



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**SÜT ÇOCUKLARINDA DEMİR PROFİLAKSİNİN OKSİDAN
AKTİVİTE VE DEOKSİRİBONÜKLEİK ASİT ÜZERİNE ETKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. MUSTAFA BİLİCİ

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Ana Bilim Dalı

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. SELİM GÖKÇE

Çocuk Gastroenteroloji Bilim Dalı

İSTANBUL

(2016)

Bu tezin kendi çalışmam olduğunu, planlanmasından yazımına kadar hiçbir aşamasında etik dışı davranışımın olmadığını, tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları kaynaklar listesine aldığımı, tez çalışması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

İmza

İsim ve soy isim

Tarih

TEŞEKKÜR

Hekimlik mesleğinin öğrenilmesi ve uygulanılmasında belki en önemli dönemlerden biri olan uzmanlık eğitiminin sonuna gelmiş bulunuyorum. Zorlu, eğitici, bir çok tecrübe edindiğimiz ve acı tatlı hatıraları ile eğlenceli sayılabilecek bu dönemde bana her türlü bilgi ve tecrübelerini aktaran, insani ve ahlaki yönleriyle örnek olan anabilim dalı başkanımız değerli hocam Prof. Dr. Mehmet Ruşen Dünderöz'e,

Uzmanlık eğitimim boyunca ve tez çalışmam sırasında kendisinden bilgi, tecrübe, insani ve ahlaki olarak çok şey öğrendiğim, değerli fikirleriyle bana yol gösteren, sabırla ve hoşgörüsüyle bilgi ve becerilerini paylaşan, tez danışmanım, değerli hocam Doç. Dr. Selim Gökçe'ye,

Biyokimyasal parametrelerin değerlendirilmesinde ve fikirleriyle desteğini esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Abdurrahim Koçyiğit'e,

Biyokimyasal testlerin çalışılması ve değerlendirilmesinde büyük bir özveri ile çalışan değerli dostum Eray Metin Güler'e,

Uzmanlık tezimin istatistiklerinde benden yardımını esirgemeyen değerli dostum Ali Toprak'a,

Eğitimim boyunca kendilerinden bilgi, tecrübe ve insani olarak çok şey öğrendiğim ve kendileri ile çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm değerli hocalarıma, uzman abi ve ablalarım,

Eğitimim boyunca birlikte çalıştığımız, zor günlerimizde birbirimize destek olduğumuz ve acı tatlı hatıralarımızın olduğu değerli asistan arkadaşlarıma,

Kliniğimizde özverili bir şekilde çalışan tüm hemşire, sekreter ve personellerimize,

İnsani ve ahlaki olarak ilk eğitimimi aldığım, sevgi ve destekleriyle bugüne gelmemde çok büyük katkıları olan değerli aileme,

Evlendiğimiz günden beri her zaman sevgiyle ve sabırla beni destekleyen, kendisiyle hayatın anlamını yeniden keşfettiğim çok kıymetli eşim Cansu'ya çok teşekkür eder, saygılar sunarım.

ÖZET

Amaç: Demir eksikliği tüm dünyada en sık görülen nutrisyonel eksiklik olması nedeni ile bir çok ülkede 4. aydan itibaren demir profilaksisi uygulanmaktadır. Ancak bu uygulama ile demir profilaksisine ihtiyacı olmayan bebeklere de demir profilaksisi verilmektedir. Çalışmamızda demirin gereksiz alımının deoksiribonükleik asit (DNA) ve oksidan sistem üzerine etkisinin araştırılması amaçlanmıştır.

Metod: Ülkemizde "Demir gibi Türkiye" projesi ile 4 aylık tüm bebeklere demir profilaksisi başlanmaktadır. Çalışmamıza 6 ayını doldurmuş sadece anne sütü alan sağlıklı bebekler dahil edildi. Son 2 aydır demir kullanan bebekler 1. grup, çeşitli nedenlerle demir kullanmamış bebekler 2. grubu oluşturdu. Anemi ve kan demir parametreleri, DNA hasarı ve oksidan-antioksidan aktivite seviyesini belirlemek için bebeklerden kan örnekleri alındı. Bebekler demografik faktörler, demir eksikliği, demir eksikliği anemisi, DNA hasarı ve oksidan-antioksidan aktivite düzeyleri yönünden karşılaştırıldı.

Bulgular: Araştırmaya demir profilaksisi alan otuz sekiz, profilaksi almayan yirmi altı vaka dahil edildi. Vakaların 31'i erkek, 33 tanesi kız idi. Başvuru anında 1.grup ile 2. grubun ortalama ağırlıkları (8148±894 gr vs 8173±1024 gr p=0,918), hemoglobin değerleri (11,33±0,789 g/dl vs 11,08±0,966 g/dl p=0,261) ve ferritin (33,1 (7,6-237) ng/ml vs 30,4 (1,8-124) ng/ml p=0,505), demir (45,5 (23-127) ug/dl vs 51,5 (18-124) ug/dl p=0,738), demir bağlama kapasitesi (317,13±44,06 ug/dl vs 337,92±76,84 ug/dl p= 0,228), transferrin (258,36±39,8 mg/dl vs 275,84±61,3 mg/dl p=0,218) değerleri istatistiksel olarak anlamlı değildi. 1. grupta DNA hasarı (41,05 vs 27,78 p=0,000) ve oksidan aktivite seviyesi (12,47 vs 10,75 p=0,000) yüksek saptandı.

Sonuç: Altı aylık bebeklerde demir profilaksisi alımı ile DNA hasarı ve oksidan stresin arttığı görülmektedir. Bu nedenle demir desteğinin demir damlaları yerine diyetin demirden zenginleştirilmesi yoluyla sağlanması daha uygun bir seçenek olabilir.

Anahtar Sözcükler: Demir eksikliği anemisi, Demir profilaksisi, DNA hasarı, Oksidatif stres, Süt çocuğu

ABSTRACT

IRON PROPHYLAXIS INCREASES DNA DAMAGE AND OXIDATIVE STRESS AT 6 MONTHS AGE.

Objective: Many countries start iron prophylaxis for all infants at 4 months of age. However, some infants may not need iron prophylaxis. This study aimed to investigate the effects of iron prophylaxis on deoxyribonucleic acid (DNA) and oxidant system.

Methods: In our country, all infants start iron prophylaxis at 4 months old according to the "Iron-like Turkey" project. Infants at 6 months of age are included in the study. Group 1 was composed of infants under iron prophylaxis. Infants not under iron prophylaxis are enrolled in Group 2. Groups are compared in respect to epidemiologic features, anemia indices, iron parameters, DNA damage and oxidant-antioxidant activity.

Results: Thirty-eight infants received iron prophylaxis and twenty-six infants did not receive iron prophylaxis. Thirty-one were male and thirty three were female. The average weight did not differ between groups (8148±894 gr vs 8173±1024 gr p=0,918). Hemoglobin and blood iron levels did not differ between groups. Hemoglobin (11,33±0,789 g/dl vs 11,08±0,966 g/dl p=0,261), ferritin (33,1 (7,6-237) ng/ml vs 30,4 (1,8-124) ng/ml p=0,505), blood iron level (45,5 (23-127) ug/dl vs 51,5 (18-124) ug/dl p=0,738), iron binding capacity (317,13±44,06 ug/dl vs 337,92±76,84 ug/dl p= 0,228), transferrin (258,36±39,8 mg/dl vs 275,84±61,3 mg/dl p=0,218). Compared to Group 2, Group 1 had significantly higher DNA damage (41.05 vs 27.78 p = 0.000) and oxidant activity (12.47 vs 10.75 p = 0.000)

Conclusion: Iron prophylaxis results in significant DNA damage and oxidative stress in six month old infants. Dietary enrichment of iron instead of iron drops may be a more appropriate option for iron supply.

Key Words: DNA damage, Infant, Iron deficiency anemia, Iron prophylaxis, Oxidative stress

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET.....	ii
ABSTRACT.....	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİL LİSTESİ.....	v
TABLO LİSTESİ.....	vi
RESİM LİSTESİ	vii
EKLER.....	viii
KISALTMALAR	ix
1- GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2- GENEL BİLGİLER	4
2.1 Demir.....	4
2.1.1 Demirin Fonksiyonları	4
2.1.2 Demir emilimi	5
2.1.3 Demirin hücrelere taşınması ve depolanması.....	7
2.1.4 Demir regülasyonu	8
2.2 Demir ve oksidatif stres.....	10
2.3 Süt çocuklarında demir eksikliği ve demir gereksinimi	11
3-ARAŞTIRMA AMAÇLARI, YÖNTEM VE MATERYAL-METOD.....	15
3.1 Araştırmanın Amaçları.....	15
3.2 Grupların Oluşturulması.....	16
3.3 Çalışma Yöntemi.....	17
3.4 Materyal-Metod.....	17
3.4.1 Comet Assay (alkali mononükleer hücre elektroforezi) Yöntemi ile DNA Hasar Tayini ...	18
3.4.2 Total Antioksidan Seviye (TAS).....	20
3.4.3 Total Oksidan Seviye (TOS)	20
4- BULGULAR.....	22
4.1 Çalışmaya dahil edilen vakaların genel özellikleri.....	22
4.2 Demir profilaksisi alan grup ile demir profilaksisi almayan grubun karşılaştırılması	23
5- TARTIŞMA	28
6- KAYNAKÇA.....	35

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1: Okul öncesi çocuklarda anemi prevalansı

Şekil 2: Neonatal dönemde demir emilimi

Şekil 3: Demirin plasmaya taşınması

Şekil 4: Hepsidinin düzenlenmesi

Şekil 5: Anne eğitim durumu

Şekil 6: Ailelerin aylık gelir düzeyleri

Şekil 7: Yan etki profili

TABLO LİSTESİ

Tablo 1: Demirin işlevleri

Tablo 2: Demir eksikliği klinik bulguları

Tablo 3: Demir eksikliğinde etyoloji

Tablo 4: Boy - Kilo - Baş Çevresi parametreleri

Tablo 5: Demir + ve Demir - gruplarda hemogram ve kan demir depolarının karşılaştırılması

Tablo 6: Demir + ve Demir - vakaların DNA hasarı, Oksidan-Antioksidan Aktivite değerlerinin karşılaştırılması

Tablo 7: DNA hasarı ile oksidan-antioksidan seviye arasında korelasyon analizi

Tablo 8: Demir eksikliği saptanan vakaların DNA hasarı ve oksidan-antioksidan seviyelerinin karşılaştırılması

Tablo 9: Demir + grupta yan etki varlığının DNA hasarı ve oksidan-antioksidan aktivite üzerine etkisi

RESİM LİSTESİ

Resim 1: Comet assay tekniği ile DNA hasarlarının kuyruklu yıldız görüntüleri

EKLER

Ek-1: Anket

KISALTMALAR

AAP : American Academy of Pediatrics (Amerika Pediatri Akademisi)

DcytB : Duodenal sitokrom B

DEA : Demir eksikliği anemisi

DMT-1: Divalent Metal Transporter 1

DSÖ : Dünya Sağlık Örgütü

ESPGHAN: The European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition (Avrupa Pediatrik Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Topluluğu)

Fe : Demir

IRE : Iron-response elements

IRP : Iron-response proteins

NTBI : Non Transferrin Bound Iron

OSİ :Oksidatif Stres İndeksi

TAS : Total Antioksidan Seviye

TfR : Transferrin reseptörü

TOS :Total Oksidan Seviye

1- GİRİŞ VE AMAÇ

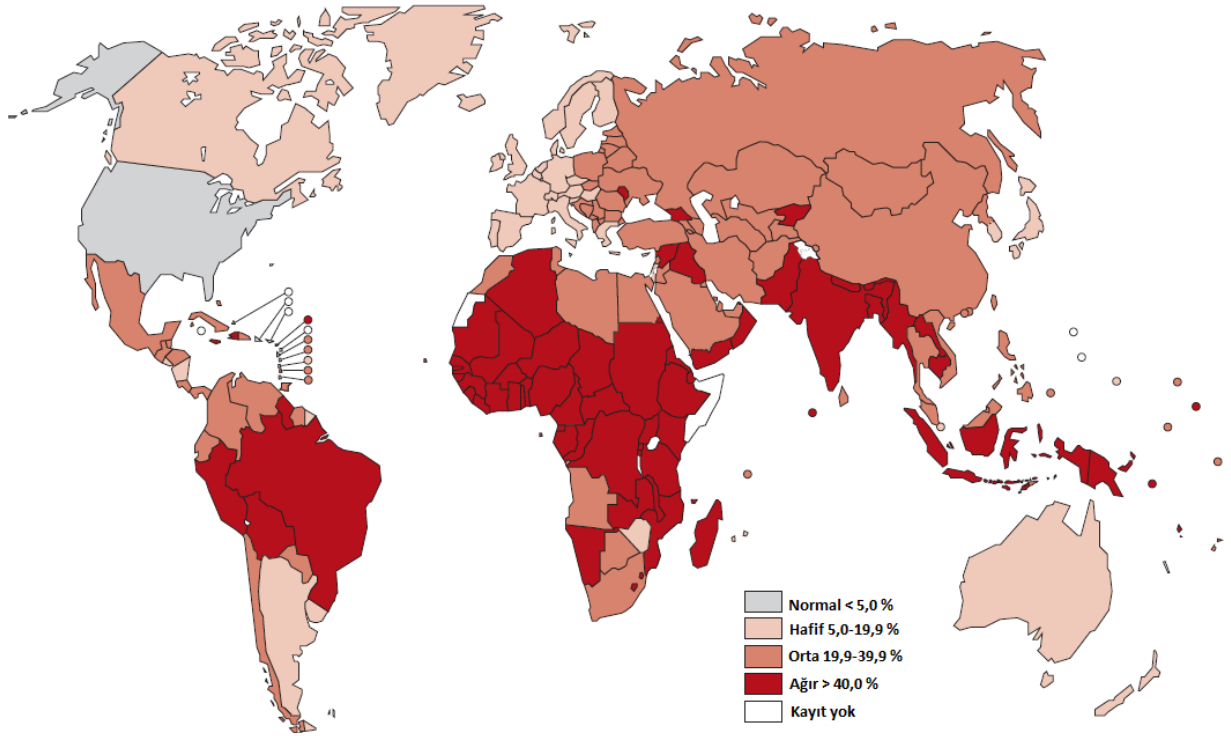
Demir dünyada en yaygın bulunan element olmasına karşın, eksikliği en sık görülen nutrisyonel besin maddesidir ve özellikle gelişmekte olan ülkelerde önemli bir halk sağlığı sorunudur. Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) 2008 de yayınladığı rapora göre tüm dünyada anemi prevalansı okul öncesi çocuklarda % 47.4, okul çağı çocuklarında, %25.4, hamile bayanlarda %41.8, hamile olmayan bayanlarda %30.2 saptanmıştır. DSÖ'ye göre bir toplumda demir eksikliği anemisi prevalansı \leq % 4.9 ise sorun yoktur; %5.0-19.9 arasında ise hafif, %20.0-39.9 arasında ise orta, \geq % 40.0 ise ağır bir halk sağlığı sorunu olarak değerlendirilmektedir. Okul öncesi çocuklarda anemi prevalansı ülkelere göre değerlendirildiğinde Afrika'da %67,6 Amerika'da %29,3 Güney-Doğu Asya'da %65,5 Avrupa'da %21,7 Akdeniz'in doğusunda %46,7 Pasifik batısında ise %23,1 dir. Ülkemizde ise bu oran % 32,6 dır (Şekil 1) [1]. Özellikle gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde anemi prevalansı daha yüksektir.

Bir yeni doğan bebek 37 ile 42. gestasyon haftasında 2500 ile 4000 gr ağırlığında doğmuş ise sağlıklı term bir bebek olarak değerlendirilir. Sağlıklı bir bebeğin büyümesi boy, kilo ve baş çevresinin yaşa uygun büyüme eğrileri yardımı ile izlenir. Bu büyüme bebeğin endojen besin deposuna ve dışarıdan alınan anne sütü veya formüla mama ile beslenmesine bağlıdır. Dünya Sağlık Örgütü'nün önerisiyle ilk 6 ay sadece anne sütü ile bebeğin beslenmesi büyüme ve gelişme için yeterlidir [1].

Demir; protein sentezi, oksijen taşınması, elektron transportu, hücre solunumu ve pek çok enzimin yapı ve işlevinde görev alan, yaşam için çok önemli bir besin ögesidir. Eksikliğinde sadece anemi değil, iştahsızlık, halsizlik, sık hastalanma, sinir sistemi işlevlerinde bozukluklar, psikomotor gelişimde gerilik gibi bir çok klinik tablo ortaya çıkabilir [2]. Demir kullanımına bağlı ise halsizlik, iştahsızlık, kabızlık, ishal, aşırı gaz ve huzursuzluk gibi yan etkiler görülebileceği gibi demir eksikliği olmamasına karşın gereksiz olarak demir alınması ile de serbest radikaller oluşabileceği ve bu serbest radikallerin lipid yapı, protein ve DNA'da hasar geliştirerek hücre apoptozisini tetikleyebildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur [3, 4].

Ülkemizde demir eksikliği anemi prevalansı % 32.6 ile orta seviyededir [1]. Bunda anne sütünün DSÖ'nün önerisi doğrultusunda 6 ay boyunca kullanılmaması, 6. aydan sonra demirden zengin ve biyoyararlanımı yüksek kırmızı et gibi tamamlayıcı beslenmeye geçilememesi, çocuk beslenmesinde demir emilimini engelleyen çay ve fitat içeren besinlerin tüketimi gibi diyetle ilişkili faktörler ve doğumda demir depolarının yetersiz olması (düşük doğum ağırlığı, doğumda plasental kan geçişi tamamlanmadan umbilikal korda müdahale nedeniyle) gibi faktörler rol oynamaktadır [5].

Şekil 1: Okul öncesi çocuklarda anemi prevalansı



Gelişmekte olan bir ülke olmamız ve demir eksikliğinin sık görülmesi nedeni ile sağlık bakanlığı tarafından 2004 yılında "Demir gibi Türkiye Projesi Genelgesi" hayata geçirilmiştir. Bu genelge ile toplumun demir yetersizliği konusunda bilinçlendirilmesi, bebeklerin ilk 6 ay anne sütü almasının ve 6. Ayın sonunda uygun ve yeterli miktarda ek besine geçilerek, emzirmenin 2 yaşına kadar sürdürülmesi, 4-12 ay arası her bebeğe profilaktik amaçlı ücretsiz demir desteği sağlanması, 13-24 ay arası anemisi olan bebeklere demir tedavisi verilmesi amaçlanmıştır [6]. Gelişmiş ülkelerde demir eksikliği daha az görülmektedir. Bu ülkeler için Avrupa Pediatrik Gastroenteroloji, Hepatoloji ve Beslenme Topuluğu'nun (ESPGHAN) önerisi şu şekildedir. Süt çocuklarında herhangi bir sağlık problemleri yok ve anne sütü ile besleniyorlarsa demir profilaksisine gerek olmadığı ve 6. aydan itibaren demirden zengin

tamamlayıcı beslenme önerilmektedir. Formula ile beslenen ya da düşük doğum ağırlıklı olan çocukların ise diyetlerinde demir desteği önerilmektedir [7].

Gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerde demir desteğine ihtiyacı olmayan, ancak profilaksi amaçlı demir desteği alan sağlıklı bebeklerin bu durumdan nasıl etkilendiği bilinmemektedir. Bu çalışma tıbbi olarak demir desteğinin oksidan aktivitede artışa ve DNA hasarına neden olabileceği ve demir desteğinin tıbbi olarak değil diyetin düzenlemesi ile verilmesinin daha uygun olabileceği hipotezine dayanarak planlanmıştır. Bu çalışmada anne sütü alan 6 aylık sağlıklı bebekler demir desteği alma durumuna göre ikiye ayrıldı. Dört aylık iken demir desteği alan sağlıklı bebekler ile demir desteği başlanmamış sağlıklı bebeklerin kan demir depoları, oksidan aktivite düzeyleri ve DNA hasar miktarları karşılaştırılmıştır.

2- GENEL BİLGİLER

2.1 Demir

Demir insan vücudunda en yaygın bulunan elementtir ve $Fe^{+2} \leftrightarrow Fe^{+3}$ şeklinde çift yönlü redoks aktivitesi nedeniyle bir çok metabolik olayda demir önemli rol oynar. Hücelere oksijen transportunun sağlanması, enerji metabolizması ve DNA sentezi gibi yaşamsal işlevlerin hemen tümünde kullanılır. Merkezi sinir sisteminin gelişiminde, sinir hücresi miyelinizasyonu, sinir hücrelerinin farklılaşması ve enerji metabolizması ile nörotransmitter fonksiyonlarında rol alır. Bununla birlikte uygun şartlar oluştuğunda (serbest demir oluşması, aerobik ortam) demirin toksik etkileri gelişir, serbest radikaller oluşur ve hücre ölümü, DNA hasarı gibi etkiler ortaya çıkabilir [8]. Bu nedenle demirin vücuttaki dengesi çok iyi şekilde düzenlenmelidir.

2.1.1 Demirin Fonksiyonları

Demir vücudumuzda birçok metabolik olayda rol almaktadır.

- Eritrosit içerisinde hemoglobin yapısında bulunarak tüm vücuda oksijen taşınmasında rol alır.
- Myoglobin içerisinde bulunarak kas içerisinde oksijen depolanmasını sağlar.
- Demir-sülfür kompleksi içinde yer alarak mitokondriyal solunumda enerji üretilmesinde ve elektron transferinde rol alır.
- DNA sentezi esnasında ribonükleotid redüktaz fonksiyonu için zorunlu olarak bulunması gerekir.

Tablo 1'de demirin işlevleri görülmektedir [9].

Erişkin insan vücudu toplamda 3-4 gr kadar demir içerir. Tüm vücuttaki demirin %60-70 kadarı (2 - 3 gr) hemoglobin yapısında, %10'u myoglobin yapısında, %20-30 kadarı depo olarak karaciğer ve makrofajlarda bulunur. Kalan %1 i demir içeren enzim yapısında ve ancak %0.2 si plazma transport havuzunda (transferrin) bulunur [9].

Tablo 1: Demirin işlevleri

<i>Demir içeren protein</i>	<i>İşlevleri</i>
Hem Proteinleri	
Hemoglobin	Oksijenin taşınması
Myoglobin	Oksijen depolanması
Hem Enzimleri	
Sitokrom a, b, c	Solunum zincirinde elektron transferi
Sitokrom C oksidaz	Mikrozomal işlevler
Sitokrom P450 + b5	Ksenobiyotiklerin Faz1 biyotransformasyonu
Dcytb	Duodenal enterositlerdeki ferreredüktaz yapısında yer alır
Katalaz	Hidrojen peroksit yıkımında görevli
Peroksidaz	Peroksit yıkımında görevli
Myeloperoksidaz	Nötrofillerin bakteriyosit etkisinde görevli
Sulfite oxidase	Sülfitin sülfata döngüsünde görevli
Triptofan 2,3-dioksijenaz	Piridin metabolizmasında görevli
İyodaz (iyodoperoksidaz)	İyot döngüsünde görevli (Tiroid)
Hem Dışı Demir Enzimleri	
Ribonükleotid redüktaz	DNA sentezi
Demir Sülfür Proteinleri	
Akonitaz İzositrat Dehidrogenaz Süksinat Dehidrogenaz NADH Dehidrogenaz	Oksidatif fosforilasyon ve sitrik asit döngünde görev alır.
Aldehit Oksidaz Ksantin Oksidaz	Aldehitin karboksilik asite döngüsünde görevlidir. Hipoksantin-ürük asit döngüsünde görevlidir.
Fenilalanin Hidroksilaz Tirozin Hidroksilaz Triptofan Hidroksilaz	Katekolamin, nörotransmitter ve melanin sentezinde görevlidir
Pirolil Hidroksilaz Lizil Hidroksilaz	Kollajen sentezinde görev alır

2.1.2 Demir emilimi

Doğada en yaygın element olan demir, emilimi düşük olduğu için eksikliği en sık görülen besin maddesidir. Vegetaryen diyet ile beslenenlerde demir kompleks bir yapıdadır, çözünmez ve emilimi zayıftır. Et, kümes hayvanları ve balıklardan alınan demirin emilimi ise yüksektir.

Diyette demir hem ve non-hem olmak üzere iki farklı formda bulunur [10]. Besinlerle alınan demirin %90 kadarı non-hem demiridir. Non-hem demirin ancak %5'i emilir ve

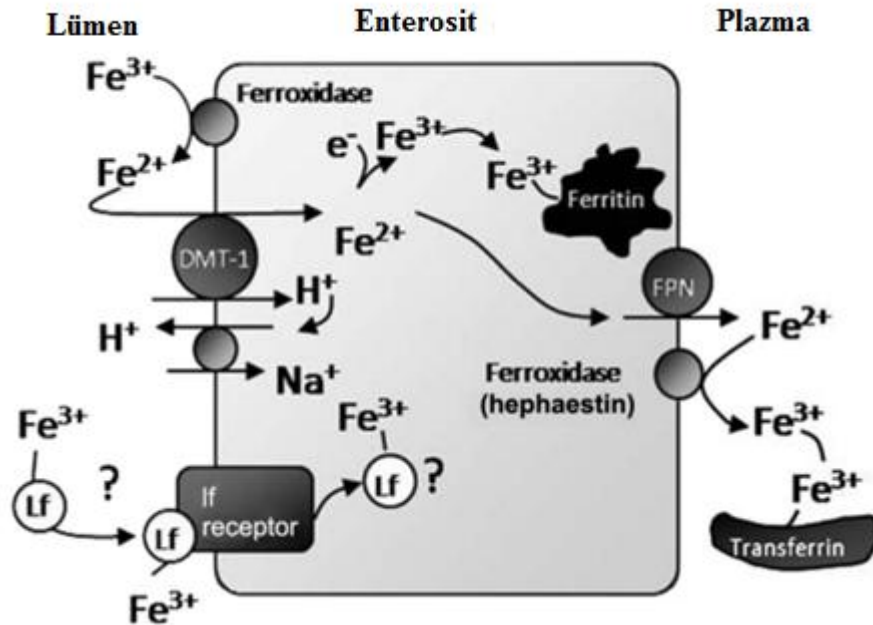
non-hem demir gıdalarda Fe^{+3} kompleksler şeklinde bulunur, emilimi diyetteki faktörlerden ve kişinin vücudundaki demir durumundan etkilenir. Hem demiri ise yüksek emilim oranına sahip olup, diyetteki faktörlerden daha az etkilenir. Hem demiri diyetle alınan demirin %10 kadarıdır, ette bulunur ve yaklaşık %25-%30 u emilir [11].

Non-hem demir çoğunlukla Fe^{+3} formundadır ve enterositlerden **DMT-1** (Divalent Metal Transporter 1) protein aracılığı ile emilir. DMT-1 enterositlerin fırçalı kenarında bulunan transmembran protein içeren bir integral proteindir (12 domain bulunur). Demirin emilebilmesi için Fe^{+2} formunda olması gerekmektedir. Duodenal enterositlerin apikal yüzeyinde bulunan **duodenal sitokrom B (DcytB)** enzimi ile (**ferriredüktaz aktivitesi** ile) Fe^{+3} formu Fe^{+2} formuna dönüştürülür ve DMT-1 aracılığı ile emilir (Şekil 2) [12].

Hem demiri Fe^{+2} formdadır ve duodenuma geldiğinde henüz tam olarak tanımlanamayan ayrı bir reseptör aracılığı ile (**heme transporter**) enterosit içine alınır ve daha sonra **hem oksijenaz** enzimi ile serbestleşir [10].

Anne sütü alan bebeklerde ise durumun biraz daha farklı geliştiği ileri sürülmektedir. Anne sütü non-heme demir içerir. Non-heme demir DMT-1 aracılığı ile enterosit içine alındığı gibi laktoferrin bağlayan ayrı bir reseptör aracılığı ile de enterosit içine alınabilmektedir (Şekil 2) [13].

Şekil 2: Neonatal dönemde demir emilimi



Kaynak: Collard KJ: **Iron homeostasis in the neonate.** *Pediatrics* 2009, **123**(4):1208-1216

Demir enterosit içine alındıktan sonra ya enterositin bazolateral membranına ulaşır dolaşım yoluyla vücuda alınır ya da enterosit içinde depolanır. Vücutta demire ihtiyaç olduğu durumda enterosit içindeki demir ferroportin proteini aracılığı ile dolaşıma geçer. Ancak demirin plasmada taşınabilmesi için Fe^{+2} formundan Fe^{+3} formuna çevrilmesi gerekmektedir. Bu dönüşüm **hephaestin** ve **seruloplasmin** proteinleri aracılığı ile ve **ferrooksidaz aktivitesi** ile sağlanır. (Şekil 2) Oluşan Fe^{+3} transferrine bağlanarak dolaşıma geçer ve plazmada taşınır. Enterosit hücreleri 2-5 gün içinde yenilenir. Bu hücreler içindeki demir de enterosit hücreleri ile birlikte epitelyal yüzeylerin deskuamasyonu ile günde 1-2 mg şeklinde kaybedilir, içerdikleri demir plasmaya geri emilemez [14].

2.1.3 Demirin hücrelere taşınması ve depolanması

Çok düşük miktarda serbest demir bile vücudumuz için toksiktir. Bu sebeple demirin taşınması ve depolanmasında birbirinden farklı proteinler görev alır.

Transferrin proteini, apotransferrin olarak hepatositlerde sentezlenir, 2 demir atomu bağlama bölgesi bulunur ve yalnızca Fe^{+3} iyonu ile bağlanır. Toplam vücut demirinin ancak % 0.1'i plazmada bulunur ve tamamına yakını transferrine bağlıdır. Apotransferrin- Fe^{+3} kompleksi transferrin olarak adlandırılır ve bikarbonat varlığında demir ile bağlanabilir. Bağırsaklardan emilen demirin kemik iliği, karaciğer ve diğer tüm gerekli dokulara taşınmasından sorumludur. Hedef dokuya transferin reseptör aracılı endositozla hücre içine alınır, lizozom ile birleşir ve asit pH da demir transferrinden ayrılır. Geriye kalan apotransferrin-reseptör kompleksi hücre membranına geri döner. Apotransferrin yeniden plazmaya karışarak demir bağlamak üzere dolaşıma katılır. Transferrin reseptörü ise hücre membranındaki yerini alır. Normalde transferrin proteini demir bağlama kapasitesinin %30'u ile demire bağlanmıştır [9, 15]. Transferrinin hücre yüzeyinde bağlandığı iki reseptör **TfR1** ve **TfR2** dir. TfR1 tüm hücre yüzeylerinde bulunur ve transferrinin hücre içine alınmasından sorumludur. TfR2 ise hepatositlerde bulunur, transferrin saturasyonu için bir sensör görevi görmektedir ve hepsidini kontrol ederek demir metabolizmasını düzenler [16, 17].

Ferritin; demirin hücre içinde depolandığı proteindir. Dış yüzünde bir kılıf, iç kısmında $(FeOOH)_n$ çekirdeği olan bir moleküldür. Dış yüzündeki kılıfın Fe^{+2} iyonlarının geçişi için gözenekleri mevcuttur. Ferritin içine giren Fe^{+2} iyonu $FeOOH$ ile oksitlenerek Fe^{+3} e dönüşür ve çekirdeğe eklenir. Bir ferritin molekülü 3000-4500 kadar demir atomu bağlayabilir. Diğer

bir depo demiri ise **hemosiderin**dir. Hemosiderindeki demir/protein oranı, ferritinden yüksektir ancak içindeki demirin kullanılabilirliği, ferritinden çok daha azdır. Aşırı demir depolanması ile seyreden hastalıklarda hemosiderin miktarı artmaktadır [9, 15].

2.1.4 Demir regülasyonu

Plazma demirinin temel iki kaynağı mukozal emilim ile gerçekleşen diyet demiri ve yaşlanmış eritrositlerden ortaya çıkan ve yeniden kullanılan demirdir. Bağırsaklarda gerçekleşen mukozal emilim en önemli regülasyon mekanizmasıdır. Emilimin bu hücresel düzeydeki kontrolü demir depolarının durumu, transferrin doygunluğu ve karaciğerden salgılanan hepsidin etkisi ile olmaktadır [18].

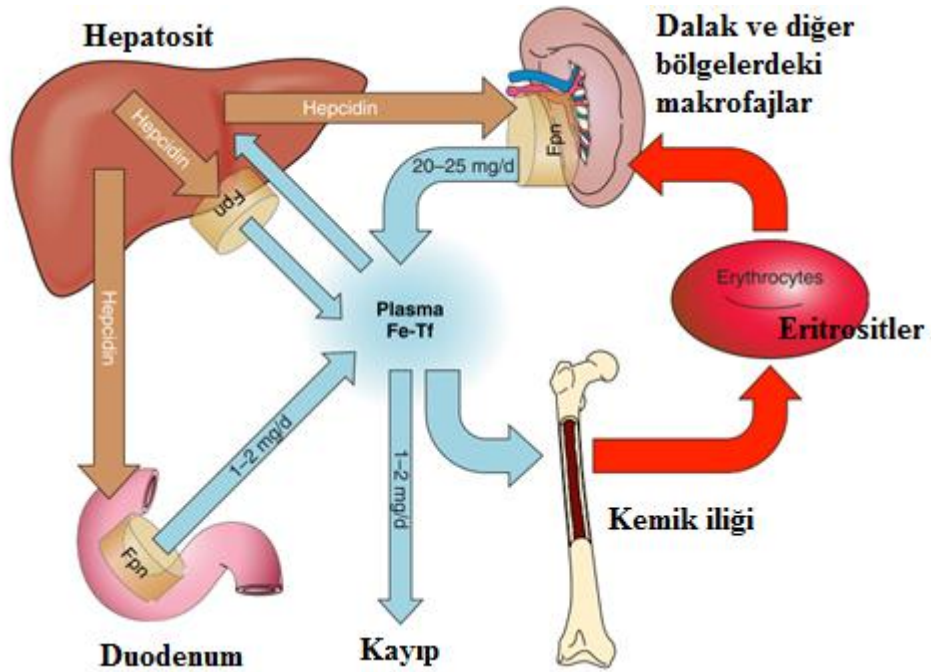
Enterositlerden dolaşıma geçen demir transferrin ile taşınır. Transferrinin normalde %30 u demir ile bağlanmıştır. Toplam vücut demiri, transferrin doygunluğu ile algılanır ve hücre düzeyinde regülasyon sağlanır. Transferrinin hücre içine alınması demir metabolizması ile ilişkili proteinlerin posttranslasyonel düzenlenmesi ile gerçekleşir. Bu posttranslasyonel düzenlemeler demir yanıt proteinleri (iron-response proteins, IRP) ve demir yanıt elemanları ile (iron-response elements, IRE) gerçekleştirilir. IRE'ler ferritin ve transferrin reseptörlerinin mRNA yapısında bulunur ve IRP'ler için bağlanma bölgesi içerir. Bu proteinlerin yapısında bulunan Fe-S bileşikleri hücre içi demir düzeylerine duyarlıdır. Hücre içi demir düzeyi azaldığında IRP'ler ferritin ve TfR üzerindeki IRE'lere bağlanır ve ferritin translasyonunu baskılar, TfR sentezi artar ve böylece hücre içine demir girişi artar. Ayrıca IRE'ler ferritin, ALAS2, mitokondriyal akonitaz, ferroportin, HIF-2 α , β -APP, α -synuclein, TfR1, DMT1, Cdc14A, MRCK α gibi demir düzenleyici veya hücresel birçok yolağın mRNA yapısında bulunurlar [8, 15].

TfR2 hepatositlerde transferrin saturasyonunu algılayan bir reseptördür ve hepsidin salgılanmasını düzenler. Kanda transferrinin doygunluğu arttığında TfR2 uyarılır ve hepsidin sentezi artar [17, 19]. **Hepsidin** sentezi plazma demir düzeylerinin ve dokulardaki demir depolarının artışı ile uyarılır ve net etkisi plazmaya demir salınımını azaltmaktır. Etkisini duodenal enterosit, makrofaj, hepatosit ve plasental sinsityotrofoblast hücrelerindeki ferroportin aracılığı ile gerçekleştirir [19, 20]. **Ferroportin** enterosit, makrofaj, hepatosit ve plasental sinsityotrofoblast hücrelerinden demir çıkışını sağlayan en önemli proteindir.

Hepsidin ile uyarıldığında hücre duvarındaki ferroportin proteini azalır ve plazmaya demir salınımı azaltılmış olur (Şekil 3) [14, 18].

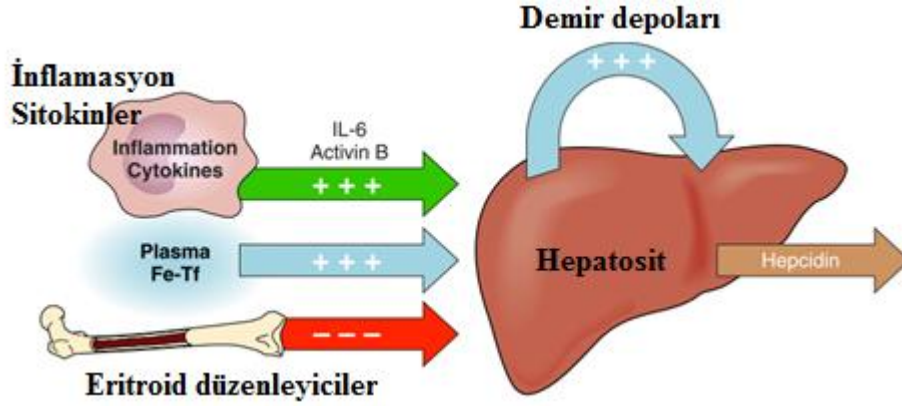
Hepsidin aynı zamanda bir akut faz reaktanıdır, plazma düzeyleri bakteriyel lipopolisakkarit ve sitokin salgılanması (özellikle IL-6) gibi faktörlere yanıt olarak artabilir. Anemi ve hipoksi gibi durumlarda ise hepsidin sentezi baskılanır, hepsidin enterositlerden ve makrofajlardan demir salınımını engelleyen etkisi ortadan kalkar, daha fazla demir dolaşıma geçer ve eritropoez için kullanılır (Şekil 4) [14, 19, 20].

Şekil 3: Demirin plasmaya taşınması



Kaynak: Ganz T: **Systemic iron homeostasis**. *Physiological reviews* 2013, **93**(4):1721-1741

Şekil 4: Hepsidin düzenlenmesi



Kaynak: Ganz T: **Systemic iron homeostasis**. *Physiological reviews* 2013, **93**(4):1721-1741

2.2 Demir ve oksidatif stres

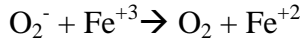
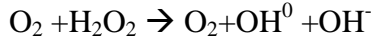
Organizmanın oksidan-antioksidan dengesinin korunması sağlıklı yaşam için çok önemli ve gereklidir. Serbest radikaller; dış orbitalinde paylaşılmamış bir elektron taşıyan bileşiklerdir. Kararsız yapı gösteren bu bileşikler çevresindeki moleküllerle iletişime geçmek ve onlardan elektron alarak bir an önce kararlı hale geçmek isterler. Bu radikallerin büyük kısmı oksijen ve azot kaynaklıdır ve organizmada çeşitli metabolik reaksiyonlar (mikrozomal karma fonksiyonlu oksidaz sistemi, sitoplazmik ksantin oksidaz, hücre membranına bağlı NADPH oksidaz ve lipooksijenazlar), radyasyon, ilaçlar, zararlı kimyasallar vb. etkisi ile oluşurlar ve hidroksil HO^{\cdot} , superoksit $O_2^{\cdot-}$, hidrojen peroksit H_2O_2 , hipoklorid asit $HOCl$ gibi reaktif bileşikler ortaya çıkar [15].

Oluşan bu oksidan etkiye karşılık, radikal oluşumunu sınırlandıran, ortadan kaldıran, hasarlı molekülleri onaran ve temizleyen bir antioksidan sistem vardır. Superoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz, C vitamini, E vitamini ve ürik asit antioksidanlara örnek olarak verilebilir [15].

Serbest radikaller reaktif yapıları nedeniyle başta lipitler, proteinler ve nükleik asitler olmak üzere tüm hücre bileşenleri ile etkileşip onlara zarar verebilmektedirler [15].

Sağlıklı insanlarda demir plazmada transferrine bağlı olarak taşınır ve ferritin olarak depolanır. Ferritinin depolayabileceği miktar aşıldığında lizozomlarda denaturasyona uğrar ve hemosiderin olarak depolanır ve bu esnada Fe^{+2} açığa çıkar. Transferrin doygunluğa ulaşmış olduğu için plazmaya çıkan bu demire transferine bağlı olmayan demir (NTBI; Non

Transferrin Bound Iron) denir [4]. NTBI'nın Fe^{+2} ve Fe^{+3} durumlarında geri dönüşümlü elektron alışverişi yapabilme özelliği vardır ve demire bir redoks katalisti gibi çalışma imkanı sağlamaktadır. Bu da toksisitenin ana nedenidir. Fe^{+2} iyonunun serbest radikaller ile etkileşime girmesi Fenton reaksiyonu ve Haber-Weiss reaksiyonu olarak bilinir [21].



Oluşan bu serbest radikaller hücre içerisinde ve zarında bulunan protein, lipit, lipoproteinler, nükleoproteinler, nükleik asitler, karbonhidratlar ve diğer hücresel yapılara toksik etki gösterebilirler, hücre ölümünü tetikleyebilirler [3, 21].

2.3 Süt çocuklarında demir eksikliği ve demir gereksinimi

Demir eksikliği normal fizyolojik fonksiyonları yerine getirmek için yeterli miktarda demir olmaması durumudur. Hemoglobin oluşumunu engellemeyecek bir eksikliklerdir. Demir eksikliği anemisi ise demir eksikliği sonucu gelişen ve hemoglobin değerinin normalin alt sınırının 2 standart sapma (SS) altında olması durumudur. Demir süt çocuklarında motor ve bilişsel gelişim için gerekli bir mikrobesindir. Erken çocuk beslenmesinde nörokognitif fonksiyonların gelişebilmesi için diyetle yeterli miktarda bulunması önerilmektedir. Beyin dokusunda demir kullanımı mikrodamarların endotelial yüzeylerindeki transferrin reseptörleri ile olmakta, hızlı beyin büyümesi ve miyelogenezisin doruğa ulaştığı dönemlerde bu kullanım artmaktadır [5]. Myelin oluşumundan sorumlu pek çok hücre ve metabolik fonksiyon için (dopamin, serotonin, katekolamin ve muhtemelen γ -aminobutirik asit sentezi) kullanılır [22]. Demir eksikliği anemisi olan çocukların yaşlıları ile kıyaslandığında gelişimlerinin daha geri olduğu, daha geç yürüdüğü gösterilmiştir [23, 24]. Demir eksikliği anemisine ilerlememiş ancak demir eksikliği bulunan çocuklarda da mental ve motor işlevlerde bozulmaya neden olabileceği ve etkilerin kalıcı olabileceği söylenmektedir [2].

Demir eksikliği birçok sistemi etkileyen klinik bulgulara yol açabilmektedir. Süt çocuklarında mental-motor gerilik ve anemi en sık bulgulardır. Tablo 2'de demir eksikliği sonucu gelişen klinik bulgular görülmektedir [2].

Tablo 2: Demir eksikliği klinik bulguları

Cilt	İmmünite bozuklukları
Solukluk	Enfeksiyonlara karşı azalmış direnç
Tırnaklar	T lenfosit ve polimorf nüveli lökosit işlev bozukluğu
Kaşık tırnak	Merkezi sinir sistemi
Kas ve iskelet sistemi	İritabilite-halsizlik
Efor kapasitesinde azalma	Bayılma
Egzersiz kısıtlılığı	Papil ödemi
	Psödotümör serebri
Kalp ve damar sistem	6. sinir felci
Kalp debisinde artış	Huzursuz bacak sendromu
Taşikardi	Katılma nöbeti
Kardiyomegali	Uyku bozukluğu
Kalp yetersizliği	Dikkat eksikliği
	Öğrenme güçlüğü
Sindirim sistemi	Davranış bozukluğu
İştahsızlık	Algılama işlevlerinde azalma
Angüler stomatit	Motor ve mental gelişme testlerinde gerilik
Atrofik glosit	
Yutma güçlüğü	Ağır metal emiliminde artış
Pika	Kurşun zehirlenmesi
Glutene duyarlı enteropati	
Plummer-Vinson sendromu	

demir, demir depolarına taşınır. İzleyen aylarda bebeğin büyümesi ile kan hacmi artar ve demir eritrosit sentezi için kullanılır. Bebek doğum kilosunun iki katına ulaşınca kadar demir depoları yeterli gelecektir ve bu durum zamanında doğan sağlıklı bebekler için 4-6 ay arasına denk gelmektedir [26]. Bu ilk 6 aylık dönemde anne sütünün demir içeriği 0.3 mg/L gibi düşük bir değer olmasına rağmen bebeğin demir ihtiyacını karşılamaktadır [7]. Diğer taraftan 6-24 ay arası dönem demir desteğine ihtiyacın en fazla olduğu dönemdir [7]. Eğer sadece anne sütü ile beslenme 9 aylık döneme kadar devam ederse demir eksikliği anemisi gelişme riski oldukça artar [27].

Sağlıklı bebeklere demir desteği için AAP (America Academy of Pediatrics) ve ESPGHAN'ın önerisi birbirinden biraz farklıdır. AAP zamanında doğmuş normal kilolu, sadece anne sütü ile beslenen 4. ayına ulaşmış her bebeğe günde 1 mg/kg elementer demir

Etyolojide çeşitli faktörler suçlansa da, ülkemizde ve gelişmekte olan ülkelerde çocuklarda demir eksikliği anemisinin en sık nedenleri hızlı büyüme ile birlikte yetersiz alım, düşük doğum ağırlığı ve fazla miktarda inek sütüne bağlı sindirim sistemi kayıplardır [2]. Tablo 3'de demir eksikliğine yol açan etyolojik faktörler sınıflanmıştır [25].

Süt çocuklarında demir desteği için dünyada ortak bir görüş ve öneri yoktur. Bebekler anne karnındayken atmosfere kıyasla daha hipoksik bir ortamda olduklarından, kilolarına kıyasla daha yüksek kan hacmine ve hemoglobin değerine sahiptirler. Doğumda 17 g/dL olan hemoglobin değeri 6. haftada 12 g/dL ye kadar düşmektedir. Yaşlanan eritrositlerin parçalanması ile hemoglobin içerisindeki

profilaksisi başlanmasını önermektedir [27]. ESPGHAN ise demir eksikliği sıklığının düşük olduğu ülkelerde, zamanında doğan normal kilolu ve sadece anne sütü ile beslenen bebeklere demir profilaksisinin 6. aya kadar gerekli olmadığını, 6. aydan sonra ise demirden zengin beslenmenin mutlaka gerekli olduğunu vurgulamaktadır [7].

Tablo 3: Demir eksikliğinde etyoloji

<p><i>I-Artmış demir gereksinimi</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Süt çocukluğu dönemi - Düşük doğum ağırlıklı bebekler - Prematüreler - İkiz, üçüz gebelikler - Ergenlik dönemi - Siyanotik konjenital kalp hastalıkları 	<p>B-Postnatal dönem</p> <p>1. Gastrointestinal sistem</p> <ul style="list-style-type: none"> -Mide-barsak kanalındaki kanamalar - İnek sütü alerjisi - İntestinal parazitler - Salisilat alımına bağlı gastritler - Anatomik lezyonlar (Meckel divertikülü, polip veya hemanjiomlar)
<p><i>II-Diyete bağlı alım azlığı</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Diyetteki demirin biyoyararlanımının düşük olması - Erken inek sütü alımı - Katı gıdalara erken geçilmesi - C vitamininin yetersiz alınması - Kırmızı etin az tüketilmesi - Fazla tanin ve fitat alımı - Anne sütünün 6 aydan sonra da tek başına kullanılması, uygun ek besine geçilmemesi 	<p>2. Akciğerler</p> <ul style="list-style-type: none"> - Good-Pasture sendromu - Pulmoner hemosiderozis <p>3. Hemostaz bozuklukları</p> <p>4. Menstrual kayıplar</p> <p>5. Böbrek sebebi kayıplar</p> <ul style="list-style-type: none"> -Kronik hematuri -Paroksizmal noktürnal hemoglobinüri - Nefritik sendrom - Hemodiyaliz ve kronik böbrek yetmezliği
<p><i>III-Artmış demir kaybı</i></p> <p>A-Prenatal, perinatal dönem</p> <ul style="list-style-type: none"> - Plasental kanamalar - Placenta previa - Fetomaternal, fetofetal kanamalar - Umbilikal kord rüptürü 	<p><i>IV-Azalmış emilim</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Biyoyararlanımın kötülüğü (hem $Fe > Fe^{+2} > Fe^{+3}$) - Antiasit tedavisi / yüksek gastrik pH - Diğer metaller (Co, Ca, P, Al, Zn, Pb)
	<ul style="list-style-type: none"> -Emilim için gerekli olan enterositlerin kaybı veya işlev bozukluğu (Malabsorbsiyon sendromları, gluten enteropatisi, kronik ishal, gastrektomi sonrası, inflamatuvar barsak hastalıkları)

Ülkemizde ise toplumun demir yetersizliği konusunda bilinçlendirilmesi ve destek verilmesi için 2004 yılında "Demir gibi Türkiye" projesi başlatılmıştır [6]. Bu projeye göre:

- Bebeklerin ilk 6 ay anne sütü alması,
- 6. Ayın sonunda uygun ve yeterli miktarda ek besine geçilerek, emzirmenin 2 yaşına kadar sürdürülmesi,
- 4-12 ay arası her bebeğe profilaksi amaçlı ücretsiz demir desteği sağlanması,
- 13-24 ay anemisi olan bebeklere demir tedavisi verilmesi önerilmiştir.

Ülkemiz gibi gelişmekte olan ülkelerde demir eksikliğinden korunmak için alınması gereken önlemler aşağıdaki şekilde özetlenebilir [25].

- İlk 6 ay sadece anne sütü ile beslenmeli,
- Tamamlayıcı beslenmede ek besinler ile anne sütü ayrı öğünlerde verilmeli
- 2 yaşına kadar emzirme sürdürülmeli
- 1 yaş altında inek sütü kullanılmamalı
- Süt ve süt ürünleri ara öğünlerde tüketilmeli
- 6. aydan itibaren demir emilimini artırmak için C vitamininden zengin gıdalar verilmeli (örneğin portakal suyu, yumru bitkiler, beyaz lahana, havuç, karnabahar)
- Demir emilimini azaltan çay, fosfat, fitatlı gıdalar verilmemeli
- 6. aydan sonra et ve et ürünlerinin sıkça tüketimi sağlanmalı, diyetle ana protein kaynağı olarak et, tavuk eti, balık eti veya ciğer bulunmalı
- Et ve benzeri yiyecekler satın alınamadığı zaman yumurta, kuru baklagiller, kuru meyveler, pekmez, tahin ve yeşil sebzeler diyetle daha fazla yer almalıdır.
- Demirden zengin gıdalar aynı öğünde verilirse sebzelerdeki demirin emilimi artırılabilir. Et, balık, sebze ve meyve beraber aynı öğünde verilebilir. Ancak süt, yumurta, çay ve kahve sebzelerle beraber verildiğinde demir emilimini bozarlar.
- Aşırı miktarda süt alımı da demir eksikliği ve buna bağlı kansızlık riskini artırmaktadır.

Demir eksikliğini önlemek için beslenme ile ilgili alınabilecek bir diğer yöntem de eksik mikrobelerin diyetle eklenmesi ile elde edilen besin zenginleştirilmesi yöntemidir. Ancak yoksul ve kırsal bölgede yaşayan kişilerin zenginleştirilmiş besinlere ulaşabilmesi her zaman mümkün olmamaktadır. Besinlerin zenginleştirilmesi sonucu tad değişiklikleri ve biyoyararlanım azalması gibi sorunlar da görülebilmektedir [2].

Erken doğumun önlenmesi ve doğum sırasında göbek kordonunun geç bağlanması da demir eksikliğini önlemek için alınabilecek diğer önlemlerdir [2].

3-ARAŞTIRMA AMAÇLARI, YÖNTEM VE MATERYAL-METOD

3.1 Araştırmanın Amaçları

Demir eksikliği, gelişmekte olan ülkelerde ve ülkemizde süt çocukluğu döneminde sık karşılaşılan bir durum olduğu için Sağlık Bakanlığı tarafından profilaksi amacıyla demir desteği sağlanmaktadır [6]. Demir eksikliği bebeklerde anemi, nörogelişimsel gerilik, bağışıklık sistemi bozuklukları ve enfeksiyona yatkınlık gibi klinik durumlara yol açabilmektedir. Diğer yandan demirin kullanılması ile kabızlık, iştahsızlık, kusma, ishal, aşırı gaz ve huzursuzluk gibi istenmeyen etkiler ortaya çıkabilmektedir [7]. Bunun yanında, vücudumuzda çeşitli metabolik reaksiyonlar, radyasyon, ilaçlar, zararlı kimyasallar ile oluşan serbest radikaller kararsız yapıları nedeniyle serbest demir (Fe^{+2}) iyonu ile etkileşime girer ve Fenton reaksiyonu gerçekleşir. Bilinen en toksik radikal olan hidroksil (OH^{\cdot}) oluşumuna neden olarak hücre içerisinde ve hücre zarında bulunan protein, lipit, lipoproteinler, nükleoproteinler, nükleik asitler, karbonhidratlar ve diğer hücresel yapılara toksik etki gösterebilirler [3].

Demir eksikliğinden korunmak için demir desteği verilmesi ya da verilmemesi ile ilgili uygulamalar ülkeler arasında farklılık göstermektedir. Diğer yandan, ortak olan öneri 6 aylıktan sonra diyetle demir içeriğinin artırılmasıdır; çünkü zamanında ve normal kiloda doğan sağlıklı çocukların ilk 4-6 ay demir depoları yeterlidir. Altı aylıktan sonra ise demirden zengin beslenme ile günlük demir ihtiyacı karşılanabilmektedir [7, 27].

Birçok ülkede demir eksikliği önemli bir halk sağlığı sorunu olduğundan, demir eksikliğinden korunma amaçlı AAP'nin önerisi doğrultusunda demir profilaksisi başlanmaktadır. Demir depoları yeterli olan sağlıklı bir çocuğa gereksiz yere demir profilaksisi verilmesi ile ne gibi etkiler olabileceği konusunda net veriler yoktur. Hatta demir damlaları ile demirden zenginleştirilmiş beslenmenin karşılaştırıldığı, hemoglobin değerleri üzerine etkisinin incelendiği çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalardan birinde demirden zenginleştirilmiş besinler ile beslenmenin hemoglobin değerlerini daha çok yükselttiği, demir damlalarının daha çok depo demir olarak saklandığı belirtilmiştir [28].

Çalışmamızda öncelikle demir profilaksisinin oksidan hasar ve DNA kırıklarına yol açıp açmadığı hakkında bilimsel veri elde etmeyi amaçladık. Demir profilaksisinin olumsuz etkileri (oksidan aktiviteyi artırması, DNA kırıklarına yol açması) saptandığı takdirde bebeklerin ilaçla demir profilaksisi yerine nutrisyonel yöntemlerle demir ihtiyaçlarının karşılanması bir ilke haline getirilebilir.

3.2 Grupların Oluşturulması

Demir profilaksisinin oksidan hasar ve DNA kırıklarına etkisinin incelenebilmesi için, demir profilaksisi alan ve almayan iki grup oluşturmak gerekmektedir ve herhangi bir hastalık durumunda oksidan hasar artabileceği ve test sonuçları yanlış pozitif olarak sonuçlanabileceği için, gruplar sağlıklı bebeklerden seçilmiştir ve üst solunum yolu enfeksiyonu dahil herhangi bir hastalıkları yoktur. Çalışmamızda homojen bir grup olması nedeni ile anne sütü ile beslenen 6 aylık sağlıklı bebekler seçilmiştir.

T.C. Sağlık bakanlığı "Demir Gibi Türkiye Projesi" kapsamında 4-12 ay arası her bebeğe profilaksi amaçlı ücretsiz demir desteği sağlamaktadır. Ancak sağlam çocuk polikliniklerinde 6 aylık bebeklerin aileleri sorgulandığında bazı ailelerin demir profilaksisi almadığı görülmektedir. Bunun sebebi ailenin bu konuya önem vermemesi, sağlam bebek izlemelerine gitmemesi ve bazen de ilaç kullanımı sonrasında görülen ciltte döküntü, kabızlık, huzursuzluk gibi yan etkiler nedeni ile demir desteğini kesmeleridir. Bu çalışmada Bezmialem Vakıf Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları genel çocuk polikliniğine başvuran 6 aylık bebekleri, yukarıdaki nedenlerle demir profilaksisi alamayan ve demir profilaksisi alan bebekler olmak üzere iki gruba ayırdık.

- 1. Grup: Sadece anne sütü ile beslenen ve 2 ay süre ile demir profilaksisi almış bebekler.
- 2. Grup: Sadece anne sütü ile beslenen ve demir profilaksisi almamış bebeklerdir.

Çalışmaya dahil edilme kriterleri:

- 1- Gestasyonel yaş > 37 hafta
- 2- Doğum ağırlığı 2500 gr ve daha fazla
- 3- Konjenital malformasyonu olmayan
- 4- Perinatal dönem hastalığı olmayan
- 5- Bilinen herhangi bir hastalığı olmayan sağlıklı bebekler

Çalışmaya dahil edilmeme kriterleri:

- 1- Gestasyonel yaş < 37 hafta
- 2- Doğum ağırlığı 2500 gr dan düşük
- 3- Bilinen kronik hastalığı olan hasta bebekler

Mama içeriği demir ile zenginleştirilmiş olduğundan, mama ile beslenen çocuklar çalışma dışı bırakılmışlardır.

3.3 Çalışma Yöntemi

Çalışmamızda anket doldurulması ve kan örneği alınması işlemleri yapılmıştır.

- Anket ile ailenin demografik özellikleri, annede anemi varlığı, bebeğin beslenmesi, demir profilaksisi alıp almadığı, ilaç yan etkisi, hastalık geçirip geçirmediği sorgulanmıştır. Anket örneği ekte (Ek-1) mevcuttur.
- Kan örneği ile anemi varlığı, demir depoları (kan demir düzeyi, ferritin, demir bağlama kapasitesi, transferrin saturasyonu) , total oksidan-antioksidan aktivite düzeyleri ve DNA hasarı (comet assay tekniği ile) değerlendirilmesi yapılmıştır.

3.4 Materyal-Metod

Kullanılan Araç ve Gereçler

1. Elektroforez düzenegi
2. Santrifüj
3. Floresan mikroskop
4. Spektroflorometre
5. Derin dondurucu
6. Vorteks
7. Hassas terazi
8. Dijital pH-metre
9. Otomatik biyokimya analizörü
10. Lam ve lamel

Kullanılan Kimyasal Maddeler

1. Normal erime noktasına sahip (NMP, 65⁰C) agaroz jel (Sigma)
2. Düşük erime noktasına sahip (NMP, 37⁰C) agaroz jel (Sigma)
3. Sodyum-EDTA (Merck)

4. Sodyum klorür (Merck)
5. Hidroklorik asit (Merck)
6. Trizma base (Sigma)
7. Triton X-100 (Sigma)
8. Sodyum hidroksid (Merck)
9. Disodyum hidrojen fosfat (Merck)
10. Sodyum dihidrojen fosfat (Merck)
11. Etidyum bromit (Sigma)
12. 2,4-dinitrofenilhidrazin (Sigma)
13. Xylenol orange (Sigma)
14. DMSO(Merk)
15. Gliserol (Merck)
16. Sülfürik asit (Merck)
17. o-Dianisidine (Sigma)
18. Ferroz amonyum sülfat(Merck)
19. Hidrojen peroksit (Merck)
20. Histopaque-1077 (Sigma)

Örneklerin Hazırlanması

Çalışmaya katılan tüm bebeklerden hemogram, ferritin, demir, demir bağlama kapasitesi ve transferrin parametreleri için EDTA'lı ve jelli tüplere kan örnekleri alındı, değerlendirilmek üzere laboratuara gönderildi.

Oksidatif stres ve DNA hasarı belirlemek için heparinize tüplere kan örnekleri alındı ve alınan kan örnekleri hemen buzlu su içine konularak laboratuara ulaştırıldı. Örnekler öncelikle DNA hasar ölçümü için mononükleer lökositlerin seperasyonunda kullanıldı. Kalan örnekler daha sonra 3000 rpm de 5 dakika santrifüj edilerek ayrılan plazma oksidatif stres parametrelerinin ölçümünde kullanılmak üzere 80°C derin dondurucuda saklandı.

Mononükleer Lökositlerin Seperasyonu

Bir ml histopaque-1077 üzerine bir ml taze heparinize kan yavaşça konup 2100 rpm ve 25°C'de 30 dakika santrifüj edildi. Orta tabakada biriken mononükleer lökositler pipet yardımıyla alınıp bir ml tuzlu fosfat tamponu (pH=7.4) ile karıştırıldıktan sonra 170 rpm ve 25°C'de 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki süpernatant atılıp pellet tuzlu fosfat tamponu (pH=7,4) ile 10⁶ mononükleer lökosit/μl olacak şekilde dilüe edildi.

3.4.1 Comet Assay (alkali mononükleer hücre elektroforezi) Yöntemi ile DNA Hasar Tayini

Yöntemin Prensibi

Comet assay yöntemi alkali pH da farklı molekül ağırlıklarına ve farklı elektrik yüke sahip DNA moleküllerinin elektriksel alanda farklı göç etmeleri esasına dayanmaktadır. Tek hücreler veya çekirdekçikler agarozta yerleştirilir ve lizisten sonra zarar görmemiş DNA'lar taşınma sırasında comet (kuyruk) oluşturmazlar. Oysa DNA fragmente olmuşsa, fragmentler (nükleik asitler) farklı moleküler ağırlıklara ve farklı elektrik yüklerine sahip olacaklarından elektriksel alanda farklı hızlarda hareket ederek kuyruk şeklinde bir görüntü oluştururlar [29, 30].

Yöntemin Uygulanışı

Slaytların Hazırlanması

%1,0'lik NMP agaroz jel hazırlanarak 80μl jel kenarları buzlanmış lam üzerine damlatıldı ve üzeri lamel ile kapatılarak buzdolabında (2-4 °C) 5 dakika bekletildikten sonra

lameller kaldırıldı. PBS (Fosfat buffered saline) ile mm^3 te 10^4 hücre olacak şekilde dilüe edilmiş mononükleer hücrelerden 10 μl alınarak 80 μl %0,5'lik low melting point (LMP) agaroz jel (37°C) ile karıştırılarak birinci tabaka üzerine tabakalandırıldı ve tekrar lamel ile kapatılarak buzdolabında donması için 5 dakika bekletildi. Üçüncü aşamada da aynı konsantrasyonda LMP agaroz jel hazırlanarak ikinci tabakanın üzerine ince bir tabaka halinde tabakalandırılarak slaytların hazırlanması tamamlandı [29, 30].

Lizis aşaması

Hazırlanan lamalar yaklaşık bir saat süre ile yüksek konsantrasyonda tuz ve deterjan içeren soğuk lizis solüsyonunda bekletildi. Lizis solüsyonunun içeriği 100 mM EDTA, 2,5 M NaCl, 10 mM trizma base ve %1 oranında triton X-100'den oluşmaktadır. Bu solüsyonun pH'sı 10'a ayarlandı. Lizis tamponu ile hücre ve çekirdek zarı lizise uğrattıldı [29, 30].

Elektroforez Tamponu

Elektroforezde yürütmeden önce DNA zincirlerinin ayrılması için slaytlar alkali elektroforez tamponunda (1mM EDTA ve 300 mM sodyum hidroksit pH <13) 20–30 dakika inkübasyona bırakıldı [29, 30].

Elektroforezde Yürütme

Alkali elektroforez tamponunda inkübasyon tamamlandıktan sonra DNA'lar bu tampon çözeltisi içerisinde 300 mA, 14 volt'luk elektriksel alanda ve $5-25^\circ\text{C}$ 'de 30 dakika yürütüldü [29, 30].

Nötralizasyon

Elektroforezde yürütme işlemi tamamlandıktan sonra alkali tampon çözeltisini ortamdaki uzaklaştırmak için slaytlar 3 dk süre ile 3 kez nötralizasyon tamponu ile (0.4 M Tris-HCL, pH 7.5) yıkandı [29, 30].

Boyama

Nötralizasyon tamamlandıktan sonra etidyum bromit boyası ile (5mg/ml) boyandı [31, 32]. Her bir slayt için 20 mL boya slayt üzerine damlatıldıktan sonra lamel ile üzeri kapatılarak 20 büyütme floresan mikroskop ile (Eksitasyon DB: 546 nm, Emisyon DB: 20 nm) DNA görüntüsü değerlendirildi.

Analiz

DNA'daki hasarların kuyruklu yıldız görüntüleri florasana mikroskopunda ortalama 50 hücre sayılarak comet ölçüm programı ile değerlendirildi.

3.4.2 Total Antioksidan Seviye (TAS)

Yöntemin Prensipleri

Erel tarafından [33] geliştirilen tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir yöntemdir. Fe^{+2} + o-dianisidine kompleksi hidrojen peroksit ile Fenton tipi reaksiyon oluşturularak OH radikalini oluşturur. Bu güçlü reaktif oksijen türü indirgen düşük pH'da renksiz o-dianisidine molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidyl radikallerini oluştururlar. Dianisidyl radikalleri ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumu artmaktadır. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadırlar. Bu reaksiyon otomatik analizörde spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuç verilmektedir [33].

Reaktifler:

Reaktif-1: 75 mM Clark tamponu (pH=1.8) içerisinde 10 mM o-Dianisidine ve 45 mM $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$ çözülerek hazırlandı.

Reaktif-2: 7,5 mM hidrojen peroksit 75 mM Clark tamponu (pH=1.8) içerisinde karıştırılarak hazırlandı.

3.4.3 Total Oksidan Seviye (TOS)

Yöntemin Prensipleri

Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferik iyon oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xilenol orange ile renkli bir kompleks

oluştururlar. rnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir ve tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir [34].

Reaktifler:

Reaktif-1: 140 mM'lık NaCl zltisi içerisine 25 mM H₂SO₄ zlerek ana solüsyon hazırlanır. Ana solüsyonda önce % 10 oranında gliserol üzülüp daha sonra total volümde 250 μM Xlenol orange üzülerek hazırlanır.

Reaktif-2: Ana solüsyon içerisinde önce 10 mM o-Dianisidine dihydrochloride üzülüp sonra 5 mM amonyom ferröz sülfat üzülerek reaktif hazırlanır.

Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

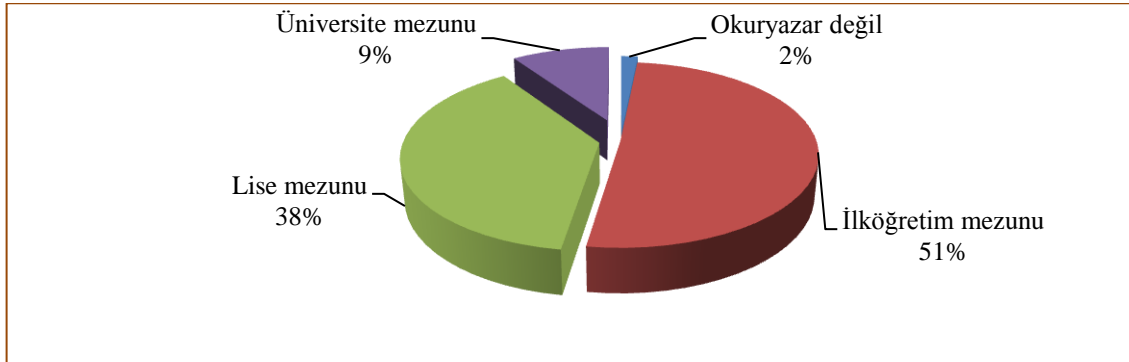
Total Oksidatif Stres (TOS) / Total Antioksidan Seviye(TAS) şeklinde bölünerek Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplandı [35].

4- BULGULAR

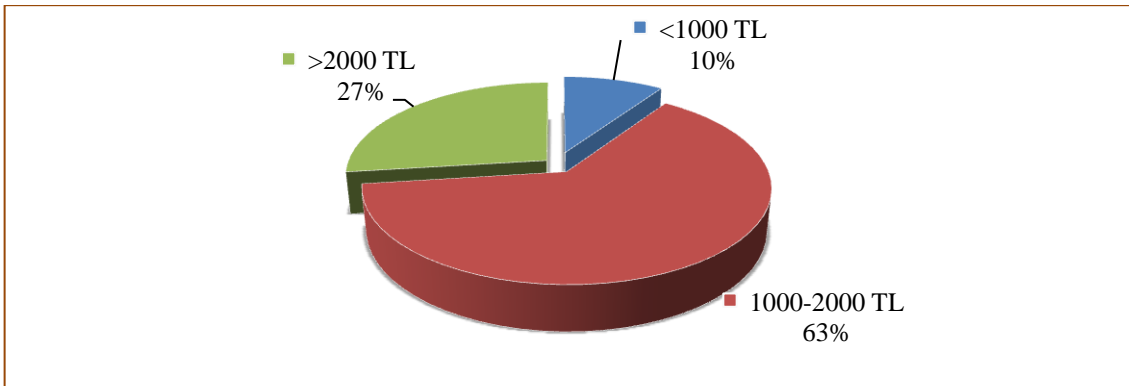
4.1 Çalışmaya dahil edilen vakaların genel özellikleri

Araştırmamıza, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Genel Pediatri polikliniğine başvuran 6 aylık, çalışmaya dahil edilme kriterlerine uyan 64 bebek alındı. Bu bebeklerin 38 tanesi 2 ay demir profilaksisi almış ve 26 tanesi demir profilaksisi almamıştı. Altmış dört vakanın cinsiyetlerinin dağılımı 31 erkek (%48), 33 kız (%52) idi. Demir profilaksisi alan grubun 17'si (%44) erkek 21'i (%55) kız, demir profilaksisi almayan grubun 14'ü (%53) erkek 12'si (%46) kız idi. Demir profilaksisi alan grubun %28'i, demir profilaksi almayan grubun ise %29'u sezeryan ile doğmuş olarak bulundu. Çalışmaya dahil olan annelerin 1'i (%1.6) okuryazar değilken, 32'si (%50.8) ilköğretim, 24'ü (%38,1) lise, 6'sı (%9,5) üniversite mezunu idi. (Şekil 5) Baba eğitim düzeyi ise; 30 baba (%47,6) ilköğretim, 26 (%41,3) lise, 7 baba (%11,1) üniversite mezunu idi. Ailelerin aylık gelir düzeyi dağılımı ise 6 (%9.5) aile 1000 TL ve altı, 40 (%63,5) aile 1000-2000 TL arası, 17 (%27) 2000 TL ve üzeri, gelire sahipti. (Şekil 6)

Şekil 5: Anne eğitim durumu



Şekil 6: Ailelerin aylık gelir düzeyleri



4.2 Demir profilaksisi alan grup ile demir profilaksisi almayan grubun karşılaştırılması

Vakalarımızın doğum ağırlıkları demir profilaksisi alan grupta 3278 ± 486 gram, demir profilaksisi almayan grupta 3286 ± 505 gram olduğu görüldü ($p=0,954$). Vakalarımızın 6. ay ağırlıkları demir profilaksisi alan grupta 8148 ± 894 gram, demir profilaksisi almayan grupta 8173 ± 1024 gram idi ($p=0,918$). Vakalar erkek ve kız olarak ayrı ayrı 6. ay ağırlık persantil değerleri değerlendirildiğinde hiç bir vaka 3. persantil altında değildi.

Vakalarımızın doğum boyları demir profilaksisi alan grupta 50 (47-58) cm, demir profilaksisi almayan grupta 51 (47-58) cm olduğu görüldü ($p=0,427$). Vakalarımızın 6. ay boyları demir profilaksisi alan grupta $68,2 \pm 2,1$ cm , demir profilaksisi almayan grupta $68,5 \pm 2,3$ cm idi ($p=0,636$). Vakalar erkek ve kız olarak ayrı ayrı 6. ay boy persantil değerleri değerlendirildiğinde hiç bir vaka 3. persantil altında değildi.

Vakalarımızın doğum baş çevresi demir profilaksisi alan grupta 34 (32-37) cm, demir profilaksisi almayan grupta 35,5 (32-37,5) cm olduğu görüldü ($p=0,157$). Vakalarımızın 6. ay baş çevresi ölçümleri demir profilaksisi alan grupta 43 (39-46) cm , demir profilaksisi almayan grupta 43 (40,5-47) cm idi ($p=0,630$). Vakalar erkek ve kız olarak ayrı ayrı 6. ay baş çevresi persantil değerleri değerlendirildiğinde kızlardan 2 , erkeklerden 1 vaka da baş çevresi 3. persantil altında bulundu.

Tablo 4: Boy - Kilo - Baş Çevresi parametreleri

Değişkenler	Demir +	Demir -	t	Mann-Whitney	P
Doğum kilosu (gr)	3278 ± 486^1	3286 ± 505^1	-0,058		0,954
Doğum boyu (cm)	50 (47-58) ²	51 (47-58) ²		-0,794	0,427
Doğum baş çevresi (cm)	34 (32-37) ²	35,5 (32-37,5) ²		-1,415	0,157
6. ay kilo (gr)	8148 ± 894^1	8173 ± 1024^1	-0,103		0,918
6. ay boy (cm)	$68,2 \pm 2,1^1$	$68,5 \pm 2,3^1$	-0,476		0,636
6. ay baş çevresi (cm)	43 (39-46) ²	43 (40,5-47) ²		-0,482	0,630

[1: ortalama \pm std , 2: medyan (min-max)]

Bebeklerin hemoglobin değerleri ve kan demir depoları değerlendirildi. (Tablo 5) Demir düzeyini gösteren parametreler ve hemogram değerlendirildiğinde iki grup arasında

demir eksikliği yönünden anlamlı fark saptanmadı (Hb: $p=0,261$, Ferritin: $p= 0,505$). Vaka bazında değerlendirildiğinde de 7 vakada anemi (Hb <11 , Ferritin <12) saptandı. Bunlardan 3 (%7) tanesi demir + grupta, 4 (%15) tanesi demir - grupta idi ($p=0,428$).

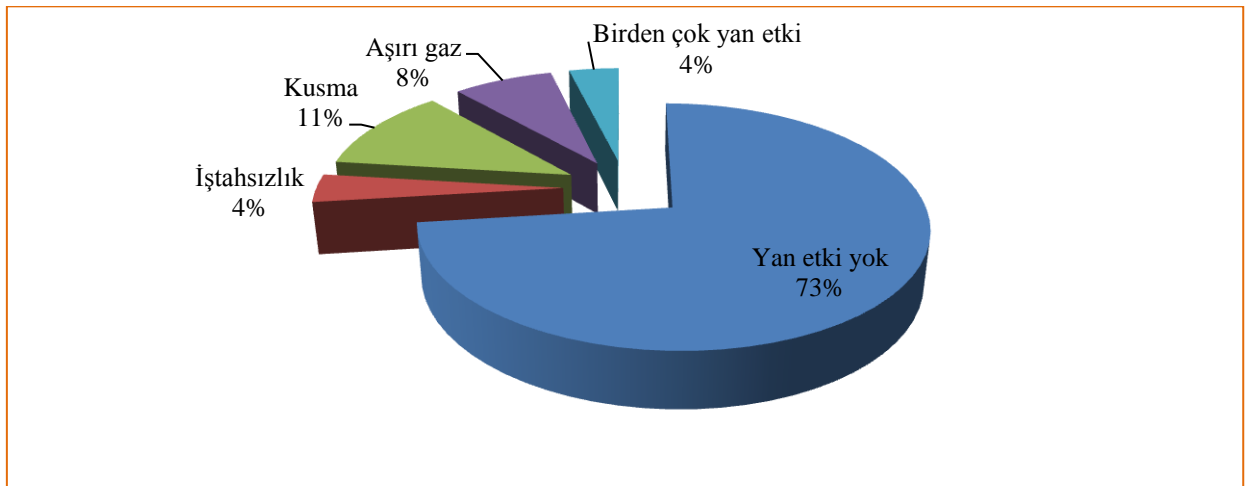
Tablo 5: Demir + ve Demir - gruplarda hemogram ve kan demir depolarının karşılaştırılması (T-test ve Mann-Whitney U testi)

	Sonuç Değerleri		
	Demir +	Demir -	p
Hb (g/dl)	11,33±0,789 ¹	11,08±0,966 ¹	,261
Hct (%)	33,05±2,09 ¹	32,75±2,50 ¹	,608
Mcv (fl)	75,68±4,08 ¹	73,47±5,82 ¹	,078
Rdw (%)	14,8 (12-32) ²	14,7 (11,9-18) ²	,412
Ferritin (ng/ml)	33,1 (7,6-237) ²	30,4 (1,8-124) ²	,505
Demir (ug/dl)	45,5 (23-127) ²	51,5 (18-124) ²	,738
Febk (ug/dl)	317,13±44,06 ¹	337,92±76,84 ¹	,228
Transferrin (mg/dl)	258,36±39,8 ¹	275,84±61,3 ¹	,218
DEA	3	4	,428

[1: ortalama ± std , 2: medyan (min-max)]

Demir kullanımına bağlı yan etkiler değerlendirildi. Bu vakaların 19 (%73) tanesinde yan etki görülmediği, 3 (%11) vakada kusma, 2 (%8) vakada aşırı gaz, 1 (%4) vakada iştahsızlık görüldü. 1 (%4) vakada da aşırı gaz, kusma ve iştahsızlık saptandı. (Şekil 7)

Şekil 7: Yan etki profili



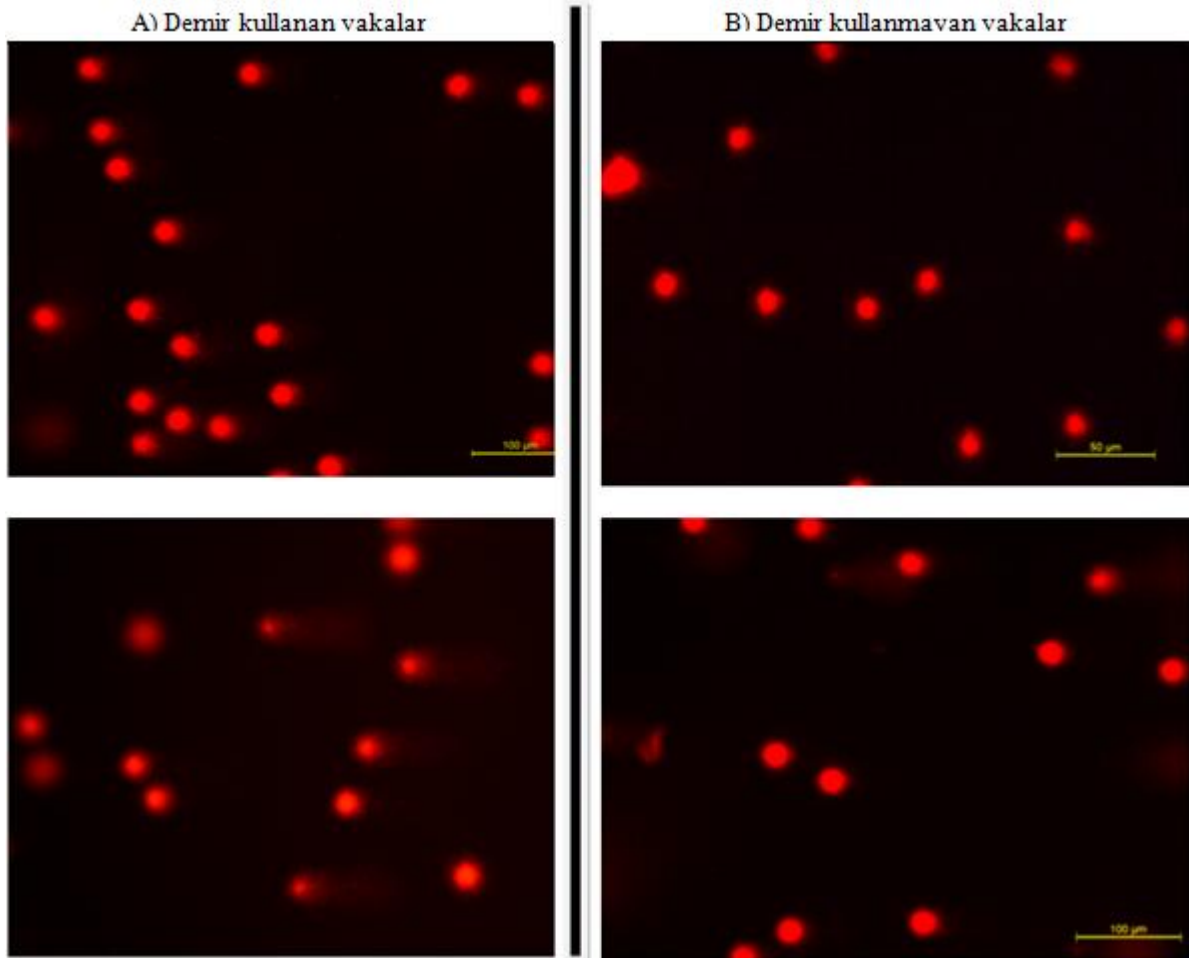
Hastanın DNA hasarını göstermek için heparinize tüplere alınarak hazırlanan kan comet assay tekniği ile çalışıldı. DNA'daki hasarların kuyruklu yıldız görüntüleri floresan mikroskopunda ortalama 50 hücre sayılarak comet ölçüm programı ile değerlendirildi.

(Resim 1) Demir profilaksisi alan ve almayan vakaların DNA hasar değerleri istatistiksel olarak Mann-Whitney U testi ile değerlendirildi, iki grup arasında ki fark anlamlı bulundu ve demir profilaksisi alan grupta DNA hasarı yüksek saptandı (p=0,000). (Tablo 6)

Oksidan ve antioksidan aktivite düzeyleri değerlendirildi ve demir profilaksisi alan grupta TAS-TOS seviyeleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde yüksek saptandı (p=0,000). (Tablo 6)

DNA hasarı ve oksidan-antioksidan aktivite arasında korelasyon analizi yapıldı ve orta kuvvette korelasyon olduğu saptandı. DNA hasarının oksidan-antioksidan aktiviteye bağlı olarak arttığı bulundu. (Tablo 7)

Resim 1: Comet assay tekniği ile DNA hasarlarının kuyruklu yıldız görüntüleri



Tablo 6: Demir + ve Demir - vakaların DNA hasarı, Oksidan-Antioksidan Aktivite değerlerinin karşılaştırılması (Mann-Whitney U testi)

	Demir +	Demir -	P
DNA hasarı medyan(min-maks)	41,05 (24,52 - 53,76)	27,78 (13,93 - 56,14)	,000
TAS medyan(min-maks)	0,98 (0,72 - 1,86)	1,75 (1,48 - 1,85)	,000
TOS medyan(min-maks)	12,47 (8,40 - 16,80)	10,75 (9,28 - 11,77)	,000
OSİ medyan(min-maks)	13,12 (7,60 - 19,96)	6,34 (5,68 - 7,61)	,000

Tablo 7: DNA hasarı ile oksidan-antioksidan seviye arasında korelasyon analizi

			DNADamage	TAS	TOS	OSI
Spearman's rho	DNADamage	Correlation Coefficient	1,000	-,318*	,398**	,410**
		p		,011	,001	,001
		N	63	63	63	63
	TAS	Correlation Coefficient	-,318*	1,000	-,306*	-,866**
		p	,011		,014	,000
		N	63	64	64	64
	TOS	Correlation Coefficient	,398**	-,306*	1,000	,695**
		p	,001	,014		,000
		N	63	64	64	64
	OSI	Correlation Coefficient	,410**	-,866**	,695**	1,000
		p	,001	,000	,000	
		N	63	64	64	64

*. Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

**. Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Toplamda 7 vakada demir eksikliği anemisi saptanmıştır. Bu vakaların 3 tanesi demir + grupta , 4 tanesi demir - gruptadır. Bu iki grubun DNA hasarı ve oksidan-antioksidan aktiviteleri karşılaştırıldığında da Tablo 8'de de görüleceği üzere anlamlı fark mevcuttur. Anemi saptanan vaka sayısı az olduğu için istatistiksel analiz yapılamamıştır ancak DNA hasarı ve oksidan-antioksidan aktiviteleri Tablo 6 ile karşılaştırıldığında sonuçların benzer olduğu görülmektedir.

Tablo 8: Demir eksikliği saptanan vakaların DNA hasarı ve oksidan-antioksidan seviyelerinin karşılaştırılması

		DNA Damage	TAS	TOS	OSI			
Demir +	1	43,05109	1,0997496	15,289	13,90267			
	2	39,67335	0,8238568	12,861	15,61099			
	3	42,27406	0,8283922	14,038	16,946585			
Demir -	1	24,64921	1,7823001	11,342	6,3638593			
	2	31,55512	1,7625277	10,127	5,7457774			
	3	31,25046	1,7405653	10,570	6,0728389			
	4	30,60573	1,579677	11,132	7,0472986			
		Hb	Mcv	Ferritin	Demir	Febk	Transferrin	Trans_sat
Demir +	1	9,8	70,4	12,5	31	399	316	7,77
	2	10,1	72	11,8	45	414	357	10,87
	3	10,2	78,6	7,6	23	376	314	6,12
Demir -	1	10,7	68	5,3	37	447	349	8,28
	2	9,9	71	1,8	36	421	368	8,55
	3	9,1	54,9	3,2	18	466	380	3,86
	4	9,9	68	2,7	22	461	372	4,77

Demir kullanan vakalarda ilaca bağlı yan etki görülüp görülmediği sorgulanarak; yan etki görülen 7 vaka ile yan etki görülmeyen 19 vaka DNA hasarı ve oksidan-antioksidan aktivite yönünden karşılaştırıldı. Anlamlı fark bulunmadı (DNA hasarı $p=0,739$, OSI: $p=0,544$). (Tablo 9)

Tablo 9: Demir + grupta yan etki varlığının DNA hasarı ve oksidan-antioksidan aktivite üzerine etkisi (Mann-Whitney U testi)

	Yan etki +	Yan etki -	p
DNA hasarı medyan(min-maks)	39,90(29,49-53,76)	42,05(29,60-50,99)	,739
TAS medyan(min-maks)	0,98(0,82-1,86)	1,03(0,74-1,43)	,931
TOS medyan(min-maks)	14,87(9,08-15,99)	11,85(8,40-16,80)	,214
OSI medyan(min-maks)	14,25(7,75-17,68)	12,57(7,60-18,88)	,544

5- TARTIŞMA

Demir iyonu vücudumuzda miyelinizasyon, nörotransmitter işlevleri, nöronal enerji metabolizması ve nöron farklılaşması gibi işlevleri ile merkezi sinir sisteminin gelişiminde ve birçok farklı ve önemli metabolik olayda görev alır [36]. Özellikle hızlı büyümenin gerçekleştiği son trimesterde ve yenidoğan döneminde normalden daha fazla demire ihtiyaç vardır. Demir ihtiyacının karşılanamaması ve demir dengesinin sağlanamaması bilişsel ve nörolojik gelişimde bozukluklar ile sonuçlanabilir [13]. Bu nedenle özellikle nörobilişsel gelişim için yaşamın ilk aylarında demir dengesi çok önemlidir. Yapılan bazı çalışmalarda erken süt çocukluğu döneminde demir eksikliği anemisi olan bebeklerin, çocukluk dönemlerinde nörobilişsel işlevler bakımından daha geride kaldığı gösterilmiştir. Şili de yapılan bir çalışmada [37] süt çocukluğu döneminde demir eksikliği anemisi olan 69 vaka ile demir eksikliği olmayan 63 kontrol vakası, 10 yaşına geldiklerinde karşılaştırılmış ve demir eksikliği anemisi olan grubun nörobilişsel işlevler açısından daha geride olduğu saptanmıştır. Bu da süt çocukluğu döneminde demir eksikliğinin sinir sistemi üzerine kalıcı etkisinin olabildiğinin gösterilmesi açısından önemlidir. Diğer taraftan fazla miktarda demir desteği verilmesi ile enfeksiyon riskinde artış, gelişimde gerilik, ve diğer minerallerin emiliminde ve metabolizmasında bozukluklar görülebilir ve depo ve taşınma sınırını aşan serbest demir iyonlarının prooksidan olması nedeni ile serbest radikal oluşmasını tetikleyebilirler [26]. Bu nedenle erken süt çocukluğu dönemindeki demir dengesi çok büyük önem arz etmektedir.

Süt çocuklarında demir eksikliğini önlemek için farklı ülkelerde birbirinden farklı stratejiler izlenmektedir. AAP zamanında doğmuş, normal kilolu, sadece anne sütü ile beslenen 4. ayna ulaşmış her bebeğe günde 1 mg/kg elementer demir profilaksisi başlanmasını önermekte iken [27] ESPGHAN demir eksikliği sıklığının düşük olduğu ülkelerde, zamanında doğan normal kilolu ve sadece anne sütü ile beslenen bebeklere demir profilaksisinin 6. aya kadar gerekli olmadığını, 6. aydan sonra ise demirden zengin beslenmenin yeterli olduğunu vurgulamaktadır [7]. Şu bilinen bir gerçektir ki yeni doğan bebeklere ilk 4-6 ay kendi demir deposu ve anne sütünde ki demir yeterli olmaktadır. Bunun en önemli nedeni fizyolojik anemi döneminde yıkılan eritrositler sonucu ortaya çıkan demirin depolanması ve anne sütünde bulunan demirin emiliminin yüksek olmasıdır [7]. Ülkemizde de toplumun demir yetersizliği konusunda bilinçlendirilmesi ve destek verilmesi için 2004 yılında "Demir gibi Türkiye" projesi başlatılmıştır. Bu proje kapsamında sağlıklı ve

zamanında doğan her bebeğe 4 aylık olduklarında demir preparatı başlanmaktadır. Hacettepe üniversitesi ve Sağlık Bakanlığı tarafından 2009 yılında bu projenin etkinliğinin incelendiği bir rapor yayınlanmıştır [38]. Rapor sonucuna göre 12-23 aylık çocuklarda demir eksikliği anemi sıklığı %7.8 olarak bulunmuştur. "Demir gibi Türkiye" projesine göre 12. ayda eğer demir eksikliği anemisi varsa demir tedavisi verilmeye devam edilmesi önerilmektedir. Bu araştırmaya katılan 12-23 aylık çocukların %9.9'u halen demir desteği alıyor olarak saptanmıştı. Sonuç olarak bu araştırma da 12-23 aylık çocukların %16.3'ü ya anemik ya da anemi nedeni ile demir desteği alıyor şeklinde saptandı [38]. Bu proje başlamadan önce okul öncesi çocuklarda ki demir eksikliği anemi sıklığı ise % 32.6'dır [1] ve bu proje ile demir eksikliği anemi sıklığının %7.8'e kadar düşürülmüş olması çok önemli bir başarıdır.

Sadece anne sütü ile beslenen bebeklerin ilk 4-6 ay demir deposu yeterlidir ve hem ülkemizde "Demir gibi Türkiye" projesi ile hem de AAP' nin önerisine göre 4 aylık her bebeğe demir desteği başlanması önerilmektedir. Ancak bu öneri ile demir profilaksisine ihtiyacı olmayan bebeklere de demir preparatı verilmektedir ve gereksiz verilen demir preparatının etkileri tam olarak bilinmemektedir. Domellof ve ark'nın [28] çalışmasında 6 aylık bebekler gruplara ayrılmış ve bir gruba demir ile zenginleştirilmiş besin verilmiş, diğer gruba ise demir preparatı verilerek karşılaştırılmıştır. Zenginleştirilmiş besin ile beslenen grubun hemoglobin değerlerinin daha iyi olduğu bulunmuş, demir preparatı verilen grupta ise daha çok depo demirin arttığı gözlenmiştir. Literatürde tam 6 aylık bebeklerde ki demir eksikliği anemisi prevalansını gösteren çalışma sınırlıdır. Bizim çalışmamız vaka sayısı olarak yetersiz olmakla birlikte bu yaş grubunda anemi prevalansını göstermesi açısından önemlidir. Vaka bazında değerlendirildiğinde toplamda 64 vakadan 7'sinde anemi saptanmıştır. Bu 7 vakanın 3'ü (%7) demir profilaksisi alan grupta, 4'ü (%15) demir profilaksisi almayan grupta idi (p=0,428). Tüm dünya popülasyonu değerlendirildiğinde de en iyi ihtimalle vakaların yarısından fazlası gereksiz yere demir profilaksisi almaktadır.

Sağlık bakanlığı 4 aylık tüm bebeklere demir profilaksisi başlamakta ve takip etmektedir. Ancak 6 aylık bebeklerin sağlam çocuk muayenelerinde bazılarının farklı nedenlerle demir profilaksisi almamakta olduğu görülmektedir. 12-23 aylık çocuklarda demir kullanım araştırması raporuna göre de bu proje ile tüm çocukların %73.8'ine 4 aylık iken demir profilaksisi önerildiği ve önerilenlerin %95'inin profilaksi kullandığı saptanmıştır. Tüm çocukların ise %70.2'sinin 4-12 ay arasında demir profilaksisi kullandığı saptanmıştır [38]. Farklı nedenlerle demir profilaksisi almama durumu bize kendiliğinden oluşan iki grup kurma

fırsatı verdi. Demir profilaksisi alan ve almayan grupların kan tetkiki ile DNA hasar düzeyleri ve oksidan-antioksidan aktivite seviyeleri karşılaştırıldı. Sonuçlarda da görülebileceği gibi demir profilaksisi alan grupta istatistiksel olarak anlamlı şekilde DNA hasarı ve oksidan-antioksidan aktivite seviyesi yüksek saptandı. Demir profilaksisi alan grupta demir eksikliği anemisi saptanan 3 vakada da DNA hasarı ve oksidan-antioksidan aktivite seviyesi demir profilaksisi alan diğer vakalarla aynı değerde yüksek bulunmuştur. DNA hasarı ile oksidan-antioksidan aktivite seviyesi arasında korelasyon analizi yapıldığında da orta kuvvette korelasyon olduğu bulundu (Tablo 7). Çalışmamızda hemogram, ferritin, demir, demir bağlama kapasitesi ve transferrin düzeyleri de değerlendirilmiş ve demir profilaksisi alan grup ile almayan grup arasında anlamlı fark bulunmamıştır (Tablo 5).

Sonuç olarak demir alımı ile DNA hasarı ve oksidan stresin arttığı görülmektedir. Bizim hastalarımızın erken dönem izleminde belirgin bir klinik sorun saptanmadı. 4 aylıktan itibaren demir profilaksi uygulaması yıllardır yapılmakta olmasına rağmen erken dönemde belirgin klinik bulgu saptanmadığı için uygulama devam etmektedir. Ancak demir profilaksisi alan vakalarda erken dönemde DNA hasarı ve oksidan stresin fazla olması ile uzun dönemde klinik sonuçların ortaya çıkabileceği araştırılmalıdır. Serbest demir iyonları fenton reaksiyonu ile serbest radikaller oluşmasını tetikler ve bir çok organ ve dokuda etkisini gösterir. Demir çok fazla alındığında dokularda birikerek organ yetmezlikleri ile giden hastalıklar geliştirebilir. Nitekim kronik demir yükünün klinik bulgularını hereditör hemokromatozide gördüğümüz gibi siroza kadar giden karaciğer hasarı, hepatoselüler karsinom, diyabet, artropati, kardiyomiyopati, aterosklerozis, hipopituitarizm, ciltte hiperpigmentasyon gibi klinik bulgular görülebilmektedir [39-42]. Makrofajların fagosit fonksiyonlarını bozarak *Listeria monositogenes* gibi bazı enfeksiyonlara yatkınlık gelişebilir [43]. Aynı zamanda bakterilerin virülansını da artırabilir. *Yersinia enterocolitica* ve *Vibrio vulnificus* gibi demir gereksinimi olan bakterilerin enfeksiyon yapmasını kolaylaştırır [44, 45]. Kenya'da yapılan bir çalışmada iki grup oluşturulmuş ve 4 ay süresince bir gruba demir içeren besin desteği (micronutrient powder) diğer gruba demir içermeyen besin desteği verilmiş ve bağırsak mikrofloraları karşılaştırılmış. Demir desteği alan grupta enterobakterlerden özellikle *Shigella*, *Clostridium* ve patojenik *Escherichia coli*'nin arttığı saptanmış. Demirin prooksidan etkisinin gösterildiği bu çalışmada demir alan grupta inflamasyonu gösteren bir parametre olan dışkıda kalprotektin değeri yüksek saptanmıştır [46, 47]. Kronik hepatit C'li vakalarda da karaciğerde hepsidin sentezi azalmasına bağlı olarak demir depolandığı gösteren çalışmalarda

vardır [48]. NTBI ile oluşan serbest radikaller hücre içerisinde ve zarında bulunan protein, lipid, lipoproteinler, nükleoproteinler, nükleik asitler, karbonhidratlar ve diğer hücresel yapılara toksik etki gösterebilirler, hücre ölümünü tetikleyebilirler [3, 21]. Demir deposu dolu olan çocuklarda profilaksi verilmesi ile büyüme üzerine negatif etki görülebilir [9, 49].

Demir metabolizması nörogelişim için büyük önem arz etmektedir. Dopamin, seratonin, katekolamin, muhtemel gama aminobutirik asit gibi birçok metabolitin sentezinde ve myelin sentezinde görev alır [22]. Doğumda kan beyin bariyeri tam olarak görevini yapamaz, ve kandan beyin omurilik sıvısına maddelerin geçişini tam olarak düzenleyemez [50]. Farelerde 7-10 gün arasında olgunlaşma tamamlanır ve insanlarda bu süre yaklaşık 6 aydır [51]. Kan beyin bariyeri bu ilk aylarda demir fazlalığı gelişirse beyin dokusuna fazla miktarda demir geçmesine izin verebilir [13, 52]. Özellikle prematür bebekler kan beyin bariyerinin daha az gelişmiş olması nedeni ile hasar gelişmesine daha fazla duyarlıdırlar [13, 53]. Diğer taraftan demir eksikliği olan farelerde oligodentrositlerin olgunlaşması ve miyelin formasyonunun oluşmasında gerilik saptanmıştır. Bunun nedeni miyelin sentezinin başlaması için oligodentrositler içinde demir birikmesi gerekmektedir. Demir eksikliğinde motor ve kognitif fonksiyonlarda gerilik saptanır ve sonradan demir replasmanı sağlansa da bu eksiklik tam olarak giderilemez [54, 55]. Kan beyin bariyeri; mikrovasküler endotel hücreler, perisit ve astrosit hücrelerince oluşturulur. Temel görevi beyin içine ve dışına doğru iyonlar, çeşitli moleküller ve lökositlerin geçişini düzenlemektir. İnme, alzheimer, travmatik beyin hasarı, multipl skleroz, ensefalit, hipertansiyon gibi birçok nörolojik hastalıkta kan beyin bariyerinin yapısının bozulduğu saptanmıştır. Oksidatif stresin artması ile kan beyin bariyer yapısındaki matriks metalloproteinaz enzimi aktifleşir, bariyer endotel hücrelerin yapısı bozulur, lökosit migrasyonu ve geçirgenlikte artış meydana gelir [50, 56, 57]. Sonuç olarak oksidatif stresin artması ile kan beyin bariyeri etkilenir ve nörodejeneratif ve nöroinflamatuvar birçok hastalığın gelişmesinde etyolojide rol oynayabilir.

Uzun dönemde kronik demir maruziyeti ile birçok klinik etki olduğu literatürde görülmektedir. Serbest demirin erken süt çocuklar üzerine etkisi çok iyi incelenmelidir çünkü demir emiliminin düzenlenmesinde ilk 6 ay ve sonrası farklılık göstermektedir [58]. Fare deneylerinde; demirden fakir diyet verilen farelerde kompensasyon amaçlı ferroportin ve DMT1 gen ekspresyonlarında 10. günde artış olması beklenmiş ancak bu artış 20. günde gözlenmiştir [59]. Bu durum farelerin erken bebeklik döneminde demir düzeyine gerekli yanıtı veremediği anlamına gelmektedir. İnsanlarda da ilk 6 ay incebağırsaklar demir

metabolizmasını düzenleyecek kadar gelişmemiştir ve ancak 9. ayda yeterli olgunluğa ulaşır [13, 60]. Demir dengesi temel olarak emilimin kontrolü ile sağlanır. Diyetinde demirden fakir beslenen 6 aylık bir bebek, incebağırsaklardan demir emilimini artırmak için gerekli hücrel değişiklikleri yapamaz ve demir eksikliğine daha yatkın hale gelir. Aynı şekilde diyetinde demir miktarı fazla ise demir emilimini sınırlayacak uyumu gösteremeyebilir ve kan demir düzeyi kontrol dışı artabilir. Bu durum da oksidatif strese artış ile sonuçlanabilir [13]. Ayrıca demir desteğinin demir damlaları olarak verilmesi ile bir günlük tüm demir ihtiyacı tek seferde verilmektedir. Bu durumda kanda demir seviyesi hızla zirve yapmakta, karaciğerden hepsidin sentezi artmakta ve demirin depo edilmesi yönünde bir uyarı oluşmaktadır. Oysa diyet içerisinde yer alan demir gün içerisinde farklı zamanlarda verildiğinden, kan demir seviyesi çok daha dengeli olacak ve demirin hemoglobin sentezi yönünde kullanılması uyarılacaktır [28]. İsveç ve Amerika'da ortak yapılan bir çalışmada demir profilaksisinin 4 ve 6 aylık iken başlanmasının etkisi incelenmiş ve 9 aylık iken vakalar değerlendirilmiştir. Bu çalışmada gelişmiş ülke olarak İsveç ve gelişmekte olan ülke olarak Honduras'tan vakalar seçilmiştir. Honduras'ta 4 aylık iken demir profilaksisi başlanan bebekler ile 6 aylık iken demir profilaksisi başlanan bebekler 9 aylık iken değerlendirildiğinde demir depoları ve hemogramları arasında fark bulunmamıştır. Araştırmacılar 4 aylık iken demir profilaksisi başlanmanın 6 aylık iken demir profilaksisi başlamaya göre yaşamsal pozitif bir etkisi bulunmadığı sonucuna varmıştır. Ancak Honduras'lı bebeklere 6 aylık iken demir profilaksisi başlanmasının kan demir düzeyleri, hemoglobin değeri ve demir eksikliği sıklığında azalma yönlerinden faydalı bulunmuştur. Demir profilaksisi almayan bebeklerde kan demir düzeyi ve hemoglobin değeri daha düşük, demir eksikliği sıklığı daha yüksek bulunmuştur. İsveçli bebeklere ise hem 4 hem de 6 aylık iken yapılan demir desteğinin, 9. ayda demir depoları ve hemoglobin değerleri üzerine faydalı etkisinin olmadığı saptanmıştır. Süt çocukluğu döneminde herhangi bir yaşta profilaksi amaçlı verilen demir desteğinin İsveçli bebeklerde demir eksikliği ve hemoglobin değeri üzerine etkisinin olmadığı gösterilmiştir. Hatta bu çalışmada demir depoları dolu olduğu halde demir desteği verilen bebeklerin büyümelerinin daha az olduğu saptanmıştır [36]. Bu da şunu göstermektedir ki sağlıklı ve anne sütü ile beslenen ve herhangi bir risk faktörü olmayan bebeklere ilk 6 ay sadece anne sütü yeterlidir ve 6. aydan sonra diyet demirden zengin hale getirilirse demir ihtiyacı karşılanabilir.

Sonuç olarak 6 aylık bebeklerde demir emilimi henüz tam olgunlaşmamıştır. Kan demir seviyesi diyetle ki demirden çok fazla etkilenmektedir ve demir preparatlarındaki

demirin metabolizması ile diyet içindeki demirin metabolizması birbirinden farklıdır [36]. Ülkemiz için "Demir gibi Türkiye" projesi ile ve dünyada AAP'nin önerisi ile 4 aylık iken demir damlaları profilaksi amaçlı başlanmaktadır. Kısa dönemde bebeklerde klinik etki görülmemesi ve demir eksikliğinin çok yaygın olması nedeni ile profilaksi uygulaması devam etmektedir. Ancak çalışmamızda görüleceği üzere demir profilaksisi DNA hasarı ve oksidan aktiviteyi artırmaktadır. Teorik olarak yukarıda belirtilen bir çok klinik durumun öncül hasarları meydana gelebilir ve belki de profilaksi daha uzun süre devam edilirse bazı vakalarda bu hastalıkların ortaya çıkması tetiklenebilir. Bu nedenle ülkemiz ve dünyada bu konuda yeni çalışmalara ve rehberlerin gözden geçirilerek güncellenmesine ihtiyaç vardır. Demir profilaksisi için, demir damlaları yerine diyetin demirden zenginleştirilmesi daha uygun bir seçenek olabilir.

HASTA TAKİP FORMU

Telefon:
Parite bilgileri: G...P...A...C....

Anne Yaşı:
Kaçınıcı çocuk:

BAŞVURU (6 Ay, 24 hafta)

Ad, Soyad: Yaş: Gestasyonel yaş: Cinsiyet:

Ağırlık: Boy: Baş çevresi:
Doğum ağırlığı: Doğum boyu: Doğum baş çevresi:

Doğumunuz nasıl gerçekleşti?: Normal vajinal yol sezaryen
Doğum öncesi kanamanız oldu mu?(gebeliğin 6. ayından sonra): Evet Hayır
Gebelikte sizde kansızlık tespit edildi mi: Evet Hayır
Doğum sırasında ya da hemen sonrasında aşırı kanamanız oldu mu?
(Doktor tarafından söylenmiş) Evet Hayır
Hamilelikte demir kullandınız mı? Evet Hayır Ne kadar süre kullandınız?
Lohusalıkta demir kullandınız mı? Evet Hayır Ne kadar süre?
Ailede kan hastalığı olan var mı? Evet Hayır

Anne eğitim düzeyi:

Okula gitmemiş İlköğretim lise üniversite

Annemesleği:

Baba eğitim düzeyi:

Okula gitmemiş İlköğretim lise üniversite

Baba mesleği:

Aylık toplam gelir: < 500 TL 500-1000 TL 1000-2000 TL >2000 TL Değişken

Evdeki toplam birey sayısı:

4 aylık iken demir başlandı mı? Evet Hayır (hayır ise B'ye geç)

A. -Demir düzenli verildi mi?: Evet Hayır

-Demire bağlı görülen yan etkiler:

Kabızlık İştahsızlık kusma ishal Aşırı gaz huzursuzluk diğer:

B. Kabızlık İştahsızlık kusma ishal Aşırı gaz huzursuzluk diğer:

- Son gelişinizden bu yana ishal , ateşli hastalık , öksürüklü hastalık veya idrar yolu enfeksiyonu geçirdi mi? Evet Hayır
- Evet ise yatarak tedavi gördü mü? Evet Hayır
- Nasıl besleniyor? Sadece anne sütü Anne sütü + mama Sadece mama

Hb		Hct		MCV		RDW	
Ferritin		Demir		FeBK		Transferrin Saturasyonu	

TAS-TOS , Comet assay için kan ayrılacak.

6- KAYNAKÇA

1. Bruno de Benoist, Erin McLean, Ines Egli, Cogswell. M: **Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005, WHO Global Database of Anemia**. 2008.
2. Ozdemir N: **Iron deficiency anemia from diagnosis to treatment in children**. *Turk pediatri arsivi* 2015, **50**(1):11-19.
3. Chattopadhyaya R: **Oxidative damage to DNA constituents by iron-mediated Fenton reactions--the thymidine family**. *Journal of biomolecular structure & dynamics* 2014, **32**(1):155-169.
4. Takami T, Sakaida I: **Iron regulation by hepatocytes and free radicals**. *Journal of clinical biochemistry and nutrition* 2011, **48**(2):103-106.
5. Özmert E: **Erken çocuk gelişiminin desteklenmesi-1 Beslenme Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi** 2005, **48**:179-195.
6. **Demir Gibi Türkiye Projesi Genelgesi 2004 / 21**. In. T.C. SAĞLIK BAKANLIĞI Ana Çocuk Sağlığı ve Aile Planlaması Genel Müdürlüğü; 2004.
7. Domellof M, Braegger C, Campoy C, Colomb V, Decsi T, Fewtrell M, Hojsak I, Mihatsch W, Molgaard C, Shamir R *et al*: **Iron requirements of infants and toddlers**. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition* 2014, **58**(1):119-129.
8. Wang J, Pantopoulos K: **Regulation of cellular iron metabolism**. *The Biochemical journal* 2011, **434**(3):365-381.
9. Geissler C, Singh M: **Iron, meat and health**. *Nutrients* 2011, **3**(3):283-316.
10. Siah CW, Ombiga J, Adams LA, Trinder D, Olynyk JK: **Normal iron metabolism and the pathophysiology of iron overload disorders**. *The Clinical biochemist Reviews / Australian Association of Clinical Biochemists* 2006, **27**(1):5-16.
11. Bülbül SH: **Çocuk Beslenmesinde Demirin Yeri ve Önemi**. *Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi (STED)* 2004, **13**(12):446-450.
12. Mackenzie B, Garrick MD: **Iron Imports. II. Iron uptake at the apical membrane in the intestine**. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology* 2005, **289**(6):G981-986.
13. Collard KJ: **Iron homeostasis in the neonate**. *Pediatrics* 2009, **123**(4):1208-1216.
14. Ganz T: **Systemic iron homeostasis**. *Physiological reviews* 2013, **93**(4):1721-1741.
15. Gürdöl F, Ademoğlu E: **Biyokimya**. *Nobel Tıp Kitabevleri* 2005:613-618, 829-835.
16. Graham RM, Chua AC, Herbison CE, Olynyk JK, Trinder D: **Liver iron transport**. *World journal of gastroenterology* 2007, **13**(35):4725-4736.
17. Le Gac G, Mons F, Jacolot S, Scotet V, Ferec C, Frebourg T: **Early onset hereditary hemochromatosis resulting from a novel TFR2 gene nonsense mutation (R105X) in two siblings of north French descent**. *British journal of haematology* 2004, **125**(5):674-678.
18. Melike Sezgin Evim BB, Adalet Meral Güneş: **Demir ve Demir Metabolizması**. *Güncel Pediatri* 2012(10):65-69.
19. Rossi E: **Hepcidin--the iron regulatory hormone**. *The Clinical biochemist Reviews / Australian Association of Clinical Biochemists* 2005, **26**(3):47-49.
20. Başol G, Barutçuoğlu B, Bozdemir AE: **Demir Homeostazının Yeni Düzenleyicisi Hepsidin**. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi* 2007, **5**(3):117-125.
21. Patel M, Ramavataram DV: **Non transferrin bound iron: nature, manifestations and analytical approaches for estimation**. *Indian journal of clinical biochemistry : IJCB* 2012, **27**(4):322-332.
22. Kretchmer N, Beard JL, Carlson S: **The role of nutrition in the development of normal cognition**. *The American journal of clinical nutrition* 1996, **63**(6):997s-1001s.

23. Lozoff B, Klein NK, Nelson EC, McClish DK, Manuel M, Chacon ME: **Behavior of infants with iron-deficiency anemia.** *Child development* 1998, **69**(1):24-36.
24. Kariger PK, Stoltzfus RJ, Olney D, Sazawal S, Black R, Tielsch JM, Frongillo EA, Khalfan SS, Pollitt E: **Iron deficiency and physical growth predict attainment of walking but not crawling in poorly nourished Zanzibari infants.** *The Journal of nutrition* 2005, **135**(4):814-819.
25. ŞEYMA KAYALI: **SÜT ÇOCUKLUĞUNDA DEMİR PROFİLAKSİSİ GEREKSİNİMİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ.** Uzmanlık Tezi, T.C. DR. SAMİ ULUS KADIN DOĞUM, ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI EĞİTİM VE ARAŞTIRMA HASTANESİ, Ankara, 2010.
26. Domellof M: **Iron requirements, absorption and metabolism in infancy and childhood.** *Current opinion in clinical nutrition and metabolic care* 2007, **10**(3):329-335.
27. Baker RD, Greer FR: **Diagnosis and prevention of iron deficiency and iron-deficiency anemia in infants and young children (0-3 years of age).** *Pediatrics* 2010, **126**(5):1040-1050.
28. Domellof M, Lind T, Lonnerdal B, Persson LA, Dewey KG, Hernell O: **Effects of mode of oral iron administration on serum ferritin and haemoglobin in infants.** *Acta paediatrica (Oslo, Norway : 1992)* 2008, **97**(8):1055-1060.
29. Singh NP, Danner DB, Tice RR, Brant L, Schneider EL: **DNA damage and repair with age in individual human lymphocytes.** *Mutation research* 1990, **237**(3-4):123-130.
30. Demirbag R, Yilmaz R, Gur M, Kocyigit A, Celik H, Guzel S, Selek S: **Lymphocyte DNA damage in patients with acute coronary syndrome and its relationship with severity of acute coronary syndrome.** *Mutation research* 2005, **578**(1-2):298-307.
31. Aktuglu Y: **Tüberküloz ders notları.** *Cerrahpaşa Tıp Fakültesi* 1992, **3**(2):124-135.
32. Brenner AV, Wang Z, Kleinerman RA, Wang L, Zhang S, Metayer C, Chen K, Lei S, Cui H, Lubin JH: **Previous pulmonary diseases and risk of lung cancer in Gansu Province, China.** *International journal of epidemiology* 2001, **30**(1):118-124.
33. Erel O: **A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions.** *Clinical biochemistry* 2004, **37**(2):112-119.
34. Erel O: **A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status.** *Clinical biochemistry* 2005, **38**(12):1103-1111.
35. Harma M, Harma M, Kocyigit A, Erel O: **Increased DNA damage in patients with complete hydatidiform mole.** *Mutation research* 2005, **583**(1):49-54.
36. Lonnerdal B, Georgieff MK, Hernell O: **Developmental Physiology of Iron Absorption, Homeostasis, and Metabolism in the Healthy Term Infant.** *The Journal of pediatrics* 2015, **167**(4 Suppl):S8-s14.
37. Algarin C, Nelson CA, Peirano P, Westerlund A, Reyes S, Lozoff B: **Iron-deficiency anemia in infancy and poorer cognitive inhibitory control at age 10 years.** *Developmental medicine and child neurology* 2013, **55**(5):453-458.
38. Prof. Dr. S. Songül YALÇIN, Prof. Dr. Güliden PEKCAN, Dr. Basak TEZEL, Öğr. Gör. Dr. Eda KÖKSAL, Dr. Sema ÖZBAS, Prof. Dr. Kardiye YURDAKÖK, Prof. Dr. Bahattin TUNÇ, Dr. A. Tanju ALTUNSU, Dr. M. Rifat KÖSE, Uzm. Dr. Turan BUZGAN *et al*: **12-23 AYLIK ÇOCUKLARDA DEMİR KULLANIM ARAŞTIRMASI RAPORU.** *Ana Çocuk Sağlığı ve Aile Planlaması Genel Müdürlüğü, Sağlık Bakanlığı* 2009.
39. Niederau C, Strohmeyer G, Stremmel W: **Epidemiology, clinical spectrum and prognosis of hemochromatosis.** *Advances in experimental medicine and biology* 1994, **356**:293-302.
40. Adams PC, Deugnier Y, Moirand R, Brissot P: **The relationship between iron overload, clinical symptoms, and age in 410 patients with genetic hemochromatosis.** *Hepatology (Baltimore, Md)* 1997, **25**(1):162-166.
41. Deugnier YM, Guyader D, Crantock L, Lopez JM, Turlin B, Yaouanq J, Jouanolle H, Campion JP, Launois B, Halliday JW *et al*: **Primary liver cancer in genetic hemochromatosis: a clinical, pathological, and pathogenetic study of 54 cases.** *Gastroenterology* 1993, **104**(1):228-234.

42. Gama R, Smith MJ, Wright J, Marks V: **Hypopituitarism in primary haemochromatosis; recovery after iron depletion.** *Postgraduate medical journal* 1995, **71**(835):297-298.
43. van Asbeck BS, Verbrugh HA, van Oost BA, Marx JJ, Imhof HW, Verhoef J: **Listeria monocytogenes meningitis and decreased phagocytosis associated with iron overload.** *British medical journal (Clinical research ed)* 1982, **284**(6315):542-544.
44. Carniel E, Mazigh D, Mollaret HH: **Expression of iron-regulated proteins in Yersinia species and their relation to virulence.** *Infection and immunity* 1987, **55**(1):277-280.
45. Bullen JJ, Spalding PB, Ward CG, Gutteridge JM: **Hemochromatosis, iron and septicemia caused by Vibrio vulnificus.** *Archives of internal medicine* 1991, **151**(8):1606-1609.
46. Lind T, Lonnerdal B, Stenlund H, Ismail D, Seswandhana R, Ekstrom EC, Persson LA: **A community-based randomized controlled trial of iron and zinc supplementation in Indonesian infants: interactions between iron and zinc.** *The American journal of clinical nutrition* 2003, **77**(4):883-890.
47. Jaeggi T, Kortman GA, Moretti D, Chassard C, Holding P, Dostal A, Boekhorst J, Timmerman HM, Swinkels DW, Tjalsma H *et al*: **Iron fortification adversely affects the gut microbiome, increases pathogen abundance and induces intestinal inflammation in Kenyan infants.** *Gut* 2015, **64**(5):731-742.
48. Fujita N, Sugimoto R, Takeo M, Urawa N, Mifuji R, Tanaka H, Kobayashi Y, Iwasa M, Watanabe S, Adachi Y *et al*: **Hepcidin expression in the liver: relatively low level in patients with chronic hepatitis C.** *Molecular medicine (Cambridge, Mass)* 2007, **13**(1-2):97-104.
49. Majumdar I, Paul P, Talib VH, Ranga S: **The effect of iron therapy on the growth of iron-replete and iron-deplete children.** *Journal of tropical pediatrics* 2003, **49**(2):84-88.
50. Haorah J, Ramirez SH, Schall K, Smith D, Pandya R, Persidsky Y: **Oxidative stress activates protein tyrosine kinase and matrix metalloproteinases leading to blood-brain barrier dysfunction.** *Journal of neurochemistry* 2007, **101**(2):566-576.
51. Rice D, Barone S, Jr.: **Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models.** *Environmental health perspectives* 2000, **108 Suppl 3**:511-533.
52. Ke Y, Chang YZ, Duan XL, Du JR, Zhu L, Wang K, Yang XD, Ho KP, Qian ZM: **Age-dependent and iron-independent expression of two mRNA isoforms of divalent metal transporter 1 in rat brain.** *Neurobiology of aging* 2005, **26**(5):739-748.
53. Collard KJ, Godeck S, Holley JE, Quinn MW: **Pulmonary antioxidant concentrations and oxidative damage in ventilated premature babies.** *Archives of disease in childhood Fetal and neonatal edition* 2004, **89**(5):F412-416.
54. Wu LL, Zhang L, Shao J, Qin YF, Yang RW, Zhao ZY: **Effect of perinatal iron deficiency on myelination and associated behaviors in rat pups.** *Behavioural brain research* 2008, **188**(2):263-270.
55. Connor JR: **Iron regulation in the brain at the cell and molecular level.** *Advances in experimental medicine and biology* 1994, **356**:229-238.
56. Haorah J, Knipe B, Leibhart J, Ghorpade A, Persidsky Y: **Alcohol-induced oxidative stress in brain endothelial cells causes blood-brain barrier dysfunction.** *Journal of leukocyte biology* 2005, **78**(6):1223-1232.
57. Haorah J, Knipe B, Gorantla S, Zheng J, Persidsky Y: **Alcohol-induced blood-brain barrier dysfunction is mediated via inositol 1,4,5-triphosphate receptor (IP3R)-gated intracellular calcium release.** *Journal of neurochemistry* 2007, **100**(2):324-336.
58. Domellof M, Lonnerdal B, Abrams SA, Hernell O: **Iron absorption in breast-fed infants: effects of age, iron status, iron supplements, and complementary foods.** *The American journal of clinical nutrition* 2002, **76**(1):198-204.

59. Leong WI, Bowlus CL, Tallkvist J, Lonnerdal B: **DMT1 and FPN1 expression during infancy: developmental regulation of iron absorption.** *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology* 2003, **285**(6):G1153-1161.
60. Leong WI, Bowlus CL, Tallkvist J, Lonnerdal B: **Iron supplementation during infancy--effects on expression of iron transporters, iron absorption, and iron utilization in rat pups.** *The American journal of clinical nutrition* 2003, **78**(6):1203-1211.