



TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KRONİK KAN HASTALIKLARINDA GÖRÜLEN ERİTROSİT  
OSMOTİK FRAJİLİTESİ DEĞİŞİKLİKLERİ**

HAZIRLAYAN: DERYA AŞÇI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Prof.Dr. NURAN EKERBİÇER

MANİSA 2019





TÜRKİYE CUMHURİYETİ  
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**KRONİK KAN HASTALIKLARINDA GÖRÜLEN ERİTROSİT OSMOTİK  
FRAJİLİTESİ DEĞİŞİKLİKLERİ**

HAZIRLAYAN: DERYA AŞÇI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

DANIŞMAN: Prof.Dr. NURAN EKERBİÇER

TEZ SINAV JÜRİSİ  
Prof. Dr. Nuran EKERBİÇER  
Prof. Dr. Necip KUTLU  
Dr. Öğr. Üyesi M. Alper ERDOĞAN

MANİSA 2019

## BEYAN

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

Öğrecinin Adı, Soyadı

Derya AŞÇI

İmza

## TEŞEKKÜR

Tezimin planlanmasından tamamlanmasına kadar her aŐamasında, değerli bilgi ve katkılarıyla bana yön veren, desteğini, ilgisini ve anlayışını hiçbir koşulda eksik etmeyen çok değerli hocam Prof. Dr. Nuran EKERBİÇER'e her türlü desteği için sonsuz teşekkür ederim.

Projenin oluşturulmasında ve deneylerimin yürütölmesi sırasındaki yardım ve destekleri için 2. Tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Yeşim GÜVENÇ DEMİRAĞCI ve Uzm. Dr. Raziye YILDIZ'a, istatistiksel analizlerdeki desteği için Prof. Dr. Beyhan Cengiz ÖZYURT'a çok teşekkür ederim.

Eğitim hayatım süresince gösterdikleri büyük özveri ile beni her konuda destekleyen, Çalışmalarım süresince her zaman cesaretlendiren, attığım her adımda arkamda olduklarını bildiğim, fedakarlıktan asla kaçınmayan, karşılaştığım her sorunu dinleyip sabırla çözüm bulan, tüm stresli zamanlarımda anlayış ve sabırlarını hiçbir zaman eksik etmeyen annem Sünböl AŞCI, babam Ahmet AŞCI ve kardeŐim Bekir AŞCI'ya sevgi ve desteklerini her zaman hissettirdikleri için çok teşekkür ederim.

Bu tez, Celal Bayar Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu Başkanlığı tarafından 2015-092 numaralı proje ile desteklenmiştir.

## İÇİNDEKİLER

	<b>Sayfa</b>
TEŞEKKÜR	i
İÇİNDEKİLER	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
<b>ÖZET</b>	<b>1</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>2</b>
<b>1. GİRİŞ</b>	<b>3</b>
<b>2. GENEL BİLGİLER</b>	<b>6</b>
2.1. Anemi	6
2.1.1. Anemilerin Sınıflandırılması	7
2.1.2. Anemilerde Genel Semptomlar ve Fizik Muayene Bulguları	8
2.1.3. Anemilerde Patofizyoloji	8
2.1.4. Anemilerin ayırıcı tanısında kullanılan özgün yapısal özellikler	9
2.2. Demir Eksikliği Anemisi	11
2.2.1. Demir Metabolizması	11
2.2.1.1. Demir	11
2.2.1.2. Ferritin	12
2.2.1.3. Transferrin	12
2.2.2. Demir Eksikliği Anemisi Patogenezi	13
2.2.3. Demir Eksikliği Anemisi Nedenleri	13
2.2.4. Demir Eksikliği Anemisinde Tanı	13
2.2.4.1. Demir Eksikliği Anemisi Tanısı için Gerekli Testler	14
2.3. B12 Eksikliği Anemisi	16
2.3.1. B12 Eksikliği Metabolizması	17
2.3.2. B12 Eksikliği Etiyolojisi	18
2.3.3. B12 Eksikliği Patogenezi	18

2.3.4. B12 Eksikliği Anemisinde Klinik	19
2.3.5. B12 Eksikliği Anemisinde Laboratuvar	19
2.4. Talasemiler	20
2.4.1. Talasemi Epidemiyolojisi	20
2.4.2. Talasemi Patofizyolojisi	21
2.4.3. Talasemilerin Sınıflandırılması	21
2.4.3.1. Alfa Talasemiler	21
2.4.3.2. Beta Talasemiler	22
2.4.4. Talasemilerde Klinik	23
2.4.4.1. Alfa Talasemide Klinik	23
2.4.4.2. Beta Talasemilerde Klinik	23
2.4.4.2.1. Talasemi Minima	23
2.4.4.2.2. $\beta$ Talasemi Minor	24
2.4.4.2.3. Talasemi İntermedia	24
2.4.4.2.4. Homozigot $\beta$ Talasemi ( $\beta$ Talasemi Majör)	25
2.5. Osmotik Frajilite	26
2.6. Serbest Radikaller ve Diğer Reaktif Oksijen Türleri	27
2.6.1. Oksidatif Stres	28
2.6.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)	29
2.6.2.1. Süperoksit Radikali( $O_2^-$ )	30
2.6.2.2. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ )	30
2.6.2.3. Hidroksil Radikali (OH)	30
2.6.2.4. Hidroperoksit Radikali ( $HO_2$ )	30
2.6.2.5. Hipoklorik Asit Radikali(HOCl)	30
2.6.2.6. Singlet $O_2$	30
2.6.2.7. Reaktif Nitrojen Türleri (RNS)(NO, $NO_2$ , $NO^+$ )	30
2.6.3. Enzimatik Antioksidanlar	31
2.6.3.1. Süperoksit Dismutaz(SOD)	31
2.6.3.2. Katalaz	31
2.6.3.3. Glutasyon Peroksidaz(GPx)	31
2.6.4. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar	32
2.6.4.1. Antioksidan Vitaminler	32
2.6.4.2. Glutasyon	32

2.6.5. Serbest Oksijen Radikallerinin Zararlı Etkileri	32
2.6.5.1. Karbonhidratlara Etkileri	32
2.6.5.2. Proteinlere Etkileri	32
2.6.5.3. Membranların Lipit Peroksidasyonu	33
<b>3. GEREÇ VE YÖNTEMLER</b>	34
3.1. Denekler	34
3.2. Osmotik Frajelite Deneyi	34
3.2.1. Stok Çözeltisi	35
3.2.2. Osmotik Frajilite Ölçümü	35
3.2.3. Sonuçların Hesaplanması	35
3.3. Tam Kan Sayımı ve Periferik Yayma	36
3.4. SOD (Süperoksit Dismutaz)	36
3.4.1. Örneklerin Hazırlanması	36
3.4.2. Standartların Hazırlanması	36
3.4.3. Örneklerin Çalışılması	37
3.4.4. Hesaplama	37
3.5. NO (Nitrik Oksit)	38
3.5.1. Deneyin Prensibi	38
3.5.2. Kullanılan Kimyasal ve Reaktifler	38
3.5.3. Deneyin Yapılışı	39
<b>4. BULGULAR</b>	41
4.1. Çalışma Gruplarının Hemoliz Değerlerinin Karşılaştırılması	41
4.2. Çalışma Gruplarının Kan Sayım değerlerinin karşılaştırılması	42
4.3. Çalışma Gruplarının SOD(Süperoksit dismutaz) ve NO(Nitrik Oksit) Değerlerinin Karşılaştırılması	44
4.4. Çalışma gruplarında kullanılan parametrelerin korelasyonu	46
4.5. Çalışma gruplarından yapılan Periferik yayma görüntüleri	47
4.6. İstatistiksel Analiz	48
<b>5. TARTIŞMA</b>	49
<b>6. SONUÇ VE ÖNERİLER</b>	55
<b>7. KAYNAKLAR</b>	56
<b>8. EKLER</b>	68
8.1. Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu	68



8.2. Etik Kurul Onayı	71
8.3. Turnitin Raporu	72
8.4. Enstitü Yönetim Kurulu Kararı	73
8.5. Hematoloji Bilim Dalı İzin Yazısı	74
<b>9. ÖZGEÇMİŞ</b>	<b>75</b>



## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AdoCbl: Adenozil kobalamin

CAT: Katalaz

Cu: Bakır

CuSO<sub>4</sub>: Bakır Sülfat

DAT: Direkt Antiglobulin Testi

DBK: Demir Bağlama Kapasitesi

DEA: Demir Eksikliği Anemi

DFO: Desferrioksamin

DİK: Dissemine İntravasküler Koagülasyon

EPO: Eritropoietin

Fe: Demir

GİS: Gastrointestinal Sistem

G<sub>6</sub>PD: Glukoz 6 Fosfat Dehidrogenaz

GSH-Px: Glutasyon Peroksidaz

Hb: Hemoglobin

HbA: Hemoglobin A

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: Hidrojen Peroksid

H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>: Sülfürik Asit

HOCl: Hipoklorik Asit Radikali

IF: İntrinsik Faktör

LDH: Laktat Dehidrogenaz

MCH: Ortalama Hemoglobin Miktarı

MCHC: Ortalama Hemoglobin Yoğunluğu

MCV: Ortalama Eritrosit Volümü

MDA: Malondialdehit

MeCbl: Metil kobalamin

MMA: Metil Malonik Asit

Mn: Manganez

NaCl: Sodyum Klorür

NaOH: Sodyum Hidroksit  
(NNDA): N-Naphtylene daimine  
NO: Nitrik Oksit  
NOS: Nitrik Oksit Sentetaz  
NO<sub>2</sub>: Nitrit  
NO<sub>3</sub>: Nitrat  
O<sub>2</sub>: Oksijen  
O<sub>2</sub><sup>-</sup>: Süperoksit  
RDW: Eritrosit Dağılım Genişliği  
RNA: Ribonükleik Asit  
RNS: Reaktif Nitrojen Türleri  
RO<sup>-</sup>: Alkoksil  
ROO<sup>-</sup>: Peroksil  
ROT: Reaktif Oksijen Türleri  
SCDSC: Spinal Kordum Subakut Kombine Dejenerasyonu  
SLE: Bağ Dokusu Hastalığı  
SOD: Süperoksit Dismutaz  
sTfR: Serum Transferin Reseptörü  
TDBK: Total Demir Bağlama Kapasitesi  
Th4-Folat: Tetrahidro folat  
TI: Talasemi İntermedia  
TM: Talasemi Major  
TS: Transferrin Saturasyonu  
Tf: Transferrin  
TTP: Trombotik Trombositopenik Purpura  
WHO: Dünya Sağlık Örgütü  
Zn: Çinko  
ZnSO<sub>4</sub>: Çinko Sülfat  
ZnPP: Çinko Protoporfirin  
 $\alpha$ : Alfa  
 $\beta$ : Beta

## ŞEKİLLER DİZİNİ

**Şekil 1:** Hemoglobin Molekülünün Yapısı

**Şekil 2:** Çalışma Grupları Örneklerinin Hemoliz Yüzdeleri

**Şekil 3:** Kontrol Grubu ve Hasta Örneklerinin Kan Sayım Değerlerinin

Karşılaştırılması

**Şekil 4:** Kontrol Grubu ve Hasta Gruplarının SOD (Süperoksit Dismutaz) Aktivitesi

**Şekil 5:** Kontrol Grubu ve Hasta Gruplarının NO (Nitrik Oksit) Düzeyleri



## RESİMLER DİZİNİ

**Resim 1:** B<sub>12</sub> Eksikliği Olan Hastalarda Yapılan Periferik Yayma Görüntüleri

**Resim 2:** Talasemili Hastalarda Yapılan Periferik Yaymaları Görüntüleri

**Resim 3:** Demir Eksikliği Olan Hastalarda Yapılan Periferik Yayma Görüntüleri

**Resim 4:** Kontrol Gubunda Yapılan Periferik Yayma Görüntüleri



## TABLULAR DİZİNİ

**Tablo 1:** Anemilerin morfolojik sınıflaması

**Tablo 2:** Dünya’da sık görülen  $\beta$  talasemi mutasyonları

**Tablo 3:** Reaktif Türler

**Tablo 4:** Farklı derişiklerdeki NaCl çözeltileri

**Tablo 5:** Süperoksit Dismutaz Standartları

**Tablo 6:** Nitrit Standartları

**Tablo 7:** Hemoliz Değerlerinin Ortalama ve Standart Sapmaları

**Tablo 8:** Tam Kan Sayım Parametreleri Ortalama ve Standart Sapmaları

**Tablo 9:** SOD ve NO Sonuçlarının Ortalama ve Standart Sapmaları

**Tablo 10:** Tüm Gruplarda Çalışılan Testler Arası Korelasyon

# KRONİK KAN HASTALIKLARINDA GÖRÜLEN ERİTROSİT OSMOTİK FRAJİLİTESİ DEĞİŞİKLİKLERİ

**Öğrencinin Adı:** Derya AŞÇI

**Danışmanı:** Prof. Dr. Nuran EKERBİÇER

**Anabilim Dalı:** Fizyoloji

## ÖZET

**Amaç:** Eritrositlerde artan membran rijiditesi, azalan deformabilite ve hemoliz oksidatif hasarın bir sonucudur. Literatürde homozigotik beta talasemili ve demir eksikliği anemisinde oksidan/antioksidan sistem ve eritrosit osmotik frajilitesi arasındaki ilişkiyi gösteren sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Çalışmamızda anemi tanısı konmuş hasta grubu ile sağlıklı bireylerden oluşturulan kontrol grubunda oksidatif hasar belirteci olan Nitrik oksit (NO) plazmada, antioksidan sistemin en önemli bileşenleri olan süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ise eritrositlerde belirlenerek, aralarındaki ilişkiyi araştırılmıştır.

**Gereç ve Yöntem:** Çalışmamız Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Hematoloji Polikliniğine anemi nedeniyle başvuran 3 ayrı grup kan örneğiyle ve kontrol grubuyla yapıldı. Kontrol grubu (n=15), Demir eksikliği anemisi grubu (n=15), B<sub>12</sub> Vitamini eksikliği grubu (n=15), Talasemi minör grubu (n=15).

**Bulgular:** Özellikle talasemi hasta grubunda artan osmotik frajilite ve artan NO düzeyi saptanmış olup; bu hasta grubunda ortaya çıkan oksidatif stres ve lipid peroksidasyonunun bir sonucu olarak hemolitik anemiye neden olduğu düşünülmektedir.

**Sonuçlar:** Çalışmamızın sonuçları gereğince; oksidatif stres araştırması için anemili olgularda yapılan çalışmaların tanısı yeni konulmuş ve henüz tedaviye başlanılmamış hasta grubunda yapılmasının, hem osmotik frajilite sonuçları, hemde oksidan/antioksidan sistem parametreleri açısından daha sağlıklı sonuçlar verebileceğini düşünmekteyiz.

**Anahtar kelimeler:** Eritrosit osmotik frajilitesi, kronik kan hastalıkları, anemiler, oksidan sistem, antioksidan sistem, Nitrik oksit, Superoksit Dismutaz.

## THE CHANGES OF RED BLOOD CELL OSMOTIC FRAGILITY SEEN IN CHRONIC BLOOD DISEASES

**Student's Name:** Derya AŞCI

**Advisor:** Prof. Dr. Nuran EKERBİÇER

**Department:** Physiology

### ABSTRACT

**Aim:** Anemia diagnosed patients and the control group formed healthy individuals were included in our study. Nitric oxide which is indicative of oxidative damage is attempting in plasma. In our study, nitric oxide (NO), which is the indicator of oxidative damage from plasma and superoxide dismutase (SOD), which are the most important components of the antioxidant system, were investigated in control group of healthy individuals and patients with anemia. Particularly in the thalassemia patient group, osmotic fragility and NO levels were increased as a result of increased oxidative stress and lipid peroxidation in this patient group, is considered to be the causes of hemolytic anemia.

**Material and method:** Our study was performed with 3 separate groups of blood samples and control group in Manisa Celal Bayar University Hafsa Sultan Hospital Hematology Polyclinic. Control group (n=15), Iron deficiency anemia group (n=15), B<sub>12</sub> deficiency anemia group (n=15), Talasami minor group (n = 15).

**Results:** Particularly in the thalassemia patient group, osmotic fragility and NO levels were increased as a result of increased oxidative stress and lipid peroxidation in this patient group, is considered to be the causes of hemolytic anemia.

**Conclusion:** According to the results of our study; for the study of oxidative stress, we think that the studies performed in patients with anemia may be more effective in terms of both osmotic fragility results and oxidant/antioksidant system parameters.

**Keywords:** Osmotic fragility, chronic blood diseases, anemia, oxidant system, antioxidant system, nitric oxide, superoxide dismutase.



## 1.GİRİŞ VE AMAÇ

Kan hastalıkları günümüzde de önemini koruyan hastalıklar grubunda yer almaktadır. Herediter sferositoz, kazanılmış hemolitik anemiler, ilaçlara bağlı hemolitik anemiler ile pernisiyöz anemi yanı sıra talasemi, orak hücreli anemi ve demir eksikliği anemileri toplumda önemli oranda görülen ve anemileri oluşturan nedenler arasında yer alan patolojilerdi.

Çevresel kanda hemoglobin (Hb) miktarının kişinin yaş ve cinsiyetine göre referans kabul edilen değerlerin altına inmesi anemi olarak adlandırılır(Akman 2001). Dünya sağlık örgütü (WHO) tarafından yapılan tanımlamalara göre hemoglobin değerinin erişkin erkekte 13 g/dl, kadında 12 g/dl altına inmesi anemi olarak kabul edilir (Tunalı 1997). Yaş ve cinsiyet dışında sosyoekonomik düzey, yaşanılan yer, ırk, postür, deniz seviyesinden yüksekliği, plazma hacmi değişiklikleri gibi çeşitli faktörler hemoglobin, hematokrit değerlerinde değişikliklere sebep olabilir (Soysal 2005).

Aneminin bir hastalık olmayıp altta yatan başka bir hastalığın belirtisi olduğu hatırlanmalıdır (Atamer 2004). Anemisi olan hastada klinik belirti ve bulgular aneminin derecesine, gelişme hızına, hastanın yaşına, anemiye neden olan altta yatan hastalığa, hastanın kalp, akciğer ve santral sinir sisteminin işlevlerinin durumuna bağlıdır (Atamer ve ark. 2003). Anemili kişilerde iştahsızlık, dispeptik yakınmalar gibi semptomlar genellikle anemiye oluşturan hastalığa bağlıdır. Disfaji, demir eksikliği anemisinin komponenti olabilir (Ali 2005).

Eritrositler; insan vücudunda önemli ve kritik görevler üstlenen, farklı fizyolojik koşullarda, çeşitli ksenobiotiklere maruziyetlerde dinamik davranış biçimleri sergilemek zorunda olan ve oksidan stresle sürekli karşılaşan çok iyi özelleşmiş bir hücrelerdir (Sivilotti 2004). Eritrositler hemoglobinin osmotik etkisinden dolayı hücre içi sıvıyı artırmaya eğilimlidirler. Ancak bu eğilim normal durumlarda Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> aktif transport pompasıyla engellenir ve sodyumla birlikte hücre içine giren su, sodyumla birlikte hücreden dışarı atılır. Eğer giren su miktarı pompanın kapasitesini aşarsa, eritrositler şişer ve yuvarlak bir şekil alırlar. Eritrositler hipotonik çözeltilere konuldukları zaman su, hızlıca eritrosit zarından geçerek hücrenin şişmesine yol

açar. Buna osmotik şişme denir (Telen ve ark. 1999; Williams ve ark. 1991). Osmotik frajilite testinde, farklı hipotonik derişiklerdeki tuz çözeltilerin içine bırakılan eritrositlerin hemolizekarşı direnci ölçülür. Her bir hipotonik derişimdeki eritrositlerin parçalanma miktarı, derişimin içine salınan hemoglobinin kolorimetrik olarak ölçülmesiyle hesaplanır ve eritrositlerin tamamen lizis olduğu en düşük derişimli örnekle karşılaştırılır (Simmons 1997). Eritrositler %0,85'lik NaCl çözeltisi içinde hiçbir şekil değişikliğine uğramazlarken, %0,50-0,45'lik çözeltilerde hemoliz görölmeye başlanır ve %0,30-0,20'lik NaCl çözeltilerinde ise tüm eritrositler hemolize uğrar (Simmons 1997; Elghetony ve ark. 1996). Osmotik frajilitenin kritik belirleyici faktörü eritrositlerin yüzey alanıyla hacmi arasındaki orandır (Williams ve ark. 1991). Herediter sferositoz ve kazanılmış hemolitik anemili hastalarda kırmızı kan hücrelerinin osmotik frajilitesi artar. Talasemili ve demir eksikliği anemisi olan hastaların mikrositer ve hipokromik olan eritrositlerinde osmotik frajilite azalır (Simmons 1997). Osmotik frajilite stok çözeltisinden hazırlanan farklı derişiklerdeki NaCl çözeltilerinin içine kan örneği eklenip, hemolize uğramış eritrosit hemoglobininin spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle saptanabilmektedir (Williams ve ark. 1991)

Reaktif oksijen türevleri (ROT), oksijenin indirgenmesi tepkimeleri ile oluşmaktadır. ROT ve vücudun savunma sistemi arasındaki dengesizlik “oksidatif stres” olarak adlandırılmaktadır (Cheesman 1993; Reiter 1995; Kılınç 2002). Radikal oksijen türevi olan bileşikler olarak hidroksil, süperoksit, nitrik oksit, radikal olmayan oksijen türevi olan bileşikler olarak singlet oksijen, ozon, hidrojen peroksit, hipoklorit sayılabilir (Meister 1994; Southorn 1988). Nitrik oksit (NO), gelişmiş canlılarda önemli biyolojik fonksiyonları gerçekleştirmek için üretilen nitrojen merkezli bir radikaldir (Kılınç 2002). NO, endotel hücre disfonksiyonu ve buna bağlı hipertansiyon, şizofreni, ateroskleroz, bipolar bozukluk, otizm, ve diabetes mellitus gibi önemli hastalıklarda rol oynayabilmektedir (Yanık ve ark. 2004; Yanık ve ark. 2003)

Reaktif oksijen türlerinin (ROT) meydana getirdiği hasarı önlemek için birçok savunma mekanizması vardır. Bu mekanizmalar “antioksidan savunma sistemleri” yada kısaca “antioksidanlar” olarak bilinmektedir. Süperoksit Dismütaz (SOD); süperoksit serbest radikalinin ( $O_2^-$ ) hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) ve moleküler oksijene ( $O_2$ ) dönüşümünü katalizleyen bir antioksidan enzimdir. SOD'nin fizyolojik

fonksiyonu, hücreleri süperoksit serbest radikalının ( $O_2^-$ ) lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır (Yanık ve ark 2003).

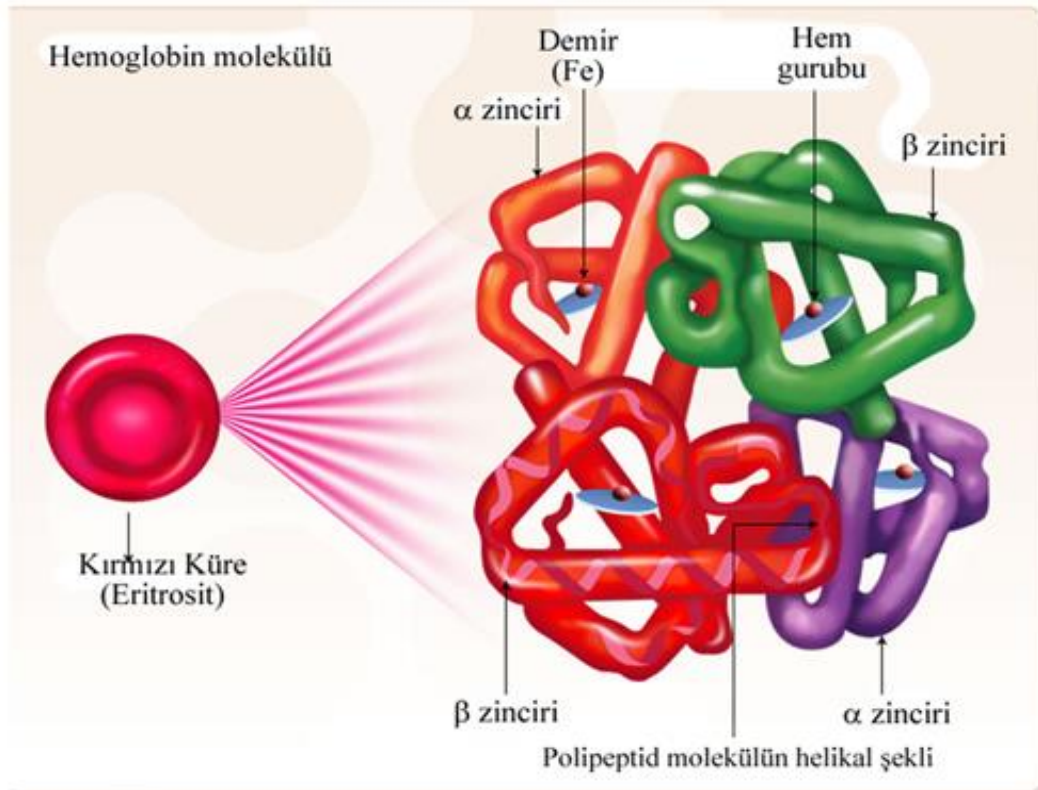
Yeryüzünde hayatın doğuşuna serbest radikallerin neden olduğuna inanılmakla birlikte, bu bileşikler aynı zamanda neredeyse tüm canlılarda yaşam süresince oluşan hasarın ve ölümün ana nedeni olarak da kabul edilmektedir. Eritrositlerde görülen membran rijiditesi artışı, azalan deformabilite ve hemoliz oksidatif hasar sonucunda oluşur. Literatürde homozigotik beta talasemili ve demir eksikliği anemisinde oksidan/antioksidan sistem ve eritrosit osmotik frajilitesi arasındaki ilişkiyi gösteren sınırlı sayıda çalışma mevcuttur. Çalışmamızda anemi tanısı konmuş hasta grubu ile sağlıklı bireylerden oluşturulan kontrol grubunda oksidatif hasar belirteci olan Nitrik/Nitrat düzeyleri ölçümü ve antioksidan sistemin en önemli bileşenleri olan süperoksit dismutaz enzim aktivitesi belirlenerek, eritrosit osmotik frajilitesi ile ilişkisi araştırılmak istenmiştir.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. ANEMİ

Hemoglobinin (Hb) yaş ve cinsiyete göre normal kabul edilen değerlerin altında olması anemi olarak tanımlanmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre anemi hemoglobin değerinin; kadınlarda 12 g/dl'nin, erkeklerde 13 g/dl'nin altında olmasıdır (Altıparmak 2012).

**Hemoglobin**, demir içeren dört adet HEM (Protoporfirin ve demir) ve bunların kovalent bağlarla her birine bağlı globulin zincirlerinden oluşan tetramerik bir yapı gösterir. Polipeptit aminoasit dizilimleri primer yapıyı, her bir zincirin alfa heliks oluşturarak kıvrılması sekonder yapıyı ve helikslerin birbiri üzerine katlanması tersiyer yapıyı oluşturur.



Şekil 1 : Hemoglobin molekülünün yapısı (Menderes 2016)

### 2.1.1. Anemilerin Sınıflandırılması

Anemiler eritrosit morfolojisine ve fizyopatolojisine göre sınıflandırılırlar. Morfolojik olarak anemiler MCV (ortalama eritrosit volümü) değerlerine göre mikrositik, normositik ve makrositik olarak gruplandırılmıştır. Morfolojik sınıflamaya göre MCV değeri 80-100 fl arası normositer kabul edilirken, 80 fl'nin altı mikrositer, 100 fl'nin üzeri makrositer olarak kabul edilmektedir (Altıparmak 2012). Morfolojik sınıflama Tablo-1'de gösterilmiştir.

**Tablo-1:** Anemilerin morfolojik sınıflaması(Altıparmak 2012)

<b>Mikrositik Anemiler</b>	<b>Normositik Anemiler</b>	<b>Makrositik Anemiler</b>
1. Demir eksikliği anemisi	1. Folik asit eksikliği	1. Hemolitik anemiler
2. Kronik/ İnflamasyon hastalık anemisi	2. B <sub>12</sub> vitamini eksikliği	2. Akut kanama anemisi
3. Hemoglobinopati	3. Hemolitik anemiler	3. Aplastik anemi
4. Kronik kurşun zehirlenmesi	4. Akut kanama anemisi	4. Kemik iliğini infiltre eden hastalıklar
5. Sideroblastik anemiler	5. Lösemiler, özellikle akut lösemiler	(lenfomalar,multiplmyeloma vb.)
6.Bakır ve çinko eksikliği	6. Myelodisplastik sendromlar	5. Saf kırmızı dizi aplazisi
7.Porfiria		6. Karaciğer hastalığı
		7. Böbrek yetmezliği
		8. Endokrin bozukluklar
		9. Kronik hastalık anemisi

Dünya genelinde az gelişmiş ve gelişmekte olan ülkeler anemiden etkilenmektedir. Demir Eksikliği Anemisi (DEA) tüm yaş gruplarında en sık gözlenen anemi tipidir. Dünya nüfusunun yaklaşık %30'unun anemik olduğu düşünülmektedir. Basit bilgilendirme ve uygulamalar sayesinde Demir eksikliği önlenebilir (Celkon ve ark. 2000; Akarsu ve ark. 2006).

Anemi hematolojik ve non-hematolojik birçok sisteme etkisi olan klinik bir durumdur. Hücresel fonksiyonlarda biyokimyasal değişiklikler, büyüme, psikomotor gelişme, davranış, zihinsel gelişme, fiziksel kapasite immün sistem, gastrointestinal sistem ve termoregülasyon üzerine etkileri vardır (Celkon ve ark. 2000).

Akut gelişen anemi sıklıkla iyi dengelenemezse; nabzın hızlanması, kalpte üfürüm, baş ağrısı, aşırı uyku, azalmış egzersiz toleransı, iştahsızlık ve senkop ile belirebilir. Transfüzyon kararını verilmeden önce kardiyovasküler ve fonksiyonel bozulmanın boyutları değerlendirilmelidir (Beutler ve ark. 2001).

### **2.1.2. Anemilerde Genel Semptomlar ve Fizik Muayene Bulguları**

Anemi kendi başına bir hastalık olabileceği gibi birçok hastalığın klinik belirtilerinden biri de olabilir (Sayinalp 2012). Hemoglobinin temel fonksiyonu doku oksijenizasyonunun sağlanmasıdır. Anemisi olan hastalarda oksijen taşıma kapasitesi azaldığından doku hipoksisi gelişir ve fonksiyon bozuklukları ortaya çıkar. Anemiden etkilenen en önemli organlar kalp ve beyindir.

Hastalarda özellikle solukluk olmak üzere, halsizlik, yorgunluk, çarpıntı, efor dispnesi en sık ve en erken gözükten semptomlardır (Zuckerman 2006). Ağız ve farinks mukozası, konjunktiva ve tırnak yatakları, avuç içi çizgileri ve dudaklara bakarak solukluk değerlendirilebilir (Adamson ve ark. 2004). Ağır anemik hastalarda göz dibinde değişiklikler bulunabilir. En sık rastlanan bulgu retinadaki solukluktur (Akman 2001).

### **2.1.3. Anemilerde Patofizyoloji**

#### **I- Kan Kaybı**

1. Sızıntı şeklinde kanama
2. Cerrahi işlem sırasında veya cerrahi işlemler sonrasında
3. Retroperitoneal kanama önemli olabilir ama klinik olarak belirgin olmayabilir. Bu tarz hastalara genelde karın ağrısı, bacak parezi veya hipotansiyon eşlik edebilir.
4. Masif kanama (travma, melenahematemez, menometroraji)
5. Gizli kanama (ülser, hemoroid, karsinom kanamaları)
6. İşlemler sırasında olan kanamalar (tanısal testler için tekrarlayan kan alımları hemodiyaliz, sık kan bağıışı)
7. Anormal uterin kanamalar

## II-Azalmış üretim

1. Beslenme bozuklukları / alım eksikliği (B12, folat, demir gibi)
2. Kemik iliği patolojileri (aplastik anemi, kemik iliği infiltrasyonu gibi)
3. Kemik iliği baskılanması (ilaçlara / kemoterapiye sekonder, radyasyon gibi)
4. Eritropoezi stimüle eden hormonların azalması (EPO, tiroid, androjen gibi) veya inhibitör gelişmesi (anti-EPO gibi)
5. İnflamasyona sekonder anemi gelişimi ( demir kullanımının bozulması ile ilişkili)

- Megaloblastik Anemi
- Alfa ve beta talasemi
- Miyelodisplastik Sendrom
- Sideroblastik Anemi
- Çocuklarda Konjenital Diseritropoetik Anemi

## III-Eritrosit Yıkımında Artma(100 gün altında eritrosit ömrü)

1. Kalıtsal Hemolitik Anemi (herediter sferositoz, orak hücreli anemi, talasemi major)
2. Kazanılan Hemolitik Anemi (Coombs-pozitif otoimmün hemolitik anemi, trombotik trombositopenik purpura, malarya,)
3. Hipersplenizm ile artmış yıkım

### 2.1.4.Anemilerin Ayırıcı Tanısında Kullanılan Özgün Yapısal Özellikler

**Hedef hücresi:** Yüzey/hacim oranı artması (talasemi, ağır demir eksikliği, karaciğer hastalığı, post splenektomi, hipospleni).

**Sferosit:** Yüzey/hacim oranı↓, hiperdens (>MCHC) (herediter sferositoz, ABO uyuşmazlığı, otoimmün hemolitik anemi, hipersplenizm, ağır yanıklar)

**Eliptosit:** Normalde eritrositlerin <%1, eliptik, normokromik, her anemide eritrositlerin %10'u dur (Herediter eliptositoz, talasemi, ağır demir eksikliği, megaloblastik anemi, ciddi bakteriyel enfeksiyon)

**Şistosit:** Helmet, üçgen şekilli ya da küçük parçacıklar ile etkileşme nedeniyle meydana gelen parçalanma. Mikro anjiopatik hemolitik anemi (MAHA), akut oksidan hasar, DİK, ciddi hemolitik anemi (G6PD eksikliği), TTP, üremi, akut tubuler nekroz, malign hipertansiyon.

**Akantosit:** Çıkıntılı, geniş tabanlı, farklı uzunlukta hücrelerdir. Kalınlık ve aralıkları düzensiz, sferoit şekilli kabul edildiği için normal hücrelerden daha küçük hücrelerdir. (Karaciğer hastalığı, DİC ve diğer MAHA, hipotiroidi, post splenotomi)

**Ekinosit:** Pürüzlü hücreler, hacimleri eşit, hücre içinde ya da hücre dışı çevrede değişim olan hücreler. (Artefakt, üremi, karaciğer hastalığı, pirüvat kinaz eksikliği)

**Stomatosit:** Merkezi solukluk yarık şeklinde, normalde az miktarda görülür (artefakt, herediter stomatositoz, talasemi, herediter sferositoz, malignite)

**Bazofilik noktalanma:** Wright boyaması, ribozomal RNA agregatları, kaba/ince bazofilik noktalı inklüzyonlar (talasemi, stabil olmayan hemoglobinler, demir eksikliği)

**Howell-Jolly cismi:** Wright boyaması, çekirdek artıkları, küçük, iyi sınırlı, yuvarlak, yoğun boyalı inklüzyonlar (Post splenektomi, hipospleni, megaloblastik anemi, ağır demir eksikliği, anemi tiplerinin çoğu). (Demir eksikliği anemisi, herediter sferositoz))

**Cabot halkası:** Çekirdek artıkları, yüzük şekilli, 8 harfine benzer inklüzyonlar (megaloblastik anemi, pernisiyöz anemi, hemolitik anemi)

**Orak hücre:** Orak hücre taşıyıcılığı, orak hücre anemisi

**Gözyaşı hücresi:** Damla şeklinde, genellikle mikrositer (sıklıkla hipokromik) (yenidoğan, talasemi major, lökoeritroblastik reaksiyon, miyeloproliferatif sendromlar))

**Çekirdekli eritrositler:** Normalde yaşamın ilk haftasından sonra periferik kanda görülmez (yenidoğan ilk 3-4 gün). Yoğun kemik iliği uyarımı, hipoksi, akut kanama, ciddi hemolitik anemi (Talasemi), konjenital enfeksiyonlar(sepsis, rubella), postsplenektomi, lökoeritroblastik reaksiyon (ekstramedüller hematopoez ve kemik iliği replasmanı, en sık lösemi yada solid tümör-fungal ve mikobakteriyal enfeksiyon sebep olabilir), megaloblastik anemi, dizeritropoietik anemiler (Dallman 1989; Lanzkowsky 2005).



## 2.2. DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİ

Demir eksikliği, vücutta hemoglobin yapımı ve birçok enzimatik reaksiyon için demir miktarının yeterli olmamasıdır (Eisenstaedt ve ark. 2006; Oski ve ark. 1998). Demir eksikliği anemisi (DEA), küçük çocuklarda ve kadınlarda daha sık gözlemlenir. Gebelikte artan demir gereksinimi ve menstürasyon demir eksikliğinin ortaya çıkmasını arttıran fizyolojik nedenlerdir (Dallman 1998). Demir eksikliği anemisi, anemilerin en yaygın nedenidir ve dünya nüfusunun %30' unu yaklaşık olarak 500 milyon insanı etkilemektedir (Ülkü 2001).

### 2.2.1. Demir Metabolizması

Demirin büyük kısmı (%75) hemoglobin ve miyoglobin gibi hem proteinlerine bağlı olarak bulunur. Kalan kısmı ferritin ve hemosiderin gibi depo proteinleriyle, sitokrom ve katalaz gibi kritik enzim sistemlerinde yer alır (Beard 1996). Demirin en önemli özelliği ferrik (+3 değerli) ve ferröz (+2 değerli) form olmak üzere iki oksidasyon durumunda da bulunabilmesidir. Demir serbest halde vücut için zararlıdır ve bu sebeple kural olarak herhangi bir proteinle kompleks yapar. Demir dengesi atılımın artırılması yerine emilimin azaltılıp artırılması şeklinde sağlanır. Günlük demir kaybı en fazla gastrointestinal sistemdedir (Conrad 1993; Hallbergve ark. 1987).

#### 2.2.1.1. Demir

Demir (Fe) canlılar için gerekli olan ve metabolik olaylara katılan önemli bir elementtir (Donovan 2004). İntrauterin yaşamda fetus, anneden 250 mg demir alır (Donovan ve ark. 2003). Demirin vücuttaki önemli görevi hemoglobin (Hb) aracılığı ile oksijen taşımaktır. Böylece demir elektron alarak veya vererek bir redoks katalizör görevi yapar. Demirin varlığı büyüme için zorunludur. Büyüme hızına göre artan hemoglobin sentezi (kan volümünün artması ve büyüyen diğer dokulara oksijen taşınabilmesi), myoglobin sentezi (kas kütlelerinin büyümesi), demir içeren enzimlerin sentezi, ferritin ve hemosiderin şeklindeki demir depolarının devamlılığı için demir gereklidir. Vücutta bulunan demirin büyük bir kısmı hemoglobinlerin içinde demirporfirin kompleksi şeklinde fonksiyonel demir halindedir. Kullanım dışı demir ise, vücutta ferritin ve hemosiderin şeklinde depolanır (Gümrük 1995).

Demirin vücutta dağılımı üç ana bölümde toplanmıştır (Andrews ve ark. 2003).

Fonksiyonel demir (%78)	%65 Hemoglobin %10 Miyoglobin %3 Enzimler ve non-hem enzimler
Depo demiri (%22)	Ferritin ve transferin
Taşınan demir (%0.1)	Transferrin

### 2.2.1.2. Ferritin

Ferritin, vücuttaki depo demiridir. 3000 civarında (Fe<sup>+3</sup>) değerli demir atomu ferritin şeklinde hücre içinde depo edilmektedir. İhtiyaç halinde hızlı çözünür olması önemli bir özelliğidir. Ferritin tüm hücrelerde ve bütün doku sıvılarında bulunur. Ferritin en çok bulunduğu yerler kemik iliğindeki eritroid ana hücreler, makrofaj ve hepatositlerdir. Hücre içindeki ferritin düz endoplazmik retikulumda sentez edilir. Plazma ferritini ise granüllü endoplazmik retikulumda sentez edilerek, golgi cisimciğinde glikolizlenir. Plazma ferritin düzeyi depo demirini, indirekt olarak gösteren önemli bir göstergedir. Ayrıca plazma ferritin düzeyi ile hücrel ferritin düzeyi doğru orantılıdır (Baynes 1996).

Ferritinin bir kısmı serumda bulunur, serumda bulunan her 1µg ferritin düzeyi yaklaşık olarak depolarda 10 mg demir olduğunu yansıtır. Bu nedenle serum depo demirini değerlendirmede serum ferritin düzeyinin ölçümü, dolaylı olarak vücuttaki demir eksikliğini göstermektedir. Ortalama değerleri erkeklerde 50-150 µg/L, kadınlarda 15-50 µg/L'dir (Adamson ve ark. 2005).

### 2.2.1.3. Transferrin

En küçük fakat oldukça aktif olan bir bölümdür. Demirin plazmada taşınması transferrine (Tf) bağlanarak, diferrik-transferrin şeklinde gerçekleşmektedir. Transferrin, metal bağlayıcı transport glikoproteinlerinden demir için özgün olanıdır. Transferrin geni 3. kromozom üzerindedir. Moleküler ağırlığı 80 kD olan transferrin tek polipeptid zincirden oluşur. Transferrine bağlı demirin %80'i kemik iliğinde kullanılır (Andrews NC ve ark. 2003; Aron A. 1985; Conrad ME, 2002).

Serumda, mukozada, gonadlarda, santral sinir sisteminde transferrin mevcuttur. Plazma transferrini birçok dokuya demir taşıırken, diğer transferrinler bölgesel olarak üretilip demiri plazmanın ulaştıramayacağı bölgelere taşır. Transferrin, sentezive yıkımı karaciğerdedir (Lum 1986; Huebers 1997).

### **2.2.2. Demir Eksikliği Anemisi Patogenezi**

Vücutta Demir depoları boşaldığında, kemik iliğinde hemoglobin sentezi için gerekli olan demir miktarı yetersiz hale gelir ve hipokrom mikrositer aneminin gelişmesine sebep olur.

Demir eksikliği anemisinin patogenezinde rol alan faktörler (Tunalı 1990).

1. Yetersiz demir alımı
2. Kanamaya bağlı kan kaybı
3. Fizyolojik olarak artan demir ihtiyacı

### **2.2.3. Demir Eksikliği Anemisinin Nedenleri**

Artmış demir kaybına yol açan durumlar (intrauterin kontraseptif aletler, (menoraji-metroraji, hemostaz bozuklukları, gastrointestinal sistem kanamaları, inflamatuvar barsak hastalığı, hemoroidler, peptik ülser, mide ve kolon karsinomları, herediter anjiyo displazi, üriner sistem, kronik kan verenler), yetersiz demir alımında (besinsel az alım, vejetaryen, çölyak hastalığı, emilim bozuklukları, mide cerrahisi, pika), gelişme yaşları, gebelik, süt verme gibi artmış gereksinim duyulan durumlar demir eksikliğine sebep olmaktadır (Milman ve ark. 1999).

### **2.2.4. Demir Eksikliği Anemisinde Tanı**

Serum demirinde azalma, demir bağlama kapasitesinde (DBK) artış, serum ferritin konsantrasyonunun 25 ng/ml den az olması, MCV 80 fl altında ve MCHC (eritrositlerde bulunan ortalama hemoglobin konsantrasyonu) 27 pg'ın altında olması demir eksikliği tanısı için gereklidir. Periferik yaymada hipokromi, mikrositoz, anizositoz yanında orta derecede poikilositoz saptanır. DEA erken belirtisi anizositozdur ve RDW (eritrosit dağılım aralığı) göstergesi içinde verilmektedir. Normal değeri %13,4'tür (Halliwell 2001; Vincent 2004). Erken dönem DEA eritrositler normokrom normositer olabilir (Ali 2005). Semptomatik ise Hb düzeyi

genellikle  $<8\text{g/dL}$ 'nin altına inmiş demektir. Hematokrit değerinde %31-32'nin altına düşme olduğunda eritrosit indeksleri mikrositik olmaktadır (Duffy 2006).

Serum ferritin düzeyi sağlıklı kişilerde vücut demir depolarının klinik olarak faydalı bir göstergesidir (Walters ve ark. 1973). Ancak ferritin bir akut faz reaktanı olduğu için birçok infeksiyonda, malignitede, iltihabi hastalıkta artmış miktarlarda sentezlenir (Yanık ve ark. 2003).

#### **2.2.4.1. Demir eksikliği anemisinin tanısı için gerekli testler**

**Periferik Kan Yayması:** Periferik yaymanın birçok hastalığın tanı ve takibinde önemli bir yeri vardır. Demir eksikliği anemisinde eritrositler hipokrom ve mikrositerdir. Anizositoz, poikilositoz görülebilir ve bu bulgular anemi derinliği arttıkça daha belirgin hale gelir (Conrad 2002).

Demir eksikliği anemisinde retikülosit sayısı genellikle normal veya azalmıştır, eğer kanamaya bağlı oluşmuşsa %3-4'e kadar artabilir (Walters 1996). Beyaz küre sayısı genellikle normaldir. Ancak uzun süren vakalarda absolü nötrofil sayısı azalabilir. Nadiren trombositopeni veya daha sıklıkla trombositoz görülebilir (Aslan ve ark. 2002). Trombosit sayısı demir tedavisi ile normale döner (Koligo 1996).

**Eritrosit Sayısı (RBC):** Eritrosit sayısı demir eksikliği anemisi gelişim sürecinde genelde normal sınırlar içindedir. Fakat aneminin ilerlediği durumlarda azalır ( $< 5$  milyon  $\text{mm}^3$ ) (Walters 1996).

**Ortalama Eritrosit Hemoglobini (MCH) ve Ortalama Eritrosit Hemoglobini Konsantrasyonu (MCHC):** Hipokrom mikrositer bir anemi olan demir eksikliği anemisinde hem MCH, hem de MCHC değerleri düşük bulunur. Hipokromiyi gösteren belirleyicilerdir. MCH normal düzeyi 27-34 pg arasındadır. Düşük MCV ve MCH ile birlikte olan anemiler demir eksikliğini düşündürür. MCHC ise demir eksikliğinde  $<30\%$ 'dur. Bunun yanında, demir eksikliği anemisi seyrinde anormal olan son belirleyicidir (Walters 1996).

**Ortalama Eritrosit Volümü (MCV):** MCV, eritrositlerin büyüklük dağılımına göre sınıflandırılmasını sağlar. Demir eksikliği anemisi gelişim süreci öncesi en son bozulan ve tedavi sonrası da en geç düzelen parametre olduğundan büyük önem taşır. Mikrositozun göstergesidir.  $\text{MCV}<70$  fl ise talasemi taşıyıcılığı da ekarte edilebilmişse demir eksikliği anemisi için önemli bir göstergedir (Dallman 2004).

**Eritrosit Dağılım Genişliği (RDW):** Anizositozu yansıtan önemli bir parametredir. Normali yaklaşık %12 olup; eğer >%14 ise demir eksikliği anemisi lehinedir. Hemoglobino patilerde ve talasemilerde RDW normaldir (Walters 1996). Demir eksikliği anemisinde artmıştır ve diğer hipokrom mikrositer anemilerden ayırıcı tanıda bu bulgu büyük önem taşır (Karakas 2010).

**Serum demiri, Total Demir Bağlama Kapasitesi (TDBK), Transferrin Saturasyonu (TS):** Fonksiyonel açıdan demir eksikliği anemisinin gösterilmesi için çok önemli testlerdir. Ancak serum demiri tanı için yeterli olmamaktadır. Serum demirinin dezavantajı, diğer laboratuvar testleriyle karşılaştırıldığında büyük biyolojik değişkenliğidir. Genelde sabahları yüksek değerler alınırken, akşamları düşük değerlerdedir. Bu nedenle, sabah veya hemen öğleden sonra alınan kan örneklerinde sonuçları değerlendirmek daha kolaydır, çünkü bu zamanlardaki düşük değerler (30 mg/dL) demir eksikliği anemisini gösterir (Dallman 2004).

Serum demiri yanında TDBK de test amacı ile mutlaka istenmelidir. TDBK; transferrinin bağlayabileceği demirin göstergesidir. Normalde transferrinin 1/3'ü demir bağlarken, demir eksikliği durumunda bu kapasitenin çok artması önem taşır. Transferrin saturasyonu pratikte demir ve TDBK ölçümlerinin oranlaması kullanılarak hesaplanmaktadır.  $TS = \frac{Fe}{DBK} \times 100$  formülü ile hesaplanabilir ve yüzde olarak belirtilir. Bu oran < %16 ise demir eksikliği anemisi düşünülür. Oran < %12 ise ağır tipte bir demir eksikliği anemisi söz konusudur. TS enflamatuar hastalıklarda düşebileceği gibi, demir eksikliği anemisinde de düşme gösterir. Bazı durumlarda TDBK bu iki durumun ayırıcı tanısında faydalıdır. TDBK yüksek olduğunda demir eksikliği anemisini yansıtırken, düşük olduğunda ise enflamatuar hastalıklara işaret etmektedir. Hipokrom mikrositer tipte anemilerin ayırıcı tanısında serum demir ve TDBK değerleri kolaylıkla kullanılmaktadır (Karakas 2010; Aslan ve ark. 2002; Sherwood ve ark. 1998).

**Serum Ferritini:** Dolaşımdaki ferritin seviyesi dokulardaki demir depolarının durumunu gösterir. Ferritinin düşük olması demir depolarının azaldığını yansıtır. Süt çocuklarında ve çocukluk döneminde ferritinin ortalama seviyesi 35 ng/ml'dir. Demir eksikliği anemisi için ilk bulgu ferritin düzeyinin 10 ng/ml'nin altına düşmesidir (Karakas 2010). Sağlıklı görünen kişilerde "latent demir eksikliği" gösterebilir. Toplumsal demir depolarının araştırılmasında ve demir eksikliği anemisinde tanı amacıyla kullanılabilir (Cook 2000). Ancak ferritin düzeyinin

demir eksikliği anemisi dışında enfeksiyöz, enflamatuvar, kanseröz durumlarda ve karaciğer hastalıklarında da yükselmesi tanıyı güçleştirmektedir (Sherwood ve ark. 1998; Breuer 2001).

**Eritrosit Protoporfirini:** Hem oluşturmak için protoporfirin ile bağlanacak yetersiz demir varlığında, kırmızı kürelerde protoporfirinin birikimi olmaktadır. Normal serbest eritrosit protoporfirin düzeyi  $1,9 \pm 0,4 \mu\text{g/g Hb}$ 'dir. Demir eksikliği anemisinde ise  $10,9 \pm 0,4 \mu\text{g/g Hb}$  olarak artmıştır. Eritrosit protoporfirini, hem demir eksikliğinde hem de kurşun zehirlenmesinde artar fakat kurşun zehirlenmesinde çok yüksek değerlerdedir.  $\alpha$  ve  $\beta$  talasemide ise normaldir (Karakaş 2010).

**Serum transferin reseptörü (sTfR):** Son yıllarda demir eksikliği anemisinin erken saptanmasında en popüler test olduğu söylenebilir. sTfR'nün plazmadaki miktarı kemik iliğindeki eritropoetik aktiviteyi gösterir. Ayırıcı tanı açısından önemi olan bir laboratuvar testidir. sTfR düzeyi demir eksikliği anemisinde oldukça duyarlı bir parametredir. sTfR, demir eksikliği anemisi ve talasemi gibi kemik iliğinde eritroid hiperplazi görülen durumlarda artar, kronik hastalık anemisinde ise normal veya düşüktür. Bu nedenle demir eksikliği anemisini kronik hastalık anemisinden ayırt etmede önemli ve duyarlı bir testtir (Karakaş 2010). Dolaşımda bulunan transferrin reseptör konsantrasyonu genelde eritrositüretim hızını yansıtmaktadır (Koligo 1996). Artmış üretimle artarken, demir eksikliği anemisi dışında, üretim azaldığında düştüğü söylenebilir. Düşük serum ferritini ve yüksek sTfR'ü kombinasyonu demir eksikliği anemisi için oldukça tanısaldır fakat transferrin reseptörünün her laboratuvarda yapılamaması ve pahalı test olması bir dezavantajdır (Karakaş 2010).

### 2.3. B<sub>12</sub> EKSİKLİĞİ ANEMİSİ

B<sub>12</sub> vitamini 1355.42 dalton moleküller ağırlığı olan, suda eriyen, farklı yirmi enzimatik aşama sonunda ve başlıca mikroorganizmalar tarafından sentezlenebilen, kırmızı renkli ve farklı çeşitleri olan bir vitamindir . B<sub>12</sub> vitamininin en önemli kaynakları karaciğer, yumurta, kırmızı et, süt ve süt ürünleri gibi hayvansal gıdalardır. Deniz ürünlerinde B<sub>12</sub> vitamini açısından önemlidir. Baklagil çeşitleri haricinde, bitkisel besinlerde normal olarak B<sub>12</sub> vitamini bulunmaz (Coşkun 2003).

Anne sütünde ortalama 0,2–1,0 µg/l B<sub>12</sub> vitamini bulunur. Anne sütünde en fazla bulunan temel kobalamin Metilkobalamindir (MeCbl) (Sandberg 1981).

B<sub>12</sub> vitamininin görevi hücrelerin çoğalması ve bölünmesi için gerekli olan DNA yapımını sağlamaktır. DNA yapımı üzerine etkisi TH<sub>4</sub>-folat (Tetrahidro folat) üzerinden olur. B<sub>12</sub> vitamini eksikliğine en hassas olan sistemler, hücre çoğalma hızının en yüksek olduğu hematopoetik ve gastrointestinal sistemler. İkinci önemli etkisi ise periferik sinir sistemi ve santral sinir sisteminde yer alan bazı nöronların normal yapı ve işlevlerini sürdürmelerini sağlamasıdır (Coşkun 2003).

Kobalamin eksikliğinin önemli sebebi diyetle yetersiz B<sub>12</sub> vitamini alımıdır. İnsanlar için gerekli B<sub>12</sub> vitamininin hepsi hayvansal gıdalardan sağlanmaktadır. Bunların yetersiz alımı B<sub>12</sub> eksikliğine neden olmaktadır (Nathan 2003; Baker 1981).

### **Kobalamin Bağlayıcı Proteinler (Virgil ve ark. 2001)**

- 1. İntrensik Faktör:** İntrensik faktör (IF) insan midesinde fundus mukozasının pariyetal hücrelerinde sentezlenen, alkali ortamda stabil olan ve ısıya dayanaksız bir glikoproteindir. IF'in her 1 mg'ı yaklaşık 30 µg kobalamin bağlar
- 2. Transkobalamin-II:** İnce bağırsak hücrelerinden veya depolardan B<sub>12</sub> vitaminini alıp taşımaya hizmet eden, glikolize olmamış bir proteindir.
- 3. Haptocorrinler:** Farklı derecelerde glikozile olmuş, benzer yapıları glikoproteinlerdir. Plazmadaki kobalaminlerin %80-90'ı haptocorrinlere bağlanır.

### **2.3.2. B12 Vitamini Metabolizması**

B<sub>12</sub> vitamini insanlarda iki önemli reaksiyonda koenzim görevi görmektedir.

**I. Reaksiyon:** 'Metionin sentaz' enzimi aracılığıyla homosisteinden metionin amino asiti sentez edilir. Sitoplazmada gerçekleşen bu reaksiyon için koenzim olarak MeCbl gereklidir. Bu reaksiyonda folat koenzimi 5– metil tetra hidrofolat da gerekmektedir. Bu reaksiyon insanlarda metioninin tekrar sentezi için ana yoldur (Virgil ve ark. 2001).

**II. Reaksiyon:** Propiyonat katabolizmasında bir basamaktır. Burada metil malonil CoA'nın süksinil CoA'ya dönüşümü gerçekleşmektedir. Bu reaksiyonu "metil malonil CoA mutaz" enzimi katalize eder ve 5-deoksi AdoCbl (adenozil kobalamin) koenzim olarak gereklidir. Bu reaksiyon mitokondride gerçekleşir ve sadece AdoCbl koenzim fonksiyonu görür (Eiseinstein 2003). Kobalamin eksikliğine bağlı bu yolun

hasarlanması ile plazmada ve idrarda metilmalonik asit (MMA) seviyeleri artar. MMA artışı B<sub>12</sub> eksikliği için hassas ve özgül bir belirleyicidir (Pigeon 2001).

### 2.3.3. B<sub>12</sub> Vitamini Eksikliği Etiyolojisi

**I) B<sub>12</sub> vitamininin yetersiz alınması** (Virgil ve ark. 2001; Garby 2001): Katı vejeteryanlık ve yetersiz beslenme B<sub>12</sub> vitamini eksikliğinin sık görülen sebepleridir. B<sub>12</sub> vitamini eksikliği olan annelerin yeni doğan bebeklerinde, doğum öncesinde plasenta yoluyla, doğum sonrasında ise anne sütü ile B<sub>12</sub> vitamini alımı yeterli olmadığından, bebeklerde B<sub>12</sub> vitamini eksikliği görülür. B<sub>12</sub> vitamini deposu yeterli olarak doğan sağlıklı çocuklarında serum B<sub>12</sub> vitamini düzeyleri 6. aya doğru azalır ve ek gıdaya geçtiklerinde serum B<sub>12</sub> vitamini düzeyleri tekrar artar. Ama ek gıda alımı vaktinde başlanmaz ise 6. aydan sonra B<sub>12</sub> vitamini eksikliğinin oluşma riski artar (Garby 2001). Yenidoğan bebeğin B<sub>12</sub> vitamini depoları eksik olsa da, yaşamının en az birkaç haftası için yeterlidir (Yıldız 2003).

**II) B<sub>12</sub> vitamini emilim defekti** (Virgil ve ark. 2001; Garby 2001): İF yokluğu veya fonksiyon bozukluğu, azalmış mide asit salgısı, pankreas yetmezliği, ileumdan emilimin bozulması, ince bağırsakta B<sub>12</sub> vitamini için kullanım rekabeti (Bakterilerin çoğalması, Diphillobothrium latum, Giardia intestinalis, Hymenolepsisnana).

**III) B<sub>12</sub> vitamini transport defektleri ve metabolizma bozuklukları:**  
Transport defektleri: R–bağlayıcı protein eksikliği, TCII eksikliği.  
Metabolizma bozuklukları: Konjenital AdoCbl eksikliği, MeCbl eksikliği, Kombine AdoCbl ve MeCbl eksikliği, Metil malonil CoAmutaz eksikliği (Virgil ve ark. 2001; Garby 2001).

### 2.3.4. B<sub>12</sub> Eksikliği Patogenezi

B<sub>12</sub> vitamini besinlerde kobalamin şeklinde bulunur sıklıkla hayvansal kaynaklı olup insanda sentezlenemez. Mide asiditesi sayesinde kobalamin buradaki R protein ve intrinsek faktör (IF) ile birleşir, duodenumu geçerek distal ileumdan reseptörler aracılığıyla emilir. Plazmada transkobalamin II' ye (TCII) bağlanır. Midede IF eksikliği, B<sub>12</sub>-IF kompleksinde bozulma, distal ileum reseptör bozuklukları, mide veya distal ileuma yapılan cerrahi girişimler, TCII anomalileri B<sub>12</sub> vitamin eksikliğine yol açarak megaloblastik anemiye sebep olabilmektedir (Glader 2004).



### 2.3.5. B<sub>12</sub> Vitamini Eksikliği Anemisinde Klinik

Çocuklarda B<sub>12</sub> vitamini yetersizliği yorgunluk, halsizlik, gelişme geriliği gibi özgül olmayan klinik semptomlarla ortaya çıkar. B<sub>12</sub> vitamini deposu yeterli olmayan çocukların doğumdan sonraki ilk 1 aydaki gelişimleri normaldir. Bulguların %70'i 3-6 ay civarında ortaya çıkar. En sık semptomları hipotoni, letarji, ve konvülziyondur (Allen 1994; Sonja 2001).

Yetişkinlerde kobalamin eksikliğinin nörolojik sendromu, spinal kordun subakut kombine dejenerasyonudur (SCDSC) (Stollhoff 1987). Süt çocuklarında diffüz beyin atrofisi veya hipoplazisi görülebilir. İnfantil B<sub>12</sub> vitamini eksikliği, kooperasyon bozukluğuna, mental ve motor gelişme geriliğine, baş tutma, oturma ve yürüme gibi kazanılmış mental ve motor fonksiyonların kaybına, konvülziyona ve ileri dönemde komaya sebep olur. Erken tanı ve tedavi önemlidir (Stollhoff 1987; Emerson ve ark. 2000).

### 2.3.6. B<sub>12</sub> Vitamini Eksikliği Anemisinde Laboratuvar

**Tam kan sayımı:** Çoğunlukla makrositik anemiye trombositopeni ve nütropeni eşlik eder. B<sub>12</sub> vitamini eksikliği haricinde demir eksikliği, kronik inflamatuvar hastalık anemisi veya talasemi mevcut ise MCV'deki artma maskelenebilir (Coşkun 2003; Lee 1999).

**Periferik yayma ve kemik iliği:** Anizositoz, poikilositoz ve oval makrositik eritrositler ve hipersegmente nötrofiller izlenir. Kemik iliği hiperselülerdir (Virgil ve ark. 2001).

**Biyokimyasal bulgular:** Genellikle normal B<sub>12</sub> vitamini serum düzeyi aralığı 200-900pg/ml'dır ve 80-100 pg/ml altındaki seviyeler daima B<sub>12</sub> vitamini eksikliğini gösterir (Coşkun 2003; Virgil ve ark. 2001). İneftif eritropoezin yansıması olarak artmış transferin saturasyonu, bilirubin ve demir seviyeleri belirlenir. Hücre içine alımı ve kullanımı bozulduğundan serum folik asit ve ferritin düzeyleri yüksek bulunur. Serum lipit, kolesterol, potasyum değerleri azalmış olabilir. Bu değişiklikler kobalamin eksikliğine özel değildir. Fakat kobalamin tedavisinden sonraki düzelmeler kobalamin yetersizliğine bağlı olduğunu gösterir (Lee 1999).

**Metil Malonik Asid (MMA):** MMA propiyonik asitten suksinik asit oluşumunda bir ara metabolittir (Allen 1993). Serum, plazma ve idrardaki MMA deriveleri D-metilmaloniyl CoA'nın hidrolizi sonucu oluşur ve ölçülebilir. İdrar

MMA seviyelerinin 0,4 µmol/L den yüksek (3,2 mmol/mol kreatinin ) olması erken B<sub>12</sub> vitamini eksikliği için belirleyicidir (Monsen ve ark. 2003).

**Deoksiüridin Supresyon Testi:** DNA sentezi ile ilgili olarak folat veya B<sub>12</sub> vitamininin durumunu değerlendirmek için kullanılan invitro bir testtir (Coşkun 2003).

## 2.4.TALASEMİLER

Yetişkin Hb yapısındaki globinde bir veya daha fazla zincirin azalması ya da hiç üretilmemesi ile oluşan, heterojen bir grup hastalıktır. Hipokrom mikrositer anemi ile ayırt edilmektedir. Talasemi, gelişmekte olan birçok ülkenin sağlık problemlerinin ilk sıralarında yer almaktadır (Tadmouri 2001; Hoffbrand 1985; Weatherall 2006; Weatherall ve ark. 2000; İnce ve ark. 2003).

Talasemi ilk kez 1925'te erken yaşlarda ileri düzeyde anemik olan ve splenomegali görülen hastalarda Pearl Lee ve Thomas Cooley tarafından tanımlanmıştır (Weatherall 2006; Dinçol ve ark. 2003). Sonraki dönemlerde benzer vakaların izlenmesi üzerine bu herediter hemolitik anemiye Van Jaksch anemisi, Akdeniz anemisi gibi isimler verilmiştir. 1936'da ise George Whipple ve Lesley Bradford gözlemledikleri vakaların Akdeniz ülkelerinde daha fazla rastlanması nedeniyle hastalığa Yunanca deniz anlamına gelen talasemi adını vermişlerdir. Fakat daha sonra bu hastalığın yalnızca Akdeniz ülkelerinde değilde diğer toplumlarda da bulunduğu tespit etmişlerdir (Vallance 2003).

### 2.4.1. Talasemi Epidemiyolojisi

Talasemiler, Akdeniz ve Güneydoğu Asya'da en sık görülen ve tüm dünya nüfusunun yaklaşık %4,8'ini etkileyen tek gen bozukluğu olan bir hastalık türüdür. Dünya Sağlık Örgütü tarafından 1980'li yıllardan itibaren Hb hasarları ile ilgili elde edilen verilere göre dünya genelinde %5 sıklıkta görülen, 269 milyon talasemi taşıyıcısı olduğu tespit edilmiştir (Başak 2007).

Talaseminin görülme sıklığı en fazla olan yerler Güney Avrupa, Kuzey Afrika, Güneydoğu Asya, Ortadoğu ve Hindistan'ı içine alan bölgelerdir. Avrupa'da talasemi görülme oranı %1,5'tir.

Türkiye’de ilk talasemi vakaları 1940 yılında Prof. Dr. S. Tavat ve Prof. Dr. E. Frank tarafından bildirilmiştir. Beta talasemi insidansına yönelik ilk çalışma Aksoy ve Lehmann tarafından yapılmıştır. Bu çalışmada Akdeniz bölgesinde yaşayan 240 hastanın kan örnekleri kağıt elektroforez yöntemi ile çalışılmış ve insidans %0,4 olarak bulunmuştur. Fakat bu çalışmanın gerçek insidansı yansıtmadığı düşünülmektedir (Aksoy 1991).

#### **2.4.2.Talasemi Patofizyolojisi**

11. kromozomdaki beta geninde oluşan çok sayıda genetik mutasyonlar sonucunda, beta globin zincir yapısının azalmasıyla ya da hiç yapılmamasıyla beta talasemi major hastalığı meydana gelmektedir . Hangi tip mutasyon olursa olsun tümünün paylaştığı fizyopatolojik mekanizma aynıdır ve bu mekanizma ile klinik bulguların iç içe geçtiği izlenmektedir (A.Ü. Pediatrik Moleküler Patoloji ve Genetik, 2003).

Bir veya daha fazla polipeptid zincirinin eksikliği iki sonuca sebep olur: Azalmış Hb sentezi,  $\alpha$  ve  $\alpha$ -olmayan zincir üretimi arasında denge olmaması (İnce ve ark. 2003). Hastalığın şiddeti, alfa( $\alpha$ ) zinciri ile total  $\alpha$  dışı globinin biyosentezi oranındaki ( $\alpha/\beta$ ) dengesizliğe bağlıdır (Güneş 2007; Higgs 2001).

#### **2.4.3.Talasemilerin Sınıflandırılması**

Talasemiler yeterli üretilmeyen özel globin zincire göre,  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\delta\beta$  talasemiler olarak sınıflandırılmıştır.  $\beta$  talasemiler bunlar arasında en önemli olan gruptur (Weatherall 1994, Weatherall 1997).

**$\alpha$ -Talasemi:** Azalmış  $\alpha$ -globin sentezi veya  $\alpha$ -globin sentezinin olmaması.

**$\beta$ -Talasemi:** Azalmış  $\beta$ -globin sentezi veya  $\beta$ -globin sentezinin olmaması.

**$\delta\beta$ -Talasemi:** Hem  $\delta$ - hem de  $\beta$ -globin sentezinde gerçekleşen azalma veya hem  $\delta$ - hem de  $\beta$  globin sentezinin olmaması.

##### **2.4.3.1. Alfa talasemiler**

**1- Sessiz taşıyıcı (alfa-talasemi -2):** Tek gen delesyonu olan bu bireylerde hematolojik parametrelerin tamamı normaldir, transfüzyona gerek yoktur.

**2- Talasemi taşıyıcısı (alfa-talasemi -1):** Çift gen delesyonu olan bu bireylerde anemi görülme düzeyi hafiftir. Transfüzyon gereksinimine ihtiyaç yoktur.

**3- Talasemi intermedia (Hb H hastalığı):** Üç gen delesyonu olan bu bireyler geniş bir çeşitlilik gösterir. Hb H hastalığının farklı genetik formlarından dolayı bazı hastalık çeşitlerinde zaman zaman transfüzyon ihtiyacı olabilir.

**4- Talasemi major (Hb Barts Hidrops Fötalis veya Hb H Hidrops Fötalis):** Hb Barts Hidrops Fötalis'te intrauterin transfüzyon ve hasta yaşarsa düzenli transfüzyonla yaşamaya devam eder. Hb H Hidrops Fötaliste bebekler anemi ile doğar, transfüzyona bağlı olarak yaşamlarını devam ettirebilirler (Weatherall 1994).

#### **2.4.3.2. Beta talasemiler**

**1. Sessiz taşıyıcı:** Hematolojik parametreleri normal, transfüzyon gereksinimleri yoktur.

**2. Talasemi taşıyıcısı:** Bazen anemi tablosu görülebilir. Dominant tipinde belirgin bazofilik noktalanma ile bazen transfüzyon ihtiyaçları olabilir.

**3.Talasemi intermedia (TI):** Moleküler ve klinik olarak çok geniş bir alana sahiptir. Talasemi majora yakın olanlar tip 1 ya da orta form olarak adlandırılır, Hb düzeyleri 7-10 gr/dl arasında değişiklik gösterir, kemik değişiklikleri, splenomegali, extramedüller hematopoez ve gelişme geriliği belirgin olduğu için sıklıkla transfüzyona ihtiyaç duyarlar. Tip 2 veya hafif ilerleyen tiplerinde Hb 8-10 gr/dl arasında, gelişme normal, splenomegali ve kemik değişiklikleri hafif düzeyde olduğundan transfüzyon ihtiyaçları yoktur.

**4.Talasemi major (TM):** TM'de hasta bireyin genotipine, HbF düzeyine, tedaviye başladığı yaşa, başlangıçta görülen Hb düzeyine, dalak büyüklüğüne ve gelişme geriliğine göre Tip 1 veya ağır form ve tip 2 veya orta form olarak iki gruba ayrılır (Weatherall 1994).

**Tablo 2.** Dünya’da sık görülen  $\beta$  talasemi mutasyonları (Galanello 2010)

<b>Populasyon</b>	<b>B Mutasyon</b>
<b>Hindistan</b>	-619 del
<b>Akdeniz</b>	-101 CTT
<b>Kuzey Afrika</b>	-88 CTT
<b>Japonya</b>	-31 ATC
<b>Güneydoğu Asya</b>	-28 ATC
<b>Doğu Asya</b>	IVS-nt GTA
<b>Çin</b>	IVS-nt 654 CTT
<b>Akdeniz</b>	IVS-nt 745 CTT

#### **2.4.4. Talasemilerde Klinik**

##### **2.4.4.1. Alfa talasemilerde klinik**

$\alpha$ -talaseminin en yaygın türleri normal bireylerde 16. kromozomun iki kopyasından  $\alpha$ -globin gen lokusunun bir, iki, üç ya da dördünün tamamının delesyonundan kaynaklanır. Analog türler gen delesyonu içermez ancak onun yerine bir ya da daha fazla gen kopyasının işlevini bozan mutasyonlardan kaynaklanır (Weatherall 1994).

##### **2.4.4.2. Beta talasemilerde klinik**

Beta talasemiler, mRNA ve globulin sentezinin azalmasına sebep olan mutasyonlar sonucunda oluşur (Vallance 2003; Kern 2005).

###### **2.4.4.2.1. Talasemi minima**

Beta talasemiler içinde en hafif seyreden tiptir. Aile çalışmaları dışında tespit edilemez. Ortalama eritrosit hacmi ve ortalama eritrosit Hb değerleri hafif azalmıştır yada normaldir. Görülen tek anormallik, beta zincir sentezinin azalmasıdır (Lukens 1999).

#### **2.4.4.2.2. $\beta$ -Talasemi minor**

$\beta$ -Globin genlerinden birinin bozuk, diğersinin sağlıklı olduğu durumlar  $\beta$ -talasemi minör veya  $\beta$ -talasemi taşıyıcılığı olarak bilinmektedir. Eritrosit morfolojisinde belirgin anormallikleri olan fakat genelde normal hb düzeyleri veya hafif anemi ile takip edilen semptomatik olmayan bir hastalıktır. Bu hastaların yaşam süreleri normaldir (Lukens 1999).

Laboratuvar bulguları olarak periferik kan yaymasında görülen eritrositlerde ; anizositoz, poikilositoz, hipokromi, mikrositoz, bazofilik noktalanma, eliptositoz, hedef hücre, görülebilir. Hb düzeyi genelde 9-11 g/dl civarındadır. Hb elektroforezinde, yetişkin minör Hb'ni olan Hb A2 artmıştır. Osmotik frajilite azalmıştır. Talasemi taşıyıcıları genellikle demir eksikliği anemisiyle karıştırılabilir. Ayırıcı tanıda serum demir, transferin saturasyonu, ferritin tayini kullanılabilir (İnce ve ark. 2003).

#### **2.4.4.2.3. Talasemi intermedia**

Şiddetli TM ile talasemi minör arasında değişik genotipik yapıya sahip olabilen bir anemi çeşitidir (Gümrük 1995). Transfüzyon olmadan Hb düzeylerini 6 g/dl civarında olabilir. Fakat bireyde splenomegali, büyüme geriliği, kemik ağrıları, kronik ülserler izlenebilir. Bazı zamanda vakaların bir kısmı 10-12 g/dl Hb düzeyleri ile erişkin yaşa kadar hiçbir belirti olmadan yaşayabilirler (Weatherall 2001; Weatherall 1997; Cappellini ve ark. 2000).

Bu tip hastalarda görülen kronik anemide, araya giren bazı enfeksiyonlar dışında kan transfüzyonu ihtiyacı duyulmaz. Nadiren gereken transfüzyonlara ek olarak artan gastrointestinal demir emilimi hemokromatozise sebep olabilir (Gümrük 1995). Periferik kan yaymasındaki bulgular ve eritrosit indeksleri  $\beta$ -talasemi majordaki gibidir (Lukens 1999; Gümrük 1995).

Talasemi intermedia hastalarında kan transfüzyonu endikasyonları (Weatherall 2012).

- Büyüme ve gelişme geriliği
- Yüz kemiklerinde değişiklikler
- Hipersplenizm
- Ekstra medüller hematopoez
- Bacakta ülserler
- Patolojik kırıklar

- Kardiyak komplikasyonlar
- Pulmoner hipertansiyon
- Enfeksiyon ve gebelik dönemleri
- Egzersiz kapasitesinde azalma

#### **2.4.4.2.4. Homozigot beta talasemi ( $\beta$ -Talasemi major)**

Beta-talasemilerin klinik olarak en şiddetli türüdür (Quirolo 2004). Her iki  $\beta$ -globin geninin bozuk olduğu durumlarda tanımlanan homozigot talasemi durumudur.

Yeni doğanda ilk aylarda anemi gelişir ve büyüme geriliği, ishal, ateş, abdomende genişleme ve diğer bulgularla ortaya çıkarlar. Hastalarda göreceli olarak büyük bir baş, kısa boy ve karın şişliği geliştiği görülür.

Hastaların çoğu yaşamın ilk yılında transfüzyona gereksinim duyarlar. Transfüzyon yapılmayan çocuklarda talasemik yüz olarak bilinen olan frontal çıkıklık, maksilla ve üst dişlerde öne doğru çıkıklık, burun kökü basıklığı belirir. Uzun ve yassı kemiklerde medüller kavitede genişleme, kısa kemiklerde tübüler, kortikal incelme, kaba görünüm radyolojik incelemede görülür. Hastalarda hafif bir sarılıkla beraber ekstramedüller hematopoez nedeniyle hepatosplenomegali, periferik lenfadenopati izlenir, kalp büyüklüğü bulunabilir.

Hastalar ömür boyu düzenli olarak 20-30 günde bir kan transfüzyonuna ihtiyaç duyarlar. Tedavi edilmeyen hastalar ilk 5 yıl içinde şiddetli anemi ve enfeksiyon sebebiyle yaşamını kaybederler (Weatherall 2001; Cappellini ve ark. 2000; Quirolo 2004).

Laboratuvar bulguları olarak periferik kan yaymasında eritrositlerde hipokromi, anizositoz, poikilositoz, mikrositoz, polikromazi, hedef hücre, bazofilik noktalanma, parçalanma ve normoblastlar vardır. Transfüzyondan almadan önce hemoglobinin düzeyi 2,5-6,5 g/dl arasında değişebilir. Hastalarda trombosit sayısı normal bulunurken, lökositoz izlenir (Lanskovsky 2000). Serum demiri ve transferrine bağlanmayan demir kısmı artmıştır. Hb elektroforezinde; HbA2 ve HbF bulunmaktadır, Hb A ise azalmıştır veya hiç yoktur (Weatherall 2001; Gümrük 1995).

## 2.5. OSMOTİK FRAJİLİTE

Eritrositler hemoglobinin osmotik etkisinden dolayı hücre içi sıvıyı artırmaya eğilimlidirler. Ancak bu eğilim normal durumlarda  $\text{Na}^{+}$ -  $\text{K}^{+}$  aktif transport pompasıyla engellenir ve sodyumla birlikte hücre içine giren su, sodyumla birlikte hücreden dışarı atılır. Eğer giren su miktarı pompanın kapasitesini aşarsa, eritrositler şişer ve yuvarlak bir şekil alırlar. Eritrositler hipotonik çözeltilere konuldukları zaman su, hızlıca eritrosit zarından geçerek hücrenin şişmesine yol açar. Buna osmotik şişme denir. Eritrositin önce fincan şeklini sonra da küre şeklini almasını sağlar. Bunun nedeni eritrositin hacmi artarken yüzey alanının aynı kalması veya çok az artmasıdır. Eritrositler küre şekline ulaşır, kritik bir hacme varduktan sonra hücre zarı parçalanır ve hemoglobin gibi büyük moleküller serbest kalır (Telen ve ark. 1999; Williams ve ark. 1991).

Eritrositler, hipertonic çözeltilere konulduklarında ise su kaybederler, hücre küçülür ve kenarlarında dikensi çıkıntılar (krenasyonlar) olur (Simmons 1997). Osmotik frajilite testinde, farklı hipotonik derişiklerdeki tuz çözeltilerin içine bırakılan eritrositlerin hemolize karşı direnci ölçülür. Her bir hipotonik derişimdeki eritrositlerin parçalanma miktarı, derişimin içine salınan hemoglobinin kolorimetrik olarak ölçülmesiyle hesaplanır ve eritrositlerin tamamen lizis olduğu en düşük derişimli örnekle karşılaştırılır (Simmons 1997). Eritrositler %0,85'lik NaCl çözeltileri içinde hiçbir şekil değişikliğine uğramazlarken, %0,50-0,45'lik çözeltilerde hemoliz görölmeye başlanır ve %0,30-0,20'lik NaCl çözeltilerinde ise tüm kırmızı hücreler hemolize uğrar (Simmons 1997; Elghetony ve ark. 1996).

Osmotik frajilitenin kritik belirleyici faktörü eritrositlerin yüzey alanıyla hacmi arasındaki orandır (Williams ve ark. 1991). Küresel hücrelerin yüzey/hacim oranları düşüktür, hipotonik çözeltilerde sınırlı bir genişleme kapasiteleri vardır ve normal bikonkav eritrositlerden daha yüksek NaCl derişiklerinde lizis olurlar. Bu eritrositler için artmış osmotik frajiliteye veya azalmış hemolitik dirence sahiptir, denilir. Diğer yandan hipokromik, düz ve yassı hücreler hipotonik çözeltilerde daha büyük genişleme kapasitesine sahiptirler ve normal eritrositlerden daha düşük NaCl derişiklerinde lizis olurlar. Düşük osmotik frajiliteye veya başka bir söylemle artmış hemolitik dirence sahiptirler (Elghetony ve ark. 1996).



Hereditör sferositoz ve kazanılmış hemolitik anemili hastalarda kırmızı kan hücrelerinin osmotik frajilitesi artar. Demir eksikliği anemisi ve Talasemi olan hastaların mikrositer, hipokromik olan eritrositlerinde osmotik frajilite azalır. Yeni doğanın hemolitik hastalığı ve splenomegalide de eritrositlerin hemolitik direncinde artış vardır. HemoglobinoPATI veya karaciğer hastalığı olan kişilerin çoğunda ve bazı myeloskleroz, lösemi, lenfosarkom, splenektomili hastalarda osmotik frajilite azalır (Simmons 1997; Rodak 2002)

## **2.6. SERBEST RADİKALLER VE DİĞER REAKTİF OKSİJEN TÜRLEĞİ**

Nötr bir atomda, proton sayısı, elektron sayısına eşittir ve bu halde iken atom reaktif değildir. Elektron alan ya da veren atom, elektriksel olarak yüklü hale geçmekte ve iyon olarak adlandırılmaktadır. İyonlar reaktif ve oldukça kararsız yapılar olup, yüksek enerjilerinden kurtulmak için ortamdaki başka iyon ve/veya atomlarla etkileşime girmektedirler. Serbest radikaller de, eşlenmemiş elektron içeren yüksek enerjili ve stabil olmayan bileşiklerdir. Eşlenmemiş elektron, serbest radikallere büyük bir reaktivlik kazandırarak organizmada birçok biyolojik materyale zarar vermekte; ayrıca çeşitli kanser türleri, kalp-damar hastalıkları ve katarakt ile bağışıklık sisteminde zayıflamaya ve sinir sistemi dejenerasyonuna bağlı birçok hastalığa da neden olmaktadır (Diplock 1998).

Organizmada en fazla oluşan serbest radikaller reaktif nitrojen türleri (RNS) ile reaktif oksijen (ROS) türleridir. Normal metabolizmanın sürdürülmesi, hücrelerde enerji üretimi ve bağışıklık sisteminde önemli rol oynayan savunma hücrelerinden nötrofil, makrofaj gibi hücreler için gerekli olan birçok reaksiyonda serbest radikaller üretilmekte olsada fazla miktarda üretildiklerinde metabolizmaya ciddi zarar verebilmektedirler (Diplock 1998; Altan ve ark. 2006; Valko ve ark 2006; Adewole ve ark 2007).

Dışarıdan alınan besin maddelerinden, organizma içerisinde oksijen kullanılarak enerji sağlanması esnasında oluşan reaktif moleküller; “serbest oksijen radikalleri”, “oksidan moleküller” veya “reaktif oksijen partikülleri” olarak tanımlanmaktadır. Bu moleküller, diğer moleküller ile kolaylıkla elektron alışverişine girebilme özelliğine sahip olup, başlıca olanları; tekli oksijen (singlet oksijen,  $^1O_2$ ), hidroksil(OH),

süperoksit anyonu( $O_2^-$ ), alkoksil( $RO^-$ ) ve peroksil( $ROO\cdot$ ) radikalleridir (Halliwell 1991; Kapoor 2001).

Hücrelerdeki en büyük serbest radikal kaynağı elektron transport zincirinden kaynaklanan elektron sızıntısıdır. Mitokondriyal elektron transport zincirinde, hücre için gerekli enerji sağlanırken çeşitli reaksiyonlardan geçen oksijenin küçük bir kısmı suya dönüşmemekte ve kısmi redüksiyonla hidrojen peroksit, süperoksit ve hidroksil radikallerine dönüşmektedir (Gutteridge ve Halliwell 1993; Niki 1993). Endoplazmik retikulum ve nükleer membranda serbest radikal üretimi membrana bağlı sitokromların (Sitokrom b5, Sitokrom P450) oksidasyonundan kaynaklanmaktadır (Öz ve Kurtoğlu 2002).

Serbest oksijen radikalleri, lipidlerin yanı sıra kükürt içeren aminoasitler ile doymamış aminoasitlerin (tyrozin, triptofan, fenilalanin, sistein, metiyonin, histidin) oksidasyonuna neden olarak proteinlerin parçalanmasına, agregasyonuna ve hücre enzimlerinin fonksiyonlarında bozulmalara neden olmaktadır. Serbest oksijen radikallerinin, nükleer ve mitokondrial DNA'daki heterosiklik bazlarla ve deoksiriboz-fosfatlarla da reaksiyon vermesi sonucunda DNA bazları modifiye olmakta, riboz-fosfat zinciri kırılmakta ve hücrelerin enerji kaybetmeleriyle nekrotik tipte hücre ölümü gerçekleşmektedir (Diel Maestro 1980; Halliwell 1989; Diplock 1993; Akpoyraz ve Durak 1995).

### **2.6.1. Oksidatif Stres**

Oksidan ve antioksidanlar arasındaki dengenin oksidan yönünde bozulması Oksidatif Stres olarak adlandırılır (Lee 1999). Oksidan maddeler, hücrede çeşitli yapıların (lipid, protein, karbonhidrat) okside olmasına ve DNA fragmentasyonuna neden olarak hücrenin yapısal ve fonksiyonel bütünlüğünün bozulmasına yol açar. Yaşamını oksijen tüketerek sürdüren canlılarda moleküler oksijen kullanımından kaynaklanan reaktif oksijen türevleri ve reaktif nitrojen türevlerinin oluşmaktadır (Dallman 2004). Reaktif oksijen ve azot türleri ise bilinen en önemli oksidan maddelerdir ( Karakaş 2010).

### 2.6.2. Reaktif Oksijen Türleri (ROT)

Radikal oksijen türevi olan bileşikler olarak süperoksit, hidroksil, nitrik oksit, radikal olmayan oksijen türevli bileşikler olarak da hidrojen peroksit, ozon, singlet oksijen, hipoklorit sayılabilir.

**Tablo 3.** Reaktif Türler (MMWR Mrb. Mortal, 2002)

<b>REAKTİF OKSİJEN TÜRLERİ</b>	
<b>Radikaller</b>	<b>Radikal olmayanlar</b>
Hidroksil (OH <sup>-</sup> )	Hidrojen peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )
Süperoksit (O <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	Singlet oksijen ( <sup>1</sup> O <sub>2</sub> )
Alkoksil (RO <sup>-</sup> )	Ozon (O <sub>3</sub> )
Peroksil (RO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	

<b>REAKTİF NİTROJEN TÜRLERİ</b>	
<b>Radikaller</b>	<b>Radikal olmayanlar</b>
Nitrojen dioksit (NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> )	Peroksinitrit (ONOO <sup>-</sup> )
Nitrik Oksit (NO <sup>-</sup> )	

Serbest radikallerin oluşumlarını inhibe eden, bunların neden oldukları oksidasyon olaylarını engelleyen, zararlı etkilerini azaltma ve/veya yok etme fonksiyonu gösteren maddeler “**antioksidanlar**” olarak adlandırılmaktadırlar.

Antioksidanların oksidan maddelerle karşılaştıklarında oksidasyonu geciktirerek, inhibe ederek, serbest radikali zayıf bir moleküle çevirerek veya radikale bir hidrojen iyonu aktararak etkisiz hale getirdikleri bildirilmektedir (Gutteridge ve Halliwell 1993; Memişoğulları 2005; Tabakoğlu ve Durgut 2013).

Antioksidanlar genel olarak serbest radikallerin protein, DNA ve lipidler gibi hücrel bileşenlere zarar vermesini engellemekte, bir hücrel bölgeden diğerine geçişini önleyebilmektedir (Diplock 1998; Elliot 1999; Powell 2000; Ou ve ark 2002; Valko ve ark 2006).

Antioksidanlar, kaynaklarına göre endojen ve eksojen olanlar, kimyasal yapılarına göre enzimatik olanlar ve enzimatik olmayanlar, çözünürlüklerine göre suda çözünenler ve yağda çözünenler ve organizmadaki yerleşim yerlerine göre de intraselluler ve ekstraselluler olarak sınıflandırılmaktadırlar (Tabakoğlu ve Durgut 2013).

**2.6.2.1. Süperoksit Radikali ( $O_2^-$ ):** Canlılarda oluştuğu ilk düşünülen radikal olan süperoksittir. Süperoksit radikali neredeyse tüm aerobik hücrelerde moleküler oksijenin ( $O_2$ ) bir elektron alarak indirgenmesi neticesinde oluşur.

**2.6.2.2. Hidrojen Peroksit ( $H_2O_2$ ):** Hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) moleküler oksijenin etrafındaki moleküllerden iki elektronu alması veya süperoksidin etrafındaki moleküllerden bir elektronu alması sonucunda meydana gelen peroksinin iki proton ( $H^+$ ) ile birleşmesi sonucu ortaya çıkar. Biyolojik sistemlerde hidrojen peroksidin asıl üretimi süperoksidin ( $O_2^-$ ) dismutasyonu ile olur. İki süperoksit molekülü, süperoksidin dismutasyonu reaksiyonunda iki proton alarak hidrojen peroksit ve moleküler oksijeni oluştururlar (Chessman 1993; Cros 1987; Harman 1988)

**2.6.2.3. Hidroksil Radikali ( $OH^-$ ):** Hidroksil radikali ( $OH^-$ ), ‘‘Haber-Weiss reaksiyonu’’ ve ‘‘Fenton reaksiyonu’’ sonucu hidrojen peroksitten oluşmaktadır.

**2.6.2.4. Hidroperoksit Radikali ( $HO_2^-$ ):** Süperoksit radikalinin protonlanmasıyla oluşur. Süperoksit radikalinden daha güçlü bir oksidandır.

**2.6.2.5. Hipoklorikasit Radikali ( $HOCl$ ):** Aktive polimorfonüveli lökositler (PMNL) tarafından üretilen majör bakterisidal bir ajandır.  $H_2O_2$  ile klorür iyonunun miyeloperoksidaz (MPO) ile katalizlenen tepkimesi sonucunda meydana gelir. (Gutteridge JMC 1995).

**2.6.2.6. Singlet  $O_2$ :** Dış yörüngede eşlenmemiş bir elektronu bulunmadığından serbest radikal değildir. Fakat serbest radikal reaksiyonlarını başlattıklarından serbest radikal sınıfına eklenmişlerdir (Gutteridge 1995)

**2.6.2.7. Reaktif Nitrojen Türleri ( $NO$ ,  $NO_2$ ,  $NO^+$  )(RNS) :** Nitrik oksit, yüksek yapılı canlılarda çok önemli biyolojik fonksiyonları gerçekleştirmek üzere üretilen nitrojen merkezli bir radikaldir (Hallberg ve ark. 1987). Lipofilik özellikte olup, oksijensiz ortamda oldukça stabildir. Diğer radikallerden farklı olarak düşük dozlarda toksik değildir ve çok önemli fizyolojik işlevleri yerine getirirler (Moncada ve ark. 1991).

#### **Reaktif oksijen ve azot türlerinin oluşumuna neden olan faktörler**

-Nitrik oksit sentaz (NOS)

-NADPH oksidaz (NOX)

-Ksantinoksidaz/dehidrogenaz

### 2.6.3. Enzimatik Antioksidanlar

**2.6.3.1. Süperoksit Dismutaz (SOD) :** Antioksidan enzimlerin en önemlilerinden biri olan SOD, oksijeni metabolize eden bütün hücrelerde bulunmaktadır. Memeli dokularında SOD enzimi, temelde hücre içi yerleşimli olup eritrositlerin, hepatositlerin ve beyin hücrelerinin mitokondri matrikslerinde, %10 kadarı ise hücre dışında bulunmaktadır. SOD, serbest radikallere karşı ilk tepkimeye giren enzimdir. Endojen olarak üretilerek, süperoksit radikalının hücre hasarı oluşturmasını engellemektedir. SOD, süperoksit radikalının hidrojen peroksit ( $H_2O_2$ ) haline dönüşümünü, peroksidazlar aracılığıyla da moleküler oksijene ( $O_2$ ) indirgenmesini sağlamaktadır (Armstrong 1998; Halliwell ve Gutteridge 1999; Mcintyre 1999; Halliwell 2001; Young ve Woodside 2001; Vincent ve ark 2004; Memişoğulları 2005).

SOD'nin üç farklı formu bulunmaktadır;

- A. Bakır ve çinko içeren (Cu-Zn SOD) dismutazlar (Sitozolik SOD): Aktif bölgesinde bakır ve çinko içeren bu enzim, hücrelerin sitoplazmasında bulunmaktadır.
- B. Demir içeren dismutazlar (Fe-SOD): Aktif bölgesinde demir iyonu taşımaktadır. Hücre matriksinde yerleşmiştir.
- C. Manganez içeren (Mn-SOD) dismutazlar (Mitokondriyal SOD) : Mitokondri matriksinde bulunan Mn-SOD, birbirinin aynı olan iki alt birimden oluşur ve her alt birime birer atom mangan bağlıdır (Halliwell ve Gutteridge 1999).

**2.6.3.2. Katalaz:** Katalaz  $H_2O_2$ 'yi oksijen ve suya dönüştüren bir enzimdir. Böylece  $H_2O_2$ 'den OH. Oluşumu önlenmiş olur. Katalaz peroksizomlarda, daha az olarak da sitozolde ve mikrozomal fraksiyonlarda bulunur (Nordberg 2001; Conner 1996; Rodriguez ve ark. 2004).

**2.6.3.3. Glutatyon Peroksidaz (GPx):** Glutatyon peroksidaz hidrojen peroksiti GSH'a dönüştürerek hidrojen peroksitin detoksifikasyonunda görev almaktadır (Allen 1993). Bu enzimin iki izoformu vardır. Selenyuma bağlı formu selenosistein formundadır ve hem hidrojen peroksiti hem de organik peroksitleri metabolize ederken; selenyumdan bağımsız olan formu ise yalnızca lipid hidroperoksitlerini metabolize etmektedir (Nordberg 2001).

#### **2.6.4. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar**

Okside olarak başka bir substratın oksidasyonunu geciktiren veya önleyen düşük molekül ağırlığına sahip antioksidanlardır (Halliwell 2001, Kleczkowski ve ark 2003).

**2.6.4.1. Antioksidan vitaminler:** Vitamin E ( $\alpha$ -tokoferol), vitamin C (askorbik asit) ve karotenoidler antioksidan vitaminler arasındadır. Vitamin E yağda eriyen bir antioksidanken vitamin C suda çözünen güçlü bir antioksidandır. Vitamin E hücre zarı fosfolipidlerinde bulunan poliansatüre yağ asitlerini süperoksit, hidroksil radikalleri ve singlet oksijen gibi serbest radikal etkisinden korumaktadır.

**2.6.4.2. Glutasyon:** Glutasyon enzim olmayan endojen antioksidanlardandır. Karaciğer başta olmak üzere farklı dokularda glutamat, sistein ve glisinden sentezlenir (Lanzkowsky 1999; Tadmouri 2001). Glutasyon, hemoglobinin oksitlenerek methemoglobine dönüşümünü engeller. GSH ayrıca yabancı maddelerin detoksifikasyonunu ve aminoasitlerin membrandan transferini de sağlar. GSH eksikliğinin oksidatif strese yol açtığı ayrıca kanser koroner kalp hastalığı, diyabet, epilepsi, karaciğer hastalıkları gibi bir çok hastalıklara neden olabileceği ortaya konulmuştur (Şener ve Yeğen 2014).

#### **2.6.5. Serbest oksijen radikallerinin zararlı etkileri**

##### **2.6.5.1. Karbonhidratlara etkileri**

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksitler ve okzo aldehitler meydana gelmektedir.

##### **2.6.5.2. Proteinlere Etkileri**

Proteinler, serbest radikal hasarına duyarlı moleküllerdir. Serbest radikallerin etkisi ile bu moleküllerin sülfhidril gruplarında hasar meydana gelebilmektedir (Akkuş 1995).

### **2.6.5.3. Membranların lipid peroksidasyonu**

Başlangıçta serbest radikaller, bir lipid karbon merkezli radikalden üretilmiş olan karbon zincirinden, hidrojen atomunu açığa çıkarmaktadır. Sonuçta karbon merkezli radikal oluşmaktadır. Bu lipid radikal, moleküler oksijen ile reaksiyona girer, linoleik asit peroksi radikalının oluşmasını sağlar ve oksidasyon zincirini başlatabilir. Üretilen peroksiradikal, elektronlarının ve diğer duyarlı yağ asitlerini alarak lipid radikal ve lipid hidroperoksitleri oluşturur. Bunun yanında süperoksit, lipid peroksidasyonunu bitirici etki de gösterebilir (Kılınç 2002; Akkuş 1995; Yamamoto 2001; Yiğit 1997; Buonocore 2000).



### **3. GEREÇ VE YÖNTEMLER**

#### **3.1. DENEKLER:**

Bu çalışmamız için gerekli Etik onay, Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu 20478486/303 no'lu kararı ile alınmıştır. Projemiz Manisa CBÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonununun 2015-092 numaralı projesi olarak desteklenmiştir.

Çalışmamız Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi Hematoloji Polikliniğine anemi nedeniyle başvuran 3 ayrı grup kan örneğiyle ve kontrol grubuyla yapıldı.

Kontrol grubu(n=15),

Demir eksikliği anemisi grubu(n=15),

B<sub>12</sub> Vitamini eksikliği grubu(n=15),

Talasemi minör veya Orak hücreli anemi grubu(n=15)

Çalışma gruplarımız; Manisa Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Dahiliye Hematoloji polikliniğine başvuran B<sub>12</sub> eksikliği anemisi, Demir eksikliği anemisi, Talasemi minor ya da Orak hücreli anemisi tanısı almış hastalardan oluşturuldu. Bu hastalar arasında 18 yaş üstü olup kendi rızası ile araştırmaya katılmayı kabul eden hastalar; “Bilgilendirilmiş Olur Formu” doldurmaları ardından çalışmaya dahil edildi.

Kontrol grubu; herhangi bir sağlık sorunu olmayan, 18 yaş üstü Manisa Celal Bayar Üniversitesi Hafsa Sultan Hastanesi personelinden oluşturuldu. ‘Bilgilendirilmiş Olur Formu’ doldurmaları sonrasında çalışmaya dahil edildi.

#### **3.2. OSMOTİK FRAJİLİTE DENEYİ:**

Hazırladığımız stok çözeltisinden elde ettiğimiz farklı derişiklerdeki NaCl çözeltilerinin içine kan örneği eklenip, hemolize uğramış eritrosit hemoglobininin spektrofotometrede ölçümüyle sonuçlar elde edilmiştir.



### 3.2.1. Stok (Phosphate Buffered Saline (PBS)) Çözeltisi:

200 mL. distile su içinde 18,0 g NaCl (Molekül ağırlığı = 58,44g), 2,73g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Disodyum hidrojen fosfat) (Molekül ağırlığı = 142 g), 0,374g NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Sodyum dihidrojen fosfat) (Molekül ağırlığı = 120 g) çözüldü ve pH (7,4) kontrol edildi.

**Tablo 4.** Farklı Derişiklerdeki NaCl çözeltileri.

NaCl (%)	Kör	0,38	0,40	0,42	0,44	0,46	0,48
Stok çözelti, ml	20	76	80	84	88	92	96
Distile su, ml	180	124	120	116	112	108	104

### 3.2.2. Osmotik Frajilite Ölçümü:

Kör (%0,1), %0,38, %0,40, %0,42, %0,44, %0,46, %0,48 ve stok çözeltilerinden 10'ar mL Jelsiz boş biyokimya tüplerine kondu ve tüpler numaralandırıldı. Stok çözeltisinden 9 mL ayrı bir tüpe kondu ve tüp etiketlendi. Denekten alınan kanla dolu heparinli tüp santrifüj edilip, serum uzaklaştırıldı. Dipten alınan 1 mL eritrosit 9 mL'lik stok çözeltisinin üzerine eklendi, üstü parafinle kapatılıp bir kaç kez altyüz edilerek karıştırıldı ve tüpün hematokrit değeri bakıldı. Yaklaşık %10'luk bir hematokrit değeri elde edilememişse işlem tekrarlandı. 10'ar mL'lik kör, %0,38, %0,40, %0,42, %0,44, %0,46, %0,48, stok çözelti tüplerinin her birine %10'luk eritrosit çözelti tüpünden 250 µL çözelti eklendi ve üstleri kapakla kapatılıp bir kaç kez altyüz edilerek karıştırıldı. Tüpler 37 °C'lik su banyosunun içinde 30 dakika bekletildi ve santrifüj edildi. Çözeltilerin süpernatant kısımlarının optik dansiteleri 540 nm'de Helios Gamma UV-Visible Spektrofotometreyle okundu.

### 3.2.3. Sonuçların Hesaplanması

Her bir tüpteki hemoliz oranı hesaplanırken kullanılan formül;

Hemoliz yüzdesi= (Örnek tüpün optik dansitesi / Kör tüpün optik dansitesi) X 100

### **3.3. TAM KAN SAYIMI VE PERİFERİK YAYMA**

Eritrosit MCV ölçümleri ve diğer sayım ölçümleri Manisa Celal Bayar Üniversitesi Biyokimya Laboratuvarında bulunan tam kan sayım cihazıyla yapıldı. Ayrıca çalışma kapsamında yer alan hastaların ve kontrol grubu gönüllülerinin periferik yayma preparatları hazırlandı ve Manisa Celal Bayar Üniversitesi Fizyoloji ABD araştırma laboratuvarında boyanıp, çekilen fotoğrafların ilgili yüksek lisans tezimizin kapsamında kullanıldı.

### **3.4. SOD (Süperoksit Dismutaz)**

SOD analizi, Superoxide Dismutase Assay Kit (Cayman Chemical Company, Ann Arbor, USA) kullanılarak kolorimetrik olarak ölçülmüştür.

Kontrol ve hasta gruplarından EDTA'lı tüplere venöz kan alındı. EDTA'lı tüpler 4000 devir/dk. hızda 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen plazma ependorflara ayrılarak -80 °C'lik derin dondurucuda analiz yapılacak güne kadar saklandı.

#### **3.4.1. Örneklerin hazırlanması**

Çalışma gününe kadar -80 °C saklanan plazmalar dondurucudan çalışma gününden önceki gece çıkartıldı ve 2-8 °C dolapta bekletildi. Çalışmanın yapılacağı gün çıkarılıp çalışma saatine kadar oda sıcaklığında bekletildi. SOD aktivitesi bakılmadan önce örnek plazma tamponu (Samplebuffer) ile 1:5 oranında seyreltildi.

#### **3.4.2. Standartların Hazırlanması**

SOD stok çözeltisini elde etmek için 20 µl SOD standardı 1.98 ml numune tamponu (seyreltik) ile seyreltilir. Yedi adet temiz cam test tüpünü alınıp numaralandırılır. Her tüpe SOD stoğu ve numune tamponu (seyreltik), toplam miktar 1000 µl olacak şekilde eklendi.

**Tablo 5.** Süperoksit Dismutaz Standartları

Tüp	SOD Stok( $\mu$ l)	Örnek Tamponu( $\mu$ l)	Final SOD Aktivitesi(U/ml)
Kör	0	1000	0
Std1	20	980	0,005
Std2	40	960	0,10
Std3	80	920	0,020
Std4	120	880	0,030
Std5	160	840	0,040
Std6	200	800	0,050

#### 3.4.4. Örneklerin Çalışılması

1. Standart ve numune kuyucuklarına 200  $\mu$ l seyreltilmiş radikal dedektörü koyuldu.
2. Üzerine 10  $\mu$ L standartlar ve numunelere eklendi.
3. Kullandığımız tüm oyuklara 20  $\mu$ l dilue edilmiş Xhantine Oxidase ekleyerek reaksiyon başlatıldı.
4. Plate birkaç saniye dikkatlice karıştırılarak üzeri kapatıldı.
5. Plate bir çalkalayıcıda oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edildi. Bir ELISA okuyucu kullanılarak 450 nm’de absorbansı okundu.

#### 3.4.5. Hesaplama

1. Her standardın ve numunenin ortalama absorbansını hesaplandı.
2. Standart A’nın absorbansı kendisine bölünür ve standart A’nın absorbansı tüm diğer standartların ve örneklerin absorbansına bölünür, doğrusallaştırılmış oran (LR) elde edilir. (örnek: LR için Std A = AbsStd A / AbsStd A; LR için Std B = AbsStd A / AbsStd B )
3. Son SOD etkinliğinin (U/ml) bir fonksiyonu olarak doğrusallaştırılmış SOD doğrusal oranı (LR) çizilir.
4. Her bir örnek için doğrusallaştırılmış oranı (LR) yerine standart eğrisinin doğrusal gerilemesinden elde edilen denklemini kullanarak numunelerin SOD aktivitesini hesaplanabilir.

### 3.5. NO (Nitrik Oksit)

Kontrol ve hasta gruplarından alınan lityum heparinli tam kan 4000 devir/dk. hızda 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen plazma ependorflara ayrılarak -80 °C'lik derin dondurucuda analiz yapılacak güne kadar saklandı.

#### 3.5.1. Deneyin Prensibi:

Vücutta endojen olarak üretilen nitrik oksitin doku ve vücut sıvılarındaki konsantrasyonu, pek çok çalışmada nitrit ve nitrat olarak ifade edilmiştir. Çünkü nitrik oksit, üretildiği bölgede saniyeler içinde okside olarak önce nitrite ( $\text{NO}_2^-$ ) daha sonra da nitrate ( $\text{NO}_3^-$ ) dönüşür. Nitrik Oksid üretiminin göstergesi olarak, stabil nitrik oksidmetabolitleri olan Nitrit ( $\text{NO}_2^-$ ) ve Nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) ölçümü Griess reaksiyonu kullanılarak spektrofotometrik olarak yapıldı (Cortas 1990). Bununla beraber proteinden zengin homojenat, serum, plazma gibi solüsyonlarda spesifik olmayan reaksiyonlar oluşabileceğinden, bu non spesifik reaksiyonların önüne geçebilmek için plazmaları önce deproteinize edilip sonra konsantrasyonlarını ölçüldü (Somogy 1930). Yapılan son nitrit ölçümü total NO (nitrit+nitrat)'in göstergesi olarak kaydedildi.

#### 3.5.2. Kullanılan Kimyasal ve Reaktifler

1. Kadmiyum granülleri
2. Glisin-NaOH tamponu ( pH: 9,7 ) : 7,5 gr glisin 100 mL deiyonize suda çözüldü. 2 mol/L NaOH ile pH'sı 9,7 'ye ayarlanarak son hacim 1000 mL'ye deiyonize su ile tamamlandı. Tampon +2- 8°C 'de 1 ay saklanabilir.
3. Sülfanilamid: 5gr Sülfanilamid tartılıp 500 mL 3M HCl içerisinde çözüldü. Oda ısısında 1 yıl saklanabilir.
4. N-Naphtylene daimine (NNDA): 50 mg NNDA alınıp 250 mL distile suda çözüldü.
5. 5mmol/l  $\text{CuSO}_4$  solüsyonu hazırlandı.  
Standart solüsyonu: 0,1mol/L  $\text{NaNO}_2$  kullanılır.
6. 75mmol/L  $\text{ZnSO}_4$  solüsyonu
7. 55mmol/L NaOH solüsyonu

### 3.5.3. Deneyin Yapılışı:

Önce -80 °C 'de sakladığımız plazmalar dolaptan çıkarılarak numaralandırıldı ve oda ısısında erimeye bırakıldı. 500 µl plazma + 2 mL 75 mmol/L ZnSO<sub>4</sub> ile vortekslenir. 2,5 mL NaOH eklenip tekrar vortekslenerek 3500 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Berrak süpernatant nitrat tayininde numune olarak kullanıldı.

**Kadmiyum granüllerinin aktive edilmesi:** Kadmiyum granülleri 3 defa deiyonize su ile yıkanarak 1-2 dakika 5 mmol/L CuSO<sub>4</sub> solüsyonu içinde karıştırıldı. Solüsyon süzülerek döküldükten sonra granüller 1-2 mL glisin tamponu ile yıkandı. Bakırla kaplanarak aktive olan kadmiyum granülleri 10 dakika içinde deneyde kullanılmalıdır. Deneyde kullanılan granüller distile su ile yıkanarak 0,1 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> solüsyonu içinde saklanır.

#### Nitrat Tayini:

1. Aktive edilmiş kadmiyum granüllü tüplerin üzerine 1mL glisin tamponu ilave edildi.
2. Üzerine 1mL plazma ve 2mL deiyonize su eklenerek tüplerin ağzı kapatıldı.
3. 90 dakika oda sıcaklığında karanlık ortamda ara ara tüpler alt üst edilerek inkübe edildi.
4. İnkübasyon sonunda nitrit tayini için numune olarak kullanılır.

#### Nitrit Tayini:

**Tablo 6.** Nitrit Standartları

	<b>Kör</b>	<b>Numune</b>	<b>St 1</b>	<b>St 2</b>	<b>St 3</b>
	<b>(mL)</b>	<b>(mL)</b>	<b>(mL)</b>	<b>(mL)</b>	<b>(mL)</b>
<b>Örnek plazma</b>	-	<b>2</b>	-	-	-
<b>St 1</b>	-	-	<b>2</b>	-	-
<b>St 2</b>	-	-	-	<b>2</b>	-
<b>St 3</b>	-	-	-	-	<b>2</b>
<b>Distile Su</b>	<b>2,5</b>	<b>0,5</b>	<b>0,5</b>	<b>0,5</b>	<b>0,5</b>
<b>Sülphanil. Sol.</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>
<b>NNDA Sol.</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>1</b>

Vortekslenerek 20-60 (40) dakika oda ısısında karanlıkta inkübe edildi. Spektrofotometrede 545 nm'de köre karşı okunan standart solüsyonlarından elde edilen“Optik Dansite- konsantrasyon ( $\mu\text{mol/L}$ )” grafiği ile numune sonuçları hesaplandı.



## 4. BULGULAR

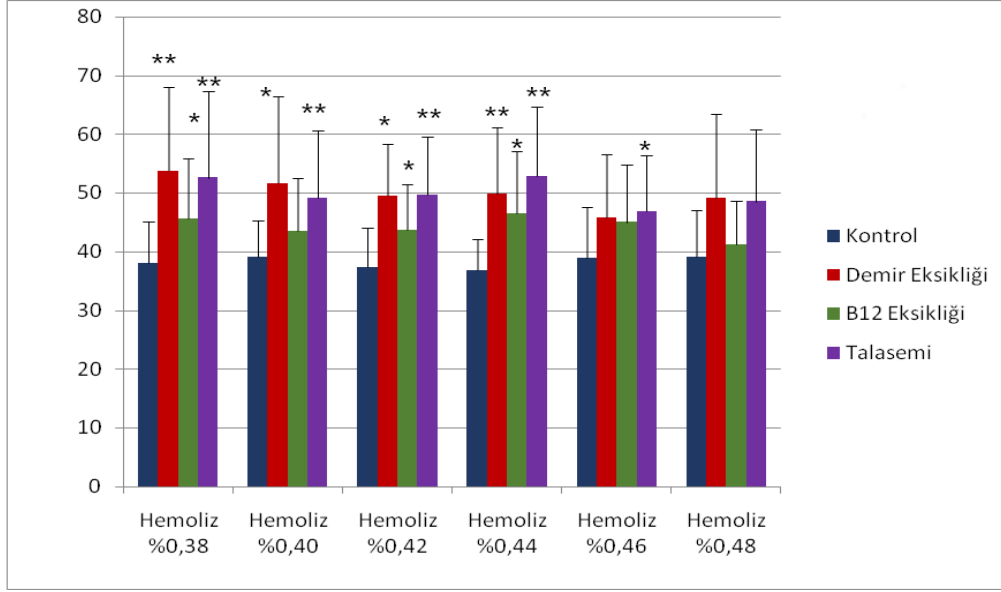
### 4.1. ÇALIŞMA GRUPLARININ HEMOLİZ DEĞERLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

Demir Eksikliği Anemisi, B<sub>12</sub> Eksikliği, Talasemi Minörlü hastalar ve kontrol grubunun hemoliz değerlerinin sonuçları Tablo 7’de gösterilmiştir.

**Tablo 7.** Hemoliz Değerlerinin Ortalama ve Standart sapmaları

Hemoliz Yüzdeleri		Hemoliz %0,38	Hemoliz %0,40	Hemoliz %0,42	Hemoliz %0,44	Hemoliz %0,46	Hemoliz %0,48
Kontrol (n=15)	Ort ±Std	38,11 ±7,09	39,18 ±6,11	37,32 ±6,69	36,90 ±5,26	39,20 ±8,61	39,16 ±7,83
	Min-mak	27-57,3	32,6-54,5	27-48,2	24,7-45,9	28,1-57	23,5-51,6
Demir Eksikliği (n=15)	Ort ±Std	53,7** ±14,36	50,70* ±14,79	49,52* ±8,85	49,81** ±11,34	45,82 ±10,8	49,19 ±14,21
	Min-mak	36,9-76,55	33,3-79	32,8-66,7	32-67	30,2-61,4	32,4-77,8
B12 Eksikliği (n=15)	Ort ±Std	45,66* ±10,26	43,6 ±8,99	43,64* ±7,89	46,45* ±10,65	45,02 ±9,77	41,17 ±7,54
	Min-mak	31,4-67,7	33,4-63,8	32,5-64,8	33,5-69,9	31,4-66,6	31,5-61,9
Talasemi (n=15)	Ort ±Std	52,6** ±14,63	49,24** ±10,71	49,73** ±10,4	52,82** ±13,09	46,87* ±7,04	48,54 ±15,04
	Min-mak	33,3-82	34,2-71	34,7-74	33,8-71	36,1-61	31,8-81

\*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001



**Şekil 2.** Çalışma Grupları Kan Örneklerinin Hemoliz Yüzdeleri

\*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001

Yaptığımız çalışmada osmotik fragilite testinde grupların hemoliz oranları karşılaştırıldığında; Demir eksikliği, Talasemi ve B<sub>12</sub> eksikliği gruplarında; Hemoliz %0,38, %0,40, %0,42 ve %0,44 hemoliz değerleri kontrole göre anlamlı olarak yüksek saptandı (p<0,05).

Hemoliz %0,46 değeri ise sadece Talasemi grubunda kontrole göre anlamlı olarak yüksekti (p<0,05).

#### **4.2. ÇALIŞMA GRUPLARININ KAN SAYIM DEĞERLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI**

Demir Eksikliği Anemisi, B<sub>12</sub> Eksikliği, Talasemi Minör'lü hastalar ve kontrol grubunun Tam Kan Sayım parametreleri Tablo 8'de gösterilmiştir.

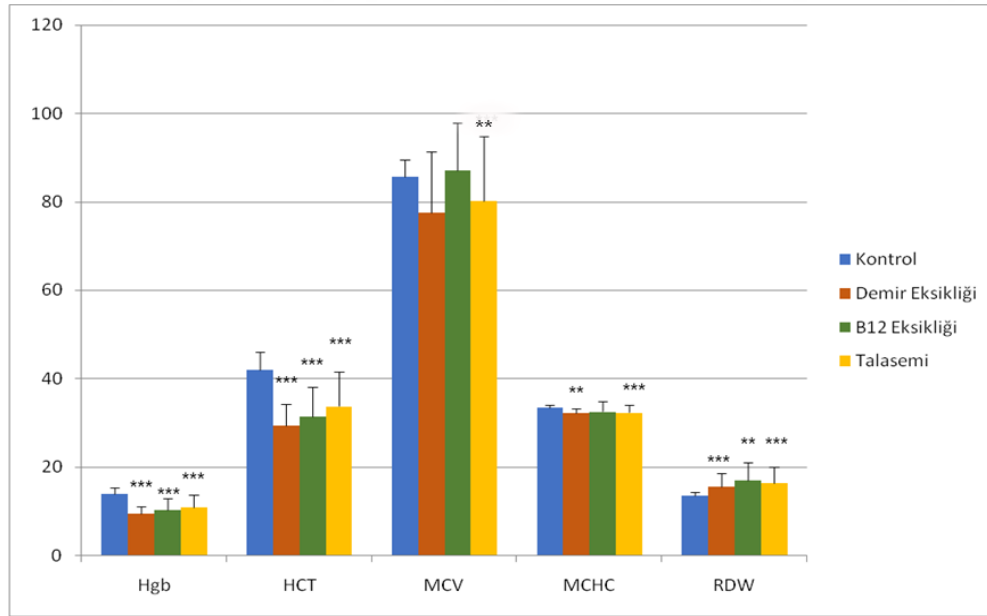


**Tablo 8.** Tam Kan Sayım Parametreleri Ortalama ve Standart Sapmaları

Kan Değerleri	Kontrol		Demir Eksikliği		B12 Eksikliği		Talasemi	
	Ort ±Std	Min- mak	Ort ±Std ±1,6	Min- mak 12,9	Ort ±Std ±2,87	Min- mak 5-13,8	Ort ±Std ±2,57	Min- mak 5,3-15,7
<b>Hgb (g/dl)</b>	14,02 ±1,35	12,4- 16,7	9,50*** ±1,6	7,1- 12,9	10,26*** ±2,87	5-13,8	10,20*** ±2,57	5,3-15,7
<b>HCT (%)</b>	41,97 ±4,02	36,5- 47,9	29,45*** ±4,82	23-40,1	31,44*** ±8,2	15,2-41	32,25*** ±6,75	21,6-46
<b>MCV (fl)</b>	85,66 ±3,97	78,1-93	77,64 ±13,78	52,7- 106	87,01 ±19,9	50,2- 123	70,30** ±10,77	54-88,9
<b>MCHC (g/dl)</b>	33,43 ±0,59	34,7- 34,8	32,28** ±1,003	30,8-34	32,56 ±1,58	29,2- 34,4	31,12*** ±2,29	24,4-34
<b>RDW (%)</b>	13,54 ±0,70	12,5- 14,8	17,57*** ±2,96	13,7- 23,5	17,00** ±4,3	13,2-29	17,61*** ±4,01	12,27- 28,6

**Hgb:** Hemoglobin, **HCT:** Hematokrit, **MCV:** Ortalama eritrosit hacmi,

**MCHC:** Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu, **RDW:** Eritrosit dağılım genişliği



**Şekil 3.** Kontrol Grubu ve Hasta Örneklerinin Kan Sayım Değerlerinin Karşılaştırılması

\*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001

Çalışma gruplarının kan sayım değerlerinin karşılaştırılmasında; Hgb ve Hct değerleri tüm anemi gruplarında kontrole göre anlamlı olarak düşük olarak saptandı ( $p<0,05$ ).

MCV değeri ise sadece Talasemi grubunda kontrole göre anlamlı olarak düşüktü ( $p<0,05$ ).

MCHC Talasemi ve Demir eksikliği gruplarında kontrole göre anlamlı olarak düşük olarak saptandı ( $p<0,05$ ).

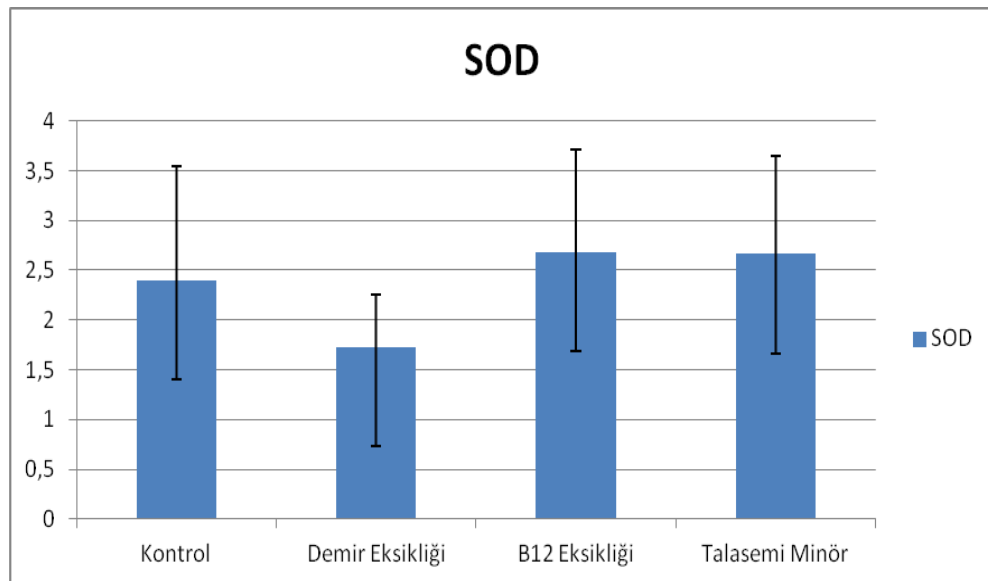
RDW değerleri ise; Demir eksikliği, Talasemi, B<sub>12</sub> eksikliği gruplarında kontrole göre anlamlı olarak yüksek olarak saptandı ( $p<0,05$ ).

### 4.3. ÇALIŞMA GRUPLARININ SOD (SÜPEROKSİT DİSMUTAZ) VE NO (NİTRİK OKSİT) DEĞERLERİNİN KARŞILAŞTIRILMASI

**Tablo 9.** SOD ve NO sonuçlarının Ortalama ve Standart Sapmaları

	Kontrol		Demir Eksikliği		B12 Eksikliği		Talasemi	
	Ort ±Std	Min-mak	Ort ±Std	Min-mak	Ort ±Std	Min-mak	Ort ±Std	Min-mak
<b>SOD</b>	2,39 ±1,15	0,91-4,50	1,73 ±0,52	1,07-2,91	2,68 ±0,86	1,30-4,39	2,66 ±1,03	1,46-5,29
<b>NO</b>	19,98 ±2,65	16,1-25,4	19,32 ±1,58	15,6-20,8	20,96 ±4,82	16,1-36,4	23,60 ** ±2,25	19,5-30,4

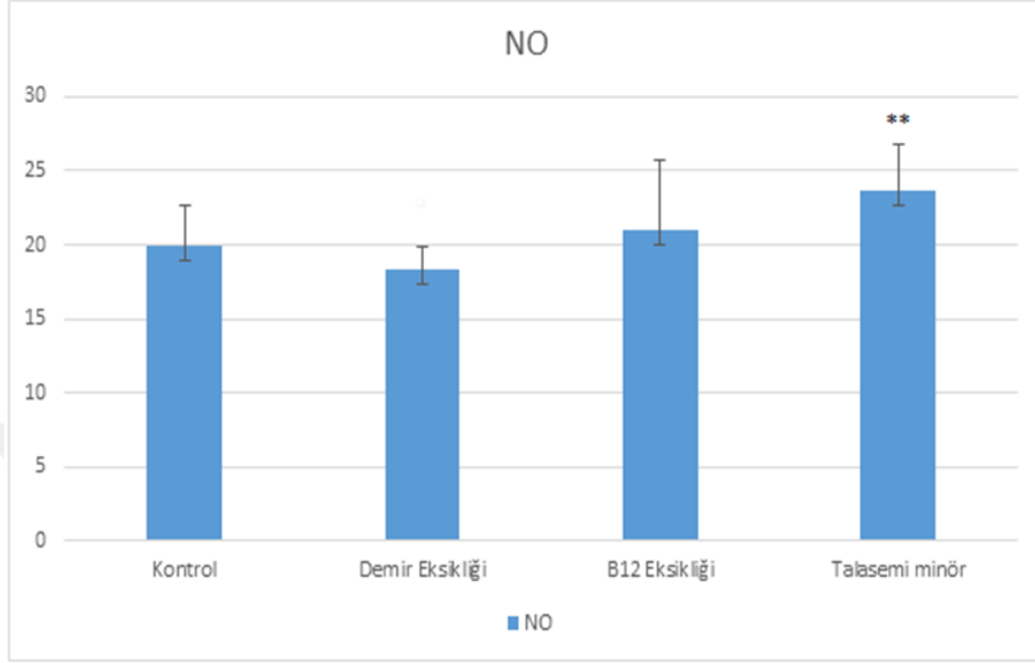
\* $p<0,05$ , \*\* $p<0,01$ , \*\*\* $p<0,001$



**Şekil 4.** Kontrol Grubu ve Hasta Gruplarının SOD Aktivitesi

\*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001

Çalışma grupları arasında SOD değerleri açısından farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır.



**Şekil 5.** Kontrol Grubu ve Hasta Gruplarının NO (Nitrik Oksit) Düzeyleri

\*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,001

Çalışma grupları arasında Nitrik oksit sonuçları karşılaştırıldığında; Talasemi minör grubunun değerleri kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur (p<0,05).

#### 4.4. ÇALIŞMA GRUPLARINDA KULLANILAN PARAMETRELERİN KORELASYONU

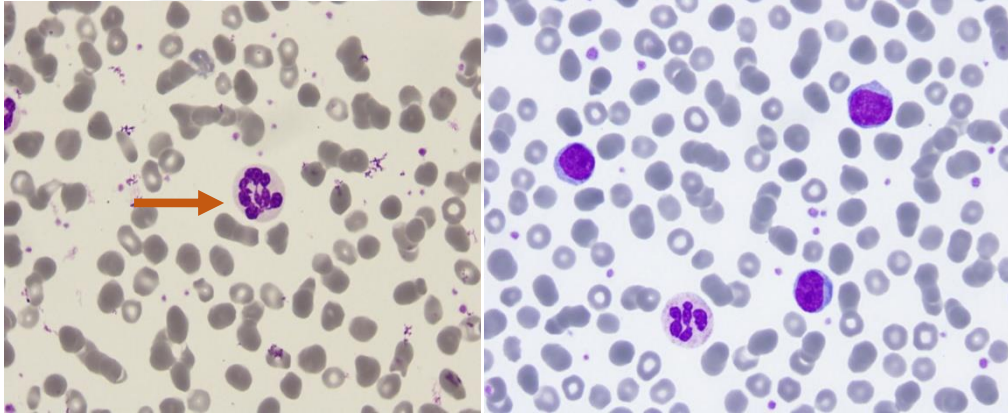
**Tablo 10.** Tüm gruplarda çalışılan testler arası korelasyon

NO	SOD	RDW	MCHC	MCV	HCT	Hgb	Hem 48	Hem 46	Hem 44	Hem 42	Hem 40	Hem 38	Korelasyon
r=	r=	r=	r=	r=	r=	r=	r=	r=	r=	r=	r=	r=	
0,11	0,09	0,31*	-0,29*	-0,45*	-0,25*	-0,29*	0,80*	0,67*	0,78*	0,76*	0,78*	1	Hem %0,38
-0,02	0,05	0,35*	-0,35**	0,35**	0,25*	0,30*	0,79*	0,66*	0,80*	0,73*	1	0,78*	Hem %0,40
0,006	-0,07	0,43*	-0,40**	-0,41**	0,31*	0,36*	0,70*	0,69*	0,74*	1	0,73*	0,76*	Hem %0,42
0,05	0,20	0,31*	-0,41**	0,45**	0,27*	0,33*	0,69*	0,74*	1	0,74*	0,80*	0,78*	Hem %0,44
-0,006	0,10	0,20	-0,28*	-0,31*	-0,20	-0,24	0,61*	1	0,74*	0,69*	0,66*	0,67*	Hem %0,46
0,006	0,11	0,30*	-0,27	0,35**	-0,15	-0,19	1	0,61*	0,69*	0,70*	0,79*	0,80*	Hem %0,48
0,06	0,21	-0,64*	0,56**	0,26	0,98*	1	-0,19	-0,24	0,33*	0,36*	0,30*	0,29*	Hgb
0,07	0,23	0,62*	0,43**	0,12	1	0,98*	-0,15	-0,20	0,27*	0,31*	0,25*	0,25*	HCT
-0,06	0,09	-0,19	0,54**	1	0,12	0,20	0,35*	0,31*	0,45*	0,41*	0,35*	0,45*	MCV
-0,02	-0,00	0,42*	1	0,54**	0,43*	0,56*	0,27*	0,28*	0,41*	0,40*	0,35*	0,20*	MCHC
-0,02	-0,16	1	0,42**	-0,19	0,62*	0,64*	0,30*	0,20	0,31*	0,43*	0,35*	0,31*	RDW
0,33*	1	-0,16	-0,00	0,09	0,23	0,21	0,11	0,10	0,20	-0,07	0,05	0,09	SOD
1	0,33*	-0,02	-0,02	-0,06	0,07	0,06	0,00	-0,00	0,05	0,00	-0,02	0,11	NO

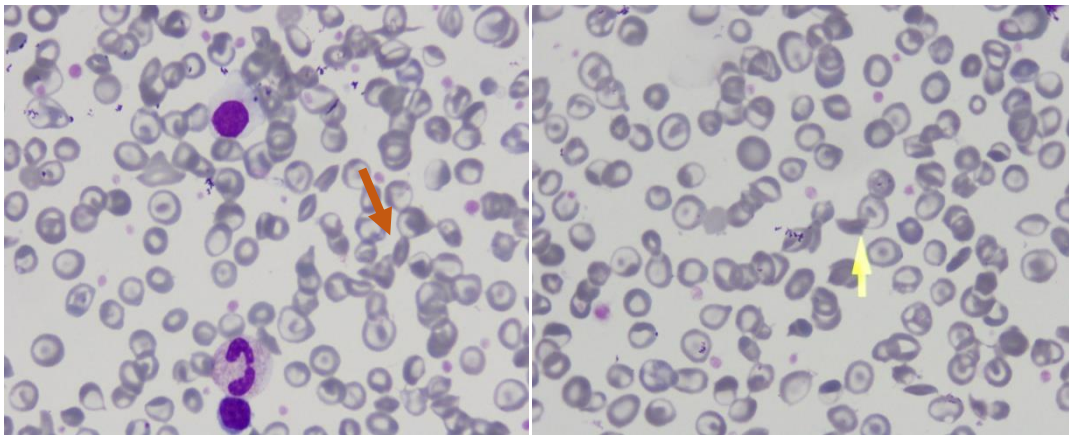
\*r=pearson korelasyon katsayısı

Çalışmamızda sürekli değişkenler arasındaki ilişki korelasyonla değerlendirilmiş ve Hemoliz %0,38 değerinin Hem %0,40, Hem%0,42, Hem %0,44, Hem %0,46 ve Hem %0,48 değerleri ile pozitif yönde yüksek korelasyon gösterdiği saptanmıştır (sırasıyla r korelasyon katsayısı 0,78, 0,76, 0,78, 0,67, 0,80,  $p<0,05$ ). Hemoliz %0,38, %0,40, %0,42, %0,44 değerlerinin Hgb, Hct, MCV, MCHC değerleri ile negatif yönde orta derecede (r korelasyon katsayısı -0,25-0,45 aralığında), RDW ile pozitif yönde orta derecede korelasyonları olduğu saptanmıştır (r korelasyon katsayısı -0,31-0,43 aralığında). Tüm hemoliz değerlerinin MCV ve MCHC ile negatif yönde korelasyonu vardır. Hgb değerinin HCT ve MCHC değerleri ile pozitif yönde, RDW ile negatif yönde korelasyonu vardır.

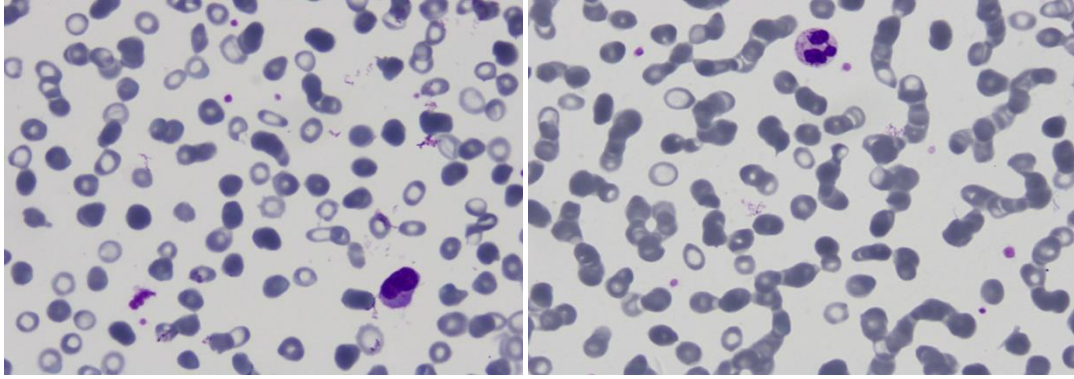
#### 4.5. ÇALIŞMA GRUPLARINDAN YAPILAN PERİFERİK YAYMA GÖRÜNTÜLERİ



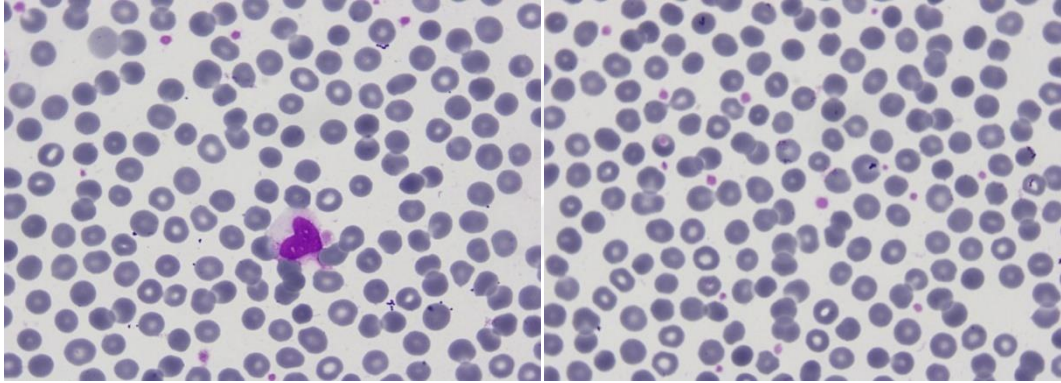
**Resim 1: B<sub>12</sub> Eksikiliği Olan Hastalarda Yapılan Periferik Yayma Görüntüleri**



**Resim 2: Talasemili Hastalarda Yapılan Periferik Yayımları Görüntüleri**



**Resim 3: Demir Eksikliği Olan Hastalarda Yapılan Periferik Yayma Görüntüleri**



**Resim 4: Kontrol Gubunda Yapılan Periferik Yayma Görüntüleri**

#### **4.6. İSTATİSTİKSEL ANALİZ**

Bu çalışmamızda veriler SPSS 15.0 bilgisayar istatistik paket programı aracılığıyla tanımlayıcı istatistikler (ortalama, ortanca, standart sapma, minimum ve maksimum değerler) gruplar arası karşılaştırmalar Mann Whitney U testi kullanılarak değerlendirilmiştir.

## 5. TARTIŞMA

Anemi; hemoglobin miktarının cinsiyet ve yaşa göre dünya sağlık örgütü tarafından kabul edilen kriterlerden düşük olmasıdır. Bu kriterler erişkin erkeklerde 13 g/dL, kadınlarda 12 g/dL'den düşük olanlarda kabul edilir (Altıparmak 2012). Tahminlere göre dünyada 1,5 milyar kişi anemiktir. Gelişmemiş ülkelerde %36 olan anemi görülme sıklığı gelişmiş ülkelerde %8'dir (Celkan ve ark. 2000).

Demir eksikliği anemisi, toplumumuzda her yaş gurubunda sıklıkla görülen bir sorundur. Demir eksikliği anemisinin dünyada en sık görülme sebepleri beslenme düzensizliği, kadınlarda jinekolojik kayıplar, postmenapozal kadın ve erkeklerde gastrointestinal sistemden kaynaklı kayıplar olup, dünya nüfusunun yaklaşık %34'üne etki etmektedir. Demir eksikliği tanısı serum demiri, serum total demir bağlama kapasitesi (TDBK), çinko protoporfirin (ZnPP) düzeyi, transferrin saturasyon yüzdesi (TS), serbest eritrosit protoporfirin düzeyi ve serum ferritin düzeyi gibi yöntemlerle konulabilmektedir (McMullin ve ark. 2005). DEA erken tanısında tek tüp osmotik frajilite testi de kullanılabilir. Tek tüp osmotik frajilite testi, hipokrom mikrositer eritrositlerin hipotonik solüsyonlara osmotik direncinin arttığını gösteren bir testtir. Tanyer ve ark. yaptıkları çalışmada tek tüp osmotik frajilite testi'nin demir eksikliği taramalarında kullanılabilecek güvenilir, ekonomik bir birinci basamak testi olduğunu düşünmüşlerdir (Tanyer ve ark. 1998). Bizim çalışmamızda ise; hemoliz %0,46 değerinde, sadece Talasemi grubunda, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek hemoliz saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

Güleç ve ark. yaptıkları bir çalışmada, hemogram parametreleri içerisinde RDW ve MCV değerlerinin demir eksikliğinde tanı için önemli olduğunu bildirmişlerdir (Güleç ve ark. 1998). Benzer şekilde, J L Mahu ve ark. da en hassas ve spesifik parametrenin RDW, en az hassas ve spesifik parametrenin de MCHC olduğunu bildirmişlerdir (Mahu ve ark. 1990). Bizim çalışmamızda kan sayımı sonuçlarımız değerlendirildiğinde; özellikle MCV değerinin Talasemi grubunda anlamlı olarak yüksek olduğu saptandı. MCHC değeri ise; hem Talasemi, hem de demir eksikliği anemisi gruplarında beklenildiği gibi, düşük bulunmuştur ( $p<0,05$ ).

Timur ve ark.'nın yaptığı bir çalışmada talasemi taşıyıcılığı ile demir eksikliği olan olguların ayırıcı tanısında RDW'nin duyarlılığı %96 olarak tespit edilmiştir (Timur ve ark. 1999). Bizim çalışmamızda da bunu destekler şekilde RDW değerleri özellikle kontrol grubuna göre tüm anemi gruplarında anlamlı derecede yüksek bulunmuştur; diğer kan parametrelerinden Hct ve Hgb değerleri ise kontrol grubuna göre, tahmin edileceği gibi, düşük saptanmıştır ( $p<0,05$ ).

Talasemiler hemoglobin molekülünü oluşturan globin zincirlerinden bir veya daha fazlasının kusurlu sentezlenmesi sonucunda normal hemoglobin sentezinin azaldığı veya tamamen durduğu heterojen otozomal resesif geçişli herediter hematolojik bir hastalıktır. Talasemili hastalarda; kronik anemiye bağlı doku hipoksisi, hemosiderozise bağlı endokrin bozukluklar (büyüme hormonu eksikliği, hipotiroidi, hipogonadizm), splenomegali, çinko ve folat eksikliği, yetersiz beslenme ve stres gibi faktörlerle ortaya çıkan büyüme geriliği tanımlanmıştır (Rachmilewitz ve Giardina 2011).

Osmotik Frajilite Testi, Talasemi türlerinin özelliklerinin belirlenmesinde yüksek duyarlılığa sahiptir ve basitliği ve çok düşük maliyetli olması nedeniyle, geniş bir popülasyonda bir tarama testi olarak düşünülebilir (Sirichotiyakul ve ark. 2004).

El-Beshlawy A. ve ark. yaptığı çalışmada Beta talasemi taşıyıcı hızını tahmin etmek ve doğru bir kitle tarama testi belirlemek için, Mısır'ın farklı coğrafi bölgelerinden rasgele seçilen 5-16 yaşlarında 1000 çocuğu test etmiştir. Osmotik kırılma testi 90 beta talasemi taşıyıcısının %81,1'inde pozitif çıkmıştır; belirsiz gruptaki (12 katılımcı) test %83,3 pozitif; demir eksikliği olan 310 hastada test % 3,9 ile pozitif saptanmıştır. Beta talasemi taşıyıcı oranı ise; > veya =% 9 olarak belirlenmiştir. Serum demir ve mikrositoz, HbA<sub>2</sub> düzeyi ve transferrin saturasyonu taşıyıcıları tespit etmek için doğru testlerdir. Aynı çalışmada tek tüp osmotik kırılma testi için duyarlılık %87,0; özgüllük %34,1 olarak saptanmıştır (El-Beshlawy ve ark. 2007). Bizim çalışmamızda Talasemi minör grubunda bunu destekler şekilde %0,46 'lık hemoliz değeri kontrole göre anlamlı olarak yüksek bulunmuştur ve tek tüp osmotik kırılma testi olarak kullanılabilirliğini gösterir niteliktedir ( $p<0,05$ ). Ancak hemoliz oranında direnç yerine hemolize duyarlılık da saptanmıştır. Bunun nedeni olarak, çalışma grubumuzun yeterince homojen



olmaması ve yine çalışma gruplarına aldığımız hastaların tedavilerinin başlanmış ve devam ediyor olması düşünülmektedir.

Hayatları boyunca çeşitli ekzojen ve endojen kaynaklı oksidanlara maruz kalan canlılar bunun sonucu olarak serbest radikaller üretirler (Halliwell 1994). Bu radikaller, kimyasal özelliklerinden dolayı oluştukları yerde çok hızlı ve kolay bir şekilde hücredeki makro moleküllerle reaksiyona girebilmektedirler. Bu reaksiyonlarla birlikte çeşitli hasarlar oluşabilmektedir.

Serbest radikallerin oluşturduğu oksidatif stres ve oksidatif hasar; kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok patofizyolojik sürecin erken evrelerinde önemlidir (Valko ve ark. 2005, Fibach ve Rachmilewitz 2008).

Oksidatif stresin hemolitik anemi, herediter sferositoz, hemoglobinopatiler (orak hücreli anemi ve talasemi) ve konjenital diseritropoetik anemi gibi hastalıklarda etkili olduğu bulunmuştur. Oksidatif stres bu hastalıkların birincil etiyolojisi değildir, ancak dolaşımdaki eritrositlerin yaşam sürelerini kısaltmasına ve kemik iliğindeki eritropoezin bozulmasına sebep olan oksidatif hasar, eritroid hücrelerdeki hemolizin oluşmasında kritik rol oynamaktadır. Yapılan bir çalışmada; demir eksikliği anemisi bulunan grupta tedavi öncesi total antioksidan kapasitenin kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı olarak düşük olduğu bulunmuştur. Yine demir eksikliği anemisinde oksidan – antioksidan dengesinin bozulduğu, oksidatif stresin ortaya çıktığı sonucuna varılmıştır. Demir eksikliği anemisi olan grupta; eritrositlerin yüksek antioksidan etkinliğinin (SOD, GSH-Px gibi) bu hastalarda yetersiz olmasınıniskelet kası, karaciğer, kalp ve kan hücrelerinde mitokondrial fonksiyon bozukluklarını yaratan süperoksit salınımına bağlanabileceği iddia edilmektedir.

Talasemi otozomal resesif geçiş gösteren heterozigot formda taşıyıcılığa, homozigot formda hastalığa neden olan bir kronik hemolitik anemidir. Globin zincirlerinin yapımındaki gerçekleşen anormallikler talasemi fenotiplerinde farklılıkların ortaya çıkmasına sebep olur. Talasemik eritrositlerin serbest radikallerle oluşan oksidatif hasarı, demir toksisitesi ve lipid peroksidasyonu ile belirlenmiştir.

SOD, substrat olarak serbest oksijen radikallerini kullanan ve süperoksiti hidrojen perokside ve moleküler oksijene dönüşümünü katalize eden bir enzimatik antioksidandır. Oluşan reaksiyon ‘oksidatif strese karşı ilk savunma’ olarak da adlandırılmaktadır. Aynı zamanda SOD, lipid peroksidasyonunu da inhibe

etmektedir. SOD<sub>2</sub> (MnSOD) enzimi, süperoksit anyonunun (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), hidrojen perokside (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ve oksijene dönüşümünü katalize ederler ve böylece bu radikallerin etkisini azaltırlar (Diplock 1998).

Meral ve arkadaşlarının beta talasemili hastalarda ve demir eksikliği tespit edilen çocuklarda yaptıkları çalışmada eritrosit antioksidan enzimlerinden SOD aktivitesini beta talasemi grubunda anlamlı yüksek bulmuştur (Meral ve ark. 2000).

Asma Kassab-Chekir ve arkadaşlarının beta talasemili çocuklarda yaptıkları çalışmada; eritrosit SOD ve GSH-Px (Glutasyon peroksidaz) enzim aktiviteleri de kontrol grubuna göre yüksek bulunmuştur (Kassab-Chekir ve ark. 2003). Chakraborty ve arkadaşlarının beta talasemili hastalarda yaptığı çalışmada eritrosit SOD, GSH-Px ve G6PD enzim aktivitelerinin talasemi taşıyıcılarına ve kontrol grubuna göre anlamlı artış gösterdiği saptanmıştır (Chakraborty ve ark. 2001).

Metabolik sürecin önemli parçası olan hücreler sürekli serbest radikal ve reaktif oksijen türlerini meydana getirirler. Bu reaktif oksijen türleri ve serbest radikaller kompleks bir antioksidan sistem tarafından nötr hale getirilir. Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri veya serbest radikaller ile antioksidan sistem arasındaki dengesizliktir. Bu dengesizlik önemli hücre kompartımanlarında dönüşümü olmayan hasara sebep olabilir. Gerli ve arkadaşları talasemi major ve minörlü hastalarda SOD, CAT (Katalaz) ve GSHPx enzim aktivitelerini incelemişlerdir. Yaptıkları çalışmada talasemi majorlü olgularda enzim aktivitelerini normal eritrosit değerlerinde bulurken, talasemi minörlü olgularda enzim aktivitelerini yüksek bulmuşlardır. Bu bulgularla, Talasemi minörlü hastalarda sürekli oksidatif strese maruz kalmanın antioksidan enzim düzeylerini arttırdığını, talasemi majorlü hastalarda ise düzenli transfüzyondan dolayı sirkülasyonda normal eritrositlerin bulunduğu, bu sebeple enzim aktivitelerinde artış gözlenmediği düşüncesini ortaya atmışlardır (Gerli ve ark. 1980).

Vives, Miguel-Garcia ve arkadaşlarının beta talasemi, demir eksikliği anemisi ve beta talasemi taşıyıcılarında yapmış olduğu çalışmada MDA (Malondialdehit) yapımında ve SOD, GSH-Px enzim aktivitelerinde beta talasemi grubunda diğer iki gruba göre artış olduğu belirlenmiştir (Vives ve ark. 1995). Beta talasemide beta globin zincir yapımındaki dengesizlik sebebiyle artan alfa globin zincirleri, eritrositlerin zar yapılarını bozarak ve eritrosit öncül hücrelerinin erken yıkımını hızlandırarak eritrositlere zarar verirler. Ünal çalışmasında beta talasemi, G6PD ve

demir eksikliği anemisi olan grupları karşılaştırmıştır. Sonuçta beta talasemi grubunun SOD enzim düzeyi kontrol grubuna göre farklı bulunmazken MDA düzeyi kontrol grubuna göre anlamlı yüksek bulmuştur (Ünal 1999). Corrons ve arkadaşları SOD aktivitesinin; talasemi grubunda demir eksikliği anemisi grubuna göre yüksek olduğunu belirtmişlerdir (Corrons ve ark. 1995).

Zaidi ve arkadaşları; zaman yada doza bağımlı olarak, demir uygulamalarında eritrosit membranı  $Ca^{+2}Mg^{+2}ATP$ 'az aktivitesinin baskılandığını, bunun sonucunda da hasarın arttığını bulmuşlardır (Zaidi ve ark. 1995). Galleno ve arkadaşları başka bir çalışmada 500 mg/kg demir dekstranın tek doz uygulanmasını takiben, 20 saat sonra karaciğer hemojenatlarında CAT, SOD ve GSH-Px seviyelerinin sırasıyla %25, %36 ve %32 oranlarında azalma gösterdiğini söylemektedirler (Galleno ve ark. 1994).

Bacon ve arkadaşları, akut demir uygulamasının lipid peroksidasyonunu arttırdığını bildirmişlerdir. Bununla beraber, düşük dozlarda (30 mg/kg) uyguladıkları demir dekstranın serbest radikal hasarını oluşturmadığını bulmuşlardır. Çalışmaların tamamını hayvanlarda yapılmıştır (Bacon ve Britton 1990). Bu konuyla ilgili hayvanlarda yapılmış çokça çalışma olmasına rağmen insanlarda ve de özellikle çocuklarda yapılmış az sayıda araştırma bulunmaktadır.

Tunç ve arkadaşları demir eksikliği anemisi olan 21 çocukta yaptıkları çalışmada hastalara oral iki değerli demir preparatı verip tedavi öncesinde ve sonrasında malondialdehid (MDA) düzeyi, süperoksid dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve katalaz aktivitelerini ölçmüş ve kontrol grubuyla karşılaştırmışlardır. DEA'li çocuklarda eritrosit lipid peroksidasyonun arttığını, bunun da anemi patogenezinde rol oynayabileceğini, uygun dozlarda kullanılan demir tedavisinin ilave bir oksidatif stres meydana getirmedeği sonucuna varmışlardır (Tunç ve ark. 2001). Bizlerde çalışmamızda 3 farklı anemi grubunun SOD analizlerini gerçekleştirmiş olup, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında SOD enzim reaktiviteleri arasında herhangi bir farklılık gözleyemedik. Bu durum, anemi gruplarına ilişkin kanların ilk tanı sırasında değil, daha sonrasında alınmaları ve belki de grupların tedavi almış olmaları ile ilişkili olabilir.

NO önemli immün fonksiyonları olan ve NOS tarafından L-arjininden üretilen bir serbest radikaldir. Arjinaz enzimi, ortak substrat olan L-arjinin için NOS ile yarışa girerek NO üretimini azaltabilir. NO oral kavitenin patojenik mikroorganizmalara karşı nonspesifik koruyucu faktörlerden biridir (Avcı ve ark. 2009). NO vücutta vazodilatasyon, yara iyileşmesinin düzenlenmesi, enfeksiyona spesifik olmayan immün yanıt, konak savunması ve sitotoksiste vb. pek çok kritik role sahiptir. Çalışmamızda; karşılaştırma yaptığımız gruplar arasında; özellikle Talasemi grubunda NO düzeyinin anlamlı olarak yüksek olduğu saptanmıştır. Bu da bize; bu hasta grubunda oksidatif hasarın devam ettiğini göstermektedir.

Erkurt MA ve ark. yaptığı çalışmada Megaloblastik anemide nitrik oksit seviyelerinin artış gösterdiğini vurgulamışlar ve yine çalışmalarında megaloblastik anemide nitrik oksit seviyelerindeki anormalliklerin vitamin B<sub>12</sub> replasman tedavisi ile düzeltilebileceğini iddia etmişlerdir (Erkurt ve ark. 2009).

Anemi sürecinde artan oksidatif stres, lipid peroksidasyonunun artmasına, GSH-Px'in de içinde bulunduğu enzimatik antioksidan sistemin zayıflamasına (Kumerova ve ark. 1998) ve eritrositlerin pro-oksidanlara duyarlılığının artmasına neden olur (Melhom ve ark. 1971).

Aneminin oksidatif strese neden olduğu genel olarak bilinmekte, ancak bunun aneminin şiddet ve tipi ile ilişkisi konusunda detaylı bilgi bulunmamaktadır. Çalışma sonuçlarının farklı şiddet ve tipteki anemilerde osmotik fragilite analizi kullanımı endikasyonunun ortaya konulması yönüyle önemli olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda kontrol grubu ile hasta grubu karşılaştırıldığında; hematolojik verilerde ve oksidatif stress belirleyicisi olarak reaktif nitrojen türlerinde (nitrit/nitrat olarak) anlamlı farklar gözlenmiş, ancak antioksidan sistem olarak SOD düzeyinde anlamlı fark gözlenmemiştir.

Sonuçta oksidatif stres araştırması için anemili olgularda yapılan çalışmaların tedavi almamış olgularda yapılmasının, özellikle ilk tanı konulmuş hasta grubunda yapılmasının hem osmotik fragilite sonuçları, hemde antioksidan sistem sonuçları açısından daha sağlıklı olabileceğini düşünmekteyiz.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- Çalışma sonuçlarının, farklı şiddet ve tipteki anemilerde osmotik frajilite analizi kullanımını endikasyonunun ortaya konulması yönüyle önemli olduğu düşünülmektedir.
- Oksidatif stresin bir anemi nedeni olduğu genel olarak bilinmekte, ancak bunun aneminin şiddet ve tipi ile ilişkisi konusunda detaylı bilgi bulunmamaktadır. Bu nedenle çalışmamız sonuçlarının değerli olduğu görülmektedir.
- Ayrıca oksidatif stres araştırması için anemili olgularda yapılan çalışmaların tedavi almamış olgularda yapılmasının, özellikle ilk tanı konulmuş hasta grubunda yapılmasının hem osmotik frajilite sonuçları, hemde antioksidan sistem sonuçları açısından daha sağlıklı olabileceğini düşünmekteyiz.

## 7. KAYNAKLAR

Adamson JW, Logo DL. Çev. Kılınc Y. Anemiler ve polistemiler. In Brunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, editors. Harrison iç hastalıkları prensipleri, çev. ed. Sağlıkler Y. 15.B. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri 2004; 1: 348-53.

Adamson J.W, Kasper D.L, Fauci A.S, Longo D.L, Braunwald E, Hauser S.L, Jameson J.L.: Iron Deficiency And Other Hypoproliferative Anemias Harrison's Principles of Internal Medicine, 16th Edition, McGraw-Hill Medical Publishing Division. 2005; 586-592.

Adewole SO, Caxton-Martins EA, Ojewole JAO, Projective effect of quercetin on the morphology of pancreatic  $\beta$ -cells of streptozotocin-treated diabetic rats. Afr. J Trad. CAM 2007; 4(1):64-74.

Altıparmak MR, Hamuryudan V, Sonsuz A. Cerrahpaşa İç Hastalıkları. 2. Baskı. İstanbul Tıp Kitabevi 2012, p;187-320.

Allen RH, Stabler SB, Savage DG, Lindenbaum J. Metabolic abnormalities in cobalamin (vitamin-B12) and folate deficiency. FASEB J, 1993. 7:1344-53.

Allen LH, King J. Vitamin B12 metabolism and status during pregnancy, lactation and infancy. İn: Nutrient Regulation during Pregnancy, Lactation and Infant Growth. Vol. plenum Press. 1994, New York. 173-186.

Akarsu S, Kilic M, Yilmaz E, Aydin M, Taskin E, Aygun AD. Frequency of hypoferritinemia, iron deficiency and iron deficiency anemia in outpatients. Acta Haematol 2006; 116: 46-50.

Akkuş, İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya; Mimoza Yayınları 1995; 1: 3-95.

Akman N. Erişkinde anemilere genel yaklaşım. İ.Ü Cerrahpaşa Tıp fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri Anemiler Sempozyomu ; 19-20 Nisan; Türkiye; 2001 .s.9-16.

Akpoyraz M., Durak İ. Serbest radikallerin biyolojik etkileri. Ankara Tıp Mecmuası (The Journal of The Faculty Of Medicine) 1995, Vol. 48: 253-62.

Aksoy M. The history of beta-thalassemia in Turkey. Turk J Pediatr 1991; 33: 195-7.

Ali R. Anemik hastaya yaklaşım ve anemilerin sınıflandırılması . In Dolar E.İç hastalıkları .1.B.İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri 2005;s.549- 53.

Altan N, Dinçel AS, Koca C, Diabetes mellitus ve oksidatif stres. Türk Biyokimya Dergisi 2006, 31 (2), 51-56.

Andrews NC, Nathan DG, Orkin SH, Ginsburg D, Look AT. Disorders of iron metabolism and sideroblastik anemia Nathan and Oski"s Hematology of Infancy and Childhood. 6 ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co; 2003; 6: 456-497.

Ankara Üniversitesi Pediatrik Moleküler Patoloji ve Genetik. Thalassemia Sendromları. 2003.

Arcasoy A. Türkiye'de Thalassemia taşıyıcılığı. Ankara Thalassemia Derneği, 1991.

Armstrong DA,Methods in molecular biology, Toronto: Humana Press, 1998; s.78-82.

Aron A.Does plasma transferrin regulate iron absorbtion? Scandinavien Journal of Haematology 1985; 35: 451-454.

Aslan D, Gümrük F, Gürgey A, Altay C. Importance of RDW value in differential diagnosis of hypochrome anemias. Am J Hematol 2002; 69: 31-33.

Atamer T.Anemik hastaya yaklaşım.Türkiye Klinikleri Hematoloji Dergisi 2004; 2(2): 89-95.

Atamer T. , Dinçol G, Pekcelen Y, Sargın D, Nalçacı M, Aktan M, Beşışık SK. Anemilerin sınıflandırılması ve anemik hastaya yaklaşım. İstanbul Tıp Fakültesi Temel ve Klinik Bilimler Ders Kitapları Klinik Hematoloji .1.B. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri 2003 ; s.33-45.

Avcı A, Tüzüner- Öncül M, Gökcan MK, Namuslu M, Öztürk A, Durak İ. Nitric oxide metabolism in cancerous and non-cancerous oral gingivomucosal tissue: Possible implications of nitric oxide in cancer process. J Oral Pathol Med 2009; 38: 304-6.

Bacon Br, Britton SR. The pathology of hepatic iron overload: A free radical. Mediated process. Hepatology 1990; 11(1):127-34.

Baker SJ, Mathan VI. Evidence regarding the minimal daily requirement of dietary vitamin B12. Am J Clin Nutr 1981; 34: 23-4.

Başak N. Beta Talasemide moleküler tanı ve yöntemleri. In: Talasemi ve Hemoglobinopatiler Tanı ve Tedavi (Canatan D Aydınok Y). Antalya: Talasemi Federasyonu. 2007; 49-60.

Baynes RD. Refining the assessment of body iron status. Am J Clin Nutr 1996; 64: 793-794.

Beard JL, Dawson H, Pinero DJ. Iron metabolism: a comprehensive review. Nutr Rev 1996; 54:295-317.

Beutler E, Lichtman MA, Coller BS. Iron deficiency. In: Fairbanks VF and Beutler E (eds). Williams Hematology. 6th ed. New York, NY: McGraw Hill.2001 p: 447-70.

Cappellini N, Cohen A, Eleftheriou A, Piga A, Porter J (Eds). Guidelines for the Clinical Management of Thalassaemia. Thalassaemia International Federation 2000.

Celkan T., Apak H., Özkan A., et al. Demir eksikliği anemisinde önlem ve tedavi. Türk Pediatri Arşivi 2000; 35: 226-31.

Chakraborty d, Bhattacharyya M. Antioxidant defense status of red blood cells of patients with  $\beta$ -thalassemia and  $E\beta$ -thalassemia. Clinica Chimica Acta 2001; 305:(123-129)

Cheesman, K.H.; Slater, T.F, An introduction to free radical biochemistry. British Medical Bulltin 1993 ; 49(3): 481-493.

Conner, E. M., and Grisham, M. B. Inflammation, free radicals, and antioxidants. Nutrition 1996; 12, 274-277.

Conrad ME, Umbreit JN. Patways of iron absorption. Blood Cells Mol Dis 2002; 29: 336-355.

Conrad, ME, Umbreit, JN. A concise review: Iron absorption the mucin-mobilferrinintegrin pathway. A competitive pathway for metal absorption. Am J Hematol 1993; 42:67.

Cook JD, Skikne BS. Iron deficiency: definition and diagnosis. Journal of Internal Medicine 2000; 226: 349-355.

Corrons V.J.L,Garcia M.A,Pujades M.A. Increased susceptibility of microcytic red blood cells to in vitro oxidative stres. Eur J Haematol 1995;55:327-331.

Cortas NK, Wakid NW. Determination of inorganicnitrate in serum andurineby a kinetic cadmium reduction method. ClinChem 1990; 36: 1440-3.

Coşkun T. B12 vitamini. Katkı Pediatri Dergisi, 2003. 25: 419-433.



Cros CE, Halliwell B, Borish ET. Oxygen radicals and human disease. *J Annals int med.* 1987; 107: 526 – 45.

Dallman PR. Diagnosis of anemia and iron deficiency: analytic and biologic variation of laboratory test. *Am J Clin Nutr* 2004; 39: 937.

Dallman PR, Yip R, Oski A. Iron deficiency and related nutritional anemias. dn:Nathan DG, Oski FA, eds. *Hematology of Infancy and Childhood*, 5th ed. Philadelphia:WB Saunders 1998; p: 430-76

Dallman PR, Yip R.Changing characteristics of childhood anemia. *J Pediatr* 1989; 114: 161-4.

Diel Maestro R,An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol. Scand* 1980; 492, 153.

Diñol G, Pekçelen Y, Atamer T, Sargın D, Nalçacı M, Aktan M, Beşışık S: Hemolitik Anemiler. Edited by: Nobel Tıp Kitabevleri Klinik Hematoloji: Türkiye: İstanbul Üniversitesi 2003, 87-152,

Diplock AT., Healty lifestyles nutrition and physical activity: Antioxidant nutrients. ILSI Europe concise monograph series, Belgium 1998; p 59.

Diplock AT, Gutteridge JMC, Shukie VKS, Antioxidant, free radical and polyunsaturated fatty acids in biology and medicine. Richeliven Press, London 1993, p 437.

Donovan A, Andrews N.C. The molecular regulation of iron metabolism, *Hematol. J* 2004; 5: 373-380.

Donovan A, Brownlie A, Dorschner MO. The zebrafish mutant gene chardonay encodes divalent metal transporter 1. *Blood* 2003; 100: 4655-4659.

Duffy TP. In Goldman L, Ausiello D,editors. ‘Mikrositik ve hipokromik anemiler’ Cecil textbook of medicine, çev. ed. Ünal S. İstanbul: Güneş Kitabevi: 2006; 1(22): 1003-8.

Eisenstaedt R, Penninx BW, Woodman RC.Anemia in the elderly: current understanding and emerging concepts. *Blood Rev Jul* 2006; 20 (4): 213–26.

Eisenstein R.S, Ross K.L. Novel roles for iron regulatory proteins in the adaptive response to iron deficiency, *J Nutr* 2003; 133: 1510-1516.

El-Beshlawy A, Kaddah N, Moustafa A, Mouktar G, Youssry I. *East Mediterr Health J.*Jul-Aug 2007;13(4):780-6.

Elliot JG, Application of antioxidant vitamins in foods and beverages. *Food Tech* 1999, 53(2): 4648.

Elghetany M.T., Dawey F.R., Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 19. ed, J.B. Henry 1996, p. 634.

Emerson RG, Pedley TA. Elektroencephalography and Evoked Potentials. In: Bradley WG, Daroff RB, Fenichel GM, Marsden CD. *Neurology in Clinical Practice*. 2000, Butterworth-Heinemann: Boston-Oxford. 473-496.

Erkurt MA, Aydoğdu İ, Bayraktar N, Kuku İ, Kuku İ, Kaya E, Turk J Haematol. Dec 5, 2009; 26(4):197-200.

Fibach E. , Rachmilewitz E. *Curr Mol Med*. Nov 2008;8(7):609-19.

Galleno M, Puntarulo S. Effect of mild iron overload on liver and kidney lipid peroxidation. *Brazilian J Med Biol Res* 1994; 27:2349-58.

Galanello R, Origa R. Beta-thalassemia: Orphanet J Rare Dis. *Journal of Continuing Education Topics & Issues* 2010; 21: 5-11.

Garby L, Sjölin S. Studies on erythrokinetics in infancy IV. The longterm behavior of radioiron in circulating foetal and adult hemoglobin and its faecal excretion. *Acta Pediatr Scand* 2001; 53: 33-42.

Gerli GC, Beretta L, Bianchi M, Pellegatta A, Agostoni A. Erythrocyte superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in beta-thalassaemia (major and minor). *Scand J Haematol* 1980; 25(1):87-92.

Glader B. Anemias of Inadequate Production, Section 2, Chapter 446 In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB (eds) *Nelson Textbook of Pediatrics* (17th edition). Philadelphia: Saunders, 2004; 1612-3.

Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *J Clinical Chemistry*. 1995; 41(12): 1819-1828.

Gutteridge JMC, Halliwell B, Transition metal ions and antioxidant proteins in extracellular fluids In: G Schott Editor. *Atmospheric Oxidation and Antioxidants*, Amsterdam 1993, 71-95.

Gülez P, Kayserili E, Tosun A, Eryılmaz N. Demir Eksikliği Anemisinde Eritrosit Parametrelerinin Karşılaştırılması. *Klinik Bilimler&Doktor* 1998;4(6):875-77.

Gümrük F, Altay Ç. Demir Metabolizması ve Demir Eksikliği Anemisi. *Katkı Pediatri Dergisi*; 1995; 3: 265-272.

Güneş AM, Talasemi majorlu olgularda klinik bulgular. *Turkiye Klinikleri J Pediatr Sci* 2007;3(10):24-28.

Hallberg, L, Rossander, L, Skanberg, AB. Phytates and the inhibitory effect of bran on iron absorption in man. *Am J Clin Nutr* 1987; 45:988.

Halliwell B, Free radicals, reactive oxygen species and human disease. *Br J Exp Path* 1989; 70, 737.

Halliwell B, Free radicals and other reactive species in disease. *Encyclopedia of Life Sciences* 2001, 1-7.

Halliwell B, Drug antioxidant effects. *Drugs* 1991; 42(4): 569 - 605.

Halliwell B, Gutteridge JMC, *Free radicals in biology and medicine* Oxford, Oxford University 1999, p 84.

Harman D. Free radicals in aging. *Mole Cell Biochem.* 1988; 84:155-161.

Higgs DR, Swee LT, Wood WG. The biology of thalassemias. In: Weatherhall DJ, Clegg JB eds. *The thalassemia syndromes.* 4th ed. Blackwell Science; 2001. p.192-236.

Hoffbrand AV, Pettit JE: *Genetic Defects of Haemoglobin.* Edited By: Oxford Blackwell Scientific Publications: *Essential Heamaetology.* London: 94-120,1985.

Huebers HA, Finch CA. The physiology of transferring and transferring receptors. *Physiol Rev* 1997; 67: 520-582.

İnce H.H, Ayyıldız O, Kalkanlı S, Batun S, Müftüoğlu E: Molecular basis of betathalassemia mutations in Diyarbakır in the southeastern region of Turkey. *Hemoglobin* 27,(4), 275-278, 2003.

Karakaş Z. Aġaoġlu L. Kan Hastalıkları In: Neyzi O, Ertuġrul T. *Pediatrici Cilt 2.2B.* İzmir: Nobel Tıp Kitabevleri 2010; 1297-1310.

Kassab-Chekir A, Laradi S, Ferchichi S, Khelil A.H, Feki M, Amri F, Semli H, Bejaoui M, Miled A. Oxidant, antioxidant status and metabolic data in patients with beta-thalassemia. *Clinica Chimica Acta*, 2003 ; 338:(79-86)

Kaur C, Kapoor HC, Antioxidants in fruits and vegetables-the millennium's health. *Int. J. Food Sci. Tech* 2001, 36; 703-25.

Kern WF. , Çeviri: Ferhanoġlu B, Hematopoez ve Kemik İliġi. In: *PDQ Hematoloji*, 1. baskı, 17-25, İstanbul Medikal Yayıncılık, İstanbul, 2005.

Kılınç K, Kılınç A., Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri; *Hacettepe Tıp Dergisi* 2002; 33(2): 110-118.

Kleczkowski M, Klucinski W, Sikora J, Zdanowicz M, Dizekan P, Role of the antioxidants in protection against oxidative stress in cattle, nonenzymatic mechanism (part 2). Polish Journ Vet Sci 2003, 6 (4): 301-8.

Koligo Y, Nishisato T, et al. Circulating transferrin receptor in human serum. Br J Haematol. 1996; 64: 2227.

Kumerova A., Lece A., Skesters A., Silova A., Petuhovs V., Anemia and antioxidant defence of the red blood cells. Mater med 1998; vol 30,12-15

Lanskowsky P. Hemolytic anemia. In: Manual of Pediatric Hematology and Oncology 3th. California, USA, Academic Press 2000, p.p 137-99.

Lanzkowsky P. Manual of pediatric hematology and oncology. ( 3th ed ), Academic Press; New York, 1999:51-72.

Lanzkowsky P. Classification and diagnosis of anemia during childhood. In: Lanzkowsky P (ed). Manual of Pediatric Hematology and Oncology. 4th ed. San Diego: CA, Academic Press 2005; p: 1-11.

Lanzkowsky P, Manuel of Pediatric Hematology and Onkology 4. Edition 2005

Lee GR, Foerster J, Lukens J, et al. Pernicious anemia and other causes of vitamin B12 (cobalamin) deficiency. 10th edition ed. Vol. Wintrobe's clinical Hematology. 1999. 941-964.

Lukens JN. The thalassemias and related disorders: quantitative disorders of hemoglobin synthesis. In: Lee GJ, Foerster J, Lukens J, Paraskevas F, Greer JP, Rodgers GM, eds. Wintrobe's Clinical Hematology. Baltimore: Williams Wilkins, 1999: 1405-1448.

Lum JB, Infante AJ et al. Transferrin synthesis by inducer. J Clin invest 1986; 3: 41-49.

Mahu JL, Leclercq C, Suquet JP., Usefulness of red cell distribution width in association with biological parameters in an epidemiological survey of iron deficiency in children. Int J Epidemiol 1990;19(3):646-54.

Mcintyre M, Bohr DF, Dominiczak AF, Endothelial function in hypertension: The role of superoxide anion, Hypertension 1999, 34:539-45.

McMullin BB, Chittock DR, Roscoe DL, Garcha H, Wang L, Miller CC. The antimicrobial effect of nitric oxide on the bacteria that cause nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients in the intensive care unit. Respir Care 2005; 50: 1451-6.

Meister A. Glutathione Ascorbate and cell cycle regulation FEBBS letters 1994; p: 1-4.

Melhorn DK, Gross S, Newman AJ, Filer LJ Jr, Fisher SE, Allen AC, Friedman GD. Iron-fortified formulas. Pediatrics. 1971 Dec; 48(6):999-1003

Memişoğulları R, Diyabette serbest radikallerin rolü ve antioksidanların etkisi. Düzce Tıp Fakültesi Dergisi 2005; 3, 30-39.

Menderes D. Talasemi Taşıyıcısı Çocuklarda Periferik Kandaki Lenfositlerde Comet Yöntemiyle Genotoksitenin Araştırılması, Uzmanlık Tezi, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi, Ankara 2016, 6-13.

Meral A, Tuncel P, Sürmen-Gür E, Özbek R, Öztürk E, Günay Ü. Lipid Peroxidation and Antioxidant Status in  $\beta$ -Thalassemia. Pediatric Hematology and Oncology 2000;17: 687-693.

McIntyre M, Bohr DF, Dominiczak AF, Endothelial function in hypertension: The role of superoxide anion, Hypertension 1999, 34:539-45.

McMullin BB, Chittock DR, Roscoe DL, Garcha H, Wang L, Miller CC. The antimicrobial effect of nitric oxide on the bacteria that cause nosocomial pneumonia in mechanically ventilated patients in the intensive care unit. Respir Care 2005; 50: 1451-6.

Milman N, Bergholt T, Byg KE, Eriksen L, Graudal N. Iron status and iron balance during pregnancy. A critical reappraisal of iron supplementation. Acta Obstet Gynecol Scand. 1999 Oct;78(9):749-57.

Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: Physiology, pathophysiology, and pharmacology. J Pharmacol Review. 1991; 43: 109-37.

Monsen ALB, Refsum H, Markestad T, Ueland PM, Homocysteine and methylmalonic acid in diagnosis and risk assessment from infancy to adolescence. Am J Clin Nutr, 2003. 78:7-21.

MMWR Morb Mortal Wkly Rep 2002; 51: 897-9.

Nathan DG, Orkin SH, Ginsburg D, Look AT. Nathan and Orkin's hematology of infancy and childhood. 6th ed. Philadelphia: WB Saunders Comp, 2003: 385-415.

Nelson Textbook of Pediatrics. Philadelphia: WB Saunders, 2004:1623-1634.

Niki E, Lipid peroxidation and its inhibition In: Scott G Editor, Atmospheric Oxidation and Antioxidants, Amsterdam 1993; p. 1-26.

Nordberg, J., and Arner, E. S. J. , Reactive oxygen species, antioxidants and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology & Medicine* 2001, 31(11), 1287–1312.

Oski FA, Brugnara C, Nathan DG. A diagnostic approach to the anemic patient. In: Nathan G, Orkin SH, eds. *Hematology of infancy and Childhood*, 5th ed. Philadelphia: WB Saunders 1998; p: 375-84.

Ou B, Huang D, Hampsch-Woodill M, Flanagan, JA, Deemer EK, Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: A comparative study. *J. Agric. Food Chem* 2002; 50(11); 3122-28.

Öz N, Kurtoğlu F, 2002. Serbest radikaller ile antioksidan sistemler ve hastalıklarla ilişkileri. *J. of Konya Vet. Cont and Res Inst.*,13:1 21-31.

Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, et al. A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is over expressed during iron overload. *J Biol Chem* 2001; 276: 7811-7819.

Powell SR, 2000. The antioxidant properties of Zinc, *Journal of Nutrition*, 2000; 130: 1447-54.

Quirolo K, Vichinsky E. Hemoglobin Disorders. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, eds. *Nelson Textbook of Pediatrics*. Philadelphia: WB Saunders, 2004:1623-1634.

Reiter, R.J. Oxidative process and antioxidative defence mechanism in the aging brain. *The FASEB Journal*. May 1995; 9:526-533.

Rodriguez, C., Mayo, J. C. Sainz, R. M., Antolin, I., Herrera, F., Martin, V., and Reiter, R. J. Regulation of antioxidant enzymes: A significant role for melatonin. *Journal of Pineal Research* 2004; 36, 1–9.

Sandberg DP, Begely J, Hall CA, The content, binding, and forms of vitamin B12 in milk. *Am J Clin Nutr*, 1981. 34: 1717.

Sayınalp N. Anemilere genel yaklaşım içinde: İliçin G, Biberöglü K, Süleymanlar G, Ünal S. *Temel iç hastalıkları, Güneş tıp kitabevi* 3. Baskı Ankara 2012:1592-3.

Sherwood RA, Pippard MJ, Peters TJ. Iron Homeostasis and the assessment of the iron status. *Ann Clin Biochem* 1998; 35: 693-708.

Simmons A. Hematology. A Combined Theoretical and Technical Approach, ed. Ed. Vol. 1997;19, p. 283-286.

Sivilotti M. L. A.Oxidant Stress and Haemolysis of the Human Erythrocyte.Toxicol Rev 2004, 23(3): p. 169-188.

Somogy M. A method for the preparation of blood filtrates for the determination of sugar. J BiolChem1930; 86: 55.

Sonja AR, Paul MF, Kelley SS, Vitamin B<sub>12</sub> deficiency in children and adolescents. J pediatri, 2001. 138: 10-17.

Southorn P, Powis G. Free radical in medecine I. Chemical nature and bidological reactions. J Mayo Clin Proc. 1988; 63: 381 – 8.

Soysal T., Yazıcı H, Hamuryudan V, Sonsuz A. Anemilerin sınıflaması. Cerrahpaşa iç hastalıkları.1.B.İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık 2005;.s.142-44.

Stollhoff K and Schulte FJ, Vitamin B<sub>12</sub> and brain development. Eur J Pediatr, 1987. 146: 201-5.

Şener, G., and Yeğen, B. Ç. İskemi ve reperfüzyon hasarı. [http://www.klinikgelisim.org.tr/eskisayi/kg22\\_3/2.pdf](http://www.klinikgelisim.org.tr/eskisayi/kg22_3/2.pdf) Son Erişim Tarihi: 16 Nisan 2014“te alınmıştır.

Tabakoğlu E, Turgut R, Veteriner hekimlikte oksidatif stres ve bazı önemli hastalıklarda oksidatif stresin etkileri. AVKAE Dergisi 2013; 3(1), 69-75.

Tadmouri GO, Basak AN. Beta-thalassemia in Turkey: a review of the clinical epidemiological, molecular, and evolutionary aspects. Hemoglobin 2001;25:227-39.

Tanyer G, Şıklar Z, Yıldırım Y, Dallar Y, Arıkan İ, Tıraş Ü ve ark. Demir eksikliği anemisi taramasında tek tüp ozmotik frajilite testinin değeri. Türkiye Klinikleri Pediatri Dergisi 1998;7(2):64-67.

Telen M.J., R.E.Kaufman,Wintrobe's Clinical Hematology. 10 ed, ed. J.Foerster, Richard Lee, J. Luekens, F. Paraskevas, J. P. Greer, G. M. Rodgers. Vol. 10. , Baltimore: Williams and Wilkins 1999, p.193-205.

Timur Ç, Ulukutlu L, Yüksel L, Ergeneman G, Yıldız İ. Demir eksikliği ile beta talasemi taşıyıcılarının ayırıcı tanısında RDW'nin değeri. Türk Pediatri Arşivi 1999;34 (1):39-42.

Tunç B, Özen H, Delibaş N, Sütçü R. Demir eksikliği anemili çocuklarda oral demir tedavisinin lipid peroksidasyonuna ve antioksidan enzim aktivitelerine etkisi. Türk Hematoloji Onkoloji Dergisi 2001; 11(4):217-22.

Tunalı A. Anemiler . In Molvalılar Ş. İç Hastalıkları semiyoloji . 2.B.İstanbul :Alfa Kitapevleri 1997;.s.668-76.

Tunalı A. Kan Hastalıkları. İç Hastalıkları, Bursa: Güneş Kitabevi 1990;7:699–716.

Ülkü B. Demir Eksikliği Anemisi: Klinik Hematolojinin ABC’si. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitim Etkinlikleri. Anemiler sempozyumu, İstanbul, 19 - 20 Nisan 2001; 23 - 32.

Ünal B. B Talasemi ve G6PD Enzim Eksikliğinde MDA Düzeyi. Uzmanlık Tezi, Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı 1999, Adana.

Vallance H, Ford J: Carrier testing for autosomal-recessive disorders. Critical Reviews in Clinical Laboratory Science 40, (4), 473, 2003.

Valko M, Rhodes Cj, Moncol J, Izakovic M, Manzur M, Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. Chemico-Biological Interactions 2006; 160, 1-40.

Vincent AM, Russell JW, Low P, Feldman EL, Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy, Endocrine Reviews 2004, 25:612-28.

Virgil F, Ernest B, Barrys C, Marshalla L, Thomas J. Iron metabolism. Williams Hematology sixty edition. McGraw-Hill Medical publication division, Newyork. 2001; 24: 295-302.

Vives Corrons JL, Miguel-Garcia A, Pujades MA, Miguel-Sosa A, Cambiazzo S, Linares M, Dibarrart MT, Calvo MA. Increased susceptibility of microcytic red blood cells to in vitro oxidative stress. Eur J Haematol 1995; 55(5):327-31.

Walters GO, Miller FM, Worwood M. Serum ferritin concentration and iron stores in normal subject . J Clin Pathol 1973; 26:770-2.

Walters MC, Abelson HT. Interpretation of the complete blood count. Pediatric Clinics of North America 1996; 43: 599-622.

Weatherall DJ: Disorders of Globin Synthesis: The Thalassemias. Edited by: Litchman MA, Beutler E, Kipps TJ, Seligsohn U, Kaushansky K, Prchal JT: Williams Hematoloji. U.S.A: McGraw-Hill, 633-641, 2006.

Weatherall DJ. Fortnightly Review: The Thalassemias. BMJ 1997; 314:1675.

Weatherall DJ. The Thalassemias, In: William’s Hematology ed: (E Beutler, B Coller, MA Linchtman, TJ Kipps, U Seligsohn) 6th ed, Mc Graw Hill, Medical Publishing Division, Newyork, St Louis 2001, pp. 547-80.



Weatherall DJ. The definition and epidemiology of non-transfusion-dependent thalassemia. *Blood Rev* 2012; 26 Suppl 1: S3-6.

Weatherall DJ. The thalassemias. In: Stamatoyannopoulos G, Nienhuis AW, Majerus PW, et al, eds. *Molecular basis of blood diseases*, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1994:157.

Weatherall DJ. The thalassemias. In Ernest B, Erslev AJ, Lichtman MA, Williams WJ. *Hematology*, 6th ed. Newyork: McGraw-Hill Book Company :2000,547-580.

Williams W.J., Beutler E., Erslev A.J., Lichtman M.A., Beutler E., Hematology. 4. Ed. 1991; p. 1726-1727.

Yanik M, Vural H, Tutkun H, Zoroglu SS, Savas HA, Herken H, Kocyigit A, Keles H, Akyol O. The role of the arginine nitric oxide pathway in the pathogenesis of bipolar affective disorder. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci* 2004; 254: 43–47.

Yanik M, Vural H, Kocyigit A, Tutkun H, Zoroglu SS, Herken H, Savas HA, Koylu A, Akyol O. Is the arginine-nitric oxide pathway involved in the pathogenesis of schizophrenia? *Neuropsychobiology* 2003; 47: 61–5.

Yıldız İ. Demir eksikliği anemisi. 39. Türk Pediatri Kongresi Konuşma Metinleri ve Bildiri Özetleri 2003: 357-364.

Young LS, Woodside JV, Antioxidants in health and disease, *J Clin Pathol* 2001, 54: 176-86.

Zaidi A, Marden MC, Poyart C, Leclerc L. Protection by Lazoroids of erythrocyte (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>)-ATPase against iron induced inhibition. *Eur J Pharmacol* 1995; 290(2):133-9.

Zuckerman KS. Anemilere yaklaşım. In Goldman L, Ausiello D, editors. *Cecil textbook of medicine*, çev. ed. Ünal S. 22.B İstanbul: Güneş kitabevleri 2006; 1: 963-71.



## 8. EKLER

### 8.1. BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

T.C.  
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI  
YEREL ETİK KURUL  
BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

**CALIŞMANIN ADI** (Araştırma başvuru formunda bölüm A.2’de yer alan araştırma adı kullanılmaktadır.) :

**UZUN SÜRE DEVAM EDEN BAZI KAN HASTALIKLARINDA GÖRÜLEN KIRMIZI KAN HÜCRELERİ KIRILGANLIĞI DEĞİŞİKLİKLERİ**

*Bir araştırma çalışmasına katılmanız istenmektedir. Çalışmaya katılıp katılmama kararı tamamen size aittir. Katılmak isteyip istemediğinize karar vermeden önce araştırmanın neden yapıldığını bilgilerinizin nasıl kullanılacağını çalışmanın neleri içerdiğini ve olası yararlarını risklerini ve rahatsızlık verebilecek konuları anlamanız önemlidir. Lütfen aşağıdaki bilgileri dikkatlice okumak için zaman ayırınız ve eğer istiyorsanız özel veya aile doktorunuzla konuyu değerlendiriniz. Eğer çalışmaya katılmaya karar verirsiniz imzalamanız için size bu Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur Formu verilecektir. Çalışmadan herhangi bir zamanda ayrılmakta özgürsünüz. Eğer isterseniz, bu çalışmaya katılmamızla ilgili olarak hekiminiz / aile doktorunuz bilgilendirilecektir. Çalışma amacıyla yapılan normal muayeneniz sırasında istenilen tetkikleriniz dışındaki tüm laboratuvar testleri çalışma destekleyicisi tarafından karşılanacak; size veya bağlı bulunduğunuz özel sigorta veya resmi sosyal güvenlik kurumuna ödetilmeyecektir.*

#### **CALIŞMANIN KONUSU VE AMACI :**

Kırmızı kan hücreleri kırılğanlığı; bu hücrelerin parçalanmadan su alma kapasitesini değerlendirmek amacıyla uygulanan bir test olup; kronik kan hastalıklarının, bu test üzerine olan etkilerinin araştırılması çalışmamızın konusunu oluşturmaktadır.

Çalışmada kronik kan hastalıklarının; insan eritrositlerin osmotik fragilitesi üzerine etkisini incelemeyi, bu sürece etkili olabileceğini düşündüğümüz oksidan/antioksidan sistem ürünleri ile, bu hastalıkların insan eritrositlerinde zar stabilize edici etkisini araştırmayı amaçladık.

## **ÇALIŞMA İŞLEMLERİ:**

Celal Bayar Üniversitesi Dahiliye Hematoloji polikliniğine başvurunuz ve muayenenizden sonra size Bilgilendirilmiş Gönüllü Olur verilecek, bu formu okumanız ve imzalamanız istenecektir. Bu formun okunup, imzalanmış olması ile sizin bu çalışmaya kendi rızanız ile katıldığınız belgelenmiş olacaktır. Ardından bu çalışma için, laboratuvar ortamında kan verme işleminiz sırasında damarınıza tatbik edilen aynı enjektör ile 3 ml (1,5 çay kaşığı) kadar fazladan kan alınacaktır.

Bu çalışmaya katılmanızın olası yan etkileri, riskleri ve rahatsızlıkları bulunmamaktadır.

## **ÇALIŞMAYA KATILMAMIN OLASI YARARLARI NELERDİR?**

Kırmızı kan hücreleri kırılabilirliği çeşitli kan hastalıklarında artmakta ya da azalmaktadır: Kırmızı kan hücreleri kırılabilirliği ile kan hastalıkları arasında bir ilişki saptanması durumunda; kırılabilirliği etkileyen bu parametreler üzerinden takibinizin ve tedavinizin daha başarılı ve ümit verici olması, çalışmamızın olası yararları arasında yer almaktadır.

**KİŞİSEL BİLGİLERİM NASIL KULLANILACAK?** Kişisel bilgileriniz isminiz açıklanmadan değerlendirilecek ve herhangi bir şekilde açıklanmayacaktır.

## **SORU VE PROBLEMLER İÇİN BAŞVURULACAK KİŞİLER :**

1. Derya AŞÇI (Tıp Fakültesi Hastanesi Hematoloji Mikroskopi Laboratuvarı)
2. Yeşim GÜVENÇ DEMİRAGCI (Tıp Fakültesi Hastanesi Biyokimya Laboratuvarı)
3. Nuran EKERBİÇER (Tıp Fakültesi Fizyoloji AD.)

## **Çalışmaya Katılma Onayı**

Yukarıdaki bilgileri doktorumla ayrıntılı olarak tartıştım ve kendisi bütün sorularımı cevapladı. Bu bilgilendirilmiş olur belgesini okudum ve anladım. Bu araştırmaya katılmayı kabul ediyorum ve bu onay belgesini kendi hür irademle imzalıyorum. Bu onay, ilgili hiçbir kanun ve yönetmeliği geçersiz kılmaz. Doktorum saklamam için bu belgenin bir kopyasını çalışma sırasında dikkat edeceğim noktaları da içerecek şekilde bana teslim etmiştir.

<i>Gönüllü Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Adres ve Telefon:</i>		

<i>Veli / Vasinin Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Adres ve Telefon:</i>		

<i>Tanık<sup>1</sup> Adı Soyadı:</i>		<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Adres ve Telefon:</i>		

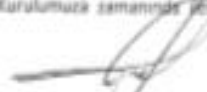
<i>Araştırmacı<sup>2</sup> Adı Soyadı:</i>	Derya AŞÇI	<i>Tarih ve İmza:</i>
<i>Adres ve Telefon:</i>	CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ HAFSA SULTAN HASTANESİ HEMATOLOJİ MİKROSKOBİ LABORATUVARI. TEL: 0507 7392412	

1: Gönüllünün bilgilendirilme işlemine başından sonuna dek tanıklık eden kişi

2: Gönüllüyü araştırma hakkında bilgilendiren kişi

## 8.2. ETİK KURUL ONAYI

T.C.  
 Celal Bayar Üniversitesi  
 Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu  
 Karar Formu

KARAR TARİHİ / NO	04/12/2023 / 2047949-303					
ARAŞTIRMANIN ADI	Kronik Kan Hastalıklarında Gözlenen Eritrosit Osmotik Frajlitesi					
SORUMLU ARAŞTIRMACI	Doç. Dr. Numan EKERBİÇER - C.B.Ü. Fizyoloji A.D					
ARAŞTIRMA EKİBİ	Biyolog Derya AŞÇI - Yrd. Doç. Dr. Yezim GÖVENÇ - Yrd. Doç. Dr. Mine MİSKİOĞLU - Uzm. Dr. Alihan GEMİCİ - Arş. Görv. Dr. Raziye YILDIZ					
ARAŞTIRMANIN NİTELİĞİ	ULMANLIK TEZİ <input type="checkbox"/>		YÜKSEK LİSANS-DOKTORA TEZİ <input checked="" type="checkbox"/>		AKADEMİK AMAÇLI <input type="checkbox"/>	
KARAR BİLGİLERİ	Araştırma Başvuru Formu ve gerekli ekler incelenmiş, Etik açıdan UYGUN olduğuna ve ilgili de karar verilmiştir.					
Önemi/Adı/Soyadı	İncelenenlere İzin Verildi	Taahhüt Kararına İzin Verildi	Önemi/Adı/Soyadı	İncelenenlere İzin Verildi	Taahhüt Kararına İzin Verildi	
Prof. Dr. Ercüment ÖLMEZ Farmakoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Prof. Dr. Necip KUTLU Fizyoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Cengiz KIRBAZ Alevi İncelikleri AD	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Prof. Dr. Erol ÖZKUL Tıbbi Biyokimya AD	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Polat ERTAN Çocuk Sağlığı Hastalıkları AD	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Prof. Dr. Cahat TİMİZ F. T. A. Kardioloji AD	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Erhan KASIRGA Çocuk Sağlığı Hastalıkları AD	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Prof. Dr. Genül Yeşen KULU Anestezi ve Reanimasyon AD	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Prof. Dr. Arslan DEVECİ Pediatri AD	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Doç. Dr. Beyhan Dengiz Orman Hastalıkları AD	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Selma BEBEREK Antrenörlük Eğitimi AD	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Doç. Dr. F. Sami ÇELİK Tıbbi Biyokimya AD	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Doç. Dr. Pınar TİMİZ Fizyoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Yrd. Doç. Dr. Tahir HÜCCET Aile Tıp AD	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Yrd. Doç. Dr. Sabih ALTAN Tıbbi Biyokimya AD	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Yrd. Doç. Dr. Dina ÇEKİR Çocuk Hematoloji AD	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
Nuran KÜEY Anestezi	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	Mehmet DURSUN Gül Döğ	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	
<p>Etik Kurulumuzun karar yukarıda belirtilmiştir. Araştırma Başvuru Formunun Taahhütname - Bilgi Formu kısmında belirtilmiş olan hususları dikkate alınarak istenilen bilgilerin Etik Kurulumuza zamanında gelmesini konusunda bilgilerini ve gereğini rica ederim.</p> <p style="text-align: right;">   <b>Prof. Dr. Ercüment ÖLMEZ</b>        Başkan     </p>						

### 8.3. TURNİTİN RAPORU

T.C.  
MANİSA CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU  
FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞINA

**Tez Adı Kronik Kan Hastalıklarında Görülen Eritrosit Osmotik Frajlitesi Değişiklikleri**

Tezime ilişkin 06/03/2019 tarihinde yapılan Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 29'dur.

Belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Tarih ve İmza

Adı Soyadı : Derya AŞÇI  
Öğrenci No : 311309002  
Anabilim Dalı : Fizyoloji ABD  
Programı : Tezli Yüksek Lisans

**DANIŞMAN ONAYI**

UYGUNDUR,

(Unvan, Ad Soyad, İmza)

Prof. Dr. Nurgün Eker

**Açıklamalar**

- 1- Tez Çalışması Orijinallik Raporu (TCOR), Turnitin'in İntihal Tespit Programı kullanılarak kişisel hesap veya hakkı bulunan bir danışman, huzurlu şekilde güncellenen personel, kütüphane ve dokümanlar için süre boyunca/ında güncellenen kütüphaneler tarafından alınır.
- 2- Sayfa sayısı 400'den az olan tezler için tez çalışmamızdan önce ve sonrası olarak durumdaki dokümanlardan önce önceki 2 kez TCOR alınır. (400 sayfa'dan fazla olan tezler 400 ve katları şeklinde alınır.) Turnitin web sitesine yüklenmesi gerekmektedir. Bu gibi durumlarda benzerlik oranının hesaplanmasına ilgili detaylı forma, kütüphane web sayfasında bulunan Turnitin kullanım kılavuzlarına atıfta bulunulmalıdır.)
- 3- TCOR, tezin yalnızca kapak sayfası, önsöz, Ana Başlıklar ve Sonuç bölümlerinden oluşan kısmın tek bir dosya olarak intihal tespit programına yüklenmesi ile alınır.
- 4- Programın yüklenmesi yapılan Derya AŞÇI (Öğrenci No: 311309002) olarak tez yüklenen tamam, Tez Adı (author/first name) olarak öğrencinin adı, Yazar Soyadı (author/last name) olarak öğrencinin soyadı bilgisi girilmelidir.
- 5- TURNİTİN İntihal tespit programına yüklenmesi durumunda öğrencinin öğrenci numarasında, İntihal tespit programında öğrencinin öğrenci numarası girilmelidir. (Örneğin: 311309002)
- 6- Raporlama işlemi tamamlandıktan sonra, kütüphaneler olan okullara gönderilmesi için bu işlemlerle ilgili olarak öğrenci olarak belirlenen "benzerlik oranı," raporlamaya tabii tutulmuş olan danışman "tezimin sayfa sayısı" ve raporlama işlemi yapıldığı "tez" bilgisi, "Yüksek Lisans/Doktora Tez Çalışması Orijinallik Raporu" formuna girilmelidir.
- 7- **deneyimli araştırmacı olan danışmanlar öğrenciye aittir.**
- 8- Tez çalışması tamamlandıktan sonra öğrencinin öğrenci numarası, tez çalışması tamamlandıktan sonra öğrencinin öğrenci numarası değiştirilerek raporlama işlemi yapılmamalıdır. Ayrıca her intihal raporundaki bilgiler kullanılarak hazırlanmış ve tez danışman tarafından sunulacak raporlamaya ilişkin her "Yüksek Lisans/Doktora Tez Çalışması Orijinallik Raporu"na öğrencinin tezinin tamamı yüklenmelidir.
- 9- Turnitin hakkında bilgiler: <http://kutuphane.dbu.edu.tr/humanities/2376/en.html>

## 8.4. ENSTİTÜ YÖNETİM KURULU KARARI

### ALINAN KARARLAR

**Karar 1-** Hemşirelik Anabilim Dalı Başkanlığı'nın, yüksek lisans öğrencisi Emel Çakar ile ilgili 08.12.2011 tarih 106 ve 104 sayılı yazıları görüşülerek, öğrencinin 01.08.2011 tarihinde yapılan ve düzeltme kararı verilen tez sınavı tekrarının 3 ay içerisinde yapılamamasına ilişkin 104 sayılı yazıda belirtilen mazeretin kabulüne ve "Preoperatif Oral Karbonhidrat Solüsyonu Kullanılmasının Hasta Anksiyetesi, Konforu Ve Postoperatif Ağrı, Bulantı Ve Kusma Üzerine Etkisinin İncelenmesi" başlıklı tez sınavı tekrarının 08 Aralık 2011 tarihinde,

#### Asıl Jüri Üyesi

1-Yrd. Doç. Dr. Emel YILMAZ (Tez Danışmanı)

2-Yrd. Doç. Dr. Adale KÖCA KUTLU ( CBÜ Sağlık Y.O.)

3-Yrd. Doç. Dr. Gülşay OYUR ÇELİK (E.İ. Atatürk S.Y.O. Öğretim Üyesi)

tarafından yapılarak, tezin "**Kabul**" edildiği anlaşıldığından öğrencinin mezuniyetine, sınavı Üniversitemiz dışından katılan Yrd. Doç. Dr. Gülşay OYUR ÇELİK'e yurt içi geçici görev yollanmasının idenmesine **OY BİRLİĞİ** ile karar verildi.

**Karar 2-** Antrenörlük Eğitimi Anabilim Dalı Doktora öğrencisi Hasan Esen'in Tez konusu önerisi ile ilgili Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 09.12.2011 tarih ve 145 sayılı yazısı görüşülerek, Lisansüstü Eğitim Öğretim Yönetmeliğimizin 34.maddesi uyarınca Tez İnceleme Komitesi'nce kabul edilen " Farklı Yüklenme Şiddetindeki Direnç Antrenman Programlarının Pre-Menopozal Kadınlarda YKL-40, Matrix Gİa Protein (MGP), C-reaktif protein (hsCRP), 8-izoprostaglandin F2a (8-iso-PGF2a), 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) Üzerine Etkileri" başlıklı tez konusunun Etik Kurul Onayı alması kaydı ile kabulüne **OY BİRLİĞİ** ile karar verildi.

**Karar 3-** Beden Eğitimi Öğretmenliği Anabilim Dalı Başkanlığı'nın, Yüksek Lisans öğrencisi Sevgi Pala'nın tez konusu ile ilgili 28.11.2011 tarih 137 sayılı yazısı görüşülerek; Etik Kurul Onayını getirmesi kaydı ile, " Okul Öncesi Çocuklarda Yönlendirilmiş Buluş ve Problem Çözme Yöntemiyle Yürütülen Temel Hareket Eğitimi Uygulamalarının Yaratıcılık ile İlişki Düzeyi" başlıklı tez konusunun Etik Kurul Onayı alması kaydı kabulüne **OY BİRLİĞİ** ile karar verildi.

**Karar 4-** Fizyoloji Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 30.11.2011 tarih ve 7572 Sayılı yazısı ve Akademik Kurul Kararı görüşülerek; Lisansüstü Eğitim Öğretim Yönetmeliğimizin 22.maddesi uyarınca, Tezli Yüksek Lisans Programı öğrencilerinin Tez Danışmanlarının aşağıdaki şekilde atanmalarına **OY BİRLİĞİ** ile karar verildi.

Öğrencinin Adı-Soyadı

Tez Danışmanı

Beste ÖLÇGEN

Doç. Dr. Necip KUTLU

Veli ŞEN

Doç. Dr. Necip KUTLU

Derya AŞCI

Doç. Dr. Nuran EKERBİÇER

Mürüvvet KAHRAMAN

Prof. Dr. Mustafa ÖZBEK

Şübede ÖZDENLİ

Prof. Dr. Mustafa ÖZBEK

Doç. Dr.	Doç. Dr.	Doç. Dr.	Prof. Dr.	Yrd. Doç. Dr.	Yrd. Doç. Dr.	Yrd. Doç. Dr.
	S. KUTLU	E. Ç. ZANIRLI	İ. HUYUKTAZI	S. YORAN	A. KIRAKSALI	...
	Paraf	Paraf	Paraf	Paraf	Paraf	Paraf

## 8.5. HEMATOLOJİ BİLİM DALI İZİN YAZISI



T. C.  
CELAL BAYAR ÜNİVERSİTESİ  
Tıp Fakültesi Dekanlığı  
Dahili Tıp Bilimleri Bölümü  
Hematoloji Bilim Dalı Başkanlığı



Sayı : 8

Konu : Tez çalışması için izin talebinin verilmesi

07/03/2013

### FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

İLGİ: Fizyoloji Anabilim Dalı'nın 28/02/2013 tarih ve 07 sayılı yazısı

Fizyoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans yapmakta olan öğrenci, Derya Aşçı'nın "Kronik kan hastalarında görülen eritrosit osmotik fragilitesi değişiklikleri" adlı çalışmasına etik kuruldan onay aldıktan sonra Hematoloji Polikliniğindeki hastaların dahil edilmesinde Bilim Dalımızca bir sakınca yoktur.

Bilgilerinizi ve gereğini arz ederiz.

Prof. Dr. Ülkü Ergene  
Bilim Dalı Başkanı



## 9. ÖZGEÇMİŞ

<b>Adı</b>	Derya	<b>Soyadı</b>	AŞÇI
<b>Doğum yeri</b>	İlgın/ KONYA	<b>Doğum Tarihi</b>	01.07.1986
<b>Uyruğu</b>	TC	<b>Tel</b>	05077392412
<b>E-mail</b>	deryaasci@hotmail.com		

### Eğitim Düzeyi

	<b>Mezun Olduğu Kurumun Adı</b>	<b>Mezuniyet Yılı</b>
<b>Doktora/ Uzmanlık</b>		
<b>Yüksek Lisans</b>		
<b>Lisans</b>	CBÜ Fen-Ed Fak. Biyoloji Bölümü	2008
<b>Lise</b>	Dündar Çiloğlu Anadolu Lisesi	2004

### İş Deneyimi

<b>Görevi</b>		
Biyolog	CBÜ Tıp Fak. Hafsa Sultan Hastanesi	2008- Halen

<b>Yabancı Dilleri</b>	<b>Okuduğunu Anlama</b>	<b>Konuşma</b>	<b>Yazma</b>
İngilizce	Orta	Zayıf	Zayıf

### Bilgisayar Bilgisi

<b>Program</b>	<b>Kullanma Becerisi</b>
Mikrosof Word, Exel, Power Point, Adobe Acrobat Reader, SPSS	Orta