

T.C.
BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**Katılma Nöbeti Olan Hastalarda
Oksidatif Durum ve DNA Hasarının
Araştırılması**

Dr. Alper GÜLEŞ

Prof. Dr. AKIN İŞCAN

İSTANBUL

(2015)

T.C.
BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ

**KATILMA NÖBETİ OLAN HASTALARDA
OKSİDATİF DURUM VE DNA HASARININ ARAŞTIRILMASI**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Alper GÜLEŞ

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı

DANIŞMAN

Prof. Dr. AKIN İŞCAN

Bu araştırma Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Birimi

Tarafından Desteklenmiştir.

(Proje no: 3.2014/29)

İSTANBUL-2015

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

Tezimin hazırlanmasında katkılarını esirgemeyen Prof. Dr. Akın İŞCAN, Prof. Dr. Abdurrahim KOÇYİĞİT, Araştırma Görevlisi Dr. Sıddıka KESGİN ve Dr. Serhat ÖZKAN'a, bu çalışmayı maddi olarak destekleyen Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Uzmanlık eğitimim süresince hiçbir konuda desteğini esirgemeyerek beni teşvik edip yönlendiren Çocuk Sağlığı ve Hastaları A.B.D. Başkanı Prof. Dr. Ruşen Dünderöz, Prof. Dr. Faruk ÖKTEM, Prof. Dr. Yaşar CESUR, Doç. Dr. Selim GÖKÇE, Doç. Dr. İlker Tolga ÖZGEN, Doç. Dr. Erkan ÇAKIR, Doç. Dr. Betül ÇAKIR, Doç. Dr. Mustafa NURSOY, Doç. Dr. Emin ÖZKAYA, Doç. Dr. Özden TÜREL, Yrd. Doç. Dr. Selman GÖKALP, Yrd. Doç. Dr. Emel TORUN, Yrd. Doç. Dr. Selçuk UZUNER, Yrd. Doç. Dr. Bilge BAYRAKTAR'a, Dr. Ayşegül Doğan DEMİR ve Dr. Nilüfer GÖKNAR'a teşekkür ederim.

Klinikteki çalışmalarımda yardımlarını esirgemeyen ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum değerli arkadaşlarım Çocuk Kliniği asistanlarına, hemşirelerine ve personeline teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

KATILMA NÖBETİ OLAN HASTALARDA OKSİDATİF DURUM VE DNA HASARININ ARAŞTIRILMASI

Oksidatif stres reaktif oksijen türevleri ile antioksidan sistem arasında oluşan dengesizliktir. Bu dengesizlik hücre kompartımanlarında geri dönüşümsüz hasara neden olabilir. Katılma nöbeti olan hastalarda oksidatif stresin arttığı gösterilmiştir. Bu çalışmada artan oksidatif stresin DNA hasarına yol açabileceği düşünülerek katılma nöbeti olan hastalarda serum demir, folik asit ve vitamin B12 düzeyleri ile total oksidan seviye (TOS), total antioksidan seviye (TAS) ve mononükleer lökosit DNA hasarını belirlemeyi amaçladık.

Yaş, cinsiyet bakımından birbirine benzer 40 katılma nöbeti olgusu ve 30 kontrol grubu çalışmaya dahil edildi. Plazma TAS, TOS, vitamin B12, folik asit ve demir seviyeleri ticari kit kullanılarak kolorimetrik yöntemle, periferal mononükleer lökosit DNA hasarı alkalen tekli hücre elektroforez yöntemi (comet assay) ile analiz edildi. Oksidatif stres indeksi (OSİ) hesapla bulundu.

Katılma grubunda TOS, OSİ ve mononükleer lökosit DNA hasar seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksek ($p < 0.05$), TAS düzeyi ise anlamlı derecede düşük bulundu ($p < 0.05$). Katılma grubunda TOS ile DNA hasarı arasında anlamlı derecede pozitif korelasyon tespit edildi ($r=0,287$, $p < 0.05$). Katılma nöbeti grubu ile kontrol grubu arasında demir, vitamin B12 ve folik asit eksiklikleri açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$).

Bu çalışmada sonuç olarak katılma nöbeti vakalarında oksidatif stres ve DNA hasarı artmış, antioksidan kapasite azalmış olarak bulunmuştur. Artan oksidatif stres ve DNA hasarının sonuçları bakımından yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF OXIDATIVE STATUS AND DNA DAMAGE IN THE CHILDREN WITH BREATH-HOLDING SPELLS

Oxidative stress is the imbalance between reactive oxygen species and antioxidant system. These imbalances can cause irreversible damage to the cells. Oxidative stress was demonstrated to be increased in pediatric patients in literature. Depending on the cause of increased oxidative stress can lead to DNA damage, in this study we aimed to investigate serum folic acid, vitamin B12 and iron values with total oxidant status (TOS), total antioxidant status (TAS) and DNA damage in pediatric patients with breath-holding spells.

We evaluated age and sex matched 40 study and 30 control cases in this study. DNA strand breaks in peripheral blood mononuclear leukocytes were assayed by single-cell alkaline gel electrophoresis (comet assay). Plasma TAS, TOS, folic acid, vitamin B12 and iron values were analyzed by colorimetric method using a commercial kit.

In study group, the plasma mean TOS, DNA damage and OSI values were increased compared with controls ($p < 0,05$). The plasma TAS values were decreased in control group compared with study patients ($p < 0,05$). There were statistically positive correlations between the plasma TOS and DNA damage values in the study group ($r=0,287, p < 0,05$). There was no statistically significant difference in terms of iron, folic acid and vitamin B12 deficiencies between the study and control group ($p > 0,05$).

In conclusion we demonstrated that oxidative stress and DNA damage were increased and antioxidant capacity was decreased in children with breath-holding spells. Future studies are needed to show oxidative stress and DNA damage in children with breath-holding spells.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	V
ÖZET	VI
ABSTRACT.....	VII
İÇİNDEKİLER	VIII
KISALTMALAR.....	X
TABLolar DİZİNİ	XII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XII
GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	3
2.1.Nonepileptik Paroksizmal Olaylar	3
2.2.Katılma Nöbeti.....	5
2.2.1.Klinik özellikler	5
2.2.2.Katılma nöbeti tipleri	6
2.2.3.Etiyoloji.....	7
2.2.4.Prognoz	10
2.2.5.Tanı	10
2.2.6.Tedavi.....	11
2.3.Oksidatif Metabolizma.....	12
2.3.1.Serbest radikaller.....	13
2.3.2.Total oksidatif seviye (TOS).....	17
2.3.3.Antioksidanlar	17
2.3.4.Total antioksidan seviye (TAS)	22
2.3.5.Oksidatif stres ile DNA’da oluşan hasarlar ve hasar mekanizmaları.....	23
2.4.Demir Eksikliği Anemisi	23
2.4.1.Demir eksikliğinin nedenleri.....	24
2.4.2.Demir eksikliğinin klinik bulguları.....	26
2.4.3.Demir eksikliğinin evreleri	27
2.4.4.Labaratuvar bulguları.....	28
2.4.5.Tedavi.....	29
2.5.Vitamin B12.....	31
2.5.1.B12 Vitamininin fizyolojik önemi	31

2.5.3.B12 Vitamini eksikliğinin nedenleri	31
2.5.4.B12 Vitamini eksikliğinin bulguları	31
2.5.5.Yenidoğanda ve süt çocuklarında vitamin B12 eksikliği.....	32
2.5.6.B12 Vitamini eksikliğinin tanısı	35
2.5.7.B12 Vitamini eksikliği tedavisi.....	37
2.6.Folik Asit.....	38
2.6.1.Folik asitin fizyolojik nemi	38
2.6.2.Folik asit eksikliğinin nedenleri	38
2.6.3.Folik asit eksikliğinin bulguları	39
2.6.4.Folik asit eksikliğinin laboratuvar bulguları	41
2.6.5.Folik asit eksikliğinin tedavisi	42
3.GEREÇ VE YÖNTEM	42
3.1.Katılımcıların Seçimi	43
3.2.Çalışma Yöntemi.....	44
3.3.Verilerin Analizi ve Değerlendirme.....	46
4.BULGULAR.....	46
5.TARTIşMA	52
6.SONUÇLAR	56
7.KAYNAKLAR	58

KISALTMALAR

AU	: Arbitrary Unit
Ca	: Kalsiyum
CAT	: Katalaz
Cbl	: Kobalamin
Co	: Cobalt
CoA	: Koenzim A
DE	: Demir eksikliği
DEA	: Demir eksikliği anemisi
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EEG	: Elektroansefalogram
EKG	: Elektrokardiyogram
EPO	: Eritropoetin
GABA	: Gamma aminobutirik asit
GSH-Px	: Glutasyon peroksidaz
Hb	: Hemoglobin
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
IF	: İntrensek faktör
IgA	: Immünglobulin A
KTA	: Kalp tepe atımı
LDH	: Laktat dehidrogenaz
MCH	: Ortalama eritrosit hemoglobini
MCV	: Ortalama eritrosit hacmi
MCHC	: Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu
MeCbl	: Metil kobalamin
MI	: Miyokard infarktüsü
OH ⁻	: Hidroksil anyonu
OSİ	: Oksidatif Stres İndeksi
RDW	: Eritrosit dağılım genişliği
ROT	: Reaktif oksijen türevleri
SOD	: Süperoksit dismutaz

TAS : Total antioksidan kapasite
THF : Tetrahidrofolat
TK : Transkobalamin
TOS : Total oksidatif stres

TABLolar DİZİNİ

Tablo 1 Nonepileptik paroksizmal olayların yaşa göre sınıflandırılması.....	4
Tablo 2 Reaktif oksijen ürünleri.....	14
Tablo 3 Antioksidan savunma sistemleri	21
Tablo 4 B12 vitamini eksikliğinin nedenleri	34
Tablo 5 Folik asit eksikliğinin nedenleri	40
Tablo 6 Hasta ve kontrol gruplarının yaş, cinsiyet dağılımları	47
Tablo 7 Katılma nöbeti hastalarının nöbet tiplerine göre dağılımı	47
Tablo 8 Nöbet tiplerine göre aylık atak sıklığı.....	48
Tablo 9 Katılma nöbeti grubu ve kontrol grubunun DNA hasar skoru ile TAS, TOS, OSİ düzeylerinin karşılaştırılması.....	49
Tablo 10 DNA hasar skoru ile TAS, TOS arasındaki korelasyon.....	49
Tablo 11 Katılma nöbeti tiplerinde ile DNA hasar skoru, TAS, TOS, OSİ değerleri.....	50
Tablo 12 Katılma grubu ve kontrol grubunun B12 vitamini ve folik asit eksikliği açısından karşılaştırılması	50

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1 Demir eksikliği anemisi ile katılma nöbeti arasındaki patofizyoloji.....	9
Şekil 2 Serbest radikallerin oluşumu ve enzimatik detoksifikasyonu.	20
Şekil 3 DNA ile TOS arasındaki pozitif korelasyon.....	50

GİRİŞ VE AMAÇ

Katılma nöbeti çocukluk çağında görülen nonepileptik paroksizmal olayların en yaygın olanıdır. Sağlıklı çocukların %0,1-4,6'sında görülmekte olup, hastalık sıklıkla 6-18 aylar arasındaki dönemde başlar (1).

Katılma nöbetlerinde patofizyoloji net değildir. Buna yönelik yapılan araştırmalarda otonom sinir sistemi disregülasyonunun katılma nöbetinde etiolojide yer aldığı gösterilmiştir (2,3). Katılma nöbeti ile demir eksikliği anemisi arasında paralellikler bulunmuş olup yine aynı çalışmalarda suplemental demir tedavisinin otonom sinir sistemi disregülasyonunu azalttığı gösterilmiştir (4). Başka bir çalışmada ise demir eksikliği anemisinin tedavisi ile katılma nöbeti sıklığında azalma gösterilmiştir (5). Bazı çalışmalarda oksidatif stres ve demir eksikliği anemisi arasındaki ilişki ortaya konmuş olup; demir eksikliği anemisinde prooksidanların arttığı ve antioksidanların azaldığı gösterilmiştir (6,7,8). Literatürde katılma nöbeti olan hastalarda etiolojide demir eksikliği anemisinin bulunduğu birçok çalışmada gösterildiğinden çalışmamızda hasta ve kontrol gruplarının demir eksikliği anemisi açısından değerlendirilmesi hedeflendi.

B12 eksikliğinde nörolojik bulguların ana nedeni sinir hücrelerindeki ilerleyici demiyelinizasyondur (9). Eksikliğinde yenidoğan, süt çocuğu, erken ve geç çocukluk dönemlerinde farklı nörolojik problemler ortaya çıkar. Nöromotor gelişimde gerileme, huzursuzluk, uykuya eğilim, zihinsel gerilik, ensefalopati, nistagmus, nöbetler, spastik parezi (subakut kombine dejenerasyon), ekstrapiramidal bulgular ve nöropati bu dönemlerde B12 vitamini eksikliği sonucu görülebilmektedir (10). Folik asit eksikliğinde ise görülen homosistein artışı nöron hücrelerine toksiktir (11). Homosistein depresyon, Alzheimer hastalığı ve vasküler demansı içeren bazı nörolojik hastalıklar için bir risk faktörüdür (12). Bu iki vitaminin eksikliği ile nörolojik hastalıklar arasındaki ilişki doğrultusunda çalışmamızda hasta ve kontrol grupları arasında vitamin B12 ve folik asit eksikliklerini belirlemeyi planladık.

Oksidatif stresin nörodejeneratif hastalıklarda, epilepsi, beyin hasarı ve nörotravmada etiolojide rol oynadığı gösterilmiştir (13). Katılma nöbetinde oksidatif durumun etiolojideki yerine ilişkin çalışmalar yeterli değildir. Yakın zamanda buna yönelik yapılan bir çalışmada katılma nöbeti olan hastalarda oksidatif stres kontrol grubuna göre yüksek saptanmıştır (14).

Birçok çalışmada artmış oksidatif stresin farklı mekanizmalarla DNA hasarına yol açtığına dair veriler bulunmaktadır (15). DNA hasarının hastalıklarla ilgili patogenezdaki yeri ve rolü üzerine hala birçok çalışma yapılmakta olup henüz elimizde net veriler bulunmamaktadır. Literatürde katılma nöbeti olan hastalarda DNA hasarı ile ilgili yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Bu veriler doğrultusunda çalışmamızda katılma nöbeti vakalarında antioksidan durum, oksidatif stres ile DNA hasarı varlığının belirlenmesi amaçlanmıştır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.Nonpileptik Paroksismal Olaylar

Epilepsi tekrarlayan konvülsiyonlarla karakterize bir durumdur. Konvülsiyon beynin aşırı ve anormal nöronal aktivitesi sonucu ortaya çıkan semptomlardır. Epilepsi tanısı konulmadan önce konvülsiyon olarak tarif edilen olayın nonpileptik paroksismal olaylardan birine bağlı gelişen bir durum olabileceği düşünülmelidir. Epileptik nöbetlerde beynin belirli kısmındaki bir grup hipersensitif nöronun ani deşarjı sonucu aniden ortaya çıkan motor, duysal otonomik ya da pisişik semptomlar meydana gelir. Nonpileptik paroksismal olaylar ise; parasomnialar, hareket bozuklukları, davranışsal-psikiyatrik rahatsızlıklar, solunumsal-gastrointestinal disfonksiyonlardan kaynaklanan abartılı fizyolojik yanıtlardır (16).

Nonpileptik paroksismal olaylar çocukluk ve adölesan dönemlerinde sık olarak görülmektedir. Fakat bu çeşitli paroksismal olayların insidansına dair elimizde çok az veri bulunmaktadır. Birçok pediatrik epilepsi merkezi epilepsi tanısı ile gönderilen hastaların %20'sinde olayın epileptik nöbet olmadığını tespit etmişlerdir (17). Nonpileptik paroksismal olayların epileptik nöbetlerden ayrılması gereksiz antiepileptik ilaç kullanımının engellenmesi açısından çok önemlidir.

Çocuklarda nonpileptik paroksismal olayların görülme şekli ve sıklığı yaşa göre değişkenlik göstermektedir (18), (Tablo 1).

Epilepsi tanısı genellikle klinik olarak konmakta, tanıda görgü şahitlerinden dikkatlice alınan anamnez çok önemlidir. EEG epilepsileri sınıflamada bizlere değerli bilgiler vermektedir. EEG epilepsi ve nonpileptik paroksismal olayları birbirinden ayırmada fayda sağlayabilir. Epilepside patolojik olabilen rutin interiktal EEG nonpileptik paroksismal olaylarda çoğunlukla normaldir (19). Buna karşın bazı epilepsi tanılı hastalarda EEG normal, bazı sağlıklı kişilerde de elektroensefalografik anormallikler görülebilmektedir (20). Nonpileptik paroksismal olayları epileptik nöbetlerden ayırmak için uzun video-EEG çekimi yapılması gerekmektedir. Bu işlemde en az bir tipik olay, kaliteli bir görüntü ve EEG ile kaydedilmelidir. Böylelikle hasta ile olay anında iletişim kurma şansı olabilir, özellikle de psikojenik nöbetlerde bizlere tanısal yaklaşımda fayda sağlayacaktır. (21).

Tablo 1 Nonpileptik paroksizmal olayların yaşa göre sınıflandırılması

YAŞ	NONEPİLEPTİK PAROKSİZMAL OLAYLAR	ANORMAL HAREKET VE POSTÜR	OCULOMOTOR ANORMALLİKLER	UYKU BOZUKLUKLARI
Yenidoğan	-Apne -Hiperpleksi -Jitteriness -Paroksizmal aşırı ağrı bozukluğu	-Jitteriness -Paroksizmal distonik koreatetoz	-Paroksizmal tonik yukarı bakış -Çocukluk çağı alterne hemiplejisi	-Yenidoğanın benign uyku myoklonisi -Uykuya dalış bozuklukları
İnfant	-Hiperpleksi -Refleks anoksik nöbetler - Katılma nöbeti -Benign paroksizmal vertigo -Patolojik ürperti -Paroksizmal aşırı ağrı bozukluğu	-Jitteriness -Sandifer - Paroksizmal distonik koreatetoz -Erken infantil benign myokloni -Ürperti atağı -Benign paroksizmal tortikollis -Psikolojik bozukluklar -Çocukluk çağı alterne hemiplejisi -İlaç reaksiyonları -Jactatio capitis	-Paroksizmal tonik yukarı bakış -Oculomotor apraksi -Spasmus nutans -Opsoklonus-myoklonus sendromu	-Non-REM uykudan parsiyel uyanma bozukluğu -Narkolepsi -Uykuya dalma bozuklukları (Somnambulizm, somniloquy)
Çocuk ve adölesan	-Benign paroksizmal vertigo -Patolojik ürperti -Kompulsif valsalva -Çocukluk çağı alterne hemiplejisi -Ailesel hemiplejik migren -Senkop (uzun QT, vasovagal, vagovagal, migren-induced) -Psikojenik nöbetler -Katapleksi -Geçici global amnezi -Hiperventilasyon nöbetleri	-Tik -Tremor -Paroksizmal diskinezi -Benign paroksizmal tortikollis -Epizodik ataksi -Psikolojik bozukluklar; Munchausen by Proxy, malingering -Masturbasyon -Jactatio capitis (uykuda baş vurma) -Epizodik öfkelenme -İlaç reaksiyonları	-Uyurgezerlik -İlaç reaksiyonları	-Non-REM uykudan parsiyel uyanma bozukluğu -REM uyku bozukluğu -Narkolepsi -Uykuya dalma bozuklukları (Somnambulizm, somniloquy) -Uyku myoklonisi-Huzursuz bacak sendromu

2.2.Katılma Nöbeti

Katılma nöbetleri ilk kez 1737 yılında Nicholas Culpepper tarafından ifade edilmiştir. 19. Yüzyılda pediatrik literatürde klinik özellikleri büyük ölçüde tanımlanmıştır. Günümüze kadar yapılan çalışmalar bu olayların patofizyolojisini daha iyi anlamamıza yardım etmiştir.

Katılma nöbetleri çocukluk çağında sık karşılaşılan nonepileptik paroksizmal olaylardandır. Bu olaylar benign karakterde olup olay anına tanıklık eden aileler için çoğu zaman korkutucu olmaktadır. Bu olayların epileptik nöbetlerden ayrımı hastanın yanlış bir şekilde uzun süre antiepileptik ilaç kullanmasını engelleyecektir.

2.2.1.Klinik özellikler

Katılma nöbeti sağlıklı çocukların %0,1-4,6'sında görülebilmekte olup, sıklıkla 6-18 aylar arasındaki dönemde başlar (2). Buna karşın yaşamın ilk haftalarında da tanı konan vakalar bildirilmiştir (22). %10'dan daha azının 2 yaşından sonra başladığı görülmüştür (23). Kız, erkek insidansı hemen hemen benzer olmakla beraber erkeklerde hafifçe belirgin olduğunu öne süren yayınlar bulunmaktadır (23). Katılma nöbeti olan vakalarda aile öyküsü %20-35 arasında olup, bazı ailelerde otozomal dominant geçiş gösterilmiştir (2,3). Katılma nöbeti genellikle 1-3dk kadar sürer. Nöbet sonrası görülen bilinç kaybı genellikle 30 saniyeyi geçmez. Nöbet aralığında bakılan EEG çoğunlukla normaldir. Geçirilen nöbet sıklığı değişken olup bazı vakalarda gün içerisinde sayısız kez olmaktadır, bazılarında yılda bir kez görülmektedir. Başlangıçtan sonra nöbet sıklığı artar ve nöbetlerin en sık görüldüğü dönem yaşamın ilk iki yılıdır. (2,15)

Katılma nöbetleri olay esnasında hastanın cilt rengindeki değişmeye göre sınıflandırılır. Siyanotik, soluk ve mikst olmak üzere 3 tipi vardır. Siyanotik tip genel olarak daha sık görülmektedir. Lambrosso ve Lerman tarafından yapılan çalışmada hastaların %62'sinin siyanotik, %19'unun soluk ve %19'unun mikst tip nöbet geçirdiği saptanmıştır (26).

2.2.2.Katılma nöbeti tipleri

Siyanotik Tip

Bu tipte nöbetler sıklıkla emosyonel (öfke, yaralanma, sinirlenme, istediğini elde edememe, korkma vb.) bir uyarı ile tetiklenir. Bu çoğu zaman önemsiz, hafif bir uyarıdır (24). Nöbetler ağlama ile başlar, istemsiz bir şekilde derin bir inspiriyumun ardından ekspiriyum sonrası nefes tutulur. Ekspiriyumdaki bu duraklama uzun sürerse apne ve siyanoz gelişir. Bunun ardından sıklıkla tonus azalması, bilinç kaybı meydana gelir. Sonra ani derin bir iç çekme veya normal nefes alma ile biter (25).

Siyanotik tip katılma nöbet geçiren bir çocukta nöbet anı sine-florografi ile izlendiğinde diyaframın ekspiriyumda olması beklendiği gibi yukarıda ve apne süresince hareketsiz olduğu gözlenmiştir. Ekspiriyum süresince artmış intratorasik basınç ile birlikte yardımcı solunum kaslarının ve glottisin spazmı izlenmiştir. Artmış intratorasik basınca bağlı olarak kardiyak output azalır ve buna sekonder olarak serebral perfüzyon azalmaktadır (25). Başka bir çalışmada şiddetli ağlamanın hipokapni meydana getirmesi sonucu serebral kan akımını azalttığı belirtilmiştir (26). Kripton infüzyonu ile yapılan diğer bir çalışmada patofizyolojide intrapulmoner shunt ve buna sekonder uzamış ekspiratuvar apne sorumlu tutulmaktadır (27).

Soluk Tip

Soluk tip siyanotik tipe göre daha az görülmekte olup epileptik nöbetlerle daha fazla karışmaktadır. Bu tipte çoğunlukla hafif bir düşme sonrası, başını çarpma veya vücudun üst kısımlarına alınan minör darbeler sonrası bilinç kaybı gelişmektedir (24). Aileler çoğunlukla nöbet öncesi durumları spontan olarak belirtmedikleri için klinisyenler bunu dikkatlice sorgulamalıdır. Minör travma sonrası bilinç kaybı genellikle 30sn kadar sürmekte olup bu iki olay arasındaki bağlantı önemlidir. Bilinç kaybıyla birlikte nefes istemsiz olarak tutulur, hastanın rengi soluklaşır, terler ve tonus kaybı olur. Eğer bu süreç birkaç dakikayı geçerse ekstremitelerde tonus artışı, inkontinans ile birlikte düşük amplitüdü klonus görülebilir. Tüm nöbet süreci bir dakikadan az sürse de takip eden süreçte hasta genellikle konfüze ve uykuya meyillidir.

Soluk tipte patofizyolojide refleks vagal-kardiyak bradikardi sorumlu tutulmaktadır. EKG’de nöbet anında eşlik eden bradikardi ve kısa süreli asistol görülebilir. Asistol süresinin demir eksikliği varlığında nöbet tipinden bağımsız olarak uzadığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (32). Bu hastalarda EKG monitörizasyonu eşliğinde 10 sn. kadar oküler basınç

uygulandığında bradikardinin eşlik ettiği tipik bir soluk atak gözlemlenmiştir (21). Hastaların yaklaşık %15’inde süresi 30 saniyeyi geçmeyen hipoksiye sekonder tonik-klonik hareketler görülebilmektedir (2).

Mikst Tip

Bu tip nöbet daha az sıklıkla görülmekle beraber hastalarda bazen siyanotik, bazen de soluk tipte atak görülür.

2.2.3.Etiyoloji

Katılma nöbeti için bugüne kadar çokça yayınlar yapılmış olsa da etyolojisi henüz tam anlamıyla anlaşılamamıştır. Davranışsal problemler ve emosyonel faktörlerin katılma nöbeti etiyolojisindeki yeri birçok klinisyen tarafından araştırılmıştır. Katılma nöbetleri *Abt* tarafından ‘nöropatik ailelerin nöropatik çocukları’ olarak tanımlanmıştır (1918). Daha sonraları katılma nöbetlerinin aile-çocuk arasındaki bozulmuş ilişki sebebiyle ortaya çıktığı düşünülmüş. Bunu destekleyen bir çalışmada katılma nöbeti olan hastaların %30’nda anormal davranışlar, ani öfkelenme, hiperaktivite ve inatçılık huyları olduğu bildirilmiştir (30). Buna karşın yapılmış diğer bir çalışmada katılma nöbeti olan grup ve kontrol grubu arasında davranış profili olarak fark bulunmamıştır. Aynı çalışmada katılma nöbetinin huysuz ve zor bir çocukluktan kaynaklanmayıp istemsiz olarak ortaya çıktığı ortaya konmuştur (32).

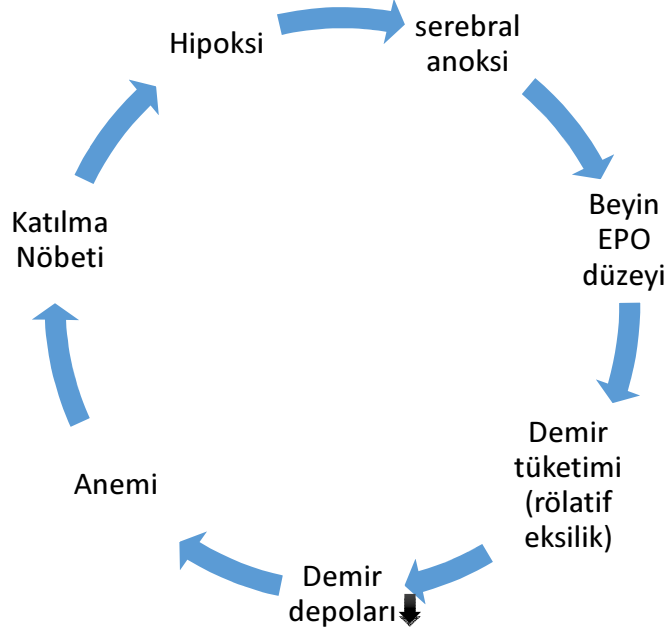
Katılma nöbeti olan hastalarda birçok çalışmada otonom sinir sistemi disregülasyonu olduğu gösterilmiştir (23,31,34). Ortalama arter basıncı, KTA (kalp tepe atımı), EKG ve plazma norepinefrin düzeylerinin katılma nöbeti olan hastalar ve kontrol gruplarında pozisyona bağlı değişimlerinin araştırıldığı bir çalışmada katılma nöbeti olan hastalarda yatar pozisyondan ayağa kalkma manevrasıyla ortalama arter basıncında belirgin bir düşüş, KTA’nda aralıklı yükseliş saptanmıştır (33).

Demirin merkezi sinir sistemindeki nörotransmitter sentezinde ve enzim fonksiyonlarında kofaktör olarak rol aldığı bilinmektedir (34). Gerek demir eksikliği anemisi, gerekse sadece demir eksikliğinin kalıcı nörolojik problemlere yol açabileceği bilinmektedir (35,36). Demir eksikliğinde eritrosit yapımının etkilenmesinden çok önce merkezi sinir sistemindeki demirde düşüş olur. Günümüze kadar yapılan çalışmalarda demirin beyinde gerek gri, gerekse beyaz cevherde bulunduğu ve sıklıkla oligodendrositlerde olduğu

bildirilmiştir. Oligodendrositler beyinde myelin kılıf oluşumunda rol alan hücrelerdir. Demir, kolesterol ve lipid biyosentezinde görev alan bir kofaktör olduğu için myelin yapımında gereklidir. Demir eksikliğinin gecikmiş myelinizasyon dışında dopamin, serotonin ve nöradrenalin gibi nörotransmitterlerin sentezi, fonksiyonu ve degranülasyonu için gerekli olan demir bağımlı enzimlerin aktivitesi üzerine olumsuz etkileri saptanmıştır (35).

Demir eksikliği anemisi ile katılma nöbetleri arasındaki ilişki ilk olarak bir retrospektif çalışmada ortaya konmuştur (37). Demir eksikliği olan çocukların irritabl olmaları, bu sebeple de daha kolay ağlamalarına bağlı olarak katılma nöbeti sıklığı artar (23). Ayrıca düşük hemoglobin düzeyleri ve azalmış oksijen taşıma kapasitesinin sonucunda daha hızlı gelişen serebral anoksi de katılma nöbetlerinde demir eksikliği ve demir eksikliği anemisinin rolü açısından önem taşımaktadır (35). Serum transferrin reseptör düzeyleri katılma nöbetinde demir eksikliği durumunu ortaya koymada yardımcı olabilir. Demir eksikliğini anemi oluşmadan saptamaya yönelik yapılan bir çalışmada serum transferrin reseptör düzeyleri yüksek bulunmuştur (116). Daoud ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada da katılma nöbetinde demir eksikliğinin önemini, demirin katekolamin metabolizmasında ve nörotransmitter fonksiyonundaki rolü ile açıklamıştır (34).

Tekrarlayan katılma nöbetleri serebral anoksiyle birlikte hipoksik epizotlara sebep olur. Serebral anoksiye bağlı olarak ekstremitelerde kısa süreli tonik-klonik hareketler oluşabilir. Serebral anoksiye uzamış ve koruyucu cevap olarak beyin EPO üretimi artar. Artan eritropoezise bağlı olarak demir tüketimi artar, rölatif olarak demir depoları azalmış olur. Bu zaman içerisinde hastada anemi meydana gelir. Bununla birlikte irritabl davranışlarda artma, bu sebeple de nöbet sıklığında artış görülür. Bu teori aynı zamanda anemik olmayan çocuklarda neden katılma nöbeti olduğunu da açıklayabilir (Şekil 1). Bu hastalarda tüm vücuttaki total demir miktarında azalma olmayıp, demir dağılımı ve depolarında rölatif bir azalma söz konusudur (23,35).



Şekil 1 Demir eksikliği anemisi ile katılma nöbeti arasındaki patofizyoloji

Oksidatif stres vücudumuzdaki prooksidan ve antioksidan sistemler arasındaki dengenin prooksidanlardan yana arttığı bir durumdur. Oksidatif stres terimi, sonunda hücre hasarı ile sonuçlanan serbest radikallerin ve diğer aktif moleküllerin ortaya çıktığı bir düzine kimyasal reaksiyon olarak tanımlanır (39). Artmış oksidatif stresin birçok nörolojik durum, nörodejeneratif hastalıklar, Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, amyotropik lateral sklereoz ve epilepsi patogenezinde rol aldığı gösterilmiştir (39).

Epilepsi ve oksidatif stres arasındaki ilişki yakın zamanlarda yapılan çalışmalarla ortaya konmuştur (41,42,43). Oksidatif stresin katılma nöbeti etiyopatogenezinde oynadığı rol bugüne kadar sadece bir çalışmada yer almıştır (44). Bu çalışmanın sonucunda katılma nöbeti olan hastalarda oksidatif stres kontrol grubuna göre yüksek saptanmıştır. Aynı çalışmada katılma nöbeti olan hasta grubunda demir eksikliği olan ve olmayanlar arasında oksidatif stres karşılaştırılmış, demir eksikliği olan hastalarda oksidatif stresin artmış olduğu gösterilmiştir.

Mikrositik kırmızı kan hücreleri üzerine serbest radikallerin oksidatif hasar yaptığı bilinmektedir (44). Demir eksikliği anemisinde lipid peroksidasyonunun arttığına dair çalışmalar bulunmasına karşın konu hala tartışmalıdır (44,46).

2.2.4.Prognoz

Katılma nöbeti sıklığı genellikle hayatın ikinci yılında azalmaktadır. 4 yaşından sonra ise %50 hastada tekrar nöbet görülmemekte. Neredeyse tüm hastalarda 7-8 yaşlarından sonra tekrar nöbet görülmemektedir (23). Hastaların nörolojik gelişimlerinin de normal olduğu izlenmiştir (50). Bazı çalışmalarda katılma nöbeti olan hastaların geç çocukluk döneminde senkop atakları yaşadıkları gözlenmiştir (26). Başka bir çalışmada da katılma nöbeti olan hastaların %29,4'ünde konsantrasyon problemleri saptanmıştır (47).

Katılma nöbetlerinin tetiklediği ya da başlattığı epileptik nöbetler ilk kez 1983 yılında Stephenson tarafından gündeme getirilmiştir (47). Eğer apne uzun sürerse dekortike ve deserebre postür oluşabilir. Birkaç hastada artmış tonusu takiben meydana gelen tonus kaybı, klonik aktivite ve uzamış bilinç kaybıyla karakterize jeneralize motor nöbet görüldüğü bildirilmiştir (28,29). Rett sendromunda katılma nöbeti ve epilepsinin birlikte olabildiği gösterilmiştir (48). Riley-Day sendromunda ise katılma nöbetinin epileptik nöbetlere dönüştüğü gözlenmiştir (49). Katılma nöbeti sonrası epileptik nöbet, hatta status epileptikus görüldüğünü bildiren çalışmalar bulunmaktadır (28,29,57).

2.2.5.Tanı

Katılma nöbeti için henüz tanısal bir test bulunmamaktadır. Ailelerden alınan detaylı anamnez tanıda önemlidir. Genel olarak katılma nöbeti tanısı konulurken epilepsi ile ayrımı zor olabilmektedir. Katılma nöbeti öncesinde provoke edici bir olay (başa darbe alma, ağlama) bulunurken, epilepside böyle bir durum yoktur. Olay sırasında cilt renginin soluk ya da siyanotik olması katılma nöbeti için tipiktir. Katılma nöbeti ve diğer nonepileptik paroksizmal olaylar için video EEG zorlu vakalar için tanısal fayda sağlayabilir.

Ayırıcı tanıda senkop ve uzun QT sendromu da düşünülmelidir. Eğer nöbetler sık ve uzun sürüyorsa, irkilme veya travmatik olmayan uyarılar ile provoke oluyorsa, ailede senkop veya ani ölüm öyküsü varsa daha çok uzun QT sendromu açısından geniş kardiyak inceleme yapılmalıdır (51).

Demir eksikliği anemisinin katılma nöbeti olan hastalarda sık görülmesi nedeniyle tam kan sayımı, ferritin, demir bağlama kapasitesi, transferrin saturasyonu bakılması

gerekmektedir (52). Bazı çalışmalarda solubl transferrin reseptör seviyesinin demir eksikliğinde hastalıkların etkisinden bağımsız olarak tanı koymada yardımcı olabildiğine dair görüşler bildirilmiştir. (54).

2.2.6.Tedavi

Tedavide ailelere katılma nöbetlerinin benign olduğunu anlatmak önemlidir. Nöbet anında çocuğun kaldırılarak yan yatar pozisyona getirilmesi serebral anoksi süresini kısaltabilmektedir. Sinirlenme, korkma gibi emosyonel durumlar katılma nöbetini tetikleyebilir. Aileler nöbeti tetikleyecek bu durumlardan çekinerek geleneksel çocuk yetiştirme disiplinlerinden vazgeçmemelidir (23). Katılma nöbeti geçiren bir annenin yaşadığı stresin çocuğu epileptik nöbet geçiren bir anneye göre daha fazla olduğu saptanmıştır. Çocuğu katılma nöbeti geçiren aileler çocuk büyütme ve eğitimi açısından anormal davranışlar gösterebilirler (53). Bu sebeple aileleri stres yönetimi ve çocuk yetiştirme yetenekleri açısından profesyonel birimlere yönlendirmeliyiz.

Klinik çalışmalar ve gözlemler demir eksikliği anemisi veya yalnızca demir eksikliği olan katılma nöbeti hastalarına demir tedavisini önermektedir (3,5,52). Tam remisyon %32-52 arasında hastada görülebilmektedir. Doz olarak 5-6mg/kg/gün ferröz sülfat oral olarak önerilmektedir (52). Tedavi süresi klinik olarak nöbetlerin gerilemesi ve aneminin tedavisi ile belirlenmelidir.

Antiepileptik ilaçların katılma nöbetinde sıklığı azaltmadığı ancak sık olarak sekonder anoksik nöbet geçirenlerde kullanılabileceği belirtilmektedir (2,55). GABA derivesi olan pirasetamin (40-50mg/kg/gün, iki dozda) iki randomize kontrollü çalışmada katılma nöbeti sıklığını azalttığı gösterilmiştir (56). Fakat bu ilaç yeni olmasıyla birlikte demire göre tedavi maliyeti çok dahalı olmaktadır. Ayrıca çocuklar üzerinde kullanımına ilişkin veriler yeterli değildir.

Uzamış infantil senkopla beraber çok sık soluk tip katılma nöbeti geçiren bazı hastalarda nöbetlerde yaşamı tehdit eden bradikardi veya asistol eşlik etmesi sebebiyle atropin ve kardiyak pacemaker uygulanmıştır (2,58,59). Bu 1-5 yaş arası küçük grup hastada antikolinerjik, antiepileptik, teofilin vb. tedaviler denenmiş olup başarı sağlanamamıştır. Pacemaker uygulaması birçok bradikardi ve asistol atağını önlemesine karşın katılma

nöbetleri sıklığını azaltmadığı görülmüştür. Bu hasta gruplarında pahalı olmayan, non-invaziv, elde edilebilir bir tedavi yaklaşımı her zaman önce tercih edilmelidir. Demir tedavisi bu bakış açısıyla kriterleri karşılamakta olup katılma nöbeti sıklığını azaltmak için ilk seçenek olarak kullanılmalıdır.

Yakın zamanda yapılmış olan bir vaka çalışmasında glikopirolat ve teofilin tedavisi ile katılmaya eşlik eden bayılma ve refleks anoksik nöbetlerde gerileme sağlanmış, bu sayede hastada pacemaker uygulamasına gereksinim ortadan kalkmıştır (59).

Başka bir çalışmada da davranış problemleri sergileyen aile ve çocuk ile yapılan bir çalışmada doğru bir psikolojik yardım ile katılma nöbeti sıklığında azalma görülmüştür (29).

Katılma nöbeti olan hastalarda uykuda solunum bozuklukları görülebilmektedir (60,61). Polisomnografi ile izlendiğinde üst havayolu darlığı ve anormal solunum paterni gösterdikleri için hastalara cerrahi olarak adenotonsillektomi yapılmıştır. Cerrahi sonrası uyku solunum bozukluklarının kaybolduğu görülmüştür (61).

2.3.Oksidatif Metabolizma

Radikal olmayan bir atom veya molekülden bir elektron çıkmasıyla veya bir elektron ilave edilmesiyle serbest radikaller oluşur. Serbest radikaller organizmada normalde meydana gelen yükseltgenme ve indirgenme tepkimeleri süresince meydana gelir. Bunun dışında çeşitli dış kaynaklı faktörler nedeniyle de oluşabilir (62). Aerobik organizmalar için serbest radikallerin başlıca kaynağı ise oksijendir. Yaşam enerjisi için oksijenin de içinde bulunduğu indirgenme tepkimeleri sonucunda oksidan denilen zararlı atıklar oluşur ve bu zararlı atıkların etkileri, antioksidanların yardımıyla yok edilir. Oksidanların yararlı işlevleri bulunsa bile genel olarak yıkım ürünlerinin sebep olduğu biyolojik hasarlar için “oksidatif stres” denmektedir (63). Oksidatif stres, vücudun antioksidan savunması ile hücrelerin lipid tabakasının peroksidasyonuna neden olan serbest radikal üretimi arasındaki dengesizliktir (64).

Oksidatif stres günümüzde birçok hastalığın patofizyolojisinde suçlanmaktadır. Oksidatif stresin genellikle karbonhidrat, protein, lipid ve DNA metabolizması üzerindeki toksik etkilerinden dolayı hastalıklara yol açtığı düşünülmektedir. Oksidanlar merkezi sinir

sisteminde de hücre zarı patolojileriyle ilişkilidir ve nöropsikiyatrik bozukluklarda önemli rol oynayabilirler. Oksidanlar hücre zarıyla ilişkili proteinlerle tepkimeye girerek enzimler veya nörotransmitterlerin alımını engelleyerek hastalığa yatkınlaştırıcı bir etmen olabilirler (65). Hücre zarının akışkanlığını ve geçirgenliğini bozarak zar bütünlüğünün bozulmasına neden olurlar (66).

Biyolojik sistemlerde oksidanların kaynağı genel olarak oksijendir ve reaktif oksijen türevleri (ROT) olarak da isimlendirilirler (67). ROT aşırı miktarda üretildiğinde veya enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidan savunma sistemleri yetersiz kaldığında zincirleme tepkimelerle hücre hasarı veya ölümü gerçekleşebilir (68). Biyolojik sistemdeki ROT'lar; hidroksil radikalleri (OH), süperoksit anyonu (O_2^-), singlet O_2 , hidrojen peroksit (H_2O_2) ve hipoklorik asit (HOCl) ile nitrik oksit ve peroksil radikali (ROO) oksidatif strese rol oynayan en önemli serbest radikallerdir (69).

2.3.1.Serbest radikaller

Bir veya daha fazla eşleşmemiş elektrona sahip, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanırlar. Serbest radikal üretimi birçok fizyolojik ve patolojik olayın bir parçasıdır, fizyolojik metabolizmada sentezlenebildikleri gibi eksojen olarak da alınabilirler. Oksidatif stres doğal bir süreçtir, oksijene ihtiyaç duyan tüm canlı sistemlerde, çeşitli basamaklarda oluşmaktadır. Oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılabilmesi için reaktif formlara çevrilmesi zorunludur. Mitokondride aerobik solunumda kullanılan oksijenin % 2-5'i bu tür tepkimelerde kullanılmak üzere serbest oksijen radikallerine dönüştürülür. Hücrelerin metabolik fonksiyonlarını yerine getirebilmesi için serbest oksijen türevlerinden faydalanılır. Serbest radikaller zararlı etkilerinin yanında vücut için gerekli birçok fonksiyonun gerçekleşmesinde önemli rol oynarlar. Süperoksit anyonu, hidroksil radikali ve hidrojen peroksit gibi moleküller serbest radikallere örnek olarak verilebilirler (70,71). Organizmada serbest radikallerin oluşum hızı ile bunların reaksiyonlar ile ortadan kaldırılma hızı bir denge içerisinde ve bu durum oksidatif denge olarak adlandırılır. Oksidatif denge sağlandığı sürece organizma, serbest radikallerden korunmaktadır. Bu radikallerin oluşum hızında artma ya da ortadan kaldırılma hızında bir azalma, bu dengenin bozulmasına neden olur. Elektron transport zincirinde moleküller

oksijene tek elektron transferiyle oluşan superoksit anyonu, SOD katalizörlüğünde hidrojen peroksida, bu da katalaz ve selenoenzim olan Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) katalizörlüğünde suya redüklenerek detoksifiye edilir. Stres, yaşlılık, beslenme bozukluğu, sigara gibi birçok faktörün etkisi altında serbest radikal üretimindeki artış ve/veya antioksidan sistem aktivitesindeki azalma sonucu zararlı etkiler ortaya çıkar (72).

Süperoksit anyonunun detoksifikasyonunu katalize eden SOD, hidrojen peroksidin suya redüklenmesini katalize eden katalaz ve selenoenzim olan glutasyon peroksidaz enzimlerini enzimatik sisteme, A, C ve E gibi vitaminler ve glutasyon gibi tripeptidler ve nonenzimatik antioksidan sisteme örnek olarak verilebilir (70,71).

Oksijen derivesi serbest radikaller, ateroskleroz, diyabet, epilepsi, inflamatuvar hastalıklar ve kanser gibi pek çok hastalığın patogeneğinde rol oynamaktadır (73). Serbest radikaller tarafından indüklenmiş lipid peroksidasyonu, hücrenin lizisi ile sonuçlanan hücre membran hasarının temel nedenlerinden biridir. Oluşan reaktif ara ürünlerin hepsi radikal değildir (72). Bu özellikleri ile reaktif oksijen ürünleri iki ana başlık altında incelenmektedir. Radikal olmayan bileşiklerin de kimyasal aktivitesi oldukça yüksektir (71,72).

<i>Radikaller</i>	<i>Radikal olmayanlar</i>
Süperoksit (O ₂)	Hidrojen Peroksit (H ₂ O ₂)
Hidroksil (OH)	Hipokloroz asit (HCOI)
Nitrik oksit (NO)	Peroksinitrit (ONOO)
Lipit peroksil (LOO)	Lipit hidroperoksit(LOOH)
	Singlet oksijen O ↓

Tablo 2 Reaktif oksijen ürünleri

Serbest radikallerin biyolojik hedefleri ve dokular üzerindeki etkileri

- a) DNA' nın tahrip olması
- b) Nükleotit yapılı koenzimlerin yıkımı
- c) Lipit peroksidasyonu zar yapısı ve fonksiyonunun değişmesi

- d) Enzim aktivitelerinde ve lipit metabolizmasındaki değişiklikler
- e) Proteinlerle ve lipitlerle kovalan bağlantılar yapması
- f) Zar proteinlerinin tahribi, taşıma sistemlerinin bozulması
- g) Yaşlılık pigmenti denilen bazı maddelerin birikimi
- h) Proteinlerin tahrip olması ve protein yıkımının artması
- i) Tiollere bağımlı enzimlerin yapı ve fonksiyonlarının bozulması, hücre ortamının tiol/disülfid oranının değişmesi
- j) Kollojen ve elastin gibi uzun ömürlü proteinlerdeki oksido-redüksiyon olaylarının bozularak kapillerlerde aterofibrotik değişikliklerin oluşması
- k) Mukopolisakkaritlerin yıkımı

Serbest oksijen radikallerinin tüm bu etkilerinin sonucunda hücre hasarı oluşur. Hücrede ROT ve serbest radikallerin artışı hücre hasarının önemli bir nedeni sayılır. Serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarının birçok kronik hastalığın komplikasyonlarına katkıda bulunabileceği yapılan çalışmalarla düşünölmektedir. Aterogenez, amfizem/bronşit, parkinson hastalığı, epilepsi, duchenne tipi musküler distrofi, gebelik preeklampsisi, serviks kanseri, alkolik karaciğer hastalığı, hemodiyaliz hastaları, diyabetes mellitus, akut renal yetmezlik, down sendromu, yaşlanma, serebrovasküler bozukluklar, iskemi/reperfüzyon hasarı gibi durumlarda serbest oksijen radikallerinin neden olduğu hücre hasarı söz konusudur (74).

Serbest radikallerin lipitlere etkileri

Membran lipitlerindeki doymamış yağ asitlerinin ROT tarafından oksidasyonu lipit peroksidasyonu olarak bilinmektedir. Hücrelerin ROT'ne karşı en hassas kısımları lipitlerdir. Hücre membranlarında lipid serbest radikalleri ve lipid peroksid radikallerinin oluşması ROT'nin neden olduğu hücre hasarının önemli bir sonucudur.

Serbest radikallerin neden olduğu lipid peroksidasyonuna 'nonenzimatik lipid peroksidasyonu', araşidonik asit metabolizması sonucu oluşan serbest radikallerinden olduğu lipit peroksidasyonuna ise 'enzimatik lipit peroksidasyonu' denir (70). Lipid radikallerinin moleküler oksijenle (O₂) etkileşmesi sonucu lipit peroksid radikalleri ve moleköl içi çift bağ pozisyonlarının değişmesiyle konjuge dien yapıları oluşur. Lipit peroksid radikalleri membran

yapısındaki diğer poliansatüre yağ asitlerini etkileyerek yeni lipid radikallerinin oluşumuna yol açarken kendileri de açığa çıkan hidrojen atomlarını alarak lipit hidroperoksitlerine dönüşürler. Böylece olay kendi kendini katalizleyerek devam eder. Oluşan bileşiklerden biri olan malondialdehid (MDA), membranlarda çapraz bağlanma ve polimerizasyona neden olarak esneklik kaybı, iyon transportu, enzim aktivitesinde bozukluklar ve hücre yüzey determinantlarının agregasyonu gibi pek çok patolojiye yol açar. Sonuçta hücre zarının akışkanlığını ve permeabilitesini azaltarak zar bütünlüğünün bozulmasına yol açarlar. Lizozomal membranların hasarı hidrolitik enzimlerin salınması ve intrasellüler sindirimle sonuçlanır. Biriken hidroperoksitler direkt olarak toksik etki göstermenin yanı sıra duyarlı aminoasit kalıntılarını (metiyonin, histin, sistein, lizin) okside eder veya zincir polimerizasyon reaksiyonlarıyla enzimleri inaktive edebilirler. Lipit peroksidasyonunun neden olduğu membran hasarı geri dönüşümsüzdür (70).

Nonenzimatik lipit peroksidasyonu çok zararlı bir zincir reaksiyonudur. Direkt olarak membran yapısına ve ürettiği reaktif aldehitlerle indirekt olarak diğer hücre bileşenlerine zarar verir. Böylece doku hasarına ve birçok hastalığa neden olur. Lipit peroksidasyonu ateroskleroz, kanser, diyabetes mellitus, MI gibi birçok hastalığın ve yaşlanmanın patogeneğinde önemli rol oynar (70).

Serbest radikallerin proteinlere etkileri

Proteinler serbest radikal harabiyetine karşı lipitlerden daha az hassasiyet gösterirler. Proteinlerin serbest radikal hasarından etkilenme derecesi içerdikleri amino asit kompozisyonlarına bağlıdır. Bu etki sonucunda özellikle sülfür radikalleri ve karbon merkezli organik radikaller meydana gelir. Bu reaksiyonlar sonucu yapıları bozulan proteinler normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Enzimler de protein yapısında olduklarından enzim aktivitelerinde de (glutatyon redüktaz, gliseraldehid 3 fosfat dehidrogenaz gibi) değişiklikler meydana gelir (76)

Serbest radikallerin DNA'ya etkileri

Oluşan serbest radikaller, DNA'yı etkileyerek hücrede mutasyona ve ölüme yol açarlar. Sitotoksisite, büyük oranda, ya nükleik asit-baz modifikasyonlarından oluşan kromozom değişikliklerine ya da DNA'daki diğer bozukluklara bağlıdır.

Serbest radikallerin karbonhidratlara etkileri

Serbest radikallerin karbonhidratlara etkisiyle oluşan ürünler çeşitli patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelirler. Oluşan bu ürünler diyabet patogeneğinde oldukça önemlidir.

2.3.2.Total oksidatif seviye (TOS)

Bilinen pek çok metotla serum ya da plazmadaki oksidan moleküllerin konsantrasyonları ayrı ayrı ölçülebilmektedir. Oksidan stresin arttığı durumlarda artan bu moleküllerin oksidan etkileri birbiri üzerine eklenebilir. Ayrıca tek tek ölçümden ziyade total ölçümün daha pratik olacağı düşünülerek tüm oksidanların durumunu yansıtabilecek bir yöntem geliştirilmiştir. Bu metotla in vitro TOS ölçümü yapılabilmektedir. Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir. Vücudumuzda mevcut oksidan ve antioksidan dengenin oksidanlar lehine bozulması sonucu meydana gelen patolojik durum oksidatif stres olarak adlandırılır. Oksidatif stresin toplam değeri Total Oksidatif Seviye (TOS) olarak ifade edilir. Bu durum, aşırı miktarda reaktif oksijen radikali ve/veya nitrojen radikallerinin oluşumu veya antioksidan tampon sisteminin yetersizliği sonucu ortaya çıkar. Reaktif oksijen ve nitrojen radikallerinin seviyelerindeki artış ise hücrelere toksik etki yapar ve hücrenin lipit, protein ve DNA benzeri moleküllerine zarar verir (76,79).

2.3.3.Antioksidanlar

Serbest radikallerin ve antioksidanların düzeyleri arasında hassas bir denge bulunmaktadır. Bu denge korunamadığı takdirde, hücre hasarına kadar giden birçok patolojik değişiklik ortaya çıkmaktadır. Serbest radikallerin bu zararlı etkilerine karşı organizmada savunma mekanizmaları vardır. Bu koruyucu mekanizmaların bir kısmı serbest radikal oluşumunu önlerken, bir kısmı da oluşmuş serbest radikallerin zararlı etkilerini önlemektedir. Bu işlevleri yapan maddelere genel olarak 'antioksidanlar' olaya da 'antioksidan savunma sistemi' denir.

Antioksidanlar 4 farklı mekanizma ile oksidanları etkisizleştirirler.

- ❖ Temizleme etkisi: Oksidanları zayıf bir moleküle çevirme,
- ❖ Baskılama etkisi: Oksidanlara bir hidrojen aktararak etkisiz hale getirme,
- ❖ Onarma etkisi,
- ❖ Zincir koparma etkisi: Oksidanları bağlayarak fonksiyonlarını engelleme.

Antioksidanlar, endojen kaynaklı veya ekzojen kaynaklı olabilirler (78). Endojen antioksidanlar, enzim ve enzim olmayanlar olmak üzere iki sınıfa ayrılırlar:

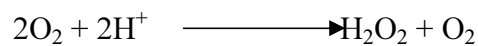
❖ **Enzim olan endojen antioksidanlar:** Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon S-transferazlar (GST), katalaz (CAT), mitokondriyal sitokrom oksidaz sistemi, hidroperoksidaz.

❖ **Enzim olmayan endojen antioksidanlar:** Melatonin, seruloplazmin, transferin, myoglobin, hemoglobin, ferritin, bilirubin, glutatyon, sistein, metionin, urat, laktoferrin, albümin. Ekzojen antioksidanlar, vitaminler, ilaçlar ve gıda antioksidanları olmak üzere sınıflandırılabilirler.

Enzimatik antioksidanlar

Süperoksit dismutaz (SOD)

SOD hücre içi kuvvetli bir antioksidan enzimdir. Süperoksit serbest radikalinin hidrojen peroksit ve moleküler oksijene dönüşümünü katalize eden antioksidan enzimdir. SOD'ın fizyolojik fonksiyonu oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalinin (O₂) lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intrasellüler öldürülmesinde de rol oynar (78).



Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) , Glutatyon redüktaz (GR)

Glutatyon peroksidaz sitozolde bulunur, 4 selenyum atomu içerir, tetramerik yapıdadır. Redükte glutatyonu okside glutatyona dönüştürürken aynı zamanda H₂O₂'de suya çevirir.

Okside glutasyon ise glutasyon redüktaz (GR) enzimi aracılığı ile NADPH kullanılarak yeniden redükte glutasyona dönüştürülür (79). Ortamda H₂O₂ düşük yoğunlukta ise GSH-Px, katalaza göre daha aktiftir.

Glutasyon S-transferazlar (GST)

Glutasyon S-transferazlar (GST), lipid peroksitlerine karşı selenyum bağımsız GSH -Px aktivitesi göstererek bir antioksidan savunma mekanizması oluştururlar.

Mitokondriyal sitokrom oksidaz

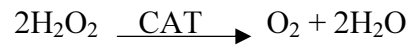
Mitokondriyal sitokrom oksidaz solunum zincirinin son enzimidir ve süperoksidi (O₂) detoksifiye eder (80).

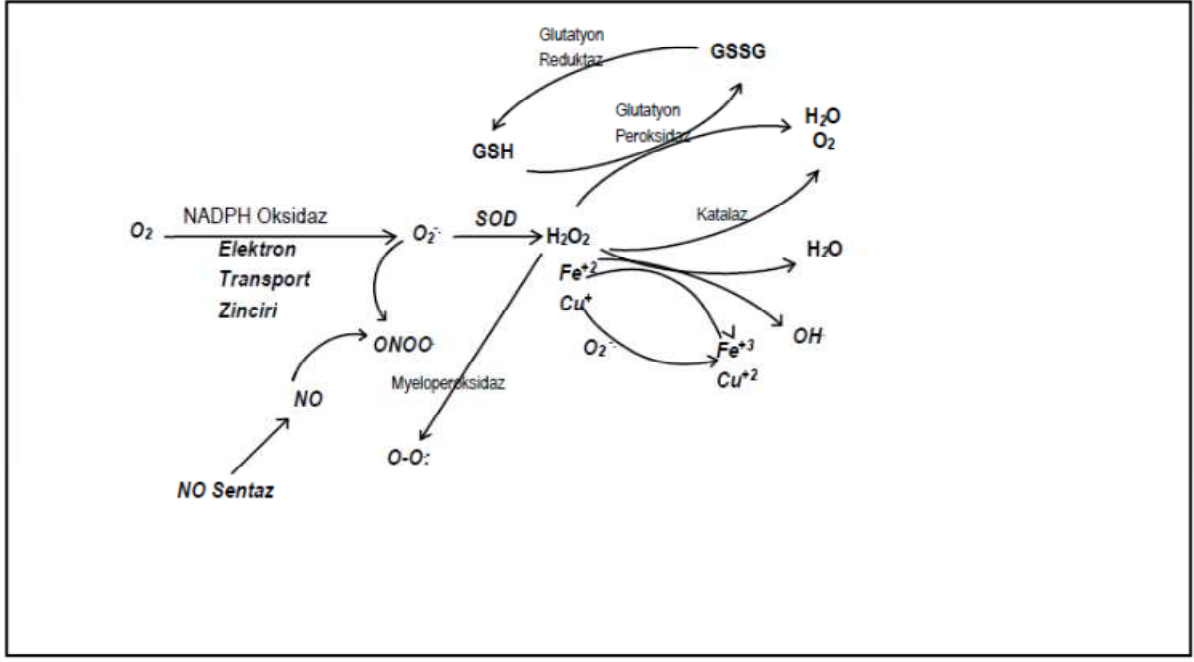
Glutasyon (GSH)

Glutasyon karaciğerde sentezlenebilen bir tripeptit yapısındadır. Glutasyon hem endojen ve eksojen kaynaklıdır. Glutasyon, GSH-Px için substrat olup reaktif oksijen türevlerinin detoksifikasyonunda görev almakta, serbest radikaller ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korumaktadır. Glutasyon eksikliği hücre ölümüne yol açar.

Katalaz (CAT)

Katalaz oksidoredüktaz, yapısında dört tane hem grubu bulunan bir hemoproteindir. Katalaz hidrojen peroksidi suya ve oksijene parçalar. Hücrede oluşan hidrojen peroksidi hidroksil serbest radikali oluşumunu önlemek için ortadan kaldırır, H₂O₂'yi suya dönüştürür.





Şekil 2 Serbest radikallerin oluşumu ve enzimatik detoksifikasyonu.

Nonenzimatik Antioksidanlar

Vitamin C (Askorbik asit)

Askorbik asit, güçlü indirgeyici aktivitesinden dolayı güçlü bir antioksidandır. Süperoksit radikali ve hidroksil radikali ile reaksiyona girerek onları ortamdaki uzaklaştırır. Askorbik asit antioksidan etkisi ile birlikte oksidan etki de gösterebilir. Bu özelliğinden dolayı vitamin C, serbest radikal reaksiyonlarının önemli bir katalizörü veya bir prooksidan olarak değerlendirilir. Ancak bu tip etkisinin sadece düşük konsantrasyonlarda görüldüğü, yüksek konsantrasyonlarda güçlü bir antioksidan olarak etki ettiği tespit edilmiştir.

Vitamin E (α -tokoferol)

Vitamin E (α -tokoferol) çok güçlü bir antioksidandır, hücre membran fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini serbest radikal etkisinden koruyan ilk savunma ürünü olarak görev yapar. Vitamin E süperoksit ve hidroksil radikallerini, singlet oksijeni, lipid peroksit radikallerini ve diğer radikalleri indirger.

Glutasyon peroksidaz ile vitamin E, serbest radikallere karşı birbirlerini tamamlayıcı özelliktedirler (80).

Karotenoidler

Karotenoid bitkilerde ve bazı diğler fotosentetik mikroorganizmalarda yosunlar, bazı mantarlar ve bazı bakterilerde bulunmakta ve pigment yapısındadırlar. Ksantofiller ve karotenler olarak iki sınıfa ayrılır. İnsanlar ve hayvanlar karotenoidleri sentezleyemediklerinden dolayı onları beslenme yoluyla elde etmek zorundadırlar. En yaygın karotenoidler likopen ve A vitamininin öncülü olan β -karotendir (80).

Koenzim Q10

Yağda çözünen bir antioksidan olup O_2 'i temizleyerek endotelial disfonksiyonu azaltır.

Serüloplazmin

İki değerlikli demirin üç değerlikli demire yükseltgenmesini böylece fenton reaksiyonunu inhibe eder. Serbest radikal oluşumu da inhibe edilmiş olur.(81)

Transferrin

Dolaşımdaki serbest demiri bağlayarak fenton reaksiyonunu önler (82).

Melatonin

Triptofandan sentezlenir, lipofiliktir, OH radikalini temizler.

Tablo 3 Antioksidan savunma sistemleri

1-)Süpürücü Antioksidanlar	2-)Enzimatik Antioksidanlar	3-)Sentetik Antioksidanlar	4-)Koruyucu Antioksidanlar
Askorbik asit	Katalaz	N_asetilsitein	Transferin
Alfa tokoferol	Paraksonaz	Allopurinol	Albumin
Tiyoller	Süperoksit dismutaz	Probakol	Seruloplazmin
Beta-karoten	Glutasyon peroksidaz	Penisilamin	Ferritin
Ürik asit		Deferoksamin	
Ko-enzim Q		Butil hidroksitoluen	

2.3.4. Total antioksidan seviye (TAS)

Normal şartlarda organizma, endojen ve/veya eksojen nedenlerle meydana gelen serbest radikaller ve bu radikallere bağılı olarak gelişen oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan savunma sistemine sahiptir. Total antioksidan kapasitenin büyük bir kısmı plazmada bulunan antioksidan moleküllerle oluşturulur. Serbest demiri toplayan transferrin ve seruloplazmin gibi antioksidanların yanında serbest radikalleri kapan zincir kırıcı antioksidanlarda plazmada bulunmaktadır. Albümin, ürik asit ve askorbik asit gibi antioksidanlar ise plazmadaki total antioksidan seviyenin % 85'inden fazlasını meydana getirir. Çünkü bu antioksidanlar bilirubin, α -tokoferol, flavinoidler, indirgenmiş glutatyon ve β karoten gibi antioksidanlara oranla plazmada daha yüksek seviyelerde bulunur. Antioksidanlar plazmada kendi aralarında da etkileşim içindedirler. Bu etkileşimler sayesinde antioksidanlar tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla antioksidan etki gösterebilmektedir. Glutatyonun askorbatı, askorbatın da α -tokoferölü yeniden aktifleştirmesi bu sinerjistik etkiye örnek olarak gösterilebilir. Vücutta oluşan oksidan durumların tamponize edilmesinde kan çok önemli bir rol oynamaktadır. Kan, antioksidanların tüm vücuda dağıtılmasını sağlar. Bundan dolayıdır ki total antioksidan durumun belirlenmesi antioksidanların ayrı ayrı ölçülerek belirlenmesinden çok daha değerlidir (83,84).

Reaktifler

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik bir yöntem olup güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir metottur (76).

Reaktif-1: 75 mM Clark tamponu (pH=1,8) içerisinde 10 mM o-Dianisidine ve 45 AM Fe(NH₄)₂(SO₄)₂·6H₂O çözümlere hazırlanır.

Reaktif-2: 7,5 mM hidrojen peroksit 75 mM Clark tamponu (pH=1,8) içerisinde karıştırılarak hazırlanır.

Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Organizmadaki oksidan/antioksidan dengesini gösterir. TOS değerlerinin TAS değerlerine oranlanarak bulunur ve oksidatif stresin derecesinin göstergesi olarak kullanılır (85,87).

$$OSİ(AU) = (TOS)/(TAS)$$

2.3.5.Oksidatif stres ile DNA’da oluşan hasarlar ve hasar mekanizmaları

Genetik materyalde eksojen ya da endojen sebeplerle meydana gelen tüm değişiklikler “DNA hasarı” olarak adlandırılır. DNA’da hasara neden olan endojen etkenler; yanlış eşleşmeler, insersiyon ve delesyonlar, deaminasyon ve metilasyon gibi kimyasal değişiklikler, depürinasyon/depirimidinasyon gibi baz kayıpları, replikasyon hataları ve oksidatif hasarlardır. Eksojen etkenler ise kimyasal ajanlar (aflotoksin, benzopren, kemoterapi ilaçları, alkilleyici ajanlar, vinil klorid, mustard gazları gibi) ve fiziksel ajanlardır (ultraviyole radyasyon, iyonize radyasyon).

Oksidatif strese bağlı DNA hasarı iki şekilde açıklanmıştır. Birincisi OH radikali oluşumuna bağlanmıştır. Biyolojik membranları kolayca geçen H₂O₂ nükleusa penetre olur ve demir ve bakır iyonları ile reaksiyona girerek OH radikaline dönüşür. Bu mekanizma sadece OH iyonu, H₂O₂’ nin metal iyonları ile tepkimeye girip oluşturulduğunda ya da DNA’ya çok yakın olduğunda mümkün olabilir. Sonuç olarak oksidatif stres hücre içinde serbest kalsiyum miktarını artırır ve hücre içi serbest demir ve/veya bakır iyonları da artar. Bunlar da DNA’ya bağlanıp, oksidatif hasar için DNA’yı hedef haline getirirler (87).

Ayrıca OH radikali DNA’nın şeker parçaları ile karbon atomlarından bir H atomu ayırarak tepkimeye girer. Buna ilave olarak oluşan bu karbon merkezli şeker radikalleri ile çeşitli şeker ürünleri, baz-şeker radikalleri ile abazik bölgeler, zincir kırıkları ve DNA-protein çapraz bağlantıları meydana gelir. OH radikali pürin ve pirimidin bazları ile de etkileşir ve bu bazlarda değişik modifikasyonların oluşmasına neden olur (88).

DNA hasarını açıklayan ikinci yol ise hücre içinde tetiklenen, DNA’nın yapısını parçalayan nükleaz enziminin aktivasyonuna öncülük eden metabolik olaylardır. Oksidatif stresin hücre içi Ca miktarını artırması ve Ca bağımlı endonükleaz aktivasyonu ile programlı hücre ölümüne (apoptozis) benzer bir mekanizma ile DNA hasarı olur (87).

2.4.Demir Eksikliği Anemisi

Demir eksikliği anemisi, alınan demirin hemoglobin yapımı için yetersiz olması şeklinde tanımlanabilir. Dünyada aneminin en sık görülen nedeni demir eksikliğidir. Demir eksikliği yaşamın her döneminde görülmekle birlikte küçük çocuklar ve kadınlarda daha sık

saptanmaktadır; alınan demir miktarı ile gereksinim arasındaki dengesizlik esas nedendir. Çocuklarda hızlı büyüme, gebelikte artan demir gereksinimi ve menstruasyon demir eksikliğini ortaya çıkaran fizyolojik nedenlerdir. Adölesan kızların yaklaşık %2'sinde hızlı büyüme ve menstrual kanama nedeniyle DEA(demir eksikliği anemisi) görülmektedir. Dünyanın her ülkesinde demir eksikliği bildirilmekte; sıklık oranı toplumdan topluma değişmektedir (89).

2.4.1.Demir eksikliğinin nedenleri

Alım Eksikliği: Yenidoğanlar ağırlıklı olarak süt ile beslenirler. Anne sütü ve inek sütünün demir içeriği her 1000 kalori için 1,5 mg'dan düşüktür (0,5–1,5 mg/l). Anne sütü ve inek sütünün aynı derecede demirden fakir olmasına rağmen anne sütü alan süt çocuklarında bu demirin % 49'u, inek sütü alanlarda ise yaklaşık % 10'u emilir. Anne sütündeki demirin biyoyararlanımı inek sütünden çok daha fazladır (91). İnek sütünün içindeki kalsiyum ve kazein fosfopeptid, demir absorpsiyonunu doğrudan engeller.

Artmış İhtiyaç: Büyüme özellikle süt çocukluğu ve pubertede hızlanır. Kan hacmi ve vücut demiri yaşam boyunca vücut ağırlığıyla doğrudan ilişkilidir. Her 1 kg artış vücut demirinde 35–45 mg artış gerektirir. Yenidoğandaki vücut total demir miktarı 75 mg/kg'dır. Normalde doğumdaki depo zamanında doğanlarda 6 ayda, erken doğanlarda 3–4 ayda tükenecektir. Demir 4-12. aylar arasındaki hızlı büyüme için günlük ortalama 0,8 mg demir alımı gereklidir; 0,6 mg demir büyümenin devamını sağlamak, 0,2 mg ise kayıpların yerine konması için kullanılır. Diyetle alınması önerilen demir tüketimi 4-6 aylık çocuklar için 4,3 mg/gün, 7-12 aylık çocuklar için 7,8 mg/gündür (94).

Kan Kaybı: Kan kaybı demir eksikliği anemisinde özellikle de daha büyük çocuklarda her zaman düşünülmesi gerekir. Doğum öncesi, doğum ya da doğum sonrası nedenlerden dolayı olabilir. Prenatal nedenler fetomaternal kanama, plasenta arkasına ya da içine kanama, doğum öncesi fetal kan kaybı (plasenta previa, ablasyo plasenta), monokoryonik ikizlerde fetofetal kanama, plasenta anomalileri, göbek kordonunda yırtılma gibi nedenlerdir (91).

Postnatal Nedenlerden Gastrointestinal Sisteme Ait Nedenler;

- ❖ Demir eksikliği eksudatif enteropatiye neden olarak var olan demir eksikliğini artırır. Demir eksikliği olan çocukların %50'sinde gaitada gizli kan pozitifdir.
- ❖ İnek sütüne karşı aşırı duyarlılık: İnek sütü proteinleri infantlarda gastrointestinal yüzeyin irritasyonuna neden olarak kronik kanamaya neden olabilir (64). Bu nedenle infantların ilk yıl diyetinden inek sütünün çıkarılması önerilmektedir.
- ❖ Yapısal bağırsak değişiklikleri (özefagus varisleri, gastroözofagial reflü, hiatus hernisi, peptik ulcus, leimiyomata, ileit, kolit, hemoroidler, Meckel divertikülü, bağırsak duplikasyonu, herediter telenjiektazi, polipler), altta yatan bağırsak hastalığına bağlı enteropati (alerjik gastroenteropati, intestinal lenfanjiektazi gibi)
- ❖ Aspirin, adrenokortikal steroidler, indometazin, fenilbutazona bağlı gastrit.
- ❖ Bağırsak parazitleri (kancalı kurtlar örn:Necator americanus)
- ❖ Henoch-Schönlein purpurası

Kan kaybına neden olabilecek diğer durumlar hematomobilite, akciğer hemosiderozisi, Goodpasture sendromu, IgA eksikliğiyle beraber demir mobilizasyonunda bozukluk, tekrarlayan burun kanamaları, menstruel kayıp, kalp içi miksom, kapak protez veya yamaları, mikroanjiopatik hemolitik anemi, hematüri, nefrotik sendrom (idrarla transferrin kaybı), hemosiderinüri, kronik damar içi hemoliz (paroksizmal nokturnal hemoglobinüri, paroksizmal soğuk hemoglobinürisi gibi), hemodiyaliz, travma olarak sayılabilir (92).

Bozulmuş Emilim: Yaygın emilim bozukluğu sendromlarına bağlı gelişen demir emilim bozukluğu, demir eksikliği anemisinin sık görülmeyen bir nedenidir. Ciddi demir eksikliğinin bağırsak mukozasına olan etkilerinden dolayı ikincil olarak emilim bozukluğuna neden olarak demir emilimini bozabilir. Demir emilimini etkileyen durumlar, malabsorbsiyon sendromları, çölyak hastalığı, kronik ishal, gastrektomi sonrası, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, Giardia lamblia enfeksiyonu, Helicobacter pylori enfeksiyonu ile ilişkili kronik gastrittir (92).

2.4.2. Demir eksikliğinin klinik bulguları

DEA'nde belirtiler yavaş gelişir. Hafif eksiklik durumları genellikle belirtisizdir, tarama veya başka amaçlarla yapılan hematolojik incelemelerle ortaya çıkarılır. Solukluk demir eksikliğinde en önemli klinik bulgudur. Fakat hemoglobin 7-8mg/dl'ye düştüğünde belirginleşir. Hafif eksiklikte (Hb düzeyi 6-10mg/dl) kompensasyon mekanizmalarının devreye girmesi; 2,3 DPG ve oksijen disosiyasyon eğrisinde kayma meydana gelmesiyle anemi semptomları azalır. Ağır DEA'sinde ise deri ve mukozalarda solukluk, huzursuzluk, anoreksi, gastrointestinal belirtiler ve sık tekrarlayan infeksiyonlar dikkati çeker. Eğer hemoglobindeki düşüş devam ederse kalp yetmezliği gelişebilir. Kronik demir eksikliği anemisinde mavi sklera, dil papillalarında atrofi, kaşık tırnak olguların %30'unda, hepatosplenomegali %10-15'inde görülebilir. Kronik vakalarda hemolitik anemiler olabilir (96).

Demir eksikliğinin birçok sistemle ilişkili klinik bulguları vardır. Gastrointestinal sistem belirtilerinden iştahsızlık sık ve erken ortaya çıkan bir durumdur. Buz (pagofaji), toprak yeme (pika), atık maddeler ya da kum (geofaji) gibi olağan dışı maddeleri yeme isteği olabilir (97). Ağız kenarlarında ağrılı çatlaklar (anguler stomatit), bazen kırmızı, parlak, ağrılı dil (glossit) ve dil papillalarında atrofi oluşur. Mutad olmasa da özofageal ve farengeal halka (web) demir eksikliğinin bir tablosu olabilir, disfaji ile belirir ve tanımlayanlara izafeten "Peterson-Kelly" ya da "Plummer-Vinson Sendromu" veya "Sideropenik disfaji" olarak isimlendirilir (93). Diğer belirti ve bulgular; azalmış mide asiditesi, sızıntılı bağırsak sendromu (sadece gaitada gizli kan pozitifliği veya eksudatif enteropati), emilim bozukluğu, süksinik dehidrogenaz ve sitokrom oksidaz etkinliğinde azalma, disakkaridazlarda özellikle laktazda azalma, kadmiyum ve kurşun emiliminde artıştır (92). Demir eksikliği anemisi en sık geç süt çocukluğu ve erken çocukluk döneminde görülür. Bu dönem hipokampal ve kortikal gelişiminin en hızlı olduğu dönemdir. Ratlarda gelişim döneminde demir eksikliğinin uzun dönemde myelin lipid ve proteinlerinde azalmaya yol açtığı gösterilmiştir. Nörotransmitter sentezindeki enzimlerde demirin önemli bir rolü vardır. Bu enzimler serotonin sentezindeki triptofan hidroksilaz, noradrenalin ve dopamin sentezindeki tirozin hidroksilazdır (87). Hızlı miyelinizasyon gösteren duyuusal sistemlerdeki etkilenme nedeniyle demir eksikliği olan çocuklarda görsel ve işitsel iletim yavaşlar. Bu durum öğrenme ve toplumsal etkileşim açısından oldukça önemlidir (98). Merkezi sinir sistemiyle ilgili belirtiler; huzursuzluk, yorgunluk, uykusuzluk, nöromotor gerilik ve hareketlerde azalma, davranış bozuklukları, dikkatsizlik, öğrenme yeteneğinde

azalma, zihinsel performansta azalma, katılma nöbetleri ve papil ödemidir (92). Demir eksikliği ile bozulmuş nörokognitif fonksiyonlar arasındaki ilişki çok iyi bir şekilde tanımlanmıştır. Özellikle nörokognitif gelişim açısından kritik dönemde olan infantlar bu etkiler açısından risk altındadır. Anemi olmaksızın demir eksikliği olması bile bozulmuş mental ve motor fonksiyonla ilişkilidir (99). Demir eksikliğine bağlı gelişen entelektüel ve motor fonksiyonlardaki etkilenmenin tedavi sonrasında bütünüyle düzelmediğini gösteren çalışmalar bulunmaktadır.

Kalp damar sistemine ait belirtiler solukluk, kalp atım hacmi ve hızında artış, sistolik üfürüm, kalp hipertrofisi, plazma hacmindeki artış ve ileri olgularda kalp yetmezliğidir. Kas iskelet sisteminde miyogloblin ve sitokrom C'de azalma, fiziksel performansta azalma, radyolojik olarak diploe mesafesinde artış gözlenir (92). Demir eksikliğinde immünite ve enfeksiyonlara yatkınlık arasındaki ilişkiler kesin olmasa da defektif hücresel bağışıklık ve fagositoz bozukluğunun varlığı kabul edilmektedir (93). Ayrıca inefektif eritropoezis, eritrosit ömründe azalma, otohemolizde ve eritrosit deforme olabilme özelliğinde azalma, sülfidril inhibitörlerine hassasiyette artış, hem, globin ve alfa zincir üretiminde azalma, glutatyon peroksidaz ve katalaz etkinliğinde azalma gibi hücresel düzeyde etkiler gözlenir (92).

2.4.3. Demir eksikliğinin evreleri

Vücutta demir yetersiz olduğunda demir eksikliğinin etkileri üç evreye ayrılır, laboratuvar bulguları hastalığın dönemlerine göre değişir.

Prelatent dönem: Anemi görülmez. Eritrositler normal büyüklük, görünüm ve sayıdadır. Ancak demir depolarında azalma sonucunda serum ferritin değerleri düşük bulunmaktadır. Serum ferritin düzeyi vücut demir deposunun en iyi göstergesidir. Serum ferritin düzeyinin 10-12 mg/L'den daha düşük olması DE (demir eksikliği)'ni gösterir (100). Ancak ferritinin bir akut faz reaktanı olduğu, enfeksiyonlarda da artabileceği unutulmamalıdır.

Latent dönem: Eritropoezde demir eksikliği ortaya çıktığı için düşük ferritin düzeylerinin yanında eritrosit protoporfirininde artış görülmektedir. Transferrin saturasyonu düşmüş, ayrıca serum transferrin reseptör düzeyi artmış, kemik iliğinde demir deposu tükenmiştir. Retikülosit hemoglobin miktarı azalmıştır. Hematokrit değerleri normaldir.

Demir eksikliği anemisi: Hemoglobin, MCV, ferritin, serum demiri ve transferrin saturasyonu azalmış; RDW ve serbest eritrosit protoporfirini artmıştır. Eritrositler hipokrom mikrositer yapıdadır. Demir eksikliği anemisinde transferrin saturasyonu %16'nın altına düşer.

Hemoglobin DE'de normaldir; DEA geliştiğinde yaşa ve cinsiyete göre olması gereken ortalama değerin 2 standart sapma altında bulunur. DEA'de MCH: 27 pg, MCHC: %30'un altında olmalıdır. Hafif anemide periferik yaymada hipokromi ve anizositoz olmasına karşın MCV, MCH, MCHC normal olabilir. Eritrosit dağılım genişliği (RDW) artışı anizositozun bir göstergesidir ve DE'de 17'den büyüktür. Retikülosit sayısı azalmış, normal ya da yüksek olabilir fakat düzeltilmiş / mutlak retikülosit sayısı normaldir. Periferik yaymada mikrositoz, anizositoz, poikilositoz, hipokromi ve nadiren normoblastlar görülebilir. Trombosit sayısı artmış veya azalmış olabilir; nedeni bilinmemekle birlikte demir tedavisi ile düzelir (100).

Laboratuvar olanaklarının kısıtlı olduğu durumlarda hastanın demir tedavisine verdiği yanıt DEA'nın güvenilir bir göstergesidir. Tedavinin 5-10. gününde retikülosit artışı ve Hb'de 1-2 g/dl artış gözlenir. Eğer yeterli yanıt alınmaz ise tedavi kesilmeli ve ayırıcı tanı gözden geçirilmelidir.

2.4.4.Labaratuvar bulguları

Demir eksikliği progresif olarak ilerlediğinde biyokimyasal ve hematolojik bulgular ortaya çıkar. Öncelikli olarak doku demir depolarını yansıtan kemik iliği hemosiderini kaybolur. Enflamatuvar bir hastalık olmadığında depo demir proteini olan ferritinin serum seviyeleri vücut demir depolarını rölatif bir şekilde doğru olarak yansıtır. Normal değerleri yaşa göre değişmekle birlikte azalmış ferritin seviyeleri, demir eksikliğine eşlik eder (101).

Demir eksikliğinde ilk bulgu serum ferritin düzeyinin 12 ng/ml'nin altında oluşudur. İkinci aşamada serum demiri azalırken (<30 µg/dl), SDBK artar (>350 µg/dl) ve TSI düşer (<%15). TSI, %10-15 düzeylerine indiğinde hemoglobin sentezi için demir olmadığından, serbest eritrosit protoporfirini olarak adlandırılan hem prekürsörleri artış gösterir. Demir eksikliği anemisi oluştuğunda, eritrositlerin normalden daha küçük (mikrositer) ve içlerindeki hemoglobinin azalmış (hipokrom) olduğu dikkati çeker. Bu morfolojik değişikliği MCV, MCH, MCHC yaşa göre normal değerlerinin altına düşerek yansıtır.

RDW, eritrosit dağılım genişliği, anizositozun göstergesidir. Normal değeri $13,4 \pm 1,2$ 'dir. Demir eksikliği anemisinde artmıştır (RDW>%15) ve diğer 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 hemoglobin 10 gr/dl'nin altına düştüğü zaman belirgin olur. Retikülosit sayısı normal veya hafif artmıştır. Ciddi demir eksikliği anemisinde %3-4'e kadar artabilir. Lökosit sayısı normal olmakla birlikte %20'sinde hafif bir lökopeni görülebilir. Trombositoz veya trombositopeni görülebilmekle birlikte; genellikle trombositoz vardır (102).

Kemik iliği 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 (103).

2.4.5.Tedavi

Koruyucu tedavi

İlk altı ay sadece anne sütü ile beslenme DE gelişiminin önlenmesinde önemlidir. Yaşamın ilk yılında inek sütünden kaçınmalıdır. Anne sütünün demir içeriği düşük olmasına karşın biyoyararlanımı yüksektir. Anne sütü alamayan süt çocuklarının bir yaşlarına kadar demir katkılı hazır mama ile beslenmeleri sağlanmalı; demir ile zenginleştirilmiş tahıllar ek gıda olarak besin listesinde bulunmalıdır.

Miadında doğan normal doğum ağırlıklı bebeklere 4. aydan itibaren 1 mg/kg/gün (maksimum 15 mg), düşük doğum tartılı bebeklerde 2 aydan geç olmayacak şekilde 2 mg/kg/gün (maksimum 15 mg) koruyucu olarak demir başlanmalıdır. İlk 10 yaşta besin içeriğinde 10 mg/gün, 12 yaşından sonra ise 12 mg/gün demir önerilmektedir (94).

Hastalık tedavisi

Demir eksikliği anemisinin tedavisi anemiyi düzeltmeli ve boş olan demir depolarını normal düzeye getirmelidir. Olguların hemen hepsinde ağız yoluyla verilen demir tedavisine

iyi yanıt alınır. Bazı besinler demir emilmesini % 50-65 oranında azaltır. Bu nedenle demir preparatlarının öğünler arasında alınması önerilir. İki değerli demir tuzları, üç değerli demir tuzlarına göre daha iyi emilirler. Demir eksikliği anemisi tedavisinde Fe bileşenleri oral veya parenteral yolla verilmektedir. Parenteral tedavide sistemik ve lokal yan etkilerin görülme riski nedeni ile ağızdan tedavi tercih edilir. Kan transfüzyonu ancak kalp yetersizliği, beyin iskemisi ya da Hb'nin 4 gr/dl altına indiği durumlarda verilir (94).

Demir tedavisinin nadir de olsa yan etkileri vardır. Demir preparatları olguların % 25'inde gastrik ağrı, halsizlik, ishal ve karında şişlik gibi yakınmalara yol açabilir. Çocuklarda en sık rastlanan yan etki ishaldir; bu durumda dozu azaltmak ve günlük dozu 3-4'e bölerek yemeklerde vermekle genellikle dışkı normalleşir. Demir tedavisi ile dışerde renk değişikliği oluşabilir. Lokal demir etkisine bağlı olan bu koyu renk ilacın dil köküne verilmesi ile kısmen önlenir (94).

İlk 3 hafta içinde Hb düzeyinin 2g/dl'den daha az yükselmesi veya ilk üç ay içinde aneminin düzelmemiş olması tanıyı tekrar gözden geçirmeyi gerektirir. Demir tedavisine karşın ferritin düzeylerinin değişmemesi durumunda hasta kan kaybı, emilme kusurları yönünden değerlendirilmelidir. Emilme kusurlarında ve oral tedavinin sorun olduğu koşullarda, parenteral tedavi denenebilir. Sindirim sisteminin ülser, kolit gibi hastalıklarında bile oral demir tedavisi çoğu zaman sorun yaratmaz; Bu olgularda çoğu kez oral demir tedavisi ile parenteral demir tedavisi arasında etkinlik farkı saptanmamaktadır (94).

Parenteral demir tedavisi

Barsak hastalıkları, emilme kusurları ve akut kan kayıpları parenteral demir tedavisi gereken durumlardır.

Kan transfüzyonu

Demir eksikliği anemisi genellikle uzun bir sürede geliştiğinden eksiklik durumuna fizyolojik bir adaptasyon oluşmuştur ve tedavide kan transfüzyonu ancak nadiren gerekir. Ağır anemi ile gelen çocuklarda, özellikle hemoglobin düzeyi 6 g/dl'nin altında ise anemiye acilen düzeltmek için kan transfüzyonu endikasyonu vardır. Ancak kan transfüzyonu hematolojik parametreleri etkileyeceğinden tanının kesinleşmesinden sonra yapılmalıdır. Bu hastalara, dolaşım yüklenmesine yol açmamak için 5-10 ml/kg dozda çöktürülmüş eritrosit

süspansiyonunun verilmesi uygundur. Hemoglobın değerleri 8 g/dl'ye çıkıncaya dek transfüzyonlar 1 veya 2 gün aralıklarla tekrarlanır.

2.5.Vitamin B12

2.5.1.B12 Vitamininin fizyolojik önemi

B12 vitaminin en önemli işlevi folik asitle birlikte hücre bölünmesi ve çoğalması için gerekli DNA sentezini sağlamasıdır. Eksikliğine en fazla duyarlı olan sistem, hücre çoğalma hızının yüksek olduğu hematopoetik sistem, özellikle eritropoetik seridir (104).

B12 vitamini kemik iliğindeki eritrosit yapımında görevli normoblastların normal gelişimi ve bölünmesi için gereklidir. Bu etki dolaylı bir mekanizmayla gerçekleşir. B12 vitamini, DNA sentezi için gerekli olan folik asidin kullanımını sağlar. Aynı mekanizma ile kemik iliğindeki lökosit ve trombositlerin öncüsü olan hücrelerin gelişmesinde de rol oynar. Ayrıca hızlı çoğalmaları nedeniyle kemik iliğine benzeyen bağırsak epitel hücrelerin yenilenme ve çoğalmaları için de gereklidir (104). İkinci önemli etkisi, santral ve periferik sinir sistemindeki bazı normal yapı ve işlevlerin sürdürülmesinin sağlanmasıdır. Hematolojik ve nörolojik etkilerin birbirinden bağımsız olduğu düşünölmektedir

2.5.3.B12 Vitamini eksikliğinin nedenleri

B12 vitamini eksikliği, vitaminin besinlerle yetersiz alımı, mideden IF salgınım eksikliği, IF-Cbl bileşiminin bağırsaklardan emiliminde bozulma veya taşıma proteinlerinin (TK'ler) yokluğu sonucunda gelişir (106), (Tablo 4).

2.5.4.B12 Vitamini eksikliğinin bulguları

Kobalamin eksikliği olan çocuklar sıklıkla güçsüzlük, yorgunluk, büyüme geriliği, huzursuzluk gibi özğün olmayan bulgularla başvururlar. Diğer sık bulgular solukluk, glossit, kusma, ishal, sarılıktır. B12 vitamini eksikliği genelde hızlı hücre çoğalması olan hematolojik ve intestinal sistem bulguları ile birlikte dir. Beraberinde nörolojik bulgular da bulunur (108).

Genellikle nötropeni ve trombositopeninin eşlik ettiği makrositik anemi görülür. Diğer anemilerde olduğu gibi solukluk, halsizlik, çabuk yorulma daha ağır vakalarda nefes darlığı, kalp yetmezliği görülebilir. MCV artmıştır. Periferik yaymada hipersegmente nötrofiller, oval makrositler, Howell-Jolly cisimcikleri, bazofilik noktalanma, anizositoz ve poikilositoz gözlenir. Kemik iliğinde megaloblast sayısı arttığı için hipersellülerdir.

2.5.5. Yenidoğanda ve süt çocuklarında vitamin B12 eksikliği

Yetişkinlerde normalde 2-3 mg vitamin B12 deposu vardır. Normal vitamin B12 deposuna sahip annenin yenidoğan bebeği 25 µg vitamin B12 deposuna sahipken, vitamin B12 eksikliği mevcut anneden doğan bebeğin vitamin B12 deposu yaklaşık 3-5 µg'dır. Kolostrum ve/veya yaşamın ilk hafta sütü daha sonraki sütlerden çok daha fazla miktarda vitamin B12 ihtiva eder. Anne sütündeki vitamin B12 miktarı, annedeki serum vitamin B12 ile doğru orantılıdır. Doğumda yenidoğan bebeğin vitamin B12 depoları eksik olsa da, yaşamın en az birkaç haftası için yeterlidir (105).

Yeterli vitamin B12 deposu ile doğan sağlıklı süt çocuklarında serum vitamin B12 seviyeleri 6. aya doğru azalır ve ek gıda almaya başladıktan sonra serum vitamin B12 seviyeleri tekrar artar. Fakat ek gıda alımı gecikirse veya başlanmaz ise 6. aydan sonra vitamin B12 eksikliğinin oluşma riski artar. Beyin gelişiminin ve myelinizasyonunun en hızlı olduğu dönem doğumdan önceki son üç ay ve doğumdan sonraki ilk 3-6 aydır. Eğer annede vitamin B12 yetersiz ise bebekte vitamin B12 eksikliği daha erken gelişir. Vitamin B12 eksikliği olan anne bebeğinin son trimesterdeki miyelinizasyonu yavaş olacağından doğumda serebral atrofi veya hipoplazi olabilir. Doğumu takip eden ilk bir yıl miyelinizasyon oldukça hızlıdır. Vitamin B12 deposu eksik olarak doğanlarda bu miyelinizasyon yavaşlamaktadır (108). Vitamin B12 eksikliği erken dönemde teşhis edilip tedavi edilmez ise süt çocuklarında kalıcı nörolojik hasara neden olabilir (107).

Yenidoğan ve erken süt çocukluğu döneminde (<3 ay) görülebilen bulgular emme güçlüğü, uykuya eğilim, hipotoni veya hipertoni, nöbetler ve komadır. Geç süt çocukluğu (>3 ay) ve erken çocukluk (<10 yaş) döneminde görülebilen bulgular, nöromotor gelişimde yavaşlama ve gerileme, huzursuzluk, uykuya eğilim, zihinsel gerilik, ensefalopati, nistagmus, nöbetler, spastik parezi (subakut kombine dejenerasyon), ekstrapiramidal bulgular ve

nöropatidir. Geç çocukluk döneminde (>10 yaş) görülebilen bulgular ise önceki dönemlere ait hafif gelişimsel gerilik, zihinsel gerilik, davranış bozuklukları, ensefalopati, miyelopati (subakut kombine dejenerasyon) ve nöropatidir (10). Manyetik rezonans bulguları, spinal kord T2 görüntülerinde sinyal artışı, beyin atrofi ve miyelinizasyonda gecikmedir.

Tablo 4 B12 vitamini eksikliğinin nedenleri

I. Yetersiz B 12 vitamini alınması
C. Diyetteki eksiklik (<2 µg/gün): Yetersiz gıda alımı, vejetaryen ve vegan beslenme, malnutrisyon. D. Annedeki eksiklik: Plasenta yoluyla geçiş eksikliği ve anne sütündeki eksiklik.
II. B 12 vitamininin emilim bozukluğu
C. İntrensek faktör eksikliği <ol style="list-style-type: none">1. Doğumsal IF eksikliği (niceliksel ya da niteliksel)2. Otoimmün poliendokrinopati ile birlikte juvenil pernisiyöz anemi3. IgA eksikliği ile birlikte juvenil pernisiyöz anemi4. Gastrik mukozal hasar (koroziv hasar, gastrektomi)
D. İnce bağırsaklarda emilim bozukluğu <ol style="list-style-type: none">1. Spesifik B 12 vitamini malabsorbsiyonu: Anormal IF, kobalaminin enterosite transport defekti (İmerslund Grasbeck Sendromu), şelatörlerle emilimin engellenmesi [Fitatlar, etilen diamin tetra asetik asit (EDTA), kalsiyum, parazitler]2. Yaygın gastrointestinal malabsorbsiyon: Bağırsak rezeksiyonu (volvulus, darlık, travma), regional ileit, terminal ileum liposarkomu, terminal ileum tüberkülozu, pankreas yetersizliği, Zollinger Ellison Sendromu, çölyak hastalığı, diğer özellikli malabsorbsiyon sendromları3. Bağırsak enfeksiyonu durumları: İnce bağırsaklarda bakteriyel aşırı çoğalma (ince bağırsak divertikülü, kör bağırsak sendromu, skleroderma, yapışıklıklar, aklorhidri, trikobezoar), Diphyllobothrium latum (serbest Cbl veya IF-Cbl ile beslenir), Giardia lamblia, Strongyloides stercoralis
III. B 12 vitamini transport defekti
D. Konjenital TK II eksikliği E. Geçici TK II eksikliği F. Kısmi TK II eksikliği
IV. B 12 metabolizma bozuklukları
C. Konjenital Adenozilkobalamin eksikliği (CblA ve CblB hastalığı), metilmalonil CoA mutaz eksikliği, kombine adenozilkobalamin ve MeCbl eksikliği (CblC, CblD, CblF hastalığı) , metilkobalamin eksikliği (CblE, CblG hastalığı)
D. Edinsel [Karaciğer hastalıkları, protein enerji malnutrisyonu, ilaç alımını takiben B 12 vitamini emilim ve kullanım bozukluğu (aminosalisilik asit, klorokin, neomisin, etanol, kolşisin, oral kontraseptif ajanları ve metformin)]

IF: İntrensek faktör; IgA: İmmunglobulin A; EDTA: Etilen diamin tetra asetik asit; Cbl: Kobalamin;

TK: Transkobalamin; CoA: Koenzim A.

Bazı hastalarda anemi ve nörolojik bulgular hafiftir ve gastrointestinal bulgular ön plandadır. B12 vitamini eksikliğinde gastrointestinal sistem bulguları, hızlı çoğalan gastrointestinal epitelyal hücrelerdeki DNA sentezinin yetersizliğine bağlı olarak ortaya çıkar. Bulgular ve belirtiler arasında anoreksi, bulantı, kabızlık, atrofik glossite bağlı dilde ağrı (düz kırmızı dil) ve ishal sayılabilir (108). Nörolojik bulgular yavaş ilerlese de uzun süren vakalarda B12 vitamini tedavisi ile belirti ve bulgular gerilemeyebilir. Megaloblastik anemi eşlik etmeyebilir. Vakaların %25'inde sadece nörolojik bulgular vardır.

B12 vitamini eksikliğinde görülen nöropsikiyatrik değişiklikler dorsal ve lateral spinal kolonların subakut kombine dejenerasyonu sonucudur. Bu bulgu B12 vitamini eksikliğine özgüdür, myelin oluşumundaki bir kusur ve bunun neticesinde aksonal dejenerasyona bağlı olarak ortaya çıkar. Dorsal ve lateral spinal kolonların subakut kombine dejenerasyonu simetrik ve bacaklar kollardan daha çok tutulur, parestezi, ataksi, kuvvet kaybı, vibrasyon ve pozisyon duyusunun azalması, spastisite, klonus, hafıza kaybı, huzursuzluk, demans, depresyon, kişilik değişiklikleri ve tat, koku veya görme duyularındaki anormallikler görülebilir (109).

2.5.6.B12 Vitamini eksikliğini tanı

1)Eritrositlerdeki değişiklikler: Hemoglobin genellikle düşüktür. Eritrosit göstergelerinden MCV yaşa göre artmıştır, 100–140fl düzeylerine çıkabilir. MCHC normaldir. RDW artmıştır. Kan yaymasında makrositler ve makroovalositler, anizositoz, poikilositoz, Howell-Jolly cisimcikleri ve bazofilik noktalanma gözlenir (107).

2)Lökositlerdeki değişiklikler: Lökosit sayısı azalmıştır (1500–4000/mm³). Nötrofiller hipersegmentasyon gösterir, %5'inden fazlasında çekirdeklerinde beşten fazla lob bulunur.

3)Trombositlerdeki Değişiklikler: Trombosit sayısı 50.000 – 180.000/ mm³ ile kısmen azalmıştır (107).

4)Kemik iliğindeki değişiklikler: Hücreler büyük, nükleusların etrafı çevrilmemiş, ağsı ve noktalı görünümündedir. Sitoplazma ise çekirdeğe göre daha olgundur. Bu çekirdek sitoplazma uyumsuzluğu en iyi geç dönemdeki hücrelerde görülür. Çekirdeği tam olarak yoğunlaşmamış olan ortokromatik hücreler görülebilir. Mitoz sık ve ara ara anormaldir. Çekirdek artıkları,

Howell-Jolly cisimcikleri, iki, üç çekirdekli hücreler ve ölü hücreler diseritropoezin bulgularıdır. Metamyelositler oldukça geniş (dev) ve at nalı biçiminde çekirdekleri vardır. Hipersegmente polimorf hücreler görülebilir ve megakaryositlerde çekirdek lob sayısında artış görülür (107,110).

5)Biyokimyasal bulgular: İnefektif eritropoezin göstergesi olarak serum LDH düzeyi belirgin olarak artmıştır. Bilirubin seviyelerinde de hafif yükselmeler olabilir (2–3 mg/dl). Serum homosistein ve metil malonik asit düzeyi artar. İdrarda metil malonik asit atılımının artışı (normali 0–3,5 mg/gün) B12 vitamini eksikliğinin hassas bir göstergesidir (106,110).

6)Serum vitamin B12 düzeyi: Normal değerler 200–800 pg/ml arasındadır. 100 pg/ml altındaki değerler yetersizlik tanısını koydurmalıdır (106,107). Bazı metabolik hastalıklarda ise vitamin B12'nin düzeyi normal olmasına karşılık dokulara taşınıp kullanılmasında sorun vardır (9).

7)Deoksiüridin baskılama testi: DNA sentezi ile ilgili olarak deoksiüridin baskılama testi vitamin B12 eksikliğini ortaya koyan duyarlı testlerden biridir, fakat her laboratuvarında yapılma olanağı yoktur. Folat ve/veya vitamin B12 durumunun değerlendirilmesinde kullanılan duyarlı bir in vitro testtir. Bu iki vitamin eksikliğinin ayırt edilmesinde de yardımcıdır. Bu test kemik iliği hücreleri, lenfositler veya tam kana uygulanabilir.

8)Diğer ileri incelemeler: B12 vitamini eksikliği tanısı konulduktan sonra sebebe yönelik çalışmalar yapılmalıdır. İyi bir beslenme öyküsü alınmalı ve parazit yönünden araştırılmalıdır. Besinsel eksikliğin olabileceği düşünülen küçük çocuklarda annenin anemi ve serum B12 vitamini için araştırılması önemlidir. B12 vitamini emiliminin azaldığı ve sebebinin belli oranda açıklanabildiği vakalarda (geçirilmiş gastrik veya ileal cerrahi) daha ileri araştırma yapmadan tedaviye başlanabilir. Eğer ortada açık bir neden yoksa B12 vitamini emilimi “Schilling testi” ile değerlendirilir. Radyoaktif işaretli kristal haldeki B12 vitamini ağızdan verilip idrarla atılımı ölçülür (9,106).

Tanıyı doğrulamak için diğer testler arasında histamin uyarısıyla mide asiditesi, mide sıvısındaki IF içeriği, parietal hücrelere ve IF'e karşı serumda antikolar, mide biyopsisi, serum holo-TK II ölçümü, ileal hastalık şüphesi varsa baryum çalışmaları ve ince bağırsak biyopsisi sayılabilir (107).

2.5.7.B12 Vitamini eksikliği tedavisi

Ciddi anemi ve kalp yetmezliği bulguları olan hastalarda, hasta acilen stabilize edilmeli, hava yolu açılarak oksijen verilmeli, yavaş bir şekilde kan transfüzyonu verilmelidir. Kobalamin düzeyleri transfüzyondan fazla etkilenmese de şüpheye yer bırakmamak için öncesinde bazal tetkikler alınmalıdır. Hızlı transfüzyondan kaçınılmalıdır. Kalp yetersizliğine neden olabileceği gibi, var olan yetmezliği de ağırlaştırabilir. Kobalamin tedavisinde de acele edilmemelidir. Hızlı tedavi bazen kliniği kötüleştirebilir (107,108).

B12 vitamini eksikliğini tedavisi altta yatan nedene bağlıdır. Hafif ve belirtileri olmayan vakalarda diyetin değiştirilmesi ve altta yatan durumun düzeltilmesi yeterli olabilirse de, çoğu vakada B12 vitamini uygulaması gerekir. Çocuklardaki uygun tedavi miktarları tam olarak ortaya konmamıştır. Ciddi anemisi olan yetişkin hastalarda tedavi başlangıcında hipokalemi gözlenmesi nedeniyle başlangıç olarak ilk 2 gün 0,2 µg/kg siyanokobalamin subkutan olarak uygulanır ve gerekirse potasyum verilir. Bu düşük başlangıç dozlarını takiben 1000 µg/gün subkutan yolla 2-7 gün, takip eden 1 ayda haftada bir kez 1000 µg uygulanmalıdır. Emilim bozukluğu durumlarında sıklıkla uzun dönem tedavi gereklidir ve aylık 1000 µg önerilen idame tedavi dozudur (108). Çocuklarda eşlik eden inflamatuvar bir hastalık olmadıkça parenteral 1000 µg verilmesinin ardından genellikle 2-4 gün içinde retikülositozla birlikte tam bir hematolojik yanıt oluşur. Eğer nörolojik bulgular varsa en az 2 hafta günlük 1000 µg B12 vitamini intramüsküler olarak yapılmalıdır. Aylık 1000 µg'lık doz ise hayat boyu gerekecek idame tedavisi için yeterlidir. Oral tedavi yüksek dozlarda mukozal difüzyon nedeniyle başarılı olabilir, ama genellikle emilim belirsizliği nedeniyle tavsiye edilmez (106).

Klinik ve laboratuvar bulgular çoğu vakada dramatik olarak düzelse de eksikliğin süresiyle ve ciddiyetiyle ilişkili olarak nörolojik hasar devam edebilir. Bu açıdan eksikliğin erken tanınması ve tedavisi oldukça önemlidir (111).

2.6.Folik Asit

2.6.1.Folik asitin fizyolojik önemi

Folik asitin en önemli görevi tek karbon transferi reaksiyonlarında koenzim rolü oynamasıdır. THF biyosentetik reaksiyonlarda çeşitli tek karbonlu üniteleri (metil, metilen, formil veya formimino) taşır. Tek karbonlu bu üniteler serin, metiyonin, glisin, kolin ve pürin nükleotid sentezinde kullanılır (11,112).

Folik asit iki farklı yolla DNA sentezinde rol oynar. DNA öncülerinden DNA sentezi koenzim olarak folik asit gerektirir. Metiyonin sentezi için folat, S-adenozilmetiyonin sentezi için de metiyonin gereklidir. S-adenozilmetiyonin birçok biyokimyasal tepkimede metiyonin vericisi olarak rol oynar. Bunlar arasında DNA ve ribonükleik asitin değişik bölgelerinin metilasyonu da vardır. DNA metilasyonu kanserden korunma açısından önemlidir. Bazı aminoasitlerin sentezinde de folik asit gereklidir. Homosisteinden metiyonin sentezinde vitamin B12'ye bağımlı bir enzim yanında kofaktör olarak folik asitte gereklidir. Bu nedenle folik asit eksikliğinde metiyonin sentezi azalır ve homosistein birikir. Homosistein birikimi kalp hastalıkları açısından risk faktörüdür (11). Homosistein nöron hücrelerine toksiktir. Bu etkiyi amiloid-B ile yapar. Folik asit eksikliğinde görülen homosistein artışı nöronal homeostazi bozarak, nöronların amiloid toksisitesine daha duyarlı hale gelmesine neden olur (12).

Vücutta yeterli miktarda folik asit ve dolayısıyla THF türevi koenzimler bulunmadığı takdirde bundan en fazla etkilenen hücreler, bölünme ve yenilenme hızı en yüksek olan hücrelerdir. Bunlar arasında kemik iliğindeki normoblastlar, lökosit ve trombositlerin ana hücreleri ile sindirim kanalı epitel hücreleri bulunur (112).

2.6.2.Folik asit eksikliğinin nedenleri

İnsanlarda para-aminobenzoik asit sentezlenemediği ve moleküle ilk glutamat grubu eklenemediğinden folik asit vücutta yapılamaz. İnsanlar bitkiler ve mikroorganizmalar tarafından sentezlenen folik asiti bitkisel ve hayvansal kaynaklı besinlerle alırlar. Besinlerde bol bulunduğundan primer eksikliği nadirdir. Sağlıklı bir bireyin vücudundan 500–200.000 µg folik asit bulunur. Günlük yıkım, idrar ve safra ile kayıpları karşılayabilmek için 50–100

$\mu\text{g/g}\ddot{u}\text{n}$ folik asit alınması gereklidir. Aksi takdirde dört ay içinde eksiklik bulguları ortaya çıkar. Eksiklik nedenleri Tablo 5'te verilmiştir (11,113,114).

2.6.3.Folik asit eksikliğinin bulguları

Deoksiribonükleik asit, ribonükleik asit ve protein sentezi için tek karbonlu üniteleri transfer ettiğinden THF; pürin, pirimidin ve aminoasit sentezi için gereklidir. Bu nedenle eksikliğinde hücre bölünmesi olumsuz etkilenir, homosistein gibi toksik metabolitler birikir, gen ekspresyonu için metilasyon gerçekleşemez, neoplazi riski artar.

Folik asit eksikliğinin erken dönemlerinde belirti ve bulgu olmayabilir fakat homosistein düzeyleri artmıştır. Hızlı çoğalan hücreler daha duyarlıdır. Kemik iliğinde eksiklik daha az sayıda ve iri eritrosit üretilmesine, yani megaloblastik anemiye neden olur. Eritrositlerin mr 120 gün olduğu için megaloblastik anemi bulgularının ortaya çıkması aylar alabilir. Yorgunluk, güçsüzlük, yoğunlaşma yeteneğinde azalma, irritabilite, baş ağrısı, çarpıntı ve nefes darlığı görülür. Daha az sıklıkla nötropeni ve trombositopeni bulunur fakat anemi kadar belirgin değildir. Aynı bulgular B12 vitamini eksikliğinde de olduğundan B12 vitamini eksikliği dışlanmalıdır.

Tablo 5 Folik asit eksikliğinin nedenleri

1. Yetersiz alm
A. Yoksulluk, bilgisizlik
B. Pişirme yöntemleri (uzun süreli kaynatmayla % 40 kayıp)
C. Keçi sütüyle beslenme (6 µg /l folik asit)
D. Malnutrisyon (kwashiorkor, marasmus)
E. Fenilketonüri ve akçağaç şurup hastalığı için uygulanan özel diyetler
F. Prematürelilik
G. Kemik iliği nakli sonrasında (kaynatılmış ve sterilize edilmiş besinler)
2. Emilim bozukluğu
A. Konjenital: İzole folik asit malabsorpsiyonu, çölyak
B. Edinsel: İdiyopatik steatore, tropikal sprue, gastrektomi, ince bağırsak divertikülleri, jejunal rezeksiyon, bölgesel ileit, Whipple hastalığı, Chron, intestinal lenfoma, geniş spektrumlu antibiyotikler, ilaçlarla ilişkili emilim bozukluğu (fenitoin, primidon, barbitüratlar, oral kontraseptifler, sikloserin, metformin, etanol)
3. Artmış gereksinim
A. Hızlı büyüme (prematürite, hamilelik gibi)
B. Kronik hemolitik anemi, özellikle inefektif eritropoezis (herediter sferositoz)
C. Diseritropoetik anemiler
D. Malign hastalıklar (lenfoma, lösemi)
E. Hipermetabolik durumlar (enfeksiyon, hipertiroidi)
F. Deri hastalıkları (dermatitis herpetiformis, psöriasis, ekfoliyatif dermatit) G. Siroz
H. Kemik iliği nakli sonrası (kemik iliği ve epitel hücre yenilenmesi)
4. Folik asit metabolizmasına bağlı bozukluklar
A. Konjenital (metilentetrahidrofolat redüktaz eksikliği, glutamat formimino-transferaz eksikliği, dihidrofolat redüktaz eksikliği gibi)
B. Edinsel (folik asit kullanımının bozulması)
<ul style="list-style-type: none">• Folik asit antagonistleri (metotreksat, primetamin, trimetoprim gibi)• B 12 vitamini eksikliği• Alkolizm• Karaciğer hastalıkları
5. Artmış atılım
<ul style="list-style-type: none">• Kronik diyaliz• B 12 vitamini eksikliği• Karaciğer hastalığı• Kalp hastalığı

Dil şiş, parlak kırmızı ve ağrılıdır. Angüler stomatit ve gastrointestinal bulgular da vardır. Özellikle yemeklerden sonra bulantı, kusma, karın ağrısı, ishal görülür. İştahsızlık eşlik eder ve kilo kaybına yol açabilir. Parmakların sırt kısmında, avuç içleri ve ayak

tabanındaki çizgilerde esmerleşme görülür. Folat tedavisi ile düzelir. Hiçbir enfeksiyon yokken ateş görülebilir (112).

Folik asit eksikliğinde homosistein düzeyleri artar. Homosistein kardiyovasküler hastalıklar için bir risk faktörüdür. Ayrıca homosistein depresyon, Alzheimer hastalığı ve vasküler demansı içeren demanslar içinde bir risk faktörüdür (112). Yüksek plazma homosistein düzeyi Alzheimer hastalığı ve diğer demanslar için riski iki kat artırır (12). Nöropsikiyatrik çalışmalarda folat eksikliğinde dikkat, hafıza ve soyut düşüncüyü içeren zihinsel işlevlerde bozulma olduğu gösterilmiştir (113).

Epileptik hastalarda fenitoin veya barbitürat kullanımına bağlı olarak gelişen folik asit eksikliği depresyon, apati, psikomotor gerileme ve bilişsel işlevlerde kötüleşme ile ilişkili bulunmuştur (114).

2.6.4.Folik asit eksikliğinin laboratuvar bulguları

Folik asit eksikliğinde makrositik anemi görülür. Retikülosit sayısı düşüktür ve kanda megaloblastik morfoloji gösteren çekirdekli eritrositler görülür. Uzun süreli eksikliği olan hastalarda nötropeni ve trombositopeni olabilir. Nötrofiller büyüktür ve bazıları hipersegmente çekirdek içerirler (110). Normal serum folik asit seviyesi 5–20 ng/ml iken, eksiklik durumlarında 3 ng/ml 'nin altına iner. Eritrosit folik asit düzeyleri kronik eksikliğin daha iyi bir göstergesidir. Normal eritrosit folik asit seviyesi 150–600 ng/ml kadardır. LDH serum aktivitesi oldukça artmıştır. Eritroid hiperplazi nedeniyle kemik iliği hipersellülerdir. Bazı normal eritrosit öncüllerinin olmasına rağmen megaloblastik değişiklikler belirgindir. Hipersegmente megakaryositlerin yanında anormal nötrofilik formlar (dev metamiyelositler) bulunur (106). Emilim bozukluğu düşünülüyorsa ağızdan 5 mg pteroylglutamik asit verilir. Normalde verildikten 1 saat sonra plazma düzeyi 100 ng/ml artar. Eğer plazma düzeyinde artış yoksa konjenital folik asit malabsorbsiyonu açısından değerlendirilmelidir. 24 saatlik dışkıda yağ ve D-Ksiloz testi yaygın malabsorbsiyonu dışlamak için uygulanmalıdır. İleri incelemeler üst gastrointestinal baryum çalışmaları, endoskopi, jejunal biyopsi ve konjenital folik asit metabolizma hastalıkları açısından tanısal enzim ölçümleridir. Folik asit eksikliği düşünülen hastanın öyküsünde beslenme alışkanlıkları, ilaç kullanımı (antibiyotikler,

antikonvülzanlar gibi) ve gastroenterolojik belirtiler (malabsorbsiyon, ishal gibi) mutlaka sorgulanmalıdır (107).

2.6.5.Folik asit eksikliğinin tedavisi

Folik asit eksikliğinin başarılı olarak tedavi edilebilmesi için; folik asit eksikliğinin düzeltilmesi, eksikliğe neden olan altta yatan hastalığın tedavisi, beslenme alışkanlığının folik asit alımını artıracak şekilde değiştirilmesi ve hastanın klinik bulgularının belli aralıklarla izlenmesi gerekmektedir (107).

Günde 100–200 µg folik asit alımıyla çoğu hastada iyi yanıt alınır. Folik asit verilmeden önce B12 vitamini eksikliğinin dışlanmış olması gereklidir. Folik asite klinik ve hematolojik yanıt oldukça hızlıdır. İştah 1–2 gün içinde artar ve hastalar kendilerini daha iyi hissederler. Serum demir düzeyinde 24–48 saat içinde düşüş ve retikülosit sayısında 2–4 günde artış gözlenir. Hb düzeyi 2–6 haftada normale döner. Lökosit ve trombositler retikülositler ile birlikte artar ve kemik iliğindeki megaloblastik değişiklikler 24–48 saat içinde azalır. Folik asit genellikle yeni eritrosit topluluğu oluşana kadar birkaç ay boyunca uygulanır. Eksikliğin nedenini düzeltmek sıklıkla mümkündür ve böylece tekrarı önlenmiş olur. Bu hastalarda folik asite ömür boyu devam edilmesine gerek yoktur. Diğer durumlarda, örneğin herediter sferositoz gibi kronik hemolitik anemide, glutensiz diyete cevapsız malabsorbsiyonda folik asit kullanarak tekrarın önlenmesi önerilir. Herediter dihidrofolat redüktaz enzim eksikliği olan hastalar folik asite değil N–5-formil tetrahidrofolik asite yanıt verir (107).

3.GEREÇ VE YÖNTEM

3.1.Katılımcıların Seçimi

Bu çalışma 25.03.2014 ile 25.01.2015 tarihleri arasında Bezmialem Vakıf Üniversitesi Tıp Fakültesi Genel Pediatri ve Çocuk Nöroloji polikliniklerinde yeni katılma nöbeti tanısı alan (ikiden fazla sayıda katılma nöbeti öyküsü olan) ya da katılma nöbeti tanısı ile takipli olan yaşları 6ay-60 ay arasında 40 hasta ile çocuk polikliniklerimize sağlam çocuk izlemi amacıyla müracaat eden aynı yaş aralığında 30 sağlıklı çocuk ile kontrol grubu araştırıldı. Bilgilendirilmiş gönüllü onamları alındı. Katılma nöbeti grubunda bir hastada tanı yaşı 5 ay olduğu için çalışmadan çıkarıldı. Son 3 ayda vitamin ya da demir ilacı kullanım öyküsü olan, daha önceden epilepsi tanısı almış olan, febril nöbet öyküsü olan, anti-konvülzan ilaç kullanım öyküsü olan, nörolojik hastalığı, ilerleyici ya da ilerleyici olmayan mental retardasyonu olan veya serebral palsili hastalar, konjenital veya edinsel kalp hastalığı olan hastalar, sistemik hastalığı olanlar (Ör: Metabolik Hastalık, Malnütrisyon, Kronik Akciğer Hastalığı, Diyabetes Mellitus, Kronik Hepatik Yetmezlik, Kronik Renal Yetmezlik, Otoimmün Hastalıklar), eşlik eden enfeksiyonu olan hastalar çalışmaya dahil edilmedi.

Çalışmaya katılan hastalara katılma nöbeti etiyojisine yönelik bir anket formu doldurulmuştur. Anket formunda genel dahil edilme ve dışlama kriterlerinin yanında hasta bilgileri olarak; yaş, cinsiyet, doğum tarihi, anne gebelik yaşı, doğum şekli, doğum tartısı, nöromotor gelişim basamakları yer almaktadır. Hastalıkla ilişkili olarak ilk nöbet yaşı, toplam geçirilen nöbet sayısı, nöbet şekli ve süresi, komplikasyonlar, nöbeti tetikleyen faktörler (istediğini elde edememe, korku, yaralanma, engellenme, öfke vb.) sorgulanmıştır. Aileye ilişkin akraba evliliği, eğitim düzeyi, epilepsi ya da katılma nöbeti öyküsü bulunmaktadır.

Katılma grubunda olan tüm hastalara nörolojik ve kardiyolojik muayene yapılarak, EEG ve EKG incelemeleri gerçekleştirildi. EKG ile yapılan değerlendirilmede hastaların kalp atım hızları, kardiak ritimleri ve düzeltilmiş QT süreleri hesaplandı. Hasta grubunda bir hastada EEG incelemesinde fokal epileptiform aktivite izlendi. Yapılan kontrol EEG incelemesinde de benzer sonuç görüldüğünden hasta çalışmadan çıkarıldı.

Vakalar demir eksikliği anemisi olan ve demir eksikliği olmayanlar olarak, katılma nöbetinin tipine göre de siyanotik, soluk ve mikst olarak gruplandı.

Tüm hasta ve kontrol gruplarında hemogram, serum demir düzeyi, transferrin, ferritin, total demir bağlama kapasitesi, folik asit ve B12 vitamin düzeyleri, total oksidatif seviye (TOS), total antioksidan seviye (TAS) ve mononükleer lökosit DNA hasarı fakültemiz Tıbbi

Biyokimya Anabilim Dalı'nda çalışıldı. Vitamin B12 düzeyi <200pg/ml, folik asit düzeyi <3ng/ml olması eksiklik olarak kabul edildi.

Demir Eksikliği Grubu: Hematolojik parametrelerin henüz etkilenmediği; hemoglobin düzeyinin yaşa göre normal aralıkta olduğu ve ferritin düzeyinin <12,5ug/lt olduğu olgulardır.

Demir Eksikliği Anemisi Grubu: Düşük ferritin düzeyleri ile birlikte yaşa göre düşük hemoglobin düzeyi (Hb< -2SD) olan olgulardan oluşmaktadır.

İki yaş ve altı için hemoglobin <10,5gr/dl, iki yaş üstü Hb<11,5gr/dl ise anemi olarak değerlendirilmiştir (10).

3.2.Çalışma Yöntemi

Olgularda hemogram tetkiki empedans, lazer, fotometrik ve hesaplama yöntemleriyle otomatik kan sayım cihazı (Roche-Sysmex XT1800i) kullanılarak, ferritin, folik asit ve B12 vitamin seviyeleri ticari kitler kullanılarak kemiluminesans yöntemi ile hormon analizöründe (Simens Centaur XP), serum demir ve demir bağlama kapasitesi ticari kit kullanılarak fotometrik yöntemle biyokimya otoanalizöründe (Cobas C8000 Roche), serum transferrin seviyeleri nefelometrik yöntemle BN Prospect marka cihaz ile çalışıldı.

Örneklerin Hazırlanması ve Ölçümler

Araştırmaya dahil edilen kişilerin periferik venlerinden 7 ml kadar heparinize tüplere kan alındı, hemen biyokimya laboratuvarına ulaştırıldı. Heparinize kanın 1 ml'si mononükleer lökosit izolasyonu için ayrıldı. Kalan kan 3000 x g' de 5 dak. santrifüj edilerek plazmaları ayrıldı. Biyokimyasal parametreler çalışılincaya kadar -80°C de bekletildi.

Mononükleer Lökositlerin Seperasyonu

Bir ml histopaque -1077 üzerine bir ml taze heparinize kan yavaşça ilave edilip 1450 rpm ve 4°C'de 30 dakika santrifüj edildi. Orta tabakada biriken mononükleer lökositler pipet yardımıyla alınıp bir ml fosfat tamponu (pH: 7,4) ile karıştırıldıktan sonra 1600 rpm ve 4°C'de 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki süpernatant atılıp pellet fosfat tamponu ile 10⁶ mononükleer lökosit / μ l olacak şekilde dilüe edildi.

Comet assay (Alkali mononükleer tek hücre elektroforezi) yöntemi ile DNA hasar tayini

Comet assay yöntemi, alkali pH'da farklı molekül ağırlıklarına ve farklı elektrik yüküne sahip DNA moleküllerinin, elektriksel alanda farklı hızda göç etmeleri esasına dayanmaktadır. Tek hücreler veya çekirdekçikler agar jel içine yerleştirilir ve lizisten sonra açığa çıkan DNA moleküllerinde herhangi bir hasar oluşmamış ise göç esnasında tek moleküle ve yüke sahip olduklarından elektroforetik göç esnasında birlikte hareket edeceklerinden comet (kuyruk) oluşturmazlar. Eğer hasara uğramış, kırılmış DNA varsa farklı molekül ağırlıklarına ve farklı elektrik yüklerine sahip olduklarından elektriksel alanda farklı hızlarda hareket ederek kuyruk şeklinde bir görüntü oluştururlar.

Slaytların hazırlanması → Lizis aşaması → Elektroforez tamponu → Elektroforezde yürütme → Nötralizasyon → Boyama → Floresan Mikroskopta Analiz

Total antioksidan seviye (TAS)

Örneklerin total antioksidan seviyesi (TAS), Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm yöntemi örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikalın antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar μ mol Trolox Equivalent/L olarak ifade edilir. Dokulardaki TAS sonuçları Trolox Equivalent/L olarak ifade edildi.

Total oksidan seviye (TOS)

Örneklerin total oksidatif stres (TOS) düzeyi, Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm testin çalışma prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferröz iyonu ferrik iyonuna kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanıldı. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Equivalent/ L olarak ifade edildi.

Oksidatif stres indeksi (OSİ)

Oksidatif Stresin bir göstergesi olarak gösterilen Oksidatif stresi indeksi (OSİ), Toplam Oksidan Status/Seviye (TOS) düzeylerinin Toplam Antioksidan Status/Seviye (TAS) düzeylerine oranının yüzde derecesi olarak ifade edilir. Örneklerin Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplanırken TAS düzeyleri μmol birimine çevrilir. Sonuçlar Arbitrary Units (AU) olarak ifade edilir.

$$\text{OSİ} = \frac{\text{TOS, } \mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ Equiv. / L.}}{\text{TAS, mmol trolox Equiv. / L.}}$$

Çalışma Bezmialem Vakıf Üniversitesi Etik Kurul onayı alınarak yapılmıştır (onay tarih/no) 02.04.2014 / 71306642/050-01-04/91.

Çalışma Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje Kodu 3.2014/29).

3.3.Verilerin Analizi ve Değerlendirme

İstatistiksel değerlendirme SPSS 20,0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilks ve Kolmogorov-Smirnov testleri ile incelendi. Sayısal değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ortalama +/- standart sapma, kategorik yapıdaki veriler için sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Kategorik yapıdaki değişkenler bakımından gruplar arasındaki farklılıklar Ki-kare testi ile incelendi. Sayısal değişkenler bakımından iki grubun karşılaştırılmasında parametrik test varsayımları sağlandığında iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi, sağlanmadığında ise Mann-Whitney U testi kullanıldı. Sonuçlar % 95 güven aralığında değerlendirildi ve $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4.BULGULAR

Çalışmaya 40 katılma nöbeti olan hasta (Grup 1), 30 sağlıklı çocuk (kontrol, Grup 2) dahil edildi. Hasta grubunun 21'i (%52,5) erkek, 19'u (%47,5) kız iken kontrol grubunun 14'ü (%46,7) erkek, 16'ü (%53,3) kızdı. Hasta grubunda yaş ortalaması 22,8 ay iken kontrol grubunda 24 ay olarak saptandı (Tablo 6). En erken başlangıç yaşı 5 ayken, en geç 3 yaş olarak saptandı. İki grup arasında yaş ve cinsiyet dağılımı açısından anlamlı fark saptanmamıştır ($p > 0,05$).

Tablo 6 Hasta ve kontrol gruplarının yaş, cinsiyet dağılımları

	Katılma nöbeti grubu n=40	Kontrol grubu n=30	<i>p değeri</i>
Cinsiyet (E/K)	14 (%46,7) / 19 (%47,5)	14 (%46,7) / 16 (%53,3)	0,629
Yaş ortalaması (ay)	22,8 ± 9,4	24 ± 10,8	0,543

Değerler Ortalama ± Standart sapma olarak girildi.

Tablo 7 Katılma nöbeti hastalarının nöbet tiplerine göre dağılımı

Nöbet Tipi	Hasta Sayısı	Oran(%)
Siyanotik Tip	30	%75
Soluk Tip	8	%20
Mikst Tip	2	%5
Toplam	40	%100

Çalışmamızda katılma grubunda 30 (%75) hastada siyanotik tip, 8 (%20) hastada soluk tip ve 2 (%5) hastada mikst tip nöbet olduğu görülmüştür. Cinsiyet ve nöbet tipi açısından bakıldığında siyanotik tip nöbet olan 30 hastanın 17'si erkek, 13'ü kız, soluk tip nöbet olan 8 hastanın 6'sı kız, 2'si erkek, mikst tip nöbet olan 2 hastanın da erkek olduğu tespit edilmiştir. Cinsiyet ve nöbet tipi açısından anlamlı bir fark bulunamamıştır ($p>0.05$). Ortalama nöbet başlangıç yaşı 10,5 ay olarak bulundu. Katılma nöbeti olan 40 hastanın aylık atak sıklığı ortalama 3,4 bulundu.

Tablo 8 Nöbet tiplerine göre aylık atak sıklığı

Nöbet Tipi	Aylık Ortalama Atak Sıklığı
Siyanotik Tip (n=30)	3,8 ± 7,3
Soluk Tip (n=8)	0,9 ± 0,5
Mikst Tip (n=2)	5,3 ± 6,5

Değerler Ortalama ± Standart sapma olarak girildi.

Katılma nöbeti olan hastaların 14'ünde (%35) pozitif aile öyküsü bulunurken, 26'sında (%65) aile öyküsü yoktu. Akraba evliliği sorgulandığında 40 hastadan 5'inde (%12,5) 1.dereceden akraba evliliği olduğu görüldü. Anne ve babanın eğitim düzeyi için alınan bilgilerde annelerin %8,8'i okur-yazar olmadığı, %76,4'ü ilköğretim ve %12,5'inin lise ve üzeri eğitim aldığı, babaların ise %60,6'sının ilköğretim, %39,4'ünün ise lise ve üzeri eğitim aldığı görüldü.

Katılma nöbeti hastalarında TAS düzeyi, kontrol grubunun TAS düzeyine göre anlamlı derecede düşük bulundu ($p <0.05$). Katılma nöbeti grubunda TOS düzeyleri kontrol grubuna oranla anlamlı derecede yüksek saptandı ($p <0.05$). OSİ katılma nöbeti grubunda kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak yüksek saptandı ($p <0.05$). Katılma nöbeti hastalarında kontrol grubuna oranla DNA hasarı anlamlı yüksek bulundu (Tablo 9, $p <0.05$).

Tablo 9 Katılma nöbeti grubu ve kontrol grubunun DNA hasar skoru ile TAS, TOS, OSİ düzeylerinin karşılaştırılması

	DNA Hasar Skoru*	TAS(mmol Trolox Eq./L)	TOS(mmol Trolox Eq./L)	OSİ
Katılma nöbeti grubu (n=40)	494,51 ± 186,74	2,54 ± 0.10	19,54±4.94	0,14 ± 0.04
Kontrol grubu (n=30)	340,26 ± 137,67	2,64 ± 0.18	11,25 ± 3.95	0,25 ± 0.59
p değeri	<0,001**	0,041**	<0,001**	<0,001**

Değerler Ortalama±Standart sapma olarak girildi. ** p<0,05 , ***p>0,05

TAS: Total antioksidan seviye **TOS:** Total oksidatif seviye, **OSİ:** Oksidatif stres indeks

* DNA hasar skoru için Comet Assay yönteminde Tail Length ölçümü kullanılmıştır.

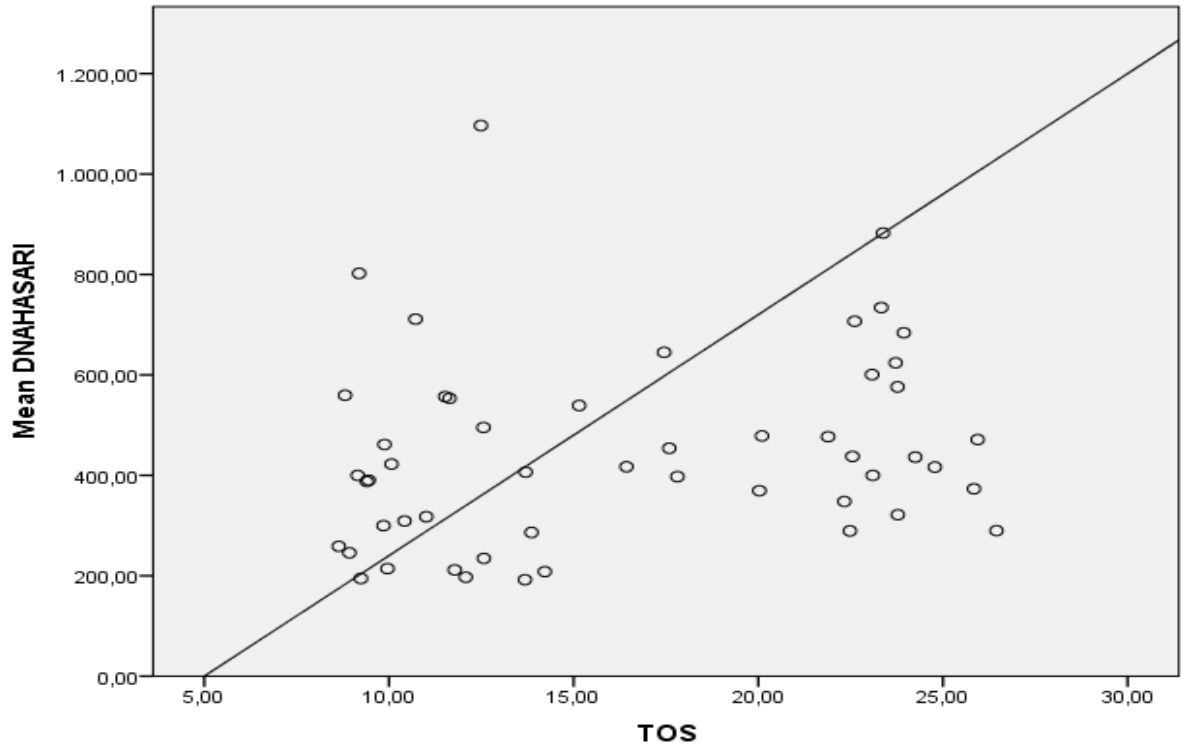
Tablo 10 DNA hasar skoru ile TAS, TOS arasındaki korelasyon

		DNA hasar skoru*	TAS(mmol Trolox Eq./L)	TOS(mmol Trolox Eq./L)
DNA hasar skoru	Doğrulama Katsayısı (r)	1,000	-0,224	0,287
	<i>P değeri</i>		0,110	0,039
TAS	Doğrulama Katsayısı (r)	-0,224	1,000	-0,386
	<i>P değeri</i>	,110		0,004
TOS	Doğrulama Katsayısı (r)	0,287	-0,386	1,000
	<i>P değeri</i>	,039	0,004	

TAS: Total antioksidan seviye **TOS:** Total oksidatif seviye

* DNA hasar skoru için Comet Assay yönteminde Tail Length ölçümü kullanılmıştır.

Yapılan korelasyon analizinde katılma nöbeti olan hastalarda TOS yüksekliği ile DNA hasarı arasında istatistiksel olarak anlamlı, pozitif korelasyon izlendi ($p<0.05$). TAS ile TOS arasında ise istatistiksel olarak anlamlı, negatif korelasyon izlendi (Tablo 10, $p <0.05$).



Şekil 3 DNA ile TOS arasındaki pozitif korelasyon.

Katılma nöbeti ile kontrol grubu arasında demir eksikliği açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark saptanmadı ($p > 0.05$). Katılma nöbeti olan hastaların 2'sinde (%5) demir eksikliği anemisi, 13'ünde (%32,5) demir eksikliği, 25'inde (%62,5) normal hematolojik parametreler saptandı. Siyanotik tip nöbet olan 30 hastanın 2'sinde (%6,6) demir eksikliği anemisi, 12'sinde (%40) demir eksikliği olduğu saptandı. Soluk tip nöbet olan 8 hastanın 1'inde (%12,5) demir eksikliği olduğu görülürken, demir eksikliği anemisi olan hasta yoktu. Mikst tip nöbet olan 2 hastada demir eksikliği saptanmadı.

Tablo 12 Katılma grubu ve kontrol grubunun B12 vitamini ve folik asit eksikliği açısından karşılaştırılması

	Vitamin B12 eksikliği	Folik asit eksikliği
Katılma nöbeti grubu n=40	4 (%10)	0
Kontrol grubu n=30	0	1 (%3,3)
p değeri	*0.124	*0.44

Fisher's Exact Test, * $p > 0,05$.

Katılma nöbeti ile kontrol grubu arasında B12 vitamini ve folik asit düzeyleri karşılaştırıldığında ikisi arasında anlamlı bir fark saptanmadı (Tablo 12, $p>0.05$). Katılma grubunda folik asit eksikliği olan hasta bulunmazken, kontrol grubunda sadece 1 (%3,3) hastada folik asit eksikliği bulundu. B12 vitamini eksikliği de sadece katılma grubunda 4 (%10) hastada tespit edildi.

5.TARTIŞMA

Katılma nöbetli pediatri polikliniklerinde sıkça karşılaşılan, aslında iyi gidişli olmakla beraber olaya tanık olan kişilerde endişeye yol açan olaylardır. Bu konu tıp tarihi boyunca, yaklaşık 1600'lü yıllardan bu yana irdelenen bir konu olmasına rağmen halen tartışılan bazı noktalara sahiptir. Bu çalışma ile katılma nöbetli olguların klinik ve laboratuvar özelliklerinin gözden geçirilmesi, etiyolojik nedenlerin ortaya çıkarılması hedeflenmiştir.

Katılma nöbetleri sıklıkla 6-18 aylar arasındaki dönemde başlar (2). Bizim çalışmamızda da literatürle uyumlu olarak başlangıç yaşı ortalaması 10,5 ay olarak bulundu. En erken başlangıç yaşı 5 ay, en geç ise 3 yaş olarak saptandı. Literatürde yaşamın erken haftalarında katılma nöbeti bildirilen vakalar bulunmaktadır (22). Nöbetlerin %10'dan daha azının 2 yaşından sonra başladığını bildiren yayınlar bulunmaktadır (23).

Çalışmamızda hasta grubunun 21'i (%52,5) erkek, 19'u (%47,5) kız olup erkek cinsiyetin biraz daha fazla olduğu görülmüştür. Katılma nöbetinde kız, erkek insidansı benzer olmakla birlikte erkeklerde daha sık olduğunu öne süren yayınlar bulunmaktadır (23).

Aylık atak sıklığı çalışmamızda ortalama 3,4 bulundu. Hastaların atak sıklıkları en sık günde 4, en az ise yılda 3 atak olarak kaydedilmiştir. Nöbetler başladıktan sonra atak sıklığı artar. Nöbetlerin en sık görüldüğü dönem yaşamın ilk iki yılıdır (2,33).

Lambrosso ve Lerman tarafından yapılan çalışmada hastaların %62'sinin siyanotik, %19'unun soluk ve %19'unun mikst tip nöbet geçirdiği saptanmıştır (26). Çalışmamızda siyanotik tip %75, soluk tip %20 ve mikst tipin %5 oranda görüldüğü, siyanotik tip nöbetin belirgin olarak daha fazla olduğu saptanmıştır. Cinsiyet ve nöbet tipi açısından bakıldığında çalışmamızda siyanotik tip nöbet olan hastalarda erkeklerin, soluk tip nöbet olan hastalarda kız cinsiyetin fazla olduğu görülmüştür. Cinsiyet ve nöbet tipi açısından anlamlı bir fark ($p>0,05$) bulunamasa da cinsiyet ve nöbet tipi açısından sonuçlarımızla uyumlu çalışmalar bulunmaktadır (32).

Pozitif aile öyküsünün %23-38 oranında olduğu belirtilmektedir (26,30). Aile ağacı değerlendirmelerine dayanarak otozomal dominant kalıtımın olduğuna dair veriler elde edilmiştir (3). Çalışmamızdaki hastaların soy geçmişleri irdelendiğinde aile öyküsü %17,5 olarak saptanmıştır. Bu oranın literatüre göre daha düşük oluşu çalışmaya dâhil edilen hasta grubunun eğitim ve sosyo-ekonomik düzeyinin farklılığı ile tanı almayan, bildirilmeyen

vakaların olması ile ilgili olabilir. Çünkü hasta grubunda anne ve babaların büyük çoğunluğunun eğitim düzeyinin ilköğretim düzeyinde olduğu saptanmıştır.

Çalışmaya alınan hastalarda katılma nöbetlerinin ayırıcı tanısında önemle vurgulanan uzun QT sendromunun dışlanması açısından yapılan elektrokardiyografik değerlendirmede QTc değerleri normal sınırlarda saptanmış, uzun QT sendromu vakasına rastlanmamıştır.

Katılma nöbeti etiyojisine yönelik çalışmamızda folik asit ve vitamin B12 düzeyleri de araştırılmıştır. B12 vitamini ve folik asit DNA sentezinde görev almaktadır. B12 vitamini, DNA sentezi için gerekli olan folik asidin kullanımını sağlar. Miyelin kılıf üretiminde B12 vitamini önemli rol oynar. B12 eksikliğinde nörolojik bulguların ana nedeni sinir hücrelerindeki ilerleyici demiyelinizasyondur (9). Eksikliğinde yenidoğan, süt çocuğu, erken ve geç çocukluk dönemlerinde farklı nörolojik problemler ortaya çıkar. Zihinsel gerilik, ensefalopati, nistagmus, nöbetler, spastik parezi ensefalopati, miyelopati, miyelinizasyonda gecikme nörolojik problemlerden bazılarıdır (10). Folik asit ve vitamin B12 düzeyleri bakımından hasta ve kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı. ($p > 0.05$). Katılma nöbeti olan hastaların fizyolojik ve biyokimyasal parametrelerinin incelendiği bir çalışmada da B12 eksikliği ile katılma nöbeti arasında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (115).

Çeşitli çalışmalar oksidatif stresin psikiyatrik ve nörodejeneratif rahatsızlıklarda rol oynadığını göstermektedir. Alzheimer hastalığı, Parkinson hastalığı, amiotropik lateral sklereoz ve epilepsi patogenezinde oksidatif stresin rol aldığı gösterilmiştir (36). Oksidatif stresin katılma nöbeti etiyojisindeki rolü üzerine çalışmamızda TOS ve OSI düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı olarak daha yüksek ($p < 0.05$), TAS düzeyleri de kontrol grubunun TAS düzeyine oranla düşük saptandı ($p < 0.05$). Artan TOS, azalan TAS ve artan OSI'nin katılma nöbeti etiyojisinde rol aldığı düşünülebilir.. Bu durumun potansiyel olumsuz sonuçlarının araştırıldığı prognostik bir çalışmanın yararlı olacağı düşünülmüştür. Epilepsi ve oksidatif stres arasındaki ilişki yakın zamanlarda yapılan birçok çalışmada ortaya konmuştur (41, 42, 43). Fakat katılma nöbetinde oksidatif stresin rolü üzerine yapılan tek bir çalışma bulunmaktadır. Çalık ve arkadaşlarının yaptığı bu çalışmada bizim sonuçlarımızla uyumlu olarak oksidatif stres yüksek, antioksidan değerler düşük saptanmıştır (44).

Artan oksidatif stres farklı mekanizmalar ile DNA üzerinde hasara yol açar. Bu mekanizmalar; baz ve şeker modifikasyonları, tek ve çift zincir kırıkları, abazik bölgelerin

oluşumu, DNA-protein çapraz bağlanması gibi olaylardır (15). Katılma nöbetinde DNA hasarı açısından yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Literatür taramamıza göre çalışmamız bu alandaki ilk araştırmadır. Çalışmamızda katılma grubunda DNA hasar skoru anlamlı bir şekilde artmış bulundu ($p < 0.05$). Ayrıca yapılan korelasyon analizi sonucu TOS ile DNA arasında pozitif, TAS ile de negatif korelasyon görüldü. Katılma nöbeti vakalarında artan oksidatif stres DNA hasarıyla sonuçlanmakta, dolaylı olarak DNA tamir mekanizmalarını da etkileyerek nöron disfonksiyonu, dejenerasyonu ve apoptozisine sebep olmaktadır (122). Bu konuda yeni bir çalışmaya ihtiyaç olduğu düşünülmüştür.

Bugüne kadar yapılan birçok araştırmada demir eksikliği anemisi ile katılma nöbeti arasındaki ilişki ortaya konmuştur (3, 4, 5, 23). Buna karşın bazı çalışmalarda da katılma nöbeti ve kontrol grubu arasında hemoglobin seviyesinde anlamlı bir fark bulunmamıştır (30,117). Çalışmamızda da katılma nöbeti grubu ile kontrol grubu arasında demir eksikliği anemisi açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmadı ($p > 0.05$).

Demir eksikliği anemisi ile katılma nöbetleri arasındaki ilişki ilk olarak bir retrospektif çalışmada ortaya konmuştur (37). Bu çalışmada hemoglobin seviyesi düşük olanların daha çok nöbet geçirdikleri, aneminin demir ile tedavisi sonrası çoğu hastada atak sıklığının azaldığı görülmüştür. Fakat bu çalışmada atak sıklığını aneminin tedavisi mi yoksa demir tedavisinin mi sağladığı belirsizdir. Daoud ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 67 katılma nöbeti olan hastada demir eksikliği araştırılmıştır. Demir eksikliği anemisi olan ve olmayan katılma nöbeti olan hastalar kontrol grubu oluşturularak ferröz sülfat ile tedavi edilmiştir. %51 hastada tam remisyon görülürken %36 hastada atak sıklığı yarı yarıya azalmıştır. Kontrol grubunda ise tam remisyon olan hasta bulunmamakla birlikte atak sıklığı azalan sadece %5,9 hasta saptanmış. Demir eksikliği anemisi ile oksidatif stres üzerine birçok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmalarda oksidatif stresin artması, antioksidanların azalması sonucu prooksidan/antioksidan dengesi prooksidan lehine kaymıştır (6, 44). Demir eksikliği anemisi olan hastalarda demir tedavisi ile oksidatif stresin azaldığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. Katılma nöbetlerinde demir eksikliği anemisi sıklığı gösterilmiş olsa da demir tedavisi ile hastaların tamamında tam remisyon olmamaktadır. Fakat atak sıklığını azalttığı birçok çalışmada gösterilmiştir (5, 34). Katılma nöbeti olan hastalarda artmış oksidatif stres ve DNA hasarına ek olarak demir eksikliği anemisi bulunması, bunun da oksidatif stresi arttırdığı düşünülebilir. Atak sıklığının azalması demir eksikliği anemisi olan hastalarda demir tedavisi ile oksidatif stresin azalması sonucu gerçekleşiyor olabilir (7, 46, 118). Bir vaka

bildiriminde demir tedavisi ile hemoglobin düzeylerinde yükselme olmadan atak sıklıklarında gerileme olduğu gösterilmiştir (38). Bu çalışma sonucu demir eksikliğinin anemiden bağımsız olarak katılma nöbetinde patofizyolojide rol aldığı ileri sürülmüştür. Demir eksikliği anemisi olmayan kişilerde demir verilmesi fenton reaksiyonu ile oksidatif stresi arttırabilir (120). Demir eksikliği anemisi olmayan hastalarda atak sıklığının anlamlı olarak değişmemesi bununla açıklanabilir.

Katılma nöbeti olan hastalarda birçok çalışmada otonom sinir sistemi disregülasyonu olduğu gösterilmiştir (23, 31, 32). Otonom sinir sistemi disfonksiyonu ile oksidatif stres arasında ilişki olabilir. Ancak bu konu çalışmamızda değerlendirilmemiştir.

Katılma nöbeti olan hastalarda tedavi imkânları kısıtlı olmakla birlikte demir eksikliği anemisi olanlarda demir tedavisi hastalara önerilebilir. Katılma nöbeti etiyolojisinde aynı zamanda oksidatif stres ve DNA hasarının da rol oynadığını düşünürsek demir tedavisinin yanında antioksidan etki amacıyla A,C, E vitaminleri eklenerek yanıt alınabilir (119, 121). Demir eksikliği anemisi olmayan hastalarda da demir tedavisi sırasında oluşan oksidatif stresi azaltmak amacıyla bu vitaminler tedavide fayda sağlayabilir.

Araştırmamız katılma nöbetinde oksidatif hasarla birlikte DNA hasarının bakıldığı ilk çalışma olup, henüz aydınlatılmamış olan katılma nöbeti etiyolojisinde yol gösterici olacaktır. Katılma nöbeti olan hastalarda gelecekte antioksidan tedaviler ve etiyolojik bulgularımızı destekleyecek yeni çalışmalar yapılabilir.

Bu çalışmada sonuç olarak katılma nöbeti vakalarında oksidatif stres ve DNA hasarı artmış, antioksidan kapasite azalmış olarak bulunmuştur. Artan oksidatif stres ve DNA hasarının sonuçları bakımından yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

6.SONUÇLAR

1) Çalışmaya 40 katılma nöbeti olan hasta (Grup 1), 30 sağlıklı çocuk (kontrol, Grup 2) dâhil edildi. Hasta grubunun 21'i (%52,5) erkek, 19'u (%47,5) kız iken kontrol grubunun 14'ü (%46,7) erkek, 16'ü (%53,3) kızdı. Hasta grubunda yaş ortalaması 1,9 iken kontrol grubunda 2 olarak saptandı. İki grup arasında yaş ve cinsiyet dağılımı açısından fark saptanmamıştır ($p > 0,05$).

2) Katılma grubunda 30 (%75) hastada siyanotik tip, 8 (%20) hastada soluk tip ve 2 (%5) hastada mikst tip nöbet olduğu görülmüştür. Cinsiyet ve nöbet tipi açısından bakıldığında siyanotik tip nöbet olan 30 hastanın 17'i erkek, 13'ü kız, soluk tip nöbet olan 8 hastanın 6'sı kız, 2'si erkek, mikst tip nöbet olan 2 hastanın da erkek olduğu tespit edilmiştir. Cinsiyet ve nöbet tipi açısından anlamlı farklılık bulunamamıştır ($p < 0,05$).

3) Nöbet sıklığına göre aylık atak sıklıkları; siyanotik tipte 3,8, soluk tipte 0,9 ve mikst tipte 5,3 idi.

4) Katılma nöbeti olan hastaların 14'ünde (%35) pozitif aile öyküsü bulunurken, 26'sında (%65) aile öyküsü bulunmamaktadır.

5) Akraba evliliği sorgulandığında 40 hastadan 5'inde (%12,5) 1.dereceden akraba evliliği olduğu görüldü.

6) Anne ve babanın eğitim düzeyi için alınan bilgilerde annelerin %8,8'i okur-yazar değil, %76,4'ü ilköğretim ve %12,5'inin lise ve üzeri eğitim aldığı, babaların ise %60,6'sının ilköğretim, %39,4'ünün ise lise ve üzeri eğitim aldığı görüldü.

7) Katılma nöbeti hastalarında TAS düzeyi, kontrol grubunun TAS düzeyine oranla istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük saptandı ($p < 0,05$). Katılma nöbeti grubunda TOS düzeyleri kontrol grubuna oranla anlamlı derecede yüksek saptandı ($p < 0,05$). OSİ katılma nöbeti grubunda kontrol grubuna oranla istatistiksel olarak yüksek saptandı ($p < 0,05$). Katılma nöbeti hastalarında kontrol grubuna oranla DNA hasarı anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ($p < 0,05$).

8) Yapılan korelasyon analizinde katılma nöbeti olan hastalarda TOS yüksekliği ile DNA hasarı arasında istatistiksel olarak anlamlı, pozitif korelasyon izlendi ($p < 0,05$). TAS ile TOS arasında ise istatistiksel olarak anlamlı, negatif korelasyon izlendi ($p < 0,05$).

9) Katılma nöbeti olan hastalar ile kontrol grubu arasında demir eksikliği açısından istatistiksel olarak anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$). Katılma nöbeti olan hastaların 2'sinde (%5) demir eksikliği anemisi, 13'ünde (%32,5) demir eksikliği, 25'inde (%62,5) normal hematolojik parametreler saptandı.

10) Siyanotik tip nöbet olan 30 hastanın 2'sinde (%6,6) demir eksikliği anemisi, 12'sinde (%40) demir eksikliği olduğu saptandı. Soluk tip nöbet olan 8 hastanın 1'inde (%12,5) demir eksikliği olduğu görülürken, demir eksikliği anemisi olan hasta yoktu. Mikst tip nöbet olan 2 hastada demir eksikliği saptanmadı.

11) Katılma nöbeti olan hastaların kontrol grubu ile B12 vitamini ve folik asit eksikliği açısından karşılaştırılmasında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$). Katılma grubunda folik asit eksikliği olan hasta bulunmazken, kontrol grubunda sadece bir hastada folik asit eksikliği bulundu. B12 vitamini eksikliği katılma grubunda 4 hastada bulundu.

12) Araştırmamız katılma nöbetinde oksidatif hasarla birlikte DNA hasarının bakıldığı ilk çalışma olup, henüz aydınlatılmamış olan katılma nöbeti etiyojisinde yol gösterici olacaktır. Katılma nöbeti olan hastalarda gelecekte antioksidan tedaviler ve etiyojik bulgularımızı destekleyecek yeni çalışmalar yapılabilir.

13) Sonuç olarak katılma nöbeti vakalarında oksidatif stres ve DNA hasarı artmış, antioksidan kapasite azalmış olarak bulunmuştur. Artan oksidatif stres ve DNA hasarının sonuçları bakımından yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

7.KAYNAKLAR

1. Bridge EM. et al., Breath-holding spells: their relationship to syncope, convulsions, and other phenomena. *J Pediatr*, 1943. 23: p. 539–61.
2. DiMario FJ Jr. Prospective study of children with cyanotic and pallid breath-holding spells. *Pediatrics*, 2001 Feb. 107(2):p.265-9.
3. DiMario FJ Jr1, Sarfarazi M. Family pedigree analysis of children with severe breath-holding spells. *J Pediatr*, 1997 Apr. 130(4):p.647-51.
4. Orii KE., et al., Changes of autonomic nervous system function in patients with breath-holding spells treated with iron. *J Child Neurol*. 2002 May. 17(5):p.337-40.
5. Mocan H., et al., Breath holding spells in 91 children and response to treatment with iron. *Arch Dis Child*. 1999, Sep. 81(3):p. 261-2.
6. J. L. Vives Corrons., et al., Increased susceptibility of microcytic red blood cells to in vitro oxidative stress. *Eur. J. Haematol*, 1995. 55:p. 327–331.
7. Mehmet Aslan., et al., Evaluation of oxidative status in iron deficiency anemia through total antioxidant capacity measured using an automated method. *Turk J Hematol*, 2011. 28:p.42-6.
8. Tekin D., et al., Possible effects of antioxidant status on increased platelet aggregation in childhood iron-deficiency anemia. *Pediatr Int*, 2001. 1:p.74–77.
9. Coşkun T., B12 vitamini. *Katkı Dergisi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara*; 2003:19-43.
10. Reynolds E. Vitamin B 12, folic acid, and the nervous system. *Lancet Neurol* 2006; 5:949–60.
11. Zhang XM., et al., Folate deficiency induces neural stem cell apoptosis by increasing homocysteine in vitro. *J Clin Biochem Nutr* 2009. 45:p.14–9.
12. Seshadri., et al., Plasma homocysteine as a risk factor for dementia and Alzheimer's disease. *N Engl J Med*, 2002. 346:p.476–83.
13. M. Patel, et al., Age dependence of seizure-induced oxidative stress. *Neuroscience*, 2003. Vol118(2):p.431–437.
14. Stephenson JBP. Febrile convulsions and reflex anoxic seizures.In: Clifford RF, ed. *Research progress in epilepsy*. London: Pitman,1983:p.244-52.
15. Yokuş B,Çakir DÜ. İnvivo Oksidatif DNA Hasarı Biyomarkeri; 8-Hydroxy-2'deoxyguanosine. *Türkiye Klinikleri J Med Sci*, 2002. 22(5):p.535-43.

16. Visser AM., et al., Paroxysmal disorders in infancy and their risk factors in a population-based cohort: the Generation R Study. *Dev Med Child Neurol*, 2010. Nov;52:p.1014-20.
17. Patel H., et al., Nonepileptic seizures in children. *Epilepsia*, 2007. 48(11): p.2086-2092.
18. Obeid M., et al., Expanding spectrum of paroxysmal events in children: potential mimickers of epilepsy. *Pediatr, Neurol* 2007 Nov. 37(5): p.3009-16
19. Kaplan PW., Fisher RS, editors. *Imitators of Epilepsy*. 2nd edition. New York: Demos Medical Publishing, 2005.
20. Fowle AJ., et al., Uses and abuses of the EEG in epilepsy. *Epilepsia*, 2000. 41(suppl.3):p.10–18.
21. Kotagal P., et al., Paroxysmal Nonepileptic Events in Children and Adolescents. *Pediatrics*, 2002; 110:e46 DOI: 10.1542/peds.110.4.e46.
22. Breukels MA., et al., Breath holding spells in a 3-day-old neonate: an unusual early presentation in a family with a history of breath holding spells. *Neuropediatrics*, 2002 Feb. 33(1):p.41-2.
23. DiMario FJ Jr. Breath-holding spells in childhood. *Am J Dis Child*, 1992 Jan. 146(1):p.125-31.
24. Breningstall GN. Breath-holding spells. *Pediatr Neurol*, 1996. p.14:91.
25. Gauk EW., et al. Mechanism of seizures associated with breath-holding spells. *N Engl J Med*, 1963 Jun 27. 268:p.1436-41.
26. Lambrosso CT., et al., Breathholding spells (cyanotic and pallid infantile syncope). *Pediatrics*, 1967 Apr. 39(4):p.563-81.
27. Southall, DP., et al., Recurrent cyanotic episodes with severe arterial hypoxaemia and intrapulmonary shunting: a mechanism for sudden death. *Arch Dis Child*, Sep 1990. 65(9):p.953–961.
28. Moorjani, Bl., et al., Breath-holding spells and prolonged seizures. *Ann Neurol* 1995. 38:p.512.
29. Kuhle S., et al., Prolonged generalized epileptic seizures triggered by breath-holding spells. *Pediatr Neurol* 2000;23:p.271-273.
30. Laxdal T., et al., Cyanotic and pallid syncopal attacks in children (breath-holding spells). *Dev Med Child Neurol*. 1969 Dec. 11(6):p.755-63.
31. DiMario FJ Jr., et al., Autonomic nervous system function in severe breath-holding spells. *Pediatr Neurol*, 1993 Jul-Aug. 9(4):p.268-74.

32. Kolkiran A., et al., Autonomic nervous system functions in children with breath holding spells and effects of iron deficiency. *Acta Paediatr*, 2005. 94:p.1227.
33. DiMario FJ Jr., Pallid breath-holding spells. Evaluation of the autonomic nervous system. *Clin Pediatr (Phila)*, 1990 Jan. 29(1):p.17-24.
34. Daoud AS., et al., Effectiveness of iron therapy on breath-holding spells. *J Pediatr*. 1997 Apr. 130(4):p.547-50.
35. Yager JY., et al., Neurologic manifestations of iron deficiency in childhood. *Pediatr Neurol*, 2002. 27:p.85-92.
36. Chen Wu., et al., Screening for iron deficiency. *Pediatr Review*, 2002. 23:p.171-8.
37. Holowach J., et al., Breath-holding spells and anemia. *N Engl J Med*, 1963 Jan 3. 268:p.21-3.
38. Tam DA., et al., Breath-holding spells in a patient with transient erythroblastopenia of childhood. *J Pediatr*, 1997 Apr. 130(4):p. 651-3.
39. Winyard PG., et al., Oksidative activation of antioxidant defense *Trends Biochem Sci*, 2005. 8:p. 453-461.
40. Perry G., et al., Is oxidative damage the fundamental pathogenic mechanism of Alzheimer's and other neurodegenerative diseases? *Free Radic Biol Med*, 2002 Dec. 1;33(11):p. 1475-9.
41. Brugnara C., et al., Diagnostic approach to the anemic patient. In: Nathan DG, Orkin SH, Gingsburg D, Look TA (eds) *Nathan and Oski's hematology in infancy and childhood*, 6th edn. Saunders, Elsevier, New York, pp 2009 456-463.
42. Fujikawa DG., et al., Status epilepticus-induced neuronal loss in human without systemic complications or epilepsy. *Epilepsia*, 2000. 8:p. 981–991.
43. Shin EJ., et al., Role of oxidative stress in epileptic seizures. *Neurochem Int*, 2011. 2:122–137.
44. Calik M., et al., Increased oxidant status in children with breath-holding spells. *Childs Nerv Syst*, 2013 Jun. 29(6):p.1015-9. doi: 10.1007/s00381-012-2001-8. Epub 2012 Dec 19.
45. J. Acharya, et al., Red cell lipid peroxidation and antioxidant enzymes in iron deficiency. *Eur. J. Haematol*, 1991. 4:p.287–291.
46. Kurtoglu E. Effect of iron supplementation on oxidative stress and antioxidant status in iron-deficiency anemia. See comment in PubMed Commons below *Biol Trace Elem Res*. 2003 Winter. 96(1-3):p.117-23.

47. Olsen AL., et al., Long-term prognosis for children with breath-holding spells. *Dan Med Bull*, 2010 Nov. 57(11):p. A4217.
48. Mahloudji M., Clinical neurological aspects of familial dysautonomia. *J Neurol Sci*, 1970. 11:p.383-95.
49. Axelrod FB., et al., Familial dysautonomia:Diagnosis, pathogenesis and management. *Adv Pediatr*, 1973. 21:p.75-96.
50. Haverkamp F., et al., Traditional view empirically revisited: normal intellectual functioning in breath holding spells. *Eur J Pediatr*, 1998 Apr. 157(4):p.354.
51. Allan WC, et al., Seizures, syncope, or breath-holding presenting to the pediatric neurologist--when is the etiology a life-threatening arrhythmia?. *Semin Pediatr Neurol*, 2005 Mar. 12(1):p.2-9.
52. Boon R., et al., Does iron have a place in the management of breathe holding spells? *Arch Dis Child Neurol*, 2001. 16:p.697
53. Mattie-Luksic M, DiMario FJ. Assessment of stress in mothers of children with severe breath-holding spells. *Pediatrics*. 2000 Jul. 106(1 Pt 1):1-5.
54. Ritchie B., et al., Soluble transferrin receptor in Aboriginal children with a high prevalence of iron deficiency and infection. *Trop Med Int Health*, 2004 Jan. 9(1):p. 96-105.
55. Horrocks IA., et al., Anoxic-epileptic seizures: observational study of epileptic seizures induced by syncopes. *Arch Dis Child*. 2005, Dec. 90(12):p. 1283-7.
56. Donma MM., et al., Clinical efficacy of piracetam in treatment of breath-holding spells. *Pediatr Neurol*, 1998 Jan. 18(1):p. 41-5.
57. Emery ES., et al., Status epilepticus secondary to breath-holding and pallid syncopal spells. *Neurology*, 1990 May. 40(5):p. 859.
58. Kelly AM., et al., Breath-holding spells associated with significant bradycardia: successful treatment with permanent pacemaker implantation. *Pediatrics*, 2001 Sep;108(3):p. 698-702.
59. Carano N., et al., Glycopyrrolate and theophylline for the treatment of severe pallid breath-holding spells. *Pediatrics*, 2013 Apr. 131(4):e1280-3. doi: 10.1542/peds.2012-0182. Epub 2013 Mar 18.
60. Kohyama J., et al., Rapid eye movement sleep in breath holders. *J Child Neurol*, 2000 Jul. 15(7):p. 449-52.
61. Guilleminault C., et al., Cyanotic breath-holding spells in children respond to adenotonsillectomy for sleep-disordered breathing. *J Sleep Res*, 2007 Dec.16(4):p. 406-13.

62. Salih S: Erişkin Dikkat Eksikliği Hiperaktivite Bozukluğu Hastalarında Oksidatif Metabolizmanın Değerlendirilmesi, Uzmanlık tezi. Gaziantep Üniversitesi, 2007.
63. Valko M., et al., Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 2006. 160:p.1-40.
64. Mercan U. Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi. *YYU Vet Fak Derg.* 2004. 15(12):p.91-96.
65. Gergerlioglu HS., et al.,. Changes in nitric oxide level and superoxide dismutase activity during antimanic treatment. *Progress in neuropsychopharmacology & biological psychiatry*, 2007;p.697–702.
66. Çöpoğlu ÜS. Semptomatik remisyonda olan ve olmayan şizofreni hastalarında oksidatif metabolizmanın ve oksidatif DNA hasarının incelenmesi. Uzmanlık tezi. Gaziantep Üniversitesi, 2012.
67. Gutteridge JM, Halliwell B. Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 2000. 899:p.136-147.
68. Stadtman ER. Protein oxidation and aging. *Science*, 1992. 257(5074);p.1220-1224.
69. Altan N., et al., Diabetes Mellitus ve Oksidatif Stres. *Türk J Biochem*, 2006. 31(2);p.41–45.
70. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimozayayınları*, Konya, 1995. p.3-24
71. Nizamlıoğlu M., et al., Glutasyon peroksidaz (GSH-Px) enziminin vitamin E ve selenyum ile ilişkisi. *Türk Vet Hek Derg*, 1992. 1:p.10-13.
72. Jane JD., et al., Quitting smoking raises whole blood glutathione. *Physiol Behav*, 1996. 5:p.1379-81
73. Stralin P., et al., The interstitium of the human arterial wall contains very large amounts of extracellular superoxide disutase *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1995. 15:p.2032-2036.
74. Onur E. Defibrotidin aterojenik diyet uygulanan tavşanlarda beyin ve böbrek serbest radikal ve antioksidanlara etkisi. Uzmanlık tezi.1999.
75. Schmidley JW. Free radicals in central nervous system ischemia. *Stroke*, 1990. 25:p7-12.
76. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clinical Biochemistry*, 2005. 9:p.1-9.

77. Işık A, Selek İ., Total Antioxidant Response and Oxidative Stress in Patients with Behçet's Disease. *F. Ü. Sağ. Bil. Derg*, 2006. 20(6):p.415-421.
78. Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. *Toxicol Pathol*, 2002. 30(6):p.620-50.
79. Urso ML, Clarkson PM. Oxidative stress, exercise, and antioxidant supplementation. *Toxicology*, 2003. 189:p.41-54.
80. Ullegaddi R., et al., Antioxidant Supplementation With or Without B-Group Vitamins After Acute Ischemic Stroke: A Randomized Controlled Trial. *Journal of Parenteral and Enteral Nutrition*, 2006. 30(2):p.108-114.
81. Crichton R. Inorganic biochemistry of iron metabolism. From Molecular Mechanisms to Clinical Consequences 2nd Ed. John Wiley & Sons Ltd 2001.
82. Halliwell B. Tell me about free radicals, doctor: a review. *J R Soc Med* 1989. 82:747-752.
83. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem*, 2004. 37:p.112-119.
84. Ghiselli A., et al., Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radic Biol Med*, 2000. 29:p.1106-1114.
85. Gür M., et al., The effect of coronary angioplasty on oxidative and antioxidative status. *Türk Kardiyol. Dern. Arş*, 2007. 35(1):p.21-27.
86. Banerjee K.A., et al., Oxidant, antioxidant and physical exercise. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2003. 253:p.307-312.
87. Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. *FEBS letters*. 1991. 281(1-2):p.9-19.
88. Dizdaroglu M., et al., Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free radical biology & medicine*, 2002. 32:p.1102-1115.
89. Dallman PR. New approaches to screening for iron deficiency. *J Pediatr*, 1977;90(4):p. 678-88 .
90. Gedikoğlu G., et al., Kan Hastalıkları: Neyzi O, Ertuğrul T, editors. *Pediyatri*. 2nd ed. İzmir: Nobel Tıp Kitabevleri, 1993;347-63.
91. Unal S., et al., Demir Eksikliği Anemisi. *Katkı Dergisi*, Hacettepe Üniversitesi, Ankara; 2003:327-45.
92. Lanzkowsky P. *Manual of pediatric hematology and oncology, iron deficiency anemia*. 4th Ed. Elsevier Academic Press; 2005:31-46.

93. Birsen U., Demir Eksikliği Anemisi: Klinik hematolojinin ABC'si. Anemiler Sempozyumu Özet Kitabı p.23-32, İstanbul, 2001.
94. Yıldız İ., Demir eksikliği anemisi. Türk Ped Arş. 2009;44(özel sayı):p.14-18.
95. Ani-Kibangou B., et al., Improved absorption of caseinophosphopeptide-bound iron: role of alkaline phosphatase. J Nutr Biochem, 2005 Jul. 16(7):p.398-401.
96. Gümrük F., et al., Demir Metabolizması ve Demir Eksikliği Anemisi. Katkı Pediatri Dergisi. 1995;16(3):p.265-86.
97. Bermejo F., et al., A guide to diagnosis of iron deficiency and iron deficiency anemia in digestive diseases. World J Gastroenterol, 2009. 15(37):p.4638-43.
98. Algarin C., et al., Iron deficiency anemia in infancy: Long-lasting effects on auditory and visual systems functioning. Pediatr Res 2003. 53:p.217-23.
99. Akman M., et al., The effects of iron deficiency on infants' developmental test performance. Acta Paediatr, 2004 Oct. 93(10):p.13916.
100. Tunç B. Çocuklarda demir Eksikliği anemisi. Türkiye Çocuk Hast Derg 2008. 2(2):p.43-57.
101. Robin KO., Diseases of the Blood. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, editors. Nelson Textbook of Pediatrics. 17 ed. Philadelphia:W.B.Saunders; 2004.
102. Hagar W., et al., Diseases of iron metabolism. Pediatr Clin North Am, 2002 Oct. 49(5):p893-909.
103. Yıldız İ, Yüksel L. Kan Hastalıkları. In: Onat T, editor. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları. 1 ed. İstanbul: Eksen Yayınları; 1996.
104. Kayaalp SO. Rasyonel tedavi yönünden tıbbi farmakoloji; Megaloblastik anemilerin tedavisi. 8.baskı, 2.Cilt Hacettepe Taş Kitapçılık: Ankara;1998:1580-9.
105. Linker CA. Blood. In: Tierney LM, McPhee SJ, Papadakis MA (Eds). Current medical diagnosis and treatment. 42nd ed. New York: McGraw-Hill Co; 2003. p.474-6.
106. Ohls RK, Christensen RD. Megaloblastic anemias. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (Eds.). Nelson textbook of pediatrics. 17th ed. USA: Elsevier Science; 2004. p.1611-3.
107. Lanzkowsky P. Megaloblastic anemia. Manuel of pediatric hematology and oncology. 4th ed. Elsevier Academic Press; 2005:p.47-70.
108. Whitehead VM, Rosenblatt RD, Cooper BA. Megaloblastic anemia. In: Nathan DG, Orkin SH (Eds). Nathan and Oski's hematology of infancy and childhood. Philadelphia: WB Saunders Co; 1998. p:385-422.

109. Dharmarajan TS., et al., Approaches to vitamin B12 deficiency; early treatment may prevent devastating complications. *Postgrad Med* 2001.110(1):p.99-105.
110. Aslinia F., et al., Megaloblastic anemia and other causes of macrocytosis. *Clin Med Res* 2006;4(3):p.236–41.
111. Von Schenck U., et al., Persistence of neurological damage induced by dietary vitamin B 12 deficiency in infancy. *Arch Dis Child* 1997.77:p.137-9.
112. Coşkun T. Folik Asit. *Katkı Dergisi, Hacettepe Üniversitesi. Ankara,2003:p.489-98.94.* Laird PW. Cancer epigenetics. *Hum Mol Genet*, 2005. 14(1):p.65–76.
113. Goodwin JS., et al., Association between nutritional status and cognitive functioning in a healthy elderly population. *JAMA*, 1983. 249:p.2917–21.
114. Reynolds EH. Neurological aspects of folate and vitamin B 12 metabolism. In: Hoff Brand AV (Ed.). *Clinics in haematology vol. 5.* London: Saunders, 1976. p.661–96.
115. Arslan H., et al., The evaluation of physiological and biochemical parameters and the autonomic nervous systems of children with breath-holding spells. *Neuropediatrics*, 2014 Aug. 45(4):212-6. doi: 10.1055/s-0033-1363093. Epub 2013 Dec 13.
116. Handan U., et al., Serum soluble transferrin receptor is a valuable diagnostic tool in iron deficiency of breath-holding spells. *Pediatr Hematol Oncol*, 2005 Dec. 22(8):p.711-6.
117. Maulsby R, Kelleway P. Transient hypoxic crisis in children. In *Neurological and electroencephalographic correlative studies in infancy.* Ed:P Kelleway. New York, Grune and Stratton, 1964. p.349-360.
118. Akça H. et al., Determination of total oxidative stress and total antioxidant capacity before and after the treatment of iron-deficiency anemia. *J Clin Lab Anal.* 2013 May. 27(3): p. 227-30. doi: 10.1002/jcla.21589. Epub 2013 Feb 25.
119. Madhikarmi NL. et al. Antioxidant enzymes and oxidative stress in the erythrocytes of iron deficiency anemic patients supplemented with vitamins. *Iran Biomed J.* 2014. 18(2): p. 82-7.
120. Bartal M. et al., Iron deficiency anemia: recovery from in vitro oxidative stress. *Acta Haematol* 1993. 90: p.94-8.
121. Gadjeva V. et al., Vitamin combinations reduce oxidative stress and improve antioxidant status in patients with iron deficiency anemia. *Comp Clin Path* 2005. 14: p. 99–104.
122. Gut P, Verdin E. The nexus of chromatin regulation and intermediary metabolism. *Nature* 2013;502(7472):489–98.