

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**PROTEİN ENERJİ MALNÜTRİSYONLU ÇOCUKLARDA
DNA HASARI İLE TOTAL OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN
KAPASİTELERİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Maruf ÇELİK

DANIŞMAN

Doç. Dr. Kabil Shermatov

ŞANLIURFA
2011

T.C.
HARRAN ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI
ÇOCUK SAĞLIĞI VE HASTALIKLARI ANABİLİM DALI

**PROTEİN ENERJİ MALNÜTRİSYONLU ÇOCUKLARDA
DNA HASARI İLE TOTAL OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN
KAPASİTELERİN DEĞERLENDİRİLMESİ**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Maruf ÇELİK

DANIŞMAN

Doç. Dr. Kabil Shermatov

Bu tez, Harran Üniversitesi Araştırma Fonu Saymanlığı tarafından 1032 proje numarası ile desteklenmiştir.

ŞANLIURFA
2011

TEŞEKKÜR

Tez konusunun belirlenmesinde, çalışmaların planlanması ve yürütülmesi esnasında destek ve yardımlarını gördüğüm değerli tez hocam Doç. Dr. Kabil SHERMATOV 'a teşekkürlerimi sunarım.

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Kliniğindeki uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük emeği geçen, her konuda desteğini esirgemeyen, tecrübe ve deneyimlerinden çok şey kazandığım değerli hocalarım; Prof. Dr. A. Himmet KARAZEYBEK, Prof. Dr. Ahmet Koç, Prof. Dr. Akın İŞCAN, Prof. Dr. Murat SÖKER, Doç. Dr. Mustafa KÖSECİK, Doç. Dr. Dost ZEYREK, Doç. Dr. Alpaz ÇAKMAK, Doç. Dr. Ali AYÇİÇEK, Yrd. Doç. Dr. Ali Ataş, ve Yrd. Doç. Dr. Mustafa SORAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarımdaki yardım ve desteklerinden dolayı Biyokimya Anabilim Dalı'ndaki sevgili hocam Prof. Dr. Abdurrahim KOÇYİĞİT, Prof. Dr. Nurten AKSOY, Dr. Hasan BİNİCİ, Biyolog Abdullah TAŞKIN, Öğretim Görevlisi Hakim Çelik ve laboratuvar çalışmaları esnasında yardımlarından dolayı Biyokimya A.D. çalışanlarına gönülden teşekkür ederim.

Asistanlık eğitimim süresince klinikteki çalışmalarım ve tezimde yardımlarını esirgemeyen ve birlikte çalışmaktan mutluluk duyduğum, sıkıntılı ve güzel günleri paylaştığım değerli arkadaşlarım Çocuk Kliniği asistanlarına, hemşirelerine ve personeline ayrıca teşekkür ederim.

Eğitim süresince maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen sevgili aileme teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Maruf ÇELİK

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	I
İÇİNDEKİLER.....	II
TABLO LİSTESİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
KISALTMALAR.....	VIII
ÖZET.....	IX
SUMMARY.....	X
1. GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. PROTEİN ENERJİ MALNÜTRİSYONU.....	3
2.1.1. Protein Enerji Malnütrisyonlu Çocuğun Klinik Olarak Değerlendirilmesi.....	3
2.1.1.1. Medikal Öykü.....	3
2.1.1.2. Beslenme Öyküsü.....	3
2.1.1.3. Fizik Muayene ve Antropometrik Ölçümler.....	4
2.1.1.3.1. Ağırlık.....	4
2.1.1.3.2. Boy.....	5
2.1.1.3.3. Baş Çevresi.....	6
2.1.1.3.4. Kol Çevresi.....	6
2.1.1.3.5. Deri Kıvrım Kalınlığı.....	6
2.1.1.3.6. Beden Kitle İndeksi.....	6
2.1.2. Protein Enerji Malnütrisyonlu Çocuğun Laboratuvar Olarak Değerlendirilmesi.....	7
2.1.2.1. Albümin.....	7
2.1.2.2. Transferrin.....	7
2.1.2.3. Prealbümin.....	8
2.1.2.4. Retinol Bağlayıcı Protein.....	8
2.1.2.5. Nitrojen Dengesi.....	8

2.1.2.6. Kreatinin-Boy İndeksi.....	8
2.1.3. Protein-enerji malnütrisyonunda Patoloji.....	9
2.1.4. Protein-Enerji Malnütrisyonunda Tedavi ve Korunma.....	12
2.1.5. Protein Enerji Malnütrisyonunda Korunma.....	17
2.1.6. Malnütrisyon Riskini Arttıran Durumlar.....	17
2.1.7. Protein Enerji Malnütrisyonunun Türkiye'deki Durumu.....	18
2.1.8. Protein Enerji Malnütrisyonunda Tanı.....	19
2.1.9. Protein Enerji Malnütrisyonunda Prognoz ve Mortalite.....	20
2.1.10. Protein Enerji Malnütrisyonunda Vücut Direnci.....	21
2.2. Protein enerji malnütrisyonu ve DNA Hasarı.....	24
2.2.1. DNA'nın Yapısı ve Fonksiyonu.....	25
2.2.2. DNA Hasarı Oluşum Nedenleri.....	27
2.2.3. DNA Hasarı Tipleri.....	29
2.2.3.1. Deaminasyon.....	29
2.2.3.2. Depürinasyon.....	30
2.2.3.3. Alkilasyon.....	31
2.2.3.4. T-T ve T-C dimerleri oluşumu.....	31
2.2.3.5. Replikasyon Hataları.....	31
2.2.3.6. Çift İplik Kırıkları Oluşumu.....	32
2.2.3.7. Oksidatif Stresin Neden Olduğu DNA Hasarı.....	32
2.2.4. DNA Tamiri.....	33
2.3. Protein Enerji Malnütrisyonu ve Total Oksidan Seviye, Total Antioksidan Kapasite ve Oksidatif Stres İndeksi.....	35
2.3.1. Serbest Radikaller.....	36
2.3.1.1. Süperoksit Radikali (O_2^-).....	38
2.3.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2).....	38
2.3.1.3. Hidroksil Radikali (HO^\cdot).....	38
2.3.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri.....	39
2.3.2.1. Membran Lipidlerine Etkisi (Lipid Peroksidasyonu).....	39
2.3.2.2. Proteinlere Etkisi.....	40
2.3.2.3. Nükleik asitlere Etkileri.....	40

2.3.2.4. Karbonhidratlara Etkileri.....	41
2.3.3. Antioksidan Mekanizmalar.....	41
2.3.3.1. Enzim Olan Antioksidanlar.....	42
2.3.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD).....	42
2.3.3.1.2. Katalaz.....	42
2.3.3.1.3. Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px).....	43
2.3.3.1.4. Glutatyon-S-Transferaz (GST).....	43
2.3.3.1.5. Glutatyon Redüktaz (GR).....	44
2.3.3.1.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz.....	44
2.3.3.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar.....	44
2.3.3.2.1. Glutatyon (GSH).....	44
2.3.3.2.2. Vitamin C (Askorbik Asit).....	45
2.3.3.2.3. Vitamin E (Tokoferol).....	45
2.3.3.2.4. β Karoten	46
2.3.3.2.5. Seruloplazmin.....	46
2.3.4. Total Antioksidan Kapasite.....	46
2.3.5. Oksidatif Stres.....	46
3. MATERYAL VE METOD.....	47
3.1. Yöntem.....	48
3.1.1. Toplam Antioksidan Status Düzeyinin Ölçümü (TAS).....	48
3.1.2. Toplam Oksidan Status Düzeyinin Ölçümü (TOS).....	48
3.1.3. Oksidatif Stres İndeksi Ölçümü (OSİ).....	49
3.1.4. Mononükleer Lökositlerin Seperasyonu.....	49
3.1.5. Comet Assay Yöntemi ile DNA Hasar Tayini.....	49
3.1.5.1. Yöntemin Prensibi.....	49
3.1.5.2. Yönteminin Uygulanışı.....	50
3.1.5.2.1. Slaytların Hazırlanması.....	50
3.1.5.2.2. Lizis aşaması.....	50
3.1.5.2.3. Elektforez Tamponu.....	50
3.1.5.2.4. Elektforezde Yürütme.....	51
3.1.5.2.5. Nötralizasyon.....	51
3.1.5.2.6. Boyama.....	51

3.1.5.2.7. Analiz.....	51
3.2. Yapılan İstatistiksel Analizler.....	52
4. BULGULAR.....	53
5. TARTIŞMA.....	56
6. KAYNAKLAR.....	61

TABLO LİSTESİ

Tablo 1. Gomez sınıflaması.....	5
Tablo 2. Dünya Sağlık Örgütünün ağır malnütrisyonlu hastalar için önerdiği 10 basamaklı tedavi şeması.....	15
Tablo 3. Dünya Sağlık Örgütü tarafından önerilen “ReSoMal” solüsyonu.....	16
Tablo 4. Akut faz yanıtı proteinleri ve işlevleri.....	23
Tablo 5. Oksijen türevi bileşikler.....	37
Tablo 6. Hasta ve Kontrol grubuna ait demografik ve karakteristik bilgiler.....	53
Tablo 7. Hasta ve kontrol gruplarında DNA hasarı ve oksidan / antioksidan parametrelerin karşılaştırılması.....	54

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. DNA'nın çift sarmallı yapısı.....	25
Şekil 2. DNA'da replikasyon oluşumu.....	27
Şekil 3. Deaminasyon oluşumu	30
Şekil 4. Depürinasyon oluşumu.....	30
Şekil 5. Guanindeki kimyasal hasar bölgeleri (alkilasyon, oksidasyon, radyasyon)....	31
Şekil 6. Çift İplik Kırıkları	32
Şekil 7. 8-hidroksiguanin ve FapyGuo'nun oluşum mekanizmaları.....	34
Şekil 8. DNA Hasarı sonucu oluşan süreç.....	34
Şekil 9. Serbest radikallerin hasar oluşturma mekanizmaları.....	39
Şekil 10. DNA hasarları sonucu meydana gelen hasarların elektroforez migrasyonu sonrası DNA'ların flüoresan mikroskop altındaki görüntüleri.....	52
Şekil 11. PEM ve kontrol gruplarında DNA hasarı.....	55
Şekil 12. PEM ve kontrol gruplarında oksidatif stres indeksi.....	55

KISALTMALAR

A	Adenin
Ark.:	Arkadaşları
AU:	Arbitrary Unit
BER:	Baz Eksizyon Tamiri
BMI:	Vücut Kitle İndeksi
C:	Sitozin
DNA:	Deoksiribonükleik Asit
EDTA:	Etilen daimin tetra asetik asit
ETS:	Elektron transport sistemi
G:	Guanin
GR:	Glutatiyon Redüktaz
GSH:	Glutatiyon
GSH-Px:	Glutatiyon Peroksidaz
GST:	Glutatiyon S Transferaz
HO [·] :	Hidroksil
H ₂ O ₂ :	Hidrojen Peroksit
MDA:	Malondialdehid
mG:	Metilguanin
NER:	Nucleotide Excision Repair (Nükleotid Çıkarma Onarımı)
ng:	Nanogram
O ₂ ⁻ :	Süperoksit Radikali
OSİ:	Oksidatif Stres İndeksi
ORS:	Oral Rehidrasyon tuzları
NO:	Nitrik Oksit
NO ₂ :	Nitrik Dioksit
PEM:	Protein Enerji Malnütrisyonu
SOD:	Süperoksit Dismutaz
T:	Timin
TAS:	Total Antioksidan Seviye
TOS:	Total Oksidan Seviye
U:	Urasil
UV:	Ultraviyole

ÖZET

PROTEİN ENERJİ MALNÜTRİSYONLU ÇOCUKLARDA DNA HASARI İLE TOTAL OKSİDAN VE ANTİOKSİDAN KAPASİTELERİN DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr. Maruf ÇELİK

Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatri Anabilim Dalı

Amaç: Önceden yapılan araştırmalarda protein enerji malnütrisyonlu hastalarda oksidatif strese artış gösterilmiş, ama PEM’de bu artışın DNA hasarı ile bağlantısını araştıran klinik çalışmalar yapılmamıştır. Bazı deneysel çalışmalar gösteriyor ki mitokondriyal reaktif oksijen türlerinin oranının artışı ve mitokondriyal DNA (mtDNA) ile bağlantılı oksidatif stres ile DNA hasarı arasında sıkı bir bağlantı vardır. Diğer çalışmalarda deney hayvanlarının diyetinin kısıtlanması sonucunda oksijen tüketimi azaldığından serbest oksijen radikal üretiminin azaldığı ve bunların tetiklediği DNA hasarı oranında azalma tespit edilmiştir. Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda malnütrisyon dışında oksidatif stres artışına sebep olabilecek; sigara dumanına maruziyet, enfeksiyon ve ilaçlar gibi faktörler göz önünde tutulmamıştır.

Tüm bu bilgilerin ışığında planlanan bu araştırmanın amacı: klinik ve laboratuvar bulguları ile sekonder faktörlere maruz kalmayan saf malnütrisyonlu çocuklarda oksidatif stres durumunu ve DNA hasarı ile ilişkisini ortaya koymaktır.

Yöntem: Çalışmaya yaş ortalaması $15,4 \pm 5,1$ ay olan 28 saf PEM hastası ve yaş ortalaması $15,7 \pm 5,8$ olan 28 sağlıklı çocuk alındı. Çocuklara ve ailelerine sosyo - demografik özelliklerini inceleyen anket uygulandı. Kontrol grubu aynı yaştaki ve sosyo - demografik durumları hasta grubuyla uyumlu çocuklardan seçildi. DNA hasar tayini, Comet Assay (alkali mononükleer hücre elektroforezi) yöntemi ile taze heparinize kandan çalışıldı. Periferik venöz kandan TOS ve TAS Ö. Erel yöntemi ile çalışıldı ve OSI değerleri hesaplandı. İstatistiksel analizler SPSS 11,5 kullanılarak yapıldı. P değerinin $<0,05$ olması anlamlı olarak kabul edildi.

Bulgular: PEM grubunda TOS, TAS ve OSI seviyeleri kontrol grubundan anlamlı derecede düşük bulundu (sırasıyla; $p = 0,007$, $p < 0,001$, $p = 0,001$). DNA hasarı ise PEM grubunda $8,44 \pm 7,79$ iken, kontrol grubunda $9,43 \pm 8,70$ ($p = 0,664$). Saf PEM ile DNA hasarı arasında anlamlı istatistiksel bağlantı bulunmadı.

Sonuç: Malnütrisyon kliniği dışında ek patolojileri olmayan saf marasmik PEM’li çocuklarda kontrol grubuna göre oksidatif stresi ifade eden TOS, TAS ve OSI’de anlamlı derecede azalma oluğu gösterilmiştir. Saf marasmik PEM ile DNA hasarı arasında istatistiksel olarak anlamlılık tespit edilmedi.

Anahtar Kelimeler: Çocukta protein enerji malnütrisyonu, DNA hasarı, Oksidan - antioksidan sistem.

SUMMARY

ASSESSMENT OF TOTAL OXIDANT AND ANTIOXIDANT CAPACITY AND DNA DAMAGE IN CHILDREN WITH PROTEIN ENERGY MALNUTRITION

MARUF ÇELİK, MD

HARRAN UNIVERSITY FACULTY OF MEDICINE, DEPARTMENT OF
PEDIATRICS

Background: Research in protein energy malnutrition previously have shown to increase oxidative stress, though, clinical studies investigating the PEM has no connection with this increase in DNA damage. Experimental studies show that the rate of mitochondrial reactive oxygen species and mitochondrial DNA (mtDNA) associated with a tight connection exists between oxidative stress and DNA abnormalities. As a result of reduced oxygen consumption in experimental animals due to dietary restriction decreased production of free oxygen radicals and their reduction in the rate of induced DNA damage have been identified. Until now, the studies have no insight to such factors like cigarette smoke exposure, infection, drugs which could lead increased oxidative stress. The purpose of this study is planned in the light of all this information: clinical and laboratory findings in children with malnutrition and pure state of oxidative stress not exposed to a secondary factors and have been investigated to explore the relationship between DNA damage.

Methods : 28 patients with pure PEM with mean age of 15.4 ± 5.1 months and 28 healthy children with mean age of 15.7 ± 5.8 were included in this study. Questionnaire about socio - demographic characteristics was administered to children and their families. The control group of the same age and socio - demographic conditions compatible with the patient group was selected from children. Determination of DNA damage was studied in fresh heparinized blood by the Comet Assay (mononuclear cell alkaline electrophoresis) method. Peripheral venous blood TOS and TAS were measured by Ö Erel method and OSI values were calculated. Statistical analysis was performed using SPSS 11.5. A P value <0.05 was considered to be significant.

Results: In the PEM group, TOS, TAS and OSI levels were significantly lower than in the control group (respectively, $p = 0.007$, $p < 0.001$, $p = 0.001$). The rate of DNA damage in the control group, while the PEM group, 8.44 ± 7.79 was 9.43 ± 8.70 . ($P = 0.664$). Pure rate of DNA damage between the PEM and the relation was not statistically significant. This study has showed that TOS, TAS and OSI levels representing oxidative stress in children with pure protein energy malnutrition were significantly reduced than the control group and non-significant reduction in DNA damage between patient and control groups.

Key Words: Protein-energy malnutrition in a child, DNA damage, oxidant - antioxidant system.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Çocukların normal büyüme ve gelişmelerini sağlayabilmeleri açısından beslenme çok önemlidir. Çocuklara miktar ve nitelik açısından yeterli beslenme sağlanamazsa malnütrisyon gelişir. Malnütrisyon, protein ve enerji eksikliğine bağlı yaşa göre normal vücut ağırlığının, yaşa göre boy ve/veya boya göre vücut ağırlığının 2 SD'nın altında olması olarak tanımlanır (1, 2). Malnütrisyon, gelişmemiş ve gelişmekte olan ülkelerin en önemli sağlık sorunlarından biri olmaya devam etmektedir ve yılda yaklaşık 300 000 çocuğun ölüm nedeni olup, indirekt olarak da çocuk ölümlerinin yaklaşık yarısından sorumludur (1). Dünyada 5 yaş altında yaklaşık 149 milyon kronik malnütrisyonlu çocuk olduğu tahmin edilmektedir. Bugün, teknolojiye ulaşılan yüksek düzeye, bilimsel çalışmalara ve uluslararası kuruluşların gösterdiği büyük çabalara rağmen, dünyanın bazı bölgelerinde yetersiz ve dengesiz beslenme sorunu, halen büyük bir ağırlıkla kendini duyurmakta ve kamuoyunu sürekli meşgul etmektedir. Yetersiz ve dengesiz beslenmenin, toplum sağlığını olumsuz yönde etkileyeceği, sosyal ve ekonomik gelişmeyi yavaşlatacağı göz önüne alındığında malnütrisyon oldukça önemli bir sağlık sorunudur.

Protein ve enerji eksikliği genellikle birlikte olmaktadır, ancak bazen birinin eksikliği diğerine göre daha belirgin olmakta; protein eksikliği belirgin ise kwashiorkor, enerji eksikliği belirgin ise marasmus veya her ikisinin eksikliğinin eşit görüldüğü durum marasmik-kwashiorkor olarak nitelendirilir (1, 2).

Malnütrisyon, çocuklarda artmış morbidite ve mortalite ile ilişkilidir. Malnütrisyonlu bir çocuk diğer çocuklara göre, ishal, solunum yolu hastalıkları gibi enfeksiyon hastalıklarına immün sistemi zayıfladığı için daha kolay yenik düşer. Protein enerji malnütrisyonlu çocuklarda hastalığa yatkınlık, immünitede baskılanma, hem endojen kaynaklı hem de beslenme ile dışarıdan temin edilen antioksidant kapasitede azalma görülmektedir. Marasmik çocuklarda daha önce yapılan araştırmalarda antioksidan savunma sisteminin etkilendiği ve oksidatif strese artış olduğu gösterilmiştir (3, 4, 5).

Oksijen radikalleri, oksidatif yarılma ile DNA hasarına yol açabilmektedir. Özellikle pirimidinlerden olan timin en hassas yapıdır. DNA halatlarının kopması, DNA çift sarmalı ayrılması sonucu hücrede mutasyonlar ve ölüm gelişebilmektedir (6).

Protein enerji malnütrisyonu ile oksidatif stres arasında pozitif korelasyon kurulmuş olsa da, fakat PEM'de DNA hasarını araştıran klinik çalışmalara rastlamadık. Fakat deneysel çalışmalar gösteriyor ki mitokondriyal reaktif oksijen türlerinin oranı ve mitokondriyal DNA (mtDNA) ile bağlantılı oksidatif stres ile DNA bozuklukları arasında sıkı bir bağlantı var. Deneysel hayvanlarının diyetinin kısıtlanması sonucunda oksijen tüketimi azaldığından; serbest oksijen radikal üretiminin azaldığı ve bunların tetiklediği DNA hasarında azalma tespit edilmiştir (7).

Şimdiye kadar yapılan çalışmalarda malnütrisyon dışında oksidatif stres artışına ve dolayısıyla DNA hasarına sebep olabilecek diğer faktörler (sigara dumanına sekonder maruziyet, enfeksiyon, ilaçlar gibi...) göz önünde tutulmamıştır. Yapılan bir çalışmada enfeksiyonu olan marasmik çocuklarda oksidatif streste artış tespit edilmiş, fakat bu artış daha çok enfeksiyon ve enfeksiyon tedavisinde kullanılan antibiyotiklerle ilişkilendirilmiş ve malnütrisyon, oksidatif streste artışa neden olan bağımsız bir faktör olarak değil, diğer faktörler için zemin oluşturan bir faktör olarak nitelendirilmiştir (8).

Tüm bu bilgilerin ışığında planlanan bu araştırmanın amacı: klinik ve laboratuvar bulguları ile enfeksiyonu olmayan ve sigara dumanına maruz kalmayan marasmik malnütrisyonlu çocuklarda oksidatif stres durumunu ve DNA hasarı ile ilişkisini ortaya koymaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Protein Enerji Malnütrisyonu

2.1.1. Protein Enerji Malnütrisyonlu Çocuğun Klinik Olarak Değerlendirilmesi

Beslenme, çocukların büyüme ve gelişmelerini, hastalıklara verdikleri yanıtları etkileyen oldukça önemli bir konudur. Besin gereksinimi ile alımı arasındaki dengesizlik olarak tanımlanan malnütrisyon, dünyada özellikle de gelişmekte olan ülkelerde çocuk ölümlerinin önde gelen nedenlerinden biri olmaya devam etmektedir (9). Bu nedenle çocukların beslenme durumlarının doğru olarak değerlendirilmesi çocuk sağlığı açısından hayati önem taşımaktadır. Hangi nedenle olursa olsun, çocuklar hekim tarafından değerlendirildiklerinde mutlaka beslenme durumlarının değerlendirilmesi de yapılmalıdır. Beslenme durumu çocuğun tıbbi ve beslenme öyküsü, fizik muayenesi, antropometrik ölçümleri ve laboratuvar sonuçlarından elde edilen bilgiler ışığında değerlendirilir.

2.1.1.1. Medikal Öykü

Beslenme durumunun değerlendirilmesi özellikle de dış, oral motor fonksiyonlar ve gastrointestinal sistem üzerinde önemle durularak yapılan sistemlerin gözden geçirilmesi ile başlar (10). Çocuğun besinleri almasını veya alınan besinlerin emilmesini engelleyen disfaji, anoreksi, bulantı-kusma, kronik diyare, çiğneme bozuklukları olması veya kemoterapi ilaçları, antiasitler, antibiyotikler ve laksatifler gibi ilaçları kullanıyor olması beslenmeyi etkileyerek malnütrisyona zemin hazırlayabilir (11). Hastanın öyküsünde daha önce geçirdiği hastalıklar, daha önce beslenme bozukluğu geçirip geçirmediği, sosyal öyküsü ve nasıl bir psikososyal ortamda yaşadığı ayrıntılı olarak sorulmalıdır. Kronik karaciğer hastalığı, böbrek yetmezliği, ülseratif kolit, Crohn hastalığı ve tüberküloz gibi kronik enfeksiyonu olan hastaların malnütrisyon riski yüksektir (12). Çocuğun yaşadığı ortam da beslenme durumunu etkileyen önemli faktörlerden biridir. Ailenin yoksul, işsiz veya evsiz olması, ailede geçimsizlik olması veya anne ya da babanın madde bağımlısı olması gibi birçok faktör çocuğun beslenmesini olumsuz yönde etkileyebilir.

2.1.1.2. Beslenme Öyküsü

Tıbbi öykünün ardından beslenme durumunun değerlendirilmesi amacıyla ayrıntılı beslenme öyküsü alınmalıdır. Hastanın aldığı besinlerin hem miktar hem de nitelik olarak

yeterli olup olmadığı araştırılmalıdır. Bunun en iyi yolu hastanın aldığı besinlerin üç gün boyunca kayıt edilmesi ve diyetisyen tarafından içerdiği ortalama kalori, protein ve besin elementlerinin hesaplanarak yaşa göre alınması gereken ortalama standart değerlerle karşılaştırılmasıdır. Özellikle infantlarda emzirme tekniği, mama hazırlama şekli, beslenme sıklığı ve miktarı, kusma, beslenmeyle ortaya çıkan dispne, terleme veya huzursuzluk detaylı olarak sorgulanmalıdır. Bebeklerin yanlış hazırlanan; yetersiz kalori ve aşırı su içeren mama ile beslenmeleri malnütrisyonu neden olabilmektedir (13). Diğer yandan kültürel olarak bazı besinlerin kısıtlandığı veya özel beslenme şekilleri olan toplumlarda, beslenme durumu değerlendirilirken bu özellikler de göz önüne alınmalıdır.

2.1.1.3. Fizik Muayene ve Antropometrik Ölçümler

Fizik muayene ile beslenme durumu ileri derecede bozulmuş ağır malnütrisyonlu çocuklar kolaylıkla fark edilebilir. Malnütrisyonu düşündüren fizik muayene bulguları içinde en sık cilt altı yağ dokusunun kaybı, kasların zayıflamasına ait bulgular, asit ve ödem saptanır. Beslenme durumu değerlendirilirken kas kitlesine, cilt altı yağ dokusuna, cilt, saçlar, tırnaklar ve ağız boşluğuna daha fazla odaklanarak tam bir fizik muayene yapılmalıdır. Çünkü beslenme bozukluğunun nedeniyle yeterli miktarda alınamayan temel besin öğeleri ve vitaminler gibi mikrobese öğelerinin eksikliği sıklıkla bu organlarda bulgu vermektedir.

Antropometrik ölçümler ile beslenme durumunun değerlendirilmesi kısa ve uzun dönem beslenme durumunun değerlendirilmesinde kullanılan invaziv olmayan, kolay, ucuz ve hızlı bir yöntemlerdir (14). Ancak beslenme durumunun mükemmel olarak değerlendirilmesi için yeterli tek bir antropometrik ölçüm yoktur. Bu nedenle beslenme durumunun değerlendirilmesinde birçok antropometrik ölçüm bir arada kullanılır. En sık kullanılan antropometrik ölçümler; ağırlık, boy, baş çevresi, deri kıvrım kalınlığı ve kol çevresidir. Beslenme durumunun değerlendirilmesi için yapılan bütün antropometrik ölçümler yaşa ve cinsiyete göre persantil değerleri ile karşılaştırılmalıdır. Bu amaçla yapılan ölçümlerde elde edilen değerler büyüme grafikleri üstünde doğru şekilde kaydedilmelidir.

2.1.1.3.1. Ağırlık

Ağırlık antropometrik ölçümler içinde en kolay ve en sık kullanılanlardan biridir. Çocuk her muayeneye gelişinde mutlaka tartılmalıdır. Ölçüm sırasında çocuk kalın giysilerini çıkartmış, mümkünse çıplak olmalıdır. Çocuğun ağırlığı yaşına ve cinsiyetine göre persantil değerleri ile karşılaştırılabileceği gibi boya göre normal değerlerle de karşılaştırılabilir.

Malnütrisyonun derecesini saptamak için, hastanın ağırlığının, yaşına göre standart ağırlığın yüzde kaç olduğu hesaplanarak yapılan Gomez sınıflaması kullanılır (Tablo1) (15). Boya göre ağırlık çocuğun yakın zamandaki beslenme durumunun değerlendirilmesi açısından yaşa göre ağırlıktan daha anlamlıdır.

Tablo 1. Gomez sınıflaması

Malnütrisyon derecesi	Yaş için standart ağırlığa göre (%)
Normal	90-110
Hafif	75-89
Orta	60-74
Ağır	60

2.1.1.3.2. Boy

Boy beslenme durumunun değerlendirilmesi yanı sıra kısa ve uzun dönem beslenme bozukluklarının ayırt edilmesine yardımcı olmaktadır. İki yaşın altındaki çocukların boyu yatarak ölçülür. Ölçüm için baş-ayak tahtası kullanılır. Hastanın başı sabit olan baş tahtasına degecek şekilde yerleştirilir. Dizler ekstansiyonda ayak bileği 90 derece fleksiyonda olacak şekilde ayak tahtası ayak tabanına temas ettirilir ve ayak tahtasının hizasındaki uzunluk okunur. İki yaşın üstündeki çocuklarda ise boy ölçümü ayakta yapılır. Çocuğun boyu ölçülürken duvara monte edilmiş bir boyölçer ile çocuk ayakta dururken gluteus, topuk, sırt ve başı boyölçere degecek ve gözler horizontal ileri bakacak şekilde ölçüm yapılır.

Kas iskelet sistemi bozuklukları, kontraktürleri ve spinal eğrilikleri olan hastalara uygun pozisyon verilemediğinden ayakta veya yatarak boy ölçümleri yapılamamaktadır. Bu hastaların beslenme durumlarının değerlendirilmesi için üst kol ve alt bacak uzunlukları kullanılabilir. Üst kol omuz dirsek arasından, alt bacak ise diz topuk arasından ölçülür. Ölçümler hastalıktan daha az etkilenen taraftan yapılmalıdır. Her iki taraf da eşit etkilenmiş ise ölçüm sağdan yapılmalıdır ve ölçüm yapılan taraf mutlaka kayıt edilmelidir. Böylece daha sonraki ölçümler de aynı taraftan yapılarak doğru bir karşılaştırma yapılmış olacaktır.

2.1.1.3.3. Baş Çevresi

Üç yaşın altındaki çocukların beslenme durumlarının değerlendirilmesi için kullanılır. Ağır malnütrisyon durumlarında beyin gelişimi etkilenmesi baş çevresinin yeteri kadar artmamasına neden olmaktadır. Ancak makrosefali veya mikrosefaliye neden olan hastalıkların eşlik ettiği durumlarda beslenme durumunun baş çevresi ile değerlendirilmesi doğru sonuçlar vermeyecektir.

2.1.1.3.4. Kol Çevresi

Kol çevresi, hem vücut yağ depoları hem de kas kitlesinden etkilenen ve mevcut beslenme durumunu da yansıtan bir parametredir (16). Kol fleksiyonda iken akromiyon ve olekranon arasındaki mesafe ölçülüp orta noktası işaretlenir ve kol ekstansiyona getirilerek bu noktadan kol çevresi ölçümü yapılır. Ölçülen değer yaşa göre düzenlenmiş kol çevresi persantil tablolarından yararlanarak değerlendirilir.

2.1.1.3.5. Deri Kıvrım Kalınlığı

Deri kıvrım kalınlığı cilt ve cilt altı yağ dokusunu ölçer ve vücuttaki toplam yağ miktarının bir göstergesidir. Ölçüm triseps ve subskapular bölgelerden “skin fold caliper” adı verilen bir alet yardımı ile yapılır. Triseps kası üstünde kolun ortasında, kol çevresi ölçümü yapılan yer ile aynı noktadan deri kıvrım kalınlığı ölçülür. Benzer şekilde gövdesel yağ depolanmasını yansıtan subskapular bölgeden de deri kıvrım kalınlığı ölçümü yapılabilir. Bu bölgelerden yapılan ölçümler yakın dönemdeki beslenme durumundan daha ziyade uzun dönem beslenme durumunu yansıtmaktadır. Beslenme durumu bozulduğunda cilt altı yağ dokusu azalacağından deri kıvrım kalınlığı azalacaktır. Aşırı beslenme ve obesite hallerinde ise cilt altı yağ dokusu artacağından deri kıvrım kalınlığı artmaktadır. Deri kıvrım kalınlığı, yaşa ve cinsiyete göre standartları gösteren tablolardaki değerlerle karşılaştırılarak hastanın beslenme durumu değerlendirilir.

2.1.1.3.6. Beden Kitle İndeksi

Beden kitle indeksi daha çok erişkinlerde kullanılır. Ağırlığın (kg) boy (m) karesine bölünmesiyle hesaplanır. Sıklıkla obesitenin değerlendirilmesi için kullanılmaktadır. Genel olarak çocuklarda beden kitle indeksinin 25 kg/m^2 'nin üzerinde olması kilo fazlalığı,

30kg/m²'nin üzerinde olması ise obesite olarak değerlendirilmektedir (17). Ancak beden kitle indeksinin yaşa göre normallerini gösteren tablolar da kullanılabilir.

2.1.2. Protein Enerji Malnütrisyonlu Çocuğun Laboratuvar Olarak Değerlendirilmesi

Beslenme durumunun değerlendirilmesi için birçok biyokimyasal tetkik kullanılabilir. Ancak bu tetkiklerden hiçbiri tek başına beslenme durumunu değerlendirmek için yeterli değildir. Genelde bu tetkikler, beslenme durumunun değerlendirilmesinde öykü, fizik muayene ve antropometrik ölçümlere bir tamamlayıcı olarak kullanılır. Malnütrisyon tanısını desteklemek, subklinik besin eksikliklerini göstermek ve malnütrisyon tedavisine yanıtın monitörizasyonu için taban değerler elde etmek amacıyla laboratuvar incelemeleri yapılabilir. Bu amaçla en çok albümin, transferin, prealbümin ve retinol bağlayıcı protein gibi serum proteinleri kullanılır (18). Ancak beslenme durumu değerlendirilirken bu proteinlerin serum düzeylerinin sadece beslenme durumundan değil aynı zamanda karaciğer ve böbrek hastalıkları ve enfeksiyonlar gibi diğer faktörlerden de etkilenebileceği göz önünde tutulmalıdır.

2.1.2.1. Albümin

Beslenme durumunun belirlenmesi için serum proteinleri arasında en sık kullanılanlardan biri albümindir. Albümin düzeyinin düşük olması beslenme bozukluğuna bağlı protein eksikliğini işaret eder. Albümin düzeyinin 3.0 g/dL'den düşük olması beslenme bozukluğu ve buna bağlı tıbbi komplikasyonların artması ile ilişkilidir (14). Ancak albümin düzeyi beslenme durumu dışında böbrek ve karaciğer hastalıkları, dehidratasyon gibi birçok durumdan etkilenebilir. Diğer yandan yarılanma ömrü 18-20 gün olduğundan albümin, beslenme durumundaki akut değişikliklerin değerlendirilmesi için uygun bir araç değildir. Daha çok uzun dönem beslenme durumunun bir göstergesidir. Bu nedenle kısa dönem beslenme bozukluklarının değerlendirilmesinde yarılanma ömrü daha kısa olan prealbümin, transferin gibi proteinler tercih edilebilir.

2.1.2.2. Transferrin

Yarılanma ömrü albümine göre daha kısa olan (8-10 gün) transferrin beslenme durumundaki akut değişikliklerin değerlendirilmesinde albüminden daha yararlı olabilir. Ama

transferin de yakın dönemdeki beslenme durumunun değerlendirilmesi için ideal bir parametre değildir, çünkü transferrin düzeyindeki değişiklikler beslenme durumundaki akut değişikliklerden çok kronik değişiklikleri yansıtmaktadır (19). Transferrin düzeyinin 100 mg/dL'nin altında olması ağır malnütrisyonu, 100-170 mg/dl arasındaki değerler ise orta derecede malnütrisyonu göstermektedir (11, 20).

2.1.2.3. Prealbümin

Beslenme durumundaki akut değişikliklerin izlenmesinde prealbümin uygun bir yöntem olabilir. Çünkü ortalama yarılanma ömrü 24-48 saat olan prealbümin, beslenme durumundaki değişikliklere diğer proteinlerden daha çabuk yanıt verebilmektedir (11, 21). Ancak prealbümin düzeyinin sadece beslenme durumundan değil aynı zamanda karaciğer ve böbrek hastalıkları ile enfeksiyöz ve enflamatuar olaylardan da etkilenebileceği unutulmamalıdır.

2.1.2.4. Retinol Bağlayıcı Protein

Beslenmenin değerlendirilmesi için kullanılan serum proteinleri içinde yarılanma ömrü en kısa (12 saat) olan ve en yakın zamandaki beslenme durumunun ve protein metabolizmasının en iyi göstergelerinden biri retinol bağlayıcı proteindir. Ancak beslenme dışındaki faktörlerden çok fazla etkilendiğinden klinik kullanımı oldukça sınırlıdır.

2.1.2.5. Nitrojen Dengesi

Beslenme durumunun değerlendirilmesinde kullanılan laboratuvar yöntemlerinden biri de nitrojen dengesidir. Nitrojen, proteinlerin aminoasitlere katabolizması sırasında oluşur ve idrarla üre şeklinde atılır. Nitrojen dengesi 24 saat içinde besinlerle alınan nitrojen miktarının kaybedilen nitrojen miktarından çıkartılması ile hesaplanır. 24 saat idrar toplanarak atılan nitrojen miktarı ölçülür ve insensible nitrojen kayıpları eklenerek toplam nitrojen kaybı bulunur. Nitrojen dengesinin negatif olması beslenme bozukluğunu gösterir. Özellikle beslenme bozukluklarının tedavisi sırasında pozitif nitrojen dengesi sağlanmaya çalışılmaktadır (11).

2.1.2.6. Kreatinin - Boy İndeksi

Kreatinin, kaslarda kreatin metabolizmasının ürünüdür ve sabit bir oranda üretilip, böbreklerde geri emilimi yoktur. İdrardaki 24 saatlik kreatinin miktarı ölçülüp aynı boydaki

ve cinsiyetteki kişinin normalde beklenen kreatinin atılımı ile karşılaştırarak kreatinin / boy indeksi hesaplanır (22). Bu indeks vücut kas kitlesini ve protein depolarının bir göstergesidir. Kreatinin / boy indeksinin, standardın % 80- 100 arasında olması yeterli kas kitlesi bulunduğunu, % 60-80 arasında olması orta derecede kas kitlesi kaybı olduğunu, % 60'ın altında olması ise ağır kas kitlesi kaybı olduğunu göstermektedir (11).

Beslenme bozukluğuna eşlik eden kansızlığın, özellikle de demir eksikliği anemisinin tanısı için hemoglobin, hemotokrit, ortalama eritrosit hacmi ve ferritin ölçümleri yapılabilir. Demir eksikliği anemisi, kalori alımı yetersiz veya kırmızı et gibi demir içeren besinler içermeyen tek yönlü beslenen hastalarda görülebilir. Demir eksikliği dışında vitamin B₁₂ ve folik asit eksiklikleri de anemiye neden olabilir. Malnütrisyon sırasında T lenfosit sayısı azalacağından tam kan sayımında lenfopeni görülebilir. Beslenme bozukluğuna bağlı raşitizm düşünülen hastalarda vitamin D, kalsiyum, fosfor, alkalin fosfataz ve uzun kemiklerin direk grafileri laboratuvar tetkikleri içine dahil edilebilir. Endikasyonu olan durumlarda çinko, selenyum, bakır, vitamin C, D ve E düzeylerine bakılabilir (13).

2.1.3. Protein Enerji Malnütrisyonunda Patoloji

Malnütrisyonu olan çocuklarda eşlik eden immün yetmezlik nedeniyle enfeksiyonlar önemli bir morbitide ve mortalite nedenidir. Malnütrisyon yılda yaklaşık 300 000 çocuğun ölüm nedeni olup, indirekt olarak da ölümlerin yaklaşık yarısından sorumludur (1).

Malnütrisyon, protein ve enerji eksikliğine bağlı yaşa göre normal vücut ağırlığının ve/veya yaşa göre boy ve/veya boya göre vücut ağırlığının 2 SD'nın altında olması olarak tanımlanır. Protein ve enerji eksikliği (PEM) genellikle birlikte olmaktadır, ancak bazen birinin eksikliği diğerine göre daha belirgin olmakta, bu da klinikte değişik sendromlar şeklinde karşımıza çıkmaktadır. Protein eksikliği ön planda ise kwashiorkor, enerji eksikliği belirgin ise marasmus veya her ikisinin de eksikliğinin görüldüğü durumda marasmik-kwashiorkor olarak adlandırılan klinik sendromlar ortaya çıkmaktadır. Marasmus şiddetli kilo kaybıyla karakterize olup, kwashiorkor ödemle birlikte ağır malnütrisyon, marasmik kwashiorkor ise ağır kilo kaybıyla birlikte ödem olarak tanımlanır (1, 2).

Malnütrisyon genellikle yaşa göre vücut ağırlığı (Gomez), boya göre vücut ağırlığı (Waterlow) ve yaşa göre boy ölçülerek sınıflandırılır. Yapılan bu değerlendirmeler sonucunda malnütrisyon hafif, orta ve ağır olmak üzere derecelendirilir. Boya göre vücut ağırlığının düşük olması son dönemde ortaya çıkmış bir hastalığı; yaşa göre boyun düşük olması kronik

bir hastalığı düşündüren bir bulgudur. Gelişmekte olan ülkelerde 5 yaşın altında çocukların % 31'inin yaşa göre vücut ağırlığının düşük olduğu, % 38'inin yaşa göre boyunun kısa olduğu, % 9'unun da boya göre vücut ağırlığının düşük olduğu saptanmıştır (1, 23).

PEM genellikle 6 ay-2 yaş arasında sık görülmekte olup, temel nedeni yoksulluktur. Özellikle yoksulluk sonucu ek gıdalara erken veya geç başlanması, düşük protein içerikli besinlerin verilmesi ve sık enfeksiyon geçirme ortaya çıkan malnütrisyonun başlıca nedenlerdir. Ayrıca malnütrisyonun derecesini ve dağılımını sosyo-ekonomik yapı, eğitim durumu, mevsim ve iklim, besin ürünleri, kültür ve dinsel faktörler, anne sütü alışkanlığı, enfeksiyon sıklığı, beslenme programlarının iyi olup olmaması ve sağlık hizmetlerinin iyi olmaması gibi faktörler etkiler.

Yetersiz besin alınması, besinlerin bağırsaklardan yetersiz emilmesi, artan metabolik ihtiyaç ve besinlerin direkt olarak kaybedilmesine bağlı vücutta protein, karbonhidrat ve yağ eksikliğinin ortaya çıkması temel patofizyolojik mekanizmadır. Uzayan ishallerin görüldüğü ağır ve kronik enfeksiyonlar PEM'in oluşmasında ve kötüleşmesinde rol oynayan en önemli faktörlerden biridir (1, 24).

Malnütrisyonu olan bir çocuğun, sahip olduğu enerji kaynağını en uygun şekilde kullanabilmesi için her organ, sistem ve hücrelerinde, fizyolojik ve metabolik adaptasyon mekanizmaları gelişir (reductive adaptation). Kalp, böbrek, karaciğer ve bağırsaklar kapasitelerini en az kullanmaya başlamaktadır. Bu nedenle hastalara uygulanması düşünülen tedaviler çok iyi planlanmalıdır. Bu durum özellikle intravenöz yolla sıvı verilecek hastalarda daha da önemli olup, fazla sıvının hastanın ölümüne neden olabileceği unutulmamalıdır. Hastalara verilen fazla miktarda enerji ve protein, karaciğerin ve metabolik yolların yetersizliği nedeniyle, hastanın ölümüne neden olabilmektedir. Hastaya ödem nedeniyle uygulanan diüretikler de bir başka sorundur. Ödem ana nedeni protein eksikliği ve elektrolit imbalansı olup, diüretik verilmesi elektrolit imbalansında ve potasyum ekskresyonunda artışa neden olmaktadır. Tedaviye başlamadan önce ağır malnütrisyonlu ve ödemli bir çocuğun 100 kkal/kg/gün enerji, 1 g/kg protein ihtiyacı olduğu hatırlanmalıdır. Bu miktarlar katabolik süreci durdurmaya yetmektedir ve organ, sistemler ve hücreler üzerine stres oluşturmamaktadır (23). Hümorale ve hücresele immün yetersizlik ve TNF gibi immün mediyatörlerin olmaması PEM'deki patolojik değişikliklerdir. Karbonhidrat eksikliğine bağlı oluşan metabolik bozukluklar, hücre içinde yağların metabolizmasının bozulmasında önemli rol oynamaktadır. Tirozin ve koenzim gibi substratların eksiklikleri, saç ve ciltte pigment

sentezinin azalmasına neden olur. Bunun sonucunda saç ve cilt renginde değişiklikler ortaya çıkar (1, 25).

Kullanılabilir tüm enerji ve besinlerin endojen mobilizasyonu sonucu subkutan yağ ve kas dokusunda kayıp marasmus olarak tanımlanır. Üçgen yüz, primer ve sekonder amenore, kas hipotonisine bağlı batında distansiyon, perianal yağ dokusundaki azalmaya bağlı anal veya rektal prolapsus tipik klinik bulgulardandır (26). Ödem, cilt ve saç renginde değişiklik, anemi, hepatosplenomegali, letarji, ağır immün yetmezlik ve erken ölümler kwashiorkor'da gördüğümüz bulgulardır. Kan onkotik basıncındaki düşmeye bağlı ödem ve asit varlığı, yetersiz protein alımı ve aflatoksinin önemi vurgulanmakla birlikte, kwashiorkor'un patogenetik mekanizması tam olarak anlaşılamamıştır.

Marasmus ve kwashiorkor'da total plazma protein konsantrasyonunun anlamlı derecede farklı olmaması kafaları karıştıran bir bulgudur. Son zamanlarda serbest radikallerin etyolojide rol aldığını gösteren deneysel çalışmalar yapılmışsa da, bunların iyi planlanmamış deneysel çalışmalar olduğu düşünülmektedir (27, 28).

PEM'in temel yönlerinden birisi de karaciğer ve kalp gibi çeşitli organlarda yağ asidi metabolizma bozukluğunun ortaya çıkmasıdır. Bu bozulma yalnızca ağır malnütrisyondan bir bulgusu olmayıp, özellikle ödemin de eşlik etmesiyle birlikte, subklinik ya da belirgin kalp yetmezliğinin de bir nedenidir. Eğer miyokard yetmezliği düzeltilmezse iyatrojenik tuz ve su yüklenmesi hızlı bir şekilde hastayı kalp yetmezliğine sokmaktadır. Ayrıca, cilt altı yağ dokusunun azalmasına bağlı vücut sıcaklığı korunamaz ve su miktarını düzenleme kapasitesi de azalmaktadır. Bütün bunların bir sonucu olarak malnütrisyonlu bir çocukta kolay ve hızlı bir şekilde hipotermi, dehidratasyon ve hipoglisemi gelişmektedir.

Ayrıca, PEM'de intestinal mukozalarda gelişen atrofi sonucu sindirim ve emilim kapasitesinin azalmasına bağlı vücut için gerekli besinler yeterli miktarda sağlanamaz (29, 30).

Malnütre bir bebek kolaylıkla hipotermiye girmektedir. Yağ dokusundaki azalmaya bağlı cildin incilmesi ve kilogram başına düşen yüzeyin rölatif artışı sonucu artmış enerji kaybı; düşük metabolik hız sonucu enerji üretiminin azalması hipotermimin başlıca iki nedenidir. Hasta, glukoz üretimindeki azalma ve yetersiz glukoz depoları nedeniyle kolaylıkla hipoglisemiye girebilir ve bu durum ölümle sonuçlanabilir. Malnütrisyonlu bir bebek için hazırlanan özel diyet her 2-3 saatte verilerek hipoglisemi önlenmeye çalışılır.

Ağır malnütrisyonunda, kronik hipovolemiye bağlı sekonder hiperaldosteronizm gelişir ve sonuç olarak sıvı ve elektrolit dengesi daha da karışık hale gelir. Müsküler distrofi sonucu kana fazla miktarda geçen potasyum idrarla atılmakta ve hiperpotasemi bulgusu gözlenmektedir (31).

Malnütrisyonlu bir bebeğin kalbi küçülmüş, incelmiş ve kardiyak output azalmıştır. Böbrekler fazla miktarda sıvıyı ve sodyumu kompensatuar olarak idrarla atamaz. Hücre düzeyinde ise oksidatif strese bağlı membran geçirgenliği artmıştır. Enerji eksikliği nedeniyle Na-K pompası yetersiz çalışır, bunun sonucunda hücre içinde Na birikir ve K kolaylıkla hücre dışına çıkar ve sıvı-elektrolit dengesizliği oluşur. Fazla sıvı verilmesi gibi yanlış tedavi uygulamaları da kalp yetmezliğine neden olan diğer faktörlerden biridir.

Malnütrisyonlu bir bebeğin cildi ve ağız mukozası kurudur ve olduğundan daha fazla dehidrate görünmektedir. Bunun sonucunda genellikle hastaya gereğinden daha fazla sıvı verilmektedir. İkinci neden intravenöz verilen sıvıların kolaylıkla yüklenmeye neden olmasıdır. Ayrıca, verilen sıvının atılımı saatler sürmektedir ve bu da tehlikeyi daha fazla arttırmaktadır. Elektrolit imbalansı da kalp yetmezliğinin başka bir nedenidir. Hastaya düşük Na ile ek K ve Mg içeren diyet verilmelidir. Ödem nedeniyle diüretik kullanılmamalıdır. Kalp yetmezliği riskinin yüksek olması nedeniyle hasta iyi takip edilmelidir (1, 23).

İmmün yetmezlik sonucu bakteriler, virüsler ve mantarlara karşı kemotaksis, opsonizasyon ve fagositoz yapılamamasına bağlı, PEM'li çocuklarda ağır enfeksiyonların çoğu asemptomatik seyirlidir. İnflamasyon olsa da ateş yanıtı ortaya çıkmamaktadır. Bu hastalara erken demir başlanması sakıncalı olup, demir başlanması için birkaç gün beklenmelidir. Erken verilen demir, ferritin düzeyinin düşük olması nedeniyle, mikorganizmalar tarafından kullanılır ve büyümelerine katkıda bulunur. Aynı zamanda serbest demir oksidatif stresi arttırarak membran hasarını arttırır. Enfeksiyonlara yatkınlığı olan bu hastaların bakımı için hem hastane personeli hem de aile hijyen konusunda eğitilmelidir (23, 28).

2.1.4. Protein Enerji Malnütrisyonunda Tedavi ve Korunma

Dört yaş altındaki ocuk ölümlerinin % 50'sinden fazlası malnütrisyonla ilişkilidir. Dünya Sağlık rgt tarafından malnütrisyonun neden olduğu ölümlerin azaltılması için bir kılavuz yayınlanmıştır. Birçok tedavi yaklaşımının geliştirilmesine karşın, kwashiorkor ve marasmik kwashiorkorlu hastaların, marasmuslu hastalardan daha fazla oranda ölmeye devam

etmesi bize, uygun bir diyet yaklaşımıyla birlikte bu hastalara sistematik bir tedavi yaklaşımının gereksinim olduğunu göstermiştir. Mortalitenin azaltılmasında kompleks bir tedavi yaklaşımı temel noktayı oluşturmaktadır (32, 33, 34, 35).

PEM'de tedaviye başlamadan bazı komplikasyonların bulunup bulunmadığını araştırmak önemlidir ve önce komplikasyonların tedavisiyle başlanmalıdır. Malnütrisyonla bağlı ölümler genellikle hastanın başvurusundan sonraki ilk 24 saatte olur. Hastalığın ağırlık derecesi hemen belirlenir ve tedaviye derhal başlanırsa bu ölümler önlenmektedir. Bu nedenle hasta başvuru anında iyi bir şekilde değerlendirilerek acil tedavi gerekip gerekmediğinin belirlenmesi ve tedavinin planlanması önem taşır (34, 36, 37).

Tedavi iki grupta ele alınır;

- Ambulatuvar (ayaktan tedavi): Genellikle hafif vakalara uygulanır ve sıklıkla sadece diyet tedavisini içerir.
- Yatırılarak tedavi: Resüsitasyon ve komplikasyonların tedavisi amaçlıdır. Ağır seyredebileceği ve mortalitesi yüksek olabileceğinden ağır malnütrisyonla birlikte sistemik enfeksiyonu olan, ishalli ve dehidrate hastaların hastanede tedavisi gereklidir. Özellikle ödemi olan hastaların sistemik enfeksiyonları olabileceğinden ve ağır iştahsızlığı olan hastaların da alım sorunları bulunacağından hastanede tedavileri uygundur. Bununla birlikte hem maliyetin yüksek olması, hem nozokomiyal enfeksiyonların fazlalığı, hem de anne ile çocuğun birlikte alınması mümkün olmayan hastanelerde psikolojik olumsuzlukların olacağı düşünülürse ev tedavileri daha çok tercih nedenidir (34).

Hastaneye yatırılarak tedavi edilecek hasta seçimindeki kriterler;

- Belirgin ağırlık kaybıyla birlikte (boya göre ağırlığın standardın % 70'inden az veya yaşa göre ağırlığın standardın % 60'ından az olması) :
 - Ödem (marasmik-kvashiorkor)
 - Ağır dehidratasyon
 - Persistan ishal ve / veya kusma
 - Ağır solukluk, hipotermi, şok bulguları
 - Sistemik enfeksiyon veya solunum sistemi veya başka lokalize enfeksiyon bulgusu

- Ağır anemi (Hb < 5g/dl)
- Kalıcı iştah kaybı
- Bir yaşından küçük bebekler (34, 36).

Ağır PEM'de tedavi planı;

- Sıvı-elektrolit dengesinin sağlanması
- Sistemik ve lokal enfeksiyonların tedavisi
- Vücut kompozisyonundaki değişikliklerin düzeltilmesi
- Mikronutrientlerin sağlanması
- Eşlik eden sosyal ve davranışsal bozukluklarının düzeltilmesi

Ağır malnütrisyonun tedavisi üç basamaktan oluşmaktadır: Tedavinin ilk adımında temel olan yaklaşım 2-3 gün arasında süren hastanın stabilizasyonu olup, elektrolit bozuklukları ve sıvı kayıpları, enfeksiyon, hipotermi, hipoglisemi ve ağır anemi gibi hayatı tehdit eden durumlar düzeltilmelidir. Hastaya oral, enteral ve intravenöz yol ile sıvı verilirken, sıvı yüklenmesinden ve hastayı kalp yetmezliğine sokmaktan kaçınılmalıdır. İkinci basamak 2-3 hafta arasında süren nütrisyonel açığın kapatıldığı rehabilitasyon evresidir. Nütrisyonel açık yavaş yavaş yerine konmalı, metabolik dengesizliğe yol açılmamalıdır. Rehabilitasyon döneminin başında enerji miktarı 80 - 100 kkal/kg/gün, protein 1 g/kg/gün'den fazla verilmemelidir. Çünkü yüksek enerji ve protein içeren diyet verilmesi; hastaların enzim sistemleri yetersiz olduğundan, özellikle karaciğer fonksiyonları bozuk olan ve dehidratasyon nedeniyle idrar miktarı az olan hastalarda, metabolik kapasitenin aşılmasına ve amonyak yüklenmesine neden olmaktadır. Hastalar genellikle birinci haftanın sonunda yüksek enerji ve proteini tolere edecek duruma erişir. Hastanın oral alıp alamayacağı göz önünde tutularak oral yolla ya da nazogastrik tüp ile sıvı mamaların kullanılması başlangıçta iyi bir yoldur.

Genel durumu düzeltilmiş hastanın beslenmesi kademeli olarak arttırılarak, kalori 150 kkal/kg/gün, protein miktarı da 4 g/kg/gün'e kadar çıkılabilir. Hastanın ağırlık artışı takip edilerek, verilen miktarın ne kadar arttırılacağına karar vermek pratik iyi bir yoldur. Hastanın diyetine yeterli miktarda elektrolitler, mineraller ve vitaminler eklenmelidir.

Tedavinin son evresi de nütrisyonel rehabilitasyonun güven altına alınmasıdır. Hastanın oral yolla geleneksel besin öğeleri yeterli derecede verilerek, yeniden malnütrisyon girmesi önlenmelidir. Hasta bu dönemde aşılmalıdır (1, 24, 38).

Malnütrisyon ve ishal arasındaki ilişkinin bilinmesi, malnütrisyonun önlenmesinde ve tedavisinde önemlidir. Malnütrisyon olan çocuklarda ishal sıklığında artış olduğu gibi, her ishal atağı çocuğun malnütrisyon derecesinde artışa ve mikro besin öğelerinde de eksikliğe neden olmaktadır. Akut ishali olan bebeklerde erken oral beslenmenin başlanması malnütrisyonun önlenmesi için önemlidir. Ancak dışkı miktarının 30 g/kg/gün ve daha fazla olduğu zaman oral verilmesi hastaya yarar sağlamayabilir.

Dünya Sağlık Örgütü tarafından ağır malnütrisyonlu hastanın tedavisinde kullanılması için önerilen 10 basamaklı etkili bir tedavi şeması oluşturulmuştur (Tablo 2).

Tablo 2. Dünya Sağlık Örgütünün ağır malnütrisyonlu hastalar için önerdiği 10 basamaklı tedavi şeması

<i>Sorunlar</i>	<i>Öneriler</i>
Hipotermi	Vücudu sıcak tut ve vücut sıcaklığını yakın takip et.
Hipoglisemi	Glukoz takibi, Oral ve İV yolla glukoz sağlanması
Dehidratasyon	Düşük Na ve fazla K içeren solusyonlara dikkat et.
Mikrobesinler	Çinko, bakır, demir, folat ve multivitamin desteğini sağla.
İnfeksiyonlar	İnfeksiyon bulguları olmasa da antibiyotik tedavisini ver.
Elektrolitler	Yeterli Na, K ve Mg desteğinin sağlanması
Başlangıç besinler	Düşük protein ve enerji içermeli.
Yeni doku oluşumu	Yüksek kalorili-proteinli ve tüm besinleri içeren, yutulması ve sindirilmesi kolay besinlerin sağlanması
Stimulasyon	Açlığın kalıcı psikososyaletkilerinden korumak için psikomotor stimulasyon verilmesi
Relapsların önlenmesi	PEM'li her hasta için nedenin saptanması, aile ve topluma gerekli desteğin sağlanması

Ancak, ağır anemi ve kalp yetmezliği gelişen bazı hastaların tedavisinde halen güçlükler devam etmektedir. Anemi saptanmış bir hastada kalp yetmezliği riski varsa transfüzyon düşünülmelidir.

Oral rehidratasyon tuzları (ORS) içinde bulunan 90 mEq/L oranında Na miktarı malnütrisyonlu bir hasta için fazladır, bu nedenle 45 mEq/L Na içeren sıvılar üretilmiştir. (the rehydration solution for severely malnourished- ReSoMal) (Tablo 3)

ORS içindeki Na konsantrasyonu azaltmak için seyreltip, içerisine potasyum, çinko, magnezyum, bakır, selenyum eklenmesi yoluyla modifiye edilip kullanılması önerilmektedir (1, 39, 40).

Malnütrisyonu olan bir hastanın başlıca ölüm nedenleri hipoglisemi, hipotermi, kalp yetmezliği ve enfeksiyonlardır.

Tablo 3. Dünya Sağlık Örgütü tarafından önerilen “ReSoMal” solüsyonu.

<i>İçerik</i>	<i>Konsantrasyon (mmol/L)</i>
Glukoz	125.0
Sodyum	45.0
Potasyum	40.0
Klor	70.0
Sitrat	7.0
Magnezyum	3.0
Çinko	0.3
Bakır	0.045
Osmolarite	300.0

İnsanların diyet ile ilgili olarak eğitilmesi, annenin desteklenmesi, diyet desteği, immünizasyon ve enfeksiyonlarla mücadele malnütrisyonun korunmada ve tedavide önemli noktalarıdır. Ağır malnütrisyonu olan hastalarda, enfeksiyon bulguları olmasa da, geniş spektrumlu antibiyotikler başlanmalıdır. Az gelişmiş ülkelerde helmantik enfeksiyonların tedavisi çocukların büyüme ve gelişimine önemli katkılar sağlamaktadır (1).

Hipotermiden korumak için bebekler banyodan sonra hemen kurulanmalı ve ısıtılmalıdır. İnfeksiyonların düzeltilmesi ve hipogliseminin düzeltilmesi de hipotermimin önlenmesine katkıda bulunur (23).

Malnütrisyonlu metabolik kapasitesi yetersiz bir çocuğa, tedavinin başında yüksek enerji ve protein içeren besinler verilmesi, verilen besinlerin hızla miktarının artırılması sonucu kusma, ishal, dolaşım bozukluğu ve amonyak yüksekliği ile birlikte hipokalemi, hiperglisemi, hipofosfatemi, hipomagnezemi gibi metabolik değişiklikleri içeren “yeniden beslenme sendromu (refeeding syndrome)” ortaya çıkabilir. Doku yapımı için gerekli mineraller hücre içine girer ve serum düzeyleri hızla düşer, bunun sonucunda vücut bölümleri arasındaki denge bozularak çoklu organ yetmezliğine kadar giden bir tablo ortaya çıkabilir (13).

İshal ve malnütrisyon birbirini takip eden önemli bir döngüyü oluşturur, bu nedenle hastalarda ishalin önlenmesi önemlidir. Büyüme ve gelişme yakından takip edilmelidir. Yeterli sağlık hizmetinin verilmesi, anne sütünün kullanımının özendirilmesi, temiz su kaynaklarının sağlanması ve hijyen eğitiminin verilmesi, enfeksiyonların ve PEM’in önlenmesi açısından önemlidir (1,24).

2.1.5. Protein Enerji Malnütrisyonunda Korunma

Çocuğa uygun besin gereksinimlerini karşılayacak bir beslenmenin sağlanması, aşılama, enfeksiyonlardan ve özellikle ishalden koruma PEM'dan korunmada önemlidir. Besin üretiminin desteklenmesi, çevresel hijyen koşullarının iyileştirilmesi, toplumun sağlık bilgisinin artırılması, olumlu sağlık uygulamalarının ve koruyucu sağlık hizmetlerinin desteklenmesi, aile planlaması ve anne eğitimi PEM gelişiminden koruyacak faktörlerdir (34, 36, 37).

2.1.6. Malnütrisyon Riskini Arttıran Durumlar

Artmış gereksinim: Gereksinimin arttığı dönemlerde uygun besin öğeleri, vitamin ve mineral desteğinin verilmesi gereklidir. Preterm ve düşük doğum ağırlıklı bebeklerde miadında doğan bebeklere göre besin gereksinimi artmıştır.

Bazı yiyeceklerin kısıtlanması: Ağır zayıflama diyetleri veya vejeteryan beslenmede olduğu gibi bazı besinlerin aşırı kısıtlanması malnütrisyon riskini arttıran bir faktördür.

Uygun diyetin sağlanamaması: kıtlık, kuraklık veya sel gibi doğal afetlerde her türlü besin azlığı söz konusudur.

Gelir düzeyi: Yoksulluk sonucu dengeli besin alımı zorlaşabilir.

Yiyeceklerdeki diğer öğeler: bazı maddeler diyetteki diğer besin öğelerinin emilimini azaltabilmektedir.

Tıbbi sorunlar: Besin alımını veya emilimini ya da iştahı bozarak etki edebilir. (metabolizma bozukluğu hastalıkları, sepsis, malignite, sindirim sisteminin anatomik bozukluğu, ateş, dolaşım sistemi bozuklukları, bazı temel besinlere olan allerji, böbrek ve sinir sistemi bozuklukları gibi).

Psikolojik sorunlar: Gıda alımını bozabilir.

Sıra dışı beslenme alışkanlıkları: aşırı miktarlarda vitamin veya mineral alımı, ağır zayıflama diyetleri (37, 41).

2.1.7. Protein Enerji Malnütrisyonunun Türkiye'deki durumu

Protein enerji malnütrisyonu ülkemizin en önemli çocuk sağlığı sorunlarından biridir. Eğitim düzeyi düşük ve ekonomik şartları kötü olan bölgelerde PEM'in görülme sıklığı, morbidite ve mortalitesi daha yüksektir.

Baharlı'nın 1999 yılında Antalya'da 204 bebeği prospektif olarak bir yaşına kadar incelediği bir çalışmada malnütrisyon prevalansı %11.8 olarak bulunmuştur (34). Türkiye'nin farklı bölgelerinde yapılan çeşitli araştırmalarda ise bu oranın % 11 ile % 64 arasında değiştiği bildirilmiştir (14, 15, 16, 17). Prevalans oranındaki bu geniş yelpaze bölgelerin sağlık, eğitim ve sosyo - ekonomik altyapılarının farklılığından kaynaklanmaktadır (42, 43, 44, 45).

Türkiye Nüfus Etüdüleri'nin 1998 yılında yayınladığı verilere göre beş coğrafi bölgeden farklı yaş ve yörelerden gelen çocuklar üzerinde yapılan çalışma sonucunda bodurluk (stunted) % 16 oranında görülmekte olup en sık görülen malnütrisyon tipi olarak bulunmuştur. Çocuklarımızın % 8.3'ü zayıf iken %1.9 'u ise ağır doku erimesi olan malnütrisyonlu gruptadır. Bu oranlar özellikle kırsal kesimlerde ve doğu bölgelerimizde artmış olarak izlenmektedir.

Kırsal alanlarda bodurluk (% 22), kentsel alanlara göre (% 13) daha yaygındır. Bodurluğun en yüksek seviyede olduğu bölge Doğu Anadolu bölgesi (% 30) iken, Batı ve İç Anadolu bölgelerinde bu yüzde en düşüktür (% 10-12). Boya göre ağırlık ve yaşa göre ağırlık için de benzer bulgular gözlemlenmiştir. Türkiye Nüfus ve Sağlık araştırması 1998 raporundan çıkarılan antropometrik göstergeler, Türkiye'de yaşayan pek çok çocukta beslenme bozukluğunun doğumdan sonraki ilk altı ayda oluştuğunu göstermektedir. Bodurluk özellikle Doğu Anadolu bölgesinde ciddi bir sorun olarak görünmektedir. 1998 sonuçları ile 1993 sonuçları karşılaştırıldığında, araştırmalar arasındaki beş yılda Türkiye'de yaşayan çocukların beslenme durumlarında çok küçük değişiklikler olduğu saptanmıştır. 1998 yılında bodurların yüzdesi 1993 yılı için verilen seviyeden (% 18) çok az düşük bulunmuştur (37, 41).

Ülkemizdeki malnütrisyon nedenleri şöyle sıralanabilir:

- Ek gıdalara 4 aydan önce başlama
- Annenin eğitim durumu
- Annenin çalışma alanı
- Anne isteyken bebeğe bakan bakıcının eğitim düzeyi
- Çocuğun doğum sırası
- Doğum ağırlığı
- Ailedeki okul öncesi çocuk sayısı
- Ailenin büyüklüğü
- Ailenin refah ve temizlik durumu

Çocuklar özellikle kısa doğum aralıkları ve doğum sayısının fazlalığı gibi risk faktörlerinden uzak olduğu zaman beslenme durumlarında bir iyileşme olacaktır. Anneleri çok erken ek gıdaya başlamamaları konusunda uyarmak, uygun ek gıdaların uygun zamanda verilmesi için anneleri eğitmek, çiftlere sahip olacakları çocuk sayısını istedikleri sayıda tutabilmeleri için yardımcı olmak ve etkili aile planlaması yöntemleri ile en iyi şekilde doğum aralıklarını sağlamak için çok yönlü bir yaklaşıma ihtiyaç duyulmaktadır (37, 41, 46, 47).

2.1.8. Protein Enerji Malnütrisyonunda Tanı

Ağır PEM kolaylıkla tanınır. Orta ve ağır vakalarda malnütrisyonun derecesini ve tipini belirlemek, hafif vakalarda ise erken tanı koymak için antropometrik ve biyokimyasal testlere dayalı değerlendirme yöntemleri kullanılır. Tanıda iyi bir diyet öyküsü altın kriter

sayılmalıdır. Klinik bulguların yanı sıra eksiklik gösteren besin öğelerinin oluşturduğu komplikasyonlar da fark edilmelidir. Protein-enerji malnütrisyonunun değerlendirilmesinde iyi bir fizik muayene, antropometrik ölçümler, beslenme öyküsü yanında bazı laboratuvar incelemelerinin de yapılması gereklidir (36, 37, 41, 46).

Protein-enerji malnütrisyonunda yapılması gereken laboratuvar incelemeleri;

- Tam kan sayımı
- İdrar analizi
- Serum elektrolit konsantrasyonu
- Serum total protein ve albümin konsantrasyonları
- Kan şekeri tayini
- Bakteriyolojik incelemeler (gaita, idrar ve kan kültürleri)
- Gaitada parazit yumurta ve kistlerinin aranması
- Akciğer radyogramı
- Tüberkülin testi

Tüm laboratuvar incelemelerinin PEM'li hastalarda yapılması gerekmez. Genellikle anemi de bulunduğu için kan sayımı, ileride planlanan tedavinin başarısını etkileyebileceğinden idrar yolu enfeksiyonunun ekarte edilebilmesi için idrar analizi gibi bazılarının her PEM'li hastada yapılması gerekir (48, 49,50).

2.1.9. Protein Enerji Malnütrisyonunda Prognoz ve Mortalite

İyileşme iki evrede gerçekleşir. İlk 2-3 hafta içinde ödem ve diğer klinik belirtilerin çoğu kaybolur, majör biyokimyasal ve fizyolojik değişiklikler normale yakın değerlere döner. Bundan sonraki evrede çocuk giderek ağırlık kaybını telafi eder ve bütün diğer geri dönüşlü değişikliklerin tam düzelmesi gerçekleşir. Hastaneye girişten 2-3 ay sonra çocuk genellikle boyuna uyan kiloya erişmiştir ve klinik olarak iyileşmiş kabul edilebilir. En iyi koşullarda bile hastaneye kabul edilen ağır PEM'li vakalarda mortalite % 10-20 arasındadır. Ölüm tehlikesi genellikle ilk günlerde yüksektir. Galvan ve Calderon 2400 PEM'li hasta üzerinde yaptıkları araştırmalar sonucunda, en kötü prognostik faktörlerin, enfeksiyon ve sıvı-elektrolit bozukluğu olduğu sonucuna varmışlardır (51). Garrov ve Pike azalmış serum Na ve artmış bilirubin seviyelerinin kötü prognoz belirtileri olduğunu ileri sürmüşlerdir (52). Waterlow ve arkadaşları büyük hepatomegalisi olan çocuklarda mortalitenin yüksek olduğunu bulmuşlardır

(53). Kahne ve Falcke rektal ısının 35°C'nin altında olduğu hipotermi durumunun kötü prognoz işareti olduğunu ileri sürmüştür (53). Bu çalışmalarda da saptanmış olduğu gibi PEM'de prognozu etkileyen faktörler enfeksiyon, sıvı ve elektrolit dengesizliği, hipotermi, hipoglisemi, hepatomegali, ağır mental depresyon, peteşiler, ağır dehidratasyon, kalp yetersizliği, yükselmiş serum bilirubin ve karaciğer enzimleri seviyeleri olarak sayılabilir. En önemli ölüm nedenleri elektrolit dengesizliği ile birlikte ağır dehidratasyon, kalp yetersizliği ve enfeksiyonlar, özellikle bronkopnömoni ve Gram negatif mikroorganizmaların neden olduğu septisemidir. Bronkopnömoni ve diğer akut enfeksiyonlar yönünden ilk 8-10 gün içinde özel bir dikkat gösterilmelidir. Uygun tedavi edilen çocuklar bu ilk dönemden sonra nadiren ölürlere veya genellikle, ölüm gelişen bir komplikasyona bağlıdır (40, 41, 50).

Protein enerji malnütrisyonu genellikle vücutta geri dönüşlü değişikliklere yol açar ve iyileşme ile tüm fonksiyonlar normalleşir. Ancak yaşamın erken döneminde bazı organlarda hücre çoğalması süreci henüz devam etmektedir ve bu dönemde yetersiz beslenme, bazı doku ve organlarda geri dönüşsüz değişiklikler ile sonuçlanabilir. Fetal dönemde ve postnatal ilk aylarda yetersiz beslenmenin beyin büyümesini ve nöron gelişimini engelleyerek geri dönüşsüz beyin harabiyetine yol açabileceği ileri sürülmektedir. Protein enerji malnütrisyonunun merkezi sinir sistemindeki etkileri iştah ayarlanmasından psikososyal ve davranış adaptasyonuna kadar çeşitli alanlarda görülebilir (41).

2.1.10. Protein Enerji Malnütrisyonunda Vücut Direnci

Malnütrisyon ve enfeksiyon hastalıklarının karşılıklı olarak birbirinin etkilerini arttırdıkları iyi bilinir. Bu ilişkide hastanın o sıradaki beslenme durumu, enfeksiyonun seyri ve süresi, iyileşme dönemindeki beslenmenin yeterliliği gibi faktörler önemlidir. Hemen her ciddi besin ögesi eksikliğinde enfeksiyonlara eğilim artarken, enfeksiyon hastalıkları da malnütrisyon gelişimine neden olur.

Malnütrisyon ve enfeksiyonun birlikte biyolojik etkisi ikisinin etkilerinin toplamından daha fazladır. Enfeksiyonlar akut faz yanıtını tetikleyerek sitokin yollarını ve besin öğelerinin metabolizmasını etkiler. Besin öğeleri ise sitokin yanıtını değiştirerek enfeksiyonların seyrini etkiler.

Beslenmenin vücut direncine olan etkisine Hipokrat zamanında dikkat çekilmiştir. Malnütrisyon gibi obezitenin de immün yanıtı bozduğu, enfeksiyonlara yatkınlığı arttırdığı, yara iyileşmesini geciktirdiği saptanmıştır. 1959'da Scrimshaw ve ark. kronik malnütrisyonlu

hastaların enfeksiyon hastalıklarına yakalanmaları yönünden büyük risk altında olduklarını ve tekrarlayan enfeksiyonların beslenme durumunu daha da bozduğunu rapor etmiştir (54). Malnütrisyon ve immünite arasındaki temel ilişki ilk kez 1970'de Smythe ve ark. tarafından protein enerji malnütrisyonunda primer lenfoid organların yetersizliğinin gösterilmesi ile kanıtlanmıştır (55).

Scrimshaw enfeksiyonlar sırasında nitrojen metabolizmasını değerlendirmiş; suçüçeği, hatta daha hafif enfeksiyonlarda bile negatif nitrojen dengesinin oluştuğunu belirtmiştir. Daha sonraki yıllarda nitrojen kaybının kas proteinlerinden kaynaklandığı, bu proteinlerin yıkımından açığa çıkan aminoasitlerin hızla akut faz proteinlerinin (C-reaktif protein, mannoz bağlayan protein, ferritin v.b.) ve vücut savunması ve immün yanıtla ilgili proteinlerin (immünglobulinler, kompleman gibi) yapımına harcandığı saptandı (Tablo 4) (56, 57).

Enfeksiyonlar sırasında aminoasit metabolizması değişikliğe uğrayarak, aminoasitler enerji kaynağı olarak kullanılmaya başlar. Enfeksiyon ve malnütrisyon arasındaki kısır döngü kwashiorkor gelişimine neden olur. Genellikle hayvansal proteinler bitkisel proteinlere göre immün yanıt sağlamada ve büyümede daha etkindir. Negatif nitrojen dengesi, ateş düşüp enfeksiyon kontrol altına alındıktan sonra da (nekahat döneminde) bir süre devam eder. Bu dönemde yeterli ve kaliteli proteinin alınması önemlidir. Ancak gelişmekte olan ülkelerde nutrisyonel iyileşme sağlanamadan yeni kazanılan başka bir enfeksiyon çocuğun beslenme bozukluğunu pekiştirir.

Akut faz yanıtının bir diğer yüzü de enfeksiyonların başlangıcında demir, çinko, vitamin A düzeyinin düşmesidir. Bu maddelerin hücre içine taşınmasını sağlayan transport proteinlerinin sentezi artar. Bu maddelerin hücre içine girişinin konağın savunması üzerine doğrudan ve olumlu etkisi vardır. Demir ve çinko içeren metalloenzimler hücre çoğalması sırasında DNA sentezi için şarttır. Böylece immün sistemin hücreleri bölünüp çoğalabilir ve vücut savunmasını gerçekleştirir. Timusta yapılan çinko metalloproteinlerden timülin T - lenfositlerin olgunlaşmasından sorumludur. Enfeksiyonlar sırasında serum bakırının artması ise akut faz proteini olan seruloplazminin artması sonucu bakırın hücre içinden dışına ters hareketi nedeniyledir.

Tablo 4. Akut faz yanıtı proteinleri ve işlevleri

<i>Akut Faz Proteini</i>	<i>Vücut savunmasındaki rolü</i>
C reaktif proteini	Kompleman fiksasyonu ve opsonizasyonu
Mannoz bağlayan protein	Kompleman fiksasyonu ve opsonizasyonu
Alfa-1 asid glikoprotein	Transport proteini
Serum amiloid A	İmmüsupresif
Alfa-1 proteinaz inhibitörleri	Proteolitik hasarın azaltılması
C3, Faktör B	Kompleman aktivitesinin artırılması
Seruloplazmin	Oksidatif hasarın azaltılması
Fibrinojen	Koagulasyon
Fibronektin	Hücre aderansı, opsonizasyon

Genel olarak bütün enfeksiyonlar şiddetine bakılmaksızın besin alımını azaltır ve kayıpları artırır. İntestinal emilimin azalması, besin maddelerinin barsak lümenine sekresyon yolu ile kaybı, ateş yüksekliği nedeniyle bazal metabolizmanın artması, metabolik cevapların enfeksiyonu yenmek üzere ayarlanması nedeniyle enfeksiyonlarda beslenme yetersizliği ortaya çıkar.

Kişinin beslenme durumuyla mortalite arasındaki ilişkide başlıca faktör araya giren enfeksiyonlardır. Malnütrisyonlu kişide ishal ataklarının sıklığının % 40 oranında arttığı, atakların süresinin ise 2 kat uzadığı bildirilmiştir.

Bangaldeş kırsal kesiminde yaşayan çocukların 1 yıllık izleminde zayıf ve cilt testi anejik olanların sağlıklı çocuklara göre üst solunum yolu enfeksiyonlarına daha sık maruz kaldıkları görülmüştür (58). Kızamık, tübeküloz, pneumocystis carini enfeksiyonlarına malnütrisyonun zemin hazırladığı ve enfeksiyon gelişince de bu hastalarda prognozun kötü olduğu bilinir. Ancak ensefalit, polyomiyelit gibi bazı hastalıkların gelişiminde ve sürecinde malnütrisyonun etkisi gösterilememiştir. Proteinden fakir beslenme özellikle M. tuberculosis'a karşı gösterilen immün yanıtı bozar. % 2 protein içeren diyetle beslenen farelerin M tuberculosis ile karşılaştıklarında % 20 protein içeren diyetle beslenen farelere göre daha düşük interferon gama, tümör nekrosis faktör alfa yanıtı gösterdikleri, dokularındaki granümatöz inflamasyonun daha zayıf olduğu gösterilmiş ve bu fareler kısa

süre içinde kaybedilmiştir (59). Normal proteinli beslenmeye geçilince bu etkilerin geri dönüşümlü olduğu ve ölüm riskinin azaldığı gösterilmiştir.

Bu tür çalışmalar protein eksikliği ile birlikte diğer mikronütrient eksikliklerinin de immün fonksiyon bozukluğuna katkısı olduğunu düşündürmüştür. Yetersiz beslenme iştahsızlık ve malabsorpsiyona neden olduğu için, en uygun immün yanıtın gelişmesinde gerekli olan mikronütrientler de (çinko, selenyum, vitamin A, vitamin E, piridoksin) azalır. Virüslerin, enfekte ettikleri konağın nutrisyonel yetersizliğine bağlı olarak mutasyona uğrayıp virülanslarını değiştirebildiği rapor edilmiştir. Örneğin selenyum eksikliği Cocksackie virüslerin kalp hasarı yapma etkisini artırır.

2.2. Protein Enerji Malnütrisyonu Ve DNA Hasarı

Canlının bütün genetik bilgilerini deoksiribonükleik asit (DNA) molekülü ihtiva eder. DNA'da meydana gelen olumsuz değişiklikler kendisinden sonra gelen nesillere aktarılan genetik bilgiyi de değiştirebilir. İçinde bulunduğumuz ortamda meydana gelen olumsuzluklar, canlılara ait DNA moleküllerinde hasara, oluşan hasar tamir edilemediği takdirde kontrollü hücre ölümüne veya kansere kadar giden hastalıklara neden olabilmektedir. DNA hasarını oluşturan nedenlerin en başında, çevresel şartlar, sürekli artan sanayi ve teknolojik atıklar, eksoz dumanı, sigara gibi faktörler gelmektedir. Canlının her bir hücresinde günde onbinlerce DNA molekülü hasara uğramakla birlikte oluşan hasar, DNA tamir mekanizmaları ile tamir edilmektedir.

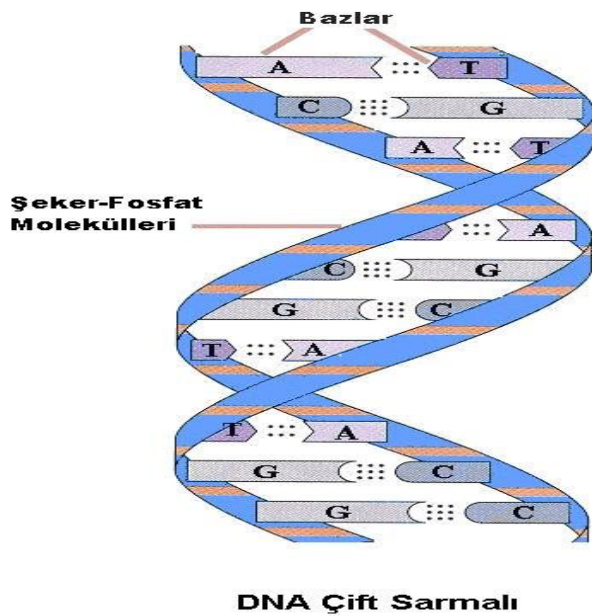
Normalde hasar ve tamir denge halindedir. Denge hasar lehine bozulduğunda tamir mekanizmaları yetersiz kalmakta, neticede hücre ölümü veya mutasyon, delesyon, insersiyon ve kanser oluşumu gibi DNA molekülünde kalıcı değişiklikler olabilmektedir. Oluşan DNA hasarı her ne kadar tamir mekanizmaları ile tamir edilmeye çalışılsa da, fazla hasar meydana geldiğinde tamir mekanizmaları yetersiz kalabilmektedir. DNA hasarını önlemenin yolu bir taraftan DNA molekülünü hasara uğratan etkenlerden uzak tutmak iken, diğer taraftan DNA hasar oluşumunu önleyici tedbirler almaktır.

Çevresel faktörlerle birlikte alınan diyetel faktörlerin de DNA hasarı oluşumunda önemli rollerinin olduğu bilinmektedir. Diyetle alınan bazı gıdalar DNA hasar oluşumunu artırırken, bazı gıdaların DNA hasar oluşumunu önlediği bilinmektedir.

2.2.1. DNA'nın Yapısı ve Fonksiyonu

İlk defa A.F.Miescwer adlı bir araştırmacı 19. yüzyılın sonlarında hücre çekirdeğini incelerken DNA molekülünü fark etmiştir. J Watson, Cambridge Üniversitesinden Francis Crick ile giriştiği çalışmalar sonuç vermiş ve 1953 yılında Nature dergisinde 900 kelimedenden oluşan makalelerinin yayınlanmasıyla bilim adına önemli bir karanlık bölüm aydınlanmıştır. Ancak bu keşif içinde İngiltere King's Kolejinde Kristalograf olarak çalışan Rosalinda Franklin'in de katkısı büyüktür. DNA'nın çift sarmal olduğunun bulunmasında Rosalinda Franklin'in X ışını resimleri kilit rol oynamıştır (60). James Watson 1956'da Harvard Üniversitesi'nde Moleküler Biyoloji ve Biyokimya Profesörlüğüne getirilmiş ve bugün halen hayattadır. 1962 yılında Dr.Crick'le DNA'nın 3 boyutlu yapısını keşfetmelerinden dolayı Nobel ödülüne layık bulunmuştur (61).

Kimyasal olarak DNA, nükleotit olarak adlandırılan basit birimlerden oluşan iki uzun polimerden oluşur (62, 63). Bu polimerlerin omurgaları, ester bağları ile birbirine bağlanmış şeker ve fosfat gruplarından oluşur Merdiven basamaklarının arasında gevşek hidrojen bağlarıyla birbirini çeken pürin ve pirimidin denilen azotlu bazlar bulunur. Bu basamaklar merdivenin kenarındaki şeker moleküllerine bağlıdır. Her bir şeker grubuna baz olarak adlandırılan dört tip molekülden biri bağlıdır (Şekil 1).



Şekil 1. DNA'nın çift sarmallı yapısı

Bu birimlere, timin(T), adenin(A), sitozin(C) ve guanin(G) denir. Bunlar *DNA* molekülünün bir iplikçliğini oluşturur. İki iplikçik, yani merdivene benzer yapının iki kolu, karşılıklı gelen baz çiftleriyle birbirine bağlanır. Bu iki iplikçik birbirlerine ters yönde giderler. Her baz çifti tek bir şekilde eşleşebilir: Her zaman T ile A ve G ile C birleşir. Sarmaşık dalına benzer her molekül, bir DNA "ipliği"dir. Bu iplikler birbirlerine kimyasal olarak bağlanmış nükleotidlerden oluşur. Nükleotidler ise bir şeker, bir fosfat ve bir de dört çeşit azotlu bazlardan birisinden oluşur. İşte bu nükleotidlerin DNA üzerinde sıralanışı, DNA dizilimini belirler. Genetik şifre de bu dizilimde yer alır.

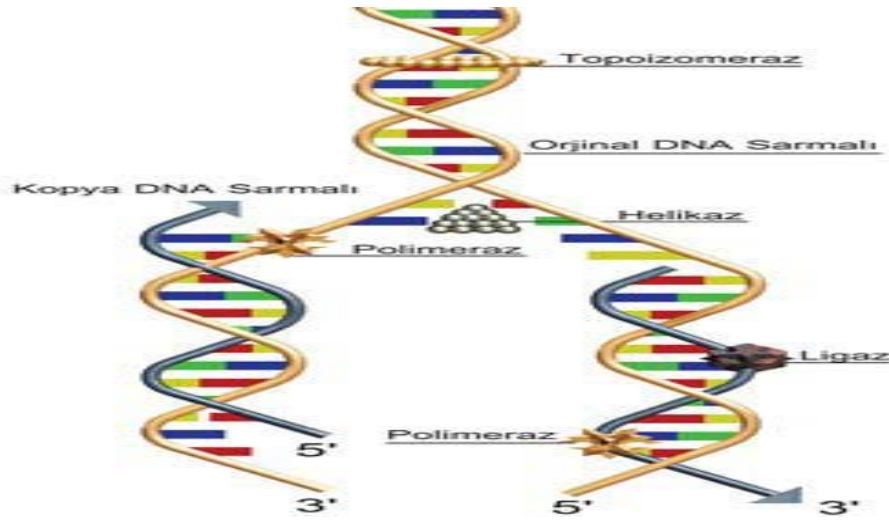
DNA, ökaryotlarda doğrusal kromozomlar, prokaryotlarda ise dairesel kromozomlar içinde bulunur. Kromozomlarda bulunan genler DNA yapısındadır. Her canlı bireyin ve soyunun hayat planı hücre hafızasını meydana getirir. DNA molekülleri şifrelerle kodlanmıştır. DNA'nın yapısına giren bazların (A,T,G,C) her biri şifre sembolü olarak kullanılır. Hayatın dili bu dört harfli alfabeyle DNA moleküllerinde yazılmaktadır. DNA'nın ipliklerinde ard arda gelen üç nükleotit bazı bir mana (şifre) ifade eder. Dört farklı nükleotide arka arkaya 64 şifre kodlanabilir (AAA, AAS, AAG, AGS, vb.). Şifrelerin DNA'daki sıralanışlarının değişmesiyle binlerce mana ifade edilebilir. DNA'nın omurgası boyunca bu bazların oluşturduğu dizi, genetik bilgiyi kodlar. Protein sentezi sırasında bu bilgi, genetik kod aracılığıyla okununca proteinlerin amino asit dizisini belirler. Bu süreç sırasında DNA'daki bilgi, DNA'ya benzer yapıya sahip başka bir nükleik asit olan RNA'ya kopyalanır. Bu işleme transkripsiyon denir.

Bir hücredeki kromozomlar kümesine onun genomu denir. İnsan genomu 46 kromozom içinde yer alan yaklaşık 3 milyar baz çiftinden oluşur (64).

Protein ve diğer işlevsel RNA molekülleri kodlayan bilgi, gen adı verilen DNA parçalarının dizisinde yer alır. Genlerdeki genetik bilginin aktarılması baz eşleşmesi ile gerçekleşir. Örneğin, transkripsiyon sırasında bir DNA dizisinin ona komplementer bir RNA dizisi olarak kopyalanması, DNA ile doğru RNA nükleotitler arasındaki çekim ile mümkün olur. Protein çevrimi (translasyon) denen süreç sırasında bu RNA dizisine karşılık gelen bir protein sentezlenirken, RNA nükleotitleri arasında gen ile baz eşleşmesi olur.

DNA hücre bölünmesinin hazırlıkları sırasında kendi kopyasını yapar. Kromozomların ikiye bölünmesi sırasında DNA molekülü kendisinin bir kopyasını yapar, buna replikasyon veya duplikasyon denir. Bu olay yavru kromozomda aynı kısımların bulunabilmesi için

gereklidir. DNA'nın kendini eşlemesi esnasında, iki sarmal ipliği bir arada tutan hidrojen bağları adeta bir fermuar gibi açılır (Şekil 2).



Şekil 2. DNA'da replikasyon oluşumu

Açıkta kalan pürin ve pirimidin nükleotitlerin uçları, hücrede önceden sentezlenmiş nükleotitlerle tamamlanır. Böylece birbirinin aynı olan iki DNA meydana gelmiş olur. Hücre bölünmesinde her biri bir hücreye gider. Hücre mekanizması DNA ikili sarmalını birbirinden ayırıp her iki DNA ipliğini de yeni birer ipliği sentezlemek için şablon olarak kullanma yeteneğine sahiptir. Yeni üretilen iplikler öncekilerle hemen hemen tamamen aynıdır, ancak mutasyon adı verilen hatalar oluşabilir. Hücrenin bu özelliğini laboratuvar ortamında taklit eden işleme de polimeraz zincirleme tepkimesi (PCR) adı verilir.

2.2.2. DNA Hasarı Oluşum Nedenleri

Genetik materyalin moleküler bütünlüğünde ekzojen veya endojen faktörlerin etkisiyle meydana gelen tüm değişiklikler "DNA hasarı" olarak adlandırılır. Genom, DNA hasarına neden olan sayısız farklı etkene maruz kalır. Ekzojen kaynaklar içerisinde, güneşten gelen ultraviyole radyasyon, radon bozunumundan kaynaklanan iyonize radyasyon, mantar kaynaklı aflatoksin, yanmış tütün ve birçok kemoterapötüğü sayabiliriz. Endojen kaynaklara örnek olarak, oksidatif metabolizma, DNA'nın spontan değişimleri, immünolojik çeşitliliği oluşturan V(D)J rekombinasyon mekanizmasını (antijen tanıma bölgelerini kodlayan ekson V,D ve J şeklinde üç segmentten oluşur ve bu segmentlerin birçoğu farklı kombinasyonlarla bir araya gelebilir) verebiliriz.

DNA Hasarına Neden Olan Etkenler;

1. Spontan veya kalıtsal oluşan gen mutasyonları

2. Çevresel faktörler

- Ultraviyole Işık
- İyonize radyasyon
- Elektromanyetik dalgalar
- Kimyasal ajanlar: Aflotoksin, benzopren, kemoterapi ilaçları, alkilleyici ajanlar, vinilklorid, v.b
- Sigara, alkol kullanımı
- Hava kirliliği
- Kötü beslenme alışkanlığı

3. Doğal hücrel metabolizmadan kaynaklanan faktörler

- Mitokondriden enerji üretim esnasında oluşan serbest radikaller
- Enflamasyon
- Detoksifikasyon işlemleri

Hücre tüm bu DNA hasarlarına farklı metabolik yollar ile cevap verir. Ağır DNA hasarları hücrenin apoptozis yolunu aktive ederek hücreyi ölüme götürür. Hücre, DNA hasarlarını "DNA tamir mekanizmaları" ile tamir edebilir. DNA hasarı ikileşme sırasında tamir edilemezse mutasyona ve sonuç olarak genomik kararsızlığa, kanser ve yaşlanmaya neden olur. DNA tamir sisteminde 100'den fazla gen rol oynar ve bu genlerin kodladığı proteinler tamir mekanizmalarında görev alırlar. Her bir insan hücresinin DNA'sında günde yaklaşık olarak 500.000 adet kodlanmayan veya yanlış kodlamaya neden olabilen hasar meydana gelmektedir.

DNA Hasarı sonunda DNA'nın yapısı ve dahası diğer nesillere aktarılan genetik bilgi değişir. Küçük hasarlar çoğunlukla DNA onarım sistemleri tarafından onarılabılırken, orta derecedeki hasarların birikimi ise mutasyon ve kanser ile sonuçlanabilir. Yüksek düzeydeki hasarlar ise apoptozisi uyararak "hücre ölümüne" yol açabilir ve böylelikle organizma kendini korumuş olur.

2.2.3. DNA Hasarı Tipleri

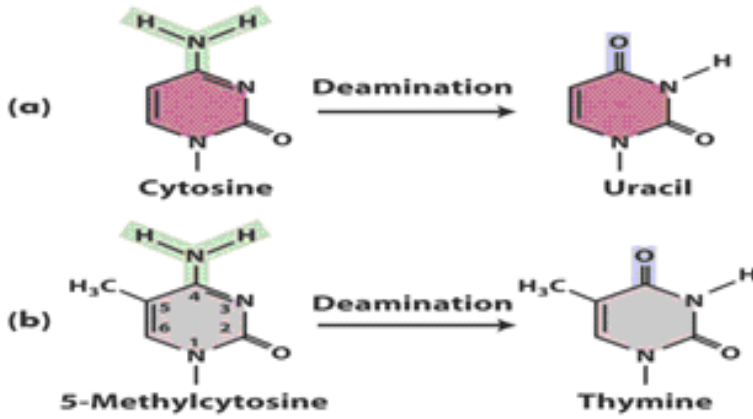
DNA çeşitli farklı mutagenler tarafından hasara uğrayabilir. Bunun sonucunda DNA dizisi değişebilir. Mutagenler arasında, yükseltgen (oksitleyici) etmenler, alkilleyici etmenler ve yüksek enerjili elektromanyetik ışınlar (morötesi ışık ve X ışınları gibi) sayılabilir. DNA'da meydana gelen hasarın tipi mutagenin tipine bağlıdır. Örneğin, mor ötesi ışık timin ikilileri (timin dimerleri) oluşturarak DNA'ya hasar verir (65). Buna karşın, serbest radikaller veya hidrojen peroksit gibi yükseltgen etmenler farklı türden hasar oluşturabilirler; baz değişimi (özellikle guanozin) ve iki iplikçikli kırılmalar gibi (66). Her bir insan hücresinde günde 500 baz yükseltgeyici zarar görür (67, 68). Bu yükseltgeyici hasarlardan en zararlısı çift zincirli kırılmalardır. Çünkü bunların onarımı zordur. Bunlar DNA dizilerinde noktasal mutasyonlara, insersiyonlara ve delesyonlara ayrıca kromozomal translokasyonlara yol açabilir (69).

Başlıca DNA hasar tipleri;

1. Deaminasyon
2. Depurinasyon
3. Alkilasyon
4. T-T and T-C dimerleri oluşumu
5. Replikasyon hataları
6. Çift iplik kırıkları (DSB)
7. Oksidatif hasardır.

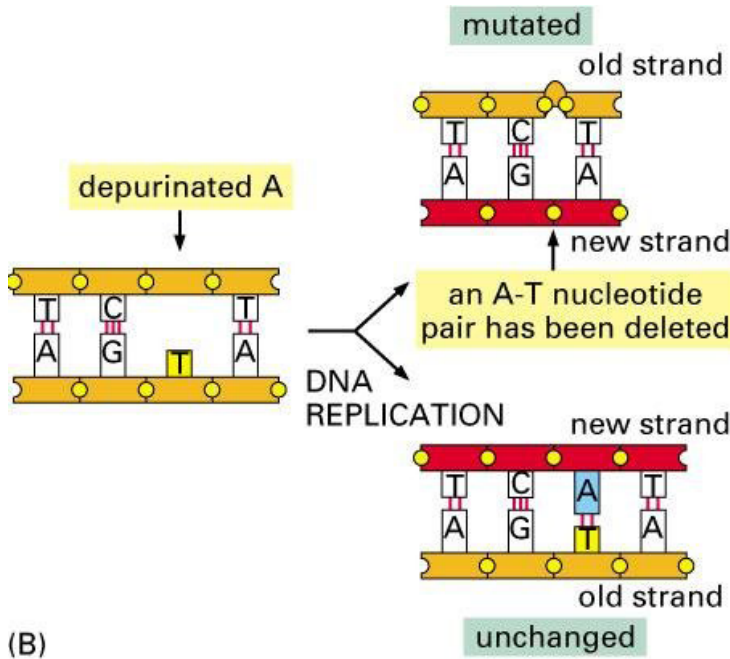
2.2.3.1. Deaminasyon

Deaminasyonda, Adenin (A) ve Sitozin (C)'deki bir amino grubu, keto grubuna dönüştürülmektedir. HNO_2 (nitroz asit) deaminasyon yoluyla Sitozin (C) => Urasil (U) ve Adenin (A) => hipoksantine dönüşmesine neden olur. Adenin deaminasyonu ile oluşan hipoksantin sitozinle yanlış eşleşir.



Şekil 3. Deaminasyon oluşumu

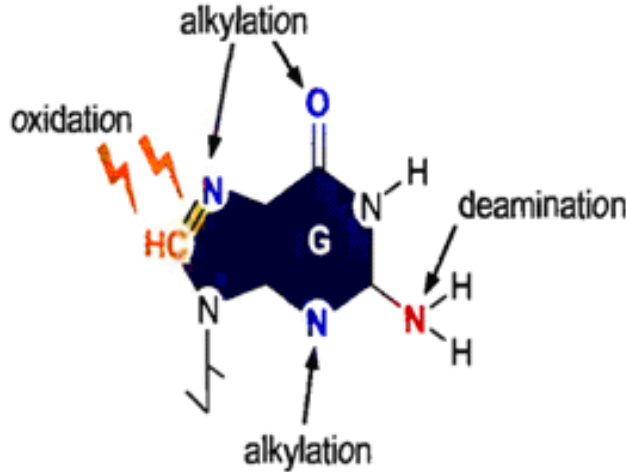
2.2.3.2. Depürinasyon; Memeli hücreleri spontan olarak 37 derecede 20 saatlik bir üreme periyodunda yaklaşık 10 000 purin'ini kaybeder. Aflatoksin depurinasyonu indükler (purin bazı kaybı) ancak depurinasyon spontan da olabilir. Depurine dizideki tamir eksikliği delesyonlara neden olabilir. Eğer bu mutasyonlar varsa replikasyon sırasında önemli DNA kayıplarına neden olur. Baz olmayan yerin karşısına baz eklenemez veya buraya bir baz eklenir fakat bu baz, mutant bir baz olur.



Şekil 4. Depürinasyon oluşumu

2.2.3.3. Alkilasyon

Alkilasyon, nükleotidlerdeki amino ve keto gruplarına metil (CH₃ –) ya da etil (CH₃ – CH₂) gibi bir alkil grubu eklenmesi işlemidir. Nitrozaminler, etilmetilsülfonat ve Nmetil-N1 –nitrosoguanidin en önemli alkilleyici ajanlardır. En önemli alkilasyon bölgesi, guaninin 6. karbon atomundaki oksijendir (37). Alkilasyon sonucunda oluşan O6 –etilguanin (ya da O6-metilguanin), adeninin baz analogu gibi davranarak timinle eşleşir. Bunun sonucunda hasarlı DNA replike olduğunda G:C baz çifti yerine A:T baz çifti geçer. Birçok kimyasal mutajen bazlarda modifikasyonlara neden olur. Bu ajanlar genellikle küçük alkilerdir (örneğin metil grupları). Aynı zamanda birçok mutajen polisiklik bileşenlerden oluşur.



Şekil 5. Guanindeki kimyasal hasar bölgeleri (alkilasyon, oksidasyon, radyasyon)

2.2.3.4. T-T ve T-C dimerleri oluşumu

Nükleik asit bazlarının UV ışığı absorblaması sonucu sıklıkla yakın pirimidin bazlarının birer zincirleri arasındaki bağ oluşumu sonucu dimerler oluşur (siklobütan pirimidin dimerleri). DNA hasarı güneş yanığına ve melanin üretiminin artmasına neden olur ve tüm melanomaların %8 inden de sorumludur.

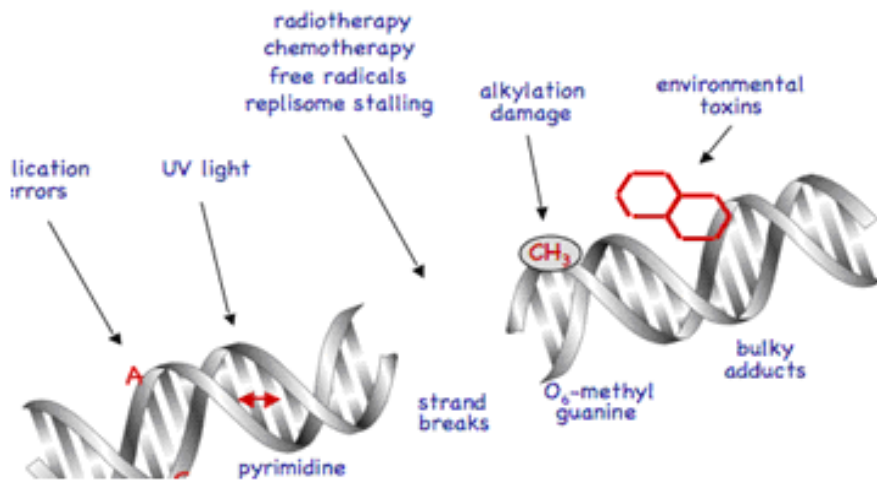
2.2.3.5. Replikasyon Hataları

DNA replikasyonu esnasında yanlış nükleotlerin eklenmesiyle oluşan hatalardır. DNA polimerazın hata yapma (yanlış bazı ekleme) sıklığı spontan mutasyon oluşumunu etkiler.

Polimerazın doğruluk oranını etkileyen en önemli faktör, hata okuma (proofreading) 3'-5' ekzonükleaz aktivitesidir. Bu aktivite, polimeraz tarafından yanlış eklenen bazların çıkarılmasına, böylece replikasyon esnasında mutasyon oluşumunu engellemeye yarar.

2.2.3.6. Çift İplik Kırıkları Oluşumu

İyonize radyasyon, transposonlar, topoisomerazlar, endonükleazlar, kromozomlar üzerindeki mekanik stres, tek iplikli bölgede tek iplik kesimi ile (örneğin replikasyon ve transkripsiyon sırasında) oluşurlar. DSB'ler bir hücrenin yaşamı boyunca sürekli olarak ortaya çıkan en tehlikeli DNA lezyonu türleridir. DSB'ler hem endojen hem de ekzojen unsurlardan kaynaklanabilir ve mutasyon oluşumuna, onkogenik dönüşüme ya da hücre ölümüne yol açabilecekleri için, genom için önemli bir tehlikedirler.



Şekil 6. Çift İplik Kırıkları

2.2.3.7. Oksidatif Stresin Neden Olduğu DNA Hasarı

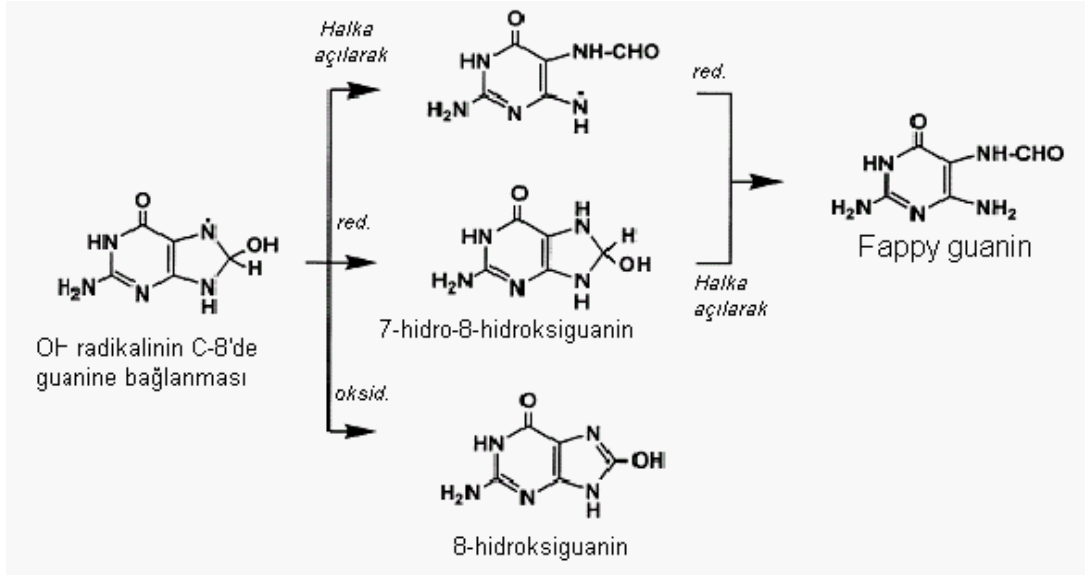
Endojen serbest radikallerin her bir hücrede, günde 200.000 kadar bazı hasara uğrattığı tahmin edilmektedir. Serbest radikaller, DNA kararsızlıklarına, mutasyonlara ve hücre ölümüne yol açmaktadır. Hidroksil radikali bazlarla ve deoksiribozlarla kolayca reaksiyona girer. Hidrojen peroksit ise membranlardan kolayca geçebileceğinden hücre çekirdeğindeki

DNA'ya ulaşır ve hücre disfonksiyonuna hatta ölümüne yol açar. Bu nedenle DNA kolay zarar görebilen bir moleküldür (70, 71).

ROS (Reaktif Oksijen Türleri) ve RNS (Reaktif Nitrojen Türleri) ile DNA hasarlarının çok az bir kısmı doğal olarak meydana gelmektedir (72). DNA hasarlarının oluşumunda yer alan endojen reaksiyonlar; Oksidasyon, metilasyon, depürinasyon ve deaminasyon reaksiyonlarıdır. Nitrik oksid veya nitrojen dioksit (NO_2), peroksinitrit (ONOO^-), dinitrojen trioksit (N_2O_3) ve nitrikasit (HNO_3) gibi reaktif ürünleri, nitrozasyon ve deaminasyon reaksiyonları ile mutajenik aktivite gösterirler. Farklı ROS türleri farklı yollardan DNA hasarlarına neden olurlar. Örneğin O_2 ve H_2O_2 hiçbir zaman bazlarla reaksiyona girmezken OH radikali DNA'daki dört bazdan herhangi birine bağlanarak farklı reaktif ürünlerin oluşmasına yol açmaktadır. Singlet oksijen ise guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur (70, 71).

Hidroksil radikali pürin bazları ile C4, C5 ve C8 pozisyonlarından reaksiyona girerek sırasıyla C4-OH-, C5-OH-, ve C8-OH- pürin radikallerini oluşturmaktadır (71). C4-OH- ve C5-OH-pürin radikalleri dehidrasyona uğrayarak okside pürin radikallerini oluştururlar. C8-OH-pürin radikallerinin bir elektronlarının oksidasyonu ve bir elektronlarının redüksiyonu ile sırasıyla 8-hidroksipürinler (7,8-dihidroksi-8-oxopürinler) ve formamidopirimidinler oluşur (71). Şekil 7'de 8-hidroksiguanin (7,8 - dihidroksi - 8 - oxoguanin: 8 - OH - Gua) ve 2,6 - diamino - 4 - hidroksi - 5 -formamidopirimidin (FapyGua) oluşum mekanizmaları görülmektedir. Her ikisi de hem oksijenli hem de oksijensiz ortamlarda meydana gelebilmektedir.

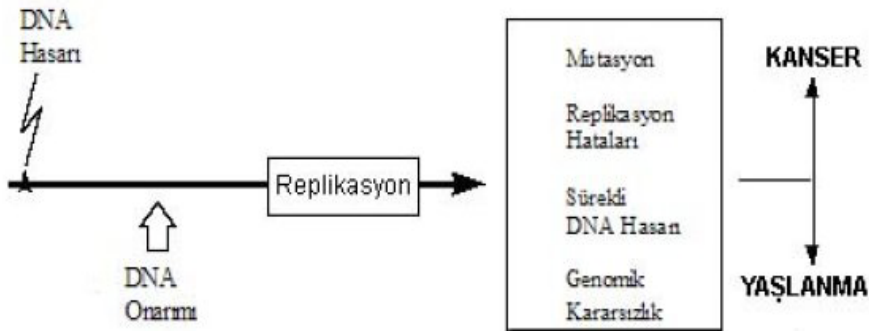
İndirgeyici ajanlar formamidopirimidinlerin oluşumunu arttırırken 8-OH-pirimidinlerin oluşması için oksijenli ortam uygun görülmektedir. 8-OH-guanin çok yaygın olarak meydana gelen bir baz hasar ürünü olduğundan oksidatif DNA hasarlarının ölçülmesinde hasar indeksi olarak kullanılmaktadır. Çoğu zaman 8 hidroksideoksiguanozin (8-OH-dGua) nükleoziti şeklinde ölçülmektedir.



Şekil 7. 8-hidroksiguanin ve FapyGuo'nun oluşum mekanizmaları

2.2.4. DNA Tamiri

DNA'da oluşan küçük hasarlar çoğu zaman DNA onarım sistemleri tarafından onarılır. Bu cevaplardan herhangi birinin işlev görmemesi, hücre düzeyinde genomik kararsızlıkla, organizma düzeyinde ise genetik hastalıklar, kanser veya yaşlanma ile sonuçlanır (73).



Şekil 8. DNA Hasarı sonucu oluşan süreç

DNA tamir sisteminde 100'den fazla gen rol oynar ve bu genlerin kodladığı proteinler tamir mekanizmalarında görev alırlar.

DNA Tamir Mekanizmaları;

1.Direkt Tamir ya da Hasarın Geri Döndürülmesi (Reversal of Damage)

A- Fotoreaktivasyon

B- O6-metilguanin tamiri

C- Basit tek zincir kırıklarının ligasyonu

2. Eksizyon (kesip-çıkarma) Tamiri

A-Baz eksizyon tamiri (BER) (base excision repair)

B- Nükleotid eksizyon tamiri (NER) (nucleotide excision repair)

C- Mismatch (yanlış eşleşme) eksizyon tamiri (MER)

3. Replikasyon sonrası (post-replikasyon) tamiri

4. SOS Tamiri

5. Çift Zincir Kırıklarının Tamiri

A- Serbest Uçların Non-homolog Bağlanması (NHEJ)

B- Homolog Rekombinasyon (HR)

2.3. Protein Enerji Malnütrisyonu ve Total Oksidan Seviye, Total Antioksidan Kapasite ve Oksidatif Stres İndeksi

Reaktif oksijen türleri, metabolik ve fizyolojik süreçlerde üretilir ve organizmada zararlı oksidatif reaksiyonlar meydana gelmesine sebep olurlar. Bunlar enzimatik ve nonenzimatik antioksidan mekanizmalarla uzaklaştırılır. Bazı durumlarda oksidanlardaki artış ve antioksidanlarda azalma önlenemez. Oksidan/antioksidan denge, oksidatif taraf lehine kayar. Sonuç olarak, 100'den fazla hastalığa neden olan oksidatif stres meydana gelir (74). Oksidatif stresin rol oynadığı düşünülen süreçler (75, 76, 77):

- Sigara içimiyle ilişkili hastalıklar

- Nörodejeneratif süreçler
- Sistemik amiloidoz
- Romatoid artrit
- Respiratuar distres sendromu
- Kardiyovasküler hastalıklar
- Obezite
- Ateroskleroz
- Diyabetes mellitüs
- Multipl skleroz
- Yaşlanma
- Gastrik ülser
- Katarakt

Aerob organizmalar hayatta kalabilmek için kendilerini oksijen toksisitesinden koruyan antioksidan savunma sistemlerine sahiptir. Bu organizmalar ayrıca oksijeni (O_2), enerji üretiminde (aerob hücreler için gerekli olan ATP'nin % 80'inin üretildiği mitokondrial elektron transport zincirinde; O_2 , son elektron alıcısıdır) ve metabolik transformasyonlarda (oksidaz, hidroksilaz enzimleri örnek; sitokrom p_{450}) kullanma yolları geliştirmiştir. Yani aeroblar, bir yandan kendilerini O_2 'nin zararlı etkilerinden korurken bir yandan da hayati fonksiyonlarında O_2 'den oldukça faydalanmaktadır. Ancak, aeroblar kendilerini sadece havadaki %21'lik O_2 'den koruyabilen antioksidan savunma mekanizmalarına sahip oldukları için, daha yüksek konsantrasyonlardaki O_2 organizmaya zarar vermektedir (78).

2.3.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, en dış yörüngelerinde bir ya da daha fazla çiftleşmemiş elektron içeren reaktif moleküllerdir. Oksijen türevi radikaller, biyolojik sistemin en iyi bilinen serbest radikalleridir ve canlı hücrelerde, normal süreçte fizyolojik miktarlarda üretilirler. Aşırı oluştuklarında hücre ve dokuların hasarına neden olurlar. Yapılarındaki ortaklanmamış elektrolitlerden dolayı oldukça reaktifirler ve tüm hücre bileşenleri ile kolayca etkileşebilme özelliği gösterirler (79,80).

Serbest radikaller üç yolla meydana gelirler:

1- Kovalent bağı radikal olmayan bir molekülün bağlarının koparılması ile iki ayrı radikal oluşumu ile,

2- Normal bir molekülden tek bir elektronun kaybı veya bir molekülün bölünmesi ile,

3- Normal bir moleküle tek bir elektronun eklenmesi ile.

Organik veya inorganik moleküller, elektriksel olarak pozitif yüklü, negatif yüklü, nötral şekilde olabilirler.

Oksijen atom numarası 8 olan, doğada dioksijen olarak bulunan kararsız bir elementtir. Bu kararsız konumu, enerji düzeylerinde bulunan elektronlarının yapısıyla ilişkilidir. Oksijen molekülündeki aynı yöne dönen iki elektrona sahip 2P son orbitali önemlidir. Bu orbitallerden herhangi birindeki elektron, bir orbitali bırakıp diğerine geçtiğinde veya farklı yönde döndüğünde “singlet oksijen” oluşur. Orbitallerden birine ters dönüşlü iki elektron veya ikisine ters dönüşlü iki elektron daha gelirse “oksijen radikali” elde edilir (79).

Oluşan radikal eşleşmemiş tek elektronu nedeniyle çok dengesizdir ve hızla ortamdaki kaybolur. Bu yüzden bu radikaller tek elektronlarını bir başka moleküle verebilir (redüksiyon) ya da bir başka molekülden elektron alarak elektron çifti oluşturabilirler (oksidasyon). Sonuçta non radikal yapıyı radikal bir şekle dönüştürebilirler.

Tablo 5’de radikal ve radikal olmayan oksijen türevi bileşikler verilmiştir.

Tablo 5. Oksijen türevi bileşikler

Radikaller	Radikal Olmayanlar
Hidroksil (HO^\cdot)	Hidrojen Peroksit (H_2O_2)
Alkoksil (RO^\cdot)	Singlet Oksijen ($\text{O}_2^{\uparrow\downarrow}$)
Peroksil (ROO^\cdot)	Ozon (O_3)
Süperoksit (O_2^\cdot)	Hipoklorid (HOCl)
Nitrik oksit (NO^\cdot)	Lipidhidroperoksit (LOOH)
Azot dioksit (NO_2^\cdot)	Peroksinitrit (ONOO^\cdot)

2.3.1.1. Süperoksit Radikali (O_2^-)

Canlılarda olduğu ilk gösterilen radikal olan süperoksit radikali hasarlandırıcı özelliği fazla olmayan bir serbest radikal türevi 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 (80,81). Daha sonra bu radikaller, Hidrojen Peroksit (H_2O_2) dönüşür. H_2O_2 'in kendisi serbest radikal olmasa da en reaktif serbest radikal türlerinden hidroksil radikaline (HO^-) otooksidasyon yolu ile dönüşebilir.

2.3.1.2. Hidrojen Peroksit (H_2O_2)

Hidrojen peroksit, oksijenin enzimatik olarak iki elektronla indirgenmesi ya da süperoksitlerin enzimatik ve enzimatik olmayan dismutasyon tepkimeleri sonucunda oluşmaktadır. Dismutasyon spontan olarak veya süperoksit dismutaz enzimi aracılığıyla olabilir. H_2O_2 membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik rollere sahip olabilir. H_2O_2 özellikle proteinlerdeki hem grubunda bulunan demir ile tepkimeye girerek, yüksek oksidasyon düzeyindeki reaktif demir formlarını oluşturabilmektedir. Bu formdaki demir çok güçlü oksitleyici özelliklere sahip olup, hücre zarlarında lipit peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilmektedir (80,82).

2.3.1.3. Hidroksil Radikali (HO^-)

Hidroksil radikali, biyolojik sistemlerde bulunan en güçlü serbest radikaldir. Dokular radyasyona maruz kaldıklarında, enerjinin çoğu hücre içindeki su tarafından emilir ve radyasyon oksijen ve hidrojen arasında kovalent bağa neden olur. Sonuçta iki radikal meydana gelir. Bu radikallerden biri hidrojen (H^-) ve diğeri ise hidroksil radikalidir (HO^-).



Yine OH^- leri aromatik halkaya katılma özelliği gösterdiklerinden DNA ve RNA'da bulunan pürin ve pirimidin bazlarına katılarak radikal oluşumuna neden olurlar. Bir dizi reaksiyona katılabilen OH^- radikalleri DNA'nın baz ve şekerlerinde ciddi hasarlar oluşturarak DNA iplik kırılmalarına neden olurlar. Hasar çok kapsamlı olursa hücre koruyucu sistemler

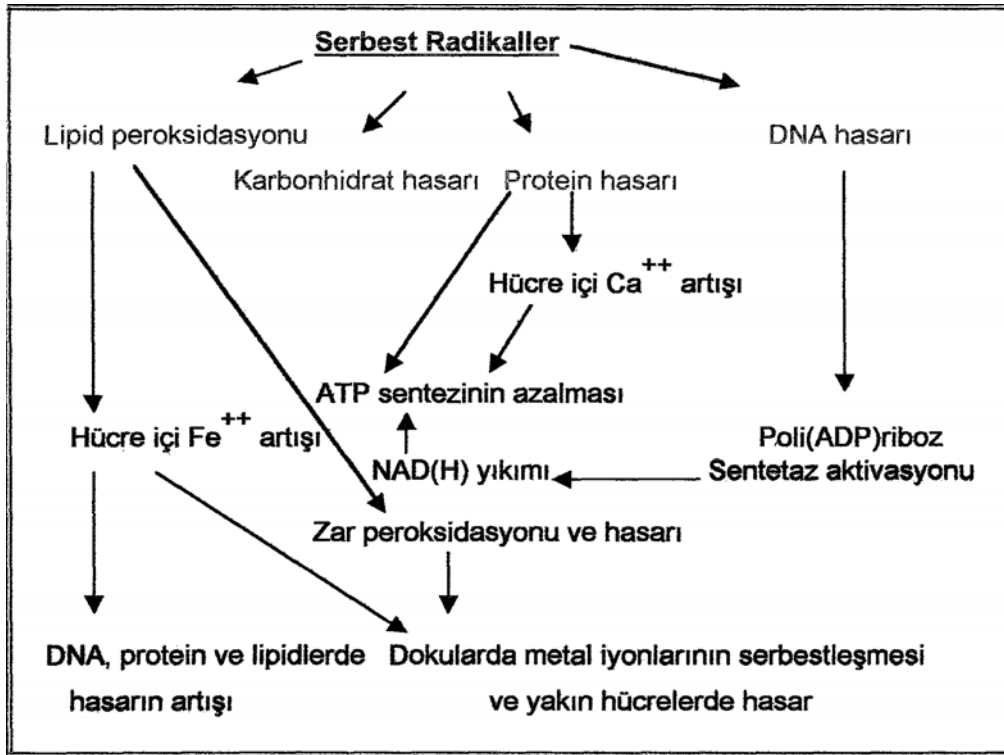
tarafından tamir edilemeyebilir ve bunun sonucunda çeşitli mutasyonlar ve hücre ölümleri meydana gelir (83).

2.3.2. Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri

Serbest radikaller hücrelerin lipid, protein, DNA, karbonhidrat ve enzim gibi tüm önemli bileşenlerine etki ederler. Mitokondrideki aerobik solunumu ve kapiller geçirgenliği bozarak, bir yandan hücrenin potasyum kaybına neden olurken öte yandan trombosit agregasyonunu arttırmırlar (şekil 9) (84).

2.3.2.1. Membran Lipidlerine Etkisi (Lipid Peroksidasyonu)

Lipidler, serbest oksijen radikallerine karşı en hassas olan vücut bileşenleridir. Membrandaki kolesterol ve doymamış yağ asitleri, serbest radikaller tarafından kolayca perokside edilirler ki bu hasar geri dönüşümsüzdür. Hasar ile membran geçirgenliğinin değişmesi, anormal kalsiyum iyonu girişine yol açarak hücrel fonksiyonların bozulmasına ve oksidasyon ile fosforilasyonun ayrılmasına neden olur. Ayrıca ortamdaki demir ve bakır gibi metal iyonları, lipid peroksitlerinin sitotoksik ürünlere dönüşümünü hızlandırır.



Şekil 9. Serbest radikallerin hasar oluşturma mekanizmaları

Lipid hiperoksidleri yıkımı ile biyolojik olarak aktif olan aldehitler oluşur ki bu maddeler, hücre içine yayılarak, hasarın hücrenin diğer bölümlerine de yansımaya neden olurlar. Lipid peroksidasyonun sonunda MDA oluşur. Oluşan MDA, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi membran özelliklerini değiştirerek mutajenik, genotoksik ve karsinojenik etkilere yol açabilir (85).

2.3.2.2. Proteinlere Etkisi

Serbest radikallerin proteinlere etkisi proteinlerin aminoasit içeriğine göre değişir. Protein molekülleri üzerindeki sülfhidril veya amino gruplarıyla serbest radikallerin etkileşmesi sonucu proteinlerde oluşan yapısal değişiklikler üçe ayrılır:

- 1- Aminoasitlerin modifikasyonu,
- 2- Proteinlerin fragmantasyonu,
- 3- Proteinlerin agregasyonu veya çapraz bağlanmalarıdır (86).

Proteinin temel yapısındaki değişme, antijenitesindeki değişmeye ve proteolize hassasiyete yol açabilir. Radikaller, membran proteinleri ile reaksiyona girebilirler ve enzim, nörotransmitter ve reseptör proteinlerinin fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilirler. Serbest radikallerin etkisiyle IgG ve albümin gibi fazla sayıda disülfid bağı bulunduran proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur. Böylece normal fonksiyonlarını yerine getiremezler. Hem proteinleri de serbest radikallerden önemli oranda zarar görürler. Özellikle okside olmuş hemoglobinin O_2 veya H_2O_2 ile reaksiyonu methemoglobin oluşumuna sebep olmaktadır (85).

2.3.2.3. Nükleik asitlere Etkileri

Nükleik asitler, serbest radikallere bağlı değişikliklere duyarlıdır. Hidroksil radikallerin DNA ile tepkimesi sonucunda baz modifikasyonları, baz delesyonları, zincir kırılmaları gerçekleşebilmektedir.

Oksijen radikalleri, oksidatif yarılma ile DNA hasarına yol açabilmektedir. Özellikle pirimidinlerden olan timin en hassas yapıdır. DNA hatatlarının kopması, DNA çift sarmalı ayrılması sonucu hücrede mutasyonlar ve ölüm gelişebilmektedir. 8-hydroxydeoxyguanosine (8-OhdG), oksidatif DNA hasarının bir göstergesidir. Yenidoğan ve hipokside kalan bebeklerde oranın yüksek olduğu bildirilmektedir (87).

2.3.2.4. Karbonhidratlara Etkileri

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelmektedir. Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu katarakt, diyabet ve sigara içimi ile ilişkili kronik hastalıkların, inflamatuvar eklem hastalıklarının oluşumuna katkıda bulunabilirler (71).

2.3.3. Antioksidan Mekanizmalar

Yükseltgenabilir bir substratla (protein, lipid, karbonhidrat ve nükleik asitler) karşılaştırıldığında daha düşük konsantrasyonlarda bulunduğu zaman o substratın oksidasyonunu belirgin biçimde geciktiren/önleyen maddeye antioksidan denir (88). İkinci bir tanıma göre diyetsel antioksidan normal fizyolojik fonksiyonların varlığında reaktif oksijen ve nitrojen türleri gibi reaktif türlerin yan etkilerini belirgin biçimde azaltan ve yiyeceklerde var olan maddeler olarak tanımlanır (89). Ancak bu tanım yeniden gözden geçirilmiş ve genişletilerek membran stabilitesini devam ettirme özelliğinin de antioksidanların fonksiyonlarından biri olduğu belirtilmiştir (90).

Antioksidan savunma mekanizmaları etkilerini aşağıdaki yollarla gösterebilirler:

- 1- Hasarlı hedef moleküllerin yerini alarak,
- 2- Reaktif oksijen türleri oluşumunu minimumda tutarak,
- 3- Hasarlı hedef molekülleri onararak,
- 4- Yüksek derecede reaktif türlerin oluşumunda görev alan metal iyonlarını bağlayarak,
- 5- Reaktif türleri enzim kullanarak yahut bizzat kendisinin yer aldığı reaksiyonlarla temizleyerek (91).

Aerobik hücrelerde pek çok antioksidan sistem bulunmaktadır. Bu antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır. Endojen antioksidanlar, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir. Enzim olan antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz, glutatyon-S- transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondrial oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise; bilirubin, albümin, ürik asit, α -tokoferol, askorbik asit, seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadırlar (92,93).

Eksojen antioksidan olarak da allopurinol, folik asit, C vitamini, E vitamini, asetilsistein, mannitol, adenozin, kalsiyum kanal blokerleri, non steroid antiinflamatuvar ilaçlar ve demir şelatörleri sayılabilir (94).

2.3.3.1. Enzim Olan Antioksidanlar

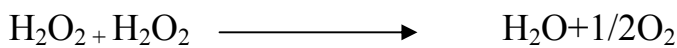
2.3.3.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD enziminin bakır-çinko, mangan ve demir içeren üç tip izoenzimi bulunur. Bakır ve çinko içeren Cu-Zn-SOD sitoplazmada, mangan içeren Mn-SOD mitokondride aktivite gösterir. Cu-Zn-SOD ve Mn-SOD aynı mekanizma üzerinden etki gösterirler ancak Mn-SOD pH 7'nin üzerinde aktivitesini kaybederken Cu-Zn-SOD'un aktivitesi pH 5.5-10 aralığında değişmez.

SOD, substrat olarak serbest oksijen radikallerini kullanan ve süperoksiti hidrojen peroksite 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, iskemik, hepatit, müküller distrofi, respiratuvar distres sendromu, böbrek yetmezliği, Fankoni anemisi, akciğer enfeksiyonları ve motor nöron hastalıkları gibi serbest radikal açığa çıkaran olaylarda ve hastalıklarda koruyucu rol oynadığı düşünülmektedir. Aynı zamanda SOD, lipid peroksidasyonunu da inhibe etmektedir. SOD aktivitesi yüksek oksijen kullanan dokularda fazladır. SOD'ın ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür (95).

2.3.3.1.2. Katalaz

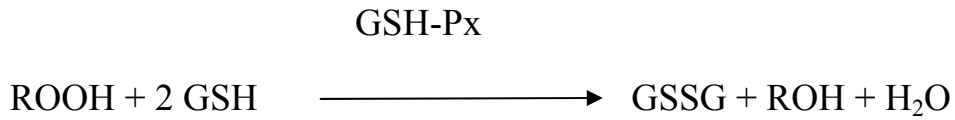
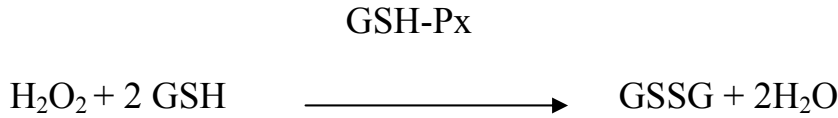
Katalaz enzimi hidrojen peroksinin su ve moleküler oksijene çevrildiği reaksiyonu katalizler. Enzim hücre içinde peroksidomlarda yerleşmiştir ve bir hemoproteindir. Dört tane hem grubu içerir. Katalaz'ın etkisi de SOD'a benzerdir.



Bu reaksiyon H_2O_2 konsantrasyonları yükseldiğinde önem kazanırken düşük H_2O_2 konsantrasyonlarında diğer peroksidazlar H_2O_2 'lerin daha az reaktif olan alkollere ve suya parçalanmasını katalizler. Kanda, böbrek ve karaciğerde ayrıca mukoz membranlarda bulunur. Granulomatoz hücreleri solunumsal patlamaya karşı korur (90).

2.3.3.1.3. Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px)

GSH-Px, pek çok hücrenin sitozollerinde bulunan bir enzimdir ve hidroperoksitlerin indirgenmesinden sorumludur. Sitozol ve mitokondrilerde SOD tarafından oluşturulan H₂O₂ ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Düşük H₂O₂ konsantrasyonunda çalışmaktadır. Kofaktör olarak selenyum elementinin kullanır.

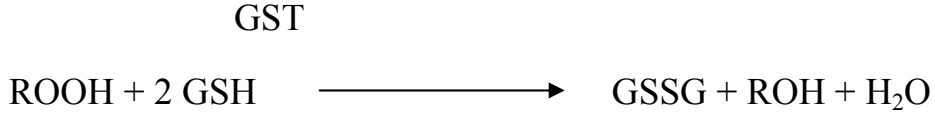


Hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenen glutasyon, glutasyon redüktaz enzimi ve başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan NADPH yardımıyla indirgenerek reaksiyonların devamını sağlar (95).

GSH-Px, fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GSH-Px, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GSH-Px oksidan strese karşı etkili antioksidandır. GSH-Px aktivitesindeki azalma, H₂O₂'in artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar. Yapılan çalışmalarda kord kanı GSH-Px ve total antioksidan düşüklüğü olan bebeklerde DNA hasarının yüksek olduğu gösterilmiş ve doğumda oksijen radikallerinin oluşumunun arttığı ifade edilmiştir (96).

2.3.3.1.4. Glutasyon-S-Transferaz (GST)

Lipid peroksitlerine karşı selenyumdan bağımsız glutasyon peroksidaz aktivitesi göstermektedir.



Antioksidan aktivitesine 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 almaktadır (95).

2.3.3.1.5. Glutasyon Redüktaz (GR)

H₂O₂ indirgenmesi esnasında GSH oksitlenir. Glutasyon peroksidazın fonksiyonunun devamlılığı için okside glutasyon tekrar indirgenmelidir. Reaksiyon GSH redüktaz tarafından katalizlenir. Enzim NADPH bağımlı bir flavoproteindir (95).



2.3.3.1.6. Mitokondrial Sitokrom Oksidaz

Süperoksit anyonunun suya dönüştüğü reaksiyonu katalizler. Bakır içerir. Mitokondrideki elektron taşıma zincirinin son basamağında yer alır.

2.3.3.2. Enzim Olmayan Antioksidanlar

2.3.3.2.1. Glutasyon (GSH)

Glutamat, sistein ve glisin aminoasitlerinden sentezlenen ve hücrede en fazla tiyol içeren bileşiktir. GSH sentezinde kullanılan sisteinin kaynağı N-asetilsisteindir. Glutaminin glutaminaz ile hidrolizi ve α -ketoglutarat ile dallı zincirli aminoasitlerin transaminasyonu GSH sentezinde kullanılan glutamatın temel kaynaklarıdır. GSH'dan kaynaklanan glutatyon radikali (GS[•]) bir prooksidandır. Ancak iki GS[•] birleşerek okside glutatyonu (GSSG) oluştururlar bu da GSH redüktaz tarafından GSH'ya indirgenir. Doğrudan veya dolaylı yollarla reaktif oksijen türlerini temizler. Hücrel oksidasyon-redüksiyon dengesinin düzenlenmesinde önemli rol oynayan tiyol proteinleriyle etkileşime girer (97).

2.3.3.2.2. Vitamin C (Askorbik Asit)

C Vitamini pek çok biyolojik fonksiyon için gerekli suda çözünebilir bir mikronutrienttir. Birçok enzimin kofaktörü olarak görev yapar. Bunlar; kollajenin post-translasyonel hidroksilasyonu, karnitin biyosentezi, dopaminin norepinefrine dönmesi, peptid amidasyonu ve tirozin metabolizmasında görev alan enzimlerdir.

Anti-skorbutik fonksiyonu yanında C vitamini potent bir indirgeyici ajan ve biyolojik sistemlerde serbest radikal toplayıcısıdır (98). Biyolojik sıvılarda en çok bulunan ve suda çözünen bir antioksidandır. Süperoksit, hidroperoksit radikalleri ve singlet oksijen ile peroksinitrit, nitrojen dioksit ve nitroksit radikallerini toplayabilme özelliğine sahiptir. Paradoksik olarak C vitamini in vitro koşullarda bir prooksidan gibi davranabilir. C vitamininin demir ve bakır ile birlikteliği lipidlerin, proteinlerin ve DNA'nın oksidatif modifikasyonunu indüklemek için kullanılmaktadır (88). C vitamini oksidatif strese ferrik demiri ferroz demire indirgeyerek ve sonrasında H_2O_2 'in hidroksil radikaline dönüşümünü sağlayarak neden olabilir. Ancak genel olarak bu C vitamini aracılı Fenton reaksiyonları insanda ferritin ve transferin gibi metal bağlayıcı proteinlerin etkin demir sekestrasyonu sayesinde kontrol edilir. Prooksidan etkinin in vivo koşullarda gerçekleşip gerçekleşmediği net değildir (88, 99). İnsan plazmasının in vitro inkübasyonu yöntemiyle yapılan çalışmalar C vitamininin aktive redoks geçiş metalleri ve H_2O_2 eklenmesi durumunda bile lipid peroksidasyonunu engellediğini göstermiştir (100).

Plazma askorbik asit havuzunda sigara kullanımıyla ilişkili düşüş ilk olarak 1930'larda tanımlanmıştır (101). Sonraki çalışmalarda da sigara içenlerde içmeyenlere göre plazma/serum/lökosit C vitamini konsantrasyonlarının yaklaşık olarak % 40 daha düşük olma eğiliminde olduğu gözlenmiştir. Son çalışmalarda sigara içen erkek ve kadınlarda plazma, lökositler ve idrarda gözlenen düşük askorbik asit konsantrasyonlarının nötrofillerin aktivite ve sayılarında artışla ilişkili olduğu bunun da C vitaminin artmış kullanımı, düşük alımı veya azalmış biyoyararlılığıyla açıklanabileceği söylenmiştir (102).

2.3.3.2.3. Vitamin E (Tokoferol)

Alfa tokoferol yağda çözünen lipit zincirini kıran bir antioksidandır. Mitokondri ve endoplazmik retikulum gibi membrandan zengin hücre kısımlarında vitamin E konsantrasyonu artmıştır. Çok güçlü bir antioksidan olan alfa tokoferol hücre membran

fosfolipitlerinde bulunan çoklu doymamış yağ asitlerini serbest radikal ataklarına karşı korur, oluşan radikalleri temizler, lipid peroksidasyonunu inhibe eder. Askorbik asit E vitaminin etkisini artırır. E vitamini ve GSH-Px serbest radikal etkisine karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. E vitamini, sentezlerini engeller iken GSH-Px, oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırır (103).

2.3.3.2.4. β Karoten

A vitaminin metabolik bir ön maddesi olan ve yağda çözünen bir antioksidan olan beta karoten son derece güçlü singlet oksijen temizleyicisidir. Serbest radikalleri direkt olarak yakalayabilir ve aynı zamanda zincir kıran bir antioksidan olarak etki ederek de peroksit radikalleri oluşumunu engeller (104).

2.3.3.2.5. Seruloplazmin

Plazma antioksidan aktivitesinin önemli bir kısmı, bakır içeren ve taşıyan akut faz proteini seruloplazminden kaynaklanır. Demir ve bakır bağımlı lipid peroksidasyonu inhibe eder. Daha az önemli olmakla birlikte süperoksit radikali ile reaksiyona da girer.

2.3.4. Total Antioksidan Kapasite

Antioksidan savunma sistemleri, özgül etkiler dışında bir ortak etkiler ve ilişkiler ağı oluşturur. Örneğin; vitamin C ve glutatyon, vitamin E'nin rejenerasyonunu sağlayarak; ürik asit, vitamin C'nin otooksidasyonunu engelleyerek sinerjistik etki gösterirler. Böylece antioksidan durumu göstermede tek tek antioksidan ölçümü yanında değişik antioksidanları ortak etkilerinin ölçümüne yani "total antioksidan kapasite"nin bilinmesine ihtiyaç doğar. Sonuçta plazmanın total antioksidan kapasitesinin her antioksidanın tek başına etkilerine ek olarak değişik antioksidanlar arasındaki ilişkilere bağlı olduğu söylenebilir (105).

2.3.5. Oksidatif Stres

Organizmada normal şartlarda da oluşan serbest radikal üretimi, değişik savunma mekanizmaları ile ortadan kaldırılır. Bu nedenle patolojik bir durum oluşmaz. Serbest radikal oluşum hızı ve serbest radikal miktarı savunma mekanizmalarının gücünü aştığı zaman oksidan stres ortaya çıkar. Sonuç olarak serbest radikallerinin hücre fonksiyonlarına net etkisi, radikal ürünleri ile koruyucu sistemler arasındaki dengeye bağlıdır (106).

3. MATERYAL VE METOD

Bu çalışmaya 01.06.2010 - 01.11.2010 tarihleri arasında Şanlıurfa ilindeki sağlık ocaklarına, Şanlıurfa Çocuk Hastanesine ve Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Polikliniğine muayene için getirilen ve protein enerji malnütrisyonu kliniği dışında ek bir patolojisi tespit edilmeyen 28 marasmik PEM hastası ve kontrol grubu olarak 28 sağlıklı çocuk alınmıştır.

Çalışma için Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik kurulunun onayı alındı. Araştırmaya katılmayı kabul eden ailelere çocukların ve ailenin bazı sosyodemografik özelliklerini inceleyen anket uygulandı. Ankette aynı zamanda, çocuğun özgeçmişi, soygeçmişi, beslenme öyküsü, detaylı fizik muayenesi, laboratuvar ve diğer inceleme yöntemlerinin sonuçları da yer aldı.

Kontrol grubu, rutin aşı uygulaması veya gelişim takibi için sağlık merkezlerine getirilen, öykü ve fizik muayene ile şikayet ve hastalık durumları bulunmayan aynı yaştaki ve sosyokültürel durumları hasta grubuyla uyumlu çocuklardan seçildi.

Fizik muayene ve laboratuvar incelemeleri neticesinde malnütrisyon kliniği dışında ek patolojileri bulunan hastalar ve yaşanan ortamda sigaraya maruz kalma riski olanlar çalışma dışı bırakıldı. Ödem, asit, cilt ve saç renginde değişiklik, anemi, hepatosplenomegali, letarji, ağır immün yetmezlik ve enfeksiyonlar ile seyreden kwashiorkor'da PEM dışında DNA hasarına sebep olabilecek bir çok faktör mevcuttur. Bu nedenle kwashiorkor kliniğine sahip PEM'li hastalar çalışma dışı tutuldu.

Çocukların gelişme düzeyleri Olcay Neyzi ve arkadaşlarının Türkiye için geliştirdikleri ağırlık ve boy persantil çizelgeleri kullanılarak değerlendirildi (107, 108).

Çalışma grubuna alınan hastalarda malnütrisyonun derecesini saptamak için, hastanın ağırlığının, yaşına göre standart ağırlığın yüzde kaçı olduğu hesaplanarak yapılan Gomez sınıflaması kullanıldı.

Gomez sınıflamasına göre çocuğun ağırlığı;

- yaştlarının 50. Persantil ağırlığının % 60'ından az olanlar ağır PEM
- yaştlarının 50. Persantil ağırlığının % 60-74'una tekabul edenler orta PEM
- yaştlarının 50. Persantil ağırlığının % 75-89 'una tekabul edenler hafif PEM olarak sınıflandırılır.

Çalışma grubuna alınanların hepsinden yaşı (yıl, ay ve gün olarak), cinsiyeti, prenatal - natal ve postnatal özgeçmişi, soygeçmişi, aşılama durumu, beslenme öyküsü, şikâyetlerinin başlama zamanı, çevresiyle ilgisi, ebeveynlerin kötü alışkanlıkları ve ailenin sosyoekonomik durumu hakkında ayrıntılı anamnez alındı.

Araştırma için seçilen çocuklardan DNA hasarı, oksidan ve total antioksidan kapasite incelemesi için venöz kan örnekleri heparinize tüplere alındı. Alınan kan örnekleri hemen buzlu su içine konularak laboratora ulaştırıldı. Örnekler öncelikle DNA hasar ölçümü için mononükleer lökositlerin seperasyonunda kullanıldı. Biyokimsal analizler için ayrılan venöz kan örnekleri 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildikten sonra şekilli elemanlar tüp ile birlikte atıldı, üstteki serum örnekleri -20 °C'de saklanarak total antioksidan kapasite (TAC) ve serum total oksidan status (TOS) oto-analizörde kolorimetrik olarak Ö. Erel metodu ile ölçüldü.

3.1. Yöntem

3.1.1. Toplam Antioksidan Status Düzeyinin Ölçümü (TAS)

Örneklerin total antioksidan status düzeyi (TAS), Ö. Erel tarafından geliştirilen Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülen tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir metoddur (109). Ölçüm yöntemi, örnekteki tüm antioksidan moleküllerin renkli ABTS* katyonik radikalini redüklemesi sonucu renkli radikali antioksidan moleküllerin toplam konsantrasyonlarıyla orantılı olarak dekolorize olması esasına dayanır. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol Trolox Eqiv/L olarak ifade edildi.

3.1.2. Toplam Oksidan Status Düzeyinin Ölçümü (TOS)

Örneklerin total oksidan status (TOS) düzeyi, Ö. Erel tarafından geliştirilen Rel Assay marka ticari kitler kullanılarak ölçülen tam otomatik bir yöntem olup (110), testin çalışma

prensibinde ifade edildiği üzere örneklerin içerdiği oksidan moleküllerin ferroz iyonu ferrik iyona kümülatif olarak oksitlemesine dayanan, kolorimetrik yöntem kullanılır. Kalibratör olarak Hidrojen Peroksit kullanılır. Sonuçlar $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ Eqiv/L olarak ifade edilir.

Prensip: örnekte bulunan oksidanlar ferröz iyon-o-dianisidine kompleksini ferik iyona oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu hızlandırarak yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda xylenele orange ile renkli bir kompleks oluştururlar. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan rengin şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir.

3.1.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Örneklerin oksidatif stres indeksi (OSİ), örneklerin toplam oksidan status (TOS) düzeylerinin, örneklerin toplam antioksidan status (TAS) oranına yüzdesi olarak belirtilir (111). Hesaplamadan önce TAS testinin birimindeki mmol değeri TOS testindeki gibi mikromol birimine çevrildi. Sonuçlar Arbitrary units olarak ifade edildi ve aşağıdaki formüle göre hesaplandı.

OSİ (arbitrary unit) = TOS ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ equivalent/L) / TAS (mmol Trolox equivalent/L) x 10

3.1.4. Mononükleer Lökositlerin Seperasyonu

Bir ml histopaque-1077 üzerine bir ml taze heparinize kan yavaşça konup 2100 rpm ve 25°C'de 30 dakika santrifüj edildi. Orta tabakada biriken mononükleer lökositler pipet yardımıyla alınıp bir ml tuzlu fosfat tamponu (pH=7.4) ile karıştırıldıktan sonra 1600 rpm ve 25°C'de 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki süpernatant atılıp pellet tuzlu fosfat tamponu (pH=7,4) ile 10^6 mononükleer lökosit / μl olacak şekilde dilüe edildi.

3.1.5. Comet Assay (alkali mononükleer hücre elektroforezi) yöntemi ile DNA Hasar Tayini

3.1.5.1. Yöntemin Prensibi

Comet Assay yöntemi alkali pH'da farklı molekül ağırlıklarına ve farklı elektrik yüküne sahip DNA moleküllerinin elektriksel alanda farklı göç etmeleri esasına dayanmaktadır. Tek hücreler agarozaya yerleştirilir ve lizisten sonra zarar görmemiş DNA'lar elektroforez sırasında

comet (kuyruk) oluşturmazlar. Oysa DNA fragmente oluşmuşsa fragmentler (nükleik asitler) farklı moleküler ağırlıklara ve farklı elektrik yüklerine sahip olacaklarından elektriksel alanda farklı hızlarda hareket ederek kuyruk şeklinde bir görüntü oluştururlar (112, 113, 114, 115, 116).

3.1.5.2. Yönteminin Uygulanışı

3.1.5.2.1. Slaytların Hazırlanması

NMP agaroz jel % 1,0 'lik olarak hazırlandı ve 80 µl jel kenarları buzlanmış lam üzerine damlatıldı ve üzeri lamel ile kapatılarak buzdolabında (2-4 °C) 5 dakika bekletildikten sonra lamelleri kaldırıldı. Hazırlanan lamlar nemli kutularda bekletildi. PBS (Fosfat buffered saline) ile mm³te 10⁴ hücre olacak şekilde dilüe edilmiş mononükleer hücrelerden 10 µl alınarak 80 µl %0,5'lik Low Melting Point (LMP) agaroz jel (37⁰C) ile karıştırılarak birinci tabaka üzerine tabakalandırıldı ve tekrar lamel ile kapatılarak buzdolabında donması için 5 dakika bekletildi. Üçüncü aşamada ise aynı konsantrasyonda LMP agaroz jel hazırlanarak ikinci tabakanın üzerine ince bir tabaka halinde tabakalandırılarak slayt hazırlanması tamamlandı (112, 113, 114, 115, 116).

3.1.5.2.2. Lizis aşaması

Agaroz jel kurduktan sonra slaytlar yaklaşık bir saat süre ile yüksek konsantrasyonda tuz ve deterjan içeren soğuk lizis solüsyonunda bekletildi. Lizis solüsyonunun içeriği 100 mM EDTA, 2,5 M DMSO, 10 mM Trizma base ve %1 oranında Triton X-100'den oluşmaktadır. Bu solüsyonun pH 'sı 10'a ayarlandı. Lizis tamponu ile hücre ve çekirdek zarı lizise uğratıldı (112, 113, 114, 115, 116).

3.1.5.2.3. Elektforez Tamponu

Elektroforezde yürütmeden önce DNA zincirlerinin ayrılması için slaytlar alkali elektforez tamponunda 20-30 dakika inkübasyona bırakıldı. Alkali çözeltisi 1mM EDTA ve 300 mM sodyum hidroksit içermektedir (pH <13).

3.1.5.2.4. Elektroforezde Yürütme

Alkali elektroforez tamponunda inkübasyon tamamlandıktan sonra DNA'lar bu tampon çözeltisi içerisinde 300 mA, 14 volt'luk elektriksel alanda ve 5-25 °C'de 30 dakika yürütüldü (112, 113, 114, 115, 116).

3.1.5.2.5. Nötralizasyon

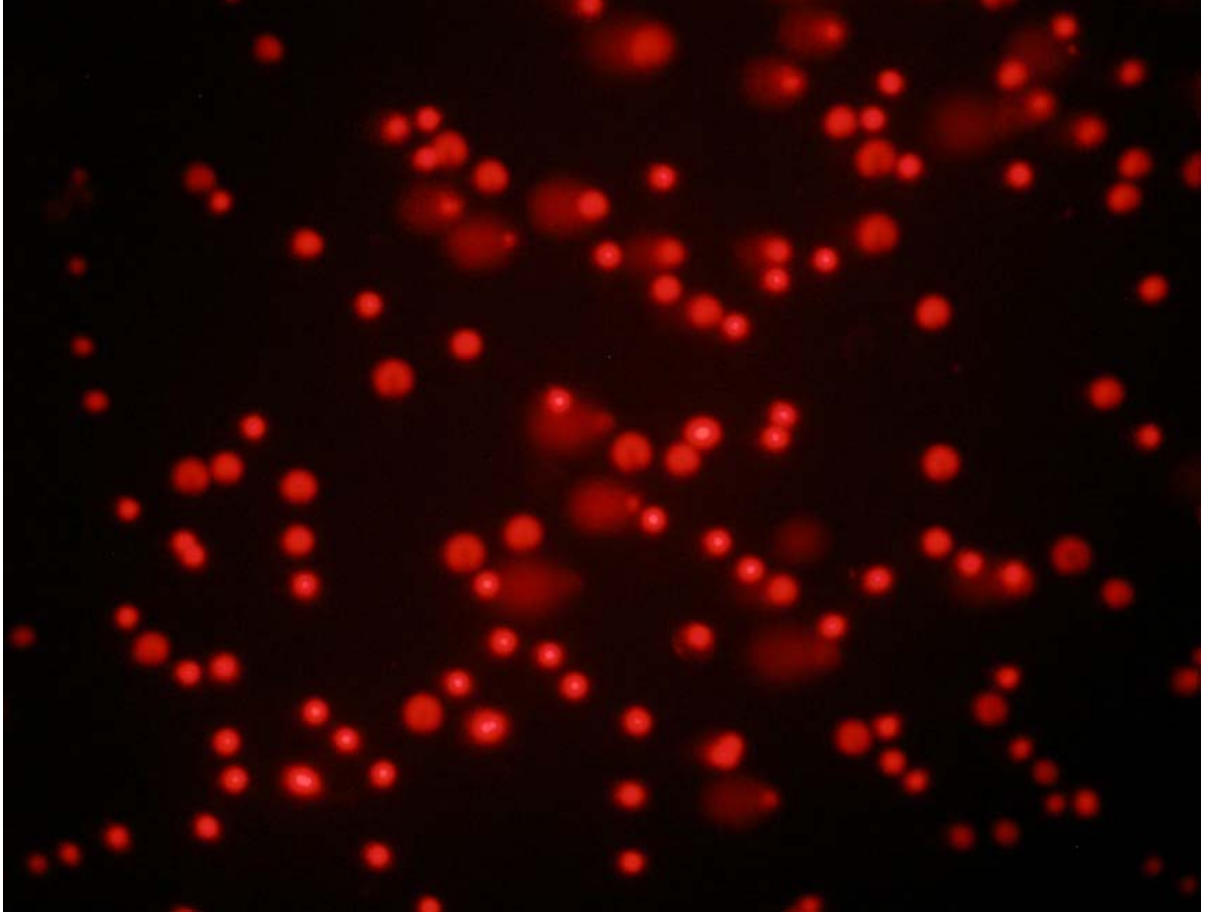
Elektroforezde yürütme işlemi tamamlandıktan sonra alkali tampon çözeltisini ortamdan uzaklaştırmak için slaytlar 3 dk süre ile 3 kez nötralizasyon tamponu ile (0.4 M Tris-HCL, pH 7.5) yıkandı (112, 113, 114, 115, 116).

3.1.5.2.6. Boyama

Nötralizasyon tamamlandıktan sonra boyama yapılarak cometler sayılır veya jel oda sıcaklığında kurutularak slaytlar nemli ortamda en fazla bir hafta depolanabilir. Boyama işlemi için floresan boya olan etidyum bromit boyası (5 µg / ml) kullanıldı. Her bir slayt için 80 µl boya slayt üzerine damlatıldıktan sonra lamel ile üzeri kapatılarak 20 büyütme floresan mikroskop ile (Eksitasyon DB: 546 nm, Emisyon DB: 580 nm) 50 adet DNA görüntüsü değerlendirildi.

3.1.5.2.7. Analiz

Bu yöntemde DNA migrasyonunu vizüel olarak değerlendirildi. Oluşan hasarın derecesine göre DNA'lar beş kategoride değerlendirildi. Şekilde de görüldüğü gibi, hiç hasar bulunmayan DNA'lar 0, maksimum hasar olan DNA'lar 5. kategoride değerlendirildi.



Şekil 10. DNA hasarları sonucu meydana gelen hasarların elektroforez migrasyonu sonrası DNA'ların floresan mikroskop altındaki görüntüleri

Migrasyonun uzunluğu fragmentlerin miktarına, DNA zincir kırılmalarına ve alkali labil bölgelerin seviyelerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir (112, 113, 114, 115, 116).

3.2. Yapılan İstatistiksel Analizler

Elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirilmesinde SPSS 11,5 programı (SPSS for Windows, 11.5 SPSS Inc., USA) kullanıldı. Bu program kullanılarak gerekli istatistiksel analizler ve şekiller yapıldı. Sonuçlar ortalama \pm standard sapma olarak belirtildi ve $p > 0,05$ anlamsız, $p < 0,05$ anlamlı, $p < 0,01$ çok anlamlı, $p < 0,001$ ileri düzeyde anlamlı kabul edildi. Gruplar arasındaki farkı değerlendirmek için student t-test ve ki - kare testi kullanıldı. Parametrelerin arasındaki ilişkiyi değerlendirmek için ise korelasyon analizi yapıldı.

4. BULGULAR

Yaşları 6 - 24 ay arasında değişen marasmik PEM'li hastaların 9'u (% 32,15) kız, 19'u (% 67,85) erkek idi. Fizik muayene ve laboratuvar incelemeleri ile malnütrisyon kliniği dışında ek patolojileri bulunan veya sigaraya maruz kalan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Kontrol grubuna alınan infantlar, aşı uygulaması ve gelişim takibi için sağlık merkezlerine getirilen, detaylı fizik muayene ile hastalık bulguları olmayan sağlıklı çocuklar idi, yaşları 6 - 24 ay arasında idi ve 9'u (% 32,15) kız, 19'u (% 67,85) erkek idi. Böylece marasmik PEM'li çocuklarla yaş ve cinsiyet uyumuna dikkat edildi.

Hasta ve çalışma grubuna ait demografik ve karakteristik bilgiler Tablo 6'de verilmektedir. Tablo 6'de çalışma gruplarında yaş, ağırlık, boy, cinsiyet değerlerinin ortalamaları ve standart sapmaları gösterilmektedir.

Tablo 6. Hasta ve Kontrol grubuna ait demografik ve antropometrik bilgiler

	Kontrol (n=28) Ortalama ± SS	PEM (n=28) Ortalama ± SS	<i>p</i> değeri
Yaş (ay)	15,7±5,8	15,4±5,1	> 0,05
Boy (cm)	77,9±6,1	67,8±5,5	< 0,05
Ağırlık (kg)	10,5±1,4	7,0±1,5	< 0,05
Cinsiyet (E/K)	19/9	18/10	> 0,05

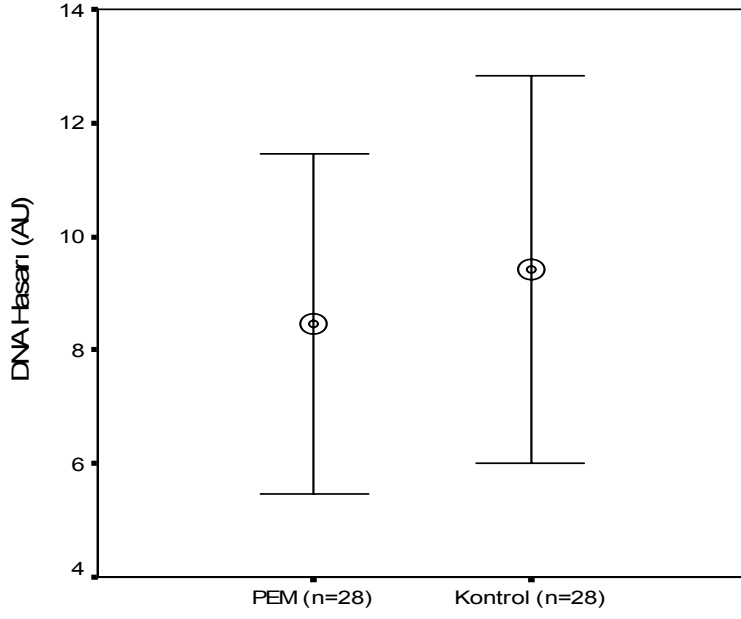
Tablo 7'de hasta ve kontrol gruplarında DNA hasarı ve oksidan / antioksidan parametrelerin karşılaştırılması verilmiştir.

Tablo 7. Hasta ve kontrol gruplarında DNA hasarı ve oksidan / antioksidan parametrelerin karşılaştırılması

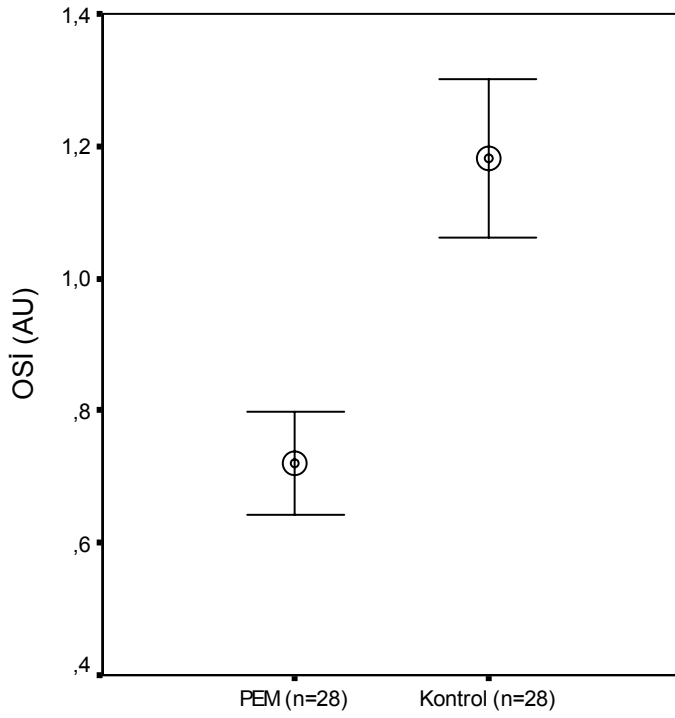
	Kontrol (n = 28) Ortalama \pm SS	PEM (n = 28) Ortalama \pm SS	<i>p</i> değeri
DNA hasarı (AU)	9,43 \pm 8,70	8,44 \pm 7,79	> 0,05
Total Oksidan Seviye (μ mol H ₂ O ₂ Eqv./L)	12,4 \pm 3,3	6,7 \pm 1,6	< 0,01
Total Antioksidan Seviye (mmol Troloks Eqv./L)	1,05 \pm 0,1	0,95 \pm 0,1	< 0,01
Oksidatif Stres İndeksi (AU)	1,2 \pm 0,3	0,72 \pm 0,2	< 0,01

Tablo 7’de PEM ve kontrol gruplarının DNA hasarı ve plazma TAS, TOS ve OSİ seviyeleri gösterilmektedir. Tablo 7’de görüldüğü gibi PEM grubunda TOS, OSİ ve TAS seviyeleri kontrol grubundan anlamlı dereceden düşüktür (sırasıyla; $p = 0,007$, $p < 0,001$, $p = 0,001$). DNA hasarı ise PEM grubunda = 8,44 \pm 7,79 iken kontrol grubunda = 9,43 \pm 8,70 ($p = 0,664$). Marasmik PEM grubunda kontrol grubuna göre anlamlı DNA hasarı saptanmadı ($p = 0,664$).

Şekil 11’de PEM ve kontrol gruplarında DNA hasarı, şekil 12’de ise PEM ve kontrol gruplarında oksidan stres indeksi görülmektedir.



Şekil 11. PEM ve kontrol gruplarında DNA hasarı



Şekil 12. PEM ve kontrol gruplarında oksidatif stres indeksi

5. TARTIŞMA

Malnütrisyon, metabolik süreçlerin yavaşlaması ile karakterize olup, endojen serbest radikal üretiminde azalmaya neden olması yönü ile DNA hasarına karşı koruyucu özellik gösterirken, mikrobesein ve vitamin gibi antioksidan özelliği bulunan bir çok maddeden yoksunluk yönü ile lipid peroksidasyonu ve DNA hasarı için predispozan özellik gösterir.

Bugüne kadar yapılan bir çok epidemiolojik çalışma, beslenme ve diyetin DNA mutasyonları ile ilişkisini göstermiştir (117, 118, 119, 140). Kansere patogenezinde diyetin rolü en az %35 'dir (117, 121). Gelişmekte olan ülkelerde, özellikle çocuklarda görülen kanserlerde sosyo ekonomik faktörlerin ve beslenmenin kanserin farklı tiplerinin oluşmasındaki rolüne dikkat çekilmektedir (118). Vitaminlerden B₆, B₁₂, folik asit, niyasin, vitamin A, vitamin C ve vitamin E'nin kanserden korunmada etkili olabildiklerine dair veriler vardır (117, 119, 122).

Diyette 8 mikrobesein eksikliğinin (vitamin B₁₂, folik asit, vitamin B₆, niyasin, vitamin C, vitamin E, Zn ve Fe) radyasyonun DNA'da yaptığı hasara benzer şekilde, tek veya çift DNA sarmalında kırılmalara neden olduğu gösterilmiştir (117).

Mikrobeseinler içinde yer alan eser elementlerden en önemlileri özellikle immünite üzerine de etkileri bilinen; çinko (Zn), selenyum (Se), demir (Fe) ve bakır (Cu) 'dır. Ayrıca bu elementler yapısına girdikleri enzimler (SOD, GPX, katalaz gibi) aracılığıyla, antioksidan etkiye de sahiptirler. Eser elementler özellikle Zn, Se ve Cu canlılarda bir çok biyolojik olayda rol oynarlar. Bunların en önemlileri hücre solunumu, DNA ve RNA yapımı, hücre membranının bütünlüğü ve serbest radikallerin temizlenmesidir (123). Böylece Zn, Se ve Cu, yaşlanmadan kansere kadar değişen geniş bir spekturumdaki olaylarda rol oynayan serbest radikalleri kofaktör oldukları enzim sistemleriyle tahrip ederler. Oksijen radikallerinin olumsuz etkilerinin nötralize edilmesi, hücre membran bütünlüğünü sağladığından ve DNA hasarını önlediğinden kanser riskini azaltır (123, 124). Ayrıca mikrobeseinlerin; tümör gelişiminde önemli olan başlangıç fazında genotoksik şimik ajanları ve virüsleri inhibe ettiği ve dolayısıyla organizmayı koruduğu gösterilmiştir (118, 123).

Malnütrisyonunda lenfoid dokularda belirgin atrofi görülür. Malnütrisyonun barometresi olan timüsün boyutlarında küçülme görülüp, eşlik eden çinko gibi bazı besin öğelerinin

eksikliklerinin timik fonksiyon baskılanması ile kuvvetli ilişkisi bildirilmiştir (18,19). Malnütrisyonunda hücrel immünite, humoral immüniteye göre daha fazla etkilenir.

Malnütrisyonunda vücut direncinin önemli bir bileşeni olan antioksidan sistem aktivitesinde azalma görülür. Tatlı M. ve ark. malnütrisyonunda eritrosit glutatyonunda azalma ve lipid peroksidasyonunda artma saptamışlardır (3).

Protein enerji malnütrisyonu gelişen çocuklarda enfeksiyon ve paraziter hastalıklara yatkınlık, immünite baskılanma, hem endojen kaynaklı hem de beslenme ile dışarıdan temin edilen antioksidan kapasitede azalma görülmektedir. Malnütrisyonu olan çocuklarda sıklıkla eşlik eden immün yetmezlik nedeniyle gelişen enfeksiyonlar önemli bir morbitide ve mortalite nedenidir.

Malnütrisyonu olan bir çocuğun, sahip olduğu enerji kaynağını en uygun şekilde kullanabilmesi için her sistem, organ ve dokularında fizyolojik ve metabolik adaptasyon mekanizmaları gelişir (reductive adaptation). Kalp, böbrek, karaciğer ve bağırsaklar fizyolojik kapasitelerini en az kullanmaya başlamaktadır (23).

Endojen serbest radikallerin her bir hücrede, günde 200.000 kadar bazı hasara uğrattığı tahmin edilmektedir. Serbest radikaller, DNA kararsızlıklarına, mutasyonlara ve hücre ölümlerine yol açmaktadır. Hidroksil radikali bazlarla ve deoksiribozlarla kolayca reaksiyona girer. Hidrojen peroksit ise membranlardan kolayca geçebileceğinden hücre çekirdeğindeki DNA'ya ulaşır ve hücre disfonksiyonuna hatta ölümüne yol açar. Bu nedenle DNA kolay zarar görebilen bir moleküldür (70, 71).

Serbest radikaller DNA hasarı için önemli risk faktörüdür. Serbest radikaller organizmada normal olarak meydana gelen endojen oksidasyon ve redüksiyon reaksiyonları sırasında oluştuğu gibi çeşitli dış kaynaklı faktörlerin etkisiyle de oluşabilir. Başta mitokondrium ve endoplazmik retikulum olmak üzere, hücre organellerinin her biri farklı miktarlarda serbest radikal oluşumuna sebep olurlar. Bunların yanısıra radyasyon, stres ve ksenobiyotikler aktive olmuş fagositlerde serbest radikal üretimini tetiklerler. Sitokrom P₄₅₀, sitokrom b₅, ksantinoksidaz, triptofandiyoksijenaz, lipooksijenaz, prostoglandinsentetaz, hemoglobin, flavoproteinler, oksidatif stres sebebi olan iskemi, travma ve intoksikasyon gibi durumlar, mitokondrial elektron transport sistemi (ETS), moleküler otooksidasyon yapan tiol, hidrokinon, katekolamin, flavin ve antibiyotik gibi moleküllerin hepsi hücrel serbest radikalleri oluştururlar ve lipid peroksidasyonunu tetiklerler (125, 126).

Mitokondriumdeki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen oksijenin % 1–5 kadarı süperoksit yapımı ile sonlanır. Buradaki radikal yapımının nedeni NADH dehidrogenaz ve koenzim Q gibi elektron taşıyıcılardan oksijene elektron kaçağının olmasıdır. Fizyolojik olarak reaktif oksijen türlerinin temel kaynağı normal oksijen metabolizmasıdır. Dolayısıyla fizyolojik koşullar altında mitokondriyal elektron transport sistemi serbest radikal üretiminin en önemli kısmını oluşturmaktadır (127).

Protein enerji malnütrisyonu ile oksidatif stres arasında pozitif korelasyon kurulmuş, fakat PEM'de DNA hasarını araştıran klinik çalışmalara rastlanmadık. Fakat deneysel çalışmalarda mitokondriyal reaktif oksijen türlerinin oranı ile DNA bozuklukları arasında sıkı bir bağlantı gösterilmiştir. Deneysel hayvanlarının diyetinin kısıtlanması sonucunda oksijen tüketimi azaldığından, serbest oksijen radikal üretiminin azaldığı ve bunların tetiklediği DNA hasarında azalma olduğu saptanmıştır (7).

Deneysel bir araştırmada, 24 aylık ratlara kalori kısıtlaması % 40 oranında yapılmış. Kalori kısıtlamasına maruz kalan ratların beyinlerinde kalori kısıtlaması yapılmayanlara göre anlamlı derecede mitokondriyal H₂O₂ üretim oranında azalma (% 24) ve oksidatif hasara bağlı mitokondriyal DNA bozukluklarında azalma (% 23) görüldü. Diyeti kısıtlanmayan, fazla beslenen ratlarda yüksek seyreden oksidatif stresin DNA'ya verdiği hasar diyetle kısıtlama uygulanması ile azaldığı gösterilmiştir (128).

Deneysel ortamda % 40 oranında kalori kısıtlamasının ratların kalplerinde mitokondriyal H₂O₂ üretimi, oksijen tüketimi ve nukleer DNA'da oksidatif stres zararının kısa dönem (6 hafta) ve uzun dönem (1 yıl) etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada kısa dönemde herhangi bir değişiklik olmamıştır. Ancak, uzun vadeli diyet kısıtlaması önemli ölçüde mitokondriyal hidrojen peroksit üretim oranını (% 45) ve mitokondriyal DNA oksidatif hasar oranını (% 30) azaltmış (7).

Önceki çalışmalarda malnütrisyon dışında oksidatif stres artışına ve dolayısıyla DNA hasarına sebep olabilecek diğer faktörler (sigara dumanına sekonder maruziyet, enfeksiyon, ilaçlar gibi...) dikkate alınmamıştır. Yapılan bir çalışmada belirgin enfeksiyonu olan marasmik çocuklarda oksidatif streste artış tespit edilmiş, fakat bu artış daha çok enfeksiyon ve enfeksiyon tedavisinde kullanılan antibiyotiklerle ilişkilendirilmiş ve malnütrisyon, oksidatif streste artışa neden olan bağımsız bir faktör olarak değil, diğer faktörler için zemin oluşturan bir faktör olarak nitelendirilmiştir (129).

Çalışmaya alınan PEM'li hastaların PEM dışında başka patolojilerinin olmamasına dikkat edildi; kronik organ veya sistem hastalığı olanlar, tanı almamış kronik ishalı olanlar, laboratuvar değerleri ile demir, B₁₂ ve folat eksikliğinden kaynaklanan anemisi olanlar çalışma dışında tutuldu. Sigara dumanına maruz kalanlar da çalışma dışında tutuldu. Zira çalışma dışı tutulma kriteri sayılan bu durumlar bağımsız bir sebep olarak DNA hasarına ve oksidan/antioksidan sistem dengesinin oksidan hasar lehine bozulmasına neden olurlar.

Fizik muayene ve laboratuvar bulguları (wbc, crp, sed) ile enfeksiyon kliniği bulunan hastalar da çalışma dışı tutuldu. Malnütrisyonla organizmanın enfeksiyona yeterli yanıt veremeyebileceği göz önünde bulundurulursa, laboratuvar bulgularının negatifliği enfeksiyonun olmamasına kesin kanıt olamaz. Saf marasmik PEM'li hastalarımızda kontrol grubuna göre TOS'ta azalma enfeksiyonun olmadığına bir kanıt olabilir.

Ödem, asit, cilt ve saç renginde değişiklik, anemi, hepatosplenomegali, letarji, ağır immün yetmezlik ve enfeksiyonlar ile seyreden kwashiorkor'da PEM dışında DNA hasarına sebep olabilecek bir çok faktör mevcuttur. Bu nedenle kwashiorkor kliniğine sahip PEM'li hastalar çalışma dışı tutuldu.

Yetişkin insanlara uygulanan diyet kısıtlaması ile oksijen radikallerin miktarında azalma ve bunun sonucunda DNA hasarlanmasında ve yaşlanmada yavaşlama tesbit edilmiştir. Malnütrisyonlu çocuklar bağımsız bir sebep olarak DNA hasarına yol açan ek patolojileri olmaması durumunda enerji kaynaklarının azalması ve oksijenli solunumda ve netice itibarı ile serbest oksijen radikal üretiminde azalma olması nedeni ile DNA hasarına karşı korunmuş olabilirler.

Çalışmamızda saf marasmik PEM'li hastalarda kontrol grubuna göre TOS ve TAS'ta istatistiksel olarak anlamlı bir azalma (sırasıyla; p = 0,007, p < 0,001) saptadık. TOS'taki azalma, metabolik süreçlerdeki yavaşlama ve enerji tüketiminin yavaşlaması ile ilişkili olabilir. Enerji tüketiminin azalması sonucunda endojen serbest radikal miktarında azalma beklenmektedir. TAS azalması ise marasmik PEM'li hastaların bir çok mikronutrientten yoksun besin rejimleri ile beslenmeleri ile ilişkilendirilebilir.

Yeterli sayıda malnütrisyon alt gruplarının (hafif, orta ve ağır) olmaması ve bunun sonucunda DNA hasarının malnütrisyon şiddeti ile istatistiksel analizinin yapılmaması çalışmamızı kısıtlayan bir faktördür.

Önceki çalışmalarda marasmik çocuklarda oksidatif streste artış saptanmış olsa da, bu durum malnütrisyonun ziyade malnütrisyon kliniği dışındaki faktörlerle (enfeksiyonlar, tedavide kullanılan antibiyotikler) ilişkilidir. Deneysel çalışmalarda kalori kısıtlamasının oksidatif stres ve DNA mutasyonlarında azalmaya yol açtığı ortaya konmuştur. Malnütrisyonun kwashiorkor kliniğinde enrejiden ziyade protein eksikliği ön planda olduğundan ve organ hasarı eşlik ettiğinden oksidatif stres ve DNA hasarında artış beklenebilir. Fakat saf marasmik malnütrisyonun enerji azlığı ön planda olduğundan bazal metabolik süreçlerde yavaşlama ve bunun sonucunda oksidatif stres ve oksidatif stresin tetiklediği DNA hasarında azalma beklenir.

Sonuç olarak; malnütrisyon kliniği dışında ek patolojileri olmayan saf marasmik PEM'li çocuklarda kontrol grubuna göre oksidatif streste anlamlı derecede azalma olduğunu saptadık. Saf marasmik PEM'li çocuklarda kontrol grubuna göre DNA hasarını istatistiksel olarak anlamlı saptamadık.

Bulgularımız bu düşünceleri desteklemekle beraber çalışmamızı kısıtlayan durumların da dikkate alınacağı daha geniş ölçekteki çalışmalara ihtiyaç vardır.

7. KAYNAKLAR

- 1- Müller O, Krawinkel M. Malnutrition and health in developing countries. *CMAJ* 2005;173:279-86.
- 2- Udall JN, Bhutta ZA, Firmansyah A, et al. Malnutrition and diarrhea: Working Group Report of the First World Congress of Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2002;35:173-9.
- 3- Tatli M, Vural H, Koc A, Kosecik M, Atas A. Altered anti-oxidant status and increased lipid peroxidation in marasmic children. *Pediatr Int.* 2000 Jun;42(3): 289-92.
- 4- Ashour MN, Salem SI, El-Gadban HM, Elwan NM, Basu TK. Antioxidant status in children with protein-energy malnutrition (PEM) living in Cairo, Egypt. *Eur J Clin Nutr.* 1999 Aug;53(8): 669-73.
- 5- Squali Houssaïni FZ, Foulon T, Payen N, Iraqi MR, Arnaud J, Gros Lambert P. Plasma fatty acid status in Moroccan children: increased lipid peroxidation and impaired polyunsaturated fatty acid metabolism in protein-calorie malnutrition. *Biomed Pharmacother.* 2001 Apr;55(3):155-62.
- 6- Asad SF, Singh S, Ahmad A et al. Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure-activity study. *Chem Biol Interact*, 2001;137:59-74.
- 7- Ricardo G, Alberto S, Monica LT, and Gustavo B. Caloric restriction decreases mitochondrial free radical generation at complex I and lowers oxidative damage to mitochondrial DNA in the rat heart. *The FASEB Journal* express article. Published online, 2001; 28-37.
- 8- Padula GA, Seoane AB. Chromosomal effects of infections in malnourished and eutrophic children of gran la plata. *Journal of Basic & Applied Genetics*, 2008;15-20
- 9- Food and Agriculture Organization of the United Nations. Undernourishment around the world. In: *The state of food insecurity in the world 2004*. Rome: The organization; 2004.
- 10- Stallings VA, Fung EB. Clinical nutrition assessment of infants and children. *Modern Nutrition in Health Disease*. 9th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 1998:885-93.
- 11- Betler J, Roberts KE. Nutrition assessment of the critically ill child. *AACN Clin Issues* 2000;11:498-506.

- 12- Alberda C, Graf A, McCargar L. Malnutrition: etiology, consequences, and assessment of a patient at risk. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2006;20:419-39.
- 13- Kumar S, Olson DL, Schwenk WF. Malnutrition in pediatric population. *Dis Mon* 2002;48:703-12.
- 14- Zemel BS, Riley EM, Stallings VA. Evaluation of methodology for nutritional assessment in children: anthropology, body composition, and energy expenditure. *Annu Rev Nutr* 1997;17:211-35.
- 15- Gomez F, Galvan R, Frenk S, et al. Mortality in second and third malnutrition. *J Trop Pediatr* 1956;2:27.
- 16- Frisancho AR. New norms of upper limb fat and muscle areas for assessment of nutritional status. *Am J Clin Nutr* 1981;34:2540.
- 17- Cole TJ, Bellizzi MC, Flegal KM, Dietz WH. Establishing a standard definition for child overweight and obesity worldwide: International survey. *Br Med J* 2000;321:1-6.
- 18- Evans-Stoner N. Nutrition assessment: A practical approach. *Nurs Clin North Am* 1997;32:637-51.
- 19- Feitelson Winkler M, Gerrior SA, Pomp A, Albina JE. Use of retinol binding protein and prealbumin as indicators of the response to nutrition therapy. *J Am Diet Assoc* 1989;89:684-7.
- 20- Verger J. Nutrition. Curley M, Smith J, Moloney-Harmon P eds. *Critical Care Nursing of Infants and Children*. Philadelphia: WB Saunders; 1996. p.410-48.
- 21- Figueora S, Colon R. Clinical and laboratory assessment of the malnourished child. In: Suskind RM, Lewinter-Suskind L eds. *Textbook of Pediatric Nutrition*. New York: Raven Press; 1993. p.191-205.
- 22- McWhirter JP, Pennington JR. Incidence and recognition of malnutrition in hospital. *BMJ* 1994;308:945-8.
- 23- Ashworth A. Treatment of severe malnutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2001;32:516-8.
- 24- Schaible UE, Kaufmann SH. Malnutrition and infection: complex mechanisms and global impacts. *PLoS Med* 2007;4:115.
- 25- Reilly JJ. Understanding chronic malnutrition in childhood and old age: role of energy balance research. *Proc Nutr Soc* 2002;61:321-7.
- 26- Bhan MK, Bhandari N, Bahl R. Management of the severely malnourished child: perspective from developing countries. *BMJ* 2003;326:146-51.

- 27- Ciliberto H, Ciliberto M, Briend A, et al. Antioxidant supplementation for the prevention of kwashiorkor in Malawian children: randomised, double blind, placebo controlled trial. *BMJ* 2005;330:1109.
- 28- Reid M, Badaloo A, Forrester T, et al. The acute phase protein response to infection in edematous and non-edematous proteinenergy malnutrition. *Am J Clin Nutr* 2002;76:1409-15.
- 29- Rossi MA, Zucoloto S. Ultrastructural changes in nutritional cardiomyopathy of protein-calorie malnourished rats. *Brj Exp Pathol* 1982;63:242-53.
- 30- Alam NH, Hamadani JD, Dewan N, Fuchs GJ. Efficacy and safety of a modified oral rehydration solution (ReSoMaL) in the treatment of severely malnourished children with watery diarrhea. *J Pediatr* 2003;143:614-9.
- 31- Manary MJ, Brewster DR. Potassium supplementation in kwashiorkor. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1997;24:194-201.
- 32- Kalkanoğlu H.S. Protein enerji malnütisyonu. *Sosyal Pediatri: Katkı Pediatri Dergisi* 25: 307-325
- 33- Mç Laren DS, Burman D, Belton NR, Williams AF. Protein energy malnutrition (PEM). *Texbook of Pediatric Nutrition*, The Bath Press, Avon 1993:357
- 34- Baharlı N. Bebeklik Döneminde Başlıca Morbidite Nedenleri ve Bazı Faktörlerle İlişkisi. *Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi Halk Sağlığı Anabilim Dalı Uzmanlık Tezi*, Antalya 1999.
- 35- Mahakur AC, Mishra AC, Panda SN, Rao CM, Misra SC. Renal functional and hemodynamic (blood volume, renal blood flow and glomeruler filtration rate) study in protein kalori malnutrition. *J Assoc Physicians India* 1983: 31: 79-81
- 36- Koksall G, Gökmen H. Protein-Eneji Malnütisyonu ve Beslenme Tedavisi. *Çocuk Hastalıklarında Beslenme Tedavisi*. Hatiboğlu Yayınları 2000: 199
- 37- Onat T. Protein enerji malnütisyonu. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları*, Eksen Yayınlan. 1996:115-7
- 38- Beaufre B, Bresson JL, Briend A, et al. Protein and energy needs of the infant with severe malnutrition: application in a hospital environment for the treatment of malnutrition caused by deficient intake. *Arch Pediatr* 1998;5:763-71.

- 39- Ahmed T, Ali M, Ullah MM, et al. Mortality in severely malnourished children with diarrhoea and use of a standardised management protocol. *Lancet* 1999;353:1919-22.
- 40- Golden MH, Briend A. Treatment of malnutrition in refugee camps. *Lancet* 1993;342:360.
- 41- Neyzi O, Soner G. Protein-eneji malnütrisyonu. *Pediatric Cilt I, Nobel Tıp Kitabevi.* 2002:210-220
- 42- Özel A. Etimesgut Eğitim ve Araştırma Sağlık Grubu Başkanlığına Bağlı 21 Köyde Beslenme, Büyüme ve Gelişme üzerine Yapılan Bir Araştırma, H.Ü.Tıp Fak. Toplum Hekimliği Bilim Dalı Uzmanlık Tezi, Ankara, 1970.
- 43- Eren,N., Koçoğlu, G.: Ankara-Çubuk Eğitim ve Araştırma Bölgesinde 0-6 Yaş Grubu Çocuklarda Malnütrüsyon Hızı, *Beslenme ve Diyet Dergisi.* 7 : 24, 1978.
- 44- Güneyle, U., Arslan, R: Bebek ve Okul Öncesi Çocukların Beslenme Sorunları, *Beslenme ve Diyet Dergisi.* 10 : 8, 1981.
- 45- Koksall, O.: Türkiye'de Beslenme (Türkiye 1974 Beslenme Sağlık ve Gıda Tüketimi Araştırması). Unicef Yayını. Hacettepe Ün. Ankara, 1977.
- 46- Andrew M. Tershakovec, Virginia A. Stallings (2002) *Pediatric Nutritional Disorders.* Nelson Essentials of Pediatrics 57-67
- 47-Mç Laren DS, Burman D, Belton NR, Williams AF (1993) Protein energy malnutrition (PEM). *Textbook of Pediatric Nutrition, The Bath Press, Avon* 357
- 48-Coşkun T (1992) Protein Eneji Malnütrisyonu. *Sürekli Tıp Eğitim Dergisi* 1: 254-8
- 49- Dursun A, Coşkun T (1999) Kronik Hasta İzlemi III. *Katkı Pediatric Dergisi* 20 536-549
- 50- Coşkun T (1995) Büyümenin değerlendirilmesi. *Pediatric El Kitabı. Acil Yaklaşımlar ve Tanısal Girişimler.* Çağın Yayınevi 1-24
- 51- Galvan R.R, alderon M.J (1965) Deaths among children with third degree malnutrition. *Am J ClinNutr* 16: 351-5
- 52- Garrow JS, Pike MC (1967) The short term prognosis of severe primary infantile malnutrition. *Br J Nutr* 21: 155-165
- 53- Waterlow JC, Cravioto J (1960) Protein malnutrition in man. *Adv Protein Chem* 15: 131-238

- 54- Scrimshaw NS, Taylor CE, Gordon JE. Interaction of nutrition and infection. *Am J Med Sci* 1959;237:367-403.
- 55- Symthe PM, Schonland M, Brereton-Stiles GG, et al. Thymolympathic deficiency and depression of cell-mediated immunity in protein-calori malnutrition. *Lancet* 1971;ii:939-43.
- 56- Suffredini AF, Fantuzzi G, Badolato R, Oppenheim JJ, O'Grady NP. New insights into the biology of the acute phase response. *J Clin Immunol* 1999;19:203-14.
- 57- Keusch G. Nutrition, immunity, and infectious diseases in infants and children. Nestle nutrition workup series, pediatric program 2001;45:45-53.
- 58- Zaman K, Baqui AH, Yunus M, et al. Malnutrition, cell-mediated immune deficiency and acute upper respiratory infections in rural Bengaldeshi children. *Acta Pediatr* 1997;86:923-7.
- 59- Chan J, Tian Y, Tanaka KE, et al. Effects of protein calorie malnutrition on tuberculosis in mice. *Proc Natl Acad Sci* 1996; 93:14857-61.
- 60- Watson J.D. and Crick F.H.C. (1953). "A Structure for Deoxyribose Nucleic Acid". *Nature* 171: 737–738. doi:10.1038/171737a0. PMID 13054692.
- 61- The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1962 Nobelprize .org Accessed 22 Dec 06.
- 62- Watson J, Crick F (1953). "Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid". *Nature* 171 (4356): 737–8.
- 63- Berg J., Tymoczko J. and Stryer L. (2002) *Biochemistry*. W. H. Freeman and Company ISBN 0-7167-4955-6.
- 64- Venter J, et al. (2001). "The sequence of the human genome". *Science* 297: 1304–51.
- 65- Douki T, Reynaud-Angelin A, Cadet J, Sage E (2003). "Bipyrimidine photoproducts rather than oxidative lesions are the main type of DNA damage involved in the genotoxic effect of solar UVA radiation". *Biochemistry* 42 : 9221–6.
- 66- Cadet J, Delatour T, Douki T, Gasparutto D, Pouget J, Ravanat J, Sauvaigo S (1999). "Hydroxyl radicals and DNA base damage". *Mutat Res* 424 (1–2): 9–21.
- 67- Shigenaga M, Gimeno C, Ames B (1989). "Urinary 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine as a biological marker of in vivo oxidative DNA damage". *Proc Natl Acad Sci USA* 86 (24): 9697–701.
- 68- Cathcart R, Schwieters E, Saul R, Ames B (1984). "Thymine glycol and thymidine glycol in human and rat urine: a possible assay for oxidative DNA damage". *Proc Natl Acad Sci USA* 81 (18): 5633–7.

- 69- Valerie K, Povirk L (2003). "Regulation and mechanisms of mammalian double-strand break repair". *Oncogene* 22 (37): 5792–812.
- 70- Van den Akker E, Lutgerink JT, Laqueur MVM, Joenje H. Retel J. *Mutat. Res.* 1994; 309: 45–52.
- 71- Steenken S. Purine bases, nucleosides, and nucleotides: aqueous solution redox chemistry and transformation reactions of their radical cations and e- and OH adducts. *J. Chem. Rev.* 1989; 89(24):503–520.
- 72- Halliwell B, Dizdaroglu M. Free radicals and the oxidant/antioxidant balance *J. Free Radical Res.* 1992; 16: 75–87.
- 73- Dizdaroglu M. Oxidative damage to DNA in mammalian chromatin. *J. Mutat. Res.* 1992; 275(35): 331–342.
- 74- Yanik M, Erel O, Kati M. The relationship between potency of oxidative stress and severity of depression. *Acta Neuropsychiatr.* 2004;16:200-203.
- 75- Berliner JA, Heinecke JW. The role of oxidized lipoproteins in atherogenesis. *Free Radic Biol Med.* 1996;20:707-727.
- 76- Omar BA, Mc Cord JM. Interstitial equilibration of superoxide dismutase correlates with its protective effect in the isolated rabbit heart. *J Mol Cell Cardiol.* 1991;23:149-159.
- 77- Asami S, Manabe H, Miyake J, Tsurudome Y, Hirano T, Yamaguchi R, Itoh H, Kasai H. Cigarette Smoking induces an increase in oxidative damage, 8- hydroxydeoxyguanosine, in a central site of the human lung. *Carcinogenesis.* 1997; 18- 1763-1766
- 78- Halliwell B. Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr.* 1996;16:33-50
- 79- Kuppusamy UR, Dharmani M, Kanthimathi MS, Indran M. Antioxidant enzyme activities of human peripheral blood mononuclear cells exposed to trace elements. *Biol Trace Elem Res.* 2005;106:29–40.
- 80- Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 1995;41:1819–1828.
- 81- Cheeseman KH, Slater TF. An introduction to free radical biochemistry. *Br. Med. Bull.* 1993;49:479–480.
- 82- Meister A. Glutathione, ascorbate, and cellular protection. *Cancer Res.* 1994;54(7 Suppl):1969-1975.
- 83- Southorn P, Powis G. Free radical in medicine I. Chemical nature and biological reactions. *J. Mayo Clin. Proc.* 1988;63(3):381 –388.

- 84- Kılınç K, Kılınç A. Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp dergisi. 2002;33(2):110-118.
- 85- McCord JM: Human disease, free radicals and the oxidant/antioxidant balance. Clin Biochem. 1993;26:351–357.
- 86- Ripine JE, Bast A, Lankharst. Lipids and The Oxidative Strees Study Group: Oxidative stres in chronic obstructive pulmonary disease. J Respir Crit Care Med. 1997;156:341–347.
- 87- Asad SF, Singh S, Ahmad A et al. Prooxidant and antioxidant activities of bilirubin and its metabolic precursor biliverdin: a structure-activity study. Chem Biol Interact, 2001;137:59- 74.
- 88- Halliwell B. Vitamin C: antioxidant or pro-oxidant in vivo? Free Radic Res. 1996;25: 439-454.
- 89- Food and Nutrition Board, Institute of Medicine Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids. A report of the panel on dietary antioxidants and related compounds, subcommittees on upper reference levels of nutrients and interpretation and uses of dietary reference intakes. Washington DC. National Academy Press. 2000;p.1-506.
- 90- Chaudiere J, Ferrari-Iliou R. Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. Food Chem Toxicol.1999;37:949-962.
- 91- Gutteridge JMC, Halliwell B. Antioxidants in nutrition, health and disease. 1st ed. New York. Oxford University Press. 1994.
- 92- Buonocore G, Perrone S, Bracci R. Free radicals and brain damage in the newborn. Biol Neonate. 2001;79:180-186.
- 93- Buhimschi IA, Buhimshi CS, Pupkin M et al. Beneficial impact of term labor: nonenzymatic antioxidant reserve in the human fetus. Am J Obstet Gynecol. 2003;189: 181-188.
- 94- Scandalios JG: The rise of ROS. TRENDS in Biochemical Sciences. 2002;27:483-486.
- 95- Akkuş I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya;Mimoza yayınları, 1995;42-45.
- 96- Zhao J, Liu XJ, Ma JW et al. DNA damage in healthy term neonate. Early Hum Dev. 2004;77:89-98.
- 97- Fang Y-Z, Yang S, Wu G. Free radicals, antioxidants and nutrition. Nutrition. 2002;18:872-879.

- 98- Rose RC, Bode AM. Biology of free-radical-scavengers- an evaluation of ascorbat. FASEB J.1993;7:1135-1142.
- 99- Carr A, Frei B. Does vitamin C act as a pro-oxidant under physiological conditions? FASEB J. 1999;13:1007-1024.
- 100- Suh J, Zhu BZ, Frei B. Ascorbate does not act as apro-oxidant toward lipids and proteins in human plasma exposed to redox-active transition metal ions and hydrogen peroxide. Free Radic Biol Med. 2003;34:1306-1314.
- 101- Notthrop-Clewes CA, Thurnham DI. Monitoring micronutrients in cigarette smokers. Clinica Chimica Acta. 2007;377:14-38.
- 102- Chow CK. Vitamin C and cigarette smoke exposure. In: Packer L, Fuchs J, editors. Vitamin C in health and disease. New York: Marcel Dekker Inc. 1997;p:413-424.
- 103- Makarov VG, Makarova M, Selezneva AI. Studying the mechanism of antioxidant effect of vitamins and flavonoids. Vopr Pitan. 2005;74:10-13.
- 104- Burton G, Traber M. Antioxidants action of carotenoids. J. Nutr. 1989;119:109-111.
- 105- Polidori MC, Stahl W, Eichler O, Niestroj I, Sies H: Profiles of antiosidants in human plasma. Free Radic Biol Med. 2001;30(5):456–462.
- 106- Erel O. A new automated colorimetric method total antioxidant status. Clin Bio. 2005;6171: 9–13.
- 107- Neyzi O, Yalçındag A, Alp H. Heights and weights of Turkish children. J Trop Pediatr Environ Child Health, 1973. 19: 5-13.
- 108- 183. Neyzi O, Türkan E. Pediatri cilt I. 2002, İstanbul: Nobel tıp. 91-99 ve 183-185.
- 109- Erel Ö. A novel automated direct measurement method for total antioxidantcapacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. Clinical Biochemistry, 2004; 277–285
- 110- Erel Ö. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. Clin Biochem., 2005; 38(12):1103-11.
- 111- Harma M, Harma M, Erel O. Oxidative stress in women with preeclampsia. Am J Obstet Gynecol, 2005; 192:656-7.
- 112- Singh NP, Danner DB, Tice RR, Pearson JB, Brant LJ, Schneider EL. DNA damage and repair with age in individual human lymphocytes. J. Mutat Res.1990; 237(8):123-30.
- 113- Ostling O, Johanson KJ. Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. Biochem Biophys Res Commun 1984; 123(11):291-8.

- 114- Jaruga P, Birincioglu M, Rodriguez H, Dizdaroglu M. Mass spectrometric assays for the tandem lesion 8,5-cyclo-2-deoxyguanosine in mammalian DNA. *J. Biochemistry* 2002; 41(1): 73-88.
- 115- Kocyigit A, Keles H, Selek S, Guzel S, Celik H, Erel O. Increased DNA damage and oxidatve stress in patients with cutaneous leishmaniasis. *J. Mutation Research* 2005; 124(5): 47-59.
- 116- Demirbag R, Yilmaz R, Gur M, Kocyigit A, Celik H, Guzel S, Selek S. Lymphocyte DNA damage in patients with acute coronary syndrome and its relationship with severity of acute coronary syndrome *J. Mutation Research* 2005;135(4) 22-35.
- 117- Ames BN. Micronutrients prevent cancer and delay aging. *Toxicol Lett*, 1998. 102-103: 5-18.
- 118- Çavdar AO. Gelişmekte olan ülkelerde çocukluk kanserleri. Araştırma Monografisi. TÜBİTAK: 1997.
- 119- Hirohata T. Cancer prevention by micronutrients in humans. *Vitamins (Kyoto)*, 1973.73: 127-134.
- 120- Hıncal F, Basaran N. Selenium status in Turkey. *Int. j. Toxicology, Occupational and Environmental Health*, 1991. 2:114-115.
- 121- Sgarbieri V. The role of dietary energy and of macro componenets of foods in modulating carcinogenetics (An overview). *Ciencia e Cultura (SauPaulo)*, 1999. 51:104-121.
- 122- Krebs-Smith SM. Progress in improving to reduce cancer risk. *Cancer.*, 1999. 83:425-32.
- 123- Chan S, Person B, Subramanian S. The role of copper, selenium,zinc and molybdenium in Nutrition and Health. *Clin Lab. Med*, 1998. 8: 673-85.
- 124- Prasad KN, Cole WC, Kumar BP,Tasad KC. Scientific rationale for ysing high-dose multiple micro nutrients as an adjunct to standard and experimental cancer theTapiies. *J Am CoII Nutrit*, 2001. 20: 4505-4635.
- 125- Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *J. Clin Chem*.1995; 42(6):18–19.
- 126- Halliwell B. Oxygen is poisonous: The nature and medical importance of oxygen radicals. *J. Med Lab Sci*. 1984; 41(3):157-62.
- 127- Canbaş A. Gıda Bilimi ve Teknolojisi. Ziraat Fakültesi Yayını No: 78, Ç. Ü. Adana.1983.

- 128- Padula GA, Seoane AB. Chromosomal effects of infections in malnourished and eutrophic children of gran la plata. *Journal of Basic & Applied Genetics*, 2008; 19 : 15-20
- 129- Alberto S, Pilar C, Ricardo G. et al. Dietary restriction at old age lowers mitochondrial oxygen radical production and leak at complex 1 and oxidative dna damage in rat brain. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, Vol. 37, No. 2, April 2005;125-29