



T.C.

UFUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ÇOCUKLARDA DEMİR EKSİKLİĞİNDE OKSİDATİF DURUMUN İNCELENMESİ

Dr. Şeyma ERTEM

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

ANKARA

2016

1



T.C.

UFUK ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ÇOCUKLARDA DEMİR EKSİKLİĞİNDE OKSİDATİF DURUMUN İNCELENMESİ

Dr. Şeyma ERTEM

ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Prof. Dr. Cüneyt ENSARİ

ANKARA

2016

2

ÖNSÖZ

Tezimin asıl ilham kaynağı olan, bilime katkıları ile tüm dünyaca tanınan ve hepimizin önüne ışık tutan, her zaman iyiliğini ve yardımını gördüğüm, tanımaktan ve birlikte çalışmaktan onur duyduğum değerli hocamız, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanımız Sayın Prof. Dr. S. Ümit SARICI'ya en içten teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Mesleki gelişimimde katkıları olan, destek ve yardımlarını esirgemeyen tez hocam Sayın Prof. Dr. Cüneyt ENSARİ'ye, Pediatri dünyasındaki ilk adımlarımdaki rehberlerim, hep saygı ve sevgi ile andığım Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'ndaki saygıdeğer hocalarıma, asistanlığım boyunca bana yol arkadaşlığı yapan tüm asistan doktor ve hemşire arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

Tüm hayatım boyunca destekleri, fedakarlıkları ve sabırları ile beni bugünlere getiren, yanımda olan canım aileme, canım oğluma, sevgili eşime ve bana bu kutsal mesleğin bir üyesi olmayı nasip eden yüce Allah'ıma teşekkür ediyorum.

Dr. Şeyma ERTEM

İÇİNDEKİLER

Sayfa No:

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
KISALTMALAR.....	iv
TABLolar DİZİNİ.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. DEMİR EKSİKLİĞİ VE DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİ.....	3
2.1.1. Demir metabolizması.....	5
2.1.2. Demir eksikliğinin evreleri.....	7
2.1.3. Etiyoloji.....	9
2.1.4. Klinik.....	12
2.1.5. Tedavi.....	13
2.1.6 Korunma.....	14
2.2. SERBEST RADİKALLER.....	15
2.2.1. Organizmada Serbest Radikal Reaksiyonlarını Artıran Faktörler..	17
2.2.2. Serbest oksijen radikaller nasıl oluşur.....	19
2.2.3. Serbest oksijen radikallerinin hücreye zararlı etkileri.....	22
2.2.3.1. Membranların lipid peroksidasyonu.....	23
2.2.3.2. Proteinlerin oksidatif modifikasyonu.....	25
2.2.3.3. Karbonhidratlara etkileri.....	25
2.3. ANTİOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ.....	26
2.3.1. Antioksidan etki tipleri.....	26

2.3.2. Antioksidan sistemler.....	27
2.3.2.1. Endojen antioksidanlar.....	28
2.3.2.1.1. Enzimatik antioksidanlar.....	28
2.3.2.1.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD).....	28
2.3.2.1.1.2. Katalaz (CAT).....	28
2.3.2.1.1.3. Glutasyon peroksidaz (GSH-Px).....	29
2.3.2.1.1.4. Glutasyon-S-Transferazlar (GST).....	29
2.3.2.1.1.5. Glutasyon redüktaz (GR).....	30
2.3.2.1.1.6. Mitokondrial sitokrom oksidaz.....	30
2.3.2.1.2. Enzimatik Olmayan Endojen Antioksidanlar.....	30
2.3.2.1.3. Diğer Enzimatik Olmayan Endojen Ajanlar.....	31
2.3.2.2. Eksojen Antioksidanlar.....	31
2.4. DEMİR OKSİDATİF STRES.....	34
2.5. TIYOL –DİSÜLFİD DENGESİ.....	34
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
3.1. ÇALIŞMA GRUPLARININ SEÇİMİ.....	36
3.2. ÇALIŞMADAN DIŞLANMA KRİTERLERİ.....	36
3.3. LABORATUVAR ANALİZİ.....	36
3.4. ETİK KURUL İZİNİ.....	37
3.5. VERİ ANALİZİ.....	37
4. BULGULAR.....	38
5. TARTIŞMA.....	45
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	51
ÖZET.....	52
ABSTRACT.....	53

KAYNAKLAR.....54

KISALTMALAR

AIDS	:	kazanılmış immün yetmezlik sendromu
ALS	:	Amniyotrofik lateral skleroz
CAT	:	Katalaz
DE	:	Demir eksikliği
DEA	:	Demir eksikliği anemisi
DM	:	Diyabetes mellitus (DM)
DPS	:	dithiopiridin
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
DSÖ	:	Dünya Sağlık Örgütü
DTNB	:	5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoik) asit
GABA	:	Gama-aminobütirik asit
GR	:	Glutasyon redüktaz
GSH	:	Glutasyon
GSH-Px	:	Glutasyon peoksidaz
GST	:	Glutasyon-s-transferaz
HB	:	Hemoglobin
KBH	:	Kronik böbrek yetersizliği
KVH	:	Kardiyovasküler hastalıklar
LPO	:	Lipit peroksidasyonu
MDA	:	Malonaldialdehit
NADH	:	Nikotinamid adenin dinükleotid
NADPH	:	Nikotinamid adenin dinükleotid

NO	:	Nitrit oksit
RDW	:	Retikülosit dağılım büyüklüğü
RNA	:	Ribonükleik asit
ROÜ	:	Reaktif oksijen ürünleri
SDBK	:	Serum demir bağlama kapasitesi
SOD	:	Süperoksit dismutaz
SPSS	:	Statistical package for social sciences
STFR	:	Serum transferrin
TDD	:	Tiyol-disülfid dengesi
TSI	:	Transferrin saturasyon indeksi

TABLolar DİZİNİ

Sayfa No:

Tablo 1.	Demirin biyolojik fonksiyonları.....	4
Tablo 2.	Demir eksikliği anemisinin dönemleri.....	8
Tablo 3.	Demir eksikliği anemisi nedenleri.....	11
Tablo 4.	Demir eksikliği anemisinde tedaviye cevap sırası.....	14
Tablo 5.	Reaktif oksijen ürünleri.....	16
Tablo 6.	Reaktif oksijen radikallerinin kaynakları.....	18
Tablo 7.	Biyolojik Sistemlerdeki Antioksidan Korunma Sistemi Elemanları.....	32
Tablo 8.	Demir eksikliği olup anemisi olmayan hasta grubu ile kontrol hasta gruplarının bazal demografik özelliklerinin karşılaştırılması.....	38
Tablo 9.	Demir eksikliği olup anemisi olmayan hasta grubu ile kontrol hasta gruplarının bazal hematolojik karşılaştırılması.....	39
Tablo 10.	Demir eksikliği olup anemisi olmayan hasta grubu ile kontrol hasta gruplarının tiyol disülfid dengesi (oksidatif durum) parametrelerinin karşılaştırılması.....	40
Tablo 11.	Serum ferritin düzeyini etkileyebilecek değişkenler ile korelasyon analizi.....	44

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No:

Şekil 1.	Vücuttaki demir dağılımı.....	7
Şekil 2.	Demir eksikliği olup anemi olmayan grup ile kontrol grubu arasındaki nativ tiyol değerlerinin karşılaştırılması.....	41
Şekil 3.	Demir eksikliği olup anemi olmayan grup ile kontrol grubu arasındaki total tiyol değerlerinin karşılaştırılması.....	42
Şekil 4.	Demir eksikliği olup anemi olmayan grup ile kontrol grubu arasındaki disülfid değerlerinin karşılaştırılması.....	43

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Dünya Sağlık Örgütü'nün raporuna göre demir eksikliği anemisi, gelişmekte olan ülkelerde yaklaşık 3,5 milyar insanı etkilemektedir. Dünya'da ve ülkemizde en sık süt çocukluğu döneminde, özellikle 6-24 aylar arasında, ikinci ve üçüncü sıklıkta ise okul çağı ve preadölesan dönemde görülmektedir.

Süt çocukluğu döneminde demir eksikliği anemisi büyüme geriliği yapabilmektedir. Aynı zamanda psikomotor ve bilişsel gelişimi geciktirip zekâ düzeyini olumsuz yönde etkileyebilmekte ve enfeksiyonlara direnci azaltabilmektedir. Demir eksikliği olan küçük çocuklarda uyum ve denge sorunları görülmekte bu çocuklar daha içe kapanık ve çekingen davranmaktadırlar. Bu tür etmenler çocuğun çevresiyle etkileşime geçip öğrenme yetisini engelleyebildiği gibi zihinsel yeteneklerini de köreltebilir. Demir yetersizliği sorunu önlenmediğinde ve kontrol altına alınmadığında çocuklarda bilişsel yetenekleri engellemesi, yetişkinlerde ise üretkenliği düşürmesi nedeniyle ülke ekonomisine büyük yük getirmesi kaçınılmazdır.

Genelde demir eksikliği ve demir eksikliği anemisi kavramları karıştırılmaktadır. Anemi gelişmeden de demir eksikliğinden söz edilebilir. Bir kişide demir durumunun ortaya konulması için depo demirin durumu bilinmesi gereklidir. Demir eksikliği sadece hemoglobin üretimini etkilemekle kalmaz aynı zamanda sitokrom, miyogloblin, katalaz ve peroksidaz gibi demir içeren diğer proteinlerin üretimine de etki eder. Tiyoller oksidasyon reaksiyonuna girebilir ve sülfidril bağına dönüşebilir. Sülfidril bağı, kovalent bir bağ olup; ayrıca SS-bağı ve disülfid bağı olarak da adlandırılır. Oksidatif stres durumu altında, sistein artıklarının oksidasyonu, protein tiyol grupları ve düşük moleküllü tiyoller arasında karmaşık disülfidlerin geri dönüşümlü oluşumuna yol açmaktadır. Son yıllarda yayınlanan Erel ve ark.nın bulduğu bir yöntem ile tiyol-disülfid dengesinin değerlendirmeleri otomatik metodlarla yapılabilmektedir. Bu çalışmada 5-15 yaş demir eksikliği tespit edilip anemi tespit edilmeyen

hastalar ile yaş uyumlu sağlıklı kontroller arasındaki inflamasyon ve oksidatif durumu gösteren hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. DEMİR EKSİKLİĞİ VE DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİ

Demir dünyada en sık bulunan element olmasına rağmen demir eksikliği (DE) dünyada en sık karşılaşılan beslenme sorunudur ve çocukluk çağı anemisinin en sık nedenidir. Demir eksikliği çocuklarda daha çok yetersiz beslenmeden kaynaklanmaktadır (1, 2). Çocukluk çağında büyümenin ve gelişmenin devam etmesi, özellikle belli yaş gruplarında (büyümenin hızlı olduğu dönemler, kız çocuklarda ergenlikteki fizyolojik kayıplar) demir gereksiniminde artış gözlenmesi nedeniyle DE ile sık olarak karşılaşılmaktadır (3). Demir eksikliği; tüm vücut demir düzeyinin, normal hemoglobin (Hb) yapımı yanında, demir içeren enzimleri oluşturabilmesi ve diğer görevlerinin yerine getirilmesi için gerekli olan demir düzeyinden daha az olması durumudur. Demir eksikliği anemisi ise ağır demir eksikliği sonucu oluşur ve son basamaktır. Demir eksikliği anemisi çocukluk çağı hematolojik hastalıklarının en yaygınıdır (4-6). Özellikle gelişmekte olan ülkelerde süt çocukları, adolesanlar, gebe kadınlar ve düşük sosyoekonomik koşulda yaşayanlar için önemli bir halk sağlığı sorunudur. Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)'nün verilerine göre, gelişmekte olan ülkelerde DEA %36 ve gelişmiş ülkelerde %8 oranında görülmektedir (7). Düzenli beslenme, büyüme hızında ve demir gereksiniminde azalma nedeniyle 18 aydan sonra DEA riski azalmaktadır (8). Ülkemizde de DE ve anemisi yüksek oranlarda görülmektedir. Çeşitli çalışmalarda insidans % 6,5-28 arasında bulunmuştur (9, 10). Gelişmekte olan ülkelerde yapılan araştırmalarda toplumun yarısında DE olduğu gösterilirken; bazı gelişmiş ülkelerde diyetin demir bakımından zenginleştirilmesi ve demir eklenmesinin yaygın kullanılmasıyla prevalans ve ağır DEA azalmasına karşın 1-2 yaş grubu çocuklar, 11-14 yaş erkek çocuklar ve 15-44 yaş kız çocukları ve kadınlarda demir eksikliğinin önemini koruduğu görülmektedir (8, 11).

Fetusta en fazla demir depolanması son trimesterde olur. Term doğmuş bir bebekte toplam demir miktarı 80 mg/kg kadardır. Bunun çok büyük miktarı dolaşımdaki

hemoglobinde “Hem” halinde bulunmaktadır. Sağlıklı bebeklerde bu demir deposu, ilk 5-6 ay Hb yapımı için yeterlidir. İlk 2-3 ayda yenidoğanın yüksek Hb düzeyi hızla azalırken, yıkılan kırmızı kürelerden açığa çıkan demir depolarda toplanır, ancak doğum ağırlığı yaklaşık iki katına çıktığında kan hacmi de hızla artar ve depolar tükenir. Çocukluk çağında günlük demir ihtiyacı 0,8-1,5 mg/gündür. Diyetteki demirin ortalama %10’u emildiği için günlük beslenmede çocuk 8-15 mg demir almalıdır. Süt çocukluğu ve ergenlik döneminde hızlı büyümeye bağlı olarak demir ihtiyacı artar (2, 12).

Demir pek çok canlı ve insan için yaşamsal öneme sahip temel bir elementtir. Elektron alıp verme özelliği nedeniyle oksijen taşınmasında, enerji yapımındaki birçok enzimin katalizlenmesinde (sitokromlar), bağışıklık sisteminde (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz, lakroferrin, siderokalin), deoksiribonükleik asit (DNA), ribonükleik asit (RNA) ve protein sentezinde önemli fonksiyonları vardır (Tablo 1) (13).

Tablo 1. Demirin biyolojik fonksiyonları

Fonksiyon	Bileşik
Oksijenin taşınması	Hemoglobin, Miyoglobin
Oksidatif enerji üretimi	Sitokrom a, b, c, Sitokrom P450, Katalaz
Mitokondriyal solunum	Süksinat dehidrogenaz
Zararlı oksijen radikallerinin inaktivasyonu	Ksantin oksidaz
DNA sentezi	Ribonükleotid redüktaz

2.1.1. Demir metabolizması

Demir doğada üç değerlikli ferrik oksit, ferrik hidroksit ve polimerik formdadır. Canlı organizmalarda eser miktarda bulunmaktadır. İnsan ve diğer canlı türleri için esansiyel bir elementtir. İnsan vücudunda ferröz (Fe⁺²) ve ferrik (Fe⁺³) halde bulunur. Demir Hb sentezi (kan volümünün genişlemesi ve dokulara oksijen taşınması), miyoglobin sentezi (kas kütesinin büyümesi), demir içeren enzimlerin senteziyle, ferritin ve hemosiderin şeklinde demir depolarının devamlılığı için gereklidir. Hemoglobindeki demirin görevi dokulara oksijen taşımaktır (14, 15).

Gastrointestinal sistemden geçen demirin emilebilir şekilde olup olmaması, diyetteki miktarı, diyetin bileşimi ve gastrointestinal faktörler gastrointestinal sistemden demir emilim hızını etkileyen faktörlerdir. Hem demirinin %30'u, hem olmayan demirin ise ancak %5'i emilir. Gastrik sıvı, diyetteki hem olmayan demiri stabilize ederek, ferrik hidroksit halinde çökmesini önler. Fizyolojik pH değerlerinde Fe⁺² hızla, çözünür olmayan Fe⁺³ şekline dönüşür. Mide asit salgısı ile duodenumda pH düşer ve Fe⁺³'ün çözünürlüğü ve alımı artar (1, 16, 17).

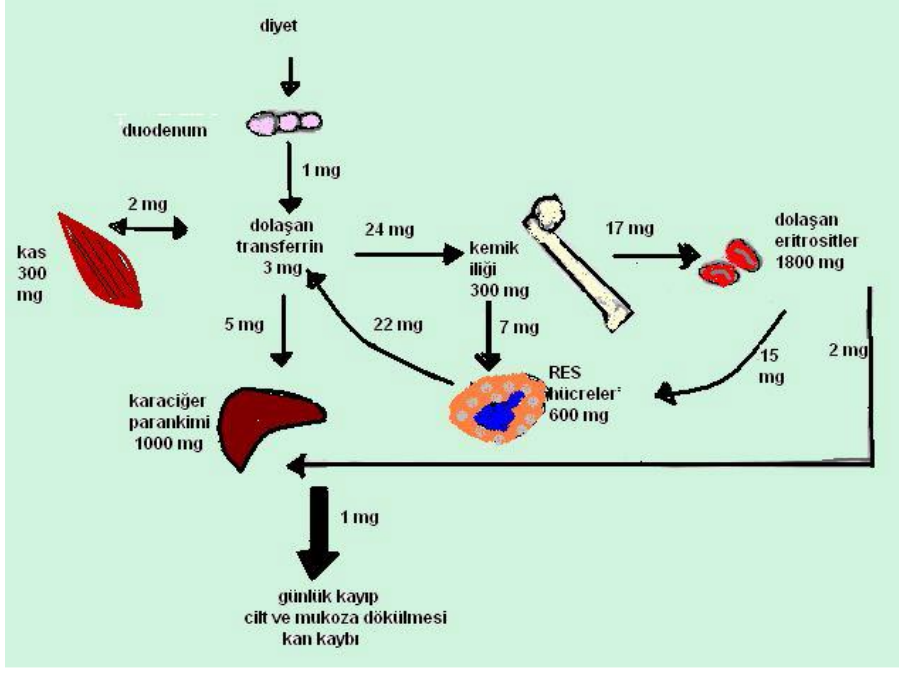
Diyetten absorbe edilen demirin miktarını saptamada demirin biyoyararlanımı önemlidir. Diyetteki demir +2 şeklinde bulunur: Hemoglobin ve miyoglobinden ortaya çıkan organik veya hem demiri ve inorganik veya non-hem demiri. Her iki tip demirin barsak mukoza hücrelerine geçişi için farklı emilim mekanizmaları mevcuttur (18).

1. Hem demiri mukozal membrandan özelleşmiş reseptörler aracılığıyla direk olarak alındıktan sonra değişmeden sitoplazmaya geçer ve porfirin halkası ayrılıp demir açığa çıkar. Hem demir metabolizması rölatif olarak daha etkilidir ve non-hem demirinden farklı olarak emilimi intraluminal faktörlerden çok az etkilenir. Karışık bir diyetle toplam demirin % 10 kadarı hem demiri olmasına rağmen toplam absorbe edilen demirin % 25'inden sorumludur (18).

2. Non-hem demiri çoğunlukla çözünmeyen ferrik tuzlar şeklindedir. Ferrik tuzların absorbe edilebilmeleri için öncelikle ferröz forma dönüşmeleri ve ardından barsak mukozasındaki transport proteini olan mukozal apotransferrine bağlanmaları gereklidir. Non-hem demiri apotransferrine bağlandıktan sonra barsak mukoza hücresine girebilir. Hücre içinde demir mukozal transferrinden ayrılır ve hem demiri ile aynı havuza katılır (18).

Diyetteki besinlerle alınan demirin yanı sıra, demirden yapılmış kaplar veya kontamine gıdalarla toz, toprak, su gibi eksojen maddelerin içerdiği demir de vücuda alınabilir. Son yirmi yılda demirden zenginleştirilmiş mamalar da diğer demir kaynaklarıdır (19).

Anne sütündeki demir düzeyi düşüktür ancak emilimi ve biyoyararlanımı iyidir. Buna neden olarak anne sütündeki düşük kalsiyum ve fosfor düzeylerinin, ayrıca içerdiği laktoferrinin rolü olabileceği gösterilmiştir. Kırmızı et ve yumurtada bol miktarda (+2) değerli hem demiri bulunmaktadır ve kolaylıkla emilmektedir. Tavuk ve balık gibi beyaz etlerde ise demir oranı yeterli değildir. Fasulye, kabak ve ıspanak gibi yeşil sebzelerde bol miktarda demir olmasına karşın (+3) değerli oldukları için emilim son derece az olmaktadır. Mide asidi, C vitamini, sistein, laktat ve fruktoz demir emilimini artırmaktadır. Bu etkisini bitkisel kaynaklı Fe⁺³ demiri Fe⁺² demire indirgeyerek yapmaktadır. Besinlerde bulunan fosfatlar, oksalatlar, fitat ve taninler demir ile suda çözünmeyen bileşikler oluştururlar ve emilimi azaltırlar (20, 21).



Şekil 1. Vücuttaki demir dağılımı - Andrews NC ve ark. (22) 'ından alınmıştır.

2.1.2. Demir eksikliğinin evreleri

Demir eksikliği anemisinin gelişimi, birbirini izleyen 3 dönemde incelenebilir:

Birinci dönem: Sadece ferritin azalır. Prelatent demir eksikliği dönemidir.

İkinci dönem: Serum demiri azalır, serum demir bağlama kapasitesi (SDBK) artar, transferin satürasyon indeksi (TSI) düşer. Latent demir eksikliği dönemidir. Birinci ve ikinci döneme biyokimyasal demir eksikliği de denir. Eritropoezis elde edilen demir miktarının azalması nedeniyle sınırlanmaya başlar, serum transferrin (sTfR) seviyeleri artar (2).

Üçüncü dönem: Yukarıdakilere ilave olarak hemoglobin değerlerinde düşme, eritrositlerde mikrositoz ve hipokromi saptanır. Belirgin demir eksikliği dönemidir (Tablo 2). Demir eksikliği anemisi vücuttaki demir depolarının ciddi olarak azaldığı durumlarda ortaya çıkan hematolojik ve klinik bir tablodur (23, 24).

Tablo 2. Demir eksikliği anemisinin dönemleri (25)

	I. Dönem	II. Dönem	III. Dönem
Ferritin	Azalmıştır	Azalmıştır	Azalmıştır
Demir	Normal	Azalmıştır	Azalmıştır
STfR	Normal	Artmıştır	Artmıştır
SDBK	Normal	Artmıştır	Artmıştır
TSI	Normal	Azalmıştır	Azalmıştır
MCV	Normal	Normal	Azalmıştır
RDW	Normal	Normal	Artmıştır
Hb	Normal	Normal	Azalmıştır
Htc	Normal	Normal	Azalmıştır

Ferritin, demiri depolama ve işlev dışı demiri, toksik olmayan halde tutma görevi olan bir proteindir. Ortasında depo halinde demir atomları olan bir kor içeren ve etrafı protein kabuğu ile çevrili olup demirin geçişini sağlayan ve miçel çözelti ile dolu kanallardan oluşan ferritin molekülünün yapısını oluşturmaktadır (26). Ferritin, demirin vücuttaki esas depo proteinidir, ferrik hidroksit ile apoferritinden oluşan suda eriyebilen bir komplekstir ve 18500 kD ağırlığındadır (27). Ferritin değeri erişkinlerde <20 ng/ml sınır olarak kabul edilirken çocuklarda ise alt sınır 12 ng/ml'dir (14, 20, 28).

Retikülosit dağılım büyüklüğü (RDW), eritrosit dağılım genişliği, anizositozun göstergesidir. Normal değeri %13,4 ± 1,2'dir. Demir eksikliği anemisinde artmıştır

(RDW>%15) ve diğerk hipokrom mikrositer anemilerden ayırıcı tanıda büyük önem taşır. Talasemi minör, enfeksiyon ve enflamasyon durumunda RDW normaldir.

Periferik kan yaymasında karakteristik olarak eritrositlerde hipokromi, mikrositoz, poikilositoz ve anizositoz görülür. Bu bulgular hemogloblin 10 gr/dl'nin altına düştüğü zaman belirgin olur. Retikülosit sayısı normal veya hafif artmıştır. Ciddi DEA'da %3-4'e kadar artabilir (29).

Kemik iliğı aspirasyonunda hipersellülarite ve eritroid öncülerinde artış görülebilir. Bunun yanında retikulum hücreleri ve normoblastlarda prusya mavisi ile boyanan demir çok düşük miktardadır veya hiç saptanamaz. Bu test tanıda altın standart kabul edilir (30).

2.1.3. Etiyoloji

Demir eksikliği, nutrisyonel DE ve metabolik DE olarak iki gruba ayrılır. Diyetin demirden fakir olması sonucu gelişen nutrisyonel eksiklik, DEA'nın en sık nedenidir. Nutrisyonel demir eksikliği; demir metabolizmasında intrensek bozukluğun olmadığı, demir depolarının azaldığı, hemogloblin sentezinin azalmasına bağlı DEA'nın geliştiğı, diyetle yetersiz demir alımı veya aşırı kan kaybı gibi nedenlerle oluşan, demir tedavisine cevap veren gruptur. Metabolik DE ise demir depolarının yeterli olduğu ancak kemik iliğinde demir kullanımının yetersizliği ile karakterize, kronik enflamasyon, eritropoetinim stimüle ettiğı eritropoezis, kurşun zehirlenmesi gibi nedenlerle oluşan ve demir tedavisine cevap vermeyen rölatif veya fonksiyonel DE grubudur (25).

Düşük doğum ağırlıklı yenidoğanlarda veya perinatal kan kaybı olanlarda, depo demiri erken tüketilebilir ve diyet kaynakları başlıca öneme sahip olur. İnek sütü yüksek miktarlarda (>750ml) ve demir ile desteklenmemiş besinleri tüketen infantlarda DEA sıklığı artar. Kan kaybı özellikle daha büyük çocuklarda DEA nedenidir (6). Bazı coğrafik bölgelerde, kancalı kurt enfestasyonu DEA'nın önemli bir nedenidir.

1- Yetersiz alım: Demir eksikliğinin en önemli nedenidir. Demirden zenginleştirilmiş mamalardaki demir miktarı 6-12 mg/L arasındadır. Bu mamalar içindeki demirin ancak % 4-6 sı emilir. Anne sütündeki demir konsantrasyonu 0.2-0.4 mg/L'dir. Ancak emilim oranı ortalama %50 civarında olup oldukça yüksektir (31). İlk 6 ay anne sütü ile beslenme DE gelişme riskini azaltır. 6 aydan sonra demirden zengin gıdalarla beslenme önerilir. Gelişmekte olan ülkelerde düşük proteinli diyetdeki inorganik demirin biyoyararlanımının düşük olmasına bağlı DE sık görülürken, gelişmiş ülkelerde etle beslenme oranının yüksek oluşu, alınan hem proteinin çok daha yüksek oranda emilimi nedeniyle görülme oranı çok azalmıştır.

2- Hızlı büyüme: Çocuklarda DE'nin ikinci sık nedeni hızlı büyümedir. Normal bir bebeğin doğum ağırlığı ve kan volümü ilk yıl içinde 3 katına, Hb kitlesi 2 katına ulaşır. Prematüre bebekte ise doğum ağırlığı ve kan volümü 6 katına, Hb kitlesi 3 katına ulaşır. Bu artışları karşılamak için normal yenidoğanda ilk yıl içinde 135-200 mg, prematüre bebekte ise 350 mg demire gereksinim vardır. Term bebeklerde 4, prematürelere 2. ay sonunda DE gelişebilir. Adolesan dönemde ağırlık ve boyda gözlenen hızlı artış beraberinde eritrosit kitlesinde artışı da getirdiğinden demir ihtiyacı artar. Erkeklerde testesteron hormonunun etkisi ile vücut kitlesi artışı kızlara oranla daha fazla olduğundan Hb miktarındaki artış da o oranda fazla olmaktadır. Kızlarda ise menarşın başlaması ile birlikte kaybedilen demirin hızla yerine konması gerekir.

3- Kan kaybı: Üçüncü sık neden prenatal, intranatal ve postnatal sebeplerle oluşan kanamadır. Kanama gizli veya aşikâr olabilir. Düşük doğum ağırlıklı süt çocukları ve perinatal hemorajisi olan yenidoğanlarda ise Hb kitlesi ve demir depoları azalmıştır. Bunlarda DE daha erken başlar. Büyük çocuklarda ise sindirim sistemindeki gastrit (aspirin ve steroid alımlarında), peptik ülser, Meckel divertikülü, polip, hemanjiom gibi bir lezyon veya özellikle Necator Americanus infestasyonu, kronik ishal, burun (rekürren), böbrek, uterus (menstruasyon) yolu ile kronik kanama, kronik DEA'ya yol açabilir (Tablo 3).

Tablo 3. Demir eksikliği anemisi nedenleri (32)

1. Diyete bağlı alım azlığı

2. Artmış demir ihtiyacı

- a. Düşük doğum ağırlıklı bebekler, prematürelere
- b. Düşük doğum ağırlıklı ikizler veya çoğul doğumlar
- c. Adolesan evresi
- d. Gebelik
- e. Siyanotik konjenital kalp hastalığı

3. Kan kaybı

A. Prenatal, perinatal devre

1. Transplasental, retroplasental, intraplasental kanamalar
2. Plasenta previa
3. Fetomaternal kanama
4. Umbilikal kord rüptürü

B. Postnatal devre

1. Gastrointestinal sistem

- a. İntestinal hemoraji
- b. İnek sütü hipersensitivitesi
- c. Anatomik lezyonlar
- d. İlaçlar
- e. İntestinal parazitler
- f. Henoch-Schönlein purpurası

2. Safra kesesi (hemokolesistit, kolelitiazis)

3. Akciğer (pulmoner hemosideroz, Goodpasture sendromu)

4. Burun kanaması

5. Uterus (menstruel kanama)
 6. Kalp (intrakardiak miksoma, valvüler protez ve yamalar)
 7. Böbrekler (travmatik hemolitik anemi, hematüri, nefrotik sendrom)
 8. Ekstrakorporeal (hemodializ, travma)
 9. Sık kan vericiliği
4. Azalmış absorpsiyon (malabsorpsiyon sendromları, uzun süreli diyareler, gastrektomi sonrası, inflamatuvar barsak hastalıkları)

2.1.4. Klinik

Demir eksikliği anemisi semptomları, aneminin oluşum hızıyla ilişkilidir. Kronik, yavaş kan kaybı durumlarında devreye giren adaptasyon mekanizmaları sayesinde hastalar çok düşük hemoglobin düzeylerini (<7 g/dl) bile son derece az semptom vererek tolere edebilir. Hemoglobin düzeyinin düşüşü kanda oksijen taşıma kapasitesini azaltmakla beraber, bu düzey 7-8 g/dl'nin altına inmedikçe önemli fizyolojik değişiklikler ortaya çıkmaz. Bu değer altında ise deri ve mukozaların solukluğu belirgindir (33).

İştahsızlığın bir sonucu olarak çocuğun büyümesi geri kalabilir. Demir eksikliği olan süt çocukları ve çocukların boylarına göre düşük tartılı oldukları, demir ilavesi ile büyümenin normalleştiği bildirilmektedir (34).

Pika görülebilir. Demir eksikliği olan çocuk buz (pagofaji), toprak (jeofaji) gibi değişik maddeleri yiyebilir (34).

Kardiyovasküler sistemde; kardiyak debide ve kalp hızında artış, kardiyak hipertrofi, plazma volümünde artış, kalp yetmezliği görülebilir (19).

İmmün sistemde; lenfosit transformasyonunda azalma, lökosit öldürme fonksiyonlarında azalma, lökosit myeloperoksidazında azalma, deride aşırı duyarlılık reaksiyonunda azalma ve enfeksiyonlara artmış yatkınlık görülebilir (19).

Hematolojik sistemde; inefektif eritropoez, eritrosit yarı ömründe azalma, otohemolizde artış, eritrosit rijiditesinde artış, hem yapımında azalma, gama ve alfa globin sentezinde azalma, alfa globin monomerlerinin eritrosit membranında presipitasyonu, glutatyon peroksidaz ve katalaz aktivitesinde azalma, glikoliz hızında artış, nikotinamid adenin dinükleotid (NADH)-methemoglobin redüktazda artış, eritrosit glutamik oksaloasetik transaminazında artış, serbest eritrosit protoporfirininde artış, kemik iliği hücrelerinde DNA ve RNA sentezinde azalma, hem içeren enzimlerde azalma (sitokrom oksidaz), demir içeren enzimlerde azalma (süksinik dehidrogenaz,akonitaz) görülebilir (19).

Demir eksikliğinin anemi dışı bulguları arasında, özellikle psikomotor gelişim, davranış ve bilişsel işlev üzerine olan etkileri sayılabilir. Demir eksikliğinde eritrosit yapımının etkilenmesinden çok önce, merkezi sinir sistemindeki demir azalır (monoamin oksidaz (MAO) aktivitesinin azalmasına neden olarak dopamin, norepinefrin ve serotonin gibi nörotransmitter enzimlerin üretilmesini veya katabolizmasını etkilemektedir.). Bu azalma dopamin, serotonin ve noradrenalin gibi nörotransmitterlerin sentezi, fonksiyonu ve degradasyonu için gerekli demire bağımlı enzimlerin aktivitesini bozar (34). Hızlı beyin büyümesiyle birlikte temel psikomotor becerilerin kazanıldığı süt çocukluğu döneminde demir eksikliği zeka düzeyinde kalıcı geriliğe neden olabilir (34).

2.1.5. Tedavi

Oral demir tedavisi 3-6 mg/kg/gün elementer demir miktarı olacak şekilde ve günde 2-4 dozda, aç karnına öğünler arasında önerilmektedir. Demir eksikliği anemisi olan çocuklarda oral demir tedavisine yanıt olarak 72-96 saat içinde periferik retikülositoz başlar. Retikülositozu günde 0.5 g/dl kadar çok yükselebilen Hb seviyelerindeki artış izler. Birinci haftadan sonra Hb artışı olur. Mikrositozdaki düzelme ise 3-4. ayda olmaktadır. Demir tedavisine kan değerleri normale döndükten sonra sekiz hafta devam edilmelidir. Beslenme rejiminin öneriler doğrultusunda düzenlenmesi ve fazla miktarda inek sütünün alınmasının

önlenmesi ile diyetteki eksikliğe bağlı görülen DEA önlenecektir (6, 28). Demir eksikliği anemisinde tedaviye cevap Tablo 4'te verildi (6).

Tablo 4. Demir eksikliği anemisinde tedaviye cevap sırası (6)

Tedavi sonrası geçen süre	Cevap
12-24. saat	Hücre içi demir enzimleri işlev kazanmaya başlar. İrritabilite ve iştahsızlık iyileşmeye başlar.
36-48. saat	Kemik iliği yanıtı başlar. Eritroid hiperplazi gelişir.
48-72. saat	Retikülositoz başlar ve 5-7. günler doruğa ulaşır.
4-30. günler	Hb düzeyi yükselir.
1-3. aylar	Depolar dolar.

2.1.6 Korunma

Süt çocukları ilk 6 ay tek başına anne sütü ile beslenmelidir. Daha sonra demirden zengin ek gıdaya başlanmalıdır. Anne sütü alamayan çocuklarda ilk 12 ay demir eklenmiş mama verilmeli ve 4. ayda demir içeren ek gıdaya başlanmalıdır. Demir eklenmiş mama almayan çocuklara 4. Ayda profilaktik olarak 1 mg/kg/gün demir ilavesi ve prematürelere en geç 2. Ayda 2 mg/kg/gün demir desteği yapılmalıdır (35). Formül sülle besleniyorsa term süt çocukları için 6-12 mg/L, pretermiler ve 1800 g altında doğanlar için 15 mg/L demir içeren formül sütler de yeterli destek sağlayacaktır. Süt çocukluğunda ek besinler başlandığında, bu besinler içinde yumurta, karaciğer, et gibi demirden zengin yiyecekler bulunmalıdır. Çocuğun diyetinde demir emilimini kolaylaştıran limon, portakal, domates gibi C vitamininden zengin besinler de bulunmalı, demir emilimini azaltan çay, fosfatlar, fitatlar ise verilmemelidir. İlk 6 ayda ve hatta mümkünse ilk 12 ayda inek sütü verilmemeli, bunun yerine demir katkılı süt formülleri kullanılmalıdır.

İlk yaştan sonra günlük süt alımı 500 ml'yi geçmemelidir. Bu tavsiyenin 2 yönlü etkisi vardır; demirden zengin besinlerin alım miktarı artar ve inek sütü proteinine karşı intoleranstan kaynaklanan kan kaybı önlenir. İnek sütündeki fosfatlar demir emilimini engellemekte ve 500 ml'den fazla tüketilirse laktoalbumine bağlı allerjik reaksiyon gelişme olasılığı artmakta ve gizli kan kayıpları ortaya çıkmaktadır.

Adolesanlar da yüksek büyüme hızı, diyetteki düzensizlikler ve menstrüasyon nedeni ile demir eksikliğine eğilimlidir. Bu açıdan kontrol edilmeleri erken tanı için yararlı olacaktır. Demir desteği ile ilgili uluslararası rehberler DSÖ tarafından yayınlanmıştır (35). 6-24 ay arasında 12.5 mg/gün ya da 1 mg/kg/gün, prematüre bebeklerde ise 2 mg/kg/gün, 2-5 yaş arasında 20-30 mg/gün ya da 2 mg/kg/gün, 6-11 yaş arasında 30-60 mg/gün, adolesan ya da yetişkinler için 60 mg/gün'dür.

2.2. SERBEST RADİKALLER

Atomun yapısını oluşturan elektronlar; orbita adı verilen yörüngede çiftler halinde bulunurlar. Az sayıda molekülde ise elektronlar çiftler halinde olmayıp tek olarak bulunurlar. Eksik elektronlu bu moleküller karşılaştıkları herhangi bir molekül ile aşırı şekilde reaksiyona girmeye eğilimli olup diğer moleküllerle elektron alışverişinde bulunurlar. İşte diğer moleküllerle kolayca elektron alışverişi yaparak onların yapısını bozan bu moleküllere radikal, serbest radikal veya oksidan moleküller denilir. Tek olan bu elektron yapıları genellikle üst kısma yazılan bir nokta ($O\cdot$) veya çizgi (O^-) ile gösterilir (36-38).

Biyolojik sistemlerde en önemli serbest radikaller oksijenden oluşurlardır.

Tablo 5. Reaktif oksijen ürünleri (39)

- Radikaller Radikal Olmayanlar
- Hidroksil (HO^\cdot): Hidrojen peroksit (H_2O_2)
- Alkoksil (RO^\cdot): Singlet oksijen ($^1\text{O}_2$)
- Peroksil (ROO^\cdot): Ozon (O_3)
- Süperoksit ($\text{O}_2^{\cdot-}$): Hipoklorid asit (HOCl)
- Nitrik oksit (NO^\cdot): Lipid hidroperoksit (LOOH)
- Azot dioksit (NO_2^\cdot): Peroksinitrit (ONOO^\cdot)

Serbest radikaller; en dış yörüngelerinde bir ya da daha fazla ortaklanmamış elektron içerir. Ortaklanmamış elektronlar atom veya molekülü genellikle daha reaktif hale getirirler (40). Bu bileşikler organizmada normal metabolik yolların işleyişi sırasında oluştuğu gibi çeşitli dış etkenlerin etkisi ile de oluşmaktadır. Çok kısa yaşam süreli, ancak yapılarındaki dengesizlik nedeni ile çok aktif yapılı olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliği göstermektedir (41). Dokuda artan bu metabolitler, bunların oluşturduğu lipid peroksidasyonu, protein ve DNA'nın oksidasyonu hücre membranının geçirgenliğinde artış ve hücre ölümü ile sonuçlanır (50). Organizmada serbest radikallerin zararlı etkilerini ortaya koymadan etkisizleştirilmesini sağlayan güçlü savunma sistemi bulunmaktadır. Serbest radikal oluşum hızı ile etkisizleştirilme hızı dengede olduğu sürece organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir.

Oksijen canlıların yaşamlarını sürdürmeleri için mutlak gerekli bir elementtir. Hücre içinde çeşitli reaksiyonlardan geçerek su haline dönüşmektedir. Bu sırada hücre kendisi için gerekli enerjiyi sağlamaktadır. Fakat bu süreçte oksijenin %1-3'ü tam olarak suya dönüşemez, süperoksit anyonu ve hidroksil radikali oluşur (42). Oksijen türevi radikaller, biyolojik

sistemin en iyi bilinen serbest radikalleridir ve canlı hücrelerde, normal süreçte fizyolojik miktarlarda üretilirler. Oksijenin canlılardaki toksik etkileri başlıca iki tür mekanizma ile gerçekleşmektedir (43, 44).

1. Aerobik canlılarda oksijen toksisitesinin ilk açıklaması, moleküler oksijenin bazı enzimleri inhibe ettiği şeklindedir. Buna örnek olarak oksijen glutamat dekarboksilaz enzimini inhibe ederek beyinde gama-aminobütirik asit (GABA) seviyesini düşürmesi gösterilmektedir (43).

2. Oksijenin enzim inhibisyonu etkisi sınırlı ve çok zayıftır. Oksijenin canlılardaki asıl toksik etkisinin ‘oksijen radikalleri’ olarak adlandırılan ve oksijenin vücuttaki metabolizması sırasında oluşan reaktif türlerden kaynaklandığı belirtilmektedir (43).

Hücrelerde en büyük serbest radikal kaynağı elektron transport zincirinden oluşan elektron sızıntısıdır. Birçok enzimin katalitik siklusları sırasında da serbest radikaller açığa çıkabildiği gibi geçiş metalleri iyonlarının redoks kimyası yolu ile non-enzimatik olarak da oluşabilir (Tablo 6) .

Organizmada fagositlerin aktive olması ile (Respiratuar patlama) ve bazı moleküllerin (hidrokinonlar, flavinler, tetrahidropterinler, tioller, katekolaminler) intraselüler oksidasyonu ile serbest radikaller oluşmaktadır. Aktive olmuş fagositler, bakterisidal rollerinin sonucu olarak süperoksit üretirler. Oluşan serbest oksijen radikalleri kuvvetli mikrobisiddirler ve aynı zamanda kuvvetli doku hasarına neden olabilirler.

2.2.1. Organizmada Serbest Radikal Reaksiyonlarını Artıran Faktörler

Serbest radikal artırıcı faktörler eksojen ve endojen olmak üzere iki grupta toplanabilir (45). Bunlar aşağıdaki şekilde sıralanabilir;

A. Eksojen faktörler

1. Diyetel faktörler: Doymamış yağ asitlerince beslenme, alkol, fazla kalorili beslenme (obezite), hayvansal proteinlerden zengin beslenme, az sebze ve meyve yenmesi, yiyeceklerin uygun olmayan ortam ve koşullarda hazırlanması

2. Çevresel faktörler: Sigara dumanı, hava kirliliği, radyasyon

3. İlaçlar: Kemoterapotik ilaçlar (adriamisin), glutatyon tüketen ilaçlar

B. Endojen faktörler

1. Yoğun egzersiz, sedanter yaşam

2. Stres

3. Doku hasarı ve kronik hastalıklar

4. Diyetel antioksidan alımını etkileyen koşullar (malabsorbsiyon, kolestaz) olarak

belirlenebilir.

Tablo 6. Reaktif oksijen radikallerinin kaynakları (39)

- Endojen kaynaklar
- Otooksidasyon: Aerobik metabolizmadan kaynaklanırlar, süperoksit primer oluşan radikaldir.
- Enzimatik oksidasyon
- Subsellüler organeller: Mitokondriler hücrelerdeki esas indirgenmiş oksijen kaynağıdır.
- Respiratuar patlama
- İskemi reperfüzyon hasarı
- Geçiş elementlerin iyonları: Bakır ve demir serbest radikal hasarının oluşumunda ve lipid peroksidasyonunu kolaylaştırmada rol oynar.
- Ekzojen kaynaklar

- İlaçlar (Bleomisin, antrasiklinler, metotreksat, nitrofurantoin, penisilamin, sülfasalazin vb)
- Radyasyon
- Sigara
- Gazlar: Ozon güçlü bir oksidan maddedir. İnvitro lipid peroksidasyonuna yol açar.
- İnorganik partiküller: Asbest, silika gibi tozların inhalasyonu serbest radikal oluşumuna yol açabilir.

Organizmada oksijen türevi serbest radikaller dışında kükürt merkezli radikaller de oluşmaktadır. Serbest radikaller; biyolojik sistemde travma, enfeksiyon, inflamasyon gibi immün sistemin aktive olduğu durumlarda, iskemi ve perfüzyon gibi doku hasarında, yüksek konsantrasyonda oksijen kullanımı gibi durumlarda aşırı miktarda oluşur. Sepsis, enflamatuar hastalıklar, adult respiratuar distres sendromu, diabetes mellitus, kardiyovasküler hastalıklar, astım, bronkopulmoner displazi gibi birçok hastalığın patogenezinde de serbest radikal hasarı suçlanmıştır (45).

2.2.2. Serbest oksijen radikaller nasıl oluşur

Serbest radikaller başlıca 3 temel mekanizma ile oluşmaktadır:

1. Kovalent bağların homolitik kırılması ile yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık kimyasal bağların kırılmasına neden olmaktadır. Kırılma sırasında bağ yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde paylaşılmamış olarak kalmakta ve radikal formu oluşmaktadır (43, 46).

2. Normal bir molekülün elektron kaybetmesi ile dış elektron yörüngelerinde paylaşılmamış elektron kalması durumunda radikal formu oluşmaktadır (43, 47).

3. Normal bir moleküle elektron transferi ile dış elektron yörüngelerinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa da radikal oluşumuna neden olabilir (47).

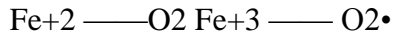
Vücutta üretilen radikaller her zaman tehlikeli kimyasal türler olarak değerlendirilmemelidir. Oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılması için reaktif formlarına çevrilmesi zorunludur. Örneğin, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, steroid yapıdaki çok sayıdaki bileşiklerin ve eikozanoidler gibi biyolojik aktif moleküllerin sentezi, çok sayıdaki oksidaz ve hidroksilaz enzimleri ve sitotoksik etkilere sahip hücrelerin fonksiyonları için radikal yapımı olmazsa olmaz bir koşuldur (47).

Reaktif oksijen ürünleri (ROÜ) yüksek konsantrasyonda nükleik asit, lipid ve protein gibi hücresel yapılara hasar verebilirler. Hidroksil radikallerinin DNA moleküllerinin tüm komponentlerine; hem pürin hem pirimidin bazlarına üstelik deoksiriboz yapısına da hasar verdiği bilinmektedir (48). Oksidatif hasardan kaynaklanan genetik materyaldeki kalıcı değişiklik mutagenез, karsinogenез ve yaşlanmadaki değişikliklerin ilk basamağını oluşturur. Proteinler serbest radikallere doymamış yağ asitlerinden daha az duyarlıdır ve başlayan reaksiyon daha yavaş ilerler. Proteinlerin ROP'lar tarafından oksidasyon mekanizması, iyonizan radyasyon altında hidroksil radikalleri ya da hidroksil/süperoksid radikallerine maruziyetini inceleyen çalışmalarda değerlendirilmiştir (49). Proteinlerin tüm amino asit kalıntılarının yan zincirleri, özellikle de proteinlerin sistein ve metionin kalıntıları ROP'larla oksidasyona çok duyarlıdır. Sistein kalıntılarının oksidasyonu proteinlerin tiol grupları (-SH) arasında disülfidlere, düşük molekül ağırlıklı tiollere özellikle de S-glutatyon (GSH) formasyonuna neden olur. Serbest radikallerin neden olduğu bu hasar sonucu proteinlerde parçalanma, çapraz bağlanma ve agregasyon oluşur (48). Glukoz ve mannoz gibi monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu H₂O₂, peroksitler ve okzalaldehyitler oluşabilir. Okzalaldehyitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanarak antimitotik etki gösterirler. Bu nedenle kanser ve yaşlanma olaylarında rol oynarlar. Serbest radikal oluşumu ile sonuçlanan birçok reaksiyon hücreyi oksidatif strese karşı korurken, hücrenin redoks dengesini sağlar. Bu iki

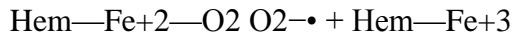
tarafli özellikleri oldukça iyi tanımlanmıştır. Örneğin kanser hücrelerinde onkogenik fenotiplerinin devam etmesini sağlayan hücre içi ikincil mesajcılar olarak fonksiyon görürken, hücrenel apoptozu uyararak anti-tümör etki de gösterebilirler. Bir diğör örnek de pürin katabolizmasından verilebilir. Ksantin oksidoredüktaz enzim sistemi hipoksantinini ksantine oksidatif hidrosilasyonunu katalizler, ilerleyen basamaklarda ksantin ürik aside dönüşür. Ürik asit güçlü bir antioksidandır. Ksantin oksidoredüktaz enzim sisteminin özellikle ksantin oksidaz kısmı ROÜ'lerin sentezlenmesinde de rol oynar. Dolayısı ile ksantin oksidoredüktaz sistemi hem antioksidan (ürik asit) hem de çok sayıda serbest radikal sentezi yolu ile hücre içi redoks potansiyelinin düzenlenmesinde önemli rol oynar (50).

Bu nedenle belirli bir düzeye kadar olabilen oksidan moleköl artışı yine vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidanlar tarafından dengelenmektedir.

Hb, oksijeni bağlamadan önce Fe+2 iyonu içerir. Fakat oksijen bağlandığı zaman bir ara yapı oluşur ve bir elektron, demir iyonu ve oksijen arasında yer değıştirir.



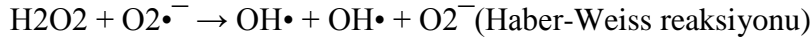
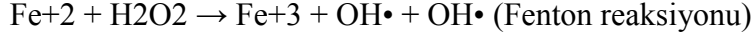
Bu şekilde oluşan oksihemoglobin dekompozisyona uğrayabilir ve O2 salabilir.



Böylece geride kalan Fe+3'lü yapı, normal Hb gibi oksijen bağlayamayan ve biyolojik olarak inaktif olan methemoglobin adını alır. Bu şekilde bir günde insan eritrositlerinde bulunan Hb'nin %3'ü oksidasyona uğrayıp O2 meydana getirir ve bu hücreler devamlı olarak bir O2 etkisine maruz kalırlar. Hiçbir sentez faaliyeti olmaksızın ortalama 120 gün ömrü olan insan eritrositleri kendilerini, O2 ve H2O2'e karşı bakır-çinko süperoksit dismutaz (SOD) (CuZn SOD), katalaz, Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve başta glukoz-6-fosfat dehidrojenaz olmak üzere pentoz-fosfat yolağı enzimleri vasıtasıyla korurlar.

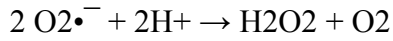
Oksijenden kaynaklanan diğeri bir reaktif radikal de peroksil radikalidir (ROO•). En basit peroksil radikali superoksidin protonlanmış formu olan, hidro perhidroksil radikali olarak da adlandırılan hidroksil radikalidir (OH•).

Hidroksil radikalleri Fenton reaksiyonu ya da Haber-Weiss reaksiyonu ile oluşmaktadır.



Sitozoldeki süperoksidin %0.3'ü bu forma dönüşür (68). Hidroksil radikali (OH•) hemen bütün moleküllerle reaksiyona girebilen serbest radikaller içinde en kuvvetli oksidan olan radikaldir (47, 51). Hidroksil radikali yağ asidi peroksidasyonunu başlatır.

Hidrojen peroksit, O₂'nin enzimatik olarak iki elektron alması ya da süperoksit ve hidroksil radikallerinin enzimatik ya da enzimatik olmayan dismutasyon tepkimeleri sonucu oluşur (37). Yapısında paylaşılmamış elektron içermediğinden radikal özelliği taşımaz.



Hidrojen peroksit süperoksitten daha az reaktiftir. Fe⁺² gibi redükte metal iyonların varlığında şelasyon yapar.

2.2.3. Serbest oksijen radikallerinin hücreye zararlı etkileri

Serbest radikaller, hücrenin lipid, protein ve DNA'sında çeşitli derecelerde hasara neden olabilmektedir. Oksijen, endoplazmik retikulumda, mitokondride, plazma membranında, peroksizomlarda ve sitozollerde oksidatif enzimler tarafından süperoksit anyonuna dönüştürülmektedir. Oluşan süperoksit anyonları, SOD enzimi ile hidrojen perokside dönüştürülmektedir. Cu⁺⁺/Fe⁺⁺ ile katalize olan Fenton reaksiyonu yoluyla hidroksil radikalleri oluşmaktadır. Burada ayrıca süperoksit anyonları, Fe⁺⁺⁺'in Fe⁺⁺'ye indirgenmesini katalize eder ve Fenton reaksiyonu sayesinde hidroksil oluşumuna katkıda bulunmaktadırlar (47, 52).

2.2.3.1. Membranların lipid peroksidasyonu

Serbest oksijen radikalleri, hücre ve organel zarlarında lipid peroksidasyonuna neden olabilmektedirler. Hücre zarlarında bulunan poliansatüre yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyona uğrayabilmektedirler (47, 53). Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin yağ asitlerinden hidrojen atomunu çıkarmak için yaptıkları atakla başlamakta ve zincir reaksiyonu şeklinde ilerlemektedir. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Hidroksil radikali, fosfolipaz A2'yi stimüle ederek araşidonik asit salınımına yol açmaktadır. Araşidonik asitten de bir hidrojen atomu çıkararak lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir (53, 54).

Başlangıçta serbest radikaller, bir lipid karbon merkezli radikalden üretilmiş olan karbon zincirinden, hidrojen atomunu açığa çıkarmaktadır. Sonuçta karbon merkezli radikal oluşmaktadır. Bu lipid radikal, moleküler oksijen ile reaksiyona girer, linoleik asit peroksi radikali oluşmasını sağlar ve oksidasyon zincirini başlatabilir. Üretilen peroksi radikal, elektronları ve diğer duyarlı yağ asitlerini alarak lipid radikal ve lipid hidroperoksitleri oluşturur. Bunun yanında süperoksit lipid peroksidasyonunu bitirici etkide gösterir (43, 47, 53-56).

Membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu, permeabilitede ve membran akışkanlığında değişikliklere yol açmaktadır. Permeabilite özelliklerinin değişmesi anormal Ca^{+2} girişine yol açarak hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve oksidasyonla fosforilasyonun ayrılmasına yol açabilmektedir. Sinir lifleri etrafındaki miyelin kılıfı peroksidasyonu (demyelinizasyon) nörolojik hastalıklara neden olabilmektedir. Akciğer sürfaktanının peroksidasyonu ise atelektazi ve pulmoner disfonksiyona yol açabilmektedir (44, 47, 54, 57).

Peroksi radikali, poliansatüre yağ asidi moleküllerini okside edebilmekte, radikallerin ve aldehidlerin ortaya çıkmasına neden olan hidroperoksitlerin meydana gelmesini sağlayabilmektedir. Aldehidler ise bu maddelerin yıkılması sırasında oluşmakta ve uzun

ömürlü olduklarından hücre hasarının yayılmasına neden olabilmektedirler. Bu aldehidler arasında en iyi bilinenleri malonildialdehid (MDA) ve 4 hidroksi alkalendir. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu MDA oluşumu ile sonuçlanmaktadır (47). MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir, ancak lipid peroksidasyonunun derecesi ile korelasyon göstermektedir. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna sebep olmaktadır. Bunun sonucunda da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özellikleri değişmektedir (38, 47). Membranlardaki yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşan kısa zincirli yağ asitleri ve aminoasitleri içeren yapısal proteinlerin oksidasyonu, membran permeabilitesinin artmasına ve membrandaki akışkanlığın azalmasına neden olmaktadır (47). Lipid hidroperoksidleri ve lipid peroksi radikalleri, serbest O₂ radikalleri gibi aynı hücrenin birçok komponentiyle reaksiyona girerek, hücre sel ve metabolik fonksiyonlar üzerinde toksik etkilerini göstermektedirler.

Bu etkiler:

1- Membran komponentlerinin polimerizasyonuna ve çapraz bağlanmalarına neden olan MDA, iç membranın bozulmasına, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzeyindeki belirteçlerin agregasyonu gibi bazı özelliklerini değiştirebilmektedir.

2- Transmembran iyon gradientini bozarak, Ca⁺² gibi iyonlara karşı spesifik olmayan geçirgenliği arttırabilmektedirler.

3- Mitokondride oksidatif fosforilasyonu çözerler ve mikrozomal enzim aktivitelerinde değişiklik oluşturabilirler. Subsellüler organellerin (lizozom gibi) bütünlüğünü bozarlar.

4- Ayrıca, DNA'nın nitrojen bazlarıyla da reaksiyona girebilmektedirler (47, 57, 58).

2.2.3.2. Proteinlerin oksidatif modifikasyonu

Proteinler, serbest radikal hasarına duyarlı moleküllerdir. Serbest radikallerin etkisi ile bu moleküllerin sülfidril gruplarında hasar meydana gelebilmektedir. Protein moleküllerinin yapısı değişmekte ve oksidasyon reaksiyonları sonucu büyük agregatlar haline dönüşebilmektedirler (47). Serbest radikallerin protein molekülleri üzerindeki etkileri ile oluşan yapısal değişiklikler üçe ayrılır (54):

- 1) Amino asitlerin modifikasyonu
- 2) Proteinlerin fragmantasyonu
- 3) Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalar

Serbest radikaller, polipeptit zincirlerinde fragmantasyona yol açabilirler. Bu şekilde oksidatif modifikasyon yolu ile sitozolik nötral proteazlar kritik enzimlerin yıkımını gerçekleştirebilirler. Aromatik aminoasitler de oksidatif ataklara çok hassas moleküllerdir. Proteinin temel yapısındaki değişme, antijenik yapıda değişmeye ve proteolize hassasiyete neden olabilmektedir. Radikaller, enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına da neden olabilmektedirler (47). Serbest radikallerin etkisiyle, IgG ve albuminin üç boyutlu yapıları bozulmaktadır. Yine bir protein olan α -1 proteinaz inhibitörünün, oksijen radikalleri tarafından inhibisyonu amfizem gelişimiyle sonuçlanmaktadır (54).

Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görebilmektedir. Özellikle okside olmuş hemoglobinin O₂ veya H₂O₂ ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna sebep olmaktadır (47).

2.2.3.3. Karbonhidratlara etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelmektedir (59). Enflamatuvar eklem hastalıklarında sinovial sıvıya geçen lökositlerden ekstrasellüler sıvıya salınan H₂O₂ ve O₂ buradaki mukopolisakkarit olan

hyalüronik asidi parçalamaktadır. Gözün vitröz sıvısında bol miktarda hyalüronik asitbulduğundan, bunun oksidatif hasarı katarakt oluşumuna katkıda bulunmaktadır (47, 60).

2.3. ANTIOKSİDAN SAVUNMA SİSTEMLERİ

2.3.1. Antioksidan etki tipleri

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler:

1- Toplayıcı etki (Scavenging etki): Serbest oksijen radikallerini tutma ya da çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine “toplayıcı etki” denilmektedir. Bilirubin, antioksidan enzimler, trakeobronşial mukus ve küçük moleküller bu tip bir etki göstermektedirler (47, 61, 62).

2- Bastırıcı etki (Quencher etki): Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip, onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan ya da inaktif biçime dönüştüren etki “bastırıcı etki” olarak adlandırılmaktadır. Vitaminler, bu tarz bir etkiye sahiptirler (47, 63).

3- Zincir kırıcı (Chain-breaking etki): Serbest oksijen radikallerine bağlanarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye “zincir kırıcı etki” denir. Bilirubin, hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler (47, 64).

4- Onarıcı etki (Repair etki): Onarıcı etki üzerinde çalışmalar devam etmektedir.

Hasar görmüş DNA molekülünü tamir eden enzimler bu gruba örnek olarak verilebilir (47, 65, 66).

Serbest radikallerin zararlı etkilerini engellemek üzere organizmada antioksidan savunma sistemleri veya kısaca antioksidanlar olarak adlandırılan çeşitli savunma mekanizmaları gelişmiştir. Sağlıklı bireylerde oluşan ROÜ ile, antioksidan savunma sistemi arasında bir denge söz konusudur. Bu dengenin bozulması oksidatif stresle sonuçlanmaktadır (67). Vücudun oluşan oksidatif streslere karşı redoks ayarını sürdürebilmesinde kan çok

önemlidir. Çünkü kan antioksidanların vücudun tüm bölümlerine taşınmasını ve dağıtımını gerçekleştirmektedir (68).

Total antioksidan kapasiteye en büyük katkı plazmadaki antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada bilirubin, serbest demiri toplayan transferin ve seruloplazmin, ürik asit, E vitamini, C vitamini gibi proteinler yanında serbest radikalleri tutan zincir kırıcı antioksidanlarda bulunmaktadır (64, 68, 69).

Albumin, ürik asit, askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan kapasitenin %85'inden fazlasını oluşturmaktadır. Bunun nedeni, kanda bilirubin, glutatyon, flavinoidler, alfa tokoferol ve beta karoten gibi antioksidan sistemin komponentlerine nazaran albumin, ürik asit ve askorbik asitin seviyelerinin fazla olmasına bağlıdır. Yenidoğanlarda ise bu sistemin en önemli bileşenlerini bilirubin ve ürik asit oluşturmaktadır. Bağ kıran antioksidanlar (bilirubin, sülfidril grupları, C vitamini, E vitamini) özellikle yenidoğanlarda total antioksidan sisteme önemli katkıda bulunmaktadır (68, 69).

Plazmada antioksidanlar bir etkileşim içinde bulunurlar. Genel olarak bu maddeler sinerjik olarak çalışmaktadır. Bu etkileşimden dolayı, bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla etki oluşmaktadır. Bu sinerjizme örnek glutatyonun askorbatı, askorbatında tokoferolun yeniden aktifleşmesini sağlaması gösterilebilir. Ayrıca bir antioksidandaki azalma diğerindeki artış ile kompanse edilebilmektedir. Örneğin yenidoğanda postnatal dönemde fizyolojik şartlarda plazmada ürik asit, C vitamini, ve sülfidril grupları azalırken, bilirubin ve E vitamini düzeyleri artmaktadır (68, 70).

Antioksidanlar genel olarak endojen ve eksojen olmak üzere iki grupta incelenir (71).

2.3.2. Antioksidan sistemler

Antioksidanlar ayrıca primer, sekonder ve tersiyer olarak da sınıflandırılmaktadır. Yeni serbest radikal oluşumunu önleyen antioksidanlar primer antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır. Örnek olarak SOD, GSH-Px, metal bağlayan proteinler, ferritin,

seruloplazmin, demir, hemopeksin, haptoglobulin gösterilebilir. Bazıları ise metal iyonları ile reaksiyona girebilecek olan peroksitleri yok ederek serbest radikallerin oluşumunu önlemektedirler (72).

Sekonder antioksidanlar, zincir kırıcı reaksiyon ile serbest radikalleri uzaklaştırmaktadırlar. Bilirubin, E vitamini, C vitamini, β -karoten, ürik asit ve albumin gibi maddeler bu sınıfta yer almaktadırlar. Lipid peroksidasyon zincirini kıran bir antioksidan olan α -tokoferol hücre zarında bulunmaktadır. Askorbik asit suda erimekte ve radikal toplayıcı olarak rol almakta, E vitamininin etkisini arttırmaktadır. Ürik asit ksantin oksidazı inhibe ederek serbest radikal oluşumunu azaltmaktadır (73). Tersiyer antioksidanlar, serbest radikaller tarafından hasar gören biyomolekülleri onarırlar. DNA'yı onaran enzimler bu grupta yer almaktadır.

2.3.2.1. Endojen antioksidanlar

2.3.2.1.1. Enzimatik antioksidanlar

2.3.2.1.1.1. Süperoksit dismutaz (SOD)

Süperoksit dismutaz, substrat olarak serbest oksijen radikallerinin kullanan ve süperoksiti hidrojen perokside çeviren bir metalloenzimdir. Bu reaksiyon “oksidatif strese karşı ilk savunma” olarak da adlandırılmaktadır. Çünkü süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulmaktadır. Lösemi, iskemi, hepatit, muskuler distrofi, respiratuar distres sendromu, böbrek yetmezliği, Fankoni anemisi, akciğer enfeksiyonları ve motor nöron hastalıkları gibi serbest radikal açığa çıkaran olaylarda ve hastalıklarda koruyucu rol oynadığı düşünülmektedir (47, 56, 74-76). Aynı zamanda SOD, lipid peroksidasyonunu da inhibe etmektedir. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır. SOD'nin ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür (47).

2.3.2.1.1.2. Katalaz (CAT)

Katalaz peroksidazlarda bulunan bir enzimdir. Hidrojen peroksiti su ve oksijene ayırtmaktadır. Katalaz yapısında protoporfirin-IX, Fe (Hem) grubu içerir. Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve muköz membranda yüksek miktarda bulunmaktadır. Katalaz bulunduğu hücreye karşı koruyucu olarak hizmet etmektedir (74, 76).

2.3.2.1.1.3. Glutatyon peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px, pek çok hücrede sitozollerde bulunan bir enzimdir. Sitozol ve mitokondrilerde SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksit ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Ancak kapasitesi sınırlıdır. Düşük hidrojen peroksit konsantrasyonunda çalışmaktadır. Kofaktör olarak selenyum elementinin kullanır (47, 56, 74). Hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenen glutatyon, glutatyon redüktaz enzimi ve başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan nikotinamid adenin dinükleotid fosfat (NADPH) yardımıyla indirgenerek reaksiyonların devamını sağlar (75).

Glutatyon peroksidaz fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GSH-Px oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar. Yapılan çalışmalarda kord kanı glutatyon peroksidaz ve total antioksidan düşüklüğü olan bebeklerde DNA hasarının yüksek olduğu gösterilmiş ve doğumda oksijen radikallerinin oluşumunun arttığı ifade edilmiştir (77).

2.3.2.1.1.4. Glutatyon-S-Transferazlar (GST)

Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda görev almaktadırlar. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipid hidroperoksidlere karşı glutatyon-S-transferazlar selenyumdan bağımsız aktivasyon göstermektedirler (47).

Antioksidan aktivitelerine ek olarak başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahip olup bilirubin, hem ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddelere geri dönüşsüz olarak bağlanarak bunların hücre içi transportunda da görev almaktadırlar (47).

2.3.2.1.1.5. Glutasyon redüktaz (GR)

Glutasyon peroksidaz tarafından hidrojen peroksit ve diğer lipid peroksitlerin yükseltgenmesi sırasında glutasyon, okside glutatyona dönüşmektedir. Oksidasyona uğramış bu yapıyı tekrar kullanmak için redükte glutatyona dönüştüren enzim glutasyon redüktazdır (47).

2.3.2.1.1.6. Mitokondrial sitokrom oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz süperoksit radikalini suya çevirerek etki göstermektedir (47).

2.3.2.1.2. Enzimatik Olmayan Endojen Antioksidanlar:

1. C Vitamini (Askorbik Asit): Güçlü bir indirgeyici ajan ve antioksidan olup, $O_2^{\cdot-}$, peroksit ve OH^- radikalleri ile reaksiyona girerek bir ara ürün olan semidehidroaskorbat yoluyla metaboliti dehidro askorbik asiti oluşturur. Membran içindeki ve ekstraselüler dokulardaki lipid peroksidasyonu (LPO)'nu önler (47, 78).

2. E Vitamini (α -tokoferol): Lipid peroksidasyonuna karşı koruyucu serbest radikal temizleyicisidir. Aynı zamanda O_2 'nin kuvvetli bir tutucusudur. Ayrıca OH^- radikali, peroksi radikali ve $O_2^{\cdot-}$ ile direk olarak reaksiyona girebilir (71).

3. β karoten: A vitamini ön maddesi olan β karoten etkili bir O_2 ve radikal tutucu antioksidandır (79).

4. Melatonin: Pineal bezden salgılanan vücutta bir çok etkisine ilave olarak direk radikal temizleyici, indirek olarak da antioksidan enzim düzeylerini artıran ve nitrit oksit (NO) sentetaz gibi prooksidatif enzimleri baskılayarak antioksidan etki gösteren bir hormondur (79).

5. Glutasyon (GSH): Antioksidan olarak önemli bir yer tutan GSH, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasardan korur. Glutasyon, proteinlerdeki - SH gruplarını redükte halde tutarak bu grupların oksidasyona karşı korunmasını sağlar. Glutasyon eritrositleri, lökositleri ve göz lenslerini oksidatif hasara karşı korumada hayati önem taşır (80).

2.3.2.1.3. Diğer Enzimatik Olmayan Endojen Ajanlar

Bazı durumlarda ürik asit, sistin, albumin, bilirubin, seruloplazmin, transferrin, laktoferrin, ferritin, kreatinin ve östrojenler de serbest radikallere karşı koruyucu rol oynarlar (80).

2.3.2.2. Eksojen Antioksidanlar (71):

- Ksantin oksidaz inhibitörleri (allopurinol, oksipurinol)
- NADPH oksidaz inhibitörleri (adenozin, lokal anestezipler)
- Kalsiyum kanal blokerleri (verapamil, nifedipin)
- Non-steroid antiinflamatuar ilaçlar (ibuprofen)
- Demir tutucuları (desferroksamin, EDTA)
- Rekombinant SOD (r-SOD)
- Besinlerdeki doğal antioksidanlar. A, C, E vitamini ve β karoten
- Nötrofil adezyon inhibitörleri
- Asetil sistein, mannitol
- Melatonin

Tablo 7. Biyolojik Sistemlerdeki Antioksidan Korunma Sistemi Elemanları (81)

Enzimatik Antioksidanlar Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

1. Birincil olanlar

- Süperoksit dismutaz
- Katalaz
- Se bağımlı Glutasyon peroksidaz
- Glutasyon S-transferaz

2. İkincil olanlar

- NADPH-Kinon oksidoredüktaz
- Glutasyon S-transferaz
- Epoksit hidrolaz
- UDP-Glukuronil transferaz
- Sulfonil transferaz
- Glutasyon redüktaz
- Glukoz-6- fosfat dehidrojenaz
- 6-fosfoglukonat dehidrojenaz
- İzositrat dehidrojenaz
- GSSG ve konjugat taşıyıcılar
- Vitamin E
- Vitamin C
- Glutasyon
- Flavonoidler
- Butillenmiş hidroksianizol
- Butillenmiş hidroksitoluen

- Ebselen
- β -karoten
- Ürat
- Seruloplazmin
- Transferrin
- Albumin
- Haptoglobin
- Likopen
- Metalloitiyonein
- Bilirubin
- Ubikinon
- Deferoksamin
- Melatonin
- Sistein
- Ferritin
- Mannitol
- Oksipurinol
- Probukol

2.4. DEMİR OKSİDATİF STRES

Organizmadaki demirin %60–70 kadarı hemoglobin, %10 kadarı miyoglobin, sitokromlar ve demir içeren enzimlerin yapısında bulunur. Kalan %20–30'luk kısım ise gereğinde kullanılmak üzere başlıca karaciğer ve retiküloendotelial sistem (RES) makrofajlarında depolanır (82). Demir fazlalığında oluşan serbest demir, serbest oksijen radikallerinin yapılmasına yol açar. Antioksidanlar tarafından yeteri kadar temizlenemeyen

serbest oksijen radikalleri, özellikle de hidroksil radikaller, hücreler için son derecede zararlıdır. Bu nedenle organizma demiri hiçbir zaman serbest halde bırakmamaya çalışır (83). Demir yaşayan tüm organizmalar için gerekli olup, eritropoezis, oksidatif metabolizma ve hücrel immün cevap için gerekli bir elementtir. Demir eksikliği anemisinde hem oksidan miktarının artması hem de antioksidan enzim kapasitesinin azalmasına bağlı olarak oksidatif stresin arttığı kabul edilmektedir (84). Mikrositik eritrositlerin oksidanlara daha duyarlı olduğu ve eritrositlerde malonildialdehid yapımının daha fazla olduğu gösterilmiştir. İn vitro yapılan çalışmalarda DE olan kişilerin eritrositlerinin hidrojen perokside maruz bırakıldığında normal hücrelerden daha kolay parçalandığı saptanmıştır. Bu durum DE olan kişilerin eritrositlerinde oksidatif hasara karşı koruyucu mekanizmalarda bozukluk olduğunu gösterir (85). Diğer taraftan fazla demir birikimi Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları ile hidroksil radikalleri oluşturarak DNA hasarına ve sitotoksositeye neden olur (86). Ferritin bir taraftan serbest demir şelasyonu yaparak oksidatif strese karşı koruyucu iken diğer taraftan ortama serbest demir salarak oksidatif stresi artırır (87).

2.5. TİYOL –DİSÜLFİD DENGESİ

Tiyoller, ayrıca merkaptan olarak da adlandırılır, karbon atomuna bağlanan bir hidrojen ve bir sülfür atomunun olduğu sülfidril (-SH) grubu içeren organik bileşikler sınıfıdır (88). Plazma tiyol havuzu, özellikle albumin tiyolleri, protein tiyolleri ve daha az olarak da sistein, sistenilglisin, glutatyon, homosistein ve gama-glutamilsistein gibi düşük molekül ağırlıklı tiyollerden oluşur (89).

Tiyoller (RSH) oksidasyon reaksiyonuna girebilir ve sülfidril (RSSR) bağına dönüşebilir (90). Sülfidril bağı, kovalent bir bağ olup; ayrıca SS-bağı ve disülfid bağı olarak da adlandırılır. Oksidatif stres durumu altında, sistein artıklarının oksidasyonu, protein tiyol grupları ve düşük moleküllü tiyoller arasında karmaşık disülfidlerin geri dönüşümlü

oluşumuna yol açmaktadır. Oluşan disülfid bağları, yeniden tiyol gruplarını azaltabilir ve bu sayede dinamik tiyol-disülfid dengesi (TDD)'ni devam ettirmektedir (91).

Dinamik TDD'nin antioksidan koruma, detoksifikasyon, uyarı iletimi, apoptoz, enzimatik aktivite regülasyonu, transkripsiyon faktörlerinin regülasyonu ve hücrel sinyal mekanizmalarında önemli ve kritik rolü vardır (5,6). Ayrıca, dinamik TDD'nin bir çok hastalık için önemi ortaya konulmakta olup ve TDD'nin bir çok hastalığın patogenezinde etkisi olduğunun kanıtları gösterilmeye başlamıştır. Bu hastalıklar diyabetes mellitus (DM), kardiyovasküler hastalıklar (KVH), kanser, romatoid artrit, kronik böbrek yetersizliği (KBH), kazanılmış immün yetmezlik sendromu (AIDS), Parkinson, Alzheimer hastalığı, freidreich ataksisi, multiple skleroz, amniyotrofik lateral skleroz (ALS) ve karaciğer hastalıklarıdır (92-101).

Plazma tiyol seviyeleri genellikle Elman ayırıcı, 5,5'-dithiobis-(2-nitrobenzoik) asit (DTNB) ve alternatif olarak da 4,4'-dithiopiridin (4-DPS) ile laboratuvar ortamında deneysel olarak ölçülmektedir (102, 103).

Son yıllarda yayınlanan Erel ve ark.nın bulduğu bir yöntem ile TDD değerlendirmeleri otomatik metodlarla yapılabilmektedir (104).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

Beş- onbeş yaş demir eksikliği tespit edilip anemi tespit edilmeyen hastalar ile yaş uyumlu sağlıklı kontroller arasındaki inflamasyon ve oksidatif durumu gösteren tiyol disülfid dengesinin karşılaştırılmasını amaçlayan bu çalışma Nisan 2015-Eylül 2015 ayları arasında yapılmıştır.

3.1. ÇALIŞMA GRUPLARININ SEÇİMİ

Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Anabilim Dalı polikliniğinde izleme alınan DE (n: 35) olan ve sağlam çocuk polikliniğine sünnet ve ademoid cerrahisi öncesi başvuran kan alınması gereken sağlıklı kontrol grubunun (n: 36) oluşturduğu toplam 71 olgu alındı. Çalışmaya alınan hastaların yaş aralığı 5-15 yaş olarak belirlendi. DE tanısı; yaş ve cinsiyete göre normal Hb seviyesine sahip olup, ferritin değeri <12 ng/ml altında olan hastalara konuldu (105).

3.2. ÇALIŞMADAN DIŞLANMA KRİTERLERİ

Aşağıdaki özelliklere sahip olgular çalışma kapsamından çıkarıldı (106, 107).

1. Kronik veya geçirilen enfeksiyonu olan, parazitoz tanısı almış ve tedavisi henüz tamamlanmamış hastalar
2. Anemisi olup vitamin B12 veya folik asit vitamini eksikliği saptanan hastalar
3. Demir tedavisi ile allerjik reaksiyon gelişen veya bu şekilde öyküsü olanlar
4. Çalışma öncesi herhangi bir demir preparatı kullanmış olan, oral demir tedavisini son 3 ayda, parenteral demir tedavisini son 1 ayda alan hastalar
5. Vitamin kullanan hastalar

3.3. LABORATUVAR ANALİZİ

Çalışmaya katılan tüm çocuklardan tam kan sayımı için EDTA'lı tüpe 2 ml venöz kan örneği alındı. Ferritin düzeyi, tiyol disülfid dengesi değerlerinin tespiti için düz polistren tüpe 4 ml venöz kan örneği alındı. Serum demirinin sabahları yüksek, akşamları düşük olarak

saptanması nedeniyle kan örnekleri sabah 09-10 saatleri arasında alındı. Kan örneklerinden tam kan sayım ve ferritin değerleri aynı gün çalışıldı. Tiyol disülfid dengesi çalışmaları için düz tüpe alınan kanlar 4000 devirde 5 dakika santrifüj edildi, ayrılan serumları -20°C'de çalışmanın yapıldığı güne kadar saklandı.

Tam kan sayımı Coulter Gen-S system (Coulter Corp, Miami, USA) ile, ferritin düzeyi İmmulite 2000 cihazında İmmulite 2000 F kiti (DPC, Los Angeles, USA) ile bakıldı (108).

3.4. ETİK KURUL İZİNİ

31.11.2015 tarihli Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurul kararı ile " 5-15 yaş demir eksikliği tespit edilip anemi tespit edilmeyen hastalar ile yaş uyumlu sağlıklı kontroller arasındaki inflamasyon ve oksidatif durumu gösteren hematolojik ve biyokimyasal parametrelerin karşılaştırılması" isimli tez konulu çalışma etik kurulca incelenerek uygun bulunmuştur.

3.5. VERİ ANALİZİ

Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi için SPSS 17 (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, IL) paket programı kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu "Kolmogorov Smirnov" normallik testi ile incelendi. Sonuçlar ortalama \pm standart sapma şeklinde verildi. Normal dağılıma sahip olmayan özellikler ise ortalama değer (minimum-maximum değer) şeklinde verilmiştir. Normal dağılıma uyan sürekli değişkenleri karşılaştırmak için parametrik test (Bağımsız student t-testi) kullanıldı. Katerorik değişkenler sayı ve yüzde olarak verilmiştir. Kategorik verileri karşılaştırmak için ki-kare veya Fischer exact test kullanılmıştır. Feriitin düzeyinin düşüklüğü ile korele olabilecek tiyol disülfid dengesi parametreleri değerlendirebilmek amacıyla Pearson korelasyon analizi kullanıldı. $P<0.05$ düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi

4. BULGULAR

Çalışmaya yaşları 5-15 yaş arasında, DE tanısı alan 35 çocuk ile sağlıklı 36 çocuk olmak üzere toplam 71 çocuk alındı. Demir eksikliği grubunda olan çocukların yaş ortalaması 12.11 ± 1.13 yıl , kontrol grubunun yaş ortalaması 12.89 ± 1.03 yıldır. İki grubun yaş ortalamaları arasında anlamlı farklılık saptanmadı ($p=0.622$).

Demir eksikliği grubunda 22 kız (%62.9), 13 erkek (%37.1), kontrol grubunda 24 kız (%66.7), 12 erkek (%33.3) vardı. Gruplar arasında cinsiyet yönünden anlamlı fark yoktu ($p=0.806$).

Demir eksikliği grubundaki çocukların ortalama vücut kitle indeksi 17.42 ± 1.04 kg/m^2 , kontrol grubundaki çocukların ortalama vücut vücut kitle indeksi 17.43 ± 1.03 kg/m^2 idi ($p=0.948$). Her iki grubun demografik özellikleri Tablo 8’te gösterilmiştir.

Tablo 8. Demir eksikliği olup anemisi olmayan hasta grubu ile kontrol hasta gruplarının bazal demografik özelliklerinin karşılaştırılması

	Demir eksikliği grubu (n:35)	Kontrol grubu (n:36)	P değeri
Yaş (yıl)	12.11 ± 1.13	12.89 ± 1.03	0.622
Cinsiyet			
Kız	22 (%62.9)	24 (%66.7)	0.737
Erkek	13 (%37.1)	12 (%33.3)	
Vücut kitle indeksi (kg/m^2)	17.42 ± 1.04	17.43 ± 1.03	0.948

- Normal dağılımlı sürekli değişkenler ortalama \pm SD ile belirtilip, bağımsız student t-testi değerlendirilirken; kategorik değişkenler sayı ve yüzde ile belirtilip, ki-kare testi ile değerlendirilmiştir.

Her iki grup arasında hemoglobin, hematokrit, beyaz küre sayısı ve kırmızı hücre sayısı açısından anlamlı farklılık yoktu ($p=0.654$, $p=0.387$, $p=0.279$, $p=0.685$, sırasıyla). Demir eksikliği grubunda ferritin düzeyi 11.01 ± 0.89 ng/ml iken, kontrol grubunda ise 25.27 ± 2.57 ng/ml idi ($p<0.001$). Grupların tam kan sayımları ve ferritin parametreleri Tablo 9’da gösterilmiştir.

Tablo 9. Demir eksikliği olup anemisi olmayan hasta grubu ile kontrol hasta gruplarının bazal hematolojik karşılaştırılması

	Demir eksikliği grubu (n:35)	Kontrol grubu (n:36)	P değeri
Hemoglobin (g/dl)	12.97 ± 0.74	13.05 ± 0.82	0.654
Hematokrit (%)	34.97 ± 0.78	35.13 ± 0.83	0.387
Ferritin (ng/ml)	11.01 ± 0.89	25.27 ± 2.57	<0.001
Beyaz küre sayısı ($\times 10^9/L$)	9.36 ± 0.28	9.46 ± 0.27	0.279
Kırmızı küre sayısı ($\times 10^{12}/L$)	4.58 ± 0.18	4.60 ± 0.17	0.685

- Normal dağılımlı sürekli değişkenler ortalama \pm SD ile belirtilip, bağımsız student t-testi ile değerlendirilmiştir.

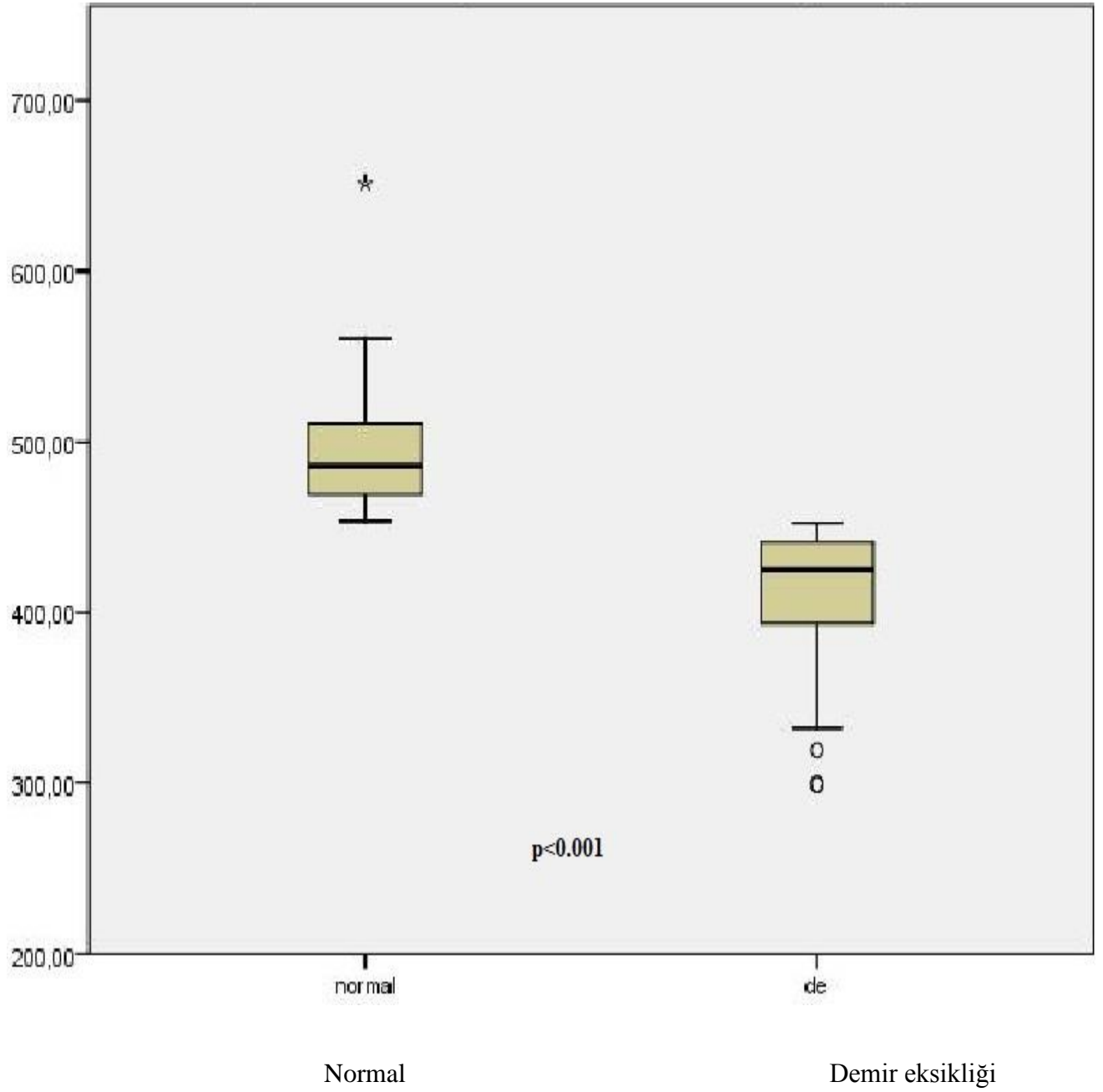
Tablo 10’de ise DE olan hasta grubu ile kontrol grubu arasındaki tiyol disülfid parametreleri gösterilip, gruplar arası karşılaştırmalar gösterilmiştir. Nativ tiyol (Şekil 2) ve total tiyol (Şekil 3) değerleri anlamlı olarak düşükken ($p<0.001$ ve $p<0.001$, sırasıyla),

disülfid (Şekil 4), disülfid/nativ tiyol ve disülfid/total tiyol değerleri anlamlı olarak yüksekti ($p<0.001$, $p<0.001$ and $p<0.001$, sırasıyla).

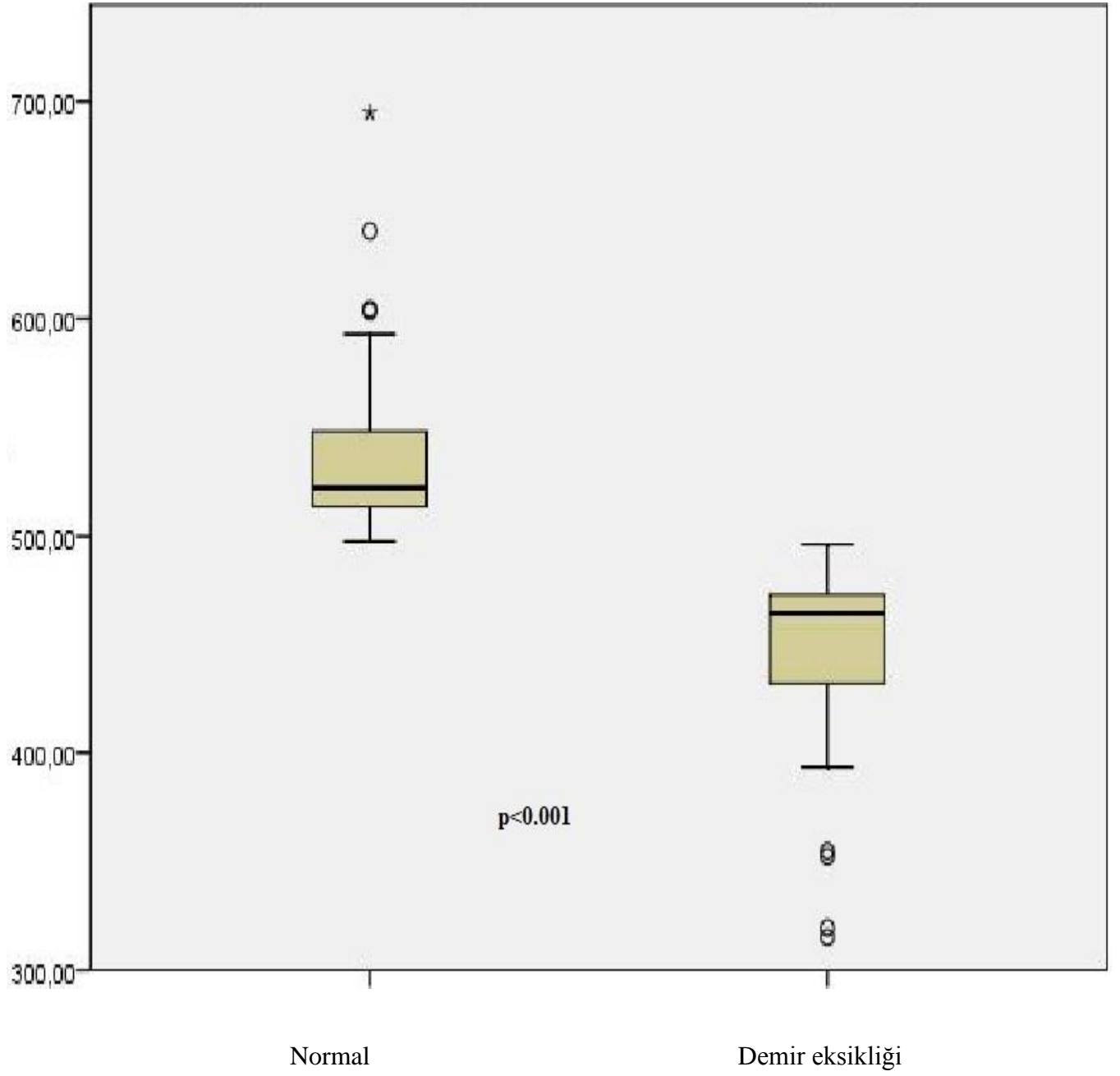
Tablo 10. Demir eksikliği olup anemisi olmayan hasta grubu ile kontrol hasta gruplarının tiyol disülfid dengesi (oksidatif durum) parametrelerinin karşılaştırılması

	Demir eksikliği grubu (n:35)	Kontrol grubu (n:36)	P değeri
Nativ tiyol ($\mu\text{mol/L}$)	410.41 \pm 42.15	497.09 \pm 40.74	<0.001
Total tiyol ($\mu\text{mol/L}$)	446.54 \pm 47.31	538.56 \pm 42.53	<0.001
Disülfid ($\mu\text{mol/L}$)	24.99 \pm 9.50	13.99 \pm 2.88	<0.001
Disülfid/nativ tiyol (%)	5.56 \pm 2.46	3.10 \pm 0.53	<0.001
Disülfid/total tiyol (%)	4.93 \pm 1.75	2.92 \pm 0.48	<0.001
Nativ tiyol /total tiyol (%)	0.91 \pm 0.01	0.92 \pm 0.01	0.325

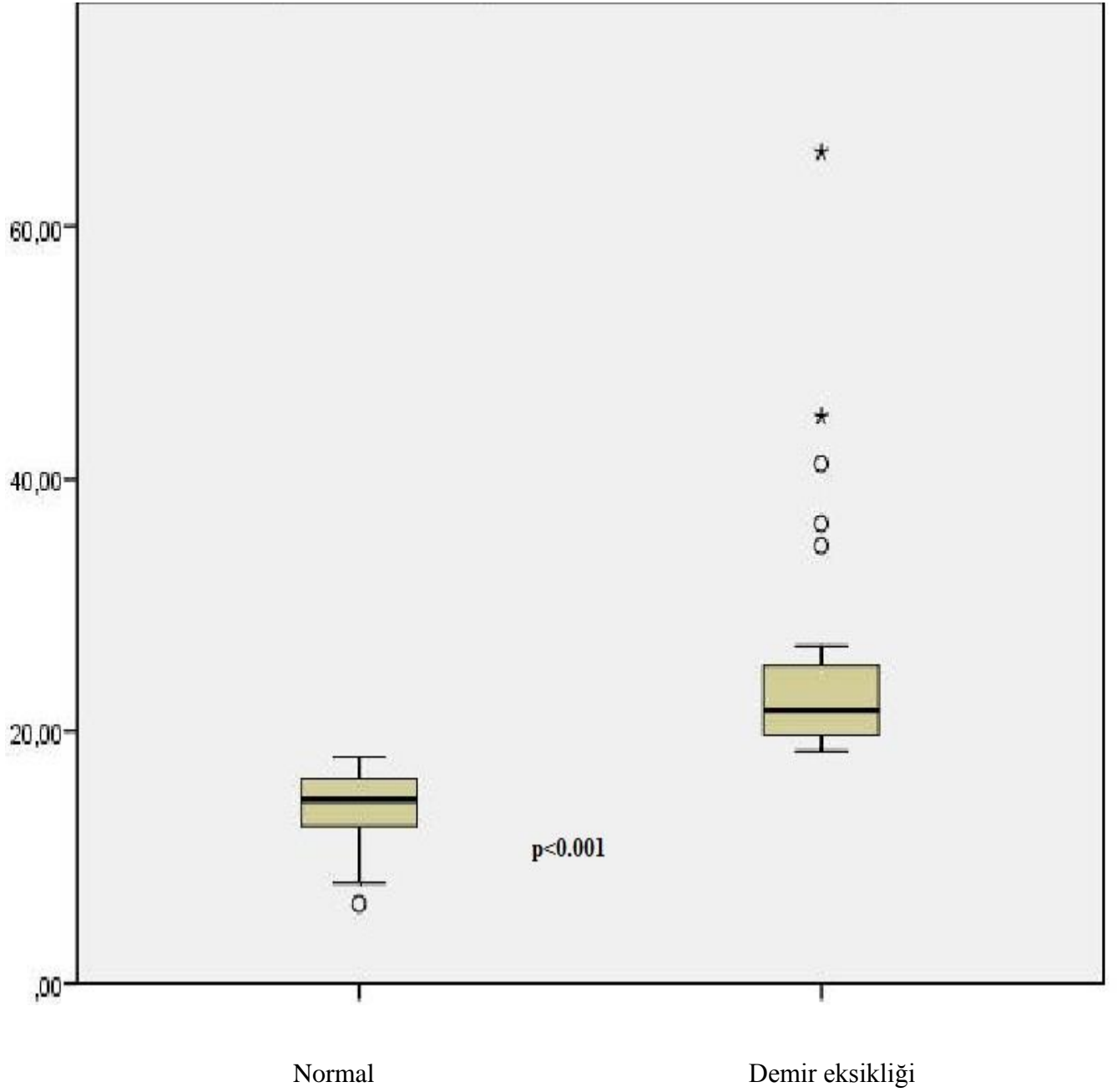
- Normal dağılımlı sürekli değişkenler ortalama \pm SD ile belirtilip, bağımsız student t-testi ile değerlendirilmiştir.



Şekil 2. Demir eksikliği olup anemi olmayan grup ile kontrol grubu arasındaki nativ tiyol değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 3. Demir eksikliği olup anemi olmayan grup ile kontrol grubu arasındaki total tiyol değerlerinin karşılaştırılması



Şekil 4. Demir eksikliği olup anemi olmayan grup ile kontrol grubu arasındaki disülfid değerlerinin karşılaştırılması

Tablo 11’de ise ferritin düşüklüğü ile korele olabilecek tiyol disülfid dengesi değişkenlerinin analizi gösterilmiştir. Ferritin düşüklüğü ile sadece total tiyol düzeyi ile pozitif korelasyon mevcutken ($r=0.330$, $p=0.049$); nativ tiyol, disülfid, disülfid/nativ tiyol, disülfid/total tiyol ve nativ tiyol/total tiyol değerleri için korelasyon analizi açısından

anlamlılık yoktu ($r=0.306$, $p=0.070$; $r=-0.251$, $p=0.140$; $r=-0.282$, $p=0.095$; $r=-0.287$, $p=0.090$; $r=-0.042$, $p=0.807$, sırasıyla).

Tablo 11. Serum ferritin düşüklüğü düzeyini etkileyebilecek değişkenler ile korelasyon analizi

Ferritin		
	r	P değeri
Nativ tiyol	0.306	0.070
Total tiyol	0.330	0.049
Disülfid	-0.251	0.140
Disülfid/nativ tiyol	-0.282	0.095
Disülfid/total tiyol	-0.287	0.090
Nativ tiyol/total tiyol	-0.042	0.807

- Pearson korelasyon analizi kullanılmıştır.

5. TARTIŞMA

Demir eksikliği en sık görülen eser element eksikliğidir. Hemoglobin aracılığı ile dokulara oksijen taşınmasını sağlayan demir vücut için esansiyel bir elementtir. Klinik olarak DE'nin bulguları dokulara oksijenin ulaşmasındaki eksikliğe ve dokudaki demir deposunun yetersizliğine bağlı oluşmaktadır. Oksijen ve demir yetersizliğine bağlı olarak hücrelerde moleküler ve biyokimyasal düzeylerde değişiklikler meydana gelmekte, bundan çeşitli organlar farklı düzeylerde etkilenmektedir. Normal büyüme ve gelişme için demir oldukça önemlidir. Çocuklarda DE ve DEA gelişme geriliğine, davranış bozukluklarına ve geri dönüşümsüz öğrenme yetisinde bozulmalara neden olmaktadır. Demir eksikliği anemisi tedavi edilse bile bilişsel yetilerdeki değişiklikler düzelmemektedir. Bu nedenle demir profilaksisi ve anemi gelişmeden DE'nin erken dönemde tanınması ve tedavisi nörokognitif bozuklukları önlemede son derece önemlidir (1). Demir eksikliği anemisi tanısında kullanılan klasik parametreler içinde en değerli kabul edilen ferritin, akut faz reaktanı olarak yükseldiği için özellikle hem DEA hem de enflamatuar durumların birlikte olduğu vakalarda tanıda güçlük yaşanmaktadır. Ayırıcı tanıda enflamatuar olaylardan bağımsız bir parametre olan sTfR erişkin hastalarda fonksiyonel demir durumunu ve eritropoetik aktiviteyi belirlemede güvenilir bir parametredir (109). Aerobik durumda elektron değişim reaksiyonlarında etkili olan demirin hücre içi düzeyi oldukça sıkı bir kontrol altındadır. Kritik bir hücre içi düzeyin üzerinde olması sonucu oksidan strese yol açarak hücreye dolayısı ile organizmaya hasar verebilir. Plazmadaki serbest demirin hücre membranları üzerinde doğrudan ya da dolaylı olarak oksidan stres etkisi bulunmaktadır (110).

Demir eksikliği anemisi gelişmekte olan ülkelerde daha sık olmakla beraber, gelişmiş ülkeler için de halen sorun olmaya devam etmektedir. Ülkemizde de birçok araştırmada yüksek sıklıkta görüldüğü bildirilmektedir. Ülkemizde anemi prevalansını tespit etmek için

Erzurum’da 2003 yılında Şimşek ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada 6 ay–6 yaş arası çocuklarda DEA prevalansı %6,5 saptanmış ve DEA’ya en sık 10–18 ay arasında rastlandığı bildirilmiştir. 2010 yılında Samsun ilinde yapılan başka bir çalışmada 2-6 yaş arasındaki sağlıklı çocuklarda DEA prevalansı %20, DE prevalansı %28 bulunmuştur (9, 10).

Oksidatif stres, serbest radikal ile antioksidan sistem arasındaki dengenin bozulması olarak tanımlanır. Karbonhidrat, yağ ve protein metabolizması üzerine olumsuz etkisi vardır. Oksidatif stres kardiyovasküler ve infeksiyöz hastalıklar, kanser, diyabet ve nörodejeneratif patolojilerle bağlantılıdır. Demir eksikliği anemisinin oksidan-antioksidan sistemi etkileyebileceği belirtilmiştir. Ferröz demir oksijenle reaksiyona girerek $O_2^{\cdot-}$ radikalini ve H_2O_2 ile reaksiyona girerek $OH^{\cdot-}$ radikalini oluşturabilmektedir. Bu radikaller hücre için çok toksik olup bugün için pek çok hastalığın (ateroskleroz, iskemi-reperfüzyon hasarı, gastrit, kanser, akut ve kronik akciğer hastalıkları) patogenezinde rol oynadığına inanılan reaktif moleküllerdir. Ortamda oksijen redüksiyon ürünleri ve yüksek miktarda demir olması durumu prooksidan durum olarak yorumlanabilir ve hücrenin oksidan strese açık olduğunun göstergesidir (111). Bu değişiklikler demir tedavisi ile düzeltilebilir. Eritrosit içerisinde süperoksit ve hidrojen peroksidin birikmesini engelleyecek SOD, katalaz ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi enzimler mevcuttur. SOD süperoksit radikalinin oksijene ve hidrojen perokside dönüşümünü hızlandırırken, katalaz ve GSH-Px hidrojen peroksidi suya ve moleküler oksijene dönüştürür. Literatürde DEA olan hastalarda görülen oksidatif stres ve antioksidan savunma mekanizması hakkında çok az bilgi bulunmaktadır (112-117).

Kumerova ve ark. DEA olan hastalarda antioksidan savunmanın azaldığını ve LPO’nun arttığını bulmuşlardır (115). Tekin ve ark. DEA olan hastalarda kontrollere göre SOD ve CAT aktivitesinde fark olmadığını göstermişlerdir (118). Bartal ve ark. DEA’da eritrositlerin oksidasyona daha duyarlı olduklarını ancak iyi bir iyileşme kapasitelerinin olduğunu saptamışlardır (119). Jansson ve ark. DEA olan hastalarda artmış SOD oluşumunun artan

oksidan strese bir kompensatuar faktör olduğunu öne sürmüşlerdir (114). Cellerino ve ark. çalışmalarında DEA olan hastalarda SOD, GSH-Px ve CAT gibi antioksidan enzim aktivitelerinin azaldığını saptamışlardır (117). Demir ve ark. da DEA grubunda TAOK düzeyleri kontrollere göre düşüktü (120). Altun ve ark. da DEA'da tedavi öncesinde SOD ve katalaz aktivitelerinde anlamlı yükseklik saptanmış MDA düzeyleri için de kontrol grubu ile arasında anlamlı fark saptanmamıştır (121). Kurtoğlu ve ark.'nın çalışmasında DEA olan hastalarda kontrol grubuna göre oksidatif durum göstergelerinde artış gözlenirken eritrosit SOD, CAT aktivitesi ve GSH-Px seviyeleri anlamlı olarak daha düşük bulunmuştur (122). Acharya ve ark.'nın yaptığı çalışmada demir eksikliğinde süperoksit dismutaz aktivitesinin arttığı gösterilmiştir (112).

Diaz ve ark. ratlarda DEA'nın DNA stabilitesi veya lipid peroksidasyonunu etkilemediğini belirtmişlerdir (123). Altun ve ark.'nın çalışmasında da bu görüş ile uyumlu olarak grupların tedavi öncesi MDA değerleri ile kontrol grubu arasında anlamlı bir fark bulunmadı (121). Bu sonuç antioksidan koruyucu sistemleri yüksek tutmak için yeterli dengeleyici kapasitenin var olduğunu göstermektedir. Yukarıda anlatılanın aksine demirin Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları aracılığı ile hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olabileceği ve lipid peroksidasyonuna katkıda bulunacağı bilinmektedir (86). Bu nedenle bazı araştırmacılar gereksiz ya da fazla demir kullanılmasından kaçınılması gerektiğini belirtmektedir (124). Demir depoları dolduktan sonra demir alımının devam etmesi ile iyonize haldeki serbest demir, oksidatif hasara yol açabilir. Altun ve ark.'nın çalışmasında ise hem DE hem de DEA'da tedavi sonrasında lipid peroksidasyonunun arttığı son ürünü olan MDA'nın artışından anlaşılmaktadır (121). Aslan ve ark.'nın yaptığı başka bir çalışmada DEA olan 22 kadın ve sağlıklı 22 kadında periferik DNA hasarı ve plazma total antioksidan kapasite araştırılmıştır. Demir eksikliği anemisinde lenfosit DNA hasarı kontrol grubundan daha yüksek, total antioksidan kapasite daha düşük bulunmuş. Oksidatif stresin artmasının DNA

hasarına neden olması DEA'nın patogeneğinde oksidatif stres ve DNA hasarının rol aldığını göstermektedir (84).

Albumin, ürik asid, bilirubin, ve askorbik asit plazmanın ana enzimatik olmayan antioksidanlarıdır. Antioksidan sistemler normalde bir bütünlük içinde çalışır, bir antioksidandaki azalma diğerindeki artma ile kompanse edilmektedir. Fagositler vücudun ihtiyacı olan kimyasal olaylar için süperoksit ve hidrojen peroksiti kullanır. Ancak bu ürünlerin fazla yapımından korunmak için birçok hücrenin antioksidan sisteme ihtiyacı vardır. Süperoksit ve hidrojen peroksit normal miktarda olduğu zaman direkt DNA, lipid ve protein hasarı yapmazken aşırı üretildiğinde hücrenel hasara neden olur. Bu radikaller reaktivitelerinin artmasından başta demir olmak üzere çinko, bakır, selenyum gibi birçok metal iyonu sorumlu tutulmaktadır. Mc Anulty ve ark.'nın yaptıkları çalışmada anemik olmayan fakat düşük demir depoları olan ve demir depoları normal olan hastalara demir tedavisi verilmiştir. Serum selenyum ve glutatyon peroksidaz konsantrasyonları düşük demir depoları olan olgularda yeterli demir depoları olan olgulardan farklı bulunmamıştır. Düşük demir depoları olan olgularda serum selenyum ve glutatyon peroksidaz konsantrasyonları tedavi öncesi ve sonrası değişiklik göstermemiştir (125). Meral ve ark.'ları (103) beta talasemi major ve DEA'da lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim düzeylerini çalışmışlardır. Süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzim düzeylerinin beta talasemi major grubunda en yüksek olduğunu ve DEA olan 19 çocukta demir eksikliğinin lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim düzeylerinde değişime yol açmadığını rapor etmişlerdir. Antioksidan enzim düzeylerinde düşme olmaması aneminin şiddetiyle ilişkilidir (126). Akça ve arkadaşarının yaptığı çalışmada hemoglobin değerleri çok düşük olmadığı için total antioksidan kapasite normal bulunmuş olabilir (127). Yine bu çalışmada hem DEA ile kontrol grubu arasında hem de DEA grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası sonuçları

arasında total antioksidan kapasite değerleri açısından anlamlı fark saptanmadı. Buna göre DEA'da demir tedavisi oksidan stres oluşturmadığını belirtilmiştir (127).

Gropper ve ark. ise anemik olmayan DE olan hastalarda demir tedavisi öncesi ve tedaviden 8 hafta sonra oksidatif hasarı değerlendirmişlerdir. Demir eksikliği olan grupta tedavi öncesi lipid hidroperoksit ve protein karbonil düzeyinin kontrol grubundan farklı olmadığı görülmüştür. Oral demir tedavisinden 8 hafta sonra da plazma lipid hidroperoksit ve protein karbonil konsantrasyonunda önemli değişiklik olmadığı saptanmıştır. Çalışmada oral demir tedavisinin oksidatif hasarla ilişkili olmadığı bulunmuştur (128). Bizim hasta popülasyonumuza benzer hasta grubunda yapılan üstte belirtilen makalenin aksine, bizim çalışma popülasyonumuzda nativ tiyol, total tiyol ve disülfid değerlerindeki değişiklikler, anemisi olmayan kontrol grubuna göre oksidatif stresin değiştiğini öne sürecektir nitelikteydi.

Birçok deneysel çalışma da tiyol/disülfid oranının değişikliğinin hücresel yanıtı ile değişiklikler rapor edilmiştir. GSH/GSSG redoksunda artış proliferasyona ve bu redokstaki azalma da apoptozise önderlik eder (129, 130).

GSH/GSSG ve Cys/CysS redoks potansiyelleri; yaşlanma, alkol aşırı alımı, DM, sigara içiciliği, artmış karotis intima media kalınlığı, geri dönüşümlü miyokart perfüzyon defektleri, kemoterapi ve akciğer transplantasyonu ile azalmaktadır (129).

Erel ve ark.nın yaptığı çalışmada disülfid düzeyinin DM, obezite ve pnömoni gibi dejeneratif hastalıklarda arttığı; multiple myelom, mesane kanseri, kalın barsak kanseri ve renal kanseri gibi proliferatif hastalıklarda azaldığını göstermiştir (104).

Tiyol disülfid dengesi ile daha önce yapılan çalışmalarda, TDD'nin preeklampitik hastalarda bozulduğu ve bu durumun hastalığın ciddiyeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Bektaş ve ark. yaptığı bir çalışma da TDD'nin inme ve ciddiyeti ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (131) . Başka bir çalışmada ise, primer hipertasyonda disülfid artışı

gösterilmiştir. Ateş ve ark. Yaptığı bir çalışmada Tip 1 DM olan hastalarda kontrol grubuna göre tiyol oksidasyonunun arttığı gösterilmiş olup, bu durum kronik inflamasyon ve hiperglisemiye bağlanmıştır (132). Kundi ve ark.'da non ST elevasyonlu miyokart enfarktüsünde, koroner arter hastalığı ciddiyetini gösteren SYNTAX skoru ile TDD'nin ters korelasyonunu göstermiştir (133). Bizim çalışmamızda da DE olan grupta nativ tiyol ve total tiyol değerleri belirgin olarak düşükken, disülfid düzeyleri belirgin olarak yüksekti. Bu tablo da, anemi oluşmadan da demir eksikliğinde tiyol oksidasyonun değiştiğini yani oksidatif stresin ortaya çıktığını göstermektedir.

Ferritin bir taraftan serbest demir şelasyonu yaparak oksidatif strese karşı koruyucu iken diğer taraftan ortama serbest demir salarak oksidatif stresi artırır. Oksidatif DNA hasarına neden olan demir miktarı konusunda net bilgi yoktur. Yapılan bir çalışmada serum ferritin konsantrasyonu ile idrarda oksidatif hasar ve onarımı gösteren biomarker olan 8-hidroksideoksiguanozin ilişkisi incelenmiş ve serum ferritin seviyesi ile 8-OHdG konsantrasyonu arasında pozitif ilişki gösterilmiştir (87). Bizim çalışmamızda da ferritin düşüklüğünün tiyol disülfid dengesini gösteren değişkenler arasında sadece total tiyol düzeyi ile pozitif korelasyonu mevcutken, tiyol disülfid dengesinin diğer değişkenleri açısından korelasyonu mevcut değildi.

Sonuç olarak bu çalışmada anemi olmadan da demir eksikliğinin tiyol-disülfid dengesi üzerinden gösterilerek oksidatif strese neden olduğu izlendi. Çalışmamız çocukluk çağı ani olmayan DEA'da tiyol-disülfid dengesinin nasıl değiştiğini gösteren ilk çalışma olduğu için önem taşımaktadır. Tiyol-disülfid dengesi parametre ölçümleri güvenilir, pratik ve maliyeti ucuz metotlardır. Bu sayede oksidatif durumu gösteren birçok parametrenin ölçümüne gerek kalmamaktadır. Olgu sayısının artırılması ve düşük hemoglobin seviyesine sahip demir eksikliği anemilerinin incelenmesi ile farklı sonuçlara ulaşılabileceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Toplumsal olarak en sık düzeyde görülen nutrisyonel ve hematolojik patolojilerden olan demir eksikliği anemisinin oksidan ve antioksidan durum ile ilişkisini gösteren birçok çalışma mevcutken, anemi oluşmadan sadece depo demirini gösteren ferritin düşüklüğü ile seyrettiği durumlardaki oksidatif durumu gösteren çok az sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmada anemi olmadan sadece ferritin düşüklüğünün olduğu durumlarda, vücuttaki oksidatif durumu gösteren tiyol disülfid dengesinin değişip değişmediğini araştıran çalışmamızda elde edilen sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

- a. Çalışmamızda demir eksikliği olan grupta nativ tiyol ve total tiyol düzeyleri belirgin olarak düşükken (her iki parametre için de $p<0.001$); disülfid düzeyi demir eksikliği olan grupta belirgin olarak yüksekti ($p<0.001$).
- b. Çalışılan tiyol disülfid dengesi parametrelerinden sadece total tiyol seviyesi, serum ferritin düzeyi ile pozitif korelasyonu mevcuttu ($p=0.049$).
- c. Bu sonuçlar ışığında tiyol disülfid dengesini oluşturan parametrelerin demir eksikliği ve sonraki aşaması olan demir eksikliği anemisinin patojenezinde rolü olup olmadığını gösteren büyük çapta ve hasta katılımlı çalışmalara ihtiyaç vardır.

ÖZET

Çocuklarda demir eksikliğinde oksidatif durumun incelenmesi

Amaç: Anemi olmadan demir eksikliği olan hastalar ile oksidatif durumu etkileyen tiyol disülfid dengesi arasındaki ilişkiyi göstermeye çalıştık.

Gereç ve Yöntem: Ufuk Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Anabilim Dalı polikliniğinde başvuran 5-15 yaş aralığı demir eksikliği (n: 35) olan ve yaş ve cinsiyet uyumlu sağlıklı kontrol grubunun (n: 36) oluşturduğu toplam 71 olgu alındı. Demir eksikliği; yaş ve cinsiyete göre normal hemoglobin seviyesine sahip olup, ferritin değeri <12 ng/ml altında olan hastalara konuldu.

Bulgular: Demir eksikliği grubunda ferritin düzeyi 11.01 ± 0.89 ng/ml iken, kontrol grubunda ise 25.27 ± 2.57 ng/ml idi ($p < 0.001$). demir eksikliği grubunda nativ tiyol ve total tiyol değerleri anlamlı olarak düşükken ($p < 0.001$ ve $p < 0.001$, sırasıyla), disülfid, disülfid/nativ tiyol ve disülfid/total tiyol değerleri anlamlı olarak yüksekti ($p < 0.001$, $p < 0.001$ and $p < 0.001$, sırasıyla) . Ferritin düzeyi ile sadece total tiyol düzeyi ile pozitif korelasyon mevcuttu ($r = 0.330$, $p = 0.049$).

Sonuç: Bu çalışmada anemi olmadan da demir eksikliğinin tiyol-disülfid dengesi üzerinden gösterilerek oksidatif strese neden olduğu izlendi.

Anahtar kelimeler: Demir eksikliği, oksidatif stres, tiyol disülfid dengesi

ABSTRACT

Investigation of oxidative status in children with iron deficiency

Objectives: We aimed to investigate relation between iron deficiency without anemia and thiol disulphide homeostasis, which effected oxidative status.

Materials and Methods: We enrolled totally 71 subjects who were admitted to Ufuk University School of Medicine pediatrics outpatient clinic, 35 of whom with iron deficiency between 5-15 years old and 36 of whom age-sex matched healthy subjects. Iron deficiency describes as; normal hemoglobine levels according to age and sex, and ferritine levels < 12 ng/ml.

Results: Ferritine levels were 11.01 ± 0.89 ng/ml in patients with iron deficiency and 25.27 ± 2.57 ng/ml in healthy controls ($p < 0.001$). Native thiol and total thiol levels were significantly lower ($p < 0.001$ and $p < 0.001$, respectively) in patients with iron deficiency, disulphide, disulphide/native thiol ratio and disulphide/total thiol ratio were significantly higher in patients with iron deficiency ($p < 0.001$, $p < 0.001$ and $p < 0.001$, respectively). Only total thiol levels has positive correlation with ferritine levels ($r = 0.330$, $p = 0.049$).

Conclusion: In this study, we showed that iron deficiency has effect on oxidative stress via thiol disulphide homeostasis.

Keywords: Iron deficiency, oxidative stress, thiol disulphide homeostasis

KAYNAKLAR

1. Andrews NC, Kenneth RB. Disorders of iron metabolism ve sideroblastik anemia. Nathan DG OSe, editor. Philadelphia. : WB Saunders; 1998. 423-61 p.
2. Andrews NC, Ullrich CK, Fleming MD. Disorders of Iron Metabolism and Sideroblastic Anemia. 7 ed. Orkin S NDG, Gingsburg D, Look T, editor. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2009.
3. Dallman PR, Yip R, Johnson C. Prevalence and causes of anemia in the United States, 1976 to 1980. Am J Clin Nutr. 1984;39:437-45.
4. Nancy C, Andrews KR. Disorders of iron metabolism and sideroblastik anemia. Nathan DG OS, editor. Philadelphia: W.B Saunders; 1998. 424-52 p.
5. Berçem İ, İçağasıoğlu D, Cevit Ö, Ergür AT, Berçem G, Gültekin A, Sütçü İ. Sivas'ta 12-18 yaş grubu adolesanlarda demir eksikliği anemisi prevalansı. Türkiye Klinikleri Pediatri Dergisi. 1999;8:15-20.
6. Glader B. Iron-deficiency anemia. 17 ed. Behrman R KR, Jenson H, editor. Philadelphia: W.B Saunders; 2004. 1614-6 p.
7. Khusun H, Yip R, Schultink W, Dillon DH. World Health Organization hemoglobin cut-off points for the detection of anemia are valid for an Indonesian population. J Nutr. 1999;129:1669-74.
8. Wharton BA. Iron deficiency in children: detection and prevention. Br J Haematol. 1999;106:270-80.
9. Şimşek Ş. Orta Derecede Yüksek Bir Rakımda (Erzurum=2000m) Yaşayan ve Pediatri Polikliniğine Başvuran 6ay-6yaş Arasındaki Çocuklarda Anemi Prevalansı ve Etiyolojik Faktörler. Erzurum: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2003.

10. Yılmaz ÖÇ. Samsun ilinde 2-6 yaş arası çocuklarda demir eksikliği anemisi prevalansı. Samsun: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2010.
11. Hoffbrand AV, Herbert V. Nutritional anemias. *Semin Hematol.* 1999;36:13-23.
12. Will AM.. In: (eds). . Second ed. London: -. Iron metabolism, sideroblastic anemia and iron overload. Second ed. Lilleyman J HI, Blanchette V, editor. London: Churchill Livingstone; 1999.
13. Ani-Kibangou B, Bouhallab S, Molle D, Henry G, Bureau F, Neuville D, et al. Improved absorption of caseinophosphopeptide-bound iron: role of alkaline phosphatase. *J Nutr Biochem.* 2005;16:398-401.
14. Cook JD, Skikne BS. Iron deficiency: definition and diagnosis. *J Intern Med.* 1989;226:349-55.
15. Finch CA, Huebers HA. Iron metabolism. *Clin Physiol Biochem.* 1986;4:5-10.
16. Conrad ME, Umbreit JN. A concise review: iron absorption--the mucin-mobilferrin-integrin pathway. A competitive pathway for metal absorption. *Am J Hematol.* 1993;42:67-73.
17. Umbreit JN, Conrad ME, Moore EG, Latour LF. Iron absorption and cellular transport: the mobilferrin/paraferritin paradigm. *Semin Hematol.* 1998;35:13-26.
18. Lilleyman J, Hann I, Blanchette V Red Cell Disorders. Lilleyman J HI, Blanchette V, editor. London: Churchill Livingstone; 2000. 105-26 p.
19. Kırmızıtaş A. Demir eksikliği anemisi olan çocuklarda çözünebilir transferrin reseptörü, eritrosit çinko düzeyi ve serum çinko düzeyi'nin tanıdaki yeri. Adana: Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2005.
20. Sherwood RA, Pippard MJ, Peters TJ. Iron homeostasis and the assessment of iron status. *Ann Clin Biochem.* 1998;35 (Pt 6):693-708.

21. Onat T. Vitamin ve mineraller. Onat T EK, editor. Ankara: Saray Medikal; 1997. 819-24 p.
22. Andrews NC, Kenneth RB. Disorders of iron metabolism and sideroblastic anemia. 5 ed. Nathan DG OS, editor. Philadelphia: W.B. Saunders; 2003. 424-41 p.
23. Choi JW, Pai SH. Reticulocyte subpopulations and reticulocyte maturity index (RMI) rise as body iron status falls. Am J Hematol. 2001;67:130-5.
24. Suominen P, Virtanen A, Lehtonen-Veromaa M, Heinonen OJ, Salmi TT, Alanen M, et al. Regression-based reference limits for serum transferrin receptor in children 6 months to 16 years of age. Clin Chem. 2001;47:935-7.
25. Şanlılar M. Pediatrik Yaş Grubu Çeşitli Anemik Hastalıkların Ayırıcı Tanısında Serum Solubl Transferrin Reseptörünün Diğer Hematolojik ve Biyokimyasal Parametrelerle İlişkisi Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi 2006.
26. İmamoğlu ND. Anne kanındaki demir, total demir bağlama kapasitesi ve ferritin düzeylerinin fetal değerler ile ilişkisi. İstanbul: Bakırköy Doğumevi Kadın Ve Çocuk Hastalıkları Eğitim Hastanesi; 2005.
27. Özalp İ, Yurdakök M, Coşkun T Pediatrie Gelişmeler. Özalp İ YM, Coşkun T editor. Ankara: Sinem Ofset; 1999. 745-65 p.
28. Gümrük F, Altay Ç. Demir metabolizması ve demir eksikliği anemisi. Katkı Pediatri Dergisi. 1995;3:265-72.
29. Ağaoglu A.. Kan Hastalıkları, Anemiler. 3 ed. Neyzi O ET, editor. İzmir: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002.
30. Yıldız İ, Yüksel L. Kan Hastalıkları. 1 ed. T O, editor. İstanbul: Eksen Yayınları; 1996.
31. Krebs NF. Dietary zinc and iron sources, physical growth and cognitive development of breastfed infants. J Nutr. 2000;130:358S-60S.

32. Wharton BA. Iron deficiency. Lileymah J HL, Blanchene V, editor. London, Edinburg: Churchill Livingstone; 1999.
33. Provan D. Mechanisms and management of iron deficiency anaemia. *Br J Haematol.* 1999;105 Suppl 1:19-26.
34. Neyzi O, Ertuğrul T. Demir Eksikliği Anemisi: Tayf Ofset-Nobel Tıp Kitabevleri; 2002. 1051-4 p.
35. Stoltzfus RJ, Dreyfuss ML. Guidelines for the Use of Iron Supplements to Prevent and Treat Iron Deficiency Anemia. . International Nutritional Anemia Consultative Group (INACG)/WHO/UNICEF, World Health Organization; Geneva, Switzerland 1998.
36. Angel MF, Ramasastry SS, Swartz WM, Basford RE, Futrell JW. Free radicals: basic concepts concerning their chemistry, pathophysiology, and relevance to plastic surgery. *Plast Reconstr Surg.* 1987;79:990-7.
37. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull.* 1993;49:481-93.
38. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem.* 1993;26:351-7.
39. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri organizmada prooksidan-antioksidan dengesini etkileyen koşullar. *Klinik Gelişim.* 1998;11:336-41.
40. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet.* 1994;344:721-4.
41. Lund LG, Paraidathathu T, Kehrer JP. Reduction of glutathione disulfide and the maintenance of reducing equivalents in hypoxic hearts after the infusion of diamide. *Toxicology.* 1994;93:249-62.
42. Nakazawa H, Genka C, Fujishima M. Pathological aspects of active oxygens/free radicals. *Jpn J Physiol.* 1996;46:15-32.

43. Kilinc K, Kilinc A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp dergisi. 2002;33:110-8.
44. Kremer TM, Rinne ML, Xu Y, Chen XM, Kelley MR. Protection of pulmonary epithelial cells from oxidative stress by hMYH adenine glycosylase. Respir Res. 2004;5:16.
45. Chopineau J, Sommier MF, Sautou V. Evaluation of free radical production in an ischaemia-reperfusion model in the rabbit using a tourniquet. J Pharm Pharmacol. 1994;46:519-20.
46. Dore S, Takahashi M, Ferris CD, Zakhary R, Hester LD, Guastella D, et al. Bilirubin, formed by activation of heme oxygenase-2, protects neurons against oxidative stress injury. Proc Natl Acad Sci U S A. 1999;96:2445-50.
47. Akkuş I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza yayınları; 1995.
48. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol. 2007;39:44-84.
49. Stadtman ER. Role of oxidant species in aging. Curr Med Chem. 2004;11:1105-12.
50. Vorbach C, Harrison R, Capecchi MR. Xanthine oxidoreductase is central to the evolution and function of the innate immune system. Trends Immunol. 2003;24:512-7.
51. Barber DA, Harris SR. Oxygen free radicals and antioxidants: a review. Am Pharm. 1994;NS34:26-35.
52. Asad SF, Singh S, Ahmad A, Khan NU, Hadi SM. Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure-activity study. Chem Biol Interact. 2001;137:59-74.
53. Buonocore G, Perrone S, Longini M, Terzuoli L, Bracci R. Total hydroperoxide and advanced oxidation protein products in preterm hypoxic babies. Pediatr Res. 2000;47:221-4.

54. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med.* 1987;107:526-45.
55. Yamamoto Y. Role of active oxygen species and antioxidants in photoaging. *J Dermatol Sci.* 2001;27 Suppl 1:S1-4.
56. Yurdakok Y, Yurdakok M. Yenidoğanlarda serbest radikallere bağlı hastalıklar. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi.* 1997;39:749-65.
57. Rao GM, Rao AV, Raja A, Rao S, Rao A. Lipid peroxidation in brain tumours. *Clin Chim Acta.* 2000;302:205-11.
58. Marnett LJ. Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology.* 2002;181-182:219-22.
59. Allen RG, Tresini M. Oxidative stress and gene regulation. *Free Radic Biol Med.* 2000;28:463-99.
60. Bowry VW, Mohr D, Cleary J, Stocker R. Prevention of tocopherol-mediated peroxidation in ubiquinol-10-free human low density lipoprotein. *J Biol Chem.* 1995;270:5756-63.
61. Minetti M, Mallozzi C, Di Stasi AM, Pietraforte D. Bilirubin is an effective antioxidant of peroxynitrite-mediated protein oxidation in human blood plasma. *Arch Biochem Biophys.* 1998;352:165-74.
62. Otani K, Shimizu S, Chijiwa K, Yamaguchi K, Kuroki S, Tanaka M. Increased urinary excretion of bilirubin oxidative metabolites in septic patients: a new marker for oxidative stress in vivo. *J Surg Res.* 2001;96:44-9.
63. Hegyi T, Goldie E, Hiatt M. The protective role of bilirubin in oxygen-radical diseases of the preterm infant. *J Perinatol.* 1994;14:296-300.
64. Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF, Glazer AN, Ames BN. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science.* 1987;235:1043-6.

65. Lindeman JH, Lentjes EG, Houdkamp E, van Zoeren-Grobbe D, Schrijver J, Berger HM. Effect of an exchange transfusion on plasma antioxidants in the newborn. *Pediatrics*. 1992;90:200-3.
66. Gopinathan V, Miller NJ, Milner AD, Rice-Evans CA. Bilirubin and ascorbate antioxidant activity in neonatal plasma. *FEBS Lett*. 1994;349:197-200.
67. Ilizarov AM, Koo HC, Kazzaz JA, Mantell LL, Li Y, Bapat R, et al. Overexpression of manganese superoxide dismutase protects lung epithelial cells against oxidant injury. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2001;24:436-41.
68. Qanungo S, Sen A, Mukherjea M. Antioxidant status and lipid peroxidation in human feto-placental unit. *Clin Chim Acta*. 1999;285:1-12.
69. Kiely M, Morrissey PA, Cogan PF, Kearney PJ. Low molecular weight plasma antioxidants and lipid peroxidation in maternal and cord blood. *Eur J Clin Nutr*. 1999;53:861-4.
70. Bolisetty S, Naidoo D, Lui K, Koh TH, Watson D, Whitehall J. Antenatal supplementation of antioxidant vitamins to reduce the oxidative stress at delivery--a pilot study. *Early Hum Dev*. 2002;67:47-53.
71. Slater TF. Free-radical mechanisms in tissue injury. *Biochem J*. 1984;222:1-15.
72. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys*. 1990;280:1-8.
73. Tomaro ML, Batlle AM. Bilirubin: its role in cytoprotection against oxidative stress. *Int J Biochem Cell Biol*. 2002;34:216-20.
74. Raha S, Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. *Trends Biochem Sci*. 2000;25:502-8.
75. Peng T, Shen HM, Liu ZM, Yan LN, Peng MH, Li LQ, et al. Oxidative DNA damage in peripheral leukocytes and its association with expression and polymorphisms of hOGG1: a

study of adolescents in a high risk region for hepatocellular carcinoma in China. *World J Gastroenterol.* 2003;9:2186-93.

76. Scandalios JG. The rise of ROS. *Trends Biochem Sci.* 2002;27:483-6.

77. Zhao J, Liu XJ, Ma JW, Zheng RL. DNA damage in healthy term neonate. *Early Hum Dev.* 2004;77:89-98.

78. Bast A, Haenen GR, van den Berg R, van den Berg H. Antioxidant effects of carotenoids. *Int J Vitam Nutr Res.* 1998;68:399-403.

79. Cuzzocrea S, Reiter RJ. Pharmacological actions of melatonin in acute and chronic inflammation. *Curr Top Med Chem.* 2002;2:153-65.

80. Reiter R, Tang L, Garcia JJ, Munoz-Hoyos A. Pharmacological actions of melatonin in oxygen radical pathophysiology. *Life Sci.* 1997;60:2255-71.

81. Aydın A, Sayal A, Işimer A. Serbest Radikaller ve Antioksidan Savunma Sistemi. Ankara: GATA Basımevi; 2001.

82. Avcı Z. Karaciğer Nakli Yapılan Çocuklarda Serum Prohepsidin Düzeyinin Eritrosit Göstergeleri, Serum Demir Değişkenleri ve Karaciğer Demir Yoğunluğu İle İlişkisinin Araştırılması Ankara: Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2008.

83. Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med.* 1999;341:1986-95.

84. Aslan M HM, Kocyigit A, Ozgonul S, Celik H, Celik M, et al. . Lymphocyte DNA damage and oxidative stress in patients with iron deficiency anemia. *Mutat Res.* 2006;601:144-9.

85. Nagababu E, Chrest FJ, Rifkind JM. Hydrogen-peroxide-induced heme degradation in red blood cells: the protective roles of catalase and glutathione peroxidase. *Biochim Biophys Acta.* 2003;1620:211-7.

86. Gutteridge JM. Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chem Biol Interact.* 1994;91:133-40.

87. Hori A, Mizoue T, Kasai H, Kawai K, Matsushita Y, Nanri A, et al. Body iron store as a predictor of oxidative DNA damage in healthy men and women. *Cancer Sci.* 2010;101:517-22.
88. Sen CK, Packer L. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am J Clin Nutr.* 2000;72:653S-69S.
89. Turell L, Radi R, Alvarez B. The thiol pool in human plasma: the central contribution of albumin to redox processes. *Free Radic Biol Med.* 2013;65:244-53.
90. Cremers CM, Jakob U. Oxidant sensing by reversible disulfide bond formation. *J Biol Chem.* 2013;288:26489-96.
91. Jones DP, Liang Y. Measuring the poise of thiol/disulfide couples in vivo. *Free Radic Biol Med.* 2009;47:1329-38.
92. Matteucci E, Giampietro O. Thiol signalling network with an eye to diabetes. *Molecules.* 2010;15:8890-903.
93. Go YM, Jones DP. Cysteine/cystine redox signaling in cardiovascular disease. *Free Radic Biol Med.* 2011;50:495-509.
94. Prabhu A, Sarcar B, Kahali S, Yuan Z, Johnson JJ, Adam KP, et al. Cysteine catabolism: a novel metabolic pathway contributing to glioblastoma growth. *Cancer Res.* 2014;74:787-96.
95. Tetik S, Ahmad S, Alturfan AA, Fresko I, Disbudak M, Sahin Y, et al. Determination of oxidant stress in plasma of rheumatoid arthritis and primary osteoarthritis patients. *Indian J Biochem Biophys.* 2010;47:353-8.
96. Rodrigues SD, Batista GB, Ingberman M, Pecoits-Filho R, Nakao LS. Plasma cysteine/cystine reduction potential correlates with plasma creatinine levels in chronic kidney disease. *Blood Purif.* 2012;34:231-7.

97. Sbrana E, Paladini A, Bramanti E, Spinetti MC, Raspi G. Quantitation of reduced glutathione and cysteine in human immunodeficiency virus-infected patients. *Electrophoresis*. 2004;25:1522-9.
98. Calabrese V, Lodi R, Tonon C, D'Agata V, Sapienza M, Scapagnini G, et al. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and cellular stress response in Friedreich's ataxia. *J Neurol Sci*. 2005;233:145-62.
99. Smeyne M, Smeyne RJ. Glutathione metabolism and Parkinson's disease. *Free Radic Biol Med*. 2013;62:13-25.
100. Steele ML, Fuller S, Maczurek AE, Kersaitis C, Ooi L, Munch G. Chronic inflammation alters production and release of glutathione and related thiols in human U373 astroglial cells. *Cell Mol Neurobiol*. 2013;33:19-30.
101. Kuo LM, Kuo CY, Lin CY, Hung MF, Shen JJ, Hwang TL. Intracellular glutathione depletion by oridonin leads to apoptosis in hepatic stellate cells. *Molecules*. 2014;19:3327-44.
102. Ellman G, Lysko H. A precise method for the determination of whole blood and plasma sulfhydryl groups. *Anal Biochem*. 1979;93:98-102.
103. Egwim IO, Gruber HJ. Spectrophotometric measurement of mercaptans with 4,4'-dithiodipyridine. *Anal Biochem*. 2001;288:188-94.
104. Erel O, Neselioglu S. A novel and automated assay for thiol/disulphide homeostasis. *Clin Biochem*. 2014;47:326-32.
105. Oski FA, Brugnara C, Nathan DG. A diagnostic approach to anemic patient. Nathan DG OS, editor. Philadelphia: Saunders; 1998. 375-84 p.
106. Çetinkaya B. Çocuklarda demir eksikliği anemisi tedavisinde kullanılan farklı demir preparatlarının plazmada oksidan stres ve eritrositlerde antioksidan sistem üzerine olan etkilerinin araştırılması. İzmir2002.

107. Choi JW, Pai SH, Kim SK, Ito M, Park CS, Cha YN. Iron deficiency anemia increases nitric oxide production in healthy adolescents. *Ann Hematol.* 2002;81:1-6.
108. Drysdale JW, Adelman TG, Arosio P, Casareale D, Fitzpatrick P, Harzard JT, et al. Human isoferritins in normal and disease states. *Semin Hematol.* 1977;14:71-88.
109. Dimitriou H, Stiakaki E, Markaki EA, Bolonaki I, Giannakopoulou C, Kalmanti M. Soluble transferrin receptor levels and soluble transferrin receptor/log ferritin index in the evaluation of erythropoietic status in childhood infections and malignancy. *Acta Paediatr.* 2000;89:1169-73.
110. Seymen O, Seven A, Candan G, Yigit G, Hatemi S, Hatemi H. The effect of iron supplementation on GSH levels, GSH-Px, and SOD activities of erythrocytes in L-thyroxine administration. *Acta Med Okayama.* 1997;51:129-33.
111. Slivka A, Kang J, Cohen G. Hydroxyl radicals and the toxicity of oral iron. *Biochem Pharmacol.* 1986;35:553-6.
112. Acharya J, Punched NA, Taylor JA, Thompson RP, Pearson TC. Red cell lipid peroxidation and antioxidant enzymes in iron deficiency. *Eur J Haematol.* 1991;47:287-91.
113. Isler M, Delibas N, Guclu M, Gultekin F, Sutcu R, Bahceci M, et al. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase in erythrocytes of patients with iron deficiency anemia: effects of different treatment modalities. *Croat Med J.* 2002;43:16-9.
114. Jansson LT, Perkkio MV, Willis WT, Refino CJ, Dallman PR. Red cell superoxide dismutase is increased in iron deficiency anemia. *Acta Haematol.* 1985;74:218-21.
115. Kumerova A, Lece A, Skesters A, Silova A, Petuhovs V. Anaemia and antioxidant defence of the red blood cells. *Mater Med Pol.* 1998;30:12-5.
116. Panchenko LF, Lamchingiin T, Gerasimov AM, Sukhanov Iu S, Konoplina LA. [Superoxide dismutase activity in the blood of children with iron deficiency anemia]. *Vopr Med Khim.* 1979;25:181-5.

117. Cellerino R, Guidi G, Perona G. Plasma iron and erythrocytic glutathione peroxidase activity. A possible mechanism for oxidative haemolysis in iron deficiency anemia. *Scand J Haematol.* 1976;17:111-6.
118. Tekin D, Yavuzer S, Tekin M, Akar N, Cin S. Possible effects of antioxidant status on increased platelet aggregation in childhood iron-deficiency anemia. *Pediatr Int.* 2001;43:74-7.
119. Bartal M, Mazor D, Dvilansky A, Meyerstein N. Iron deficiency anemia: recovery from in vitro oxidative stress. *Acta Haematol.* 1993;90:94-8.
120. Demir H. Demir eksikliği anemisinde oral, intramusküler ve intravenöz demir tedavisinin total antioksidan kapasite üzerine etkisi. Elazığ: Fırat Üniversitesi; 2006.
121. Altun D, Kurekci AE, Gursel O, Hacıhamdioglu DO, Kurt I, Aydın A, et al. Malondialdehyde, antioxidant enzymes, and renal tubular functions in children with iron deficiency or iron-deficiency anemia. *Biol Trace Elem Res.* 2014;161:48-56.
122. Kurtoglu E, Ugur A, Baltaci AK, Undar L. Effect of iron supplementation on oxidative stress and antioxidant status in iron-deficiency anemia. *Biol Trace Elem Res.* 2003;96:117-23.
123. Diaz-Castro J, Alferez MJ, Lopez-Aliaga I, Nestares T, Granados S, Barrionuevo M, et al. Influence of nutritional iron deficiency anemia on DNA stability and lipid peroxidation in rats. *Nutrition.* 2008;24:1167-73.
124. Reizenstein P. Iron, free radicals and cancer. *Med Oncol Tumor Pharmacother.* 1991;8:229-33.
125. McAnulty LS, Gropper SS, McAnulty SR, Keith RE. Iron depletion without anemia is not associated with impaired selenium status in college-aged women. *Biol Trace Elem Res.* 2003;91:125-36.
126. Meral A, Tuncel P, Surmen-Gur E, Ozbek R, Ozturk E, Gunay U. Lipid peroxidation and antioxidant status in beta-thalassemia. *Pediatr Hematol Oncol.* 2000;17:687-93.

127. Akca H, Polat A, Koca C. Determination of total oxidative stress and total antioxidant capacity before and after the treatment of iron-deficiency anemia. *J Clin Lab Anal.* 2013;27:227-30.
128. Gropper SS, Kerr S, Barksdale JM. Non-anemic iron deficiency, oral iron supplementation, and oxidative damage in college-aged females. *J Nutr Biochem.* 2003;14:409-15.
129. Kirilin WG, Cai J, Thompson SA, Diaz D, Kavanagh TJ, Jones DP. Glutathione redox potential in response to differentiation and enzyme inducers. *Free Radic Biol Med.* 1999;27:1208-18.
130. Nkabyo YS, Ziegler TR, Gu LH, Watson WH, Jones DP. Glutathione and thioredoxin redox during differentiation in human colon epithelial (Caco-2) cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2002;283:G1352-9.
131. Bektas H, Vural G, Gumusyayla S, Deniz O, Alisik M, Erel O. Dynamic thiol-disulfide homeostasis in acute ischemic stroke patients. *Acta Neurol Belg.* 2016.
132. Ates I, Kaplan M, Yuksel M, Mese D, Alisik M, Erel O, et al. Determination of thiol/disulphide homeostasis in type 1 diabetes mellitus and the factors associated with thiol oxidation. *Endocrine.* 2016;51:47-51.
133. Kundi H, Ates I, Kiziltunc E, Cetin M, Cicekcioglu H, Neselioglu S, et al. A novel oxidative stress marker in acute myocardial infarction; thiol/disulphide homeostasis. *Am J Emerg Med.* 2015;33:1567-71.