

TC.
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ÇOCUKLARDA DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİNİN
NÖTROFİLLER ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Mine Çiğdem ŞENOĞLU AKÇA

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Nazmiye YÜKSEK

ZONGULDAK

2013

TC.
BÜLENT ECEVİT ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

ÇOCUKLARDA DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİNİN
NÖTROFİLLER ÜZERİNE ETKİSİ

Dr. Mine Çiğdem ŞENOĞLU AKÇA

TIPTA UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI
Yrd. Doç. Dr. Nazmiye YÜKSEK

ZONGULDAK

2013

TEZ ONAY TUTANAĞI

Tezin Teslim Edildiği Üniversite/Fakülte: Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi

Tez Başlığı : Çocuklarda Demir Eksikliği Anemisinin Nötrofiller Üzerine Etkisi

Tez Yazarı : Arş. Gör. Dr. Mine Çiğdem AKÇA

Tez Savunma Tarihi : 15/05/2013

Tez Danışmanı : Yrd. Doç. Dr. Nazmiye YÜKSEK

Doç. Dr. Gonca Handan ÜSTÜNDAĞ
Jüri Başkanı

Doç. Dr. Mutlu YÜKSEK
Üye

Yrd. Doç. Dr. Nazmiye YÜKSEK
Üye

UYGUNDUR
18/07/2013



Prof. Dr. Mustafa AYDIN
Dekan

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitimim süresince bilgi ve deneyimlerinden yararlandığım Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Öğretim üyesi ve tez danışmanım değerli hocam Yrd. Doç. Dr. Nazmiye Yüksek 'e;

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Sayın Doç. Dr. Gonca Üstündağ 'a ve değerli hocalarım Doç. Dr. Mutlu Yüksek, Doç. Dr. Cumhuriyet Aydemir, Yrd. Doç. Dr. İ. Etem Pişkin, Yrd. Doç. Dr. Mehmet Karacı, Yrd. Doç. Dr. Zühal Örnek ' e

Tezimin laboratuvar çalışmalarında yardımcı olan İmmunoloji Anabilim Dalı Başkanı Doç. Dr. İshak Özel Tekin, üstün özverilerinden dolayı İmmunoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Mehmet Araslı ve İmmunoloji Laboratuvarı çalışanları'na;

Tez çalışmama sağladığı katkılarından dolayı Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim görevlisi Dr. Füzün Köktürk'e;

Projemize destek veren Bülent Ecevit Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyonu'na;

Ve değerli hocalarım Prof. Dr. Bahri Ermiş, Doç. Dr. Fatma Demirel, Yrd. Doç. Dr. Berna Şaylan Çevik, Uzm. Dr. Ebru Kolsal'a

İhtisasım süresince acıyı tatlıyı birlikte paylaştığım çalışma arkadaşlarım, hemşire ve sağlık personeli ekibine, sonsuz teşekkürler...

Hayatımın her aşamasında emeği, desteği ve sevgisi olan canım annem, ve kardeşime,

Yanımda olmasanda, hep kalbimde yaşattığım canım babama,

Biricik oğlum Oğuzhan'a kalbimin derinliklerinden sonsuz teşekkürler...

Dr. Mine Çiğdem ŞENOĞLU AKÇA

ZONGULDAK 2013

ÖZET

Şenoğlu Akça M. Ç., Çocuklarda Demir Eksikliği Anemisinin Nötrofiller Üzerine Etkisi, Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Tezi. Zonguldak, 2013.

Demir eksikliği anemisi tüm dünyada yaygın olarak görülen önemli bir sağlık sorunudur. Demir eksikliğinin kognitif fonksiyonlar, büyüme, endokrin sistem ve nörotransmitter sentezi üzerine etkilerinin yanısıra, immün sistem üzerine de önemli etkileri vardır. Demir eksikliğinin immün sistem üzerine etkileri ile ilgili çalışmalarda demir eksikliğinin myeloperoksidaz, bakterisidal aktivite ve NK hücre aktivitesinde azalma, geç tip hipersensitiviteye T lenfosit yanıtının azalması, T Lenfosit ve bununla birlikte CD4+ düzeyleri ve CD4:CD8 oranlarının azaldığı saptanmıştır. Çalışmamızda amacımız demir eksikliği anemisi olan hastalarda IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IFN- γ , TNF- α gibi sitokin değerlerine ve nötrofil fonksiyonları ile ilişkili hücre yüzey antijenleri olan CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD45, CD54, CD64 düzeylerine bakarak, demir eksikliğinin nötrofil fonksiyonları üzerine etkisini görmektir. Bu çalışmaya Haziran 2011 – Ocak 2013 tarihleri arasında B.E.Ü.N. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran 6 ay- 5 yaş arası, son bir ay içinde steroid veya kemoterapi gibi immünsüpresif tedavi almayan, protein enerji malnütrisyonu, böbrek yetmezliği, genetik hastalık ve malign hastalığı ve akut ya da kronik enfeksiyonu olmayan çocuklar dahil edilmiştir. Sağlıklı çocuklardan oluşan kontrol grubu (grup 2, n=28), Demir eksikliği anemisi tanısı alan (grup 1, n=30) çocuklarda IL-1 β , IL- 2, IL- 4, IL- 6, IL- 8, IL- 10, IL-13, IFN- γ , TNF- α , ve hücre yüzey antijenlerinden CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD45, CD54, CD64 düzeyleri karşılaştırıldı. Demir eksikliği anemisi olan çocuklarda aynı parametreler tedavi sonrası tekrar bakılarak, tedavi öncesi saptanan düzeylerle karşılaştırıldı.

Sonuçlar değerlendirildiğinde her iki grupta ve Demir eksikliği anemisi olan çocuklarda tedavi sonrası sitokin değerlerinde istatistiksel olarak anlamlı farklılık olmadığı görüldü. Demir eksikliği anemisi grubu ve kontrol grubunda hücre yüzey antijen % değerleri karşılaştırıldığında nötrofil CD64 % ekspresyonunun Demir eksikliği anemisi grubunda istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek olduğu, tedavi

ile azaldığı, fakat bu azalmanın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptandı ve son yıllarda yapılan çalışmalarda sepsisin önemli bir göstergesi olarak bildirilen CD64'ün demir eksikliği anemisi olan çocuklarda enfeksiyon markerı olarak kullanılmasının uygun olmayabileceği şeklinde yorumlandı.

Transferin reseptörü olan CD71'in demir eksikliği anemisi tanısında en değerli parametrelerden biri olan soluble transferin reseptörü gibi tanıda kullanılabilecek bir parametre olup olmadığının saptanması amacıyla Demir eksikliği anemisi grubu ve kontrol grubunda monositlerde CD71 düzeylerine bakıldığında, her iki grup arasında anlamlı bir farklılık saptanmadı, ancak Demir eksikliği anemisi grubunun tedavi öncesi ve sonrası CD71 düzeyleri karşılaştırıldığında, tedavi sonrası CD71 ekspresyonundaki düşüşün istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü. Bu sonuç Demir eksikliği anemisi tedavisi sonrası soluble transferin reseptörü değerlerindeki düşme ile paraleldi. Demir eksikliği anemisi tanısında CD71'in soluble transferin reseptörü kadar duyarlı bir test olup olmadığının ortaya konabilmesi için daha fazla sayıda olgu ile daha geniş çalışmalar yapılmasının daha kesin sonuçlar elde edilmesine yardımcı olacağı düşünüldü.

Çalışmamızda Demir eksikliği anemisinin nötrofil fonksiyonları ile ilişkili hücre yüzey markerlarında değişikliğe neden olmadığı gösterilmiştir, ancak nötrofil fonksiyonlarının demir eksikliği anemisinde bu yöntemle değerlendirilmesinin uygun olup olmadığına karar verilebilmesi için daha kapsamlı çalışmalara gereksinim vardır.

Anahtar Kelimeler: Demir eksikliği anemisi, nötrofil, sitokinler, hücre yüzey antijeni

ABSTRACT

Şenoğlu Akça M.Ç., The Effects of Iron Deficiency Anemia on the Neutrophils in the Children, Bülent Ecevit University School of Medicine, Department of Pediatrics Thesis, Zonguldak, 2013

Iron deficiency anemia is one of the most common health care problem all over the world. Iron is essential for almost all living organisms and takes part in a number of important biological processes like cognitive functions, growing, endocrine system, synthesis of neurotransmitters and immune system. Various studies showed that iron deficiency anemia reduces neutrophil function with decreased myeloperoxidase (MPO) activity, causes impaired bactericidal activity, depression of T-lymphocyte numbers with thymic atrophy and also causes T lymphocyte-induced proliferative response, impaired natural killer cell activity, lower levels of T lymphocytes as well as CD 4, lower levels of CD4/CD8. The aim of this study is to investigate the effects of iron deficiency on neutrophil functions, serum IL-1B, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , TNF- α IL-13 levels and effects on the expression of neutrophil surface antigens such as CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD45, CD54 CD64 and expression of monocyte surface antigen called CD71 on patients with iron deficiency anemia.

In this study, 6 months-5 years old children, admitted to Pediatrics Polyclinic of B.E.UN. Faculty of Medicine, in June 2011 - January 2013, without having any steroid or immunosuppressive therapy such as chemotherapy in the past last month and without protein-energy malnutrition, renal failure, genetic diseases, malignant diseases and having acute or chronic infection were included.

58 children were included in this study and divided into two groups. Group 1 was defined as children with iron deficiency anemia (n=30) and group 2 was defined as children without iron deficiency anemia (n=28). In both groups, serum IL-1B, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IFN- γ , TNF- α IL-13 levels and neutrophil surface antigens levels such as CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD45, CD54 CD64 measured and compared. Same parameters were measured again after iron treatment in children with iron deficiency anemia and compared with the measured levels before treatment.

According to results there were no statistically significant differences in cytokine levels between two groups and in children receiving iron treatment with iron deficiency anemia. When comparing the percentages of cell-surface antigens between iron deficiency anemia group and control group, the percentage of neutrophil CD64 expression was statistically significantly higher in iron deficiency anemia group and decreased with treatment, but this decrease was not statistically significant. In recent studies CD64 was reported as an important indicator of sepsis, but in our study we interpreted that CD64 was not suitable to be used as a marker of infection in children with iron deficiency anemia.

To determine whether CD71, a transferrin receptor, can be a parameter to diagnose iron deficiency anemia, such as soluble transferrin receptor, one of the most valuable diagnostic parameters of iron deficiency anemia, CD71 levels measured in monocytes in iron deficiency anemia group and control group and there was no significant difference between the two groups, but in iron deficiency anemia group, levels of CD71 before and after treatment was compared and showed a statistically significant decrease in expression of CD71 after treatment. This results was parallel with the decrease in soluble transferrin receptor levels in the treatment of iron deficiency anemia. In the diagnosis of iron deficiency anemia, to determine whether CD71 is as sensitive test as soluble transferrin receptor, studies with larger numbers of cases will be more helpful to obtain accurate results.

In our study, it is shown that, iron deficiency anemia does not change cell surface markers associated with neutrophil functions but more comprehensive studies are needed to decide whether this method is suitable for the evaluation of neutrophil functions in iron deficiency anemia.

Keywords: iron deficiency; anemia; neutrophil; cytokine; cell surface antigen

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
TABLO DİZİNİ	xii
ŞEKİL DİZİNİ	xiii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Demir	3
2.2. Demir Metabolizması	3
2.3. Demir Emilimi.....	4
2.3.1. Hem Demirinin Emilimi	4
2.3.2. Non-Hem Demirinin Emilimi	5
2.4. Demir Emilimini Etkileyen Faktörler	7
2.4.1. Lümen İçi Faktörler.....	7
2.4.2. Lümen Dışı Faktörler	8
2.5. Demir Döngüsü ve Depolanması	10
2.5.1. Transferrin Reseptörü (TFR)	11
2.5.2. Ferritin.....	12
2.6. Anemi.....	14
2.6.1. Demir Eksikliği Anemisi	15
2.6.2. Demir Eksikliği Anemisinin Aşamaları	16
2.6.3. Demir Eksikliği Anemisi Etyolojisi.....	17
2.6.4. Demir Eksikliği Anemisinin Klinik Bulguları	19
2.6.5. Demir Eksikliği Anemisinin Sistemler Üzerinde Etkisi (11).....	21
2.6.6. Demir Eksikliği Anemisinde Laboratuvar Bulguları	23
2.6.7. Demir Eksikliği Anemisinde Tedavi.....	26
2.6.8. Demir Eksikliği Anemisinden Korunma.....	27
2.7. Bağışıklık Sistemi ve Hücre Yüzey Antijenleri	28
2.8. Nötrofil.....	30

2.9. Sitokinler	34
2.9.1. Interlökin-1	35
2.9.2. Interlökin-2	36
2.9.3. Interlökin-4	37
2.9.4. Interlökin-6	37
2.9.5. Interlökin-8	39
2.9.6. Interlökin-10	40
2.9.7. Tümör Nekrotizan Faktör- α	41
2.9.8. Interferon- γ	41
3. MATERYAL VE METOT	42
3.1. İstatistiksel Analiz	43
4. BULGULAR	44
5. TARTIŞMA	59
6. SONUÇLAR	66
7. KAYNAKLAR	67
8. EKLER	80
Ek 1: Etik Kurul Onayı	80

SİMGELER VE KISALTMALAR

DSÖ	Dünya Sağlık Örgütü
Hgb	Hemoglobin
DEA	Demir eksikliği anemisi
NK	Natural killer
CD	Cluster of differentiation
IL	Interlökin
IFN	Interferon
TNF	Tümör Nekrotik Faktör
Tf	Transferrin
HCP	Hem taşıyıcı protein
DcytB	Duodenal sitokrom B
DMT	Divalan metal taşıyıcı
Mn+2	Manganez
Zn+2	Çinko
Co+2	Kobalt
Cu+2	Bakır
Pb+2	Kurşun
IREG	Iron regulated transporter
HFA	Hefaestin
TDBK	Total demir bağlama kapasitesini
TfR	Transferrin reseptörü
IRP	Iron regulatory protein
IRE	Iron-responsive elements
IRE-BP	Demir yanıt elemanı bağlayıcı proteinin
FEP	Serbest eritrosit protoporfirini
MCV	Ortalama eritrosit volümü
Hct	Hematokrit
NBT	Nitro Blue Tetrazolium
SDBK	Serum demir bağlama kapasitesi
TSI	Transferrin saturasyonu

RDW	Eritrosit dağılım genişliği
DDA	Düşük doğum ağırlıklı
TCR	T hücre reseptörü
Th	Yardımcı T hücresi
ICAM	Intraselüler adezyon molekülü
CSF	Koloni stimüle eden faktörler
VCAM	Vasküler Hücre Adezyon Molekülü
MCH	Ortalama eritrosit hemoglobini
MCHC	Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu
RDW	Eritrosit dağılım genişliği
DNA	Deoksiribonükleik asit
RNA	Ribonükleik asit
C3	Kompleman 3
Ig	İmmünoglobulin
IL-1R1/R2	IL 1 reseptör 1 ve 2
kDa	Kilodalton
TNFR1/2	Tümör nekroz faktör reseptör 1 ve tümör nekroz faktör reseptör 2
PHA	Fitohemaglutinin

TABLO DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1: Besinlerdeki Demirin Biyoyararlanımı	8
Tablo 2: Çocuklarda yaşa göre normal ortalama hematolojik değerler.....	15
Tablo 3: Yaşa ve Cinsine Göre Hgb Hct, MCV Değerleri	24
Tablo 4: DEA Tanısında Yaşa Göre Serum Ferritin, TSI, FEP Değerleri.....	25
Tablo 5: Demir Eksikliği Laboratuvar Bulguları.....	25
Tablo 6: Düşük Doğum Ağırlıklı Bebeklerde Profilaktik Demir Dozları.....	28
Tablo 7: Hastalara Ait Tanımlayıcı Özellikler.....	44
Tablo 8: Anemi ve Kontrol Grubu Çocuklarında Hematolojik Parametreler.....	45
Tablo 9: Anemi ve Kontrol Grubu Çocuklarında Sitokin MFI Konsantrasyon Değerlerinin Karşılaştırılması.....	46
Tablo 10: Anemi ve Kontrol Grubu Çocuklarında Hücre Yüzey Antijen Değerlerinin (% Olarak) Karşılaştırılması.....	46
Tablo 11: Anemi ve Kontrol Grubu Çocuklarında Hücre Yüzey Antijen MFI Değerlerinin Karşılaştırılması.....	47
Tablo 12: DEA Grubundaki (Grup 1) Çocukların Tedavi Öncesi ve Sonrası Hematolojik Parametrelerin Karşılaştırılması	48
Tablo 13: DEA Grubundaki Çocukların (Grup 1) Tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası Sitokin MFI Konsantrasyon Değerlerinin Karşılaştırılması.....	49
Tablo 14: DEA Grubundaki Çocukların (Grup 1) Tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası Hücre Yüzey Antijen Parametrelerinin (% olarak) Karşılaştırılması.....	49
Tablo 15: DEA Grubundaki Çocukların (Grup 1) Tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası Hücre Yüzey Antijen MFI Parametrelerinin Karşılaştırılması.....	50

ŞEKİL DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1: Hem ve Non-Hem Demirin Enterositten Emilimi	6
Şekil 2: Hücreye Demir Alımı ve Tf Döngüsü	11
Şekil 3: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda IL-1 β değerleri	51
Şekil 4: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda IL-2 değerleri	51
Şekil 5: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda IL-4 değerleri	52
Şekil 6: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda IL-8 değerleri	52
Şekil 7: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda IL-10 değerleri	53
Şekil 8: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda IL-13 değerleri	53
Şekil 9: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda IFN- γ değerleri.....	54
Şekil 10: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda TNF- α değerleri	54
Şekil 11: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD11a % değerleri.....	55
Şekil 12: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD11b % değerleri.....	55
Şekil 13: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD11b % değerleri.....	56
Şekil 14: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD18% değerleri.....	56
Şekil 15: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD45% değerleri.....	57
Şekil 16: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD54% değerleri.....	57

Şekil 17: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD64% değerleri.....	58
Şekil 18: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD71% değerleri.....	58

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çocuklarda hemoglobin, hemotokrit konsantrasyonu veya eritrosit sayısının yaşa ve cinse göre ortalama değerlerinin 2 standart sapma altında olması anemi olarak tanımlanır. Dünya Sağlık Örgütüne (DSÖ) göre gelişmekte olan ülkelerde 5 yaşından küçük çocukların %39'u, 5-14 yaş arası çocukların %48'i, tüm kadınların %42'si anemiktir ve bunların yarısı demir eksikliği anemisidir (DEA). Demir eksikliğinin prevalansı incelenen toplumun sosyoekonomik durumu, yaşı, beslenme alışkanlıkları, anne sütü ile beslenme süresi ve kullanılan tanı yöntemlerine göre toplumdan topluma değişmektedir (1).

Demir eksikliğinin kognitif fonksiyonlar, büyüme, endokrin sistem ve nörotransmitter sentezi üzerine etkilerinin yanısıra, immün sistem üzerine olan etkileri de yapılan insan ve hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. DEA ile immün sistem arasındaki ilişkiyi ortaya koymak için yapılan çalışmaların bir kısmında humoral aktivitenin etkilendiği belirtilmişse de hücre aracılı immün yanıtın etkilendiğini ortaya koyan çalışma sayısı daha fazladır (2, 3).

Demir eksikliği olanlarda myeloperoksidaz, bakterisidal aktivite ve natural killer (NK) hücre aktivitesinde azalma, geç tip hipersensitiviteye T lenfosit yanıtının azalması, T lenfosit ve bununla birlikte CD4+ düzeyleri ve CD4:CD8 oranlarının düştüğü bildirilmiştir (2, 4, 5).

Demir eksikliğinin hematopoetik ve immün sistem hücrelerinin büyümesi, gelişmesi, farklılaşması ve aktivasyonunu düzenleyen sitokin fonksiyonları üzerine etkisi birçok çalışma ile ortaya konmuştur. Yapılan birçok çalışmada demir eksikliği anemisinde interlökin-2 (IL-2) düzeyinin düştüğü belirtilmiştir (6, 7, 8).

Scrimshaw ve ark. demir eksikliği ve protein-enerji malnutrisyonun, özellikle T hücre, T hücre alt grupları ve IL-2 reseptör düzeyini azalttığını, hücre aracılı nonspesifik immünitinin humoral immüniteye göre daha fazla etkilediğini ortaya koymuşlardır (9).

Serum IL-2 düzeyinin düştüğünü bildiren yayınların yanısıra DEA'nin IL-6 düzeyinin azaldığını bildiren yayınlarda vardır (3).

Biz de çalışmamızda 6 ay-5 yaş arası çocuklarda, DEA'nin IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, Interferon-gamma (IFN- γ), Tümör Nekrotik Faktör-alfa (TNF- α) gibi sitokinlerin düzeylerine ve nötrofil fonksiyonları ile ilişkili hücre yüzey antijenleri

olan CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD45, CD54, CD64 düzeylerine etkisini görmek istedik. DEA olmayan (grup 2, n=28) ve DEA tanısı alan (grup 1, n=30) çocuklarda sitokin ve nötrofil yüzey antijen ekspresyon değerlerini karşılaştırdık. DEA olan çocuklarda aynı parametreleri, DEA tedavisi sonrası karşılaştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Demir

Demir atom numarası 57 olan ve periyotlar sisteminde ikinci gruba yerleşmiş bir elementtir. Demir, tüm canlılar için biyolojik öneme sahip vazgeçilmez bir element olmakla beraber canlı organizmasında ancak eser miktarda bulunmaktadır (10). Vücuttaki en önemli görevi Hgb aracılığı ile oksijen taşımaktır. Demir fonksiyonları, taşınması ve depolanması sırasında hücrelerde ve vücut sıvılarında daima ferröz (Fe+2) veya ferrik (Fe+3) şekilde bulunur. Elektron alıp verme özelliği ile oksijen taşınması, enerji yapımı, DNA, RNA ve protein sentezinde yer alır. Pek çok enzimin yapı ve fonksiyonu için gereklidir (11).

Hgb, miyoglobin, sitokromlar (a, b ve c), sitokrom P-450, katalaz ve myeloperoksidaz demir içeren proteinlerdir. Demir ayrıca aldehid oksidaz, NADH dehidrogenaz, akonitaz, ribonükleotid redüktaz, tirozin hidroksilaz, süksinat dehidrogenaz ve ksantin oksidaz gibi enzimlerin yapısında bulunur. Büyüme, kognitif fonksiyonlar, endokrin sistem, nörotransmitter sentezi için önemlidir (10).

Demir eksikliğinin bu etkilerinin yanısıra, immün sistem üzerine de önemli etkileri vardır. DEA'nde antioksidan savunma sisteminde bozulma ve hücrel immünite ile myeloperoksidaz aktivitelerinde azalma bildirilmiştir (12).

2.2. Demir Metabolizması

Toplam vücut demir miktarı yaklaşık 3-4 gramdır. Miadında doğan bebeklerin organizmasında yaklaşık 75 mg/kg demir bulunur. Erişkinlerde bu miktarlar daha düşüktür. Erkeklerde 50 mg/kg, kadınlarda 35 mg/kg demir bulunur. Bunun %65'i (30 mg/kg) Hgb içinde, %25'i ferritin ve denatüre olmuş ferritin yapısındaki hemosiderinde, %3-4'ü miyoglobinde, %0,1'i sitokromlarda, %0,1'i demir-enzim komplekslerinde, %2'si hücreler arası sıvıda (labil havuz), %0,1'i plazmada transferrine (Tf) bağlı olarak bulunur (13).

2.3. Demir Emilimi

Demir emilimi primer olarak duodenum ve proksimal jejunumda olur. Gıdalarla günlük 20-25 mg demir alındığında, öncelikle duodenumdan olmak üzere 1-2 mg demir emilir ve 1-2 mg demir dışkı ile atılır.

Diyetteki demir, Hgb ve miyoglobinden elde edilen, et kaynaklı organik hem demiri ve et dışı kaynaklardan alınan inorganik demir olmak üzere iki şekilde bulunur. Non-hem demirin %5'i emilirken, hem demirin %35'i emilir. Demir depolarının tükendiği veya eritrosit yapımının hızlandığı durumlarda gıda içindeki demir absorpsiyonu %40 oranına kadar yükselebilir. Diyetteki demirin emilimini, demirin emilebilir formda olup olmaması, miktarı, diyetin bileşimi, sindirim sistemi etmenleri, bireyin demir ihtiyacı ve sağlık durumu etkiler (14).

Hem demiri ve non-hem demirinin ince barsaktan emilim yolları birbirinden farklıdır.

2.3.1. Hem Demirinin Emilimi

Diyetteki demirin %10'u hem demiri şeklindedir. Hgb ve miyoglobin hem proteini olup ette bulunur. Et tüketiminin fazla miktarda olduğu Avrupa ve Kuzey Amerika gibi ülkelerde hem demiri diyetdeki demirin 1/3'ünü oluşturmaktadır ve DEA daha düşüktür (14). Ette bulunan Hgb barsakta enzimlerle hem ve globüline ayrılmakta; globülin yıkım ürünleri hem ve non-hem demirini çözünür halde tutarak emilimi kolaylaştırmaktadır. Hem demirinin emilimi için, non-hem demiri için gerekli olan düşük duodenal pH ve emilimi kolaylaştıran askorbik asit, sitrik asit gibi faktörlere gereksinim yoktur. Hem demiri besinlerde bulunan demir bağlayıcılarından da etkilenmez. Sadece kalsiyumun emilimi olumsuz olarak etkilediği gösterilmiştir (15).

Hem duodenal enterosite hem taşıyıcı protein 1 (HCP) denilen özel bir taşıyıcı ile girer. Demir metabolizmasında ve demir eksikliğinde önemli yeri olan bu proteinin bakteriyel metal-tetrasiklin taşıyıcısının benzeri olduğu, en çok duodenumda üretildiği ve hipoksiye duyarlı olduğu gösterilmiştir. Sadece kalsiyumun emilimi etkilediği gösterilmiştir (16).

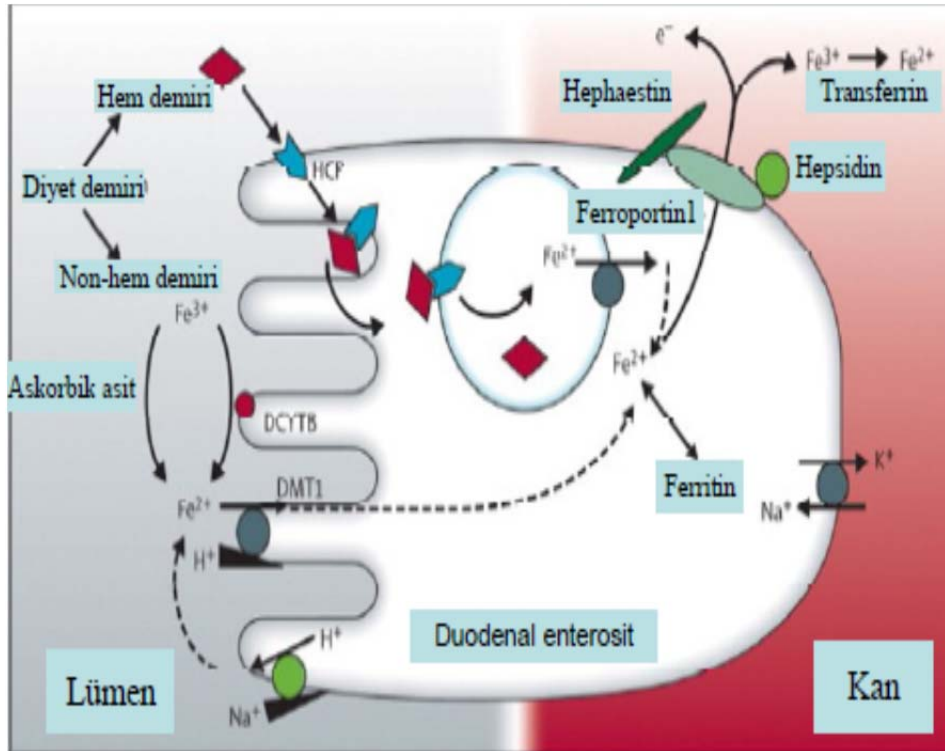
2.3.2. Non-Hem Demirin Emilimi

Diyetteki demirin %90'ı non-hem demiri olup sebze, tahıl ve bitkilerde bulunur. Non-hem demiri diyetle ferrik (Fe+3) bileşimler şeklinde bulunur. Besinin içerdiği fitat, fosfat, oksalat ve tannat ferrik (Fe+3) demir ile bağlanarak çökmesine ve emilmeyecek makromoleküller oluşmasına yol açar. Enterosite alınımı için lümen içi pH'yı düşüren mide asiditesine gereksinim vardır. Emilim için önce ferrik (Fe+3) demirin epitelyal yüzeyde redüktazlar tarafından ferröz şekle indirgenmesi gerekmektedir. Bunların en iyi bilineni membrana bağlı bir redüktaz olan askorbat bağımlı duodenal sitokrom b (DcytB)'dir. Ferröz hale gelen demir, olgun enterositin lümene bakan yüzeyinde bulunan divalen metal taşıyıcı (DMT) 1 yoluyla enterosit içine alınır (17). Bu yapı, non-hem demirin enterosite alınımını sağlayan en önemli proteindir ve emilim için proton gradiyenti gerektirir. DMT-1 sadece düşük ph da etkili olup; nötral ph da çok az veya hiç etkisi yoktur. Antiasitler veya H2 histamin blokörleri asidik pH yı ortadan kaldırarak demir absorpsiyonunun azalmasına yol açmaları bu mekanizma ile açıklamaktadır. DMT-1 yaygın olarak bulunur fakat demir eksikliği olan hayvanlarda duodenal seviyeleri dramatik olarak artmaktadır (18). DMT-1 in sadece intestinal demir emilimi değil diğer divalen metal katyonları olan manganez (Mn+2), çinko (Zn+2), kobalt (Co+2), bakır (Cu+2) ve kurşun (Pb+2) nun emiliminde de rolü vardır (19). Gerek DcytB'in gerekse DMT-1'in sentezi demir eksikliğinde artmaktadır. Bunların sentezi IRP (Iron regulatory protein) ve IRE (Iron responsive elements) sistemi ile düzenlenmektedir (16).

Hem ve non-hem demir, enterosite alındıktan sonra organizmanın demir gereksinimine göre en az iki şekilde kullanılır. Hücre içinde kalır ve daha sonra enterositin ölümüyle birlikte intestinal lümene atılarak kaybedilir veya bazolateral membrandan vücuda transfer edilir. Hücre içinde kalan demir ya ferritin şeklinde depolanır ya da hücrel metabolizmada kullanılır. Bazolateral membranda çok önemli bir demir taşıyıcısı olan ferroportin ya da diğer ismi ile iron regulated transporter 1 (IREG1) ile plazmaya verilir (20). Bu işlem sırasında seruloplazmin benzeri bir transmembran proteini olan hefaestin (HFA), ferröz demiri yeniden ferrik hale çevirerek plazma Tf'ine yüklenmeye hazır hale getirir. Bunun nedeni kandaki demir taşıyıcısı olan Tf'in ferrik demire afinitesinin çok daha fazla olmasıdır.

İntestinal demir emiliminde negatif düzenleyici, hepatositlerde sentezlenip plazmaya salınan bir antimikrobiyal protein olan hepsidin önemlidir (Liver-expressed antimicrobial protein, LEAP-1). Hepsidin 25 aminoasitlik disülfidden zengin bir peptiddir, demirin barsaktan emilimi ve demirin depolanmasında görev alır. Antimikrobiyal özellikleri vardır. Demir miktarı arttığında karaciğerde hepsidin sentezi artar. Plazmada bulunan hepsidin böbreklerden filtrasyona uğrar ve idrarla atılır. Hepsidin barsak epitelini yan yüzeyinde ferroportin reseptörüne bağlanarak reseptörlerin yıkımına neden olup ferroportin düzeyini azaltır. Hipokside, demirden fakir diyetle hepsidin miktarı azalır makrofajdan demir salınımı artar demirin barsaktan plazmaya geçişi azalır (21). Dolaşıma geçen demir miktarının artmasını sağlayan hepsidin yokluğu demirin ağır birikimine ve şiddetli DEA oluşumuna neden olur. Hepsidindeki mutasyonlar erken dönemde demir yüklenmesine ve juvenil hemakromatozise neden olur (16).

Hem ve non-hem demirin enterositlerden emilimi Şekil 1’de görülmektedir.



Şekil 1: Hem ve Non-Hem Demirin Enterositlerden Emilimi

2.4. Demir Emilimini Etkileyen Faktörler

Lümen içi ve lümen dışı olarak sınıflandırılabilir;

2.4.1. Lümen İçi Faktörler

1- Demir Miktarı: Bağırsaktaki demir miktarının artması emilimin artmasına neden olur. Demirden zengin diyetle beslenmeden sonra birkaç gün içinde intestinal yüzeydeki enterositler, demir absorpsiyonuna dirençli hale gelirler ki buna mukozal blok denir (22).

2- Demirin Şekli: Ferröz demir, ferrik demirden daha iyi emilir. Hem demiri yüksek oranda emilir ve emilim oranı, iyonik demiri etkileyen demir depoları, demir ihtiyacı ya da askorbik asit, fitat gibi faktörlerle değişmez.

3- Gıdalarla İlişki: Besinlerdeki demirin emilim oranı % 1-22 arasında değişir. Hayvansal gıdalardaki demir absorpsiyonu, bitkisel gıdalardaki demir absorpsiyonundan daha fazladır. Tavuk ve balık gibi beyaz etlerde ise demir oranı yeterli değildir. Balık ve hayvan eti, muhtemelen içerdikleri lizin, sistin ve histidin aminoasitleri nedeni ile bitkisel kaynaklı demir emilimini artırır. Kırmızı et ve yumurtada bol miktarda (+2) değerli hem demiri bulunmaktadır ve kolaylıkla emilmektedir. 100 gr kırmızı ette 2,6 mgr, tavuk etinde 1,5 mgr, balık etinde 1,1 mgr Fe bulunur. Fasulye, kabak ve ıspanak gibi yeşil sebzelerde bol miktarda demir olmasına karşın (+3) değerli oldukları için emilim son derece az olmaktadır. Mide asidi, C vitamini, sistein, laktat ve fruktoz demir emilimini artırmaktadır. Bu etkisini bitkisel kaynaklı Fe+3 demiri, Fe+2 demire indirgeyerek yapmaktadır. Bir bardak portakal suyu içilmesi non-hem demirinin emilimini 2 kat artırırken, çay %75 azaltmaktadır (23). Besinlerde bulunan fosfatlar, oksalatlar, fitat ve taninler demir ile suda çözünmeyen bileşikler oluştururlar ve emilimi azaltırlar. Tablo 1'de diyetle alınan çeşitli besinlerin biyoyararlılıkları verilmektedir. Demirim emiliminde, besinlerdeki miktarından çok diyetin kompozisyonu da önemlidir (118).

Tablo 1: Besinlerdeki Demirin Biyoyararlanımı

Besinler	Demirin biyoyararlılığı		
	Düşük	Orta	Yüksek
Tahıllar	Mısır Yulaf Pirinç Kepekli buğday unu	Mısır unu Beyaz un	
Meyveler	Elma Şeftali Avokado Armut Muz Çilek Üzüm Erik	Mango Ananas	Limon Portakal
Sebzeler	Patlıcan Ispanak Fasulye Mercimek	Havuç Patates	Domates Turp Brokoli Kabak Karnabahar
Kuruyemiş	Badem Hindistan cevizi Ceviz Fıstık		
Yüksek proteinli besinler	Yumurta Soya unu		Et, balık Tavuk eti

4- Gastrointestinal Traktusun Rolü: Gastrik sıvısının asiditesi demirin solübl hale gelmesi ve redüksiyonunda rol oynar. C vitamini, kalsiyum ve asit pH, demir emilimini kolaylaştırır. Antiasitler, fosfatlar ve fitatlar ise emilimi azaltır. Safra demir emilimini kolaylaştırır (24).

2.4.2. Lümen Dışı Faktörler

1- Demir Depoları: Demir depoları arttığında absorpsiyon kısmen azalır, ancak depoları azaldığında demir absorpsiyonu 2 ya da 3 kat artar (24). Çocuklarda erişkinlere göre oldukça yüksek olan emilim oranı, anemi gibi hastalıklarda normalin 2-10 katına çıkabilmektedir. Gebelik, laktasyon, büyüme dönemleri ve demir eksikliğinde demir absorpsiyonu artar (25).

2- Eritropoetik Aktivite: Kemik iliğinde eritropoetik aktivitenin artması (örneğin hemoraji, hemoliz, yüksek irtifa) durumunda demir depoları azalmış olmasa bile emilimde artış görülür (22).

3- Büyüme: Süt çocukluğunda yüksek olan demir emilimi yaş ilerledikçe hızla erişkin düzeyine düşer. Demir emilim oranı yaşa direkt bağlı olmadan tartı artışı ile ilişkilidir (26, 27). Yenidoğanın vücut ağırlığı arasında direk ilişki vardır. Gebeliğin ilk iki trimesterinde fetusa demir transferi önemsenmeyecek seviyededir. 3. trimesterde 4 mg/gün'e çıkar. Doğumda term bebekte yaklaşık 75 mg/kg demir bulunmaktadır. Doğumdaki vücut demir miktarı total kan hacmi ve Hgb konsantrasyonuna bağlıdır.

Kan hacmi; doğum ağırlığı, umbilikal kordonun bağlanma zamanı ve fetomaternal kanama ile ilgilidir. Normalde yenidoğanda polistemiye yatkınlık vardır. Bu intrauterin hipoksik ortama bağlı olabilir. Doğumdan hemen sonra intrauterin hayattaki % 45'lik arteryal oksijen saturasyonu %95'e yükselir ve eritropoetik aktivite baskılanır. Yenidoğan eritrositlerinin ömrünün 60-90 gün gibi daha kısa oluşu ve hızlı büyüme nedeniyle kan hacminin artıp, eritrosit kütlelerinin dilüe olması nedeniyle Hgb konsantrasyonunda önemli bir düşüş olur. Bu değerler prematürelde 7. haftada, miadında doğanda 2-3 ayda minimum değerlere iner. Bu faza süt çocuğunun fizyolojik anemisi denir. En düşük değere indikten sonra eritropoetik aktivite tekrar artar.

Hgb dışında miyogloblin ve enzim sentezinde de demir kullanımı demir depolarının azalmasına neden olur. Yıkılan eritrositlerdeki demirin kullanılması, anne sütü ile beslenme nedeni ile bu dönemde nadiren demir eksikliği gelişir. Anne sütündeki demirin özelliği, inek sütüne göre biyoyararlanımının fazla olmasıdır. Anne sütündeki demirin %49'u emilirken inek sütündeki demirin %10'u emilebilmektedir. Buna neden olarak anne sütündeki düşük kalsiyum ve fosfor düzeyleri ile içerdiği laktoferrinin etkisi gösterilmiştir. Ayrıca inek sütü ile beslenme intestinal mikrokanamalara neden olabildiğinden demir kaybı sık görülmektedir (26,27).

Süt çocukluğu döneminde demir kaybı 20µg/kg ile erişkinden daha fazladır. Bu dönemde 0,8 mg/gün demir ihtiyacı vardır ve bunun % 75'i büyüme için, geri kalanı kayıpları telafi için gereklidir. Term bebeklerde ilk 4 aya kadar normalde eksojen demire gereksinim yoktur. Bu dönemden sonra ek besinleri iyi alamayan süt

çocuklarına demir desteği yapılmazsa demir eksikliği sıklıkla gelişmektedir (28). Ülkemizde de Sağlık Bakanlığı tarafından 2004 yılından itibaren bu dönemdeki tüm bebeklere demir desteği başlatılmıştır.

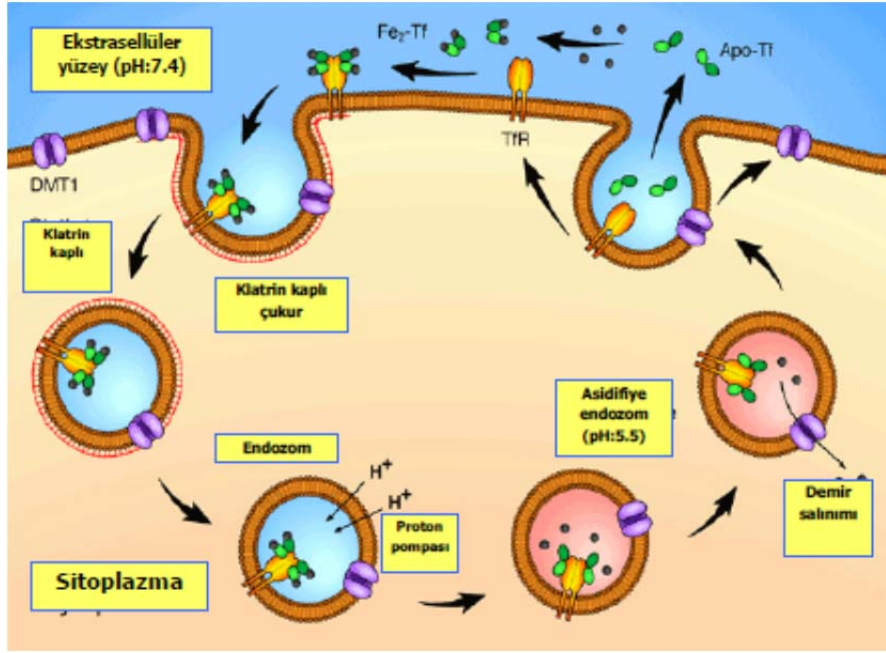
Prematüre, ikiz veya düşük doğum ağırlıklı (DDA) bebeklerde bu sorun daha büyüktür. Çünkü hem demir depoları az, hem de büyüme hızları fazladır. Bu bebeklerde demir ilavesi yapılmazsa, demir depoları 2-3 aylıkken tükenip 4-5. aylarda DEA gelişir (26,27). Son yıllarda prematürelere demir verilmesi 15. günden sonra sıklıkla önerilmektedir (29).

2.5. Demir Döngüsü ve Depolanması

Demir, enterositin bazolateral tarafından ferroportin ile dışarı verilen ve HFA ile okside edilerek ferrik hale getirildikten sonra Tf'e yüklenir (16). Demirin emilimi, depolanması ve kullanımında, plazma proteini olan Tf başlıca rol alır. Tf diğer metal iyonları olan Al, Mn ve Cu taşınmasında da fonksiyon görür fakat demire karşı affinitesi daha yüksektir. Primer olarak hepatositlerde sentezlenen, lokal olarak beyin, testis ve fetal dokularda sentezlendiği gösterilen, 80000 dalton ağırlığında bir proteindir. Yarı ömrü 7-10 gündür. Tf geni 3. kromozomda lokalizedir. Jel elektroforezi ile 21 farklı genetik varyant belirlenmiş olup aralarında en yaygın Tf C'dir. Serumda 200 mg/dl düzeyinde bulunur. Her Tf molekülünde iki ferrik demir bağlanma kısmı vardır. Depo demiri eksikliğinde sentezi artar, artmış depo demiri varlığında ise sentezi azalır. Dolaşımda Tf 3 formda bulunur. Bunlar, demirden serbest form (apo), monoferrik (tek demir bağlayan form) ve diferrik (iki demir bağlayan form) formlardır. Tf-demir kompleksi reseptöre bağlanır ve endositoz ile hücre içine alınır. Di-ferrik transferin en yüksek affiniteye sahipken apotransferrin affinitesi en düşüktür. Normal koşullarda Tf'in 1/3'ü demir ile bağlıdır. Yaklaşım 200 mg Tf 100 mcg demir taşır. Serum demirinin Tf'e bağlanma bölgesine oranı Tf saturasyonunu gösterir ki bu oran %15-40 arasındadır (11). Tf'in üzerindeki bütün bölgelerin toplamı total demir bağlama kapasitesini (TDBK) verir. Plazmadaki Tf konsantrasyonu genellikle TDBK ölçümü ile hesaplanır. Dolaşımdaki demirin Tf'e bağlanmasının önemi şudur:

- Fizyolojik durumlarda çözünebilir demir sağlar.
- Demir aracılı serbest radikal toksisitesini önler.
- Demirin hücre içi transportunu kolaylaştırır.

Hücreye demir alımı ve Tf döngüsü şekil 2’de görülmektedir.



Şekil 2: Hücreye Demir Alımı ve Tf Döngüsü

2.5.1. Transferrin Reseptörü (TfR)

TfR; hücrelerin kanda demiri taşıyan protein olan Tf’i almasına izin veren, hücre zarlarına yerleşmiş bir proteindir. Matur ve diferansiye hücrelerin çoğunda TfR bulunmazken özellikle eritroid öncülleri, tümör hücreleri ve aktive lenfositler gibi demir gereksinimi yüksek olan hücrelerde yüksek oranda bulunur (31). İki çeşit TfR vardır. Birbirlerinden bağımsız hücrelerde yer alır ve ekspresyonları doku spesifiktir.

2.5.1.1. TfR1

TfR-1 in protein yapısı üç bölümden oluşur:

- a) Sitoplazmik bölüm (61 aminoasitlik amino terminal ucu)

- b) Transmembran bölüm (28 aminoasitlik)
- c) Ekstrasellüler karboksi-terminal bölüm (67 aminoasitlik)

Ekstrasellüler karboksi-terminal bölüme Tf bağlanır. TfR-1 özellikle immatür eritrositlerden, plasental dokulardan, karaciğer ve hızlı bölünen hücrelerden eksprese edilir.

2.5.1.2. TfR2

TfR-2 bir transmembran glikoproteinidir. Ekstrasellüler bölümü TfR-1 ile %66 oranında benzerlik taşır. Özellikle karaciğerde yüksek düzeydedir. Demiri bağlar ve hücrel demir alımında rol oynar. Tf'nin, TfR-2 ye affinitesi TfR-1 den fazladır (32).

Hücre içi demir düzeyleri düşük olduğu zaman TfR 'nün sentezi artar ve hücrenin daha fazla demir alması sağlanır. TfR sayısında aplastik anemi, myelodisplastik sendrom ve sekonder hemokromatoziste serum demir düzeyleri yükselmesine rağmen azalma olmadığı gösterilmiştir (33).

TfR'ne ait mRNA'nın yıkılması, TfR mRNA'sının 3-ucuna yerleşmiş demir yanıt elemanlarına (IRE), demir yanıt elemanı bağlayıcı proteinin (IRE-BP) bağlanması ile önlenir. Demir düzeyleri yüksek olduğu zaman, IRE-BP demiri bağlar ve mRNA'ya bağlanmaz, mRNA hızla yıkılır ve TfR'nün sentezini önler (34). Tf'ne bağlanmayan demir, farklı hücre reseptörlerince alınır veya hidroksi radikal oluşumuna neden olan olaylar başlatabilir (32).

2.5.2. Ferritin

Kandaki fazla demir, hemosiderin ve ferritin şeklinde vücudun tüm hücrelerinde özellikle karaciğer, retikuloendotelial hücreler ve kemik iliğinde eritroid öncül hücrelerinde depolanır (36). Karaciğerde apoferritin denilen büyük molekül ağırlıklı proteinle demirin birleşmesi depo demiri ferritini oluşturur. Plazma ferritin düzeyi vücut demir depolarının bir göstergesidir. Ferritinin molekül ağırlığı 440 kD'dur ve H (ağır) ve L (hafif) zincirlerinden oluşur. L zinciri 15 adet demir bağlayan hidrofilik rezidü içerirken H zinciri 7 adet hidrofilik rezidü içerir. H alt grubu 182 aminoasit

içerir ve geni 11 nolu kromozom üzerindedir. L altgrubu ise 174 aminoasit içerir ve geni 19 nolu kromozom üzerindedir (37). Sadece H zincirinin ferooksidaz aktivitesi vardır. Böylece ferröz demir ferrik forma dönüşür. Farklı organlar değişik oranlarda H ve L izoferritini içerir. Karaciğer ve dalak daha çok L zinciri içerirken, kalpte H zinciri daha fazladır. H zinciri daha çok demir kullanımı için, L zinciri daha çok depo demiri için kullanılır.

Hüresel demir metabolizmasından sorumlu iki protein olan TfR ve ferritinin ekspresyonları, intrasellüler demir tarafından post-transkripsiyonel düzeyde düzenlenir (38). Ferritin sentezi demir düzeyleri arttığı zaman gerçekleşir. Ferritine ait mRNA'nın 5'-ucu yakınında IRE bulunur ve IRE-BP adlı düzenleyici bir proteine bağlanabilmektedir. IRE-BP demir taşımadığı zaman IRE'ye bağlanır ve translasyonun başlamasını önler. Ayrıca hidrojenperoksit ve nitrikoksitin de IRP-IRE bağlanmasını arttırarak ferritin sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir. Demir düzeylerinin artıp IRE-BP'nin demir bağladığı zamanlarda bunun yapısı değişir ve ferritin mRNA'sı üzerindeki IRE'ye bağlanamaz, dolayısıyla mRNA translasyona uğratılır ve ferritin üretilir (34).

Yaklaşık her 1 mikrogram plazma ferritini 8 mg depo demiri içerir ve yaş, cinsiyete göre düzeyi değişir. Serum ferritin düzeyi vücuttaki toplam demir depo düzeyiyle doğru orantılıdır. DSÖ'ne göre ferritin 15 ng/ml den yüksek olmalıdır (39). Ferritin bir akut faz reaktanıdır. Demir eksikliğine işaret eden değeri < 10–12 ng/ml'dir (30). Serum ferritin düzeyi 10 ng/ml veya daha düşük düzeyde ise bu DEA için karakteristiktir. Fairbanks ve ark.'nın 73 hastada yaptığı bir çalışmada serum ferritin düzeyi 70 g/L altına düştüğünde kemik iliğindeki demir depolarının azaldığı gösterilmiştir. 50 yaşından büyük erişkinlerde serum ferritin düzeyi 50 g/L altına düştüğünde, demir eksikliği lehine düşünülmesi gerektiğini belirtmişlerdir (40). Ferritin katabolizması sonucu açığa çıkan demir vücut tarafından yeniden kullanılır.

Retikuloendotelial sistemde hücre içerisinde ferritin birikimi gerçekleşirse, proteinler agregre olarak hemosiderin formunu oluştururlar. Hemosiderin, ferritinin kısmen deproteinize olmuş agregatıdır. Retikuloendotelial sistem hücrelerinde, hem ferritinden hem de hemosiderinden demir salınımı gerçekleşmektedir fakat hemosiderinden gerçekleşen salınım oldukça yavaştır (40).

Hem yapımı için gerekli demir mitokondriye mitokondriyel membrandan mitoferrin (SLC25A37) aracılığıyla alınır. Yeni tanımlanmış transmembran protein olan mitoferrin, protoporfirin IX'a demir sağlayan ferroselataza demir sağlamada kritik öneme sahiptir (41).

Normal koşullarda eritrosit prekürsörleri hem yapımı için gerekenden fazla protoporfirin sentez ederler ve bu fazlalık hücrede yaşamı boyunca kalır, buna serbest eritrosit protoporfirini (FEP) denir. Kandaki hipokromik hücrelerin oranı ile korelasyon gösterir ve demir eksikliğinde aneminin ağırlığından çok süresi ile ilgili bir artma olur (30).

2.6. Anemi

Dünyada en sık görülen kan hastalığıdır. Dünya nüfusunun yaklaşık üçte biri etilenmektedir. En sık neden de nütrisyonel demir eksikliği ve artmış demir ihtiyacıdır. Süt çocukluğu dönemindeki çocuklar ve üreme çağındaki kadınlar en çok etkilenen gruptur.

Anemi, kan Hgb konsantrasyonunda, hematokritte (Hct) veya mililitredeki eritrosit kitlesinde azalma olarak tanımlanır ve oksijen taşıma kapasitesinde ve dokulara ulaşan oksijen miktarında azalma ile sonuçlanır (42, 43, 44).

Normal Hgb, Hct ve MCV değerleri her yaş ve cinsiyet grubunda farklıdır. Bu nedenle anemi tanısı koymak için her hasta için ayrı değerlendirme yapılır ve normal değerlerin 2 standart deviasyon altı anemi olarak kabul edilir (43). Bu yaklaşım genelde pratik ve etkili olmasına rağmen siyanotik konjenital kalp hastalıklarında veya oksijene afinitenin arttığı bazı Hgb hastalıklarında yanıltıcıdır. Fonksiyonel anemi olarak adlandırılan bu durumda hastanın Hgb değeri doku hipoksisi bulunmasına rağmen normal ve hatta yaşına göre yüksek bulunur (43,44).

Çocuklarda yaşa göre normal ortalama hematolojik değerler tablo 2 de gösterilmektedir.

Tablo 2: Çocuklarda yaşa göre normal ortalama hematolojik değerler

	Hemoglobin (g/dl)		Hematokrit (%)	
	Ortalama	Alt sınır	Ortalama	Alt sınır
Kord kanı	16.8	13.7	55	45
0-2 hafta	16.5	13.0	50	42
2 hafta-3 ay	12.0	9.5	36	31
4 ay-5 ay	11.5	9.5	35	29
6 ay-2 yaş	12.5	11.0	37	33
2-4 yaş	12.5	11.0	38	34
5-7 yaş	13.0	11,5	39	35
8-11 yaş	13.5	12.0	40	36
12-14 yaş				
Kız	13.5	12.0	41	36
Erkek	14.0	12.5	43	37
15-17 yaş				
Kız	14.0	12.0	41	36
Erkek	15.0	13,0	46	37
18-49 yaş				
Kız	14.0	12.0	42	37
Erkek	16.0	14.0	47	40

2.6.1. Demir Eksikliği Anemisi

Demir eksikliği anemisi, kemik iliğinde eritropoezin sürdürülebilmesi için gerekli olan demirin yetersizliğinin sebep olduğu anemi olarak tanımlanmaktadır.

2.6.1.1. Demir Eksikliği Anemisinin Sıklığı

DEA dünyada ve ülkemizde en sık görülen anemi nedenidir (46). DSÖ'ne göre demir eksikliği ve DEA dünyadaki en sık beslenme sorunudur. Mental performans üzerindeki önemli ve kalıcı olabilecek etkileri nedeniyle önemli toplum ve halk sağlığı sorunudur.

En sık 6-24 ay arasındaki süt çocuklarında, çocuklarda, adolesanlarda, gebe ve doğurganlık çağındaki kadınlarda görülür (47,48).

Ülkemizde çocukluk çağında yaş gruplarına göre anemi nedenlerini inceleyen kapsamlı araştırmalar olmamasına karşın, DSÖ'nün 1960-1983 yılları arasındaki istatistiklerinde ülkemizin de içinde bulunduğu coğrafi bölgede 0-5 yaş arası 5947 kişilik vaka taramasında %63 oranında, 6-12 yaş arası 907 kişilik vaka taramasında

%39 oranında anemi saptanmıştır (49). Yurdumuzda İzmir’de 1000 olgu üzerinde yapılan bir çalışmada 6 ay-15 yaş arası çocuklarda DEA prevalansı % 30.1 olarak bulunmuştur. DEA en sık 13-24 ay yaş grubunda ve % 44.4 olarak tespit edilmiş olup bu grubun içinde de % 60 oranıyla 13 aylık çocuklarda pik yaptığı belirlenmiştir. DEA saptanan olguların % 55.2’si orta ($8 \leq \text{Hgb} < 10 \text{ g/dl}$), % 15.6’sı ise ağır ($\text{Hgb} < 8 \text{ g/dl}$) anemi olarak saptanmıştır (50). Manisa’da Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları ABD’de 1656 olgu ile yapılan bir çalışmada, hastaneye başvuran ve yaşları 2 ay-15 yıl arasında değişen (ortalama 33.8 ay) çocuklarda DEA sıklığı % 17.8 olarak bulunmuştur. DEA en sık 7-24 ay arasında olup (% 31.7), bunu 3-5 yaş grubu (% 20.3), 6-11 yaş grubu (% 8.3) ve 2-6 aylık grup (% 7.5) izlemektedir. En düşük DEA sıklığı 12-15 yaş grubunda (% 6.8) bulunmuştur. Altı yaş altındaki çocuklarda DEA prevalansı % 22.6, 6-15 yaş arası çocuklarda % 7.8 olarak bulunmuştur (51).

DSÖ’nün araştırmasına göre demir eksikliği bebeklerin %20-25’ini, dört yaşına kadar olan çocukların %43’unu ve 5-12 yaş arasındaki çocukların %37’sini etkilemektedir (52).

DEA prevalansı; sosyoekonomik düzey, anne sütü ile beslenme süresi, inek sütünün beslenmeye katıldığı yaş ve demirden zengin formül sütlerin kullanım sıklığı gibi nedenlere bağlı olarak ülkelerarası ve ülke içinde bölgeler arasında değişik olarak saptanabilir (53). Yukarıda bahsedilen çalışmalardan da anlaşıldığı gibi DEA ülkemizde dikkat çekecek kadar sık ve yaygın görülmektedir.

2.6.2. Demir Eksikliği Anemisinin Aşamaları

DEA deki klinik ve laboratuvar bulguları değişik devrelerde farklılıklar gösterir.

1. Prelatent demir eksikliği devresi: Demir depoları azalmış veya yoktur, serum demir konsantrasyonu, Hgb ve Htc normaldir. Kemik iliği depo demirinde azalma veya yokluğun gösterilmesi ve serum ferritininin düşük olması ile demir eksikliğinin bu evresi tanınır.

2. Latent demir eksikliği devresi: Depo demirine ek olarak serum demiri ve Tf saturasyonu azalmaktadır. Hgb ve Hct miktarları normaldir.

3. **Demir eksikliği anemisi devresi:** Depo demir, serum demiri, Tf saturasyonunun yanı sıra Hgb ve Htc değerleri de azalmıştır ve aneminin ortaya çıktığı evredir. Bu devrede eritrositlerde mikrositoz ve hipokrominin görüldüğü belirgin DEA gelişir (46).

2.6.3. Demir Eksikliği Anemisi Etyolojisi

Demir eksikliği anemisine en sık nütrasyonel faktörler neden olmakla birlikte çok çeşitli nedenlerle oluşabilmektedir. En önemli nedeni diyetteki eksiklik ve hızlı büyümeye bağlı artan ihtiyaçtır. Hayatın ilk yılında vücut ağırlığı 3 katına çıkarken Hgb kitlesi 2 katına çıkmaktadır. Bunların dışında erişkinde demir ihtiyacının %5'i diyetten, geri kalanı eritrosit parçalanmasından karşılanırken, süt çocuklarında kan volümünün büyüme sırasındaki hızlı artışı nedeni ile yıkılan eritrositlerden gelen demir %70, diyetle alması gereken %30 dur. Yetersiz anne sütü alımı, inek sütü veya demir içeriği az olan mamaların kullanımı önemli nedenlerdendir. Kan kaybı ve azalmış demir absorpsiyonu diğer önemli nedenler olarak sayılabilir. Çocuklardaki intestinal kanamalar çoğu zaman mikro tipte sessiz kanamalardır. Trombosit agregasyonunu inhibe eden ilaçlar kanama zamanını uzatarak kanamaya eğilimi artırır. Yenidoğan sarılığı nedeni ile yapılan kan değişimlerinde önemli demir eksikliği nedenini oluşturur. Özellikle küçük bebeklerden tetkik amacı ile alınan kan örnekleri ciddi boyutta anemi ve demir eksikliğine hazırlayıcı faktör olabilir. Tetkik amacı ile sık kan alınan bebeklerden alınan kan miktarları not edilmelidir.

Çocuklarda demir eksikliği gelişmesine en sık katkıda bulunan faktörler şunlardır;

1-Diyete bağlı alım azlığı (54,46)

2-Artmış demir ihtiyacı

- Düşük doğum ağırlıklı bebekler
- Prematurelik
- Adolesan dönemi
- Hızlı büyümenin olduğu süt çocukluğu dönemi
- Siyanotik konjenital kalp hastalığı

3-Demir depolarının yetersizliği

a-Prenatal-perinatal dönem

- Fetomaternal kanama
- Plasenta previa
- İkizden ikize kanama
- Transplasental, retroplasental, intraplasental kanama
- Umbilikal kord ruptürü

b-Postnatal dönem

- Gastrointestinal sistem
 - Gastrointestinal kanama
 - İnek sütü allerjisi
 - İntestinal parazitler (N. Amerikanus, A. Duedonale vb.)
 - İlaçlara bağlı gastrik kanama (Asetil salisilik asit, steroidler, indometazin, fenilbutazon, propiyonik asit türevleri)
 - Anatomik lezyonlar (varis, hiatal herni, ülser, ileit, meckel divertikülü, barsak duplikasyonları, hereditör telenjiyektazi, polip, hemoroidler, allerjik gastroenteropati)
- Akciğerler
 - Pulmoner hemosiderosis
 - Good Pasture sendromu
 - Ig A eksikliğinin eşlik ettiği defektif demir mobilizasyonu
- Böbrekler
 - Hematüri
 - Travmatik hemolitik anemi
 - Nefrotik sendrom (üriner Tf kaybı)
 - Hemosiderinüri
 - Kronik intravasküler hemoliz (paroksizmal nokturnal Hgbüri, paroksizmal soğuk Hgbürisi)
- Ekstrakorporal
 - Travma
 - Hemodiyaliz
 - Sık kan dönörlüğü

- Burun kanamaları
- Menstruel kanamalar
- İnflamasyon/infeksiyon
- İntestinal demir uptake defektleri (TMPRSS6 mutasyonları v.s.)

4-Azalmış demir absorpsiyonu

- Zayıf biyoyararlanım (absorpsiyonlar; hem Fe²⁺>Fe³⁺)
- Antiasit tedavisi/yüksek gastrik Ph
- Tannin, fitat
- Diğer metaller (Co, Pb)
- Absorbtif epitelin kaybı/disfonksiyonu
 - Malabsorpsiyon sendromları
 - Kronik diyareler
 - Gastrektomi sonrası
 - İnflamatuvar barsak hastalıkları

5-Eritrosit prekursorlerinin yetersiz prezentasyonu

- Atransferrinemi
- Anti-transferrin reseptor antikorları

6-Anormal intraselluler trasport/dağılım

- Eritrosit demir taşınım defektleri (dmt1 mutasyonları, v.s..)
- Hem biyosentez defektleri

2.6.4. Demir Eksikliği Anemisinin Klinik Bulguları

Demir eksikliği yalnızca anemiyle belirlenen hematolojik bir hastalık değil, birçok fonksiyonu etkileyen sistemik bir bozukluktur. Demir eksikliği anemisinde tüm anemilere sekonder genel klinik bulgular olabileceği gibi hiçbir klinik bulgu olmaksızın rutin laboratuvar incelemeleri sırasında da tanı konulabilir. Demir eksikliği anemisinde birçok sistemle ilgili bulgular olabilir (33).

Kanda Hgb azalınca cilt altında 1 cm² alana düşen Hgb kırmızılığının yoğunluğu azalır. Derinin kırmızı renk tonunda azalma olur. Aneminin en sık bulgusu olarak solukluk görülür. Soluk denilen çocukta kansızlık en kolay kılcal dolaşımın çok, melaninin az olduğu dudaklardan anlaşılabilir (55). Hafif ve orta şiddetli demir eksikliğinde artmış 2,3 difosfogliserat seviyeleri ile oksijen ayrışma eğrisindeki kayma gibi telafi mekanizmaları o kadar çok etkili olabilirler ki etkilenen çocuklar huzursuz olsalar bile anemi belirtileri çok aza inebilir (56). DEA için spesifik semptom ve bulgular olarak kabul edilen pika, kaşık tırnak ve mavi sklera üçlüsünden bir veya daha fazlası olabilir. Aneminin derinleşmesiyle bebeklerde iştahsızlık, huzursuzluk, daha büyük çocuklarda, halsizlik, yorgunluk, çarpıntı, tinnitus, baş ağrısı, egzersiz performansında azalma en belirgin bulgular olmaya başlar. Bu klinik semptomlar aneminin meydana geliş süresine ve derecesine bağlı olarak değişkenlik gösterir. Kalp ve akciğer sistemi normal ve Hgb yapısı normal olan bireyler Hgb 7 g/dl'ye kadar anemiye iyi dengelerler. Hgb seviyesi 5 gr/dl'nin altına düştüğünde huzursuzluk ve anoreksi belirgin hale gelir. Taşikardi ve kardiyak dilatasyon olur ve sistolik üfürümler sıkça duyulabilir.

Kronik demir eksikliği anemisinde dokulardaki fonksiyonel demirin azlığına bağlı epitelyal hücrelerin yapım ve yıkımına bağlı olarak oluşan angular stomatit, dil papillalarında silinme, glossit, gastrik atrofi, özefageal striktür gibi bulgular daha çok erişkinlerin DEA'nde görülür.

Kronik demir eksikliği olan süt çocuklarında boya göre daha düşük tartılı oldukları demir ilavesi ile büyümenin normale döndüğü gösterilmiştir. Kronik demir eksikliği anemisinde aynen hemolitik anemilerde olduğu gibi kafa kemiklerinde diplo mesafesinde genişleme görülür (33). Hepatosplenomegali %10-15 vakada olabilir.

Demir eksikliğinde çocukların immün sisteminin olumsuz yönde etkilendiğini gösteren pek çok çalışma vardır. Beyaz küre sayısı ve T hücresi işlevlerinde bozulmada demir eksikliği ile ilişkili bulunmuştur (119). Demir eksikliğinde nötrofil ve lenfosit fonksiyon bozulduğunu gösteren deneysel çalışmalar vardır. Lökosit transformasyonunda azalma, lökosit myeloperoksidazında ve öldürme fonksiyonlarında azalma mevcuttur. Bu bozukluklara demir içeren ribonükleotid redüktaz yetersizliği sonucu DNA sentezinde azalmanın yol açtığı düşünülmektedir.

Nötrofil fonksiyon bozuklukları arasında Nitro Blue Tetrazolium testinde (NBT) bozulmanın demirli enzimlerden myeloperoksidazın azalmasıyla olduğu düşünülmektedir. Demir eksikliği olan çocuklarda enfeksiyonlar daha sık ortaya çıkabilmektedir (120).

Hücrel immünitede azalma yanında enfeksiyonlara dirençte azalma, motor gelişmede gecikme, nöropsikolojik bozukluklar ve davranış bozuklukları da demir eksikliği anemisinde tarif edilen patolojik bulgulardandır. Hafif derecede fakat uzun süreli oksijen yetersizliği çocuklarda büyüme ve gelişme geriliği ile sonuçlanır (55).

Demir eksikliğinin, anemi olmadan bile bebek ve adolesanlarda dikkat süresini, uyanıklığı ve öğrenmeyi etkilediği birçok çalışmada gösterilmiştir.

Bazı klinik bulgular demirin enzimatik reaksiyonlardaki rolü ile alakalı olabilir. Demire bağımlı bir enzim olan monoaminoksidaz santral sinir sisteminde nörokimyasal reaksiyonlarda hayati bir role sahiptir. Demir eksikliği katalaz ve sitokrom enzim aktivitelerinde de düşüşe yol açar. Demir alımı nefes tutma nöbetlerinin sıklığının azalmasına neden olabilir, bu da demir eksikliğinin ve aneminin olaydaki rolüne işaret eder (56). Süt çocuklarında görülen çabuk ağlama, korku, çekingenlik, anneye aşırı düşkünlük gibi davranış bozuklukları demir tedavisi ile kısa surede düzelerken kognitif fonksiyon bozukluğunun, anemi düzelmiş olmasına karşın yıllar sonra da devam ettiği bildirilmiştir (57).

Bazı çalışmalarda demir eksikliğinin tiroid metabolizması üzerine de etkileri olduğu, tiroid hormon sentezinin başlangıç basamaklarını katalizörü olan tiroid peroxidaz enziminin demire bağımlı olduğu bildirilmiştir. Ayrıca demir eksikliğinin tiroid hormon metabolizmasının santral sinir sistemi kontrolünü de etkilediği belirtilmiştir (58).

2.6.5. Demir Eksikliği Anemisinin Sistemler Üzerinde Etkisi (11)

1. Gastrointestinal sistem

- Anoreksi (Büyüme geriliği, persantillerde gerilik)
- Pika, pagofaji
- Atrofik glossit, anguler stomatit
- Disfaji

- Özefageal webler
- Mide asitinde azalma
- Eksudatif enteropati (Gastrointestinal protein, albümin, immünglobülin, bakır, kalsiyum ve eritrosit kaybı)
- Malabsorbsiyon (Yalnız demir veya jeneralize malabsorbsiyon)
- Sitokrom oksidaz ve süksinik dehidrogenaz aktivitesinde azlık
- Disakkaridazlarda azalma ve anormal laktoz tolerans testi
- İntestinal permeabilite indeksinde artış

2. Santral sinir sistemi

- İrritabilite, yorgunluk
- Mental ve motor gelişme testlerinde gerilik
- İletim bozuklukları, algılama fonksiyonlarında azalma
- Nefes tutma nöbetleri
- Papil ödemi

3. Kardiyovaküler sistem

- Kardiyak output ve kalp atım hızında artış
- Kardiyak hipertrofi
- Plazma volümünde artış, kalp yetmezliği

4. Kas-iskelet sistemi

- Miyogloblin ve sitokrom-C'de azalma
- Fiziksel performansta azalma, egzersiz intoleransı
- Radyolojik olarak diplo mesafelerinde genişleme

5. İmmünolojik sistem

- Enfeksiyonlara eğilimin artması

Klinikte demir tedavisi ile akut hastalık sıklığında azalma, iyileşme hızında artma; demir eksikliğinde solunum yolu hastalıklarında artış görülür.

Laboratuar olarak ise,

- Lökosit transformasyonunda azalma
- Lökosit myeloperoksidazında ve öldürme fonksiyonlarında azalma
- Cilt hipersensitivitesinde azalma

6. Hücresel değişiklikler

A. Eritrositler

- Etkisiz eritropoez
- Eritrosit yarı ömründe azalma
- Otohemolizde artış
- Eritrosit rijiditesinde artış
- Sülfidril inhibitörlerine artmış hassasiyet
- Hem yapımında, $-\gamma$ ve $-\alpha$ globulin sentezinde azalma
- $-\alpha$ globulin monomerlerinin eritrosit membranında presipitasyonu
- Glutasyon peroksidaz ve katalaz aktivitesinde azalma
- Glikoliz hızında artış
- NADH-metHgb redüktazda artış
- Eritrosit glutamik oksaloasetik transaminazında artış
- Serbest eritrosit protoporfirininde artış
- Kemik iliği hücrelerinde DNA ve RNA sentezinde azalma

B. Diğer dokular

- Hem içeren enzimlerde azalma (Sitokrom C, sitokrom oksidaz)
- Demir içeren enzimlerde azalma (Süksinik dehidrogenaz, akonitaz)
- Monoamin oksidazda azalma
- Üriner norepinefrin ekskresyonunda azalma
- Tirozin hidroksilasyonunda azalma
- Hücresel büyüme, DNA, RNA ve hücre proteinlerinde değişiklikler
- Kısa süreli demir azlığını takiben persistan beyin demir noksanlığı
- Plazma çinko düzeyinde değişiklikler

2.6.6. Demir Eksikliği Anemisinde Laboratuvar Bulguları

Demir eksikliği progresif olarak ilerlediğinde biyokimyasal ve hematolojik bulgular ortaya çıkar. Öncelikli olarak doku demir depolarını yansıtan kemik iliği hemosiderini kaybolur.

Enflamatuvar bir hastalık olmadığında depo demir proteini olan ferritinin serum seviyeleri vücut demir depolarını rölatif bir şekilde doğru olarak yansıtır. Normal değerleri yaşa göre değişmekle birlikte azalmış ferritin seviyeleri, demir eksikliğine eşlik eder (59). Demir eksikliğinde ilk bulgu serum ferritin düzeyinin 12 ng/ml'nin altında oluşudur. İkinci aşamada serum demiri azalırken (<30 µg/dl), serum demir bağlama kapasitesi (SDBK) artar (>350 µg/dl) ve transferrin saturasyonu (TSI) düşer (<% 15). TSI, %10-15 düzeylerine indiğinde Hgb sentezi için demir olmadığından, FEP olarak adlandırılan hem prekürsörleri artış gösterir (60).

DEA oluştuğunda, eritrositlerin normalden daha küçük (mikrositer) ve içlerindeki Hg azalmış (hipokrom) olduğu dikkati çeker. Bu morfolojik değişikliği en iyi MCV, ortalama eritrosit hemoglobin (MCH) ve ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), yaşa göre normal değerlerinin altına düşerek yansıtır.

DEA'de MCV<80 fl olmakla birlikte yaş ve cinsiyete göre değerlendirilir (61).

MCV'nin alt sınırı (fl) =70+yaş (yıl) şeklinde hesaplanabilir.

MCH, normal değeri 29±2 pikogramdır. Demir eksikliği anemisinde MCH düşer.

Yaşa göre Hgb, Hct ve MCV değerleri tablo 3 de gösterilmektedir.

Tablo 3: Yaşa ve Cinsine Göre Hgb Hct, MCV Değerleri (62)

Yaş (yıl)	Hb (g/dl)		Hct (%)		MCV (fl)	
	Ortalama	Alt sınır	Ortalama	Alt sınır	Ortalama	Alt sınır
0,5-1,9	12,5	11	37	33	77	70
2-6	12,5	11,5	37	34	81	75
6-12	13,5	11,5	40	35	86	77
12-18 K	14	12	41	36	90	78
12-18 E	14,5	13	43	37	88	78

DEA tanısında yaşa göre serum ferritin, TSI, FEP değerleri tablo 4 de gösterilmektedir.

Tablo 4: DEA Tanısında Yaşa Göre Serum Ferritin, TSI, FEP Değerleri (63)

Yaş (Yıl)	Serum Ferritin(ng/ml)	TSI (%)	Eritrosit Protoporfirini(µg/dl RBC)
0.5-4	< 10	< 12	> 80
5-10	< 10	< 14	> 70
11-14	< 10	< 16	> 70
≥ 15	< 12	< 16	> 70

Demir eksikliği laboratuvar bulguları tablo 5 de gösterilmektedir (69).

Tablo 5: Demir Eksikliği Laboratuvar Bulguları

Testler	Normal	Azalmış demir depoları	Demiri eksik eritropoez	DEA
Demir depoları	Normal	Azalmış	Boşalmış	Boşalmış
Eritrosit doku demiri	Normal	Normal	Azalmış	Azalmış
Kemik iliği demir depoları	+3	0 veya +1	0	0
Serum ferritin (µg/L)	50-200	<20	<15	<15
TDBK(µg/dl)	300-360	>360	>380	>400
Serum demiri (µg/dl)	50-150	Normal	<50	<30
Transferrin saturasyonu(%)	30-50	Normal	<30	<10
Kemik iliği sideroblastları(%)	40-60	Normal	<10	<10
Eritrosit protoporfirini(µg/dl)	30-50	Normal	>200	>200
Eritrosit morfolojisi	Normal	Normal	Normal	Hipokrom-mikrositer

Eritrosit dağılım genişliği (RDW) anizositozun göstergesidir. Normal değeri %13,4 ±1,2'dir. DEA'de artmıştır (RDW>%15) ve diğer hipokrom mikrositer anemilerden ayırıcı tanıda büyük önem taşır. Talasemi minör, enfeksiyon ve enflamasyon durumunda RDW normaldir.

Periferik kan yaymasında karakteristik olarak eritrositlerde hipokromi, mikrositoz, poikilositoz ve anizositoz görülür. Bu bulgular Hgb 10 gr/dl'nin altına düştüğü zaman belirgin olur. Retikülosit sayısı normal veya hafif artmıştır. Ciddi DEA'nde %3-4'e kadar artabilir (60). Lökosit sayısı normal olmakla birlikte %20'sinde hafif bir lökopeni görülebilir. Trombositoz veya trombositopeni görülebilmekle birlikte; genellikle trombositoz vardır (70).

Kemik iliği aspirasyonunda hipersellülarite ve eritroid öncülerinde artış görülebilir. Bunun yanında retikulum hücreleri ve normoblastlarda prusya mavisi ile boyanan demir çok düşük miktardadır veya hiç saptanamaz. Bu test tanıda altın standart kabul edilir (14).

2.6.7. Demir Eksikliği Anemisinde Tedavi

DEA tedavisinde amaç, demir eksikliğine neden olan durumun araştırılıp ortadan kaldırılması olmalıdır. DEA tedavisinde demir, oral veya parenteral verilebilir. Tedavide ekonomik ve yan etkileri az olması nedeniyle oral tedavi tercih edilir. Oral demir tedavisinde demir sülfat, glukonat, fumarat gibi ferröz demir tuzları kullanılır (64). Ferrik demir tuzları, absorpsiyonu az ve inefektif olduğu için tercih edilmemektedir (25). Oral demir preparatlarının elementer demir olarak, 4-6 mg/kg/gün, 3'e bölünmüş dozda, aç karına, 6-12 hafta verilmesi yeterli olmaktadır (65). Yeterli demir tedavisi verilirken aile hastanın diyeti konusunda eğitilmeli ve süt tüketimi tercihen 500 ml/gün veya daha az miktara kadar kısıtlanmalıdır. Bu azalma ikili etki yapar, demirden zengin yiyeceklerin miktarı artar ve inek sütü protein intoleransına bağlı kan kaybı azalır (59).

Efektif demir tedavisi sonucu Hgb yükselme hızı yaklaşık 0,1-0,2 g/dl/gün, 3-4 haftada yaklaşık 2 g/dl olmaktadır.

Parenteral tedavinin tercih edildiği durumlar; oral tedaviyi tolere edemeyenler, aneminin hızla düzeltilmesi gereken durumlar, GIS emilim bozukluğu, oral alımdan fazla gastrointestinal demir kaybı ve akut diyare durumlarıdır.

Eritropoetin tedavisi alan kronik böbrek yetmezliği olan hemodiyaliz hastalarında gelişen fonksiyonel demir eksikliği tedavisinde parenteral demir verilmesi daha anlamlıdır. Parenteral tedavide en çok iv veya im yolla verilebilen demir dekstran tercih edilmektedir.

Parenteral demir gereksinimi şu formülle hesaplanır (25).

(Normal Hgb - Hasta Hgb/100) X kan volümü (ml) X 3,4 X 1,5

Parenteral demir tedavisinde anafilaktik reaksiyon (%0,5-1) gelişebilir. Ateş, bulantı, kusma, yüzde kızarma, titreme, ürtiker, lenfadenopati, atralji, lokal reaksiyon

sık görülen yan etkilerdir. İv demir preparatları, resüsitasyon malzemelerinin hazır olduğu sağlık kuruluşlarında, yakın monitörizasyonla verilmelidir (25).

Komplikasyonsuz DEA'nde kan transfüzyonunun yeri yoktur. Ancak ani kan kayıpları, Hgb seviyesinin hızla yükseltilmesi gereken dekompanze kalp yetmezliği, angina, ciddi pulmoner hastalık ve serebral iskemide gerekebilir.

Tedaviye başlanması ile hastalarda gözlenen huzursuzluk, iştahsızlık gibi bulgular hızla kaybolur ve kilo alımı başlar (66). Oral demir tedavisine yanıt, intrasellüler demir enzimlerinin yerine konması, subjektif iyileşme, azalmış huzursuzluk, artmış iştah (12-24 saat), birincil kemik iliği yanıtı, eritroid hiperplazi (36-48 saat), retikülositozu (48-72 saat), Hgb artışını (4-30 gün) ve demir depolarının dolmasını (1-3 ay) içerir (59). Mikrositoz, 3-4 ay civarında düzelir. Demir depolarını doldurmak için tedaviye 3-4 ay devam edilmelidir (66). Epitelyal bozukluklar daha uzun sürede iyileşir. Orta ve hafif anemilerde retikülosit cevabı izlenmeyebilir(65).

2.6.8. Demir Eksikliği Anemisinden Korunma

Hayatın ilk yılında, anne sütü veya formüla sütle beslenme önerilmelidir. Anne sütündeki demir miktarı fazla olmamakla birlikte biyoyararlanımı yüksek olduğu için anne sütüyle beslenmenin önemi vurgulanmalıdır. Anne sütü yoksa litresinde 6-12 mg demir içeren formül mamalar tercih edilmeli, inek sütü önerilmemeli ya da mecbur kalınırsa günde 500 ml'den fazla verilmemelidir (66).

Diyette kırmızı et, balık ve demir emilimini kolaylaştıran C vitamini içeren besinler tavsiye edilirken, demir emilimini bozan çay, fitat ve fosfat verilmemelidir (25).

Çocuklarda DEA'ni önlemek için, term bebeklere 4. aydan itibaren 1 mg/kg/gün, prematürelere ise 2. aydan itibaren 2 mg/kg/gün demir verilmesi önerilmektedir. Bu önerilerle süt çocukluğu dönemindeki demir eksikliği prevelansının azalacağı ileri sürülmektedir (65). DDA bebeklerin profilaktik demir dozları Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6: Düşük Doğum Ağırlıklı Bebeklerde Profilaktik Demir Dozları

Demir Dozu (Ferröz sülfat)	Doğum Ağırlığı (g)
4 mg/kg	< 1000
3 mg/kg	1000-1500
2 mg/kg	1500- 2000

2.7. Bağışıklık Sistemi ve Hücre Yüzey Antijenleri

Doğal ve edinsel olmak üzere iki tip immün yanıt vardır. Doğal immün yanıt doğuştan mevcuttur ve bellek oluşturmaz. Bu gruptaki hücreler monosit, makrofaj, granülositler ve doğal öldürücü hücrelerdir. Edinsel immün yanıt ise vücuda giren belli bir patojene karşı özgül olarak, lenfositler tarafından geliştirilir. Etken patojene karşı gelişen yanıt özgüldür ve bellek oluşturur. Aynı patojenle ikinci karşılaşmasında bellek hücreler tarafından birinci yanıtla göre daha erken ve çok daha güçlü bir immün yanıt gelişir.

İmmün sistemin esas hücreleri lenfositlerdir ancak bu hücrelerin immün yanıt oluşturabilmeleri için diğer bazı hücrelerin yardımı gereklidir. Gerek lenfositler, gerek immün yanıtta rol alan diğer hücreler yüzeylerinde çeşitli moleküller taşırlar. Bu moleküllere, hücrelerin tanımlanmasında da kullanıldığı için yüzey belirteci adı verilir. Özgül monoklonal antikorlar kullanılarak bu moleküllerin varlığı ve özellikleri araştırılmaktadır. Bu moleküllere “Cluster of differentiation” adı verildiğinden bu yolla gösterilen moleküllerin başında CD harfleri kullanılmaktadır. Bunların büyük bir kısmı reseptördür ki antijene özgül olabilir, Ig molekülünün Fc kısmına, kompleman komponentlerine, çeşitli hücre ya da yüzeylere karşı olabilir. Bazı belirteçler tek bir hücrede (CD3) veya bu hücrenin gelişmesinin belirli bir döneminde ortaya çıkar (T hücrede CD25). Bir kısmı birkaç farklı hücre tipinde bulunabilir, bazıları da hücre aktivasyonu sonucu belirgin hale gelir ve sonra tekrar kaybolur (T hücrelerde HLA-DR antijenleri) (67).

Lenfositler normalde total kan hücrelerinin %20-40’ını oluştururlar. Kemik iliğinde, lenfoid kök hücreleri tarafından yapılırlar. Periferik dolaşımda basit

boyalarla lenfositler birbirinden kolaylıkla ayrılamaz. Bir kısmı daha küçük, sitoplazması ince, koyu çekirdekli hücreler olarak görünür. Bunlar T ve B lenfositlerden oluşur. Diğer bir grup daha büyük, sitoplazmalarında azurofilik granüller bulunan hücrelerdir. Bunlar doğal NK hücrelerdir. Bunlara büyük granüllü lenfositler adı da verilir. Kemik iliğinde gelişimlerini tamamlayan lenfositler T ve B lenfositler olarak iki gruba ayrılır.

T lenfositler kemik iliğinden çıktıktan sonra gelişmelerini tamamlamak için timusa giderler. B lenfositler ise dolaşıma karışır (68). B hücresinin tanınmasında rol oynayan, bu hücre için özgül belirleyiciler CD19, CD20 ve CD22'dir. B hücrelerinin vücuda giren antijeni tanımları özgül reseptörleri ile olur. Bu reseptörler yüzey immünglobinlerdir. T lenfositler kemik iliğinden çıktıktan sonra timusa giderek eğitimlerini burada tamamlarlar. Timustan çıkan T lenfositler kan ve dokulara dağılırlar. Bu hücrelerin antijeni tanıyabilmeleri için yüzeylerinde protein yapısında reseptörleri vardır ve buna T hücre reseptörü (TCR) adı verilir. T hücreler bu reseptörleri aracılığıyla diğer immün yetenekli hücrelerle ilişki kurabilir. Hücre dışından aldıkları sinyalleri hücre içine naklederler. T hücrelerinin oluşturduğu yanıtta hücre hücre ilişkisi önemlidir. Bu yüzden yanıt hücresel immün yanıt olarak adlandırılır. T hücreler salgıladıkları lenfokinlerle de diğer hücreleri etkiler. T hücrelerinin antijeni tanıyabilmesi ve reaksiyon verebilmesi için yardımcı hücrelere gereksinimi vardır. Antijen sunan hücre adı verilen makrofajlar ya da dendritik hücreler antijeni kendi içlerine alırlar, küçük peptidlere parçalar ve kendi yüzeylerinde T hücresine sunarlar. Ancak T lenfositlerin bu işlenmiş peptidleri tanıyabilmesi için bunların doku uygunluk antijenleriyle birlikte sunulması gereklidir (71).

Timusta T hücre gelişiminin erken safhasındaki timositlerde CD2 ve CD7 proteinleri, daha sonra CD3 molekülü bulunur. CD3, CD2 ve CD7 belirleyicilerini taşıyan hücre T lenfosit olarak tanınır. Bu üç belirleyici tüm T lenfositlerde bulunur. Bunun yanında lenfositin yüzeyinde fonksiyonlarını belirleyen CD4 ve CD8 molekülleri bulunur. T lenfositlerin farklı işlevleri vardır. Bazı T lenfositler B hücrelerini etkileyerek onların gelişip çoğalmasını sağlarken, öte yandan antikor izotip dönüşümünü de belirler. Bu hücrelere yardımcı T hücresi (Th) adı verilir. Bunlar yüzeylerinde CD4 molekülü taşıyan (CD4+CD8-) hücrelerdir. Bir grup T hücresi de virüs veya başka bir patojenle infekte olmuş hücreleri yok etmekte

görevlidir. Bunlara sitotoksik T hücreleri adı verilir. CD8 molekülü taşırlar (CD4-CD8+). Çok az sayıda CD4-CD8- hücre bulunur. Bunlara gamma-delta hücreleri ismi verilir. T lenfositlerin % 70'i CD4 molekülü taşıyan yardımcı hücrelerdir. Bunlar Th1 ve Th2 olmak üzere iki gruba ayrılırlar ve MHC Sınıf II antijenlerini tanırlar. Th1 hücreleri IL-2 ve IFN- γ salgırlarlar, Th2 hücreler ise IL-4, IL-5, IL-6 ve IL-10 salgırlarlar. T lenfositlerin %25 kadarı CD8 molekülü taşıyan sitotoksik veya baskılayıcı (supressor) hücrelerdir. MHC Sınıf I antijenini tanırlar (72).

T ve B lenfositlerden başka bir grup lenfosit büyük granüllü hücrelerdir. Bunlar virüsle infekte hücrelerin veya tümör hücrelerinin yüzeyindeki sinyalleri alır ve onları yok ederler. Bu hücrelerin tanıma mekanizmaları özgül değildir, bu nedenle sitotoksik T hücrelerinden farklıdır. Bunlara doğal öldürücü hücreler adı verilir. Dolaşımdaki lenfositlerin % 15'ini oluştururlar. CD16 ve CD56 belirleyicilerini taşırlar. Bu hücreler üzerlerinde bulunan Fc reseptörleri aracılığıyla antikolar tarafından uyarılabilirler. Bu şekilde ortaya çıkan sitotoksik etkiye, antikora bağımlı hücrel sitotoksosite (ADCC) adı verilir.

Mononükleer fagositik hücrelerin esas fonksiyonları fagositozdur. Dolaşan kan hücrelerinin % 1-6'sını oluştururlar. Bu hücreler kandaki monosit ve dokularda bulunan makrofajlardır. Kemik iliğinde yapılırlar, dolaşımda monosit, dokularda makrofaj olarak bulunurlar. Bu hücrelerin yüzeyinde lipopolisakkarid bağlayan proteinlere karşı reseptör vardır ve CD14 olarak bilinmektedir.

2.8. Nötrofil

Nötrofillerin çapları 12-15 μ m olup çekirdekleri ince kromatin iplikleri ile bağlanan 3-5 lob içerirler. Nükleusları beş' ten fazla loblanma gösteren nötrofilere hipersegmente nötrofiller adı verilir. Bu durum genellikle yaşlı nötrofillerde görülür. Bazı patolojik durumlarda ve genç nötrofillerde 5 ya da daha fazla sayıda lob içeren nükleus gözlenmektedir.

Nötrofil aktivasyonu ve enflamatuvar cevabın gelişmesi nötrofilin vasküler endotele adezyonu, kemotaktik sinyallere doğru ekstrasvazasyonu ve mikroorganizmaların eliminasyonu gibi birçok olaydan oluşmaktadır (73). Nötrofil fonksiyonu altı basamakta oluşmaktadır. Vasküler endotel boyunca hareket, endotel

sırası boyunca adherens, enfeksiyon bölgesine migrasyon (kemotaksis), mikroorganizmalara adherens, bakterinin içeri alınması (fagositoz) ve intrasellüler öldürmedir (74).

Kemotaktik stimulusa cevap olarak polimorfonükleer nötrofiller enflamasyon bölgesine göç ederler. Selektinler yolu ile endotel hücrelere yapışırlar. Daha sonra vasküler yapılardan ekstrasvazyona uğrarlar ve ekstrasellüler matriks komponentleri ile etkileşime girdikleri doku boşluklarına gelirler. İnfüri bölgesinde işgalci partiküllere bağlanırlar, onları fagosite ederler ve reaktif oksijen türleri yada lizozomal enzimleri ile degrade ederler.

$\beta 1$ ve $\beta 2$ integrinler nötrofil hareketine aracılık ederler (75).İntegrinler, hücre-hücre ve hücre-ekstraselüler matriks etkileşiminde rol oynar. Çok sayıda değişik hücre üzerinde bulunurlar. İntegrinlerin ligandlarıyla birleşmesi, hücre içi iskeletin yeniden şekillendirilmesine yol açar. Böylece hücre hareketi sağlanır. α ve β polipeptid zincirlerinden oluşurlar. Bu zincirlerin tipine göre başlıca 3 integrin alt sınıfı tanımlanmıştır. $\beta 1$ (CD29), $\beta 2$ (CD18) ve $\beta 3$ (CD61) zincirleri değişik α zincirleri ile birleşirler. $\beta 1$ yapısı taşıyan integrinlere genel olarak VLA molekülleri denir. $\beta 2$ zinciri taşıyan integrinler (LFA-1, Mac-1 ve p150,95) lökosit adezyonunda görevli önemli moleküllerdir. $\beta 3$ taşıyan integrinler ise başlıca nonlenfoid hücreler üzerinde bulunurlar. $\beta 1$ taşıyan integrinlerin başlıca görevi lökositlerin ekstraselüler matriks ve endotele bağlanmalarını sağlamaktır. Özellikle VLA-4'ün lenfosit trafiği ve lenfositlerin dokuya geçişlerinde çok önemli rolü vardır. VLA-4 hem endotel üzerindeki Vasküler Hücre Adezyon Molekülü-1 (VCAM-1) hem de ekstraselüler matriks proteini olan fibronektin ile etkileşebilir (76). $\beta 2$ taşıyan integrinlere genel olarak LFA-1 ailesi ya da lökosit integrinleri denmektedir. LFA-1 (CD11aCD18) molekülü, lenfositlerin yardımcı hücreler ve damar endoteline bağlanmalarını sağlar. Adezyona bağımlı lenfosit fonksiyonlarında önemli rol oynar. CD11b, CD18 ve CD11aCD18 molekülleri ise lökositlerin endotele yapışıp dokuya geçmelerinde görevlidir. Ayrıca fagositik hücreler üzerinde kompleman reseptörü olarak da görevleri vardır. İnaktif C3b denilen kompleman aktivasyon ürünü ile opsonize olmuş partikülleri bağlarlar (77).

Nötrofillerin adherensinde endotel hücre adezyon molekülleri P-selektin, E-selektin ve ICAM-1 önemlidir. Selektinler, lökosit-endotel ve trombosit-endotel

adezyonunda önemli yeri olan moleküllerdir. İnflamatuar yanıtın erken safhasında rol alırlar. Selektinlerin başlıca ligandı CD15 ve diğer bazı hücre yüzey molekülleri üzerinde bulunan sialyl Lewis X ve sialyl Lewis A'dır. L-selektin, nötrofil, monosit ve diğer miyeloid hücrelerle bazı lenfositlerin yüzeyinde bulunur. L-selektin, nötrofillerin inflamasyon bölgelerine toplanmaları için gerekli ilk adım olan nötrofil endotel adezyonunun erken safhasından sorumludur. L-selektin nonlenfoid endotel üzerinde henüz çok iyi belirlenmemiş ve sitokinlerle indüklendiği düşünülen bir yapıya bağlanırken, lenfoid endotelinde CD34, MAdCAM-1 ve GlyCAM-1'e bağlanır. E-selektin endotel hücrelerde eksprese olur. Endotel hücreleri IL-1, TNF- α , endotoksin ve substans P gibi maddelerle uyarıldığında 1-4 saat içinde E-selektin yapar ve hücrenin yüzeyinde eksprese eder. E-selektin, monosit, makrofaj ve granülositlerin yüzeyinde bulunan CD15 gibi yüzey glikoproteinleri ile ilişkili sLE_x şekerlerine bağlanarak lökositlerin endotele gevşek olarak tutunmalarını sağlar. P-selektin, trombositlerdeki yoğun granüllerin membranında ve endotel hücrelerindeki Weibel-Palade cisimciklerinin içinde bulunur. Endotelin, trombin, histamin, reaktif oksijen metabolitleri ile uyarılmasını takiben P-selektin hücre yüzeyine taşınır. Özellikle nötrofil yüzeyindeki sLE_x şekerlerine bağlanır. Endotel üzerindeki PAF'ın da katkısıyla P-selektin L-selektin ile birlikte inflamasyon sahasındaki lökositlerin endotel üzerindeki yuvarlanma ve gevşek tutunmalarından sorumludur. Bu nispeten gevşek tutunma lökositlerdeki β 2 integrinlerin endoteldeki ICAM-1'e daha sıkı tutunmasını hazırlayan ilk basamaktır (78). Bu safha olmazsa nötrofil, integrin-endotel, ICAM-1 bağlanması olmaz ve damar dışı dokuya geçiş gerçekleşmez.

Intraselüler adezyon molekülü-1 (ICAM-1, CD54), 505 amino asitlik bir transmembran glikoproteinidir. Hücre türüne göre, glikozilasyon derecesine bağlı olarak 80-114 kDa arasında değişen bir moleküler kütleye sahiptir. ICAM-1, immünoglobülin süpergen ailesinin bir üyesidir ve hücre-hücre ve hücre-matriks adezyonunda görev alır. ICAM-1, fibroblastlar, lökositler, keratinositler, endotelial hücreler ve epitelyal hücreler de dahil olmak üzere hücre yüzeyinde yapısal olarak mevcuttur ve oksidan faktörler, H₂O₂ gibi stres ve pro-enflamatuar sitokinler, IL-1 β , Tümör Nekroz Faktörü- α (TNF-a) ve IFN- γ , retinoik asit, virüs enfeksiyonu da dahil olmak üzere enflamatuar araçların, bir dizi yanıtı upregüle edilir. İnflamatuar bir olay yoksa hücre üzerinde bulunan ve istirahatteki endotelde çok zayıf olarak

eksprese edilen ICAM-1, inflamatuvar sitokinlerin etkisiyle endotel üzerinde hızla artarken, hücreler üzerinde de eksprese olur. Sitokinlere maruz kaldıktan 4 saat sonra endotel üzerinde ICAM-1 ekspresyonu artar ve 24 saat içinde maksimum düzeye ulaşır. Hücre yüzeyinde artmış ICAM-1 ekspresyonu immün sistem aktivasyonunun ve immün cevabın erken bir göstergesidir (79). Diğer hücre adhezyon molekülleri aksine, ICAM-1 hematopoietik ve non-hematopoietik hücreler tarafından eksprese edilir ve $\beta 2$ alt familyasına ait $\beta 1$ ve $\beta 2$ integrinler ile bağlanmada aracılık eder. ICAM-1 ile adezyona LFA-1 (CD11a/CD18) ve Mac-1 (CD11b/CD18) aracılık etmektedir.

Nötrofillerin fagosite edecekleri maddeleri tanımlarında antikor ve komplemanın önemli rolü vardır. IgG antikorunun Fc kısmına karşı farklı reseptörler bulunur. Bunlar CD64, CD32 ve CD16 dır. Aktif nötrofillerde kompleman reseptörleri CR1 (CD35, C3b) ve CR3 (CD11b, C3b1-MAC 1) ortaya çıkar.

Görüldüğü üzere nötrofil göçünün erken safhasını selektinler, daha sonraki safhasını ise integrinler ve immünglobulin süper ailesinin bazı bireyleri düzenleyip yürütmektedir (80).

Nötrofil fonksiyonlarının birçoğu sitoplazmik granül ve sekretuar veziküllerin mobilizasyon ve salınımını içeren bir kaskada bağlıdır. Bu depolar dolaşan nötrofilleri aktif katılımcıya dönüştüren enzimler, proteazlar ve birçok membran bağlı reseptör içermektedir. Granüllerin özelleşmiş kompartmanlara ayrılması nötrofillerin invazyona karşı çabuk ve düzenli cevap vermesini sağlar, böylece konakta yaygın bir hasar oluşması önlenmiş olur. Enflamatuvar mediatörlere maruz kalındığında nötrofil granülleri hiyerarşik bir tarz ile ekzositoza uğrarlar ve önceden depo edildikleri reseptörleri plazma membranı ile birleşir. Kontrol altında olmayacak şekilde enzimlerin ve toksik radikallerin salınımı ile karakterize abartılı bir enflamatuvar cevap doku injürisine ve organ yetmezliğine neden olabilir (73). Enflamatuvar cevap ve nötrofil fonksiyonunun regülasyonu enflamasyonun progresyonu açısından önemlidir. Bakteriyel enfeksiyonda dolaşıma yeni nötrofil katılması bakteriyel aracılı ajanlar; TNF- α , IL-1, LT-B4 ve platelet aktive edici faktör gibi endojen enflamatuvar mediatörlerden etkilenmektedir.

Nötrofiller, monositler ve lenfositlerde bazı reseptör moleküllerinin ekspresyonu bakteriyel enfeksiyonların potansiyel bir belirteci olarak araştırılmıştır.

Her ne kadar bu mekanizmalar dokularda nötrofil transitini kolaylaştırmak ve bakterileri öldürmek için geliştirilse de yan etki olarak dokulara zarar verme kapasitesine de sahiptir. Örneğin ciddi sepsis ve multiorgan yetmezlik aracılıklı doku hasarı mikrovasküler yatakta bulunan nötrofiller tarafından salınan reaktif oksijen mediatörleri ve proteazların salınımı ile olmaktadır. Akut inflamasyonda nötrofillerin neden olduğu zarar verici etki lokal defans mekanizmalarından daha ön plana çıkmaktadır.

Makrofajlar bazı sitokinleri de salgırlar. Bunlardan bazıları koloni stimüle eden faktörler (CSF), çeşitli büyüme faktörleri, IL-1 ve TNF- α dür. Bu son iki sitokin özellikle immün yanıtın oluşmasında etkili olur.

CD45; sitoplazmik tirozin fosfataz dönemine sahip olan ve bundan dolayı T hücre aktivasyonunda rol oynadığına inanılan bir hücre yüzey glikoproteinidir. CD45 in farklı formları T hücre, B hücre, timosit, mononükleer fagosit ve polimorfonükleer lökositlerin immatür ve matür formlarında eksprese edilmektedir. İnsan naif T hücrelerinin çoğu CD45'nin bir formu olan CD45R' nin farklı izoformları aynı fonksiyonu göstermektedir (81).

CD71; TfR1, demir yüklü Tf'den hücrese demir alımından sorumlu tip II transmembran homodimerik glikoprotein'dir (180 kDa). heme sentezi ve DNA sentezi, elektron taşıma, azot ve oksijen algılama dahil olmak üzere hücre büyümesi ve çoğalması için gerekli birçok metabolik süreçlerde, demiri kullanılabilir hale getirir (115).

CD71, olgunlaşan eritroid hücreler ve plasental trofoblast hücreleri gibi yüksek demir ihtiyacı olan ve bazal epidermis ve bağırsak epitel hücreleri gibi yüksek proliferasyon aktivitesi gösteren hücrelerden eksprese edilir. Aktif mononükleer hücreler yüksek oranda CD71 eksprese eder. Böylece DNA sentezi için ribonukleotid redüktaz enzimine gerekli kofaktör sağlanır (115).

2.9. Sitokinler

Sitokinler hücreler arasında sinyal ileten, peptid veya glikoprotein yapısında, molekül ağırlıkları 20-30 kDa arasında değişen, çözünebilir biyolojik mediyatörlerdir. Makrofajlar, monositler, lenfositler, fibroblastlar, endotelial

hücreler, tümöral hücre klonları gibi çok çeşitli hücre grupları tarafından sentezlenerek, immun ve inflamatuvar olaylara katılan hücrelerin etkinliklerini arttırmaları (82, 83).

Çok önemli bir grup mediatörü temsil eden ve başlıca lökositler arasında etkileşim yapan IL'ler, TNF- α ve hematopoetik büyüme faktörleri topluca sitokin adı altında toplanmışlardır. İnterlökinler ve immunostimulanlar; IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-12, TNF- α olarak, antiinflamatuvar sitokinler ise; TNF- α bağlayıcı protein, IL-4, IL-10, TNF- α TNF- β , IL-1Ra, IL-13 olarak adlandırılır. Etki şekilleri son derece kompleks olup, herhangi bir stimulasyonu takiben izole sitokin aktivasyonu değil, bir sitokin kaskadının aktivasyonu söz konusudur (83).

Organizmada endokrin (sistemik), parakrin (salındıkları hücre çevresindeki hücrelere), otokrin (salındıkları hücre üzerine) etki gösterirler. Karşılıklı etkileşerek ve pozitif-negatif feedback mekanizmaları ile birbirlerini regüle ederler. Bazı sitokinler ise kendi sentezini indükleyebilir. İhtiyaç halinde salınıp daha sonra kaybolurlar. Antijene spesifik olmamakla birlikte salgılanmaları ve hedef hücreleri etkilemeleri için antijenik stimülasyon gerekir. Bütün sitokinlerin hücreler üzerinde spesifik reseptörleri vardır ve bu reseptörlere yüksek afinite ile bağlanırlar. Bu bağlanma reseptör moleküllerde konformasyonel değişiklik yapar. mRNA transkripsiyonu ve yeni protein sentezi oluşur (84).

Reseptör molekülleri membrana bağlı veya serbest (soluble) halde de bulunabilirler. Reseptör antagonistleri spesifik sitokinlerin etkisini bloke edebilirler. Reseptör moleküllerinin sentezi sitokinlerin kontrolü altında bulunur. Fonksiyonlarına göre IL'ler, CSF, IFN- γ , TNF- α , büyüme faktörleri (GF) ve kemokinler olarak alt gruplara ayrılırlar.

2.9.1. İnterlökin-1

Aktive edilmiş mononükleer fagositlerden, dokuda bulunan monosit, makrofaj, lenfosit, nötrofil ve fibroblastlar tarafından sentezlenir. Son yıllarda IL-1 salınımını tetikleyen çok sayıda ajan bulunmuştur, bunlar antijenler, lenfokinler, çeşitli enflamatuvar ajanlar, mikroorganizmalar ve onların ürünleri olarak sıralanabilir (85).

Birbirleriyle agonist etkili IL-1 α ve IL-1 β olmak üzere iki ana izoformu bulunur. IL-1 α ve IL-1 β aminoasit düzeyinde sadece %27 oranında benzerlik göstermelerine rağmen ortak biyolojik fonksiyonlara sahiptirler. IL-1 β , IL-1 α 'dan 10-50 kat daha yüksek düzeyde sentezlenir ve pro-inflamatuar özellikleri daha güçlüdür.

Hedef hücreleri üzerinde IL-1 reseptör 1 ve 2 (IL-1R1 ve IL-1R2) olmak üzere iki IL-1 reseptörü bulunmaktadır. IL-1R1, IL-1'e bağlanılarak verilen cevapların çoğunluğuna aracılık ederken, IL-1R2 genellikle aldatıcı reseptör olarak işlem görmektedir. Fakat bazı çalışmalarda, IL-1R2'nin hücresele aktiviteyi yönlendirdiği ve enflamasyon bölgesinde IL-1 in endojenöz inhibitörü olarak görev yaptığı gösterilmiştir (86).

Multifonksiyonel bir sitokin olan IL-1'in biyolojik etkilerinden bazıları; enflamatuar hücrelerin enfeksiyon alanına girişini sağlamak, kemik rezorpsiyonunu düzenlemek, monosit ve fibroblastlardan salgılanan eikosanoitleri stimüle etmek, ekstrasellüler matriks proteinlerini yıkan matriks metalloproteinazlarının salınımını stimüle etmek ve immün cevabın birçok aşamasına katılmak olarak sayılabilir.

IL-1, nötrofil ve monositik hücreler üzerindeki kompleman, Fc reseptörleri, fibroblast ve lökositlerdeki adezyon moleküllerini arttırmaktadır. Böylece iltihabi bölgeye hücrelerin göçünü ve tutunmasını etkileyerek iltihabi infiltratın oluşmasını sağlar. IL-1'in ayrıca konak immün sisteminin modülasyonunda da önemli rolü vardır. T hücre proliferasyonunu stimüle eder, T lenfositlerinden lenfokin sentezini artırır, B hücrelerinden antikor üretimini artırır ve IFN sentezini indükler (87).

IL-1, kendi etkisini güçlendirmek için birçok başka hücreden IL-1 salınımını tetikler. Ayrıca IL-1 diğer sitokinlerin sentezini de arttırmaktadır.

2.9.2. Interlökin-2

T hücresi büyüme faktörü de denilen (TCGF) IL-2, T lenfositlerinin hücre siklusunun G1 fazından S fazına ilerlemesinden sorumlu olan sitokindir. IL-2, CD4+T hücreleri tarafından üretilir daha az olarak CD8+T hücreleri tarafından üretilir.

IL-2, kendisini üreten hücelere etki edip kendi oluşumunu sağlar, T lenfositleri için otokrin büyüme faktörü işlevini gösterir. Ayrıca parakrin büyüme faktörü olarak da etkisi mevcuttur (88,89, 90).

IL-2, IFN- γ ve lenfotoksin gibi T hücesinden köken alan sitokinlerin sentezini uyarır. Ayrıca NK hücelereinin büyümesini uyarır ve onların sitolitik fonksiyonlarını artırır. Bunu lenfokinle aktive edilmiş öldürücü hüceler (LAK) üreterek yapar. Diğer sitokinlerle sinerjik etkiyle NK hüceleri tarafından IFN- γ salgısını artırır. İnsan B lenfositlerine etki ederek hem büyüme faktörü olarak hem de antikor sentezi uyaranı olarak etki gösterir.

2.9.3. Interlökin-4

Temel fizyolojik etkisi allerjik olayları düzenlemektir. Antijenle stimüle olmuş CD4+ T lenfositlerinden özellikle Th2 alt grubundan kaynaklanırlar. B ve T lenfositlerinin büyüme, etkinlik ve farklılaşmasından sorumludurlar. IgE üretimi için gereklidir. Özellikle Th2 alt grubu olmak üzere T hücelereinin büyüme ve ayrışımında rol oynar. Endotel hüceleri üzerine etki ederek, lenfosit, monosit ve özellikle eosinofillerin artmış bağlanmasına neden olan VCAM-1'İN ekspresyonunu uyarır. IL-4'e maruz kalan endotel hüceleri bir kemokin olan Monosit Kemotaktik Protein-1 (MCP-1)'i ve özellikle eosinofillere etki eden eotaksini salgırlar. Yani yüksek lokal konsantrasyonlarda IL-4 monosit ve eosinofilden zengin inflamatuvar reaksiyonları başlatır.

2.9.4. Interlökin-6

Mononükleer fagositik hüceler IL-6'nın en önemli kaynağıdır. IL-6 aynı zamanda fibroblastlar, endotel hüceleri, B ve T lenfositler, hepatositler, keratinositler, glial hüceler ve kemik iliği stroma hüceleri tarafından da sentezlenir (88).

IL-6, immun yanıtı, akut faz reaksiyonlarını ve hematopoezi regüle ederek konağın savunma mekanizmasında önemli bir rol oynar (92).

TNF-A, IL-1, platelet kaynaklı büyüme faktörü (PDGF) gibi sitokinler, antijenler, mitojenler ve bakteriyel endotoksinler (lipopolisakkarit) farklı hücelere

tiplerinde IL-6 oluşumunu uyarır. Ayrıca virüsler ve fibroblastlar beyin omurilik sıvısındaki (BOS) IL-6 yapımını indükler. Glukokortikoidler ise IL-6 gen ekspresyonunu negatif yönde etkiler (91).

IL-4 ve IL-13, IL-6 sentezini inhibe eder. Aktive olmuş B hücre dizisinin Ig salgılayabilmesini sağlar, ancak B hücrelerinin büyüme ve çoğalmasında etkili olmamaktadır. Aktive olmamış T hücrelerinin aktivasyonu ve çoğalmasında IL-1 ile TNF- α 'ya yardımcı bir faktördür. IL-6, uyarılmış T hücreleri ve timositlerde hem IL-2 üretimini arttırarak hem de IL-2 reseptörlerini aktive ederek, bazen de bu yoldan bağımsız olarak T lenfositlerin büyüme, çoğalma ve farklılaşmasında rol oynar. Bu özellikleriyle IL-6 hem humoral hem de hücrel konak savunmasında önemli bir mediatördür. IL-6 hematopoetik sistem hücrelerini Go fazında iken aktive etmektedir (91,93). Aynı zamanda bir nötrofil aktivatörüdür ve diğer sitokinlerle kemik iliği kök hücre matürasyonunu destekler. Örneğin, multipotent progenitörlerin IL-3'e olan eğilimini arttırarak multipotent kök hücre kolonilerinin oluşumunu hızlandırır. Trombopoetik faktör olarak IL-6, megakaryositlerin olgunlaşmasını uyarır. Akut faz cevabı, inflamasyona ve doku zararına karşı sistemik bir reaksiyondur. Hepatositlerden akut faz proteinlerinin sentezi IL-6, IL-1 ve TNF- α gibi bazı sitokinler tarafından düzenlenir. Her üç sitokin aktive monositlerden koordine olarak salınabilir ve biri diğerini etkileyebilir.

Örneğin, IL-1 veya TNF- α ; IL-6'nın, TNF- α ; IL-1'in, IL-1 de kendisinin salınımını etkileyebilir. IL-6 ise IL-1 ve TNF- α 'nin yapımını etkilemez, ancak aktive makrofajlardan salınımlarını suprese eder. Bu üç sitokin kan yoluyla uzak bölgelere giderek akut faz cevabını oluşturur (86, 94).

IL-6 inflamatuvar cevabın önemli bir mediatörüdür. Enfeksiyon etkeni mikroorganizmalar ve onların ürünlerine karşı konak savunmasında yer alan hücrelerce ve hasar gören dokular tarafından salgılanır. Sepsis ve özellikle gram (-) bakterilerin yaptığı septik şokta IL-6 ve TNF- α seviyeleri yüksek bulunmuştur (95).

IL-6 hepatik protein sentezinin, dolayısıyla da CRP'nin major indükleyicisidir (96.) IL-6 fibrinojen, - α -1 asit glikoprotein, - α -1 antitripsin, haptogloblin, - α -1 kimotripsin, C3, serum amiloid A ve CRP'nin yapımını uyarırken, prealbumin, albumin ve Tf gibi proteinlerin yapımını engeller (63,70). Akut faz proteinlerine ait genlerin düzenlenmesinde sitokinler, kortikosteroidlere gereksinim duyarlar (86).

Enfeksiyon sırasında bazı sitokinler birbirini etkiler. IL-1 ve TNF- α direkt olarak IL-6 genine etki ederek IL-6 yapılmasını arttırır (97).

2.9.5. Interlökin-8

Son yıllarda lökositler ve fibroblastlar için kemotaktik aktivitesi olan yeni bir sitokin ailesi tanımlanmıştır. Bu kemotaktik sitokinler kemokinler olarak adlandırılmıştır. Bu proteinler için henüz tek tip bir isimlendirme sistemi oluşturulamamıştır, yaptıkları işe yönelik isim alırlar (98).

Kemokinler monosit, makrofaj, fibroblast, keratinosit ve endotel hücreleri gibi çeşitli hücreler tarafından oldukça fazla miktarda üretilirler. Farklı hedef hücre seçicilikleri vardır.

IL-8; nötrofillerin mobilizasyonunu, aktivasyonunu ve degranulasyonunu sağlar, angiogenezde rolü vardır (98).

Lökositlerin kemokin gradyanına hassasiyeti yüzeylerindeki kemokin reseptörleri sayesinde. IL-8 lökositlerin vasküler endotele stabil olarak bağlanması için adezyonunda rol oynar. İkincil olarak enfeksiyon alanında konsantrasyon artışı sayesinde nötrofillerin migrasyonunda gradyan sağlar. Bu gradyan enfekte bölgedeki ekstraselüller matriksin proteoglikan molekülleriyle ve endotel hücre yüzeyine kemokinlerin bağlanması ile oluşur. Kemokinler katı bir yüzey üzerinde immobilize olurlar ve lökositler buraya göç edebilir (99). Yüksek konsantrasyonlarda kemokinler aynı zamanda hücresel efektör fonksiyonları da aktive ederler, örneğin degranulasyon ve metabolik parçalanma nötrofillerde IL-8 tarafından, monositlerde MCP-1, eozinofillerde ise aktivasyonu düzenlenmiş normal T ekspresyonu ve sekresyonu (RANTES) veya makrofaj inflamatuvar protein 1 α (MIP-1 α) tarafından tetiklenir (99).

Antijen ile aktive edilmiş T hücreleri, endotel hücrelerinden IL-8 ve MCP-1 salgılanmasına yol açar. Bu sekrete edilen kemokinler endotel hücre yüzeyinde heparan sülfat glikozaminoglikanlara bağlanırlar, endotel hücre adezyon molekülüne bağlanmış lökositlerle temas ederler ve kemokinler lökositlerin ekstrasvazasyonuna yol açarlar (100) .

Primer olarak mononükleer fagositlerden, endotelial ve epitelyal hücrelerden kaynaklanan IL-8, aynı zamanda T hücreleri, eozinofiller, nötrofiller, fibroblastlar, keratinositler, hepatositler ve kondrositlerden de salgılanabilir.

Nötrofiller için en potent kemotaktiklerden biri olan IL-8, inflamatuvar yanıtta diğer kemotaktiklerle karşılaştırıldığında daha geç ortaya çıkar. Örneğin lökotrien B4 (LTB4) hücre aktivasyonunda dakikalar içinde ortaya çıkıp, 3 saatte pik yaparken konsantrasyonu azalmaya başladığında IL-8 yeni sentezlenerek sekrete edilir ve salgılanması 24 saat sürer (101).

2.9.6. Interlökin-10

Monosit, makrofaj, T lenfosit, dendritik hücreler ve mast hücrelerinden salgılanır.

IL-10 geniş antiinflamatuvar ve antiallerjik spektrumu olan bir sitokindir. Proinflamatuvar sitokinleri (IL-1 β , TNF- α , IL-6) ve Th2 hücrelerini uyaran IL-4, IL-5'i inhibe eder (102).

IL-10 makrofajlarda nitrik oksit sentaz (iNOS), siklooksijenaz (COX-2) gibi inflamatuvar enzimlerin sentezini inhibe etmektedir (103). IL-10'nun inflamatuvar sitokinleri inhibe edebilme kapasitesi nedeniyle allerjik hastalıklarda anormal ekspresyonu olur. Ayrıca IL-2 salınımını inhibe ederek CD4+ T lenfositlerin proliferasyonunu inhibe eder ve bu yolla tolerans gelişimini sağlamaktadır. MHC II molekülerinin ekspresyonunu azaltarak mononükleer ve dendritik hücrelerden T hücrelerine allerjen prezentasyonunu bloke eder (104).

IL-10'un inhibitör etkilerine rağmen B lenfositlerin proliferasyonunu ve immunoglobulin sentezini uyarmaktadır (105).

IL-13 özellikle T yardımcı tip 2 (Th2) olmak üzere, birçok hücre tipleri tarafından salgılanır, allerjik inflamasyon ve allerjik hastalık mediatörüdür. IL-4 e benzer şekilde immün hücreler üzerinde etkisi vardır. IL-13 birçok dokuda allerjik inflamasyon sonucu oluşan fizyolojik değişikliklerin daha merkezinde rol oynadığı düşünülmektedir. Antiinflamatuvar özelliklere sahiptir. B lenfositlerden IgE salınmasına neden olur.

2.9.7. Tümör Nekrotizan Faktör- α

TNF- α ve lenfotoksin- α olarak da bilinen TNF- α - β olmak üzere iki alt grubu vardır (106).

TNF- α 'nin yapısal olarak benzer iki ayrı hücre yüzey reseptörü vardır; tümör nekroz faktör reseptör 1 ve tümör nekroz faktör reseptör 2 (TNFR1 ve TNFR2). Bu iki reseptörün farklı sitoplazmik etki alanları vardır bu yüzden farklı sinyal yollarını aktive ederler. Enflamatuar etkilerin çoğunluğu TNFR1 e bağlıdır, TNFR2 ise TNF- α stimülasyonuna hassasiyeti artırır ve TNFR1 tarafından verilen cevabı geliştirir (107).

Çok sayıda hücreden salındığı gibi yine çok sayıda hücreyi etkileyebilmektedir. Genel olarak biyolojik etkileri şunlardır; fibroblastları uyararak kollejenaz salınması için uyarır, vasküler permeabilityyi artırır, IL-1 α ve β , IL-6, IL-8 gibi sitokinlerin ve matris metalloproteinazların (MMP) salınımını indükler, adezyon moleküllerinin üretimini artırır (108).

2.9.8. Interferon- γ

Th hücreleri tarafından sentezlenir. İmmün koordinasyon sırasında önemli görevleri vardır. Makrofajlardan TNF- α ve IL-1 salınmasını regüle ederler. Osteoklastların uyarılmalarını engellerler. Periapikal dokuda kronik enfeksiyon döneminde bulunur. Th2 hücre proliferasyonunu ve IL-4 üretimini azaltmaktadır. IFN- γ ve IL-4 arasındaki denge Th1 veya Th2 gelişimine neden olur(121).

3. MATERYAL VE METOT

Çalışmada; Haziran 2012-Aralık 2012 tarihleri arasında Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniği'ne başvuran 6 ay ile 5 yaş arası, yapılan fizik muayene ve tetkikleri sonucunda DEA tanısı alan, 30 hasta (grup 1) ve sağlam çocuklardan oluşan 28 kişilik (grup 2) kontrol grubu ile birlikte, toplam 58 çocuk yer aldı.

DEA tanısı için Hgb değerlerinin yaşa uygun düzeylerin 2 SD altında olması, ferritin değerinin 12 ng/mL nin altında olması dikkate alındı.

Çalışmaya alınmama kriterleri;

- 1 -Son bir ay içinde steroid veya kemoterapi gibi immünsüpresif tedavi alan hastalar
- 2-Protein enerji malnütrisyonu olan hastalar
- 3-Böbrek yetmezliği olan hastalar
- 4-Genetik hastalığı olanlar
- 5-Malign hastalığı olanlar
- 6-Akut ya da kronik enfeksiyonu olanlar

Her hasta için ‘‘hasta takip formu’’ dolduruldu.

Kontrol grubu hastalarından sadece 1 kere 1 adet jelli tüpe, 1 adette EDTA'lı tüpe kan örneği alındı. Kan örneklerinden IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IFN- γ , TNF- α sitokinleri, soluble transferin reseptörü, hücre yüzey antijenlerine bakıldı.

DEA grubu hastalarından tedavi öncesi ve DEA tedavisi sonrası olmak üzere 2 kere kan örneği alındı.

Çalışma Bülent Ecevit Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Etik Kurul onayı alınarak yapıldı.

Sitokin düzey ölçümü için çocuklardan 3 cc jelli tüpe alınan kan örneği 4000 rpm de 10 dakika santrifüj edildikten sonra üstte kalan serum örneği endorf tüplere ayrıldı. Ayrılan serumlar -80 derecede donduruldu. Çalışılacağı güne kadar saklandı. Örnekler çalışılacağı zaman oda ısısında çözülmeye bırakıldı.

Çalışma sitokin kitlerinin üretici firmasının önerileri doğrultusunda yapıldı.

Human Th1/Th2 11 plex FlowCytomix Simplex E-BIOSCIENCE 96 test/kutu Flowcytometry BIOSCIENCE) 96 test/kutu kiti ile Bülent Ecevit Üniversitesi

İmmünoloji Laboratuvarında Beckman Coulter FC500 Flowcytometry cihazında çalışıldı.

Sitokin çalışmalarında ölçülebilir düzeyin altında sonuç veren olgular olması nedeni ile karşılaştırmalar ortalama florasan yoğunlukları (MFI) karşılaştırılması şeklinde yapılmıştır.

Hücre yüzey antijenleri ölçümü için çocuklardan 2 cc EDTA (etilendiamin tetra asetikasit) tüpüne alınan tam kan örnekleri Beckman Coulter CD45, CD11A, CD11B, CD11C, CD18, CD54, CD64, CD71 100 Test /Kutu ve CD64 100 Test/Kutu kiti ile Bülent Ecevit Üniversitesi İmmünoloji Laboratuvarında Beckman Coulter FC500 Flowcytometry cihazında çalışıldı.

Sonuçlar seçilen bölgede (nötrofil) % ve MFI olarak verildi. Buradaki %'ler seçilmiş bölge içinde ilgili belirtecin %' sini, MFI seçilen belirtecin hücre yüzeyindeki ekspresyonunu göstermektedir.

Human soluble transferin reseptörü (STFR) için; sitokin düzeyi ölçümü için alınan serum örnekleri Bülent Ecevit Üniversitesi İmmünoloji Laboratuvarında STfR, BIOVENDOR 96 test/kutu kiti ile manuel eliza cihazında değerlendirildi.

3.1. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel değerlendirme SPSS 18.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) programı kullanılarak yapıldı. Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunlukları Shapiro-Wilks testi ile incelendi. Sayısal değişkenler için tanımlayıcı istatistikler ortalama±standart hata ve ortanca (minimum-maksimum), kategorik yapıdaki veriler için sayı ve yüzde olarak ifade edildi. Cinsiyet bakımından gruplar arasındaki farklılık Ki-kare testi ile incelendi. Sayısal değişkenler bakımından iki grubun karşılaştırılmasında parametrik test varsayımları sağlandığında iki ortalama arasındaki farkın önemlilik testi, sağlanmadığında ise Mann-Whitney U testinden faydalanıldı. Tedavi öncesi ve tedavi sonrası ölçümler arasındaki farklılığın değerlendirilmesinde parametrik test varsayımları sağlandığında iki eş arasındaki farkın önemlilik testi, sağlanmadığında ise Wilcoxon eşleştirilmiş iki örnek testi kullanıldı. Sonuçlar % 95 güven aralığında değerlendirildi ve $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

Çalışmaya dahil edilen 58 olgunun 30'u DEA tanısı alan çocuklardı (Grup 1). Kontrol grubu olarak (Grup 2) sağlıklı 28 çocuk alındı.

Demografik özellikleri açısından incelendiğinde; çocukların ortalama yaşı DEA grubunda (Grup 1) 4 (1-6)yıl, kontrol grubunda (Grup 2)'de 4 (1,5-6) yıl idi. Gruplar arasında istatistiksel fark yoktu ($p=0,757$).

Grup 1'deki çocukların 18'i (%60) erkek, 12'si (%40) kız; grup 2'deki çocukların 18'i (%64,3) erkek, 10'u (%35,7) kızdı. Gruplar arasında cinsiyet açısından anlamlı fark yoktu ($p=0,948$). Grup 1 ve Grup 2'deki çocukların demografik özellikleri Tablo 7'de gösterilmiştir.

Tablo 7: Hastalara Ait Tanımlayıcı Özellikler

		Anemi n=30		Kontrol n=28		p
Yaş		4 (1-6)		4 (1,5-6)		0,757
		Sayı	%	Sayı	%	
Cinsiyet	Kız	12	40,0	10	35,7	0,948
	Erkek	18	60,0	18	64,3	

Çalışmamızda hemogram değerleri incelendiğinde Hgb ve Hct değerleri sırasıyla kontrol grubunda $12,5 \pm 0,2$ gr/dl, $36,1 \pm 0,4\%$, hasta grubunda ise $9,9 \pm 0,2$ gr/dl, $30,3 \pm 0,7\%$ olarak tespit edildi. MCV, RDW değerleri ise sırasıyla kontrol grubunda $80,5 \pm 0,9$ fl, $13,6$ ($12,1-33,8$) g/dl, hasta grubunda $67,5 \pm 1,5$ fl, $17,6$ ($13,8-36,9$) g/dl olarak tespit edildi. Hgb, Hct, MCV değerleri kontrol grubunda hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek ($p<0,0001$), RDW değeri ise hasta grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,0001$). Serum demir, demir bağlama kapasitesi değerleri sırasıyla kontrol grubunda 54 ($28-132$) μ g/dl, $351,0 \pm 6,0$ μ g/dl hasta grubunda 21 ($7-160$) μ g/dl, $405,0 \pm 7,9$ μ g/dl olarak tespit edildi. Serum demiri değerleri kontrol grubunda hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptandı ($p<0,0001$). SDBK değerleri anemi grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek saptandı ($p<0,0001$). Ferritin ve STFR değerleri sırasıyla

kontrol grubunda 25,8 (12-84) ng/ml, 0,2 (1,1-0,6)g/ml, anemi grubunda 3,8 (1,5-11) ng/ml, 0,6 (0,2-1,8) µg/ml olarak tespit edildi. Ferritin değerleri kontrol grubunda hasta grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (p<0,0001). STFR değeri anemi grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu (p<0,0001).

Çalışma gruplarının hematolojik değerleri tablo 8 de izlenmektedir.

Tablo 8: Anemi ve Kontrol Grubu Çocuklarında Hematolojik Parametreler

	Anemi n:30	Kontrol n:28	p
HGB (g/dl)	9,9 ± 0,2	12,5 ± 0,2	<0,001
HTC (%)	30,3±0,7	36,1±0,4	<0,001
WBC	7550±310	7750±300	0,624
MCV (fl)	67,5±1,5	80,5±0,9	<0,001
SDBK (µg/dl)	405,0±7,9	351,0±6,0	<0,001
RDW (g/dl)	17,6 (13,8-36,9)	13,6 (12,1-33,8)	<0,001
SD (µg/dl)	21 (7-160)	54 (28-132)	<0,001
FERRİTİN (ng/ml)	3,8 (1,5-11)	25,8 (12-84)	<0,001
STFR µg/ml	0,6 (0,2-1,8)	0,2 (1,1-0,6)	<0,001

Lökosit sayısı açısından anemi ve kontrol grubu arasında fark yoktu (p=0,624).

Anemi ve kontrol grubunda bakılan IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IFN-γ ve TNF-α seviyeleri açısından gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

Anemi ve kontrol grubundaki çocukların ölçülen sitokin MFI konsantrasyon değerleri Tablo 9’da verilmiştir.

Tablo 9: Anemi ve Kontrol Grubu Çocuklarında Sitokin MFI Konsantrasyon Değerlerinin Karşılaştırılması

	Anemi n:30	Kontrol n:28	p
IL-1 β	0,84 (0,77-1,19)	0,85 (0,76-1,10)	0,620
IL-2	0,75 (0,65-1,12)	0,73 (0,67-0,99)	0,749
IL-4	0,70 (0,64-1,12)	0,71 (0,63-0,92)	0,674
IL-6	1,89 (1,76-2,74)	1,85 (1,74-2,10)	0,150
IL-8	2,16 (1,38-33,42)	1,91 (1,44-7,54)	0,414
IL-10	0,96 (0,86-2,03)	0,96 (0,84-1,20)	0,643
IL-13	0,60 (0,51-0,90)	0,59 (0,54-0,83)	0,749
TNF- α	1,03 (0,96-1,85)	1,06 (0,99-1,53)	0,651
IFN- γ	0,73 (0,61-1,85)	0,73 (0,54-1,21)	0,981

Periferik kan flow sitometrik değerlendirilmesinde, anemi ve kontrol grubunda değerlendirilen hücre yüzey antijen % değerleri incelendiğinde CD64 yüzdesi anemi grubunda istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulundu ($p < 0.022$). CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD54, CD45, CD71 yüzdeleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu.

Anemi ve kontrol grubundaki çocukların ölçülen hücre yüzey antijen (% olarak) değerleri Tablo 10'da verilmiştir.

Tablo 10: Anemi ve Kontrol Grubu Çocuklarında Hücre Yüzey Antijen Değerlerinin (% Olarak) Karşılaştırılması

	Anemi n:30	Kontrol n:28	p
CD11a	99,6 (97,5-99,9)	99,6 (97,2-99,9)	0,754
CD11b	99,4 (98,2-99,9)	99,6 (98,8-99,9)	0,247
CD11c	99,2 (93,5-99,9)	99,4 (96,8-99,8)	0,888
CD18	99,7 (98,7-100)	99,8 (97,0-100)	0,211
CD45	99,9 (98,1-100)	100,0 (96,9-100)	0,290
CD54	96,7 (89,9-99,2)	95,7 (85-98,8)	0,290
CD64	12,5 (1,1-95,7)	4,6 (0,7-47,3)	0,022
CD71	0,6 (0,1-3,2)	1,0 (0,1-3,5)	0,396

Periferik kan flow sitometri incelemesinde, anemi ve kontrol grubunda hücre yüzey antijen MFI değerleri incelendiğinde CD64 MFI anemi grubunda istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük bulundu ($p<0.035$). CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD45, CD54, CD71 MFI değerleri oranında iki grup arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu.

Anemi ve kontrol grubundaki çocukların ölçülen hücre yüzey antijen MFI değerleri Tablo 11’de verilmiştir.

Tablo 11: Anemi ve Kontrol Grubu Çocuklarında Hücre Yüzey Antijen MFI Değerlerinin Karşılaştırılması

	Anemi n:30	Kontrol n:28	p
CD11a	2,33 (1,40-6,27)	2,26 (1,08-3,30)	0,715
CD11b	53,9±4,0	45,1±4,5	0,159
CD11c	5,1±0,3	4,2±0,3	0,094
CD18	9,1±0,7	9,8±0,8	0,573
CD45	30,9±2,1	32,1±1,5	0,653
CD54	2,5±0,09	2,5±0,09	0,657
CD64	1,8 (1,6-3,5)	2,0 (1,8-4,7)	0,035
CD71	1,5 (1,0-2,5)	1,3 (1,0-2,3)	0,726

DEA grubu çocukların (Grup 1) hemogram değerleri tedavi öncesi ve tedavi sonrası karşılaştırıldığında Hgb ve Hct değerleri sırasıyla tedavi öncesi $9,8±0,2$ gr/dl, $30,3±0,6\%$, tedavi sonrası ise $12,6±0,1$ gr/dl, $36,9±0,4\%$ olarak tespit edildi. MCV, RDW değerleri ise sırasıyla tedavi öncesi $67,5±1,4$ fl, $17,6$ ($13,8-36,9$) g/dl, tedavi sonrası $77,5±1,0$ fl, $14,7$ ($12,8-26,1$)g/dl olarak tespit edildi. Hgb, Hct, MCV değerleri tedavi sonrası, tedavi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek ($p<0,0001$), RDW değeri ise tedavi sonrası istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0,0001$). Serum demir, SDBK değerleri sırasıyla tedavi öncesi $21,0$ ($7,0-60,0$) μ g/dl, $405±7,9$ μ g/dl tedavi sonrası $61,5$ ($20,0-104,0$) μ g/dl, $349±7,8$ μ g/dl olarak tespit edildi. Serum demiri değerleri tedavi sonrası tedavi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,0001$). SDBK değerleri tedavi sonrası tedavi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0,0001$).Ferritin ve STFR

değerleri sırasıyla tedavi öncesi 3,8 (1,5-11,0)ng/ml, 0,68 (0,27-1,87)µg/ml tedavi sonrası 18,5 (12,0-70,0)ng/ml, 0,4 (0,08-0,91)µg/ml olarak tespit edildi. Ferritin değerleri tedavi sonrası tedavi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksek bulundu ($p<0,0001$). STFR değeri tedavi sonrası tedavi öncesine göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük bulundu ($p<0,0001$).

Lökosit sayısı bakımından tedavi öncesi ve tedavi sonrası değerleri incelendiğinde anlamlı farklılık saptanmadı (0,408).

DEA grubu çocukların tedavi öncesi ve tedavi sonrası hematolojik değerleri Tablo 12 da izlenmektedir.

Tablo 12: DEA Grubundaki (Grup 1) Çocukların Tedavi Öncesi ve Sonrası Hematolojik Parametrelerin Karşılaştırılması

	Tedavi öncesi n:30	Tedavi sonrası n:30	p
HGB (gr/dl)	9,8±0,2	12,6±0,1	<0,001
HTC (%)	30,3±0,6	36,9±0,4	<0,001
WBC	7550±310	7883±369	0,408
MCV (fl)	67,5±1,4	77,5±1,0	<0,001
SDBK (µg/dl)	405±7,9	349±7,8	<0,001
RDW (g/dl)	17,6 (13,8-36,9)	14,7 (12,8-26,1)	0,019
SD (µg/dl)	21,0 (7,0-160,0)	61,5 (20,0-104,0)	<0,001
FERRİTİN (ng/ml)	3,8 (1,5-11,0)	18,5 (12,0-70,0)	<0,001
STFR µg/ml	0,68 (0,27-1,87)	0,4 (0,08-0,91)	<0,001

DEA grubundaki çocukların (Grup 1) tedavi öncesi ve tedavi sonrası incelenen IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IFN-γ ve TNF-α seviyeleri gruplar arasında anlamlı fark yoktu.

DEA grubu çocukların (Grup 1) tedavi öncesi ve tedavi sonrası çocukların ölçülen sitokin MFI konsantrasyon değerleri Tablo 13'de verilmiştir.

Tablo 13: DEA Grubundaki Çocukların (Grup 1) Tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası Sitokin MFI Konsantrasyon Değerlerinin Karşılaştırılması

	Tedavi öncesi n:30	Tedavi sonrası n:30	p
IL-1 β	0,84 (0,77-1,19)	0,87 (0,75-1,23)	0,469
IL-2	0,75 (0,65-1,12)	0,74 (0,67-1,43)	0,648
IL-4	0,70 (0,64-1,12)	0,71 (0,64-0,86)	0,965
IL-6	1,89 (1,76-2,74)	1,89 (1,73-3,67)	0,631
IL-8	2,16 (1,38-33,42)	2,22 (1,47-25,51)	0,600
IL-10	0,96 (0,86-2,03)	0,98 (0,84-1,54)	0,509
IL-13	0,60 (0,51-0,90)	0,61 (0,51-0,93)	0,820
TNF- α	1,03 (0,96-1,85)	1,06 (0,96-2,12)	0,688
IFN- γ	0,73 (0,61-1,85)	0,76 (0,62-1,33)	0,863

Periferik kan flow sitometri incelemede, DEA grubu çocukların (Grup 1) tedavi öncesi ve tedavi sonrası hücre yüzey antijen % değerleri incelendiğinde istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

DEA grubu çocukların (Grup 1) tedavi öncesi ve tedavi sonrası ölçülen hücre yüzey antijen (% olarak) değerleri Tablo 14’de verilmiştir.

Tablo 14: DEA Grubundaki Çocukların (Grup 1) Tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası Hücre Yüzey Antijen Parametrelerinin (% olarak) Karşılaştırılması

	Tedavi öncesi n:30	Tedavi sonrası n:30	p
CD11a	99,4 (95,1-99,9)	99,4 (70,1-100,0)	0,456
CD11b	98,0 (81,4-99,1)	98,0 (67,3-99,5)	0,819
CD11c	97,1 (64,9-98,9)	96,8 (92,9-99,3)	0,406
CD18	99,8 (95,8-100,0)	99,8 (96,6-100,0)	0,339
CD45	99,9 (98,1-100,0)	100,0 (99,3-100,0)	0,330
CD54	96,7 (89,9-99,2)	95,6 (84,9-98,4)	0,133
CD64	12,5 (1,1-95,7)	9,9 (0,4-81)	0,758
CD71	0,65 (0,1-3,2)	0,55 (0,10-3,7)	0,967

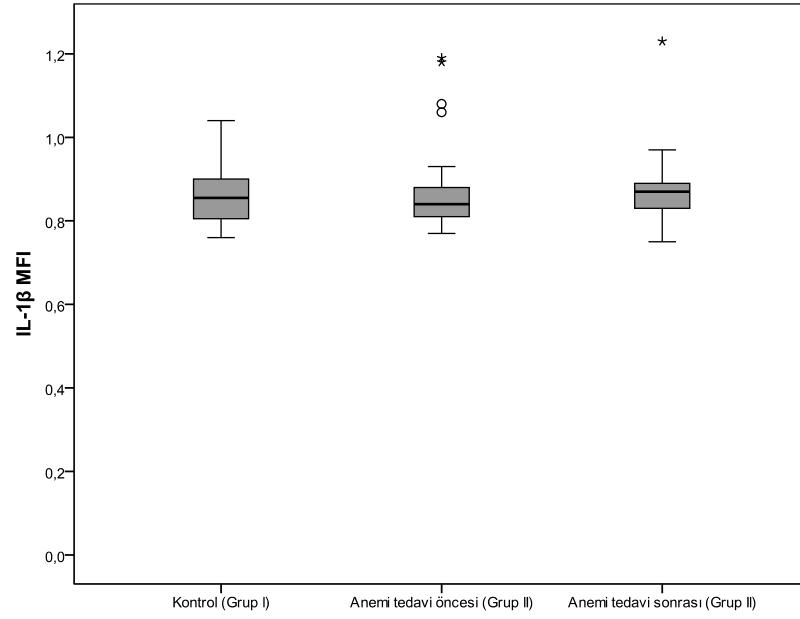
Periferik kan flow sitometrik incelemede, DEA grubundaki çocukların (Grup 1) tedavi öncesi ve tedavi sonrası değerlendirilen hücre yüzey antijen MFI değerleri incelendiğinde CD 71 MFI değerleri, tedavi sonrası anlamlı oranda düşük bulundu ($p<0.01$). CD11A, CD11B, CD11C, CD18, CD45, CD54, CD64 düzeyleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.

DEA grubu çocukların (Grup 1) tedavi öncesi ve tedavi sonrası ölçülen hücre yüzey antijen MFI parametre değerleri Tablo 15’de verilmiştir.

Tablo 15: DEA Grubundaki Çocukların (Grup 1) Tedavi Öncesi ve Tedavi Sonrası Hücre Yüzey Antijen MFI Parametrelerinin Karşılaştırılması

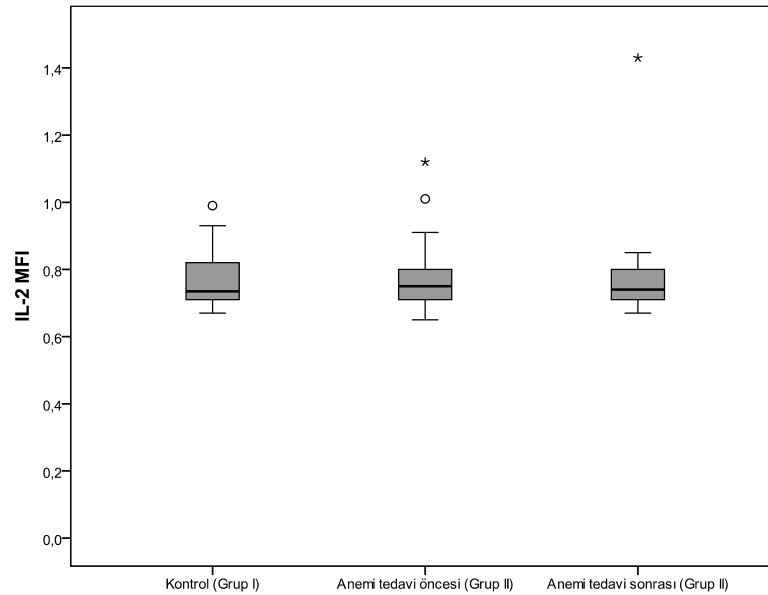
	Tedavi öncesi n:30	Tedavi sonrası n:30	p
CD11a	6,9 (3,5-11,1)	6,8 (2,9-12,2)	0,965
CD11b	56,8 (23,7-113,0)	49,0 (26,4-115,0)	0,465
CD11c	18,5±1,4	17,3±1,3	0,088
CD18	12,6 (2,74-29,1)	10,1 (3,7-31,3)	0,247
CD45	30,9±2,1	31,4±1,4	0,842
CD54	2,53±0,09	2,29±0,08	0,052
CD64	1,87 (1,5-2,4)	1,87 (1,5-2,4)	0,696
CD71	1,51 (1,03-2,51)	1,18 (0,92-2,06)	<0,01

Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda IL-1 β değerleri şekil 3 de gösterilmiştir.



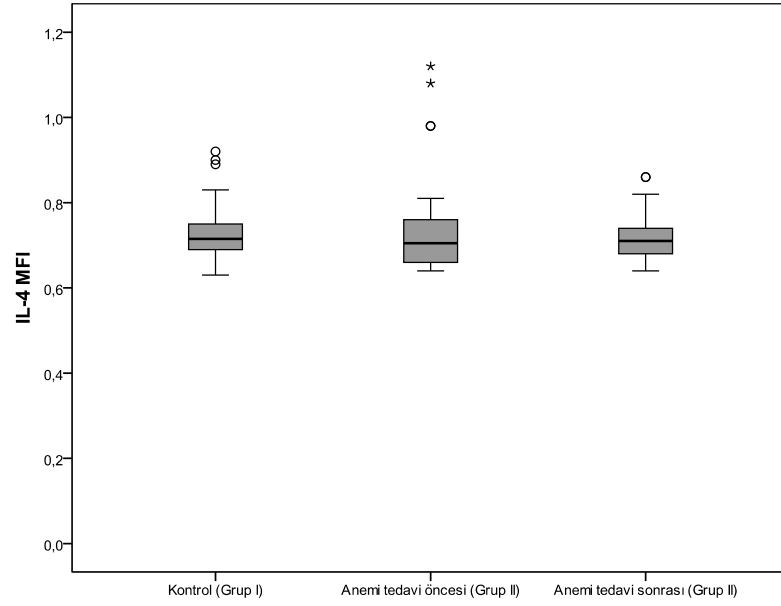
Şekil 3: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda IL-1 β değerleri

Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda IL-2 değerleri şekil 4 de gösterilmiştir.



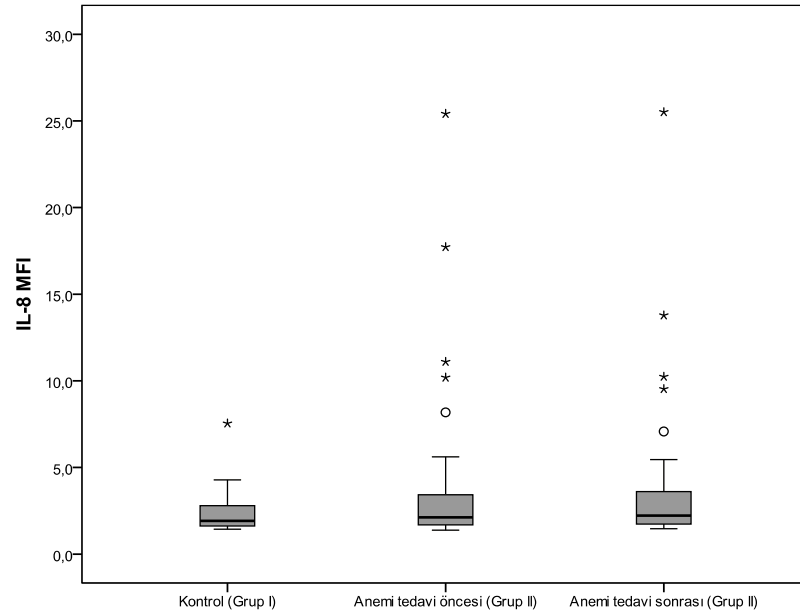
Şekil 4: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda IL-2 değerleri

Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda IL-4 değerleri şekil 4 de gösterilmiştir.



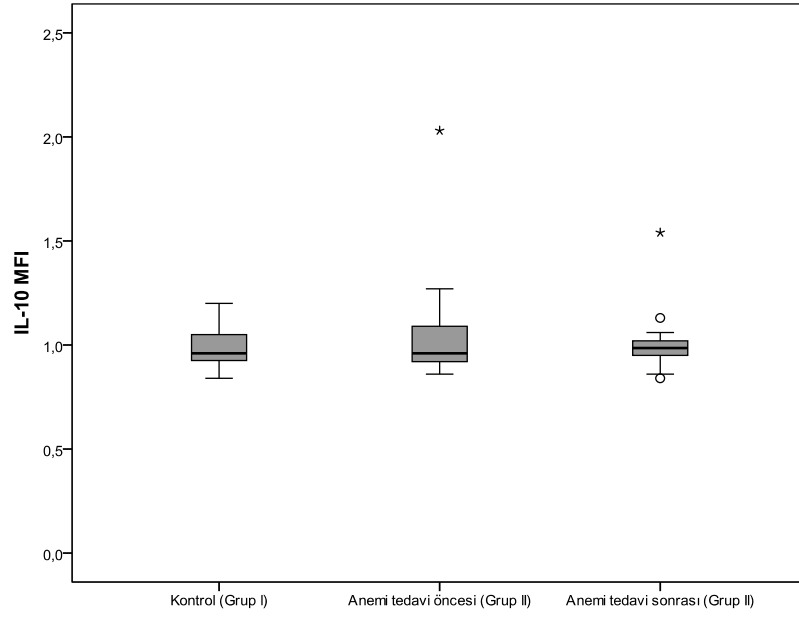
Şekil 5: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda IL-4 değerleri

Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda IL-8 değerleri şekil 4 de gösterilmiştir.



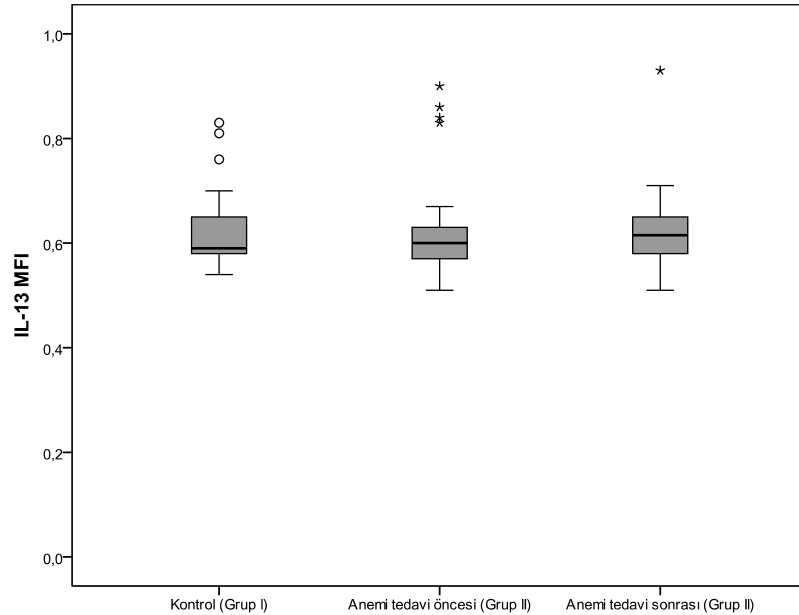
Şekil 6: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda IL-8 değerleri

Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda IL-10 değerleri şekil 7 de gösterilmiştir.



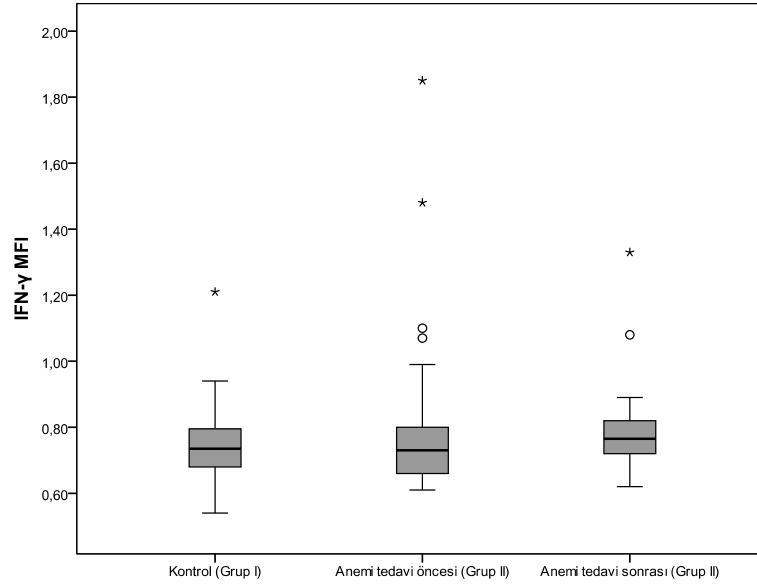
Şekil 7: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda IL-10 değerleri

Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda IL-13 değerleri şekil 8 de gösterilmiştir.



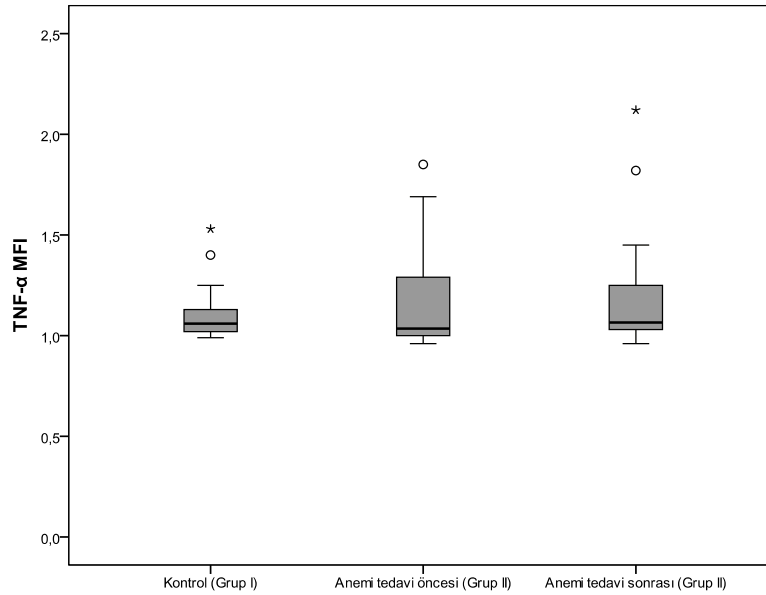
Şekil 8: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda IL-13 değerleri

Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda IFN- γ değerleri şekil 9 de gösterilmiştir.



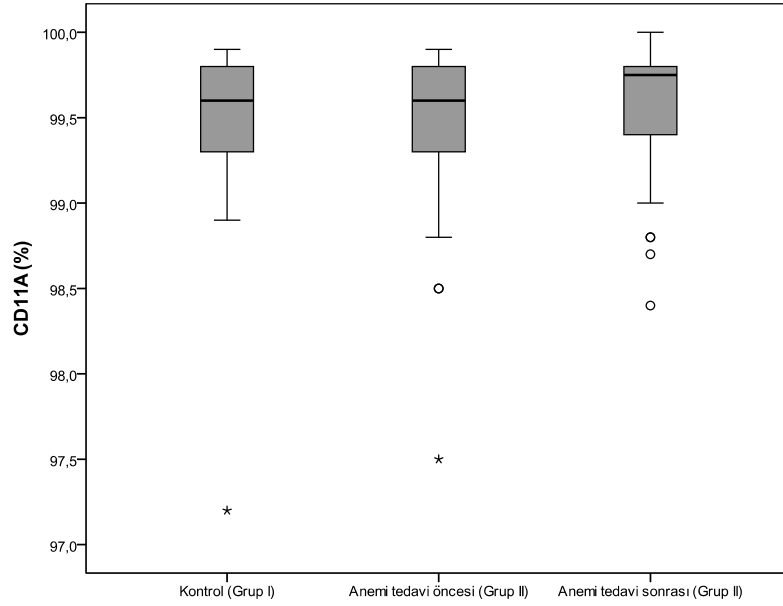
Şekil 9: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda IFN- γ değerleri

Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda TNF- α değerleri şekil 10 de gösterilmiştir.



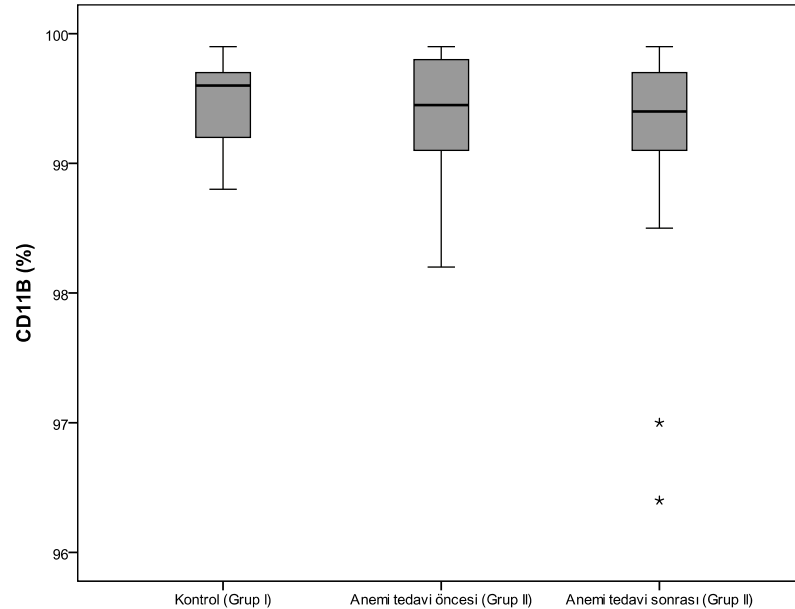
Şekil 10: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda TNF- α değerleri

Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD11a % değerleri şekil 11 de gösterilmiştir.



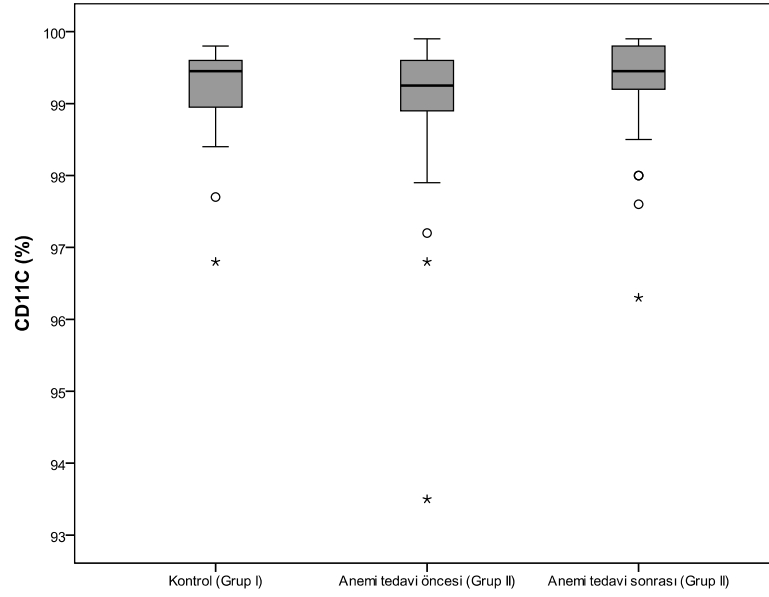
Şekil 11: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD11a % değerleri

Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD11b % değerleri şekil 12 de gösterilmiştir.



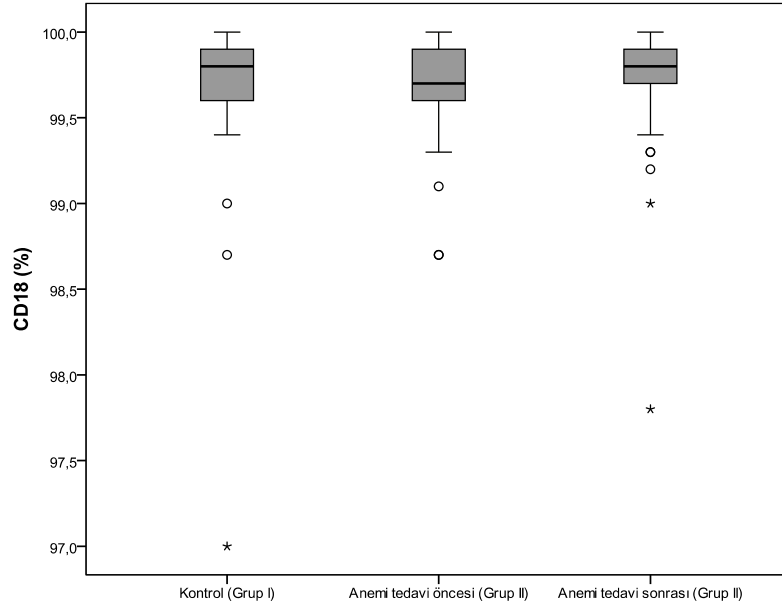
Şekil 12: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD11b % değerleri

Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD11c % değerleri şekil 13 de gösterilmiştir.



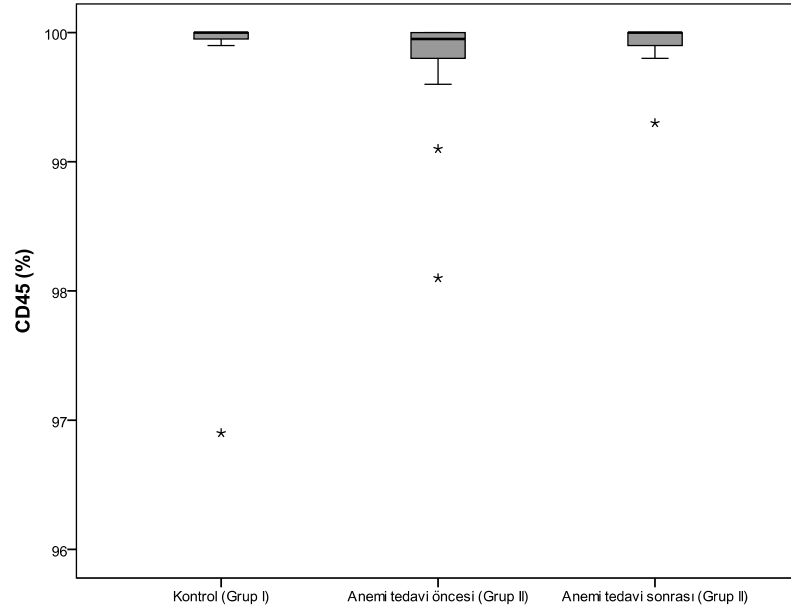
Şekil 13: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD11b % değerleri

Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD18 % değerleri şekil 14 de gösterilmiştir



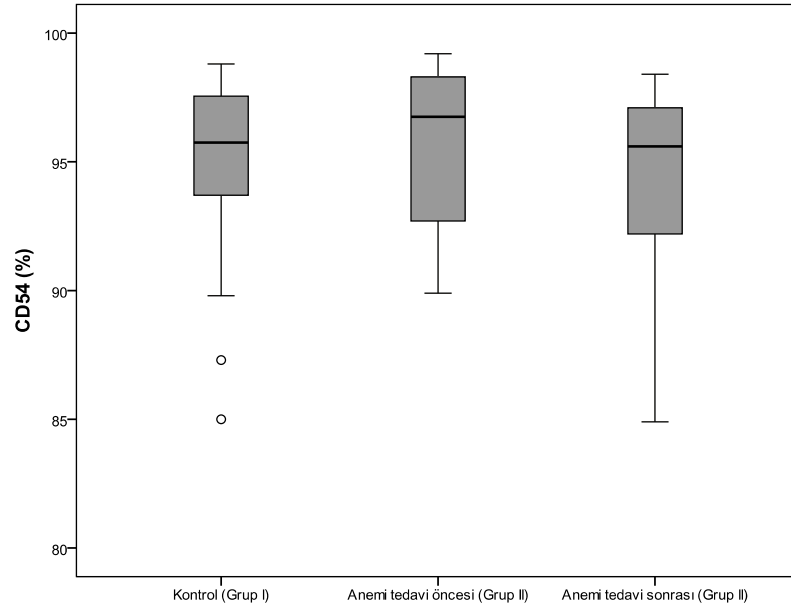
Şekil 14: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD18% değerleri

Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD45 % değerleri şekil 15 de gösterilmiştir



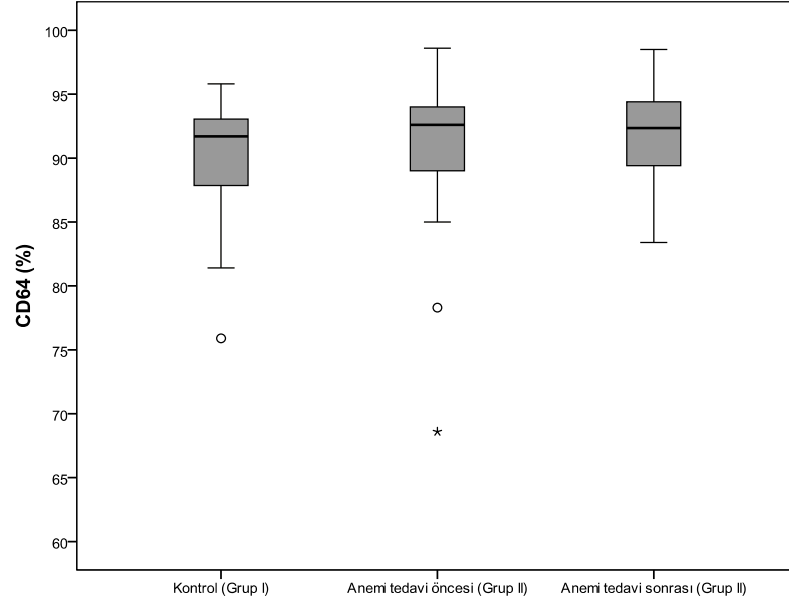
Şekil 15: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD45% değerleri

Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD54 % değerleri şekil 16 de gösterilmiştir



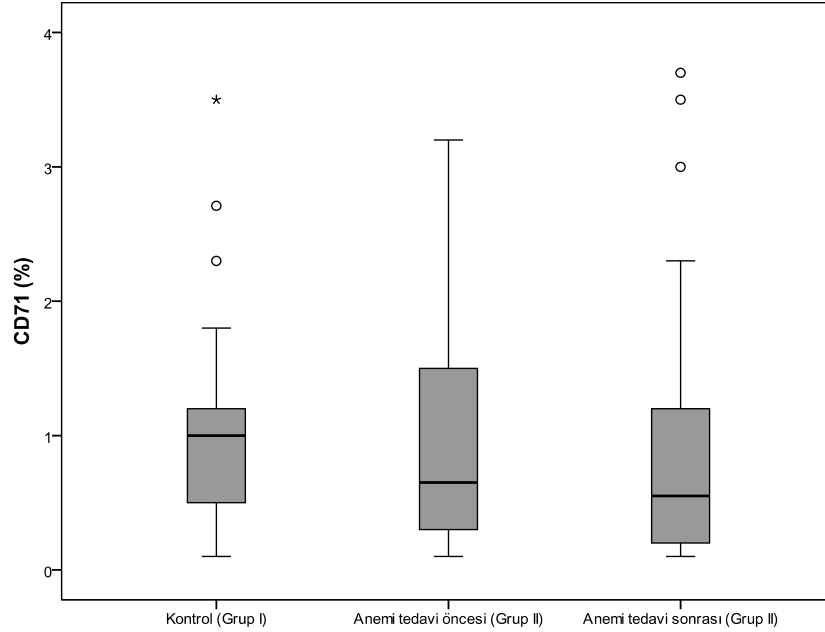
Şekil 16: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD54% değerleri

Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD64 % değerleri şekil 17 de gösterilmiştir.



Şekil 17: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD64% değerleri

Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD71 % değerleri şekil 18 de gösterilmiştir.



Şekil 18: Kontrol (Grup 2), anemi tedavi öncesi (Grup 1), anemi tedavi sonrası (Grup 1), çocuklarda CD71% değerleri

5. TARTIŞMA

Demir eksikliği dünyada en sık görülen element eksikliğidir. Dünya popülasyonunun %20-50 sinin etkilendiği düşünülmektedir. Bebeklerde, çocuklarda ve doğurganlık dönemindeki kadınlarda görülme sıklığı fazladır.

Demir eksikliğinin kognitif fonksiyonlar, büyüme, endokrin sistem ve nörotransmitter sentezi üzerine etkilerinin yanısıra, immün sistem üzerine olan etkileri de yapılan insan ve hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Demir eksikliğinde özellikle hücre aracılı immün yanıtın etkilendiği ortaya konmuştur. Myeloperoksidaz ve bakterisidal aktivitede azalmayla birlikte nötrofil aktivitesinde bozukluk, NK hücre aktivitesinde azalma ve geç tip hipersensitiviteye T lenfosit yanıtında azalmaya yol açtığı bildirilmiştir (5,103).

Demir eksikliği anemili hastalarda yapılan bir çalışmada tedavi öncesi ve sonrası T ve B lenfosit yüzdeleri değerlendirilmiş ve tedavi sonrası T lenfosit oranlarında anlamlı derecede bir artış görülürken B lenfosit oranlarında her hangi bir farklılık saptanmamıştır. Tuberkülin deri testinin yine tedavi sonrası düzeldiği belirtilmiştir (104).

Mullick ve ark. demir eksikliği olan 40 ve sağlıklı 30 çocukta T lenfositlerin CD4 +, CD8+ ve CD4/CD8 oranını incelemiş, aynı parametreleri üç ay süreyle oral demir takviyesi sonrası tekrar değerlendirmiştir. Demir eksikliği olan çocuklarda CD4+ T lenfosit hücrelerinin önemli ölçüde düşük, CD4/CD8 oranının da ($p < 0.05$) bu grupta anlamlı derecede düşük düzeyde olduğu saptanmıştır. Demir takviyesi sonrası CD4+ T lenfositlerinin önemli oranda düzeldiği saptanmıştır. Böylece bu çalışma; çocuklarda demir eksikliğinin T hücre alt gruplarındaki değişikliğe neden olarak, hemotolojik ve immünolojik sistemler arasındaki ilişkisini de ortaya koymuştur (5).

Biz bu çalışmada demir eksikliği anemisinin T ve B lenfosit, nötrofil, monosit ve makrofajların aktivasyonu, farklılaşması ve etkinliğinde rol oynayan sitokinler üzerine etkisini ve nötrofil fonksiyonları ile ilişkili hücre yüzey belirteçlerini değerlendirerek, nötrofil fonksiyonları üzerine etkisini araştırdık. Bu amaçla DEA ve kontrol grubu olmak üzere iki grup oluşturduk. İki gruptaki çocukların ve anemi grubu çocuklarının DEA tedavisi tamamlandıktan sonra IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8,

IL-10, IL-13, IFN- γ ve TNF- α kan düzeylerini ve hücre yüzey antijenlerinden CD11A, CD11B, CD11C, CD18, CD54, CD64 düzeylerini karşılaştırdık.

Çalışmamızda DEA grubu, kontrol grubu ve demir tedavisi sonrası DEA grubunda IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IFN- γ ve TNF- α gibi sitokinlerin düzeyleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulamadık. Literatürde demir eksikliği ve DEA'nin sitokin sentezi üzerine etkisini araştıran yayınlardan Scrimshaw ve arkadaşlarının çalışmasında demir eksikliğinin ve protein-enerji malnutrisyonunun, immünglobulin düzeylerini, lenfosit, IFN, kompleman formasyonunu ve T hücre, T hücre alt grupları ile IL-2 reseptör düzeyini azalttığı bildirilmiştir. Sonuç olarak da demir eksikliğinin ve protein enerji malnutrisyonunun hücre aracılı nonspesifik immünitinin humoral immüniteye göre daha fazla etkilendiğini ortaya konmuştur (9). Galan ve arkadaşları 53 demir eksikliği ve 28'i kontrol grubu olmak üzere 81 çocukta yaptıkları çalışmada fitohemaglutinin (PHA) ile aktive edilmiş ve edilmemiş T lenfositlerin IL-2 salgılamasını ölçmüşlerdir. PHA ile uyarım gerçekleşmediği müddetçe iki grup arasında IL-2 üretiminde herhangi bir farklılığın olmadığını saptamışlardır. Çalışmanın devamında demir eksikliği grubunda PHA ile lenfosit stimülasyonu sonucu IL-2 üretimini ve stimülasyon indeksini anlamlı derecede düşük bulmuşlardır. Aktive lenfositlerden IL-2 üretimindeki bu düşüklüğün özellikle hücre sel immün yanıt yetersizliğinden dolayı oluşabileceğini belirtmişlerdir (6). Thiabault ve ark. 81 çocukta yaptığı in vitro çalışmada, demir eksikliği olan grupta lenfositlerin daha düşük oranda IL-2 ürettiğini ortaya koymuşlardır. Çalışma grubuna 2 ay süresince demir tedavisi uygulanmış; MCV, serum ferritin ve serum Tf düzeylerinde artış olmasına rağmen T hücre aracılı immün yanıt parametrelerinde herhangi bir değişiklik olmamıştır. Sonuç olarak demir eksikliğinin, T hücre aracılı immün yanıt eksikliğinden ve düşük IL-2 düzeylerinden sorumlu olduğunu düşünmüşlerdir (7). Sipahi ve ark. yaptığı çalışmada; DEA olan 25 çocukta tedavi öncesi ve sonrası IL-2 ve IL-6 düzeylerini karşılaştırmıştır. DEA grubunda IL-2 düzeyleri anlamlı derecede düşük ($P<.001$) ve demir yüklemesinden sonra normal düzeylere ulaştığını saptamışlardır. IL-6 düzeylerinde ise; tedavi öncesi ve sonrası anlamlı derecede fark olmadığını ($P>0.05$) saptamışlardır (8). Bergman ve ark. yaptığı in vitro çalışmada, DEA olan grupta tedavi öncesi ve sonrası dönemde periferik kan mononükleer hücrelerinin ürettiği IL-

1 β , IL-6, IL-10, TNF- α düzeylerine, bakmış ve kontrol grubu ile karşılaştırmışlardır. DEA olanlarda IL-2 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olmasına rağmen diğer değişkenlerde istatistiksel olarak önemli bir fark saptanmamıştır. Demir eksikliği anemisindeki bazı enfeksiyonlara karşı artan duyarlılığın, IL-2 düzeyindeki bu düşüklük ile ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir (105). Victor G ve ark. 5 yaş altı 50 çocukta IL-4, IL-10, IL-12, IFN- γ , inducible protein-10, TNF- α değerlerini araştırmış ve 50 çocuktan 14'ünde demir eksikliği saptamışlardır. Inducible protein-10 ve TNF- α değerlerinin demir eksikliği olan çocuklarda düşük olduğunu belirlemişlerdir (106). Ketut ve ark.'nın yaptığı çalışmada 26 DEA olan hastada IL-2 ve IFN- γ değerlerini, tedavisi öncesi ve 8 haftalık demir eksikliği tedavisi sonrası karşılaştırmış ve tedavi sonrası sitokin değerlerinde artış olduğu saptamışlardır (107). Bizim çalışmamızda IL-2 düzeyinde hem DEA ve kontrol grubu arasında hem de tedavi öncesi ve sonrası DEA gruplarında istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı. Yine bizim çalışmamızda TNF- α ve IFN- γ düzeylerinde her iki karşılaştırmada farklılık olmadığı görüldü.

Demir eksikliği anemisi olan hastalarda serum IL-2 düzeyinin düştüğünü bildiren yayınların yanısıra DEA'de IL-6 düzeyinin azaldığını bildiren yayınlar da vardır. Ekiz ve ark.'nın 32 demir eksikliği olan çocukta ve 29 sağlıklı çocukta yaptığı çalışmada T lenfosit subgruplarında anlamlı derecede fark olmamasına rağmen, demir eksikliği grubunda IL-6 düzeylerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğunu ($P < 0.001$) bulmuşlardır. (3). Feng XB ve ark. yaptığı çalışmada demir eksikliği olan 47 hastada IgG subgruplarını ve 18 hastada pnömokokkal polisakkaridlere karşı antikorların (PnPs) düzeylerini değerlendirmiştir. Kontrol grubuyla yapılan karşılaştırmada, demir eksikliği olan grupta serum IgG1 ve IgG4 ve PnPs ye spesifik IgG1 ve IgG2 antikorlarını düşük düzeyde bulmuşlardır. DEA grubunda düşük CD4+ T hücreleri, düşük CD4+/CD8+ periferik kan oranı, düşük IL-6 aktivitesi, lenfosit proliferatif yanıtında azalma ve tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonlarında artma tespit edilmiştir. DEA olan çocuklarda artmış tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonlarının bu sonuçlarla ilişkilendirilebileceğini belirtmişlerdir (101). Bizim çalışmamızda demir eksikliği anemisinin IL-6 düzeylerinde anlamlı bir değişiklik yapmadığı görülmüştür.

Demir eksikliği anemisinin nötrofil fonksiyonlarına etkisi, nötrofil oksidatif burst kapasitesi ve fagositoz aktivitesi çalışmalarda karşılaştırılmıştır. Ekiz ve ark.'nın 32 DEA olan çocukta ve 29 sağlıklı çocukta yaptığı çalışmada Ig G, Ig A, Ig G1, Ig G2, Ig G3, T lenfosit subgruplarında anlamlı derecede fark olmadığını, DEA olan grupta IgG4 ve IL-6 düzeyinin anlamlı derecede düşük olduğunu ($p<0.001$), yine DEA olan grupta monosit fagositik aktivitesinin anlamlı derecede düşük olduğunu ($p<0.001$) bulmuşlardır. Nötrofil ve monositlerin PMA (forbol-12 miristat-13acetate) ile monositlerin FMLP (N-formil-met-leiyi-fenilalanin) ile uyarılması sonrası oksidatif burst aktivitesinde anlamlı ($p<0.001$) azalma olduğunu saptamışlardır (3). Macdougall ve ark. DEA olan 20 çocukta; serum immünglobulin konsantrasyonları ve salgısal Ig A ve total hemolitik komplemanları normal aralıkta bulmuş fakat C3 konsantrasyonlarında artma, lenfosit fonksiyon testlerinde düşme, gecikmiş aşırı duyarlılık yanıtlarında düşme, nötrofil fonksiyonları ile ilgili yapılan NBT boyasında azalma ile bakterisidal fonksiyonunda azalma ve kemotaktik aktivitede artma saptamışlardır. Demir tedavisi ile normal sonuçların iki üç ay sonra elde edildiğini bulmuşlardır. Bu bulgular ile DEA ve enfeksiyon ilişkisi tartışılmıştır (108). Chandra ve ark. demir eksikliği olan 20 çocukta serum Ig düzeylerinin ve kompleman C3 serum konsantrasyonlarının normal olduğunu saptamışlardır. Kutanöz hipersensitivitede azalma ve PHA uyarım ile in vitro lenfosit dönüşüm yanıtında bozulma saptamışlardır. Polimorfonükleer lökositler ile fagositoz ve plazma opsonic aktivitesini normal saptamışlardır. İntraselüler bakteri öldürme ve NBT aktivitesinde azalma ve bu azalmanın demir eksikliğinin şiddeti ile ilişkili olduğunu saptamışlardır. Oral veya parenteral demir eksikliği tedavisi sonrası immünolojik anormalliklerin düzeltilebildiğini saptamışlardır ve özellikle demir eksikliğinin tersinir immünokompetansın ikincil bozukluğu ile ilişkili olduğunu ileri sürmüşlerdir (109). Liu W ve ark. tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonu olan 63 DEA'li çocukta yaptıkları çalışmada, IL-2 aktivitesi CD3 ve CD4 hücreleri ve CD4+/CD8+ oranları anlamlı derecede düşük ($p<0.01$), sIL-2R düzeyini ise kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek bulmuşlardır ($p<0.01$). CD8+ T hücrelerinde ise anlamlı bir değişiklik tespit edilmemiştir. Sonuç olarak tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonu olan DEA olan çocuklarda hücrel immün yanıtın bozulduğunu belirtmişlerdir (110).

Literatürde demir eksikliği ve DEA'nin nötrofil fonksiyonları üzerine çeşitli

araştırmaları vardır. Erdal K. ve ark. 18 DEA olan hastada nötrofil oksidatif burst aktivitesi NADPH oksidaz aktivitesi ile değerlendirmiş, NADPH aktivitesinin demir eksikliği grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede düşük olduğunu ($p < 0.05$), tedavi sonrası NADPH oksidaz aktivitesinde artış ve kontrol grubu ile anlamlı fark olmadığını saptamışlardır (111). Devaki ve ark. adölesanlarda demir tedavisinin immünolojik profili nasıl etkilediği araştırmışlardır. Dört grup hasta grubunun, 3'üne oral demir tedavisi, 4. gruba ise plasebo tedavisi verilmiştir. Hastaların 4 ve 8 ay sonra bakterisidal nötrofiler kapasitesi (BCA), NBT ve PHA testinde artış olduğu, PHA dışında plasebo grubunda artış olmadığını gözlemlemişlerdir (112). Michael B. ve ark. 15 DEA olan ve 18 sağlıklı kişide lökosit apoptoz ve fagositoz kapasitesini incelemiştir. Hastaların lökositleri çeşitli dozlarda demir ile inkübe edilmiş, fagositoz kapasitesi lateks parçacıkları ile apoptoz kapasitesi ise propidium iyodür boyama kullanarak bir akış sitometrik analizi ile değerlendirmiştir. Polimorfonükleer hücre fagositoz yüzdesinin kontrol grubuna göre DEA olan hastalarda daha düşük olduğunu, her iki grupta monositer fagositoz yüzdesi arasında herhangi bir fark olmadığını saptamışlardır. Demir eksikliği anemisi hastalarında % 100 ug demir ile inkübasyon sonrası, her iki hücrede fagositoz kapasitesinde artış olduğu, bu artışın kontrol grubu hücrelerinde olmadığı, % 300 ug demir ile inkübasyon sonrası hem kontrol hem de DEA hasta hücrelerinde fagositik kapasitesinde bir artış olduğu, ancak yüksek doz (% 500 ug) demir ile inkübasyon ile her iki grup hücrelerde fagositoz kapasitesinde azalma olduğu saptanmıştır. Her iki grupta ve her iki hücrede apoptotik fonksiyonda fark saptanmamıştır. Bu da DEA olan hastalarda PMNL fagositik kapasitesi fonksiyonunda bozulma nedeni ile bu kişilerde enfeksiyonlara artmış duyarlılığa katkıda bulunduğunu göstermiştir (122). Paino ve ark 60 yaş üzeri DEA ve kronik hastalık anemisi olan hastada nötrofil ve monosit hücrelerinde fagositoz kapasitesi, oksidatif burst aktivitesi, nitrik oksit ve HOCl reaktif üretimini değerlendirmiştir. DEA grubunda nötrofil oksidatif burst kapasitesi ve her iki grupta HOCl üretimi ($p < 0.05$) daha düşük olduğunu bulmuştur (114).

Literatürde DEA'nin nötrofil fonksiyonları ile ilişkili yüzey antijenlerine etkisini araştıran çalışma yoktur. Çalışmamızda anemi ve kontrol grubunda bakılan hücre yüzey antijen değerleri incelendiğinde CD64'ün anemi grubunda istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek olduğu, tedavi sonrası düştüğü, fakat bu düşüşün

istatistiksel olarak anlamlı oranda olmadığı saptanmıştır. Hücre yüzey antijen MFI değerleri incelendiğinde CD64 MFI'nın anemi grubunda kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı oranda düşük olduğu, tedavisi ile değişiklik olmadığı saptanmıştır. Nötrofil yüzeyinde eksprese edilen CD64 yüzey antijenin son yıllarda sepsis ve enfeksiyon biyomarkeri olabileceği konusunda çalışmalar vardır. CD64 ekspresyonu normalde çok düşük düzeydedir, ancak nötrofil aktivasyonu ile birkaç saat içinde önemli oranda artmaktadır, uyarı ortadan kalktığında birkaç gün içinde bazal değere inmektedir. CD64 ekspresyonu doğal bağışıklıkta nötrofil fagositoz aktivitesi gibi önemli rol oynar; CD64 antijeni IG G nin Fc res için yüksek afiniteye sahiptir. Bakteri ve diğer mikroorganizma fagositozu için IG G nin Fc res aracılık etmektedir. Nötrofil üzerinde CD64 eksprese eden yapı, proinflamatuvar sitokinler ile nötrofilin aktivasyonu sonrası yaklaşık olarak 10 kat artış olmaktadır. Bu da bizim için aktive ve istirahat halindeki nötrofil ayırımı için önemli bir göstergedir. Davis ve ark. sepsis için nötrofil CD64 ekspresyonunun tanısız potansiyeli olduğunu göstermiştir (113). Ng PC ve ark. neonatal enfeksiyonlarda CD64'ün erken diagnostik tanı kriteri olabileceğini göstermiştir (116). Allen ve ark. akut otoimmün hastalıklarda CD64'ün yüksek olduğunu göstermiştir (117). Çalışmamızda DEA grubundaki çocuklar fizik muayene bulguları ve laboratuvar bulguları göz önüne alınarak değerlendirildi ve enfeksiyon ekarte edildi. Buna rağmen DEA olan çocuklarda nötrofil CD64 ekspresyonunun artmış olması, CD64 'ün DEA olan çocuklarda enfeksiyon markeri olarak kullanılmasının uygun olmayabileceğini düşündürdü.

Çalışmaya aldığımız olguların periferik kan monositlerinde transferin reseptörü olan CD71'in ekspresyonuna bakıldı ve DEA ile kontrol grubu arasında fark olmadığı ancak DEA grubunda tedavi ile istatistiksel olarak anlamlı oranda düşme olduğu gösterildi. Demir eksikliği anemisinde yükselen soluble transferin reseptörü gibi CD71 ekspresyonunda artış gösterlemedi. Ancak demir tedavisi sonrası hücre CD71 ekspresyonundaki düşme demir tedavisi sonrası soluble transferin reseptörü değerlerindeki düşme ile paraleldi. Demir eksikliği anemisi tanısında CD71'in soluble transferin reseptörü kadar duyarlı bir test olup olmadığının ortaya konabilmesi için daha fazla sayıda olgu ile daha geniş çalışmaya ihtiyaç vardır.

Çalışmamızda DEA'nin nötrofil fonksiyonları ile ilişkili yüzey markerlarında anlamlı bir düşüğe neden olmadığı görülmüştür, ancak demir eksikliği anemisinde nötrofil fonksiyonlarının flow sitometrik yöntemle değerlendirilmesinin uygun olup olmadığına karar verilebilmesi için daha kapsamlı çalışmalara gereksinim olduğu düşünülmüştür.

6. SONUÇLAR

- 1- Demir eksikliği anemisi grubunda tedavi öncesi ve sonrası IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IFN- γ ve TNF- α düzeylerinde anlamlı değişiklik saptanmadı.
- 2- Demir eksikliği anemisi grubu ile kontrol grubu arasında IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-13, IFN- γ ve TNF- α düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı değişiklik saptanmadı.
- 3- Demir eksikliği anemisi grubunda tedavi öncesi ve sonrası nötrofil fonksiyonları ile ilişkili hücre yüzey antijenlerinden CD11A, CD11B, CD11C, CD18, CD54, CD64 % düzeyleri istatistiksel olarak anlamlı değişiklik saptanmadı.
- 4- Demir eksikliği anemisi ve kontrol grubunda hücre yüzey antijen % değerleri incelendiğinde CD64 %'si DEA grubunda istatistiksel olarak anlamlı oranda yüksek bulundu ($p < 0.022$). CD11a, CD11b, CD11c, CD18, CD54, CD45, CD71 % değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılık yoktu.
- 5- Demir eksikliği anemisi grubunda tedavi öncesi ve sonrası değerlendirilen nötrofil yüzey antijen MFI değerleri incelendiğinde CD11A, CD11B, CD11C, CD18, CD45, CD54, CD64 MFI açısından istatistiksel olarak anlamlı fark yoktu.
- 6- Demir eksikliği anemisi grubunda tedavi öncesi ve sonrası değerlendirilen transferin reseptörü (CD71) düzeyleri DEA ve kontrol grubunda istatistiksel olarak anlamlı farklılıkta değildi, ancak DEA grubunda tedavi sonrası düşme gözlemlendi, bu da bize CD71' in demir eksikliği tanımında kullanım için daha çok sayıda vaka içeren çalışmaya gereksinim olduğunu düşündürmektedir.

7. KAYNAKLAR

1. Dallman PR, Yip R, Oski A. Iron deficiency and related nutritional anemias. In: Nathan DG, Oski FA eds. Hematology of Infancy and Childhood. 5th edn. Philadelphia: WB Saunders, 1998: 430- 476. World Health Organization. Iron deficiency anemia: Prevalence and epidemiology of iron deficiency, 2001
2. Feng XB, Yang XQ, Shen J. Influence of iron deficiency on serum IgG subclass and pneumococcal polysaccharides specific IgG subclass antibodies. Chin Med J (Engl). 1994 Nov; 107 (11):813- 816
3. Ekiz C, Agaoglu L, Karakas Z, Gurel N, Yalc n I. The effect of iron deficiency anemia on the function of the immune system. Hematol J, 2005;5 (7):579- 583
4. Morse CG, High KP. Nutrition, Immunity, and Infection. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R eds. Principles and Practice of Infectious Diseases, 6th edn. Philadelphia: Elsevier, 2005: 139-148
5. Mullick S, Rusia U, Sika M, Faridi MA. Impact of iron deficiency anaemia on T lymphocytes and their subsets in children. Indian J Med Res, 2006 Dec;124 (6): 647-654.
6. Galan P, Thiabault H, Preziosi P, Hercberg S. Interleukin 2 production in iron deficient children. Biol Trace Elem Res, 1992 Jan-Mar;32: 421- 426.

Thiabault H, Galan P, Selz F, Preziosi P, Olivier C, Badoual J, Hercberg S. The immune response in iron-deficient young children: effect of iron supplementation on cell-mediated immunity. Eur J Pediatr, 1993 Feb;152 (2): 120-124.
7. Sipahi T, Akar N, E in Y, Cin S. Serum interleukin-2 and interleukin-6 levels in iron deficiency anemia. Pediatr Hematol Oncol, 1998;15 (1):69-73.
8. Scrimshaw NS, San Giovanni JP. Synergism of nutrition, infection, and immunity: an overview. Am. J. Clin. Nutr. 1997;66:464-477

9. Finch CA, Huebers AH. Iron Methabolism. Clin Physio Biochem 1986; 4:5-10.
10. Ünal S, Yetgin S. Demir eksikliği anemisi. Sosyal pediatri. Katkı dergisi 2003; 25 (3); 327- 345.
11. Acharya J, Punched NA, Taylor JA, Thompson PR, Pearson TC. Red cell lipid peroxidation and antioxidant enzymes in iron deficiency. Eur J Haematol 1991; 47: 287-91
12. Sipahi T. Nutrisyonel anemilerde yenilikler. Türk Hematoloji Derneği 9.Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu 2006;44-50.
13. Yıldız İ. Demir Eksikliği Anemisi. Türk Pediatri Arşivi, 2009; 44 (Sup 1): 14-8
14. Avcı Z. Karaciğer Nakli Yapılan Çocuklarda Serum Prohepsidin Düzeyinin Eritrosit Göstergeleri, Serum Demir Değişkenleri ve Karaciğer Demir Yoğunluğu İle İlişkisinin Araştırılması. Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi Uzmanlık Tezi, Ankara, 2008.
15. Uysal Z. Hepsidin ve demir metabolizması. Türk Hematoloji Derneği 6. İlk Basamak Kursu 2007;9-15
16. Mackenzie B, Garrick MD. Iron Imports. II. Iron uptake at the apical membrane in the intestine. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2005; 289 (6): 981-6.
17. Canonne-Hergaux F, Gruenheid S, Govoni G, Gros P. The Nramp1 protein and its role in resistance to infection and macrophage function. Proc Assoc Am Physicians, 1999; 111 (4): 283-9.
18. Gunshin H, Mackenzie B, Berger UV, et al. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. Nature. 1997;388:482-488
19. Donovan A, Lima CA, Pinkus JL, Pinkus GS, Zon LI, e S, Andrews NC. The iron exporter ferroportin/Slc40a1 is essential for iron homeostasis. Cell Metab, 2005; 1 (3): 191-200.

20. Vatandaş ve ark. Hayatın ilk yılında demir profilaksisi ve anemi. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi 2007; 50:12-15
21. Ünal S, Yetkin S. Demir Eksikliği Anemisi. Katkı Pediatri Dergisi. 2004;16 (3):327-45. Hagar W, Theil EC, EP Vichinsky. Diseases of iron metabolism. Pediatr Clin N Am. 2002;4:893-909.
22. Kazal L.A Prevention of iron deficiency in infants and toddlers, American Family Physician 2002;66:1217-24
23. Ünal S, Yetkin S. Demir Eksikliği Anemisi. Katkı Pediatri Dergisi. 2004;16 (3):327-45.
24. Provan D. Mechanisms and management of iron deficiency anaemia. British Journal of Haematology. 1999; 105: 19-26.
25. Behrman R: Diseases of the blood, in Kliegman R, Nelson W, Vaughan V (Eds.). Nelson Textbook of Pediatrics 14 th ed. Philadelphia: W.B.Saunders Co. 2004;1614- 1616.
26. Gümrük F, Altay Ç: Demir metabolizması ve demir eksikliği anemisi. Katkı Pediatri Dergisi. 1995;3:265-285.
27. Dallman PR, Yip R, Oski A. Iron deficiency and related nutritional anemias. In: Nathan DG, Oski FA (eds). Hematology of Infancy and Childhood (5th ed.) Philadelphia: WB Saunders, 1998;430-76.
28. Turker G, Sarper N, Gokalp AS, Usluer H. The effect of early recombinant erythropoietin and enteral iron supplementation on blood transfusion in preterm infants. Am J Perinatol. 2005;22 (8):449-55.
29. Ulku B. Demir eksikliği anemisi: Klinik hematolojinin ABC'si. İ.U. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Anemiler Sempozyumu, İstanbul, 2001; 23-32.

30. Ned RM, Swat W, Andrews NC. Tf receptor 1 is differentially required in lymphocyte development. *Blood*. 2003;102:3711-3718.
31. Atanassova BD, Tzatchev KM. Iron:The dual element. *Turk J Biochem*, 2007; 32: 135-140
32. Doğru D, Öztürk R, Çamur S. Anemili hastaya yaklaşım. Özalp İ, ed. *Katkı Pediatri Dergisi*, 1995;16 (3):251-264
33. Smith C, Marks A, Lieberman M. Gen ifadesinin düzenlenmesi. In: Smith C Marks A, Lieberman M, eds. *Marks Temel tıbbi biyokimyası*, 2. baskı . Ankara. Güne Kitabevi, 2007:274- 29645
34. Marks A, Lieberman M, eds. *Marks Temel tıbbi biyokimyası* , 2. baskı . Ankara. Güne Kitabevi, 2007:274- 296
35. Dalman PR, Yip R. Changing characteristics of childhood anemia. *The Journal of Pediatrics*, 1989;114:161-164
36. Boyd D, Vecoli C, Belcher DM, Jain SK, Drysdale JW. Structural and functional relationships of human ferritin H and L chains deduced from cDNA clones. *J. Biol. Chem.* , 1985;260:11755- 1761
37. Klausner RD, Rouault TA, Harford JB. Regulating the fate of mRNA: The control of cellular iron metabolism. *Elsevier B.V* 1993;72: 19- 28
38. World Health Organization. *Iron deficiency anemia: Methods of assessing iron status*,2001
39. Fairbanks VF, Beutler E. Iron metabolism. In:Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U. *Williams Hematology*, 6th edn.USA:McGraw-Hill,2001:295-30
40. Shaw GC, Cope JJ, Li L, et al. Mitoferrin is essential for erythroid iron assimilation. *Nature*. 2006;440:96-100.

41. Nathan DG, Orkin SH, Ginsburg D, Look AT. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood Sixth Edition, 2003;409-417 5.
42. Doğru D, Öztürk R, Çamur S. Anemili hastaya yaklaşım. Özalp İ, ed. Katkı Pediatri Dergisi, 1995;16 (3):251-264
43. Osborn, Dewitt, First, Zenel. Pediatri Cilt 1. Anemiler,2007;686-859
44. Rudolph AM, Kamei RK, Overby KJ. Kan. Rudolph's Fundamentals of Pediatrics Türkçe. Çeviri editörü Yurdakök M, 2003;513-545
45. Wilson DB. Disorders of Iron Metabolism and Sideroblastic Anemia. In: Nathan D.G, Orkin S.H, Ginsburg D, Look T.A., eds. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood. 6.th edit. W.B Saunders Company, Philadelphia, 2009; 522-542
46. Montgomery RR, Scott JP. Anemias of Inadequate Production. Iron- Deficiency Anemia.In:Behrman RE,Kliegman RM, Jenson HGB, eds. Nelson Textbook of Pediatrics. 17.th edit. WB Saunders Company,Philadelphia, 2004; 1614-1616
47. Fairbanks VF, Beutler E. Iron deficiency. In:Williams WJ, Beutler E, Erslev AJ, Lichmant MA, editors.Hematology. New York: McGraw-Hill, 1990:482-505
48. WHO Technical Report Series. Iron deficiency anemia: Report of a study group. 1959, No.182
49. Sakru A, Genel F, Atlıhan F, Serdaroğlu E. 6 ay – 15 yas arası çocuklarda DEAsıklığı. Ege Pediatri Bulteni 2000; 7 (4):175-80
50. Ece A, Arı Z, Dıscan A, Balkan C, Onağ A. Hastaneye basvuran çocuklarda demir eksikliği anemisi sıklığı. Genel Tıp Dergisi 1997; 7 (1):21-4.
51. De Mayer EM, Tegman M. The prevalence of anemia in the world. Health Statistics Quarterly Geneva, 1985; 38: 302-316
52. Oski FA. Iron deficiency in infancy and childhood. N Engl J Med 1993; 329 (3):190-3.

53. Lanzkowsky P. Iron-Deficiency Anemia. In:Lanzkowsky Manuel of Pediatric Hematology and Oncology. New York. Churchill Livingstone.2000:33-49
54. Albayrak D, Albayrak C. Anemik hastada iyi öngörü-Derleme. Türk Ped Arş 2009;44 Özel sayı:1-5.
55. Glader B. Demir eksikliği anemisi. Nelson Essentials of Pediatrics 17. Baskı, Cilt 2. Türkçe. İstanbul, Nobel Tıp Kitabevleri, 2008;1614-1616.
56. Ağaoğlu L. Demir eksikliği anemisi. Anemiler. Neyzi O, Ertuğrul TY,eds. Pediatri Cilt 2:İstanbul, Nobel, 2002; 1051-1054.
57. Zimmermann MB. Iron status influences the efficacy of iodine prophylaxis in goitrous children in Cote d'İvoire .Int.J. vitam.nutr.res.,72 (1),2002; 19-25
58. Robin KO, Robert DC. Diseases of the Blood. Ed: Behrman RE, Kliegman RM,Jenson HGB. Nelson Textbook of Pediatrics. 17 th edition, pp.1630-4, W.B.Saunders, Philadelphia, 2004
59. Ağaoğlu L. Kan Hastalıkları, Anemiler. Ed: Neyzi O, Ertuğrul T. Pediatri. 3. basım,s.1042-64, Nobel Tıp Kitabevleri, İzmir, 2002
60. Lanzkowsky P. Hematologic Reference Values. Ed: Lanzkowsky P. Manuel ofPediatric Hematology and Oncology. 3 th edition, pp.751-73, Academic Press, California, 2000
61. R'Zik S, Loo M, Beguin Y. Reticulocyte Tf receptor (TfR) expression and contribution to soluble TfR levels. Haematologica, 2001; 86 (3): 244-51.
62. Kattamis A, Papassotiriou I, Palaiologou D, Apostolakou F, Galani A, Ladis V, Sakellaropoulos N, Papanikolaou G. The effects of erythropoetic activity and iron burden on hepcidin expression in patients with thalassemia major. aematologica, 2006; 91 (6): 809-12.

63. Şanlılar M. Pediatrik Yaş Grubu Çeşitli Anemik Hastalıkların Ayırıcı Tanısında Serum Solubl Tf Reseptörünün Diğer Hematolojik ve Biyokimyasal Parametrelerle İlişkisi. Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi, Isparta, 2006.
64. Yıldız İ, Yüksel L. Kan Hastalıkları. Ed: Onat T. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları. 1.basım, s.611-56, Eksen Yayınları, İstanbul, 1996
65. Ünal S, Yetkin S. Demir Eksikliği Anemisi. *Katkı Pediatri Dergisi*, 2004; 16 (3): 327- 45
66. Cellular and Molecular Immunology. Abul K.Abbas. Andrew H.Lichtman. Jordan S.Pober. WB.Saunders 2012;16-20
67. Lederman S, Yellin MJ, LeeJJ, et al. Molecular interactions mediating T-B lymphocyte collaboration in human lymphoid follicles. *J Immunology*,143;2714-2722,1989.
68. Hillman RS. Iron deficiency and other hypoproliferative anemias. In:Harrison's principles of Internal Medicine. 14th ed. ed. Fauci SA et al.1998;638-45
69. Hagar W, Theil EC, Vichinsky EP. Diseases of iron metabolism. *Pediatr Clin North Am*, 2002; 49 (5): 893-909
70. Matsui K, Bonifance JJ, Reay PA, et al. Low affinity interactions of peptide-MHC complexes with T cell receptors. *Science* 254;1788-1791,1991.
71. Matsui K, Bonifance JJ, Reay PA, et al. Low affinity interactions of peptide-MHC complexes with T cell receptors. *Science* 254;1788-1791,1991.
72. Deree, J., Lall, R., Melbostad, H., Grant, M., Hoyt, D.B., Coimbra, R., Neutrophil Degranulation and the Effects of Phosphodiesterase Inhibition *Journal of Surgical Research* 133, 22–28, 2006

73. DEAs, D.E., Mackey, S.A., McDonnell, H.T., Systemic disease and periodontitis: manifestations of neutrophil dysfunction, *Periodontology*, Vol. 32, 82–104, 2003.
74. Nair, S., Zingde, S.M., Adhesion of Neutrophils to Fibronectin: Role of the CD66 Antigens, *Cellular Immunology* 208, 96 –106, 2001.
75. Shimizu Y, van Seventer GA, Horgan KJ, Shaw S. Roles of adhesion molecules in T cell recognition: fundamental similarities between four integrins on resting human T cells (LFA-1, VLA-4, VLA-5, VLA-6) in expression, binding, and costimulation. *Immunol Rev.* 1990 Apr;114:109-43.
76. Cronstein BN, Weismann G. The adhesion molecules of inflammation. *Arthritis Rheum* 1993;36:147-157.
77. Foxall C, Watson SR, Dowbenko D, Fennie C, Lasky LA, Kiso M, Hasegawa A, Asa D, Brandley BK. The three members of the selectin receptor family recognize a common carbohydrate epitope, the sialyl Lewis oligosaccharide. *J Cell Biol* 1992,117:895-902.
78. Albelda SM. Endothelial and epithelial cell adhesion molecules. *Am J Respir Cell Mol Biol* 1991;4:195-203. Chapman PT, Haskard DO. Leucocyte adhesion molecules. *British Medical Bulletin* 1995;51:296-311
79. Gearing AJH, Newman W. Circulating adhesion molecules in disease. *Immunology Today* 1993;14:506-512.
80. *Cellular and Molecular Immunology*. Forth Edition. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, WB Saunders Company, 2000
81. Durum SK, Openheim JJ. Proinflammatory cytokines and immunity. In: Paul WE (ed). *Fundamental immunology*. 3rd edition. New York: Raven Press Ltd; 1993. 801-35.

82. Bellanti JA, Kadlee JV, Escobar-Guotemez A. Cytokines and the immun response. *Pediatr Clin North Am* 1994;41:597-623
83. Kılıçturgay K. İmmunolojiye Giriş. 3. basım. Bursa: Güneş ve Nobel Tıp Kitabevleri 1994;72-83.
84. Newton RC. The production of human interleukin-1 β by blood monocytes, *Prog. Biol. Clin. Res.*, 1990;349:217-228.
85. McMahan C. Slack J. Mosley B. A novel IL-1 receptor, cloned from B cells by mammalian expression, is expressed in many cell types. *Embo J.* 1991;10:2821-2832.
86. Jelinek DF. and Lipsky PE. Enhancement of human B cell proliferation and differentiation by tumor necrosis factor- α and interleukin-1, *J. Immunol.* 1987;139:2970-2976.
87. Oppenheim JJ, Ruscetti FW, Faltynek C. Cytokines. In : Stites DP, Terr AI, ed. *Basic and Clinical Immunology* 1994:105-123.
88. Abbas AK, Lichtman AH, Poper JS. Cytokines. *Cellular and Molecular Immunology Philadelphia* : WB Saunders Company. 1994:240-261.
89. Smith KA. Low-dose IL-2 immunotherapy: *Blood* 1993;81:1402
90. Kishimoto T. The biology of IL-6. *Blood* 1989; 74: 1-10.
91. Durum SK, Oppenheim JJ. Proinflammatory cytokines and immunity. In: Paul WE. *Fundamental Immunology*. 3rd ed. New York Raven Press Ltd 1993; 801-835.
92. Hirano T, Akira S, Taga T, Kishimoto T. Biological and clinical aspects of IL-6. *Immunol Today* 1990;11:443-449.
93. Castell JV, Gomez MJ. IL-6 is a major regulator of the acute phase protein synthesis in human hepatocytes. *Febs Lett* 1989;237-242

94. Groll AH, Meiser A, Weise M. IL-6 is an early mediator in neonatal sepsis. *The Pediatr Infect Dis J* 1992;11:496-498.
95. Chiesa C, Signore F, Assuma M, Buffone E, Tramontozzi P, Osborn J, Pacifico L. Serial Measurements of C-reactive protein and interleukin-6 in the immediate postnatal period: reference intervals and analysis of maternal and perinatal confounders. *Clinical Chemistry*. 2001;47:1016-1022
96. Rusconi F, Paraizzi F, Garlachi L, et al. IL-6 activity in infants and children with bacterial meningitis. *Pediatr Infect Dis J* 1991;10:117-121.
97. Parham P. *The Immune System*. Londra 2000 :Garland Publishing 2000;216
98. Oppenheim JJ, Ruscetti FW. Cytokines. In: Stites DP, Terr AI, Parslow TG. *Medical Immunology*. 9th ed. USA: Appleton& Lange 1997;10:162-164
99. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Effector mechanisms of T cell mediated immun reactions. In *Cellular and molecular Immunology*. 3rd ed. USA: WB Saunders Company 1997;13:286
100. Alam R. Chemokines in cell movement and inflammation. Rosenwasser LJ, Borish L. Cytokines in allergic inflammation. Church MK, Shute JK, Sampson AP. Mast cell-derived mediators. Hirota K, Adolphson CR, Gleich GC. Biology of eosinophils. In: Adkinson NF, Yunginger JW, Busse WW, Bachner BS, Holgate ST, Simons FER. *Middleton's Allergy*. 6th
101. Ho AS, Moore KW. Interleukin-10 and its receptor. *The Immunol*, 1994;1:173-8.
102. Farthing MJ. Iron and immunity. *Acta Paediatr. Scand. Suppl.* 1989; 361: 44- 52
103. Moraes-de-Souza H, Kerbauy J, Yamamoto M., da-Silva M. P. , dos-Santos MR. Depressed cell-mediated immunity in iron-deficiency anemia due to chronic loss of blood. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 1984;17 (2): 143- 150.

104. Bergman M, Besler H, Salman H, Siomin D, Straussberg R, Djaldetti M. In vitro cytokine production in patients with iron deficiency anemia. *Clin Immunol*, 2004 Dec;113 (3):340- 344
105. Biological markers in children with iron deficiency Student researcher: sana dastgheyb, mclean high school; mclean, Virginia Mentors: victor gordeuk, md, center for sickle cell disease, howard University, washington dc; ishmael kasvosve, phd, ethnicity disease volume 17, autumn 2007.
106. Influence of iron on plasma interleukin-2 and gamma IFN level in iron deficiency anemia. Suega K, Bakta IM. Source Department of Internal Medicine, Faculty of Medicine, Udayana University - Sanglah Hospital, Jl. P. Nias III no. 10, Denpasar, Bali, Indonesia.
107. Macdougall LG, Anderson R, McNab GM, Katz J. The immune response in iron deficient children: Impaired cellular defense mechanisms with altered humoral components. *J Pediatr*, 1975 Jun; 86 (6): 833- 843.
108. Chandra RK. Lymphocyte subpopulations in human malnutrition. Cytotoxic and suppressor cells. *Pediatrics* 1977; 59: 423–427.
109. Liu W, Jiang A, Guo C. Cellular immunity in childhood iron deficiency anemia with recurrent respiratory infections. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*, 1997 Nov; 18 (11): 566- 567.
110. Erdal Kurtoglu, Aysegul Ugur, Abdulkemir Kasim Baltaci, Rasim Moğolkoc, and Levent Undar, Activity of Neutrophil NADPH Oxidase in Iron-Deficient Anemia 2003; Accepted June 19, 2003 0163-4984/03/96 (1–3)–0109.
111. Devaki PB, Chandra RK, Geisser P Effect of oral supplementation with iron (III)-hydroxide polymaltose complex on the immunological profile of adolescents with varying iron status 2007; 57 (6A):417-25.

112. Davis BH, Bigetow NC. Comparison of neutrophil CD64 expression, manual myeloid immaturity counts, and automated hematology analyzer flags as indicators of infection or sepsis. *Lab Hematol* 2005; 11:137
113. Paino IM, Miranda JC, Marzocchi-Machado CM, Cesarino EJ, de Castro FA, de Souza AM. Phagocytosis, oxidative burst, and produced reactive species are affected by iron deficiency anemia and anemia of chronic diseases in elderly. 2009 Summer;129 (1-3):116-25. doi: 10.1007/s12011-008-8303-8. Epub 2009 Jan 9.
114. Anna Płoszyńska, Katarzyna Ruckemann-Dziurdzińska, Agnieszka Jóźwik Cytometric evaluation of Tf receptor 1 (CD71) in childhood acute lymphoblastic leukemia Vol. 50, No. 2, 2012 pp. 304–311.
115. Ng PC, Li G, Chui KM, Chu WC, Li K, Wong RP, et al. Neutrophil CD64 is a sensitive diagnostic marker for early onset neonatal infection. *Pediatr Res* 2004;56:796803.
116. Allen E, Bakke AC, Purtzer MZ, Deodhar A. Neutrophil CD64 expression: distinguishing acute inflammatory autoimmune disease from systemic infections. *Ann Rheum Dis* 2002;61:5225.
117. Ünüsan N. Okul öncesi dönem çocuklarında demirin önemi ve bilişsel davranış üzerine etkisi. *M.Ü. Atatürk Eğitim Fakültesi Eğitim Bilimleri Dergisi* 2003;17:87-98.
118. Scott JP. Hematoloji. In: Behrman R.E., Kliegman R.M., editors. *Nelson Essentials of Pediatrics*, çev. Tuzen S. 3.B.İstanbul; Nobel Tıp Kitabevi; 2001.s. 545-556.
119. Jiferds M.D. Concepts of iron deficiency anemia and public health measures in rural Costa Rica. *Social Medicine* 2002; 55: 1143-1156
120. J. Jason, L. K. Archibald, O. C. Nwanyanwu. The effects of iron deficiency on lymphocyte cytokine production and activation: preservation of hepatic iron but not at all cost *Clin Exp Immunol* 2001; 126:466-473

121. Michael Bergman, M.D. Hertzal Salman, M.D. Rafael Pinchasi, M.D. Rachel Straussberg, M.D. Meir Djaldetti, M.D. , Hanna Bessler, Ph.D. Phagocytic capacity and apoptosis of peripheral blood cells from patients with iron deficiency anemia *Biomedicine & Pharmacotherapy* 59 (2005) 307–31.

8. EKLER

Ek 1: Etik Kurul Onayı



**T.C.
ZONGULDAK KARAELMASÜNİVERSİTESİ
Tıp Fakültesi Bilimsel Araştırmalar
Etik Kurul Başkanlığı**



TOPLANTI TARİHİ : 08.03.2011
TOPLANTI NO : 2011/02

KARARLAR :

9 -Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanlığı'nın 2011-09-08/03 Protokol no'lu "Çocuklarda Demir Eksikliği Anemisinin Nötrofiller Üzerine Etkisi" konulu başvurusunun Etik Kurallar uygun olduğuna,

Oy Birliği ile karar verilmiştir.

A S L I G İ B İ D İ R

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'H. ÜSTÜN'.

Doç.Dr. Hasan ÜSTÜN
Bilimsel Araştırmalar Etik Kurul Başkanı