

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

**DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİNDE
GİRELİN GEN POLİMORFİZMİ**

**UZMANLIK TEZİ
Dr. Erhan BAHADIR**

**TEZ DANIŞMANI
Doç. Dr. Saadet AKARSU**

**ELAZIĞ
2011**

DEKANLIK ONAYI

Prof. Dr. İrfan ORHAN

DEKAN

Bu tez Uzmanlık Tezi standartlarına uygun bulunmuştur.

Prof. Dr. Erdal YILMAZ

Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı

Tez tarafımızdan okunmuş, kapsam ve kalite yönünden Uzmanlık Tezi olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Saadet AKARSU

Danışman

Uzmanlık Sınav Jüri Üyeleri

.....	_____
.....	_____
.....	_____
.....	_____
.....	_____

TEŞEKKÜR

Tezimin her aşamasında desteğini, bilgisini, tecrubesini ve yardımını esirgemeyen değerli hocam Doç. Dr. Saadet AKARSU'ya, uzmanlık eğitimim boyunca her konuda yardım ve desteklerini esirgemeyen ocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Erdal YILMAZ'a ve bۆlüm hocalarıma teşekkür ve saygılarımı sunarım. Tez hastalarımın takiplerinde yardımları olan araştırma görevlisi arkadaşlarıma, örneklerin çalıŐılmasındaki katkılarından dolayı Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Yrd. Doç. Dr. Ebru Önalın ETEM'e ve tüm yaŐamım boyunca bana destek olan ve fedakarlıkta bulunan aileme, eŐime ve oğluma teşekkür ediyorum.

ÖZET

Demir eksikliği anemisi (DEA) infant ve çocukluk çağı hematolojik hastalıkları içinde en yaygın olanıdır. Tüm yaş gruplarında görülür. Yaşa ve cinse göre normal hemoglobin (Hb) değerinin iki standart sapma (SD) altında olması anemi olarak kabul edilir. Nutrisyonel aneminin en sık nedeni olan DEA'nin gelişiminde beslenme büyük rol oynar. Ülkemizde 4 ay-18 yaş çocukların %12.7'sinde DEA saptanmıştır. Demir eksikliği anemisinin klinik özelliklerinden birisi iştah kaybıdır ve beslenme DEA'nde büyük rol oynar. Girelin iştah ve yiyecek alımını uyarır. İştahın beyin tarafından kontrol edildiği ve yeme davranışının santral sinir sistemi (SSS)'nde hipotalamusta yer alan belli bölgelerde karmaşık bir mekanizma ile düzenlendiği kabul edilir. Hipotalamus arkuat nükleusunda iştah düzenlenmesinde rol alan girelin içeren nöronlar saptanmıştır. Bu lokalizasyon ile girelin yemek alımını kontrol eder. Girelin açlık hormonu olması yanı sıra yeme davranışı ile kilo dengesini düzenler. Girelin açlık ve sonrası davranışsal, metabolik ve gastrointestinal adaptasyonları yönetir. Vücuttaki demir ve girelin seviyesi arasında belirgin pozitif ilişki saptanmıştır. Demir azalmasından DEA gelişimine doğru, girelin düzeyi giderek azalır.

Bu çalışmanın amacı demir eksikliği anemisi tanısı alan çocuklarda ve sağlıklı kontrol grubunda girelin gen polimorfizminin sıklığı araştırılmak istendi. Bu şekilde, toplumumuzda sağlıklı çocuklarda; Girelin gen polimorfizmi oranı belirlenmek istendi. Belirlenen polimorfizmlerden hangisinin daha sık görüldüğü incelenmek istendi. Böylece sağlıklı olan çocuklar ile DEA olan çocuklardaki görülme oranı arasındaki farklılık belirlenmek istendi. Beslenme tarzı da dahil olmak üzere, ortak yaşam şartları sürdürenler arasında; DEA gelişmesinin gerçek nedeni; girelin geninde meydana gelen bir polimorfizm olabilir mi sorusuna cevap bulunmak istendi.

Çalışmada 27 kız (%47.4) ve 30 erkek (%52.6) olmak üzere toplam 57 DEA tanılı olgu ve 57 sağlıklı kontrol grubu değerlendirildi. Hasta ve kontrol grubunda girelin genindeki -501 promoter, Arg51Gln, Leu72Met ve Gln90Leu polimorfizmleri çalışıldı. Girelin genindeki -501 A/C polimorfizmi açısından A alleli istatistiksel olarak hasta grubunda artmış sıklıkta saptandı ($p<0.05$). Promoter -501 A/C polimorfizmi için genotip sıklıkları kontrolle farklı bulunmadı ($p<0.05$). Arg51Gln,

Leu72Met ve Gln90Leu polimorfizmleri için genotip ve allel sıklıkları kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlı farklılık saptanmadı ($p < 0.05$).

Girelin geninin DEA'nin immünogenetiğinde önemli rolleri olabileceğini düşünmekteyiz. Bu gende yer alan diğer polimorfizmlerin hastalığa katkı sağlayıp sağlamadığının belirlenmesi için gerek Türk populasyonunda gerekse diğer populasyonlarda yapılacak çalışmalara ihtiyaç olduğu kanatındeyiz. Çalışmada elde edilen verilerin doğrulanabilmesi için aynı polimorfizmlerin farklı toplumlarda DEA hastalarında çalışılarak verilerimizin daha fazla araştırılmayla desteklenmesi gerekmektedir.

Girelin genindeki artmış promoter -501 varyant sıklığının DEA etyopatogenezinde rol oynayan mekanizmalardan biri olabileceğini düşünmekteyiz.

Anahtar kelimeler: Demir eksikliği anemisi, girelin gen polimorfizmi

ABSTRACT

GHRELIN GENE POLYMORPHISM IN IRON DEFICIENCY ANEMIA

Iron deficiency anemia (IDA) is the most common in infancy and childhood hematologic diseases. It is seen in all age groups. According to age and gender, anemia is considered to be that normal hemoglobin (Hb) value below two standard deviation (SD). Nutrition plays an important role in the development of IDA which is the most common cause of nutritional anemia. In our country, IDA has been determined in 12.7% of children between 4-months and 18-years old. One of the clinical features of IDA is loss of appetite and nutrition plays a major role in IDA. Ghrelin stimulates appetite and food intake. It is considered that appetite and eating behavior are controlled with complex mechanisms by certain areas located at hypothalamus in central nervous system (CNS). The neurons containing ghrelin involved in appetite were found at arcuate nucleus of hypothalamus. Ghrelin at this localization controls food intake. In addition to becoming hunger hormone, ghrelin regulates eating behavior and weight balance. Also ghrelin, before and after fasting, controls behavioral, metabolic and gastrointestinal adaptations. The significant positive correlation was found between body iron and ghrelin levels. Ghrelin levels progressively decrease from iron decrease to development of IDA.

The frequency of ghrelin gene polymorphism was aimed to be investigated in children diagnosed as IDA and healthy control group. In this way, we aimed to determine ghrelin gene polymorphism in healthy children of our society. It was aimed which determined polymorphisms are seen more frequently. Thus, we aimed to determine difference between the ratios of healthy children and children with IDA. Among children with the same nutrition manner, common living conditions, we aimed to answer question that the real reason of IDA development may be occurrence of a polymorphism at ghrelin gene.

In our study, total 57 children with IDA, 27 female (47.4%) and 30 male (52.6%), and 57 healthy control group were assessed. -501 promoter, arg51Gln, Leu72Met, and Gln90Leu polymorphisms at ghrelin gene were studied in patients and control group. In terms of -501 A/C polymorphism at ghrelin gene, A allele was found statistically significant in patients group ($p < 0.05$). For promoter -501 A/C

polymorphism, the frequencies of genotype was not different from the control group ($p < 0.05$). When genotype and allele frequencies were compared with control group for Arg51Gln, Leu72Met and Gln90Leu polymorphisms, there is no statistically significant difference ($p < 0.05$).

We suggest that ghrelin gene may play an important role in IDA immunogenetic. Also we think that studies are needed to be done in both Turkish population and other populations for the determination of other polymorphisms in this gene which may contribute to this disease. To verify our data, the same polymorphisms should be further investigated in patients with IDA in different populations by more further studies.

We suggest that increased promoter -501 variant frequency in ghrelin gene may be one of the mechanisms involved in etiopathogenesis of IDA.

Keywords: Iron deficiency anemia, ghrelin gene polymorphism

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK	i
DEKANLIK ONAYI	ii
TEŞEKKÜR	iii
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	viii
TABLO LİSTESİ	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
KISALTMALAR LİSTESİ	xii
1. GİRİŞ	1
1.1. Demir Eksikliği Anemisi	3
1.1.1 Tanımı ve Sıklığı	3
1.1.2. Demir Metabolizması	4
1.1.3. Demir Eksikliği Anemisi Nedenleri	6
1.1.4. Demir Eksikliği Anemisi Kliniği	7
1.1.5. Demir Eksikliği Anemisi Tanı ve Laboratuar Bulguları	9
1.1.6. Demir Eksikliği Anemisinde Tedavi ve Korunma	11
1.2. Girelin	13
1.2.1. Girelin Gen Ürünleri Sentez ve Yapısı	14
1.2.2. Dolaşımdaki Girelin Gen Ürünü Peptidler	15
1.2.3. Girelin Gen Ürünlerinin Etki Mekanizması	16
1.2.3.1 Girelin Reseptörleri ve Etki Mekanizması	16
1.2.3.2. Büyüme Hormonu Salgılatıcı (GHS)'lar ve Girelinin Sinyal Yolları	17
1.2.4. Girelinin Fizyolojik Fonksiyonları	17
1.2.4.1. Büyüme Hormonu Salgılatma Etkisi	17
1.2.4.2. İştahın Düzenlenmesi	17
1.2.4.3. Gastrointestinal Fonksiyonlar ve Girelin	19
1.2.4.4. Kardiyovasküler Etkileri	19
1.2.4.5 Girelin ve İnsülin Salgılanması	19
1.2.4.6 Otonom Sinir Sistemi Üzerine Etkisi	20

1.2.4.7. Isı Üzerine Etkisi	20
1.2.4.8. Girelin ve Hastalıklar	20
1.2.5. Girelin Gen Polimorfizmi	21
2. GEREÇ VE YÖNTEMLER	23
2.1. Hasta ve Kontrol Grubu	23
2.2. Polimorfizm Tayininde Kullanılan Gereçler	23
2.3. Polimorfizm Tayininde Kullanılan Kimyasallar	24
2.4. Polimorfizm Tayininde Kullanılan Çözeltiler	24
2.5. DNA İzolasyon İşlemi	25
2.5.1. Kullanılan Solüsyon ve Gereçler	25
2.5.2. İzolasyon Aşamaları	25
2.5.3. DNA Konsantrasyonu ve Sıflık Derecesinin Ölçülmesi	26
2.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Çalışması	27
2.6.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Materyalleri	27
2.6.2. Restriksiyon Enzimleri	27
2.6.3. Polimorfizmlerin PZR ve Restriksiyon Enzim Fragment Uzunluk Polimorfizmi Yöntemiyle Belirlenmesi	27
2.6.3.1. Arg51Gln ve Leu72Met Polimorfizmlerinin Çalışılması	27
2.6.3.2. Gln90Leu Polimorfizminin Çalışılması	28
2.6.3.3. 501 A/C Polimorfizminin Çalışılması	28
2.6.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Kurulması İşlemi	28
2.6.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Koşulları	28
2.7. Agaroz Jel Elektroforezi	29
2.8. Etik Kurul İzni ve Bilgilendirilmiş Onam	29
2.9. İstatistiksel Değerlendirme	30
3. BULGULAR	31
3.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Demografik özellikleri	31
3.2. Hasta ve Kontrol Grubunda Hematolojik Değerleri	31
4. TARTIŞMA	41
KAYNAKLAR	52
EKLER	65
EK-1: Bilgilendirilmiş Onay Formu	65
ÖZGEÇMİŞ	64

TABLO LİSTESİ

Tablo 1.	Demir eksikliği anemisi nedenleri	7
Tablo 2.	Yaşa göre Hb ve Hct değerlerinin normal dağılımı	10
Tablo 3.	Demir eksikliği anemisi tanısı için gerekli testler	11
Tablo 4.	Demir eksikliği anemisinde tedaviye cevap	13
Tablo 5.	Olguların demografik özellikleri	31
Tablo 6.	Çalışma ve kontrol gruplarında cinsiyet dağılımı	31
Tablo 7.	Hasta ve kontrol grubunu olgularından hemotolojik değerler	33
Tablo 8.	Girelin promoter A/C polimorfizm genotiplerinin hasta ve kontrol grubundaki dağılımları.	34
Tablo 9.	Girelin Arg51Gln polimorfizm genotiplerinin hasta ve kontrol grubundaki dağılımları.	35
Tablo 10.	Girelin Leu72Met polimorfizm genotiplerinin hasta ve kontrol grubundaki dağılımları.	36
Tablo 11.	Girelin Gln90Leu polimorfizm genotiplerinin hasta ve kontrol grubundaki dağılımları.	37
Tablo 12.	Girelin promoter A/C polimorfizm genotiplerinin pika olan ve olmayan grubundaki dağılımları	38
Tablo 13.	Girelin Arg51Gln polimorfizm genotiplerinin pika olan ve olmayan grubundaki dağılımları.	39
Tablo 14.	Girelin Leu72Met polimorfizm genotiplerinin pika olan ve olmayan grubundaki dağılımları.	39
Tablo 15.	Girelin Gln90Leu polimorfizm genotiplerinin pika olan ve olmayan grubundaki dağılımları.	40

ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.	Girelinin 28 aminoasitlik moleküler yapısı.	15
Şekil 2.	Girelin geninin genom yapısı ve önemli polimorfizmleri (35).	22
Şekil 3.	-501 A/C promoter polimorfizmi için PZR'ye yönelik agaroz jel elektroforez görüntüsü.	34
Şekil 4.	Girelin promoter A/C polimorfizm genotiplerinin hasta ve kontrol grubundaki dağılımları.	34
Şekil 5.	Arg51Gln polimorfizmi için PZR'ye yönelik agaroz jel elektroforez görüntüsü.	35
Şekil 6.	Girelin Arg51Gln polimorfizm genotiplerinin hasta ve kontrol grubundaki dağılımları	35
Şekil 7.	Leu72Met polimorfizmi için PZR'ye yönelik agaroz jel elektroforez görüntüsü.	36
Şekil 8.	Girelin Leu72Met polimorfizm genotiplerinin hasta ve kontrol grubundaki dağılımları.	36
Şekil 9.	Gln90Leu polimorfizmi için PZR'ye yönelik agaroz jel elektroforez görüntüsü.	37
Şekil 10.	Girelin Gln90Leu polimorfizm genotiplerinin hasta ve kontrol grubundaki dağılımları.	37
Şekil 11.	Girelin promoter A/C polimorfizm genotiplerinin pika olan ve olmayan grubundaki dağılımları.	38
Şekil 12.	Girelin Arg51Gln polimorfizm genotiplerinin pika olan ve olmayan grubundaki dağılımları.	39
Şekil 13.	Girelin Leu72Met polimorfizm genotiplerinin pika olan ve olmayan grubundaki dağılımları.	40
Şekil 14.	Girelin Gln90Leu polimorfizm genotiplerinin pika olan ve olmayan grubundaki dağılımları.	40

KISALTMALAR LİSTESİ

AGRP	: İştah etkili protein (Agouti-related protein)
bç	: Baz çifti
BH	: Büyüme hormonu
CRP	: C reaktif protein
DEA	: Demir eksikliği anemisi
DNA	: Deoksiribonükleik asit
EDTA	: Etilen diamin tetraasetik asit
ELİSA	: Enzim bağlı immünabsorbent test
ESR	: Eritrosit sedimentasyon hızı
EtBr	: Etidium bromüd
F	: Ferritin
Fe	: Serum demiri
Fe⁺²	: Ferröz
Fe⁺³	: Ferrik
fl	: Femtolitre
GHS	: Büyüme hormonu salgılatıcı
GHS-R	: Büyüme hormonu salgılatıcı reseptör
GİS	: Gastrointestinal sistem
GPCR	: G protein ilişkili reseptör
Hb	: Hemoglobin
Htc	: Hematokrit
IGF-1	: İnsülin benzeri büyüme faktörü-1
İL	: İnterlökin
İM	: İtramuskuler
İV	: İntravenöz
mRNA	: Mesajcı ribonükleik asit
NPY	: Nöropeptid Y
OEH	: Ortalama eritrosit hacmi
OEHb	: Ortalama eritrosit hemoglobini
OEHbK	: Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu
PZR	: Polimeraz zincir reaksiyonu

RBC	: Eritrosit sayısı
RDW	: Eritrosit dağılım genişliği
RES	: Retiküloendotelyal sistem
RFLP	: Restriksiyon enzim uzunluk polimorfizm
SD	: Standart sapma
SEP	: Serbest eritrosit protoporfirini
SPSS	: Statistical package for social sciences
SSS	: Santral sinir sistemi
sTfR	: Solubl transferin reseptörü
TBE	: Tris-borik asit-EDTA tamponu
TDBK	: Total demir bağlama kapasitesi
Tf	: Transferin
TfR	: Transferin reseptörü
TS	: Transferrin saturasyonu

1. GİRİŞ

Demir eksikliği anemisi (DEA) infant ve çocukluk çağı hematolojik hastalıkları içinde en yaygın olanıdır. Tüm yaş gruplarında görülür (1). Yaşa ve cinse göre normal hemoglobin (Hb) değerinin iki standart sapma (SD) altında olması anemi olarak kabul edilir (2). Ülkemizde 4 ay-18 yaş çocukların %26'sında demir azalması, %11.1'inde demir eksikliği ve %12.7'sinde DEA saptanmıştır (3). Demir eksikliği anemisinin klinik özelliklerinden birisi iştah kaybıdır ve beslenme DEA'nde büyük rol oynar (4). Fazla miktarda inek sütü, demir ile desteklenmemiş besin tüketimi infantlarda sıklığını artırır (5). Bebek ve çocuklarda, vücudun hızlı gelişme temposu yanında besinsel demir alımı eksikliğine de bağlıdır (5-7). Ergenlik dönemi vejeteryan beslenme, yetersiz besin alımı, zayıflama rejimleri ve yeme bozuklukları nedeniyle sık görülür (8).

Demir eksikliği anemisi prodromal fazda iştah azalır (9,10). Demir eksikliği anemisi tedavisi sonrası, iştah ve gıda alımıyla ilgili subjektif skorlarda artış gözlenir (11). Girelin iştah ve yiyecek alımını uyarır. Plazmada bulunan girelinin 2/3'ü midede, 1/3'ü incebarsaklarda sentezlenir. Gastrik girelin salgılanması nutrisyonel ve hormonal faktörlerce düzenlenir (12-15). Girelin vücut kitle indeksinde artışa yol açar. Büyüme hormonu (BH) salgılatır. Plazma seviyeleri obezitede azalır ve kaşekside artar (16-19). Girelin yemek alımının başlaması için başlangıç sinyali oluşturabilir. Ya da girelin salgılanması kandaki bazı beslenme faktörleriyle kontrol edilir (20). Gün içerisinde öğün saatlerine göre değişiklik gösterir. Öğün öncesi artar. Yemeği takiben düşer (14). Açlıkta artan plazma girelin düzeyi yemeklerden sonra (yüksek yağlı diyetle azalma, düşük proteinli diyetle artma) azalır (14,15). Midenin su ile şişirilmesi girelin seviyesini etkilemez (21). Salgısını azaltan inhibitör sinyaller leptin ve BH'dur (15). Fetal dönemde girelin üreten hücre sayısı midede azdır. Beş yaşa kadar sayıları artar (22). Gastrointestinal sistem (GİS), karbonhidrat metabolizması, yağ ve üreme dokusu ile hücre çoğalması/davranışını etkiler (16-19). Endojen girelin yiyecek alımı ve vücut kilosunu ayarlayan regülatör olabilir (23).

İştahın beyin tarafından kontrol edildiği ve yeme davranışının santral sinir sistemi (SSS)'nde hipotalamusta yer alan belli bölgelerde karmaşık bir mekanizma ile düzenlendiği kabul edilir (24). Hipotalamus arkuat nükleusunda iştah düzenlenmesinde rol alan girelin içeren nöronlar saptanmıştır (25). Bu lokalizasyon

ile girelin yemek alımını kontrol eder. Üçüncü ventriküle çok yakın dorsal, ventral, paraventriküler ve arkuat hipotalamik nükleuslar arasında girelin olduğu gösterilmiştir. Arkuat nükleustaki nöronlar Noropeptid Y (NPY) ve iştah etkili proteinini (AGRP) aktive ederek yiyecek alımını artırır (23).

İştah mekanizması sadece SSS'nden değil periferde sentez edilen faktörlerle de düzenlenir. Leptin beyine doyma sinyalleri göndererek iştahı baskılar. Girelin ise perifer dokulardan açlık sinyali gönderir (13). Girelin açlık hormonu olması yanı sıra yeme davranışı ile kilo dengesini düzenler (12). Girelin açlık ve sonrası davranışsal, metabolik ve gastrointestinal adaptasyonları yönetir (26). Vücuttaki demir ve girelin seviyesi arasında belirgin pozitif ilişki saptanmıştır (27). Demir azalmasından DEA gelişimine doğru, girelin düzeyi giderek azalır. Demir eksikliği anemisinde girelin düzeyi en düşük seviyeye iner ve tedavi ile tekrar yükselir (27,28).

İnsan genomunda tek nükleotid değişimleri sık bulunur. Bunlar sıklıklarına ve hastalık yapma yeteneklerine bağlı olarak polimorfizm ya da mutasyon olarak adlandırılırlar (29). Polimorfizm, bir gen veya deoksiribonükleik asit (DNA) dizisinin alternatif formlarından (allel) birinin toplumda %1'den fazla bulunduğu durumdur (30,31). Girelin geni 3. kromozomun 3p25-26 lokusunda yer alır (32). Yapılan farklı çalışmalarda girelin geninde DNA dizileme kullanılarak pek çok farklı tek nükleotid polimorfizmi tespit edilmiştir. Bunlardan en yaygın olanları promoter -501 A/C, Arg51Gln, Leu72Met ve Gln90Leu şeklindedir (33-35). Girelin geni mutasyonları girelin proteininde kusur/aktivasyon kaybı ile BH salgılanmasında ve enerji dengesinde değişikliğe neden olabilir (36). Leu72Met polimorfizmi sonucu matür girelinde yapısal bozukluk olmamasına rağmen, mesajcı ribonükleik asit (mRNA) kararlılığındaki değişiklikler girelin sekresyonu veya aktivitesinde değişikliklere neden olur (36).

Demir eksikliği anemisi tanısı alan çocuklarda ve sağlıklı kontrol grubunda girelin gen polimorfizminin sıklığı araştırılmak istendi. Bu şekilde, toplumumuzda sağlıklı çocuklarda; girelin gen polimorfizmi oranı belirlenmek istendi. Belirlenen polimorfizmlerden hangisinin daha sık görüldüğü incelenmek istendi. Böylece sağlıklı olan çocuklar ile DEA olan çocuklardaki görülme oranı arasındaki farklılık belirlenmek istendi. Beslenme tarzı da dahil olmak üzere, ortak yaşam şartları

sürdürenler arasında; DEA gelişmesinin gerçek nedeni; girelin geninde meydana gelen bir polimorfizm olabilir mi sorusuna cevap bulunmak istendi.

1.1. Demir Eksikliği Anemisi

1.1.1 Tanımı ve Sıklığı

Çocuklarda en sık görülen nutrisyonel eksiklik demir eksikliğidir. Demir eksikliği anemisi tüm yaş gruplarında görülmekle birlikte özellikle 6-24 aylar arasında ve adölesan dönemde aneminin en yaygın nedeni olarak kabul edilmektedir (1).

Demir eksikliği vücut total demir düzeyinin, normal Hb yapımı yanında, demir içeren enzimlerin ve diğer görevlerinin yapılabilmesi için gerekli olan demir düzeyinden daha az olması durumudur. Demir eksikliği anemisi infant ve çocukluk çağı hematolojik hastalıklarının en yaygınıdır. Ağır demir eksikliği sonucu oluşur ve son basamaktır (2, 5).

Amerika Birleşik Devletleri'nde 1-2 yaş çocukların %9'unda demir eksikliği, %3'ünde ise DEA tespit edilmiştir. Adolesan kızların %9'unda demir eksikliği ve %2'sinde ise DEA saptanmıştır. Adolesan erkeklerde pubertede depo demirinde %50 azalma saptanmıştır (5). Gelişmekte olan ülkelerde toplumun yarısında demir eksikliği olduğu gösterilmiştir. Diyetin demir bakımından zenginleştirilmesi ve demir eklenmesinin yaygın kullanılmasıyla prevalans ve ağır DEA azalmıştır. Buna rağmen 1-2 yaş grubu çocuklar, 11-14 yaş erkek çocuklar ve 15-44 yaş kız çocukları ve kadınlarda demir eksikliğinin önemini korumaktadır (6, 8). Ülkemizde yapılan çalışmalarda, 4 ay-18 yaş arası çocukların %26'sında demir azalması, %11.1'inde demir eksikliği ve %12.7'sinde DEA saptanmıştır. Demir azalması (%28.9), demir eksikliği (%21.9) ve DEA (%26.2) oranları en yüksek 4 ay-2 yaş grubunda tesbit edilmiştir (3).

Demir eksikliği ve DEA kavramları karıştırılmaktadır. Anemi gelişmeden de demir eksikliğinden söz edilebilir. Bir kişide demir durumunun ortaya konulması için depo demirin durumu bilinmelidir. Organizmada demir depolanan organlar karaciğer, dalak, kemik iliği ile diğer bölgelerdeki retiküloendotelial sistem (RES)'dir. Vücudun demir ihtiyacı olduğunda öncelikle depolardan demir hareketi beklenir. En erken evrede depo demirinde azalma görülür. Bu dönem, kemik iliği ve

RES hücrelerinde demir granüllerinde azalmanın gösterilmesi ile saptanır. Depo demiri hemosiderin ve ferritin (F)'in prusya mavisi ile boyanması ile tesbit edilir. Demir eksikliği durumunda deponun tamamen tükenmesi söz konusudur. Bu dönemi belirlemede F düzeyinin ölçülmesi daha kolay ve güvenilir bir yöntem olarak kullanılmaktadır. Kemik iliğinde depo demirin kaybolduğu tek anemi DEA'dır. Ancak F, akut faz reaktanı olarak kronik enflamasyon gösteren hastalarda ve neoplastik ile karaciğer yetmezlikli hastalarda artmış bulunabilir (37,38).

1.1.2. Demir Metabolizması

Doğada ferröz (Fe^{+2}) ve ferrik (Fe^{+3}) formda bulunur. Ferrik haldeki demir fonksiyone değildir. Demir serbest halde vücut için zararlıdır. Bu nedenle herhangi bir protein ile kompleks yapar (39). Demir tüm canlılar için biyolojik öneme sahip vazgeçilmez bir elementtir. Canlı organizmalarda eser miktarda bulunur. İnsan ve diğer canlı türleri için esansiyel bir elementtir. İnsan vücudunda da Fe^{+2} ve Fe^{+3} halde bulunur. Bazı metabolik ve enzimatik tepkimelerde rol oynadığından büyüme için zorunludur. Demir Hb sentezi (kan volümünün genişlemesi, dokulara oksijen taşınması), miyoglobin sentezi (kas kütlesinin büyümesi), demir içeren enzimlerin senteziyle, F ve hemosiderin şeklinde demir depolarının idamesi için gereklidir. Çocuklarda vücuttaki demirin %65'i Hb'de bulunur. Hemoglobindeki demirin fonksiyonu, dokulara oksijen taşımaktır (40,41). Vücuttaki demirin %10'u miyoglobinde bulunur ve kas kontraksiyonu sırasında oksijenasyonu sağlar. İnsan vücudunda Hb ve miyoglobin dışında demir içeren başlıca proteinler sitokromlar, sitokrom oksidaz, homogentisik oksidaz, peroksidaz ve katalazlardır (42).

Vücuttaki demir miktarı barsaktan emilen ve çeşitli yollarla vücuttan kaybedilen demir arasında bir denge ile korunur. Demir duodenum ve proksimal jejunumdan emilir. Plazmaya geçen demir, Hb sentezinde kullanılmak üzere gelişmekte olan eritroblastlara alınır. Eritrositlerle dolaşımında 4 ay kadar kaldıktan sonra makrofajlar tarafından fagosite edilir. Burada Hb'den uzaklaşır ve bir kısmı vücuttan atılırken, büyük bir kısmı plazmaya dönerek sıklusa yeniden katılır (1, 43).

Gastrointestinal sistemden geçen demirin emilebilir şekilde olması, diyetteki miktarı ve bileşimi, gastrointestinal faktörler GIS'den demir emilim hızını etkiler. Diyetteki demirin %90 kadarı hem olmayan demir, geri kalanı hem demiri şeklindedir. Hem demirinin emilimi olmayana göre çok yüksektir ve diyetteki diğer

faktörlerden etkilenmez. Hem olmayan demir gıdalarda ferrik kompleksler şeklindedir. Sindirim sırasında ferröz formda redükte edilerek emilir. Hem demirinin %30'u, hem olmayan demirin %5'i emilir (1). Gastrik sıvı, diyetdeki hem olmayan demiri stabilize ederek, ferrik hidroksit halinde çökmesini önler. Fizyolojik pH'da Fe^{+2} hızla çözünür olmayan Fe^{+3} şekline dönüşür. Mide asit salgısı ile duodenumda pH düşer ve Fe^{+3} 'ün çözünürlüğü ve alımı artar. Ortamda $pH < 3$ olduğunda Fe^{+3} stabildir ve musine bağlanır. Musin demirin eriyebilir duruma gelmesini sağlayan şelatör gibi davranır ve demiri intestinal emilime uygun hale getirir. Demir, musinden mukozal epitel hücrelerinin yüzeyindeki reseptör proteini olan $\beta 3$ integrine aktarılır (44). Sonra hücre membranından integrinle yakın ilişkisi olan mobilferrin adlı proteine bağlanarak sitozole iletilir. Demir-mobilferrin kompleksi mukozadan kapillerlere geçerek transferine bağlanıp hematopoetik doku ve diğer dokulara taşınır. Demir fazla miktarda ise hücreyi oksidatif zedelenmeden korumak için F sentezi uyarılır ve demir, F şeklinde depo edilir. Transferin reseptörü (TfR) ise emici hücrelerin bazolateral membranında yer alır ve demirin plazmadan intestinal hücreler ve diğer organlara geçişini sağlar (45).

Demir yenidoğanda yaklaşık 0.8 g iken, yetişkinlerde 5 g'dır. Bu farklılığı telafi etmek için hayatın ilk 15 yılı boyunca ortalama 0.8 mg/gün demir emilmelidir. Büyüme gereksinimine ek olarak hücre kaybıyla oluşan normal demir kayıplarını dengelemek için küçük bir miktar gereklidir. Çocukluk çağında pozitif demir dengesini sürdürmek için her gün yaklaşık 1 mg demir emilmelidir (5).

Yaşamın ilk 4 ayında demir depoları yeterli olduğundan demir eklenmesi gerekli değildir. Dördüncü ay sonrası depolar azalıp hızlı büyüme devam ettiği için demir eklenmelidir. Anne sütündeki demir düzeyi düşüktür. Ancak emilim ve biyoyararlanımı iyidir. İnek sütündeki düzeyi fazla olmasına karşın biyoyararlanımı yetersizdir. Anne sütündeki düşük kalsiyum ve fosfor düzeyi ile içerdiği laktoferrin bunun nedenidir. 4-12 ay arasında diyetle emilmesi gereken demirin 0.6 mg/gün'ü büyüme için, 0.2 mg/gün'ü ise kayıpları karşılamak için kullanılır. Besinlerle sindirim kanalına gelen demirin normal koşullarda sadece %10'u emilebilmektedir. Çocuklarda erişkinlere göre oldukça yüksek olan emilim oranı, anemi gibi hastalıklarda normalin 2-10 katına çıkabilir. Kırmızı et ve yumurtada bol miktarda ($+2$) değerli hem demiri bulunmaktadır ve kolaylıkla emilmektedir. Tavuk ve balık

gibi beyaz etlerde ise demir oranı yeterli değildir. Fasulye, kabak ve ıspanak gibi yeşil sebzelerde bol miktarda demir olmasına karşın (⁺³) değerli oldukları için emilim az olmaktadır. Mide asidi, C vitamini, sistein, laktat ve fruktoz demir emilimini artırır. Bu etkisini bitkisel kaynaklı Fe⁺³ demiri Fe⁺² demire indirgeyerek yapmaktadır. Besinlerde bulunan fosfat, oksalat, fitat ve taninler demir ile suda çözünmeyen bileşikler oluştururlar ve emilimi azaltırlar (3, 46).

1.1.3. Demir Eksikliği Anemisi Nedenleri

Demir eksikliği ile DEA en sık olarak hayatın ilk 2 yılı içinde, özellikle 6-24. aylarda görülür (7). Düşük doğum ağırlığı ve perinatal kanamalar neonatal Hb kitlesinde ve demir depolarında azalma ile ilişkilidir. Yenidoğan infantın yüksek Hb yoğunluğu yaşamın ilk 2-3 ayı boyunca düşer. Demirin önemli bir kısmı kullanılabilir hale getirilir ve depo edilir. Bu kullanılabilir depolar term infantlarda yaşamın ilk 6-9 ayı içinde kan yapımı için genellikle yeterlidir. Düşük doğum ağırlıklı infantlarda veya perinatal kan kaybı olanlarda, depo demiri erken tüketilebilir ve diyet kaynakları başlıca öneme sahip olur. Term infantlarda, anemi nadiren yetersiz diyet ile oluşabilir. Altıncı aydan önce oluşması nadirdir. Genellikle 9-24. aylarda meydana gelir. Yüksek miktarda inek sütü (>750 ml) ve demir ile desteklenmemiş besinleri tüketen infantlarda DEA sıklığı artar. Kan kaybı özellikle daha büyük çocuklarda DEA nedenidir (5).

Bazı coğrafik bölgelerde, kancalı kurt enfestasyonu DEA'nin önemli bir nedenidir. Gizli kanamalardan oluşan DEA peptik ülser, meckel divertikülü, polip veya hemanjioma veya inflamatuvar barsak hastalığı gibi gastrointestinal yol lezyonundan olabilir. İnek sütündeki ısıya dayanıksız bir proteinde barsaktan kronik kan kaybı yapar. Ayrıca demir eksikliği, barsak mukozasını bozarak gizli kanamaya neden olabilir. Bebek ve çocuklarda demir eksikliği genellikle kan kaybından çok vücudun hızlı gelişme temposu yanında besinsel demir alımı eksikliğine bağlıdır (5-7). Ergenlik döneminde hızlı büyümenin yanında özellikle genç kızlarda menstrüasyonla kan kaybı, vejeteryan beslenme şekli, yetersiz besin alımı, zayıflama rejimleri ve yeme bozuklukları (anoreksiya nervoza) DEA'nin sık görülmesine neden olur. Bu nedenler Tablo 1'de gösterilmektedir (8).

Tablo 1. Demir eksikliği anemisi nedenleri (8).

-
- 1) Diyete bağlı alım azlığı
 - 2) Artmış demir ihtiyacı
 - a. Düşük doğum ağırlıklı bebekler, prematürel
 - b. Düşük doğum ağırlıklı ikizler veya çoğul doğumlar
 - c. Adolesan evresi
 - d. Gebelik
 - e. Siyanotik konjenital kalp hastalığı
 - 3) Kan kaybı
 - A. Prenatal, perinatal devre
 1. Transplasental, retroplasental, intraplasental kanamalar
 2. Plasenta previa
 3. Fetomaternal kanama
 4. Umbilikal kord rüptürü
 - B. Postnatal devre
 1. Gastrointestinal sistem
 - a. İntestinal hemoraji
 - b. İnek sütü allejisi
 - c. Anatomik lezyonlar
 - d. İlaçlar
 - e. İntestinal parazitler
 - f. Henoch-Schönlein purpurası
 2. Safra kesesi (hemokolesistit, kolelitiazis)
 3. Akciğer (pulmoner hemosideroz, Goodpasture sendromu)
 4. Burun kanaması
 5. Uterus (menstruel kanama)
 6. Kalp (intrakardiyak miksom, valvüler protez ve yamalar)
 7. Böbrekler (travmatik hemolitik anemi, hematüri, nefrotik sendrom)
 8. Ekstrakorporeal (hemodializ, travma)
 9. Sık aralıklarla kan vericiliği
 - 4) Azalmış absorpsiyon (malabsorpsiyon sendromları, uzun süreli ishaller, gastrektomi sonrası, inflamatuvar barsak hastalıkları)
-

1.1.4. Demir Eksikliği Anemisi Kliniği

Demir eksikliği anemisinde anemiye ikincil klinik bulgular olabilir. Hiçbir klinik bulgu olmaksızın rutin laboratuvar incelemeleri sırasında da tanı konulabilir. Demir çoğu organ fonksiyonu için gereklidir. Eksikliğinde birçok sistem etkilenir

(39). Solukluk önemli bulgudur. Demir eksikliği anemisi olan çocuklar, şişman veya düşük ağırlıklı olabilir. Bazı çocuklarda, Hb seviyeleri 5 g/dl altına indiği zaman anoreksiya ve irritabilite göze çarpar. Taşikardi ve kardiyak dilatasyon görülür. Sistolik üfürümler mevcuttur. İritabilite ve anoreksi dokudaki demir eksikliği yansımasıdır. Demir tedavisi ile hematolojik düzelme öncesi davranışlar düzelir (5).

Demir eksikliği anemisi için özel semptom ve bulgular olarak kabul edilen pika, kaşık tırnak ve mavi skleradan bir veya daha fazlası olabilir. Kulak çınlaması, baş ağrısı, çabuk yorulma, halsizlik, huzursuzluk ve iştahsızlık gibi klinik bulgular olabilir. Tırnak ve saçlar kolay kırılır. Dil papillalarında atrofi, angüler stomatit ve glossit görülebilir. Nörolojik ve entellektüel fonksiyonlar üzerine etkisi olabilir. Demir eksikliği anemisi ve anemi olmadan demir azalması uyanıklık, dikkat süresi ve öğrenme üzerine etkilidir (10).

Toprak yiyen çocuklarda aneminin meydana geldiğini ilk defa tanımlayan Türk hekimi M Tayanc, bu gözlemini 1942 ve 1943 yıllarında Türk tıp dünyası ve Türk Tıp mecmuasında 'toprak yeme anemileri' başlığı altında yayınlamıştır. İran'ın Şiraz kentinde gelişme geriliği olan ve anemi, hepatosplenomegali, hipogonadizm, kaba ve kuru derisi ve laterjisi olan bir hastada geophagia tesbit edildikten sonra, dünyada bazı köylüler arasında pikanın sıklıkla rastlanılan bir davranış olduğu fark edilmiştir. Daha sonra Mısırda bazı köylerde pikası olan ve gelişme geriliği saptanan olgular bildirilmiş ve Prasad bu olguları geniş bir şekilde rapor etmiştir (47).

Pika Latin kökenli olup pick up (toplamak) tan gelmektedir. Pika en az 1 ay süreyle yiyecek olmayan maddeleri gelişimsel düzeye ve kültürel pratiğe uymayan biçimde yemek olarak tanımlanır. Pika bir yeme bozukluğu olarak homojen küçük bir gruba sınırlı değildir. Normal gelişim gösteren oyun çocuklarında da görülebilir. Çocukluk çağında pika 2-3 yaşlarında başlar ve çocukluk çağı boyunca devam eder. Pika dünya çapında bir problemdir ve bütün ırklarda, coğrafi bölgelerde, cinslerde ve kültürlerde görülebilir (48). Bu tanımda infantil otizim veya şizofreni gibi başka bir mental hastalık ya da Kleine-Levin sendromu gibi başka bir fiziksel hastalık kastedilmemektedir. Bazı yazarlar ise pikayı hem yenilmeyecek hem de yenilebilir olan maddelerin kompulsif olarak tüketilmesi anlamında kullanmaktadır (49).

Pikanın prevelansı kesin olarak bilinmemektedir çünkü çoğunlukla sorulmayan ve rapor edilmeyen bir bulgudur. Bununla beraber çocuklarda, hamile

kadınlarda ve mental retarde kişilerde daha sık görüldüğü bildirilmiştir (50-52). Her 2 cinste eşit olarak görülür. En büyük prevalans 1-6 yaş çocuklardadır. Bunların büyük bir kısmı da düşük sosyoekonomik gruptan ve çoğu zamanda davranış bozukluğu olan çocuklardır. Mental retarde çocuklarda en sık görülen yeme bozukluğu pikadır ve retardasyon ağırlaştıkça şiddeti de artar (53). Pika dünyanın her yerinde görülebilir ve toprak yeme (geophagia) en sık görülen çeşididir. Bu oranın zencilerde %28 beyazlarda ise %17 olduğu bildirilmiştir (54).

Demir SSS miyelinizasyonunda önemli rol oynar. Bebekte miyelinizasyon için önemli olan 8-15 aylık dönemde demir eksikliği olması, bilişsel fonksiyonlarda geri dönüşümsüz geriliğe ve ileride dikkat azlığına, belli ölçüde mental ve motor geriliğe neden olmaktadır. Dopaminerjik sistemin demir eksikliğinden etkilenmesi ile motor kontrolde değişme, algılama, hafıza ve motivasyonda değişiklik ve davranış değişiklikleri olur. Demir eksikliği, katalaz ve sitokrom oksidaz gibi enzimlerin aktivitelerinde azalma meydana getirir (2, 5).

Demir eksikliği anemisi üç dönemde ortaya çıkar. Depo demirinde azalmanın olduğu birinci dönem (depo demir tükenmesi) yalnızca F düşüklüğü bulunur. İkinci dönemde anemi olmaksızın serum demir düzeyinde azalma, total demir bağlama kapasitesi (TDBK)'nde artma vardır. Transferrin saturasyonu (TS) düşer. Hb düzeyi normalin alt sınırındadır. Üçüncü dönemde Hb düzeyi azalmıştır. Hem oluşumu için gerekli demirde azalma nedeniyle eritrosit protoporfirininde artma gözlenir. Anemi, mikrositoz ve hipokromi mevcuttur. Serum F düzeyi iyice azalmıştır (2, 55).

1.1.5. Demir Eksikliği Anemisi Tanı ve Laboratuvar Bulguları

Demir eksikliği anemisinde Hb ve hematokrit (Hct), yaş ve cinse göre olması gereken değerden 2 SD düşüktür (Tablo 2) (56). Tanıda gerekli testler Tablo 3'de verildi (43).

Kanamaya bağlı DEA'nde retikülosit sayısı (%3-4) artar. Plazma F düzeyi düşüklüğü depo demiri azlığını yansıtır. Sağlıklı görünen kişiler gizli demir eksikliği gösterebilirler. F düzeyi enfeksiyon, enflamasyon, kanser ve karaciğer hastalıklarında yükselir. F değeri demir eksikliğinden bağımsızdır. Erişkinlerde F değeri alt sınırı <20 ng/ml'dir. Çocuklarda ise 10 ng/ml'dir (37,38, 41). Plazma demirinde düşme, TDBK artma ve TS'nda azalma (<%16) plazma demir konsantrasyonunda azlığı

yansıtır. Eritrosit sayısı (RBC), DEA gelişim sürecinde uzun süre normal sınırlarda bulunur. Aneminin ilerlediği durumlarda azalır (<5 milyon/mm³). Ortalama eritrosit hacmi (OEH) DEA gelişiminde son bozulan ve tedavi ile en geç düzelen göstergedir. Mikrositoz göstergesidir. Erişkinlerde normal OEH değeri 80-90 fl'dir. 2 yaş altı çocuklarda <75 fl sınır kabul edilebilir. Eritrosit dağılım genişliği (RDW) anizositozu gösterir. Eritrosit dağılım genişliği normal değeri %12 olup >%14 DEA lehinedir (57). Eritrosit protoporfirini hücre içi demir durumunu yansıtmaması açısından değerlidir. Kurşun zehirlenmesinde ve Hb sentezindeki bazı edinsel kusurlarda da patolojik olması nedeniyle spesifik bir test değildir. Kronik hastalık anemisinde etkilenir (37,38).

Tablo 2. Yaşa göre Hb ve Hct değerlerinin normal dağılımı (56).

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

Kemik iliği gerekli olmayan invaziv bir işlemdir. Kemik iliği yayması prusya mavisiyle boyanarak hücrelerdeki F ve hemosiderin varlığı gösterilebilir (8, 38).

Solubl TfR (sTfR) demir eksikliğinin saptanmasında popülerdir. Enzim bağlı immünabsorbent test (ELİSA) yöntemi ile bakılan zor ve pahalı bir testtir. Daha çok akademik çalışmalarda tercih edilir. Özellikle erişkinlerde demir eksikliğinin diğer ciddi tablolar ve enfeksiyon anemisinden ayırt edilebilmesinde önem taşır. Hemolitik anemilerde de arttığı için çocukluk çağında ayırıcı tanı değeri azdır. Demirin emilim sonrası Tf ile taşınarak Hb sentezi için hücre içine ulaşmasında bu reseptörler gereklidir (38, 58).

Tablo 3. Demir eksikliği anemisi tanısı için gerekli testler (43).

-
1. Periferik kan yayması (hipokromi, anizositoz, poikilositoz)
 2. Hipokromi ve mikrositozun eritrosit indeksleri ile desteklenmesi
 - a. Ortalama eritrosit hacmi (OEH)'nde azalma
 - b. Ortalama eritrosit hemoglobini (OEHb)'nin 27 pg altında olması
 - c. Ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (OEHbK)'nun %30'un altına düşmesi
 - d. Eritrosit dağılım genişliği (RDW)'nin %14'ün üstünde olması
 3. Serbest eritrosit protoporfirini (SEP)'nde artma (>40 mg/dl)
 4. Serum ferritin düzeyinde azalma (<10 ng/ml)
 5. Serum demirinde azalma
 - a. Serum toplam demir bağlama kapasitesi (TDBK)'nde artma
 - b. Transferin saturasyonu (%16'nın altında)'nda azalma
 6. Demir tedavisine cevap
 - a. Tedaviyi takiben 5-10 gün arası retikülositoz
 - b. Retikülozu takiben günde 0.25-0.4 g/dl/gün ve Hct'de %1/gün artış
 7. Kemik iliği: Demir içeren eritroblast sayısının demir boyama ile incelenmesi, bu hücrelerde azalma veya yokluk
-

1.1.6. Demir Eksikliği Anemisinde Tedavi ve Korunma

Yaşamın ilk altı ayında demir eksikliğinin önemli nedenlerinden biri depoların yetersiz olmasıdır. Fetüsün ağırlığı ve gebelik yaşı ile serum demiri arasında doğru bir orantı bulunur. Gebelikte gelişen hafif-orta derecedeki anemide, fetal demir düzeyini etkilemez. Ancak ağır anemide (Hb <7 g/dl) yenidoğan demir düzeyleri etkilenmektedir (59). Demir eksikliği anemisinin gelişmesini önlemek için süt çocukluğu döneminden itibaren yeterli demir alınması gereklidir. Yeterli demir alınabilmesi için zamanında doğan bebeklerde ilk 6 ay anne sütü ile beslenme, daha sonra demir ilave edilmiş mama ve demir içeren ek gıda verilmelidir. Anne sütü almayan çocuklarda ilk 12 ay demir ilave edilmiş mama ve 4. ayda demir içeren ek gıda verilmelidir. Anne sütü veya demir ilave edilmiş mama alamayan çocuklarda 4. ayda profilaktik olarak 1 mg/kg/gün demir ilavesi ve prematürelere en geç 2. ayda 2 mg/kg/gün profilaktik demir ilavesi yapılmalıdır (8).

Demir eksikliği anemisinde demir preparatları ağızdan veya parenteral yolla (intravenöz [İV], intramuskuler [İM]) verilmektedir. Etkinliği, emniyetli olması, ekonomik olması, sistemik ve lokal yan etkilerinin olmaması nedeni ile genellikle ağızdan tedavi kullanılır. Hastaların çoğunda demir verilmesine bağlı yan etki görülmemektedir. Ancak %10-20 hastada demire bağlı yan etkiler görülebilir. En sık görülen yan etki ishal ve kabızlık gibi sindirim sistemi bulgularıdır. Bu komplikasyonlar genellikle demir dozu ile ilgili değildir. Bulantı, epigastrik ağrı, kusma ve karın ağrısı gibi üst gastrointestinal bulgular genellikle demir alımından bir saat sonra ortaya çıkar. Bu bulgular demirin hemen yemeği izleyerek alınması ile geçer ya da azalır. Eğer bulgular devam ederse, her dozdaki demir miktarını azaltmak ya da kullanılan demir preparatını tablet, draje veya sıvı formlardan bir diğerine geçmek yararlı olabilir. Buna karşın bulgular devam ederse daha düşük dozlarda ve tek doz şeklinde vermek uygundur. Düşük dozlarda belli bir süre devam ettikten sonra, yeniden dozun artırılması gereklidir. Dişlerde boyamanın önüne geçmek için demir şurubu plastik enjektörlerle dişlerle temas önlenerek verilebilir. Demir tedavisinde ilk seçenek demir preparatları sülfat, glukonat ve fumarat gibi ferröz demir tuzlarıdır. Ferrik demir tuzları emilimlerinin az ve etkisiz olması nedeni ile daha az önerilmektedir. Eğer ferrik demir verilmesi gerekirse, emilimi artırabilmek için C vitamininin eklenmesi ile daha iyi sonuçlar alınabilir (41).

Ağızdan demir tedavisi 3-6 mg/kg/gün elementer demir miktarı olacak şekilde ve günde 2-4 dozda, aç karnına öğünler arasında önerilmektedir. Demir eksikliği anemisi olan çocuklarda ağızdan demir tedavisine yanıt olarak 72-96 saat içinde periferik retikülositoz başlar. Retikülositozu 0.5 g/dl/24 saat kadar çok yükselebilen Hb seviyelerindeki artış izler. Birinci haftadan sonra Hb artışı olur. Mikrositozdaki düzelme ise 3-4. ayda olmaktadır. Demir tedavisine kan değerleri normale döndükten sonra 8 hafta devam edilmelidir. Beslenme rejiminin öneriler doğrultusunda düzenlenmesi ve fazla miktarda inek sütünün alınmasının önlenmesi ile diyetteki eksikliğe bağlı görülen DEA önlenecektir (5, 41). Demir eksikliği anemisinde tedaviye cevap Tablo 4'da verildi (5).

Tablo 4. Demir eksikliği anemisinde tedaviye cevap (5).

Tedavi sonrası geçen süre	Cevap
12-24. saat	Hücre içi demir enzimleri işlev kazanmaya başlar. İrritabilite ve iştahsızlık iyileşmeye başlar.
36-48. saat	Kemik iliği yanıtı başlar. Eritroid hiperplazi gelişir.
48-72. saat	Retikülositoz başlar ve 5-7. günler doruğa ulaşır.
4-30. günler	Hemoglobin düzeyi yükselir.
1-3. aylar	Depolar dolar.

Parenteral demir tedavisi (İM, İV); ağızdan alınan demirin absorpsiyonu malabsorpsiyon nedeniyle bozuk olursa, operasyona hazırlanma gibi hızlı cevap gereken durumlarda, ağızdan demir tedavisinde dozajdaki ayarlamalara rağmen intolerans söz konusu ise, altta yatan rejional enterit ve kronik inflamatuvar barsak hastalıklarında ağızdan verilen demir hastalığın semptomlarını şiddetlendiriyorsa, şiddetli demir eksikliklerinde, uyumsuz çocuklarda tedavinin uzaması, kronik kontrol edilemeyen bir kanama, akut diyare, eritropoetinle birlikte prematüre yenidoğanda, epidermolizis bülloza, parenteral beslenme verilen çocuklarda, cerrahi veya gastrointestinal bir nedenle demir emilimi yetersiz olduğunda, eritropoetin tedavisi gerektiren böbrek yetmezliğinde kullanılabilir (60,61).

Demir eksikliği anemisi tedavisinde kan transfüzyonu anemi çok şiddetli olduğunda ($Hb \leq 4$ g/dl), kalp yetmezliği ve aneminin enfeksiyonla birlikte olduğu durumlarda verilmelidir. Hipervolemi ve kardiak dilatasyon varlığında anemiyi hızlı düzeltmek sakıncalıdır. Transfüzyonun yavaş olması, önce hastadan bir miktar kan alınması ve diüretiklerin verilmesi volüm yüküne bağlı olarak gelişebilecek komplikasyonları önleyecektir (5, 62).

1.2. Girelin

Oreksijenik hormon olarak bilinen girelinin; hormon olarak keşfedilmesinden önce, 1996 yılında reseptörü GHS-R (büyüme hormonu salgılatıcı reseptör) tanımlanmış ve G protein ailesine ait olduğu saptanmıştır (63). Daha sonra bu reseptörün endojen ligandı aranmaya başlanmıştır. Girelin 1999 yılında ilk olarak Masayasu Kojima ve ark. tarafından fare midesinde GHS-R1a bağlanmış endojen bir

ligand olarak tanımlanmıştır (25). Daha sonra, iştah üzerine etkilerinin tespit edilmesi üzerine iştah hormonu olarakta adlandırılmıştır (12).

Girelin geni, büyüme hormonu (BH) salgılatıcı reseptörünün endojen ligandıdır (25). Büyüme hormonu salgılatıcı reseptör tip 1a geni (GHSR); enerji homeostasisini, besin alınımı ve ön hipofizden büyüme hormonunun salınımını düzenleyen mide hormonu girelinin aynı kökenli reseptörünü kodlar (25).

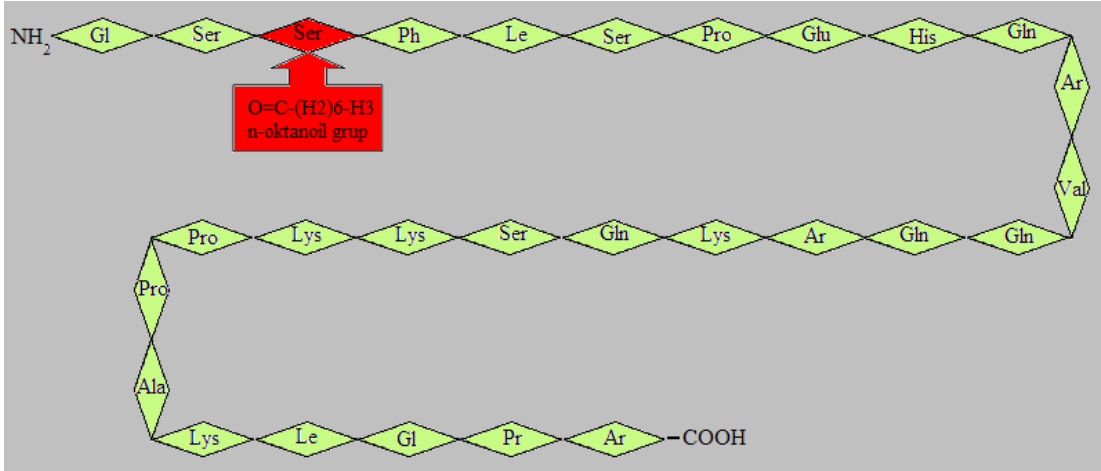
1.2.1. Girelin Gen Ürünleri Sentez ve Yapısı

İnsan girelin geni 3. kromozom 3p25-26 lokusunda yer alır (32). Girelin 28 aa'li peptid hormon olup esas olarak yüksek miktarda salındığı mideden izole edilmiştir. Büyüme hormonu salgılatıcı reseptörünün endojen ligandıdır (25). Büyüme hormonu salgılatıcı reseptör tip 1a geni (GHSR); enerji homeostazını, besin alınımı ve ön hipofizden büyüme hormonunun salınımını düzenleyen mide hormonu girelinin aynı kökenli reseptörünü kodlar (25). Tüm reseptörün (tip 1a) uzunluğu 3q25 kromozomundaki iki ekson tarafından kodlanmış 366 aa içerir. Bir farklı bağlantı yeri (tip 1b) sadece exon 1 ve intorunun kısa bölgesini içerir. Açık olmamakla birlikte eğer bu varyant proteine in vivo kopyalansaydı teorik olarak 5 sunucu transmembran alana ve 289 aa proteine kodlanacaktı. Tip 1b reseptör yaygındır (tip 1a'nın aksine). Fakat büyüme hormonun salınmasında veya kalsiyum ile ilişkili fonksiyonların ayarlanmasında biyolojik aktiviteye sahip değildir (64).

Girelin öncülü olan preprogirelin, 117 aa'den oluşur. Preprogirelin, 23 aa'lik sinyal peptidi ve 94 aa'lik progirelin (1-94) kısımlarını içerir. Progirelin 28 aa'lik matür girelin (1-28) ve 66 aa'lik kuyruk kısmından (29-94) oluşmuştur. Preprogirelinin son ürün olan matür gireline kadar proteolitik olarak yıkımından sorumlu olan enzimler henüz bilinmemektedir (25, 65).

Girelin geninin major aktif ürünü 3. pozisyondaki serin aa'i bir oktanoil grup ile açillenmiş, matür girelin olarak adlandırılan ve 28 aa'ten oluşan açillenmiş girelidir (Şekil 1). Girelin salınmadan önce sitoplazmada, posttranslasyonel olarak N-terminal 3. aa'i olan serin kalıntısına n-oktanoil asit eklenerek aktif haline dönüştürülür. Girelinde oluşan bu açilasyon, aktivite ve GHS-R'e bağlanma için gereklidir. Ayrıca bu post translasyonel değişimin, girelin molekülüne hidrofobik özellik kazandırması, bu hormonun özellikle hipotalamus ve hipofiz olmak üzere

beyin dokusuna geçişine olanak sağlamaktadır (25, 66). 14. pozisyonundaki glutaminin olmadığı bir analog peptid daha vardır ve desaçile girelin adını alır (67-69).



Şekil 1. Girelinin 28 aminoasitlik moleküler yapısı.

1.2.2. Dolaşımdaki Girelin Gen Ürünü Peptidler

Girelin kelimesinin kökü olan ‘Ghre’ kelimesi Hint Avrupa kökenli büyüme anlamına gelen ‘growth’ kelimesinden köken almaktadır. Midede girelinin 2 moleküler formu bulunmuştur. Birincisi 3. pozisyonunda n-oktanoasitik ile açillenmiş serin olan ve ikincisi girelin gen tarafından alternatif olarak ucuna eklenen 27 aminoasitli des-[Gln14]-girelidir. Plazmada bulunan girelinin 2/3’ü midede, 1/3’ü incebarsaklarda sentezlenir (13). Plazma girelin düzeyi açlıkta artar ve yemek sonrası azalır (14). Girelinin yemek alımının başlaması için başlangıç sinyali oluşturabileceği ya da girelin salgılanmasının kandaki bazı beslenme faktörleriyle kontrol edildiği düşünülmektedir. Obez çocuklarda zayıf olanlara oranla plazma düzeyleri daha düşük saptanmıştır (20). Fetal dönemde midede girelin üreten hücrelerin sayısı çok düşüktür. Doğumdan itibaren 5 yaşına kadar sayıları artar. Buna karşılık pankreastaki girelin miktarı prenatal ve yenidoğan döneminde en yüksek seviyededir ve pankreatik girelin seviyeleri beslenmeden etkilenmez (22). Plazmada ve midede bulunan girelin, konvansiyonel radioimmünassay yöntemi ile girelinin karboksi terminal parçası baz alınarak ölçülür. Molekülün ilk 5 aa’i korunarak yapılan yapısal aktivite ile ilgili çalışmalar girelinin amino-terminal parçasının fonksiyonel aktivitelerin tamamını sergilediğini göstermiştir (67).

Açıl ve desaçıl girelin arasındaki ilişki tam olarak bilinmemektedir. Her ikisinde midede olduğu gibi insan plazmasında da bulunur ve benzer ve zıt etkilerde aktiftirler. Bu durumu açıklamak için iki teori ileri sürülmüştür:

1- İki form farklı düzenleyici yollardan sekrete edildiği için, desaçıl girelin peptidin inkomplet açılması sonucu oluşmuş olabilir. Bu teoride muhtemelen desaçıl girelin girelin geni tarafından direkt olarak üretilen aktif bir peptiddir.

2- Desaçıl girelin girelinin desaçılması sonucu oluşmuş olabilir (70).

1.2.3. Girelin Gen Ürünlerinin Etki Mekanizması

1.2.3.1 Girelin Reseptörleri ve Etki Mekanizması

Büyüme hormonu salgılatıcı reseptör (GHS-R), 3q26.2'de kodlanmış gendendir. Bu genin pre-mRNA'nın GHS-R1'i alternatif işleme tabi tutması sonucu GHS-R1a ve GSR-1b olmak üzere iki izoformu oluşur. Girelin GSR-1a'ya bağlanır. GSR-1b, GSR-1a gibi yaygın bir şekilde eksprese edilir; fakat farklı olarak GSR1b'ye girelin veya sentetik büyüme hormonu salgılatıcıları (GHS) bağlanmaz ve GSR-1b'nin fonksiyonel olup olmadığı bilinmemektedir (64). Girelinin iştah, gıda alımı ve enerji balansı üzerine etki ettiği bölgeler olan hipofiz bezi ve hipotalamusta GSR-1a reseptörleri yaygın olarak izole edilmiştir (71). Biyolojik ritim, mood, kognisyon, hafıza, öğrenme gibi fonksiyonların kontrol edildiği santral sinir sisteminin hipokampus, substantia nigranın pars kompakta bölgesinde, mental tegmental bölge, dorsal ve medial raphe ve Edinger–Westphal çekirdekleri ve piriform kortekste de GHS-R1a ekspresyonu gösterilmiştir (72).

Ayrıca, GHS-R1a aktivasyonu girelinin birçok etkisine aracılık eden vagal nod ganglionlarında (72) ve mide, bağırsak, pankreas, adrenal ve tiroid bezi, gonad, over dokusu, tümöral dokular gibi birçok periferik organda da gösterilmiştir (73). GHS-R1a aktivasyonu açılma gereklidir (74).

Bütün modifiye açıl girelin analogları, anestezi verilmiş ratlarda GHS-R eksprese eden hücrelerde Ca^{2+} artışını sağlayarak aynı şiddette BH salgılanmasına neden olmaktadır (67).

Desaçıl girelin GHS-R1a'ya bağlanamadığı için, etkilerinin oluşmasına başka reseptörler aracılık etmelidir. Desaçıl girelin için spesifik ve açıl girelin için ortak reseptörlerin bulunması mümkün olmakla beraber; şu ana kadar bunların hiçbiri

karakterize edilememiştir. Desaçil girelinin hücre proliferasyonu ve metabolizma üzerine biyolojik aktivite gösterdiği ve kardiyomyosit, adiposit, prostatik ve iskelet kası hücre membranlarına bağlandığı gösterilmiştir (75-77).

1.2.3.2. Büyüme Hormonu Salgılatıcı (GHS)'lar ve Girelinin Sinyal Yolları

Büyüme hormonu salgılatıcı (GHS)'lar, BH salınmasını stimule eden sentetik bileşiklerdir. Bunlar G protein ailesinden reseptöre (GPCR) ve GHS reseptörüne (GHS-R) bağlanarak etki gösterirler. GHS-R aktivasyonu ve girelinin sinyal iletisi, protein kinaz C sistemi ile ve hücre içi kalsiyum konsantrasyonlarının artışı ile olur (78,79).

1.2.4. Girelinin Fizyolojik Fonksiyonları

1.2.4.1. Büyüme Hormonu Salgılatma Etkisi

Girelin, hipofiz bezindeki somatotropik hücrelerdeki GSR1-a reseptörlerine bağlanır ve doza bağımlı olarak BH salgılanmasına neden olur. Hipotalamustaki GHRH-nöronları aktivasyon, somatostatin nöronlarında inhibisyon yapar ve vagal afferent aktivasyonu uyarır (72, 80).

Normal şartlarda desaçil girelin, GHS-R1a'ya bağlanmadığı için BH sekresyonunu etkilemez. Transgenik farelerde desaçil girelinin aşırı ekspresyonu, GH-IGF-I aksını modüle edebilir (girelin verilmesi azalmış BH cevabı) (81).

1.2.4.2. İştahın Düzenlenmesi

1) Hipotalamik İştah Düzenlenmesi

İştahın beyin tarafından kontrol edildiği ve yeme davranışının SSS'nde hipotalamusta yer alan belli bölgelerde karmaşık bir mekanizma ile düzenlendiği kabul edilir (24). İştah mekanizmasının sadece SSS'nden değil periferden sentez edilen faktörlerle de düzenlendiği yakın zamanda ortaya çıkarılmıştır. Yağ dokusunda üretilen leptin, beyine doyma sinyalleri gönderen iştahı baskılayan bir faktördür. Girelin de perifer dokulardan açlık sinyalleri gönderir (13).

2) Hipotalamik İştah Düzenleme Bölgesinde Girelin Nöronları

Hipotalamusun arkuat nükleusunda iştah düzenlenmesinde rol alan girelin içeren nöronlar saptanmıştır (25). Bu lokalizasyon girelinin yemek alımını kontrol etmesini sağlar. Yakın zamanda yapılan çalışmalar 3. ventriküle çok yakın dorsal,

ventral, paraventriküler ve arkuat hipotalamik nükleuslar arasında girelin olduğu gösterilmiştir. Arkuat nükleustaki girelin içeren nöronlar Noropeptid Y (NPY) ve iştah etkili proteinini (AGRP) aktive ederek yiyecek alımını arttırmaktadır (23).

3) Girelin Güçlü Bir İştah Uyarıcısıdır

Kemirgenlerde intraserebroventriküler yapılan girelinin güçlü bir şekilde yiyecek alımını arttırdığı gösterilmiştir. Girelinin sadece intraserebroventriküler değil intravenöz ve intraperitoneal verildiğinde de yemek alımını arttırdığı gösterilmiştir. Girelin antikorları verilerek etkisinin baskılandığı ve yemelerinin azaldığı görülmüştür (12, 82). Hayvanlara girelin uygulamasının aşırı yiyecek alımına bağlı kilo artışına ve yağlanmaya neden olduğu saptanmıştır (82, 83). Girelinin insanlarda da iştah ve yiyecek alımını arttırdığı tespit edilmiştir (12, 14). Girelin açlık hormonu olması yanı sıra yeme davranışı ile kilo dengesini de düzenler (12).

4) Girelin İle İştah Mekanizmasının Uyarılması

Girelinin SSS'ndeki asıl aktivite gösterdiği yer hipotalamustaki arkuat nükleustur. Arkuat nükleus hem iştahı baskılayan ve yağ dokusunda sentezlenen hormon olan leptinin hem de iştahı arttıran NPY ve AGRP'nin hedefindedir (84). Girelin hipotalamusta NPY'nin presinaptik terminal bölgesine bağlanarak etkisini gösterir. Elektrofizyolojik kayıtlar ile girelinin hipotalamustaki NPY nöronlarını uyardığı gösterilmiştir (23). Girelinin SSS'ndeki bu etkileri leptin ile terstir (85).

5) Nervus Vagus ve Girelin

Girelin, periferik verilmesiyle insanlarda iştahı arttırdığı saptanan ilk ve tek hormondur (12). Bu da girelinin hipotalamustaki bölgeleri indirek yolla uyardığını düşündürür. Kemirgenlerde yapılan çalışmalar girelinin mideden aldığı sinyalleri beyine nervus vagus aracılığı ile ilettiğini göstermektedir. Vagotomi girelinin yiyecek alımı artırma ve büyüme hormon salgılatma işini inhibe eder. Bununla birlikte vagotomi sonrası girelinin bazal düzeyi etkilenmez (86).

6) Girelin ve Oreksin

Oreksin hipotalamusta bulunan yiyecek alımını düzenlemede rol alan oreksijenik nöropeptiddir. Oreksinin intraserebroventriküler injeksiyonu yiyecek alımını artırır ve kan glukoz, leptin ve yiyecek alım seviyesi ile oreksinin ekspresyonu negatif korelasyon gösterir. Girelin oreksin nöronlarını uyarırken, glukoz ve leptin inhibe eder (87).

7) Yiyecek ve Girelin

Plazma girelin seviyesi yemekten hemen önce artar ve yemekten minimum 1 saat içinde düşer (14). Endojen girelin yiyecek alımı ve vücut kilosunu ayarlayan karmaşık sistemde yeni regülatör olabilir (23). Açlık ve açlık sonrası yemeyi sonlandıran davranışsal, metabolik ve gastrointestinal adaptasyonları yönettiği söylenebilir (26).

8) Girelin Gen Ekspresyonu ve İştah

Midedeki girelin gen ekspresyonu açlık ile artar. Leptin ve interlökin (IL) 1 uygulanması ile azalır (88).

1.2.4.3. Gastrointestinal Fonksiyonlar ve Girelin

Girelinin İV uygulanması doza bağımlı olarak gastrik asit salgılanmasını ve gastrik motiliteyi artırır. Gastrik girelin salgılanması nutrisyonel ve hormonal faktörlerce düzenlenir. Açlıkta artan plazma girelin düzeyi yemeklerden sonra özellikle glukoz ve yüksek yağ oranı olan yiyeceklerden sonra azalır (14, 15). Ancak midenin su ile şişirilmesi ya da ekspansiyonu girelin seviyesini etkilemezken (21), düşük proteinli diyet ise plazma girelin seviyesini artırır, yüksek yağlı diyet ise azaltır (15). Girelin düzeyleri gün içerisinde öğün saatlerine göre değişiklik gösterir. Öğün öncesi artar. Yemeği takiben birinci ya da ikinci saatte düşer (14). Girelin salgısını azaltan inhibitör sinyaller ise leptin ve büyüme hormonudur (15).

1.2.4.4. Kardiyovasküler Etkileri

Girelinin İV injeksiyonu insanlarda kan basıncını azaltır. Bolus olarak İV uygulanması kalp hızını değiştirmeksizin ortalama kan basıncını düşürür (89). Kronik kalp yetmezliği olan ve girelinle tedavi edilen kemirgenlerde kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kardiyak output, atım hacmi ve sol ventrikül fonksiyonlarının yüksek olduğu gösterilmiştir. Girelin sol ventrikül disfonksiyonu ve kardiyak kaşeksiyi iyileştirir (90).

1.2.4.5 Girelin ve İnsülin Salgılanması

Pankreatik girelin ekspresyonunun tanımlanması ve girelin salgısının dağılımı tartışmalıdır. Girelinin insülin üzerindeki rolü de aynı şekilde tartışmalıdır. Girelinin bazı çalışmalarda insülin salgılanmasını inhibe ettiği bazı çalışmalarda da uyardığı gösterilmiştir (91,92). Bu farklılıkların nedeni çalışmaların şekli ve/veya uygulama

alanlarının değişikliğine bağlı olabilir. Plazma girelin ve insülin seviyeleri kan glukoz seviyesinden etkilenir. Yüksek glukoz değerleri girelin salgılanmasını baskılar ve insülin salgılanmasını uyarır (13).

1.2.4.6 Otonom Sinir Sistemi Üzerine Etkisi

Girelin sempatik aktiviteyi önleyerek ve vasodilatasyona sebep olarak kan basıncını düşürmektedir. Üçüncü ventriküle girelin enjeksiyonu kahverengi yağ dokusunda ısı düzenlemesinde etkili olan sempatik aktiviteyi azaltmaktadır (93).

1.2.4.7. Isı Üzerine Etkisi

Santral ya da periferel yolla uygulanan girelin doza bağımlı olarak ısı artışına neden olmaktadır. Uygulama şekline göre ısı artışında farklılık oluşturmaktadır. Girelin intraperitoneal verilirse ısı artışı 5-20 dakika arasında olur iken, intraserebroventriküler verilmesi halinde 10-60 dakika arasında gerçekleşmektedir. Bu ısı değişimin altında yatan neden henüz bilinmemesine rağmen, girelinin enerji harcanmasında ve korunmasında rolü olduğu kabul edilmektedir (94).

1.2.4.8. Girelin ve Hastalıklar

Girelin seviyeleri ve hastalıklar arasında ilişkiyi içeren birçok çalışma mevcuttur. Hormonun seviyesi hastalıklara bağlı olarak değişmektedir. Boy kısalığında girelin miktarı artarken (95), akromegalili hastalarda ya azalmakta ya da değişmemektedir (96). Çölyak, anoreksiya nervoza, bulimia nervoza, kansere bağlı anoreksiya ve kaşekside kan girelin miktarlarının arttığı bildirilmektedir (97).

Tip II diabette veya insülin direnci olan hastalarda da düşük girelin düzeyleri bulunmuştur. Tip I diyabetli hastalarda yapılan çalışmalarda girelin seviyelerinde değişiklik gözlenmemiştir (13). Hipotroidik ratlarda serum girelin seviyelerinin arttığı, hipertroidide ise azaldığı bulunmuştur (98). Kronik böbrek yetmezliği, peritoneal diyaliz ve hemodiyaliz hastalarında girelin serum seviyeleri artmıştır (96). Uyku ve epilepsi ile uyku ve endokrin fonksiyonlar arası bilinen bağlantılardan dolayı epilepsili hastalarda kan girelin seviyelerinde değişiklikler olmaktadır (99).

Yapılan iki farklı çalışmada DEA'nde girelin düzeyleri kontrol grubuna göre daha düşük olduğu gösterilmiştir (27, 100).

1.2.5. Girelin Gen Polimorfizmi

Polimorfizm, bir toplumda sadece tekrarlayan mutasyonlarla sürdürülemez oranlarda var olan, nadir sıklıktaki, devamlılık göstermeyen iki veya daha fazla genetik özelliğin bir arada olması olarak tanımlanabilmektedir (29). DNA dizisinde doğal olarak meydana gelen varyasyonlar birkaç şekilde oluşabilir;

1. Tek nükleotid substitüsyonu
2. Tek ya da birkaç nükleotidin insersiyonu veya delesyonu,
3. Tekrarlayan dizi sayısındaki değişimler ve kromozom yapısındaki büyük değişimler.

İnsan genomunda tek nükleotid değişimleri oldukça yüksek sıklıkta bulunmaktadır. Bu oran her 1000 bazda 1 olarak tahmin edilmektedir. Bunlar sıklıklarına ve hastalık yapma yeteneklerine bağlı olarak polimorfizm ya da mutasyon olarak adlandırılmaktadırlar (29).

Normal popülasyonda %1'den daha fazla sıklıkta olan değişimler polimorfizm olarak kabul edilmektedir (30,31). %1'den daha az sıklıkta olanlar ise genellikle hastalıkla sonuçlanmaktadır. Sadece hastalıklarla sonuçlanan mutasyonlar değil aynı zamanda bazı polimorfizmler de fonksiyonel olarak önemli olup hastalık patogenezinde rol oynamaktadır. Allel bir genin homolog kromozomlar üzerinde yer alan alternatif DNA dizilimleri veya formlarıdır. Tek nükleotidi içeren değişimler tek nükleotid polimorfizmi (SNP) olarak adlandırılır. Bir polimorfizmde yaygın olan dizi vahşi tip allel, nadir olan ise varyant alleldir (30).

İnsan girelin geni 3. kromozom 3p25-26 lokusunda yer alır (32). İnsan girelin geni 5 ekzondan oluşmaktadır. İlk ekzon 5' bölgesinde kodlanmıştır ve çok kısadır. Transkript A insan girelin mRNA'sının in vivo asıl formudur. Bu mRNA 117 aa'lı girelin prekürsörüne (preprogirelin) dönüşür. Proteaz enzimi ile yarıma ve açıl modifikasyonu sonucu 28 aa'lı aktif girelin peptidine dönüşür. 28 aa'lı fonksiyonel girelin peptidi ekzon 1 ve ekzon 2'de kodlanmıştır (13).

Yapılan farklı çalışmalarda girelin geninde DNA dizileme kullanılarak pek çok farklı tek nükleotid polimorfizmi tespit edilmiştir. Bunlardan en önemlileri promoter -501 A/C, Arg51Gln, Leu72Met ve Gln90Leu şeklindedir. Transkripsiyon başlama noktasında -604 g/a, -501 a/c, -473 g/a üç adet nükleotid değişimleri yer alır. Arg51Gln olgun girelin proteininin son kodonunda yer almaktadır. Olgun girelin

proteinin oluşturulması için son 66 amino asitin kesiminde görevli olan endonükleazların tanıma noktasını bozmaktadır. Arg51Gln ve leu72Met değişimleri ekzon 3'de ve Gln90Leu ise ekzon 4'de yer alan aminoasit değişimleridir (Şekil2) (33-35). Girelin genindeki mutasyonlar girelin proteininde kusur ya da aktivasyon kaybı ile BH salgılanmasında ve enerji dengesinde değişikliğe neden olabilirler (36). Preprogirelin geninin 72. kodonunda (Leu72Met) meydana gelen mutasyon matür girelinin kodon bölgesinin dışındadır (101). Leu72Met polimorfizmi sonucu matür girelinde yapısal bozukluk olmamasına rağmen, mRNA kararlılığındaki değişiklikler girelin sekresyonu veya aktivitesinde değişikliklere neden olur (36).



Şekil 2. Girelin geninin genom yapısı ve önemli polimorfizmleri (35).

2. GEREÇ VE YÖNTEMLER

2.1. Hasta ve Kontrol Grubu

Çalışmaya Temmuz 2009-Temmuz 2010 arasında Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Pediatrik Hematoloji Bilim Dalı polikliniğinde izleme alınan DEA (n:57) olan ve sağlam çocuk polikliniğine başvuran anemi tanısının ayırt edilmesi nedeniyle kan alınması gereken sağlıklı kontrol grubunun (n: 57) oluşturduğu toplam 114 olgu alındı. Demir eksikliği anemisi tanısı alan ve kontrol grubunu oluşturan çocukların ailelerine, çalışma ile ilgili bilgi verilip; yazılı onayları alındı.

Demir eksikliği anemisi tanılı olgular tedavi öncesi (a) ve tedavi sonrası (b) olmak üzere ayrıldı. Demir eksikliği anemisi grubu 27 kız (%47.4) ve 30 erkek (%52.6)'tan oluştu. Kontrol grubu (c) olguları 31 kız (%54.4) ve 26 erkek (%45.6)'ten oluştu.

Demir eksikliği anemisi tanısı konacak 6 ay-18 yaş arası çocuk hastalarda Hb değerleri; 4 ay-2 yaş arasında 10.5 g/dl düzeyinin altında, 2-6 yaş arasında 11.5 g/dl düzeyinin altında, 6-12 yaş arasında 12 g/dl düzeyinin altında ve 12-18 yaş arasında 12 g/dl altında bulunması anemi olarak kabul edildi. Serum demiri azalmış ve demir bağlama kapasitesi artmış, ferritin değerinin 12 ng/dl altında olması DEA olarak değerlendirildi (10).

Demir eksikliği anemisi tanısı alan olgularda tedavi öncesi ve sonrası CBC, periferik yayma, serum demir, TDBK, F değerleri rutin olarak alındı. Tüm örnekler sabah 08:00-09:00 saatleri arasında aç olarak alındı. Girelin gen polimorfizmi için etilen diamin tetraasetik asit (EDTA)'li tüplere 2 cc kan alındı. Alınan kan örnekleri DNA ekstraksiyonu yapılmaya kadar -20 °C'de saklandı.

Demir eksikliği anemisi tanısı alan olgulara ağızdan Fe⁺² içeren preparatdan 3-4 mg/kg/gün olarak günde 2-3 dozda aç karnına ağızdan verildi (5).

Tam kan sayımı Coulter Gen-S system, serum demir düzeyi ve TDBK Olympus AU 2700 cihazı ve Olympus kiti, F düzeyi Immulyte 2000 cihazında Immulyte 2000 ferritin kiti ile bakıldı (28).

2.2. Polimorfizm Tayininde Kullanılan Gereçler

Etilen diamin tetraasetik asitli kan sayım tüplerine alınan kanlar kullanılmaya kadar derin dondurucuda -20 °C [Uğur (Türkiye)] saklandı.

DNA izolasyonu otomatik mikropipetler (eppendorf, France), soğutmalı mikrosantrifüj (Ole Dich Instrumentmakers APS, type 157.MP, Germany), etüv (Nüve, NP 400, Türkiye), elektro-mag (Türkiye), Ph metre (Hana Instruments HI8521 pH meter, Italy), otoklav (Nüve, Türkiye), su banyosu (Kötterman labortechnic type 3643, Germany) ve vorteks (Labinco L46, The Netherlands) ekipmanları kullanılarak gerçekleştirildi.

Polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi agaroz jel elektroforez güç kaynağı, agaroz jel tankı ve düzeneği (Consort N.V. Parklaan 36 B-2300 Turnhout, Belgium), eppendorf mastercycler gradient (Netheler Mlnz GmbH, 23331 Hamburg, Germany) ve görüntüleme ünitesi (TCP-20-M, Vilber Lourmat, Cedex, France) cihazları kullanıldı.

Elektronik hassas terazi (Shimadzu Corporation Libror AEG-320, Japan) ve mikrodalga fırın (Arçelik, Türkiye) yardımıyla agaroz jel döküldü.

2.3. Polimorfizm Tayininde Kullanılan Kimyasallar

Jel elektroforezi için borik asit (Merck, Frankfurt, Germany), EDTA (Sigma, Germany) ve Tris HCL (Sigma, Germany) ile tampon çözelti, agaroz jel(Sigma, Germany) için etidium bromide (Sigma, Germany) çözeltisi, jele PZR örneklerinin yüklenmesinde kullanılan yükleme tamponunun hazırlanması için fikol (Serva, Germany), bromofenol mavisi (Sigma, Germany) ve xylene cyanol (Sigma, Germany) maddeleri kullanıldı.

DNA izolasyonunda mutlak etanol (Kimetsan, Türkiye) ve agaroz jelde örnek PZR büyüklüğünün saptanması için 100 bp'lik DNA boyut belirteci (Fermentas, Litvanya) malzemeleri kullanıldı.

2.4. Polimorfizm Tayininde Kullanılan Çözeltiler

Agaroz Jel Yükleme Tamponu (6X)

%15 fikol, %0.05 bromofenol mavi, %0.05 ksilen siyanol

Tris-borik asit-EDTA tamponu (TBE) (10 X) (1L)

108 g Tris HCl, 55 g borik asit, 20 ml 0.5 M EDTA, 1000 ml ddH₂O ile tamamlanır.

Etilen Diamin Tetraasetik Asit Çözeltisi (0.5 M, 50 ml)

18.6 gr EDTA tartılır. pH=8.0'e EDTA çözülmeye kadar NaOH eklenerek ayarlanır.

Etidium Bromüd (EtBr) Çözeltisi (10 mg/ml)

10 mg EtBr tartılır, üzerine 1 ml ddH₂O eklenir. Karanlıkta +4 °C'de saklanır.

2.5. DNA İzolasyon İşlemi

2.5.1. Kullanılan Solüsyon ve Gereçler

DNA izolasyonunda DNA purifikasyon kiti (Promega Cat.#1125), 1.5 ml'lik tüpler (Axygen scientific MCT-150-A), 100 ve 1000 µl'lik pipet (Eppendorf research series 2100 pipettes, Germany), pipet uçları (Deltalab 327-17), mikrosantrifüj, vorteks, izopropil alkol ve % 70'lik etil alkol gibi malzeme ve araç gereçlerden yararlanıldı.

2.5.2. İzolasyon Aşamaları

1. 1.5 ml'lik mikrosantrifüj tüpüne 900 µl cell lizis solüsyonu eklendi.
2. Kan tüpü kanın tamamen karışması sağlanana kadar hafifçe sallandı. Sonra 300 µl kan cell lysis solüsyonu içeren mikrosantrifüj tüpüne aktarıldı. Karışması için tüp 5-6 kez alt-üst edildi.
3. Kırmızı kan hücrelerinin lizisi için 10 dakika oda ısısında bekletildi, bu esnada tüp 2-3 defa alt-üst edildi. 13.000-16.000 rpm'de de 20 saniye santrifüj edildi.
4. Görünen beyaz pellete dokunmaksızın süpernatant yaklaşık 10-20 µl sıvı bırakacak şekilde atıldı.
5. Beyaz kan hücreleri tamamen çözülmeye kadar tüp 10-15 saniye kadar hafifçe vortekslendi.
6. 300 µl nuclei lysis solüsyonu çözülmüş hücrelerin bulunduğu tüpe eklendi. Beyaz kan hücrelerinin lizisi için solüsyon 5-6 kere pipetlendi. Solüsyonun visköz bir hale geldiği gözlemlendi. Karıştırma sonunda hücre çökeltileri görünürse bunlar çözülmeye kadar solüsyon 37 °C'de inkübe edildi. Eğer 1 saat sonra hala çökeltiler görülüyorsa ek olarak 100 µl nuclei lysis solüsyonu ilave edilip inkübasyon tekrarlandı.

7. 1.5 µl RNase solüsyonu eklendi ve tüp 25 defa alt-üst edilerek karıştırıldı. Karışım 37 °C'de 15 dakika inkübe edildi. Devam etmeden önce karışımın oda sıcaklığına gelmesi beklendi.

8. Nükleer pellete 100 µl protein presipitasyon solüsyonu eklendi. 10-20 saniye vortekslemedi. Vortekslemeden sonra küçük protein çöktürleri görüldü.

9. 13.000-16.000 rpm'de 3 dakika santrifüj edildi. Koyu kahverengi protein pelleti görüldü.

10. İçinde DNA bulunan süpernatant, içine 300 µl isopropanol konulmuş temiz bir 1.5 ml lik mikrosantrifüj tüpüne aktararak karıştırıldı.

11. Solüsyon alt-üst edilerek ağ şeklinde DNA kütlesi görülene kadar karıştırıldı.

12. 13.000-16.000 rpm'de 1 dakika santrifüj edildi. DNA küçük beyaz bir pellet şeklinde görüldü.

13. Süpernatant atılarak 300 µl %70 lik etanol eklendi ve -20 °C'de saklandı.

2.5.3. DNA Konsantrasyonu ve Saflık Derecesinin Ölçülmesi

DNA konsantrasyonu ve saflık derecesinin belirlenmesi UV spektrofotometresi ile yapılabilmektedir. DNA örneğinin içerisinde bulunduğu solüsyon tarafından absorbe edilen UV miktarı örnekteki DNA miktarı ile doğru orantılıdır. Absorbans genellikle 260 nm dalga boyunda ölçülür. Bu dalga boyundaki ölçümlerde çift iplikli DNA için absorbans değeri 50 µg/ml'lik konsantrasyon değerlerine karşılık gelir. UV absorbansı DNA'nın saflığının belirlenmesinde de kullanılabilir (260 nm'de nükleik asitler, 280 nm'de de proteinler pik verir). Saf bir DNA örneğinin 260 ve 280 nm'deki absorbans oranı (A_{260nm}/A_{280nm}) 1.8'dir. Bu değer elimizdeki DNA örneğinin verimini gösterir. Dolayısıyla bulduğumuz değer 1.8'e ne kadar yakınsa verim o kadar yüksektir. 1.8'den düşük değerler örnekte fenol ya da protein kontaminasyonu, 1.8'den büyük değerler ise RNA kontaminasyonu varlığını gösterir (31). Hasta ve kontrol grubuna ait DNA örnekleri ölçülerek konsantrasyonları ve

safılıkları belirlendi. 1.8'e yakın olmayan değerlere sahip örneklerin DNA'ları tekrar izole edildi.

2.6. Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PZR) Çalışması

2.6.1. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Materyalleri

Taq DNA polimeraz (5 U/μl)	Fermentas EP0402
10XPZR buffer (10 mM)	Fermentas EP0402
MgCl ₂ (25 mM)	Fermentas EP0402
100 mM dNTP set	Fermentas R0186
Primerler	İontek, İstanbul, Türkiye

2.6.2. Restriksiyon Enzimleri

<i>SacI</i> (10 u/μl)	Fermentas ER1131
<i>BsrI</i> (10 u/μl)	Fermentas ER0881
<i>ScaI</i> (10 u/μl)	Fermentas ER0431
<i>MwoI</i> (10 u/μl)	Fermentas ER1732

2.6.3. Polimorfizmlerin PZR ve Restriksiyon Enzim Fragment Uzunluk Polimorfizmi Yöntemiyle Belirlenmesi

Aktif olan girelin genin 51. aminoasitte arjininin yerine glutamin, 72. aminoasitte lösin yerine metionin ve 90. aminoasitte glutamin yerine lösin aminoasitlerinde meydana gelen değişimler ve promoter bölgesinde yer alan 501. nükleotiddeki A/C değişimi aşığıdaki yöntemler kullanılarak çalışıldı.

2.6.3.1. Arg51Gln ve Leu72Met Polimorfizmlerinin Çalışılması

Forward 5'-GCTGGGCTCCTA/CCTGAGC-3' ve

Revers 5'-GGA/CCCTGTTCA/CTGCCA/C-3'

Polimeraz zincir reaksiyonu sonrası 618 bç'lik PZR ürünü elde edilecektir.

SacI (Arg51 allel) restriksiyon enzimiyle kesim sonrası 455 bç ve 163 bç'lik ürünler elde edilmektedir.

BsrI (Leu72 allel) restriksiyon enzimiyle kesim sonrası 517 bç ve 101 bç'lik ürünler elde edilmektedir.

2.6.3.2. Gln90Leu Polimorfizminin Çalışılması

Forward 5'-GAGGTGTCA/CTCAGCAGTCC-3' ve

Reverse 5'-TCTTCTTCTTCAGGGCCTGGCTGTGCTGCTAGTA/C-3

Polimeraz zincir reaksiyonu sonrası 228 bç'lik PZR ürünü elde edilecektir.

ScaI restriksiyon enzimiyle kesim sonrası 195 bç ve 33 bç'lik ürünler elde edilmektedir.

2.6.3.3. 501 A/C Polimorfizminin Çalışılması

Forward 5-AGAA/CAAA/CGCCAGTCATCC-3 ve

Reverse 5'-GTCTTCCAGCCAGA/CAGTCC-3' primerleri kullanılacaktır.

Polimeraz zincir reaksiyonu sonrası 205 bç'lik PZR ürünü elde edilecektir.

MwoI restriksiyon enzimiyle kesim sonrası 104 bç ve 101 bç'lik ürünler elde edilmektedir (35).

2.6.4. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Kurulması İşlemi

Polimeraz zincir reaksiyonu 0.5 ml'lik tüplerde toplam hacim 30 µl olacak şekilde gerçekleştirildi. Her bir tüpe 6 µl hasta DNA'sı ve üzerine 3 µl MgCl₂, 3 µl 10X buffer, 3 µl dNTP (2.5 mM), 1 µl primer 1 (30 pmol), 1 µl primer 2 (30 pmol), 0.1 U Taq DNA polimeraz ve 13 µl ddH₂O konuldu. Hazırlanan tüpler vortekslendi ve PZR cihazına önceden girilmiş olan programda PZR işlemi gerçekleşti. PZR sonrası ürünler agaroz jel elektroforezi ile analiz edildi.

2.6.5. Polimeraz Zincir Reaksiyonu Koşulları

Değerlendirilen tüm polimorfizmler için aynı PZR koşulları kullanıldı.

94 °C'de 5 dakika

58 °C'de 1 dakika

1 döngü

72 °C'de 1 dakika

94 °C'de 1 dakika (denatürasyon)

58 °C'de 1 dakika (eşleşme)

35 döngü

72 °C'de 1 dakika (sentez)

94 °C'de 1 dakika

58 °C'de 1 dakika

1 döngü

72 °C'de 7 dakika

Polimeraz Zincir Reaksiyonu Ürünlerinin Restriksiyon Enzimleriyle Kesilmesi

Kesim 25 µl üzerinden yapılmıştır. 20 µl PZR ürünü 2, 5 µl 10Xbuffer, 0.5 U restriksiyon enzimiyle toplam hacim dd su ile 25 µl'ye tamamlanmıştır. Kesim işlemi tüm enzimler için 37 °C'de 16 saat bekletilmek suretiyle gerçekleştirilmiştir. Tüm enzimler için aynı kesim protokolü uygulandı. Kısaca 25 µl PZR ürünü, 1 µl restriksiyon enzimi ve 2, 5 µl 10X buffer kullanılarak yapıldı.

PZR sonrası oluşan ürünler agaroz jelde yürütülen örnekler UV ışık altında değerlendirilerek genotipleme yapıldı.

2.7. Agaroz Jel Elektroforezi

Yapılan bu çalışmada PZR ile çoğaltılmış ürünlerin tanımlanması için agaroz jel elektroforezi uygulandı. Elde edilen ürünlerin büyüklüklerini tanımlayabilmek için %4'lük jel kullanıldı. Kullanılan elektroforez düzeneğine uygun hacim, toz halindeki agarozun 0.5XTBE tamponunda manyetik karıştırıcı bir mikrodalga fırında kaynatılarak çözülmesi ile oluşturuldu. Ardından kaynamış çözelti 55–60 °C'ye soğutulurak 0.25 µg/ml EtBr ilave edildi. Kuyuları oluşturacak olan tarak, tabağına yerleştirildikten sonra hazırlanan jel; hava kabarcığı kalmayacak şekilde buraya döküldü. Jelin polimerizasyonu sonrası tarak dikkatlice çıkarılarak jel platformu 0.5XTBE tamponu ile dolu olan elektroforez tankına yerleştirildi. Bu tampondan jelin üzerini 1–2 mm geçecek kadar eklendi. Örnekler ve belirteç DNA, 6X yükleme boyası ile 5:1 oranında karıştırılarak kuyulara 15'er µl yüklendi. Güç kaynağı açılarak 90 V'a ayarlandı. Yaklaşık yarım saat sonra güç kaynağı kapatıldı. Jel görüntüleme sisteminde UV ışını altında incelendi (29, 30).

2.8. Etik Kurul İzni ve Bilgilendirilmiş Onam

Araştırmaya katılan tüm bireylere/ebeveynlerine araştırma ile ilgili ayrıntılı bilgi verilmiş ve onam formu çalışma öncesi imzalatılmıştır. Elazığ Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Etik Kurul tarafından 30.06.2009 tarihli toplantıda etik kurul onayı alınmıştır. (Karar no: 12 Toplantı sayısı: 11).

2.9. İstatistiksel Değerlendirme

Çalışmada elde edilen bulgular değerlendirilirken, istatistiksel analizler için SPSS (Statistical Package for Social Sciences) for Windows 16.0 programı kullanıldı. Parametreler arası ilişkiler Pearson korelasyon analizi kullanılarak değerlendirildi. Hasta ve kontroller genotip ve allel sıklıklarının dağılımı Ki-kare analizi ile yapıldı. Gruplar arası farkların değerlendirilmesinde non-parametrik bir test olan Mann-Whitney-U testi kullanıldı. $p < 0.05$ olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Çalışmanın ekonomik giderleri Fırat Üniversitesi Rektörlüğü Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (FÜBAP, proje no: 1931) desteği ile sağlandı.

3. BULGULAR

3.1. Hasta ve Kontrol Grubunun Demografik özellikleri

Çalışma grubunun yaşları 1 ile 18 yıl arasında değişmekteydi. Yaş ortalaması DEA grubunda 9.44 yıl, kontrol grubunda ise 9.33 yıl olarak bulundu. DEA tanılı olgular ve kontrol grubunun yaşı istatistiksel olarak farklı bulunmadı ($p<0.05$). Demir eksikliği anemisi tanılı olgular tedavi öncesi (a) ve kontrol grubu (b) olmak üzere iki gruba ayrıldı (Tablo 5). Demir eksikliği anemisi grubunda 27 kız (%47.4) ve 30 erkek (%52.6) çalışmaya alındı. Kontrol grubu (b) 31 kız (%54.4) ve 26 erkek (%45.6) olgudan oluşturuldu (Tablo 6).

Tablo 5. Olguların demografik özellikleri

	Tedavi öncesi (a) n=57	Kontrol (b) n=57	p<0.05
Yaş (ort±SD, yıl) (median, alt-üst)	9.44±5.30 (9.40, 0.80-18)	9.33±5.3 (9.0, 1-18)	—
Ağırlık (ort±SD, kg) (median, alt-üst)	33.60± 18.47 (31, 8.3-73.0)	35.09±19.13 (35.07, 9.0-82)	—
Boy (ort±SD, cm) (median, alt-üst)	128.50± 30.82 (126.0, 52.5-177)	132.30±29.72 (138.5, 75.7-182.1)	—

n: Hasta sayısı, ort: Aritmetik ortalama, SD: Standart sapma, — = $p<0.05$

Tablo 6. Çalışma ve kontrol gruplarında cinsiyet dağılımı

Grup	Cinsiyet	Olgu sayısı (n)	Yüzde (%)
Çalışma	Kadın	27	47.4
	Erkek	30	52.6
	Toplam	57	100.0
Kontrol	Kadın	31	54.4
	Erkek	26	45.6
	Toplam	57	100.0

3.2. Hasta ve Kontrol Grubunda Hematolojik Değerleri ve Girelin Gen Polimorfizm Sıklıkları

Demir eksikliği anemisi tanılı olgular tedavi öncesi (a) tedavi sonrası (b) ve kontrol grubu (c) olmak üzere ayrıldı. Demir eksikliği anemisi (tedavi öncesi + sonrası) ve kontrol grubu olguların Hb değerleri sırasıyla; tedavi öncesi grubunda 9.42 ± 1.33 g/dl, tedavi sonrası 13.46 ± 0.69 g/dl ve kontrol grubunda 13.73 ± 0.79 g/dl olarak bulundu. Çalışmadaki DEA tanılı olgularda tedavi öncesi Hb değeri tedavi

sonrasından düşük bulundu. Demir eksikliği anemisi tanılı olguların tedavi öncesi Hb değeri ile kontrol grubunun Hb değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Demir eksikliği anemisi tanılı olguların tedavi sonrası ile kontrol grubu arasında Hb değerleri açısından istatistiksel fark bulunmadı ($p>0.05$).

Ortalama eritrosit hacmi değerleri tedavi öncesi grubunda 63.42 ± 5.50 fL, tedavi sonrası 81.12 ± 2.34 fL ve kontrol grubunda 82.04 ± 2.40 fL olarak bulundu. Demir eksikliği anemisi tanılı olguların tedavi öncesi ile kontrol grubunun OEH değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Tedavi sonrası ile kontrol grubu arasında OEH değerleri açısından istatistiksel fark bulunmadı ($p>0.05$).

Eritrosit dağılım genişliği tedavi öncesi $\% 22.18\pm 4.02$, tedavi sonrası $\% 14.30\pm 0.83$ kontrol grubunda $\% 13.56\pm 0.85$ olarak bulundu. Demir eksikliği tanılı olguların tedavi öncesi ve sonrası grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Tedavi öncesi ile kontrol grubunun RDW değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Tedavi sonrası ile kontrol grubunun RDW değerleri arasında istatistiksel fark bulunmadı ($p>0.05$).

Serum demir düzeyi tedavi öncesi 14.43 ± 7.12 $\mu\text{g/dl}$, tedavi sonrası 82.84 ± 19.22 $\mu\text{g/dl}$ ve kontrol grubunda 81.1 ± 20.2 $\mu\text{g/dl}$ olarak bulundu. Demir eksikliği anemisi tanılı olgulardaki Fe değerleri tedavi öncesi ve sonrası arasında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Tedavi öncesi ile kontrol grubunun Fe değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Tedavi sonrası grubu ile kontrol grubu arasında Fe değerleri açısından istatistiksel fark bulunmadı ($p>0.05$).

Serum toplam demir bağlama kapasitesi tedavi öncesi 451.96 ± 52.01 $\mu\text{g/dl}$, tedavi sonrası 252.77 ± 40.86 $\mu\text{g/dl}$ ve kontrol grubunda 248.86 ± 48.51 $\mu\text{g/dl}$ olarak bulundu. Demir eksikliği anemisi tanılı olgulardaki TDBK değerleri tedavi öncesi ve sonrası arasında istatistiksel olarak anlamlı bulundu ($p<0.05$). Tedavi öncesi ile kontrol grubunun TDBK değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Tedavi sonrası ile kontrol grubu arasında TDBK değerleri açısından istatistiksel fark bulunmadı ($p>0.05$).

Serum F düzeyi tedavi öncesi 3.35 ± 1.51 ng/ml, tedavi sonrası 49.15 ± 22.14 ng/ml ve kontrol grubunda 53.30 ± 19.48 ng/ml olarak bulundu. Tedavi öncesi ve

sonrası gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Tedavi öncesi ile kontrol grubunun F değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı fark bulundu ($p<0.05$). Tedavi sonrası ile kontrol grubu arasında F değerleri açısından istatistiksel fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 7).

Çalışmaya alınan demir eksikliği anemili olguların % 57.9'u Elazığ, %26.3'ü Bingöl, %8.8'i Muş, %7'si diğer iller oluşturdu. Kontrol grubunda ise %64.9'u Elazığ, %21.1'i Bingöl, % 7'si Muş, % 7'si diğer illerden oluşturuldu.

Tablo 7. Hasta ve kontrol grubunu olgularından hemotolojik değerler

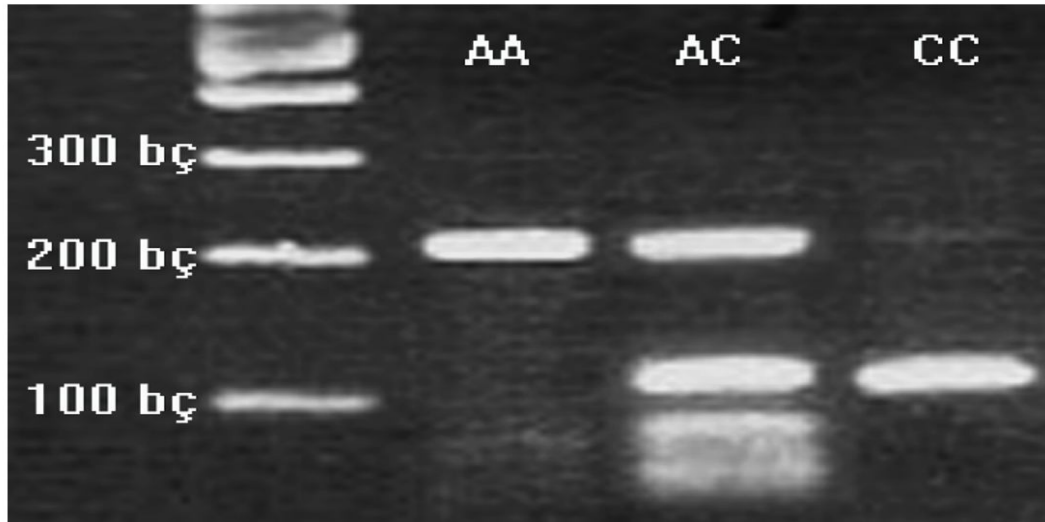
	Demir Eksikliği Anemisi			p<0.05
	Tedavi öncesi (a) n=57	Tedavi sonrası (b) n=57	Kontrol (c) n=57	
Hb (g/dl, ort±SD)	9.42± 1.33	13.46±0.69	13.73±0.79	a-b, a-c
(median, alt-üst)	(10.0, 6.45-11.5)	(13.4, 12.30-15.1)	(13.7, 12.1-16)	
OEH (fl, ort±SD)	63.42±5.50	81.12±2.34	82.04±2.40	a-b, a-c
(median, alt-üst)	(64.8, 52.4-73.3)	(80.2, 78.4-88.3)	(81.7, 78.1-91.3)	
RDW (% , ort±SD)	22.18±4.02	14.30±0.83	13.56±0.85	a-b, a-c
(median, alt-üst)	(21.3, 17.4-31.7)	(14, 12-16.10)	(13.7, 12-15.4)	
Fe (µg/dl, ort±SD)	14.43±7.12	82.84±19.22	81.1±20.2	a-b, a-c
(median, alt-üst)	(12, 4-31)	(84, 41-137)	(78, 41-140)	
TDBK (µg/dl, ort±SD)	451.96±52.01	252.77±40.86	248.86± 48.51	a-b, a-c
(median, alt-üst)	(447, 361-625)	(260, 165-324)	(244, 144-344)	
Ferritin (ng/ml, ort±SD)	3.35±1.51	49.15±22.14	53.30±19.48	a-b, a-c
(median, alt-üst)	(3.46, 1.0-7.8)	(44.0, 12.1-131)	(49.0, 18.2-99)	

Hb: Hemoglobin, **OEH:** Ortalama eritrosit hacmi, **RDW:** Eritrosit dağılım genişliği, **Fe:** Serum demiri, **TDBK:** Toplam demir bağlama kapasitesi

Promoter -501 A/C polimorfizmi için genotip sıklıkları kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (Tablo 8).

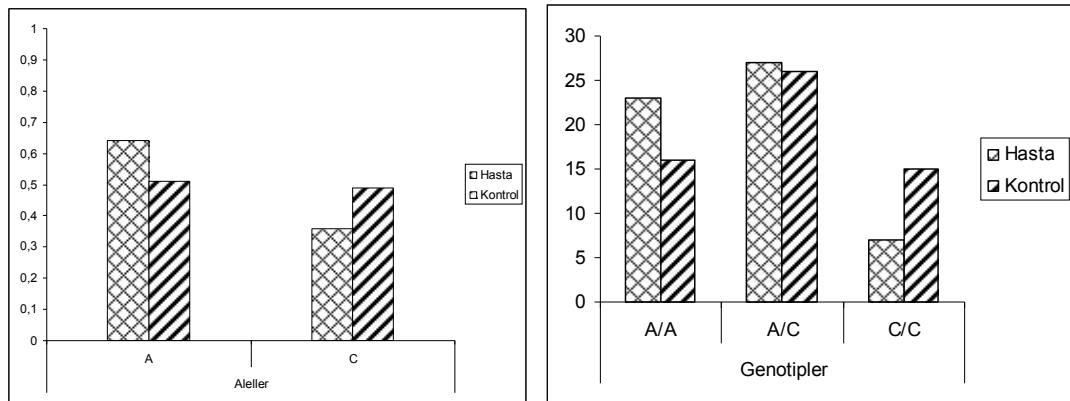
Tablo 8. Girelin promotör A/C polimorfizmi genotiplerinin hasta ve kontrol grubundaki dağılımları.

Genotipler	A/A (%) ^(a)	A/C (%) ^(b)	C/C (%) ^(c)
Hasta (n=57) ⁽¹⁾	23 (40.3)	27 (47.4)	7 (12.3)
Kontrol (n=57) ⁽²⁾	16 (28.1)	26 (45.6)	15 (26.3)
p>0.05	1a-2a	1b-2b	1c-2c
Alleller	A ^(a)	C ^(b)	
Hasta (n=57) ⁽¹⁾	0.64	0.36	
Kontrol (n=57) ⁽²⁾	0.51	0.49	
p< 0.05	1a-2a	1b-2b	



Sütun 1: 100 bç'lik DNA Boyut Markırı, Sütun 2: vahşi tip allel; 205 bç, Sütun 3: Heterozigot mutasyon; 205 bç + 104 bç + 101 bç, Sütun 4: Homozigot mutasyon; 104 bç + 101 bç

Şekil 3. -501 A/C promotör polimorfizmi için PZR'ye yönelik agaroz jel elektroforez görüntüsü.



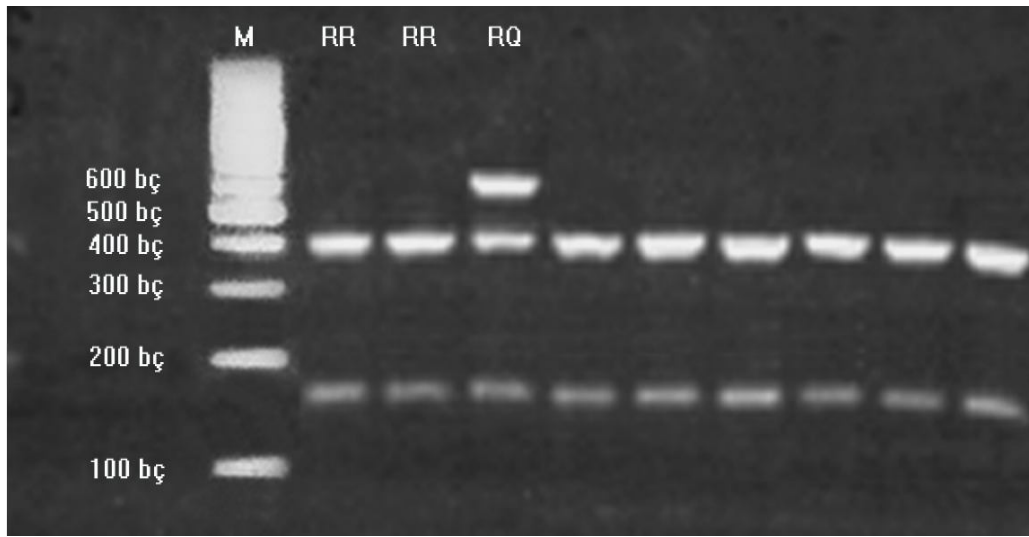
Şekil 4. Girelin promotör A/C polimorfizmi genotiplerinin hasta ve kontrol grubundaki dağılımları.

Girelin genindeki -501 A/C polimorfizmi açısından allel sıklıkları hasta ve kontrol arasında karşılaştırıldığında A allelinin istatistiksel olarak anlamlı oranda hasta grubunda artmış sıklığa sahip olduğu bulundu.

Girelin Arg51Gln polimorfizm için genotip ve allel sıklıkları kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (Tablo 9).

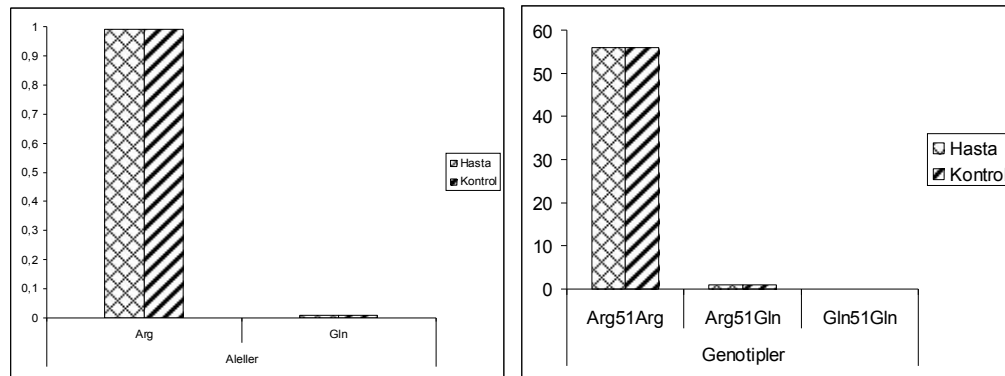
Tablo 9. Girelin Arg51Gln polimorfizm genotiplerinin hasta ve kontrol grubundaki dağılımları.

Genotipler	Arg51Arg (%) ^(a)	Arg51Gln (%) ^(b)	Gln51Gln (%) ^(c)
Hasta (n=57) ⁽¹⁾	56 (98.2)	1 (1.8)	0
Kontrol (n=57) ⁽²⁾	56 (98.2)	1 (1.8)	0
p > 0.05	1a-2a	1b-2b	1c-2c
Alleller	Arg ^(a)	Gln ^(b)	
Hasta (n=57) ⁽¹⁾	0.99	0.01	
Kontrol (n=57) ⁽²⁾	0.99	0.01	
p > 0.05	1a-2a	1b-2b	



Sütun1: 100 bç'lik DNA Boyut Markırı, Sütun 2, 3 vahşi tip allel; 618 bç, Sütun 4; Heterozigot mutasyon; 455 bç ve 163 bç.

Şekil 5. Arg51Gln polimorfizmi için PZR'ye yönelik agaroz jel elektroforez görüntüsü.

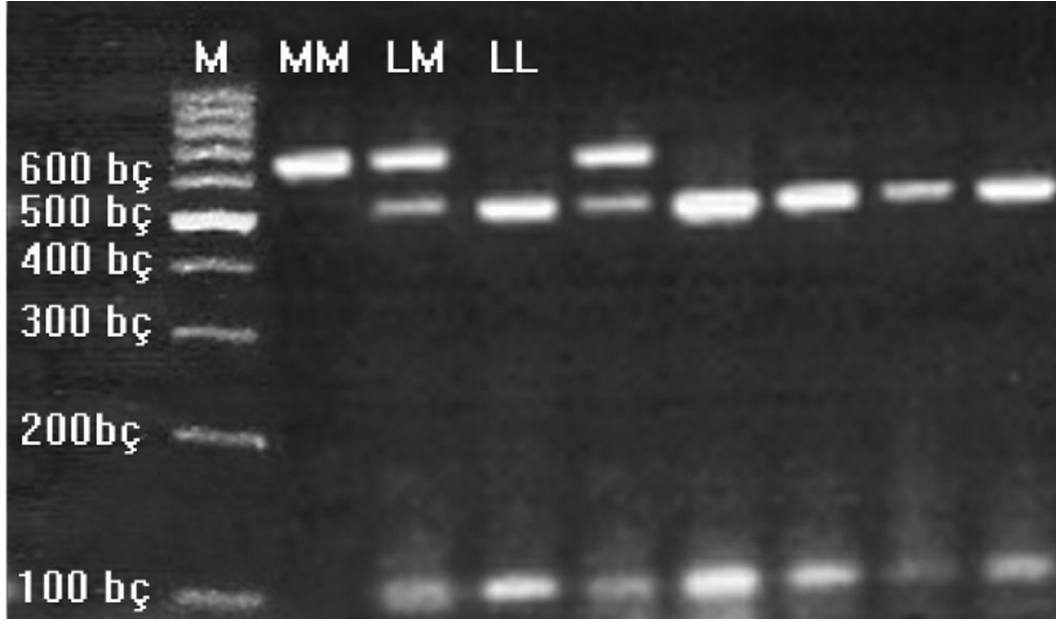


Şekil 6. Girelin Arg51Gln polimorfizm genotiplerinin hasta ve kontrol grubundaki dağılımları

Girelin Leu72Met polimorfizm için genotip ve allel sıklıkları kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (Tablo 10).

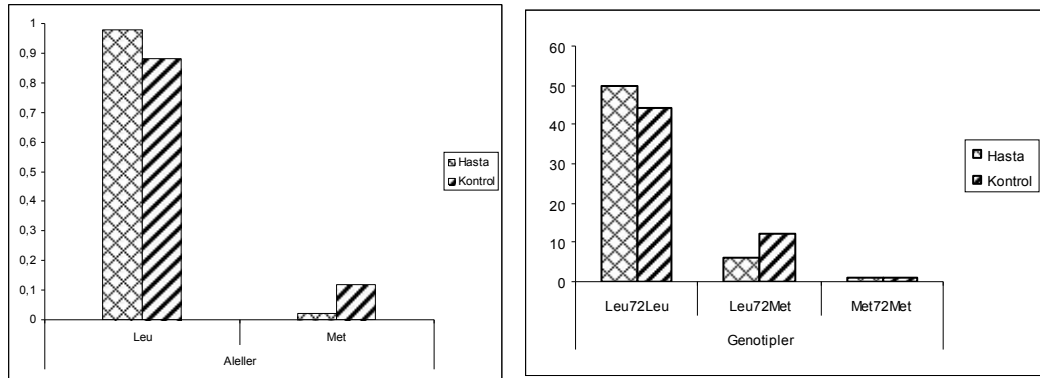
Tablo 10. Girelin Leu72Met polimorfizm genotiplerinin hasta ve kontrol grubundaki dağılımları.

Genotipler	Leu72Leu (%) ^(a)	Leu72Met (%) ^(b)	Met 72Met (%) ^(c)
Hasta (n=57) ⁽¹⁾	50 (87.7)	6 (10.5)	1(1.8)
Kontrol (n=57) ⁽²⁾	44 (77.2)	12 (21)	1(1.8)
p > 0.05	1a-2a	1b-2b	1c-2c
Alleller	Leu ^(a)	Met ^(b)	
Hasta (n=57) ⁽¹⁾	0.98	0.02	
Kontrol (n=57) ⁽²⁾	0.88	0.12	
p > 0.05	1a-2a	1b-2b	



Sütun 1: 100bç'lik DNA Boyut Markırı, Sütun 2: Homozigot mutasyon 618 bç, Sütun 3: Heterozigot mutasyon; 618 bç+ 517bp +101bp, Sütun4: Vahşi tip allel; 517bp +101bp

Şekil 7. Leu72Met polimorfizmi için PZR'ye yönelik agaroz jel elektroforez görüntüsü.

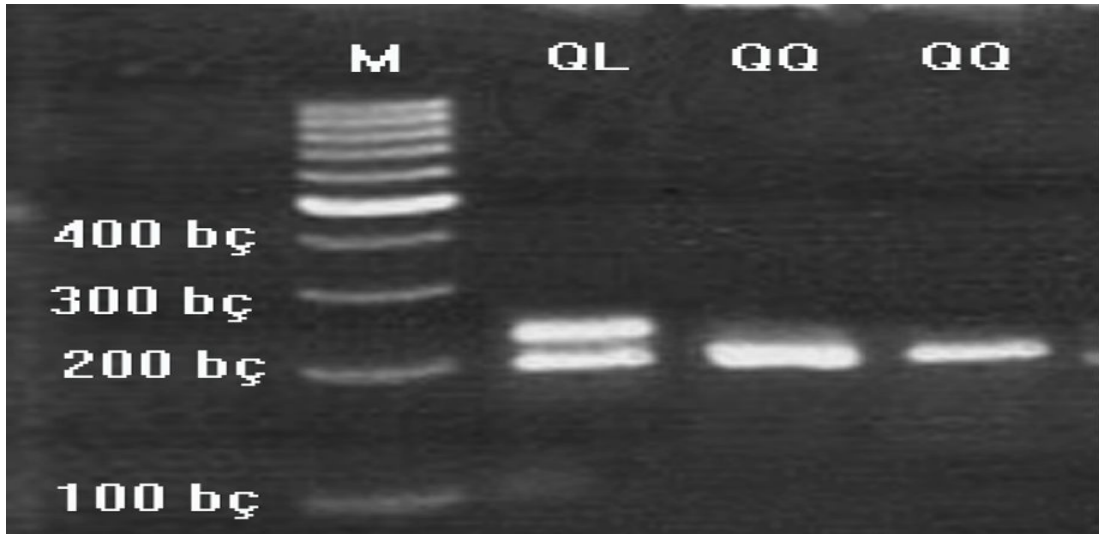


Şekil 8. Girelin Leu72Met polimorfizm genotiplerinin hasta ve kontrol grubundaki dağılımları.

Girelin Gln90Leu polimorfizm için genotip ve allel sıklıkları kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı (Tablo 11).

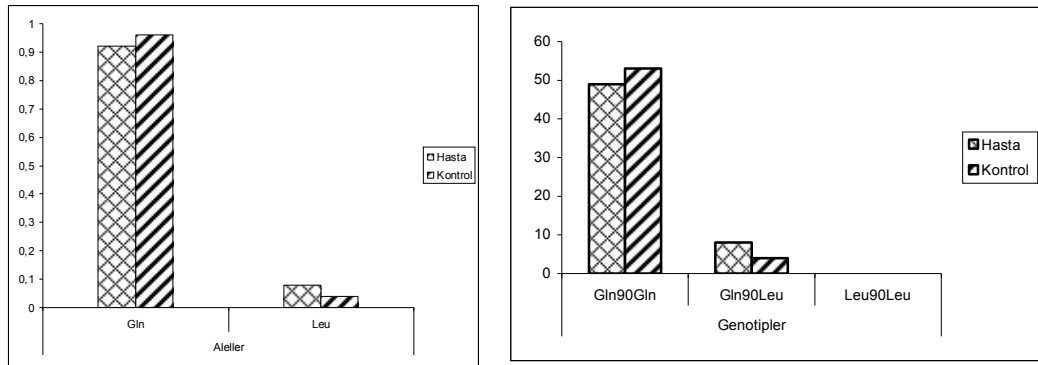
Tablo 11. Girelin Gln90Leu polimorfizm genotiplerinin hasta ve kontrol grubundaki dağılımları.

Genotipler	Gln90Gln (%) ^(a)	Gln90Leu (%) ^(b)	Leu90Leu (%) ^(c)
Hasta (n=57) ⁽¹⁾	49 (86)	8 (14)	0
Kontrol (n=57) ⁽²⁾	53 (93)	4 (7)	0
p > 0.05	1a-2a	1b-2b	1c-2c
Alleller	Gln ^(a)	Leu ^(b)	
Hasta (n=57) ⁽¹⁾	0.92	0.08	
Kontrol (n=57) ⁽²⁾	0.96	0.04	
p > 0.05	1a-2a	1b-2b	



Sütun1: 100 bç'lik DNA Boyut Markırı, Sütun 2 heterozigot allel; 228 bç, Sütun3-4; Vahşi tip allel: 228 bç + 95bp+33bp.

Şekil 9. Gln90Leu polimorfizmi için PZR'ye yönelik agaroz jel elektroforez görüntüsü.



Şekil 10. Girelin Gln90Leu polimorfizm genotiplerinin hasta ve kontrol grubundaki dağılımları.

3.3. Demir Eksikliği Anemisi Tanılı Olgularda Pika Öyküsü Olan ve Olmayan Hastalarda Girelin Gen Polimorfizm Sıklığı

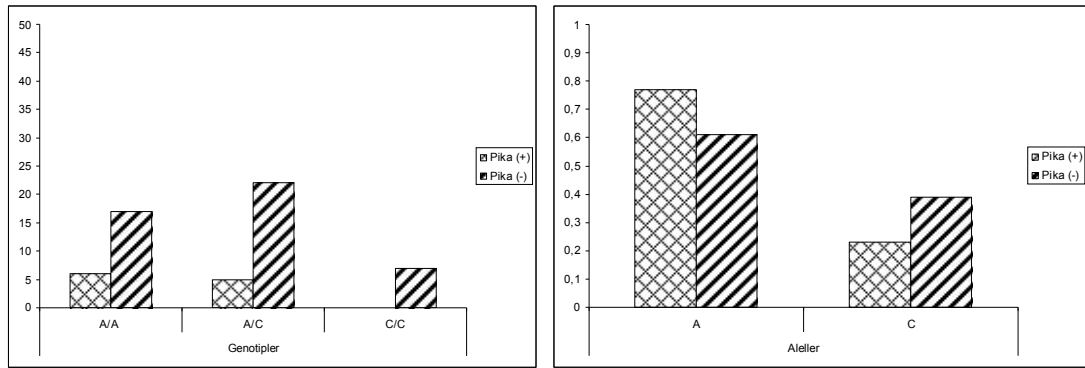
Çalışmamızda DEA tanılı 57 olgunun 11 (%19) tanesinde tedavi öncesinde pika öyküsü mevcut iken 46 hastada pika öyküsü yoktu. DEA tanılı olgularda pika

öyküsü olan ve olmayan grupta girelin gen polimorfizmleri arasındaki ilişki araştırıldı.

Girelin promoter A/C polimorfizm için genotip ve allel sıklıkları DEA tanımlı olgularda pika öyküsü olan ve olmayan hastalarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$).

Tablo 12. Girelin promoter A/C polimorfizm genotiplerinin pika olan ve olmayan grubundaki dağılımları

Genotipler	A/A (%) ^(a)	A/C (%) ^(b)	C/C (%) ^(c)
Pika (+) (n=11) ⁽¹⁾	6 (55)	5 (45)	0
Pika (-)(n=46) ⁽²⁾	17 (37)	22 (48)	7 (15)
p >0.05	1a-2a	1b-2b	1c-2c
Alleller	A ^(a)	C ^(b)	
Pika (+) (n=11) ⁽¹⁾	0.77	0.23	
Pika (-)(n=46) ⁽²⁾	0.61	0.39	
p >0.05	1a-2a	1b-2b	

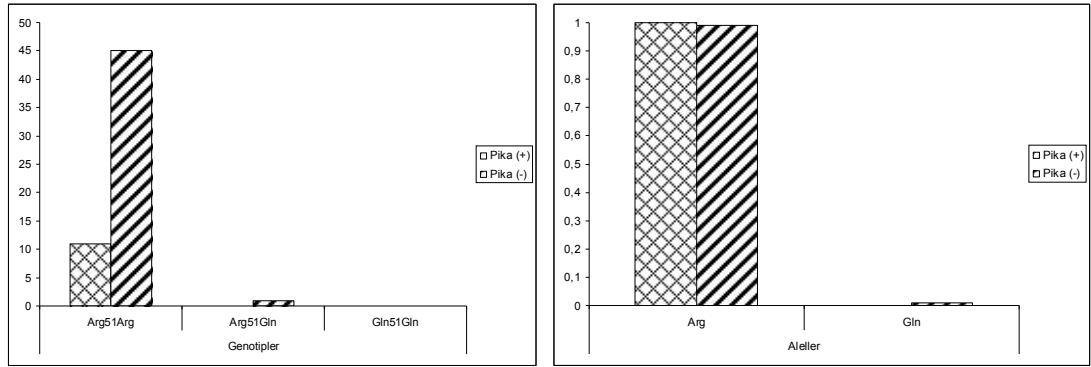


Şekil 11. Girelin promoter A/C polimorfizm genotiplerinin pika olan ve olmayan grubundaki dağılımları.

Girelin promoter Arg51Gln polimorfizm için genotip ve allel sıklıkları DEA tanımlı olgularda pika öyküsü olan ve olmayan hastalarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$).

Tablo 13. Girelin Arg51Gln polimorfizm genotiplerinin pika olan ve olmayan grubundaki dağılımları.

Genotipler	Arg51Arg (%) ^(a)	Arg51Gln (%) ^(b)	Gln51Gln (%) ^(c)
Pika (+) (n=11) ⁽¹⁾	11(100)	0	0
Pika (-)(n=46) ⁽²⁾	45(98)	1(2)	0
p >0.05	1a-2a	1b-2b	1c-2c
Alleller	Arg ^(a)	Gln ^(b)	
Pika (+) ⁽¹⁾	1	0	
Pika (-)(n=46) ⁽²⁾	0.99	0.01	
p >0.05	1a-2a	1b-2b	

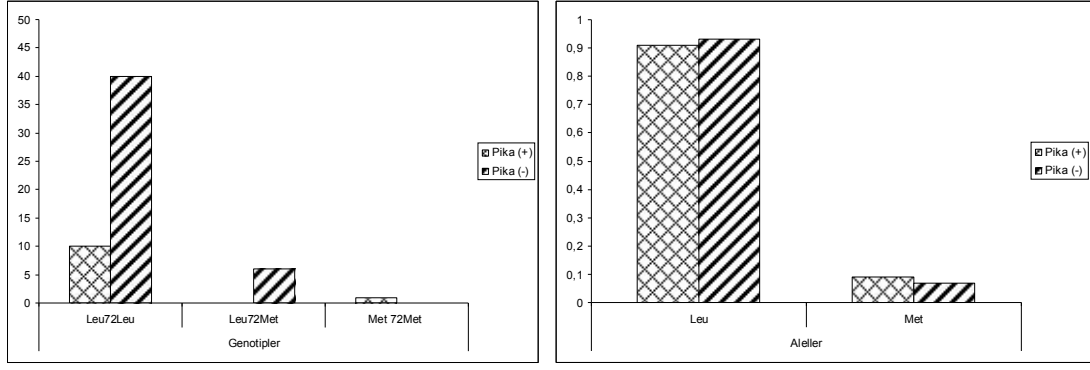


Şekil 12. Girelin Arg51Gln polimorfizm genotiplerinin pika olan ve olmayan grubundaki dağılımları.

Girelin promoter Leu72Met polimorfizm için genotip ve allel sıklıkları DEA tanımlı olgularda pika öyküsü olan ve olmayan hastalarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p > 0.05$).

Tablo 14. Girelin Leu72Met polimorfizm genotiplerinin pika olan ve olmayan grubundaki dağılımları.

Genotipler	Leu72Leu (%) ^(a)	Leu72Met (%) ^(b)	Met 72Met (%) ^(c)
Pika (+) (n=11) ⁽¹⁾	10 (91)	0	1 (9)
Pika (-)(n=46) ⁽²⁾	40 (87)	6 (13)	0
p >0.05	1a-2a	1b-2b	1c-2c
Alleller	Leu ^(a)	Met ^(b)	
Pika (+) ⁽¹⁾	0.91	0.09	
Pika (-)(n=46) ⁽²⁾	0.93	0.07	
p >0.05	1a-2a	1b-2b	

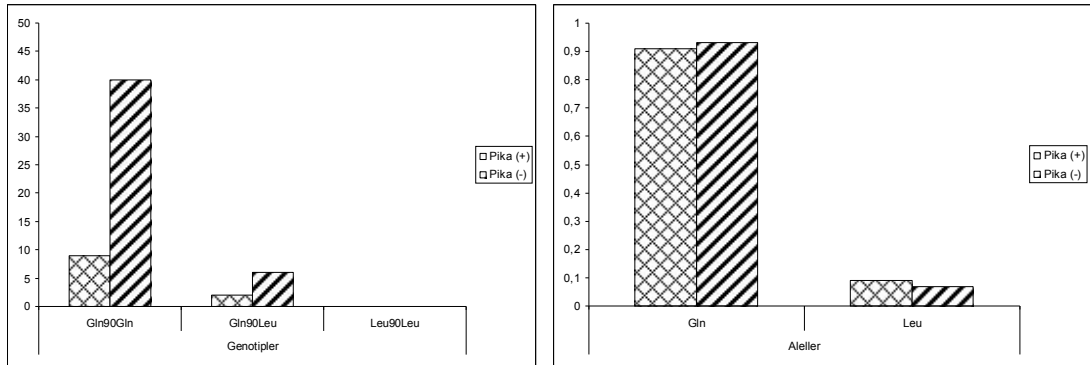


Şekil 13. Girelin Leu72Met polimorfizm genotiplerinin pika olan ve olmayan grubundaki dağılımları.

Girelin promoter Gln90Leu polimorfizm için genotip ve allel sıklıkları DEA tanımlı olgularda pika öyküsü olan ve olmayan hastalarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı ($p>0.05$).

Tablo 15. Girelin Gln90Leu polimorfizm genotiplerinin pika olan ve olmayan grubundaki dağılımları.

Genotipler	Gln90Gln (%) ^(a)	Gln90Leu (%) ^(b)	Leu90Leu (%) ^(c)
Pika (+) (n=11) ⁽¹⁾	9(82)	2(18)	0
Pika (-) (n=46) ⁽²⁾	40(87)	6(13)	0
$p>0.05$	1a-2a	1b-2b	1c-2c
Alleller	Gln ^(a)	Leu ^(b)	
Pika (+) ⁽¹⁾	0.91	0.09	
Pika (-) (n=46) ⁽²⁾	0.93	0.07	
$p>0.05$	1a-2a	1b-2b	



Şekil 14. Girelin Gln90Leu polimorfizm genotiplerinin pika olan ve olmayan grubundaki dağılımları.

4. TARTIŞMA

Demir eksikliği anemisi başta gelişmekte olan ülkelerde olmak üzere, tüm dünyada önemli bir problem olmaya devam etmektedir. Çocuklarda uzun süren DEA, büyüme ve zeka gelişiminde bozulmaya neden olur. Erken uygulanan demir tedavisi ile düzelebilir. Bu nedenle infant döneminde demir eksikliğini önlemek için erken teşhis ve etkin tedavi uygulamak oldukça önemlidir (60). Demir eksikliği anemisi infantların ve çocukların yaşam kalitesini ve performansını etkileyen çok yaygın bir hastalıktır. Demir eksikliği ile DEA; en sık olarak hayatın ilk 2 yılı içinde özellikle 6-24. aylar arasında görülür (7). Ergenlik döneminde (12-18 yaş) hızlı büyümenin yanında özellikle genç kızlarda menstrüasyonla kan kaybı, vejeteryan beslenme şekli, yetersiz besin alımı, zayıflama rejimleri ve yeme bozuklukları (anoreksiya nervoza) demir eksikliğini sık görülmesine neden olmaktadır (8).

Çalışmada DEA tanılı 57 olgu değerlendirildi ve kontrol grubunda ise 31 kız (%54.4) ve 26 erkek (%45.6) olmak üzere toplam 57 olgu değerlendirildi. Çalışma ve kontrol grubunun yaş ortalamaları benzerdi.

Demir eksikliği anemisinin klinik özelliklerinden birisi iştah kaybıdır ve beslenme DEA'nde büyük rol oynar (4). Bazı çalışmalarda DEA tanılı çocuklarda tedavi sonrası gıda alımı ve iştahta subjektif artış izlenmiştir (102). Çalışmamızda gıda alımının objektif değerlendirmesini yapamadığımız için DEA tanılı olguların tedavi sonrasında iştah artışı değerlendirmesi yapılamadı. Wren ve ark. (12) sağlıklı normal kilolu erişkin gruba intravenöz girelin vererek plasebo ile karşılaştırdığında, girelin alanlarda yiyecek alımının çok arttığını göstermişlerdir.

Kasar ve ark. (103) demir eksikliği anemisi ve tedavisinin girelin, obestatin ve ısı şok proteini 70 üzerine yaptıkları çalışmada hem açile hem de desaçile girelin düzeyleri DEA tanılı olgularda tedavi öncesinde, tedavi sonrası ve kontrol grubuna göre istatistiksel olarak düşük bulunmuştur. Gıda alımını uyardığı bilinen girelinin DEA gibi nutrisyonel amemide düşük seviyelerde bulunması, DEA gelişiminin nedenleri arasında olabileceğini düşündürmüştür.

Akarsu ve ark. (27)'nin yaptığı çalışmada DEA'nin gelişiminin çeşitli dönemlerinde plazma girelin seviyelerinin ölçümünde Fe depolarına paralel olarak girelin düzeylerinde azalma izlenmiştir. Demir eksikliği anemisinde girelin seviyesindeki düşüklük iştah kaybının bir nedeni olabileceği ve bu durumun

DEA'nin prodromal döneminde iştahta bir azalmaya neden olabileceği düşünülmüştür.

Isgüven ve ark. (100)'nın yapmış olduğu prepubertal DEA tanılı çocuklarda serum girelin seviyeleri ile ilgili çalışmada, DEA tanılı hastalarda kontrol grubuna göre serum girelin seviyesi düşük bulunmuştur. Bu çalışmada muhtemel yeni başlangıçlı DEA'de girelin seviyesinin düşük olduğu gösterilmiştir.

Doğal toplumlarda pek çok etken genetik bilginin dölden döle geçiş biçimini etkileyerek toplumun genetik yapısını değiştirebilir. Genetik yapıyı değiştiren etkenlerin başlıcaları mutasyon, seleksiyon, göç, rastlantısal olmayan eşleşmedir. Bu etkenlerin hiç birinin bulunmadığı koşullarda ise toplumun genetik yapısı döllere boyunca değişmeksizin korunur. Bu kavram ilk kez 1908 yılında, birbirlerinden tamamen bağımsız olarak, Hardy ve Weinberg tarafından ortaya konmuştur (104, 105). Hardy-Weinberg yasası şu şekilde ifade edilebilir; mutasyon, seleksiyon ve göç gibi olayların meydana gelmediği yeterli büyüklükteki bir populasyonda rastgele eşleşme koşullarında, ilk dölden itibaren gen ve genotip frekansları sabit kalır.

Demir eksikliği anemisi genellikle kronik kan kaybı ve demirden eksik beslenme sonucu oluşan kazanılmış bir durum olarak kabul edilmektedir. Ancak yapılan bazı çalışmalarda demir metabolizmasıyla doğrudan veya dolaylı yoldan ilişkili olan bazı genlerdeki polimorfizmlerin DEA ile ilişkilerinin saptanması bazı gen polimorfizmlerinin etyolojide önemli rol oynayabileceğini göstermiştir. Bu genlerden bazıları hepsidin antimikrobiyal peptid (HAMP), transmembran proteaz serin 6 (TMPRSS6) insan hemokromatozis (HFE) doğal dirençle ilişkili makrofaj protein 1 (NRAMP1) genleridir (106-108).

Hepsidin (HAMP) geni bağırsaktan demir emiliminin düzenlenmesi ve makrofajlardan salınmasında görevli olan demir homeostasisinde temel rol oynayan bir genidir. Gendeki -582 A polimorfizminin genin azalmış ekspresyonuna neden olabileceği belirtilmiştir (107).

Bununla beraber yapılan bazı çalışmalarda oral demir verilmesine cevap vermeyen veya parenteral demir verilmesine kısmi olarak cevap veren demir eksikliğiyle karakterize bazı ailesel sendromlar da tanımlanmıştır. Bu sendromlardan biri iron-refractory iron deficiency anaemia (IRIDA) olup ve sendroma TMPRSS6

gen mutasyonlarının neden olduğu bulunmuştur. IRIDA ve Tmprss6 gen polimorfizmleri arasında anlamlı bir ilişki saptanmıştır (109).

Son zamanlarda insan genomundaki doğal genetik varyasyonlar ve bunların klinik ve fonksiyonel önemleriyle ilgili pek çok çalışma yapılmaktadır. Bu ilerlemeler bize bazı multifaktoriyel hastalıkların oluşumunda ve ilerlemesinde rol oynayan genetik faktörlerin anlaşılmasında yol gösterici olacaktır. İnsan genomunda polimorfizmlerin çoğu fonksiyonel olarak nötraldir. Yani, genin oluşturduğu protein yapısını ya da fonksiyonunu etkilemezler. Bununla birlikte bazı polimorfizmler gen yapısındaki kodlayıcı alanları ya da düzenleyici bazı dizileri etkileyerek gen transkripsiyonu, mRNA stabilitesi, RNA uç birleştirme, protein yapısı ve fonksiyonunu etkileyebilmektedirler. Böyle değişiklikler hastalık yatkınlığını ve ciddiyetini artırma ya da azaltma, tedaviye cevap ve ilacın yan etkilerine karşı hassasiyet gibi farklı klinik etkiler ortaya çıkarabilirler (29).

İlk keşfedildiği 1999 yılından itibaren girelin ve hastalıklar arasındaki ilişkilerin araştırıldığı pek çok çalışma bulunmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda girelin gen polimorfizmleri ve bazı hastalıklar arasında ilişkilerin olduğu bulunmuştur. Obezite, yeme bozuklukları, kardiovasküler hastalıklar, ateroskleroz ve gastrointestinal hastalıklar gibi pek çok hastalıkta girelinin rolü olduğu gösterilmiştir (110-112).

Girelin genindeki mutasyonlar girelin proteininde defekte ya da inaktivasyonuna ve BH salgılanmasında ve enerji dengesinde değişikliğe neden olabilirler (36). Yapılan farklı çalışmalarda girelin geninde DNA dizileme kullanılarak pek çok farklı tek nükleotid polimorfizmi tespit edilmiştir. Bunlardan en yaygın olanları promoter -501A/C, Arg51Gln, Leu72Met ve Gln90Leu şeklindedir (33-35).

Girelin gen polimorfizmleri ve farklı hastalıklar arasında ilişkilerin araştırıldığı pek çok çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların bir kısmında polimorfizmler ve hastalıklar arasında anlamlı ilişki bulunmasına rağmen diğerlerinde bulunmamıştır.

Literatürde şimdiye kadar çocuk ve erişkinlerde DEA'nde girelin gen polimorfizmini araştıran çalışmaya rastlamadık. Bundan dolayı bu çalışma ile DEA tanı ve sağlıklı olgular karşılaştırılarak girelin genindeki promoter -501A/C,

Arg51Gln, Leu72Met ve Gln90Leu polimorfizmlerinin ile DEA arasındaki ilişkinin araştırılması amaçlanmıştır.

Monteleone ve ark.'nın (113) 90 yeme bozukluğu olan ve 119 normal kilolu sağlıklı kadından oluşan çalışmada, yeme bozukluğu olan grupta Leu72Met polimorfizmi sıklığı anlamlı derecede yüksek saptanmıştır. Miyasaka ve ark. (114) yapmış olduğu çalışmada yeme bozukluğu olan 228 Japan hasta girelin reseptör geni 171T/C polimorfizmi açısından incelenmiştir. Bunların 96'sı anoreksiya nevroza, 116 'sı bulimia nevroza ve geri kalan 16 hasta ise sınıflandırılmamıştır. Bulimia nevroza tanılı hastalarda kontrol grubuna göre GHSR gen polimorfizmi sıklığı yüksek bulunmuştur. Anoreksiya nevroza tanılı hastalarda kontrol grubuna göre fark bulunmamıştır.

Çalışmamızda promoter -501 A/C polimorfizm sıklığı; DEA tanılı 57 olgunun 23'ü (%40.3) A/A genotipine, 27'si (%47.4) A/C genotipine, 7'si C/C (%12.3) genotipine sahipti. Sağlıklı 57 olgunun 16'sı (%28.1) A/A genotipine, 26'sı (%45.6) A/C genotipine, 15'si C/C (%26.3) genotipine sahipti. Toplam 114 olgunun 39'u (%34.2) A/A genotipine, 53'ü (%46.5) A/C genotipine, 22'si C/C (%19.3) genotipine sahipti. DEA tanılı olgularda A allel sıklığı 0.64 sağlıklı olgularda 0.51 olarak bulundu. C allel sıklığı DEA tanılı olgularda 0.36, sağlıklı olgularda 0.49 olarak bulundu (Tablo 8, Şekil 4).

Çalışmamızda girelin genindeki -501 A/C polimorfizmi açısından allel sıklıkları hasta ve kontrol arasında karşılaştırıldığında A allelinin istatistiksel olarak anlamlı oranda hasta grubunda artmış sıklığa sahip olduğu bulundu. Bazı çalışmalarda özellikle yeme bozukluğu ve girelin gen polimorfizmleri arasında ilişki bulunmasına rağmen DEA hastalarda yaptığımız çalışmada Arg51Gln, leu72Met ve Gln90Leu polimorfizmleri için böyle bir ilişki bulunmamıştır. Çalışmamızda sadece hasta grubunda -501 A/C polimorfizmi için A allelinin artmış sıklığa sahip olduğu bulundu. Yapılan çalışmalarda bu promoter polimorfizminin genin transkripsiyon ya da translasyon düzeyini nasıl etkilediğine dair herhangi bir veri bulunmamaktadır. Ancak A allelinin azalmış girelin düzeylerine neden olarak demir eksikliği anemisine neden olabileceği düşünülmektedir.

Monteleone ve ark. (115) yapmış olduğu 173 anoreksiya veya bulimia nevrozalı kadınla 119 sağlıklı Kafkas kadın Arg51Gln ve Leu72Met girelin gen

polimorfizmi sıklığı açısından araştırılmıştır. Arg51Gln girelin gen polimorfizm sıklığı açısından; anoreksiya nervozalı 59 olgunun 59'u (%100) Arg51Arg gentopine, 114 bulimia nervozalı olgunun 113'ü (%99.2) Arg51Arg gentopine, 1 tanesi (%0.8) Arg51Gln genotipine sahip bulunmuştur. Sağlıklı 119 olgunun 117'si (%98.4) Arg51Arg genotipine, 2'si (%1.6) Arg51Gln genotipine sahip bulunmuştur. Anoreksiya, bulimia nervozalı ve sağlıklı olgularda Gln51Gln genotipi bulunmamıştır. Leu72Met girelin gen polimorfizm sıklığı açısından; anoreksiya nervozalı 59 olgunun 52'si (%91.6) Leu72Leu genotipine, 7'si Leu72Met genotipine, 114 bulimia nervozalı olgunun 103'ü (%90.4) Leu72Leu genotipine, 11'i (%9.6) Leu72Met genotipine sahip bulunmuştur. Sağlıklı 119 olgunun 109'u (%91.6) Leu72Leu genotipine, 10'u (%8.4) Leu72Met genotipine sahip bulunmuştur. Anoreksiya, bulimia nervozalı ve sağlıklı olgularda Met72Met genotipi bulunmamıştır. Bu çalışmada anoreksiya nervozalı Arg51Gln ve Leu72Met girelin gen polimorfizmi sıklığı kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmamıştır. Yapılan bu çalışmada Arg51Gln ve Leu72Met girelin gen polimorfizminin iştah ve yeme bozuklukları üzerine etkisi olmadığı bildirilmiştir.

Çalışmamızda Arg51Gln girelin gen polimorfizm sıklığı; DEA tanılı 57 olgunun 56'sı (%98.2) Arg51Arg genotipine, 1 tanesi (%1.8) Arg51Gln genotipine sahipti. Sağlıklı 57 olgunun 56'sı (%98.2) Arg51Arg genotipine, 1 tanesi (%2) Arg51Gln genotipine sahipti. DEA tanılı ve sağlıklı olgularda Gln51Gln genotipi bulunmadı. Toplam 114 olgunun 112'si (%98.2) Arg51Arg genotipine, 2'si (%1.8) Arg51Gln genotipine sahipti. DEA tanılı ve sağlıklı olgularda Arg allel sıklığı 0.99, Gln allel sıklığı 0.01 olarak bulundu (Tablo 9, Şekil 6).

Çalışmamızda girelin Arg51Gln polimorfizm için genotip ve allel sıklıkları kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı. Bu çalışmamızın sonucu Monteleone ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile benzer bulundu.

Zou ve ark. (116) kısa boylu Çinli çocuklarla yaptıkları çalışmada Leu72Met girelin gen polimorfizm sıklığını kontrol grubunda %34.4, hasta grubunda %39.9 olarak yüksek bulundu. Büyüme hormon eksikliği ve idiyopatik boy kısalığı olan çocuklarda Leu72Met genotipi ve allel sıklığı arasında anlamlı fark bulunmadı. Ancak BH eksikliği olan kısa boylu çocuklarda girelin düzeyleri anlamlı derecede

düşük saptandı. Sonuç olarak girelinin BH sekresyonu üzerine etkisi olduğunu saptamışlardır. Ancak girelin genindeki polimorfizimin girelin düzeylerine katkısı olmadığını belirtmişlerdir. Ancak -501 promoter, Arg51Gln, Leu72Met ve Gln90Leu gen polimorfizimleri ile BH sekresyonu arasında ilişki olup olmadığı konusunda herhangi bir literatür verisi bulunmamaktadır.

Vivenza ve ark. (117) yapmış olduğu çalışmada 168 sağlıklı ve 81 obez çocukta girelin gen polimorfizimleri ve girelin, insulin, IGF-I, leptin ve antropometrik verileri araştırmışlar. 168 sağlıklı çocuğun 90'ında ve 81 obez çocuğun 81'inde Arg 51Gln, Leu72Met, Gln90Leu girelin gen polimorfizimleri çalışılmıştır. Gln90Leu girelin gen polimorfizm sıklığı açısından; 81 obez çocukta 75'i (%92.6) Gln90Gln genotipine, 6'sı (%7.4) Gln90Leu genotipine, sağlıklı 90 olgunun 84'ü (%93.3) Gln90Gln genotipine 6'sı (%6.7) Gln90Leu genotipine sahip bulunmuştur. Arg51Gln girelin gen polimorfizm sıklığı açısından; 81 obez çocukta 80'i (%98.8) Arg51Arg genotipine, 1 tanesi (%1.2) Arg51Gln genotipine, sağlıklı 90 olgunun 89'u (%98.9) Arg51Arg genotipine, 1 tanesi (%1.1) Arg51Gln genotipine sahip bulunmuştur. Leu72Met polimorfizmi sıklığı açısından; 81 obez çocukta 69'u (%85.2) Leu72Leu genotipine, 12'si (%14.8) Leu72Met genotipine, sağlıklı 90 olgunun 89'u (%84.4) Leu72Leu genotipine, 14'ü (%15.6) Leu72Met genotipine sahip bulunmuştur. Sağlıklı ve obez çocuklarda Leu90Leu, Gln51Gln ve Met72Met genotipleri bulunmamıştır. Yapılan bu çalışmada obez hastalarda Gln90Leu, Arg51Gln ve Leu72Met girelin gen polimorfizimi sıklığı kontrol grubuna göre anlamlı fark bulunmamıştır. Yapılan bu çalışma sonucu girelin gen polimorfizminin total ve açile girelin düzeylerine etkisinin olmadığı bildirilmiştir.

Çalışmamızda Leu72Met girelin gen polimorfizm sıklığı; DEA tanılı 57 olgunun 50'si (%87.7) Leu72Leu genotipine, 6'sı (% 10.5) Leu72Met genotipine, 1 tanesi (%1.8) Met72Met genotipine sahipti. Sağlıklı 57 olgunun 44'ü (%77.2) Leu72Leu genotipine, 12'si (%21) Leu72Met genotipine, 1 tanesi (%1.8) Met72Met genotipine sahipti. Toplam 114 olgunun 94'ü (%82.5) Leu72Leu genotipine, 18'si (%1.8) Leu72Met genotipine, 2'si (%1.7) Met72Met genotipine sahipti. Leu72 allel sıklığı DEA tanılı olgularda 0.98, sağlıklı olgularda 0.88 olarak bulundu. Met72 allel sıklığı DEA tanılı olgularda 0.02 sağlıklı olgularda 0.12 olarak bulundu (Tablo 10, Şekil 8).

Çalışmamızda Gln90Leu girelin gen polimorfizm sıklığı; DEA tanı 57 olgunun 49 (%) Gln90Gln genotipine, 8'i (%) Gln90Leu genotipine. Sağlıklı 57 olgunun 53'ü (%) Gln90Gln genotipine, 4'ü (%) Gln90Leu genotipine sahipti. DEA tanı ve sağlıklı olgularda Leu90Leu genotipi bulunmadı. Toplam 114 olgunun 102'si (%) Gln90Gln genotipine, 12'si (%) Gln90Leu genotipine sahipti. Gln90 allel sıklığı DEA tanı olgularda 0.92, sağlıklı olgularda 0.88 olarak bulundu. Leu90 allel sıklığı DEA tanı 0.08 sağlıklı olgularda 0.04 olarak bulundu (Tablo 11, Şekil 10).

Çalışmamızda girelin Gln90Leu ve Leu72Met polimorfizm için genotip ve allel sıklıkları kontrolle karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadı. Bu çalışmamızın sonucu Vivenza ve ark. (105) ile Zou ve ark (104)'nın sonuçlarına benzer bulundu. Gln90Leu ve Leu72Met polimorfizminin girelin düzeylerine etkisi olmadığı, dolaylı olarak iştah ve beslenmeyi etkilemediği belirtilmiştir. Beslenme DEA gelişiminde büyük rol oynadığı bilinmektedir. Bu sebepten dolayı Gln90Leu ve Leu72Met gen polimorfizmlerinin DEA'nin etyopatogenezinde rolünün olamayacağını düşündürmüştür.

Garcia ve ark. (118)'nin yapmış olduğu çocuk ve erişkinlerde girelin gen polimorfizmi ve vücut ölçüleri ile ilgili çalışmada boy, kilo ve vücut kitle indeksi ile genotip veya fenotip olarak anlamlı bir ilişki bulunmamıştır. Larsen ve ark. (119) Danimarka'lı olgular arasında yaptıkları çalışmada vücut kitle indeksi ve erken gelişen obezite ile Leu72Met polimorfizmi arasında ilişki olmadığını saptamışlardır.

Çalışmamızda DEA tanı ve kontrol grubunda promoter -501A/C, Arg51Gln, Leu72Met ve Gln90Leu gen polimorfizmleri ile vücut ağırlığı, boy arasında anlamlı bir ilişki saptanmadı. Bu sonuçlar Garcia ve ark. (106)'ı ile Larsen ve ark. (107)'nin sonuçlarına benzer bulundu.

Diğer bazı çalışmalarda ise obezite ve bazı girelin gen polimorfizmleri arasında anlamlı ilişkiler tespit edilmiştir. Ukkola ve ark. (120) yapmış olduğu obezitede Arg51Gln ve Leu72Met girelin gen polimorfizimleri ile ilgili 3 farklı araştırmada 3004 olgu retrospektif olarak incelenmiştir. Arg51Gln polimorfizmi ile obezite arasında ilişki bulunmamıştır. Leu72Met polimorfizmi obezite ile ilişkili bulunmuştur. Miraglia ve ark. (121) 300 obez ve 200 normal kilolu İtalyan çocuk ile yaptıkları çalışmada Met72 alleli olan çocukların homozigot Leu72 alleli olanlara

göre daha erken yaşta obez olduklarını saptayarak Leu72Met polimorfizimi ile erken gelişen obezite arasında ilişki olduğunu göstermişlerdir.

Türkiye’de geophagia alışkanlığı yıllardan beri bilinen bir problemdir. Çavdar ve arkadaşları ülkemizde en sık rastlanan pika türünün toprak yeme olduğunu ve Türkiye’nin %70’inde bu hastalığın mevcut olduğunu haber vermişlerdir. 725 pikalı hastayı inceledikleri çalışmalarında pikaya en sık 1-15 yaş grubunda rastlandığını bildirmişlerdir (122). Bu olguların %71.6 sında birlikte anemi de saptanmıştır. Ülkemizde pika en sık orta anadolunun kırsal kesiminde görülmektedir (123).

Çalışmamızda DEA tanılı 57 olgunun 11 (%19) tanesinde tedavi öncesinde pika öyküsü mevcut iken 46 hastada pika öyküsü yoktu. DEA tanılı olgularda pika öyküsü olan ve olmayan grupta girelin gen polimorfizimleri arasındaki ilişki araştırıldı.

Pika öyküsü olan ve olmayan grupta girelin genindeki promoter -501 A/C polimorfizmi açısından allel ve genotip sıklıkları karşılaştırıldı. Pika öyküsü olan 11 olgunun 6’sı (%55) A/A genotipine, 5’i A/C (%45) genotipine sahipti. Pika öyküsü olmayan 46 olgunun 22’si (%48) A/A genotipine, 17’si (%37) A/C genotipine 7’si C/C (%15) genotipine sahipti. Pika öyküsü olan olgularda A allel sıklığı 0.77 pika olmayan olgularda 0.61 olarak bulundu. C allel sıklığı pika öyküsü olan olgularda 0.23, pika olmayan olgularda 0.39 olarak bulundu. Pika öyküsü olan ve olmayan hastalarda girelin promoter -501 A/C polimorfizmi açısından genotip ve allel sıklığı açısından istatistiksel olarak fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 12, Şekil 11).

Pika öyküsü olan ve olmayan grupta girelin genindeki Arg51Gln gen polimorfizmi açısından allel ve genotip sıklıkları karşılaştırıldı. Pika öyküsü olan 11 olgunun 11’i (%100) Arg51Arg genotipine sahipti. Pika öyküsü olmayan 46 olgunun 45’si (%98) Arg51Arg, 1’i (%2) Arg51Gln genotipine sahipti. Pika öyküsü olan olgularda Arg allel sıklığı 1.0 pika olmayan olgularda 0.99 olarak bulundu. Gln allel sıklığı pika öyküsü olan olgularda 0.0, pika olmayan olgularda 0.01 olarak bulundu. Pika öyküsü olan ve olmayan hastalarda girelin Arg51Gln gen polimorfizmi açısından genotip ve allel sıklığı açısından istatistiksel olarak fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 13, Şekil 12).

Pika öyküsü olan ve olmayan grupta girelin genindeki Leu72Met polimorfizmi açısından allel ve genotip sıklıkları karşılaştırıldı. Pika öyküsü olan 11 olgunun 10'u (%91) Leu72Leu genotipine, 1'i Met72Met (%9) genotipine sahipti. Pika öyküsü olmayan 46 olgunun 40'ı (%87) Leu72Leu genotipine, 6'sı (%13) Leu72Met genotipine sahipti. Pika öyküsü olan olgularda Leu72 allel sıklığı 0.91 pika olmayan olgularda 0.93 olarak bulundu. Met72 allel sıklığı pika öyküsü olan olgularda 0.09, pika olmayan olgularda 0.07 olarak bulundu. Pika öyküsü olan ve olmayan hastalarda girelin Leu72Met gen polimorfizmi açısından genotip ve allel sıklığı açısından istatistiksel olarak fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 14, Şekil 13).

Pika öyküsü olan ve olmayan grupta girelin genindeki Gln90Leu polimorfizmi açısından allel sıklıkları karşılaştırıldı. Pika öyküsü olan 11 olgunun 9'u (%82) Gln90Gln genotipine, 2'si Gln90Leu (%18) genotipine sahipti. Pika öyküsü olmayan 46 olgunun 40'ı (%87) Gln90Gln, 6'sı (%13) Gln90Leu genotipine sahipti. Pika öyküsü olan olgularda Gln90 allel sıklığı 0.91 pika olmayan olgularda 0.93 olarak bulundu. Leu90 allel sıklığı pika öyküsü olan olgularda 0.09, pika olmayan olgularda 0.07 olarak bulundu. Pika öyküsü olan ve olmayan hastalarda Gln90Leu gen polimorfizmi açısından genotip ve allel sıklığı açısından istatistiksel olarak fark bulunmadı ($p>0.05$) (Tablo 15, Şekil 14).

Daha önce DEA tanılı olgularda pika öyküsüne sahip hastalarda gen polimorfizm sıklığı ile ilgili bir çalışma yapılmamıştı. Kasar ve ark. (103) yapmış olduğu çalışmada DEA tanılı olguların pika öyküsü tanımlayan grup ile tanımlamayanlar arasında açile ve desaçile girelin değerleri çalışılmıştır. Açile ve desaçile ghrelin değerleri arasında fark bulunmamıştır.

Çalışmamızda DEA tanılı 57 olgunun 11 (%19) tanesinde tedavi öncesinde pika öyküsü mevcut iken 46 hastada pika öyküsü yoktu. 3 aylık tedavi sonrası bu 9 hastanın hiç birinde pika öyküsü kalmamıştı. Demir eksikliği anemisi tanılı olguların pika öyküsü tanımlayan grup ile tanımlamayanlar arasında girelin gen polimorfizmleri arasında fark bulunmadı. Bu tabloya olgu sayısındaki azlık sebep olabilir. Olgu sayısındaki azlığa ilaveten pikanın etiolojisinde yer alan Fe, besinler, bakır, selenyum, çinko, psikolojik, kültürel ve farmakolojik nedenler gibi çoklu etmenlerin neden olmasından kaynaklandığı düşünüldü (48).

Polimorfizmlerin değerlendirilmesinde kullanılan restriksiyon enzim uzunluk polimorfizm (RFLP) yöntemi gerçek zamanlı PZR gibi yöntemlerin gelişmesine rağmen halen spesifik, hızlı ve diğer yöntemlerle kıyaslandığında daha ekonomik bir şekilde polimorfizm ve mutasyonların tespitini sağlamaktadır. Çalışmamızda seçilen tüm polimorfizmlerin değerlendirilmesinde RFLP yöntemi kullanılmış ve tüm değerlendirilen polimorfizmler başarıyla genotiplendirilmiştir.

DEA'lı hastalarda daha önce girelin gen polimorfizmleri çalışılmamıştır. Literatür değerlendirmemize göre bu tez, ilgili genlerdeki polimorfizmlerin DEA'de çalışıldığı ilk çalışmadır.

-501 promoter bölgesiyle ilgili olarak AA, A/C yada CC genotiplerinin girelin genin ekspresyon düzeylerine etkisinin araştırılacağı çalışmaların yapılması bu promoterin öneminin anlaşılmasına yardımcı olacaktır.

Sağlıklı kontrolle karşılaştırıldığında DEA hastalarında promoter -501 A allelinin artmış olduğunu tespit edildi. Girelin genindeki Arg51Gln, Leu72Met ve Gln90Leu polimorfizmleri hasta ve kontrol grubunda benzer sıklıklarda bulunmuş ve istatistiksel olarak hasta ve kontrol grubu karşılaştırıldığında her üç polimorfizm için anlamlı bir farklılık elde edilmemiştir. Gözlenen bu bulguların daha anlamlı olması için daha fazla olgudan oluşan ve daha homojen grupların oluşturulduğu yeni çalışmalara ihtiyaç vardır. Bu nedenle sağlıklı ve sayıca fazla olan Türk olgu grubunda önce normal değerler belirlenmelidir. Daha sonra diğer toplumların verileri ile karşılaştırılmalıdır. Elde edilen normal veriler ile DEA verileri kıyaslanmalıdır.

Demir eksikliği anemisi tanısı alan çocuklarda ve sağlıklı kontrol grubunda girelin promoter -501 A/C, Arg51Gln, Leu72Met ve Gln90Leu gen polimorfizminin sıklığı araştırıldı. Bu şekilde, toplumumuzda sağlıklı çocuklarda; girelin gen polimorfizmi oranı belirlenmek istendi. Belirlenen polimorfizmlerden promoter -501 A allelinin artmış olduğu tesbit edildi. Girelin genindeki artmış promoter -501 A allelinin sıklığının DEA etyopatogenezinde rol oynayan mekanizmalardan biri olabileceğini düşünmekteyiz.

Girelin geninin DEA immünogenetiğinde önemli rolleri olabileceğini düşünmekteyiz. Bu gende yer alan diğer polimorfizmlerin hastalığa katkı sağlayıp sağlamadığının belirlenmesi için gerek Türk popülasyonunda gerekse diğer popülasyonlarda yapılacak çalışmalara ihtiyaç olduğu kanatındayız. Çalışmada

elde edilen verilerin doğrulanabilmesi için aynı polimorfizmlerin farklı toplumlarda DEA hastalarında çalışılarak verilerimizin daha fazla araştırılmayla desteklenmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Andrews N. Disorders of iron metabolism and sideroblastic anemia. Kenneth R, Nathan DG, Oski SH (editors). Hematology of Infancy and Childhood. 5th ed, Philadelphia. WB Saunders, 1998: 423-461.
2. Nancy C, Andrews K. Disorders of iron metabolism and sideroblastic anemia. Oski SH (editors). Nathan and Oski's Haematology of Infancy and Childhood 5th ed, Philadelphia. WB Saunders, 1998: 424-452.
3. Akarsu S, Kilic M, Yilmaz, E, Aydin M, Taskin E, Aygun AD. Frequency of hypoferritinemia, iron deficiency and iron deficiency anemia in outpatients, Acta Haematol 2006; 116: 46-50.
4. Topaloglu AK, Hallioglu O, Canim A, Duzovali O, Yilgor E. Lack of association between plasma leptin levels and appetite in children with iron deficiency, Nutrition 2001; 17: 657-659.
5. Glader B. Iron-deficiency anemia. Behrman R, Kliegman R, Jenson H (editors). Nelson Textbook of Pediatrics. 17th ed, Philadelphia: W.B Saunders, 2004: 1614-1616.
6. Hoffbrand AV, Herbert V. Nutritional anemias. Semin Hematol 1999; 36: 13-23.
7. Dallman PR, Yip R, Johnson C. Prevalence and causes of anemia in the United States, 1976 to 1980. Am J Clin Nutr 1984; 39: 437-445.
8. Wharton BA. Iron deficiency in children: detection and prevention, Br J Haematol 1999; 106: 270-280.
9. Jarkovska Z, Krsek M, Rosicka M, Marek J. Endocrine and metabolic activities of a recently isolated peptide hormone ghrelin, an endogenous ligand of the growth hormone secretagogue receptor. Endocr Regul 2004; 38: 80-86.
10. Booth IW, Aukett MA. Iron deficiency anaemia in infancy and early childhood. Arch Dis Child 1997; 76: 549-553

11. Geary N. Endocrine controls of eating: CCK, leptin and ghrelin. *Physiol Behav* 2004; 81: 719-733.
12. Wren AM, Seal LJ, Cohen MA, Brynes AE, Frost GS, Murphy KG, et al. Ghrelin enhances appetite and increases food intake in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5992-5594.
13. Kojima M, Kangawa K. Ghrelin: structure and function. *Physiol Rev* 2005; 85: 495-522.
14. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans, *Diabetes* 2001; 50: 1714-1719.
15. Lee HM, Wang G, Englander EW, Kojima M, Greeley GH. Ghrelin, a new gastrointestinal endocrine peptide that stimulates insulin secretion: enteric distribution, ontogeny, influence of endocrine, and dietary manipulations, *Endocrinology* 2002; 143: 185-190.
16. Weikel JC, Wichniak A, Ising M, Brunner H, Friess E, Held K, et al. Ghrelin promotes slow-wave sleep in humans, *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; 284: 407-415.
17. Aydin S, Ozkan Y, Caylak E. Ghrelin and its biochemical functions. *Türkiye Klinikleri. J Med Sci*, 2006; 26: 272-283.
18. Aydin S, Ozkan Y, Kumru S. Ghrelin is present in human colostrum, transitional and mature milk. *Peptides* 2006; 27: 878-882.
19. Kierson JA, Dimmetteo DM, Loche RG, Macley AB, Spear ML. Ghrelin is cholecystokinin in term and preterm human breast milk. *Acta Paediatrica* 2006; 95: 991-995.
20. Shiiya T, Nakazato M, Mizuta M, Date Y, Mondal MS, Tanaka M, et al. Plasma ghrelin levels in lean and obese humans and the effect of glucose on ghrelin secretion. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 240-244.

21. Tschop M, Smiley DL, Heiman ML. Ghrelin induces adiposity in rodents. *Nature* 2000; 407: 908-913.
22. Hayashida T, Nakahara K, Mondal MS, Date Y, Nakazato M, Kojima M, et al. Ghrelin in neonatal rats: distribution in stomach and its possible role. *J Endocrinol* 2002; 173: 239-245.
23. Cowley MA, Smith RG, Diano S, Tschop M, Pronchuk N, Grove KL, Strasburger CJ, et al. The distribution and mechanism of action of ghrelin in the CNS demonstrates a novel hypothalamic circuit regulating energy homeostasis. *Neuron* 2003; 37: 649-661.
24. Druce M, Bloom SR. The regulation of appetite. *Arch Dis Child* 2006; 91: 183-187.
25. Kojima M, Hosoda H, Date Y, Nakazato M, Matsuo H, Kangawa K. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature* 1999; 402: 656-660.
26. Kaya A. Obez Çocuklarda Plazma Ghrelin Serum IGF-I VE IGFBP-3 Düzeyleri. Uzmanlık tezi, Ankara: Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi; Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı, 2004.
27. Akarsu S, Ustundag B, Gurgoze MK, Sen Y, Aygun AD. Plasma ghrelin levels in various stages of development of iron deficiency anemia. *J Pediatr Hematol Oncol* 2007; 29: 384-387.
28. Drysdale JW, Adelman TG, Arosio P, Casareale D, Fitzpatrick P, Harzard JT, et al. Human isoferritins in normal and disease states. *Semin Hematol* 1977; 14: 71-88.
29. Andrews AT. *Electrophoresis*, 2 nd ed. UK: Clarendon press. 1986; 450-460.
30. Bottema CD, Sommer SS. PCR amplification of specific alleles: rapid detection of known mutations and polymorphisms. *Mutat Res* 1993; 288: 93-102.

31. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular Cloning. A Laboratory Manual*, 2nd Ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor; 1989; 235-246.
32. Wajnrajch MP, Ten IS, Gertner JM, Leibel RL. Genomic organization of human ghrelin gene. *Journal of Medical Genetics* 2000; 231–233.
33. Dossus L, McKay JD, Canzian F, Wilkening S, Rinaldi S, Biessy C, et al. Polymorphisms of genes coding for ghrelin and its receptor in relation to anthropometry, circulating levels of IGF-I and IGFBP-3, and breast cancer risk: a case-control study nested within the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *Carcinogenesis* 2008; 29: 1360-1366.
34. Korbonits M, Gueorguiev M, O'Grady E, Lecoeur C, Swan DC, Mein CA, et al. A variation in the ghrelin gene increases weight and decreases insulin secretion in tall, obese children. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 4005-4008.
35. Mager U, Kolehmainen M, Lindstrom J, Eriksson JG, Valle TT, Hamalainen, H, et al. Association between ghrelin gene variations and blood pressure in subjects with impaired glucose tolerance. *Am J Hypertens* 2006; 19: 920-926.
36. Lee DY, Kim SY, Jo DS, Hwang PH, Kang KP, Lee S, et al. Preproghrelin Leu72Met polymorphism predicts a lower rate of developing renal dysfunction in type 2 diabetic nephropathy. *Eur J Endocrinol* 2006; 155: 187-190.
37. Cook JD, Skikne BS. Iron deficiency: definition and diagnosis. *J Intern Med* 1989; 226: 349-355.
38. Sherwood RA, Pippard MJ, Peters TJ. Iron homeostasis and the assessment of iron status. *Ann Clin Biochem* 1998; 35 (Pt. 6); 693-708.
39. Beard JL, Dawson H, Pinero DJ. Iron metabolism: a comprehensive review. *Nutr Rev* 1996; 54: 295-317.
40. Finch CA, Huebers HA. Iron metabolism, *Clin Physiol Biochem* 1986; 4: 5-10.

41. Gümruk F. Demir metabolizması ve demir eksikliği anemisi. *Katkı Pediatri Dergisi* 1995; 3: 265-272.
42. Brittenham G, Hoffman R, Benz E. Disorders of iron metabolism: Iron deficiency and overload. *Hematology Basic Principles and Practice*. Churchill Livingstone, Inc. 1991; 227-240.
43. Fairbanks V. Iron metabolism. Beutler E, Beutler E. *William's Hematology*. 5th edition. New York. Mc Graw-Hill, 1995; 369-380.
44. Conrad M, Umbreit JA. concise review: Iron absorption -the musin-mobil-ferrin-integrin pathway. A competitive pathway for metal absorption. *Am J Hematol* 1993; 42: 67-73.
45. Umbreit JN, Conrad ME, Moore EG, Latour LF. Iron absorption and cellular transport: the mobilferrin/paraferritin paradigm. *Semin Hematol* 1998; 35: 13-26.
46. Onat T. Vitamin ve mineraller. Onat T, Emerk K (editors). *Temel Biyokimya*. Ankara. Saray Medikal. 1997; 819-824.
47. Prasad AS, Halsted JA, Nadimi M. Syndrome of iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly, hypogonadism, dwarfism and geophagia. *Am J Med* 31, 1961; 532-546.
48. Feldman MD. Pica: current perspectives. *Psychosomatics*. 1986; 27: 519-523.
49. Rose EA, Porcerelli JH, Neale AV. Pica: common but commonly missed. *J Am Board Fam Pract* 2000; 13:353-358.
50. Sayetta RB. Pica: an overview. *Am Fam Physician* 1986; 33:181-185.
51. Parry-Jones B, Parry-Jones WL. Pica: symptom or eating disorder? A historical assessment. *Br J Psychiatry*, 1992; 160:341-354.
52. Lacey EP. Broadening the perspective of pica: literature review, *Public Health Rep* 1990; 105:29-35.

53. Robinson BA, Tolan W, Golding-Beecher O. Childhood pica. Some aspects of the clinical profile in Manchester, Jamaica. *West Indian Med J* 1990; 39: 20-26.
54. Danford DE, Huber AM. Pica among mentally retarded adults. *Am J Ment Defic* 1982; 87: 141-146.
55. Camitta B, The Anemias, Nelson WE, Behrmann RE, Kliegman RM, Arvin AM (editors), *Textbook of Pediatrics*. Philadelphia. WB Saunder, 1996; 1378-1390.
56. Oski F. A diagnostic approach to anemic patient. Brugnara C, Nathan D, Nathan DG, and Orkin SH (editors). *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood*. 5th ed Philadelphia. Saunders, 1998; 375-384.
57. Walters MC, Abelson HT. Interpretation of the complete blood count. *Pediatr Clin North Am* 1996; 43: 599-622.
58. Kinik ST, Tuncer AM, Altay C. Transferrin receptor on peripheral blood lymphocytes in iron deficiency anaemia. *Br J Haematol* 1999; 104: 494-498.
59. Viteri FE. Iron supplementation for the control of iron deficiency in populations at risk. *Nutr Rev* 1997; 55: 195-209.
60. Akarsu S, Taskin E, Yilmaz E, Yilmaz H, Kilic M, Aygun AD. Treatment of iron deficiency anemia with intravenous iron preparations. *Acta Haematol* 2006; 116: 51-57.
61. Surico G, Muggeo P, Muggeo V, Lucarelli A, Martucci T, Daniele M, et al. Parenteral iron supplementation for the treatment of iron deficiency anemia in children. *Ann Hematol* 2002; 81: 154-157.
62. Massey C. Microcytic anemia, Differential diagnosis and management of iron deficiency anemia. *Anemia. Medical Clinics of North America*. Philadelphia. Wheby-Saunders Comp 1992; 76: 649-650.
63. Mc Kee K, Tan C, Palyha O, Liu J, Feighner S, Hreniuk D, et al. Cloning and characterization of two human G protein-coupled receptor genes (GPR38 and

GPR39) related to the growth hormone secretagogue and neurotensin receptors. *Genomics* 1997; 46: 426-434.

64. Gnanapavan S, Kola B, Bustin SA, Morris DG, McGee P, Fairclough P, et al. The tissue distribution of the mRNA of ghrelin and subtypes of its receptor, GHS-R, in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2988-2989.
65. Jeffery PL, Duncan RP, Yeh AH, Jaskolski RA, Hammond DS, Herington AC, et al. Expression of the ghrelin axis in the mouse: an exon 4-deleted mouse proghrelin variant encodes a novel C terminal peptide. *Endocrinology* 2005; 146: 432-440.
66. Casanueva FF, Dieguez C. Ghrelin: the link connecting growth with metabolism and energy homeostasis. *Rev Endocr Metab Disord* 2002; 3:325-338.
67. Hosoda H, Kojima M, Mizushima T, Shimizu S, Kangawa K. Structural divergence of human ghrelin. Identification of multiple ghrelin-derived molecules produced by post-translational processing. *J Biol Chem* 2003; 278: 64-70.
68. Soares JB, Leite-Moreira, AF. Ghrelin, des-acyl ghrelin and obestatin: three pieces of the same puzzle. *Peptides* 2008; 29: 1255-1270.
69. Tang SQ, Jiang QY, Zhang YL, Zhu XT, Shu G, Gao P, et al. Obestatin: its physicochemical characteristics and physiological functions. *Peptides* 2008; 29: 639-645.
70. Akamizu T, Shinomiya T, Irako T, Fukunaga M, Nakai Y, Kangawa K. Separate measurement of plasma levels of acylated and desacyl ghrelin in healthy subjects using a new direct ELISA assay. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 6-9.
71. Iglesias MJ, Salgado A, Pineiro R, Rodino BK, Otero MF, Grigorian L, et al. Lack of effect of the ghrelin gene-derived peptide obestatin on cardiomyocyte viability and metabolism. *J Endocrinol Invest* 2007; 30: 470-476.

72. Burdyga G, Varro A, Dimaline R, Thompson DG, Dockray GJ. Ghrelin receptors in rat and human nodose ganglia: putative role in regulating CB-1 and MCH receptor abundance. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: 1289-1297.
73. Leite-Moreira AF, Soares JB. Physiological, pathological and potential therapeutic roles of ghrelin. *Drug Discov Today* 2007; 12: 276-288.
74. Matsumoto M, Hosoda H, Kitajima Y, Morozumi N, Minamitake Y, Tanaka S, et al. Structure-activity relationship of ghrelin: pharmacological study of ghrelin peptides. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 287: 142-146.
75. Chanoine JP, Wong AC, Barrios V. Obestatin, acylated and total ghrelin concentrations in the perinatal rat pancreas. *Horm Res* 2006; 66: 81-88.
76. Baldanzi G, Filigheddu N, Cutrupi S, Catapano F, Bonisconi S, Fubini A, et al. Ghrelin and des-acyl ghrelin inhibit cell death in cardiomyocytes and endothelial cells through ERK1/2 and PI 3-kinase/AKT. *J Cell Biol* 2002; 159: 1029-1037.
77. Filigheddu N, Gnocchi VF, Coscia M, Cappelli M, Porporato PE, Taulli R, Ghrelin and des-acyl ghrelin promote differentiation and fusion of C2C12 skeletal muscle cells. *Mol Biol Cell* 2007; 18: 986-994.
78. Korbonits M, Ciccarelli E, Ghigo E, Grossman AB. The growth hormone secretagogue receptor. *Growth Horm IGF Res* 1999; 9(Suppl A): 93-99.
79. Poykko S, Ukkola O, Kauma H, Savolainen MJ, Kesaniemi YA. Ghrelin Arg51Gln mutation is a risk factor for Type 2 diabetes and hypertension in a random sample of middle-aged subjects. *Diabetologia* 2003; 46: 455-458.
80. Popovic V, Miljic D, Micic D, Damjanovic S, Arvat E, Ghigo E, et al. Ghrelin main action on the regulation of growth hormone release is exerted at hypothalamic level. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 3450-3453.

81. Ariyasu H, Takaya K, Iwakura H, Hosoda H, Akamizu T, Arai Y, et al. Transgenic mice overexpressing des-acyl ghrelin show small phenotype. *Endocrinology* 2005; 146: 355-364.
82. Wren AM, Small CJ, Ward HL, Murphy KG, Dakin CL, Taheri S, et al. The novel hypothalamic peptide ghrelin stimulates food intake and growth hormone secretion. *Endocrinology* 2000; 141: 4325-4328.
83. Wren AM, Small CJ, Abbott CR, Dhillon WS, Seal LJ, Cohen MA, Ghrelin causes hyperphagia and obesity in rats. *Diabetes* 2001; 50: 2540-2547.
84. Morton GJ, Schwartz MW. The NPY/AgRP neuron and energy homeostasis. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2001; 25 (Suppl 5); 56-62.
85. Rosicka M, Krsek M, Matoulek M, Jarkovska Z, Marek J, Justova V, et al. Serum ghrelin levels in obese patients: the relationship to serum leptin levels and soluble leptin receptors levels. *Physiol Res* 2003; 52: 61-66.
86. Williams DL, Grill HJ, Cummings DE, Kaplan JM. Vagotomy dissociates short- and long-term controls of circulating ghrelin. *Endocrinology* 2003; 144: 5184-5187.
87. Sakurai T. Orexin: a link between energy homeostasis and adaptive behaviour. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2003; 6: 353-360.
88. Asakawa A, Inui A, Kaga T, Yuzuriha H, Nagata T, Ueno N, et al. Ghrelin is an appetite-stimulatory signal from stomach with structural resemblance to motilin. *Gastroenterology* 2001; 120: 337-345.
89. Nagaya N, Kojima M, Uematsu M, Yamagishi M, Hosoda H, Oya H, et al. Hemodynamic and hormonal effects of human ghrelin in healthy volunteers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2001; 280: 1483-1487.
90. Nagaya N, Kangawa K. Ghrelin, a novel growth hormone-releasing peptide, in the treatment of chronic heart failure. *Regul Pept* 2003; 114: 71-77.

91. Broglio F, Arvat E, Benso A, Gottero C, Muccioli G, Papotti M, et al. Ghrelin, a natural GH secretagogue produced by the stomach, induces hyperglycemia and reduces insulin secretion in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 5083-5086.
92. Date Y, Nakazato M, Hashiguchi S, Dezaki K, Mondal MS, Hosoda H, Ghrelin is present in pancreatic alpha-cells of humans and rats and stimulates insulin secretion. *Diabetes* 2002; 51: 124-129.
93. Date Y, Murakami N, Kojima M, Kuroiwa T, Matsukura S, Kangawa K, et al. Central effects of a novel acylated peptide, ghrelin, on growth hormone release in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2000; 275: 477-480.
94. Kaiya H, Darras V, Kangawa K. Ghrelin in Birds: Its structure, distribution and function. *J. Poult. Sci* 2007; 44; 18-22.
95. Aydin S. Proposal for the abbreviation of ghrelin the appetite hormone. *Horm Res* 2006; 66: 206-207.
96. Aydın S. Ghrelin Hormonunun Keşfi: Araştırmaları ve Klinik Uygulamaları. *Türk Biyokimya Dergisi* 2007; 32: 82-95.
97. Beck B, Richy S, Stricker-Krongrad A. Feeding response to ghrelin agonist and antagonist in lean and obese Zucker rats. *Life Sci* 2004; 76: 473-478.
98. Date Y, Murakami N, Toshinai K, Matsukura S, Niiijima A, Matsuo H, et al. The role of the gastric afferent vagal nerve in ghrelin-induced feeding and growth hormone secretion in rats. *Gastroenterology* 2002; 123: 1120-1128.
99. Berilgen MS, Mungen B, Ustundag B, Demir C. Serum ghrelin levels are enhanced in patients with epilepsy. *Seizure* 2006; 15: 106-111.
100. Isguven P, Arslanoglu I, Erol M, Yildiz M, Adal E, Erguven M. Serum levels of ghrelin, leptin, IGF-I, IGFBP-3, insulin, thyroid hormones and cortisol in prepubertal children with iron deficiency. *Endocr J* 2007; 54: 985-990.

101. Steinle NI, Pollin TI, O'Connell JR, Mitchell BD, Shuldiner AR. Variants in the ghrelin gene are associated with metabolic syndrome in the Old Order Amish. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 6672-6677.
102. Tanaka M, Nakahara T, Kojima S, Nakano T, Muranaga T, Nagai N, et al. Effect of nutritional rehabilitation on circulating ghrelin and growth hormone levels in patients with anorexia nervosa. *Regul Pept* 2004; 122: 163-168.
103. Kasar T. Demir eksikliği anemisi ve tedavisinin girelin, obestatin ve ısı şok proteini 70 üzerine etkisi. *Uzmanlık Tezi, Elazığ: Fırat Üniversitesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı*, 2010.
104. Cavalli-Sforza LL, Menozzi P, and Piazza A. *The History and Geography of Human Genes*, Princeton University Press 1994; 11-125.
105. Oraler GI. *Temel Genetik*. 8. Basım, İ.Ü. Fen Fakültesi, İstanbul, 1990; 215: 51-249.
106. Beutler E, Van Geet C, Loo DM, Gelbart T, Crain K, Truksa J, Lee PL. Polymorphisms and mutations of human TMPRSS6 in iron deficiency anemia. *Blood Cells Mol Dis* 44, 2010;16-21.
107. Parajes S, Gonzalez-Quintela A, Campos J, Quinteiro C, Dominguez F, Loidi, L. Genetic study of the hepcidin gene (HAMP) promoter and functional analysis of the c.-582A > G variant, *BMC Genet* 11, 2010;110-111.
108. Terada CT, Santos PC, Cancado RD, Rostelato S, Lopreato FR, Chiattonne CS, and Guerra-Shinohara EM. Iron deficiency and frequency of HFE C282Y gene mutation in Brazilian blood donors, *Transfus Med* 19, 2009;245-251.
109. Delbini P, Vaja V, Graziadei G, Duca L, Nava I, Refaldi C, Cappellini MD. Genetic variability of TMPRSS6 and its association with iron deficiency anaemia, *Br J Haematol* 151, 2010;281-284.
110. Yi CX, Heppner K, Tschop MH. Ghrelin in Eating Disorders, *Mol Cell Endocrinol* 2011; 2-7.

111. Isgaard J, Granata R. Ghrelin in cardiovascular disease and atherogenesis. *Mol Cell Endocrinol* 2011; 1-6.
112. Jeffery P, McDonald V, Tippett E, McGuckin M. Ghrelin in Gastrointestinal Disease. *Mol Cell Endocrinol* 2011; 3-8.
113. Monteleone P, Tortorella A, Castaldo E, Di Filippo C, Maj M. The Leu72Met polymorphism of the ghrelin gene is significantly associated with binge eating disorder. *Psychiatr Genet* 2007; 17: 13-16.
114. Miyasaka K, Hosoya H, Sekime A, Ohta M, Amono H, Matsushita S, et al. Association of ghrelin receptor gene polymorphism with bulimia nervosa in a Japanese population. *J Neural Transm* 2006; 113: 1279-1285.
115. Monteleone P, Tortorella A, Castaldo E, Di Filippo C, Maj M. No association of the Arg51Gln and Leu72Met polymorphisms of the ghrelin gene with anorexia nervosa or bulimia nervosa. *Neurosci Lett* 2006; 398: 325-327.
116. Zou CC, Huang K, Liang L, Zhao ZY. Polymorphisms of the ghrelin/obestatin gene and ghrelin levels in Chinese children with short stature. *Clin Endocrinol* 2008; 69: 99-104.
117. Vivenza D, Rapa A, Castellino N, Bellone S, Petri A, Vacca G, et al. Ghrelin gene polymorphisms and ghrelin, insulin, IGF-I, leptin and anthropometric data in children and adolescents. *Eur J Endocrinol* 2004; 151: 127-133.
118. Garcia EA, Heude B, Petry CJ, Gueorguiev M, Hassan-Smith ZK, Spanou A, et al. Ghrelin receptor gene polymorphisms and body size in children and adults. *J Clin Endocrinol Metab* 2008; 93: 4158-4161.
119. Larsen LH, Gjesing AP, Sorensen TI, Hamid YH, Echwald SM, Toubro S, et al. Mutation analysis of the preproghrelin gene: no association with obesity and type 2 diabetes. *Clin Biochem* 2005; 38: 420-424.

- 120.** Ukkola O, Ravussin E, Jacobson P, Perusse L, Rankinen T, Tschop M, et al. Role of ghrelin polymorphisms in obesity based on three different studies. *Obes Res* 2002; 10: 782-791.
- 121.** Miraglia GE, Santoro N, Cirillo G, Raimondo P, Grandone A, D'Aniello A, et al. Molecular screening of the ghrelin gene in Italian obese children: the Leu72Met variant is associated with an earlier onset of obesity. *Int J Obes Relat Metab Disord* 2004; 28: 447-450.
- 122.** Cavdar AO, Arcasoy A. Hematologic and biochemical studies of Turkish children with pica. A presumptive explanation for the syndrome of geophagia, iron deficiency anemia, hepatosplenomegaly and hypogonadism. *Clin Pediatr (Phila)* 1972; 11: 215-223.
- 123.** Arcasoy A. Türkiye'de geophagia (toprak yeme alışkanlığı). Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara, 1994; sayfa 1-50.

EKLER

EK-1: Bilgilendirilmiş Onay Formu

(Hekimin Açıklaması)

Demir eksikliği anemisi teşhisi alan çocuklarda girelin geninin polimorfizmi varlığı araştırılacaktır. Polimorfizm bir gen veya DNA dizisinin(genetik kodlamaların) alternatif formlarından(allel) birinin toplumda %1'den fazla bulunduğu durumdur. Araştırma sonucu genetik olarak polimorfizmin olduğu hastalarda hastalığın nedeni ile ilgili bir bilgi elde edilmiş olacak

Araştırmanın ismi: Demir eksikliği anemisi tanılı olgularda girelin geninin polimorfizmi

Sizin de bu araştırmaya katılmanızı öneriyoruz. Ancak hemen söyleyelim ki bu araştırmaya katılıp katılmamakta serbestsiniz. Çalışmaya katılım gönüllülük esasına dayalıdır. Kararınızdan önce araştırma hakkında sizi bilgilendirmek istiyoruz. Bu bilgileri okuyup anladıktan sonra araştırmaya katılmak isterseniz formu imzalayınız.

Araştırmaya davet edilmenizin nedeni çocuğunuzda demir eksikliği anemisi tanısının bulunmasıdır. F.Ü. Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı ve Biyokimya Anabilim Dalı'nın ortak katılımı ile bu hastalığın tedavisi ve yapılan tedavinin rutin kan tahlilleri ile takibi yapılacaktır. Anemi (Kansızlık) hemoglobin miktarının yaş ve cinsiyete göre dünya sağlık örgütü tarafından kabul edilen kriterlerin altında kalmasıdır. Bu kriterler erişkin erkeklerde 13 g/dL, kadınlarda 12 g/dL nin altı kabul edilir. 6 ay ile 6 yaş arası çocuklarda 11 g/dL nin, 6-14 yaşlarda 12 g/dL nin altı anemidir. Sizin çocuğunuz için etkin olacak tedavi şekli doktorunuz tarafından belirlenecektir. Çocuğunuzla birlikte tam 75 çocuğun tedavisi benzer testler yapılarak tarafımızdan gerçekleştirilecektir.

Kan alınması sırasında oluşabilecek riskler:

1-) İğne batmasına bağlı olarak az bir acı duyabilirsiniz.

2-) Az bir ihtimal de olsa iğne batması sonrasında kanamanın uzaması veya enfeksiyon riski vardır.

Farklı tedavi şekilleri ile oluşabilecek riskler: Oral kullanımda bulantı, kusma, mide ağrısı, ishal görülebilir. Kas içi kullanımda ise zerk yerinde ağrı,

iltihaplanma, hafif solunum güçlüğü ve göğüs ağrısı olabilir. Damar içi zerklerde ise aşırı kusmalar, terleme, sırt ve göğüs ağrılarının olması kullanımında dezavantaj oluşturmaktadır. Diğer görülebilecek basit yan etkiler çocuğunuza uygulanacak tedavinin gerekliliği açısından gözardı edilecektir.

Yukarıda sayılanlar böylesi bir analizde yaşanabilecek potansiyel risklerdir. Ancak bunlardan en az oranda zarar görmenizi sağlamak için elimizden geleni yapacağız. Çalışmanın devamı sırasında ortaya çıkabilecek sorun ve riskler katılımcının/hastanın kendisine ya da ebeveyni/sorumlusuna iletilecektir.

Yapılacak araştırmanın getireceği olası yararlar: Bu çalışma sonucunda çocuğunuzun anemisi düzeltilmiş olacaktır. Ayrıca anemiye bağlı yorgunluk, iştahsızlık, solukluk baş ağrısı en önemliside öğrenme güçlüğü gibi oluşabilecek etkilerden çocuğunuz korunmuş olacaktır.

Eğer araştırmaya katılmayı kabul ederseniz Dr.Erhan BAHADIR tarafından çocuğunuzun demir eksikliği anemisi hastalığına yönelik tedavisi yapılacak ve aralıklı yapılacak kontrollerde alınacak rutin kan tahlilleri ile yapılan tedavinin takibi gerçekleştirilecek ve kayıt tutulacaktır.

. Çocuğunuza demir eksikliği anemisi tanısı poliklinik şartlarında konduktan sonra uygulanacak tedavi şekli doktorunuz tarafından belirlenip tedavi başlatılacaktır. Çocuğunuzu daha sonra 1hafta sonra 1.ay, 2.ay ve 3.ay kontrole getirmeniz istenecektir. Çocuğunuzdan tedavinin etkinliğinin kontrol ve takibini yapabilmek amacıyla rutin zaten bakılması gereken kan tahlili alınacak ve bu alınacak kandan aynı zamanda total antioksidan kapasite’de bakılacaktır.

Bu çalışmaya katılmanız için sizden herhangi bir ücret istenmeyecektir. Çalışmaya katıldığınız için size ek bir ödeme de yapılmayacaktır.

Bu çalışmaya katılmayı reddedebilirsiniz. Bu araştırmaya katılmak tamamen isteğe bağlıdır ve reddettiğiniz takdirde size uygulanan tedavide herhangi bir değişiklik olmayacaktır. Yine çalışmanın herhangi bir aşamasında onayınızı çekmek hakkına da sahiptir.

(Katılımcının/Hastanın Beyanı)

Sayın Dr. Erhan BAHADIR tarafından F.Ü. Fırat Tıp Merkezi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Çocuk Hematoloji’de tıbbi bir araştırma yapılacağı belirtilerek bu

araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” (denek) olarak davet edildim.

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında da büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımını sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağına bilincindeyim) Ayrıca tıbbi durumuma herhangi bir zarar verilmemesi koşuluyla araştırmacı tarafından araştırma dışı tutulabilirim.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana da bir ödeme yapılmayacaktır.

İster doğrudan, ister dolaylı olsun araştırma uygulamasından kaynaklanan nedenlerle meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Araştırma sırasında bir sağlık sorunu ile karşılaştığımda; herhangi bir saatte, Dr Erhan BAHADIR’ı, 23335555-2311 ve F.Ü Tıp Fakóltesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları’ndan arayabileceğimi biliyorum.

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Eğer katılmayı reddedersem, bu durumun tıbbi bakımına ve hekim ile olan ilişkime herhangi bir zarar getirmeyeceğini de biliyorum.

Bana yapılan tüm açıklamaları ayrıntılıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” (denek) olarak yer alma kararımı aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

İmzalı bu form kağdının bir kopyası bana verilecektir.

Katılımcı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel.

İmza

Görüşme tanığı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel.

İmza:

Katılımcı ile görüşen hekim

Adı soyadı, unvanı:

Adres:

Tel.

İmza

Ayırt etme yeteneği söz konusu olan hastanın kendisinin rızası alınacaktır.

Hastanın

Adı, soyadı:

Adres:

Tel.

İmza

ARAŞTIRMA/CILARA AYDINLATILMIŞ ONAM ALIMIYLA İLGİLİ ÖNERİLER

İnsanlar üzerinde uygulanacak bir araştırma projesinde yer almaya aday kişilerle daha önce karşılıklı, görüşülüp onların araştırmaya davet edilmesi gerekir. Kişilerin, araştırmada “**katılımcı**” (denek) olarak yer alabilmesi için bu görüşme sonunda imzalı “**Aydınlatılmış Onam**” larını vermiş olmaları zorunludur. “Aydınlatılmış onam”, İngilizce’deki “informed consent” ifadesinin Türkçe karşılığı olarak kullanılmaktadır. “Bilgilendirilmiş Onam”, “Bilgilendirilmiş Onay”, “Aydınlatılmış Olur”, “Bilgilendirilmiş Rıza” gibi Türkçe ifadeler de aynı kavramsal karşılığı denk gelmektedir. Aydınlatılmış Onam Formu iki bölümden oluşmaktadır. Birinci bölümde sorumlu araştırmacının katılımcıyı/hastayı bilgilendirmesi yer alırken, ikinci bölümde katılımcının/hastanın yanıtı/beyanı yer alacaktır. Aşağıdaki ikinci kısma ait örnek özel durumlar dışında standart olarak kullanılabilir.

Katılımcının **aydınlatılması** sırasında şu noktalara dikkat edilmelidir.

1. Araştırmaya yer almaya aday katılımcıya gerekli açıklamalarda bulunurken onun anlayabileceği ifadeler kullanın.

2. Araştırma ile ilgili şu yönlerde açıklık getirin:

a) Adını

b) Ne tür bir araştırma olduğunu

c) Amacını

d) Neler uygulanacağını

e) Nasıl uygulanacağını

f) Hangi yöntem/lerle gerçekleştirileceğini

g) Çıkabilecek yan etkilerini

h) Bilinen risk-tehlikeli noktalarını

ı) Ortaya çıkan yan etki ve risklerin tedavi edilebilirliğini

j) Yararlarını, tıbbi katkılarını

k) Araştırma süresini

l) Yaklaşık katılımcı sayısını (Çok merkezli ise kurum ve toplam katılımcı sayısını)

3. Katılımcı hastaya, araştırma yöntemi dışında hangi alternatif tedavilerin bulunduğunu; bu tedavilerin neler olduğunu açıklayınız.

4. Katılımcının elde edeceği tıbbi yararları açıklayınız
5. Katılımcıyı koruyucu nitelikte hangi önlemlerin alındığını açıklayınız
6. Katılımcıya çalışmaya katılmakla parasal yük altına girmeyeceğini ve katılımı nedeniyle tazminat alıp almayacağını açıklayınız.
7. Araştırmadan dolayı katılımcının göreceği olası bir zararda bunun sorumluluğunun ve giderilmesi için gerekli her türlü tıbbi müdahalenin yapılacağını; bu konudaki tüm harcamaların üstlenileceğini belirtiniz. Sigortalanma durumundan haberdar ediniz.
8. Katılımcının araştırma ile ilgili soracağı tüm sorulara yanıt veriniz
9. Plasebo-Randomize gibi çalışma özelliklerini açıklayınız.
10. Araştırma ekibinin kimlikleri hakkında bilgi veriniz.
11. Hastayı yönlendirici ya da baskılayıcı olmayınız.
12. Görüşme katılımcı açısından son derece bilgilendirici ve tatmin edici düzeyde olmasını sağlayınız.
13. Eğer hasta 18 yaşından küçükse veli/vasi için imza yeri açınız.
14. Forma sorumlu doktorun adı-soyadı ve ulaşılabilir telefon numarasını mutlaka yazınız.
15. Katılımcının araştırmaya katılmama ve önceden haberdar ederek çalışmadan çekilme hakkı olduğunu önemle belirtiniz.

Birinci bölüm: Bu bölümde hasta/katılımcı bilgilendirilirken kullanılacak cümleler yer alacaktır.

İkinci bölüm: (Katılımcının/Hastanın Beyanı)

Katılımcı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel.

İmza

Görüşme tanığı

Adı, soyadı:

Adres:

Tel.

İmza:

Katılımcı ile görüşen hekim

Adı soyadı, unvanı:

Adres:

Tel.

İmza

Araştırmacının Dikkatine:

Aydınlatılmış Onam (Bilgilendirilmiş Olur) alırken söz konusu olan; hazır metnin hastaya imzalatılması değil, bu çerçevede hekim ile hasta arasında geçen konuşmanın yazıya dökülmesi işlemidir.

Katılımcıyı aydınlatma amacıyla yapacağınız açıklamalar;

1- Yukarıdaki konulara yanıt getirebilecek şekilde olmalıdır

2- Aydınlatılmış onam formunun standart bölümündeki tespitlere yanıt getirebilecek şekilde olmalıdır

3- Helsinki Bildirgesi'nde yer alan ilkelere uygun şekilde olmalıdır

4- Sağlık Bakanlığı İyi Klinik Uygulamalar Klavuzu' na uygun şekilde olmalıdır

5- Araştırma konusuyla ilgili olası başka açıklamaları unutmayınız

Araştırma protokolu ile ilgili olarak tıp etiği açısından en önemli unsurların başında "Aydınlatılmış Onam" (informed consent) olduğunu unutmayınız.

AYDINLATMA VE KATILIMCININ BEYANI KESİNLİKLE BİRBİRLERİNİN DEVAMI ŞEKLİNDE OLA/CAKTIR. AYRI AYRI SAYFALARDA YER ALMAYA/CAKTIR.

ÖZGEÇMİŞ

27.06.1978 Gaziantep'te doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Gaziantep'te tamamladım. 1997'da Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesinde tıp eğitimime başladım. 01.07.2004'de mezun oldum. 01.11.06 tarihinde Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalında araştırma görevlisi olarak göreve başladım. Halen aynı görevde devam etmekteyim. Evliyim ve bir çocuk babasıyım. Yabancı dilim ileri düzeyde İngilizce ve orta düzeyde Almanca'dır.