

**ETİYOLOJİSİ BELİRLENEMEYEN DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİLERİNDE  
MUTASYON ANALİZİ****MUTATION ANALYSIS IN IRON DEFICIENCY ANEMIA OF UNDETERMINABLE ETIOLOGY**Banu Çiçek Yalçın Dulundu<sup>1</sup>, Burhan Turgut<sup>2</sup><sup>1</sup> Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları ABD, Tekirdağ, Türkiye  
<sup>2</sup> Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hematoloji BD, Tekirdağ, Türkiye**Özet**

Demir eksikliği tüm dünyada karşılaşılan en sık anemi nedenidir. Demir eksikliği anemisi (DEA), alım yetersizliği (ihtiyacın arttığı durumlarda ya da normal şartlarda) ya da alımın karşılayamadığı kayıp durumlarında gelişebilmektedir. Emilimin yetersiz olduğu ya da belirli gen defektleri varlığındaki gibi nadir durumlar sonucunda da DEA görülebilmektedir. Genelde menstruasyon gibi fizyolojik yolla olan kayıpların arttığı durumlarda, dolayısıyla daha çok kadınlarda demir eksikliğine rastlanır. Erişkin bir erkek veya postmenapozal dönemdeki kadında ise etiyoloji sıklıkla gastrointestinal kanamadır. Kanamaların etyolojisinde ise çoğunlukla GIS'teki bir tümoral oluşum bulunmaktadır. Eğer etiyoloji açısından rutin taramalarla neden bulunamazsa nadir sebepler akla gelmelidir; hematüri, hemosiderozis, çölyak hastalığı, pica, demir kullanımını etkileyen genetik bozukluk gibi. Biz çalışmamızda demir eksikliği kriterlerini karşılayan 455 hasta taradık. Bu hastalardan 10' unda, demir tedavisine cevap alınmamış ve tedavi sonrasında DEA'sı tekrarlamakta idi. Bütün araştırmalara rağmen etiyolojisi belirlenemeyen bu 10 hastada, matriptaz-2 proteinini kodlayan TMPRSS6 geninin 13. eksonuna Sanger metodu ile dizileme analizi yapıldı. Bu hastalarda TMPRSS6 geninde mutasyon izlenmesi de bazı hastalarda tekli gen polimorfizmi görüldü. TMPRSS6'daki tekli gen polimorfizimleri toplumda sık görülmekle beraber DEA gelişiminde rol oynadığı bilinmektedir. Bizim seçtiğimiz 10 kişinin 5'inde de D521D tekli gen mutasyonu izlendi.

**Anahtar Kelimeler:** demir eksikliği anemisi, DEA, TMPRSS6.**Abstract**

Iron deficiency is the main cause of anemia worldwide. Iron deficiency anemia (IDA) occurs under such conditions as insufficient intake (when requirements increase or under normal conditions) or when losses cannot be met by intake. IDA may also rarely be seen in rare situations such as when absorbance is insufficient or in the presence of specific gene defects. Iron deficiency generally occurs in the event of increased losses by physiological routes, such as menstruation, and is therefore more common in women. The etiology in an adult male or postmenopausal woman is frequently gastrointestinal bleeding. A tumoral formation in the gastrointestinal system is usually present in the etiology of such bleeding. In etiological terms, if a cause cannot be identified with routine screening, then rare causes must be considered, including hematuria, hemosiderosis, celiac disease, pica, and genetic disorder affecting iron use. In this study we screened 455 patients meeting the criteria for iron deficiency. IDA that failed to respond to iron therapy and that recurred after treatment was identified in 10 of these patients. Sequencing analysis using the Sanger method was performed on the 13th exon of gene TMPRSS6, which encodes the protein matriptase-2, in 10 patients in whom no etiology could be determined despite all investigations. Although mutation in the TMPRSS6 gene was not observed in these cases, single-gene polymorphism was observed in some patients. Single gene polymorphisms in TMPRSS6 are common in society and are known to play a role in the development of IDA. Single D521D gene mutation was observed in five of the 10 individuals we selected.

**Keywords:** Iron Deficiency Anemia, IDA, TMPRSS6.**GİRİŞ**

Demir eksikliği anemisi dünya genelinde en sık anemi sebebidir <sup>1</sup>. Gelişmekte olan ülkelerde

%30'dan %70'e kadar değişen oranlarda demir eksikliği olduğu ve en yüksek sıklığın demirden düşük diyetle beslenenlerde, helmintik

**Corresponding Author / Sorumlu Yazar:**

Prof Dr Burhan Turgut  
Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hematoloji BD,  
Tekirdağ, Türkiye  
burhanturgut@hotmail.com

**Article History / Makale Geçmişi:**

Date Received / Geliş Tarihi: 17.12.2016  
Date Accepted / Kabul Tarihi: 20.12.2016

enfestasyonlar nedeni ile kronik gastrointestinal kanama ile kan kaybı olan kişilerde görüldüğü bildirilmiştir. Buna karşın gelişmiş ülkelerde menstrüel dönemdeki kadınlarda jinekolojik kanamalar, post menapozal kadınlar ve erkeklerde gastro-intestinal sistem (GIS)'den kan kayıpları en önemli etiyolojik faktörlerdir<sup>2</sup>.

Demir eksikliği anemisi olan hastanın değerlendirilmesinde en önemli nokta bu duruma yol açan altta yatan nedenin belirlenmesi ve tedavi edilmesidir. Genetik faktörlerin demir eksikliği riskini etkilediği bilinmekle beraber mekanizmaları henüz tam olarak ortaya konamamıştır<sup>3</sup>. Artan demir ihtiyacı nedeniyle demir eksikliği gelişimine en sıklıkla yol açan patolojik neden kan kaybıdır. Erkeklerde veya postmenapozal bir kadında demir eksikliği, hemen her zaman gastro-intestinal kan kaybı varlığını işaret eder. GIS'teki herhangi bir hemorajik lezyon kan kaybının nedeni olabilir ve lezyon semptomatik olmayabilir. Demir eksikliği sıklıkla GIS malignitenin ilk bulgusu olabilir<sup>4</sup>. Çölyak hastalığı, otoimmün atrofik veya H. pylori gastriti demir eksikliği anemisi sebebi olabilecek diğer gastro-intestinal hastalıklardır. Alkol, salisilatlar, steroid ve non-steroid antiinflatuar ilaçlar kan kaybının sebebi olabilir veya mevcut lezyondan kaynaklanan kanamaya katkıda bulunabilirler. PNH veya kronik intravasküler hemolizden kaynaklanan kronik hemoglobinüri ve hemosidenüri nadir olarak demir eksikliği anemisinin nedeni olabilir. Seyrek olarak kronik hemoptizi nedeniyle solunum yolundan kan kaybı demir eksikliği anemisine yol açabilir. Goodpasture sendromu ve idiyopatik pulmoner hemosiderosis demirin pulmoner makrofajlarda

sekestrasyonu ile demir eksikliği anemisine yol açabilirler. Ayrıca tekrarlayan kan donasyonları özellikle menstruasyon gören kadınlarda demir eksikliğine neden olabilir. Ağır menstrüel kayıplar veya çok sayıda hamilelik geçirmiş kadınlar eğer demirden yetersiz diyetle beslenirlerse demir eksikliği anemisi riskleri artar. Bilinen bütün bu etiyolojik faktörlerin araştırılmasına rağmen bazı hastalarda demir eksikliği anemisi nedeni tam olarak ortaya konamamaktadır. Bu hastalarda genetik faktörler düşünülmelidir.

Son yıllarda demirin emilimi, transferi ve kullanımının düzenlenmesinde sorumlu mekanizmalar eskiye göre daha iyi anlaşılmiş ve demir metabolizması ile ilişkili genler belirlenmiştir. Vücuttaki demir regülasyonunda bilinen en önemli biyokimyasal ajan hepsidindir. Karaciğerde sentezlenen hepsidin bağırsaklardan demir emilimini ve makrofajlardan demir salınımını kontrol etmektedir. Demir ihtiyacının arttığı durumlarda hepsidin düzeyi azalmakta ve demir depolarının yükseldiği veya enflamasyon durumlarında karaciğerde hepsidin üretimi artmaktadır. Bu şekilde vücutta demir kullanımı büyük ölçüde hepsidin ile kontrol edilmektedir<sup>5</sup>. Hepsidin üretimini etkileyen mekanizmalar tam olarak ortaya konamamış olmakla beraber enflamasyonun tetiklediği JAK-STAT-3 yolu ve bone morfojenik protein (BMP) üzerinden olan kontrol mekanizmaları iyi bilinmektedir. Yine BMP koreseptörü olan hemojovelin (HMJ) de bu kontrol de yer almaktadır. Son yıllarda "demire dirençli demir eksikliği anemisi" (Iron-refractory iron deficiency anemia; IRIDA) diye adlandırılan bazı olgularda, hepsidin kontrolü ile ilgili proteinlerin genleri araştırılmış ve bazı mutasyonlar tespit edilmiştir.

DEA'nın tedavisi oral ya da intravenöz demir ile yapılır. Vücudun eksik demirin yerine konması ve boşalan depoların doldurulması için geleneksel oral demir tedavisinin en az 3 ay devam etmesi gerekmektedir. Ancak DEA'nın nadir nedenlerinden biri olan IRIDA'da bu tedaviye yanıt tam değildir<sup>6</sup>. Bu klinik tabloda oral demire hiç yanıt alınmazken parenteral demire yanıt ise kısmidir. Buradaki sorun genellikle hepsidini kodlayan TMPRSS genindeki mutasyondur. Bu mutasyonun sonucunda uygunsuz şekilde artmış plazma hepsidin konsantrasyonu ve dolayısıyla demir kullanımında bozulma olmaktadır. Normal demir alımına rağmen bariz kayıp olmadan DEA tablosu ortaya çıkar ve parenteral tedaviden bir süre sonra tekrarlar.

Çalışmamızın primer amacı derin etiyolojik araştırmaya rağmen sebebi ortaya konamayan demir eksikliği anemisi olgularında, IRIDA'a yol açtığı bildirilmiş TMPRSS6 genindeki mutasyonların araştırılmasıdır. Bu amaçla genin, mutasyonları mutasyonlar en sık taşıdığı bilinen 13. eksonunun Sanger metodu ile dizi analizi planlanmıştır. Çalışmamızın sekonder amacı ise tarayacağımız DEA olgularının demografik, klinik ve laboratuvar verilerinin analizi ve uygulanan tedaviye alınan yanıtların değerlendirilmesidir.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

Çalışmamız Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Hematoloji polikliniğine 2012-2013 yılları arasında gelen demir eksikliği tanısı almış 1500 hasta taranarak yapıldı. Bu hastalardan yeterli verisi olan 455 hasta çalışmaya alındı. Bu hastalar içinden, bütün klinik değerlendirme, takip, görüntüleme yöntemi ve

laboratuvar incelemelerine rağmen etiyolojisi tespit edilemeyenlerin 10 tanesi TPSS exon 13 gen mutasyonu çalışılmak üzere belirlendi. Hastalar aşağıdaki kriterlere göre değerlendirildi.

### I- Erkekler ve postmenapozal kadınlar:

Çalışmaya alınacak 40 yaş altı erkekler: Hastalar bulantı, iştahsızlık, kilo kaybı, ishal, karın ağrısı, dışkılama alışkanlıklarında değişiklik, hematokezia, melena açısından sorgulandı. Sorgulamada kanama ile ilişkili GIS patolojisi düşünülen veya gaitada gizli kan sonucu pozitif olan hastaların endoskopik tetkikleri yapıldı. Sorgulaması negatif olan 40 yaşın altındaki erkekler proton pompa inhibitörü (PPI) kullanımı, nonsteroid anti-inflamatuar ilaç (NSAİİ) kullanımı, pika, gastrik cerrahi, demir emilimini etkileyen ilaç kullanımı, sıkı vejetaryenlik, kan donasyonu, yakın zamanda geçirilmiş ameliyat ve diğer nadir demir eksikliği anemisi nedenleri (idyopatik pulmoner siderozis, hematüri, hemoglobüri gibi) açısından sorgulandı ve tetkik edildi. Etiyolojisi konusunda şüphe duyulan olgular 3 aylık takip sonrası (yapılabiliyorsa etiyolojik faktör ortadan kaldırılarak) tekrar değerlendirildi. Bu sorgulama ve tetkiklerle demir eksikliği anemisinin etiyolojisi tespit edilemeyen olgularda atrofik gastrit, H. pylori gastriti ve gluten enteropatisi tanılarına yönelik endoskopik ve laboratuvar tetkikler yapıldı. H. pylori gastriti olan hastalar eradikasyon tedavisi ve 6 aylık bir takip sonrası tekrar değerlendirildi. Böylelikle eradikasyon tedavisinin demir eksikliği anemisi üzerine etkisi incelenmiş oldu.

40 yaş üzeri erkekler ve postmenapozal kadınlar: Bütün olgular GIS semptomlarına

bakılmaksızın endoskopik olarak (kolonoskopi, gerekirse özefagogastroduodenoskopi) değerlendirildi. Endoskopik değerlendirmelerinde patolojik bulgu saptanmayan olgular 40 yaş altı erkeklerdeki gibi diğer demir eksikliği anemisi nedenleri açısından araştırılıp takip edildi.

## II- Premenapozal kadınlar:

Premenapozal kadınlarda meno/metroraji açısından jinekolojik sorgulama yapıldı, olgular gereğinde jinekolojik değerlendirmeye tabi tutuldu. Jinekolojik patolojisi olan hastalar belirlendi. Meno/metroraji tarif etmeyen olgular diğer etiyolojik faktörler (40 yaşın altında erkeklerde olduğu gibi) açısından araştırıldı.

Demir eksikliği anemisi tanı kriterleri: Demir eksikliği anemisi tanısı, anemi beraberinde ferritin düzeyi 30 ng/ml'nin altında olan hastalara konuldu.

Hastaların demografik verileri, klinik bulguları ve laboratuvar sonuçları kaydedildi. Hastaların DEA etyolojisini belirlemek için yapılan klinik değerlendirme ve tetkik sonuçları (endoskopi, biyopsi, görüntüleme) incelendi ve belirlenen etiyolojiler kaydedildi. Maligniteler; üst GIS kanal, alt GIS kanal olarak değerlendirildi, bunların dışında bulunanlar kendi isimleri ile kaydedildi. Çalışmada kullanılan değişkenler aşağıdaki şekilde tanımlandı.

Kilo kaybı: Altı ay içinde vücut ağırlığının %10'dan fazlasının kaybı.

İshal: Günde 3'ten fazla, enfeksiyona bağlı olmayan ve yineleyen ve 1 aydan fazla süren.

Dışkılama alışkanlıklarında değişiklik: Süregelen ishal-kabızlık periyodları, dışkının kalibresinde ve kıvamında değişiklik

Beslenme yetersizliği: 2 haftada 2 öğünden az et tüketimi

Hipermenore: Bu grupta menoraji (bir siklusta 80ml'den fazla kan kaybı), metroraji (düzensiz aralıklarla kanama), menometroraji (sık ve aşırı miktarda kanama), klasik kriterlere göre değerlendirildi. Jinekolojik patoloji grubu üstte bahsi geçen hastaların kadın hastalıkları muayenesinden veya gerekirse yapılan cerrahi işleminden sonra elde edilen raporların, biyopsilerin sonuçlarının incelenmesi ile var ya da yok olarak değerlendirildi.

Etyolojinin GIS malignite olduğuna karar verirken üst ve alt GIS endoskopilerin sonuçlarının yanı sıra lezyonlardan alınan örneklerin patoloji sonuçlarına bakıldı. Gastrik ya da kolonik non-neoplastik lezyonlar etiyoloji ile ilişkilendirilmedi. Endoskopilerde GIS'te tümoral kitlenin görülmesi ve biyopside karsinom tanısı veya premalign lezyonlar (villöz, tubulovillöz, kanamalı-fragil lümeden kabarık kitle) görülmesi temel alındı. Yine gastrik atrofi veya H. pylori varlığı biyopsi sonuçları ile kesinleştirildi. Gluten enteropatisi için spesifik anamnez, anti gliadin IgA ve IgG, anti-endomisyum gibi serolojik markerlar yanı sıra duodenal biyopsi sonuçları ile etiyoloji kesinleştirildi. Gastrik kanama için endoskopide kanamalı, aktif ya da kronik ülser lezyon, kanamalı varisal lezyon izlenmesi temel alındı. NSAİİ'ya bağlı kanama için ise endoskopide eritematöz gastrit, pangastrit görülmesi önemsendi. İnflamatuvar barsak hastalığı için kolonoskopide ülserasyonlar fragil mukoza izlenmesi ve kesin tanısı için biyopside mukozada yaygın lenfosit ve plazma hücre infiltrasyonu, kriptlerde konjesyon torsiyon ya da kayıp, lenfoid agregatlar, inflamasyon görülmesi temel alındı.

Verilen tedaviler oral demir, parenteral demir ve kan transfüzyonu olarak sınıflandırıldı. Tedaviye yanıt en az 1 ay sonra değerlendirildi. Nüks, tedaviye yanıt alınan hastalarda tedavi bittikten sonraki vizitlerde tekrar demir eksikliği görülmesi olarak alındı.

Bütün araştırmalara rağmen etiyojisi belirlenemeyen 10 hastada matriptase-2 proteinini kodlayan TMPRSS6 geninin 13. eksonuna Sanger metodu ile dizileme analizi yapıldı. Çalışma için alınan EDTA'lı kan örnekleri çalışma gerçekleştirilinceye kadar 4°C'de saklandı. Genomik DNA uygun DNA izolasyon kiti kullanılarak elde edildi. TMPRSS6 ekson 13, polimeraz zincir rekasyonu (PCR) ile amplifiye edildi ve direkt olarak dizi analizi yapıldı.

Çalışmaya katılan hastalara ait veriler hastane otomasyondan sisteminden alındı. Çalışmanın istatistiksel analizi SPSS for Windows 10 programıyla yapıldı. Verilerin sunumu için tanımlayıcı istatistikler yapıldı. Kategorik verilerin analizinde Ki kare testi yapıldı. Numerik verilerin gruplar arasında karşılaştırılmasında student t testi kullanıldı. P<0,05 anlamlı kabul edildi.

**Tablo 1:** Hastaların Demografik ve Laboratuvar verileri

Değişkenler	
Cinsiyet (kadın n, %)	395, %86,8
Yaş (yıl, ortalama±SD)	44,24±14,43
Anemiye bağlı semptom, n (%)	423 (%93)
Anemi süresi (ay, ortalama-aralık)	74,25 (0-480)
Bulantı, n (%)	33 (%7,3)
Dispepsi, n (%)	205 (%45,1)
İştahsızlık ve/veya kilo kaybı, n (%)	22 (%4,8)
İshal, n (%)	16 (%3,5)

Karın ağrısı, n (%)	44 (%9,7)
Dışkılama alışkanlıklarında değişiklik, n (%)	10 (%2,2)
Hematojezia, n (%)	23 (%5,1)
Melena, n (%)	15 (%3,3)
Proton pomba inhibitörü kullanımı, n (%)	27 (%5,9)
NSAİİ kullanımı, n (%)	41 (%9)
Gastrektomi, n (%)	10 (%2,2)
Yetersiz diyet	22 (%4,8)
Pika	7 (%1,5)
Hemoglobin (gr/dL), ortalama±SD	9,85±1,63
Hematokrit (%), ortalama±SD	32,48±4,08
Ortalama eritrosit hacmi (fl)	72,66±8,31
Ortalama eritrosit hemoglobini (g/dL)	21.94±3,47
Lökosit sayısı (µL)	6898±2135
Trombosit sayısı (µL)	324778±10556
Demir (µg/dL), n=419	27,15±17,99
Demir bağlama kapasitesi (µg/dL), n=416	403,4±70,96
Ferritin (ng/ml), n=424	7,51±10,2
CRP (mg/dL), n=223	8,46±20,27

Kadın hastaların demografik ve laboratuvar verileri tablo 2'de verildi. Kadın hastaların yaşı (ortalama±SD) 44,24±14,43 idi. Premenapozal kadınların sayısı nedeniyle beklendiği gibi kadınların yaş ortalaması erkeklerden daha düşüktü (P<0,0001). Erkek hastalarla karşılaştırıldığında kadınlarda anemiye bağlı semptom daha yüksek orandaydı (kadın %95,7, erkek %75, Ki kare P<0,0001). Sorgulamada 197 (%49,9) kadın hasta menometroraji tariflerken, sınırda hipermenoresi olan kadın sayısı 55 (%13,9), hipermenoresi olmayan, önceden de olmadığını ifade eden kadın sayısı 121 (%30,6) olarak bulundu. Yirmiiki (%5,6) hastanın, ya ön planda başka semptomu olması nedeni ya da poliklinik şartlarının sıkışıklığı nedeni kayıttaki eksiklik

olmasından ötürü hipermenoreesi olup olmadığı kaydedilemedi. Hipermenoreesi olan ve jinekolojik muayene yönlendirilen 66 (%16,7) hastada endometrial, uterin ya da servikal patoloji saptandı.

Çalışmaya katılan kadın hastaların ortalama hemoglobin değeri 9,78±1,59 g/dL, Hct %32,27±3,92 idi. Ortalama lökosit sayısı 6841±2063 /µL iken, ortalama trombosit sayısı 325731±103013 /µL idi. Hastaların ortalama kan demir seviyesi 27,35±18,17 µg/dL, ferritin düzeyi 7,00±10,18 ng/ml idi.

**Tablo 2:** Kadın hastaların demografik ve laboratuvar bulguları

Değişkenler	
Yaş (yıl, ortalama±SD)	44,24±14,43
Anemiye bağlı semptom, n (%)	378 (%95,7)
Meno-metroraji, n (%)	
Yok	121 (%30,6)
Var	197 (%49,9)
Sınırdaki	55 (%13,9)
Belirtilmemiş	22 (%5,6)
Jinekolojik patoloji, n (%)	
Yok	262 (%66,3)
Var	66 (%16,7)
Belirtilmemiş	67 (%17)
Anemi süresi (ay, ortalama-aralık) n:127	80,18 (1-480)
Bulantı, n (%)	29 (%7,3)
Dispepsi, n (%)	175 (%44,3)
İştahsızlık ve/veya kilo kaybı, n (%)	13 (%3,3)
İshal, n (%)	14 (%3,5)
Karın ağrısı, n (%)	38 (%9,6)
Dışkılama alışkanlıklarında değişiklik, n (%)	9 (%2,3)
Hematojezia, n (%)	15 (%3,8)
Melena, n (%)	11 (%2,8)
Proton pompa inhibitörü kullanımı, n (%)	24 (%6,1)
NSAİ kullanımı, n (%)	36 (%9,1)
Gastrektomi, n (%)	5 (%1,3)
Yetersiz diyet	19 (%4,8)
Pika	7 (%1,8)

Hemoglobin (g/dL), ortalama±SD	9,78±1,59
Hematokrit (%), ortalama±SD	32,27±3,92
Ortalama eritrosit hacmi (fl)	72,73±8,36
Ortalama eritrosit hemoglobini (g/dL)	21,96±3,49
Lökosit sayısı (µL)	6841±2063
Trombosit sayısı (µL)	325731±103013
Demir (µg/dL), n=365	27,35±18,17
Demir bağlama kapasitesi (µg/dL), n=362	402,2±71,68
Ferritin (ng/ml), n=367	7,00±10,18
CRP (mg/dL), n=189	7,79±18,95

Erkek hastaların demografik ve laboratuvar verileri tablo 3'de verilmiştir.

**Tablo 3:** Erkek Hastaların Demografik ve Laboratuvar verileri

Değişkenler	
Yaş (yıl, ortalama±SD)	54,86±16,97
Anemiye bağlı semptom, n (%)	45 (%75)
Anemi süresi (ay, ortalama-aralık)	29,89 (0-120)
Bulantı, n (%)	4 (%6,7)
Dispepsi, n (%)	30 (%50)
İştahsızlık ve/veya kilo kaybı, n (%)	9 (%15)
İshal, n (%)	2 (%3,3)
Karın ağrısı, n (%)	10 (%10)
Dışkılama alışkanlıklarında değişiklik, n (%)	1 (%1,7)
Hematojezia, n (%)	8 (%8,3)
Melena, n (%)	4 (%6,7)
Proton pompa inhibitörü kullanımı, n (%)	3 (%5)
NSAİ kullanımı, n (%)	5 (%8,3)
Gastrektomi, n (%)	5 (%8,3)
Yetersiz diyet	3 (%5)
Pika	0 (%0)
Hemoglobin (gr/dL), ortalama±SD	10,27±1,78
Hematokrit (%), ortalama±SD	33,81±4,82
Ortalama eritrosit hacmi (fl)	72,16±8,02

Ortalama eritrosit hemoglobini (g/dL)	21.84±3,33
Lökosit sayısı (µL)	7275±2544
Trombosit sayısı (µL)	318500±122447
Demir (µg/dL), n=54	25,77±16,78
Demir bağlama kapasitesi (µg/dL), n=54	411,1±66,10
Ferritin (ng/ml), n=57	10,77±9,77
CRP (mg/dL), n=34	12,16±26,45

Tablo 4'de kadın ve erkek hastada DEA'ne yol açan etiyolojik faktörler verilmiştir.

**Tablo 4:** Demir eksikliğe anemisine yol açan nedenler; kadın ve erkeklerdeki dağılımı

	Bütün hastalar	Erkek	Kadın
Meno-metroraji	236 (%51,9)	-	236 (%59,7)
Üst GİS kanama	64 (%14,1)	25 (%41,7)	39 (%9,9)
Alt GİS kanama	24 (%5,3)	9 (%15)	15 (%3,8)
Gastrik atrofi	21 (%4,6)	5 (%8,3)	16 (%4,1)
<i>H. pylori</i> pozitifliği	37 (%8,1)	6 (%10)	31 (%7,8)
Gastrektomi	9 (%2,0)	5 (%8,3)	4 (%1)
Beslenme yetersizliği	5 (%1,1)	1 (%1,7)	4 (%1)
Çölyak hastalığı	4 (%0,9)	0	4 (%1)
Diğer	6 (%1,3)	4 (%6,7)	2 (%0,9)
Bilinmiyor	49 (%10,8)	5 (%8,3)	44 (%11,1)

Beklendiği gibi meno-metroraji kadın hastalarda DEA'nin en önde gelen nedeniydi. Üst ve alt GİS kanama her iki cinste benzer şekilde DEA'nin önemli nedenleri olarak gözlemlendi.

DEA etiyolojisi aşağıdaki gruplarda incelenmiştir ve özellikler aşağıda verilmiştir.

1) Hipermenore grubu: Bu gruptaki hastaların çoğunluğunu miyomlu ve rahim içi araç

kullanan hastalar oluşturuyordu. Bu grupta Osler Weber Rendu sendromuna bağlı vajen ve GİS'te arteriovenöz malformasyonları (AVM) olan 3 hasta, von Willebrand Faktör (VWF) eksikliğine bağlı 5 hasta vardı.

2) Üst GİS kanama grubu: Bu grupta Osler Weber Rendu sendromuna bağlı AVM'leri olan 3 hasta (mide, vajina, bağırsak kanaması hep birlikte), GİS'ten kanayan anjiyodisplazili hastalar, 5 mide neoplazmi hastası, NSAİİ ve antikoagulan kullanımına bağlı kanamalı hastalar, gastrik ya da duodenal ülseri olan, eroziv gastritli hastalar, varisal kanamalı hastalar vardı.

3) Alt GİS kanama grubu: Bu grupta, 7 kolon-rektum malignite hastası, inflamatuvar bağırsak hastaları (İBH), şiddetli hemoroidal kanamalı hastalar vardı.

4) Gastrik atrofi grubu: Bu hastaların önemli bir kısmında aynı zamanda *H. pylori* (+) idi. Çalışmamızda da beklendiği gibi gastrik atrofi hastalarının yaşı oldukça yüksekti (ortalama±SD= 60,76±14,06) ve Spearman korelasyon analizinde gastrik atrofi yüksek yaş ile korele bulundu (P<0,0001).

5) *H. pylori* grubu: Bu grupta mide biyopsisinde *H. pylori* (+) saptanan ve diğer tüm etiyolojileri negatif olan hastalar vardı. Bu çalışmamızda etiyoloji *H. pylori* olsun ya da olmasın eradikasyon sonrası demir tedavisine yanıtta belirgin artış izlendi

6) Gastrektomi grubu: Parsiyel ya da subtotal gastrektomi ve duodenal eksizyon operasyonu geçiren, buna bağlı DEA'si olan hastalar.

7) Alım yetersizliği grubu: Yeterli et tüketmeyen, vejetaryen beslenen hastalar.

8) Çölyak hastalığı grubu.

9) Diğer nedenler grubu: Bu hastalar arasında daha nadir gördüğümüz 2 aşırı çay içimi olan hasta, 3 pikası olan hasta, geçirdikleri ortopedik, nöroşürjik operasyonlar sonrasında DEA gelişen hastalar, 3 intestinal parazite bağlı DEA gelişen hasta, hematüriye yol açan mesane kanseri ve kardiyak yapay kapağın neden olduğu hemolitik anemili hastalar vardı.

10) Etiyolojisi tespit edilemeyenler hastalar.

Ayrıca etiyojiler tespit edilirken aslında bazı durumlarda birkaç nedeninin birlikte bulunduğunu gördük. Örneğin gastrik atrofi+parazitoz, gastrik atrofi+İBH, warfarin kullanımı+İBH, H. pylori pozitifliği + NSAİİ kullanımı, yetersiz alım+NSAİİ kullanımı, GIS kanama sonucunda gastrektomi ve tüm bu olaylar esnasında replasman olmaması, hipermenore diğer etiyojilerin bazılarında (çölyak, ülser, İBH, H.P. ) eşlik ediyordu. Multiple etiyojili hastalarda en baskın neden seçilerek öne çıkarıldı.

TMPRSS geni ekson 13 dizi analizi: Etiyoloji tespit edemediğimiz hastaların hepsi çalışmaya katılmadı; bunun nedeni bazılarında etiyoloji bulunmamasına rağmen demir replasmanına cevap olması, bazı olguların kontrollerinin tamamlanmamış olması, bazıları olguların da etiyojik araştırmayı yaş veya başka sebepten reddetmesi. Tüm kriterleri karşılayan 10 hasta bulunabildi. Bunların 3'ü erkek, 7'i kadındı. Bu 10 kişiden hiçbirinde TMPRSS geninin 13. eksonunda, daha önce literatürde IRIDA'a yol açtığı bildirilen, mutasyon izlenmedi. Ancak 5 hastada D521D heterozigot tekli nükleotid polimorfizmi görüldü. Polimorfizmi olan 5 kişinin 3'ü erkek 2'si kadındı. D521D polimorfizmi taşıyan hastaların

klirik ve laboratuvar özellikleri tablo 5'de verilmiştir.

**Tablo 5:** TMPSS6 D521D polimorfizmi taşıyan hastaların klinik ve laboratuvar özellikleri

Değişken	Sonuç
Cinsiyet,n, kadın/erkek	2/3
Yaş (yıl)	31,6±15,2
Hgb (gr/dL)	11,14±1,93
MCV (fl)	69,12±6,08
Trombosit (µL)	304400±100850
Demir (mg/dL)	28,2±14,82
Demir bağlama kapasitesi (mg/dL)	424
Ferritin (ng/ml)	18,6±25,6
CRP (mg/dL)	7,12±10,69

## TARTIŞMA

Demir eksikliği anemisi alım eksikliği, kan kaybı, emilim bozukluğu gibi farklı mekanizmalarla ortaya çıkabilmektedir. Altta yatan neden toplumun sosyo-kültürel ve ekonomik durumuna bağlı olarak değişebildiği gibi, yaş grubu ve cinsiyet de bunu önemli derecede etkileyebilmektedir.

Çalışmamızda taradığımız demir eksikliği anemisi hastalarının büyük bölümünü (n:395/%86,8) kadınlar oluşturmaktadır. Bu durum premenapozal kadınlarda menstruel kanamaların demir eksikliği anemisinin çok sık rastlanan bir nedeni olması ile açıklanmıştır<sup>7</sup>. DEA olan kadın hastalarımızın 252 (%63,5)'inin etiyojisinde (belirgin veya sınırdaki) hipermenore vardı. Hipermenore dışında kadınlarda en sık DEA nedeni erkeklerdekine benzer şekildedeki üst ve alt GİS kanaması idi. GİS'ten kan kaybına bağlı anemi gelişen hastaların 5'inde mide, 7'sinde kolon-rektum neoplazmi saptandı. Meno-metrorajiye bağlı demir eksikliği anemili hastaları



çıkarttığımızda kalan 203 hastada saptanan bu malignite oranı (%5,9), DEA olan erkek ve post-menapozal kadınlarda, gastro-intestinal sistemin endoskopik ve diğer yöntemlerle araştırılması gereğinin bir kez daha altını çizmektedir.

Gastrik atrofi ve H. pylori pozitifliği, nedeni belirlenemeyen ve oral demire iyi yanıt alınamayan DEA nedenleri arasında bildirilmektedir. Çalışmamızda bu iki etiyolojik faktör önemli oranlarda yüksek (sırasıyla; %4,6, %8,1) saptanmıştır. Özellikle yaşlı hastalarda gastrik atrofi ve buna bağlı gelişen hipoklorhidri DEA'nin önde gelen nedenleri olarak ileri sürülmektedir. Çalışmamızda da beklendiği gibi gastrik atrofilili hastaların yaşı oldukça yüksekti (ortalama±SD= 60,76±14,06); korelasyon analizinde gastrik atrofi, yüksek yaş ile korele bulundu (P<0,0001).

Çalışmamızın primer amacı etiyolojisi tespit edilemeyen hastalarda TMPRSS6 geninin IRIDA'a en çok neden olduğu bildirilmiş 13. eksonundaki mutasyonların dizi analizi ile araştırılmasıydı. Kriterleri karşılayan 10 kişide TMPRSS6 geninin 13. eksoonunun dizi analizi sonucu IRIDA'a neden olduğu bildirilmiş mutasyon saptanmadı. Buna rağmen hastaların 5 tanesinde D521D tekli nükleotid polimorfizmi (SNP) heterozigot olarak belirlendi.

Genetik faktörlerin kan demir konsantrasyonu üzerinde %20-30 oranında etkili olduğu ileri sürülmüştür. Matriptaz-2, TMPRSS6 geni tarafından kodlanan bir serin proteazdır, hepsidin ekspresyonunda ve onun sonucu demir dengesinin sağlanmasında önemli bir rol oynar. Hepsidin ekspresyonu üzerine etkisini dekapentaplejik homolog protein (SMAD)

sinyal kaskadına karşı BMP ve ürünlerinin baskılanması ile ve muhtemelen BMP ko-reseptör hemojuvelini hücre zarından ayırarak sağlamaktadır<sup>9</sup>. Sonuçta da hepsidin seviyesi azalmaktadır. Hayvan çalışmalarında bu genin delesyonunun hepsidin düzeyini arttırdığı gösterilmiştir. İnsanlarda yapılan genetik çalışmalar TMPRSS6 genindeki mutasyonların IRIDA ile ilişkili olduğunu göstermiştir.

İnsanlarda matriptaz-2'nin proteolitik aktivitesini yok eden mutasyonlar hepsidin seviyesini artırarak IRIDA'ya yol açmaktadır. IRIDA'ya neden olan mutasyonlar proteinin hücre dışı alanlarına genişçe yayılmış aminoasit değişimine veya protein sentezine engel olan nükleotid değişimleridir. Her ne kadar bazı mutantlar proteolitik aktiviteyi tam olarak baskılasa da diğerleri sadece kalıntıdan oluşan bir aktiviteyi sürdürür. Bu zamana kadar geniş yelpazede etnik orijinli 34 aileden 50 hastada 40 farklı TMPRSS6 mutasyonu rapor edilmiştir. IRIDA hastalarında tanımlanan mutasyonlar heterojendir ve çerçeve kayması, splays bölge, anlamlı ve anlamsız mutasyonları içerir 10. Tüm bu mutasyonlar, sporadik ve bağımsız olayların sonucu gibi görülmektedir. Bu durum bu bozuklukta başlatıcı etkinin yokluğunu destekler. Çerçeve kayması ve anlamsız mutasyonlar proteolitik bölge kaybı ile sonuçlanmaktadır. Örneğin LDLRA alanındaki C510S mutasyonu matriptaz-2 aktivitesini bozan intramoleküler yapısal dengesizliğe yol açmaktadır. TMPRSS6 varyantları heterozigot olsa da farklı şekillerde hepsidin üretimini etkiler, bu da fizyolojik ya da patolojik durumlarda demir emilimindeki büyük değişkenliği açıklamaktadır.

Son zamanlarda Avrupa ve Asya kökenlilerde yapılan geniş çaplı genom ilişkili çalışmalarda (GWAS) TMPRSS6 geninin, serum demir konsantrasyonu ve hemoglobin konsantrasyonu ile ilişkili, çok sayıda varyantı tespit edilmiştir<sup>11</sup>. Bunlar arasında V736A ve D521D polimorfizmleri hemoglobin konsantrasyonu ile en fazla ilişkili olanlar olarak belirlenmiştir (assci27, 28). Çinli 1574 hastada yapılan bir çalışmada bu TMPRSS6 varyantlarının (V736A ve D521D) plazma ferritini, hemoglobin ve tip 2 diabetes ile anlamlı derecede ilişkili olduğu gösterilmiştir<sup>12</sup>.

Çalışmamızdaki, yüksek orandaki (%50) D521D polimorfizmi, bu hastalardaki düşük hemoglobin ve ferritin düzeyini açıklar niteliktedir.

Çalışmamızda D521D polimorfizminin yüksek oranda saptanmasına rağmen normal kontrol grubu olmaması nedeni ile bir karşılaştırma yapılamamıştır. Her toplumda belli polimorfizmlerin farklı sıklıkta olabileceği göz önüne alındığında çalışmamızın sonuçlarının anlamlılığının ortaya konabilmesi için söz konusu polimorfizmin demir eksikliği olmayan sağlıklı kişilerde belirlenmesi gereği vardır.

Sonuç olarak, TMPRSS6 gen polimorfizmlerinin kişilerin DEA'ne olan eğiliminde etkili olabildiği görünmektedir. Bu etkilerin daha net olarak ortaya konabilmesi için kontrol grubu da içeren, daha fazla geniş gruplu çalışmalarının yapılması gerekmektedir.

#### Kaynaklar

1. Andrews NC. Iron metabolism: iron deficiency and iron overload. Annu Rev Genomics Hum Genet 2000
2. Frewin R, Henson A, Provan D. Iron deficiency anemia. BMJ 1997;314:360-3

3. Effects of HFE C282Y and H63D polymorphisms and polygenic background on iron stores in a large community sample of twins. Am J Hum Genet 2000
4. Beutler E, Lichman M A, Coller B S: Iron deficiency, ed. Williams E, Hematology fifth edition .Philadelphia 1995
5. Hepcidin and iron metabolism: from laboratory to clinical implications. Clin Chim Acta 2010
6. Finberg KE, Heeney MM, Campagna DR, et al. Mutations in TMPRSS6 cause iron-refractory iron deficiency anemia (IRIDA). Nat Genet. 2008
7. Lee R G. Iron deficiency and iron deficiency anemia Eds: Lee R.G, Bithell C.T, Foerster J: wintrobe's clinical Hematology 10 th edition, 1999
8. Genome-wide association study identifies variants in TMPRSS6 associated with hemoglobin levels. Nat Genet 2009;
9. Genetic variability of TMPRSS6 and its association with iron deficiency anaemia. Br J Haematol 2010;
10. A novel splice site mutation c.2278 (-1) G>C in the TMPRSS6 gene causes deletion of the substrate binding site of the serine protease resulting in refractory iron deficiency anaemia. Br J Haematol.
11. Novel TMPRSS6 Mutations Associated with Ironrefractory Iron Deficiency Anemia (IRIDA) Luigia De Falco
12. Association of TMPRSS6 polymorphisms with ferritin, hemoglobin, and type 2 diabetes risk in a Chinese Han population, wei gan et al