

**T.C.  
FATİH ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ÇOCUKLUK ÇAĞI DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİNDE  
TOTAL OKSİDATİF STRES VE TOTAL ANTİOKSİDAN  
KAPASİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. HALİSE AKÇA

ANKARA-2011

**T.C.  
FATİH ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ  
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI**

**ÇOCUKLUK ÇAĞI DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİNDE  
TOTAL OKSİDATİF STRES VE TOTAL ANTİOKSİDAN  
KAPASİTENİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

DR. HALİSE AKÇA

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. AZİZ POLAT

ANKARA-2011

# ÖNSÖZ

Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları kliniğindeki uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük emeği geçen, her türlü konuda desteğini esirgemeyen, tecrübe ve deneyimlerinden çok şey kazandığım başta tez hocam sayın Prof. Dr. Aziz Polat'a ve değerli hocalarım Prof. Dr. Sadi Türkay'a, Prof. Dr. M. Mansur Tatlı'ya, Doç. Dr. Emin Mete'ye, Doç. Dr. Ferhat Çatal'a, Doç. Dr. Nesibe Andıran'a, Yrd. Doç. Dr. Ayşe Esra Yılmaz'a, Uzm.Dr. Ali Selman Doğukan'a ve laboratuvar çalışmalarımıdaki desteğinden dolayı Dr. Cemile Koca'ya,

Klinikteki çalışmalarımnda yardımlarını esirgemeyen ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum tüm uzmanlarıma, asistan arkadaşlarıma, hastanemizin hemşire ve yardımcı personeline teşekkür ederim.

Bütün hayatım boyunca, her şartta yanımda olan, beni yetiştiren ve sonsuz sabır gösteren, destek ve dualarını hiçbir zaman eksik etmeyen anneme ve babama sonsuz teşekkür ve sevgilerimi sunarım.

**Dr. Halise AKÇA**

**Ankara-2011**

## ÖZET

Demir, eritropoezis, oksidatif metabolizma ve hücre sel immün cevap için gerekli bir elementtir. Demir eksikliği anemisinde birçok organ ve sistem etkilenir. Vücudumuzda hücre metabolizması sonucu serbest radikaller ve reaktif oksijen türevleri oluşur. Oksidatif stres, reaktif oksijen türevleri ile antioksidan sistem arasında oluşan dengesizliktir. Bu dengesizlik hücre kompartımanlarında geri dönüşümsüz hasara neden olabilir. Demir eksikliği anemisinde hem oksidan miktarının artması hem de antioksidan enzim kapasitesinin azalmasına bağlı olarak oksidatif stresin arttığı kabul edilmektedir. Bu çalışmada çocukluk çağı demir eksikliği anemisinde total oksidatif durum araştırılmıştır.

Çalışmaya yaşları 6-60 ay arasında, demir eksikliği anemisi olan 40 çocuk ile sağlıklı 40 çocuk olmak üzere toplam 80 çocuk alındı. Kan örneklerinden tam kan sayımı, serum demiri, serum total demir bağlama kapasitesi, ferritin, total oksidatif stres ve total antioksidan kapasite çalışıldı. Demir eksikliği anemisi saptanan çocuklara oral ferrik demir tedavisi başlandı. İki ay sonra kontrole gelen anemik hastaların kan tetkikleri tekrarlandı.

Çalışmada total oksidatif stresin demir eksikliği anemisi grubunda belirgin derecede yüksek olduğu, total antioksidan kapasitenin her iki grupta benzer olduğu tespit edildi. Demir tedavisi sonrasında total antioksidan kapasitenin değişmediği, total oksidatif stresin anlamlı şekilde düştüğü görüldü. Demir eksikliği anemisinde total oksidatif stres ve total antioksidan kapasitenin hemoglobin, serum demiri, serum total demir bağlama kapasitesi ve ferritin ile korelasyonları saptanmadı.

Sonuç olarak bu çalışmada çocuklardaki demir eksikliği anemisinin oksidatif streste artışa neden olduğu ve bu artışın tedavi sonrasında normale döndüğü gösterildi.

**Anahtar kelimeler:** çocuk, demir eksikliği anemisi, oksidatif stres, antioksidan kapasite

## **ABSTRACT**

Iron is an essential element for erythropoiesis, oxidative metabolism and cellular immune response. Many organs and systems are affected in iron deficiency anemia. As a result of cell metabolism, free radicals and reactive oxygen species are produced. Oxidative stress is an imbalance between reactive oxygen species and antioxidant system. This imbalance can cause irreversible damage to the cell compartments. Oxidants are increased and antioxidants are decreased, and as a result, oxidative/antioxidative balance shifted toward oxidative side in patients with iron deficiency anemia. In this study, total oxidative status was investigated in childhood iron deficiency anemia.

This study was carried out with 80 children, 40 children with iron deficiency anemia and 40 healthy, whose ages were between 6 and 60 months. Blood samples were taken and complete blood count, serum iron, iron binding capacity, ferritin levels, total oxidative stress and total antioxidant capacity were studied. Oral ferric iron therapy was started in children with iron deficiency anemia. After two months, blood tests were repeated from anemia patients to check the change.

Total antioxidant capacity was similar in both groups but the total oxidative stress was significantly higher in iron deficiency anemia group. We have shown that total antioxidant capacity did not change although total oxidative stress decreased significantly after the treatment of iron deficiency anemia. We did not find any correlation between hemoglobin, serum iron, iron binding capacity, ferritin levels and total oxidative stress, total antioxidant capacity in iron deficiency anemia.

As a result of this study, oxidative stress increases in children with iron deficiency anemia and this increase returns to normal level by treatment.

**Keyword:** child, iron deficiency anemia, oxidative stress, antioxidant capacity

## KISALTMALAR

<b>ApoTf</b>	: Apotransferrin
<b>ATP</b>	: Adenozin nükleotid trifosfat
<b>CAT</b>	: Katalaz
<b>DcytB</b>	: Duodenal sitokrom b
<b>DMT</b>	: Divalan metal taşıyıcı
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>FEP</b>	: Serbest eritrosit protoporfirini
<b>GPx</b>	: Glutasyon peroksidaz
<b>GR</b>	: Glutasyon redüktaz
<b>GST</b>	: Glutasyon transferaz
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Hidrojen peroksit
<b>HCP</b>	: Hem taşıyıcı protein
<b>HFA</b>	: Hefaestin
<b>HO<sup>-</sup></b>	: Hidroksil radikali
<b>MAO</b>	: Mono-amino oksidaz
<b>MCH</b>	: Ortalama eritrosit hemoglobin
<b>MCHC</b>	: Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu
<b>MCV</b>	: Ortalama eritrosit hacmi
<b>MDA</b>	: Malonildialdehid
<b>O<sub>2</sub></b>	: Oksijen
<b>O<sub>2</sub><sup>-</sup></b>	: Süperoksit radikali
<b>O<sub>2</sub><sup>↑↓</sup></b>	: Singlet oksijen
<b>RDW</b>	: Eritrosit dağılım genişliği
<b>SDBK</b>	: Serum demir bağlama kapasitesi
<b>SOD</b>	: Süperoksit dismutaz
<b>TAS</b>	: Total antioksidan kapasite
<b>Tf</b>	: Transferin
<b>TfR</b>	: Transferin reseptörü
<b>TOS</b>	: Total oksidatif stres
<b>TSI</b>	: Transferin saturasyon indeksi

# İÇİNDEKİLER

	Sayfalar
Önsöz.....	i
Özet.....	ii
Abstract.....	iii
Kısaltmalar.....	iv
<b>1. Giriş ve Amaç.....</b>	<b>1</b>
<b>2. Genel Bilgiler .....</b>	<b>3</b>
<b>2.1. Demir Eksikliği Anemisi .....</b>	<b>3</b>
2.1.1. Demir Eksikliği Anemisinde Etyoloji .....	3
2.1.2. Demir Metabolizması.....	5
2.1.3. Demir Eksikliğinin Evreleri .....	13
2.1.4. Demir Eksikliğinde Klinik Bulgular .....	14
2.1.5. Demir Eksikliğinde Laboratuvar Bulguları .....	16
<b>2.2. Serbest Oksijen Radikalleri .....</b>	<b>17</b>
2.2.1. Serbest Oksijen Radikalleri .....	17
2.2.2. Serbest Oksijen Radikalleri ve Toksik Metabolitlerin İnsan Fizyolojisi ve Fizyopatolojisindeki Rolü ..	20
2.2.3. Serbest Oksijen Radikaller Nasıl Oluşur .....	21
2.2.4. Süperoksit Radikali (O <sub>2</sub> <sup>-</sup> ) .....	21
2.2.5. Hidrojen Peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) .....	22
2.2.6. Hidroksil Radikali (HO <sup>-</sup> ) .....	22
2.2.7. Singlet Oksijen (O <sub>2</sub> <sup>1Δ</sup> ) .....	23
2.2.8. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri .....	23
2.2.9. İnsan Vücudunda Serbest Radikallerinin Hedef Organları.....	28
<b>2.3. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Savunma Mekanizmaları.....</b>	<b>28</b>
2.3.1. Antioksidan Etki Tipleri.....	28
2.3.2. Antioksidan Sistemler .....	29
2.3.3. Enzimatik Antioksidanlar.....	30
2.3.4. Total Antioksidan Kapasite .....	32
<b>3. Gereç ve Yöntem .....</b>	<b>34</b>
<b>Hematolojik ve Biyokimyasal Ölçümler .....</b>	<b>35</b>
Total Antioksidan Kapasite.....	35
Total Oksidatif Stres.....	36
<b>İstatistiksel Analiz.....</b>	<b>36</b>
<b>4. Bulgular .....</b>	<b>37</b>
<b>5. Tartışma.....</b>	<b>43</b>
<b>6. Sonuçlar.....</b>	<b>51</b>
<b>7. Kaynaklar .....</b>	<b>52</b>

## TABLolar

<b>Tablo 1:</b>	Çocuklarda demir eksikliği anemisine yol açan nedenler.....	5
<b>Tablo 2:</b>	Demirin biyolojik fonksiyonları.....	5
<b>Tablo 3:</b>	Vücut demir dağılımı .....	6
<b>Tablo 4:</b>	Demir eksikliği anemisinin dönemleri .....	13
<b>Tablo 5:</b>	Demir eksikliği anemisi bulguları.....	16
<b>Tablo 6:</b>	Reaktif oksijen radikallerinin kaynakları.....	19
<b>Tablo 7:</b>	Grupların demografik özellikleri.....	37
<b>Tablo 8:</b>	Grupların tam kan sayımı ve demir parametreleri.....	38
<b>Tablo 9:</b>	Grupların total antioksidan kapasite ve total oksidatif stres göstergeleri.....	39
<b>Tablo 10:</b>	DEA grubunun tedavi öncesi ve sonrası demir parametreleri.....	40
<b>Tablo 11:</b>	DEA grubunun tedavi öncesi ve sonrası total antioksidan kapasite ve total oksidatif stres göstergeleri.....	40
<b>Tablo 12:</b>	DEA grubunun tedavi sonrası total antioksidan kapasite ve total oksidatif stres durumlarının kontrol grubu ile karşılaştırılması.....	41

## ŞEKİLLER

<b>Şekil 1:</b>	Enterositten demir Emilimi.....	9
<b>Şekil 2:</b>	Hücreye demir alımı ve transferrin döngüsü.....	12
<b>Şekil 3:</b>	Serbest radikaller .....	24



# 1. GİRİŞ VE AMAÇ

Demir yaşayan tüm organizmalar için gerekli olup, eritropoezis, oksidatif metabolizma ve hücrel immün cevap için gerekli bir elementtir. Süt çocukluğu dönemindeki demir gereksinimi, hızlı büyümeden dolayı diğer yaş gruplarından daha fazladır. Ülkemizde ve dünyada demir eksikliği anemisi önemli bir sağlık sorunudur.

Hücre metabolizması sonucu serbest radikaller ve reaktif oksijen türevleri oluşur. Oksidatif stres, reaktif oksijen türevleri, serbest radikaller ile antioksidan sistem arasında oluşan dengesizliktir ve bu dengesizlik hücre kompartımanlarında geri dönüşümsüz hasara neden olabilir. Serbest radikaller etkilerini protein, lipid, karbonhidrat ve DNA oksidasyonu yaparak hücre zarında, organellerinde ve DNA'da patolojik değişiklikler oluşturarak gösterirler. Bunların sonucunda işlev bozukluğu veya hücre ölümü olmakta ya da mutant özellikler kazandırarak tümör oluşturabilmektedirler. Bu serbest radikaller ve reaktif oksijen türevleri kompleks bir antioksidan sistem tarafından nötralize edilirler (1).

Demir eksikliği anemisinde hem oksidan miktarının artması hem de antioksidan enzim kapasitesinin azalmasına bağlı olarak oksidatif stresin arttığı kabul edilmektedir (2). Demir eksikliğinde sitokrom, miyoglobin, katalaz ve peroksidaz gibi demir içeren proteinlerin üretimi de etkilenir. Demir eksikliği anemisi olan hastalar kronik oksidatif hasara maruz kalmaktadır (3). Demir eksikliği anemisinde hücreleri oksidatif hasara karşı koruyucu olan süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz enzim aktivitelerinin nasıl etkilendiği konusunda çeşitli araştırmalar vardır.

Mikrositik eritrositlerin oksidanlara daha duyarlı olduğu ve eritrositlerde malonildialdehid yapımının daha fazla olduğu gösterilmiştir. İn vitro yapılan çalışmalarda demir eksikliği olan kişilerin eritrositlerinin hidrojen perokside maruz bırakıldığında normal hücrelerden daha kolay parçalandığı saptanmıştır. Bu durum demir eksikliği olan kişilerin

eritrositlerinde oksidatif hasara karşı koruyucu mekanizmalarda bozukluk olduğunu gösterir (4). Diğer taraftan fazla demir birikimi Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları ile hidroksil radikalleri oluşturarak DNA hasarına ve sitotoksositeye neden olur (5). Ferritin bir taraftan serbest demir şelasyonu yaparak oksidatif strese karşı koruyucu iken diğer taraftan ortama serbest demir salarak oksidatif stresi artırır (6).

Total oksidatif stres ve total antioksidan kapasite ölçümleri güvenilir, pratik ve maliyeti ucuz metotlardır. Bu sayede oksidatif durumu gösteren birçok parametrenin ölçümüne gerek kalmamaktadır. Çocukluk çağı demir eksikliği anemisinde total oksidatif durumu gösteren çalışma olmadığı için bu çalışmayı planladık. Bu çalışmada çocuklardaki demir eksikliği anemisinde tedavi öncesi ve sonrası total oksidatif stres ve total antioksidan kapasite ölçüldü.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. Demir Eksikliği Anemisi

Demir, tüm canlılar için biyolojik öneme sahip vazgeçilmez bir element olmakla beraber, ancak eser miktarda canlı organizmalarda bulunmaktadır. Demir, insan vücudunda ise ferröz ( $Fe^{++}$ ) ve ferrik ( $Fe^{+++}$ ) halde bulunur. Kolay değişebilen redoks özellikleri ve oksijenle girdiği etkileşimler, demirin hem yaşamsal öneme sahip olmasına, hem de proteinlere bağlanmadan serbest olarak bulunması durumunda hücre zedelenmesi yapabilmesine neden olmaktadır (7).

Demir dünyada en sık bulunan element olmasına rağmen demir eksikliği dünyada en sık karşılaşılan beslenme sorunudur ve çocukluk çağı anemisinin en sık nedenidir (8). Özellikle gelişmekte olan ülkelerde süt çocukları, adolesanlar, gebe kadınlar ve düşük sosyoekonomik koşulda yaşayanlar için önemli bir halk sağlığı sorunudur. WHO'nun verilerine göre, gelişmekte olan ülkelerde demir eksikliği anemisi %36 ve gelişmiş ülkelerde %8 oranında görülmektedir (9). Çocukluk yaş grubunda demir eksikliği anemisi 6-24 aylar arasında daha sık görülür (10). Düzenli beslenme, büyüme hızında ve demir gereksiniminde azalma nedeniyle 18 aydan sonra demir eksikliği anemisi riski azalmaktadır (11). Ülkemizde de demir eksikliği ve anemisi yüksek oranlarda görülmektedir. Çeşitli çalışmalarda insidans % 6,5-28 arasında bulunmuştur (12-13).

#### **2.1.1. Demir eksikliği anemisinde etyoloji**

Demir eksikliği, demir alımı, fizyolojik demir gereksinimi ve potansiyel kan kayıpları arasındaki etkileşimin bir sonucu gelişmektedir.

Fetusta en fazla demir depolanması son trimesterde olur. Prematüre doğanlarda, intrauterin büyüme geriliği olanlarda ve çoğul gebeliklerde doğumda demir deposunun düşük olmasına bağlı olarak yaşamın ilk 6 ayında demir eksikliği anemisi daha sık görülebilir (14).

Diyette demir emilimini stimüle eden faktörler başta askorbik asit olmak üzere organik asitlerdir. Demir emilimini inhibe eden faktörler arasında liflerde, tüm tahıl ve fasulye türü bitkilerde bulunan fitik asit, pancar ve ıspanakta bulunan oksalik asit, çay, kahve, çikolatada bulunan tanin yer alır. Süt ve süt ürünlerinde bulunan kalsiyum demir emilimini inhibe eder (14).

Hayvan kaynaklı hem, demirin en kolay absorbe edilen formudur. Emilimi gastrik pH'dan bağımsız olup, yüksek kemik iliği eritroid aktivitesi olan hastalarda emilimi artmaktadır. Dünya popülasyonunun büyük bölümü eti çok az veya hiç tüketmemektedir (15). Gelişmekte olan ülkelerde, nutrisyonel demir eksikliği sıklıkla parazitik enfeksiyonlar ve malaraya bağlı gelişen kronik kan kaybıyla birlikte. Endüstriyel ülkelerde ise, demir eksikliği fizyolojik ihtiyaçları karşılayacak demirin diyetle yetersiz alımına bağlıdır. Hızlı büyüme ve artan demir ihtiyacı sebebiyle özellikle infantlar, kız adolesanlar ve doğurgan kadınlar demir eksikliğine adaydır (8).

İnek sütü tüketimi çeşitli mekanizmalarla demir eksikliğine sebep olabilir. İnek sütü ve anne sütü düşük demir içeriğine sahiptir fakat anne sütünün demir biyoyararlılığı daha fazladır. İnek sütü alanlarda demir eksikliği prevalansı artmaktadır (16). İnek sütü diyetdeki demirden zengin besinlerin yerini alarak demir eksikliğini şiddetlendirir. Ek olarak inek sütünün içindeki kalsiyum ve kazein fosfopeptid, demir absorpsiyonunu doğrudan engeller. İnek sütü proteinleri infantlarda gastrointestinal yüzeyin irritasyonuna neden olarak kronik kanamaya neden olabilir (17). Bu nedenle infantların ilk yıl diyetinden inek sütünün çıkarılması önerilmektedir. Kan kayıpları, demir eksikliğine neden olur. Gastrointestinal sistem özellikle kan kaybının en sık olduğu yerdir (Tablo 1) (8).

**Tablo 1. Çocuklarda demir eksikliği anemisine yol açan nedenler.**

Yetersiz alım	Artmış ihtiyaç	Artmış kayıp	Azalmış emilim
Diyete bağlı yetersiz alım	Düşük doğum ağırlıklı bebekler Doğumda düşük hemoglobin düzeyi Siyanotik kalp hastalıkları, kronik hipoksi Artmış büyüme hızı Adolesan evresi	Kan kayıpları Henoch-Schönlein purpurası Paraziter enfeksiyonlar NSAİİ'ye bağlı gastritler Burun kanamaları İatrojenik	Malabsorbsiyon sendromları Çölyak hastalığı Uzun süreli ishaller Gastrektomi İnflamatuvar barsak hastalıkları

### **2.1.2. Demir metabolizması**

Demir pek çok canlı ve insan için yaşamsal öneme sahip temel bir elementtir. Elektron alıp verme özelliği nedeniyle oksijen taşınmasında, enerji yapımındaki birçok enzimin katalizlenmesinde (sitokromlar), bağışıklık sisteminde (nikotinamid adenin dinükleotid fosfat oksidaz, lakroferrin, siderokalin), deoksiribonükleik asit (DNA), ribonükleik asit (RNA) ve protein sentezinde önemli fonksiyonları vardır (Tablo 2) (18).

**Tablo 2. Demirin biyolojik fonksiyonları.**

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

Erişkin bir erkekte yaklaşık 3–4 gram demir bulunur. Sağlıklı erişkin bir erkekte organizmadaki demir dağılımı Tablo 3’de görülmektedir. Organizmadaki demirin %60–70

kadarı hemoglobin, %10 kadarı miyoglobin, sitokromlar ve demir içeren enzimlerin yapısında bulunur. Kalan %20–30'luk kısım ise gereğinde kullanılmak üzere başlıca karaciğer ve retiküloendotelial sistem (RES) makrofajlarında depolanır (19).

**Tablo 3. Vücut demir dağılımı (8).**

Kompartman	Demir içeriği (mg)	Total vücut demiri (%)
Hemoglobin demiri	2000	67
Depo demiri	1000	27
Miyoglobin demiri	130	3,5
Labil havuz	80	2,2
Diğer doku demiri	8	0,2
Transport demir	4	0,1

Demir dengesi, vücutta sıkı bir şekilde korunmaktadır. Demir aktif olarak atılamaz. Demir dengesi, atılımın artırılması yerine emilimin azaltılıp artırılması şeklinde sağlanır. Günlük demir kaybı 1–2 mg olup, bu kayıp gastrointestinal sistem (GİS) ve deriden dökülen epitelyal hücreler ve kadınlarda menstrüel kanamalar yoluyla olmaktadır. Bunun dışında organizmadan demir atılımını sağlayan fizyolojik bir mekanizma yoktur. Batı diyetleri günlük ortalama 10–20 mg demir içerir, ancak bunun sadece 1–2 mg'ı barsaktan emilerek günlük kaybı karşılar. Bunun dışında organizmada gerekli olan demirin çoğu, mevcut demirin yeniden kullanımıyla sağlanmaktadır. Eritrositlerin her gün yaklaşık %1'i makrofajlar tarafından fagosite edilmekte ve bu yolla yaklaşık 20–25 mg demir makrofajlara geçmektedir. Diyetle alınan demir ile makrofajlardan sağlanan demir kanda transferrin (Tf) ile taşınarak büyük oranda kemik iliğine ulaştırılmaktadır. Plazma Tf kompartmanında göreceli olarak az miktarda (~4 mg) demir bulunmaktadır ancak bu demir sürekli hareket halinde olup birkaç saat içinde yenilenmektedir (19).

Demir işlevleri, taşınması ve depolanması sırasında hücrelerde ve vücut sıvılarında daima iki oksidasyon formu olan ferrik ( $Fe^{+3}$ ) veya ferröz ( $Fe^{+2}$ ) şekilde bulunur. Demirin bu

redoks aktivitesi, organizmaya bir taraftan gerekli ve yararlı iken, fazlalığı zararlıdır. Demir fazlalığında oluşan serbest demir, serbest oksijen radikallerinin yapılmasına yol açar. Antioksidanlar tarafından yeteri kadar temizlenemeyen serbest oksijen radikalleri, özellikle de hidroksil radikaller, hücreler için son derecede zararlıdır. Bu nedenle organizma demiri hiçbir zaman serbest halde bırakmamaya çalışır. Demirin organizmadaki miktarı ve dengesi büyük oranda üst ince barsaktan emiliminin ve makrofajlardan salınımının kontrolü ile sağlanmaktadır (20).

#### 2.1.2.1. Demir emilimi

Diyetteki demirin emilimini, demirin emilebilir formda olup olmaması, miktarı, diyetin bileşimi, sindirim sistemi etmenleri, bireyin demir ihtiyacı ve sağlık durumu etkiler. Diyetteki demir, hemoglobin ve miyoglobinden elde edilen, et kaynaklı organik hem demiri ve et dışı kaynaklardan alınan inorganik demir olmak üzere iki şekilde bulunur. Hem demiri ve inorganik demirin ince barsaktan emilim yolları birbirinden farklıdır (21).

#### Hem demirinin emilimi

Diyetteki demirin %10'u hem demiri şeklindedir. Hemoglobin 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 demir eksikliği anemisi daha düşüktür (21). Ette bulunan hemoglobin barsakta enzimlerle hem ve globüline ayrılmakta; globülin yıkım ürünleri hem ve inorganik demiri çözünür halde tutarak emilimi kolaylaştırmaktadır (21). Hem demirin emilimi için, inorganik demir 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 (19).

Demir, gastrointestinal traktusun her bölümünden emilebilmekle birlikte, emilimin en önemli bölümü duodenumda gerçekleşir. Barsakların distal kısmına doğru emilim giderek azalır (22-23). Hem proteinlerdeki demirin emilimi ise farklı bir mekanizma ile olur. Hem, barsak lümeninde globülin kısmından ayrılır ve değişmeden emilir. Hem demiri ferröz formda olup, demir eksikliği olduğunda emilimi 2–3 kat artmakta, duodenal enterositlere hem taşıyıcı protein (HCP) 1 denilen ve yeni keşfedilen özel bir taşıyıcı ile girmektedir (Şekil 2) (24). 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. Enterosite alınan hem demiri, plazmaya geçiş için inorganik demirle aynı yolu kullanmaktadır (19).

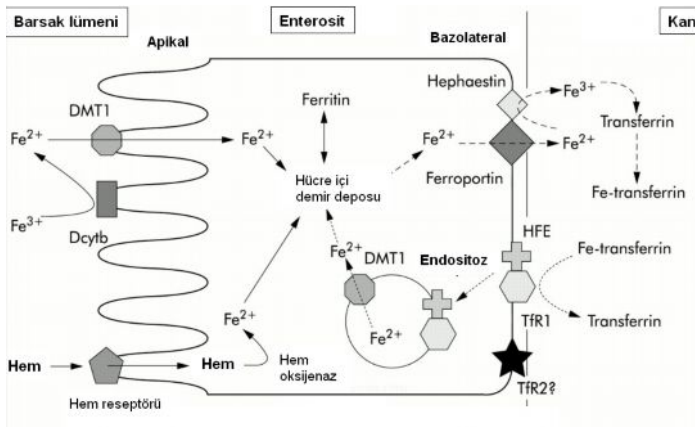
#### İnorganik hem demirinin emilimi

Diyetteki demirin %90'ı hem dışı demir olup sebze, tahıl ve bitkilerde bulunur. Hem dışı demir diyetle ferrik ( $Fe^{+3}$ ) bileşimler şeklinde bulunur. Besinin içerdiği fitat, fosfat, oksalat ve tannat ferrik ( $Fe^{+3}$ ) demir ile bağlanarak çökmesine ve emilmeyecek makro moleküller oluşmasına yol açar (25). Enterosite alınımı için lümen içi pH'yı düşüren mide asiditesine gereksinim vardır. Emilim için önce ferrik 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 lümeneye bakan yüzeyinde bulunan divalent metal taşıyıcı (DMT) 1 yoluyla enterosit içine alınır (26). Bu yapı, hem dışı 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. DMT-1 yaygın olarak bulunur fakat demir eksikliği olan hayvanlarda duodenal seviyeleri dramatik olarak artmaktadır (27).



Hem ve hem dışı demir, enterosite alındıktan sonra organizmanın demir gereksinimine göre en az iki yolda kullanılır. Hücre içinde kalır ve daha sonra enterositin ölümüyle birlikte intestinal lümeneye atılarak kaybedilir veya bazolateral membrandan vücuda transfer edilir. Hücre içinde kalan demir ya ferritin şeklinde depolanır ya da hücre metabolizmasında kullanılır. Bazolateral membranda çok önemli bir demir taşıyıcısı olan ferroportin ile plazmaya verilir (28). Bu işlem sırasında seruloplazmin benzeri bir transmembran proteini olan hephaestin (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. Hem ve hem dışı demirin enterositten emilimi Şekil 1'de görülmektedir.

Normalde diyetdeki hem dışı demirin sadece %10'u duodenumdan geçerek absorbe edilmektedir. Bununla birlikte demir eksikliğinde bu değer belirgin olarak artmaktadır (29). Tersine demir yüklenmesinde azalmakla birlikte tam olarak absorpsiyon hiç olmamaktadır. Bu da demir depolarının absorpsiyonu düzenlediğini göstermektedir. Finch ve diğer araştırmacılar bu modeli depo regülasyonu olarak tanımlamışlardır. Ek olarak hem demir eksikliği anemisi hem de anemiyle ilişkili inefektif eritropoez demir absorpsiyonunda belirgin bir artışa neden olmaktadır. Bu etki demir depolarının etkisinden daha fazladır (29).



**Şekil 1. Enterositte demir emilimi.**

### 2.1.2.2. Demir döngüsü ve depolanması

Demir plazmada karaciğerde üretilen bir glikoprotein olan Tf'e bağlanarak taşınmaktadır. Enterositin bazolateral tarafından ferroportin ile dışarı verildikten ve hefaestin ile ferrik hale getirildikten sonra Tf'e bağlanan demir, başta kemik iliği eritrosit öncülleri olmak üzere tüm vücut hücrelerine taşınır. Her Tf molekülü iki tane ferrik demiri güçlü bir şekilde bağlar.

Transferrin üç amaca hizmet eder:

- 1- Fizyolojik durumlar altında demiri soluble halde tutar,
- 2- Demirin ilişkili olduğu serbest radikal toksisitesini önler,
- 3- Demirin hücrelere girişini kolaylaştırır (8).

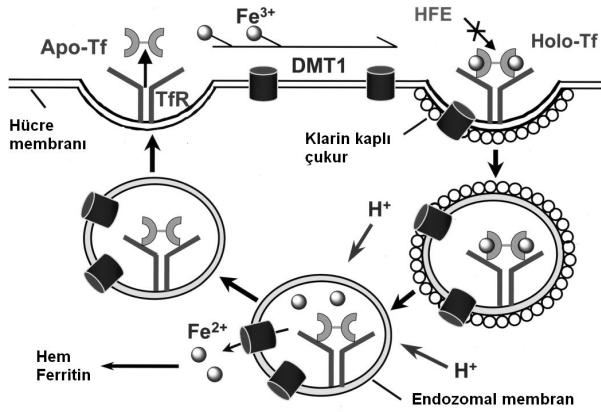
Tf, başlıca demir transport proteinidir ve 4 mg demir içerir. Karaciğer transferrinin en çok sentezlendiği ve sekrete edildiği organdır. Testisin sertoli hücreleri, santral sinir sisteminin oligodentrositleri, lenfositler, kas hücreleri de bu proteini üretmektedir (30). Depo demiri, Tf sentezinin regülasyonunu sağlar. Plazma Tf konsantrasyonu demir eksikliğinde artarken, vücutta demir birikiminde azalır (31). Gebelikte ve gebelik önleyici ilaçların kullanımında Tf düzeyi yükselirken; malnütrisyon, nefrotik sendrom, protein kaybı yapan barsak bozukluklarında ve hemolizde Tf azalır (21). Tf ile ilgili olarak daha yaygın kullanılan ölçüm, serum demirinin serum demir bağlama kapasitesine (SDBK) oranının 100 ile çarpımı olan transferin satürasyon yüzdesi (TSI)'dir. Tf'nin ortalama 1/3'ü satüredir. Serum demirinin sabahları yüksek, akşamları düşük olarak saptanması, serum demir bağlama kapasitesinde böyle bir değişikliğin olmaması nedeni ile TSI'de diüurnal varyasyon gösterir. Tf'in demire afinitesi diğer bütün demir bağlayan ajanlardan daha yüksektir. Tf, demirin sadece plazmada taşınmasında değil, eritrositlere taşınmasında da rol oynar (21).

Değişik hücreler demiri farklı yollardan almaktadırlar. Makrofajlardaki demir döngüsü demir metabolizmasının en az anlaşılan konularından birisidir. Yaşam sürelerinin sonunda insan eritrositleri özellikle dalak ve karaciğerde makrofajlar tarafından fagosite edilerek

sindirilir ve hemoglobinden ayrılan demir fagozom membranından DMT1 yoluyla makrofajlara geçer. Makrofajlara geçen demir ya yeniden kullanım için makrofaj ferroportini yoluyla plazmaya verilmekte, ya da makrofaj içinde diğer hücrelerde olduğu gibi ferritin şeklinde depolanmaktadır. Enterositte olduğu gibi, makrofaj dışına demir taşıyan tek molekül ferroportindir. Makrofaj içinde asidik etkiyle ferröz hale gelen demirin, Tf'e yüklenebilmesi için plazmaya verilmeden tekrar ferrik hale getirilmesi gereklidir. Bu oksidasyon işini plazmada bakır bağlayan bir ferooksidaz olan ve karaciğerde sentezlenen seruloplazmin yapmaktadır. Seruloplazminin ferroportinle doğrudan ilişkisinin olup olmadığı hala açık değildir (32). Seruloplazmin eksikliği olan hastalarda makrofajlardan demir salınımında bir yetersizlik, buna bağlı orta düzeyde anemi ve makrofajlarda orta derecede demir birikimi olmaktadır. Bu da seruloplazminin oksidasyon işleminde kısmi görev aldığını düşündürmektedir. Bunun yanında ferroportin makrofaj demir döngüsünde zorunludur ve ferroportin eksikliği olan farelerde şiddetli anemi ile makrofajlarda şiddetli demir birikimi gözlenmektedir (28).

Normal şartlarda Tf'in demirle saturasyonu yaklaşık %30 oranındadır. Transferrinin demir bağlama kapasitesi tamamen dolduğunda, plazmada Tf'e bağlı olmayan serbest demir oluşur. Bu demir özellikle karaciğer ve kalp hücrelerine kolaylıkla girebilir ve hücresel düzeyde hasar oluşturabilir. Hepatositler transferin reseptörü (TfR) ile portal dolaşımdan alıp depoladıkları demiri gerektiğinde ferroportin yardımıyla tekrar dolaşıma verirler. Hepatositlerin diğer hücrelere göre serbest demiri alım hızları daha fazladır ve diğer hücrelere göre göreceli daha düşük ferroportin içerikleri nedeniyle demir depolanmasında ana bölge haline gelmişlerdir (33). Bunların dışındaki tüm hücreler, demiri yüzeylerinde bulunan TfR'yi kullanarak plazma Tf'inden almaktadır. Demir diferrik (Fe-Tf veya holotransferrin), TfR aracılı endositoz ile hücre içine alınır (34). Demir yüklü Tf'e çok yüksek afinitesi olan reseptörler plazma membranının dış yüzeyinde bulunur. Diferrik transferrinin reseptöre olan

afinitesi hem monoferrik transferrinden hem de apotransferrinden daha fazladır (35). Bu endozomun içindeki pH, proton pompası yardımıyla endozom içine alınan hidrojen ( $H^+$ ) iyonları tarafından düşürülmektedir. Asidik etkiyle Tf demirden ayrılmakta ve ferrik demir tekrar ferröz şekline redükte edilmektedir. Demirin endozomal membrandan sitoplazmaya geçişi ise DMT1 yoluyla olur. Sitoplazmadaki demir ya mitokondride hem sentezinde, ya da diğer metabolik işlerde kullanılır. Gereksinim fazlası demir ise ferritin şeklinde depolanır. Demirini hücre içine bırakmış apotransferrin (apoTf) TfR kompleksi tekrar hücre yüzeyine gönderilir ve Tf yeniden kullanılmak üzere plazmaya salınır (Şekil 2).



**Şekil 2. Hücreye demir alımı ve transferrin döngüsü.**

### 2.1.2.3. Demirin atılımı

Demirin normal diyetle günlük emilimi 1 mg iken, günlük demir kaybı da hemen hemen buna eşittir. Demir esas olarak dışkı ile atılır. Kan kaybı olmadığı sürece, demir ancak tırnak, saç ve dökülen epitel hücreleri ile kaybedilir. Çocuklarda demir kayıplarının üçte ikisi barsak mukozasından hücre yenilenmesi, geri kalanı da dökülen deri ve üriner sistem hücreleriyle olur. Normal süt çocuğunda demir kaybı ortalama 20  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{gün}$ 'dür. Buna karşılık gastrointestinal sistemden gizli kanama sonucu kayıplar 1–2 mg/gün olabilir. Kanamalar, ishallerde ve inek sütü alımında ortaya çıkabilir (36).

### **2.1.3. Demir eksikliğinin evreleri**

Demir eksikliği anemisinin gelişimi, birbirini izleyen 3 dönemde incelenebilir:

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

**İkinci dönem:** Serum demiri azalır, serum demir bağlama kapasitesi (SDBK) artar, TSI düşer. Latent demir eksikliği dönemidir. Birinci ve ikinci döneme biyokimyasal demir eksikliği de denir. Eritropoezis elde edilen demir miktarının azalması nedeniyle sınırlanmaya başlar, serum TfR seviyeleri artar (8).

**Üçüncü dönem:** Yukarıdakilere ilave olarak hemoglobin değerlerinde düşme, eritrositlerde mikrositoz ve hipokromi saptanır. Belirgin demir eksikliği dönemidir (Tablo 4).

Demir eksikliği anemisi vücuttaki demir depolarının ciddi olarak azaldığı durumlarda ortaya çıkan hematolojik ve klinik bir tablodur (37-38).

**Tablo 4. Demir eksikliği anemisinin dönemleri (39).**

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

#### **2.1.4. Demir eksikliğinde klinik bulgular**

Anemi demir eksikliğinin en belirgin bulgusu olmasına rağmen, anemi olmadan bile demir eksikliğinin diğer önemli sekelleri ortaya çıkabilir. Organ ve doku disfonksiyonu, bozulmuş immünite, azalmış kas performansı ve nörokognitif fonksiyon, azalmış kilo alımı ile birlikte demir eksikliği olabilir (8).

Demir eksikliği anemisi semptomları, aneminin oluşum hızıyla ilişkilidir. Kronik, yavaş kan kaybı durumlarında devreye giren adaptasyon mekanizmaları sayesinde hastalar çok düşük hemoglobin düzeylerini (<7 g/dl) bile son derece az semptom vererek tolere edebilir. Hemoglobin düzeyinin düşüşü kanda oksijen taşıma kapasitesini azaltmakla beraber, bu düzey 7-8 g/dl'nin altına inmedikçe önemli fizyolojik değişiklikler ortaya çıkmaz. Bu değerlerin altında ise deri ve mukozaların solukluğu belirgindir (31).

Demir eksikliği anemisi, klinik olarak asemptomatik veya semptomatik olabilir. Sadece depoların azaldığı hafif vakalarda herhangi bir klinik yakınma veya bulgu yoktur. Genellikle semptom olmadan rutin laboratuvar incelemesi sonrasında tanı konulur (10). Hastalığın erken fazında irritabilite, huzursuzluk, anoreksi, halsizlik gibi özgül olmayan belirtiler bulunur. Solukluk özellikle konjunktivada, mukoz membranlarda, avuç içi ve ayak tabanında daha belirgindir. Ağır anemide sıklıkla kalpte üfürüm (yumuşak, apikal ve sistolik), taşikardi, kardiyomegali, dispne, tırnaklarda kolay kırılma, beyaz çizgilenme, angüler stomatit, tat alma bozukluğu, yutma güçlüğü, aşırı uyuma, dikkat yeteneğinde azalma, letarji, baş ağrısı, kulakta çınlama, davranış bozuklukları görülebilir (40). Kronik demir eksikliği anemisinde mavi sklera, epitel, dil papillalarında atrofi, kaşık tırnak olguların %30'unda, hepatosplenomegali %10-15'inde görülebilir. Kronik vakalarda hemolitik anemiler olabilir. Tedavi ile bu bulgular geriler (Tablo 5) (40).

Demir eksikliği ile bozulmuş nörokognitif fonksiyonlar arasındaki ilişki çok iyi bir şekilde tanımlanmıştır. Özellikle nörokognitif gelişim açısından kritik dönemde olan infantlar

bu etkiler açısından risk altındadır. Anemi olmaksızın demir eksikliği olması bile bozulmuş mental ve motor fonksiyonla ilişkilidir (41). Okul öncesi anemisi olmayan çocuklarda düşük mental gelişim skorları vardır; okul çağı ve adolesanlarda düşük matematik ve verbal skorları vardır (42).

Santral sinir sistemi bulgularını, bazı araştırmacılar “mono-amino-oksidadz”(MAO) enzimindeki azalmaya bağlamaktadır. Demir eksikliğinin infantların mental ve motor gelişimini duraklattığına ilişkin pek çok gözlem vardır. Demir eksikliği, MAO aktivitesinin azalmasına neden olarak dopamin, norepinefrin ve serotonin gibi nörotransmitter enzimlerin üretilmesini veya katabolizmasını etkilemektedir. Bu durum çocukların entellektüel ve kişilik gelişiminin bozulmasına neden olmaktadır (43). Katılma nöbeti ile demir eksikliği anemisi arasındaki ilişki ve oral demir tedavisi ile nöbetlerin düzeldiği bilinmektedir. Katılma nöbetli çocuklarda anemi olmasa bile değişik evrelerde demir eksikliği olabilir. Demir eksikliği bulunan çocuklarda çinko eksikliği de bulunabileceği için bu çocuklarda çinko düzeyleri de araştırılmalıdır (44).

Toprak, kil, buz, duvar sıvaları gibi alışılmamış maddelerin yenmesi olarak tanımlanan *pika*, demir eksikliği anemisinde sık görülür. Bu maddeler barsakta demiri bağlar ve emilimini azaltarak anemiyi daha da şiddetlendirirler. Pikanın insidansı %50'nin üzerindedir (31).

Demir eksikliği anemisinde enfeksiyonlara eğilim artar. Demir eksikliği olanlarda menenjit, gastroenterit, pnömoni sıklığı yüksektir (10). Hücresel immünite ve nitroblue tetrazolium testi bozulur. T lenfositlerin sayı ve fonksiyonu, nötrofillerin hücre içi bakteri öldürme fonksiyonu, PPD cevabı, blastik formasyon ve kemotaksiste azalma gösterilmiştir. Demir tedavisi ile hemoglobinde önemli değişiklik olmadan 4-7 günde immünite düzelir (22).

**Tablo 5. Demir eksikliği anemisi bulguları.**

Cilt	Kas iskelet sistemi	Kardiyovasküler sistem	Nöropsikiyatrik	Gastrointestinal sistem	İmmünite bozukluğu	Endokrin sistem
Solukluk	Efor kapasitesinde azalma Egzersiz intoleransı	Kardiyak outputta artış Taşikardi Kardiyak hipertrofi Kalp yetmezliği ST segment çökmeleri	İrritabilite Senkop Papil ödem Katılma nöbeti Uyku bozukluğu Dikkat eksikliği Öğrenme güçlüğü	İştahsızlık Angüler stomatit Atrofik glossit Disfaji Pika Gluten sensitif enteropati Helikobakter pylori gastriti	Enfeksiyon	Büyüme gelişme geriliği Troid fonksiyon bozukluğu

### **2.1.5. Demir eksikliğinde laboratuvar bulguları**

Demir eksikliği progresif olarak ilerlediğinde biyokimyasal ve hematolojik bulgular ortaya çıkar. Öncelikli olarak doku demir depolarını yansıtan kemik iliği hemosiderini kaybolur. Enflamatuar 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 (45).

Demir eksikliğinde ilk bulgu serum ferritin düzeyinin 12 ng/ml'nin altında oluşudur. İkinci aşamada serum demiri azalırken (<30 µg/dl), SDBK artar (>350 µg/dl) ve TSI düşer (<%15). TSI, %10-15 düzeylerine indiğinde hemoglobin sentezi için demir olmadığından, serbest eritrosit protoporfirini (FEP) olarak adlandırılan hem prekürsörleri artış gösterir (46). Demir eksikliği anemisi oluştuğunda, eritrositlerin normalden daha küçük (mikrositer) ve içlerindeki hemoglobinin azalmış (hipokrom) olduğu dikkati çeker. Bu morfolojik değişikliği en iyi ortalama eritrosit hacmi (MCV), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH) ve ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC), yaşa göre normal değerlerinin altına düşerek yansıtır.



RDW, eritrosit dağılım genişliği, anizositozun göstergesidir. Normal değeri  $13,4 \pm 1,2$ 'dir. Demir eksikliği anemisinde artmıştır (RDW>%15) ve diğer hipokrom mikrositer anemilerden ayırıcı tanıda büyük önem taşır. Talasemi minör, enfeksiyon ve enflamasyon durumunda RDW normaldir.

Periferik kan yaymasında karakteristik olarak eritrositlerde hipokromi, mikrositoz, poikilositoz ve anizositoz görülür. Bu bulgular hemoglobin 10 gr/dl'nin altına düştüğü zaman belirgin olur. Retikülosit sayısı normal veya hafif artmıştır. Ciddi demir eksikliği anemisinde %3-4'e kadar artabilir (46). Lökosit sayısı normal olmakla birlikte %20'sinde hafif bir lökopeni görülebilir. Trombositoz veya trombositopeni görülebilmekle birlikte; genellikle trombositoz vardır (23).

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 (21).

## **2.2. Serbest Oksijen Radikalleri**

### **2.2.1. Serbest oksijen radikalleri**

Atomun yapısını oluşturan elektronlar; orbita adı verilen yörüngede çiftler halinde bulunurlar. Az sayıda molekülde ise elektronlar çiftler halinde olmayıp tek olarak bulunurlar. Eksik elektronlu bu moleküller karşılaştıkları herhangi bir molekül ile aşırı şekilde reaksiyona girmeye eğilimli olup diğer moleküllerle elektron alışverişinde bulunurlar. İşte diğer moleküllerle kolayca elektron alışverişi yaparak onların yapısını bozan bu moleküllere radikal, serbest radikal veya oksidan moleküller denir. Ortaklanmamış elektron üst kısma yazılan bir nokta ile ifade edilir (47). Serbest radikaller; en dış yörüngelerinde bir ya da daha fazla ortaklanmamış elektron içerir. Ortaklanmamış elektronlar atom veya molekülü genellikle daha reaktif hale getirirler (48). Bu bileşikler organizmada normal metabolik

yolların işleyişi sırasında oluştuğu gibi çeşitli dış etkenlerin etkisi ile de oluşmaktadır. Çok kısa yaşam süreli, ancak yapılarındaki dengesizlik nedeni ile çok aktif yapılı olan serbest radikaller tüm hücre bileşenleri ile etkileşebilme özelliği göstermektedir (49). Dokuda artan bu metabolitler, bunların oluşturduğu lipid peroksidasyonu, protein ve deoksiribonükleik asit (DNA)'in oksidasyonu hücre mebranınin geçirgenliğinde artış ve hücresel ölüm ile sonuçlanır (50). Organizmada serbest radikallerin zararlı etkilerini ortaya koymadan etkisizleştirilmesini sağlayan güçlü savunma sistemi bulunmaktadır. Serbest radikal oluşum hızı ile etkisizleştirilme hızı dengede olduğu sürece organizma bu bileşiklerden etkilenmemektedir.

Oksijen canlıların yaşamlarını sürdürmeleri için mutlak gerekli bir elementtir. Hücre içinde çeşitli reaksiyonlardan geçerek su haline dönüşmektedir. Bu sırada hücre kendisi için gerekli enerjiyi sağlamaktadır. Fakat bu süreçte oksijenin %1-3'ü tam olarak suya dönüşemez, süperoksit anyonu ve hidroksil radikali oluşur (51). Oksijen türevi radikaller, biyolojik sistemin en iyi bilinen serbest radikalleridir ve canlı hücrelerde, normal süreçte fizyolojik miktarlarda üretilirler. Oksijenin canlılardaki toksik etkileri başlıca iki tür mekanizma ile gerçekleşmektedir (52-54).

1. Aerobik canlılarda oksijen toksisitesinin ilk açıklaması, moleküler oksijenin bazı enzimleri inhibe ettiği şeklindedir. Buna örnek olarak oksijen glutamat dekarboksilaz enzimini inhibe ederek beyinde GABA seviyesini düşürmesi gösterilmektedir (52).

2. Oksijenin enzim inhibisyonu etkisi sınırlı ve çok zayıftır. Oksijenin canlılardaki asıl toksik etkisinin 'oksijen radikalleri' olarak adlandırılan ve oksijenin vücuttaki metabolizması sırasında oluşan reaktif türlerden kaynaklandığı belirtilmektedir (52).

Hücrelerde en büyük serbest radikal kaynağı elektron transport zincirinden oluşan elektron sızıntısıdır. Birçok enzimin katalitik siklusları sırasında da serbest radikaller açığa çıkabildiği gibi geçiş metalleri iyonlarının redoks kimyası yolu ile non-enzimatik olarak da oluşabilir (Tablo 6) (55).

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

**Tablo 6. Reaktif oksijen radikallerinin kaynakları (55).**

Endojen kaynaklar	Otooksidasyon: Aerobik metabolizmadan kaynaklanırlar, süperoksit primer oluşan radikaldir.
	Enzimatik oksidasyon
	Subsellüler organeller: Mitokondriler hücrelerdeki esas indirgenmiş oksijen kaynağıdır.
	Respiratuar patlama
	İskemi reperfüzyon hasarı
	Geçiş elementlerin iyonları: Bakır ve demir serbest radikal hasarının oluşumunda ve lipid peroksidasyonunu kolaylaştırmada rol oynar.
Ekzojen kaynaklar	İlaçlar (Bleomisin, antrasiklinler, metotreksat, nitrofurantoin, penisilamin, sülfasalazin vb)
	Radyasyon
	Sigara
	Gazlar: Ozon güçlü bir oksidan maddedir. İn vitro lipid peroksidasyonuna yol açar.
	İnorganik partiküller: Asbest, silika gibi tozların inhalasyonu serbest radikal oluşumuna yol açabilir.

Organizmada oksijen türevi serbest radikaller dışında kükürt merkezli radikaller de oluşmaktadır. Serbest radikaller; biyolojik sistemde travma, enfeksiyon, inflamasyon gibi immün sistemin aktive olduğu durumlarda, iskemi ve perfüzyon gibi doku hasarında, yüksek konsantrasyonda oksijen kullanımı gibi durumlarda aşırı miktarda oluşur. Sepsis, enflamatuar hastalıklar, adult respiratuar distress sendromu, diabetes mellitus, kardiyovasküler hastalıklar, astım, bronkopulmoner displazi gibi birçok hastalığın patogenezinde de serbest radikal hasarı suçlanmıştır (56).

Oksidatif stres, artmış oksidana maruz kalma ya da azalmış antioksidan kapasite olarak tanımlanabilir (57). Organizma oksidana maruz kalmayı minimum düzeye indirmek için antioksidanlara sahiptir; ancak serbest oksijen radikallerinin aşırı üretiminde ya da varlığında, bu koruyucu sistem yetersiz kalmakta ve oksidan hasar meydana gelmektedir (58).

### **2.2.2. Serbest oksijen radikalleri ve toksik metabolitlerin insan fizyolojisi ve fizyopatolojisindeki rolü**

Serbest radikaller ve toksik oksidanların insan vücudunda birçok fizyolojik ve fizyopatolojik olaylarda rol aldığı çok sayıda çalışmada gösterilmiştir.

Serbest radikaller ve toksik oksidanların rol oynadığı olaylar iki başlıkta toplanmaktadır.

1. Fizyolojik olaylar: Adenozin nükleotid trifosfat (ATP) oluşumu için hidrokarbonların oksidatif yıkımı, mikroorganizmaların fagositozla yok edilmesi, ovulasyonun gerçekleşmesi ve bazı kimyasal maddelerin enzimatik detoksifikasyonu serbest radikallerin rol aldığı fizyolojik olaylardır (59).

2. Fizyopatolojik olaylar: Toksik etkisi olan bazı kimyasal ajanların karaciğer parankimi üzerine olan etkilerinde (etil alkol ve karbon tetra klorürün karaciğer üzerine, ozon, sigara dumanı ve hava kirliliğinin akciğer üzerine olduğu gibi), bleomisin, streptozotosin gibi ilaçların farmakokinetik süreçlerinde, hiperbarik oksijene maruz kalınan durumlarda (hiperbarik oksijen toksisitesi, retrolental fibroplazi), iskemi-reperfüzyon hasarında (iskemik hepatit, iskemik pankreatit, neonatal iskemik kolit, intestinal iskemi-reperfüzyon, miyokard infarktüsü, beyin ve santral sinir sisteminin iskemik hasarı), transplante organ veya deri fleplerinin reddinde, akut tübüler nekrozda, bazı enflamatuar hastalıklarda (artrit, bağ dokusu hastalıkları, immün yetmezlik sendromları), yaşlanma, diabetes mellitus, ateroskleroz ve hipovolemik şok gibi birçok olayda serbest oksijen radikalleri rol alır (59).

### **2.2.3. Serbest oksijen radikaller nasıl oluşur**

Serbest radikaller başlıca 3 temel mekanizma ile oluşmaktadır:

1. Kovalent bağların homolitik kırılması ile yüksek enerjili elektromanyetik dalgalar ve yüksek sıcaklık kimyasal bağların kırılmasına neden olmaktadır. Kırılma sırasında bağ

yapısındaki iki elektronun her biri ayrı ayrı atomlar üzerinde paylaşılmamış olarak kalmakta ve radikal formu oluşmaktadır (52-53, 60).

2. Normal bir molekülün elektron kaybetmesi ile dış elektron yörüngelerinde paylaşılmamış elektron kalması durumunda radikal formu oluşmaktadır (52, 61).

3. Normal bir moleküle elektron transferi ile dış elektron yörüngelerinde paylaşılmamış elektron oluşuyorsa da radikal oluşumuna neden olabilir (53, 61).

Vücutta üretilen radikaller her zaman tehlikeli kimyasal türler olarak değerlendirilmemelidir. Oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılması için reaktif formlarına çevrilmesi zorunludur. Örneğin, ksenobiyotiklerin detoksifikasyonu, steroid yapıdaki çok sayıdaki bileşiklerin ve eikozanoidler gibi biyolojik aktif moleküllerin sentezi, çok sayıdaki oksidaz ve hidroksilaz enzimleri ve sitotoksik etkilere sahip hücrelerin fonksiyonları için radikal yapımı olmazsa olmaz bir koşuldur (61).

En önemli serbest oksijen radikalleri şunlardır (52, 61):

$O_2^-$  (Süperoksit) Radikali

$H_2O_2$  (Hidrojen Peroksit)

$HO^-$  (Hidroksil Radikali)

Singlet Oksijen ( $O_2^{\uparrow\downarrow}$ )

#### **2.2.4. Süperoksit radikali ( $O_2^-$ )**

Canlılarda olduğu ilk gösterilen radikal olan süperoksit hasarlandırıcı özelliği fazla olmayan bir serbest radikal türevidir olup  $H_2O_2$  kaynağıdır. Oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkisi vardır. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin %1-5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanmaktadır. Aktive edilen fagositik lökositlerden bol miktarda süperoksit üretilir. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatmaktadır (52, 61-63).

Zar fosfolipidleri nedeniyle hücre zarı yüzeyleri sitoplazmaya göre daha asidiktir ve süperoksit burada daha kolayca bir proton alarak hidrojen peroksit radikalini oluşturabilmektedir. Bu radikal de çok reaktif bir tür olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonunu başlatabilmekte ve antioksidanları oksitleyebilmektedir (52, 61).

### **2.2.5. Hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)**

Hidrojen peroksit, oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi veya süperoksitlerin enzimatik ve enzimatik olmayan tepkimeleri sonucunda oluşmaktadır. Oksitleyici olarak bilinmesinin nedeni, metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olmasından kaynaklanmaktadır. Hidrojen peroksit özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturmaktadır. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilmektedir (52-53, 61).

### **2.2.6. Hidroksil radikali (HO<sup>-</sup>)**

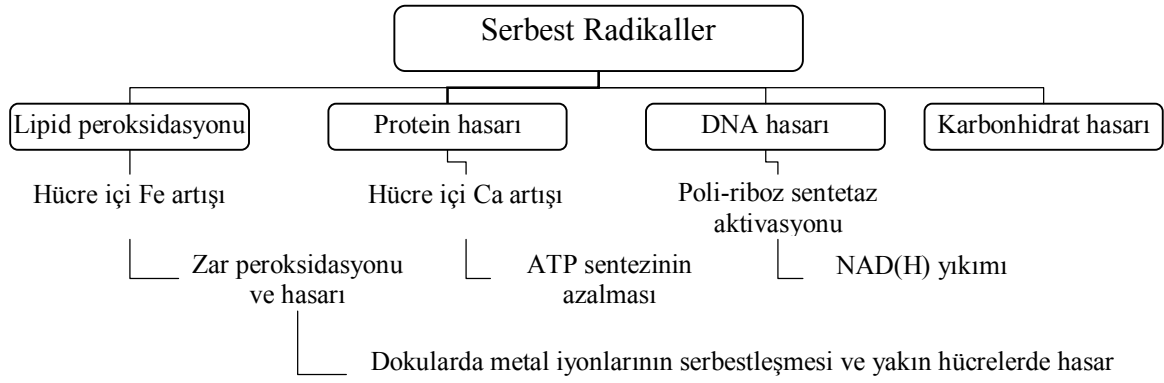
Fagositoz ve çeşitli enzimatik katalizlerde üretilen, normal biyolojik fonksiyonlarda da kullanılan reaktif bir ajandır (52, 61, 64). Dokular  $\gamma$  radyasyona maruz kaldıklarında, enerjinin çoğu hücre içindeki su tarafından absorbe edilmekte ve radyasyon, oksijen ile hidrojen arasında kovalent bağa neden olmaktadır. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin UV ışığına maruz kalması ile de hidroksil radikali oluşabilmektedir (54, 61, 65). Hidroksil radikali en reaktif radikal olarak bilinmekte ve her moleküle hücum ederek hasar meydana getirebilmektedir. DNA'nın pürin ve pirimidin bazları ile etkileşebilmektedir. Özellikle, araşidonik asitler gibi doymamış yağ asit yan zincirlerinden hidrojen atomunu çıkartmakta ve sonuçta su oluşumunu sağlamaktadır. Hidroksil radikali ile oluşan en iyi tanımlanmış biyolojik hasar, lipid peroksidasyonu olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur (52, 61).

### **2.2.7. Singlet oksijen ( $O_2^{\uparrow\downarrow}$ )**

Oksijenin uyarılmış şekline “singlet oksijen” denir. Reaktivitesi çok yüksek bir oksijen türüdür. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini oluşturmakta ve hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir (61). Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Bu bileşiklerin başında bilirubin, tokoferoller, fenoller, karotenler, DNA, kolesterol, NADPH, triptofan, metionin, sistein ve histidin gibi bileşikler gelmektedir. Bilirubin, karotenler, histidin, metionin ve bazı kimyasal bileşikler singlet oksijeni temizleyerek ona bağlı tepkimeleri inhibe edebilmektedir (52, 61, 66-67).

### **2.2.8. Serbest oksijen radikallerinin hücreye zararlı etkileri**

Serbest radikaller, hücrenin lipid, protein ve DNA'sında çeşitli derecelerde hasara neden olabilmektedir (Şekil 3). Oksijen, endoplazmik retikulumda, mitokondride, plazma membranında, peroksizomlarda ve sitozollerde oksidatif enzimler tarafından süperoksit anyonuna dönüştürülmektedir. Oluşan süperoksit anyonları, süperoksit dismutaz (SOD) enzimi ile hidrojen perokside dönüştürülmektedir.  $Cu^{++}/Fe^{++}$  ile katalize olan Fenton reaksiyonu yoluyla hidroksil radikalleri oluşmaktadır. Burada ayrıca süperoksit anyonları,  $Fe^{+++}$ 'in  $Fe^{++}$ 'ye indirgenmesini katalize eder ve Fenton reaksiyonu sayesinde hidroksil oluşumuna katkıda bulunmaktadırlar (61, 67).



**Şekil 3. Serbest radikaller.**

### 2.2.8.1. Membranların lipid peroksidasyonu

Serbest oksijen radikalleri, hücre ve organel zarlarında lipid peroksidasyonuna neden olabilmektedirler. Hücre zarlarında bulunan poliansatüre yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyona uğrayabilmektedirler (61, 68). Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin yağ asitlerinden hidrojen atomunu çıkarmak için yaptıkları atakla başlamakta ve zincir reaksiyonu şeklinde ilerlemektedir. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Hidroksil radikali, fosfolipaz A2'yi stimüle ederek araşidonik asit salınımına yol açmaktadır. Araşidonik asitten de bir hidrojen atomu çıkararak lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir (68-69).

Başlangıçta serbest radikaller, bir lipid karbon merkezli radikalden üretilmiş olan karbon zincirinden, hidrojen atomunu açığa çıkarmaktadır. Sonuçta karbon merkezli radikal oluşmaktadır. Bu lipid radikal, moleküler oksijen ile reaksiyona girer, linoleik asit peroksi radikali oluşmasını sağlar ve oksidasyon zincirini başlatabilir. Üretilen peroksi radikal, elektronları ve diğer duyarlı yağ asitlerini alarak lipid radikal ve lipid hidroperoksitleri oluşturur. Bunun yanında süperoksit lipid peroksidasyonunu bitirici etkide gösterir (52, 61, 63-64, 68-69).



Membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu, permeabilitede ve membran akışkanlığında değişikliklere yol açmaktadır. Permeabilite özelliklerinin değişmesi anormal  $Ca^{+2}$  girişine yol açarak hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve oksidasyonla fosforilasyonun ayrılmasına yol açabilmektedir. Sinir lifleri etrafındaki miyelin kılıfı peroksidasyonu (demyelinizasyon) nörolojik hastalıklara neden olabilmektedir. Akciğer sürfaktanının peroksidasyonu ise atelettazi ve pulmoner disfonksiyona (ARDS) yol açabilmektedir (54, 61, 69-70).

Peroksi radikali, poliansatüre yağ asidi moleküllerini okside edebilmekte, radikallerin ve aldehidlerin ortaya çıkmasına neden olan hidroperoksitlerin meydana gelmesini sağlayabilmektedir. Aldehidler ise bu maddelerin yıkılması sırasında oluşmakta ve uzun ömürlü olduklarından hücre hasarının yayılmasına neden olabilmektedirler. Bu aldehidler arasında en iyi bilinenleri malonildialdehid (MDA) ve 4 hidroksi alkalendir. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu MDA oluşumu ile sonuçlanmaktadır (61). MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir, ancak lipid peroksidasyonunun derecesi ile korelasyon göstermektedir. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna sebep olmaktadır. Bunun sonucunda da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özellikleri değişmektedir (61, 71).

Membranlardaki yağ asitlerinin peroksidasyonu ile oluşan kısa zincirli yağ asitleri ve aminoasitleri içeren yapısal proteinlerin oksidasyonu, membran permeabilitesinin artmasına ve membrandaki akışkanlığın azalmasına neden olmaktadır (61).

Lipid hidroperoksidleri ve lipid peroksi radikalleri, serbest  $O_2$  radikalleri gibi aynı hücrenin birçok komponentiyle reaksiyona girerek, hücrenel ve metabolik fonksiyonlar üzerinde toksik etkilerini göstermektedirler.

Bu etkiler:

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

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

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

4- Ayrıca, DNA'nın nitrojen bazlarıyla da reaksiyona girebilmektedirler (61, 70, 72).

#### 2.2.8.2. Proteinlerin oksidatif modifikasyonu

Proteinler, serbest radikal hasarına duyarlı moleküllerdir. Serbest radikallerin etkisi ile bu moleküllerin sülfidril gruplarında hasar meydana gelebilmektedir. Protein moleküllerinin yapısı değişmekte ve oksidasyon reaksiyonları sonucu büyük agregatlar haline dönüşebilmektedirler (61). Serbest radikallerin protein molekülleri üzerindeki etkileri ile oluşan yapısal değişiklikler üçe ayrılır (69):

1) Amino asitlerin modifikasyonu

2) Proteinlerin fragmentasyonu

3) Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalar

Serbest radikaller, polipeptit zincirlerinde fragmentasyona yol açabilirler. Bu şekilde oksidatif modifikasyon yolu ile sitozolik nötral proteazlar kritik enzimlerin yıkımını gerçekleştirebilirler. Aromatik aminoasitler de oksidatif ataklara çok hassas moleküllerdir. Proteinin temel yapısındaki değişme, antijenik yapıda değişmeye ve proteolize hassasiyete neden olabilmektedir. Radikaller, enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına da neden olabilmektedirler (61). Serbest radikallerin etkisiyle,

IgG ve albuminin üç boyutlu yapıları bozulmaktadır. Yine bir protein olan  $\alpha$ -1 proteinaz inhibitörünün, oksijen radikalleri tarafından inhibisyonu amfizem gelişimiyle sonuçlanmaktadır (69).

Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görebilmektedir. Özellikle okside olmuş hemoglobinin  $O_2$  veya  $H_2O_2$  ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna sebep olmaktadır (61).

#### 2.2.8.3. DNA lezyonları

Nükleik asitler, serbest radikallere bağlı değişikliklere duyarlıdır. Hidroksil radikallerin DNA ile tepkimesi sonucunda baz modifikasyonları, baz delesyonları, zincir kırılmaları gerçekleşebilmektedir (52, 54, 67, 72-74).

Oksijen radikalleri, oksidatif yarıma ile DNA hasarına yol açabilmektedir. Özellikle pirimidinler (timin) en hassas yapılardır. DNA zincirinin kopması, DNA çift sarmalı ayrılması sonucu hücrede mutasyonlar ve ölüm gelişebilmektedir. 8-hidroksideoksiguanozin (8-OhdG), oksidatif DNA hasarının bir göstergesidir. Yenidoğan ve hipokside kalan bebeklerde yüksek olduğu bildirilmektedir (61, 67, 73-74).

#### 2.2.8.4. Karbonhidratlara etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksit, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelmektedir (73). Enflamatuar eklem hastalıklarında sinovial sıvıya geçen lökositlerden ekstrasellüler sıvıya salınan  $H_2O_2$  ve  $O_2$  buradaki mukopolisakkarit olan hyalüronik asidi parçalamaktadır. Gözün vitröz sıvısında bol miktarda hyalüronik asit bulunduğundan, bunun oksidatif hasarı katarakt oluşumuna katkıda bulunmaktadır (61, 75).

### **2.2.9. İnsan vücudunda serbest radikallerinin hedef organları**

Yüzden fazla hastalık, serbest oksijen radikalleri ile ilişkilendirilmektedir. Serbest radikaller, sinir sisteminde intraventriküler hemoraji, periventriküler lökomalazi ve travmatik beyin hasarı, beyin tümörleri etyopatogenezinde rol oynamaktadır. Gözlerde ise katarakt, retinopati, maküler dejenerasyon oluşumuna neden olabilmektedir. Akciğer ve solunum sisteminde astım, amfizem, respiratuar distress sendromu, kronik obstrüktif akciğer hastalığına, böbreklerde ise glomerulonefrit ve renal yetmezlik sırasında doku hasarına neden olmaktadır. Gastrointestinal sistemde nekrotizan enterokolit ve Crohn hastalığı patogenezinde rol oynamakta, ayrıca hemoglobin ve immün sistem defektleri oluşturmaktadırlar. Serbest oksijen radikalleri ayrıca, erken yaşlanma, kanser, otoimmün hastalıklar, enflamatuar hastalıkların etyopatogenezinde de suçlanmaktadır (53, 61, 76-80).

## **2.3. Serbest Oksijen Radikallerine Karşı Savunma Mekanizmaları**

### **2.3.1. Antioksidan etki tipleri**

Antioksidanlar dört ayrı şekilde etki ederler:

**1- Toplayıcı etki (Scavenging etki):** Serbest oksijen radikallerini tutma ya da çok daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemine “toplayıcı etki” denilmektedir. Bilirubin, antioksidan enzimler, trakeobronşial mukus ve küçük moleküller bu tip bir etki göstermektedirler (61, 81-82).

**2- Bastırıcı etki (Quencher etki):** Serbest oksijen radikalleriyle etkileşip, onlara bir hidrojen aktararak aktivitelerini azaltan ya da inaktif biçime dönüştüren etki “bastırıcı etki” olarak adlandırılmaktadır. Vitaminler, bu tarz bir etkiye sahiptirler (61, 66).

**3- Zincir kırıcı (Chain-breaking etki):** Serbest oksijen radikallerine bağlanarak zincirlerini kırıp fonksiyonlarını engelleyici etkiye “zincir kırıcı etki” denir. Bilirubin, hemoglobin, seruloplazmin ve mineraller zincir kırıcı etki gösterirler (61, 83).

**4- Onarıcı etki (Repair etki):** Onarıcı etki üzerinde çalışmalar devam etmektedir. Hasar görmüş DNA molekülünü tamir eden enzimler bu gruba örnek olarak verilebilir (61, 84-85).

### **2.3.2. Antioksidan sistemler**

Vücutta reaktif oksijen türlerinin düzeylerini kontrol altında tutmak ve oluşturabilecekleri hasarları engellemek için birçok savunma mekanizmaları vardır (78, 86). Serbest radikalleri metabolize eden, serbest radikal oluşumunu önleyen veya serbest radikallerin temizlenmesini arttıran bu maddelere antioksidan maddeler denilmektedir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ya da reaktif O<sub>2</sub> türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe etmektedirler. Aerobik hücrelerde pek çok antioksidan sistem bulunmaktadır. Bu antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır (61, 64, 69, 86).

Endojen antioksidanlar, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), glutatyon transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise, bilirubin, albumin, ürik asit,  $\alpha$ - tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadırlar (61, 86-88).

Eksojen antioksidan olarak da allopurinol, folik asit, C vitamini, E vitamini, asetilsistein, mannitol, adenzin, kalsiyum kanal blokerleri, non steroid antiinflamatuvar ilaçlar ve demir şelatörleri sayılabilir (61, 86).

Antioksidanlar ayrıca primer, sekonder ve tersiyer olarak da sınıflandırılmaktadır. Yeni serbest radikal oluşumunu önleyen antioksidanlar primer antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır. Örnek olarak SOD, GPx, metal bağlayan proteinler, ferritin, seruloplazmin, demir, hemopeksin, haptoglobulin gösterilebilir. Bazıları ise metal iyonları ile

reaksiyona girebilecek olan peroksitleri yok ederek serbest radikallerin oluşumunu önlemektedirler (89).

Sekonder antioksidanlar, zincir kırıcı reaksiyon ile serbest radikalleri uzaklaştırmaktadırlar. Bilirubin, E vitamini, C vitamini,  $\beta$ -karoten, ürik asit ve albumin gibi maddeler bu sınıfta yer almaktadırlar. Lipid peroksidasyon zincirini kıran bir antioksidan olan  $\alpha$ -tokoferol hücre zarında bulunmaktadır. Askorbik asit suda erimekte ve radikal toplayıcı olarak rol almakta, E vitamininin etkisini arttırmaktadır. Ürik asit ksantin oksidazı inhibe ederek serbest radikal oluşumunu azaltmaktadır (90). Tersiyer antioksidanlar, serbest radikaller tarafından hasar gören biyomolekülleri onarırlar. DNA'yı onaran enzimler bu grupta yer almaktadır.

### **2.3.3. Enzimatik antioksidanlar**

#### **2.3.3.1. Süperoksit dismutaz (SOD)**

SOD, substrat olarak serbest oksijen radikallerinin kullanan ve süperoksiti hidrojen perokside çeviren bir metalloenzimdir. Bu reaksiyon "oksidatif strese karşı ilk savunma" olarak da adlandırılmaktadır. Çünkü süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartmanlardaki süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulmaktadır. Lösemi, iskemi, hepatit, muskuler distrofi, respiratuar distress sendromu, böbrek yetmezliği, Fankoni anemisi, akciğer enfeksiyonları ve motor nöron hastalıkları gibi serbest radikal açığa çıkaran olaylarda ve hastalıklarda koruyucu rol oynadığı düşünülmektedir (61-62, 64, 74, 86). Aynı zamanda SOD, lipid peroksidasyonunu da inhibe etmektedir. SOD aktivitesi, yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır. SOD'nin ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür (61).

#### 2.3.3.2. Katalaz (CAT)

Katalaz peroksizomlarda bulunan bir enzimdir. Hidrojen peroksiti su ve oksijene ayırtmaktadır. Katalaz yapısında protoporfirin-IX, Fe (Hem) grubu içerir. Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve müköz membranda yüksek miktarda bulunmaktadır. Katalaz bulunduğu hücreye karşı koruyucu olarak hizmet etmektedir (62, 86).

#### 2.3.3.3. Glutasyon peroksidaz (GPx)

GPx, pek çok hücrede sitozollerde bulunan bir enzimdir. Sitozol ve mitokondrilerde SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksit ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Ancak kapasitesi sınırlıdır. Düşük hidrojen peroksit konsantrasyonunda çalışmaktadır. Kofaktör olarak selenyum elementinin kullanır (61-62, 64).

Hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenen glutasyon, glutasyon redüktaz enzimi ve başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan NADPH yardımıyla indirgenerek reaksiyonların devamını sağlar (74).

Glutasyon peroksidaz fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GPx, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GPx oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar. Yapılan çalışmalarda kord kanı glutasyon peroksidaz ve total antioksidan düşüklüğü olan bebeklerde DNA hasarının yüksek olduğu gösterilmiş ve doğumda oksijen radikallerinin oluşumunun arttığı ifade edilmiştir (91).

#### 2.3.3.4. Glutasyon-S-Transferazlar (GST)

Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda görev almaktadırlar. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipid hidroperoksidlere karşı glutasyon-S-transferazlar selenyumdan bağımsız aktivasyon göstermektedirler (61).

Antioksidan aktivitelerine ek olarak başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahip olup bilirubin, hem ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddelere geri dönüşsüz olarak bağlanarak bunların hücre içi transportunda da görev almaktadırlar (61).

#### 2.3.3.5. Glutasyon redüktaz (GR)

Glutasyon peroksidaz tarafından hidrojen peroksit ve diğer lipid peroksidlerin yükseltgenmesi sırasında glutasyon, okside glutatyona dönüşmektedir. Oksidasyona uğramış bu yapıyı tekrar kullanmak için redükte glutatyona dönüştüren enzim glutasyon redüktazdır (61).

#### 2.3.3.6. Mitokondrial sitokrom oksidaz

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz süperoksit radikalini suya çevirerek etki göstermektedir (61).

### **2.3.4. Total antioksidan kapasite**

Normal fizyolojik koşullarda organizma, endojen veya eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı oluşan oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan defans sistemine sahiptir. Vücudun oluşan oksidatif streslere karşı redoks ayarını sürdürebilmesinde kan çok önemlidir. Çünkü kan antioksidanların vücudun tüm bölümlerine taşınmasını ve dağıtımını gerçekleştirmektedir (92).

Total antioksidan kapasiteye en büyük katkı plazmadaki antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada bilirubin, serbest demiri toplayan transferin ve seruloplazmin, ürik asit, E vitamini, C vitamini gibi proteinler yanında serbest radikalleri tutan zincir kırıcı antioksidanlarda bulunmaktadır (83, 93).

Albumin, ürik asit, askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan kapasitenin %85'inden fazlasını oluşturmaktadır. Bunun nedeni, kanda bilirubin, glutasyon, flavinoidler, alfa tokoferol ve beta karoten gibi antioksidan sistemin komponentlerine nazaran albumin,



ürük asit ve askorbik asitin seviyelerinin fazla olmasına bağlıdır. Yenidoğanlarda ise bu sistemin en önemli bileşenlerini bilirubin ve ürik asit oluşturmaktadır. Bağ kıran antioksidanlar (bilirubin, sülfidril grupları, C vitamini, E vitamini) özellikle yenidoğanlarda total antioksidan sisteme önemli katkıda bulunmaktadır (92-94).

Plazmada antioksidanlar bir etkileşim içinde bulunurlar. Genel olarak bu maddeler sinerjik olarak çalışmaktadır. Bu etkileşimden dolayı, bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla etki oluşmaktadır. Bu sinerjizme örnek glutatyonun askorbatı, askorbatında tokoferolun yeniden aktifleşmesini sağlaması gösterilebilir. Ayrıca bir antioksidandaki azalma diğerindeki artış ile kompanse edilebilmektedir. Örneğin yenidoğanda postnatal dönemde fizyolojik şartlarda plazmada ürik asit, C vitamini, ve sülfidril grupları azalırken, bilirubin ve E vitamini düzeyleri artmaktadır (92, 94-95)

Hasta yenidoğanlarda plazma antioksidan kapasitesi hastalıktan veya tedavi yöntemlerinden etkilenebilmektedir. Örneğin hemoliz ile plazma bilirubin düzeyinin yükselmesi ve fototerapi ile azalması, anüri ile ürik asit seviyesinin artması ve diüretikler ile düşmesi gibi nedenlerle antioksidan kapasitede değişiklikler oluşabilmektedir (93).

Beslenme şekli de antioksidan kapasiteyi etkileyebilmektedir. Örneğin anne sütü ile beslenen bebeklerde, antioksidan madde olan bilirubin ve karotenoidler, formüle mama ile beslenen bebeklerden daha yüksek olarak saptanmaktadır (94, 96).

Total antioksidan kapasitenin ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler vermektedir. Plazmanın total antioksidan kapasitesinin her antioksidanın tek başına etkilerine ek olarak değişik antioksidanlar arasındaki ilişkilere bağlı olduğu söylenebilir (97). Bu yüzden kanın antioksidan stresini saptamada, bireysel antioksidanlardan çok bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü yaygınlaşmaktadır.

### 3. GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma, Mart 2010-Eylül 2010 tarihleri arasında Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda yapıldı. Poliklinikte demir eksikliği anemisi tanısı alan 40 çocuk ve kontrol grubu olarak sağlıklı 40 çocuk çalışmaya alındı.

Çalışmaya alınan hastaların yaş aralığı 6-60 ay olarak belirlendi. Demir eksikliği anemisi tanısı için, 6-24 ay arası çocuklarda Hb  $\leq 10,5$  g/dl ve 24-60 ay arası çocuklarda Hb  $\leq 11$  g/dl ve ferritin değerinin  $< 10$  ng/ml olması esas alındı. Polikliniğine aşı veya rutin kontrol amacıyla gelen, sağlıklı çocuklar ise kontrol grubu olarak kabul edildi.

Son 4 hafta içinde ateşli hastalık geçirenler, bilinen kronik hastalığı olanlar, demir veya başka ilaç tedavisi alanlar çalışmaya alınmadı.

Çalışmaya katılan tüm çocuklardan tam kan sayımı için EDTA'lı tüpe 2 ml venöz kan örneği alındı. Serum demiri, total demir bağlama kapasitesi, ferritin düzeyi, total oksidatif stres ve total antioksidan kapasite değerlerinin tespiti için düz polistren tüpe 4 ml venöz kan örneği alındı. Serum demirinin sabahları yüksek, akşamları düşük olarak saptanması nedeniyle kan örnekleri sabah 09-10 saatleri arasında alındı.

Kan örneklerinden tam kan sayımı, serum demiri, serum total demir bağlama kapasitesi ve ferritin değerleri aynı gün çalışıldı. Total oksidatif stres ve total antioksidan kapasite çalışmaları için düz tüpe alınan kanlar 4000 devirde 5 dakika santrifüj edildi, ayrılan serumları  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de çalışmanın yapıldığı güne kadar saklandı.

Demir eksikliği anemisi saptanan hastalara 5 mg/kg/gün dozundan oral ferrik demir tedavisi başlandı. Tedaviyi sabah aç karna almaları, ilave başka ilaç kullanmamaları, süt tüketiminin 500 ml'yi geçmemesi konusunda bilgi verildi. Tedavinin düzenli kullanılıp kullanılmadığını kontrol etmek amacıyla 15 gün arayla ailelerle telefon görüşmesi yapıldı. Hastalar 2 ay sonra kontrole çağrıldı. Kontrole gelen 26 hastadan tekrar kan örnekleri alındı.

Bu araştırma için, Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu'ndan, 29.06.2010 tarih ve 2. Etik kurul kararıyla onay alınmış ve Helsinki Deklarasyonu Kuralları'na uygun olarak çalışılmıştır. Çalışmaya katılan tüm çocukların anne veya babaları, çalışma hakkında bilgilendirilmiş ve yazılı onayları alınmıştır.

## **Hematolojik ve Biyokimyasal ölçümler**

Alınan kan örnekleri Fatih Üniversitesi Tıp Fakültesi biyokimya laboratuvarında gruplardan habersiz olan biyokimya uzmanı tarafından çalışıldı. Tam kan sayımı kalibrasyonu günlük yapılan otomatik flowsitometreyle (Beckmann-Coulter Hmx), serum demir düzeyi kolorimetre yöntemiyle (Roche-Cobas Integra 800), serum demir bağlama kapasitesi ferrozine ile direkt ölçüm yöntemiyle (Roche-Cobas Integra) ve ferritin immünotürbidimetre yöntemiyle (RocheE170) ölçüldü.

## **Total Antioksidan Kapasite**

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir metoddur (98).

**Reaktif 1:** 75 mM Clark tamponu (pH=1,8) içerisinde 10 mM o-Dianisidin ve 45µmol (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> Fe(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>-6H<sub>2</sub>O çözümlenerek hazırlandı.

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

**Prensip:** Fe<sup>+2</sup>-o-dianisidin kompleksi hidrojen peroksit ile Fenton tipi reaksiyon oluşturarak OH radikalini oluşturur. Bu güçlü reaktif oksijen türü indirgenerek düşük pH'da renksiz o-dianisidin molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidyl radikallerini oluştururlar. Dianisidyl radikalleri ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumu artmaktadır. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk

oluşumunu durdurmaktadırlar. Bu reaksiyon otomatik analizörde spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuç verilmektedir. Birimi mmol Trolox Eqv./L'dir.

### **Total Oksidatif Stres**

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir (99).

**Reaktif 1:** 140 mM'lık NaCl çözeltisi içerisine 25 mM H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> çözülerek ana solüsyon hazırlanır. Ana solüsyonda önce % 10 oranında gliserol çözülüp daha sonra total volümde 250 µM Xlenol orange çözülerek hazırlanır.

**Reaktif 2:** Ana solüsyon içerisinde önce 10 mM o-Dianisidin dihidroklorid çözülüp sonra 5 mM amonyum ferröz sülfat çözülerek reaktif hazırlanır.

**Prensip:** Örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidin kompleksini ferrik iyona oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xylenol orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. Birimi mmol Trolox Eqv. / L'dir.

### **İstatistiksel Analiz**

Sonuçların istatistiksel değerlendirilmesi için SPSS 13 (Statistical Package for the Social Sciences, Chicago, IL) paket programı kullanıldı. Verilerin normal dağılıma uygunluğu "Kolmogorov Smirnov" normallik testi ile incelendi. İkili verilerin karşılaştırılmasında Ki-kare testi kullanıldı. Normal dağılıma uyan sürekli değişkenleri karşılaştırmak için parametrik test (Bağımsız student t-testi), normal dağılıma uygun olmayan değişkenler için non-parametrik test (Mann Whitney U testi) uygulandı. Hastaların tedavi öncesi ve sonrası total antioksidan kapasite ve total oksidatif stres değerlerinin karşılaştırılmasında bağımlı gruplar

için student t-testi kullanıldı. Sonuçlar ortalama  $\pm$  standart sapma şeklinde verildi.  $P < 0,05$  düzeyi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

## 4. BULGULAR

Çalışmaya yaşları 6-60 ay arasında, demir eksikliği anemisi olan 40 çocuk ile sağlıklı 40 çocuk olmak üzere toplam 80 çocuk alındı. Demir eksikliği anemisi grubunda olan çocukların yaş ortalaması  $21,7 \pm 14$  ay, kontrol grubunun yaş ortalaması  $26,0 \pm 15,2$  aydı. İki grubun yaş ortalamaları arasında anlamlı farklılık saptanmadı ( $p=0,192$ ).

Demir eksikliği anemisi grubunda 15 kız (%37,5), 25 erkek (%62,5), kontrol grubunda 19 kız (%47,5), 21 erkek (%52,5) vardı. Gruplar arasında cinsiyet yönünden anlamlı fark yoktu ( $p=0,498$ ).

Demir eksikliği anemisi grubundaki çocukların ortalama vücut ağırlığı  $12,1 \pm 3,9$  kg, ortalama boyu  $82,2 \pm 13,7$  cm, ortalama vücut kitle indeksi  $18,0 \pm 4,8$   $\text{kg/m}^2$ , kontrol grubundaki çocukların ortalama vücut ağırlığı  $12,6 \pm 3,8$  kg, ortalama boyu  $85,7 \pm 13,0$  cm, ortalama vücut kitle indeksi  $16,8 \pm 2,0$   $\text{kg/m}^2$  idi. Her iki grup arasında vücut ağırlığı, boy ve vücut kitle indeksi açısından anlamlı farklılık saptanmadı ( $p=0,413$ ,  $p=0,244$ ,  $p=0,148$ , sırasıyla).

Her iki grubun demografik özellikleri Tablo 7’de gösterilmiştir.

**Tablo 7: Grupların demografik özellikleri**

	DEA grubu (n=40)	Kontrol grubu (n=40)	p
	Ort $\pm$ SD	Ort $\pm$ SD	
<b>Yaş (ay)</b>	$21,7 \pm 14,0$	$26,0 \pm 15,2$	0,192
<b>Cinsiyet</b>			
<b>Kız</b>	15 (%37,5)	19 (%47,5)	0,498
<b>Erkek</b>	25 (%62,5)	21 (%52,5)	
<b>Ağırlık (kg)</b>	$12,1 \pm 3,9$	$12,6 \pm 3,8$	0,413
<b>Boy (cm)</b>	$82,2 \pm 13,7$	$85,7 \pm 13,0$	0,244
<b>Vücut kitle indeksi (<math>\text{kg/m}^2</math>)</b>	$18,0 \pm 4,8$	$16,8 \pm 2,0$	0,148

Demir eksikliği anemisi grubunda Hb, Hct, MCV, MCH, MCHC, serum demiri, TSI ve ferritin değerleri istatistiksel olarak anlamlı şekilde düşük iken RDW ve DBK değerleri yüksek bulundu (tümünde  $p < 0,001$ ). Her iki grup arasında RBC, Plt ve WBC değerleri açısından istatistiksel olarak anlamlı farklılık saptanmadı ( $p = 0,144$ ,  $p = 0,805$ ,  $p = 0,212$ , sırasıyla). Grupların tam kan sayımları ve demir parametreleri Tablo 8’de gösterilmiştir.

**Tablo 8: Grupların tam kan sayımı ve demir parametreleri**

	DEA grubu (n=40)	Kontrol grubu (n=40)	P
	Ort ± SD	Ort ± SD	
<b>RBC</b> ( $\times 10^{12}/L$ )	4,6±0,5	4,7±0,3	0,144
<b>Hb</b> (g/dl)	10,1±0,8	12,5±0,7	<0,001
<b>Hct</b> (%)	31,4±2,6	37,0±2,0	<0,001
<b>MCV</b> (fl)	69,2±7,6	78,5±4,0	<0,001
<b>MCH</b> (pg)	22,5±2,9	26,5±1,5	<0,001
<b>MCHC</b> (g/dl)	32,5±1,4	33,7±0,7	<0,001
<b>RDW</b> (%)	16,9±3,7	13,6±1,4	<0,001
<b>Plt</b> ( $\times 10^9/L$ )	354±111	348±98	0,805
<b>WBC</b> ( $\times 10^9/L$ )	9,0±2,4	9,8±2,4	0,212
<b>Serum demiri</b> ( $\mu g/dl$ )	34,3±17,9	74,4±38,8	<0,001
<b>DBK</b> ( $\mu g/dl$ )	400±76,5	324±77,7	<0,001
<b>TSI</b> (%)	9,2±6,6	24,5±15,7	<0,001
<b>Ferritin</b> (ng/ml)	7,4±7,4	20,8±10,7	<0,001

**RBC:** Eritrosit sayısı, **Hb:** Hemoglobin, **Hct:** Hematokrit, **MCV:** Ortalama eritrosit hacmi, **MCH:** Ortalama eritrosit hemoglobini, **MCHC:** Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu, **RDW:** Eritrosit dağılım genişliği, **Plt:** Trombosit sayısı, **WBC:** Lökosit sayısı, **DBK:** Demir bağlama kapasitesi, **TSI:** Transferin saturasyon indeksi

Tablo 9’da grupların total antioksidan kapasite ve total oksidatif stresleri gösterilmiştir. Tabloda görüldüğü gibi total antioksidan kapasitenin her iki grupta benzer olduğu; ancak total oksidatif stresin demir eksikliği anemisi grubunda belirgin derecede yüksek olduğu tespit edildi.

**Tablo 9: Grupların total antioksidan kapasite ve total oksidatif stres göstergeleri**

	DEA grubu (n=40)	Kontrol grubu (n=40)	p
	Ort ± SD	Ort ± SD	
TAS (mmol Trolox Eq./L)	1,55±0,26	1,54±0,20	0,856
TOS (mmol Trolox Eq./L)	24,3±18,5	14,4±7,1	<b>0,002</b>

TAS:Total antioksidan kapasite TOS:Total oksidatif stres

Demir eksikliği anemisi olan çocuklara 2 ay boyunca oral demir tedavisi verildikten sonra 26 tanesinin tedavi sonrası kan değerlerine bakıldığında Hb, Hct, MCV, MCH, MCHC ve ferritin değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükseldiği, DBK değerinin ise düştüğü görüldü. RBC, RDW, Plt, WBC ve serum demiri açısından anlamlı farklılık saptanmadı. TSI değerinin tedavi sonrasında yükselmesine rağmen aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Tablo 10’da demir eksikliği anemisi grubundan 26 çocuğun tedavi öncesi ve sonrası kan değerleri gösterilmiştir.

**Tablo 10: DEA grubunun tedavi öncesi ve sonrası demir parametreleri**

	Tedavi öncesi (n=26)	Tedavi sonrası (n=26)	p
	Ort ± SD	Ort ± SD	
RBC ( $\times 10^{12}/L$ )	4,5±0,6	4,7±0,5	0,119
Hb (g/dl)	10,1±0,9	11,7±0,8	<b>&lt;0,001</b>
Hct (%)	31,0±2,8	35,0±2,6	<b>&lt;0,001</b>
MCV (fl)	68,9±7,8	74,9±5,7	<b>&lt;0,001</b>
MCH (pg)	22,5±3,0	25,0±2,2	<b>&lt;0,001</b>
MCHC (g/dl)	32,6±1,0	33,4±0,8	<b>0,003</b>
RDW (%)	16,7±3,1	16,5±2,7	0,714
Plt ( $\times 10^9/L$ )	353±117	322±98	0,253
WBC ( $\times 10^9/L$ )	9,3±2,6	9,4±1,9	0,922
Serum demiri ( $\mu g/dl$ )	38,0±19,3	49,2±29,2	0,077
DBK ( $\mu g/dl$ )	392±82	359±74	<b>0,039</b>
TSI (%)	10±7	14±8	0,075
Ferritin (ng/ml)	8,5±8,9	17,3±9,7	<b>&lt;0,001</b>



Tablo 11’de DEA grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası total antioksidan kapasite ve total oksidatif stresleri gösterilmiştir.

**Tablo 11: DEA grubunun tedavi öncesi ve sonrası total antioksidan kapasite ve total oksidatif stres göstergeleri**

	<b>Tedavi öncesi (n=26)</b>	<b>Tedavi sonrası (n=26)</b>	<b>p</b>
	<b>Ort ± SD</b>	<b>Ort ± SD</b>	
<b>TAS (mmol Trolox Eq./L)</b>	1,52±0,26	1,54±0,26	0,393
<b>TOS (mmol Trolox Eq./L)</b>	27,0±20,9	12,4±6,9	<b>0,001</b>

**TAS:**Total antioksidan kapasite **TOS:**Total oksidatif stres

Demir eksikliği anemisi olan çocukların tedavi öncesi ve tedavi sonrasında total antioksidan kapasite ve total oksidatif stresleri karşılaştırıldığında total antioksidan kapasitenin değişmediği, total oksidatif stresin tedavi sonrasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde düştüğü görüldü.

Tablo 12’de demir eksikliği anemisi grubunun tedavi sonrası total antioksidan kapasite ve total oksidatif streslerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması gösterilmiştir. Sonuçta tedavi sonrasında bakılan total antioksidan kapasite ve total oksidatif stresin kontrol grubu ile benzer olduğu görüldü.

**Tablo 12: DEA grubunun tedavi sonrası total antioksidan kapasite ve total oksidatif streslerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması**

	<b>Tedavi sonrası (n=26)</b>	<b>Kontrol (n=40)</b>	<b>p</b>
	<b>Ort ± SD</b>	<b>Ort ± SD</b>	
<b>TAS (mmol Trolox Eq./L)</b>	1,54±0,26	1,53±0,19	0,939
<b>TOS (mmol Trolox Eq./L)</b>	12,4±6,9	14,4±7,1	0,252

**TAS:**Total antioksidan kapasite **TOS:**Total oksidatif stres

Total antioksidan kapasite ile diğer laboratuvar ölçümleri arasındaki korelasyon araştırıldığında demir eksikliği anemisi grubunda total antioksidan kapasitenin RBC ( $r=-0,36$ ;

p=0,023), yaş (r=-0,49; p=0,001), vücut ağırlığı (r=-0,48; p=0,002) ve boy (r=-0,52; p=0,001) ile anlamlı olarak negatif korelasyon; cinsiyet (r=0,33; p=0,037) ile pozitif korelasyon gösterdiği saptandı. Kontrol grubunda ise total antioksidan kapasitenin total oksidatif stres (r=0,42; p=0,006) ile korele olduğu izlendi. Yani oksidatif stres arttıkça buna cevaben total antioksidan kapasite de artmaktadır.

Total oksidatif stres ile diğer laboratuvar ölçümleri arasındaki korelasyon araştırıldığında demir eksikliği anemisi grubunda total oksidatif stresin RDW (r=0,45; p=0,003) ile pozitif korelasyonu olduğu, kontrol grubunda total oksidatif stresin RBC (r=-0,45; p=0,004) ve DBK (r=-0,33; p=0,039) ile negatif korelasyon, Plt (r=0,36; p=0,020), BK (r=0,42; p=0,007) ve total antioksidan kapasite (r=0,42; p=0,006) ile pozitif korelasyonu olduğu görüldü.

Demir tedavisi alan hastaların tedavi öncesi ve tedavi sonrası total antioksidan kapasite ve total oksidatif stresleri ile diğer laboratuvar ölçümlerinin korelasyonuna bakıldığında total antioksidan kapasitenin tedavi öncesinde yaş (r=-0,40; p=0,038), vücut ağırlığı (r=-0,45; p=0,021), boy (r=-0,44; p=0,026), RBC (r=-0,44; p=0,025) ve DBK (r=-0,54; p=0,005) ile negatif, TSI (r=0,46; p=0,018) ile pozitif korelasyonu olduğu, tedavi sonrasında ise DBK (r=-0,52; p=0,009) ile negatif, MCHC (r=0,44; p=0,027) ile pozitif korelasyonu olduğu görüldü. Total oksidatif stres tedavi öncesinde RDW (r=0,57; p=0,002) ile korele iken tedavi sonrasında diğer laboratuvar ölçümleriyle arasında anlamlı ilişki bulunmadı.

Demir eksikliği anemisinde total oksidatif stres ve total antioksidan kapasite ile Hb, demir, DBK, ferritin ve TSI arasında korelasyon saptanmadı. Korelasyon analizleri cinsiyetlere göre ayrı ayrı yapıldığında ek başka bir ilişki gösterilemedi.

## 5. TARTIŞMA

Demir eritropoez, oksidatif metabolizma ve hücreyel immün cevap için gerekli bir eser elementtir (100). Süt çocukluğu dönemindeki demir gereksinimi, hızlı büyümeden dolayı diğer yaş gruplarından daha fazladır. Süt çocukluğu döneminde tedavi edilmeyen demir eksikliğinin ileri yaşlarda zeka ve diğer mental fonksiyonlarda kayba neden olduğunun gösterilmesi demir eksikliği anemisine verilen önemin artmasına yol açmıştır (101).

Ülkemizde ve dünyada demir eksikliği anemisi önemli bir sağlık sorunudur. Ülkemizde anemi prevalansını tespit etmek için Erzurum'da 2003 yılında Şimşek ve arkadaşları (12) tarafından yapılan bir çalışmada 6 ay–6 yaş arası çocuklarda demir eksikliği anemisi prevalansı %6,5 saptanmış ve demir eksikliği anemisine en sık 10–18 ay arasında rastlandığı bildirilmiştir. 2010 yılında Samsun ilinde yapılan başka bir çalışmada 2-6 yaş arasındaki sağlıklı çocuklarda demir eksikliği anemisi prevalansı %20, demir eksikliği prevalansı %28 bulunmuştur (13).

Normal aerobik metabolizmada inorganik ürün olarak süperoksit ve hidrojen peroksit molekülleri üretilir. Bunlar vücutta pozitif (immün sistem gibi) veya negatif etkiler (lipid, protein ya da DNA oksidasyonu gibi) yapabilirler. Bu serbest radikaller enzimatik veya enzimatik olmayan antioksidan mekanizmalarla vücuttan uzaklaştırılır. Albumin, ürik asid, bilirubin, ve askorbik asit plazmanın ana enzimatik olmayan antioksidanlarıdır. Antioksidan sistemler normalde bir bütünlük içinde çalışır, bir antioksidandaki azalma diğerindeki artma ile kompanse edilmektedir. Fagositler vücudun ihtiyacı olan kimyasal olaylar için süperoksit ve hidrojen peroksiti kullanır. Ancak bu ürünlerin fazla yapımından korunmak için birçok hücrenin antioksidan sisteme ihtiyacı vardır. Süperoksit ve hidrojen peroksit normal miktarda olduğu zaman direkt DNA, lipid ve protein hasarı yapmazken aşırı üretildiğinde hücreyel

hasara neden olur. Bu radikaller reaktivitelerinin artmasından başta demir olmak üzere çinko, bakır, selenyum gibi birçok metal iyonu sorumlu tutulmaktadır.

Literatürde mikrositik eritrositlerin oksidanlara daha duyarlı olduğu ve eritrositlerde malonildialdehid yapımının daha fazla olduğu gösterilmiştir. Membran rijiditesinin artması, deformabilite kapasitesinin azalması ve hemoliz eritrositlerdeki oksidatif hasarın sonuçlarıdır (102). İn vitro yapılan çalışmalarda demir eksikliği olan kişilerin eritrositlerinin hidrojen peroksida maruz bırakıldığında normal hücrelerden daha kolay parçalandığı saptanmıştır. Bu durum demir eksikliği olan kişilerin eritrositlerinde oksidatif hasara karşı koruyucu mekanizmalarda bozukluk olduğunu gösterir (4). Diğer taraftan fazla demir birikimi Fenton ve Haber-Weiss reaksiyonları ile hidroksil radikalleri oluşturarak DNA hasarına ve sitotoksositeye neden olur (5). Ferritin bir taraftan serbest demir şelasyonu yaparak oksidatif strese karşı koruyucu iken diğer taraftan ortama serbest demir salarak oksidatif stresi artırır. Oksidatif DNA hasarına neden olan demir miktarı konusunda net bilgi yoktur. Yapılan bir çalışmada serum ferritin konsantrasyonu ile idrarda oksidatif hasar ve onarımı gösteren biomarker olan 8-hidroksideoksiguanozin ilişkisi incelenmiş ve serum ferritin seviyesi ile 8-OHdG konsantrasyonu arasında pozitif ilişki gösterilmiştir (6).

Oksidatif stres prooksidanların nötralizasyonu ve formasyonundaki dengesizlikten kaynaklanmaktadır. Prooksidan-oksidan dengesinin bozulması hücre düzeyinde oksidatif hasara neden olur. Oksidatif stres kardiyovasküler ve infeksiyöz hastalıklar, kanser, diyabet ve nörodejeneratif patolojilerle bağlantılıdır.

Literatürde demir eksikliği olanlarda oksidatif stres ve antioksidan kapasite hakkında çelişkili ve az sayıda bilgi vardır. Demir eksikliği olan eritrositlerin oksidan ajanlara karşı artmış duyarlılığa sahip olduklarını ve antioksidan enzimlerin aktivitelerinin azalmasına bağlı olarak reaktif oksijen radikallerinin detoksifiye edilemediğini savunanların yanında, oksidan-antioksidan sistemlerin kontrol grubuna göre değişmediğini gösteren çalışmalarda vardır. Bu

değişiklikler demir tedavisi ile düzeltilebilir. Daha önce yapılan çalışmalarda oksidan stres ve antioksidan kapasiteyi gösteren paraoksonaz, aril esteraz, malonildialdehid, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz gibi farklı parametreler çalışılmıştır. Total oksidatif stres ve total antioksidan kapasite ölçümleri güvenilir, pratik ve maliyeti ucuz metotlardır. Bu sayede oksidatif durumu gösteren birçok parametrenin ölçümüne gerek kalmamaktadır. Çocukluk çağı demir eksikliği anemisinde total oksidatif durumu gösteren yeterli çalışma yoktur. Ayrıca demir eksikliği anemisinde tedavi sonrası oksidatif durumdaki değişimi gösteren çalışma çok azdır.

Demir eksikliği anemisi olan ratlarda yapılan bir çalışmada DNA stabilitesi ile karaciğer antioksidan kapasitesi arasındaki ilişki araştırılmıştır. Ratlarda yeterli antioksidan savunma kapasitesi olduğu için demir eksikliği anemisinin DNA stabilitesi veya lipid peroksidasyonunu etkilemediği gösterilmiştir (1).

Meral ve ark.'ları (103) beta talasemi major ve demir eksikliği anemisinde lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim düzeylerini çalışmışlardır. Süperoksit dismutaz ve glutatyon peroksidaz gibi antioksidan enzim düzeylerinin beta talasemi major grubunda en yüksek olduğunu ve demir eksikliği anemisi olan 19 çocukta demir eksikliğinin lipid peroksidasyonu ve antioksidan enzim düzeylerinde değişime yol açmadığını rapor etmişlerdir. Antioksidan enzim düzeylerinde düşme olmaması aneminin şiddetiyle ilişkilidir. Bizim çalışmamızda hemoglobin değerleri çok düşük olmadığı için total antioksidan kapasite normal bulunmuş olabilir.

Gropper ve ark'nın (102) yaptığı bir çalışmada demir düzeyi normal olan 24 kişi ve anemi olmaksızın demir eksikliği saptanan 13 kişilik çalışma gruplarında demir desteği tedavisinden önce ve tedaviden 8 hafta sonra oksidatif stres göstergesi olarak protein karbonil ve lipid hidroperoksit konsantrasyonu çalışılmıştır. Lipid hidroperoksit ve protein karbonil konsantrasyonu açısından çalışmanın başında ve sonunda gruplar arasında fark

bulunmamıştır. Çalışmada oral demir tedavisinin oksidatif hasarla ilişkili olmadığı bulunmuştur. Ancak bizim çalışmamızda demir eksikliği anemisi olan gruba oral demir tedavisi verildikten sonra total oksidatif durumda belirgin azalma olduğu görülmüştür.

Mc Anulty ve ark.'nın (104) yaptıkları çalışmada anemik olmayan fakat düşük demir depoları olan ve demir depoları normal olan hastalara demir tedavisi verilmiştir. Serum selenyum ve glutatyon peroksidaz konsantrasyonları düşük demir depoları olan olgularda yeterli demir depoları olan olgulardan farklı bulunmamıştır. Düşük demir depoları olan olgularda serum selenyum ve glutatyon peroksidaz konsantrasyonları tedavi öncesi ve sonrası değişiklik göstermemiştir.

Bay ve ark.'nın (105) yaptığı çalışmada demir eksikliği anemisi ile beraber pikası olan 47, sadece demir eksikliği anemisi olan 22 ve anemik olmayan kontrol grubundaki 21 çocuk üzerinde pikanın ve demir eksikliği anemisinin oksidatif stres ve antioksidan kapasite ile serum çinko ve selenyum üzerine yaptığı etki incelenmiştir. Demir eksikliği anemisi olan çocuklarda total antioksidan kapasite düşük, total oksidatif stres yüksek olmasına rağmen kontrol grubu ile aradaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildi. Bizim çalışmamızda total antioksidan kapasitenin demir eksikliği anemisi ile kontrol grubunda benzer olduğu, total oksidatif stresin demir eksikliği anemisi olan çocuklarda anlamlı derecede yüksek olduğu gösterildi.

Tekin ve ark.'ları (106) demir eksikliği anemisi olan 15 çocukta süperoksit dismutaz, katalaz ve glutatyon peroksidaz aktiviteleri ile trombosit fonksiyonlarını incelemiştir. Glutatyon peroksidaz aktivitesini demir eksikliği anemisi grubunda düşük olarak saptarken, süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitelerinde kontrol grubuna göre fark saptamamışlardır.

Tunç ve ark.'nın (107) yaptığı bir çalışmada demir eksikliği anemili çocukların tedavi öncesi ve sonrasında malonildialdehid düzeyi, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz ve katalaz aktiviteleri ölçülmüştür. Demir eksikliği anemisi grubunda bu parametrelerin tedavi

öncesi ve sonrası değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark olmadığı, ancak malonildialdehidin tedavi öncesi ve sonrası değeri, kontrol grubuna göre anlamlı olarak yüksek olduğu bildirilmiştir. Buna göre demir eksikliği anemisinde eritrosit lipid peroksidasyonun arttığı, bunun da anemi patogenezinde rol oynayabileceği ve uygun dozlarda kullanılan demir tedavisinin ilave bir oksidatif stres meydana getirmediği sonucuna varılmıştır.

Coghetto ve ark.'nın (3) yaptığı çalışmada demir eksikliği anemisi olanların katalaz ve süperoksit dismutaz seviyesi kontrol grubundan daha yüksek bulunmuştur. Glutasyon peroksidaz her iki grupta aynı bulunmuştur. Ayrıca demir eksikliği anemisi olanların serumunda malonildialdehid birikiminde artış olduğu saptanmıştır. Yazarlara göre demir eksikliği anemisi olan hastalar kronik oksidatif hasara maruz kalmaktadır.

Jansson ve ark.'nın (108) demir eksikliği olan ratlarda yaptığı çalışmada süperoksit dismutaz düzeyinin kontrole göre daha yüksek olduğunu saptamışlar. Bunu artmış oksidatif strese karşı kompensasyon olarak açıklamışlardır. Benzer olarak Acharya ve ark.'nın (109) yaptığı çalışmada demir eksikliğinde süperoksit dismutaz aktivitesinin arttığı gösterilmiştir.

İşler ve ark'ları. (110) demir eksikliği anemisi olan erişkinlerde yaptıkları çalışmada demir tedavisi öncesi ve sonrasında süperoksit dismutaz ve glutasyon peroksidaz aktivitelerindeki değişimi incelemişlerdir. Süperoksit dismutaz aktivitesinin demir eksikliği anemisi grubunda düşük olduğu, tedavi sonrasında yükseldiği gösterilmiştir. Glutasyon peroksidaz aktivitesi açısından demir eksikliği anemisi grubu ile kontrol grubu arasında fark olmadığı rapor edilmiştir.

Bizim çalışmamızda hem demir eksikliği anemisi ile kontrol grubu arasında hem de demir eksikliği anemisi grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası sonuçları arasında total antioksidan kapasite değerleri açısından anlamlı fark saptanmadı. Buna göre demir eksikliği anemisinde demir tedavisi oksidan stres oluşturmamaktadır.

Aslan ve ark.'nın (111) demir eksikliği anemisi olan 25 kadın ve kontrol grubu olarak 22 sağlıklı kadın ile yaptığı çalışmada antiaterojenik ve antioksidan özelliği olan paraoksonaz ve arilesteraz aktivitesi demir eksikliği grubunda azaldığı görülmüştür. Sonuçta demir eksikliği anemisinde oksidatif stresin artarak hasar meydana getirdiği saptanmıştır.

Kurtoğlu ve ark.'nın (112) yaptığı çalışmada 63 erişkin hastada malonildialdehid, glutasyon peroksidaz, süperoksit dismutaz ve katalaz düzeyi tedavinin başında, hemoglobin değeri normale geldiğinde (6 hafta demir desteği) ve demir depoları tam dolduğu zaman çalışılmış. Kontrol grubu ile kıyaslandığında malonildialdehid gibi oksidan enzim düzeylerinin arttığı, glutasyon peroksidaz gibi antioksidan enzim seviyelerinin azaldığı ayrıca 6 haftalık demir desteğinden sonra oksidatif stresin belirgin derecede azaldığı gösterilmiştir.

Demir ve ark.'nın (113) yaptığı çalışmada demir eksikliği anemisi ve tedavisinin plazma total antioksidan kapasite üzerine etkileri araştırılmıştır. Demir eksikliği anemisi olan 60 hastadan tedavinin başında, 24. saatinde, 7. gününde, 6. ve 13. haftalarında kan örnekleri alınmıştır. Total antioksidan kapasite düzeylerinin demir eksikliği anemisi olan grupta kontrol grubuna göre düşük olduğu saptanmıştır. Oral, intramusküler ve intravenöz tedavi gruplarının hepsinde tedavi sonrasında total antioksidan kapasite düzeylerinde anlamlı değişiklik saptanmamıştır.

Yoo ve ark.'nın (114) demir eksikliği anemisi olan 23 erişkin kadın ve sağlıklı 25 kişi ile yaptığı çalışmada demir eksikliği anemisi grubunda oksidatif kapasite belirgin derecede yüksek, total antioksidan ve katalaz aktivitesi düşük bulunmuştur. Dört aylık tedavi sonrasında oksidan, antioksidan ve katalaz aktivitesi kontrol grubu ile benzer bulunmuştur. Çalışmada oksidatif stresi ölçmek için serbest oksijen radikal testi, antioksidan kapasiteyi değerlendirmek için bizim çalışmamızda kullanılan Trolox ekivalan antioksidan kapasite testi kullanılmıştır. Sonuçları bizim çalışmamızın ki ile benzer olan bu çalışmada demir eksikliği anemisinde yüksek oksidatif stresin olduğu gösterilmiştir.



Aslan ve ark.'nın (2) yaptığı başka bir çalışmada demir eksikliği anemisi olan 22 kadın ve sağlıklı 22 kadında periferal DNA hasarı ve plazma total antioksidan kapasite araştırılmıştır. Demir eksikliği anemisinde lenfosit DNA hasarı kontrol grubundan daha yüksek, total antioksidan kapasite daha düşük bulunmuş. Oksidatif stresin artmasının DNA hasarına neden olması demir eksikliği anemisinin patogenezinde oksidatif stres ve DNA hasarının rol aldığını göstermektedir.

Bizim çalışmamızda literatürdeki çalışmalara benzer şekilde hem demir eksikliği anemisi ile kontrol grubu arasında hem de demir eksikliği anemisi grubunun tedavi öncesi ve tedavi sonrası sonuçları arasında total oksidatif stres değerleri açısından anlamlı farklılık saptandı. Demir eksikliği anemisinde total oksidatif stresin yüksek olduğu, demir tedavisi sonrasında azaldığı gösterildi. Bu çalışma demir eksikliği anemisinde artmış oksidatif stres hipotezini desteklemektedir.

Korelasyon analizleri incelendiğinde total antioksidan kapasitenin katalaz ve hemoglobin ile pozitif, DNA hasarı ve total oksidatif stres ile negatif korelasyon gösterdiği saptanmıştır (2, 114). Ancak yapılan birçok çalışmada total antioksidan kapasite ve total oksidatif stresin serum demir, demir bağlama kapasitesi, transferin saturasyon yüzdesi ve ferritin ile korelasyonu saptanmamıştır (102, 105, 110). Demir ile korelasyon saptanamamasının nedeni diüurnal ritimle ilişkili olabilir. Bizim çalışmamızda da benzer olarak demir eksikliği anemisi grubunda total oksidatif stres ve total antioksidan kapasite ile serum demir, demir bağlama kapasitesi, transferin saturasyon yüzdesi ve ferritin değerleri arasında anlamlı korelasyon saptanmadı.

Sonuç olarak bu çalışmada demir eksikliği anemisinin oksidatif strese neden olduğu ve tedavi sonrasında normal seviyeye düştüğü izlendi. Çalışmamız çocukluk çağı demir eksikliği anemisinde total oksidatif stres ve total antioksidan kapasitenin tedavi ile nasıl değiştiğini gösteren ilk çalışma olduğu için önem taşımaktadır. Total oksidatif stres ve total antioksidan

kapasite ölçümleri güvenilir, pratik ve maliyeti ucuz metotlardır. Bu sayede oksidatif durumu gösteren birçok parametrenin ölçümüne gerek kalmamaktadır. Olgu sayısının arttırılması ve daha düşük hemoglobin seviyesine sahip demir eksikliği anemilerinin incelenmesi ile farklı sonuçlara ulaşılabileceğini düşünmekteyiz.

## 6. SONUÇLAR

- 1) Total antioksidan kapasitenin demir eksikliği anemisi grubunda kontrol grubu ile benzer olduğu ancak total oksidatif stresin demir eksikliği anemisi grubunda belirgin derecede yüksek olduğu tespit edildi.
- 2) Demir eksikliği anemisi olan çocuklara 2 ay boyunca oral demir tedavisi verildikten sonra 26 tanesinin tedavi sonrası kan değerlerine bakıldığında Hb, Hct, MCV, MCH, MCHC ve ferritin değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı şekilde yükseldiği, DBK değerinin ise düştüğü görüldü.
- 3) Demir eksikliği anemisi olan çocukların tedavi öncesi ve tedavi sonrasında total antioksidan kapasite ve total oksidatif stresleri karşılaştırıldığında total antioksidan kapasitenin değişmediği, total oksidatif stresin tedavi sonrasında istatistiksel olarak anlamlı şekilde düştüğü görüldü.
- 4) Demir eksikliği anemisi grubunda total antioksidan kapasitenin yaş, vücut ağırlığı, boy ve RBC ile anlamlı olarak negatif korelasyon gösterdiği saptandı.
- 5) Kontrol grubunda total antioksidan kapasitenin total oksidatif stres ile korele olduğu izlendi.
- 6) Total oksidatif stresin demir eksikliği anemisi grubunda RDW ile pozitif korelasyonu olduğu, kontrol grubunda RBC ve DBK ile negatif korelasyon, Plt ve BK ile pozitif korelasyonu olduğu görüldü.
- 7) Demir eksikliği anemisinde total oksidatif stres ve total antioksidan kapasitenin Hb, demir, DBK, ferritin ve TSI ile korelasyonları saptanmadı.

## 7. KAYNAKLAR

1. Diaz-Castro J, Alferez MJ, Lopez-Aliaga I, Nestares T, Granados S, Barrionuevo M, et al. Influence of nutritional iron deficiency anemia on DNA stability and lipid peroxidation in rats. *Nutrition*. 2008 Nov-Dec;24(11-12):1167-73.
2. Aslan M, Horoz M, Kocyigit A, Ozgonul S, Celik H, Celik M, et al. Lymphocyte DNA damage and oxidative stress in patients with iron deficiency anemia. *Mutat Res*. 2006 Oct 10;601(1-2):144-9.
3. Coghetto Baccin A, Lauerma Lazzaretti L, Duarte Martins Brandao V, Manfredini V, Peralba MC, Silveira Benfato M. Oxidative stress in older patients with iron deficiency anaemia. *J Nutr Health Aging*. 2009 Oct;13(8):666-70.
4. Nagababu E, Chrest FJ, Rifkind JM. Hydrogen-peroxide-induced heme degradation in red blood cells: the protective roles of catalase and glutathione peroxidase. *Biochim Biophys Acta*. 2003 Mar 17;1620(1-3):211-7.
5. Gutteridge JM. Biological origin of free radicals, and mechanisms of antioxidant protection. *Chem Biol Interact*. 1994 Jun;91(2-3):133-40.
6. Hori A, Mizoue T, Kasai H, Kawai K, Matsushita Y, Nanri A, et al. Body iron store as a predictor of oxidative DNA damage in healthy men and women. *Cancer Sci*. 2010 Feb;101(2):517-22.
7. Sherwood RA, Pippard MJ, Peters TJ. Iron homeostasis and the assessment of iron status. *Ann Clin Biochem*. 1998 Nov;35 ( Pt 6):693-708.
8. Andrews NC, Ullrich CK, Fleming MD. Disorders of Iron Metabolism and Sideroblastic Anemia. In: Orkin S, Nathan David G, Gingsburg D, Look T, editors. *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood*. 7 ed. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 2009.
9. Khusun H, Yip R, Schultink W, Dillon DH. World Health Organization hemoglobin cut-off points for the detection of anemia are valid for an Indonesian population. *J Nutr*. 1999 Sep;129(9):1669-74.
10. Wharton BA. Iron deficiency in children: detection and prevention. *Br J Haematol*. 1999 Aug;106(2):270-80.
11. Brugnara C. Iron deficiency and erythropoiesis: new diagnostic approaches. *Clin Chem*. 2003 Oct;49(10):1573-8.

12. Şimsek Ş. Orta Derecede Yüksek Bir Rakımda (Erzurum=2000m) Yaşayan ve Pediatri Polikliniğine Başvuran 6ay-6yaş Arasındaki Çocuklarda Anemi Prevalansı ve Etiyolojik Faktörler [Uzmanlık Tezi]. Erzurum: Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2003.
13. Yılmaz ÖÇ. Samsun ilinde 2-6 yaş arası çocuklarda demir eksikliği anemisi prevalansı [Uzmanlık Tezi]. Samsun: Ondokuz Mayıs Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2010.
14. Coutinho GG, Goloni-Bertollo EM, Bertelli EC. Iron deficiency anemia in children: a challenge for public health and for society. *Sao Paulo Med J.* 2005 Mar 2;123(2):88-92.
15. Gillooly M, Bothwell TH, Charlton RW, Torrance JD, Bezwoda WR, MacPhail AP, et al. Factors affecting the absorption of iron from cereals. *Br J Nutr.* 1984 Jan;51(1):37-46.
16. Brotanek JM, Halterman JS, Auinger P, Flores G, Weitzman M. Iron deficiency, prolonged bottle-feeding, and racial/ethnic disparities in young children. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2005 Nov;159(11):1038-42.
17. Ani-Kibangou B, Bouhallab S, Molle D, Henry G, Bureau F, Neuville D, et al. Improved absorption of caseinophosphopeptide-bound iron: role of alkaline phosphatase. *J Nutr Biochem.* 2005 Jul;16(7):398-401.
18. Ganz T, Nemeth E. Iron imports. IV. Hepcidin and regulation of body iron metabolism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2006 Feb;290(2):G199-203.
19. Avcı Z. Karaciğer Nakli Yapılan Çocuklarda Serum Prohepsidin Düzeyinin Eritrosit Göstergeleri, Serum Demir Değişkenleri ve Karaciğer Demir Yoğunluğu İle İlişkisinin Araştırılması [Uzmanlık Tezi]. Ankara: Başkent Üniversitesi Tıp Fakültesi 2008.
20. Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med.* 1999 Dec 23;341(26):1986-95.
21. Yıldız İ, Yüksel L. Kan Hastalıkları. In: Onat T, editor. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları.* 1 ed. İstanbul: Eksen Yayınları; 1996.
22. Oski FA. Iron deficiency in infancy and childhood. *N Engl J Med.* 1993 Jul 15;329(3):190-3.
23. Hagar W, Theil EC, Vichinsky EP. Diseases of iron metabolism. *Pediatr Clin North Am.* 2002 Oct;49(5):893-909.
24. Shayeghi M, Latunde-Dada GO, Oakhill JS, Laftah AH, Takeuchi K, Halliday N, et al. Identification of an intestinal heme transporter. *Cell.* 2005 Sep 9;122(5):789-801.
25. DeMaeyer EM, Dalman PR, Gurney JM, Hallberg L, Sood SK, Srikantia SG. Preventing and controlling iron deficiency anaemia through primary health care. WHO, Geneva. 1989.

26. Mackenzie B, Garrick MD. Iron Imports. II. Iron uptake at the apical membrane in the intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2005 Dec;289(6):G981-6.
27. 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 Jul-Aug;111(4):283-9.
28. Donovan A, Lima CA, Pinkus JL, Pinkus GS, Zon LI, Robine S, et al. The iron exporter ferroportin/Slc40a1 is essential for iron homeostasis. *Cell Metab*. 2005 Mar;1(3):191-200.
29. Finch C. Regulators of iron balance in humans. *Blood*. 1994 Sep 15;84(6):1697-702.
30. Gerber MR, Connor JR. Do oligodendrocytes mediate iron regulation in the human brain? *Ann Neurol*. 1989 Jul;26(1):95-8.
31. Provan D. Mechanisms and management of iron deficiency anaemia. *Br J Haematol*. 1999 Apr;105 Suppl 1:19-26.
32. Ganz T. Molecular control of iron transport. *J Am Soc Nephrol*. 2007 Feb;18(2):394-400.
33. Abboud S, Haile DJ. A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism. *J Biol Chem*. 2000 Jun 30;275(26):19906-12.
34. Iacopetta BJ, Rothenberger S, Kuhn LC. A role for the cytoplasmic domain in transferrin receptor sorting and coated pit formation during endocytosis. *Cell*. 1988 Aug 12;54(4):485-9.
35. Huebers H, Csiba E, Huebers E, Finch CA. Molecular advantage of diferric transferrin in delivering iron to reticulocytes: a comparative study. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1985 Jun;179(2):222-6.
36. Formon SJ, Ziegler EE. Cow milk feeding in infancy: Gastrointestinal blood loss and iron nutritional status. *J Pediatr*. 1991;98:540-52.
37. Choi JW, Pai SH. Reticulocyte subpopulations and reticulocyte maturity index (RMI) rise as body iron status falls. *Am J Hematol*. 2001 Jun;67(2):130-5.
38. Suominen P, Virtanen A, Lehtonen-Veromaa M, Heinonen OJ, Salmi TT, Alanen M, et al. Regression-based reference limits for serum transferrin receptor in children 6 months to 16 years of age. *Clin Chem*. 2001 May;47(5):935-7.
39. Şanlılar M. *Pediatric Yaş Grubu Çeşitli Anemik Hastalıkların Ayırıcı Tanısında Serum Solubl Transferrin Reseptörünün Diğer Hematolojik ve Biyokimyasal Parametrelerle İlişkisi [Uzmanlık Tezi]*. Isparta: Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi 2006.

40. Gümrük F, Altay C. Demir Metabolizması ve Demir Eksikliği Anemisi. *Katkı Pediatri Dergisi*. 1995;16(3):265-86.
41. Akman M, Cebeci D, Okur V, Angin H, Abali O, Akman AC. The effects of iron deficiency on infants' developmental test performance. *Acta Paediatr*. 2004 Oct;93(10):1391-6.
42. Pollitt E. The developmental and probabilistic nature of the functional consequences of iron-deficiency anemia in children. *J Nutr*. 2001 Feb;131(2S-2):669S-75S.
43. Lozoff B, De Andraca I, Castillo M, Smith JB, Walter T, Pino P. Behavioral and developmental effects of preventing iron-deficiency anemia in healthy full-term infants. *Pediatrics*. 2003 Oct;112(4):846-54.
44. Kazancı E, Kavaklı T, Altınöz S, Aydoğan A. Katılma Nöbetli Çocuklarda Demir Tedavisinin Önemi. *Ege Pediatri Bülteni*. 2003;10(2):61-4.
45. Robin KO, Robert DC. Diseases of the Blood. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, editors. *Nelson Textbook of Pediatrics*. 17 ed. Philadelphia: W.B.Saunders; 2004.
46. Ağaoğlu L. Kan Hastalıkları, Anemiler. In: Neyzi O, Ertuğrul T, editors. *Temel Pediatri*. 3 ed. İzmir: Nobel Tıp Kitabevleri; 2002.
47. Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull*. 1993 Jul;49(3):481-93.
48. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet*. 1994 Sep 10;344(8924):721-4.
49. Kehler JP, Smith CV. Free radicals in biology: Sources Reactivities and Roles in the Etiology of Human Diseases. *Natural Antioxidants in Human and Disease*. 1994:25-62.
50. Akarsu S, Yılmaz S, Ozan S, Kurt A, Benzer F, Gurgoze MK. Effects of febrile and afebrile seizures on oxidant state in children. *Pediatr Neurol*. 2007 May;36(5):307-11.
51. Nakazawa H. Pathological aspects of active oxygen/free radicals. *Japan J Physiol*. 1996;46:15-32.
52. Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. *Hacettepe Tıp dergisi*. 2002;33(2):110-8.
53. Jensen SJK. Oxidative stress and free radicals. *Journal of Molecular Structure (Theochem)*. 2003:666-7, 387-92.
54. Kremer TM, Rinne ML, Xu Y, Chen XM, Kelley MR. Protection of pulmonary epithelial cells from oxidative stress by hMYH adenine glycosylase. *Respir Res*. 2004;5:16.

55. Uysal M. Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada peroksidan-antioksidan dengesini etkileyen koşullar. Klinik gelişim. 1998;11:336-41.
56. Halliwell B. Oxidative stress, nutrition and health. Experimental strategies for optimization of nutritional antioxidant intake in humans. Free Radic Res. 1996 Jul;25(1):57-74.
57. Horvath I, Donnelly LE, Kiss A, Kharitonov SA, Lim S, Chung KF, et al. Combined use of exhaled hydrogen peroxide and nitric oxide in monitoring asthma. Am J Respir Crit Care Med. 1998 Oct;158(4):1042-6.
58. Vural H, Uzun K, Erel Ü. Antioxidant status and lipid peroxidation in asthma. Solunum Hastalıkları 1999;10:77-83.
59. Yagi K. Lipid peroxides and human diseases. Chem Phys Lipids. 1987 Nov-Dec;45(2-4):337-51.
60. Dore S, Takahashi M, Ferris CD, Zakhary R, Hester LD, Guastella D, et al. Bilirubin, formed by activation of heme oxygenase-2, protects neurons against oxidative stress injury. Proc Natl Acad Sci U S A. 1999 Mar 2;96(5):2445-50.
61. Akkus I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya: Mimoza yayımları 1995.
62. Raha S, Robinson BH. Mitochondria, oxygen free radicals, disease and ageing. Trends Biochem Sci. 2000 Oct;25(10):502-8.
63. Yamamoto Y. Role of active oxygen species and antioxidants in photoaging. J Dermatol Sci. 2001 Aug;27 Suppl 1:S1-4.
64. Yurdakök Y, Yurdakök M. Yenidoğanlarda serbest radikallere bağlı hastalıklar. Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi. 1997;39:749-65.
65. Demple B. Radical ideas: genetic responses to oxidative stress. Clin Exp Pharmacol Physiol. 1999 Jan;26(1):64-8.
66. Hegyi T, Goldie E, Hiatt M. The protective role of bilirubin in oxygen-radical diseases of the preterm infant. J Perinatol. 1994 Jul-Aug;14(4):296-300.
67. Asad SF, Singh S, Ahmad A, Khan NU, Hadi SM. Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure-activity study. Chem Biol Interact. 2001 Jul 31;137(1):59-74.
68. Buonocore G, Perrone S, Longini M, Terzuoli L, Bracci R. Total hydroperoxide and advanced oxidation protein products in preterm hypoxic babies. Pediatr Res. 2000 Feb;47(2):221-4.



69. Cross CE, Halliwell B, Borish ET, Pryor WA, Ames BN, Saul RL, et al. Oxygen radicals and human disease. *Ann Intern Med.* 1987 Oct;107(4):526-45.
70. Rao GM, Rao AV, Raja A, Rao S, Rao A. Lipid peroxidation in brain tumours. *Clin Chim Acta.* 2000 Dec;302(1-2):205-11.
71. McCord JM. Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clin Biochem.* 1993 Oct;26(5):351-7.
72. Marnett LJ. Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology.* 2002 Dec 27;181-182:219-22.
73. Allen RG, Tresini M. Oxidative stress and gene regulation. *Free Radic Biol Med.* 2000 Feb 1;28(3):463-99.
74. Peng T, Shen HM, Liu ZM, Yan LN, Peng MH, Li LQ, et al. Oxidative DNA damage in peripheral leukocytes and its association with expression and polymorphisms of hOGG1: a study of adolescents in a high risk region for hepatocellular carcinoma in China. *World J Gastroenterol.* 2003 Oct;9(10):2186-93.
75. Bowry VW, Mohr D, Cleary J, Stocker R. Prevention of tocopherol-mediated peroxidation in ubiquinol-10-free human low density lipoprotein. *J Biol Chem.* 1995 Mar 17;270(11):5756-63.
76. Frei B, Stocker R, Ames BN. Antioxidant defenses and lipid peroxidation in human blood plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1988 Dec;85(24):9748-52.
77. Huertas JR, Palomino N, Ochoa JJ, Quiles JL, Ramirez-Tortosa MC, Battino M, et al. Lipid peroxidation and antioxidants in erythrocyte membranes of full-term and preterm newborns. *Biofactors.* 1998;8(1-2):133-7.
78. Yesilkaya A, Altinayak R, Korgun DK. The antioxidant effect of free bilirubin on cumene-hydroperoxide treated human leukocytes. *Gen Pharmacol.* 2000 Jul;35(1):17-20.
79. Bayir H, Kagan VE, Tyurina YY, Tyurin V, Ruppel RA, Adelson PD, et al. Assessment of antioxidant reserves and oxidative stress in cerebrospinal fluid after severe traumatic brain injury in infants and children. *Pediatr Res.* 2002 May;51(5):571-8.
80. Cirak B, Inci S, Palaoglu S, Bertan V. Lipid peroxidation in cerebral tumors. *Clin Chim Acta.* 2003 Jan;327(1-2):103-7.
81. Minetti M, Mallozzi C, Di Stasi AM, Pietraforte D. Bilirubin is an effective antioxidant of peroxynitrite-mediated protein oxidation in human blood plasma. *Arch Biochem Biophys.* 1998 Apr 15;352(2):165-74.

82. Otani K, Shimizu S, Chijiwa K, Yamaguchi K, Kuroki S, Tanaka M. Increased urinary excretion of bilirubin oxidative metabolites in septic patients: a new marker for oxidative stress in vivo. *J Surg Res.* 2001 Mar;96(1):44-9.
83. Stocker R, Yamamoto Y, McDonagh AF, Glazer AN, Ames BN. Bilirubin is an antioxidant of possible physiological importance. *Science.* 1987 Feb 27;235(4792):1043-6.
84. Lindeman JH, Lentjes EG, Houdkamp E, van Zoeren-Grobbe D, Schrijver J, Berger HM. Effect of an exchange transfusion on plasma antioxidants in the newborn. *Pediatrics.* 1992 Aug;90(2 Pt 1):200-3.
85. Gopinathan V, Miller NJ, Milner AD, Rice-Evans CA. Bilirubin and ascorbate antioxidant activity in neonatal plasma. *FEBS Lett.* 1994 Aug 1;349(2):197-200.
86. Scandalios JG. The rise of ROS. *Trends Biochem Sci.* 2002 Sep;27(9):483-6.
87. Buhimschi IA, Buhimschi CS, Pupkin M, Weiner CP. Beneficial impact of term labor: nonenzymatic antioxidant reserve in the human fetus. *Am J Obstet Gynecol.* 2003 Jul;189(1):181-8.
88. Gupta P, Narang M, Banerjee BD, Basu S. Oxidative stress in term small for gestational age neonates born to undernourished mothers: a case control study. *BMC Pediatr.* 2004 Jul 20;4:14.
89. Halliwell B, Gutteridge JM. The antioxidants of human extracellular fluids. *Arch Biochem Biophys.* 1990 Jul;280(1):1-8.
90. Tomaro ML, Battle AM. Bilirubin: its role in cytoprotection against oxidative stress. *Int J Biochem Cell Biol.* 2002 Mar;34(3):216-20.
91. Zhao J, Liu XJ, Ma JW, Zheng RL. DNA damage in healthy term neonate. *Early Hum Dev.* 2004 Apr;77(1-2):89-98.
92. Qanungo S, Sen A, Mukherjee M. Antioxidant status and lipid peroxidation in human fetoplacental unit. *Clin Chim Acta.* 1999 Jul;285(1-2):1-12.
93. Kiely M, Morrissey PA, Cogan PF, Kearney PJ. Low molecular weight plasma antioxidants and lipid peroxidation in maternal and cord blood. *Eur J Clin Nutr.* 1999 Nov;53(11):861-4.
94. Korkmaz A, Yurdakök M, Yiğit S, Oran O, Tekinalp G. Hiperbilirubinemili yenidoğan bebeklerde serum bilirubin ve ürik asit düzeyleri arasındaki denge. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi.* 2001;44:338-41.

95. Bolisetty S, Naidoo D, Lui K, Koh TH, Watson D, Montgomery R, et al. Postnatal changes in maternal and neonatal plasma antioxidant vitamins and the influence of smoking. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2002 Jan;86(1):F36-40.
96. Sommerburg O, Meissner K, Nelle M, Lenhartz H, Leichsenring M. Carotenoid supply in breast-fed and formula-fed neonates. *Eur J Pediatr.* 2000 Jan-Feb;159(1-2):86-90.
97. Polidori MC, Stahl W, Eichler O, Niestroj I, Sies H. Profiles of antioxidants in human plasma. *Free Radic Biol Med.* 2001 Mar 1;30(5):456-62.
98. Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *Clin Biochem.* 2004 Feb;37(2):112-9.
99. Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *Clin Biochem.* 2005 Dec;38(12):1103-11.
100. Oner AF, Bay A. Demir eksikliği anemisi. *Türkiye klinikleri J Pediatr Sci.* 2005;1(3):7-15.
101. Ghosh K. Non haematological effects of iron deficiency - a perspective. *Indian J Med Sci.* 2006 Jan;60(1):30-7.
102. Gropper SS, Kerr S, Barksdale JM. Non-anemic iron deficiency, oral iron supplementation, and oxidative damage in college-aged females. *J Nutr Biochem.* 2003 Jul;14(7):409-15.
103. Meral A, Tuncel P, Surmen-Gur E, Ozbek R, Ozturk E, Gunay U. Lipid peroxidation and antioxidant status in beta-thalassemia. *Pediatric Hematology and Oncology.* 2000;17:687-93.
104. McAnulty LS, Gropper SS, McAnulty SR, Keith RE. Iron depletion without anemia is not associated with impaired selenium status in college-aged women. *Biol Trace Elem Res.* 2003 Feb;91(2):125-36.
105. Bay A. Pika ve demir eksikliği anemisinin oksidatif stres, antioksidan kapasite ve eser elementler üzerine etkilerinin araştırılması [Yan Dal Uzmanlık Tezi]. Van: Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2006.
106. Tekin D, Yavuzer S, Tekin M, Akar N, Cin S. Possible effects of antioxidant status on increased platelet aggregation in childhood iron-deficiency anemia. *Pediatr Int.* 2001 Feb;43(1):74-7.
107. Tunç B, Özen HG, Delibaş N, Sütçü R. The effects of oral iron treatment on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities in children with iron deficiency anemia. *International Journal of Hematology and Oncology.* 2001;11(4):217-22.

108. Jansson LT, Perkkio MV, Willis WT, Refino CJ, Dallman PR. Red cell superoxide dismutase is increased in iron deficiency anemia. *Acta Haematol.* 1985;74(4):218-21.
109. Acharya J, Punched NA, Taylor JA, Thompson RP, Pearson TC. Red cell lipid peroxidation and antioxidant enzymes in iron deficiency. *Eur J Haematol.* 1991 Oct;47(4):287-91.
110. Isler M, Delibas N, Guclu M, Gultekin F, Sutcu R, Bahceci M, et al. Superoxide dismutase and glutathione peroxidase in erythrocytes of patients with iron deficiency anemia: effects of different treatment modalities. *Croat Med J.* 2002 Feb;43(1):16-9.
111. Aslan M, Kosecik M, Horoz M, Selek S, Celik H, Erel O. Assessment of paraoxonase and arylesterase activities in patients with iron deficiency anemia. *Atherosclerosis.* 2007 Apr;191(2):397-402.
112. Kurtoglu E, Ugur A, Baltaci AK, Undar L. Effect of iron supplementation on oxidative stress and antioxidant status in iron-deficiency anemia. *Biol Trace Elem Res.* 2003 Winter;96(1-3):117-23.
113. Demir H. Demir eksikliği anemisinde oral, intramusküler ve intravenöz demir tedavisinin total antioksidan kapasite üzerine etkisi [Uzmanlık Tezi]. Elazığ: Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi; 2006.
114. Yoo JH, Maeng HY, Sun YK, Kim YA, Park DW, Park TS, et al. Oxidative status in iron-deficiency anemia. *J Clin Lab Anal.* 2009;23(5):319-23.