

T.C.  
HARRAN ÜNİVERSİTESİ  
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI  
AİLE HEKİMLİĞİ ANABİLİM DALI

**+2 ve +3 DEĞERLİKLİ DEMİR KULLANAN  
HAMİLELERDE DNA HASARININ, SAĞLIKLI  
BENZER KONTROL GRUBU VE KENDİ ARASINDA  
KARŞILAŞTIRILMASI**

UZMANLIK TEZİ

Dr. Şükran (MENEK) ATBİNİCİ

DANIŞMAN

Yrd. Doç. Dr. Harun TOY

ŞANLIURFA

2009

## TEŞEKKÜRLER

Uzmanlık eğitimim süresince yetişmemde büyük emekleri geçen, bilgi, yetenek ve deneyimleri ile rehberlik eden Harran Üniversitesi Araştırma Hastanesinin değerli hocalarına, asistanlığım süresince beraber çalıştığım tüm klinik baş asistanları, uzmanları, asistan ve hemşire arkadaşlarıma, birinci tez hocam Kadın Hastalıkları ve Doğum A.D. Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Harun TOY' a; seçtiğim tez konusunda beni heyecanlandıran, tezle ilgili başım her sıkıştığında yoğun iş temposuna rağmen bana vakit ayıran Biyokimya A.D. başkanı Prof. Dr. Abdurrahim KOÇYİĞİT hocama; benden yardımlarını esirgemeyen sevgili arkadaşlarım Dr. Hale ÇAKIR' a ve Dr. Esmâ DEVECİ' ye; kanların çalışılmasında yoğun emek harcayan Abdullah TAŞKIN' a; Aile Hekimliği Başkan Vekili, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları A.D. Öğretim Üyesi Yrd. Doç. Dr. Ali ATAŞ' a ve son olarak da, her zaman yanımda olan ve beni destekleyen anneme, babama, hayatıma girdiği günden beri daima yanımda olup her konuda bana destek olan eşim sayın Dr. Hasan ATBİNİCİ' ye en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Şükran (MENEK) ATBİNİCİ  
Şanlıurfa- 2009

## KISALTMALAR

AÇSAP	: Ana-çocuk sağlığı ve aile planlaması
DEA	: Demir Eksikliği Anemisi
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
Fe	: Demir
Hb	: Hemoglobin
HCL	: Hidroklorik Asit
Hct	: Hematokrit
KC	: Karaciğer
MCH	: Ortalama eritrosit hemoglobini
MCHC	: Korpüsküler hemoglobinin konsantrasyonu
MCV	: Ortalama eritrosit hacmi
PA	: Pernisiyöz anemi
RDA	: Önerilen Günlük Miktar
TAK(TAS)	: Total Antioksidan kapasite
TDBK (UIBC)	: Total Demir Bağlama Kapasitesi
TOS	: Total Oksidatif Stres
O <sub>2</sub>	: Oksijen
OSİ	: Oksidatif Stres İndeksi
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

## İÇİNDEKİLER

GİRİŞ VE AMAÇ	1
GENEL BİLGİLER	3
ANEMİ	3
ANEMİ SINIFLANDIRMASI	5
DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİ	8
Tanımı ve tarihçesi	8
İnsidans	9
Etyoloji	9
Patogenezi	10
Demir metabolizması	11
Demir gereksinimi	12
Vücuda demirin sağlanması	13
Demir emilimi	14
Demir eksikliği anemisinin nedenleri	16
MEGALOBLASTİK ANEMİ	17
Vitamin B12 eksikliği	20
Folat eksikliği	22
ANEMİNİN KLİNİK SEMPTOMLARI	23
ANEMİNİN GENEL MUAYENE BULGULARI	25
GEBELİKTE HEMATOLOJİK DEĞİŞİKLİKLER	26
GEBELİK ANEMİLERİ	28
Fizyolojik gebelik anemisi	28

Gebelikte anemi tipleri	29
Gebelerde demir eksikliği anemisi	30
Gebelikte megaloblastik anemiler	32
OKSİDATİF STRES ve TOTAL ANTİOKSİDAN KAPASİTE	36
Serbest O <sub>2</sub> radikalleri	37
Serbest O <sub>2</sub> radikalleri Serbest O <sub>2</sub> radikallerinin hücreye zararlı etkileri	41
Serbest O <sub>2</sub> radikallerine karşı savunma mekanizmaları	44
Total antioksidan kapasite	48
Anemi ve oksidatif stres	49
Anemi ve DNA hasarı	49
MATERYAL ve METOD	50
BULGULAR	56
TARTIŞMA	63
SONUÇ ve ÖNERİLER	68
KAYNAKLAR	69

## TABLolar DİZİNİ

**Tablo 1:** Demir eksikliğinin gelişim evreleri

**Tablo 2:** Erişkindeki demir kompartımanları

**Tablo 3 :** Günlük besinsel demir gereksinimi

**Tablo 4 :**Demir emilimini etkileyen faktörler

**Tablo 5:** Demir eksikliği nedenleri

**Tablo 6:** Hipokrom Anemilerin Ayırıcı Tanısı

**Tablo 7:**Megaloblastik anemi tipleri

**Tablo 8:**Oksijen türevi bileşikler

**Tablo 9:** Gebelerin gruplar arası yaş ve gravida sayılarının karşılaştırılması

**Tablo 10:** Fe preparatı kullanan ve kullanmayan gebelerin DNA hasarı, oksidatif stres parametreleri ve diğer değerlerin karşılaştırılması

## ŞEKİLLER DİZİNİ

**Şekil 1:** DNA'daki farklı derecedeki hasarların elektroforez migrasyonu sonucu fleuresan mikroskop altındaki görüntüleri

**Şekil 2:** +2, +3 Fe preparatı kullanan ve kullanmayan gebelerin DNA hasarı düzeyleri

**Şekil 3:** +2, +3 Fe preparatı kullanan ve kullanmayan gebelerin TAK düzeyleri

**Şekil 4:** +2, +3 Fe preparatı kullanan ve kullanmayan gebelerin TOS düzeyleri

**Şekil 5:** +2, +3 Fe preparatı kullanan ve kullanmayan gebelerin OSI düzeyleri

## ÖZET

### +2 ve +3 DEĞERLİKLİ DEMİR KULLANAN HAMİLELERDE DNA HASARININ, SAĞLIKLI BENZER KONTROL GRUBU VE KENDİ ARASINDA KARŞILAŞTIRILMASI

Dr. Şükran (MENEK) ATBİNİCİ  
Aile Hekimliği, Uzmanlık Tezi

Bu çalışmada +2, +3 değerlikli demir preparatı kullanan ve demir preparatı kullanmayan gebelerde mononükleer lökosit DNA hasarı ve oksidatif metabolizmanın değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Çalışmaya 27 tane +2 Fe preparatı kullanan (Grup 1), 32 tane +3 Fe preparatı kullanan (Grup 2) ve 32 tane Fe preparatı kullanmayan (Grup 3) gebe dahil edildi. Çalışmaya yaş ve gravida sayıları benzer olanlar alındı. Çalışmaya dahil edilen olgulardan usulüne uygun olarak alınan serum örneklerinde mononükleer lökosit DNA hasarı, toplam antioksidan seviyesi (TAS) ve toplam oksidan seviyesi (TOS) Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Laboratuvarı'nda çalışıldı ve oksidatif stres indeksi (OSİ) hesaplandı. DNA hasar düzeyi Grup 1 de, Grup2 ve 3'e göre anlamlı yüksek bulundu. DNA hasar düzeyi; Grup 1'de en yüksek, Grup 2'de ikinci olarak yüksek, Grup 3'de ise en düşüktü. TAS, Grup1 ve 2'de birbirine yakın Grup 3'de belirgin artmıştı. TOS değerleri; Grup 1 de grup 2 ye nazaran daha yüksek değerler izlenirken, Grup 3 de daha düşüktü. Tüm bunlara paralel olarak OSI Grup 2'de en yüksek, Grup 1'de ikinci yüksek ve Grup 3'de en düşük olarak belirlendi. Çalışmaya katılan gebelerin sadece %7,6' sında anemi tespit edildi. Bu çalışmaya göre gebelerde profilaktik demir kullanımı; DNA hasarına, TOS'un artması ve TAS'ın düşmesine buna bağlı olarak da OSİ değerinin yükselmesine neden olmaktadır.

**Anahtar Kelimeler:** Gebelik, Mononükleer lökosit DNA hasarı, Toplam oksidan seviye, Toplam antioksidan seviye, Oksidatif stres



## ABSTRACT

### COMPARITION DNA DAMAGE IN PREGNANT WHO USED WITH VALANCE +2, +3 IRON, SIMILAR HEALTY CONTROL GROUP AND BETWEEN THEM

Dr. Şükran (MENEK) ATBİNİCİ

Family Physician, Residency Thesis

In this study, we aimed to evaluate mononuclear leukocyte DNA damage and the oxidative metabolism, in pregnant that used +2 and +3 iron or not used. There were 27 pregnant women using valance +2 iron (Group 1), 32 pregnant women using valance +3 iron (Group 2) and 32 pregnant women who not used iron (Group 3) in this study. Those numbers are similar in the study were age and gravida. Blood samples were taken from enrolled subjects in appropriate way and mononuclear DNA damage, total antioxidant status (TAS) and total oxidant status (TOS) were studied in Biochemistry Laboratories of Harran University Medical Faculty, and oxidative stress index (OSI) was calculated. Group 1, the level of DNA damage were significantly higher than Group 2 and 3. DNA damage level, the highest in Group 1, Group 2, the second highest, while the lowest was in Group 3. TAS, Group1 and 2 close to each other in Group 3 had increased significantly. TOS values, higher values compared to Group 1, Group 2 is being monitored, were lower in Group 3. All this in parallel with the highest OSI Group 2, the second highest in Group 1 and Group 3 was determined as the lowest. We found anemia only 7.6 % of pregnant. According to this study, there was more DNA damage and oxidative balance was broken in groups used iron in two-way as increased TOS and decreased TAS. Our findings show that using prophylactic iron increased DNA damage, oxidative stress in pregnant women.

**Key words:** Pregnancy, Mononuclear leukocyte DNA damage, Total oxidant status, Total antioxidant status, Oxidative stress index

## 1-GİRİŞ VE AMAÇ

Demir eksikliği toplumda sık görülen, tanı ve tedavisi kolay olan, tedavi edilmediği takdirde gittikçe artan düzeyde yaşam kalitesinde düşmeye neden olan bir hastalıktır. Bazı durumlarda vücudun demir ihtiyacı artar. Gebelik bu durumlardan biridir. Bu nedenle Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniklerinde sıklıkla tüm gebelere hemoglobin, ferritin ve transferrin seviyelerine bakılmadan profilaktik demir verilmektedir. Ferritin ve transferrin depoları dolu olan kişilerde alınan demir serbest demir ( $Fe^{+2}$ ) şeklinde vücutta yer alır. Serbest demir ise Fenton reaksiyonu ile hidroksil radikal oluşturarak DNA hasarına neden olur. Bir çalışmada, serbest  $Fe^{+2}$  sitratla indükte edilmiş mitokondriyal membranlarda lipid peroksidasyonu ile mitokondriyal DNA hasarına neden olduğu gösterilmiştir (1). Diğer bir çalışmada (2) serbest  $Fe^{+3}$  varlığında methyglyoxal ile aminoasit reaksiyonu sonucu DNA da oksidatif hasar gösterilmiştir.

Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre dünya nüfusunun yaklaşık %30'unun, dünyadaki gebe kadınların ise yarısından fazlasının anemik olduğu tahmin edilmektedir (3). Dünyadaki tüm kadınların 1/3'ünden fazlasında da anemi vardır. Bu nedenle anemi, kadın sağlığı ve gebe sağlığı açısından çok önemle ele alınması gereken bir sorundur.

Gebelikte oluşan hemodilüsyon, hemoglobin konsantrasyonunu azaltır. Anemi, birinci ve ikinci trimesterlerde hemoglobin 11 g/dl, hematokrit %33 altında olması, üçüncü trimesterde hemoglobin 10.5 g/dl, hematokrit %32 altında olması şeklinde tanımlanmıştır. Ciddi anemi anne ölümlerinde beş kat artışa yol açmaktadır. Anemik annelerde, doğum veya gebelik kayıpları sırasındaki düşük düzeylerdeki kan kayıpları ciddi sonuçlara hatta kalp yetmezliği gelişmesi ile anne ölümlerine yol açabilir. Anemi ayrıca annenin genel sağlığını bozarak kendiliğinden düşük, preterm eylem, postpartum kanama ve puerperal sepsis riskini artırır (3,4,5).

Bu çalışma, demir preparatı kullanan gebelerde DNA hasarı ve oksidatif durumu araştırmak amacıyla Harran Üniversitesi Araştırma ve Uygulama Hastanesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Polikliniğine başvuran  $Fe^{+2}$  kullanan 27 gebe,  $Fe^{+3}$  kullanan 32 gebe ve demir preparatı kullanmayan 32 gebe olmak üzere toplam 91 gebe üzerinde yapıldı. Klinik olarak tüm hastalar detaylı bir şekilde genel fizik muayeneden geçirildi. Pasif veya aktif sigara kullanan ve sistemik hastalığı olan gebeler çalışmaya dahil edilmedi.  $Fe^{+2}$  ve  $Fe^{+3}$  kullanan gebeler ile kullanmayan gebelerde alınan venöz kandan mononükleer lökositler izole edilerek DNA hasarı, plazma total oksidatif durum (TOS), total antioksidatif durum (TAS), ayrıca demir, demir bağlama, transferin düzeyleri ile ferritin, B12 vit ve folik asit düzeyleri çalışıldı.

## **2-GENEL BİLGİLER**

### **2.1.Anemi**

Periferik kandaki hemoglobin miktarının, hastanın yaş ve cins için bildirilen normal referans değerinin altına inmesi haline anemi denir. Hemoglobin değerinin iki standart derivasyon altında olması şeklinde de tanımlanabilir.

Referans değerleri sağlıklı bir grup hastanın hemoglobin (Hb) veya hematokrit (Hct) değerlerine göre belirlenmiş ve toplumun %95'ini içine alan değerlerin bulunduğu aralık olarak tanımlanmıştır. Hb ve hct değerleri yaş ve cinse göre değişiklik gösterdiğinden referans aralık belirlenirken bu parametrelere göre düzeltme yapılmalıdır (6).

Eritrositler, vücutta her organa oksijen taşırlar ve karbondioksitin akciğer yoluyla dışarı atılmasını sağlarlar. Eritrosit, bu amaç için uyarlanmıştır. Bikonkav disk şekli, gaz alışverişi için zar düzeyini en üst düzeyde arttırmaya yaramakta, iskelet ve zar yapısı, mikro damarları geçebilmesi için yeterli esneklikte olmaktadır. Eritrosit istirahat halindeki çaplarının dörtte bir çapındaki kapillerden geçiş; zardaki protein (bant3, glikoforin) ile eritrosit iskeletini oluşturan alttaki sitoplazmik proteinlerin (spektrin, ankin, protein 4,1) etkileşimleriyle olanaklı olmaktadır (7-9).

Olgun eritrositlerde çekirdek bulunmamaktadır ve yaşamları, çekirdek atılmadan ve periferik dolaşıma salınmadan önce sentezlenen proteinlere dayanmaktadır. Olgun bir eritrositin sitoplazmik proteinin %98'i hemoglobin, kalanı ise anaerobik metabolizma ve heksoz monofosfat şantı için gerekli olan enzimatik proteinlerden oluşmuştur (8,9).

### **Hemoglobin Tayini**

Hb(normal değeri 11-17g/dL), oksihemoglobin, karboksihemoglobin, methemoglobin şeklinde olan tüm hemoglobinin stabil Hb derivesi olan syanmethemoglobin haline çevrilmesi ve fotometrede 540 nm'de absorbansın okunması ile tayin edilir. Bu amaçla kan örneği Drabkin solüsyonu (potasyum ferrisyanid, potasyumsyanid) ile karıştırılır. Hb tayin hatası dilüsyondan veya renk yoğunluğu ölçümünden kaynaklanabileceği gibi yüksek

konsantrasyonda paraprotein ve lipid varlığı, periferde normoblastların varlığı Hb değerinin yüksek okunmasına neden olur (6,7,8).

### **Hematokrit Tayini**

Kan örneğinde eritrositlerin kapladığı toplam hacmin örnek hacminin bütününe oranıdır. Manuel kan sayımı yöntemleri arasında hata payı en az olan tetkik, kapiller tüplerle hct tayinidir. Otomatik kan sayım cihazları ise hct değerini doğrudan ölçümle değil MCV ve eritrosit sayımından faydalanarak hesaplarlar. Hct normal değeri %35-53.7'dir (6,7,8).

### **Eritrosit Sayımı**

Manuel sayımda hata payı yüksek olduğundan, otomatize yöntemlerle saymak gerekir. Belirgin lökositöz varlığında sayımda hata olabilir. Eritrositlerin normal sayısı mm<sup>3</sup> de 4.04-6.13 milyondur (6,7,8).

### **MCV (Mean Corpuscular Volume: Ortalama Eritrosit Hacmi- OEH)**

MCV eritrositlerin ortalama hacimlerini gösterir. Anemi sınıflandırılmasında önem taşır. Erişkinlerde normal değeri 80-100 fentolitredir (fL). Otomatize yöntemlerde doğru bir şekilde ölçülürken eritrosit ve Hct değeri bilinen bir kişide MCV:  $Hct \times 1000 / \text{Eritrosit sayısı}$  formülü ile hesaplanabilir. Soğuk aglutinin hastalığında hatalı yanlış yüksek değerlere rastlanabileceği gibi belirgin hiperglisemilerde (kan şekeri > 600 mg/dl) eritrositlerin şişmesi nedeniyle yanlış yüksek değerler görülebilir (6,7,8).

### **MCH (Mean Corpuscular Hemoglobin: Ortalama Eritrosit Hemoglobini- OEHb)**

Eritrositlerin içerdiği ortalama hemoglobin miktarını verir. Normal değeri 30-34 pikogramdır (pg). Mikrositik eritrositlerin taşıdığı hemoglobin miktarı da az olacağından MCV ile paralel seyreder. MCH:  $Hgb \times 10 / \text{Eritrosit sayısı}$  formülü ile hesaplanabilir. Pikogram ile ifade edilir (6,7,8).

### **MCHC (Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration: Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu- OEHK)**

Eritrositlerdeki hemoglobin miktarının yüzde olarak ifadesidir. Bir eritrosit büyüklüğü ne olursa olsun içindeki hemoglobin miktarı %30-36 arasındadır. MCHC bu özelliğinden

faýdalanýlarak kan sayýmy cihazlarýnda kontrol parametresi olarak kullanýlýr. Herediter sferositozda MCHC ýükselir.

MCHC (%):  $Hgb \times 100/Hct$  formýlý ile hesaplanabilir (6,7,8).

### **RDW (Red Cell Distribution Width)**

Eritrosit büyüklüklerinin dağılım genişliğini (anisositoz) verir. RDW-CV (coefficient variation) ve RDW-SD (standart deviation) olarak iki şekilde ifade edilebilir. Örnekteki eritrositlerin eritrosit volüm heterogenitesini ortaya koyar. Mikrositer anemili bazı hastalarda demir eksikliği anemisi ile talasemi ayırımında yardımcı olabilir (6,7,8).

### **Anemilerin Sınıflandırılması**

Anemiler morfolojik ve etyopatogenetik olarak sınıflandırılır. Pratikte daha çok morfolojik sınıflandırmadan yararlanılır(7,9).

### **Morfolojik Sınıflandırma**

Anemiler OEH (ortalama eritrosit hacmi = mean corpuscular volume - MCV) ve eritrosit morfolojisine dayanılarak üç morfolojik tipe ayrılır.

#### **I. Normositik Anemiler**

Normositik anemilerde OEH normal sınırlar içerisindedir (OEH: 80-100 fL). Normositik anemi nedenleri:

- Akut kanama anemisi
- Hemolitik anemiler (talasemi'ler hariç)
- Aplastik anemi
- Saf kırmızı dizi aplazisi
- Kemik iliğini infiltre eden hastalıklar (lösemiler, lenfomalar, multiple myeloma, myelofibroz, kanser metastazları vb)
- Endokrin hastalıklar
- Böbrek yetmezliği
- Karaciğer hastalıkları
- Kronik hastalıklar anemisi
- Protein malnütrisyonu
- Skorbüt

## **II. Mikrositik Anemiler**

Mikrositik anemilerde OEH azalmıştır. (OEH < 80 fL). Mikrositik anemiler genellikle hipokromiktir. Mikrositik anemi nedenleri:

- Demir eksikliği anemisi
- Talasemi
- Sideroblastik anemiler
- Kurşun zehirlenmesi
- Kronik hastalıklar anemisi (bazen)

## **III. Makrositik Anemiler**

Makrositik anemilerde OEH artmıştır. (OEH > 100 fL). Makrositik anemiler megaloblastik anemiler ve non-megaloblastik makrositik anemiler olmak üzere ikiye ayrılır.

### **1. Megaloblastik anemiler**

Bu anemilerde kemik iliği megaloblastik özellik gösterir. Çevresel kanda görülen makrositlerin çoğu ovaldır (ovalomakrositoz).

#### **Megaloblastik anemi nedenleri:**

- B12 vitamini eksikliğine bağlı anemiler.
- Folik asit eksikliğine bağlı anemiler

### **2. Nonmegaloblastik makrositik anemiler**

Bu anemilerde kemik iliğinde normoblastik tipte bir eritropoez vardır. Çevresel kanda görülen makrositler yuvarlaktır. Non-megaloblastik makrositik anemiye yol açan hastalıklar çoğu kez normositik, bazen de makrositik anemiye neden olurlar. Burada saptanan makrositoz genellikle hafiftir.

#### **Non-megaloblastik makrositik anemi nedenleri:**

- Akut kanama anemisi
- Hemolitik anemiler
- Lösemiler, özellikle akut lösemiler
- Myelodisplastik sendromlar
- Karaciğer hastalığı
- Aplastik anemi

- Kemik iliğini infiltre eden hastalıklar (lenfomalar, multipl myeloma, myelofibroz, kanser metastazları vb)
- Alkolizm
- Hipotiroidi
- Skorbüt

### **Etyopatogenetik Sınıflandırma**

Anemiler etyopatogenetik olarak da üçe ayrılır.

- I. Kan kaybı,
- II. Eritrosit yapımında azalma,
- III. Eritrosit yıkımında artma.

#### **I. Kan Kaybı**

- Akut kanama anemisi

#### **II. Eritrosit Yapımında Azalma**

1. Hemoglobin sentezinde bozukluk (mikrositik anemiler)
  - Demir eksikliği anemisi
  - Talasemiler
  - Sideroblastik anemiler
  - Kurşun zehirlenmesi
2. DNA sentezinde bozukluk (megaloblastik anemiler)
  - B12 vitamini eksikliğine bağlı anemiler.
  - Folik asit eksikliğine bağlı anemiler
  - Diğerleri
3. Pluripotent kök hücrede bozukluk
  - Aplastik anemi
  - Lösemi ve myelodisplastik sendromların anemisi
4. Eritroid kök hücrede bozukluk
  - Saf kırmızı dizi aplazisi
  - Kronik böbrek yetmezliği anemisi
  - Endokrin hastalıklarda görülen anemiler



- Konjenital diseritropoetik anemiler
5. Eritropoetik regülasyonda bozukluk
- Düşük oksijen affiniteli hemoglobinopatiler
6. Bilinmeyen ya da multipl mekanizmalar
- Kronik hastalıklar anemisi
  - Kemik iliği infiltrasyonuna bağlı anemiler
  - Nutrisyonel eksikliklere bağlı anemiler (demir, B12 vitamini ve folik asit eksikliği dışında)

### **III. Eritrosit Yıkımında Artma (Hemolitik Anemiler)**

- Eritrosit içi bozukluklara bağlı hemolitik anemiler (intrakorpüsküler hemolitik anemiler)
- Eritrosit dışı bozukluklara bağlı hemolitik anemiler (ekstrakorpüsküler hemolitik anemiler)

#### **Demir Eksikliği Anemisi**

##### **Tanım ve tarihçe**

Demir insanoglu için hayati önemi olan bir elementtir. Demir yokluğunun yaşayla bağdaşması düşünülemez. Nasıl ki doğada her şey ince bir dengeyle yaratılmışsa vücuttaki demir dengesi de hassas ölçülerle tayin edilmiştir. Demirin ne azlığı ne de fazlalığı istenilen bir durumdur. Demir eksikliği anemisinin klinik belirtilerinin çok eski zamanlarda tanımlandığı anlaşılmıştır. Günümüze kadar gelmiş en eski el yazması olan Mısır tedavi el kitabı: Papirus Ebers'de M.Ö. 1500'lerde solukluk, dispne ve ödemle karakterize bir hastalık tarif edilmiştir. Ortaçağ tarihçileri bu eski zamanlardan kalma ancylostomal anemiye demir eksikliğinin bir formu olarak tanımlamışlardır. 16.yy ortalarından sonra chlorosis ya da yeşil hastalık olarak Avrupalı bilim adamları tarafından çok iyi biliniyordu. Fransa'da 17.yy'ın ortalarında bu hastalığın tedavisinde demir tuzları kullanılmaya başlandı. Çok geçmeden demir Sydenham tarafından chlorosisin spesifik tedavisi olarak önerildi. 1830–1930 yılları arasında 100 yıl boyunca chlorosis tedavisinde etkili olmayan dozlarda demir kullanıldı. 20. yüzyılın başında chlorosisin kandaki demir miktarının düşmesi ve hipokromik eritrositlerin ortaya çıkması ile karakterize olduğu saptandı (10). Demir eksikliği ve demir metabolizması ile ilgili esas çalışmalar bu yüzyılda yapılmıştır.

**Demir eksikliği:** Vücuttaki demir miktarının normalden daha az olması durumudur.

Demir depleasyonu: Demir eksikliğinin en erken safhasıdır. Bu safhada depo demiri azalmıştır ya da tükenmiştir. Fakat serum demir konsantrasyonu ve kan hemoglobin seviyesi normaldir.

Anemi olmadan demir eksikliği: Azalmış veya tükenmiş depo demiri, genellikle düşük serum demir konsantrasyonu ve transferrin saturasyonu ile karakterizedir.

Demir eksikliği anemisi: Azalmış ya da tükenmiş demir depoları, düşük serum demir düzeyi, düşük transferrin saturasyonu, düşük hemoglobin konsantrasyonu ve hematokrit değeri ile karakterizedir (11).

Nadir durumlarda (paroksizmal nokturnal hemoglobinüri, idiyopatik pulmoner hemosiderozis gibi) demir depleasyonu olmadan demir eksikliği anemisi oluşabilir.

### **İnsidans:**

Demir eksikliği anemisi muhtemelen dünyada en sık görülen anemi şeklidir. Her yaşta ve bütün sosyoekonomik gruplarda görülmekle birlikte çocuklarda ve gençlerde, fakir diyetle beslenenlerde ve doğurganlık çağındaki kadınlarda daha sıktır (11, 12, 13). Dünya sağlık örgütünün verilerine göre; demir eksikliği anemisi dünya nüfusunun %30'unu (yaklaşık 1,3 milyar insanı) etkilemektedir. Okul öncesi çocukların yaklaşık %43'ü, okul çağı çocuklarının %37'si ve gebe kadınların %51'i anemiktir. Kadınların %50'sinde ve gebelerin %90'ında henüz anemi başlamamış olmakla beraber demir depolarının ileri derecede azaldığı (demir eksikliği) saptanmıştır (13). Yapılan bir çalışmada demir verilen gebelerin %93' nün kan hemoglobin konsantrasyonunun 11g/dl'nin üzerinde olduğu ve plasebo alan gebelerin sadece %42'sinde bu kan hemoglobin seviyesi elde edilmiştir (11). Erkeklerde ve postmenapozal kadınlarda demir eksikliği anemisi % 2–5 oranında görülür ve daha çok GİS kanaması ve malabsorbsiyona bağlı olarak gelişir (14).

### **Etyoloji:**

Demir eksikliği diyetle yetersiz demir alımına, demir malabsorbsiyonuna, kronik kan kaybına, gebelikte ve emzirme döneminde demirin fetus ve infant eritropoezi için kullanılmasına, hemoglobinüri ile birlikte intravasküler hemolize ya da bütün bu faktörlerin kombinasyonuna bağlı olarak gelişebilir (11).

### Patogenez:

Kemik iliğinde hemoglobin sentezi için gereken demir miktarı yetersiz olduğu zaman demir eksikliği anemisi gelişir. Kan kaybı, artan ihtiyaç veya emilim bozukluğu nedeniyle demir eksikliği meydana geldiğinde depolardaki demirin mobilize olması ile bu eksiklik giderilir ve hemoglobin yapımı için gerekli demir sağlanmış olur. Dokulardaki demir depoları boşaldığı zaman, kemik iliğinde hemoglobin sentezi için gerekli demir miktarı yetersiz hale gelir ve hipokrom mikrositer anemi gelişir.

Demir eksikliği anemisinin patogenezinde başlıca üç faktör rol oynar:

1. Fizyolojik olarak artan demir ihtiyacı
2. Kanamalara bağlı kan kaybı
3. Yetersiz demir alımı (13).

Tablo 1’de demir eksikliğinin gelişim evreleri serum değerlerindeki değişiklikler özetlenmiştir (15).

Tablo 1 Demir eksikliğinin gelişim evreleri

	Normal dönem	Prelatent dönem	Latent dönem	Demir eksikliği Erken dönem	Demir eksikliği Geç dönem
Serum ferritin	N	Düşük	<12	<12	<12
Transferin saturasyonu	N	Düşük	<16	<16	<16
FEP	N	N	Yüksek	Yüksek	Yüksek
Hb	N	N	N	8-14	<8
MCV	N	N	N	N, düşük	Düşük
İlik demiri	N	Düşük	-	-	-

FEP: eritrosit serbest protoporfirini, N: normal

### **Demir metabolizması:**

Demir tüm hücreler için gerekli olan esansiyel bir elementtir. En önemli görevi hemoglobin aracılığı ile oksijen taşımaktır. Demir; ferröz ( $Fe^{++}$ ) ve ferrik ( $Fe^{+++}$ ) durumlar arasında birbirine dönüşme özelliği nedeni ile oksijenasyon, hidroksilasyon ve benzeri birçok metabolik olayı katabolize eder.

Hemoglobindeki demirin fonksiyonu dokulara oksijen taşımaktır. Hemoglobin dört globin zincirinden oluşan tetramerdir. Her globin zinciri bir demir atomu içeren hem grubuna bağlıdır. Hemoglobinin molekül ağırlığı 66000 daltondur. Eritrosit proteininin %95'ini hemoglobin oluşturur. Myoglobindeki demir kas kontraksiyonu sırasında oksijenizasyonu sağlar (16).

Normal erişkin bir insanda toplam vücut demiri yaklaşık olarak 4gr (3-5gr) civarındadır. Bunun, %60–70 kadarı, yani 2,5 gramı hemoglobinde, 1–1,5 gramı (%20-30) ferritin ve hemosiderin halinde depo demiri olarak başlıca kemik iliği, karaciğer ve dalak olmak üzere retikuloendotelyal sistem organlarında, 0,3–0,5 gramı (%10) myoglobin ve hücre solunumu ile ilgili enzimlerde doku demiri halinde ve 3–4 mg kadarı da plazma transport demiri şeklinde plazmada bulunur. Erişkin kadınlarda hemoglobin demiri ile depo demiri miktarı erkeklerden %15–30 kadar daha azdır (13).

Miadında doğan bebeklerin organizmasında yaklaşık 75 mg/kg demir bulunur. Erişkinlerde bu miktar daha düşüktür (erkeklerde 50 mg/kg, kadınlarda 35–40 mg/kg) (12, 17, 18). Erişkin bir insanda demirin vücuttaki dağılımı Tablo 2'de gösterilmiştir (13).

Memelilerde demir emilimi, intestinal emilim düzeyinde denetlenerek sağlanmaktadır. Diyet demirin %10'u duodenumdan emilir. Günde 1-2 mg demir emilir ve 1-2 mg demir dışkıyla atılır. Organik demir, hem ve globuline ayrılmış şekilde emilir ve emilimi için düşük PH, askorbik asit, sitrik aside gereksinimi yoktur. Besinlerde bulunan demir, bağlayıcılardan da etkilenmez. Sadece kalsiyumun emilimini olumsuz olarak etkilediği gösterilmiştir. Hem demiri ferroz formdadır ( $Fe^{+2}$ ). Hem dışı (inorganik) demir çoğu ferrik formdadır( $Fe^{+3}$ ).  $Fe^{+3}$  duodenumda askorbat redüktazlarla  $Fe^{+2}$  ye dönüştürülür. Ferroportin organizmada bilinen tek demir atıcısıdır. Normal şartlarda hücreler transferrin reseptörleriyle demiri transferinden

alırlar. Transferinin demirle saturasyonu %30 dolaylarındadır. Transferinin kapasitesi dolduğunda plazmada serbest demir oluşur. Bu demir özellikle KC ve kalp hücrelerine kolaylıkla girerek hücresele düzeyde hasar yapabilir (19).

Hepsidin KC'den sentezlenen antimikrobiyal özelliği olan demir deposunu düzenleyen bir hormondur. İnce bağırsaklardan demir emilimi, yaşlı makrofajlardan demir çıkışını ve hepatik depolardan demir mobilizasyonunu azaltır. Diyetle fazla demir alındığında duodenal enterositlerden plazmaya fazla demir çıkışını da kısıtlamaktadır. Antiinflamatuvar ve antimikrobik etkinliğini mikroorganizmanın demir kullanımını engelleyerek sağlar. Hepsidin reseptörü bir bazolateral transmembran proteini olan ferroportindir. Aşırı üretilmesi anemiye, olmaması demir birikimine neden olur. Organizmaya demir yüklenmesi ve inflamasyon durumlarında hepsidin sentezi artar. Kronik inflamatuvar hastalıklarda oluşan aneminin etyolojisi bu şekilde açıklanabilir (19).

### **Demir gereksinimi:**

Demir fizyolojik olaylarda kullanılmak üzere her gün belli miktarlarda alınması zorunlu bir mineraldir. Normal günlük bir diyetle 10–20 mg demir bulunur. Diyetle alınan bu demirin ancak %5–10'u barsaklardan emilir (13,15,18,20). Erişkinlerde ki demir kompartımanları Tablo 2' de görülmektedir. Tablo 3'te günlük diyetle bulunması gereken demir miktarları görülmektedir (15).

### **Vücuda demirin sağlanması**

Hemoglobin ve diğer demir içeren proteinlerin üretiminde kullanılan demir, ya gıdalar ile ya da demirin yeniden kullanıma sunulması ile sağlanmaktadır. Gıdanın içeriğine göre demir içeriği de değişmektedir. Gıdalar içerisinde demir "hem" ve/veya "hem olmayan demir"(nonhem- inorganik) olarak bulunmaktadır. Hem bileşiği içindeki demirin (örneğin; kırmızı etteki demir) emilimi hem olmayan bileşikler içerisindeki demirden (örneğin ıspanaktaki demir) daha iyidir. Hem; gastrik asiditeden ve gıdalardaki kompozisyonundan etkilenmeden emilir. Mukozada demir hem'den ayrılır ve mukoza hücrelerinden doğrudan plazmaya geçer. İnorganik demirin çoğu ferrik (Fe<sup>+++</sup>) iyon şeklindedir (17,18). Az miktardaki ferro (Fe<sup>++</sup>) şeklindeki demir ise hava ile hemen feri (Fe<sup>+++</sup>) şekline okside olur (21).

**Tablo 2 Erişkindeki demir kompartımanları**

---

**Kompartımanlar**      **Demir**      **konsantrasyonları**

***1.Fonksiyonel demir***      **Erkeklerde**      **Kadınlarda**

**Hemoglobin**      31 mg/kg      28 mg/kg

**Myoglobin**      5 mg/kg      5 mg/kg

**Hem enzimleri**      1 mg/kg      1 mg/kg

**Non-hem enzimleri**      1 mg/kg      1 mg/kg

***2. Transport demir***

**Transferin**      <1(0,2)mg/kg      <1(0,2)mg/kg

***3. Depo demir***

**Ferritin**      8 mg/kg      4 mg/kg

**Hemosiderin**      4 mg/kg      2 mg/kg

---

**Tablo 3 Günlük besinsel demir gereksinimi**

Erkek	1 mg
Kadın	2-3 mg
Reproduktif yaştaki	2-3 mg
Gebeler	3-4 mg

**Demirin emilimi:**

Vücuttaki demir dengesinin regülasyonunda emilimin atılımdan daha büyük bir rolü vardır (22). Gastrointestinal yolun tamamı demir absorbe etme yeteneğine sahiptir. Fakat en fazla emilim duodenumda ve jejunumun proksimal kısımlarında olur. Demir ferro ( $Fe^{++}$ ) halinde kolaylıkla emilir. Ancak besinlerle alınan demirin çoğu (%90) ferri ( $Fe^{+++}$ ) şeklindedir. Ferik demir  $pH > 2$  olan ortamlarda çözünemez ve biyoyararlanımı söz konusu olmaz. Mideden demir emilimi çok az düzeydedir. Ancak mide sekresyonları demiri çözündürür ve  $Fe^{++}$  şekline indirgenmesini sağlayan askorbik asit ve diğer maddelerle çözülebilen kompleksler haline gelmesini sağlar (15, 21, 23, 24).

Emilebilecek demir miktarını etkileyen çeşitli faktörler vardır. Askorbik asit, sitrat ve diğer organik asitler  $Fe^{+++}$  ile çözünür şelatlar oluşturup absorpsiyona yardımcı olurken; fitat, tannat, oksalatlar ve antiasitler demir ile reaksiyona girerek ince barsakta suda çözünmeyen (dönüşümsüz) şelatlar oluştururlar ve böylece absorpsiyonu olumsuz etkilerler (15,21,24). Pankreatik sıvılar ise demir emilimini inhibe ederler (21). Tablo 4’te demir emilimini etkileyen faktörler ayrıntılı olarak gösterilmiştir (25).

Demirin büyük kısmı ince barsağın üst kısmından emilir. Diğer mukoza hücreleri de demir taşıyabilirler ancak emilime uygun hücrelerin büyük bölümü duodenum ve jejunumun proksimal kısmındadır. Mukoza hücreleri bir hücre içi demir taşıyıcısı içerir. Demirin bir kısmı taşıyıcıdan mitokondrilere verilirken kalan kısım mukoza hücrelerindeki apoferritin ile plazmadaki demir taşıyan bir polipeptit olan transferine paylaşılır.

**Tablo 4 Demir emilimini etkileyen faktörler**

	<b>Emilimi Artıranlar</b>	<b>Emilimi Azaltanlar</b>
<b><i>Demir içeriği</i></b>		
Demir formu	Hem demiri Uygun demir tuzu Demir eksikliği	enterik kaplı kapsüller
<b><i>İntralüminal faktörler</i></b>		
İntestinal sekresyon	Hidroklorik asit	Aklorhidri
Mide içeriği	Safra, intrinsik faktör	Oksalat, fitat, fosfor, karbonat
İntestinal motilite	Askorbik asit ve diğer asitler	Katartikler
Selatör	Sistein, atropin	EDTA,desferraksomin
<b><i>Mukozal faktörler</i></b>		
Hastalık durumu	İntermittan çıkış darlığı	Gastrektomi
Hücreesel	Azalmış mukozal demir	Lipom Kronik diyare (sprue) Artmış mukozal demir
<b><i>Sistemik faktörler</i></b>		
Eritropoez	Akut kan kaybı	Aplastik anemi
Demir ihtiyacı	Hemolitik anemi Hipoksi Gebelik Büyüme Demir eksikliği	Transfüzyon Kemik enfeksiyon Kilo kaybı Talassemi

Apoferritin; molekül ağırlığı yaklaşık 500000 olan globüler bir proteindir. Molekül ağırlığı 18000 olan 24 eş subunitten oluşmuştur. Demir bir ferrihidroksifosfat miçeli oluşturur ve ferritindeki bu alt birimler oluşan miçeli çevreler. Bir ferritin molekülü 4500 adet demir atomu içerebilir (10, 26, 27). Diğer birçok dokuda bulunan apoferritin demir ile birleşerek ferritini yapar. İnce barsak hücrelerinde ferritine bağlı demir bu hücrelerin yaşamları sona erdiğinde barsağa dökülmesi ile kaybedilir ve dışkı ile atılır (21).



### **Demir eksikliği anemisinin nedenleri:**

Artmış fizyolojik demir gereksiniminin karşılanamadığı ya da demir dengesini olumsuz yönde etkileyen patolojik faktörlerin varlığında oluşur. Tablo 5’ de demir eksikliği anemisinin nedenleri (15) ve Tablo 6’ da ayırıcı tanısı (10) görülmektedir.

#### **Tablo 5: Demir eksikliği nedenleri**

1-Artmış gereksinim

Gebelik, Süt verme

Gelişme yaşları

2-Artmış demir kaybı

*Reproduktif sistem*

Menoraji-metroraji (İntrauterin kontraseptif aletler)

*Gastrointestinal sistem*

Kanama

Özefajitisi, özefagus varisleri

Hiatal herni

Peptik ülser

İnflamatuvar barsak hastalığı

Hemoroitler

Mide, kolon karsinomları

Hereditör anjiyodisplazi

Hemorajik telenjektazi

Divertikülozis

Parazitozlar

*Üriner sistem*

Kronik böbrek yetmezliği

Hemoglobinüri

Paroksizmal gece hemoglobinürisi

*Kronik kan verenler(donörler)*

*Hemostaz bozuklukları*

*Solunum sistemi*

İdiyopatik pulmoner fibrozis

3-Yetersiz demir alımı

*Besinsel*

Vejetaryen

Yaşlılar

*Emilim bozuklukları*

Aklorhidri

Mide cerrahisi

Çölyak hastalığı

### **Megaloblastik Anemi**

Megaloblastik anemiler makrositozun en sık nedenini oluştururlar ve DNA sentezinde bozukluk sonucu ortaya çıkarlar. MCV artışı saptanan anemili olguların %30-50'sinde vitamin B12, folat veya ikisinin birlikte eksikliği söz konusudur (Tablo 7)(28).

### **Vitamin B12 Eksikliği**

Vitamin B12 veya kobalamin eksikliği yaşlı hastalarda sık olmakla beraber sinsi olduğu için atlanır veya araştırılmaz. Buna karşın komplikasyonların, özellikle de nöropsikiyatrik ve hematolojik önemi nedeni ile tüm yaşlılarda taranması önemlidir (28). Endüstrileşmiş toplumlarda vitamin B12 eksikliği prevalansı yaklaşık %20 (çalışmada kullanılan kriterlere göre %5 ile %60 arasında) olarak bildirilmiştir (28). Framingham çalışmasında yaşlılarda prevalansın %12 olduğu bildirilmiştir (29). Andres ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada 65-98 yaş arası hastalarda %4,8'lik vitamin B12 eksikliği prevalansı tespit etmişlerdir (28).

**Tablo 6: Hipokrom Anemilerin Ayırıcı Tanısı**

	<b>Demir eksikliği</b>	<b>Kronik hastalık anemisi</b>	<b>Talasemi</b>	<b>Sideroblastik anemi</b>
MCV	↓	N,↓	↓↓	N,↓,↑
Serum ferritin	↓	N,↑	N	↑
TDBK	↑	↓	N	N
Transferin sat.	↓	N,↓	N	N,↑
İlik demiri	–	+	+	+
FEP	↑	↑	N	N
HbA2, HbF	N	N	N,↑ beta	N

N:normal, TDBK: total demir bağlama kapasitesi, MCV: ortalama eritrosit hacmi

**Tablo 7: Megaloblastik anemi tipleri**

<b>I. Folat eksikliği</b>	<b>II. Vitamin B12 eksikliği</b>	<b>III. Kombine Folat ve Vitamin B12 eksikliği</b>
<b>A- Alım eksikliği</b>	<b>A- Alım eksikliği</b>	
<u>1.Yetersiz beslenme</u>	Vejetaryen diyetle beslenme	1.Tropikal sprue 2.Gluten enteropatisi
<i>Yaşlılık, alkolizm</i>	<b>B- Emilim eksikliği</b>	
<i>Hiperalimentasyon</i>		<b>IV. Akut megaloblastik anemi</b>
<i>Hemodiyaliz</i>	1.Gastrik nedenler	1.Nitroz oksit anestezisi
<i>Prematüre yeni doğan</i>	<i>Pernisiyöz anemi</i>	2.Ağır hastalık ve zayıf antifolat alımı (ör. trimetoprim)
<i>Sentetik diyetle beslenme</i>	<i>Gastrektomi (total, parsiyel)</i>	3.Diyaliz
<i>Keçi sütü ile beslenme</i>	<i>Kostik madde hasarı</i>	4.Total parenteral beslenme
<u>2.Emilim kusuru</u>	2.İntestinal nedenler	
<i>Non tropikal sprue</i>	<i>İleal rezeksiyon</i>	
<i>Tropikal sprue</i>	<i>Rejyonel enterit</i>	
<i>Barsak(jejunum) rezeksiyonu</i>	<i>Skleroderma</i>	<b>V. Megaloblastik anemi nedeni olan diğer ilaçlar</b>
<i>Diğer incebarsak hastalıkları</i>	<i>Parazitöz(Diphlobotrium latum)</i>	1.Dihidrofolat redüktaz inhibitörleri
	<i>Kör halka sendromu,</i>	2.Purin antagonistleri
	<i>Divertikül,</i>	3.Pirimidin antagonistleri
	<i>Darlık, Anastomoz, Fistül</i>	4.Alkilleyiciler
<b>B- Folat gereksinim artışı</b>	3.Pankreas hastalıkları	5.Zidovudin
Gebelik	4.Disfonksiyonel intrinsek faktör	
Kronik hemolitik anemi	5.Ailevi selektif vitamin B12 Emilim bozukluğu (Imerslund-Gräsbeck send.)	<b>VI. Kalıtsal metabolik boz.</b>
Eksfoliyatif dermatit	6.İlaça bağlı Vit. B12 Emilim eksikliği	1.Orotik asidüri
Myeloproliferatif hastalıklar		2.Lesch-Nyhan sendromu
Hipertiroidi		3.Tiamine yanıtı megaloblastik anemi
<b>C- İlaça bağlı folat eksikliği</b>		4.Transkobalamin II eksikliği
Oral kontraseptifler		5.Homosistinüri, metil malonik asidüri
Bazı antikonvülsan ilaçlar		6.Folat metabolizması enzim eksiklikleri
Triamteren		<i>Metiltetrahidrofolat transferaz</i>
Kolestiramin		<i>Formimino transferaz</i> <i>Dihidrofolat redüktaz</i>

B12 eksikliğinin en sık nedeni, besin-B12 malabsorbsiyonu ve pernisiyöz anemidir (28). Çalışmalarda besin-B12 malabsorbsiyonu B12 eksikliği olan yaşlılarda %60-70, pernisiyöz anemi (PA) ise %15-20 oranında neden olarak saptanmıştır (30). Besin-B12 malabsorbsiyonun primer nedeni atrofik gastrittir. 65-75 yaş aralığında atrofik gastrit sıklığı %33 iken, 80 yaş ve üstünde bu oran %40'a çıkmaktadır. Besin-B12 malabsorbsiyonun diğer nedenleri ise kronik *Helicobacter pylori* taşıyıcılığı, intestinal mikrobiyal çoğalma ve uzun süre biguanid (metformin), antiasit, proton pompa inhibitörleri gibi ilaçların kullanımı; kronik alkolizm, gastrektomi, ekzokrin pankreas yetmezliği ve Sjögren sendromudur. PA'de vitamin B12 eksikliğinin diğer sık nedenlerinden birisidir. PA gastrik mukozanın otoimmün destrüksiyonunun olduğu bir hastalıktır. PA; vitiligo, tiroid bozuklukları, Addison hastalığı ve Sjögren sendromu gibi pek çok otoimmün bozukluk ile ilişkilidir. Ayrıca gastrik adenokarsinom, lenfoma ve karsinoid tümörlerin sıklığı artar. Bu yüzden bu hastalarda her 3-5 yılda bir endoskopik biyopsi yapılmalıdır. Vitamin B12 eksikliğinin diğer nedenleri arasında diyetle eksiklik (<%5) ve herediter kobalamin metabolizma hastalıkları (<%1) yer almaktadır (28).

Vitamin B12 eksikliğinin tanısında en duyarlı ve pratik yöntem, serumda vitamin B12 düzeyinin tespitidir. Galyum, tiroid ve kemik sintigrafisi, eritrosit kitle belirleyicileri ve radyoaktif fosfor tedavisi yanlış negatif düşük seviyelere neden olabilir. Gebelik, folat eksikliği, multipl myelom ve yüksek dozlarda askorbik asit alımının vitamin B12 düzeyini düşürdüğu bildirilmiştir. Eğer serum vitamin B12 düzeyleri normalden düşük bulunursa, serum metil malonik asit (MMA) ve homosistein düzeyleri eksikliğin evresini belirlemek için kullanılabilir. Çalışmalarda farklı hasta popülasyonları çalışıldığı için, pek çok serum kobalamin eşik değer tanımlanmıştır (31). Bunun sebebi kesin bir standart testin olmamasıdır.

Vitamin B12 eksikliğinin nedeni Schilling testi ile belirlenebilir. Bu test ile radyoaktif işaretli vitamin B12 emilimi, intrinsik faktör (IF) uygulama öncesi ve sonrasında ölçülür. Eğer hastanın pernisiyöz anemisi varsa, vitamin B12 emilimi IF öncesinde anormal iken, sonrasında normal olarak saptanır. Eğer IF uygulaması sonrasında da emilimdeki bozukluk devam ediyorsa hastaya 8–12 hafta boyunca geniş spektrumlu antibiyotik verilip sonrasında test tekrar uygulanır. Eğer emilim normal ise sorun bakteriyel aşırı çoğalma olarak düşünülür. Antibiyotik tedavisi emilimde iyileşme sağlamaz ise gıdalı Schilling testi uygulanabilir. Bu testte

radioaktif işaretli vitamin B12 gıda ile karıştırılır. Vitamin B12 emiliminin yokluğu, vitaminin besinden ayrıştırılmasında bir problem veya malabsorbsiyon olduğunu gösterir.

Vitamin B12 eksikliğinde anemi, ayrıca lökopeni ve trombositopeni de görülebilir. Periferik yaymada hipersegmente polimorfonükleer lökositler ve makrositöz görülür, trombositler büyüktür. MCV ve RDW tipik olarak artmıştır. İnefektif eritropoez nedeniyle serum bilirubin, ferritin ve LDH artabilir. Eğer anemi gelişmiş ise kemik iliğinde megaloblastik değişiklikler saptanır.

Vitamin B12 eksikliğinin gelişimi uzun yıllar sürdüğü için belirtileri sinsidir. Tipik olarak hastalarda glossit görülür. Dil, düz ve kırmızıdır. Buna hafif sarılık ve nörolojik değişiklikler (parestezi, anormal pozisyon ve vibrasyon hissi, ataksik yürüyüş vb) eşlik eder. Çeşitli psikiyatrik sendromlar (demans, depresyon ve mani gibi) görülür. Bu nöropsikiyatrik bozukluklar anemi olmadan da ortaya çıkabilir ve sıklıkla eksiklik tedavi edildiğinde düzelmez. Buna karşın hematolojik problemler geri döndürülebilir niteliktedir.

Pernisiyöz anemiye bağlı vitamin B12 eksikliğinin tedavisinde ömür boyu vitamin B12 verilir. En sık kullanılan rejim ilk hafta 1000 mikrogram /gün, daha sonra 4 hafta veya Htc normal oluncaya kadar 1000 mikrogram/hafta ve sonrasında yaşam boyu 1000 mikrogram/ay şeklinde olanıdır. Sıklıkla ilk hafta içinde belirgin bir retikülositoz, tedaviye cevabı gösterir. Anemi bir ay içinde düzelir. Tedavi sırasında hipokalemi ve hipofosfatemi olasılığı nedeniyle serum fosfat ve potasyum düzeyleri takip edilmeli ve gerekirse düzeltilmelidir. Transfüzyon hacim yüklenmesine neden olabilir; eğer gerekliyse yavaş yapılmalı ve hasta monitörize edilmelidir. Eğer vitamin B12 eksikliği, vitaminin gıdadan ayrılmasındaki sorundan kaynaklanıyor ise 1000 mikrogram/gün oral vitamin B12 mide boş iken verilmelidir. Eğer vitamin B12 eksikliği yanlışlıkla folat eksikliği olarak tanı alırsa tek başına folat tedavisi hematolojik hastalıkta iyileşme sağlayabilir fakat vitamin B12 ile ilişkili nörolojik bulgularda düzelme sağlamayacaktır.

## 2. Folat Eksikliği

Folat eksikliği diyetteki alım eksikliği, emilim kusuru, gereksinim artışı ve ilaçlara bağlı olarak gelişir. Folat rezervi az olduğundan nutrisyonel folat eksikliği erken ortaya çıkan bir tablodur. Alkoliklerdeki megaloblastik anemi genellikle folat eksikliğinden kaynaklanır. Alkoliklerde folatın alımı, emilimi, karaciğerde depolanması azalır, enterohepatik dolaşımı bozulur ve idrarla folat kaybı da artar. Tropikal sprue ve çölyak hastalığında da folat emilimi bozulur. Emilim kusuruna yol açan diğer barsak hastalıkları arasında rejyonel enterit, Whipple hastalığı, barsak rezeksiyonları, amiloidoz, ince barsağın lösemik infiltrasyonu, skleroderma ve diabetes mellitus sayılabilir. Konjenital folat malabsorpsiyonu oldukça nadir bir durumdur.

Folat eksikliğinin bir diğer nedeni gereksinim artışıdır. Bu grupta gebelik, gelişme çağı, kronik hemolitik anemiler, myeloproliferatif hastalıklar, eksofoliyatif dermatit ve hipertiroidi sayılabilir. Bu hastalarda hızlı hücre proliferasyonu nedeniyle DNA sentezi artışı folik asit gereksinimini arttırır. Kronik hemolitik anemilerde folat eksikliği, anemiye kemik iliği yanıtını engelleyebilir. Bazı ilaçların kullanımı sırasında serum folat düzeyleri azalmaktadır. Bunlar arasında difenilhidantoin, karbamazepin, primidon, fenobarbital, oral kontraseptifler, sulfasalazin, kolestiramin, triamteren sayılmaktadır. İlaçlar, emilimi ve metabolizmayı etkileyerek folat seviyesinde azalmaya neden olur.

Burada da belirtildiği gibi folat eksikliğinde nörolojik semptom ve bulgular hariç klinik tablo vitamin B12 eksikliğindeki gibidir. Folat eksikliğinde, megaloblastik anemi ve atrofik glossit görülür. Hastalarda nörolojik belirtiler oluşmaz. Folat eksikliğine yol açan hastalığa veya klinik duruma ait özellikler saptanır.

Folat eksikliği laboratuvar bulgularında, tipik megaloblastik anemi bulguları görülür. Biyokimyasal bulgular da ortaktır. Megaloblastik aneminin tipik hematolojik ve biyokimyasal bulguları yanında serum folat düzeyleri (<3 ng/ml) ve eritrosit folat düzeyleri normalin altındadır. Uzun dönemde folat eksikliğine rağmen tetkikten önceki birkaç gün içinde folik asit alınmış ise serum folat seviyesi normal bulunabilir. Eritrosit folat düzeyleri ise tetkikten önceki 2-3 aylık süre ile ilgili eksikliği, serum folat düzeyine göre daha iyi yansıtır. Buna karşılık hızla gelişen folat eksikliğinde eritrosit folatı normal bulunabilir. Folat eksikliğinde serum homosistein düzeyleri artar. Ancak bu bulgu vitamin B12 eksikliğinden ayırım için yeterli

değildir. “dU supresyon testi” metiltetrahidrofolat ile düzeliyor ise hastada folat eksikliğinden söz edilebilir. Ancak bu test çok özel koşulları gerektirmektedir.

Önerilen şekli ile tedavide oral 1 mg/gün folik asit verilir. Malabsorbsiyonlu olgularda günlük 5 mg folik asitin oral verilmesi ile sonuç alınabilmektedir. İki-üç haftalık tedavi ile depolar dolabilir. Ancak, gereksinim devam ediyor veya eksikliğe neden olan patoloji sürekli ise idame tedaviye gerek vardır. İdame dozu 0.25-0.50 mg/gün'dür. Folik asit tedavisine hematolojik yanıt kobalamin eksikliğindeki gibidir. Kobalamin eksikliğinde folik asit verilmesi ile tedaviye yanıt görülmesine rağmen burada farmakolojik dozlara (ör: 5 mg/gün) gerek vardır. Bu önerilmez, çünkü kobalamin eksikliğinde folik asit verilmesi nörolojik semptomları uyarabilir. Folat eksikliğinde kobalamin verilmesi ise ancak kısmi bir yanıtı neden olabilir. Eğer hastada folat veya kobalamin eksikliği arasında bir ayırım yapılamamış ise, test için gerekli kan örnekleri daha sonra incelenmek üzere ayrılıp her iki vitamini birlikte uygulamak gerekir (31, 32).

### **Anemilerde Klinik Semptomlar**

Anemi semptomlarının ortaya çıkmasında eritrosit miktarının azalması değil hemoglobin miktarının düşüşü rol oynar (33).

#### *Dolaşım Sistemi:*

Aneminin meydana geliş hızı, hastanın yaşı ve dolaşım sisteminin anemiye regüle edip edememesine bağlıdır. Aneminin seyri ağır ve derin ise yani hızlı seyretmiş ise şok meydana gelebilir. Eforla gelen dispne, çarpıntı görülür. E.K.G.'de koroner iskemisi ve angina pectoris görülebilir. Dolaşım sisteminin anemiye adaptasyonu ile taşikardi görülür. Nabız pulsasyon basıncı artar. Bu sebepten venöz dolaşım hızlanır. Kalp daha fazla yüklenerek dilatasyona uğrar. Böylece hemoglobinin oksijen afinitesi azalır. Bütün bu solunum ve dolaşıma ait semptomlar hemoglobinin total miktarının 7.5 gr' ın altına düştüğü zamanda görülürse de, semptomların ortaya çıkışında kanamanın hızı, aneminin cinsi ve şahsın genel durumuna bağlıdır. Orta ve ağır şiddetteki bir anemide mitral ve pulmoner odaklarda üfürüm duyulur. Bu üfürüm sistolik olup diastolik üfürüm nadirdir. Orak hücreli anemide mitral stenoza ait kalp yetmezliği bulguları klinik ve radyolojik olarak mevcuttur (33,34).



#### *Solunum Sistemi:*

Total kan hacmi ve kanın oksijen taşıma gücü azaldığı durumlarda eforla veya istirahatle gelen nefes darlığı görülür. Vital kapasite azalmış ve solunum derinliği artmıştır. Dispne şikâyetleri kısmen miyokard ve dolaşım sistemindeki bozukluklarla ilgilidir (33).

#### *Sindirim sistemi:*

Gastro intestinal sistem şikayetlerine anemilerde sık rastlanır. Dispeptik şikayetler artar. Demir eksikliği ve megaloblastik anemilerde dilde yanma ve yutma güçlüğü vardır. Dil papillaları silinmiştir (33).

#### *Merkezi Sinir Sistemi:*

Baş dönmesi, baş ağrısı (migren tarzında), kulak çınlaması, göz önünde sinek uçuşması, konsantrasyon ve hafıza azalması, uyuklama hali, ellerde pareteziler ve periferik neurit görülür ( 26,33,35).

#### *Genital Sistem:*

Özellikle demir eksikliği anemilerinde menstürüel bozukluklar sık görülür. Amenoreler de sık görülür. Bazen de menometroraji, hipermenore ve menorajiye rastlanır. Erkeklerde libido kaybı görülür.

#### *Üriner Sistem:*

Ağır anemilerde hafif proteinüri ve böbreklerin konsantrasyon yeteneğinde azalma görülebilir. Orak hücre anemisinde hipostenüri saptanabilir. Önceden mevcut bir böbrek fonksiyonları bozuk ise anemi bunu artırabilir ve azot retansiyonu gelişebilir. Anemi tedavisi sonrasında kan üresi düşer (33,35,36).

### **Anemilerde Genel Muayene Bulguları**

#### *Solukluk:*

En belirgin semptom solukluktur. Hastanın soluk rengi uzaktan dahi tespit edilir. Çoğu kez inspeksiyon teşhise yeter. Solukluk bilhassa demir eksikliğinden kaynaklanan pigment bozukluğuna bağlı kirli soluk renk hakimdir.

#### *Subikterik Görünüm:*

Eritrosit ve hemoglobinin yıkıntı ürünü olan bilirubinin neticesi deri ve skleralar sarı renge boyanır. Subikter hemolitik anemilerin semptomudur. Mongoloid yüz, talasemi ve orak hücreli anemide karakteristik bir semptomdur.

#### *Subfebril Ateş:*

Anemide vücut direnci düştüğünden infeksiyonlara direnç azalmıştır. Bu yüzden enfeksiyon ateşi de sık görülür. Ayrıca B12 vitamini eksikliğine bağlı anemilerde en belirgin semptomdur.

#### *Hepatosplenomegali:*

Konjenital hemolitik aneminin başlıca semptomudur.

#### *Tırnak Değişiklikleri:*

Tırnak kırılması, kaşık tırnak (koilonichie) demir eksikliğinde dikkati çeken bir bulgudur (9,35,36,37).

### **Gebelikte Hematolojik Değişiklikler**

Gebelik sırasında oluşan hematolojik değişikliklerin en göze çarpanı kan hacmi ve koagülasyon mekanizmasındaki değişikliklerdir (38).

#### **Kan hacmi ve eritrosit kitlesi:**

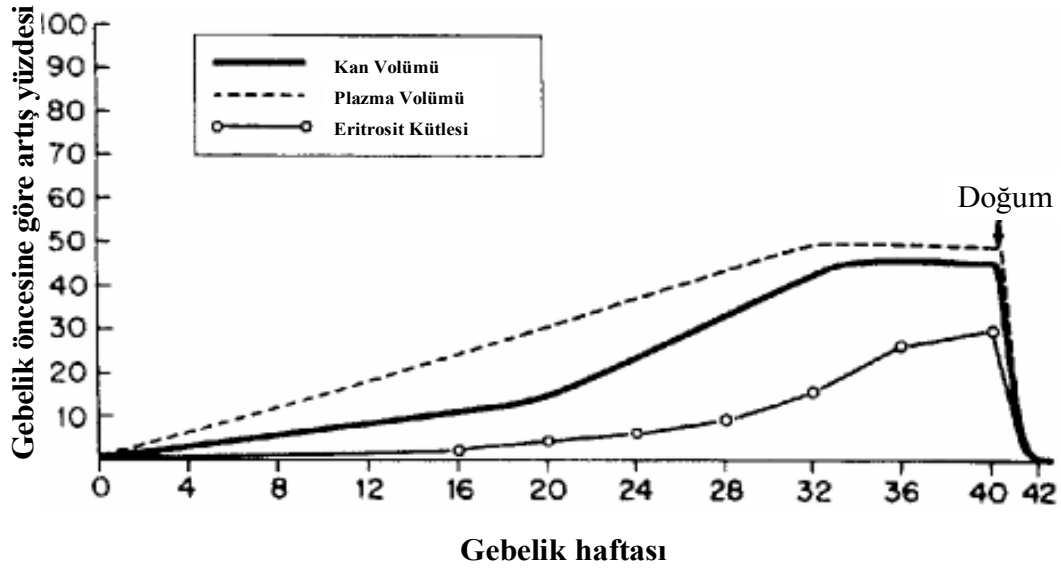
Gebelik boyunca kan hacmi belirgin oranda yükselir. Terme yakın normal gebelerde kan hacminin gebelik öncesine göre %40-45 oranında arttığı gözlenmiştir. Kan hacmindeki artış her kadında değişiklik gösterebilir. Bazı kadınlarda orta derecede artış olurken, bazı kadınlarda önceki kan hacminin iki katı kadar bir artış söz konusu olabilir. Hipervoleminin gelişimi için fetusun bulunması şart değildir. Bazı mol hidatiform vakalarında da kan volümü artışı gösterilmiştir (38,39,40). Plazma hacmindeki bu artış fetus ağırlığı ile orantılıdır ve çoğul gebelikte daha fazladır (20).

Gebeliğin indüklediği hipervoleminin birçok önemli fonksiyonu vardır:

1. Vasküler yapıları ile birlikte hipertrofiye uğramış gebe uterusun taleplerini karşılar,
2. Supin pozisyonda ve ayakta fetusu ve anneyi yetersiz venöz dönüşün etkilerine karşı korur,

3. Anneyi doğum sırasında meydana gelen kan kaybının yan etkilerinden korur (39).

Maternal kan hacmi ilk trimesterde artmaya başlar, en fazla artış ikinci trimesterde olur. 3. trimesterde daha yavaş artarak gebeliğin son haftalarında plato çizer (38,39,41).Grafikte, gebeliğin başlangıcından sonuna kadar meydana gelen kan volümü değişiklikleri gösterilmiştir (31). Normal bir gebeliğin seyri sırasında kan volümü %47 ve eritrosit miktarı %17 artar. Bunun sonucunda hemodilüsyon meydana gelir. Hemodilüsyon 22-34. haftalarda maksimum düzeye ulaşır (38,40). Bu dilüsyonel anemi gebeliğin fizyolojik anemisi olarak kabul edilir.



Gebelik boyunca kan volumü değişiklikleri (42)

Hemoglobin, hematokrit ve eritrosit sayısı azalır. Ortalama eritrosit hacminde (MCV) ve ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonunda (MCHC) değişiklik gözlenmez. Bu iki ölçüm dilüsyonel anemi ile demir eksikliği anemisinin ayırımı için kullanılır (20,41). Demir desteği yapılmayan gebelerde termde eritrosit kütleindeki toplam artış ortalama (250-450 ml) %18'dir. Yeterli demir desteği yapılan gebelerde eritrosit kütleleri daha fazla (%30) artar (38).

Normal bir gebelikte kemik iliğinde orta derecede eritroid hiperplazi vardır. Retikülosit miktarı ve genç eritrosit oranı artmıştır. Bunun esas nedeni 2-3 kat artan maternal eritropoetin düzeyidir. Eritropoetin düzeyindeki bu artış 23. gebelik haftasından sonra görülür. Eritrosit ömrü değişmemiştir. Maternal eritrosit difosfogliserat aktivitesi artmıştır. Bu durum, maternal fizyolojik alkalozaya rağmen fetüse oksijen geçişini kolaylaştırır (38,43). Gebelik sırasındaki kan volüm değişikliklerinin regülasyonunda renin anjiyotensin- aldosteron sistemi ile kompetitif olarak çalışan atrial natriüretik peptid adı verilen ve atrial miyositlerden salınan alfa, beta ve delta olmak üzere üç ayrı formu izole edilmiş olan bir peptidin önemli rol oynadığı ortaya çıkmıştır. Normal gebelerde termde atrial natriüretik peptid ortalama %40 artmaktadır. Doğumu izleyen ilk haftada artış %150 olmaktadır. Bu postpartum diürez artışını açıklamaktadır (38).

### **Gebelik Anemileri**

50–60 kg. ağırlığında olan bir gebede ortalama 4 litre kan bulunur. Bu da kilogram başına 72 ml. kan demektir. Sağlıklı olan bir kimsede bu denge sabit olarak tutulmaktadır. Bu dengenin sağlanmasında hormonal sistemin rolü büyüktür (5, 44).

### **Fizyolojik Gebelik Anemisi**

Anemi gebelikte sıklıkla görülen bir komplikasyondur. Irk, iklim, sosyal yaşantı, hijyenik şartlar gibi bir takım faktörler gebelerin hemopoetik sistemleri üzerinde bir takım değişiklikler yaparlar. Sosyo-ekonomik şartları hangi düzeyde olursa olsun ülkemizde gebe olan kadınların özellikle gebeliğin ikinci yarısında anemi görüldüğü çeşitli istatistiklerde saptanmıştır (10) Anne fizyolojik olarak gelişmekte olan fetus ve plasentanın kan ihtiyacını temin etmek için 4. aydan itibaren plazma volümünü arttırmaya çalışır ve 32. haftada en yüksek değerini alır. Bu fizyolojik yükleme hali gebeliğin sonlanmasında 8 hafta sonra ancak gebelikten önceki şeklini alır. Bu durumda kan volumü en çok 1200 ml artar (27, 45). Tedavi görmeyen gebelerde artan kan volümü ile eritrositler arasındaki denge hemoglobin aleyhine %10 fark gösterdiğinden gebe kanı normal bir kişiye göre daha dilüedir (Gebelik Hemodilasyonu). Bu fizyolojik hemodilüsyondan dolayı gebeliğin ikinci yarısında 11gr/dl hemoglobin normal kabul edilebilir.

Gebelik anemilerinin büyük bir kısmı demir eksikliği anemileridir. Gebeye yeterli miktarda demir, folik asit, C vitamini ve aminoasitler verildiğinde kemik iliğinde plazma

artışına denk eritrosit sentez edecektir ve bu hızla hemodülasyon ve anemi olmayacaktır. Plazma artışına rağmen kan elementlerinin normokrom ve normositer olması şartıyla gebelikte görülen hemodülasyon anemisi fizyolojik olarak kabul edilir.

### **Klinik Belirtiler**

Her anemi cinsine göre bir takım spesifik semptomlar olmakla beraber bütün gebelik anemilerinde ortak klinik semptomlar vardır. Hastalar halsiz ve yorgundurlar. Devamlı baş ağrısı ve baş dönmesinden şikayet ederler. Mide yanması, hazımsızlık hali mevcuttur. Kalp debisi artmış olup sistolik üfürüm duyulur (apexte). Buna ilaveten kalpte organik bir lezyon varsa o zaman kalp yetmezliği gelişir. Malleollerde ödem gelişir. Albuminüri normaldir. Hastalar enfeksiyona ve tromboflebite yatkındır. Görülen kapiller ve prekapiller dolaşımdaki spastik olaylar sebebiyle tetkikler parmak ucundan alınan kanla değil venöz kandan yapılmalıdır (27).

### **Gebelikteki Anemi Tipleri**

#### *A- Beslenme Bozukluğuna Bağlı Anemiler*

1-Normoblastik kemik iliği gösteren anemiler

a) Demir yetmezliği anemisi

b) Protein yetmezliği anemisi

2-Megaloblastik kemik iliği gösteren anemiler

a)Kemik iliği yetmezliği anemisi

b)Pernisiyöz anemisi (Addison)

c)İlaç zehirlenmesi ile meydana gelen anemiler

3-Hipoplastik kemik iliği gösteren anemiler

a) Aplastik anemi

b) Sekonder refrakter anemi

#### *B- Hemolitik Anemiler*

1-Akut hemolitik anemi (Lederer anemisi)

2-Konjenital sferositoz

3-Enfeksiyöz anemiler

#### *C- Anormal Hemoglobin Bulunan Anemiler*

1-Sickle cell anemi (orak hücreli anemi)

2-Sickle cell hemoglobin C hastalık anemisi.

### **Gebelerde Demir Eksikliği Anemisi (Hipokrom mikrositer anemiler)**

Demir eksikliği anemilerinde hemoglobin sentezi yeterli olmadığından, eritrositler normal değerlere çok yakın olmasına rağmen hücreler normalden küçük ve az hemoglobin ihtiva ederler. (Mikrositer Hipokrom Anemi) Plazmadaki demir azalmıştır. (Hiposideremi) Ortalama korpüsküler hemoglobin konsantrasyonu % 30'un altına düşer. Etyolojisi ne olursa olsun patogenezinde demir eksikliği mevcuttur.

Demir organizmada şu şekillerde bulunur:

- a) Hemoglobin demiri.
- b) Plazma demiri (Transport demir).
- c) Depo demiri
- d) Fonksiyon demiri (dokularda oksido redüksiyonu sağlar).

Demirin kaslarda bulunan şekline Miyogloblin denir.

Demir eksikliğinde sebep olan faktörler şunlardır:

- 1- Diyetle yetersiz demir alınması
- 2-Demir absorpsiyonun bozulması
- 3- Organizmanın demir ihtiyacının artması
- 4- Demir kaybına yol açan patolojik hadiseler (kanamalar)
- 5- Demir kullanım bozukluğu

#### ***1- Diyetle yetersiz demir alınması(Alimenter demir eksikliği):***

Normal bir beslenme ile günde 10–20 mg. demir alınır. Demirin en çok bulunduğu gıdalar yumurta, karaciğer, böbrek, et, ıspanak ve meyvelerdir. Bu besinlerin yetersiz alınması sonucunda ve demirden fakir toprakta yaşayan köylülerde görülür. Demir eksikliği anemileri en çok inek sütü ile beslenen süt çocuklarında görülür (46).

#### ***2- Demir absorpsiyonunun bozulması:***

Barsak tümörleri, dizanteri, spru, barsak tüberkülozu, mide ve barsak rezeksiyonlarından sonra demirin rezorpsiyonu bozulduğundan demir eksikliği anemileri meydana gelir. Midedeki hidroklorik asidin demir rezorpsiyonunda önemli bir rol oynadığı bugün bazı çevreler tarafından kabul edilmektedir. Radyoaktif demir ile yapılan incelemelerle demir rezorpsiyonunda hidroklorik asidin eskiden sanıldığı gibi anemi oluşumunda önemli rol

oynadığı anlaşılmıştır. Ancak aklorhidri diğer anemi faktörleriyle beraber bulunduğu takdirde bir değer kazanmaktadır (10).

### ***3-Organizmanın demir ihtiyacının artması:***

Gelişim çağında menstürasyonla ilgili olarak ve gebelikte fetusa ait demirin anne organizması tarafından sağlanmasından dolayı bu grup anemiler kadın organizmasını ilgilendiren bir patogenez olarak karşımıza çıkar (47). Gebelik ve doğum için annenin ekstradan 1130 mg demire ihtiyacı vardır.

Bu demirin:

270 mg'ı fetus

90 mg'ı plasenta ve korda

150 mg'ı travay esnasındaki normal fizyolojik kanamaya

450 mg'ı artan eritrosit kitlesine gereklidir.

Normal gebelik süresini 280 gün olarak kabul edersek 1130 mg'lık total demirin günlük ortalaması 30 mg dır. Laktasyon ile günde 1 mg demir çocuğa geçmektedir.

Çeşitli yaş ve cinsiyete göre ortalama demir ihtiyacı şöyledir:

#### Günlük ihtiyaç

Erişkin erkek → 1,2 mg

Gelişim çağındaki kadın → 2 mg

Laktasyonda → 3 mg

Gebelik esnasında → 4 mg

Gelişim esnasındaki çocuklarda bütün dokularda olduğu gibi kan hücreleri ve kan hacmi arttığından demir ihtiyacı da ileri yaşlardakine oranla daha fazladır.

### ***4- Demir kaybına yol açan patolojik hadiseler(kanama):***

Akut veya kronik olaylar nedeniyle, organizma kaybettiği kanı gerek beslenme ve gerekse de tedavi ile temin edemiyorsa o zaman demir eksikliği anemisi meydana gelir. Bu kan

kaybı menstürasyon ve gebelikte olduğu gibi fizyolojik bir nedenle meydana gelebildiği gibi peptik ülser, kanama diyatezi, hemoroid, kolitis ülseroza ve paraziter enfeksiyonlar gibi olaylar neticesi meydana gelen kanamalar sebebiyle de görülür.

#### ***5-Demir kullanım bozukluğu:***

Enfeksiyonlar ve bunlara ilave edilen bazı faktörler sebebiyle kemik iliğinde anemi gelişebilir.

#### **Gebelerde Megaloblastik Anemiler**

Gebelik ve laktasyonda görülen bu anemi tipi folik asit yetmezliğinden veya folik asidin metabolize edilememesinden ileri gelir. Folik asidin eksikliği sonucunda nükleik asit sentezi bloke olur. Kemik iliğinde eritrositler normal olgunlaşmasını tamamlayamaz. Eritrositler de olgunlaşmadığı için kemik iliğinde normoblast ve eritrosit safhaları gelişemez. Böylece megaloblastlar kemik iliğinde değil periferik kandadırlar. Bazen büyüyen fetusun folik asit ihtiyacı annenin günlük gıdalarla aldığı folik asit miktarının üstünde olur . Böylece özellikle gebeliğin 6. ayından itibaren megaloblastik bir anemi ortaya çıkar. Rutin olarak kan ve kemik iliği tetkikleri yapılmayan kliniklerde megaloblastik anemiyi teşhis etmek çok zordur. Bu sebepten megaloblastik anemi vakalarına rastlanma oranı oldukça düşüktür (27). Gebelik esnasında megaloblastik anemi görülen vakalar çoğunlukla yaşlı gebelerdir. Multiparlarda primiplarlara oranla 5 kat daha fazla görülür.

**Klinik:** Megaloblastik anemi yavaş seyreden bir anemi cinsi olduğundan gebeliğin 28-30. haftalarında ortaya çıkarlar. Çok defa postpartum ve lohusalığın ilk haftasında teşhis edilir. Bütün anemilerin ortak semptomları yanında megaloblastik anemilerde gebeliğin geç devrelerinde dil ağrısı, mide yanması, bulantı, kusma gibi gastrointestinal şikayetler görülür. Özellikle dil ağrısı çok karakteristik olup vakaların 1/3'ünde görülür. Purpura ve gastrointestinal kanamalara nadir olarak rastlanmıştır. Karaciğer normal olmakla beraber dalak palpabldır. Gebeliğin son aylarında ve lohusalıktaki mide yanmaları demir eksikliği anemisinin bir belirtisidir. Megaloblastik anemilerde görülen kusma, bulantı, ödem ve albüminüri gebelik toksikozları ile karıştırılmamalıdır. Megaloblastik anemi ve vakalarının %20'si preeklampiktirler. %60 vakada perinatal fetus ölümüne rastlanmıştır. Kemik iliği tetkiklerinde megaloblast ve ara megaloblastlar sahaya hakimdir.



Demir yetmezliği ile birlikte folik asit eksikliği de mevcutsa periferik kan tablosu teşhis için bilgi vermez. Hafif anizositoz ve hipokromi mevcuttur. Gebeliğin son üç ayında hemoglobin %50'nin altında ise mutlaka megaloblastik bir aneminin mevcudiyeti düşünölmelidir. Demir tedavisine cevap vermeyen vakalarda, folik asit ile periferik kanda retikülosit krizinin görölmesi megaloblastik aneminin teŝhisine yardım eder. Megaloblastik anemisi olan gebelerin 1/3'ünde aklorhidri tespit edilmiştir. Folik asit tedavisi ile bu gebelerde midedeki parietal hücrelerden HCL Asit sekresyonu başlar (36, 46).

**Tedavi:**

- a) Profilaktif
- b) Küratif

*Profilaktif Tedavi:* Pseudo pernisiyöz anemi diye bilinen megaloblastik anemi beslenme yetmezliğine bağlı bir anemi cinsi olduğundan hastalığın ortaya çıkmasından önce bütün gebelere oral yoldan belirli dozda folik asit vermek uygun olur.

Gebeliğin 29 uncu haftasından sonra günde 15 mg. folik asidin verilmesiyle hiçbir komplikasyon ve megaloblastik anemiye rastlanmamıŝtır. 30 yaŝını geöen gebelere profilaktif olarak verilen folik asit neticesi bazı periferik neurit ve nadir olarak omurilik dejenerasyonuna ait belirtilere rastlanmıştır. Fakat günlük folik asit dozu 1 mg'ın üstüne çıkmazsa bu komplikasyonlara rastlanmaz.

*Küratif Tedavi:* Karaciğer preparatları eskiden megaloblastik anemilerde tedavi yönünden mühim bir yer iŝgal ediyordu. Cyanocobalamin (B12)'in keŝfinden sonra tedavi kesin rasyonel bir şekil aldı. B12 vitamini ile C vitaminini kombine kullanılmasıyla kati ŝifa temin edilmiştir. Co 60 ile megaloblastik anemilerde B12 vitamini Emilimi ve atılımı araŝtırılmıŝ ve Emilim bozukluğu tespit edilmemiştir. Keza Emilimin azalması kandaki B12 vitamini seviyesinde azalmaya sebep olmamaktadır. Saf megaloblastik anemi vakalarında, serumdaki B12 vitaminin %40 azaldığı ve demir eksikliği olan anemi vakalarında absorbsiyona ait bir düşüŝ kaydedilmemiŝtir.

Buna göre megaloblastik anemileri:

- 1- Saf megaloblastik anemiler
- 2- Demir eksikliği ile birlikte olan,

diye iki grupta inceleyebiliriz.

Demir eksikliği ile birlikte olan megaloblastik anemilerde tedavide folik asitin yanı sıra demir preparatlarının da eklenmesi gerekmektedir. B12 vitaminiyle başlanan tedavilerde, tedaviden 5–8 gün sonra retikülosit krizi görülür. Askorbik asit (C vitamini) folinik asidi, folik asit haline çevirir ve bunun içinde 100 mg. askorbik asit günlük tedaviye ilave edilmelidir (36).

### **Gebelikte Adison (Pernisiyöz) Anemisi (Biermer-Adison hastalığı):**

Biermer anemisi denilen hakiki Pernisiyöz anemiye gebelikte nadir rastlanır. Bu tip anemide anizositoz, makrositoz ve lökopeniye, folik asit yetmezliğine bağlı anemiden daha bariz bir şekilde rastlanır. Ayırıcı teşhis için serumdaki B12 vitamini dozajını yapmak veya cyanocobalamin emilimini ölçmek gerekir. Pernisiyöz anemi şüphe edilen gebeye 1000 mikrogram B12 vitamini verilir. Dört gün sonra kanda retikülosit krizi ve kemik iliğinde normoblastik reaksiyon incelenir. Eğer teşhis doğru ise bu pernisiyöz tipte bir anemidir. Teşhis doğru değilse megaloblastik bir anemidir o zaman derhal folik asit tedavisi uygulanmalıdır.

Megaloblastik anemi barsak parazitleriyle de meydana gelebilir. Paraziter ilaçlar gebelikte kontrendikedir. Buna rağmen aneminin şiddetine göre anti anemik ve anti helmantik ilaçların gereklilik durumunda kullanılabilir.

Antikonvülsif ilaçlar fenobarbital, primidone ve fenitoin megaloblastik bir anemiye sebep olabilir. Hawkins ve Meynell antikonvülsif ilaç alan gebelere 10 mg folik asit vermekle bu ilaçlara devam etmenin bir sakıncası olmadığını göstermişlerdir (10).

Pernisiyöz anemi Hiperkrom- Megablastik cinste bir anemi şeklidir. Anemi gastrointestinal sistem bozukluklarıyla birlikte dir. Kemik iliğinin disfonksiyonundan dolayı eritrositlerin yapımında bozukluk mevcuttur. Bu durum hemoglobin sentezini etkiler. Karaciğer ekstrelerinin tedaviye girmesinden önce bu hastalık daima eksitus ile neticelendiğinden Persinioza (Malign) adı verilmiştir. Bu anemi cinsi kuzey bölgelerinde yaşayan beyaz ırkta görülür. Hastalık 35–40 yaşlarının üstündeki erişkinlerde görülür. Erkek ve kadınların hastalığa yakalanma oranları aynıdır. Pernisiyöz aneminin etiyojisinde heredite önemlidir. Aynı aile fertlerinde aklorhidri daha yüksek oranda bulunmuştur (36).

Pernisiozanın, eritropoezde rolü olan bir veya birkaç maddenin eksikliği sebebi ile eritrositlerin olgunlaşmasındaki bir kusurdan ileri geldiği bilinmekle beraber bu maddelerin eksikliğinin eritropoezin hangi safhasında ve hangi mekanizma ile meydana geldiği kesin olarak bilinmemektedir. Persinisiozalı hastalara oral yoldan verilen B12 vitaminin etkisi çok azdır. B12 vitamini mide suyu ile birlikte verilirse etkisi çok daha fazla olur. Bundan da anlaşıldığına göre intrensek faktör B12 vitamininin absorpsiyonunu kuvvetlendiren bir faktördür. B12 vitamini kobalt içeren tek biyolojik maddedir. Karaciğer, et, süt ve yumurtada çok az miktarda bulunur. Nükleik asit sentezinde önemli bir rol oynar. Hücre metabolizması için B12 vitaminine ihtiyaç vardır (46).

### **Klinik Tablo**

Hastalık sinsi başlar, ay dede yüzü, soluk kirli sarı renk, subikter hali ilk bakışta dikkati çeker. Dil kırmızı renkte ve papillaları silinmiştir (Hunter dili). Dile ait ilk şikayet ekşi gıdalarla dilin yanmasıdır. Hepatomegali saptanır. Dalak normal boyutlar içinde palpe edilir. Kabızlık ve meteorizme sık rastlanmasına karşılık diyareye nadiren rastlanabilir. Kalpte konjestif yetmezlik tablosu meydana gelir. Koroner skleroza bağlı ağrılar hissedilir. Aorta diastolik üfürüm duyulur. Sinir sistemine ait belirtiler bazen ilk semptom olarak karşımıza çıkar. Çabuk yorulma, ekstremitelerde uyuşma ve karıncalanma, mental depresyon ilk plandadır. Nörolojik bulgular medulla spinalis ve periferik sinir uçlarına aittir. Refleks kaybı, yürüme güçlüğü mevcuttur. Babinski pozitif bulunur.

Kan tablosu: Makrositer cinste bir anemidir. Renk indeksi 1,3-2 ' nin üstündedir. Eritrosit sayısı 1.000.000 ' un altına düşer. İndeksin 1 ' den büyük olmasına rağmen hakiki bir hiperkromi yoktur.

Kemik iliği ponksiyonunda sadece makrositer anemiler için spesifik olan megaloblastların görülmesi tanı için yeterlidir.

Persiniozadaki bulguları şöyle özetleyebiliriz:

- a) Histamine refrakter aşili
- b) Glossit
- c) Nörolojik belirtiler
- d) Makrositer anemi
- e) Megaloblastik kemik iliği

Bu anemi için teşhiste Schilling testi uygulanır. Co60 ile işaretlenmiş radyoaktif B12 preparatları oral yoldan hastaya verilir. Normalde 24 saatte çıkan miktarı %15 iken persiniozada bu miktar %3'ün altındadır.

### **Tedavi:**

Karaciğer ekstrelerinin tedaviye girmesiyle önceleri sürvileri 1–3 sene olan persiniozalı anemik hastaların normal ömürlerini sürdürdükleri bir gerçektir. Karaciğer ekstreleriyle tedavi idame tedavisi olup B12 vitaminini kullanmak uygun olmaktadır.

Birinci ay üç günde bir 100 mikrogram B12 vitamini İ.M verilir. Hastalar 48 saatte subjektif iyilik hissi duyarlar. Birinci haftanın sonunda retikülosit krizi meydana gelir. Eritrosit sayısı ve hemoglobin miktarı ilk ay sonunda normal değerleri bulur. Nörolojik belirtilerin geriye dönmesi uzun sürer. Kan bulguları normal değerlere erişince günde 1-2 mikrogram B12 vitamini eklenir. Bazı gebeliklerde rastlanan makrositer anemilerde ve spru da B12 vitaminiyle kombine olarak verilen folik asit (5-10 mg.) ile iyi neticeler alınmıştır (46).

## **2.2.Oksidatif Stres ve Total Antioksidan Kapasite**

Serbest radikaller, atom çekirdeklerinde eşlenmemiş elektron içeren, dengesiz ve ileri derecede aktif moleküllerdir. Bu moleküller çevrelerindeki nükleik asit, protein, lipid ve karbonhidrat gibi moleküllerden elektron alarak veya çalarak dengeli hale gelir ve bu davranışları ile de zincirleme reaksiyonlara yol açarlar. Normal metabolizma sırasında ya da patolojik intra ve ekstraselüler olaylarla ortaya çıkan serbest radikallerin etkileri oksidatif stres olarak adlandırılır. Bu radikaller ortamdan uzaklaştırılmadığı takdirde, enzim ve proteinleri inaktive ederek veya serbest radikalın kendisi primer olarak hücre hasarına veya ölümüne neden olabilir. Başlıca iki tip serbest radikal mevcuttur; serbest oksijen radikalleri(reaktif oksijen species, ROS) ve serbest nitrojen radikalleri(reaktif nitrojen species, NOS veya RNS). ROS/RNS aerobik organizmalar tarafından sürekli üretilmektedir. Serbest radikal düzeyleri belirli sınırlar içinde organizma için yararlı ve olumludur. Ancak biyolojik ortamlarda yüksek düzeyde bulunmaları kanser, kardiyovasküler hastalıklar ve yaşlanmayı da içine alan pek çok hastalık durumundan sorumlu tutulmaktadır (48).

### 2.2.1.1 Serbest oksijen radikalleri

Yaratılmışlar içinde en muazzam donanıma sahip olan insan buna bağlı olarak en çok enerji gereksinimi olan konumdadır. Anaerobik organizmalar nitrojen, sülfür ve karbona dayalı bir metabolizma kullanırken aerobik organizmalar oksijeni kullanır. Bu sayede solunum zinciri adı verilen reaksiyon ile diyet ile alınan karbonhidrat, protein ve yağlardan etkin biyolojik enerji formu olan ATP üretilir. ATP de karmaşık hücre fonksiyonları için gerekli depo kimyasal enerjiyi sağlar. Organik moleküllerin oksidasyonunda kullanılan oksijenin önemli bir kısmı solunum zincirinde bulunan enzimler sayesinde H<sub>2</sub>O'ya dönüşür. Ancak kullanılan oksijenin yaklaşık %1-2' si bu işlemde kaçır ve oldukça aktif serbest oksijen radikalleri ortaya çıkar. Açığa çıkan oksijen radikalleri organizmayı oksidatif hasardan korumak amacıyla antioksidan mekanizmalarla karşılanmaya çalışılır. Antioksidan sistemlerden süperoksid dismutaz(SOD) ve katalaz, süperoksid (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) ve hidrojen peroksidi (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) sitoplazma içinde nötralize eder, glutatyon peroksidaz(GPX) ve glutatyonda hidrojen peroksidi H<sub>2</sub>O' ya redükte eder. E ve C vitaminleri de lipid peroksidasyonunu önlemeye çalışan hücre dışı antioksidan mekanizmalardır. Serbest radikallerin konsantrasyonu organizmanın antioksidan kapasitesini aşarsa buna oksidatif stres adı verilir ve lipid, protein, karbonhidrat ve DNA gibi biyomoleküllerin yaygın oksidasyonu sonucu hücre zarar görür. Son aşamada da nekroz ve apoptozis ile hücre ölümü gerçekleşir (48).

Oksijen birçok metabolik aktivite için gereklidir. Aerobik canlıların enerji metabolizmasındaki rolü nedeniyle hayati öneme sahip oksijen, yer aldığı biyokimyasal tepkimelerde gerçekleşen enzim inhibisyonları ve oluşan oksijen radikalleri ile toksik etki yapabilmektedir (49,52). Oksijen radikalleri, biyolojik sistemlerde meydana gelen serbest radikallerin en önemlisidir. Serbest oksijen radikalleri, normal hücre metabolizmasında oksijen içeren birçok biyokimyasal indirgenme reaksiyonları sonucunda oluşabilmektedir (50,53). Vücutta üretilen radikaller her zaman zararlı olarak görülmemelidir. Oksijenin biyokimyasal tepkimelerde kullanılması için reaktif formlara çevrilmesi zorunludur.

En önemli serbest oksijen radikalleri O<sub>2</sub><sup>-</sup> (süperoksid) radikali, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (hidrojen peroksit), OH<sup>-</sup> (hidroksil radikali) ve singlet oksijendir. Bunların dışında HOCl (hipoklorid), ROO(peroksil radikali), RCOO (organik peroksit radikali), HO<sub>2</sub> (perhidroksil radikali), RO (alfoksil radikali) gibi reaktif oksijen türevleri sayılabilir. Tablo 8' de serbest oksijen radikalleri ve radikal olmayan türevler belirtilmiştir.

### 2.2.1.2 Serbest nitrojen radikalleri( NOS veya RNS)

L-arjinin'in L-sitrullin'e enzimatik dönüşümü sırasında nitrik oksid (NO) ortaya çıkar. NO arteriyel ve venöz düz kas hücrelerinde gevşemeye, trombosit agregasyonu ve adezyonunda inhibisyona neden olur. Yüksek miktarlardaki NO ise oldukça aktif bir serbest radikaldir ve protein, karbonhidrat, DNA ve lipid hasarına neden olarak organizmaya zarar verir. NO sentezine neden olan enzim nitrik oksid sentetazdır (NOS). İnsanda üç tip NOS mevcuttur. Bunlar endotelial NOS, nöronal NOS ve uyarılabilir NOS. Endotelial ve nöronal NOS yapısal enzimlerdir ve organizmada süregelen NO miktarından sorumludur. Uyarılabilir NOS ise monosit ve makrofajlarda mevcut olup proinflatuar sitokinlerin uyarısı sonucu ortaya çıkar (48).

**Tablo 8:** Oksijen türevi bileşikler

Radikaller	Radikal Olmayanlar
Hidroksil ( HO <sup>·</sup> )	Hidrojen Peroksit ( H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )
Alkoksil ( RO <sup>·</sup> )	Singlet Oksijen ( O <sub>2</sub> )
Peroksil( ROO <sup>·</sup> )	Ozon ( O <sub>3</sub> )
Superoksit ( O <sub>2</sub> <sup>·</sup> )	Hipoklorid ( HOCl )
Nitrik oksit ( NO <sup>·</sup> )	Lipid hidroperoksit ( LOOH )
Azot dioksit ( NO <sup>·</sup> )	Peroksinitrit ( ONOO <sup>·</sup> )

### 2.2.1.3 Süperoksit Radikali

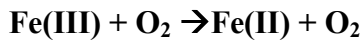
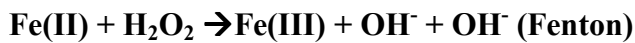
Moleküler oksijenin bir elektron alarak indirgenmesi ile kararsız bir yapı olan O<sub>2</sub><sup>-</sup>radikali oluşur. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> kaynağı olup canlılarda olduğu ilk gösterilen serbest radikal türevidir. Mitokondrideki enerji metabolizması sırasında oksijen kullanılırken, tüketilen 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. Hücre dışı ortamda endotel hücreler, lenfositler, trombositler, fibroblastlar ve diğer hücreler tarafından normal hücrel reaksiyonlar sonrası ortaya çıkan, zayıf bir oksidan olan  $O_2^-$  'nin, kendi başına önemli hücre hasarlarına yol açması mümkün görülmemektedir(49). Ancak süperoksit radikalleri oksitleyici ve metal iyonları redükleyici etkileri ile oksidatif strese yol açabilen bir dizi reaksiyonları başlatabilir. Aktive edilen fagositik lökositlerden bol miktarda süperoksit üretilerek, fagozom içine ve buldukları ortama verilebilir. Antibakteriyel etki için gerekli olan bu radikal yapımı, daha reaktif türlerin oluşumunu da başlatabilmektedir (50,51,53,54).

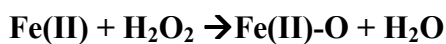
#### **2.2.1.4 Hidrojen Peroksit**

$O_2^-$  'ye bir elektron eklenmesiyle veya oksijenin direkt olarak indirgenmesiyle hidrojen peroksit oluşur. Dismutasyon spontan olarak veya süperoksit dismutaz enzimi aracılığıyla olabilir. Metal iyonlarının varlığında hidroksil radikallerinin oluşumuna neden olmasından dolayı radikal olmamakla birlikte reaktif oksijen kategorisine sokulur (55,56). Zar fosfolipitleri nedeniyle hücre zarı yüzeyleri sitoplazmaya göre daha asidiktir ve süperoksit burada daha kolay bir şekilde proton alarak hidrojen peroksit radikalini oluşturabilmektedir. Hidrojen peroksit membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik rollere sahip olabilir. Hidrojen peroksit 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 lipid peroksidasyonu gibi radikal tepkimeleri başlatabilmektedir. Bu reaksiyonlar zinciri aşağıdaki şekilde ifade edilebilir (57):

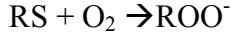
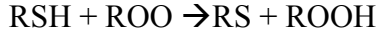
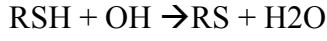
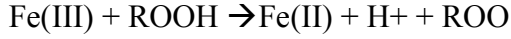
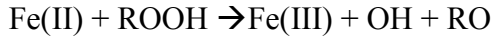
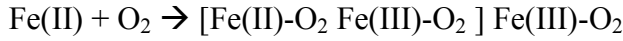
(A)



**Net reaksiyon:**



(B)



(C)



### Demir Bağımlı Oksidatif Reaksiyonlar

A) Fe bağımlı hidroksil radikallerinin katabolizması (Fenton ve Haber Weiss reaksiyonu)

B) Fe bağımlı organik radikallerin katabolizması

C) Haber-Weiss reaksiyonu

#### 2.2.1.5 Hidroksil Radikali

En tehlikeli reaktif oksijen radikalidir. Normal biyolojik fonksiyonlarda da kullanılmaktadır. Fagositoz ve çeşitli enzimatik katalizlerde üretilmektedir (51,53,58). Dokular radyasyona maruz kaldıklarında, enerjinin çoğu hücre içindeki su tarafından absorbe edilmekte ve radyasyon, oksijen ile hidrojen arasında kovalent bağa neden olmaktadır.  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'nin UV ışığına maruz kalması ile de hidroksil radikali oluşabilmektedir. Hidroksil radikali en reaktif radikal olarak bilinmekte ve her moleküle hücum ederek hasar meydana getirebilmektedir. DNA'nın pürin ve pirimin bazları ile etkileşebilmektedir (55). Özellikle, araşidonik asitler gibi doymamış yağ asit yan zincirlerinden hidrojen atomunu çıkartmakta ve sonuçta su oluşumunu sağlamaktadır. Hidroksil radikali ile oluşan en iyi tanımlanmış biyolojik hasar, "*lipid peroksidasyonu*" olarak bilinen serbest radikal zincir reaksiyonudur (51,53).

#### 2.2.1.6 Singlet Oksijen

Oksijenin uyarılmış şekline "singlet oksijen" denir. Reaktivitesi çok yüksek bir oksijen türüdür. Doymamış yağ asitleri ile doğrudan tepkimeye girerek peroksil radikalini



oluşturmakta ve hidroksil radikali kadar etkin bir şekilde lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir.

Özellikle karbon-karbon çift bağları singlet oksijenin tepkimeye girdiği bağlardır. Bu bileşiklerin başında bilirubin, tokoferoller, fenoller, karotenler, DNA, kolesterol, NADPH, triptofan, metionin, sistein ve histidin gibi bileşikler gelmektedir. Bilirubin, karotenler, histidin, metionin ve bazı kimyasal bileşikler singlet oksijeni temizleyerek ona bağlı tepkimeleri inhibe edebilmektedir (53).

### **2.2.2 Serbest Oksijen Radikallerinin Hücreye Zararlı Etkileri**

Serbest radikaller hücresel lipid, protein ve DNA'da çeşitli derecelerde hasara neden olabilmektedir. Oksijen endoplazmik retikulumda, mitokondride, plazma membranında, peroksizomlarda ve sitozollerde oksidatif enzimler tarafından süperoksit anyonuna dönüştürülmektedir. Oluşan süperoksit anyonları, SOD enzimi ile hidrojen perokside dönüştürülmektedir.  $Cu^{+2}/Fe^{+2}$  ile katalize olan Fenton reaksiyonu yoluyla hidroksil radikalleri oluşmaktadır. Burada ayrıca süperoksit anyonları,  $Fe^{+3}$ 'ün  $Fe^{+2}$ 'ye indirgenmesini katalize eder ve Fenton reaksiyonu sayesinde hidroksil oluşumuna katkıda bulunurlar (49).

#### **2.2.2.1. Membranların Lipid Peroksidasyonu**

Serbest oksijen radikalleri, hücre ve organel zarlarında lipid peroksidasyonuna neden olabilmektedirler. Hücre zarlarında bulunan poliansatüre yağ asitlerinin doymamış bağları, serbest radikallerle kolayca reaksiyona girerek peroksidasyona uğrayabilmektedirler (55).

Lipid peroksidasyonu, serbest radikallerin yağ asitlerinden hidrojen atomunu çıkarmak için yaptıkları atakla başlamakta ve zincir reaksiyonu şeklinde ilerlemektedir. Lipid peroksidasyonu ile meydana gelen membran hasarı geri dönüşümsüzdür. Hidroksil radikali, fosfolipaz A2'yi stimüle ederek araşidonik asit salınımına yol açmaktadır. Araşidonik asitten de bir hidrojen atomu çıkararak lipid peroksidasyonunu başlatabilmektedir. Başlangıçta serbest radikaller, bir lipid karbon merkezli radikalden üretilmiş olan karbon zincirinden, hidrojen atomunu açığa çıkarmaktadır. Sonuçta karbon merkezli radikal oluşmaktadır. Bu lipid radikal, moleküler oksijen ile reaksiyona girer, linoleik asit peroksi radikali oluşmasını sağlar ve oksidasyon zincirini başlatabilir. Üretilen peroksiradikal, elektronları ve diğer duyarlı yağ asitlerini alarak lipid radikal ve lipid hidroperoksitleri oluşturur. Bunun yanında süperoksit lipid peroksidasyonunu bitirici etki de gösterebilir. Membran fosfolipidlerinin peroksidasyonu,

permeabilitede ve membran akışkanlığında değişikliklere yol açmaktadır. Permeabilite özelliklerinin değişmesi anormal  $Ca^{+2}$  girişine yol açarak hücre fonksiyonlarının bozulmasına ve oksidasyonla fosforilasyonun ayrılmasına yol açabilmektedir. Sinir lifleri etrafındaki miyelin kılıfı peroksidasyonu (demyelinizasyon) nörolojik hastalıklara neden olabilmektedir.

Peroksiradikali, poliansatüre yağ asidi moleküllerini okside edebilmekte, radikallerin ve aldehitlerin ortaya çıkmasına neden olan hidroperoksitlerin meydana gelmesini sağlayabilmektedir. Aldehitler ise bu maddelerin yıkılması sırasında oluşmakta ve uzun ömürlü olduklarından hücre hasarının yayılmasına neden olabilmektedirler. Bu aldehitler arasında en iyi bilinenleri MDA (malondialdehit) ve 4 hidroksi alkenal'dir. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu MDA oluşumu ile sonuçlanmaktadır. MDA, yağ asidi oksidasyonunun spesifik ya da kantitatif bir indikatörü değildir, ancak lipid peroksidasyonunun derecesi ile korelasyon göstermektedir. Peroksidasyonla oluşan MDA, membran komponentlerinin çapraz bağlanmasına ve polimerizasyonuna sebep olmaktadır. Bunun sonucunda da deformasyon, iyon transportu, enzim aktivitesi ve hücre yüzey bileşenlerinin agregasyonu gibi intrinsik membran özellikleri değişmektedir (53,59).

#### **2.2.2.2. Proteinlerin Oksidatif Modifikasyonu**

Proteinler, serbest radikal hasarına duyarlı moleküllerdir. Serbest radikallerin etkisi ile bu moleküllerin sülfühidril gruplarında hasar meydana gelebilmektedir. Protein moleküllerinin yapısı değişmekte ve oksidasyon reaksiyonları sonucu büyük agregatlar haline dönüşebilmektedir (60,61).

#### **2.2.2.3. Karbonhidratlara Etkileri**

Monosakkaritlerin otooksidasyonu sonucu hidrojen peroksid, peroksitler ve okzoaldehitler meydana gelmektedir (53). İnflamatuar eklem hastalıklarında sinovial sıvıya geçen lökositlerden extrasellüler sıvıya salınan  $H_2O_2$  ve  $O_2^-$  buradaki mukopolisakkarit olan hyalüronik asidi parçalamaktadır. Gözün vitröz sıvısında bol miktarda hyalüronik asit bulunduğundan, bunun oksidatif hasarı katarakt oluşumuna katkıda bulunmaktadır (53,62).

#### 2.2.2.4. Oksidatif Stres ve DNA Lezyonları

Proteinler, lipitler ve karbonhidratlar gibi DNA da kimyasal-oksidatif hasara uğrayabilmektedir. İnsan vücudunun her hücresinde DNA'nın günde  $10^3$  kez oksidatif hasara maruz kaldığı öne sürülmüştür (50). DNA hasarı ve onarımı arasındaki denge nedeniyle sağlıklı bireylerde de çok düşük düzeylerde hasar saptanabilmektedir. Antioksidan enzim düzeylerindeki azalma, DNA onarım mekanizmalarında defekt olması oksidatif DNA hasarının artmasına yol açmaktadır. DNA'da tek ve çift dal kırıkları, kontrolsüz baz dizilimi, baz modifikasyonları, DNA-protein arasında çapraz bağlanma oksidatif hasarla olabilir (50,63,64).

Serbest radikaller, DNA'da mutasyonlara ve hücre ölümlerine yol açabilirler. DNA'da oksidatif hasar oluşturan radikaller  $\text{OH}^-$  ve  $\text{O}_2^-$  radikalleridir.  $\text{OH}^-$  radikali, DNA'daki dört bazın herhangi birine saldırı yapabilirken,  $\text{O}_2^-$  dal kırığından ziyade, guanine spesifik bağlanarak hasar oluşturur (50,65). DNA çok sayıda negatif yüklü fosfat grupları içeren ve çeşitli katyonları bağlama yeteneğine sahip büyük bir anyondur. Fe ve Cu iyonları; negatif yüklü DNA'ya sürekli bağlı oldukları gibi oksidatif stres altında hücre içinde bulunan proteinlerden serbestleşerek de DNA'ya bağlanabilmektedir. Metal iyonlarının bağlanmaları DNA molekülünü  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'nin hedefi haline getirmektedir. Doğrudan DNA'da hasar yapmayan  $\text{H}_2\text{O}_2$  membranı kolayca geçerek, nükleusta Fe-Cu iyonları ile reaksiyonlaşarak (Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları) reaktivitesi çok yüksek olan  $\text{OH}^-$ 'lerini oluşturarak DNA'da hasara neden olur. Dolayısıyla  $\text{OH}^-$ 'inin hücre içinde diffüz olarak nükleusa, DNA'ya geçme olasılıkları az olduğu halde reaksiyonlarla hasara neden olabilmektedir. Oluşan  $\text{OH}^-$  radikal temizleyicileri tarafından uzaklaştırılmamaktadır. Yine  $\text{OH}^-$  temizleyicilerinin oluşturduğu radikaller de DNA'ya hasar verebilmektedir. Doku kültür ortamının  $\text{Fe}^{+2}$  ve  $\text{Cu}^{+2}$  iyon konsantrasyonunun artırılması ile oksidatif DNA baz hasarının arttığı ve  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'ye maruz bırakılan hücrelerde  $\text{Cu}^{+2}$  ve/veya  $\text{Fe}^{+2}$  şelatörlerinin kullanımının DNA'daki oksidatif hasarı önlediği belirtilmiştir (97). Yine oksidatif stres hücrede, sitozolik  $\text{Ca}^{+2}$  iyon konsantrasyonunda büyük bir artışa neden olarak nükleustaki Ca bağımlı endonükleazları aktive etmekte ve DNA'nın fragmentasyonuna neden olmaktadır. (nükleaz aktivasyonu hipotezi). Ca şelatörlerinin kullanımı ile DNA hasarının engellenebildiğini gösteren araştırmalar bulunmaktadır (66).

DNA’da oksidatif hasar ile başlangıçta dal kırıkları oluşur. Tek dal kırıklarında, karşı daldaki bilgi doğru okunarak ‘hasarlı dal onarıcı enzimlerle’ onarılabilir. Bu yüzden çift dal kırıkları daha önemlidir (64). Organizmada normal şartlarda oluşan düşük düzeylerde oksidatif DNA hasarı, DNA onarım enzimleri sayesinde minimal hata riski ile etkin bir şekilde onarılabilir. Ancak DNA onarım enzimleri ve DNA polimerazın oksidatif stres altında hasarlanmaları doğru replikasyon ve transkripsiyon olasılığını azaltmaktadır. Onarım tamamlanıncaya kadar, hücreler bölünmelerini genellikle durdurarak kendilerini korumaktadırlar (50,66).

DNA’daki oksidatif hasar yüksek düzeylere ulaştığında hücre ölümü gerçekleşmektedir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda oksidatif DNA hasar göstergesi olarak sıklıkla baz hasarları analizlenmiştir. Bakır iyonları DNA’da guanin-sitozin’den zengin bölgelerde yüksek oranda bulunduğu için oksidatif hasara en fazla maruz kalan baz ‘guanin’ dir. Bu nedenle en yaygın olarak ölçülen baz hasarı 8-hidroksideoksiguanozin’dir. 8-hidroksideoksiguanozin, oksidatif DNA baz hasarının bir göstergesi olarak kabul edilmektedir (50,63,64,66).

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

#### **2.2.3.1 Antioksidan Sistemler**

Vücutta reaktif oksijen türlerinin düzeylerini kontrol altında tutmak ve oluşturabilecekleri hasarları engellemek için birçok savunma mekanizmaları bulunmaktadır (67,68). Serbest radikalleri metabolize eden, serbest radikal oluşumunu önleyen veya serbest radikallerin temizlenmesini arttıran bu maddelere “*antioksidan*” maddeler denilmektedir.

Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyerek ya da reaktif oksijen türlerini toplayarak lipid peroksidasyonunu inhibe etmektedirler. Aerobik hücrelerde pek çok antioksidan sistem bulunmaktadır. Bu antioksidanlar endojen ve eksojen kaynaklı olarak ikiye ayrılmaktadır (53,58,67). Endojen antioksidanlar, enzim olarak görev yapanlar ve enzim olmayan antioksidanlar olarak iki grupta incelenmektedir.

Enzim olan antioksidanlar, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), katalaz (CAT), glutatyon transferaz (GST), glutatyon redüktaz ve mitokondriyal oksidaz sistemidir. Enzim olmayanlar ise, bilirubin, albümin, ürik asit, alfa tokoferol, askorbik asit,

seruloplazmin, transferrin, ferritin ve glutatyon gibi maddelerdir. Bunlar oksijen radikallerine karşı ilk savunma sistemini oluşturmaktadırlar. Eksojen antioksidan olarak da allopurinol, folik asit, B12, B2, B5, C vitamini, E vitamini, flavinoidler, asetilsistein, mannitol, adenzin, kalsiyum kanal blokerleri, nonsteroid antienflamatuar ilaçlar ve demir şelatörleri sayılabilir (50,53,67,69).

Antioksidanlar ayrıca primer, sekonder ve tersiyer olarak da sınıflandırılmaktadır. Yeni serbest radikal formasyonunu önleyen antioksidanlar primer antioksidanlar olarak adlandırılmaktadır. Örnek olarak SOD, GPx, metal bağlayan proteinler, ferritin, seruloplazmin, demir, hemopeksin, haptoglobulin gösterilebilir. Bazıları ise metal iyonları ile reaksiyona girebilecek olan peroksitleri yok ederek serbest radikallerin oluşumunu önlemektedirler. Sekonder antioksidanlar, zincir kırıcı reaksiyon ile serbest radikalleri uzaklaştırmaktadırlar. Bilirubin, E vitamini, C vitamini, beta karoten, ürik asit ve albumin gibi maddeler bu sınıfta yer almaktadırlar. Lipid peroksidasyon zincirini kıran bir antioksidan olan alfa tokoferol hücre zarında bulunmaktadır. Askorbik asit suda erimekte ve radikal toplayıcı olarak rol almakta, E vitamininin etkisini arttırmaktadır. Ürik asit ksantin oksidazı inhibe ederek serbest radikal oluşumunu azaltmaktadır. Tersiyer antioksidanlar, serbest radikaller tarafından hasar gören biyomolekülleri onarırlar. DNA'yı onaran enzimler de bu grupta yer almaktadırlar.

### **2.2.3.1.1. Enzimatik Antioksidanlar**

#### **Süperoksit Dismutaz (SOD)**

SOD, substrat olarak serbest oksijen radikallerini kullanan ve süperoksidi hidrojen perokside çeviren bir metalloenzimdir. Bu reaksiyon "oksidatif strese karşı ilk savunma" olarak da adlandırılmaktadır. Çünkü süperoksit zincirleme radikal reaksiyonlarının güçlü bir başlatıcısıdır. Bu sistem sayesinde hücrel kompartımanlardaki süperoksit düzeyleri kontrol altında tutulmaktadır. Lösemi, iskemi, hepatit, müsküler distrofi, respiratuar 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' nin ekstraselüler aktivitesi çok düşüktür (53).

### **Katalaz (CAT)**

Katalaz peroksizomlarda bulunan bir enzimdir. Hidrojen peroksidi su ve oksijene ayırmaktadır. Katalaz yapısında protoporfirin-IX, Fe (Hem) grubu içerir. Kan, kemik iliği, karaciğer, böbrek ve müköz membranda yüksek miktarda bulunmaktadır. Katalaz hücreyi kendi respiratuar patlamasına karşı koruyucu olarak hizmet etmektedir (50,67).

### **Glutasyon Peroksidaz (GPx)**

GPx, pek çok hücrede sitozollerde bulunan bir enzimdir. Sitozol ve mitokondrilerde SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksit ve yağ asidi hidroperoksitlerini ortadan kaldırmaktadır. Ancak kapasitesi sınırlıdır. Düşük hidrojen peroksit konsantrasyonunda çalışmaktadır. Kofaktör olarak selenyum elementini kullanır. Hidrojen peroksit ve organik peroksitlerin indirgenmesiyle oksitlenen glutasyon, glutasyon redüktaz enzimi ve başlıca pentoz fosfat yolundan sağlanan NADPH yardımıyla indirgenerek reaksiyonların devamını sağlar (53). Glutasyon peroksidaz fagositik hücrelerde önemli fonksiyonlara sahiptir. Diğer antioksidanlarla birlikte GPx, solunum patlaması sırasında serbest radikal peroksidasyonu sonucu, fagositik hücrelerin zarar görmesini engeller. Eritrositlerde de GPx oksidan strese karşı en etkili antioksidandır. GPx aktivitesindeki azalma, hidrojen peroksidin artmasına ve şiddetli hücre hasarına yol açar (53). Yapılan çalışmalarda kord kanı glutasyon peroksidaz ve total antioksidan düşüklüğü olan bebeklerde DNA hasarının yüksek olduğu gösterilmiş ve doğumda oksijen radikallerinin oluşumunun arttığı ifade edilmiştir (53,59).

### **Glutasyon-S-Transferazlar (GST)**

Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda görev almaktadırlar. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipid hidroperoksitlere karşı glutasyon-S-transferazlar “Selenyum” bağımsız aktivite göstermektedirler. Antioksidan aktivitelerine ek olarak başka biyokimyasal fonksiyonlara da sahip olup bilirubin, hem ve bazı kortikosteroidler gibi endojen maddelere geri dönüşsüz olarak bağlanarak bunların hücre içi transportunda da görev almaktadırlar (53,60).

### **Glutasyon Redüktaz (GR)**

Glutasyon peroksidaz tarafından hidrojen peroksit ve diğer lipit peroksitlerin yükseltgenmesi sırasında glutasyon, okside glutatyona dönüşmektedir. Oksidasyona uğramış bu yapıyı tekrar kullanmak için redükte glutatyona dönüştüren enzim glutasyon redüktazdır (53).

### **Mitokondriyal Sitokrom Oksidaz**

Solunum zincirinin son enzimi olan sitokrom oksidaz süperoksit radikalini suya çevirerek etki göstermektedir (70)

## **2.2.3.1.2. Non enzimatik Antioksidan Savunma Sistemleri**

### **Glutasyon (GSH)**

Önemli bir intraselüler antioksidandır ve ekstraselüler mesafede çok düşük konsantrasyonlarda bulunur. GSH' ya antioksidan özelliğini sisteinin tiyol grubu kazandırır. Glutasyon,  $\text{OH}^-$ ,  $\text{O}_2^-$ , gibi reaktif oksijen türevlerinin temizleyicisidir. Serbest radikal ve peroksitlerle reaksiyona girerek hücreleri oksidatif hasara karşı korur. N-asetil sistein hücre membranını geçip hücre içinde sisteine dönerek GSH üretimini artırır (70).

### **Vitamin C (Askorbik Asit)**

Çok güçlü bir indirgeyici ajan olan C vitamini süperoksit ve hidroksil radikalleri ile kolayca reaksiyona girerek onları temizler, antiproteazların oksidan maddeler ile inaktive olmasını engeller. C vitamininin antioksidan etkisinin yanında pro-oksidan etkisi de söz konusudur (60).

### **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, lipit peroksidasyonunu inhibe eder. Askorbik asit, E vitaminin etkisini artırır. E vitamini ve GPx serbest radikal etkisine karşı birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. E vitamini sentezlerini engeller iken GPx, oluşmuş peroksitleri ortadan kaldırır (70).

### **Vitamin A (Beta Karoten)**

A vitaminin metabolik bir ön maddesi olan ve yağda çözünen bir antioksidan olan beta karoten son derece güçlü singlet oksijen temizleyicisidir. Serbest radikaller biyolojik hedeflerle interaksiyona girmeden önce direkt olarak onları yakalayabilir ve aynı zamanda zincir kıran bir antioksidan olarak etki ederek de peroksit radikalleri oluşumunu engeller (60).

### **Seruloplazmin**

Plazma antioksidan aktivitesinin önemli bir kısmı, bakır içeren ve taşıyan akut faz proteini seruloplazminden kaynaklanır. Seruloplazmin oksijen radikal ara ürünleri salınmaksızın ferro oksidaz aktivitesi göstererek demiri okside eder. Böylece fenton reaksiyonunu ve serbest radikal oluşumunu inhibe eder (49).

### **2.2.4. Total Antioksidan Kapasite (TAK)**

Normal fizyolojik koşullarda organizma, endojen veya eksojen nedenlerle oluşan serbest radikaller ve bunlara bağlı oluşan oksidatif stres ile mücadele eden kompleks bir antioksidan defans sistemine sahiptir. Vücudun oluşan oksidan durumlara karşı redoks ayarını sürdürebilmesinde kan çok önemlidir. Çünkü kan antioksidanların vücudun tüm bölümlerine taşınmasını ve dağıtımını gerçekleştirmektedir (50).

Total antioksidan kapasiteye en büyük katkı plazmadaki antioksidan moleküllerden gelmektedir. Plazmada bilirubin, serbest demiri toplayan transferin ve seruloplazmin, ürik asit, E vitamini, C vitamini yanında serbest radikalleri tutan zincir kırıcı antioksidanlarda bulunmaktadır. Albumin, ürik asit, askorbik asit insan plazmasındaki total antioksidan kapasitenin %85'inden fazlasını oluşturmaktadır. Bunun nedeni, kanda bilirubin, glutatyon, flavinoidler, alfa tokoferol ve beta karoten gibi antioksidan sistemin komponentlerine nazaran albumin, ürik asit ve askorbik asitin seviyelerinin fazla olmasıdır (50,71).

Plazmada antioksidanlar bir etkileşim içinde bulunurlar. Genel olarak bu maddeler sinerjist olarak çalışmaktadırlar. Bu etkileşimden dolayı, bileşenlerin tek başlarına yaptıkları etkinin toplamından daha fazla bir etki oluşmaktadır. Bu sinerjizme örnek glutatyonun askorbatı, askorbatın da tokoferolün yeniden aktifleşmesini sağlaması gösterilebilir. Ayrıca bir antioksidandaki azalma diğerindeki artış ile kompanse edilebilmektedir. Örneğin yenidoğanda



postnatal dönemde fizyolojik şartlarda plazmada ürik asit, C vitamini, ve sülfühidril grupları azalırken, bilirubin ve E vitamini düzeyleri artmaktadır. Total antioksidan kapasitenin ölçümü, antioksidanların tek tek ölçümünden daha değerli bilgiler vermektedir. Bu yüzden kanın antioksidan durumunu saptamada, bireysel antioksidanlardan çok bunların toplam antioksidan değerini veren toplam antioksidan kapasite ölçümü yaygınlaşmaktadır (50,71).

### **2.2.5 Anemi ve Oksidatif Stres**

Demirin nasıl fazlalığı serbest demir oluşması sonucu ROS oluşumuyla artmış oksidatif strese neden oluyorsa; demir eksikliği anemisinin patogenezinde de oksidatif stresin önemli bir rolü gözükmektedir. Total antioksidan kapasite ve hemoglobin düzeyleri arasında pozitif bir korelasyon varken; total antioksidan kapasite ve hemoglobin düzeyleri ile DNA hasarı arasında negatif bir korelasyon mevcuttur (44).

### **2.2.6. Anemi ve DNA Hasarı**

Kan mononükleositleri demir fazlalığının DNA üzerine zedelenme etkilerine karşı hassastırlar. Aynı şekilde demir eksikliği anemisi olan kişilerde de artmış ROS nedeniyle DNA hasar oranları yüksektir (44).

### 3. MATERYAL VE METOD

Bu tez çalışmasına, Mart 2009-Temmuz 2009 tarihleri arasında Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum polikliniğine başvuran son trimesterde olan, 95 gebe alındı. Dört gebenin hemogram tüpleri hemolizli olması nedeniyle çalışma dışı bırakıldı. En az 30 gün düzenli olarak  $Fe^{++}$  preparatı kullanan gebeler (Grup 1),  $Fe^{+++}$  preparatı kullanan gebeler (Grup 2) ile  $Fe$  preparatı kullanmayan gebelerden (Grup 3) üç grup oluşturuldu. Hastalara araştırmacı tarafından hazırlanan anket formu dolduruldu. Aktif veya pasif sigara kullanımı olan, gestasyonel veya kronik diyabeti, hipertansiyonu veya ek hastalığı olan, anomalili gebeliği olan, polihidroamniyoz veya oligohidroamniyoz olan, plasental patolojileri olan hastalar çalışma dışı bırakıldı. Hastaların kanı poliklinik şartlarında alınarak en fazla dört saat içinde laboratuara ulaşacak şekilde toplandı.

#### 3. 1. Örneklerin Hazırlanması ve Ölçümler

Gebelerden; hemogram çalışılması için sitratlı tüplere 2cc kan alındı. 2 saat içinde laboratuara ulaştırıldı ve hemen çalışıldı. Mononükleer hücre DNA hasar seviyesinin ölçümü için heparinize tüplere (50U/ml) 2 cc kan alınarak buzlu su içerisine konulup, 2 saat içerisinde laboratuara ulaştırılarak hemen çalışılması sağlandı. Oksidatif stres parametreleri ve diğer parametreler için jelli tüplere alınan kan örnekleri 3000 rpm de 10 dakika santrifüj edilerek serumları ayrıldı ve çalışılncaya kadar  $-80^{\circ}C$ 'de saklandı.

#### 3. 2. Mononükleer Lökositlerin Seperasyonu

Bir ml histopaque -1077 (Sigma Kat. No:10771 ) üzerine bir ml taze heparinize kan yavaşça ilave edilip 2100 rpm ve  $25^{\circ}C$ 'de 30 dakika santrifüj edildi. Orta tabakada biriken mononükleer lökositler pipet yardımıyla alınıp bir ml tuzlu fosfat tamponu (0.1 M, Ph:7.4) ile karıştırıldıktan sonra 1600 rpm ve  $25^{\circ}C$ 'de 10 dakika santrifüj edildi. Üstteki süpernatant atılıp pellet tuzlu fosfat tamponu ile  $10^6$  mononükleer lökosit/ $\mu$ l olacak şekilde dilüe edildi.

### **3. 3. Comet Assay (alkali mononükleer tek hücre elektroforezi) Yöntemi ile DNA Hasar Tayini (mDNA hasarı)**

#### **Yöntemin Prensipleri**

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

#### **Yönteminin Uygulanışı:**

##### **Slaytların Hazırlanması**

%1,0 'lik normal erime noktasına (NMP) sahip agaroz jel hazırlanarak, pipetle 55°C sıcaklıkta 80µl kadar alınıp, kenarları kumlanmış lam üzerine damlatıldı ve üzeri hemen lamel ile kapatılarak buzdolabında (2-4 °C) 5 dakika bekletildikten sonra lamelleri kaldırıldı. Hazırlanan NMP jel kaplı lamlar nemli kutularda bekletildi. Kaplı lamlar üzerine PBS (Fosfat buffered saline) ile mm<sup>3</sup>'te 10<sup>4</sup> hücre olacak şekilde dilüe edilmiş mononükleer hücrelerden 10 µl alınarak 80 µl %0,5'lik düşük erime noktasına (LMP) sahip agaroz jel (37 °C) ile karıştırılarak tabakalandırıldı ve tekrar lamel ile kapatılarak buzdolabında 5 dakika bekletildi. Üçüncü aşamada da aynı konsantrasyonda LMP agaroz jel hazırlanarak ikinci tabakanın üzerine ince bir tabaka halinde tabakalandırılarak slaytların hazırlanması tamamlandı.

##### **Lizis Aşaması**

Agaroz jel donduktan sonra slaytlar yaklaşık bir saat süre ile yüksek konsantrasyonda tuz ve deterjan içeren (100 mM EDTA, 2,5 M NaCl, 10 mM trizma baz, %1 triton X-100, pH 10) soğuk lizis solüsyonunda bekletilerek hücre ve çekirdek zarı lizise uğratıldı.

### **Elektroforez Tamponu**

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

### **Elektroforezde Yürütme**

Alkali elektroforez tamponunda inkübasyon tamamlandıktan sonra DNA'lar bu tampon çözeltisi içerisinde 300 mA, elektriksel alanda ve 5–25 °C'de 30 dakika yürütüldü.

### **Nötralizasyon**

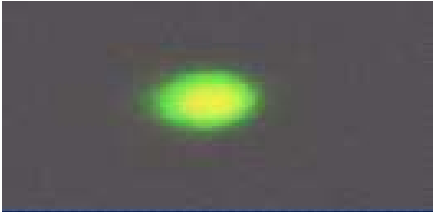
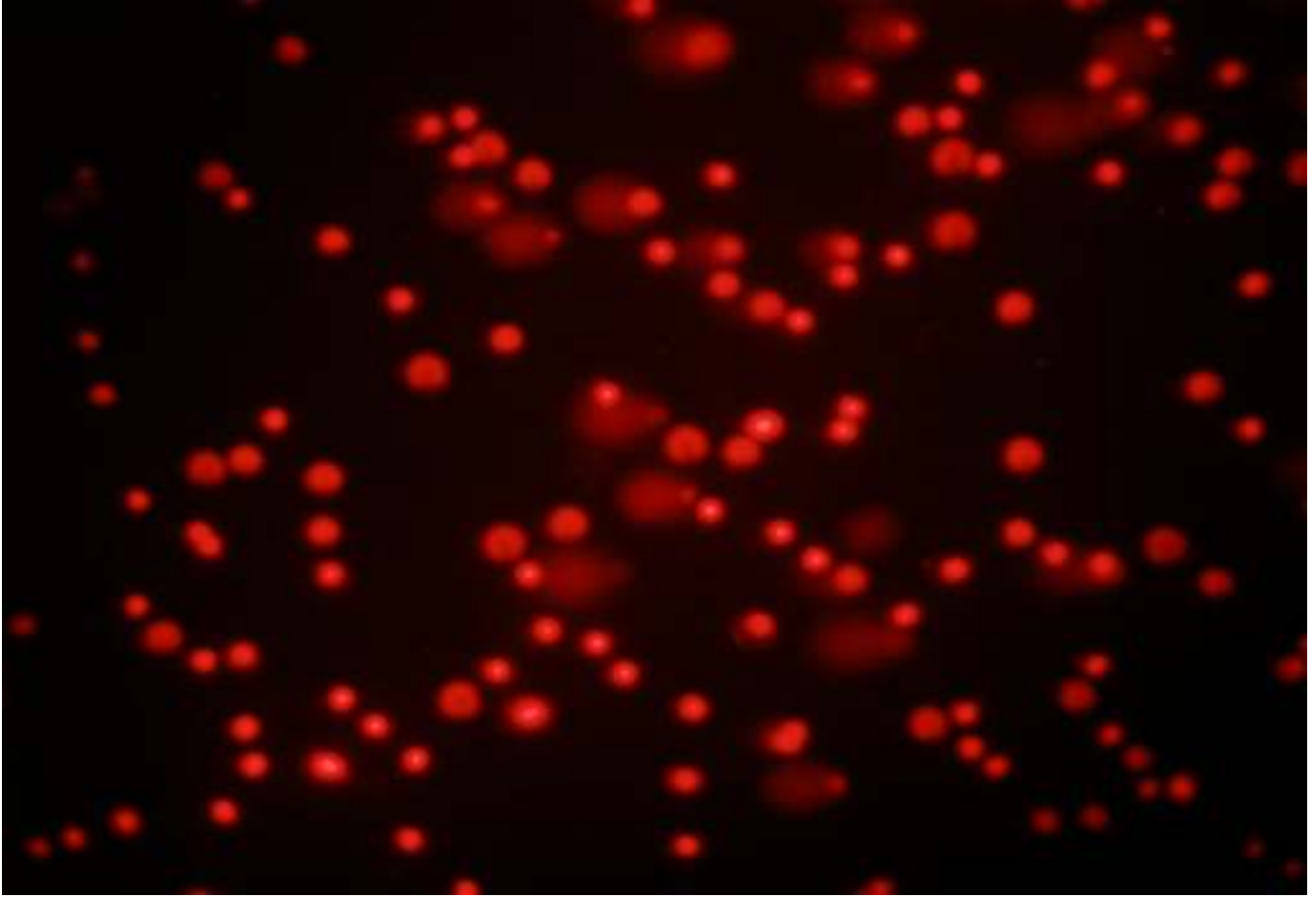
Elektroforezde yürütme işlemi tamamlandıktan sonra alkali tampon çözeltisini ortamdaki uzaklaştırmak için slaytlar 3 dk süre ile 3 kez nötralizasyon tamponu ile (0.4 M Tris-HCL, pH 7.5) yıkandı.

### **Boyama**

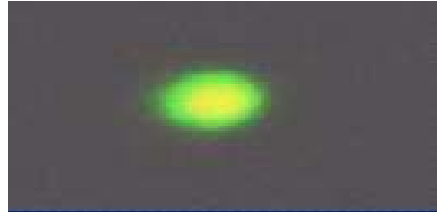
Nötralizasyon tamamlandıktan sonra floresan DNA boyası olan etidyum bromit ile (5 µg/ml) her bir slayt için 80 µL boya kullanılarak boyandı. Lamların üzeri lamel ile kapatılarak 20 büyütme floresan mikroskop ile (Eksitasyon DB: 546 nm, Emisyon DB: 580 nm) değerlendirildi.

### **Analiz**

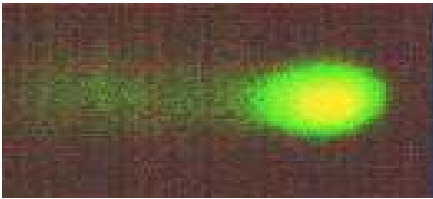
Bu yöntemde DNA migrasyonunu vizüel olarak değerlendirildi. Oluşan hasarın derecesine göre DNA'lar beş kategoriye ayrıldı. Şekil 4'te de görüldüğü gibi, hiç hasar bulunmayan DNA'lar 0, maksimum hasar olan DNA'lar 4. kategoride değerlendirildi. Değerlendirilen 50 hücreye ait DNA'lardaki hasar dereceleri tespit edilip çıkan sonuç 2 ile çarpıldı ve değerlendirme 100 üzerinden yapılmış ve sonuçta 100 hücredeki DNA hasarı sayılmış oldu. Dolayısıyla bu değerlendirmede en yüksek değer 400 olabilecektir. ( hücrelerin tamamı 4. kategoride hasarlanmış olsa  $4 \times 100 = 400$ ). Migrasyonun uzunluğu fragmentlerin miktarına, DNA zincir kırılmalarına ve alkali-labil bölgelerin seviyelerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir.



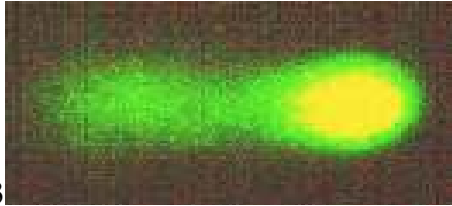
class 0



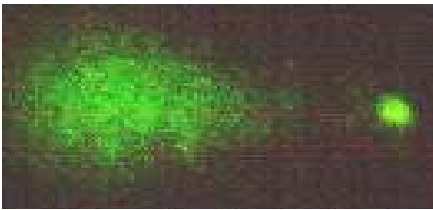
class 1



class3



class4



class 5

*Şekil 1: DNA'daki farklı derecedeki hasarların elektroforez migrasyonu sonucu fleuresan mikroskop altındaki görüntüleri*

### 3. 4. Total Antioksidan Kapasite (TAK)

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik bir yöntem olup, güçlü serbest radikallere karşı vücudun total antioksidan kapasitesini ölçen bir metoddur(72,73)

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

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

**Prensip** Fe<sup>+2</sup> -o-dianisidine kompleksi hidrojen peroksit ile Fenton tipi reaksiyon oluşturarak OH<sup>-</sup> radikalini oluşturur. Bu güçlü reaktif oksijen türü indirgenerek düşük pH'da renksiz o-dianisidine molekülü ile reaksiyona girerek sarı-kahverengi dianisidyl radikallerini oluştururlar. Dianisidyl radikalleri ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak renk oluşumu artmaktadır. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadırlar. Bu reaksiyon otomatik analizörde spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuç verilmektedir. **Birim;** µmol Trolox Eqv./L

### 3. 5. Total Oksidan Seviye (TOS)

Erel tarafından geliştirilen tam otomatik kolorimetrik bir yöntemdir(72,73).

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

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

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

**Birim;** µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Eqv. /L

### 3. 6. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ)

Total Oksidatif Stress (TOS) / Total Antioksidan Kapasite (TAK) şeklinde bölünerek Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) hesaplandı(72,73). **Birim;** AU

### **3. 7. Yapılan İstatistiksel Analizler**

SPSS 11.5 kullanılarak İstatistiksel analizler yapıldı. İstatistiksel analiz olarak Student's T testi, Man-Whitney-U testi, Chi-square, One Way Annova, Pearson's korelasyon testleri kullanıldı. Çift taraflı  $p < 0,05$  olması anlamlı olarak kabul edildi.

#### 4. BULGULAR

Çalışmaya 27 tane +2 Fe preparatı kullanan, 32 tane +3 Fe preparatı kullanan ve 32 tane Fe preparatı kullanmayan gebe dahil edildi. Gruplar arasında yaş ve gravida sayıları açısından anlamlı bir fark görülmedi.(Tablo 9)

Çalışma grubumuzdaki Grup1 gebelerin yaş ortalaması 28.9, Grup2' nin 28.2, Grup3'ün 26 ve total 27.6 olarak belirlendi. . Hemoglobin ortalamasının Grup1 de 12.3 gr/dl, Grup2 de 12.3 gr/dl, Grup3 de 12.4 gr/dl ve total 12.3 gr/dl, hematokrit ortalamasının Grup1 de 35.8, Grup2 de 35.7, Grup3 de 36.5 ve total 36, serum ferritin ortalamasının Grup1 de 26.1 ng/ml, Grup2 de 23.5 ng/ml, Grup3 de 21.5 ng/ml ve total 23.6 ng/ml, serum demir ortalamasının Grup1 de 90.9 ugr/dl, Grup2 de 91.6 ugr/dl, Grup3 de 89 ugr/dl ve total 90.5 ugr/dl, serum vitamin B12 ortalamasının Grup1 de 258 pg/ml, Grup2 de 243.2 pg/ml, Grup3 de 274.3 pg/ml ve total 258.5 pg/ml, serum folik asit ortalamasının Grup1 de 14.7 ng/ml, Grup2 de 14.3 ng/ml, Grup3 de 10.6 ng/ml ve total 13.7 olduğunu bulduk (Tablo 10). Bu bulgular eşliğinde çalışmaya aldığımız gebelerin %7,6'sının anemik olduğunu tespit ettik. Folik asit düzeyleri Fe kullanmayan grupta kullanan gruplara göre düşüktü ancak B12 düzeyi tam tersi bir şekilde diğer gruplardan yüksekti. Folik asit düzeyleri ile hemoglobin konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon gözlemlendi. Buna ek olarak B12 düzeyleri ile yaş arasında da pozitif korelasyon mevcuttu.

Gruplar arasında hemoglobin konsantrasyonları açısından anlamlı bir fark görülmedi. DNA hasar düzeyi Grup 1 de, Grup2 ve 3'e göre anlamlı yüksek bulundu. Ayrıca Grup 2'de Grup 3'e göre anlamlı oranda yüksekti. Folik asit düzeyleri Fe kullanmayan grupta kullanan gruplara göre düşüktü ancak B12 düzeyi tam tersi bir şekilde diğer gruplardan yüksekti (Tablo 10). Folik asit düzeyleri ile hemoglobin konsantrasyonları arasında pozitif korelasyon gözlemlendi. Buna ek olarak B12 düzeyleri ile yaş arasında da pozitif korelasyon mevcuttu.

Gebelerin DNA hasar düzeyleri Grup1de 4,6 AU, Grup2 de 3,5 AU ve Grup3 de 2,5 AU olarak belirlendi. TOS değeri Grup1 de 12,3  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Eqv./L, Grup2 de 13,3  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Eqv./L, Grup3 de 11, 5  $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$  Eqv./L), TAS değerleri Grup1 de 0,86 mmol Trolox Eqv./L, Grup2 de 0,85 mmol Trolox Eqv./L, Grup3 de 0,93 mmol Trolox Eqv./L OSİ ise Grup1 de 1,4 AU Grup2 de 1,5 AU ve Grup3 de 1,2 AU olarak ölçüldü (Tablo 10).



DNA hasar düzeyi, Grup 1’de en yüksek, Grup 2’de ikinci olarak yüksek bulundu. Grup 3’de ise en düşüktü (Şekil 2). TAK, Grup1 ve 2’de birbirine yakın, Grup 3’de belirgin olarak artmıştı (Şekil 3). TOS değerleri, Fe preparatı kullanan gruplarda, kullanmayan gruba göre daha yüksek ölçüldü. +3 değerlikli Fe kullanan grupta +2 değerlikli Fe kullanan gruba göre daha yüksek değerler izlendi (Şekil 4).

Tüm bunlara paralel olarak OSI, Grup 2’de en yüksek, Grup 1’de ikinci yüksek ve Grup 3’de en düşük olarak belirlendi (Şekil 5).

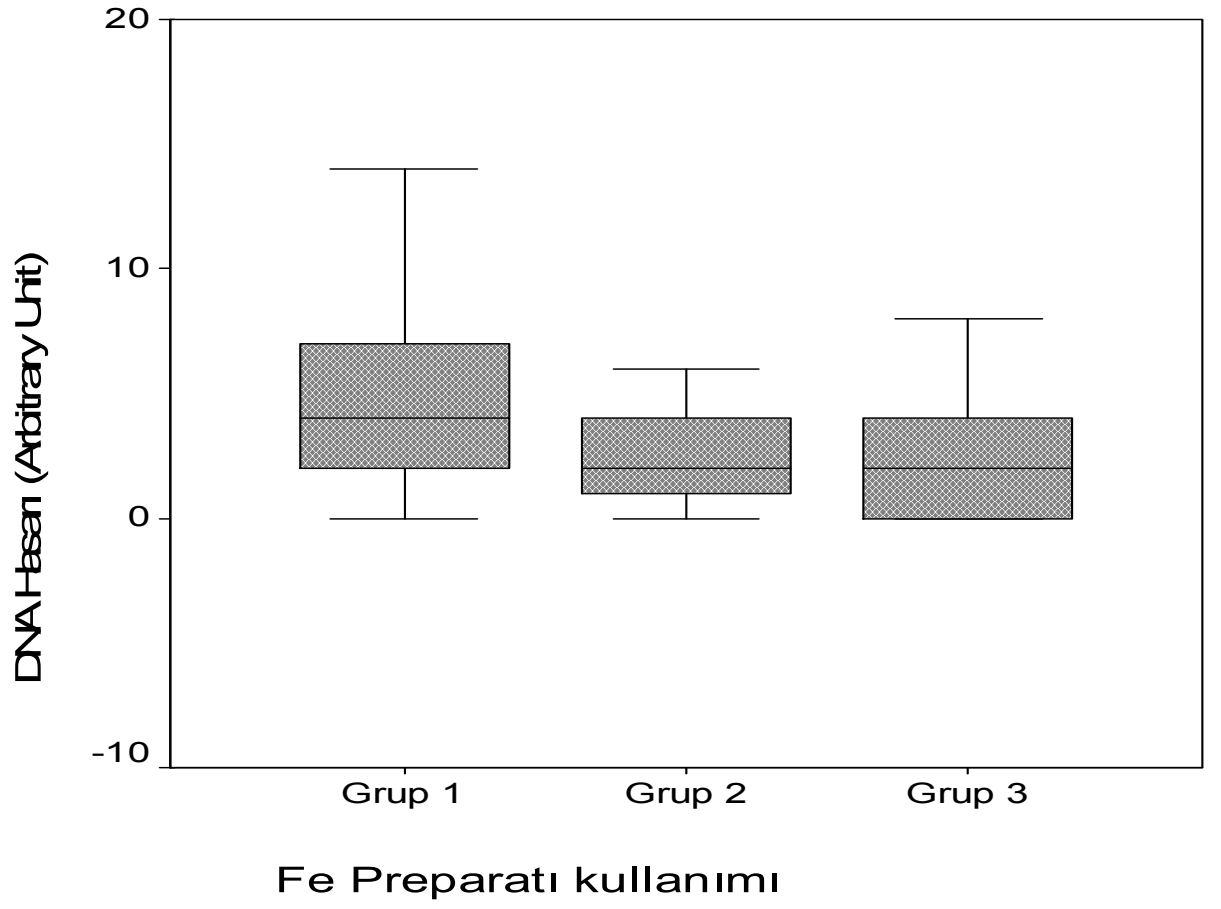
**Tablo 9: Gebelerin gruplar arası yaş ve gravida sayılarının karşılaştırılması**

<i>Parametreler</i>	<b>Grup 1</b> (n=27) X ± SD	<b>Grup 2</b> (n=32) x ± SD	<b>Grup 3</b> (n=32) x ± SD	<i>p</i>
<b>Yaş</b>	28,9 ± 6,0	28,2 ± 6,2	26,09 ± 6,1	0,181
<b>Gravida</b>	3,5 ± 1,9	2,5 ± 1,9	3,1 ± 2,6	0,185

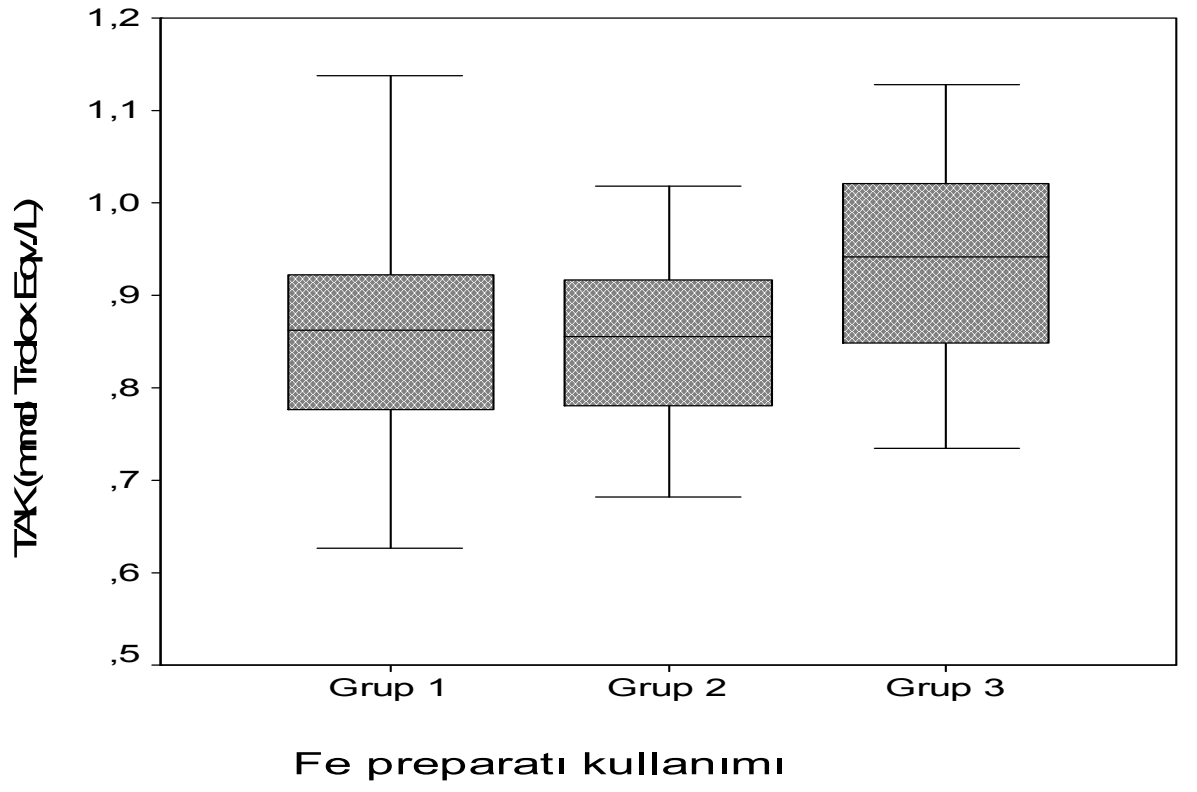
Tablo 10’ da, gebelerde çalışılan değerler gruplar arası karşılaştırmalı olarak, ortalama değerler ve standart sapmalar şeklinde verilmiştir.

**Tablo 10: Fe preparatı kullanan ve kullanmayan gebelerin DNA hasarı, oksidatif stres parametreleri ve diğer değerlerin karşılaştırılması**

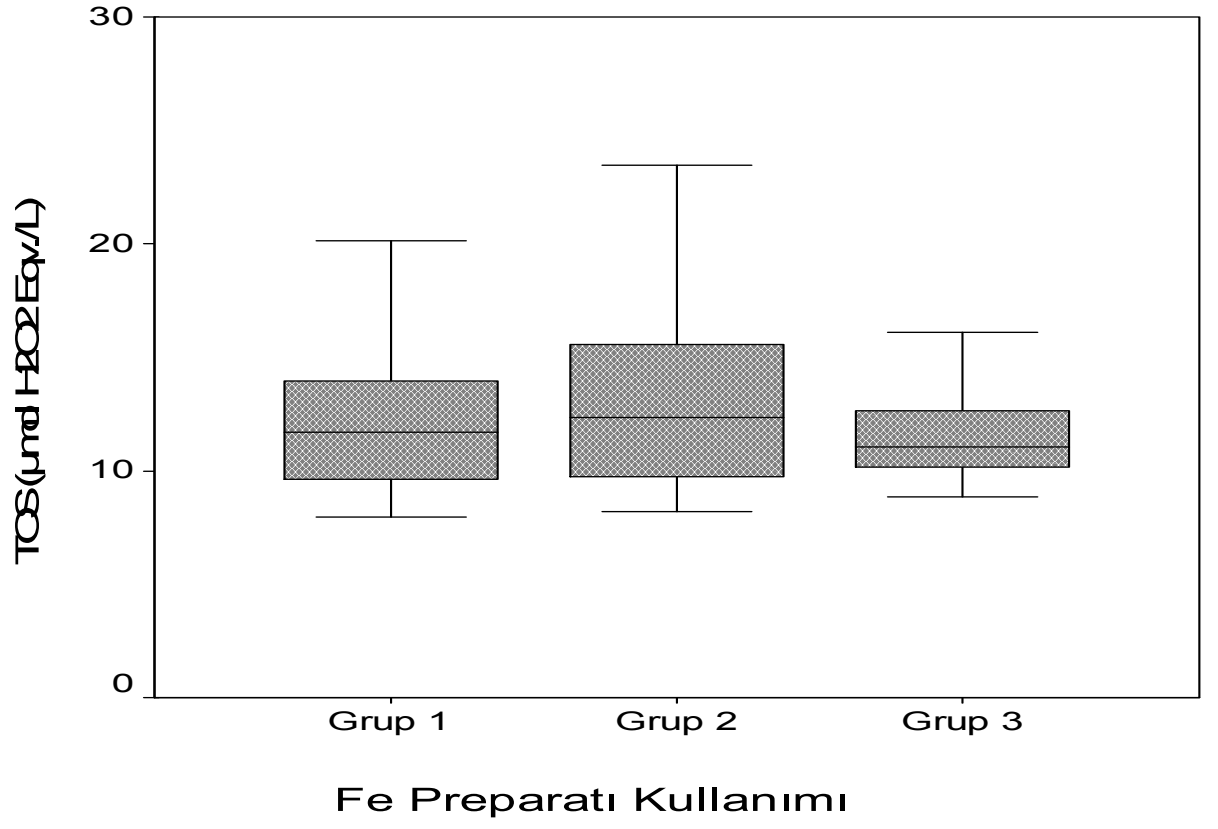
<i>Parametreler</i>	<b>Grup 1</b> <b>(n=27)</b> <b>x± SD</b>	<b>Grup 2</b> <b>(n=32)</b> <b>x± SD</b>	<b>Grup 3</b> <b>(n=32)</b> <b>x± SD</b>	<i>p</i>
<b>DNA hasarı (Arbitrary Unit)</b>	4,6 ± 4,1	3,5 ± 3,7	2,5 ± 2	0,067
<b>TOS (µmol H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Eqv./L)</b>	12,3 ± 3,5	13,3 ± 4,5	11,5 ± 1,9	0,003
<b>TAK (mmol Trolox Eqv./L)</b>	0,86 ± 0,1	0,85 ± 0,8	0,93 ± 0,1	0,145
<b>OSİ (Arbitrary Unit)</b>	1,4 ± 0,4	1,5 ± 0,4	1,2 ± 0,3	0,018
<b>Hemoglobin (g/dL)</b>	12,3 ± 0,9	12,3 ± 0,9	12,4 ± 0,8	0,787
<b>Fe (ug/dL)</b>	90,9 ± 35,7	91,6 ± 57,4	89,0 ± 37,0	0,585
<b>UIBC (ug/dL)</b>	525,9 ± 574,8	432,9 ± 180,6	455,7 ± 130,5	0,973
<b>Ferritin (ng/ml)</b>	26,1 ± 16,1	23,5 ± 33,5	21,5 ± 15,4	0,757
<b>B12 (pg/ml)</b>	258,0 ± 93,7	243,2 ± 62,5	274,3 ± 89,1	0,005
<b>Folik asid (ng/ml)</b>	14,7 ± 5,6	14,3 ± 5,8	10,6 ± 4,5	0,323



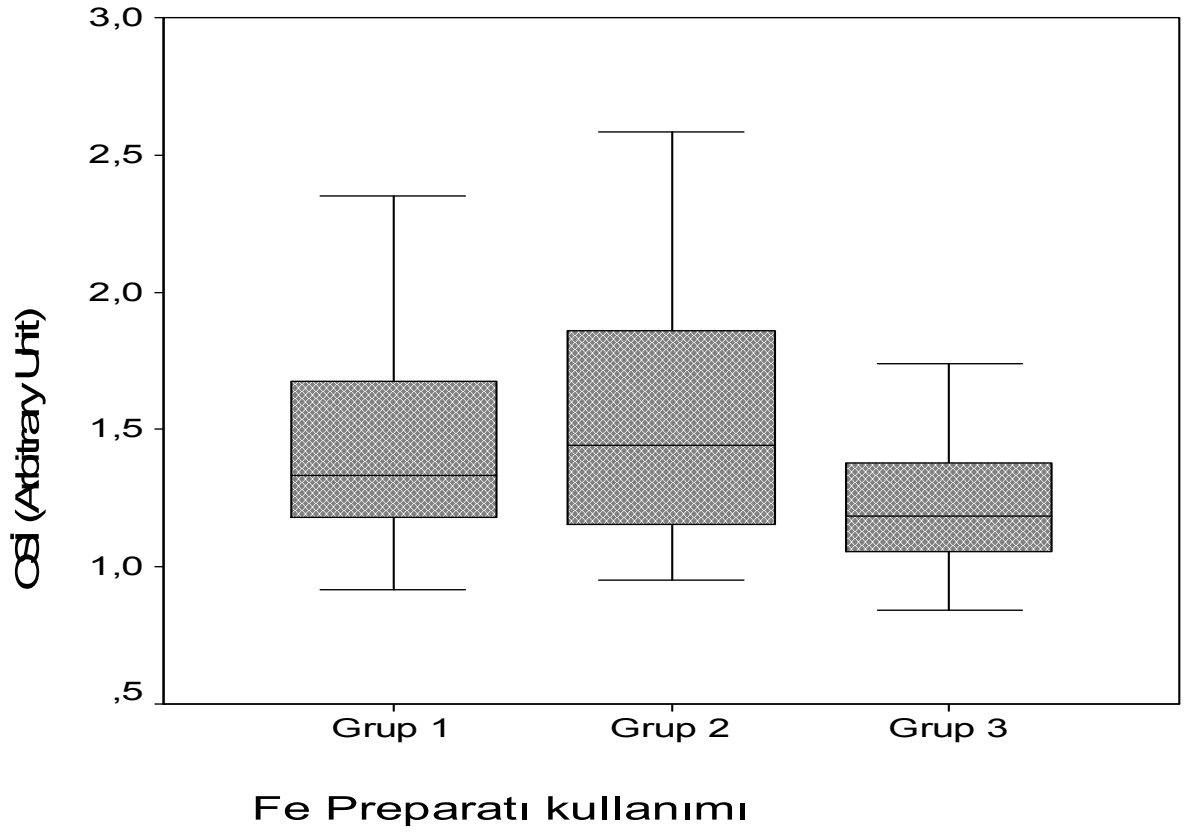
Şekil 2: +2, +3 Fe preparatı kullanan ve kullanmayan gebelerin DNA hasarı düzeyleri



Şekil 3: +2, +3 Fe preparatı kullanan ve kullanmayan gebelerin TAK düzeyleri



Şekil 4: +2, +3 Fe preparatı kullanan ve kullanmayan gebelerin TOS düzeyleri



Şekil 5: +2, +3 Fe preparatı kullanan ve kullanmayan gebelerin OSI düzeyleri

## 5. TARTIŞMA

Demir eksikliği toplumda sık görülen tanı ve tedavisi kolay olan tedavi edilmediği takdirde gittikçe artan düzeyde yaşam kalitesinde düşmeye neden olan bir hastalıktır.

Demir eksikliği anemisi tüm dünyada %51 oranında görülen, en sık rastlanılan beslenme problemidir. DSÖ'ne göre dünya kadınlarının %21-80'i anemiktir. Bunun %40-89'u da demir eksikliği anemisidir. Bu oran DSÖ'ne göre Avrupa'da %14, Türkiye'de %25'dir (74). Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre dünya nüfusunun %30'unu etkileyen demir eksikliği anemisi okul öncesi çocukların %43'ünü ve gebe kadınların %51'ini etkilemektedir (11).

Gebelikte aneminin en önemli sebebi yetersiz beslenme ve sık gebelikler nedeniyle vücuttaki demir depolarının boşalmasıdır (74,75,76). Özellikle 3. dünya ülkelerinde aneminin derecesi çok daha ciddidir ve anemi daha yaygındır. Hindistan ve çevresindeki ülkelerde gebe kadınlar arasında anemi sıklığı %40-90 olarak bildirilmiştir. Malhotra ve arkadaşlarının 2002'de yaptığı çalışmada Hindistan'da gebelikte anemi %72,5 olarak tespit edilmiştir (77). Choi ve arkadaşları 2000'de Kore'de yaptıkları çalışmada gebelikte anemi oranını %35,3 bulmuşlardır (78). Gelişmiş ülkelerde yapılan çalışmalarda ise anemi oranları %7-16 oranında bildirilmektedir (79,80). Bizim çalışmamızda 91 gebeden 7'sinin Hb düzeyi 11g/dL'nin altındaydı. Bunlardan bir tane gebenin sadece B12 eksikliği vardı. İki gebenin de sadece demir eksikliği anemisi vardı. Dört gebede hem B12 hem de demir eksikliği anemisi tespit ettik. Gebelerin hiçbirinde folik asit eksikliği yoktu. Sonuç olarak gebelerde anemi oranı %7,6 bulundu. Ancak hasta sayısı yeterli düzeyde olmadığı için bu oranın toplumdaki anemi oranını tam olarak yansıttığı söylenemez.

Demir eksikliği nasıl anemi gibi birçok sağlık sorununa neden oluyorsa aynı şekilde demir fazlalığının da vücuda çeşitli zararları vardır. Ratlarda *invivo*, insan mononükleositleri üzerine de *invitro* olarak yapılan bir çalışmada kan mononükleositlerinin demir fazlalığının DNA üzerine zedelenme etkilerine karşı hassas olduğu gösterilmiştir (81). İnsanda lökositlerdeki DNA hasarı demir aşırı yükünü göstermek için hassas bir biyomarker olarak kullanılabilir ve suplemantasyonun genotoksik etkileri belirlenebilir. Özellikle demir replasmanı yapılan gebeliğin ikinci yarısında bu daha da anlamlı olabilir. Ancak demir

yükünden bağırsak hücreleri lökositlerden daha fazla etkilenebilir. Çünkü düşük miktarlarda bile olsa fazla demirin ince bağırsaklardan emilimi ciddi demir birikimlerine neden olabilir. Fazla demirin neden olduğu reaktif oksijen türevleri TP53 geninde mutasyonlara neden olarak kolorektal kanserlere neden olduğu gösterilmiştir (81). Demir fazlalığı nasıl artmış oksidatif stres ve DNA hasarına neden oluyorsa, aynı şekilde demir eksikliğinde de artmış oksidatif stres ve DNA hasarı gösterilmiş (44). Yine bir çalışmada aşırı demir replasmanının hemokonsantrasyona neden olarak düşük doğum ağırlığı ve artmış prematüre doğum oranları açısından artmış riske sahip olduğu gösterilmiş (82).

Gebelerde yaptığımız çalışma sonucu elde ettiğimiz bu bulgular ışığında demir kullanımının anemi olmaması durumunda oksidatif stresi arttırarak DNA hasarına neden olduğu bu nedenle faydadan çok zarar verdiği düşünülmektedir.

Gebelerde anemi tespit edildiği zaman tek nedenin demir eksikliği anemisi olmadığını da akılda tutmak gerekir. Anemi ile ilgili olarak yapılan çalışmalarda etiyolojiye yönelik parametrelerin (serum demir, demir bağlama, ferritin, vitamin B12, folik asit düzeyleri) değerlendirmeye alınmadığını, çoğunlukla hemoglobin ve hematokrit değerlerinin çalışıldığını tespit ettik. Bu parametrelerin değerlendirildiği nadir çalışmalardan biri Al Khatib ve ark tarafından yapılmıştır (83). Lübnan'da yapılan bu çalışmada, doğurganlık çağında gebe olmayan kadınların %7,7'sinde demir eksikliği anemisi saptanırken, %25,9'unda folik asit eksikliği, %39,2'ünde ise vitamin B12 eksikliği tespit edilmiştir. Bu nedenle, doğurganlık çağındaki kadınlarda anemi etiyolojisinde demir eksikliği kadar folik asit eksikliğinin de rolü olabileceğinin altı çizilmiştir ancak bizim çalışmamızda hiçbir gebede folik asit eksikliği tespit edilmemiştir. Bunun nedeninin de folik asit eksikliğinin nöral tüp defektlerine neden olduğu düşünülerek prekonsepsiyonel danışmaya gelen her gebeye planlanan gebelik tarihinden üç ay önce folik asit başlanması ya da en azından gebelik tanısı konulur konulmaz tüm kadın hastalıkları ve doğum polikliniklerinde gebelere folik asit başlanması düşünülebilir. Afrika'da yapılan başka bir çalışmada ise çalışma grubunu %23'ünde yalnız demir eksikliğine bağlı anemi görülürken, %32'sinde demir eksikliğiyle beraber diğer mikrobelerin (folik asit, vitamin B12, vitamin A) eksikliğine bağlı olduğu, %26'sında ise demir eksikliği olmayıp, yalnızca mikrobelerin eksikliği olduğu saptanmıştır (84). Gebelikte görülen aneminin



etiyojisinde demir eksikliği kadar vitamin B12 eksikliğinin de görülebileceğini vurgulaması açısından önemli gözükmektedir.

Ülkemizde gebelerde anemi prevalansı ile ilgili olarak yapılan diğer çalışmaları taradığımızda, ülke evrenini temsil edecek boyutta geniş ölçekli bir araştırmaya rastlayamadık. Ülkemizde aneminin tespit ve tedavisi, doğum öncesi bakım hizmetlerinin bir parçası olarak birinci basamak sağlık kuruluşlarının görevi olduğundan dolayı, ülkemizde yapılan araştırmaların çoğunun sağlık ocağına başvuran gebelerin anemi prevalansını saptamaya yönelik olduğunu ve nispeten küçük ölçekli çalışmalar olduğunu gördük.

Bu çalışmalara göz atıldığında, ülkemizdeki anemi prevalansı bölgelere göre varyasyon göstermekte olup; oranlar %29,4-%42,4-%50-%51,2-%54,2-%73,9-%87,9-%95,2 olarak verilmiştir (85-92). Bu çalışmalara göre en düşük anemi prevalansı Afyon bölgesinde, en yüksek prevalans ise Diyarbakır ve Karadeniz Bölgesi'nde bulunmuştur (85,91). Bu oranlara bakıldığında bizim tespit ettiğimiz anemi prevalansı düşük bir orandır.

Beslenme tarzındaki ve doğurganlık oranındaki bölgesel farklılıkların, gebelikte anemi prevalansında görülen varyasyonlara yol açabileceğini düşünmekteyiz. Örneğin, gebelik döneminde pekmez tüketmeyenlerde anemi görülme sıklığı pekmez tüketenlere göre 3,5 kat fazla bulunmuştur (89). Ayrıca, yapılan bir diğer çalışmada, gebelik sayısı artışı ve anemi arasındaki ilişki istatistiksel olarak önemli bulunmuştur (88). Benzer olarak, Pirincci ve ark, Toksöz ve ark ile Mersin ve ark tarafından yapılan çalışmalarda da gebelik sayısı ile anemi sıklığı arasında istatistiksel anlamlı bir ilişki ortaya konamamıştır (86,89,91).

Maternal anemi intrauterin gelişme geriliği, preterm doğum, düşük doğum ağırlığı gibi fetal; preeklampsi, eklampsi gibi de maternal komplikasyonlar ile ilişkili olabileceği öne sürülmüştür (93,95). Farklı çalışmalarda ise kötü perinatal sonuçlar ile ilişkili olmadığı ortaya konmuştur (74). Yine bir çalışmada, anemik annelerin bebeklerinde hb ve ferritin değerlerinin normal olduğu ancak annenin plasentasının nonanemik bir gebeye göre kilosunun artmış olduğu gözlemlenmiş (96). Dünya Sağlık Örgütü raporuna göre, ciddi anemi anne ölümlerinde 5 kat artışa yol açmaktadır. Anemik annelerde doğum veya gebelik kayıpları sırasındaki düşük düzeylerdeki kan kayıpları ciddi sonuçlara hatta kalp yetmezliği gelişmesi ile maternal

mortaliteye yol açabilir. Anemi ayrıca annenin genel sağlığını bozarak kendiliğinden düşük, preterm eylem, postpartum kanama ve puerperal sepsis riskini artırır (98-103). Bu nedenle, Dünya Sağlık Örgütü'nün (DSÖ) gebelerde anemi prevalansı %40'dan az saptandığında ulusal demir desteği önerisi şöyledir; gebelikte ikinci trimesterden itibaren 6 ay süre ile günlük 60 mg elementer demir verilmesi ülke deneyimlerine bağlı olarak önerilmektedir. Dünya Sağlık Örgütü'nün gebelerde anemi prevalansı %40 ve üzerinde saptandığında ulusal demir desteği önerisi ise şöyledir; gebelikte ikinci trimesterden itibaren 6 ay ve postpartum 3 ay olmak üzere toplam 9 ay süre ile günlük 60 mg elementer demir verilmesi ülke deneyimlerine bağlı önerilmektedir. Ülkemizde de bu öneriler doğrultusunda anne ve bebek sağlığı açısından önemli bir neden olan anemiye bağlı oluşabilecek komplikasyonları önleyebilmek amacıyla Sağlık Bakanlığına ve AÇSAP Genel Müdürlüğü gebelerde demir destek tedavisi programı başlatılmıştır. Buna göre, gebelerde klinik anemi olmasa da günlük demir gereksinimi göz önüne alarak tüm gebelere ikinci trimesterden başlayarak 6 ay ve doğum sonu 3ay olmak üzere toplam 9 ay süre ile günlük 50-60 mg elementer demir verilmesi uygun görülmüştür. Ne yazık ki, demir eksikliği anemisinin zararları kadar demir fazlalığının zararları göz önünde bulundurulmamıştır.

Ancak, ülkemizde anemi ile ilgili olarak yapılan sağlık araştırması verileri geniş epidemiyolojik çalışmalara dayanmamaktadır. Ülke bazında, geniş ölçekli ve tüm toplumun gebelikte beslenme durumu ile demir dahil olmak üzere diğer mikrobelerin gebelikte alımı ve kan düzeyleri ile ilgili çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Çünkü çalışmamızda anemi oranları tahmin edildiği kadar yüksek çıkmamıştır. Hasta sayısının az olmasından dolayı gerçek oranı tam olarak yansıttığı söyleyemeyiz. Ancak gebe çalışma grubumuzun düzenli gebelik takipleri yaptıran poliklinik hastaları olduğu göz önüne alındığında toplumdaki belki de gebeliği boyunca en fazla bir kez veya hiç doktorla karşılaşma şansı bulamayan, sosyoekonomik durumu düşük, gravida sayısı yüksek olan gebelerin çalışmada yer alamaması anemi oranlarının düşük çıkmasına neden olmuş olabilir. Yaptığımız çalışmada, gebelikte anemi prevalansı beklenenden daha düşük bulunmuş olup; demir eksikliğinin yanı sıra vitamin B12 eksikliği de gebelerde anemiye yol açan önemli bir etken olarak tespit edilmiştir. Gebelikte anemiyi etkileyen faktörlerin ve ülke genelindeki anemi prevalansı ile bölgesel farklılıkların ortaya konmasına ihtiyaç duyulmaktadır. Ülke genelindeki sağlık kuruluşları, başta sağlık ocakları, Ana-Çocuk sağlığı merkezleri, eğitim ve araştırma hastaneleri ile

üniversite hastanelerin katılımı ile oluşturulacak bir hasta veritabanı ile geniş hasta sayılarına ulaşılması mümkün olabilir.

## 6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yaptığımız bu çalışma neticesinde gebelikte profilaktik demir kullanımının doğruluğunun tartışılır olduğu kanaatine vardık. Demir kullanan gebelerde DNA hasarının ve oksidatif stresin belirgin olarak artmış olması gebelikte profilaktik demir kullanımının sorgulanması gerektiğini göstermektedir. Anemi tespit ettiğimiz yedi hastanın birinde sadece B12 eksikliği olması, dördünde hem B12 hem de demir eksikliğinin olması ve iki gebede sadece demir eksikliği anemisi olması gebelerde anemi taraması için rutin hemogram bakılması ve anemi olması durumunda etiyolojiyi araştırmak için B12, folik asit, demir, ferritin bakılması ile eksik olan maddenin replasmanının yapılmasının hem anne adayını demirin gereksiz yere fazladan verilmesinden kaynaklanan zararlardan koruyacağını hem de ekonomiye katkı sağlayacağını düşünüyoruz.

## 7. KAYNAKLAR

- 1- Borecky J, Souza- Pinto NC, Vercesi AE; Mitochondrial DNA damage associated with lipid peroxidasyon of the mitokondrial membrane induced by Fe+2 citrat; Almedia AM, Bertoncini CR , 2006 sep,78(3); 505 -514
- 2-Kang JH;Oxidative damage of DNA by the reaction of amino acid with methylglyoxal in the presence of Fe+3 2003; Nov;33(1- 3): 43- 48
- 3- World Health Organization (WHO). December 2000. Essential Care Practice Guide: Pregnancy, Childbirth and Newborn Care. Draft. 32- 55
- 4- Milman N, Bergholt T, Byg KE, et al: Iron status and iron balance during pregnancy. A critical reappraisal of iron supplementation. Acta Obstet Gynecol Scand 78: 749, 1999.
- 5- Nelson-Piercy C. Handbook of obstetric medicine. Martin Dunitz LTD.2003:250-268
- 6- William F. Kern, MD. Hemotology PDQ, 1.Baskı, İstanbul, İstanbul Medikal yayıncılık , 2005;1-15
- 7- Berliner N,Duffy TP, Abelson H. Approach to the adult and child with anemia. In Benzn EJ, Cohen HJ, Furie B, et al (eds): Hematology: Basic Principles and Practice. New York: Churchill Livingstone, 1994, pp 468-483.
- 8- Rose M, Berliner N.Red blood cells. In Fred J. Schiffman (ed): Hemotologic Pathophysiology. Philadelphia: Lippincott-Raven, pp 49-96.
- 9- Thomas E. Andreoli ,M.D.,M.A, Carpenter C.C.J, Griggs R.C, Loscalzo J:Cecil essentials of medicine, Çeviri ed: Çavuşoğlu H, Nobel Tıp Kitabevleri Ltd.Şti, İstanbul, 2002
- 10- Pehlivanoglu FB; Dr. Lütfi Kırdar Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi gebe polikliniğine başvuran gebelerde anemi prevalansı ve etyolojisi; uzmanlık tezi, İstanbul 2008; sayfa 12-21

- 11- Foirbanks VF, Beutler E. Iron Defiency. Williams Hematology 5th edition USA Mc Grow-Hill. 1995;46:490–506
- 12- Soner G, Kurdoğlu G, Beslenme ve Beslenme Bozuklukları-Mineraller. Pediatri CiltI. Nobel Tıp Kitabevi. 1993;7:369–376
- 13- Tunalı A. Kan Hastalıkları. İç Hastalıkları, Bursa: Güneş Kitabevi. 1990;7:699–716
- 14- Goddard AF, McIntyre AS, Scott BB. Guidelines for the management of iron deficiency anaemia. British Society of Gastroenterology. Gut. 2000 Jun;46 Suppl 3-4:IV1-IV5
- 15- Ülkü B, Anemiler. İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri; Anemiler Sempozyumu. 2001 6-15
- 16- Lipschitz DA, Cook JD, Finch CA. A clinical evaluation of serum ferritin as an index of iron stores. 1974. Nutrition. 1992 Nov-Dec;8(6):443-7; discussion 448.
- 17- Charles C.J. ,Carpenter M.D, M.A.C.P, Robert C. Griggs, M.D, Joseph Loscalzo,M.D,Ph.D. Cecil Essentials of Medicine ,4. Edition ,Pennsylvania, W.B. Saunders company,2001;48:421–422
- 18- Beşışık SK. Klinik Hematoloji .Ankara Nobel Tıp Kitabevleri. 2003;4:47–62
- 19- Uysal Z ; Hepsidin ve Demir Metabolizması 6.ilk basamak kursu sayfa 6-15, 2008
- 20- Kaleli B, Yıldırım B. Gebelik ve Hemotolojik Hastalıklar Obstetrik; Maternal-Fetal tıp ve perinatoloji. Ankara: Medikal Network, 2001;682–696
- 21- Ganong WF, Digestion and Absorption. Review of Medical Phyorology. 15th Edition. Applelen And Lange 1991;25:437–447

- 22- Finch C. Regulators of iron balance in humans. *Blood*. 1994 Sep 15;84(6):1697-702.
- 23- Fairbanks VF, Beutler E. Iron Deficiency. *Williams Hematology* 5th edition USA Mc Grow-Hill. 1995;46:490–506
- 24- Stephansson O, Dickman PW, Johansson A, Cnattingius S. Maternal hemoglobin concentration during pregnancy and risk of stillbirth. *JAMA* 2000; 284: 2611-7.
- 25- Gookin K, Morrison JC. Anemia Associated with pregnancy *Gynecology and Obstetrics: Vol.3 Philadelphia: J.B. Lippincott Company. 1985;16:1–41*
- 26- WHO : Maternal Health And Safe Motherhood, Division of Family Health, Geneva,1991 s:10-23.
- 27- Arıoğul S. Gebelikte hematolojik değişiklikler. *Hacettepe Tıp Dergisi*. 1996;(3-4):31-4.
- 28- Andrès E, Loukili NH, Noel E, Kaltenbach G, Abdelgheni MB, Perrin AE, Noblet-Dick M, Maloysel F, Schlienger JL, Blicklé JF. Vitamin B12 (cobalamin) deficiency in elderly patients. *CMAJ*. 2004 Aug 3;171(3):251-9.
- 29- Lindenbaum J, Rosenberg IH, Wilson PW, Stabler SP, Allen RH. Prevalence of cobalamin deficiency in the Framingham elderly population. *Am J Clin Nutr*. 1994 Jul;60(1):2-11.
- 30- Andrès E, Affenberger S, Vinzio S, Kurtz JE, Noel E, Kaltenbach G, Maloysel F, Schlienger JL, Blicklé JF. Food-cobalamin malabsorption in elderly patients: clinical manifestations and treatment. *Am J Med*. 2005 Oct;118(10):1154-9.
- 31- Klee GG. Cobalamin and folate evaluation: measurement of methylmalonic acid and homocysteine vs vitamin B(12) and folate. *Clin Chem*. 2000 Aug;46(8 Pt 2):1277-83.

- 32- Mark H. Beers, Thomas V. Jones, Michael Berkwits, et al. Hematologic Disorders and Cancer. In: Merck Manual of Geriatrics, Chapter 69: Anemias. 3rd Edition, Merck & Co, Inc., Whitehouse Station, NJ, USA. 2000; 852-870
- 33- - Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD ve ark.; Bunn HF, Anemia Harrison's Principles of Internal Medicine'de 13. Baskı, Cilt 1. New York, McGraw-Hill, Inc.1994 : 313.
- 34- Apaydın C; Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Ders Notları; Anemik hastaya yaklaşım İç Hastalıkları Hematoloji A.D. 2003, sayfa 2-3
- 35- Çakaloğlu Y, Kaysı A, Koçyiğit E, Molvalılar S, Oram A, Ökem A, Özdoğan E, Selekler K, Tunalı A, Yazıcı H; İç Hastalıkları Semiyoloji ed: Molvalılar S, 2.Baskı Alfa Basımevi,1997
- 36- Isselbacher KJ, Braunwald E, Wilson JD ve ark; Bridges RK. Anemias with disturbed iron metabolism. Harrison's Principles of Internal Medicine' de. 3. Baskı Cilt 2, New York, McGraw-Hill, Inc, 1994 : 1722.
- 37- Braunwald, Fauci, Kasper, Hauser, Longo, Jameson: Harrison İç Hastalıkları Prensipleri, Nobel Tıp Kitapevleri Ltd. Şti.& Mc GRaw-Hill Comp.Inc 2004 , 351-352
- 38- Kimya Y, Cengiz C. Gebeliğe Bağlı Annedeki Sistemik Değişiklikler. Obstetrik; Maternal-Fatal Tıp ve Perinatoloji, Ankara, Medikal Network, 2001:676-681
- 39- Cunningham FG, Bont NF, Leveno KS, Gilstrap LC, Houth JC, Wenstrom KD. Maternal Adaptations to Prepnancy. Williams Obstetries 21st edition. USA: Th McGraw-Hill Companies. 2001;8:167-200
- 40- Aban M. Gebelik ve Anemi. Obstetrik; Maternal-Fatal Tıp ve Perinatoloji, Ankara, Medikal Network, 2001:702-710
- 41- Yenicesu İ. Gebelik ve Anemi. Obstetrik; Maternal-Fatal Tıp ve Perinatoloji, Ankara, Medikal Network, 2001:697-701



- 42- Manjrekar', Juan Rivera",Teresa Gonzales-Cossio" and Reynaldo Martorell' Micronutrients and Pregnancy Outcome:A Review Of The Literature Usha Ramakrishnan', Renu Department of International Health, Rollins School of Public Health at Emory University Atlanta, N.E., GA 30322 "Centro Investigaciones en Salud Pblica, Instituto Nacional de Salud Pblica (INSP), Cuemavaca, Morelos, MEXICO. Nutrition reserch vol 99, no:11, pp 103159, 1999
- 43- Cengiz C, Kimya Y.Maternal fizyoloji, Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Ankara: Güneş kitabevi. 1996;3:239–251
- 44- Aslan M, Horoz M, Kocyigi A , Ozgonül S , Celik H , Celik M , Erel O ;Lymphocyte DNA Damage and oxidative stres in patients with İron deficiency anemia Harran üniv. Tıp fakültesi 2006 ; ScinceDirect mutation reserch 601 (2006) 144-149
- 45- Günalp S, Tuncer S. Kadın hastalıkları ve doğum tanı ve tedavi. Ankara, Pelikan yayıncılık, 2004:273-291
- 46- Finch C. Regulators of iron balance in humans. Blood. 1994 Sep 15;84(6):1697-702.
- 47- Paiva Ade A, Rondo PH, Pagliusi RA, Latorre Mdo R, Cardoso MA, Gondim SS. Relationship between the iron status of pregnant women their newborns. Rev saude Publica.2007 Jun;41(3):321-7.
- 48- Madazlı R , Plasenta, Nobel tıp kitapevleri 2008;105-106
- 49- Çavdar C, Sifil A, Çamsarı T, Reaktif oksijen partikülleri ve antioksidan savunma. Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon dergisi 1997; 3-4:92-95
- 50- Minnet C. Çocukluk çağında B12 vitanin eksikliğinin oksidan antioksidan sistem ve DNA hasarı ile ilişkisi. Uzmanlık tezi, 2006; 30-42..

- 51- Kılınç K, Kılınç A, Oksijen toksisitesinin aracı molekülleri olarak oksijen radikalleri. Hacettepe Tıp Dergisi 2002;33:110-118.
- 52- Jensen SJK, Oxidative stres and free radicals. Journal of Molecular Structure (Theochem), 2003;666:387-392.
- 53- Akkuş I. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. Konya; Mimoza yayınları, 1995; 47-60
- 54- Yamamoto Y. Role of active oxygen species ant antioxidants in photoaging. Journal of Dermatological Science 2001; 27:1-4
- 55- Baykal Y, Gök F, Erikçi S. Demir, serbest radikaller ve oksidatif hasar. Sendrom 2002; 14(1):94-100
- 56- Stadtman ER. Metal ion catalyzed oxidation of proteins : biochemical mechanism and biological consequences. Free Radic Biol Med 1990;9:315-325
- 57- Schu•manna K, Etleb T, Szegnera B, Elsenhanc B, Solomonsd N.B. ; On risks and benefits of iron supplementation recommendations for iron intake revisited; Journal of Trace Elements in Medicine and Biolojy 21 (2007) 147-168
- 58- Yiğit A, Yurdakök M, yenidoğanlarda serbest radikallere bağılı hastalıklar. Çocuk Sağığı ve Hastalıkları Dergisi 1997;39:749-765
- 59- McCord JM. Human disease , free radicals and oxidant/antioxidant balance. Clinical Biochemistry 1993;26:351-357
- 60- Çelik H. Malarya hastalarında oksidatif stres ve mononükleer lenfosit DNA hasarının araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, 2005 ;22-55

- 61- Repine JE, Bast A, Lankhorst I. Oxidative stres in chronic obstructive pulmonary disease. Oxidative Stres Study Group. Am J Respir Crit Care Med 1997; 156:341-357
- 62- Bowry VW, Mohr D, Cleary J et al. Prevention of tocopherol-mediated peroxidation in obiquinol-10-free human low density lipoprotein. J Biol Chem 1995; 270:5796. 5663.
- 63- Cooke MS, Evans MD, Dizdaroglu M, Lunec J. Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease. Faseb J, 2003. 17: 1195-1214.
64. Evans MD, Cooke MS. Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. BioEssays, 2004. 26: 533-542
- 65- Cadet J, Douki T, Gasparutto D, Ravanat J-L. Oxidative damage to DNA: Formation, measurement and biochemical features. Mutat Res, 2003. 531: 5-23.
- 66- Halliwell B, Aruoma OI. DNA damage by oxygen-derived species. Its mechanism and measurement in mammalian systems. FEBS Letters, 1991. 281: 9-19.
- 67-Scandalios JG. The rise of ROS.TRENDS in Biochemical Sceinces,2002.27:483-486
- 68- Yesilkaya A, Altinayak R and Korgun DK. The antioxidant effect of free bilirubin on cumene-hydroperoxide treated human leukocytes. Gen Pharmacol, 2000. 35:17-20.
- 69- Makarov VG, Makarova M, Selezneva AI. Studying the mechanism of antioxidant effect of vitamins and flavonoids. Vopr Pitan, 2005. 74:10-3.
- 70- Saraçoğlu F. SSPE hastalarında oksidatif stres ve mononükleer lenfosit DNA hasarının araştırılması. Uzmanlık Tezi, 2009
- 71- Romay C, Pascual C and Lissi EA. The reaction between ABTS radical cation and antioxidants and its use to evaluate the antioxidant status of serum samples. Braz J Med Biol Res 1996. 29: 175-83.

- 72- Erel O. A novel automated method to measure total antioxidant response against potent free radical reactions. *J. Clinical Biochemistry*, 2004. 37:112-9.
- 73- Erel O. A new automated colorimetric method for measuring total oxidant status. *J. Clinical Biochemistry*. 2005. 47:119-29.
- 74- The Prevalence of Anemia in Women: A Tabulation of Available Information. 2nd edition, WHO, Geneva, 1992
- 75- Milman N, Bergholt T, Byg KE, Eriksen L, Graudal N. Iron status and iron balance during pregnancy. A critical reappraisal of iron supplementation. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 1999 Oct;78(9):749-57.
- 76- Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes, Food and Nutrition Board, Institute of Medicine : Dietary Reference Intakes for Calcium , Phosphorus , Magnesium , Vitamin D and Fluoride. Washington, National Academy Press, 1997 48-57
- 77- Malhotra M, Sharma JB, Batra S, Sharma S, Murthy NS, Arora R. Maternal and perinatal outcome in varying degrees of anemia. *Int J Gynaecol Obstet*. 2002 Nov;79(2):93-100.
- 78- 1: Choi JW, Kim CS, Pai SH. Erythropoietic activity and soluble transferrin receptor level in neonates and maternal blood. *Acta Paediatr*. 2000 Jun;89(6):675-679.
- 79- Massot C, Vanderpas J, A. survey of iron deficiency anaemia during pregnancy in Belgium: analysis of routine hospital laboratory data in Mons. *Acta Clin Belg*. 2003 May-Jun;58(3):169-177.
- 80- Meier PR, Nickerson HJ, Olson KA, Berg RL, Myer JA. Prevention of iron deficiency anemia in adolescent and adult pregnancies. *Clin Med Res*. 2003 Jan;1(1):29-36.

81. Park E., Gleib M., Knobel Y., Beatrice L. Pool-Zobel ; Blood mononucleocytes are sensitive to the DNA damaging effects of iron overload in vivo and ex vivo results with human and rat cells; ScienceDirect mutation research 619(2007) 59-67
82. Casanueva E, Viteri F.E, Mares-Galindo M, Meza-Camacho C; Weekly Iron as a Safe Alternative to Daily Supplementation for Nonanemic Pregnant Women; Archives of medical research 37 (2006) 674-682
83. Al Khatib L, Obeid O, Sibai AM, Adra N, Hwalla N. Folate deficiency is associated with nutritional anemia in Lebanese women of childbearing age, Public Health Nutr, 2006 Oct; 9 (7): 921-7.
84. Van den Broek NR, Letsky EA. Etiology of anemia in pregnancy in South Malawi. Am J Clin Nutr. 2000 Jul;72(1 Suppl):247S-256S.
85. Beştepe G, Bilgin N, Afyon ili 2 ve 4 No'lu sağlık ocaklarındaki gebelerde anemi prevalansı ve anemiye etkileyen bazı faktörlerin incelenmesi, Sağlık ve Toplum 2002; 12(2): 43-53
86. Pirinççi E, Açık Y, Bostancı M , Eren S, Beritanlı H. Elazığ il merkezinde yaşayan gebelerde anemi prevalansı, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi (Tıp) 2001, Cilt 15, Sayı 3, Sayfa(lar) 449-454
87. Türkiye Aile Sağlığı ve Planlaması Vakfı .Türkiye'de Ana Sağlığı, Aile Planlaması Hizmetleri ve İsteyerek Düşükler, 1998- Türkiye Nüfus ve Sağlık Araştırması İleri Analiz Sonuçları. Birleşmiş Milletler Nüfus Fonu, Ocak 2000.
88. Oruç O, Tuncer A, Apan E, Adana Yenibaraj Sağlık Ocağı Bölgesinde Gebelerde Anemi Prevalansı,V.Ulusal Halk Sağlığı Kongresi Bildiri Kitabı, İstanbul, 1996;374-378.
89. Mersin S, Kuş C, Yeşildal N, Mayda A,S, Şerifi B,A: Konuralp Kamil Furtun Sağlık ocağı Bölgesi Gebelerde Anemi Araştırması

90. O. Türkiye 1974 Beslenme-Sağlık ve Gıda Tüketimi, Unicef, Ankara,1974, s. 430.
91. Toksöz P, İçlin E, Özcan M, Diyarbakır Bağlar Sağlık Ocağı Bölgesinde Gebe Kadınlarda Anemi Prevalansı, Beslenme ve Diyet Dergisi 1990; 19 (1): 61-69
92. Burton G,Traber M. Antioxidants action of carotenoids. J. Nutr 1989;119:109-111
93. Huisman A, Aarnoudse JG. Increased 2nd trimester hemoglobin concentration in pregnancies later complicated by hypertension and growth retardation. Early evidence of a reduced plasma volume. Acta Obstet Gynecol Scand, 1986; 65: 605-8.
94. Murphy JF, O’Riordan J, Newcombe RG, Coles EC, Pearson JF. Relation of haemoglobin levels in first and second trimesters to outcome of pregnancy. Lancet 1986;1:992-5
95. Levy A, Fraser D, Katz M, Mazor M, Sheiner E. Maternal anemia during pregnancy is an independent risk factor for low birthweight and preterm delivery. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2005; 122(2):182-6.
96. Paulina T. Liev, Marja Heiskala, Per. A. Peterson, Young Yang ;The roles of iron in health and disease; The RW Johnson Pharmaceutical Reserch İnstite, 3210 Merryfield Row, San Diego,CA 92121, USA Pergamon, moleculer aspects of medicine 22(2001) 1-87
97. Zastawny TH, Altman SA, Randers-Eichhom L, Madurawe R, Lumpkin JA, Dizdaroglu M, Rao G. DNA base modifications and membrane damage in cultured mammalian cells treated with irons ions. Free Rad Biol Med, 1995. 18: 1013-1022.
98. Torunoğlu M. Kan Hastalıkları fizyopatolojisi. Fizyopatoloji 2.Baskı, Ankara: Palme Yayın Dağıtım, 1990;225–263
99. Kurtay G, Özpak E. Hemotolojik Hastalıklar ve Gebelik Temel Kadın Hastalıkları ve Doğum Bilgisi. Ankara: Güneş Kitabevi 2004;35:375–376

100. Viteri F, The consequences of iron deficiency and anemia in pregnancy. Nutrient Regulation During Pregnancy. Lactation, and Infant Growth'da Ed. Allen L, King J, Lönnerdal B. New York, Plenum Press, 1994
101. Scholl TO. Iron status during pregnancy: setting the stage for mother and infant. Am J Clin Nutr.2005 May;81(5):1218S-1222S
102. Cook DJ, Skikine SB, Baynes RD. Iron deficiency : The global perspective, progress in iron research'de Ed. Hershko C. New York. Plenum Press,1994; 219-28.
103. Braunwald, Fauci, Kasper, Hauser, Longo, Jameson. Harisson's principles of internal medicine. fifteenth edition,1,McGraw-Hill campanies, 2001;451-5.