milyar dolardır (12). Yakın dönemde yapılan çalışmalarda tüm dünyada birçok ülkede siroza bağlı ölümlerde ılımlı bir azalma olduğu dikkati çekmektedir. Bu azalma eğiliminin alkol tüketimindeki azalmaya ve hepatit B ve C’nin takip ve tedavisindeki gelişmelere bağlı olabileceği düşünülmektedir (13).

2.1.2 Karaciğer Sirozunda Etyopatogenez

Siroz geliştiğinde, tüm karaciğer parankimini rejeneratif nodüllerle ayıran fibröz septalar meydana gelir. Ancak lezyonlar simetrik ve homojen değildir. Erken dönemde yağlanma, inflamatuvar eksudasyon ve ödem karaciğeri büyütebilirken, fibröz dokunun artıp karaciğerin büzüşmesi ile karaciğer genellikle küçülür. Hastalığın ileri dönemlerinde sağ lob genellikle küçülürken sol ve kaudat lob büyük kalabilir. Sonuçta fibröz bantlarla çevrili nodüler bir yapı ve nodüllerin içinde adacık şeklinde hepatositler görülür (14). Karaciğerin zedelenmeye karşı ilk cevabı hepatosit nekrozudur. Nekrozun kronik süreçte devamı ile karaciğer lobülleri kollabe olur ve fibrozis gelişebilir. Etiyolojiden bağımsız olarak zon 1'deki interface hepatit, porto-portal fibröz köprülere neden olurken, zon 3'deki nekroz santral-portal köprüleşmeye neden olarak hepatik çatıyı bozar ve sirotik patern oturur. Fibröz dokunun esasını kollajen oluşturur. İnflamasyona yanıt olarak lenfosit, monosit ve Kupffer hücrelerinin tetiklediği immün mekanizmalarla oluşan fibröz bantlar, parankimde süre giden yıkım ve onarım ile karaciğerde çeşitli büyüklüklerde nodüller oluşmaya başlar. Fibrozis ve fibröz bantlar farklı kavramlar olup, fibrozis basitçe kollajen ve ilişkili makromoleküllerin birikimini tanımlarken, fibröz bantlar parankimde fokal doku kaybına ait karmaşık bir yapıdır. Bu yapı hasarlanmış doku, arteriovenöz şantlar, fibrozis ve revaskülarizasyon dahil yapım ve yıkım elemanlarını içerir.

Karaciğerin sinüzoid yatağı, Kupffer hücreleri, sinüzoid endotel hücreleri ve Stellat hücrelerden oluşan nonparenkimal hücreleri içerir. Bu hücreler siroz patogenezinde önemli görevler üstlenir. Kupffer hücreleri retiküloendotelyal sistemin karaciğerdeki makrofajları olup karaciğer hücrelerinin %15'ini oluşturur. Önemli fizyolojik fonksiyonları gastrointestinal sistemden gelen mikroorganizmaları, endotoksinleri, dejenere hücreleri, toksinleri ortadan kaldırmak veya detoksifiye etmektir. Soluble enflamatuvar mediatörlerin üretilmesinde ve salınmasında görev alarak konağın doğal bağışıklık cevabında rol alır. Kupffer hücreleri endotoksemi, iskemik ve alkolik karaciğer hasarı ve sistemik viral enfeksiyonlara bağlı hasarda hepatotoksisiteyi başlatmada patogeneze katılır (15).

Fibrozis, hasarlı bölgelerde ekstrasellüler matriks veya skar dokusu ile çevrelenmiş yara iyileşmesine cevaptır. Akut fulminant hepatit gibi durumlarda şiddetli inflamatuvar ve fibrojenik uyarıya rağmen kronik hasar devam etmedikçe fibrozis gelişmez. Fibrozis karaciğer hastalığında hasarın en belirgin olduğu alanda başlar. Örneğin alkolik hepatitte belirleyici olan perisentral hepatiti takiben egemen olarak perisentral fibrozis başlar. Süregen hasarda

fibrozis, yılları kapsayan bir süreçtir. Fakat sekonder biliyer siroz ve venooklüziv hastalıkta istisnaen fibrozis çok hızlı olabilir. Karaciğerde fibrozis geliştiğinde ekstrasellüler matrikste hem niteliksel hem de niceliksel değişiklikler gözlenir. Yara iyileşmesinde tipik olarak görülen, fibril oluşturan Tip I, III, IV kollajenlerde proteoglikan, tip IV ve VI gibi non-fibriler kollajenler ve glikozaminglikanlarda, artış görülür. Böylece subendotelyal alanda ekstrasellüler matriksin tipinde normal düşük dansiteli bazal membran benzeri matriksten, interstisyel tipe değişim olduğu görülür. Bu durum hepatik fonksiyonlarda, stellat hücrelerinde ve endotel hücrelerinde görülen metabolik disfonksiyonu açıklar özelliktedir. Yüksek dansiteli matriks oluşumu, hepatosit mikrovillüslerinde kayıp, endotel fenestrasyonunda kayıp ile sinüzoidlerden solut maddelerin taşınmasında bozukluk ile hepatik stellat hücreleri aktivasyona sebep olur. Böylece karaciğer hücreleri ile kan dolaşımı arasındaki madde alış-verişini engelleyen sinüzoidal kapillarizasyon meydana gelmiş olur.

Hepatik fibrozisin anlaşılmasında en önemli aşama ekstrasellüler matriksin hücresel elemanlarının (ki en önemlisi stellat hücreleridir) anlaşılması olmuştur. Ayrıca epitelyal ve kemik iliği kök hücrelerinden köken alan fibroblastlar matriks oluşumunda rol alır. Stellat hücreleri (Ito hücreleri, perisit veya liposit) hepatositler ve sinüzoidal endotel hücreleri arasındaki subendotelyal Disse boşluğunda yer alır ve non-parankimal hücre popülasyonunun üçte birini oluşturur. Vücutta retinoidlerin %40-70'inden sorumlu vitamin A'nın başlıca depo yeridir. Bu hücreler hepatosit, endotel hücreleri ve sinir lifleri arasında iletişim sağlar. Hepatik fibrojenizdeki esas hücrelerdir. Hepatosit hasarına sekonder olarak salınan sitokinlerin etkisiyle aktive olarak fibrojenetik, proliferatif, kontraktıl myofibroblastlara dönüşür. Stellat hücre proliferasyonu, hepatosit hasarının en fazla olduğu yerde meydana gelir. Sinüzoidal endotel hücrelerinin de erken fibroze katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Tip III ve IV kollajen ve fibronektin hücresel izoformlarının artan yapımı ve stellat hücrelerinin aktivasyonuna yol açan mikroçevre oluşturarak akut karaciğer hasarında anahtar rolü oynar.

Fibrozis, matriks yapımı ve parçalanması arasındaki bir dengeyi yansıtır. Ekstrasellüler matriksin parçalanması hepatik fibroziste anahtar rolü oynar. Matriks parçalanmasından sorumlu maddeler matriks metalloproteinazları denen çinkoya bağlı enzim ailesidir. Bu aile beş gruba ayrılır; interstisyel kollagenazlar (MMP-2,9, fibroblast aktivasyon proteini), jelatinazlar (MMP-3,7,10,11), stromelisinler (MMP-1,8,13), mebmran tipi (MMP-14,15,16,17,24,25), metalloelastaz (MMP-12). Bu maddeler matriks metalloproteinazlarının

doku inhibitörleri olarak bilinen TIMPs spesifik inhibitörlere bağlanarak inhibe edildikleri bilinir. Stellat hücreleri MMP-2 ve Stromelisin'in başlıca kaynağıdır. Sirozun temel karakteristiği MMP-2'nin belirgin artışıdır. Bu enzimler aracılığıyla normal karaciğer matriksi bozulur. Progresif fibrozisin temeli ise artmış interstisyel veya scar matriksinin parçalanma yetersizliğidir. İlerleyici fibroziste TIMP-1 ve 2'de belirgin artış izlenir ve proteinaz aktivitesinde belirgin azalma ile net sonuç karşı konulamayan matriks birikimidir. Bu inhibitörlerin de başlıca kaynağı stellat hücrelerdir. Stellat hücreleri aktive olunca ICAM-1, kemokin reseptörleri ve inflamatuvar reseptörleri uyarak lökosit kemoatraktanlarını salgılar. Hepatik fibrozisin başlangıç evresi, stellat hücre aktivasyonu sırasında sinüzoid epiteli, Kupffer hücreleri ve trombositler dâhil tüm hücrelerde görülen parakrin uyarılarla şekillenir. Endotel hücrelerinden fibronektin salınımı olur. Trombositler, trombositlerden köken alan büyüme faktörü (PDGF), TGF β 1 ve epidermal büyüme faktörü ile parakrin uyarılarda önemli rol oynar. Kupffer hücre aktivasyonu ile sitokin salınımı, stellat hücrelerden retinoid salınımı, serbest oksijen radikalleri oluşumu ve lipid peroksidasyonu ile başlangıç evresine iştirak eder. Hepatositlerde hasar, TNF ile ilişkili olarak apoptozisi başlatır. Hepatositlerden salınan apoptotik parçalar stellat hücreler için fibrinojenik uyarı ve Kupffer hücreleri için aktivatör özellik arz eder (16).

PDGF bilinen en güçlü stellat hücre mitojenidir. Stellat hücrelerden kollajen I üretimi için en güçlü uyarı, parakrin ve otokrin kaynaklardan meydana gelen TGF β 1'dir. TGF- β 1, İnterlökin-1 β (IL-1 β), Tümör Nekroz Faktörü (TNF), lipid peroksidasyon ürünleri ve alkol metaboliti olan asetaldehit aracılığıyla fibröz matriks üretimini uyarırlar. İnterstisyel matriks artımı stellat hücre aktivasyonunu daha da artırır. Hepatik fibrogenezin temeli matriks sentezi ve yıkımı arasındaki dengesizliktir (17). Matriks yıkımı, metaloproteinazlar (MMP), MMP-doku inhibitörleri (TIMMP) ve dönüştürücü enzimler (MT1-MMP ve stromelizin) arasındaki dengeye bağlıdır. Hepatik hasarda net sonuç normal bazal membran kollajen yıkımındaki artış ve interstisyel kollajen yıkımındaki azalmadır. Stellat hücrelerin kontraktilesi karaciğer fibrozisi sırasında portal basınç artışının en temel belirleyicisi olabilir. Son evre karaciğer sirozunda görülen kollajen bantlar çok sayıda aktive olmuş stellat hücre içerir. Stellat hücre kontraksiyonu ile sinüzoidlerin kasılması portal akıma engel olur. Kontraktile sürecinde stellat hücre çatısında bulunan actinin üretiminde artış söz konusudur. Actinin kontraksiyondaki rolünün tam olarak belirlenebilmesi, inaktivasyonu yoluyla portal

hipertansiyon tedavisine yeni bir açılım getirebilir. Kontraksiyon için major uyarıcı aktive olmuş stellat hücrelerde reseptörleri bulunan endotelin-1'dir. Endotelin-1, arjinin, vazopressin ve adrenomedullin stellat hücrelerde kontraksiyon oluşturarak sinüzodal kan akımını kontrol edebilir. Nitrik oksid (NO) düzeyindeki azalma stellat hücrelerdeki kontraksiyona zemin hazırlar. Hepatosit büyüme faktörü, olgun hepatositlerdeki DNA üretiminin en güçlü uyarıcıdır. Postnekrotik rejenerasyonu uyarır. Sadece karaciğer hücrelerinde değil, diğer dokularda ve tümörlerde de üretilmektedir (18). Birçok madde çalışılmış olmasına rağmen fibrozu gösteren güvenilir bir belirteç henüz bulunamamıştır. Bu belirteçlerin hiçbirisi fibroz derecelendirmesinde biyopsinin yerini dolduramamaktadır (11). Karaciğer sirozu morfolojik özelliklerine göre makronodüler, mikronodüler ve mikst tip; fonksiyonlarına göre aktif, inaktif; klinik evresine göre kompanse ve dekompanse olarak sınıflandırılmaktadır. Morfolojik sınıflamada karaciğerde görülen nodüllerin büyüklüğü esas alınır. Nodül büyüklüğünün hastalığın prognozu ve şiddeti ile ilişkisi olduğu bilinmekle birlikte bu sınıflama sadece nostaljik değeri açısından zikredilmektedir. **Mikronodüler siroz:** Kalın, düzenli septasyonlu ve değişik boyutlarda küçük nodüllerle tüm lobüllerin tutulduğu formdur. Nodül çapı 3 mm'den küçüktür. **Makronodüler siroz:** Değişik büyüklüklerde septa ve nodüller, daha büyük nodüllerde normal lobüller ile karakterizedir. Nodül çapı 3 mm'den büyüktür. Mikronodüler sirozda rejenerasyon makronodüler veya mikst görünüme yol açabilir. Mikronodüler form zaman içinde sıklıkla makronodüler forma dönüşür.

Etiyoloji:

- 1- Kronik Viral Hepatitler (Hepatit B,C,D)
- 2- Alkolik Yağlı Karaciğer Hastalığı
- 3- Non-alkolik Steatohepatit (NASH)
- 4- Otoimmün Hepatit
- 5- Primer Biliyer Siroz
- 6- Kistik Fibrozis
- 7- Sarkoidoz
- 8- Biliyer Atrezi
- 9- Progresif Familyal İntrahepatik Kolestaz
- 10- Primer Sklerozan Kolanjit
- 11- Alfa-1 Antitripsin Eksikliği
- 12- Hemokromatozis
- 13- Wilson Hastalığı
- 14- Galaktozemi
- 15- Tirozinemi
- 16- Glikojen Depo Hastalıkları
- 17- İlaçlara bağlı gelişen sirozlar
- 18- Toksinlere bağlı gelişen sirozlar
- 19- Paraziter hastalıklara bağlı gelişen sirozlar
- 20- Karaciğer konjesyonu ile birlikte seyreden Konjestif Kalp Yetersizliği
- 21- Budd-Chiari Sendromu
- 22- Uzun Süren Portal Ven Trombozu

Batı toplumunda alkol ve Kronik Hepatit C enfeksiyonu sirozun etyolojisinde önemli rol oynarken ülkemizde Kronik Hepatit B hala en önemli neden olarak karşımıza çıkmaktadır (12,19). Hastanemizde karaciğer sirozu ile takip ettiğimiz 505 hasta üzerinde yapılan etiyolojiye yönelik çalışmamızda etiyolojik dağılımda; Hepatit B % 72.9, Hepatit C % 8.1, alkol %2.4, Hepatit D süper enfeksiyonu % 17.8, Kriptojenik siroz % 11.1 tespit edilmiştir (20). ABD’de karaciğer sirozunun en sık sebepleri; %26 Hepatit C virüsü, %21 alkolik karaciğer hastalığı, %15 hepatit C ve alkol birlikteliği, %18 kriptojenik karaciğer sirozu, %15

hepatit B veya Delta süperenfeksiyonu, % 5 diğer sebepler şeklinde bildirilmiştir (19). Etiyolojisi belirlenemeyen sirotik hastalar kriptojenik siroz olarak sınıflandırılırlar.

2.1.3 Kriptojenik Siroz:

Yoğun tanısal değerlendirme sonrasında tanınabilir bir sebebin belirlenemediği hastalar kriptojenik siroz olarak sınıflandırılırlar. Siroz tanısı alan hastalar kriptojenik siroz olarak kabul edilmeden önce: parenteral kan veya kan ürünlerine, alkole ve hepatotoksik ilaca maruz kalmadıkları; seruloplazmin, alfa-1 antitripsin, ferritin kan düzeylerinin normal olduğu; viral belirteçlerin (HBsAg, HBV-DNA, anti-HCV ve HCV-RNA) negatif olduğu; antinükleer antikor (ANA), düz kas antikoru (SMA), anti-mitokondrial antikor (AMA) ve liver/kidney mikrozom tip 1 (anti-LKM1) antikorumun tespit edilmediği; primer biliyer siroz (PBS) ve primer sklerozan kolanjit (PSK)'in ekarte edildiği gösterilmelidir. Eski serilerde kriptojenik siroz sıklığı tüm sirotik olguların % 5 ile %30'unu teşkil ettiği bildirilmekteydi. Kriptojenik sirozun prevalansının % 5 gibi düşük tespit edildiği 1994 yılında Kadoli ve arkadaşlarının yayımladığı makalede çalışmaya alınan hastalarda HCV-RNA PCR ile belirlenmiş ve kriptojenik siroz tanısı alan hasta oranlarında anlamlı azalma izlenmiştir. Jeffers LJ ve arkadaşlarının 1992 yılında, kriptojenik kronik hepatitli ve sirozlu vakalarda yaptıkları retrospektif çalışmada hastaların yarısının fazlasının serumunda hepatit C virüsüne karşı antikor olduğu tespit edilmiş ve kriptojenik hepatitli vakaların etyolojisindeki major faktörün hepatit C virüsü olduğunu belirtmişlerdir (21). Ancak birçok çalışmada hala kriptojenik siroz oran % 10'ları aşmaktadır. Bu vakalarda altta yatan olası etiyolojiye yönelik çeşitli yorumlar yapmak mümkündür. Örneğin, bu hastaların gizli alkol tüketicisi olabileceği, tespit edilemeyen gizli viral bir etken olabileceği (non-B, non-C), sessiz seyirli oto-immün hepatit olabilecekleri veya NASH'in ilerlemiş formları olabileceği düşünülebilir (22). Sessiz seyirli oto-immün hepatitin sıklığı tam olarak bilinmemekle birlikte asemptomatik karaciğer enzim yüksekliği olan hastalarda yapılan bir çalışmada histolojik ve immüno-serolojik bulgular sıklıkla oto-immün hepatiti, ikinci sıklıkta da NASH'i telkin ettiği bildirilmiştir (23).

Non-B, non-C hepatiti transfüzyon sonrası görülen hepatitin yaklaşık olarak % 15'ini kapsamaktadır ve yıllarca varlığını sürdürebildiği iddia edilmektedir (24). Czaja ve arkadaşlarının kriptojenik, oto-immün ve viral hepatitli hastalarda yaptıkları çalışmalarında şiddetli kriptojenik hepatitli hastaların klinik özellikleri, genetik fenotipleri, kortikosteroid tedavisine olan yanıtları açısından otoimmün hepatitle anlamlı benzerlik gösterdiklerini ortaya

koymuşlardır. Bundan hareketle kriptojenik hepatitli hastaların konvansiyonel immüno-serolojik belirteçlerle tespit edilemeyen otoimmün bozukluklar olabileceğini iddia etmişlerdir (25). Yine benzer bir çalışma dizaynı ile yürüttükleri bir diğer çalışmalarında, kriptojenik hepatitli (özellikle şiddetli hepatiti olanlar) hastaların oto-immün hepatit gibi takip ve tedavi edilebileceği ve olumlu sonuçlar alınabileceğini bildirmişlerdir (26). Ülkemizden Kaymakoglu ve arkadaşlarının bu konudaki çalışmasında benzer bulgulara ve noktalara temas edilmiştir. Bu çalışmada kriptojenik siroz grubunda, özellikle ülseratif kolit ve PSK için yüksek spesifiteye sahip olduğu bilinen pANCA %50 oranında tespit edilmiştir (27). Targan ve arkadaşlarının çalışmasında tip I oto-immün hepatitli hastaların % 92'sinde pANCA pozitifliği gösterilmiştir (28). Ayrıca HLA-BW6 açısından kriptojenik grup ve otoimmün grup istatistikî anlamlılıkla yüksek tespit edilmiş. Hastaların tamamına prednizolon ve azotiopürin ile ortak tedavi protokolü uygulanmış ve alınan cevap oranları benzerlik göstermiş. Bu bulgulara istinaden şiddetli kriptojenik hepatitlerin, oto-immün hepatitin bir formu olabileceği düşünülmektedir.

NASH dünya genelinde yaygın görülen bir karaciğer hastalığıdır. Kesin prevalansı tam olarak bilinmemekle birlikte geniş serili bir çalışmada zayıf bireylerde % 2.4, obezlerde ise % 18.5 olarak gösterilmiştir (29). Klinik spektrumu basit steatozdan, fibrozis ile komplike olmuş şiddetli steatohepatite kadar geniş bir yelpaze çizer. NASH sıklıkla asemptomatik ve sessizce siroza kadar ilerleyebilen bir hastalıktır. Hastalık sıklıkla sessiz seyretmekle birlikte siroza ilerlemenin % 7–17 oranında olduğu bildirilmektedir.(22) Birçok çalışmada ulaşılan ortak nokta, hastalığın klinik seyrinin çok değişken olabileceğini ancak hastaların ortalama üçte birinin siroza progrese olduğunu göstermiştir (30). Siroza progresyonda obezite ve diyabetes mellitus önemli risk faktörleri olarak görülmektedir. Hastalarda sirotik histopatolojik morfoloji şekillendikten sonra NASH'e ait histopatolojik bulgular ortadan kalktığından, kriptojenik sirozlu hastaların geçmişte NASH olabileceği iddia edilmektedir. Bu iddialar sessiz seyredebilen bir antite olan NASH'in, kriptojenik karaciğer sirozunun zeminindeki temel patoloji olabileceği düşüncesini doğurmuştur (22). Bu konuda literatürde artan sayıda çalışma bulunmaktadır. NASH'li hastalarda, seri biyopsilerle yapılan çalışmalarda siroza ilerleyenlerin karaciğerindeki yağlı infiltrasyonun kaybolduğu gösterilmiştir. Hepatik yağlanma ve steatohepatitin kaybının, sirozda görülen sinüzoidal kapillerizasyona bağlı olduğu savunulmaktadır. Sinüzoidal kapillerizasyonda karaciğer

içindeki barsak orijinli lipopolisakkaritler gibi büyük molekül ağırlıklı proteinlerin hareketinde bozulma (31) ve portosistemik şantlara bağlı olarak kan lipidlerinin karaciğere ulaşmamasının bu değişikliği açıklayabileceği düşünülmektedir (32). Kriptojenik sirozlu ve diyabeti olan hastalarda karaciğer transplantasyonundan iki yıl sonra NASH gelişiminin histolojik olarak gösterilmesi de bu hususta bir delil olabilir (33). Kriptojenik sirozlularda diğer sirozlu hastalara oranla istatistikî anlamlılıkla daha yüksek obezite ve diyabet varlığı ortaya konmuştur (33-35). Calldwell ve arkadaşları, kriptojenik sirozluların genel özelliklerini sundukları çalışmalarında, hastaların diğer karaciğer hastalarına göre ağırlıklı olarak ileri yaş (yaş ortalamaları 63 ± 11) bayan (%70) olduğunu ve hastaların büyük bir çoğunluğunun tip-2 diyabet ve anamnezinde veya çalışma anında obezite olduğunu ortaya koymuştur (33). Bu bulgularla NASH'in siroz oluşumunda patogenezin "sessiz bir seyircisi" olmaktan ziyade potansiyel bir suçlu olabileceği görüşü ön plana çıkmaktadır. Sakugawa H ve arkadaşlarının çalışmasında, kriptojenik siroz sıklığını tüm sirozların yaklaşık % 10'unu oluşturduğunu gözlemlemişlerdir. Çalışmada kriptojenik sirozlularda tip-2 diyabet ve obezite sıklıklarını diğer etkenlere göre anlamlı olarak yüksek bulmuşlardır (sırasıyla %53ve %40) (35). Karaciğer nakli sırası bekleyen dekompanse kriptojenik sirozlu hastalarda yapılan vaka kontrollü çalışmada kriptojeniklerde diyabet ve obezite sıklığı %23 iken kontrol grubunda %5 bulunmuştur ($p=0.002$) ve bu yüksek diyabet ve obezite oranları, toplumdaki taramalarına göre de yüksek olduğunu ortaya koymuşlardır (34). Bu söz edilen çalışmalar daha ziyade obezite prevalansının yüksek olduğu batı toplumlarından yayınlanan çalışmalardı. Obezite prevalansının nispeten daha düşük olduğu toplumlarda da benzer sonuçlar yayınlanmıştır. Japonya'dan yakın zamanlarda yayınlanan bir çalışma, yine benzer şekilde kriptojenik sirozlarda diyabet ve obezitenin, viral etkenlere bağlı gelişen sirozlardan belirgin olarak daha yüksek sıklıkta izlendiği gösterilmiştir (36).

Öte taraftan karaciğer sirozuna bağlı hepatosellüler fonksiyonlarda bozulma çeşitli metabolik sonuçlar da doğurur. Karaciğer sirozu katabolik bir hastalıktır ve adipoz doku kitlesinde azalma ve sitokin seviyelerinde artışla seyreden proinflamatuvar bir durumdur. Karbonhidrat metabolizmasının temel düzenleyicisi olan karaciğerde fonksiyon bozukluğu ve portal hipertansiyona bağlı çeşitli değişiklikler gözlenmektedir. Hastaların hemen tamamında insülin rezistansı, %60-80'inde bozulmuş glukoz toleransı ve hastaların yaklaşık %20'sinde aşikâr diyabet gelişimi bildirilmektedir (37). Sirozda görülen aşırı kollateral oluşumu ve

sinüzoidal kapillarizasyona bağlı insülinin hepatik ilk geçiş eliminasyonunda azalma ve β -hücrelerden aşırı insülin sekresyonu nedeniyle hiperinsülinemi görülür (38). Karaciğer sirozunda insülin direncinin sebebine yönelik kanıtlar açık olmamakla birlikte olasılıkla insülinin kasta glukoz sentezini uyarmadaki yetersizliğine atfedilmektedir. Sirozda hiperinsülineminin kasta glukoz utilizasyonunu inhibe ederek insülin rezistansına sebep olabileceği düşünülmektedir (38). Karaciğer sirozunda görülen bu metabolik değişiklikler göz önünde bulundurulduğu zaman kriptojenik siroz etiyojisinde NASH'i işaret eden çalışmalardaki obezite ve diyabet prevalansına dayanan çalışmalarda steatohepatitin gereğinden fazla mı suçlandığına dair şüpheler uyandırmaktadır.

2.1.4 Karaciğer Sirozunda Tanı

Karaciğer hastalıkları tamamen rastlantısal olarak karşımıza çıkabileceği gibi, hastalığa özgü oldukça zengin belirti ve bulgularla da gelebilir. Tanı laparotomi veya laporoskopi ile direkt bakı ile konabilir. Ancak cerrahi müdahaleler karaciğer sirozunda hastalığın seyrinde sorunlara sebep olabileceğinden tanı amacıyla kullanılmamalıdır.

En sık görülen semptom yorgunluk ve halsizliktir. Sık görülen diğer semptomlar kilo kaybı, gastrointestinal sistem kanamaları, abdominal rahatsızlıklar ve karın ağrısı, sarılık, karında şişlik ve ayaklarda ödem, kaşıntı, dispne, şuur değişikliği, impotans ve sterilitte şeklinde sıralanabilir.

Fizik muayene etken olan hastalıklara bağlı olarak spesifik olabilmekle birlikte genellikle nonspesifiktir. Kaslarda incelme, yağ birikim kaybı ve derinin incilmesi, ince zayıf göğüs duvarı ile birlikte asit varlığı nedeniyle abdominal distansiyon, tipik hasta görünümüne sebep olur. Alkolik sirozlarda daha sık izlenmekle beraber, tüm sirozlularda tipik periferik bulgular izlenebilir. Spider anjioma, jinekomasti, palmar eritem, parotis hiperplazisi, beyaz tırnak, omak parmak, Dupuytren kontraktürü önemli periferik bulgulardandır. Portal hipertansiyona bağlı asit ve splenomegali diğer önemli bulgulardır. Hepatik ensefalopatide flepping tremor karaciğer hastalıklarına spesifik olmamakla birlikte dikkat çekici diğer bir bulgudur.

Karaciğer sirozunda tanıya giderken, oldukça zengin fizik muayene bulgularına ek olarak kullanılabilecek çok sayıda laboratuvar parametresi de mevcuttur. Tam idrar analizinde genellikle ürobilinojenüri izlenir. Dekompanse sirozlarda idrar sodyum miktarında düşme prognostik açıdan da önemli bir bulgudur. Sirotik hastaların % 75'inde anemi görülür. Bu

zaman zaman kanama ve hemolize bağı olabileceği gibi kronik hastalık anemisi de görülebilir. Daha sıklıkla alkolik hepatitlerde folat yetersizliği sebebiyle makrositer anemi görülebilir. Portal hipertansiyona bağı sekonder hipersplenizm nedeniyle lökopeni trompositopeni ve pansitopeni görülebilir. Protombin zamanında uzama karaciğerde sentezlenen koagülasyon faktörlerinin yetersizliğine bağıdır ve karaciğerin sentez kapasitesini gösteren önemli bir testtir. Biyokimyasal testler hastalığın aktivitesi ve evresiyle ilişkili testlerdir. Bilirubin, primer ve sekonder biliyer sirozlarda oldukça yüksek tespit edilir ve diğer etiyolojilerde de hastalık aktivitesi ve evresiyle ilişkili yükseklikler izlenebilir. ALT ve AST olguların bir kısmında normal olabilir ancak aktif sirozda yüksektir. Alkalen fosfataz bazı hastalarda yüksek olmakla beraber genellikle iki katı aşkın yükseklikler mutad değildir. Biyokimyasal parametrelerden en önemlisi aynı zamanda karaciğerin sentez kapasitesini de yansıtan serum albümin düzeyidir. Sirozda albümin düzeyinde düşme ve retiküloendotelyal sistemde aşırı antijenik stimulasyona bağı globülin yüksekliği sebebiyle normalde yaklaşık 1 olan albümin globülin oranı ters döner. Alkolik, otoimmün ve kriptojenik sirozlarda immünglobülinlerde artış gözlenir. PBS’de IgM artışı dikkat çekicidir. Serum elektrolit değişiklikleri özellikle hiponatremi ve hipokalemi renal hemodinamik değişikliklerin ve su homeostazının sık görülen bir komplikasyonu olarak karşımıza çıkar. Viral hepatitlerin etiyolojideki önemine istinaden hepatit B,C ve delta virüsünün serolojik belirteçleri araştırılmalıdır. Özellikle HBV-DNA ve HCV-RNA testleri çalışılmalıdır. Hastalar sirozda artmış hepatosellüler karsinom riski sebebiyle alfa-fetoprotein ile aralıklarla taranmalıdır. Etiyolojik incelemede 24 saatlik idrarda bakır düzeyi, serum plazmin düzeyi, alfa-1 antitripsin düzeyi, serum demir ve demir bağlama kapasitesi, ferritin düzeyi, serum transferrin saturasyonu, AMA, ANA, Anti-SMA, Anti-LKM1 düzeyleri incelenmelidir. Asit incelemesinde serum-asit albümin gradientinin 1.1’in üzerinde olması portal hipertansiyonun varlığı açısından %97 doğruluğa sahiptir. Asitli hastalarda, sirozun ayırıcı tanısında önemli bir testtir (39).

Ultrasonografi ucuz ve non-invazif bir görüntüleme yöntemi olarak sirozlu hastalarda yardımcı bir görüntüleme yöntemidir. Karaciğerin hipertrofisi veya atrofisi rejenerasyon nodüllerinin görülmesi, sol lobda büyüme, kaudat lob hipertrofisi yardımcı bulgulardır (40). Splenomegali varlığı, kollaterallerin görüntülenmesi, asit varlığı diğer yardımcı bulgulardır. Bilgisayarlı tomografi ve magnetik rezonans görüntüleme sistemlerinin karaciğer sirozunun

tanısında önemli yeri yoktur. Ancak ultrasonografide tanımlanamayan lezyonların değerlendirilmesinde ve hepatosellüler karsinomun tespitinde önemli yer tutarlar. MR anjiyografi, Budd-Chiari sendromunun tanınmasında ve portal ve splenik ven trombozunun tespitinde vasküler nedenlerin dışlanmasında kullanılır. Özofagogastroskopi, özofagus ve midedeki varislerin tanınmasında ve kanama ile komplike olan hastalarda diyagnostik ve terapötik öneme sahiptir.

Karaciğer sirozunun tanısında en kesin yöntem karaciğer biyopsisidir. Etiyolojide rol oynayan etken hakkında da bilgiler verebilir. Biyopsi perkütan, transvenöz ve laparoskopik olarak yapılabilir. Laparaskopide karaciğer, klinik değerlendirmeye göre daha doğru değerlendirilir. Sirozda kapsül normale göre daha açık renklidir. Üzerinde gri beyaz lekeler görülebilir. Karaciğerin ön yüzü değişik büyüklükte nodüllerle kaplıdır. Portal hipertansiyon varsa omentum ve periyetal peritonda genişlemiş vasküler yapılar görülebilir. İnceleme esnasında karaciğerden biyopsi de alınabilir.

2.1.5 Siroz Komplikasyonları

Siroz komplikasyonları en önemli morbidite ve mortalite nedenlerindendir. Siroz yıllık 27 bin ölüm ve 421 bin hastane yatışı ile Birleşik Devletler'deki onikinci ölüm sebebi olarak gösterilmektedir (41). Komplikasyonlar sebebiyle meydana gelen iş gücü kaybı ve harcanan para ülke ekonomilerinde önemli rakamlara ulaşmaktadır. Komplikasyonlar oluşuktan sonra tedavi güçleşmekte ve maliyet artmaktadır. Bu sebeple, uygun sağlık politikalarıyla, siroz etkenlerine karşı koruyucu önlemler daha akılcı bir çözümdür. Komplikasyonlar oluşuktan sonra tek tedavi şansı karaciğer transplantasyonudur. Fakat ülkemizde organ bağışı konusundaki geleneksel anlayış bu önemli tedavi seçeneğini yetersiz hale getirmektedir. Siroz komplikasyonları hepatosellüler disfonksiyon, portal hipertansiyon veya her ikisine bağlı gelişebilir. Sirozun önemli komplikasyonları; varisiyel kanama, asit, spontan bakteriyel peritonit, hepatosellüler karsinom, hepatorenal sendrom, hepatopulmoner sendrom ve hepatik ensefalopatidir. Bunlar aynı zamanda hepatik dekompanasyon bulgularıdır. Bu komplikasyonlar hastaların sağkalımlarını belirlemesi açısından da önem arz etmektedir. Hepatit C zemininde sirozlar için yapılan retrospektif bir çalışmada kompanze sirozlarda beş yıllık sağkalım %91 iken, dekompanze hastalarda bu oran %50'ye kadar gerilemektedir (42). Bu komplikasyonlara yönelik gelişen tedaviler, koruyucu önlemler ve uygun hasta yönetimi ile komplikasyon oranlarında azalma, sağkalım sürelerinde uzama izlenmektedir.

Karaciğer hastalığında birçok metabolik ve endokrin bozukluk göze çarpmaktadır. Portosistemik santrale bağlı hepatositten glukoz uzaklaşmasına bağlı ve insülin direncine bağlı hiperglisemiden, glukojenoliz ve glukoneogenezdeki yetersizliklere bağlı hipoglisemilere kadar birçok değişiklik görülmektedir. Safra bileşiklerinin kolestazı nedeniyle diyetle alınan lipidlerde ve yağda çözünen vitaminlerde absorpsiyon bozuklukları, safra itrahındaki bozukluklara bağlı olarak ikter, safra asitlerinin itrahındaki bozukluklara bağlı kaşıntı görülebilir. Karaciğer sirozunda hastalarda feminizasyon bulguları izlenir, bu bulgular testiküler atrofi, jinokumasti, erkek tipi kıllanmada azalma, pitüiter ve gonadal supresyon şeklinde sıralanabilir. Bu değişiklikler sex hormon bağlayıcı globulinin sentezindeki azalma, seksüel hormonların hepatik klirensinde bozulma, androjenlerin östrojene periferik aromatzasyonundaki artış veya bu faktörlerin tümüne bağlı olarak gelişir (43).

Karaciğer endojen toksinlerin olduğu gibi eksojen toksin ve bileşiklerin detoksifikasyonunu sağlayan esas organdır. Nonsteroidal anti-inflamatuar ilaçlar kanama ve bozulmuş olabilen renal fonksiyonlar üzerinde olumsuz katkısından ötürü kaçınılması gereken ilaçlardır. Bu ilaçlara bağlı transaminazlarda 10 katı aşan yükseklikler bildirilmiştir (44). Sitokrom P450 enzim sistemiyle metabolize olan ilaçların (özellikle menzodiyazepinler, warfarin, morfin vb) kullanımında dikkat edilmeli ve tüm ilaç kullanımında karaciğer hastalığı açısından doz redüksiyonu yapılmalıdır.

Sirozda efektif arteriyel volümün azalması ve renal hipoperfüzyona bağlı aktive olan renin-anjiyotensin-aldosteron sistemine sekonder anti-diüretik hormon salınımında artış izlenir. Böylece su homeostazisindeki bozukluğa bağlı olarak hiponatremi (serum sodyum değerinin <135 mmol/L olması) gelişmektedir. Hiponatremi sirozlu hastalarda mortalite belirteci olarak bağımsız bir risk faktörüdür. Çok merkezli prospektif bir çalışmada hiponatremi düzeyi, dirençli asit, hepatik ensefalopati, hepatorenal sendrom ve spontan bakteriyel peritonit ile korele bulunmuştur. Derin hiponatremide su kısıtlanması, gerekiyorsa hipertonic salin infüzyonu uygulanabilir. Vazopresin reseptör antagonisti (vaptans) ile yapılan yeni terapötik yaklaşımlar umut vaat eder niteliktedir (45).

Gastrointestinal Varisler: Özofageal varisler kompanse sirozların % 30'unda, dekompanse sirozların %60'ında tespit edilmektedir (46). Varisler portal hipertansiyonun direkt sonucu olarak ortaya çıkar ve portal basınç 10 mmHg'yi aştığı zaman varis oluşumu için risk artar. Özofagus varis kanaması karaciğer sirozunun en mortal komplikasyonudur.

Her özofageal varis kanama epizodu %20 mortalite riski taşır ve varis eradikasyonu sağlanmayan hastalarda varisin bir yıl içinde yeniden kanama olasılığı %70 civarındadır (47). Varisler en sık özofagusun distal 5 cmlik segmentinden kanar. Portal ven ile vena cava inferior arasındaki basınç gradiyenti 12 mmHg'yı aşarsa varislerin kanama riski artar. Varislerden kanama riskini arttıran temel faktör bu basınç gradiyentidir. Siroz tanısı alan her hasta varis varlığı ve derecesi açısından taranmalıdır. Endoskopik olarak varislerin çapı, üzerinde kırmızı işaretlerin varlığı gibi kanama açısından uyarıcı işaretler aranmalıdır. Özofagus varisleri portal hipertansiyona bağlı en önemli kanama nedeni olmakla beraber gastrik ve intestinal varisler, portal hipertansif gastropati ve anjiodisplaziler de kanama nedeni olabilir. Orta ve büyük çaptaki varislerde primer profilakside non-selektif beta-blokerler önerilmektedir. Bu tedavi ile portal basınç ortalama %15-20 azaltılabilirken, varisten kanama olasılığı %40 oranında azaltılmaktadır. Beta-blokerler olası yan etkileri nedeniyle dikkatle kullanılmalıdırlar. Beta-blokerler için doz, bazal kalp ritminde %25'lik azalma veya kalp atım sayısının 55-60 dk/vuru'ya indirilmesi hedefine göre titre edilmektedir. Tolere edemeyen hastalarda endoskopik band ligasyonu veya skleroterapi ile varis eradikasyonu önerilmektedir. Sekonder profilakside beta-bloker tedavisine endoskopik varisiyel band ligasyonu ile varis eradikasyonunun kombinasyonu günümüzde en tercih edilen tedavi yöntemidir. Akut varis kanamasında hastalar, artmış ölüm riskinin yanı sıra kontrol altına alınamayan kanamalarda erken tekrar kanama, enfeksiyon ve renal yetersizlik gibi mortal komplikasyonlarla da karşı karşıya kalmaktadır. Tedavide hastanın hızla hemodinamik reassisütasyonunun sağlanması ilk amaçtır. Tedavi yönetiminde, profilaktik antibiyoterapi, ensefalopati profilaksisi açısından laktuloz uygulaması, vazoaaktif ajanlarla (somatostatin veya analogları) portal basıncın düşürülmeye çalışılması ve endoskopik varisiyel band ligasyonu veya skleroterapi yaşamsal uygulamalardır. Mükerrer kanamalar hastaların yaklaşık olarak %20'sinde görülür ve tekrar endoskopik terapötik girişim veya portal dekompresyon düşünülebilir. Transjuguler intrahepatik portosistemik şant (TİPS) kontrol altına alınamayan kanamalı hastalarda, nakil yapılınca kadar zaman kazandırabilecek ancak komplikasyon oranı yüksek bir uygulamadır. Karaciğer transplantasyonu portal dekompresyonun en seçkin tedavi yöntemidir (48).

Asit: Karaciğer sirozunda asit portal hipertansiyonun direkt bir sonucu olarak ortaya çıkar ve dekompanse sirozun en sık görülen komplikasyonudur. Kompanse sirozların yaklaşık %50-60'ında 10 yıl içinde asit gelişir ve asit gelişiminden sonra iki yıllık sağ-kalım %50'lere

kadar geriler. Siroz, asitle gelen hastaların %85'inden sorumlu etiyolojik faktördür. Sıvı retansiyonu dolayısıyla asit oluşumunda ilk basamak portal hipertansiyonun gelişmesidir, portal hipertansiyonsuz sirozlarda asit ve ödem oluşmaz. Portal basıncın 12 mmHg'nin üzerine çıkması ve bunun sinüzoidal basınca ait olması gerekmektedir. Presinüzoidal portal hipertansiyonda predispozan başka faktör yoksa asit oluşumu beklenmez. Sinüzoidal portal hipertansiyon artmış nitrik oksit aktivitesi ile ve sistemik vazodilatasyon ile ilişkilidir. Bu durum azalmış efektif arteriyel volümle komplike olur. Kompanse dönemde artmış kardiyak output ile hiperdinamik durum gelişir. Renal perfüzyon azalınca sodyum ve su retansiyonu böylece dilüsyonel hiponatremi gelişir. Sinüzoidal basınç artışı hepatik lenf üretimindeki artışı tetikler, lenfatik drenaj kapasitesi aşıldıkça asit oluşumu görülür. Sirozda sentez kapasitesinin azalmasına bağlı oluşan hipoalbumineminin neden olduğu onkotik basınç azalmasının da asite katkısı mevcuttur. Yeni başlangıçlı tüm asitlerde enfeksiyonu dışlamak ve asitin sebebini ortaya koymak için tanısal parasentez yapılmalıdır. Serum-asit albümin gradientinin 1.1 gr/dL'nin üzerinde olması %97 doğrulukla portal hipertansiyonu işaret eder. Tedavi diyetteki tuzun 2 gr(88 mmol)/gün düzeyinde azaltılmasıyla başlar. Yatak istirahati artık önerilmemektedir. Diüretik tedavisine genellikle ihtiyaç duyulur. Birinci basamakta spironolakton, belirgin ödem varsa başlangıçta loop diüretikle tedavi başlanır. Genellikle 40 mg furosemid ve 100 mg spironolakton ile tedaviye başlanır. Elektrolit dengesine dikkat edilerek sırasıyla 100 ve 400 mg'a kadar doz yükseltilerek tedaviye devam edilir. Tedavi takibinde diüretiklere cevap hastanın günde 0.5-1 kg tartı kaybının olmasıyla değerlendirilir. Diüretik cevabı yetersiz olan hastalarda hastanın tuzsuz diyetle uyumu 24 saatlik idrarda sodyum takibi ile değerlendirilebilir. Eğer üriner sodyum atılımı hastaya önerilen sodyum alım miktarından fazlaysa hastanın tedavi uyumu yeniden gözden geçirilmelidir. Yani 88 mmol/gün sodyum alımı önerilen hastada eğer diyetle uyum varsa 24 saatlik idrarda 78 mmol/gün sodyum itrah ederek hasta kilo vermeye devam eder. Eğer idrarda 78 mmol/gün sodyum atılımı varsayarsa hastada kilo alımı söz konusu ise diyetle olan uyum yeniden gözden geçirilmelidir. Refrakter asit vakaların %5-10'unu oluşturur ve bu hasta grubunda iki yıllık mortalite oranları %50'nin üzerindedir. Refrakter asitlerde mükerrer yüksek volümlü parasentez uygulanmaktadır. Ensefalopati ve hemodinamik instabilizasyondan korunmak için alınan her bir litre asitin parasentezle alınmasına karşılık, hastaya 6-8 gr albümin replasmanı yapılması önerilmektedir. TIPS diğer bir tedavi seçeneğidir. Refrakter asitli tüm hastaların

karaciğer transplantasyonuna hazırlanması gerekmektedir (49). Refrakter asitlerde sempatik sinir sisteminin aktivasyonunun portal hipertansiyonun patogeneğinde rol oynar. Norepinefrin artışı ile proksimal renal tubullerde sodyum reabsorbsiyonunun artışı ve renin-aldosteron ve aldosteron artışı önemli rol oynar. Clonidine santral etkili bir α -2 antagonistidir ve sempatik sinir sisteminin inhibisyonu ile sirotik hastalarda diüretike dirençli hastalarda diüretike cevabı artırır. Lenaerts A ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada asitli hastalarda diüretike clonidinin eklenmesiyle tedavi etkinliği değerlendirilmiş. Çalışmaya alınan tüm asitli hastaların plazma norepinefrin düzeyi >300 pg/mL (normal 185–275 pg/mL) olacak şekilde yüksek bulunmuş. Bir gruba üç ay günde iki defa 0.075 mg clonidin oral olarak verilmiş. Diğer gruba plasebo verilmiş. Clonidin verilen hasta grubunda diüretike cevap süresinin kısalığı, daha düşük doz diüretik ihtiyacı, diüretik komplikasyonlar ve yüksek volümlü parasentez ihtiyacı istatistiki anlamlılıkla daha düşük bulunmuş. Sonuç olarak plazma norepinefrin düzeyi yüksek hastalarda diüretik tedavisinin clonidin ile kombinasyonunun tek başına diüretik kullanmaktan daha üstün olduğu gösterilmiştir (50).

Spontan Bakteriyel Peritonit: Genel anlamda, cerrahi tedavi endikasyonu olmayan asit enfeksiyonlarına, spontan asitik sıvı enfeksiyonları (SAİ) denmektedir. Yüksek oranda kronik karaciğer hastalıkları zemininde gelişir. Spontan bakteriyel peritonit (SBP) asitli hastaların yaklaşık %30'unda görülen tanısı diagnostik parasenteze dayanan sirozun çok önemli bir komplikasyonudur. Monomikrobia non-nötrositik bakterasit (MNB) tanısı, asit PMNL sayısının $250/\text{mm}^3$ 'den az olması, asit kültürde tek mikroorganizmanın üremesi ve intraabdominal cerrahiyle tedavi edilebilecek enfeksiyon kaynağı olmaması kriterleriyle konur. Kültür-negatif nötrositik asit (KNA), asit kültürde üreme olmaması, asit PMNL sayısının $250/\text{mm}^3$ veya daha fazla olması ve PMNL artışının başka bir nedene (asit içine kanama, peritonitis karsinomatoza varlığı, tüberküloz veya pankreatit) bağlı olmaması ile tanı alır. SBP tanısı, asit PMNL sayısının $250/\text{mm}^3$ veya daha fazla olması, asit sıvısı kültüründe tek bakteri üremesi ve sekonder bakteriel peritonitin ekarte edilmesiyle konur. SBP asiti olan siroz hastalarının sık ve ciddi bir komplikasyonudur. Fulminan karaciğer yetersizliği olan hastaların asitlerinde de SBP gelişebildiği bildirilmiştir. Tedavide üçüncü jenerasyon sefalosporinler oldukça etkilidir. İlk ataktan sonra bir yıl içinde rekürrens oranı %55 iken bir yıllık sağ-kalım %50'lere kadar gerilemektedir. Primer profilaksiste asit mayi total protein düzeyinin 1 gr/dL'nin altında olan hastalara antibiyotik profilaksisi başlanması hususunda

henüz konsensus oluşmamıştır. Sekonder profilakside florokinolonlar (norfloksasin 400 mg/gün veya siprofloksasin günde bir defa) önerilmektedir. Kinolonları tolere edemeyenler için amoksisilin-klavulanat ve trimetoprim-sulfametoksazol diğer etkili alternatiflerdir. SBP geçiren hastaların %30'u hepato-renal sendrom gelişme riski taşır. Bu risk hastalar tanı aldığında ilk 6 saat içinde 1.5 g/kg ve sonraki üç gün 1 g/kg albümin infüzyonu replasmanı ile anlamlı derecede azaltılabilir. Çalışmalarda antibiyoterapiye albümin infüzyonunun eklenmesinin yaşam süresi üzerinde olumlu katkısı olduğunu ve renal yetersizlik gelişme olasılığını %10'lara geriletmediği gösterilmiştir (50).

Hepatik Ensefalopati: Hepatik ensefalopati, portal hipertansiyon ve hepatosellüler disfonksiyonunun bir sonucudur. Barsak orijinli toksik maddelerin karaciğerde yeterince temizlenememesinden kaynaklanan nöropsikiyatrik bir tablodur. Klinik spektrumu, hafif derecede hafıza kaybı ve dikkat eksikliğinden konfüzyon ve komaya kadar değişebilen bir yelpaze içinde değişir. Tanı kriterlerine ve tanı için kullanılan testlerin mekanizmasına göre değişmekle beraber hepatik ensefalopati tüm sirotik hastaların %27-75'inde görülür (51). En yaygın görülen semptom uyku düzensizliğidir. Ancak hastalar duygu durum değişikliklerinden, konuşma bozukluğundan ve disoryantasyondan yakınır. Hastalığın patogenezi tam olarak aydınlatılamamıştır. Birçok faktör patogeneizde suçlanmakta bunlar; nörotransmitter yollarının düzensizliği, serebral kan akımındaki düzensizlikler, sistemik inflamatuvar yanıtıdır. Amonyak hipotezi, karaciğerde amonyağın metabolize edilmesinde bozukluk ve birçok nörotoksik etkisine dayanmaktadır. Amonyak aminoasitlerin, suyun ve elektrolitlerin nöronal membrandan geçişinde bozuklukla astrositlerde şişme ve beyin ödemeine sebep olarak bu tabloya katkıda bulunduğu düşünülmektedir. Amonyak en önemli toksin olmasına rağmen bozulmuş mental fonksiyonların tamamını buna atfetmek güçtür. Kan amonyak düzeyi ve klinik şiddeti arasında korelasyon bulunmamaktadır. Yalancı nörotransmitterlerin oluşumu, santral sinir sisteminin inhibitör bir nörotransmitteri olan gamma-aminobütirik asite (GABA) artmış duyarlılık, dolaşımdaki endojen benzodiyazepin düzeyinde artış, çinko eksikliği nedeniyle üre siklusu enzimlerinin aktivitesinde azalma, beyin miyoinositol miktarında azalma, bazal gangliyonlarda manganez miktarında artış, beyindeki protositoplazmik astrositlerde şişmenin de tabloya katkısı olabileceği düşünülmektedir. Hastalığın oluşmasında presipite edici faktörler önem arz etmekte ve bunlar; gastrointestinal kanama, kontrolsüz parasentezlere bağlı hemodinamik instabilite, enfeksiyonlar, elektrolit

embalansı, TIPS ve cerrahi şantlar, kabızlık, alkaloz, böbrek yetersizliği, fazla protein alımı, opioid ve benzodiyazepin benzeri sedatif ilaç kullanımı şeklinde sıralanabilir. Klinik bulgular psikometrik testlerle saptanabilecek kadar silik olabilir. Bu silik tabloyla gelen subklinik ensefalopatiler de eklenince sirotiklerde sıklığı oldukça yaygın bir komplikasyondur. Fizik muayenede asteriksis (flepping tremor), bilek klonusu, spastik paraliziler, ve fetor hepaticus saptanır. Tedavide ilk basamak presipitan faktörlerin ortadan kaldırılmasıdır. Koma tablosunda protein kısıtlaması, uygun hidrasyon ve antibiyoterapi başlanmalıdır. Non-absorbable sentetik disakkaridlerden laktuloz 30 gr, günde iki defa başlanmalıdır. Bu ajan kolona gelince bakteriler tarafından kısa zincirli yağ asitlerine çevrilerek kolonda asidifikasyona sebep olur ve H^+ amonyakla birleşerek absorbe olmayan amonyum iyonunun oluşmasını sağlar. Ayrıca barsakta florayı değiştirerek daha az amonyak oluşumu sağlar. Bu tedaviye yetersiz cevap durumunda absorbe olmayan neomisin ve rifaksimin gibi antibiyotiklerle kan amonyak düzeyi azaltılmaya çalışılır. Rifaksimin, neomisinde görülen ototoksikite gibi potansiyel riskleri taşımadığından daha uygun bir seçenektir. Ekstrakorporeal karaciğer destek araçları (molecular adsorbent recirculating system and single-pass albumin dialysis gibi) proteinlere bağlı toksinlerin temizlenmesinde etkili olmakla birlikte uzun dönem klinik etkileri açık değildir. Karaciğer transplantasyonu hepatic ensefalopatiye bağlı klinik durumu dramatik olarak düzeltir (52).

Hepatorenal Sendrom: Hepatorenal sendrom (HRS) ilerleyici renal yetersizlikle sonuçlanan sirozun geç bir komplikasyonudur. Bu klinik tablo düşük efektif arteriyel volume bağlı olarak azalmış renal perfüzyona cevaben gelişen renal vazokonstriksiyon ile karakterizedir. Hastalığın yıllık insidansı asitle komplike olmuş sirozlularda %8 civarındadır. HRS iki tipe ayrılır. Tip 1 iki haftadan daha kısa sürede serum kreatinin düzeyinin 2.5 mg/dL'nin üzerine yükseldiği veya kreatinin başlangıç değerinin iki kat üstüne çıktığı hızlı ilerleme gösteren böbrek yetersizliği ile karakterize bir hastalıktır. Kendiliğinden ortaya çıkabileceği gibi genellikle altta SBP, gastrointestinal kanama, major cerrahi gibi presipitan faktörler bulunur. Tip 1'de tedavisiz ortalama sağ-kalım iki haftadır. Tip 2 serum kreatinin düzeyinin 1.5 mg/dL'nin üzerine yavaşça yükseldiği ve renal fonksiyon kaybının zamanla azaldığı daha selim bir durumdur ve hastalığın temel özelliği refrakter asite eşlik etmesidir. Tip 2'de ortalama sağ-kalım yaklaşık 6 ay kadardır. Araya giren tetikleyici faktörlerle Tip 1'e

dönüşüm görülmektedir. HRS tanısı aşağıdaki kriterlerin tamamının karşılanmasıyla konur. Bu kriterler uluslararası asit kulübünün yakın zamanda revizyonu ile değiştirilmiştir:

1-Hastada siroz ve asit varlığı

2-Serum kreatinin düzeyinin >1.5 mg/dL (veya 133mmol/L)

3-Diüretik tedavisinin kesilmesinden ve albümin replasmanı (önerilen doz: 1gr/kg her gün günde maksimum 100 gr/gün) ile volüm ekspansiyonu sağlandıktan en az 48 saat sonra serum kreatinin düzeyinde (≤ 1.5 mg/dL'ın altına inmemesi) düzelme olmaması

4-Hastada şok tablosunun olmaması

5-Yakın zamanda veya halen nefrotoksik ilaç kullanım anamnezinin olmaması

6-Parankimal böbrek hastalığının olmaması (>500 mg/gün proteinüri, mikrohematüri >50 RBC/büyük büyütmede her alanda ve/veya ultrasonografide böbrekte anormal görünüm olmaması).

HRS tedavisinde midodrine ve alfa-adrenerjik agonist kombinasyonunun albümin veya octreotid tedavisine eklenmesi hastaların üçte ikisinde başarılı sonuçlar vermektedir. Hastalığın esas tedavisi karaciğer transplantasyonudur. Ancak TIPS'in hastalıkta başarılı sonuçlarını bildiren bazı çalışmalar mevcuttur. (52,53)

Portal Hipertansiyonun Pulmoner Sonuçları: Sirozlu hastalarda iki belirgin pulmoner vasküler bozukluk vardır: hepatopulmoner sendrom (HPS) ve portopulmoner hipertansiyon (POPH). İki tablo da aynı hastada görülebilir. POPH hastaların %0.5-5'inde görülen doppler ekokardiyografi ile sağ ventrikül sistolik basıncının artışı ve dispne, göğüs ağrısı, senkop ve kardiyomegali ile kendini gösteren sirozun evresiyle ilişkisiz bir komplikasyonudur. Tedavisi diğer pulmoner hipertansiyon hastalarıyla benzerdir. HPS sirotik hastaların yaklaşık %8-17'sinde görülebilen ve ortalama sağ-kalımı 40 aydan 11 aya kadar düşüren önemli bir komplikasyondur. Hastalık intrapulmoner vasküler dilatasyonun indüklediği arteriyel oksijenasyon bozukluğundan ve arteriyovenöz şantlar sonucu gelişen sağdan sola akıma neden olan intrapulmoner şantlardan kaynaklanmaktadır. Etiolojide karaciğerin sirkülasyondaki epinefrin, glukagon, endotelin-1, nitrik oksit, somatostatin ve tromboksan A_2 gibi pulmoner vazodilatatörleri metabolize edememesi suçlanmaktadır. Hastalarda tipik olarak ilerleyici dispne, platypne (supin pozisyonundan ayağa kalkınca dispne artışı), ortodoksi (sırtüstü yattığı zaman düzelen ayağa kalkınca artan arteriyel desatürasyon) ve siyanoz görülür. Tanı kan gazı, solunum fonksiyon testleri ve kontrast ekokardiyografiye

dayanmaktadır. Pulse oksimetri düzeyinin ≤ 97 , parsiyel arteriyel oksijen basıncının < 80 mm/Hg, bazal alveolar arteriyel oksijen farkının > 20 mm/Hg olması hastalıktan şüphelenmeyi sağlar ancak kesin tanı makroagregatlı albümin akciğer perfüzyon sintigrafisi ile konulur. Halen semptomatik oksijen tedavisinden başka karaciğer transpalntasyonu haricinde başarılı bir tedavisi yoktur (54).

Hepatosellüler Karsinoma: ABD’de yıllık hepatosellüler karsinoma (HCC) insidansı kompanse sirozlularda %1.4, dekompanse sirozlularda %4’tür. Hastalık için en önemli risk faktörü sirozdur. Sirozda HCC taramasının 6 ayda bir ultrasonografi veya diğer görüntüleme yöntemleriyle ve alfa-fetoprotein ile yapılması önerilmektedir. Taramadaki amaç lezyonların erken tanısı ve hastaların radyofrekans ablasyon, etanol ablasyon veya kemoembolizasyon ile erken müdahalesidir. Eğer küçük lezyonlar tespit edilirse karaciğer transplantasyonu en seçkin tedavi yöntemidir. Siroz olmayanlarda rezeksiyon önerilmektedir. Karaciğer transplantasyonu için başarılı sonuçlar ≤ 5 cm tek nodül, ≤ 3 cm iki veya üç nodül varlığı, vasküler invazyon veya ekstrahepatik yayılım bulgusunun olmaması durumunda bildirilmektedir (55).

2.1.6 Karaciğer Sirozunda Tedavi

Sirozda tedavinin ana hedefleri, hastalığın ilerlemesini yavaşlatmak veya geri çevirmek, komplikasyonları önlemek ve tedavi etmek, karaciğer transplantasyonu için uygunluğu ve zamanlamasını saptamaktır.

Günümüzde karaciğer hasarının altında yatan etiolojik nedeni uzaklaştırmak fibrozisi önlemenin en etkili yoludur. Etkin davranılırsa bu yaklaşım çok olumlu sonuçlar verebilmektedir. Örneğin hemokromatozis ve Wilson hastalığında demir ve bakırın uzaklaştırılması, alkolik hepatitte alkolün kesilmesi, viral hepatitlerde replikasyonun baskılanması ve biliyer hastalıklarda uygun yöntemlerle biliyer drenaj sağlanması tedavide önem arz eden unsurlardır. Kronik viral hepatitlerle ilgili tedavilerde yakın zamanda olumlu ilerlemeler kaydedilmiştir ve bu hastaların tedaviye yanıt verenlerinde anlamlı histolojik iyileşmeler görülmektedir.

İnflamatuvar mediatörlerin stellat hücre aktivasyonuna ve sirozda hasarı arttırmadaki bilinen katkılarından dolayı çeşitli anti-inflamatuvar ilaçlar kullanılsa da henüz standart bir tedavi oluşmamıştır. Ursodeoksikolik asit (UDCA)’ın primer biliyer siroz ve otoimmün hepatitte bu anlamda başarılı olduğunu gösteren çalışmalar vardır. Stellat hücreler fibrogenizde merkezi rol oynayan hücrelerdir. Fumagilin, Y-27632, Rapamisin, Pentoksifilin,

Halofuginon stellat hücrelerini inhibe edici etkiye sahip olmakla birlikte bu ilaçlarla ilgili çalışmalar henüz devam etmektedir.

Sirotik hastalarda bazen cerrahi tedavi gereksinimi de doğar. Varisiyel kanamalarda çeşitli şant operasyonları uygulanabilmektedir. Ancak sirozunda cerrahi tedaviden esas kasıt karaciğer transplantasyonudur ki dekompanse sirozda en seçkin tedavi yöntemidir. Hekim ve hasta için karar vermesi son derece güç ve kompleks bir tedavi seçeneğidir. Nakil için sıra bekleyen hasta havuzunun büyük olması ve donör sayısının yetersizliği transplantasyon için çözülmesi gereken önemli problemdir.

2.2 HEREDİTER HEMOKROMATOZİS

2.2.1 Tanım ve Tarihçe

Vücutta aşırı miktarlarda demir birikimi çeşitli organ ve sistemlerde özellikle karaciğer, pankreas ve diğer endokrin organlarda ve kalpte hasara sebep olur. Truousseau ilk defa 1865 yılında hemokromatozisli bir olguyu literatüre sunmuştur. Yirmibeş yıl sonra 1889'da von Recklinghausen, artmış deri pigmentasyonu ile giden bir kan hastalığı olarak düşünerek bu hastalığı *hemokromatozis* olarak tanımlamıştır. Sheldon, 1935 yılında kendi kayıtlarından oluşan 311 vakalık serisini literatüre sunmuştur. Sheldon hastalığın doğuştan gelen bir demir metabolizma bozukluğu olduğunu ve hastalıktaki temel patolojinin de artmış demir depozitlerinin organları etkilemesiyle ortaya çıktığını düşünmüştür. Simon ve arkadaşları 1976 yılında Herediter Hemokromatozis (HH) genlerinin 6. kromozomun kısa kolunda HLA bölgesinde olduğunu göstermişlerdir. HH'den sorumlu olduğu tespit edilen HFE'nin iki major mutasyon olan C282Y ve H63D'nin 6. kromozomda tespiti ve test edilmesi 1996 yılında başarılmıştır. Primer HH'nin en yaygın formu HFE'nin C282Y mutasyonuna bağlı olup bu mutasyonun sıklığı kuzey Avrupa kökenlilerde yaklaşık olarak 1/250'dir. Ancak hikâyenin sonu değildi bu gelişmeler, muhtemelen bu genler demir homeostazisini düzenlemede transpot proteinlerini ve transkripsiyon faktörlerini kodlamamaktadır. Ancak yine de HH tanılı hastaların birçoğunun C282Y mutasyonu açısından homozigot veya compound heterozigot olduğu bilinmektedir. Bu buluşun akabinde demir homeostazisinde ve regülasyonunda görevli çeşitli protein ve gen bulunmuş ve böylece demirin hücre içine alınması ve salınması daha anlaşılır olmuştur. Örneğin hemojuvelin, ferroportin, hepsidin, divalent metal transporter-1 ve transportin reseptör-2 proteinlerini

kodlayan genlerdeki bozukluklar da demir birikim ile sonuçlanır ve bunlar hemokromatozisin non-HFE formları olarak isimlendirilirler. Ayrıca birçok klinik ve patofizyolojik çalışma ile aile taraması ve tanı konusunda önemli gelişmeler olmuştur.

Hemokromatozis kelimesi demir birikim hastalıklarının tamamını kapsayan bir terimdir. Bu demir birikim hastalıklarından bazısının altında hastalığı oluşturacak herhangi bir bozukluk bulunmamaktadır ve bunlar “*primer*” olarak tanımlanmaktadır. Diğerleri başka hastalıklara sekonder gelişmektedir ki bunlar; ineffectif eritropoezis, talasemiler, konjenital diseritropoietik anemiler, pirüvat kinaz eksikliği gibi eritrosit enzim defektleridir. HH demir homeostazisi ile ilgili çeşitli genlerde mutasyonlardan kaynaklanan, otozomal resessif geçişli bir demir metabolizma hastalığıdır ve erken tanı ve uygun tedavi ile tüm hastalar normal bir yaşam sürebilmektedir (56,57).

2.2.2 Demir Metabolizması

Demirin biyolojik önemi eski çağlardan beri bilinmesine rağmen hücresel düzeyde moleküler kontrol, emilim, depolanma, organizmada demir döngüsünün moleküler yolları son yıllardaki yeni protein ve genlerin keşfi ile daha anlaşılır hale gelmiştir. Demir pek çok canlı için esansiyel bir elementtir. Elektron alıp verme yeteneği ile oksijen taşınması, enerji yapımı, DNA, RNA ve protein sentezinde yer alır. Pek çok enzimin yapı ve fonksiyonları için gereklidir. Demir vücut sıvılarında daima iki oksidasyon durumu olan ferrik (Fe^{+3}) veya ferröz (Fe^{+2}) şekilde bulunur. Demirin bu elektron değişimi, redoks aktivitesi, bir yandan olumluyken öte yandan demir fazlalığı durumlarında oluşan serbest demir, prooksidan olarak serbest oksijen radikallerinin yapılmasına yol açar. Antioksidanlar tarafından yeteri kadar detoksifiye edilemeyen serbest oksijen radikalleri ileri derecede zararlı ve toksiktir. Bu nedenle demir serbest bırakılmamaya çalışılır. Transferrinle taşınır, ferritinde depolanır ve böylece organizmada demir konsantrasyonu çok sıkı bir denetim altındadır.

Organizmada bulunan demirin % 60-70'i hemoglobinde ve dolaşan eritrositlerde, % 10'u miyogloblin ve sitokromlarda ve demir içeren enzimlerde bulunur. Kalan %20-30'u ihtiyaç halinde kullanılmak üzere başlıca karaciğer ve retikuloendotelial sistem makrofajlarında olmak üzere depolanır. Organizma demiri yararları nedeniyle sıkı bir şekilde korumaya programlanmıştır. Fazlası toksik olan bu elementin vücuttaki miktarının devamlılığı intestinal emilimin ile düzenlenir. Organizmadan fazla demirin atılımı ile ilgili bir mekanizma yoktur. Kanamalar, gastrointestinal sistemden dökülen epitelial hücrelerle az miktarda kayıp ve aşırı

miktarda demir birikimi olan hastalarda demir yüklü makrofajların dökülmesinden başka demir kaybı olmaz. Yani aşırı demir birikiminin altında yatan gerçek, demirin intestinal mukozadan emilimindeki bozukluktur.

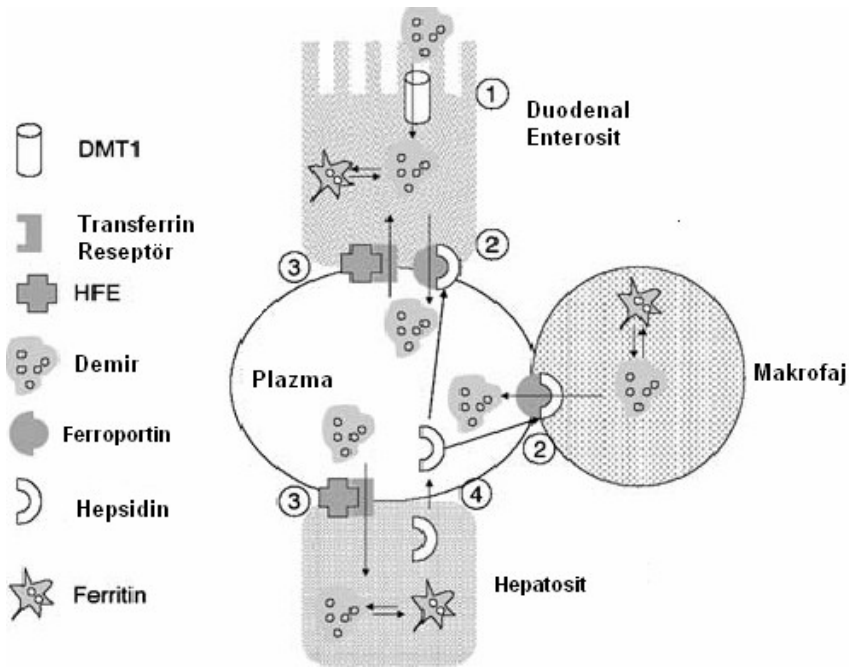
Demirin Emilimi: Demirin diyetten emilimi görece zor bir durum olup diyetle alınan demirin %10'u (yaklaşık olarak 1 mg) emilebilir. İnsanlarda demirin vücuttaki düzeyi genellikle oldukça sabit olup esas olarak eritropoietik aktivite için günlük demir ihtiyacı yaklaşık 20 mg kadardır. Duodenal enterositlerden yaklaşık olarak 1-2 mg/gün demir alınır ve enterositlerden dökülme ile de yine bu oranda demir kaybedilir. Demir havuzu oldukça değişkenlik göstermek kaydıyla hepatik demir reproduktive çağıdaki kadınlarda yaklaşık 300 mg'dan erişkin erkeklerde 1 gr' kadardır. Hemokromatozisli hastalarda bu oran 25–30 grama kadar ulaşabilmektedir. Günlük demir emilimi bu hastalarda 3-5 mg/gün'e ulaşırken günlük atılım ancak 2-3 mg ile sınırlı kalmaktadır.

Demir intestinal lümeninden et ile alınan (hemoglobin ve miyoglobinden kaynaklanan) organik hem demiri ve et dışı kaynaklardan alınan inorganik demir olarak emilmektedir. Et yemekle alınan hem demiri ve et dışı kaynaklardan alınan inorganik demirin emilim yolları birbirinden oldukça farklıdır.

Hem demir emilim mekanizması; ette bulunan hemoglobin barsakta intestinal enzimlerle hem ve globuline ayrılmakta globulin yıkım ürünleri hemi ve inorganik demiri solubul halde tutarak emilimini kolaylaştırmaktadır. Hem demiri emilimi için inorganik demirde gereken duodenal düşük pH ve emilimi kolaylaştıran askorbik asit, sitrik asit gibi faktörlere gereksinim yoktur. Besinlerde bulunan demir bağlayıcılardan da etkilenmez. Hem demiri ferröz (Fe^{+2}) formda olup, demir eksikliği olduğunda emilimi 2-3 kat artmaktadır. Hem, duodenal enterosite eskiden hem vesikülü denilen şimdi ise yeni tanımlanan hem taşıyıcı protein 1 denilen özel bir taşıyıcı ile girer. Mukozal hücre içinde hemin hem oksijenaz enzimi aracılığıyla proporfirin halkası açılır, demir açığa çıktıktan sonra birleşerek aynı şekilde devam eder. Enterositte plazmaya çıkarken inorganik demirle aynı yolu kullanır.

Besinlerle alınan hem dışı demirin çoğu ferrik (Fe^{+3}) demir şeklinde olup, solubilitesi ve lümeninden duodenal villüsta enterosite alımı için lümen içi pH'yı düşüren mide asiditesine gereksinimi vardır. Ferrik (Fe^{+3}) DMT1 ile taşınmadan önce ferröz forma indirgenmelidir. Bu indirgenme reaksiyonu ferredüktaz enzimi aracılığıyla yapılır. İnorganik demirin emilimi çok kompleks ve moleküler olarak çok sıkı kontrol gerektiren bir sistem içinde

düzenlenmektedir. Emilimde ilk basamak bu ferrik demirin membrana bağlı bir redüktaz olan ve askorbat bağımlı duodenal sitokrom b (DCYTB) (ferriredüktaz olarak fonksiyon gören bir enzimdir) tarafından ferröz şekle (Fe^{+2}) redükte edilmesidir. Son çalışmalarda başka redüktazların varlığı da gösterilmiştir. Fe^{+2} olgun enterositin lümene bakan yüzeyinde bulunan divalen metal transporter 1 (DMT1) ile luminal yüzeyden enterosit içine alınır. DMT1 nonhem demir alımını sağlayan en önemli proteindir. Gerek DCYTB' in gerekse DMT1'in sentezi demir eksikliğinde artmaktadır. Bunların sentezi de IRP/IRE sistemi ile düzenlenmektedir. Enterosite alınan demirin bir kısmı ferritin şeklinde depolanır ve duodenal eksfoliasyon ile atılır. Organizmada demir ihtiyacı varsa, emilimden sonra enterositin bazolateral tarafına taşınır ve oradan insanda bilinen tek demir atıcısı olan ferroportin ile plazmadaki transferrine yüklenir. Ayrıca ferroportinin intestinal mukoza hücrelerinin mikrovillilerinde de bulunduğu ve demirin emiliminde rol oynadığı iddia edilmektedir. Fakat önce seruloplazmin homologu ve bir transmembran proteinini olan hephaestin ile Fe^{+2} , Fe^{+3} haline okside edilmelidir. Demirin bazolateral tarafından transferrine nasıl yüklendiği tam olarak bilinmemektedir. Ferroportin aracılığıyla demirin hücreden çıkışı önemli bir sınırlayıcı basamak olarak kabul edilmektedir. Birçok Hemokromatizis tipinde plazma transferrin saturasyonu artmıştır. Bu yalnızca demirin oral alımından hemen sonra değil alım olmadan da yüksektir. Bu da hemokromatoziste demir transport anormalliklerinin yalnızca mukozal hücrelerle olmadığını muhtemelen diğer doku hücrelerinin de katkısının olduğunu düşündürmektedir. Vücuttaki demir dengesi *Şekil 1*'de gösterilmiştir.



Şekil 1: Vücutta demir dengesi. Birinci Basamak: DMT1 aracılığıyla demirin matür enterositlerin içine alınışı. İkinci Basamak: Ferroportin aracılığıyla demirin enterosit ve makrofajlardan sirkülasyona geçişi. Üçüncü Basamak: Duodenal enterositlerde ve hepatositlerde transferin reseptör-2 ve HFE kompleksi aracılığıyla sirkülasyondaki demirin transferrine yüklenmesi. Dördüncü Basamak: Hepatositte hepsidinin üretimi ve sirkülasyona salınımı.

Hepsidin özellikle duodenal enterositlerde ve makrofajlara ferroportinin aktivitesini azaltmaktadır (ikinci basamak).

Demirin hücreler tarafından alınması: Demir karaciğer tarafından bol miktarlarda sentezlenen bir glukoprotein olan transferrin tarafından taşınır. Ferroportin ile enterosit dışına alınan ve hefaestin ile okside edilerek Fe^{+3} forma dönüştürülen demir transferrine yüklendikten sonra ağırlıklı olarak eritrosit öncülleri olmak üzere hücelere taşınır. Her transferrin molekülü iki tane ferrik demiri güçlü bir şekilde bağlar. Hefaestin eksikliğinde duodenal enterositlerde demir fazlalığı ve demir emilim bozukluğuna bağlı hipokrom mikrositer anemi olduğu gösterilmiştir. Hücreler çeşitli şekillerde demiri alırlar. Makrofajlar önce fagositte ettikleri sirküle eden yaşlı eritrositlerdeki hemoglobinden demir alırlar. Eritrosit yıkılması ile oluşan hemoglobinden hemoksijenaz ve biliverdin redüktaz ile demir ve bilirubin meydana gelir. Makrofajların vakuolar membranlarından demir transportu 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. Ferroportin enterositte olduğu gibi hücrenin tek demir atıcısıdır. Makrofajdan demir plazmaya verilirken transferrine yüklenebilmesi için yine ferrik forma dönüştürülmeli ve okside edilmelidir. Bu oksidasyon ve tansferrine yüklenme işinde plazmada bakıra bağlı ferrioksidaz olan ve karaciğerde sentezlenen seruloplazmin rol almaktadır. Hepatositlerin demir alımı transferrin reseptörleri (TfR1, TfR2) aracılığı ile olur. Hepatositler portal dolaşımdan aldıkları demiri depolarlar ve gerektiğinde ferroportin yolu ile tekrar dolaşıma verirler. Diğer tüm hücreler demiri hücre yüzeyinde bulunan transferrin reseptörlerini kullanarak plazma transferrininden almaktadırlar. Normal şartlarda transferrin demirle saturasyonu (TS) % 30 orandadır. Transferrinin demir bağlama kapasitesi tamamen dolduğunda plazmada serbest transferrine bağlı olmayan demir oluşur. Bu demir özellikle karaciğer, kalp hücrelerine ve endokrin organlara kolaylıkla girebilir ve hücresel düzeyde hasar oluşturabilir.

Hücresel olaylarda demir ihtiyacı olduğunda plazmadaki diferrik transferrin (holotransferrin), ihtiyaca göre sentezi belirlenen ve hücre yüzeyinde bulunan transferrin resöptörüne (TfR) bağlanır. Transferrin-TfR1 kompleksi hücre içine alınır ve bir endozom oluşur. Endozom içi pH düşürülerek, transferrin demirden ayrılır, demir Fe^{+2} formuna redükte edilir. Endozomal membrandan demirin stoplazmaya geçişi DMT1 aracılığıyla olur. Stoplazmada demir ya mitokondiride hem sentezine ya ferritin şeklinde depolanmaya ya da diğer metabolik işlerde kullanılmaya gider. Demirini bırakmış transferrin yani apotransferrin-Tf-reseptör kompleksi tekrar hücre yüzeyine gönderilir ve transferrin tekrar kullanılmak üzere plazmaya salınır. İki ayrı genle kodlanan TfR1 ve TfR2 şeklinde, iki farklı transferin reseptörü vardır. TfR1 enterosit kript bazolateral kısımda ve demiri transferinden alan tüm hücrelerde milyonlarcası da kemik iliği eritrosit öncüllerinde bulunur. TfR2 TFR1'in homoloğu olup bu reseptöre diferrik transferin bağlanır. TFR1'in tersine tüm hücrelerde değil ençok karaciğerde, kan hücrelerinde, duodenal kript hücrelerinde bulunur. TfR2 demir depoları sinyallerini karaciğere iletmede önemlidir. TfR2 gen mutasyonunun herediter hemakromatosis'e yol açması ve hepsidin ile ilişkisi ortaya konmuştur. Serum transferrin reseptör (sTfR) düzeyi ölçümü direkt olarak organizmanın demire olan ihtiyacını göstermektedir. Ayrıca serum TfR'nin kaynağı olgunlaşan eritroid hücrelerden dökülen TfR olduğu için de serumda sTfR

ölçümü, plazma demir döngüsü (PIT) gibi ve ondan çok daha kolay şekilde eritropoetik aktivite düzeyini tahmin etmek amacıyla kullanılabilir.

Organizmadaki demir dengesi: Hücresel düzeyde demir regülasyonunun moleküler kontrolü; demirin taşınması, depolanması, kullanımı ile ilgili tüm ana proteinlerin sentezi posttranskripsiyonel düzeyde hücre içi demirle düzenlenmektedir. Bu düzenlenme sitoplazmada bulunan ve hücre içinde demiri hisseden, hücre demir sensör proteinleri olan ‘iron regülasyon proteinleri’ IRP’ler ile demir proteinlerinin mRNA’ları üzerinde 30 nükleotidik bölgeyi içeren ve ‘iron responsive elementler’ denilen IRE’ ler arasındaki ilişkiye bağlıdır. Ferritin, ferroportin ve delta aminolevulinik asit sentetazdaki (eALA-S) IRE motifleri 5’ non coding bölgesindedir. Transferin resöptör 1 ve DMT1 gibi demir transportunda yer alan proteinlerin IRE bölgeleri onları kodlayan mRNA’ların 3’ bölgesinde bulunurlar. Bu iki farklı yerlerden bağlanma tamamen farklı etkilere neden olur. Hücre içinde demir eksikliği olduğunda IRP’lerle IRE’ ler bağlanırlar. Bu bağlanma transferin resöptörü (TfR) ve DMT1’ in degradasyonunu azaltıp, translasyonunu artırırken, ferritin, ferroportin ve eALA-S’ ın sentezlerini durdurur. Hücre dışı demir konsantrasyonu normal sınırlarda iken hücre demir dengesi IRP/IRE sistemi ile düzeyleri ayarlanan proteinlerle düzenlenmekte, stoplazmik demir miktarına göre gereğinde demir alımı gereğinde depolama yapılmaktadır. Hücre demir fazlalığında ise IRP yapısal olarak değişip IRE’ lere bağlanamayacağı için TfR mRNA stabilizasyonu bozulup, degradasyonu artıp hücre demir alımı dururken, ferritin sentezi artarak ortalıkta bulunan demir de depolanır.

Organizmanın sistemik demir dengesi: İntestinal demir emilimi IRP/IRE sistemi tarafından regüle edilmektedir. Demirin sistemik regülasyonunu duodenal olgun enterositlerin ne kadar demir alacakları apikal DMT1 düzeyine bağlıdır ve bu düzey bazoleteral taraftan HFE ile sinyal alan kript hücrendeki demir miktarının etkilediği IRP/IRE sistemi tarafından ayarlanır. Kript HFE’si plasmadaki TfR1 ile fizyolojik ilişkisi ile organizma demir durumunu hissederek kript içi demir miktarını belirler. HFE β_2 mikroglobülinle hücre yüzeyine gelip demirle doymuş transferrinle temas edip kriptte demir alınmasını sağlar. Kript içinde demir miktarı ayarlanır. HFE eksikliğinde kript içinde demir eksikliği oluşur ve 2–3 gün sonra kript olgun enterosit olunca eksik demire göre yanlış programlandığı için fazla sentezlenmiş DMT1 de fazlaca demir alınmasına ve enterosit içinde demir birikimine neden olur. Barsak hücresi içinde demir fazlalığı oluşacağı için IRP/IRE bağlanması olmayacak ferroportin sentezi

artarak absorbe edilen demir plazmaya verilecektir. Bu kript hücre hipotezi HFE eksikliği oluşturulmuş sıçan deneylerinde kript demir alımının bozulduğu ve demir transport genlerinin ve proteinlerinin arttığı gösterilmiştir. Otozomal resesif kalıtılan HFE gen mutasyonu sonucu HFE eksikliği erişkin tipi olan ve en çok görülen hemokromatosis'e yol açmaktadır. Çalışmalarda vücut demir dengesinin iki mekanizma ile kontrol edildiği gösterilmiştir. Eritropoetik regülasyon, kemik iliğinden gelen uyarılarla düzenlenmektedir. Eğer eritropoetik aktivite çok artmış ise kemik iliğinde eritropoezin demir ihtiyacını karşılamak için depolar dolu olsa da intestinal demir emilimi olmaktadır. Depo regülasyonu, karaciğer, iskelet kası ve dolaşan kandaki demir miktarı azaldığında bunu algılayarak emilimi artıran bir mekanizmadır. Eritropoetik regülasyon depo regülasyonuna göre 20 kat fazla aktif demir emilimi sağlamaktadır. Talasemilerde organizmadaki demir yükü fazla olduğu halde intestinal demir emilimi fazladır. Hepsidin keşfinden sonra organizmada demir dengesinin karaciğerde hepatositlerde sentezlenen bir antimikrobiyal protein olan hepsidin aracılığıyla düzenlendiği anlaşılmıştır. Hepsidin demir metabolizmasını düzenleyen bir hormondur. Duedenal demir emilimini ve makrofaj demirinin salınımını engelliyerek organizmada demiri azaltarak demir dengesini düzenlemektedir. Hepsidin vücudun demir dengesinin düzenlenmesinde santral rol oynamaktadır. Hepsidin esas olarak karaciğerden sentezlenen, dolaşımda bulunan idrarla atılan bir peptid hormon olup sistemik demir dengesinin ana düzenleyicisidir. Son olarak bakterial patojenlere karşı miyeloid hücrelerde de sentezlendiği gösterilmiş ve bu enfeksiyonlarda ve kronik hastalılarda görülen anemilerin anlaşılmasında aşama olmuştur. Geni 19. kromozomda HAMP genidir. Hepsidin fazla yapımı olan canlılarda ve hepsidin yapan tümörlerde demir kullanımı bozulduğu için ciddi demir eksikliği ortaya çıkar. HAMP geni mutasyonu ile hepsidin eksikliği olduğunda da ağır demir birikimi olur. Hepsidin demir regülasyonunu demirin kullanımı ve depolanmasını koordine ederek, demirin plazmaya çıkışını engelleyerek yapmaktadır. 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 engeller. Eritropoetik aktivite artışı, hipoksi, organizma demir depolarının azalması durumlarında hepatik hepsidin sentezi azalır. Organizmaya demir yüklenmesi, inflamasyon ise hepsidin sentezini artırır. Enflamasyon ister akut isterse kronik olsun hipoferrinemi ile sonuçlanır. Buna neden olan faktörlerden en önemlisi de akut faz proteini olarak artan hepsidindir. Demir

aşırı birikiminde ve IL-1 ve 6 uyarımı ile hepsidinin mRNA'sı upregüle olur. Downregülasyonu ise hipokside görülür. Hepsidinin hipoksi ve sitokin aracılı regülasyonu hepatositlerde meydana gelir ancak demir aşırı birikiminin nasıl olup da hepatositlerde hepsidin üretimini arttırdığı gizemini korumaktadır. Ancak demir metabolizmasında görev alan yapılardan transferin reseptör 2'nin olasılıkla hepsidin transkripsiyonunu uyardığı düşünülmektedir (57,58).

2.2.3 Herediter Hemokromatozis'in Patogenezi

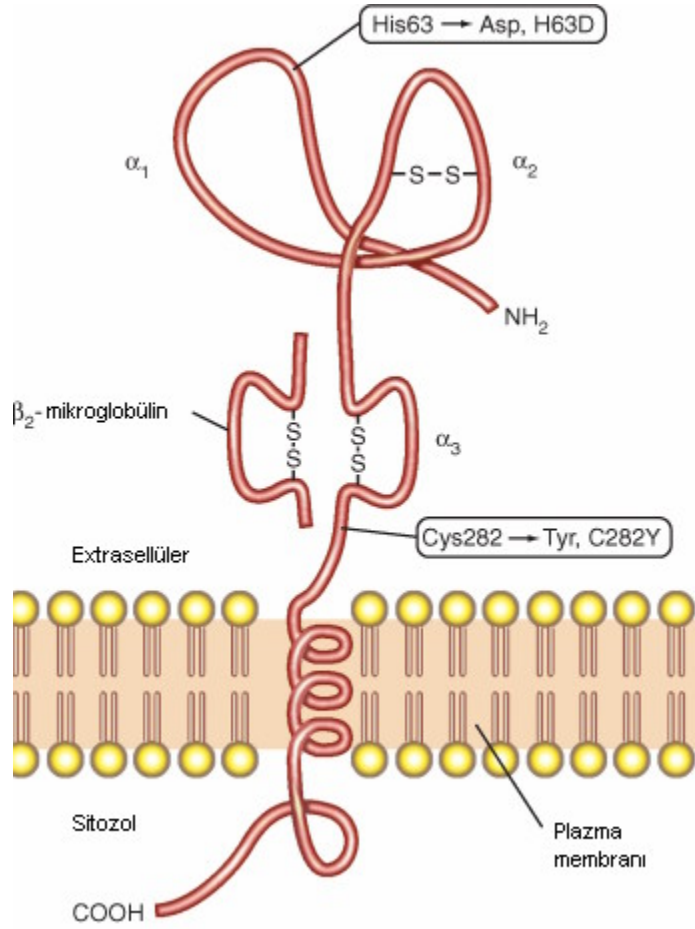
HH demir emiliminin artışı ve dokularda aşırı demir birikimiyle karakterize kalıtsal geçişli bir hastalık grubudur. En yaygın görülen form HFE geniyle ilişkili HH iken tanımlanan yeni mutasyonlarla hastalığın diğer subgrupları da ortaya konmuştur. Demir birikiminin diğer kalıtsal formlarına HFE ilişkili olmayan HH denir. HH, HFE gen mutasyonu (59), transferin reseptör-2 gen mutasyonu (60) ve hemojuvelin gen mutasyonunda (61) görülmektedir. Herediter hemokromatozisin genetik sınıflaması *tablo-1*'de görülmektedir. Genetik demir aşırı birikim hastalıklarının sınıflamasında tip 1, HFE gen mutasyonu ile seyreden klasik HH'i tanımlar. Tip 2, juvenil hemokromatozis olarak isimlendirilen ve erken yaşta daha ağır demir birikimi ile karakterize iki genetik mutasyonu içerir. Tip 2B HAMP gen mutasyonunun görüldüğü hepsidinin ağır fonksiyon kaybıyla seyreden tip iken tip 2A hemojuvelin (HJV) mutasyonunu içeren tipidir. Tip 3 transferrin reseptör-2 TfR2 mutasyonu ile seyreden erişkin yaşta görülen ve klasik HFE gen mutasyonunun klinik özelliklerine benzerlik arzeden hastalık tipidir. Tip 4 ise ferroportin mutasyonundan kaynaklanan aşırı demir birikimi hastalığıdır. Ayrıca bu genetik mutasyonları birlikte içeren ve böylece klinik özellikleri de değişiklik gösteren farklı sporadik vakalar da bildirilmiştir. Bu sebeple bu sınıflamada farklı genetik mutasyonlar ve farklı klinik özelliklerle seyretmesinden kaynaklanarak aynı sendrom altında toplanması ve sınıflanması hususunda da tam konsensus sağlanamamıştır (62).

Tablo 1: Genetik geçişli demir birikim hastalıklarının sınıflaması

Tanım	Tip	Etkilenen Kromozom	Mutant Protein	Geçiş şekli
Hemokromatozis	1	6	HFE	Otozomal resesif
Juvenil Hemokromatozis	2A	1	Hemojuvelin	Otozomal resesif
Juvenil Hemokromatozis	2B	19	Hepsidin	Otozomal resesif
Hemokromatozis	3	7	Transferin Reseptör 2	Otozomal resesif
Ferroportin hastalığı (Hemokromatozis)	4	2	Ferroportin	Otozomal dominant
Aseruloplazminemi	-	3	Seruloplazmin	Otozomal resesif

Birçok hereditör hemokromatozis tipinde hepsidin üretiminde yetersizlik veya reseptörüne bağlanmada yetersizlik dikkati çekmektedir. Bu da hepsidin hereditör demir birikim hastalıklarında ve demir regülasyonunda ortak nokta olduğunu vurgulamaktadır.

HFE Proteinini (Tip 1): HFE geni kısa bir sitoplazmik tırnağı olan, tek bir transmembran ve uzun bir extrasellüler alanı bulunan 343 aminoasitlik bir protein olan HFE proteinini kodlar. Ekstrasellüler domaini $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ olmak üzere üç halkadan oluşur. Bu yapıyla HFE proteinini major histokompatibilite kompleksi sınıf 1 (MHC-I) proteinleri ile benzerlik göstermektedir ancak antijen sunma özelliği yoktur (şekil 2). Bununla beraber MHC-I molekülleri gibi β_2 -mikroglobülin ile fiziksel olarak ilişkilidir. Proteindeki en yaygın mutasyon olan C282Y mutasyonunda, $\alpha 3$ halkasındaki 282. aminoasitteki *sistein* yerine *tirozinin* geçmesi ve bu alandaki disülfid bağı ortadan kalkması ile meydana gelir. Bu bağı ortadan kalkması β_2 -mikroglobüline bağlanmayı engeller. Bu mutant protein hücre yüzeyine tutunması bozuk, endoplazmik retikulum içinde retansiyona uğrayan ve daha hızlı yıkılan bir protein özelliği kazanır. Diğer mutasyon olan H63D mutasyonunda $\alpha 1$ zincirinde 63. pozisyonundaki *histidin*, *aspartat* ile yer değiştirmiştir. Bu mutasyonun biyolojik etkisi C282Y mutasyonu kadar güçlü değildir.



Şekil 2: HFE proteininin yapısı

HFE mutasyonunun demir birikimine nasıl neden olduğunu açıklamak üzere iki hipotez gündemdedir: 1-Hepsidin hipotezi, 2-Doudenal kript hücre programlama hipotezi. Hepsidin demirin negatif bir regülatörüdür ve bu proteinin ekspresyonu demir deposuyla ters ilişkilidir. Günümüzde sebebi tam olarak ortaya konmamış olmakla birlikte mutasyona uğramış HFE proteini olanlarda uygunsuz olarak daha az eksprese edilir ve olasılıkla HFE proteini, hepatositlerde demir depo algılayıcı sisteminin önemli bir parçasıdır. Diğer daha eski olan hipoteze göre duodenal kript hücreleri vücut depo demirinin esas algılayıcısıdır ve demir emiliminin esas belirleyicileridir. Bu modele göre HFE'nin TfR1 ile ilişkisi duodenal kript hücrelerinin serumdaki demir depolarını algılamasını sağlar ve buna göre kript hücrelerinden demirin seruma serbestleştirilmesi kolaylaştırılır. HFE proteinindeki fonksiyon kaybı kript içinde rölatif bir demir yetersizliği algısına sebep olur ve demir emiliminde artış görülür. Ancak ilk model yani hepsidin demir regülasyonunda santral rol oynadığı hipotezi günümüzde daha çok taraftar bulmaktadır (63–65).

C282Y mutasyonu, Kuzey Avrupa kökenlilerde görülen en yaygın HFE gen mutasyonudur. Avrupa’da kuzeyden güneye doğru görülme sıklığında azalma görülmektedir. Bu bulgu dünyaya da kuzey Avrupa’dan dağıldığını düşündürmektedir. Bu mutasyonunun sıklığının araştırıldığı bir meta-analizde 63 ayrı Avrupa popülasyonundan oluşan 10,708 akraba kişide HH’in Avrupa’daki major sebebinin bu mutasyon olduğu vurgulanmakta ve sıklığının doğuya ve kuzeye gittikçe azaldığı gösterilmektedir (66). H63D mutasyonu dünya genelinde daha yaygın görülen bir mutasyondur. Klinik etkisi daha zayıf olmakla birlikte homozigot veya C282Y ile compound heterozigot mutasyonunun HH riskini arttırdığı bildirilmektedir (67). HFE’nin çok daha az görülen S65C, V53M, V59M, H63H, Q127H, Q283P, P168X, E168Q, E168X ve W169X gibi mutasyonları gösterilmiş ancak bunların klinik etkileri bilinmemektedir (68).

Jüvenil Hemokromatozis (JH) (Tip 2): Genellikle 30 yaşından önce başlar ve klasik HFE ilişkili HH’den daha şiddetli seyreder. Otozomal resesif genetik geçiş gösterir. Klasik tipten farklı olarak her iki cinste de eşit görülür. Hipogonadizm ve kardiyomiyopati sık görülür. Başvuru sırasındaki en sık belirti hipogonadizme ait semptomlardır (69). Şiddetli ve hızlı demir birikimi JH’de sıklıkla kalp yetersizliği nedeniyle ölümle sonuçlanır.

Hemojuvelin ilişkili Hemokromatozis (Tip2A): JH’den sorumlu gen kromozom 1q’da 2004 yılında 12 JH’li ailede tespit edilmiştir (61). HFE2 orijinal adıyla tanımlanan hemojuvelin “Repulsive Guidance molekül” (RGM) ailesinin bir üyesidir. Bu proteinde altı mutasyon tespit edilmiştir. G320V mutasyonu etkilenen bu 12 aileden 9’unda tespit edilmiştir (61) ve muhtemelen çok sayıda tespit edilen mutasyonlardan en yaygın görüleni de G320V mutasyonudur. RGM proteinleri Bone morfojenetik proteinlerinin (BMP) koreseptörleri olarak fonksiyon yapabilirler. Hemojuvelinin de BMP’nin koreseptörü olduğu belirlenmiştir. Hemojuvelinin diferrik transferinle olan hepsidin mRNA ekspresyonunu BMP4 sinyali üzerinden yönlendirdiği düşünülmektedir. BMP direkt olarak hepsidini artırır, demiri azaltır. Çalışmalarda hemojuvelin ile hepsidin düzeylerinin korelasyon göstermesi demir yüklenmesine cevabın en olası mediatörünün hemojuvelin olduğunu düşündürmektedir (70).

Hepsidin ilişkili Hemokromatozis (Tip 2B): Ağır JH olup da 1q21 kromozomunda mutasyon olmayanlarda hepsidin, 19. kromozomda lokalize olan, (HAMP) geninde mutasyon tespit edilmiştir. Bu mutasyonun tespitinden sonra birçok yeni vaka literatüre sunulmuştur

(71,72). Bu hastalarda demir yetersizliğine rağmen hepsidinin yetersiz yapıldığı gösterilmiştir. Hastalığın ağırlığı hepsidinin düzeyinin ne kadar yetersiz kaldığına bağlıdır.

Transferin Reseptör 2 İlişkili Hemokromatozis (Tip 3): Yedinci kromozomun kısa kolunda (7q22) 2000 yılında tanımlanmıştır. Tfr2 mutasyonu olan bireylerde klisik HH'e benzer fenotipte demir aşırı birikimi izlenir (73) Tfr2 klasik transferin reseptörü (Tfr1) ile homolog olup farklı olarak esas ekspresyonu yoğun olarak karaciğerle ile sınırlıdır (74). Tfr2'nin esas etkisi demir bağlı transferinin alımından ziyade demir deposunun sensörü olan hepsidinin regülasyonudur. Hem hayvan modellerinde hem de Tip 3 HH'li hastalarda demir deposuna göre azalmış hepsidin düzeyleri tespit edilmektedir (75). Hastalığın başlangıç yaşı genellikle klasik HH gibi erişkin yaşlarıdır ve klinik özellikleri bozulmuş karaciğer fonksiyon testleri, siroz, artrit, diyabet, hipogonadizm, kardiyomyopati ve deri pigmentasyonudur. Bazı Tfr2 mutasyonlarında daha şiddetli tip JH'ye benzer formlarda vakalar bildirilmiştir (76). Tfr2 ve HFE genini birlikte mutasyonu olduğu bilinen bir vakada erken başlangıçlı JH' benzer klinik tablonun gösterilmesi, hepsidin regülasyonunda tam olarak anlaşılamayan bir sinyal yolak ile HFE ve Tfr2'nini paralel bir etkiyle birlikte rol aldığını düşündürmektedir. Muhtemelen bir mutasyonun tek başına varlığı ile diğer fonksiyonel protein klinik tabloyu ve aşırı demir birikimini kompanse etmektedir (76).

Ferroportin Hastalığı (Tip 4): Ferroportin demirin hücreden plazmaya atılmasını ve bir ferriksidaz olan hefastinin yardımı ile plazma transferinine yüklenerek taşınmasını sağlar. Diğer herediter demir aşırı birikim hastalıklarından farklı olarak otozomal dominant kalıtılır. Otazomal dominant HH ilk olarak 1990 yılında bir ailede tespit edilmiş olup ailenin son üç jenerasyonunda 81 kişiden 31'inde mutasyon tespit edilmiştir (77). Tüm etkilenen aile bireylerinde transferrin saturasyonu ve ferritin düzeyleri yüksek tespit edilmiş, karaciğer biyopsilerinde 19 kişide HFE-HH benzeri demir birikimi ve sirotik patern izlenmiştir. Ferroportine bağlı olan bu mutasyonun ilk tanımlanması 2001 yılında aspartat yerine histidinin translokasyonunun (N144H) gösterilmesi ile olmuştur (78). Aynı yıl İtalyan bir ailede aspartatın yerini alaninin aldığı (A77D) mutasyonu gösterilmiştir (79). G248H ferroportin gen mutasyonu Afrika kökenlilerde görülen ve ferritin yüksekliği ile karakterize bir mutasyondur (80). İki farklı tip sonuca yol açan 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 ve bunda görülen demir birikimi ise parankimaldır.

HH'de ileri hastalıkta major patolojik bulgu karaciğer fibrözu ve sirozdur. Deneysel yapılan birçok çalışmada karaciğerde demir birikimine bağlı olarak anormal lipid peroksidasyonu ve sonucunda hücrelerde mikrozom, mitokondri ve lizozomlarda membran bağımlı fonksiyon bozuklukları gösterilmiştir (81). Demirin indüklediği lipid peroksidasyonu hepatosüllüler hasar ve hücre yıkımına sebep olur. Hasara cevap olarak Kupffer hücrelerinde aktivasyon, inflamatuvar kaskada tetiklenme ve profibrojenik sitokinlerde artış izlenmektedir. Böylece stellat hücrelerde aktivasyon aşırı miktarda kollajen birikimi ve sirotik proçese doğru hastalığın ilerleyişi izlenir (56). Karaciğerin dışında kalp, pankreas, endokrin bezler gibi diğer organlarda demir birikimiyle oluşan hasar sınırlıdır. Myokardiyal hücrelerde görülen fonksiyonel hasarın da demirin indüklediği lipid peroksidasyonundan kaynaklandığı gösterilmiştir (82).

2.2.4 Herediter Hemokromatozis'te Klinik Özellikler

Günümüzde mutasyonlar tespit edildikten sonra, HFE ilişkili HH hastaları herhangi bir belirti veya bulgu göstermeden de, homozigot hastaların aile taraması esnasında veya rutin biyokimyasal incelemelerle tanınabilmektedir. Hastalığın tanı ve taramasındaki son gelişmelerden dolayı hastalar genellikle asemptomatik dönemde yakalanırlar. Semptomatik hastalar 40–50 yaşlarında tanınabilirler. Genetik mutasyon sıklığı açısından kadın ve erkeklerde fark yokken birçok klinik çalışmada erkek kadın oranı, 2:1 den 8:1'e kadar değişmektedir. Tanının sadece hastalığın fenotipik özelliklerine dayandığı yıllarda, reproduktive çağda kadınların mens ve doğum yoluyla kan kayıpları nedeniyle kadınlarda hastalık olduğundan daha az teşhis edilmekteydi. Hastalarda en sık görülen belirtiler yorgunluk, bitkinlik, artralji, abdominal ağrı, libido kaybı ve erkeklerde impotanstır. Hepatomegali fiziki incelemede hastaların çoğunluğunda tespit edilen bir bulgudur. Hastalarda kapsüler gerilmeye bağlı karında non-spesifik sağ üst kadranda ağrısı görülebilir. Splenomegali ve kronik karaciğer hastalığının asit, ödem, sarılık gibi diğer bulguları da görülebilir. Diyabet erken tanı sürecinden dolayı daha az görülmektedir ve tipik olarak karaciğer sirozu gelişmeden önce görülmez. Ciltte görülen koyu kül rengi pigmentasyon artışı klinisyenler açısından uyarıcı olmalıdır.

HFE ilişkili HH kliniği, mutasyonlara bağlıdır. En yaygın görülen ve en belirgin demir aşırı birikimiyle karakterize durum C282Y homozigot hastalardır. C282Y/H63D birlikte heterozigot tespit edilen hastalar orta şiddette demir birikimi gösterirlerken, H63D homozigot ve C282Y heterozigot fenotipe sahip kişiler genellikle normaldir (83). HFE ilişkili HH'li hastalarda serum ferritin düzeyleri ve hepatik demir yükü artmıştır. Ancak hepatik demir yükü her zaman hasar oluşturacak kadar yagın değildir ve bu hastalarda siroz görülme oranı 1960'lı yıllarda yaklaşık olarak %50 iken 1990'lı yıllarda %5-10'a kadar gerilemiştir (84). Serum transaminaz seviyelerinde ılımlı bir yükseklik söz konusudur. Tedavide uygulanan düzenli flebotomi ile enzimler tipik olarak normale döner. Hastalık siroz gelişiminden sonra tespit edilirse düzenli tedaviye rağmen HCC gelişebilir (85). Erken tanı sebebiyle pankreasın demire daha az maruziyeti sonucu daha az görülen diyabet haricinde birçok endokrin disfonksiyon görülebilir. Erkeklerde impotans ve libido kaybı, primer testiküler yetersizliğin yanı sıra hipofize demir birikimi sonucu gelişen gonadotropin yetersizliğinden kaynaklanmaktadır. Bazen hipotiroidi görülebilir ancak adrenal fonksiyonlar tipik olarak korunmuştur. Kardiyomyopati, atrial ve ventriküler disritmiler ve konjestif kalp yetersizliği görülebilir (86). HFE ilişkili HH'de klasik artropati 2. ve 3. metakorpofalangeal eklemlerde görülür. Hastaların yaklaşık % 25-50'sinde görülen bu komplikasyon vücut demir yükü ile ilişkisiz bir durumdur. Eklem aralığında daralma, kondrokalsinozis, subkondral kist oluşumu, osteopeni ve eklemden şişme görülebilir (87). Ancak hastalığa bağlı artropati tipik olarak flebotomiden fayda görmez.

2.2.5 Herediter Hemokromatozis'te Tanı

Yakın zamanlarda HH tanı kriterleri değişmiştir. Gerçekte HFE gen mutasyonu tespit edilmeden önce hastalık, genellikle ileri dönemlerde tespit edilebilmekteydi. Günümüzde biyokimyasal ve moleküler tetkiklerle hastaları asemptomatik dönemde yakalamak mümkündür. Günümüzde tanı birinci basamak olarak biyokimyasal (transferin satürasyonu ve serum ferritin düzeyi) ve ikinci basamakta genetik (HFE ve diğer genlerin moleküler testleri) testlere dayanmaktadır. Böylece karaciğer biyopsisi ihtiyacında azalma görülmektedir. Transferin satürasyonu vücut demir birikimini göstermede en duyarlı tetkiktir ve çalışmalarda belirlenen eşik değeri %45 olarak belirtilmiştir (88). Yapılan bir çalışmada 1990–1995 yılları arasında yeni tanınan hastaların %62'si bu yolla dikkati çekerek tanıya ulaşılmıştır. Kalan hastaların %14'ü aile üyelerinin taramasıyla tespit edilmiştir (89). Ferritin ve serum demir

parametrelerinde açlık ölçümleri gerekmektedir. Çünkü normal bireylerin yaklaşık %50'sinde yemek sonrasında artmış demir düzeyleri görülebilmektedir. Serum ferritin düzeyleri için kadınlarda $>200 \mu\text{g/l}$ ve erkeklerde $>300 \mu\text{g/l}$ patolojik olarak kabul edilmektedir. Ferritin düzeyi karaciğerdeki harabiyet için de tahmin ettirici olabilir ve $>1000 \mu\text{g/l}$ eşik değeri karaciğer fibrozisinin varlığını düşündürebilir (78). Ancak ferritin akut faz reaktanı olarak da yükselebildiğinden ve genç HH'li hastalarda henüz yükselmemiş olabileceğinden sensitivitesi düşüktür. Tip 4 HH'in bazı mutasyonlarında retiküloendotelyal sistem organlarında aşırı demir birikimi ve yüksek ferritin düzeyi görülürken serum demir ve transferin saturasyonunun normal olabileceği akılda tutulmalıdır.

Günümüzde serum demir parametrelerinde yükseklik tespit edildiğinde genetik test yapılması önerilmektedir. Eğer C282Y homozigot veya H63D ile compound heterozigot tespit edilirse ve serum ferritin düzeyi $>1000 \mu\text{g/l}$ ise hepatomegali yok ve serum transaminaz düzeyleri normal ise karaciğer biyopsisi yapılması önerilmemektedir. Eğer serum ferritin düzeyi $>1000 \mu\text{g/l}$ ise ve enzimler yüksek veya hepatomegali varsa karaciğer biyopsisi endikedir (90). Günümüzde genetik testlerin varlığında karaciğer biyopsisinin tek endikasyonu karaciğer hasarının düzeyinin belirlenmesidir. Ancak compound heterozigot mutasyon tespit edilenlerde karaciğer biyopsisi ile değerlendirme önerilmektedir (56). HFE ilişkili HH'de örneklerin Perls' Prusya mavisini ile boyanmasıyla yapılan histopatolojik incelemede tipik olarak periportal hepatositlerde demir birikimi izlenmektedir. Ancak Kupffer hücrelerinde ve safra kanalı hücrelerinde çok az veya hiç demir birikimi izlenmemektedir (91). Histolojik incelemenin haricinde karaciğer parankiminde biyokimyasal demir ölçümleri önemlidir. Tipik olarak HFE ilişkili HH'da karaciğer demir konsantrasyonu (HIC) $10,000 \mu\text{g/g}$ 'dan (kuru ağırlık) fazladır (normalde $<1500 \mu\text{g/g}$). HIC bazen $30,000 \mu\text{g/g}$ 'den fazla olabilir (92). Vücuttaki demir deposunu göstermede non-invazif yöntemler de kullanılabilir. Hemosiderin ve ferritin magnetik kullanımını içeren superconducting quantum interference device (SQUID) adı verilen MRI yöntemi ile tanısal duyarlılık artabilir.

2.2.6 Herediter Hemokromatozis'te Tedavi

Siroz ve fibrozis gelişmeden önce erken tanı konulmuş hastalarda uygun tedavi ile normal sağkalım ulaşılabilir. Terapötik flebotomi HH'in esas tedavisidir. Hastanın toleransına göre önerilen sıklık haftada bir veya iki ünite (1 ünite yaklaşık $400\text{--}500 \text{ ml}$ ve yaklaşık $200\text{--}250 \text{ mg}$ demir ihtiva eder) flebotomi ile tedaviye başlanır. C282Y homozigot

hastalarda 10–20 g aşırı birikmiş demir 40–80 seans flebotomi ile çıkarılabilir. Anemi gelişenler veya yaşlı hastalarda haftalık yarım ünite flebotomi ile devam edilir. Flebotomiyi tolere edemeyen hastalarda demir şelasyonu için deferroksamin (sc 20–40 mg/kg/gün pompa ile sürekli infüzyon 8–10 saatte) kullanılabilir. Tedaviye ilk aşamada hematokrit %37'ye getirilinceye kadar devam edilir. Amaç transferin saturasyonunu %50'nin altında, ferritin düzeyini 50 ng/ml'nin altına indirmektir. Bu seviyelere ulaşıldıktan sonra idamede 2–3 ayda bir ünite flebotomi gerekmektedir. Demir çıkarılması ile hastaların % 30'unda fibroziste azalma görülebilmekte iken sirotik patern oturduktan sonra gerileme gözlenmez ve HCC riskinde görülen artış devam eder. Flebotomi ile artrit ve hipogonadizmde de düzelme görülmezken diyabetin regülasyonunda kolaylık görülür (93). Hastalarda tanı ve tedavi gecikip son dönem karaciğer yetersizliği tablosu ile komplike olursa karaciğer transplantasyonu düşünülmelidir (56).

2.2.7 Herediter Hemokromatozis'te Aile Taraması

HFE ilişkili HH'li bir hasta teşhis edilip tedavi başlandığında tüm aile bireyleri taranmalıdır. Kardeşlerde asemptomatik olan ve C282Y homozigot olanlar veya compound heterozigot olanlarda karaciğer biyopsi endikasyonu yoktur. Aile bireylerinden ferritin düzeyi yüksek olanlara terapötik flebotomi planlanmalıdır. Olmayanlar yıllık ferritin düzeyleri ile takip edilmelidir. C282Y için homozigot ve heterozigot iki bireyin birlikteliğinden doğacak çocukların %50 olasılıkla homozigot C282Y mutasyonunu taşıma riski vardır. Bu bireylere genetik danışmanlık önerilmelidir (56).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışmamız Nisan 2006 ile Ekim 2008 tarihleri arasında Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Gastroenteroloji Kliniğinde yürütülmüştür. Çalışmaya toplam 58 sirozlu hasta alındı. Bu hastalardan 29'u hepatit B zemininde sirozlu olgular, 29'u kriptojenik sirozlu olgulardı. Hastalarda siroz tanısı klinik, biyokimyasal, endoskopik ve radyodiyagnostik yöntemlerle konuldu. Sirozlu hastalara HCC tanısı serum AFP düzeyi, radyodiyagnostik yöntemlerle ve lezyondan alınan biyopsi örneklerinin histopatolojik olarak incelenmesiyle konuldu. Hepatit B zemininde sirozlu hastalarda hepatit B viral markerları enzim immünoassay yöntemiyle ROCHE makro ELISA-kit cihazı ile çalışıldı. HBV DNA seviyeleri Real Time PCR kullanılarak belirlendi (COBAS Ampli-Prep/COBAS TaqMan HBV Test).

Siroz tanısı alan hastalar kriptojenik siroz olarak kabul edilmeden önce: parenteral kan veya kan ürünlerine, alkole ve hepatotoksik ilaca maruz kalmadıkları; seruloplazmin, alfa-1 antitripsin, ferritin ve transferin satürasyonu kan düzeylerinin normal olduğu; viral belirteçlerin (HBsAg, HBV-DNA, anti-HCV ve HCV-RNA) negatif olduğu; antinükleer antikor (ANA), düz kas antikoru (SMA), anti-mitokondrial antikor (AMA) ve liver/kidney mikrozom tip 1 (anti-LKM1) antikorumun tespit edilmediği; primer biliyer siroz (PBS) ve primer sklerozan kolanjit (PSK)'in ekarte edildi. Hastalar vasküler hastalıklar açısından Doppler ultrasonografi ile hepatik ve portal ven incelemeleri, ekokardiyografi ile kardiyak inceleme, NASH açısından eskiye ait veya güncel obezite ve diyabet anamnezi ile değerlendirildikten sonra kriptojenik grubuna dahil edildiler. Siroz şiddeti CTP (Child-Turcotte-Pugh) skoru ile derecelendirildi.

Hastalardan EDTA'lı tüpe 5 cc kan alınarak kullanılıncaya kadar -80 °C derin dondurucuda saklandı. Demir parametreleri bir gecelik açlıktan sonra çalışıldı. Hastalarda demir ve demir bağlama kapasitesi Architect C1 6000 Abbott cihazı ile çalışıldı. Transferin satürasyonu hesaplandı. Ferritin E170 Modular Analytic System cihazı ile çalışıldı.

Çalışmamız Vienna Lab Haemochromatosis hibridizasyon strip assay A kitiyle yapıldı. Kit içeriği: DNA izolasyon kiti, Amplifikasyon mix (Taq DNA polimeraz, Taq dilüsyon tamponu, yıkama solüsyonu, konjugat –streptavidin- alkalen fosfat-, renklendirici – nitro blue tetrazolium NBT- ve 5-bromo 4-kloro 3-indol fosfat BCIP) içerir. Gerekli ekipmanlar: 1- mikrosantrifüj (eppendorf), 2- 45 °C'de çalkalayıcı inkübatör, 3- thermocycler (eppendorf), 4- vakum aspiratör aparatı, 5- jel elektroforez ekipmanı (PCR ürün kalitesine

bakmak için). Çalışmamızı üç aşamada yaptık; 1-DNA izolasyonu, 2- PCR aşaması; bu biotinle işaretlenmiş primerler ve DNA polimeraz nükleotidi kullanarak elde ettiğimiz DNA'yı amplifiye ettik. 3- Hibridizasyon aşaması; naylon membrana emdirilmiş allel spesifik nükleotit problemleri içeren stripler kullanılarak hibridizasyon oluşturduk. Hibridizasyon streptoavidin-alkalen fosfataz boyası kullanılarak hibrid oluşturan bantlar görünür hale getirildi.

DNA İzolasyonu: EDTA'lı tüplere alınmış dondurulmuş kan örnekleri derin dondurucudan çıkarılıp oda ısısına getirildi. DNA izolasyon işlemi GEN-TRACT izolasyon kiti ile yapıldı. DNA izolasyon aşamaları;

- 100 µl kan örnekleri 1.5 ml'lik mikrotiplere alındı.
- Her tüpe 1ml lysis solüsyonu ilave edildi, oda ısısında 15 dk bekletildi.
- Tüpler 15 dk 3000 rpm'de santrifüj edildi. Tüplerin üst kısmında bulunan süpernatant kısım atıldı.
- Tüplere 1 ml lysis solüsyonu ilave edilerek birkaç kez alt üst edildi.
- 5 dk 12.000 rpm'de santrifüj edildi.
- Süpernatant atılarak tüplerin altında yalnızca lökosit pelleti bırakıldı.
- Her tüpün üzerine 200 µl Gen-tract DNA izolasyonkitinden alınıp pellete ilave edildi.
- Tüpler pelletin süspanse olması için nazikçe çalkalandı.
- 20 dk 56 °C'de inkübe edilip 10 sn vortexlendi.
- 10 dk 98 °C'de inkübe edilip 10 sn vortexlendi.
- 5 dk 12.000 rpm'de santrifüj edilerek DNA elde edildi. Elde edilen DNA'lar PCR yapılınca kadar buzda bekletildi.

PCR (Amplifikasyon) işlemi: Amplifikasyon yapmak için hemokromatozise uygun thermocycle programı cihaza yüklendi. Thermocycle protokolü: PCR öncesi thermocycle 94 °C'de 2 dk tutuldu. 94 °C'de 15 sn, 58 °C'de 30 sn, 72 °C'de 30 sn. Bu işlem 35 kez tekrarlanacak şekilde programlandı. İşlem sonunda PCR ürünleri 2 dk 72 °C'de bekleyecek şekilde final programı yüklendi.

PCR'ın Hazırlanışı:

- PCR için gerekli olan DNA polimeraz enzimi 0.2 U/µl olacak şekilde Taq dilüsyon tamponu ile hazırlandı.

- Buzun içindeki mikrotüplere kitin içindeki amplifikasyon mix'inden 15 µl ilave edildi. 5 µl Taq DNA polimeraz ilave edildi.
- 5 µl DNA örneklerimiz ilave edildikten sonra yukarıda belirtilen PCR protokolüne uygun olacak şekilde thermocycler çalıştırıldı. Elde edilen PCR ürünleri hibridizasyon işlemi yapılınca kadar 2-8 °C'de bekletildi. Yine PCR ürününün kalitesini belirlemek için de %3'lük agaroz jel elektroforei yapılarak PCR'ın gerçekleşip gerçekleşmediği kontrol edildi.

Hibridizasyon İşlemi: Hibridizasyon yapacağımız çalkantı su banyosu 45 °C'ye getirildi. Termometre ile sıcaklığı kontrol edildi. Hibridizasyon;

- Örneklerin konacağı trayin içine her örnek için 10 µl DNAT (denatürasyon solüsyonu) kondu.
- Bunun üzerine 10 µl PCR ürünü kondu ve 5 dk oda ısısında bekletildi.
- Her örneğe 1 ml hibridizasyon tamponu eklenerek (45 °C'de) örnekler nazıkçe karıştırıldı.
- Her örnek için hibridizasyon karışımının içine bir strip yerleştirildi.
- 30 dk 45 °C'de çalkalayıcı su banyosunda bekletilip bu işlem sonunda hibridizasyon solüsyonları uzaklaştırıldı.

Striplerin Yıkama İşlemi: Her strip üzerine 1 ml Wash A solüsyonu ilave edildi. 10 sn sonra uzaklaştırıldı (45 °C'de). 1 ml Wash solüsyon A ilave edilip 15 dk çalkalayıcı su banyosunda inkübe edildi ve solüsyonlar uzaklaştırıldı. Bu işlem iki kez tekrarlandı.

Renklendirme İşlemi: (oda ısısında) Her stribe 1 ml konjugat solüsyonu ilave edildi. 15 dk oda ısısında çalkalayıcıda bekletildi. Solüsyon uzaklaştırılarak stribe 1 ml Wash solüsyon B ilave edilerek 10 sn bekletilerek solüsyon atıldı. Tekrar 1 ml Wash solüsyon B ilave edilip 5 dk oda ısısında çalkalayıcıda inkübe edildi. Bu işlem iki kez tekrarlandı ve solüsyonlar aspire edildi. Her strip üzerine 1 ml renklendirici solüsyon ilave edilerek 15 dk karanlıkta çalkalayıcıda inkübe edildi. Solüsyon aspire edildi. Stripler bir kurutma kağıdında kurutularak değerlendirildi.

Bakılan hemokromatozis mutasyonları:

HFE geninde 12 mutasyon bakıldı. Bunlar; V53M, V59M, H63D, H63H, S65C, Q127H, P160delC, E168Q, E168X, W169X, C282Y, Q283P.

TFR2 geninde 4 mutasyon bakıldı. Bunlar; E60K, M172K, Y250X, AVAQ594-597del,

FPN1 geninde 2 mutasyona bakıldı. Bunlar; N144H, V162del.

İstatistiksel yöntem: Hasta gruplarının karşılaştırılmasında parametrik veriler için ortalama ve standart sapma değeri hesaplandı ve student t testi kullanıldı. Non-parametrik veriler ki-kare testi ile karşılaştırıldı. Tüm değeriendirmelerde $p < 0.05$ değeri istatistiksel anlamlı fark olarak kabul edildi

4. BULGULAR

Çalışmaya toplam 58 hasta alınmıştır. Bu hastalardan 29'u hepatit B zemininde karaciğer sirozu iken 29'u kriptojenik sirozlulardan oluşmaktaydı. Hastalardan 18'i kadın, 40'ı erkekti. Yaş ortalamaları hepatit B grubunda 49.39($\pm$ 12.17) iken kriptojenik sirozlularda 44.35($\pm$ 20.6) idi. Yaş ortalamaları istatistiksel olarak farklı değildi ($p=0.230$).

Kriptojenik sirozlularda CTP skor ortalaması 8.42 ($\pm$ 2.2) iken hepatit B'lilerde 8.25 ($\pm$ 2.6) idi. Gruplar arasında CTP skoruna göre fark yoktu ($p=0.823$).

Kriptojenik siroz grubunda 5 hastada H63D mutasyonu heterozigot, 2 hastada H63D homozigot, bir hastada C282Y mutasyonu heterozigot/wild tespit edildi. Hepatit B grubunda 5 hastada H63D heterozigot ve bir hastada hem H63D hem de E168Q mutasyonları compound heterozigot tespit edildi. Toplamda H63D mutasyon oranı (13/58) %22.4 bulundu. C282Y mutasyon oranı (1/58) %1.72 saptandı. H63D homozigotluğu (2/58) %3.44, heterozigotluğu ise (11/58) %18.96 saptandı. Kriptojenik siroz grubunda toplam allel sayısına göre H63D mutasyon oranı (7/29) %31.03 iken hepatit B grubunda (6/29) %20.6 tespit edildi. Mutasyon tespit edilen hasta sayısı açısından iki grup arasında istatistiksel olarak fark yoktu ($p= 1.0$). Gruplara göre mutasyon oranları (Tablo 2)'de belirtilmiştir. Mutasyon tespit edilen bazı hastaların strip görüntüleri *şekil 3* 'de gösterilmiştir.

Tablo 2: Hasta gruplarına göre mutasyonların dağılımı

Etyoloji	N	Wild/ Wild	Wild/ H63D	H63D/ H63D	Wild/ C282Y	H63D/ E168Q	P*
Kriptojenik Siroz	29	21/29(%72.4)	5/29(%17.24)	2/29(%6.89)	1/29(%3.44)		1.0
Hepatit B'li Siroz	29	23/29(%79.31)	5/29(%17.24)			1/29(%3.44)	1.0

N:Hasta sayısı * χ^2 p değeri; istatistiksel değerlendirme iki hasta grubunda mutasyon olan ve olmayan hasta sayısına göre yapılmıştır.

İki grupta mutasyon mevcudiyetinin serum ferritin düzeyi, transferin satürasyonu ile olan ilişkisi değerlendirildiğinde mutasyon olanlarda serum ferritin düzeyi ortalaması 307.29 $\pm$ 524.53 iken mutasyon tespit edilmeyen hastalarda 168.70 $\pm$ 102.78 tespit edildi. Ortalamalar arasında istatistiksel fark yoktu ($p=0.394$). Mutasyon varlığının transferin satürasyonu ile ilişkisi değerlendirildiğinde, mutasyon olanlarda TS ortalaması 131.61 $\pm$ 361.24 iken mutasyon olmayanlarda bu oran 68.52 $\pm$ 104.98 saptandı. TS açısından iki grup arasında istatistiksel fark yoktu ($p=0.335$). Mutasyon olanlar ve olmayanların transaminazlar, LDH,

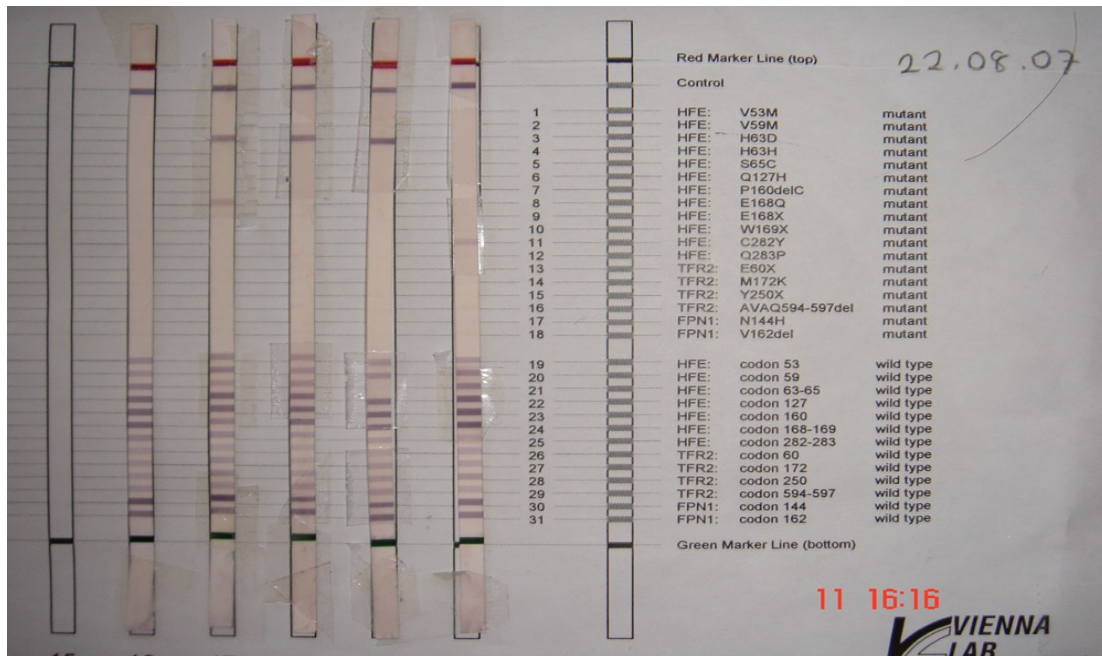
Globulin ile ilişkisi incelendiğinde bu parametreler açısından iki grup arasında istatistiksel anlamlı fark olmadığı görüldü. Bu parametrelerin ortalamaları ve p değerleri *tablo 3*'de gösterilmiştir.

Mutasyon varlığının CTP skoruna göre sirozun şiddeti ve hastalık yaşı üzerine etkisi incelendiğinde mutasyon olanlarda ortalama CTP skoru 8.42 ± 2.27 , mutasyon saptanmayanlarda 8.25 ± 2.63 tespit edildi ve istatistiksel fark saptanmadı ($p=0.823$). Siroz hastalık yaşı mutasyon olanlarda 43.92 ± 45.78 , mutasyon olanlarda 37.51 ± 26.78 olup istatistiksel fark saptanmadı ($p=0.551$). Bulgular *tablo 3*'de özetlenmiştir.

Tablo 3: Mutasyon olan ve olmayan grupta seçilen bazı fenotipik özelliklerin sonuçları.

	Mutasyon olanlar	Mutasyon olmayanlar	
	Ortalama($\pm$ SD)	Ortalama($\pm$ SD)	p
Ferritin	307.29 $\pm$ 524.53	168.70 $\pm$ 102.78	0.394
TS	131.61 $\pm$ 361.24	68.52 $\pm$ 104.98	0.335
ALT	102.67 $\pm$ 207.71	116.29 $\pm$ 364.48	0.893
AST	122.40 $\pm$ 181.30	112.18 $\pm$ 224.05	0.876
LDH	505.60 $\pm$ 1117.94	324.47 $\pm$ 213.64	0.350
Globulin	3.95 $\pm$ 1.10	4.29 $\pm$ 3.05	0.693
CTP Skoru	8.42 $\pm$ 2.27	8.25 $\pm$ 2.63	0.823
Hastalık Yaşı	43.92 $\pm$ 45.80	37.51 $\pm$ 26.78	0.551

Şekil 3: Mutasyon tespit edilen bazı hastaların strip görüntüleri.



5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Herediter Hemokromatozis, demirin barsaktan emiliminde ve total vücut demir yükünde artışla karakterize, birçok parankimal organda aşırı demir birikimi ve harabiyetle seyreden kalıtsal bir hastalıktır. HFE genlerinin bir önceki dekatta tespiti HH'in major formlarının belirlenmesinde çok önemli bir aşama olmuştur (2). Bu gelişmeler non-HFE HH olarak sınıflandırılan genetik aşırı demir birikim hastalıklarının tespitine de kapı aralamıştır. Tarama çalışmalarında hastalığın yaygın bir genetik hastalık olduğu ve kuzey Avrupalı beyazlarda sıklığının fenotipik ve genetik kriterlere göre yaklaşık olarak 1/200–1/400 olduğu bildirilmektedir (94). Hastalık, aşırı demir birikimi suretiyle karaciğer sirozu, HCC, diyabetes mellitus, diğer endokrinopatiler, artropati, kardiyomyopati gibi komplikasyonlar ile önemli morbidite ve mortalite nedeni olmaktadır. Demir yükünden kaynaklanan bu komplikasyonlar organ hasarı oluşmadan önce flebotomi ile tedavi edilerek önlenilmekte ve normal yaşam süresi sağlanabilmektedir (95). Tarama programlarıyla bireylerin bu önlenebilir hastalıktan korunma, yaşam kalitesinin artırılması ve tedavi maliyetlerinin düşürülmesi sağlanmıştır. HH için tarama programlarının nasıl yapılacağı konusunda henüz bir konsensus bulunmamaktadır. Hastalığın şu an bilinen genetik mutasyonlarının tüm etnik unsurlara eşit dağılmamasından ve mevcut mutasyonu taşıyan tüm bireylerde hastalığın tipik prezentasyonlarının oluşmamasından kaynaklanarak genetik mutasyon bazlı populasyon taramalarından ziyade fenotipik özelliklere göre tarama veya riskli gruplarda genetik tarama yapmak daha yaygın kabul görmektedir (96). Karaciğer sirozu HH'in en önemli klinik sonuçlarından biridir. Birçok çalışmada karaciğer sirozu ve HCC'nin hastalığın prognozunu belirleyen esas faktörler olduğu vurgulanmıştır (97). Öte taraftan bazı çalışmalarda bazı çalışmalarda hastalarda siroz gelişmiş olmasına rağmen terapötik flebotomi ile fibrozis skorunda gerileme olduğu belirtilmiştir. Falize ve arkadaşlarının (98) HH sebebiyle siroz gelişmiş hastalarda yaptıkları çalışmada hastaların % 35'inde fibrozis evresinin metavir skoruna göre 2 birim gerilediğini ortaya koymuşlardır. Ayrıca karaciğerde düşük demir yükünün de kronik hepatit C, porfiria kutanea tarda, alkolik karaciğer hastalığı ve NASH gibi nonhemokromatotik karaciğer hastalıkları için prognozu olumsuz etkileyen bir risk faktörü olduğu bildirilmektedir. Bu sebeplerden çalışmamızda hastalığın önemli klinik prezentasyonlarından biri olan kriptojenik ve hepatit B'li karaciğer sirozunda HH'in HFE mutasyonlarını araştırdık. İki grup arasında mutasyon görülme oranları açısından fark yoktu. Ancak, kriptojenik sirozlu grupta bir hastada

C282Y heterozigotluğu ve iki hastada H63D homozigotluğu tespit ettik. Bu güne kadar ülkemizde 2007 yılında Yönel ve arkadaşları (9) tarafından literatüre sunulan C282Y homozigot HH'li sadece bir aile bildirilmiştir. Gerek yaptığımız literatür taramasında, gerekse şu ana kadar fakültemizde araştırılan olgulara baktığımızda, kriptojenik sirozlu olgumuzda tespit ettiğimiz C282Y heterozigotluğu bölgemizde bu mutasyonun tespit edildiği ilk olgu olmuştur.

C282Y ve H63D mutasyonları HFE ilişkili HH'in bilinen en önemli iki mutasyonudur. Bu mutasyonlar Kuzey Avrupa'da ve kafkaslarda yaygın görülmektedirler. Homozigot C282Y mutasyonu Kuzey Avrupalı HH vakalarının %90'ında, Kuzey Amerikalı vakaların %80'inden fazlasında tespit edilmiştir (3). Toplum taramalarında Kafkaslarda C282Y heterozigot mutasyonu yaklaşık olarak %10, homozigot mutasyonu ise binde 3-5 civarında görüldüğü bildirilmektedir (99). Bu kadar yaygın mutasyonun belirtildiği bölgelerde dahi hastalık prevalansı bu oranların altında kalmaktadır. Bu mutasyonların klinik etkisi ile ilgili çalışma sonuçları oldukça değişkenlik göstermekle birlikte birçok yayında klinik etkisinin zayıf olduğu bildirilmiştir (100,101). Beutler ve arkadaşlarının (101), 41038 kişide C282Y ve H63D mutasyonu taradıkları çalışmalarında 45'i önceden HH tanısı almış olan 152 kişide C282Y mutasyonu homozigotluğu tespit edilmiştir. Hemokromatoziste yaygın görülen semptom ve bulgular olan halsizlik, pigmentasyon, impotans, diyabet açısından heterozigot, homozigot ve kontrol gruplarında istatistiksel anlamlı fark tespit edememişlerdir. Yalnızca karaciğer fonksiyon bozukluğu homozigot bireylerde istatistiksel anlamlılıkla daha yüksek tespit edilmiştir. Çalışmada yapılan nihai yoruma göre C282Y homozigot mutasyon tespit edilen bireylerin %1'inden azında HH'ye tipik olan klinik özellikler ortaya çıkmaktadır. Waalen ve arkadaşlarının (100) çalışması C282Y mutasyonunun homozigotluğunun hastalığın ortaya çıkmasında klinik etkisinin zayıf olduğunu ortaya koymuştur. Eşlik eden genetik ve çevresel bazı faktörlerin veya alkol tüketiminin mutasyonun klinik etkilerini değiştirdiğini yorumlamışlardır. Brissot ve arkadaşlarının (99) derlemesinde hastalığın fenotipik özelliklerinin 5 derecede kategorize edilerek değerlendirilmiş, C282Y mutasyonu homozigot olan bireylerin yaklaşık olarak %50'sinde ferritin ve TS'nin yüksek olduğu belirtilmiştir (Ferritin için erkeklerde 300 µg/L'nin, kadınlarda 200 µg/L'nin üzeri, TS için %45'in üzeri). Hastalarda tipik klinik özelliklerin ortaya çıkmasında bu mutasyonun mevcudiyeti kadar diyet alışkanlıkları, alkol çay tüketimi, inflamasyon ve metabolik sendrom

mevcudiyeti, ve demir birikimine sebep olan genetik bazı ek mutasyonların varlığının etkili olabileceği belirtilmektedir. Bunun yanı sıra Bradley ve arkadaşlarının (102) yaptıkları 7 çalışmanın metaanalizinde C282Y homozigot erkeklerin %50'sinin ve kadınların %44'ünün 45 yaş üzerinde hastalığın tipik komplikasyonlarından birine maruz kaldıklarını bildirmişlerdir. Buna istinaden demir yükünün hasar oluşturmalarının belli bir süreci gerektirdiği bildirilmiştir. H63D ile C282Y mutasyonunun birleşik heterozigotluğunun hastalığıdaki etkisinin oldukça zayıf olduğu belirtilmektedir. Beutler HH'li hastalarda birleşik C282Y ve H63D heterozigotluğunun frekansını 0.0095 bulmuş, klinik etkisinin zayıf olduğunu ortaya koymuştur (103). Popülasyon bazlı geniş bir çalışmada (104) compound heterozigotlarda biyokimyasal testlere dayanan araştırmalarda erkeklerin % 16.5'inde ve kadınların %8.5'inde TS'de yükseklik tespit edilmiş, ayrıca erkelerin %37'sinde kadınların da %12.7'sinde ferritin yüksekliği saptanmış olup bu oranlar wild tiplerle karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlılıkla farklılık gösterdiği belirtilmiştir. Çalışmamızda C282Y mutasyonunu heterozigot tespit ettiğimiz hasta kriptojenik siroz tanılı idi. Yirmidört yaşındaki kadın hastanın ferritin değeri 177µg/L, TS %59.8 idi. Hastamızda karaciğer sirozu dışında HH'in artropati, kardiyomyopati, diyabet ve cilt pigmentasyonu gibi diğer klinik yansımaları bulunmamaktaydı.

H63D mutasyonu HFE ilişkili HH'de ikinci sıklıkta görülen mutasyondur. C282Y mutasyonunun kuzey avrupadan güneye doğru azalan görülme sıklığının aksine H63D mutasyonu dünya genelinde tüm ırklarda daha yaygın görülmektedir. Dünya genelinde bu mutasyonların sıklığının araştırıldığı bir çalışmada H63D allel frekansı İngilizlerde % 12.1, Finlerde %11.8, Aşkenazi Yahudilerinde %8.6, Yunanlılarda %11.9, İspanyollarda (Bask bölgesi) %30.4, Suudilerde %8.5, Hint ve Pakistanlılarda %7.5, Hong Kong'da %2.8, Avusturalyalılarda %0.2, Meksikalılarda %6.5 ve Türklerde %17.7 tespit edilmiştir (5). Mutasyonun bu yaygın dağılımına rağmen demir birikimine olan etkisi sınırlı bulunmuştur. Gochee ve arkadaşlarının H63D mutasyonunun biyokimyasal ve klinik etkisini araştırdıkları çalışmasında, erkek homozigotların %9'unda, heterozigotların %3'ünde ferritin yüksekliği ve TS yüksekliği tespit edilmiştir. Bu yükseklik wild tipe göre istatistiksel olarak farklı olduğu bildirilmiştir (105). Ancak H63D homozigot mutasyon mevcudiyetinin ılımlı derecede demir birikimine sebep olmakla birlikte, klinik sonuç doğuracak demir birikiminden sorumlu olmadığı bildirilmiştir (4). Aguilar-Martinez P ve arkadaşlarının (106), H63D homozigot

bireylerin demir yükünü araştırdıkları çalışmalarında bu mutasyona sahip bireylerde, normalden şiddetliye kadar değişen derecede demir birikimi olduğunu gözlemlemişlerdir. Aynı çalışmada bu hastalarda daha nadir görülen aşırı demir birikimi ile sonuçlanan genetik mutasyonları taramışlar ancak başka mutasyon bulamamışlardır. Özellikle erkeklerde H63D homozigotluğunun klinik ve biyokimyasal takip gerektirdiği sonucunu bildirmişlerdir. Ayrıca Olynyk ve arkadaşları (107) çalışmalarında H63D mutasyonunun demir aşırı birikimi ile ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır. Benzer şekilde Njajou ve arkadaşları (108) heterozigot H63D ve heterozigot C282Y mutasyonunun istatistiksel anlamlılıkla serum transferin düzeylerini arttırdığını ortaya koymuşlardır. Çalışmamızda kriptojenik sirozlu grupta iki hastamızda H63D mutasyonu homozigot tespit edilmiştir. İlk olgu 54 yaşında erkek hasta, ferritin düzeyi 210 µg/L, TS %5.08, ikinci olgu 80 yaşında erkek hasta ferritin düzeyi 238 µg/L, TS %34.5 idi. Her iki hastada da HH'in artropati, kardiyomyopati, diyabet ve cilt pigmentasyonu gibi diğer klinik yansımaları bulunmamaktaydı. Hepatit B'li ve kriptojenik sirozlu gruplarda mutasyon oranları açısından istatistiksel farklılık bulunmamakla birlikte şüpheli de olsa klinik etkisi olabilecek mutasyonlar kriptojenik sirozlu hastalarımızda tespit edildi. H63D homozigot mutasyonu ve C282Y heterozigot mutasyonu varlığının HH'in tipik klinik özelliklerini oluşturmadağı bilinmekle birlikte her iki mutasyon mevcudiyetinde de ılımlı bir demir birikiminin söz konusu olduğu bilinmektedir. Bu mutasyonların varlığı ile birlikte altta yatan karaciğer adını koyamadığımız bir karaciğer hastalığını şiddetlendirebileceği ve hastanın kliniğine katkısı olabileceğini söylenebilir. Lal ve arkadaşlarının (109) hepatit C'li ve kriptojenik sirozlu olgularda demir birikimini ve HFE mutasyonlarını inceledikleri çalışmalarında kriptojenik sirozlularda mutasyon oranını %4.6 bulmuşlardır. Transplantasyon bekleyen şiddetli sirozlularda mutasyonların daha sık gözlendiğini ve mutasyonların varlığının siroza ilerleyişi olumsuz etkileyebileceğini belirtmişlerdir. Kriptojenik sirozlularda günümüzde en çok suçlanan faktör NASH'tir. Nelson ve arkadaşlarının beyaz ırkta NASH'li hastalarda yaptıkları bir çalışmada C282Y mutasyonunun hepatik fibrozisin şiddeti ile ilişkili olduğu bildirilmiştir (110). Ayrıca birçok çalışmada kronik hepatit C'li hastalarda bu mutasyonların hastaların demir yükünü arttırdığı, tedavi başarısını düşürdüğü ve karaciğer hastalığının şiddetini arttırdığı bildirilmiştir. Erhardt ve arkadaşları çalışmalarında kronik hepatit C'de H63D ve C282Y mutasyonlarının heterozigot varlığının karaciğer sirozu ve fibrozis için bağımsız bir risk faktörü olduğunu

bildirmişlerdir (111). Çalışmamızda mutasyon olan ve olmayan gruplarda karaciğer sirozunun CTP'ye göre şiddeti ve hastalık yaşı açısından istatistiksel farklılık tespit edemedik. Ancak hastalarımızda zaten sirozlu olgular olduğundan ve hasta sayısı yetersiz olduğundan bu mutasyonların hepatitin şiddetine olan etkisi hakkında yorum yapmayı güçleştirmektedir.

Ülkemizden HFE ilişkili HH mutasyonlarının değerlendirildiği birkaç tarama çalışması bulunmaktadır. Halis Şimşek ve arkadaşlarının kan donörleri üzerinde yaptığı çalışmada C282Y mutasyonu tespit etmemişler ve H63D mutasyonunu sıklığını heterozigot %17.13, homozigot %7.69 tespit etmişlerdir. Çalışma grubu için toplan H63D mutasyon sıklığını %27.32 tespit etmişlerdir (8). Hakan Bozkaya ve arkadaşlarının benzer şekilde dizayn ettikleri çalışmalarında C282Y mutasyonu tespit edilmemiş ve heterozigot H63D mutasyonunu % 11.6 oranında tespit etmişlerdir. Çalışmamızda toplam allel sayısına göre H63D mutasyonu %25.8 tespit edilmiş ve Halis Şimşek'in verilerine paralellik gösterirken diğer çalışmalarda sunulan verilere göre daha yüksek bulunmuştur. Özellikle kriptojenik sirozlu hasta grubumuzda H63D mutasyonu %31.03 ile ülkemizden şimdiye kadar belirtilen mutasyon oranlarına göre yüksek tespit edilmiştir. Bu yüksek veriler belki de altta yatan karaciğer hastalığını ılımlı demir birikimi ile olumsuz katkıda bulunmakla sonuçlanmıştır. Ülkemizden yayınlanan bu veriler ışığında erken tespit edildiği takdirde uygun tedavi ile mortal olabilen komplikasyonları önlenabilir bir hastalık olan HFE ilişkili HH'in ülkemiz için popülasyon bazlı tarama programlarının uygunsuz olduğu söylenebilir. Önlenabilir hastalıklarda erken tedavi amacıyla toplum taraması yaparak hastalıklardan korunma maliyet etkin bir yöntemdir. Ancak ülkemizde az görülen ve klinik etkisi zayıf olan bu mutasyonları popülasyon bazlı taramaktansa, HH'i fenotipik özelliklerine göre taramak daha uygun bir yöntem gibi görünmektedir. Yapılan bir çalışmada 1990–1995 yılları arasında yeni tanınan HH'li hastaların %62'si fenotipik özellikleri ile dikkati çekerek tanıya ulaşılmıştır. Kalan hastaların %14'ü aile üyelerinin taramasıyla tespit edilmiştir (89). Dolayısıyla genetik tarama programlarında seçici davranmak, riskli hasta gruplarında tarama yapmak günümüzde daha yaygınlıkla kabul gören bir görüştür (112).

Sonuç olarak HFE mutasyonları bölgemiz için önemli bir sağlık problemi gibi görünmemektedir. Kriptojenik sirozlu hastalarımızda bulduğumuz heterozigot C282Y ve iki hastada da homozigot H63D varlığı değerlendirildiğinde seçilmiş hasta gruplarında bu mutasyonların taranması önerilebilir. Özellikle kriptojenik sirozlu olgularda gerek HH tanısı

için gerekse ılımlı demir birikimi ile bu mutasyonların hepatik hasarı arttırıcı etkisini ortaya koymak ve belki de flebotomi ile sirozun ilerleyişini yavaşlatabilmek amacıyla bu mutasyonları araştırılabilir bulmaktayız. Klinisyenler karaciğer hastalarında bu mutasyonların morbidite ve mortaliteye olan olası katkısı açısından uyanık olmalıdır.

6. KAYNAKLAR

- 1.Friedman S, Schiano T. Cirrhosis and its sequelae. In: Goldman L, Ausiello D, eds. Cecil textbook of Medicine. 22nd ed. Philadelphia, Pa.:Saunders; 2004. p.936-44.
- 2.Feder JN, Gnirke A, Thomas W, Tsuchihashi Z, Ruddy DA, Basava A, Dormishian F, Domingo R Jr, Ellis MC, Fullan A, Hinton LM, Jones NL, Kimmel BE, Kronmal GS, Lauer P, Lee VK, Loeb DB, Mapa FA, McClelland E, Meyer NC, Mintier GA, Moeller N, Moore T, Morikang E, Wolff RK. A novel MHC class I-like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 1996;13:399–408
- 3.Cazzola M. Novel genes, proteins, and inherited disorders of iron overload: iron metabolism is less boring than thought. *Haematologica* 2002;87:115–116
- 4.Franchini M, Veneri D. Recent advances in hereditary hemochromatosis. *Ann Hematol.* 2005 Jun;84(6):347-52. Epub 2005 Mar 4.
- 5.Merryweather-Clarke AT, Pointon JJ, Shearman JD, Robson KJH. Global prevalence of putative haemochromatosis mutations. *J Med Genet* 1997;34:275–278
- 6.Simsek H, Balaban YH, Yilmaz E, Sumer H, Buyukasik Y, Cengiz C, Ozcebe O, Hascelik G, Tatar G. Mutations of the HFE gene among Turkish hereditary hemochromatosis patients. *Ann Hematol.* 2005 Oct;84(10):646-9. Epub 2005 May 4.
- 7.Bozkaya H, Bektas M, Metin O, Erkan O, Ibrahimoglu D, Dalva K, Akbiyik F, Gurel S, Bozdayi AM, Akay C, Yurdaydin C, Aslan O, Uzunalimoglu O. Screening for hemochromatosis in Turkey. *Dig Dis Sci.* 2004 Mar;49(3):444-9.
- 8.Simsek H, Sumer H, Yilmaz E, Balaban YH, Ozcebe O, Hascelik G, Buyukasik Y, Tatar G. Frequency of HFE mutations among Turkish blood donors according to transferrin saturation: genotype screening for hereditary hemochromatosis among voluntary blood donors in Turkey. *J Clin Gastroenterol.* 2004 Sep;38(8):671-5.
- 9.Yönel O, Hatirnaz O, Akyüz F, Köroğlu G, Ozbek U, Cefle K, Mungan Z. Definition of C282Y mutation in a hereditary hemochromatosis family from Turkey. *Turk J Gastroenterol.* 2007 Mar;18(1):53-57.
- 10.Bassett ML, Halliday JW, Bryant S, et al. Screening for hemochromatosis. *Ann N Y Acad Sci.* 1989;526:274–278.
- 11.Sherlock S, Dooley J. Hepatic cirrhosis. In: Disease of the liver disease and biliary system. 2th ed, London, Blackwell scientific pub. 2002; 365-377.

12. Leon DA, McCambridge J. Liver cirrhosis mortality rates in Britain from 1950 to 2002: an analysis of routine data. *Lancet*. 2006 Jan 7;367(9504):52-6.
13. Bosetti C, Levi F, Lucchini F, Zatonski WA, Negri E, La Vecchia C. Worldwide mortality from cirrhosis: an update to 2002. *J Hepatol*. 2007 May;46(5):827-39. Epub 2007 Feb 16.
14. Popper H. Pathologic aspects of cirrhosis. A review. *Am J Pathol*. 1977 Apr;87(1):228-64.
15. Kolios G, Valatas V, Kouroumalis E. Role of Kupffer cells in the pathogenesis of liver disease. *World J Gastroenterol*. 2006 Dec 14;12(46):7413-20.
16. Friedman SL. Pathogenesis of Hepatic Fibrosis UpToDate 2006.p.1-12. Date 20.12.2006
17. Benyon RC, Arthur MJ. Extracellular matrix degradation and the role of hepatic stellate cells. *Semin Liver Dis* 2001;21(3):373-84.
18. Boros P, Miller CM. Hepatocyte growth factor: a multifunctional cytokine. *Lancet* 1995;345(8945):293-5.
19. Vong S, Bell BP. Chronic liver disease mortality in the United States, 1990-1998. *Hepatology*. 2004 Feb;39(2):476-83.
20. Bayan K, Yilmaz S, Tuzun Y, Yildirim Y. Epidemiological and clinical aspects of liver cirrhosis in adult patients living in Southeastern Anatolia: leading role of HBV in 505 cases. *Hepatogastroenterology*. 2007 Dec;54(80):2198-202.
21. Jeffers LJ, Hasan F, De Medina M, Reddy R, Parker T, Silva M *et al.*, Prevalence of antibodies to hepatitis C virus among patients with cryptogenic chronic hepatitis and cirrhosis. *Hepatology* 15 (1992), pp. 187–190.
22. Powell EE, Graham W, Cooklsey E, Hanson R, Searle J, Halliday J, Powell L. The natural history of non-alcoholic steatohepatitis: a follow-up study of forty-two patients for up to 21 years. *Hepatology* 1990;11:74-80.
23. Hay JE, Czaja AJ, Rakela J, Ludwig J. The nature of unexplained chronic aminotransferase elevations of a mild to moderate degree in asymptomatic patients. *Hepatology* 1989;9:193-197.
24. Koretz RL, Abbey H, Coleman E, Gitnick G. Non-A, non-B posttransfusion hepatitis. *Ann Intern Med* 1993;119:110-115.
25. Czaja AJ, Carpenter HA, Santrach PJ, Moore SB, Homburger HA. The nature and prognosis of severe cryptogenic chronic active hepatitis. *Gastroenterology*. 1993;104(6):1755-61.

26. Czaja AJ, Hay JE, Rakela J. Clinical features and prognostic implications of severe corticosteroid-treated cryptogenic chronic active hepatitis. *Mayo Clin Proc.* 1990;65(1):23-30.
27. Kaymakoglu S, Cakaloglu Y, Demir K, Türkoglu S, Badur S, Gürel S, Beşişik F, Cevikbaş U, Okten A. Is severe cryptogenic chronic hepatitis similar to autoimmune hepatitis? *J Hepatol.* 1998;28(1):78-83.
28. Targan SR, Landers C, Vidrich A, Czaja AJ. High-titer antineutrophil cytoplasmic antibodies in type-1 autoimmune hepatitis. *Gastroenterology* 1995; 108: 1159–66.
29. Wanless IR, Lentz JS. Fatty liver hepatitis (steatohepatitis) and obesity: An autopsy study with analysis of risk factors. *Hepatology* 1990;12:1106–10.
30. Harrison SA, Torgerson S, Hayashi PH. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a clinical histopathological study. *Am J Gastroenterol.* 2003Sep;98(9):2042-7.
31. Schaffner F, Popper H. Capillarization of hepatic sinusoids. *Gastroenterology* 1963;44:239-242.
32. Nosadini R, Avogaro A, Mollo F, Marescotti C, Tiengo A, Duner E, et al. Carbohydrate and lipid metabolism in cirrhosis. Evidence that hepatic uptake of gluconeogenic precursors and of free fatty acids depends on effective hepatic flow. *J Clin Endocrinol Metab* 1984;58:1125-1132.
33. Caldwell SH, Oelsner DH, Iezzoni JC, Hespenheide EE, Battle EH, Driscoll CJ. Cryptogenic cirrhosis: clinical characterization and risk factors for underlying disease. *Hepatology.* 1999 Mar;29(3):664-9.
34. Poonawala A, Nair SP, Thuluvath PJ. Prevalence of obesity and diabetes in patients with cryptogenic cirrhosis: a case-control study. *Hepatology.* 2000;32(4 Pt 1):689-92.
35. Sakugawa H, Nakasone H, Nakayoshi T, Kawakami Y, Yamashiro T, Maeshiro T, Kobashigawa K, Kinjo F, Saito A. Clinical characteristics of patients with cryptogenic liver cirrhosis in Okinawa, Japan. *Hepatogastroenterology.* 2003;50(54):2005-8.
36. Kojima H, Sakurai S, Matsumura M, Umemoto N, Uemura M, Morimoto H, Tamagawa Y, Fukui H. Cryptogenic cirrhosis in the region where obesity is not prevalent. *World J Gastroenterol.* 2006 Apr 7;12(13):2080-5.
37. Petrides AS, Vogt C, Schulze-Berge D, Matthews D, Strohmeyer G. Pathogenesis of glucose intolerance and diabetes mellitus in cirrhosis. *Hepatology.* 1994;19(3):616-27.

38. Kruszynska YT, Home PD, McIntyre N. Relationship between insulin sensitivity, insulin secretion and glucose tolerance in cirrhosis. *Hepatology*. 1991;14(1):103-11.
39. Runyon BA, Montano AA, Akriviadis EA, et al. The serum ascites albumin gradient is superior to the exudates-transudate concept in the differential diagnosis of ascites. *Ann Int Med* 1992;117:215-20.
40. Gaiani S, Gramantieri L, Venturoli N, Piscaglia F, Siringo S, D'Errico A, et al. What is the criterion for differentiating chronic hepatitis from compensated cirrhosis? A prospective study comparing ultrasonography and percutaneous liver biopsy. *J Hepatol* 1997;27(6):979-85.
41. Kochanek KD, Murphy SL, Anderson RN, et al. Deaths: final data for 2002. *Natl Vital Stat Rep* 2004;53:1–115.
42. Fattovich G, Giustina G, Degos F, et al. Morbidity and mortality in compensated cirrhosis type C: a retrospective follow-up study of 384 patients. *Gastroenterology* 1997;112:463–472.
43. Nguyen TT, Lingappa VR. Liver Disease. In: McPhee SJ, Ganong WF, editors. *Pathophysiology of Disease: An Introduction to Clinical Medicine*, 5th ed. New York, NY: McGraw-Hill, 2006. p. 327-429.
44. Carson JL, Willett LR. Toxicity of nonsteroidal anti-inflammatory drugs: an overview of the epidemiological evidence. *Drugs* 1993;46(suppl 1):243-8.
45. Schrier RW, Gross P, Gheorghiade M. Treatment for cirrhosis-related hyponatremia? Vaptans and aquaresis. *Hepatology* 2007;45:1080-1.
46. D'Amico G, Pagliaro L, Bosch J. The treatment of portal hypertension: a meta-analytic review. *Hepatology* 1995;22:332-54.
47. Graham DY, Smith JL. The course of patients after variceal hemorrhage. *Gastroenterology* 1981;80:800-9.
48. Garcia-Tsao G, Sanyal AJ, Grace ND, Carey W; Practice Guidelines Committee of the American Association for the Study of Liver Diseases; Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Prevention and management of gastroesophageal varices and variceal hemorrhage in cirrhosis. *Hepatology*. 2007 Sep;46(3):922-38.
49. Moore KP, Aithal GP. Guidelines on the management of ascites in cirrhosis. *Gut*. 2006 Oct;55 Suppl 6:vi1-12.

50. Lenaerts A, Codden T, Meunier MC, et al: Effects of clonidine on diuretic response in ascitic patients with cirrhosis and activation of sympathetic nervous system. *Hepatology* 44(4):844-849, 2006.
51. Quero JC, Hartmann IJ, Meulstee J, et al. The diagnosis of subclinical hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis using neuropsychological tests and automated electroencephalogram analysis. *Hepatology* 1996;24:556–560.
52. Dong MH, Saab S. Complications of cirrhosis. *Dis Mon.* 2008 Jul;54(7):445-56.
53. Arroyo V, Terra C, Gines P. New treatments of hepatorenal syndrome. *Semin Liv Dis* 2006;26:254-62.
54. Hadengue A, Benhayoun MK, Lebrec D, Benhamou JP. Pulmonary hypertension complicating portal hypertension: prevalence and relation to splanchnic hemodynamics. *Gastroenterology*. 1991 Feb;100(2):520-8.
55. Mathews RE Jr, McGuire BM, Estrada CA. Outpatient management of cirrhosis: a narrative review. *South Med J*. 2006 Jun;99(6):600-6.
56. Bruce R. Bacon and Robert S. Britton. Hemochromatosis. In: Feldman Mark, ed. *Gastrointestinal and liver disease pathophysiology, diagnosis, management*. 8th ed. Canada: Saunders elseiver, 2006:1589-99.
57. Beutler E. Hemochromatosis: genetics and pathophysiology. *Annu Rev Med* 2006;57:331-47.
58. Uysal Z. Hepsidin ve demir metabolizması. 6. Hematoloji ilk basamak kursu eğitim kitabı; sayfa 14-20; 33. Ulusal Hematoloji kongresi; 16-19 Ekim 2007, Ankara.
59. Ahmad KA, Ahmann JR, Migas MC, et al. 2002. Decreased liver hepcidin expression in the hfe knockout mouse. *Blood Cells Mol. Dis.* 29:361–66.
60. Kawabata H, Fleming RE, Gui D, et al. 2005. Expression of hepcidin is downregulated in TfR2 mutant mice manifesting a phenotype of hereditary hemochromatosis. *Blood* 105:376–81
61. Papanikolaou G, Samuels ME, Ludwig EH, MacDonald ML, Franchini PL, Dube MP, Andres L, MacFarlane J, Sakellaropoulos N, Politou M, Nemeth E, Thompson J, Risler JK, Zaborowska C, Babakiaiff R, Radomski CC, Pape TD, Davidas O, Christakis J, Brissot P, Lockitch G, Ganz T, Hayden MR, Goldberg YP. Mutations in HFE2 cause iron overload in chromosome 1q-linked juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 2004; 36: 77-82

62. Pietrangelo A. Hereditary hemochromatosis. *Biochim Biophys Acta*. 2006 Jul;1763(7):700-10. Epub 2006 May 27.
63. Parkkila S, Waheed A, Britton RS, et al. 1997. Association of the transferrin receptor in human placenta with HFE, the protein defective in hereditary hemochromatosis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94:13198–202
64. Lebron JA, Bennett MJ, Vaughn DE, et al. 1998. Crystal structure of the hemochromatosis protein HFE and characterization of its interaction with transferrin receptor. *Cell* 93:111–23
65. Davies PS, Enns CA. 2004. Expression of the hereditary hemochromatosis protein HFE increases ferritin levels by inhibiting iron export in HT29 cells. *J. Biol. Chem.* 279:25085–92
66. Lucotte G. 2001. Frequency analysis and allele map in favor of the Celtic origin of the C282Y mutation of hemochromatosis. *Blood Cells Mol. Dis.* 27:549–56
67. Beutler E. Genetic irony beyond haemochromatosis: clinical effects of HLA-H mutations. *Lancet*. 1997;349:296–97
68. Camaschella C, Roetto A, De Gobbi M. Genetic haemochromatosis: Genes and mutations associated with iron loading. *Best Pract Res Clin Haematol* 2002;15:261–276.
69. De Gobbi M, Roetto A, Piperno A, Mariani R, Alberti F, Papanikolaou G, Politou M, Lockitch G, Girelli D, Fargion S, Cox TM, Gasparini P, Cazzola M, Camaschella C. Natural history of juvenile haemochromatosis. *Br J Haematol* 2002; 117:973-979.
70. Truksa J, Peng H, Lee P, Beutler E. Bone morphogenetic proteins 2, 4, and 9 stimulate murine hepcidin 1 expression independently of Hfe, transferrin receptor 2 (Tfr2), and IL-6. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006; 103: 10289-10293
71. Roetto A, Papanikolaou G, Politou M, Alberti F, Gireli D, Christakis J, Loukopoulos D, Camaschella C. Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 2003; 33: 21-22
72. Porto G, Roetto A, Daraio F, Pinto JP, Almeida S, Bacelar C, Nemeth E, Ganz T, Camaschella C. A Portuguese patient homozygous for the -25G>A mutation of the HAMP promoter shows evidence of steady-state transcription but fails to upregulate hepcidin levels by iron. *Blood* 2005; 106: 2922-2923
73. Camaschella C, Roetto A, Cali A, De Gobbi M, Garozzo G, Carella M, Majorano N, Totaro A, Gasparini P. The gene TFR2 is mutated in a new type of haemochromatosis mapping to 7q22. *Nat Genet* 2000; 25: 14-15

74. Wallace DF, Summerville L, Subramaniam VN. Targeted disruption of the hepatic transferrin receptor2 gene in mice leads to iron overload. *Gastroenterology* 2007;132:301-310
75. Nemeth E, Roetto A, Garozzo G, Ganz T, Camaschella C. Hcpidin is decreased in TFR2 hemochromatosis. *Blood* 2005; 105: 1803-1806
76. Pietrangelo A, Caleffi A, Henrion J, Ferrara F, Corradini E, Kulaksiz H, Stremmel W, Andreone P, Garuti C. Juvenile hemochromatosis associated with pathogenic mutations of adult hemochromatosis genes. *Gastroenterology* 2005; 128: 470-479
77. Eason RJ, Adams PC, Aston CE, Searle J. Familial iron overload with possible autosomal dominant inheritance. *Aust N Z J Med* 1990; 20: 226-230
78. Njajou OT, Vaessen N, Joosse M, Berghuis B, van Dongen JW, Breuning MH, Snijders PJ, Rutten WP, Sandkuijl LA, Oostra BA, van Duijn CM, Heutink P. A mutation in SLC11A3 is associated with autosomal dominant hemochromatosis. *Nat Genet* 2001; 28: 213-214
79. Montosi G, Donovan A, Totaro A, Garuti C, Pignatti E, Cassanelli S, Trenor CC, Gasparini P, Andrews NC, Pietrangelo A. Autosomal-dominant hemochromatosis is associated with a mutation in the ferroportin (SLC11A3) gene. *J Clin Invest* 2001;108:619-623
80. Gordeuk VR, Caleffi A, Corradini E, et al. 2003. Iron overload in Africans and African-Americans and a common mutation in the *SCL40A1* (ferroportin 1) gene. *Blood Cells Mol. Dis.* 31:299–304
81. Bacon BR, Britton RS: The pathology of hepatic iron overload: A free radical-mediated process? *Hepatology* 11:127, 1990.
82. Hershko C, Link G, Cabantchik I: Pathophysiology of iron overload. *Ann N Y Acad Sci* 850:191, 1998.
83. McDonnell SM, Preston BL, Jewell SA, et al. A survey of 2851 patients with hemochromatosis: Symptoms and response to treatment. *Am J Med* 1999;106:619–624.
84. Adams PC, Kertesz AE, Valberg LS: Clinical presentation of hemochromatosis: A changing scene. *Am J Med* 90:445, 1991.
85. Deugnier YM, Guyader D, Crantook L, et al: Primary liver cancer in genetic hemochromatosis: A clinical, pathological, and pathogenetic study of 54 cases. *Gastroenterology* 104:228, 1992.
86. Olson LJ, Edwards WD, Holmes DR, et al: Endomyocardial biopsy in hemochromatosis: Clinicopathologic correlates in six cases. *J Am Coll Cardiol* 13:116, 1989.

- 87.Shumacher HR: Articular cartilage in the degenerative arthropathy of hemochromatosis. *Arthritis Rheum* 25:1460, 1982.
- 88.Camaschella C, De Gobbi M, Roetto A. Hereditary hemochromatosis: Progress and perspectives. *Rev Clin Exp Hematol* 2000;4:302–321.
- 89.Bacon BR, Sadiq SA: Hereditary hemochromatosis: Presentation and diagnosis in the 1990s. *Am J Gastroenterol* 92:784, 1997.
- 90.Guyader D, Jacquelinet C, Moirand R, et al: Noninvasive prediction of fibrosis in C282Y homozygous hemochromatosis. *Gastroenterology* 115:929, 1998.
- 91.Brunst EM, Olynyk JK, Britton RS, et al: Histological evaluation of iron in liver biopsies: Relationship to *HFE* mutations. *Am J Gastroenterol* 95:1788, 2000.
- 92.Bassett ML, Halliday JW, Powell LW: Value of hepatic iron measurements in early hemochromatosis and determination of the critical iron level associated with fibrosis. *Hepatology* 6:24, 1986.
- 93.Adams PC, Speechley M, Kertesz AE: Long-term survival analysis in hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology* 101:368, 1991.
- 94.McLaren CE, Barton JC, Adams PC, Harris EL, Acton RT, Press N, Reboussin DM, McLaren GD, Sholinsky P, Walker AP, Gordeuk VR, Leiendecker-Foster C, Dawkins FW, Eckfeldt JH, Mellen BG, Speechley M, Thomson E; Hemochromatosis and Iron Overload Study Research Investigators. Hemochromatosis and Iron Overload Screening (HEIRS) study design for an evaluation of 100,000 primary care-based adults. *Am J Med Sci.* 2003 Feb;325(2):53-62.
95. Barton JC, McDonnell SE, Adams PC, et al. Management of hemochromatosis. *Ann Intern Med* 1998;129:932–9.
- 96.Qaseem A, Aronson M, Fitterman N, Snow V, Weiss KB, Owens DK; Clinical Efficacy Assessment Subcommittee of the American College of Physicians. Screening for hereditary hemochromatosis: a clinical practice guideline from the American College of Physicians. *Ann Intern Med.* 2005 Oct 4;143(7):517-21.
- 97.Niederau C, Fischer R, Purschel A, Stremmel W, Haussinger D, Strohmeyer G. Long-term survival in patients with hereditary hemochromatosis. *Gastroenterology* 1996; 110: 1107–19.
- 98.Falize L, Guillygomarch A, Perrin M, et al. Reversibility of hepatic fibrosis in treated genetic hemochromatosis: a study of 36 cases. *Hepatology* 2006; 44: 472–77.

99. Brissot P, Troadec MB, Bardou-Jacquet E, Le Lan C, Jouanolle AM, Deugnier Y, Loréal O. Current approach to hemochromatosis. *Blood Rev.* 2008 Jul;22(4):195-210. Epub 2008 Apr 21.
100. Waalen J, Nordestgaard BG, Beutler E. The penetrance of hereditary hemochromatosis. *Best Pract Res Clin Haematol* 2005;18:203–20.
101. Beutler E, Felitti VJ, Koziol JA, Ho NJ, Gelbart T. Penetrance of 845G→A (C282Y) HFE hereditary haemochromatosis mutation in the USA. *Lancet* 2002;359:211–8.
102. Bradley LA, Haddow JE, Palomaki GE. Population screening for haemochromatosis: a unifying analysis of published intervention trials. *J Med Screen.* 1996;3(4):178-84.
103. Beutler E. The significance of the 187G (H63D) mutation in hemochromatosis. *Am J Hum Genet.* 1997 Sep;61(3):762-4.
104. Adams PC, Kertesz AE, McLaren CE, et al. 2000. Population screening for hemochromatosis: a comparison of unbound iron-binding capacity, transferrin saturation, and C282Y genotyping in 5,211 voluntary blood donors. *Hepatology* 31:1160–64
105. Gochee PA, Powell LW, Cullen DJ, Du Sart D, Rossi E, Olynyk JK. A population-based study of the biochemical and clinical expression of the H63D hemochromatosis mutation. *Gastroenterology.* 2002 Mar;122(3):646-51.,104. *Hepatology.* 2007 Sep;46(3):723-9.
106. Aguilar-Martinez P, Bismuth M, Picot MC, Thelcide C, Pageaux GP, Blanc F, Blanc P, Schved JF, Larrey D. Variable phenotypic presentation of iron overload in H63D homozygotes: are genetic modifiers the cause? *Gut.* 2001 Jun;48(6):836-42.
107. Olynyk JK, Cullen DJ, Aquilia S, Rossi E, Summerville L, Powell LW. A population-based study of the clinical expression of the hemochromatosis gene. *N Engl J Med* 1999;341:718–724.
108. Njajou O, Duistermaat J, Osborne R, Vaessen N, Vargeer J, Heeringa J, Pols HA, Hofman A, van Duijn CM. A population-based study of the effect of the HFE C282Y and H63D mutations on iron metabolism. *Eur J Hum Genet* 2003;11:225–231.
109. Lal P, Fernandes H, Koneru B, Albanese E, Hameed M. C282Y mutation and hepatic iron status in hepatitis C and cryptogenic cirrhosis. *Arch Pathol Lab Med.* 2000 Nov;124(11):1632-5.
110. Nelson JE, Bhattacharya R, Lindor KD, Chalasani N, Raaka S, Heathcote EJ, Miskovsky E, Shaffer E, Rulyak SJ, Kowdley KV. HFE C282Y mutations are associated with advanced

hepatic fibrosis in Caucasians with nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology*. 2008;47(5):1794-5.

111.Erhardt A, Maschner-Olberg A, Mellenthin C, Kappert G, Adams O, Donner A, Willers R, Niederau C, Häussinger D. HFE mutations and chronic hepatitis C: H63D and C282Y heterozygosity are independent risk factors for liver fibrosis and cirrhosis. *J Hepatol*. 2003;38(3):335-42.

112.DuBois S, Kowdley KV. Review article: targeted screening for hereditary haemochromatosis in high-risk groups. *Aliment Pharmacol Ther*. 2004 Jul 1;20(1):1-14.

.