



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

**HEPSİDİN VE LAKTOFERRİNİN ANNE SÜTÜNE GEÇEN
DEMİR DÜZEYİ ÜZERİNE ETKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Adem DURSUN

KAYSERİ-2014



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

**HEPSİDİN VE LAKTOFERRİNİN ANNE SÜTÜNE GEÇEN
DEMİR DÜZEYİ ÜZERİNE ETKİSİ**

TIPTA UZMANLIK TEZİ

Dr. Adem DURSUN

Danışman
Prof. Dr. Mehmet Akif ÖZDEMİR

KAYSERİ – 2014

TEŞEKKÜR

Tezimin hazırlanmasının her aşamasında bana yol gösteren, bilgi ve deneyimlerini aktaran kıymetli hocam, tez danışmanım sayın Prof. Dr. Mehmet Akif Özdemir'e gösterdiği anlayışlı tavırdan dolayı teşekkürü borç bilirim.

Anabilim Dalı Başkanımız sayın Prof.Dr. Tamer Güneş'in şahsında tüm Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı öğretim üyelerine ve her zaman beraber çalışmaktan mutluluk duyduğum asistan arkadaşlarıma şükranlarımı sunarım.

İhtisasım esnasında tanışmış olmakla kendimi çok şanlı hissettiğim sevgili dostlarım Dr. Alper Özcan'a, Dr. Hamit Acer'e, Dr İbrahim Yılmaz'a ve Dr. Süleyman Sunkak'a, ayrıca tezimin istatistikleri aşamasında üstün özverisinden dolayı Yrd. Doç. Dr. Ferhan Elmalı'ya teşekkür ederim.

Numunelerin toplanması aşamasında beni yalnız bırakmayan başta Nazmiye Hemşire Hanım olmak üzere tüm Çocuk Acil personeline, ayrıca Yenidoğan Bilim Dalı Başkanımız sayın Prof.Dr. Adnan Öztürk'ün şahsında, asistanlık dönemim boyunca çalışmaktan her zaman mutluluk duyduğum, ihtisasımın en zor dönemlerinde yardımlarını benden esirgemeyen Yenidoğan Servisinin tüm çalışanlarına şükranlarımı sunarım.

Beni bugünlere getiren ve hiçbir fedakarlıktan kaçınmayan canım babama, canım anneme ve her zaman yanımda olan sevgili eşim Dr. Zehra Dursun'a, biricik oğlum Ömer Eymen'e teşekkür ederim

Dr. Adem Dursun

İÇİNDEKİLER

| | |
|-------------------------------------------------------------------------|-----|
| TEŞEKKÜR | i |
| İÇİNDEKİLER | ii |
| KISALTMALAR | iv |
| TABLolar LİSTESİ..... | v |
| ŞEKİLLER LİSTESİ..... | vi |
| ÖZET..... | vii |
| ABSTRACT | ix |
| 1. GİRİŞ ve AMAÇ | 1 |
| 2. GENEL BİLGİLER | 3 |
| 2.1. Anne Sütünün Mineral İçeriği | 3 |
| 2.1.1. Anne Sütünün Demir İçeriği..... | 4 |
| 2.1.2. Meme Dokusunda Demir Metabolizması..... | 4 |
| 2.1.3 Laktoferrinin Meme Dokusunda Demir Metabolizmasında ki rolü | 6 |
| 2.2. Demir Metabolizması | 7 |
| 2.2.1. Demirin Dolaşımı | 9 |
| 2.2.2. Demirin Depo Edilmesi | 11 |
| 2.3. Demir Dengesinde Hepsidinin Rolü..... | 11 |
| 3. GEREÇ VE YÖNTEM | 13 |
| 3.1. Çalışma Grubunun Seçimi ve Numunelerin Toplanması..... | 13 |
| 3.2 Tam Kan Sayımı, Demir ve Ferritin Analizlerinin Yapılması | 13 |
| 3.3. Hepsidin Analizi..... | 14 |
| 3.4. Anne sütünde demir analizi | 14 |
| 3.5. Anne sütünde laktoferrin analizi | 15 |
| 3.6. İstatistiksel Analizler | 15 |
| 4. BULGULAR | 16 |
| 4.1 Çalışma Grubunun Laboratuar Bulgularının Değerlendirilmesi | 16 |

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 4.2. Çalışma Grubunun Hemoglobin, Serum Demir ve Ferritin Düzeylerine Göre Gruplandırılıp Değerlendirilmesi | 16 |
| 4.3. Hemoglobin, Serum Demiri ve Ferritin Düzeyleri ile Anne Sütü Demir Konsantrasyonu Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi | 17 |
| 4.4. Hepsidin ve Laktoferrin Düzeyleri İle Anne Sütü Demir Konsantrasyonu Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi | 19 |
| 4.5. Hepsidin ile Hemoglobin, Ferritin ve Demir Düzeyleri Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi | 20 |
| 4.6. Hemoglobin, Serum Demir ve Ferritin Düzeyi ile Süt Laktoferrin Düzeyi Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi | 21 |
| 4.7. Çalışma Grubunun Hemoglobin Düzeylerine Göre Gruplara Ayrılması ve Grupların Süt Demir, Hepsidin ve Laktoferrin Düzeylerinin Karşılaştırılması | 22 |
| 4.8. Demir düzeylerine göre grupların süt demir, hepsidin ve laktoferrin düzeylerinin karşılaştırılması | 23 |
| 4.9. Ferritin Düzeylerine Göre Grupların Süt Demir, Hepsidin ve Laktoferrin Düzeylerinin Karşılaştırılması..... | 23 |
| 4.10. Annelerin Hepsidin Seviyelerine Göre Gruplandırılıp Değerlendirilmesi..... | 24 |
| 4.11. Annelerin Laktoferrin Seviyelerine Göre Gruplandırılıp Değerlendirilmesi. | 25 |
| 5. TARTIŞMA | 27 |
| KAYNAKLAR | 35 |
| TEZ ONAY SAYFASI..... | 42 |

KISALTMALAR

| | |
|----------------|----------------------------------------|
| Co | : Kobalt |
| Ctr | : Copper transporter 1 |
| Cu | : Bakır |
| DCYTB | : Sitokrom β benzeri ferredüktaz |
| DEA | : Demir eksikliği anemisi |
| DMT1 | : Divalan metal iyon transporter 1 |
| ER | : Endoplazmik retikulum |
| Fe | : Demir |
| HOLO-TF | : Diferrik transferin |
| IRE | : Iron Responsive Elements |
| IRP | : Iron Responsive Protein |
| Lf | : Laktoferrin |
| Mn | : Manganez |
| Tf | : Transferin |
| TfRs | : Selüler transferrin reseptörü |
| Zn | : Çinko |

TABLULAR LİSTESİ

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tablo 1. Mikrodalga cihazın uygun sıcaklık ve basınç parametreleri..... | 14 |
| Tablo 2. Annelerin laboratuvar bulgularının medyan değerleri ve 25-75 percentilleri | 16 |
| Tablo 3. Hemoglobin, serum demir ve ferritin değerleri normal ve düşük grubu teşkil eden annelerin sayısı ve oranları..... | 17 |
| Tablo 4. Hemoglobin düzeylerine göre grupların süt demir, hepsidin ve laktoferrin düzeylerinin değerlendirilmesi..... | 22 |
| Tablo 5. Demir düzeylerine göre grupların süt demir, hepsidin ve laktoferrin düzeylerinin karşılaştırılması | 23 |
| Tablo 6. Ferritin düzeylerine göre grupların süt demir, hepsidin ve laktoferrin düzeylerinin karşılaştırılması | 24 |
| Tablo 7. Hepsidin düzeylerine göre grupların istatistiksel olarak değerlendirilmesi . | 25 |
| Tablo 8. Laktoferrin düzeylerine göre grupların istatistiksel olarak değerlendirilmesi | 26 |
| Tablo 9. Çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalardaki anne sütlerinin demir konsantrasyonları | 28 |

ŞEKİLLER LİSTESİ

| | | |
|------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 1. | Meme dokusunda demir transferi..... | 6 |
| Şekil 2. | Doudenal demir transferi..... | 10 |
| Şekil 3. | Transferin Siklusu | 10 |
| Şekil 4. | Plazma hepsidin düzeyinin demir düzeyi, hipoksi ve enfeksiyonla düzenlenmesi..... | 12 |
| Şekil 5. | Anne hemoglobin düzeyi ile süt demir konsantrasyonu arasında ki ilişkinin gösterilmesi | 18 |
| Şekil 6. | Anne serum demir düzeyi ile süt demir konsantrasyonu arasında ki ilişkinin gösterilmesi | 18 |
| Şekil 7. | Anne ferritin düzeyi ile süt demir konsantrasyonu arasında ki ilişkinin gösterilmesi | 19 |
| Şekil 8. | Hepsidin düzeyi ile süt demir konsantrasyonu arasında ki pozitif korelasyonun gösterilmesi..... | 20 |
| Şekil 9. | Hepsidin düzeyi ile serum demiri arasında ki negatif korelasyonun gösterilmesi | 21 |
| Şekil 10. | Laktoferrin ile ferritin arasında ki pozitif korelasyonun gösterilmesi..... | 22 |
| Şekil 11. | Hepsidin düzeylerine göre grupların süt demir konsantrasyonlarının gösterilmesi | 25 |

HEPSİDİN VE LAKTOFERRİNİN ANNE SÜTÜNE GEÇEN DEMİR DÜZEYİ ÜZERİNE ETKİSİ

ÖZET

Amaç: Demir tüm canlıların büyüme ve gelişmesi için son derece önemli olan bir elementtir. Özellikle ilk 6 aylık dönemde infantlar için tek demir kaynağı anne sütü olduğundan anne sütünün demir konsantrasyonu ve buna etki eden faktörleri belirlemek önemlidir. Bu çalışmada annenin demir durumunun, hepsidin düzeyinin ve anne sütündeki laktoferrinin anne sütüne geçen demir miktarı üzerine etkisi araştırılmıştır.

Materyal–Metod: Bu çalışma Mayıs 2013 Kasım 2013 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastanesine başvuran bebeklerin annelerinden süt ve kan örnekleri alınarak yapıldı. Çalışmada herhangi bir sağlık problemi olmayan, yaşları 18 ile 36 arasında değişen, laktasyonun 15. gün ile 18. ay arasında olan ve matür bebek doğuran toplam 240 anneden, 08.00-12.00 saatleri arasında süt ve kan numuneleri alındı.

Bulgular: Çalışma grubu hemoglobin, serum demir ve ferritin düzeylerinin normal ve düşük oluşuna göre alt gruplara ayrıldı. Annelerin 194 ünün (%80.8) hemoglobin değeri normal, 46 sının (%19.2) düşük bulundu. Serum demir düzeyine göre sınıflandırıldığında 170 annenin (% 70.8) demir düzeyininin normal, 70 annenin (% 29.2) düşük olduğu tespit edildi. Ferritin düzeylerine göre değerlendirildiğinde 140 annenin (% 58.3) ferritin düzeyinin normal,100 annenin (% 41.7) ferritin düzeyinin düşük olduğu görüldü. Hemoglobin, serum demir ve ferritin ile anne sütü demir konsantrasyonu arasında bir ilişki görülmedi. Hepsidin ile anne sütü demiri arasında pozitif bir korelasyonun olduğu dikkat çekti. Hemoglobin, serum demir ve ferritin düzeylerine göre ayrılan grupların anne sütü demir konsantrasyonları benzer bulundu. Hepsidin düzeyi yüksek olan grubun anne sütü demir konsantrasyonunun daha yüksek olduğu tespit edildi. Süt laktoferrin düzeyi ile süt demiri arasında bir ilişki görülmedi. Laktoferrin düzeyi yüksek ve düşük gruplar arasında süt demir konsantrasyonu açısından fark olmadığı tespit edildi.

Sonuç: Annenin demir durumu anne sütüne geçen demir ve laktoferrin düzeyini etkilemez. Hepsidin yalnızca intestinal demir emiliminde değil aynı zamanda meme

dokusunda da demir regülasyonundan sorumlu olan ve süte demir geçişinde etkili olan bir hormondur

Anahtar Kelimeler: Anne sütü, hepsidin, laktoferrin, demir

EFFECTS OF HEPCIDIN AND LACTOFERRIN ON THE LEVEL OF IRON TRANSFERRED TO BREAST MILK

ABSTRACT

Objective: Iron is an element that is highly crucial for the growth and evolution of all living things. As breast milk is the sole source of iron for the infants particularly through the first 6 months of life, the iron concentration of breast milk and factors having effect on it are important to be identified. In this study, the iron status of the mother, the level of hepcidin and the level of lactoferrin present in (mothers') breast milk have been explored as for their effects on the level of iron transferred to the breast milk.

Materials – Method: This study was conducted with the milk and blood samples taken from the mothers of the babies applying Children's Hospital of Erciyes University Faculty of Medicine between May 2013 and November 2013. During the study, from 08:00 a.m to 12:00 a.m, milk and blood samples were taken from a total of 240 mothers; having no health problems, ranging between 18-36 years of age, having given birth to mature babies and who were between the 15. day and 18. month of lactation.

Results: The study population was grouped according to the normal or low levels of hemoglobin, serum iron and ferritin. The hemoglobin level for 194 (80.8%) of the mothers was found to be normal while it was found to be low for the remaining 46 (19.2%) of them. When classified according to the serum iron level; for 170 (70.8%) of the mothers, the level of iron was found to be normal while it was found to be low for 70 (29.2%) of the mothers. When assessed concerning the Ferritin levels, for 140 (58.3%) of the mothers the ferritin level was normal and it was low for the remaining 100 (41.7%) of the mothers. No relation between the concentration of iron in the breast milk and the level of hemoglobin, serum iron or ferritin was identified. There was a positive correlation between hepcidin and breast milk iron level, attracting attention. The breast milk iron concentrations of the groups formed according to the hemoglobin, serum iron and ferritin levels were found to be similar. For the group having higher levels of Hepcidin, the breast milk iron concentration was also found to be higher. No correlation between the concentration of lactoferrin in the breast milk and the level of

iron in the braestmilk was identified. The breast milk iron concentrations of the groups formed according to the lactoferrin levels were found to be similar.

Conclusion: The iron status of the mother have no influence on the levels iron and lactoferrin transferred to the breastmilk. Hepcidin is the hormone, responsible not only for the intestinal absorption of iron but also for the regulation of iron in the mammary gland and it is influential for the transfer of iron to breast milk.

Keywords: Breast milk, hepcidin, lactoferrin, iron

1. GİRİŞ ve AMAÇ

Demir tüm canlıların büyüme ve gelişmesi için son derece önemli olan ve uzun yıllardan bu yana biyolojik önemi bilinen bir elementtir. Son yıllarda hücresel düzeyde yeni proteinlerin keşfi ile demir metabolizmasının moleküler kontrolü, emilimi, depolanma ve organizmadaki demir döngüsünün moleküler yolları ile ilgili çok büyük değişiklikler ve ilerlemeler olmuştur.

Son on yılda keşfedilen hepsidin, demir metabolizmasını düzenleyen temel hormondur. Hepsidin organizmada demir dengesini sağlayan, karaciğerde hepatositlerde sentezlenen bir antimikrobial proteindir. Hepsidin, transmembran yerleşimli bir protein olan ferroportin ile etkileşime geçerek hücresel demir salınımını düzenlemektedir. Demir depoları yeterli ve yüksek olduğunda, karaciğer hepsidin üretimini arttırır. Böylece ince barsakta demiri enterositlerden plazmaya taşıyan yolu bloke eder. Hipoksi ve demir depolarının düşük olduğu anemide ise, hepsidin üretimi azalır (1).

Laktoferrin demir bağlayan ve serumda demir transportu sağlayan bir proteindir. Anne sütü alan bebeklerde mama alanlara göre çok daha az demir eksikliği geliştiği gösterilmiş ve bu etkide laktoferrinin de rol aldığı çeşitli organizmalardaki enterositlerde laktoferrin reseptörlerinin keşfedilmesi ile desteklenmiştir (2,3). Her bir laktoferrin molekülü iki adet demir bağlama kapasitesine sahiptir (23). Laktoferrin yalnızca demir değil; çinko, bakır ve mangan gibi diğer eser elementleri de bağlayabilir (4).

Yeryüzünde infantlar için anne sütünden daha üstün bir besin bulunmamaktadır. Özellikle ilk 6 aylık dönemde benzersiz içeriği ile infantların tüm ihtiyaçlarını karşılar. Bu nedenle anne sütünün içeriği üzerine yapılmış çalışmalara her geçen gün bir yenisi

eklenmektedir. Demir gibi hayati öneme sahip bir element için tek besin kaynağı anne sütü olduğundan bebeklerin anne sütünün demir konsantrasyonu ve buna etki eden faktörleri belirlemek önemlidir.

Bu çalışmada annenin demir durumunun, hepsidin düzeyinin ve anne sütündeki laktoferrinin anne sütüne geçen demir miktarı üzerine etkisi araştırılmıştır

2. GENEL BİLGİLER

Demir infantların büyüme ve gelişmesinde son derece önemli bir role sahip olan bir elementlerdir (5). Yaşadığımız çevrede en fazla bulunan elementlerden bir tanesi olmasına rağmen, demir eksikliği en sık karşılaşılan nutrisyonel problemlerden birisi olarak karşımızda durmaktadır. Tüm dünyada görülen anemi nedenleri arasında demir eksikliği anemisi ilk sırayı almaktadır. Demir eksikliği anemisi tüm yaş gruplarında görülmekle birlikte özellikle 6-24 aylar arasındaki çocuklarda sıklığı artar. Demir eksikliği daha çok gelişmekte olan ülkelerde görülen, büyüme geriliği, psikomotor gerilik ve immün fonksiyonlarda bozulmaya sebep olan önemli bir halk sağlığı sorunudur (6).

Sağlıklı yaşamın temellerinin atılması bebeğin anne sütü ile beslenmesi ile başlar. Anne sütü bebeğin fizyolojik ve psikososyal gereksinimlerine göre ayarlanmıştır. Bebekler ilk 6 ay sadece anne sütü ile beslenmeli, altıncı aydan sonra ek besinlerle birlikte anne sütü ile beslenme iki yaşın sonuna kadar sürdürülmelidir (7). Özellikle ilk 4-6 aylık dönemde anne sütü ile beslenen infantlarda demir eksikliğine nadiren rastlanır. Bu durum anne sütü içeriğinin bebeğin ihtiyacını karşılayacak düzeyde olduğunu düşündürmektedir. Ancak anne sütündeki demir konsantrasyonunu regüle eden mekanizmalar tam olarak aydınlatılamamıştır.

2.1. Anne Sütünün Mineral İçeriği

Yapılan çalışmalar anne sütünün mineral içeriğinin annenin diyetinden bağımsız olduğunu göstermektedir. Annenin mineral depolarının bu regülasyonda rol aldığı düşünülmektedir. Örneğin annenin diyetindeki kalsiyum ve fosfor kısıtlandığında kemiklerden mobilasyon olmakta ve sütteki konsantrasyon değişmemektedir.

Anne sütünde fosfor üç haftalık laktasyon döneminde 147mg/L, 26 haftalık laktasyon döneminde ise 107mg/L dir. Aynı dönemlerde kalsiyum düzeyleri 259 mg/L ve 248 mg/L, magnezyum düzeyleri 290-330 mg/L'dir (8).

Anne sütündeki sodyum, potasyum ve klor konsantrasyonları sırayla 7,15, 12mEq/L'dir ve inek sütüne kıyasla daha düşüktür. Yenidoğan bebeklerin böbrek immatüritesi düşünüldüğünde anne sütündeki mineral içeriğinin inek sütüne kıyasla düşük olmasının önemi daha iyi anlaşılacaktır (8).

2.1.1. Anne Sütünün Demir İçeriği

Laktasyonun zamanına ve günün saatine göre değişmekle birlikte matür anne sütünde ortalama 0.3 mg/L kadar demir bulunmaktadır (9). Annenin diyeti yada annenin demir depolarının durumu anne sütüne geçen demir düzeyini etkilemez (10). Anne sütü inek sütüne nazaran daha düşük konsantrasyonda demir içermesine karşın anne sütünde ki demirin biyoyararlanımı oldukça yüksektir ve bu oran %49-70 civarındadır (11). Bu durumun mekanizması tam olarak aydınlatılabilmiş değildir ancak anne sütünde ki laktoferrin içeriğinin yüksek olması ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir. Biyoyararlanımın yüksek olmasının diğer bir sebebi absorpsiyonu inhibe eden kalsiyum, fosfor ve protein konsantrasyonunun anne sütünde düşük, kolaylaştıran laktoz ve askorbat konsantrasyonunun yüksek olmasıdır (12).

2.1.2. Meme Dokusunda Demir Metabolizması

Sağlıklı term bir infant yeterli demir deposuyla doğar ve özellikle ilk 4- 6 ay depolarda ki demir bebeğin demir ihtiyacını karşılar. Anne sütünün demir konsantrasyonunun hem serum demiri hemde infantın tahmin edilen günlük demir ihtiyacından daha az olduğu dikkat çekmiştir. Bu durum anne sütündeki demirin yetersiz bir demir kaynağı olduğu tartışmasına da neden olmuştur. Diğer yandan hazır mamalarda anne sütüne nazaran 3 kat fazla demir bulursa da anne sütüyle beslenen bebeklerde demir eksikliği daha az görülmektedir (13). Son yapılan bir çalışmada yalnızca anne sütü ile beslenen bebeklere 1mg/kg/gün dozunda demir desteği verilmiş ve lineer büyüme üzerine önemli yan etkilerin olduğu görülmüştür (14). Bu durum anne sütündeki demir konsantrasyonunun düşük olmasının infantı demir toksisitesinden koruduğunu da düşündürmüştür.

Serum demiri özellikle transferine (Tf) bağlanır ve dokuların demir alımı selüler transferrin reseptörü (TfRs) tarafından düzenlenir. TfRs dokuların demir durumunu

gösteren bir belirteç olarak kullanılabilir (15). Hayvan modellerinde yapılan çalışmalarda anne sütün deki demir miktarı ile TfR ekspresyonu arasında bir korelasyonun olmadığı görülmüştür (16). Diferrik Tf meme dokusunun epitelyal hücrelerinin yüzeyinde bulunan TfR bağlanır ve klatrin kaplı kesecikler tarafından asidik endozomlara alınır. Endozomların asidik ortamı sayesinde demir, Tf-TfR kompleksinden ayrılır. Tf plazma membranına TfR ile birlikte tekrar geri döner. Demir karaciğer ve plasenta gibi bir çok dokuda bulunan divalanan metal iyon transporter 1 (DMT1) aracılığı ile endozomlardan dışarı atılır. DMT1 bir çok epitelyal hücrenin intraselüler kompartmanında da lokalize halde bulunmaktadır. Fakat meme dokusunda DMT1 in demirin endozomdan dışarı atılmasını kolaylaştırdığına dair yeterli kanıt yoktur. Endozomlardan salınan demir, demir havuzuna katılabilir, ferritin olarak sentezlenebilir, endoplazmik retikulumda (ER) demir içeren proteinlerin yapısına katılabilir veya luminal membrandan süte salınabilir.

Demir süte salınımından önce ER' da bulunan intraselüler keseciklere transfer edilir ve ER' da bulunan ferroportin sayesinde demirin salınımı gerçekleştirilir (17).

Farelerde yapılan çalışmalarda ferroportinin meme dokusunda da bulunduğu ve tüm epitelyal hücreler boyunca lokalize olduğu görülmüştür (18,19). Bu yüzden meme dokusunun epitelyal yüzeyinde bulunan ferroportinin salgı keseciklerine demir transportunu gerçekleştirdiği düşünülmektedir.

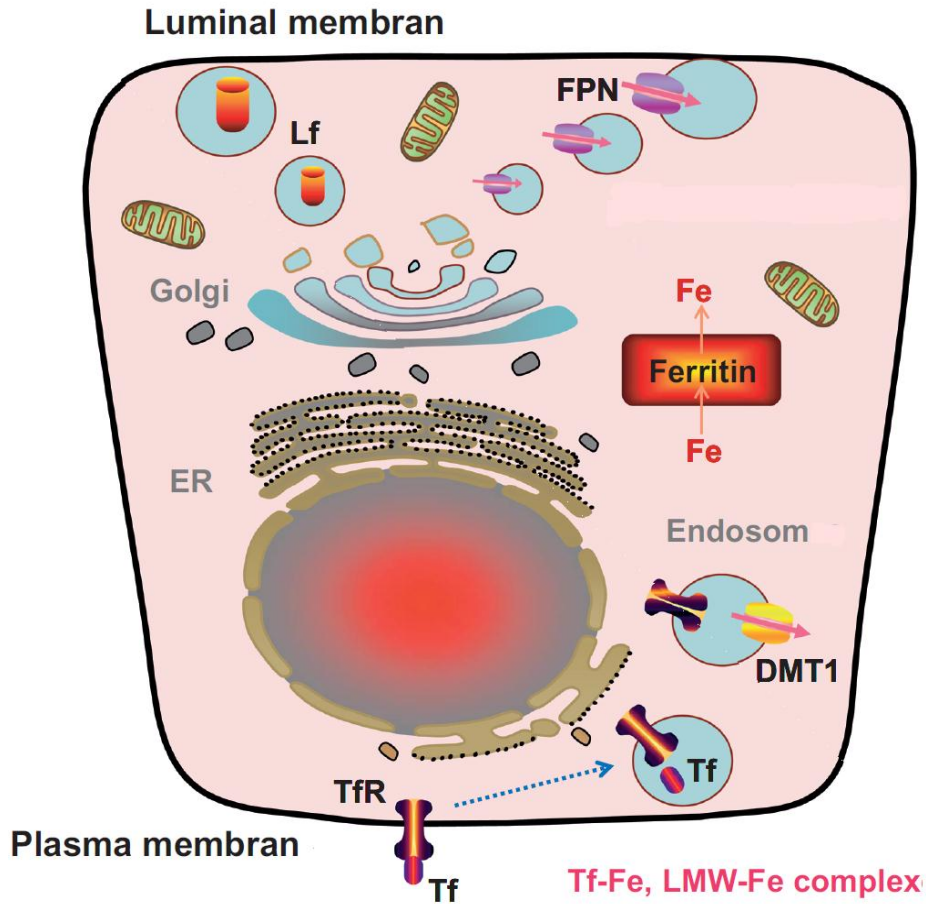
Bugüne kadar demirin süte transferi ile ilgili herhangi bir genetik defekte rastlanılmamıştır. Serum Tf düzeyi düşük olan farelerin fetal hayatları boyunca etkilenmelerinden dolayı erken dönemde öldükleri görülmüştür. Bu farelere intravenöz demir verildiğinde yaşayabilmişlerdir. Bu durum dokuların demir alımında alternatif mekanizmaların da rol aldığını düşündürmüştür. Fakat bu mutant fare modellerinin süt demirleriyle alakalı her hangi bir çalışma yapılmamıştır (20).

Laktasyonun ilerleyen günlerinde anne sütü demir konsantrasyonunda düşüş görülür ve bu düşüşe TfR ve ferroportin ekspresyonundaki azalma eşlik eder. TfR ve ferroportin ekspresyonundaki azalmanın aksine meme dokusundaki demir konsantrasyonu ve DMT1 düzeyinde laktasyon boyunca pek değişiklik görülmez. DMT1' in direk olarak anne sütüne geçen demir düzeyine etki etmediği hücresel demir düzeyini korumakta rol aldığı düşünülmektedir (18). Demir eksikliği olan farelerin meme dokularındaki demir depoların da düşüklük görülse de süt demir konsantrasyonlarında bir değişiklik

görülmemiştir. Süt demir konsantrasyonu değişmezken DMT1 ekspresyonunun azaldığı, TfR ve ferroportin düzeyinin sabit kaldığı görülmüştür. Bu durum süt demir konsantrasyonunun düzenlenmesinde TfR' ü ve ferroportinin primer role sahip olduğu şeklinde yorumlanmaktadır (21).

2.1.3 Laktoferrinin Meme Dokusunda Demir Metabolizmasında ki rolü

Anne sütündeki demir bağlayıcı majör proteinlerden bir diğeri de laktoferrindir. Laktoferrin, ER tarafından sentezlenir ve sonrasında sekretuar keseciklere aktarılır. Her bir laktoferrin molekülü tıpkı Tf gibi iki adet ferrik demir bağlar (22). Demirin laktoferrine katılımının sentez aşamasında mı yoksa sekretuar keseciklere aktarımından sonra mı olduğu tam olarak netlik kazanmamıştır. Laktoferrin, demire karşı yüksek afinite gösterir ve %10-20'si demir ile satüre durumda bulunur. Laktoferrinin demire olan afinitesinin yüksek olması ona antienfektif bir özellik kazandırır (23). Laktoferrin gastrointestinal sistemi ince bir tabaka olarak kaplamıştır(24).



Şekil 1. Meme dokusunda demir transferi

2.2. Demir Metabolizması

Demir yaşam için vazgeçilmezdir. Ancak hem eksikliği hem de fazlalığı organizma için zararlıdır. Bu yüzden bu hassas denge vücutta sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir.

Vücuttaki demir havuzunun büyük çoğunluğu kemik iliği eritroid öncüllerinde ve dolaşımdaki eritrositlerde bulunmaktadır. Günlük eritrosit yapımı için 25 mg/gün demir gereklidir. İntestinal yoldan günlük 1-2 mg demir emilimi gerçekleştirilmektedir. İntestinal yol ile absorbe edilen miktarın azlığı eritropoez için gerekli olan demirin önemli bir kısmının var olan demir depolarından karşılandığını göstermektedir (25, 26).

Demir, insan vücudunda ferröz (Fe+2) ve ferrik (Fe+3) halde bulunur (27). Demir hemoglobin sentezi, myoglobin sentezi, demir içeren enzimlerin sentezi, ferritin ve hemosiderin şeklinde demir depolarının idamesi gibi bir takım metabolik ve enzimatik olaylarda önemli rol oynar. Çocuklarda vücuttaki demirin % 65'i hemoglobinde % 10'u myoglobinde bulunur (28). Hemoglobin ve myoglobin dışında demir içeren başlıca proteinler sitokromlar, sitokrom oksidaz, homogentisik oksidaz, peroksidaz ve katalazlardır (29,11).

Vücuttaki demirin en önemli kısmı hemoglobin sentezi için kullanılır. Geri kalan miktarlar ise oldukça önemli işler görmektedir. Örneğin ribonukleotid redüktazın stabilizasyonu demir içeren bir merkezle sağlanmaktadır. Krebs siklusundaki enzimlerin hemen hemen yarısı ya demir içermekte ya da fonksiyonlarını sağlayabilmek için ortamdaki demire ihtiyaç duymaktadırlar (30,31,32). Bu kadar önemli bir element vücutta çok ekonomik şekilde kullanılmakta olup, demir kaybı mümkün olan en az düzeyde tutulmaktadır. Çeşitli yollarla açığa çıkan demir ise yeniden kullanılmaktadır (25, 23).

Demir vücuda ağız yolu ile hem demiri ve inorganik non-hem demiri şeklinde alınır. Hem demiri non-hem demirine nazaran intraluminal faktörlerden daha az etkilenir. Demirin şekli ve miktarı, hayvansal gıdalar ve gastrik asidite lümen içi demir emilimine etki eden faktörlerdir. Demirden zengin diyetle beslenmeden sonraki ilk birkaç gün içinde enterositler demir emilimine dirençli hale gelebilir ve bu olaya intestinal mukozal blok adı verilir. Ferröz demir, ferrik demirden daha iyi emilir. Hayvan etinde bulunan lizin, sistin ve histidin aminoasitleri bitkisel demir emilimini artırır. Gastrik sıvının asiditesi demiri ferröz forma çevirerek demir emilimini kolaylaştırmaktadır (24).

Demir depolarının durumu, eritropoetik aktivite ve tartı artışı lümen dışı demir emiliminde rol oynayan faktörlerdir. Gebelik, laktasyon, büyüme dönemleri ve demir eksikliğinde demir depoları azaldığı için demir emilimi artar (35). Eritropoetik aktivitenin arttığı kanama, hemoliz ve yüksek irtifa gibi durumlarda da demir emiliminin arttığı görülmektedir (35). Mideden eser miktarda demir emilimi olmaktadır. Demirin esas emilim yeri ince barsakların üst kısmıdır. Bağırsağın distal kısımlarına doğru demir emilimi azalmaktadır (36).

Kişilerin günlük demir ihtiyacı 2-4 mg kadardır. Dengeli bir diyetle günlük 10-20 mg kadar demir alınmaktadır ve bunun ancak % 5-10'u emilip dolaşıma verilmektedir (29). Anne sütünde 0.3-1.2 mg/l, inek sütünde 0.3-0.6 mg/l demir bulunmaktadır (37). Bununla beraber anne sütündeki demirin %50'si, inek sütündeki demirin ise %10'u emilebilmektedir.

Non-hem demirin çoğunluğu ferik (Fe^{+3}) formdadır. İntestinal epitelyumdaki sitokrom β benzeri ferriredüktaz (DCYTB) enzimi ile redüklenerek Fe^{+2} 'ye dönüştürülür. Demir eksikliğinde duodenal enterositlerdeki ferriredüktaz ekspresyonu artmaktadır. Fe^{+2} absorbtif enterositlere iki değerlikli DMT1 aracılığı ile alınır (25). DMT1 aynı zamanda transferrin siklüsünde demirin endozomdan sitoplazmaya geçisini de sağlar. DMT1 düşük pH'larda fonksiyonel olabilmektedir. Antiasitler veya H_2 reseptör blokörlerinin kullanıldığı durumlarda asidik pH'ı ortadan kalkar ve demir emilimi azalır(47,60,61). DMT1'in sadece intestinal demir emilimi değil; diğer divalan metal katyonları olan manganez (Mn^{+2}), çinko (Zn^{+2}), kobalt (Co^{+2}), bakır (Cu^{+2}) ve kurşun (Pb^{+2})'nun emiliminde de rolü vardır (40).

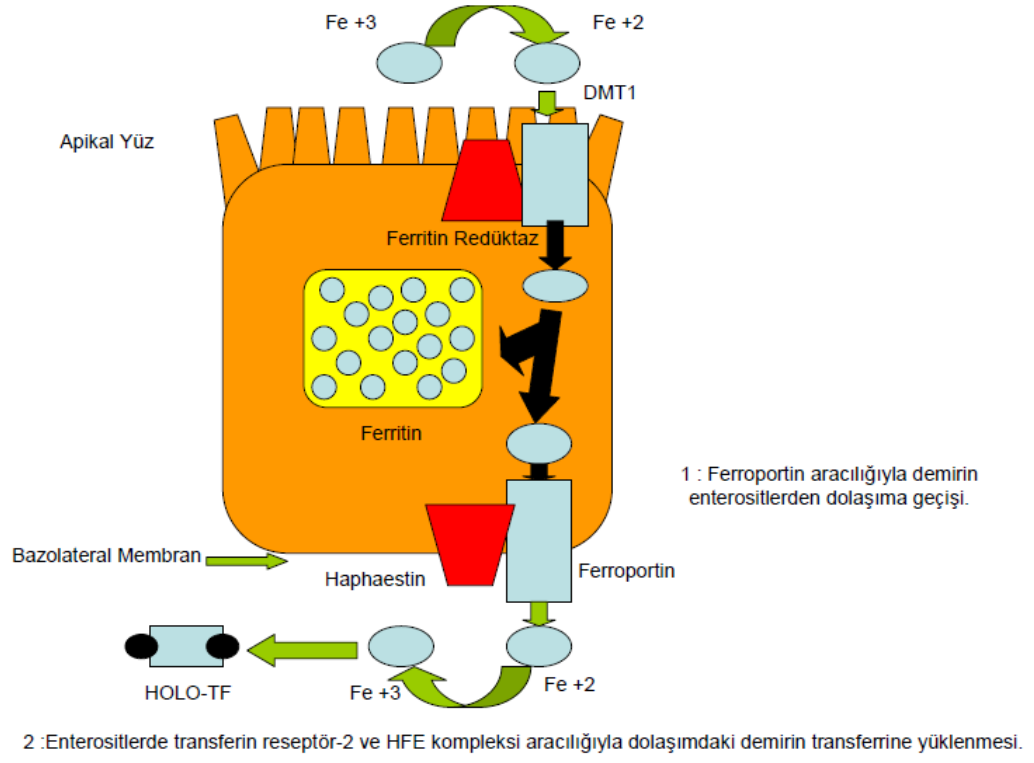
Demirin emilimi duodenal villuslardaki enterositlerce gerçekleştirilir(Şekil2). Enterositler vücut demir gereksinimine göre demir taşıyıcı proteinleri eksprese ederler. Non-hem demiri matür enterositte enzimatik indirgenmeye uğrar ve intestinal DMT1 aracılığı ile enterosite alınır. Bazolateral membranda bulunan ferroportin aracılığı ile plazmaya transfer edilir. Hephaestin ile enzimatik oksidasyon gerçekleşikten sonra onto apotransferrine yüklenmeden önce diferrik transferin(HOLO-TF) oluşur (25). Demir intestinal epitel hücrelerine DMT1 proteini aracılığı alındıktan sonra iki muhtemel yol izleyebilir. Birincisi demir enterositte hücrede kullanılır veya bu demir absorbe edilmez ve enterositin dökülmesi ile beraber barsak lümenine kaybedilir. İkinci muhtemel yol ise enterositin basolateral membranına ulaşan demir membrandan plazmaya transfer

edilir (41). Ferroportin enterositin bazolateral membranında yerleşimli demirin emiliminden sorumlu olan integral membran proteindir. Bazolateral membrandan plazma ya demirin salınımı için Fe²⁺ hephaestin aracılığı ile Fe³⁺ çevrilmesi gerekmektedir. Ferroportin plasental sinsitiotroblastlar, makrofajlar ve hepatositler gibi diğer dokularda da eksprese olabilmektedir (41,42). Ferroportin organizmada mevcut olan demir miktarı ile hepsidin aracılığı ile regüle edilmektedir. Yüksek hepsidin düzeylerinde hepsidin ferroportine bağlanır ve ferroportinin hücre içine alınarak lizozomal degradasyonuna neden olur. Böylece enterositlerden ve makrofajlardan dolaşıma demir geçişi önlenir (43). Enterositlerin basolateral membranında bulunan hephaestin proteini ferroksohidaz görevi görerek Fe²⁺'yi Fe³⁺'e dönüştürür ve Fe³⁺ transferine bağlanarak dolaşıma katılır (42).

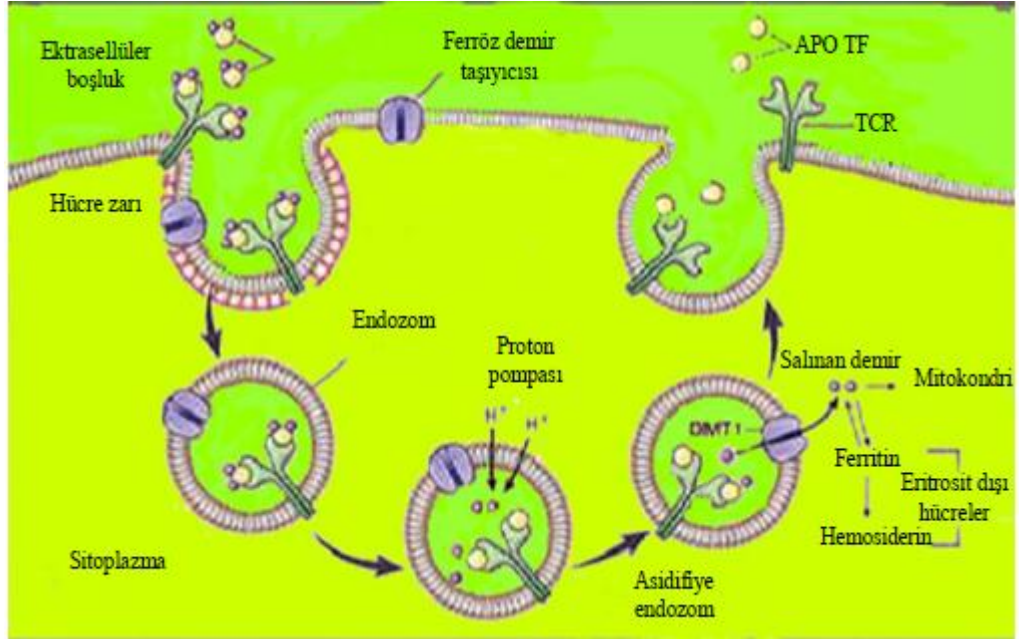
2.2.1. Demirin Dolaşımı

Demir dolaşımında Tf ile taşınır. Tf, Fe³⁺ formuna yüksek affinite ile bağlanarak dokulara demiri transport eder. Demir Tf aracılığı ile dolaşımda ve ekstrasvasküler sıvılarda nonreaktif olarak tutulur ve TfR aracılığı ile hücrelere sunulur (44,45). TfR konsantrasyonu demir eksikliğinde artmış olarak ölçülür (46). TfR selektif olarak diferrik transferrine bağlanır ve Tf-TfR kompleksi membrandan endositoz yolu ile hücre içine alınır (47). Proton pompası aracılığı ile endozomun pH'sı asidikleştirilir ve Tf-TfR kompleksindeki demir kompleksten ayrılır. Serbest kalan Fe³⁺, Fe²⁺'ye redükte edilerek endozomdan hücre sitoplazmasına DMT1 proteini yardımıyla geçer. Sitoplazmaya geçen demir hangi amaçla kullanılacaksa o şekilde değerlendirilir (25,45,47,48).

Demir mitokondriye mitokondriyel membrandan mitoferrin-1 aracılığıyla alınır. Mitoferrin yeni tanımlanmış transmembran proteindir ve protoporfirin IX'a demir sağlayan ferroselataza demir sağlamada kritik öneme sahiptir (47). TfR hücre yüzeyine tekrar döner ve başka sıklularda demirin hücre içine alınmasını sağlar. Transferrin ise dolaşıma katılır ve buna transferin siklusu adı verilir (25,47,48).



Şekil 2. Duodenal demir transferi



Şekil 3. Transferrin Siklusu

2.2.2. Demirin Depo Edilmesi

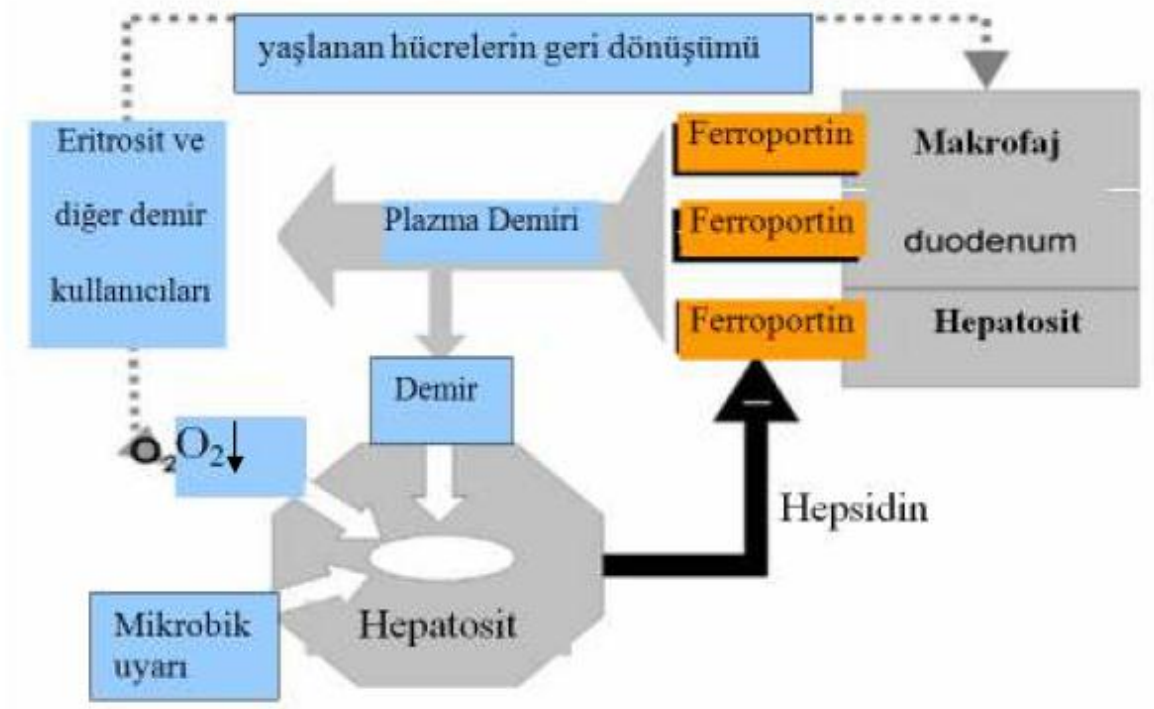
Diyetle alınan inorganik demir özel taşıyıcılarla mukozal hücreler içine girer ve derhal ferrik hale yükseltilir. Mukozal hücrelerde bulunan bir intrasellüler demir taşıyıcısı sayesinde bir kısmı mitokondriuma götürülür. Geri kalan demir mukoza hücreleri içerisindeki apoferritine ve plazmada demir taşıyan protein olan transferine bölüştürülür. Apoferritin ile birleşen demir ferritini oluşturur.

Ferritin sentezinin regülasyonu, ferritin mRNA'sı, 'Iron Responsive Elements'(IRE) ve IRP (Iron Responsive Protein) tarafından gerçekleştirilmektedir (35). Demir eksikliğinde IRP ferritin mRNA'sının 5' untranslated bölgesinde ki IRE'lere bağlanarak ferritin sentezini bloke eder. Demir fazlalığında ise ferritin sentezi artar, TfR düzeyi azalır. Karaciğer (hepatositler), retikuloendotelyal hücreler (makrofajlar) ve kemik iliği eritroid öncü hücreleri ferritinin en fazla bulunduğu hücrelerdir (44).

Aşırı demir yüklenmesi durumunda ferritin molekülleri hücre içinde agregatlar şeklinde biraraya gelir ve lizozomlar tarafından yıkılır. Sonuçta hemosiderin ismi verilen demir oksit molekülleri ve denatüre proteinden oluşan, %50 demir içeren amorf bir yapı meydana gelir (49). Ferritin, enfeksiyonlar, karaciğer ve böbrek hastalıkları, hemolitik anemiler, juvenil romatoid artrit gibi kronik hastalıklar ve malign hastalıklarda da yükselmesine rağmen vücut demir deposunun iyi bir göstergesidir.

2.3. Demir Dengesinde Hepsidin Rolü

Hepsidin; 25 aminoasitten oluşan karaciğerde sentezlenen antimikrobiyal özelliklere sahip bir akut faz reaktan proteinidir. Vücut demir depoları ve dengesinin düzenlenmesinde önemli rolü vardır. Hepsidin bağırsak epitelinden, hepatositlerden ve makrofajlardan ferroportin reseptörü aracılığıyla demir dengesinin kontrolünü sağlar. Hepsidin intestinal basolateral membrandaki ferroportinin intrasellüler halkasındaki aminoasitleri fosforilleyerek hepsidin-ferroportin kompleksini internalizasyonuna uğratar ve demirin intestinal absorpsiyonu azalır. Benzer şekilde hepsidin arttığında makrofajlardaki demir salınımı azalır. Bundan dolayı demir makrofajlar içinde tutulur. Hepsidin enterosit ve makrofaj aracılığı ile vücut demir dengesinin negatif regülasyonunu sağlamaktadır(43, 50).



Şekil 4. Plazma hepsidin düzeyinin demir düzeyi, hipoksi ve enfeksiyonla düzenlenmesi

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Çalışma Grubunun Seçimi ve Numunelerin Toplanması

Bu çalışma Mayıs 2013 Kasım 2013 tarihleri arasında Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Çocuk Hastanesine başvuran bebeklerin annelerinden süt ve kan örnekleri alınarak yapıldı. Çalışma protokolü Erciyes Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu'na sunuldu ve 2012/200 protokol numarası ile 06.03.2012 tarihinde onay alındı. Anneler yapılan çalışma hakkında bilgilendirilerek katılımları sağlandı. Annede bilinen bir kronik hastalık varlığı dışlama kriterleri olarak kullanıldı.

Çalışmada herhangi bir sağlık problemi olmayan ve çalışma amacı kendilerine anlatılan yaşları 18 ile 36 arasında değişen, laktasyonun 15. gün-18. ay arasında olan ve matür bebek doğuran toplam 240 anneden, 08.00-12.00 saatleri arasında süt ve kan numuneleri alındı. Süt numuneleri emzirmeden en az yarım saat önce her iki göğüsten elle sağılarak en az 4 ml olmak üzere deiyonize polietilen tüpler içerisine alındı. Alınan süt numunelerinin 2 ml si anne sütünde demir, 2 ml si ise anne sütünde laktoferrin çalışması için ayrıldı. Süt numunelerinin bulunduğu tüplerin ağzı parafin ile kapatıldı. Alınan numuneler çalışma yapılana kadar -20 C derecede saklandı. Alınan kan numunelerinde hemoglobin, serum demir ve ferritin, süt numunelerinde süt demir ve laktoferrin çalışıldı

3.2 Tam Kan Sayımı, Demir ve Ferritin Analizlerinin Yapılması

Annelerden alınan kan örneklerinde hastanemiz merkez laboratuvarında tam kan sayımı Siemens Advia 2120i hematology system, ferritin düzeyi Advia Centaur XP

Immunoassay System, serum demir düzeyi Abbott Architect C16000 markalı cihazlarla çalışıldı.

3.3. Hepsidin Analizi

Hepsidin çalışılabilmesi için annelerden 2cc kan alındı. Annelerden alınan kan örnekleri 10 dakika boyunca 3000 devirde santrifüj edilerek serumu ayırdı. Ayrılan serumlar çalışma yapılana kadar -20 C derecede saklandı. Serum hepsidin düzeyleri Wuhan EIAab Science marka ticari kit kullanılarak sandviç tip ELİSA yöntemi ile kit prospektüsündeki talimatlar uygulanarak tayin edildi.

3.4. Anne sütünde demir analizi

Anne sütlerinde demir analizleri Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma Merkezinde ICP MS metoduyla yapıldı. Numuneleri çözünürleştirmek için kullanılan mikrodalga cihazı kullanılarak uygun anne sütü çözme metodu kullanıldı. Metodun sıcaklık ve basınç parametreleri aşağıdaki tablodaki gibidir.

Tablo 1: Mikrodalga cihazın uygun sıcaklık ve basınç parametreleri

| Temperature Program | Step | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---------------------|------------|-----|-----|---|---|
| | T [°C] | 145 | 190 | | |
| | P [bar] | 50 | 50 | | |
| | Power [%] | 70 | 90 | | |
| | Ta [min.] | 10 | 5 | | |
| | Time [min] | 5 | 10 | | |

Örneklerden 1 ml alınarak mikrodalga çözünürleştirme cihazının sıcaklık ve basınca dayanıklı teflon hücrelerine yerleştirildi daha sonra üzerine % 65 lik HNO₃ den 5 ml ve % 30 luk H₂O₂ den 5 ml ilave edildi, olası gaz çıkışları ve köpüklenmenin önlenmesi için en az 20 dakika numuneler mikrodalga çözünürleştiriciye yerleştirilmeden ağızları açık bir biçimde bekletildi. Daha sonra kapakları kapatılarak tablodaki uygun sıcaklık programı uygulandı. Çözünürleştirme işlemi bittikten sonra kapaklar açılarak elde edilen berrak çözeltiler 25 ml lik balon jöjelere alındı hacimleri çift distile su ile tamamlandı. Numuneler ölçüme hazır hale getirildi.

Ölçüm öncesi artan derişimlerde standartlar hazırlandı(0, 1, 5,10, 20, 30,40,50 ppb) Hazırlanan standartlar cihaza tanıtıldı(Agilent 7500a series ICP/MS) Sonrasında numuneler belirlenen metotla okundu ve sonuçlar elde edildi.

3.5. Anne sütünde laktoferrin analizi

Annelerden alınan süt numuneleri soğutmalı santrifüj cihazı ile 10 dakika boyunca 5000 devirde 3 kez santrifüj edildi ve üstte biriken lipid tabaka ayrılarak çalışma yapılana kadar numuneler –20 C derecede saklandı. Annelerin sütlerinde ki laktoferrin düzeyleri USNK ELİSA marka ticari kit kullanılarak sandviç tip ELİSA yöntemi ile kit prospektüsündeki talimatlar uygulanarak tayin edildi.

3.6. İstatistiksel Analizler

Veriler IBM SPSS Statistics 21 istatistik paket programında değerlendirilmiştir. Sayısal değişkenlerin normal dağılımına Shapiro-Wilk normallik testi ile bakıldı. Veriler normal dağılım göstermediği için özet istatistikler medyan (25.persentil - 75. persentil) olarak verildi. İki grup karşılaştırmaları Mann-Whitney U testi ile yapıldı. Sayısal değişkenlerin birbirleri arasındaki ilişkiye Spearman korelasyon analizi ile bakıldı. Hepsidin ve Laktoferrin için cut off değerleri kümeleme ve ROC analizleri belirlendi. $p<0.05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1 Çalışma Grubunun Laboratuvar Bulgularının Değerlendirilmesi

Çalışmaya toplam 240 anne dahil edildi. Çalışmaya alınan annelerin laboratuvar bulgularının medyan değerleri tablo 2 de gösterilmiştir.

Tablo 2. Annelerin laboratuvar bulgularının medyan değerleri ve 25-75 percentilleri

| Değişken | Medyan | 25p-75p |
|--------------------------|--------|-------------|
| Hemoglobin(g/dL) | 13.1 | 12.3-13.8 |
| Demir(μ g/dL) | 63.5 | 45.2-94.0 |
| Ferritin(ng/ml) | 24.4 | 13.2-42.6 |
| Anne sütünde demir(mg/L) | 0.172 | 0.036-0.298 |
| Hepsidin(ng/ml) | 6.4 | 4.9-8.5 |
| Laktoferrin (mg/ml) | 5.8 | 3.0-9.2 |

4.2. Çalışma Grubunun Hemoglobin, Serum Demir ve Ferritin Düzeylerine Göre Gruplandırılıp Değerlendirilmesi

Anneler hemoglobin, serum demiri ve ferritin düzeyleri erişkin yaş grubu için referanslarda belirtilen normal ve düşük oluşuna göre gruplara ayrıldı (51,52). Grupların istatistiksel özellikleri Tablo 3 te verilmiştir.

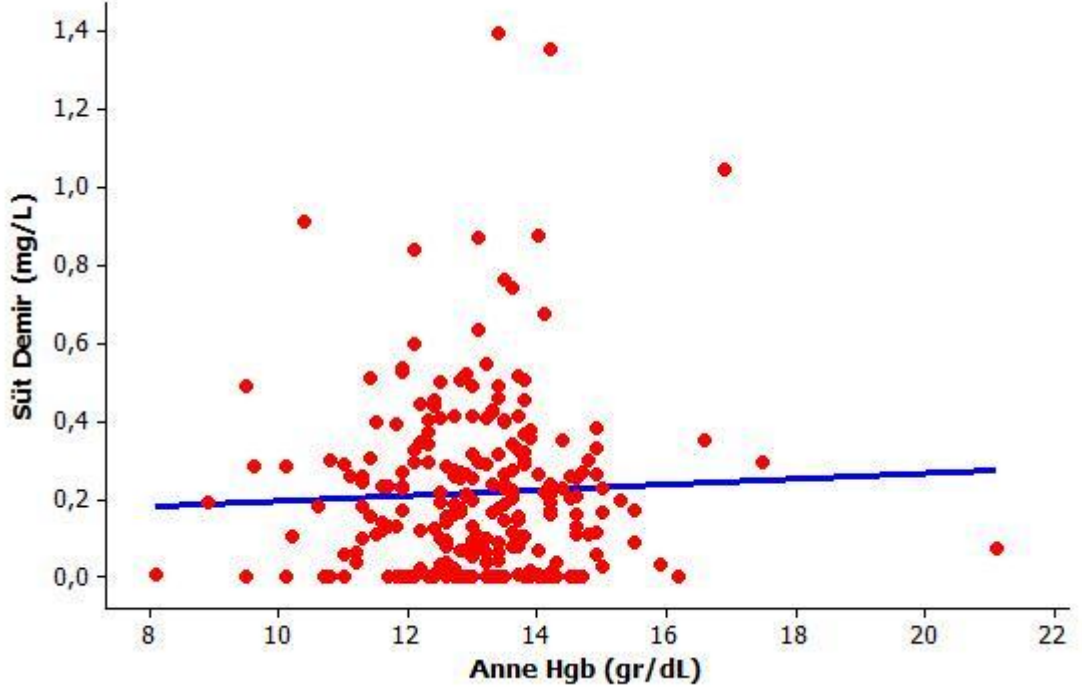
Tablo 3. Hemoglobin, serum demir ve ferritin deęerleri normal ve dűşük grubu oluřturan annelerin sayı ve oranları

| Değişken | <i>n</i> | % | Medyan(25p-75p) |
|--------------------|----------|------|-----------------|
| Hgb≥12g/dl | 194 | 80.8 | 13.4(12.7-14.0) |
| Hgb<12g/dl | 46 | 19.2 | 11.3(10.7-11.8) |
| Demir ≥50(μg/dl) | 170 | 70.8 | 78.5(62-107) |
| Demir<50(μg/dl) | 70 | 29.2 | 39(33-43.2) |
| Ferritin≥20(ng/ml) | 140 | 58.3 | 38.3(28.3-61.1) |
| Ferritin<20(ng/ml) | 100 | 41.7 | 11.5(8.0-16.0) |

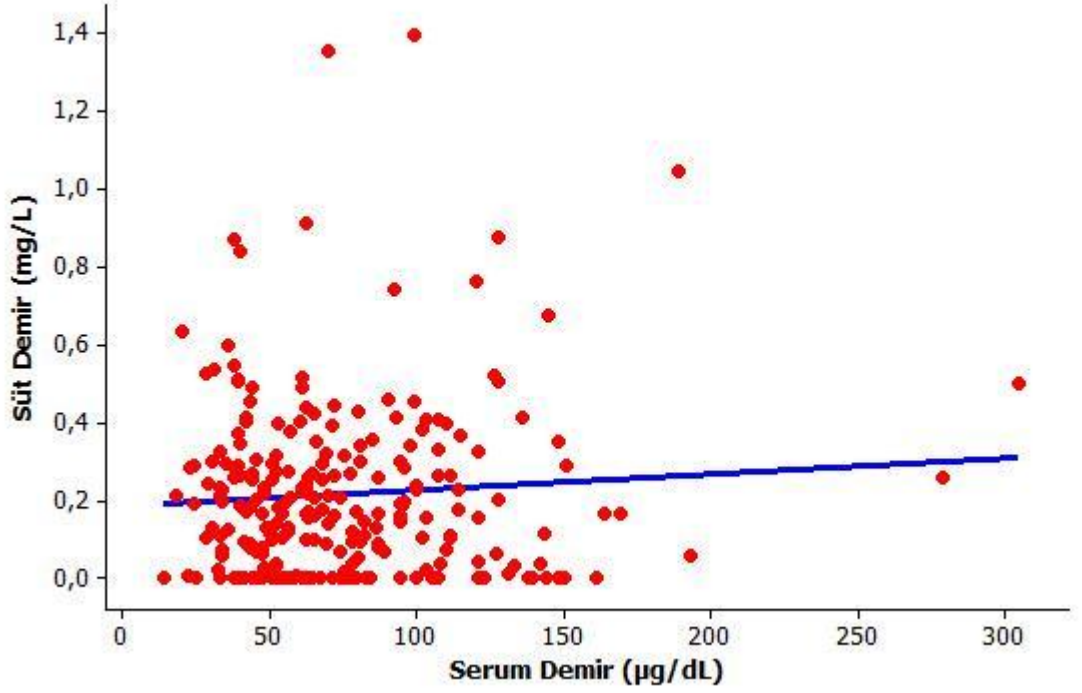
Çalıřmamıza katılan 240 annenin 194 ünün (%80.8) hemoglobin deęeri normal, 46 sının (%19.2) dűşük bulundu. Anneler serum demir düzeyine göre sınıflandırıldıęında 170 annenin (% 70.8) demir düzeyininin normal, 70 annenin (% 29.2) dűşük olduęu tespit edildi. Anneler ferritin düzeylerine göre deęerlendirildięinde 140 annenin (% 58.3) ferritin düzeyinin normal,100 annenin (% 41.7) ferritin düzeyinin dűşük olduęu görűldű.

4.3. Hemoglobin, Serum Demiri ve Ferritin Dűzeyleri ile Anne Sűtű Demir Konsantrasyonu Arasındaki İliřkinin Deęerlendirilmesi

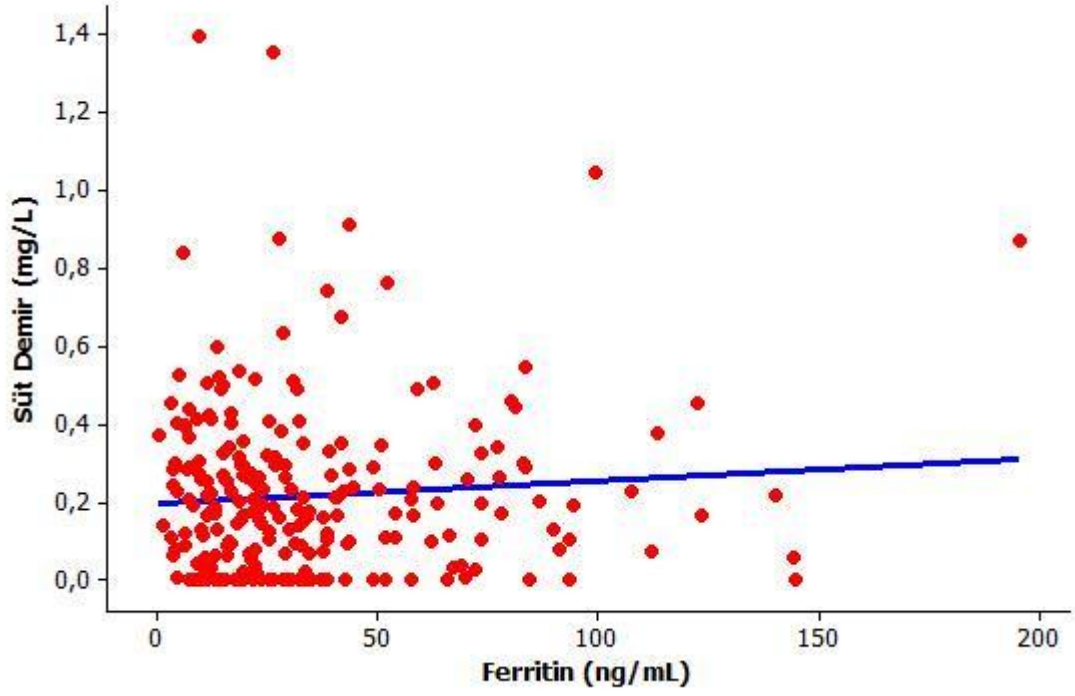
Hemoglobin, serum demir ve ferritin ile anne sűtű demir konsantrasyonu arasındaki iliřkiye bakıldıęında. Hemoglobin ($\rho=0.041$, $p=0.526$), serum demir ($\rho=-0.006$, $p=0.929$) ve ferritin ($\rho=0.010$, $p=0.873$) düzeyleri ile anne sűtűndeki demir konsantrasyonu arasında bir korelasyonun olmadıęı görűlműřtür.



Şekil 5. Anne hemoglobin düzeyi ile süt demir konsantrasyonu arasındaki ilişkinin gösterilmesi



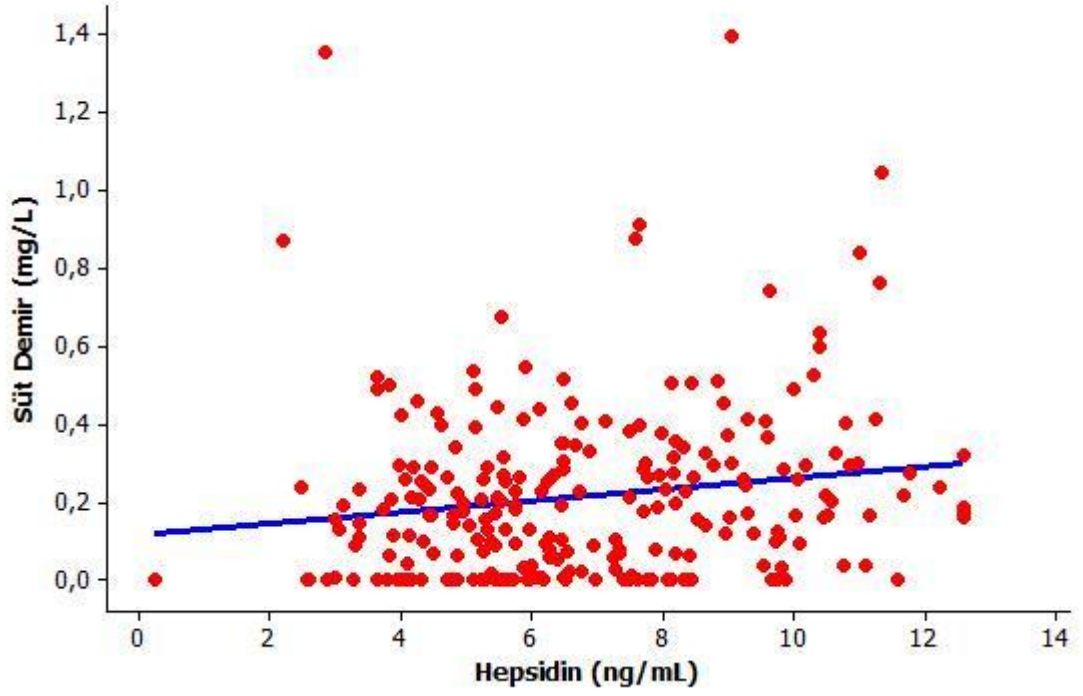
Şekil 6. Anne serum demir düzeyi ile süt demir konsantrasyonu arasındaki ilişkinin gösterilmesi



Şekil 7. Anne ferritin düzeyi ile süt demir konsantrasyonu arasındaki ilişkinin gösterilmesi

4.4. Hepsidin ve Laktoferrin Düzeyleri İle Anne Sütü Demir Konsantrasyonu Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi

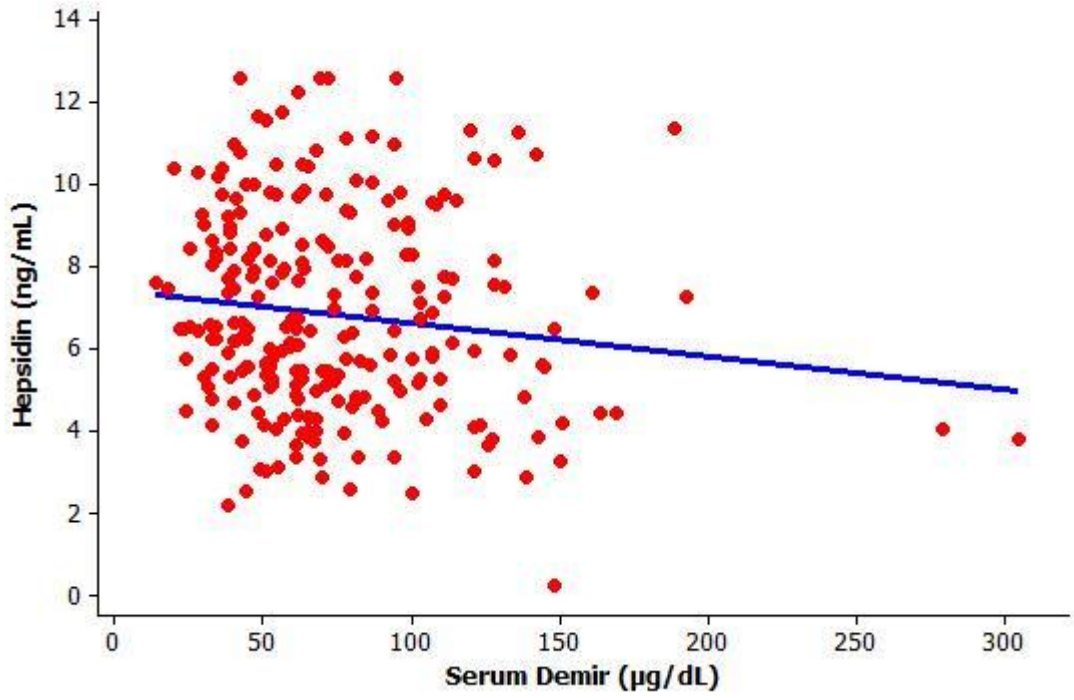
Laktoferrin ile süt demir konsantrasyonu arasında bir ilişki tespit edilmezken ($\rho=-0.063$, $p=0.333$) hepsidin ile anne sütü demiri arasında pozitif bir korelasyonun olduğu dikkat çekmiştir ($\rho=0.189$, $p=0.003$)



Şekil 8. Hepsidin düzeyi ile süt demir konsantrasyonu arasındaki ilişkinin gösterilmesi

4.5. Hepsidin ile Hemoglobin, Ferritin ve Demir Düzeyleri Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi

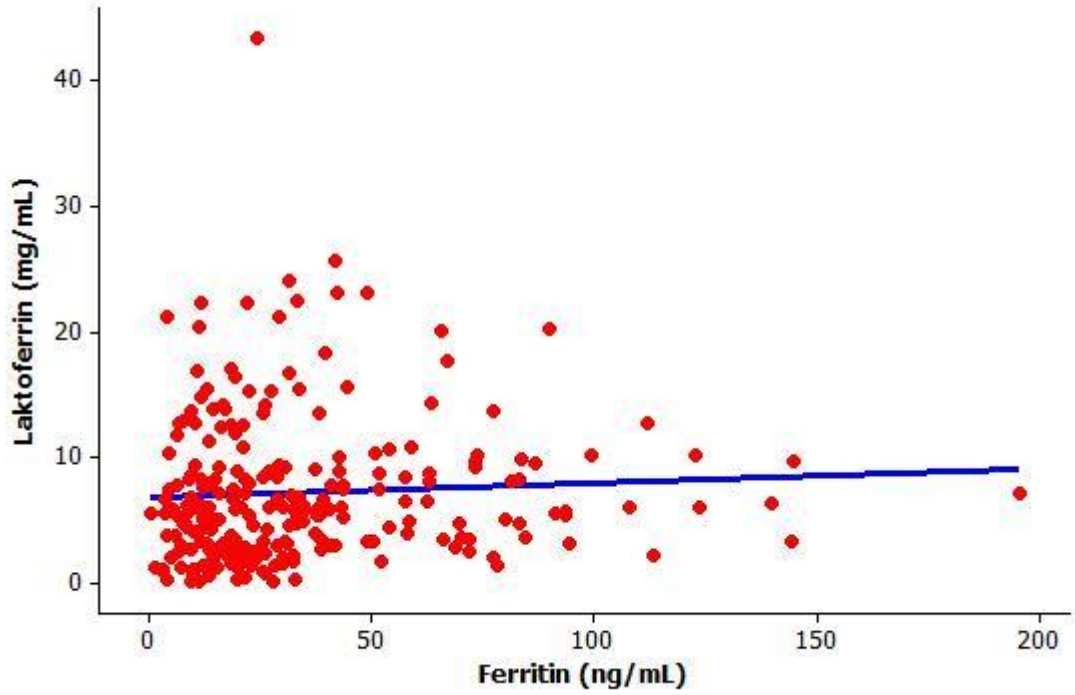
Hemoglobin, ferritin ve demir düzeyleri ile hepsidin seviyeleri arasındaki ilişkiye bakıldığında hepsidin ile hemoglobin ($\rho=-0.053$, $p=0.418$) ve ferritin ($\rho=-0.040$, $p=0.541$) düzeyleri arasında bir ilişki görülmezken demir ile hepsidin ($\rho=-0.127$, $p=0.049$) arasında negatif bir korelasyon olduğu görülmüştür.



Şekil 9. Demir ile hepsidin arasındaki negatif korelasyonun gösterilmesi

4.6. Hemoglobin, Serum Demir ve Ferritin Düzeyi ile Süt Laktoferrin Düzeyi Arasındaki İlişkinin Değerlendirilmesi

Çalışma grubunun süt laktoferrin düzeyi ile hemoglobin ($\rho=0.002$, $p=0.972$) serum demiri ($\rho=0.028$, $p=0.664$) arasında bir ilişki görülmezken ferritin ile laktoferrin ($\rho=0.147$, $p=0.023$) arasında pozitif bir korelasyonun olduğu dikkat çekmiştir.



Şekil 10. Laktoferrin ile ferritin arasındaki pozitif korelasyonun gösterilmesi

4.7. Çalışma Grubunun Hemoglobin Düzeylerine Göre Gruplara Ayrılması ve Grupların Süt Demir, Hepsidin ve Laktoferrin Düzeylerinin Karşılaştırılması

Çalışmaya katılan anneler hemoglobin düzeyi düşük olanlar ve hemoglobin normal olanlar olmak üzere iki gruba ayrıldı. Grupların süt demir, hepsidin ve laktoferrin düzeyleri kendi aralarında karşılaştırıldı. Grupların istatistiksel özellikleri tablo 4 te verilmiştir

Tablo 4. Hemoglobin düzeylerine göre grupların süt demir, hepsidin ve laktoferrin düzeylerinin değerlendirilmesi

| Değişken | Süt Fe medyan (25p-75p) | Hepsidin medyan (25p-75p) | Laktoferrin medyan (25p-75p) |
|--------------------|-----------------------------|------------------------------|---------------------------------|
| Hgb \geq 12 g/dl | 0.172 (0.037-0.314) mg/L | 6.4 (4.8-8.6) ng/ml | 5.7 (2.8-8.8) mg/ml |
| Hgb<12 g/dl | 0.175 (0.027-0.28)mg/L | 6.4 (5.2-8.4) ng/ml | 6.7 (3.2-12.9) mg/ml |
| <i>p</i> | 0.661 | 0.907 | 0.126 |

Hemoglobin düzeyleri normal ve düşük olan grupların süt demir, hepsidin ve laktoferrin düzeyleri karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı saptanmıştır.

4.8. Demir düzeylerine göre grupların süt demir, hepsidin ve laktoferrin düzeylerinin karşılaştırılması

Çalışma grubu demir düzeyi normal olanlar ve düşük olanlar olmak üzere iki gruba ayrıldı. Grupların süt demir, hepsidin ve laktoferrin düzeyleri kendi aralarında karşılaştırıldı. Grupların istatistik sonuçları tablo 5’ te verilmiştir

Tablo 5. Demir düzeylerine göre grupların süt demir, hepsidin ve laktoferrin düzeylerinin karşılaştırılması

| Değişken | Süt fe medyan (25p-75p) | Hepsidin medyan (25p-75p) | Laktoferrin medyan (25p-75p) |
|------------------------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------|
| Demir\geq50 μg/dl | 0.165 (0.03-0.297) mg/L | 5.9 (4.6-8.3) ng/ml | 5.8 (3.1-9.3) mg/ml |
| Demir<50 μg/dl | 0.199 (0.062-0.299) mg/L | 7.3 (5.7-8.8) ng/ml | 5.8 (2.9-8.7) mg/ml |
| p | 0.47 | 0.021 | 0.594 |

Demir düzeyleri normal ve düşük olan grupların süt demir ve laktoferrin arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark görülmezken demir düzeyi düşük olan grubun hepsidin düzeyi daha yüksek bulundu ($p=0.021$).

4.9. Ferritin Düzeylerine Göre Grupların Süt Demir, Hepsidin ve Laktoferrin Düzeylerinin Karşılaştırılması

Çalışma grubu ferritin düzeyi normal ve düşük olanlar olmak üzere iki gruba ayrıldı. Gruplar süt demiri, hepsidin ve laktoferrin düzeyleri yönünden kendi aralarında karşılaştırıldı. Grupların istatistiksel özellikleri tablo 6 da verilmiştir.

Tablo 6. Ferritin düzeylerine göre grupların süt demir, hepsidin ve laktoferrin düzeylerinin karşılaştırılması

| Değişken | Süt Fe medyan (25-75) | Hepsidin medyan (25p-75p) | Laktoferrin medyan (25p-75p) |
|------------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------------------|
| Ferritin\geq20 ng/ml | 0.172 (0.05-0.29) mg/L | 6.4 (5.1-8.2) ng/ml | 5.9 (3.2-9.4) mg/ml |
| Ferritin$<$20 ng/ml | 0.175(0.02-0.32) mg/L | 6.4(4.8-8.9) ng/ml | 5.4(2.5-8.7) mg/ml |
| <i>p</i> | 0.949 | 0.732 | 0.146 |

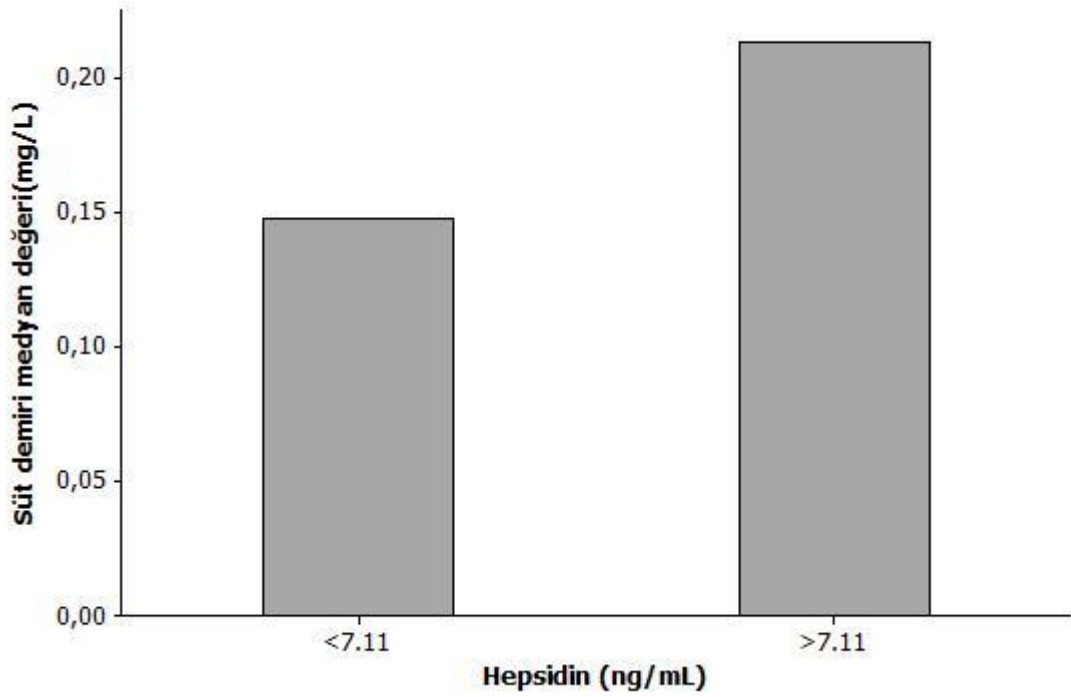
Ferritin düzeylerine göre normal ve düşük olan grupların süt demir, hepsidin ve laktoferrin düzeylerine bakıldığında hiçbirisinde gruplar arasında istatistiksel olarak fark olmadığı görüldü.

4.10. Annelerin Hepsidin Seviyelerine Göre Gruplandırılıp Değerlendirilmesi

Çalışma grubu Hepsidin için hesaplanan cut-off değerine göre 7,11 ng/ml üstünde olanlar ve altında olanlar olmak üzere iki gruba ayrıldı. Çalışmaya alınan annelerin 102 sinin hepsidin seviyesinin >7.11 ng/ml, 138 inin <7.11 ng/ml olduğu görüldü. Grupların istatistiksel olarak değerlendirilmesi tablo7 de verilmiştir. Buna göre hepsidin düzeyi yüksek grubun anne sütü demir düzeyi hepsidini düşük olan grubunkinden daha yüksek bulundu ve aradaki bu fark istatistiksel olarak anlamlıydı. Grupların hemoglobin, serum demir ve ferritin düzeyleri yönünden karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı tespit edildi.

Tablo 7. Hepsidin düzeylerine göre grupların istatistiksel olarak değerlendirilmesi

| Değişken | Süt Fe Medyan (25p-75p) mg/L | Laktoferrin Medyan (25p-75p) mg/ml | Anne Hgb Medyan (25p-75p) g/dl | Anne Fe Medyan (25p-75p) µg/dl | Ferritin Medyan (25p-75p) ng/ml |
|-------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|
| Hepsidin \geq 7.11 ng/ml | 0,213 (0,07-0,35) mg/L | 5,37 (2,53-8,52) mg/ml | 13 (12,3-13,8) g/dl | 63 (42-95) µg/dl | 25,3 (42-95,2) ng/ml |
| Hepsidin $<$ 7.11 ng/ml | 0,148 (0,008-0,265) mg/L | 5,99 (3,24-9,92) mg/ml | 13,1 (12,2-13,8) g/dl | 65 (48,7-94) µg/dl | 23,7 (14,8-42,6) ng/ml |
| <i>p</i> | 0.012 | 0.058 | 0.722 | 0.499 | 0.613 |



Şekil 11. Hepsidin düzeylerine göre grupların süt demir konsantrasyonlarının gösterilmesi

4.11. Annelerin Laktoferrin Seviyelerine Göre Gruplandırılıp Değerlendirilmesi.

Çalışma grubu laktoferrin için hesaplanan cut-off değerine göre laktoferrin düzeyi 10.83 mg/ml üstünde olanlar ve altında olanlar olmak üzere iki gruba ayrıldı. 44 gönüllünün laktoferrin seviyesinin >10.83 mg/ml, 196 sının laktoferrin seviyesinin <10.83 mg/ml olduğu görüldü. Grupların istatistiksel olarak değerlendirilmesi tablo 8' de verilmiştir.

Laktoferrin düzeyleri normal ve düşük olan grupların süt demir düzeyleri arasında ki ilişkiye bakıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olmadığı görülmüştür.

Tablo 8. Laktoferrin düzeylerine göre grupların istatistiksel olarak değerlendirilmesi

| Değişken | Süt Fe Medyan (25-75p) | Hepsidin Medyan (25-75p) | Anne Hgb Medyan (25-75p) | Anne Fe Medyan (25-75p) | Ferritin Medyan (25-75p) |
|-----------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------------|-----------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------|
| Laktoferrin \geq 10.83 mg/ml | 0,158 (0,032-0,270) mg/L | 6,3 (5,2-8) ng/ml | 12,7 (11,7-13,9) g/dl | 60,5 (44,7-93,7) μ g/dl | 22,1 (13,07-39,2) ng/ml |
| Laktoferrin<10.83 mg/ml | 0,178 (0,042-0,313) mg/L | 6,48 (4,8-8,9) ng/ml | 13,1 (12,4-13,8) g/dl | 66 (45,2-94) μ g/dl | 25,3 (13,2-43,4) ng/ml |
| <i>p</i> | 0.227 | 0.516 | 0.148 | 0.368 | 0.534 |

5. TARTIŞMA

Demir insan vücudunda bir çok biyolojik reaksiyonda eşsiz ve kapsamlı rollere sahip olan bir elementtir. Büyüme ve gelişmenin optimal düzeyde olabilmesi için yeterli miktarda alınması gerekir. İnfantlar için ilk altı ay demir yönünden tek besin kaynağı anne sütüdür. Demir eksikliğinin çocuklarda mental, motor, kognitif fonksiyonlar ve immün sistem üzerine olumsuz etkileri bulunmaktadır ve yetersiz tedavi edildiğinde bebeklerin gelişimsel basamaklarında ve zeka puanlarında kalıcı düşmeye neden olur. Bu yüzden anemi gelişmesini engellemek sağlık politikaları içerisinde öncelikli olmalıdır. Gelişmiş ülkelerde anemi prevalansı % 4-% 20 arasında belirtilirken, az gelişmiş ülkelerde, özellikle 0-5 yaş grubu çocuklarda, bu rakamın % 80 lere ulaşabildiği belirtilmektedir (53). Ne yazık ki sosyoekonomik düzeyle ilişkili olarak demir eksikliği ülkemizde de yaygın bir halk sağlığı sorunudur.

Birçok metabolik olayda kritik rollere sahip olan demirin gerek eksikliğinde gerekse fazlalığında birtakım istenmeyen etkiler ortaya çıkmaktadır. Meme dokusu süte geçen demir miktarını infantın ihtiyacına göre düzenleme yeteneğine sahiptir. İnfantların beslenmesinde en önemli demir kaynağı anne sütü olduğundan anne sütündeki demir düzeyi, buna etki eden faktörler ve gereklilikle toksisite arasındaki bu hassas dengeyi sağlayan mekanizmalar araştırmacılar tarafından merak edilmiştir.

Anne sütündeki demir miktarı günün saatine ve laktasyonun evresine göre değişkenlik göstermektedir. Siimens ve ark. (54) yaptığı bir çalışmada laktasyonun ikinci haftasında demirin ortanca değerinin 0.56 mg/L olduğu ve demir miktarının laktasyon boyunca azaldığı ve 5. Ayda 0.3 mg/L gerilediği gösterilmiştir. Lauber ve ark. (55) yaptıkları çalışmada 1. Ayın sonunda anne sütünün 100 ml' sinde 0.090 mg demir bulunurken 12.

ayın sonunda bu değerin 0.054 mg a gerilediğini tespit etmişlerdir Ergül ve ark. (56) alışmasında da laktasyonun ilerlemesiyle anne sütünde ki demir konsantrasyonunun azaldığı gösterilmiştir. Picciano ve ark. (57) yaptığı çalışmada anne sütü demirinin günün saatinden de etkilendiği, günün erken saatlerinde demir konsantrasyonunun daha düşük olduğu gösterilmiştir.

Anne sütünde ki demir miktarı ırklar arasında değişkenlik göstermektedir. Anne sütündeki demir düzeyi hakkında değişik ülkelerde yapılmış çok sayıda çalışmada birbirinden farklı sonuçlar bulunmuştur. Hatta aynı ülkede yapılmış çalışmalarda dahi birbirinden farklı sonuçlar göze çarpmaktadır. Tablo 9 da daha önce farklı ülkelerde yapılmış olan çalışmalar ile, bizim çalışmamızın sonuçlar karşılaştırılmıştır (58).

Tablo 9. Çeşitli ülkelerde yapılan çalışmalardaki anne sütlerinin Fe konsantrasyonları

| Ülke | Konsantrasyonlar (mg/l) Fe |
|-------------------|---------------------------------------------|
| Australya | 0.46 |
| Almanya | 0.43 |
| Honduras | 0.21 ± 0.25 |
| İran | 0.43±0.04 |
| İtalya | 0.881 |
| Kuveyt | 0.33 – 0.70 |
| İsveç | 0.50 ± 0.12 |
| Tayvan | 0.25 ± 0.03 |
| USA | 0.29 ± 0.21 |
| alışmamız | 0.172(0.036-0.298) |

Ülkemizde anne sütündeki demir miktarının ölçüldüğu sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Karakırılmaz ve ark. (59) laktasyonun 2-36. haftaları arasındaki 89 annenin sütlerindeki demir miktarı üzerinde yaptıkları çalışmada anne sütü demir dağılım aralığını 0.96-0.2 µg/ml olarak tespit etmişlerdir. Ergül ve ark. (56) yaptığı çalışmada anne sütünde demir düzeyi kolostrumda 1.36(0.44-11.60)mg/L, geçiş sütünde 1.11(0.11-0.63) mg/L ve olgun sütte 1.21(0.18-11.21) mg/L olarak bulunmuştur. Gerek diğer ülkelerde gerekse ülkemizde yapılan çalışmalar göz önüne alındığında bizim

çalışmamızda anne sütündeki demir konsantrasyonu diğer çalışmalarla farklılık göstermekteydi. Anne sütündeki demir konsantrasyonu hakkında farklı ülkelerde hatta aynı ülkede yapılmış olan çalışmalarda dahi birbirinden farklı sonuçların bulunması anne sütünün demir konsantrasyonlarında coğrafi farklılığın etkisinin belirgin olduğunu düşündürmektedir. Ayrıca coğrafi etkenler dışında bizim sonuçlarımızın diğer sonuçlardan farklı olmasını çalışmalarda kullanılan metod, mevsimler, laktasyonun süresi, yaş, parite ve sütün alınış zamanı gibi etkenlerden de kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Anne sütüne demir geçişi ile alakalı merak edilen bir diğer konuda gebelik haftasının anne sütüne geçen demir düzeyine etkisi olmuştur. Roseli ve ark. (60) 50 term, 38 preterm bebeğin annelerinin sütlerinin pastörizasyon öncesi ve sonrası demir konsantrasyonları üzerinde yaptıkları çalışmada demir konsantrasyonu açısından preterm ve term anne sütlerinde belirgin bir fark gözlenmemiştir. Benzer şekilde Anderson ve ark. (61) laktasyonun ikinci haftasındaki term ve preterm annelerin sütlerinin karşılaştırıldığı çalışmada annelerin süt demir konsantrasyonları arasında fark olmadığı tespit edilmiştir. Ergül ve ark. (56) çalışmasında da bu çalışmaları destekler nitelikte term ve preterm bebek doğuran annelerin sütlerindeki demir düzeyleri benzer bulunmuştur.

Demir eksikliği yalnızca çocuklarda değil gebeler arasında da yaygındır. Pirinççi ve ark. (62) Elazığ il merkezinde yaşayan gebelerde anemi prevalansını ($Hgb < 11g/dl$) % 42.4 olarak buldular. Karaoglu ve ark. (63) 823 gebe üzerine Malatyada yapmış oldukları bir çalışmada anemi prevalansı ($Hgb < 11g/dl$) %27, demir eksikliği prevalansı ise % 50 olarak tespit edilmiştir. Çalışmamızda ise laktasyondaki annelerin anemi prevalansı bu çalışmalara kıyasla daha düşük, ortalama hemoglobin değerleri daha yüksek tespit edilmesine rağmen demir ve ferritin düzeylerine bakıldığında demir eksikliği prevalansının halen yüksek olduğu dikkat çekmekteydi. Bu durum son yıllarda öncelikli sağlık politikalarından birisi haline gelmiş ve başarılı bir şekilde yürütülmekte olan gebe ve çocuk izlemi programı sayesinde laktasyon dönemindeki annelerde demir eksikliği anemisi düşüş gösterebilir, demir eksikliğinin halen ciddi bir halk sağlığı sorunu olduğu gerçeğini göstermektedir.

Anne sütü üretimi birçok hormonal mekanizma tarafından düzenlenen kompleks bir süreçtir. Son yıllarda annenin nutrisyonel durumunun anne sütü içeriği üzerine etkisini

anlama adına birçok çalışma yapılmıştır. Annenin demir düzeyleri ve süte geçen miktar ile ilgili literatürde birbiri ile çelişen çeşitli yayınlar bulunmaktadır. Marin ve ark. (64) yapmış olduğu bir çalışmada gebelikleri esnasında düzenli demir kullanan annelerin süte geçen demir düzeyinin kullanmayanlara göre daha fazla olduğu gösterilmiştir. Diğer yandan Feeley ve ark. (65) ise demir kullanımı ile süt demiri arasında bir ilişkinin olmadığını gösterdiler. Benzer şekilde Hannan ve ark. (66) yaptığı çalışma ise annenin diyetinde ki demir ile anne sütü demiri arasında bir korelasyon olmadığını göstermiştir. França ve ark. (67) annenin hemoglobin düzeyi ile süte geçen demir miktarı arasındaki ilişkiyi göstermek için yaptıkları çalışmada hemoglobin düzeyi normal ve düşük olan annelerin süt demir konsantrasyonları benzer bulundu. Ayrıca Domellöf ve ark. (68) yaptığı çalışma anne sütünde ki demir konsantrasyonunun annenin mineral durumundan bağımsız olduğunu göstermiştir. Çalışmamızın sonuçları da bu çalışmalarla benzerlik göstermekteydi. Bu çalışmada annenin hemoglobin, demir ve ferritin düzeyi ile anne sütüne geçen demir miktarı arasında bir korelasyonun olmadığı görüldü. Ayrıca annenin hemoglobin, demir ve ferritin düzeylerinin anne sütüne geçen demir miktarı üzerine etkisinin olmadığı sonucuna varıldı. Öyleyse annenin hemoglobin düzeyi, demir deposu ve nutrisyonel durumundan bağımsız bir şekilde anne sütüne geçen demir miktarını bebek lehine düzenleyen mekanizma nedir ?

Meme bezlerinden anne sütüne demir transportu tam olarak anlaşılammıştır. Annenin plasma ve süt demiri arasında bir ilişki olmadığından anne sütüne demir geçişinin pasif difüzyonla olamayacağı ve demirin anne sütüne geçişinin aktif bir süreç olduğu düşünülmektedir. Laktasyon dönemindeki ratlarda yapılan çalışmada transferrin reseptörlerinin meme dokusunda da bulunduğu keşfedilmiş ve bu reseptörlerin meme dokusuna demir transportunda sorumlu oldukları düşünülse de süt demiri ile transferrin arasında bir korelasyon olmadığı görülmüştür. Son zamanlarda keşfedilen ve intestinal demir transportundan sorumlu DMT1 ve ferroprotein 1' in meme bezlerinde de bulunduğu görülmüştür. Bilindiği gibi laktasyonun ilerlemesi ile süt demiri azalmaktadır. Leong W ve, Lonnerdal B. nin yaptıkları hayvan çalışmasında meme dokusunda bulunan DMT1 ve ferroportin 1'in süt demiri ile korelasyon göstererek laktasyonun ilerlemesi ile azaldığı tespit edilmiştir. Bu durum DMT1 ve ferroportin 1'in süte demir geçişinde sorumlu olabileceğini düşündürmüştür (69). Çalışmalar demir eksikliğinde DMT1 proteininin upregule olduğunu ve bu durumun süte demir transportunu artırdığını göstermiştir. Hemoglobin düzeyi düşük olan annelerin sütlerine

neden daha fazla demir geçişi olduğu bu mekanizmayla açıklanabileceği ileri sürölmektedir

Hepsidinin keşfinden sonra demir metabolizması hakkında ki bilgiler güncellenmiştir. Herediter hemokromatozisin çeşitli tiplerinin patogenezinine ışık tutulmuş, inflamasyon anemisinin patofizyolojisine bakış değişmiştir. Günümüzde hepsidin, demir metabolizmasının düzenlenmesindeki temel hormon olarak kabul edilmektedir. Hepsidinin ferroportin ile etkileşime geçerek hücrel demir salınımını düzenlediği bilinmektedir(70). Nemeth ve ark. (71) Hepsidinin ferroportine direkt olarak bağlandığına, bu bağlanmanın ferroportinin internalize olup, yıkılmasına yol açtığına ve ferroportinin hücre membranından kaybının hücrel demir atılımını sonlandırdığına dair bir rapor yayınlamıştır. Ayrıca Brasse-Lagnel ve ark. (72) yaptığı çalışmada hepsidinin DMT1 in bozunmasını hızlandırdığı gösterilmiştir.

Ulukol ve ark. (73) anemisi olan ve olmayan infantlarda hepsidin düzeylerinin karşılaştırıldığı çalışmasında hepsidin düzeylerinin anemisi olan infant grubunda diğer gruba göre daha düşük olduğu gösterilmiştir. Çalışmamızda ise anemisi olan annelerle olmayan annelerin hepsidin düzeylerinde anlamlı bir farkın olmadığı göröldü.

Dallalio ve ark. (74) yaptığı bir çalışmada kemik iliği değerlendirilerek tanımlanan anemisi olan hastalarda serum hepsidin ve ferritin düzeyleri bakılmıştır. Bu çalışmada serum ferritin düzeyi ve hepsidin düzeyi arasında çok güçlü bir ilişki olduğu saptanmıştır. Buna rağmen demir düzeyini ve aneminin derinliğini yansıtan hemoglobin ve serum demiri gibi diğer laboratuvar parametreleri ile serum hepsidin arasında belirgin bir ilişki saptanamamıştır. Tiker ve ark. (75) 16 sağlıklı term ve 26 sağlıklı preterm yenidoğanda yaptıkları çalışmada hepsidin düzeyi ile serum demiri, hemoglobini ve ferritin düzeyi arasında bir ilişki bulunmamıştır.

Gebelik, doğum ve laktasyon bir çok hormonal mekanizma tarafından düzenlenir ve anne için büyük bir stresördür. Hepsidin düzeyi gebelikte artan demir gereksinimine paralel olarak ilk trimesterden itibaren azalmaya başlar ve üçüncü trimesterde en alt seviyeye iner (76). Gebelik boyunca serum demiri ve ferritin düzeyi ile hepsidin arasında pozitif bir korelasyonun olduğu görölmüştür (77). Doğumu takib eden ilk üç gün içerisinde doğumun normal, acil sezaryen ve elektif sezaryen oluşuna göre hepsidin düzeylerinde 3-5 kat artışlar görölmüştür. Hepsidin düzeyinde ki bu artışın psikolojik ve fizyolojik açıdan stresli bir eylem olan doğumda IL-6 gibi birtakım sitokinlerin ve stres

hormonlarının salınımına bağlı olabileceği düşünölmektedir. Ayrıca gebelik boyunca pozitif korelasyon gösteren serum demir, ferritin ve hepsidin düzeyleri arasında doğumdan sonra bir ilişki olmadığı görölmüştür (77). Çalışmamız da ise annelerin hemoglobin ve ferritini ile hepsidin düzeyleri arasında bir ilişki görölmezken serum demiri ile hepsidin arasında negatif bir korelasyonun olduğu dikkat çekmiştir. Ayrıca annelerin hepsidin seviyelerine göre sınıflandırılmasında gruplar arasında hemoglobin, serum demiri ve ferritin yönünden fark görölmemiştir. Tıpkı gebelik ve doğumda olduğu gibi laktasyonunda anne için bir stresör olduğunu ve bu dönemde salınan sitokinler ve değişen hormonal denge nedeniyle laktasyonda ki annelerin demir deposuyla hepsidin düzeylerinin ilişkisiz olabileceğini düşünöyoruz.

Demir metabolizmasının fizyolojisine ve demir metabolizması anormallikleri ile ilişkili hastalıkların fizyolojisine yeni bir bakış açısı getiren hepsidinle ilgili yanıtlanması gereken bir soruda hepsidinin anne sütüne geçen demir miktarı üzerine etkisi olmuştur. Bu konu ile ilgili literatürde daha önce yapılmış bir çalışma bulunmamaktadır. Çalışmamızın sonuçları annelerin hepsidin düzeyleri ile anne sütüne geçen demir miktarı arasında pozitif bir korelasyonun olduğunu göstermiştir. Çalışmamızda hepsidinin süte geçen demir miktarı üzerine etkisini gösteren bir diğer çarpıcı bulguda annelerin hepsidin düzeylerine göre gruplandırılmasında olmuştur. Hepsidin düzeyi yüksek olan annelerin süt demir konsantrasyonları daha yüksek bulunmuştur. Çalışmamız hepsidinin yalnızca intestinal demir emiliminde değil aynı zamanda meme dokusunda da demir regölasyonundan sorumlu olduğunu ve süte geçen demir miktarını artırdığını göstermiştir. Ayrıca daha önce farelerin meme dokusunda tespit edilen ve süt demir konsantrasyonu ile korelasyon gösterdiği bildirilen DMT1 ve ferroportinin süte demir geçişinde etkili olduğu fikrini desteklememektedir. Bu konu ile alakalı insan çalışmasının yapılması uygun olacaktır

Laktoferrin, kolostrumda daha yoğun olmakla birlikte anne sütünün önemli bir bileşinidir. Hem dışı demir bağlayan ve serumda demirin transportunu sağlayan bir protein olan laktoferrin yıllardır bilinmesine rağmen biyolojik işlevleri hakkında bilgilerin sınırlı olduğu bir moleküldür. Yapılan çalışmalarda anne sütü alan bebeklerde mama alanlara göre çok daha az demir eksikliği geliştii gösterilmiştir ve bu etkide laktoferrinin de rol aldığı çeşitli organizmalardaki enterositlerde laktoferrin reseptörlerinin keşfedilmesi ile desteklenmiştir (78,79).

Laktoferrinin gastrointestinal sistemden demir emiliminde ki rolü daha önce yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır. Ancak annenin demir düzeyi ile süte geçen laktoferrin ve laktoferrinin anne sütüne geçen demir düzeyi üzerine etkisi ile ilgili literatüde sınırlı sayıda çalışma vardır.

Demir düzeyi düşük olan annelerin sütlerine geçen laktoferrin düzeyinin düşük olacağı düşünülse de yapılan çalışmalar anne sütü demirinde olduğu gibi anne sütüne geçen laktoferrinin annenin demir deposundan bağımsız olduğunu göstermiştir.

Fransson ve ark. (80) annenin hemoglobin düzeyinin süt laktoferrin düzeyi üzerine etkisini araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada anemisi olan annelerin sütlerinde ki laktoferrin düzeyi daha yüksek bulundu. Ancak bu çalışmada ki vaka sayısı azdı. Diğer yandan Zavaleta ve ark. (81) 1995 yılında anemisi olan ve olamayan anneler üzerinde yaptıkları çalışmada laktasyonun 2. gününde anne sütünde laktoferrin düzeyini anemisi olmayanlarda 6.75 mg/ml (4.1–7.6) anemisi olanlarda ise 5.34 mg/ml (3.6–18.2) olarak buldular. Laktasyonun 30. gününde bu değerlerin 3.67 mg/ml (3.1–6.1) ve 4.34 mg/ml (2.1–5.6) ye gerilediğini belirttiler ve anne hemoglobin düzeyinin süt laktoferrin düzeyine etki etmediği sonucuna vardılar. Shashiraj ve ark. (82) annenin demir durumunun anne sütüne geçen demir ve laktoferrin düzeyi ile ilişkisini tespit etmek için bir çalışma yaptılar. Anneler hemoglobin düzeyleri düşük ve normal oluşuna göre iki gruba ayrıldı. Laktasyonun 1. gününde ve 14. haftasında örnekler karşılaştırıldığında süt laktoferrin düzeyi yönünden gruplar arasında anlamlı bir fark görülmedi. Her iki grupta annelerin hemoglobin, ferritin ve serum demiri ile süt laktoferrin düzeyi arasında bir ilişkinin olmadığı görüldü. Ayrıca bu çalışmada anne sütü demir ile laktoferrin düzeyi arasında bir korelasyonun olmadığı ifade edildi. Çalışmamızın sonuçları da bu çalışmaları destekler nitelikteydi ve anne sütü demiri ile laktoferrin arasında bir ilişki görülmedi. Ayrıca annenin hemoglobin ve demir düzeyi ile laktoferrinin arasında korelasyon görülmezken ferritin ile zayıf korelasyon dikkat çekti. Benzer şekilde laktoferrin düzeyine göre gruplara ayrıldığında da süt demir konsantrasyonu açısından gruplar arasında fark görülmedi

Sonuç olarak özellikle ilk 6 aylık dönemde ki infantlar için vazgeçilmez bir besin ögesi olan anne sütünün salınımı bir çok hormonu ilgilendiren kompleks bir süreçtir. Tüm canlı organizmalar için elzem bir element olan demirin anne sütüne geçişi tam olarak aydınlatılamamıştır. Bizim çalışmamız daha önceki çalışmalarda olduğu gibi annenin

demir durumunun anne sütüne geçen demir ve laktoferrin düzeyini etkilemediğini ve laktoferrinin anne sütüne geçen demir düzeyi üzerine etkisinin olmadığını göstermiştir. Hepsidin keşfi normal demir metabolizmasının fizyolojisine ve demir metabolizma anormallikleri ile ilişkili hastalıkların patofizyolojisine yeni bir bakış açısı getirmiştir. Daha önce hepsidin anne sütüne geçen demir düzeyi ile ilgili çalışma bulunmamaktadır. Bu çalışma hepsidin süt demiri üzerine etkisini gösteren literatürde ki ilk çalışma olduğundan önemlidir ve bu konu ile alakalı bundan sonra yapılacak çalışmalara ışık tutacaktır. Ancak hepsidin ile ilişkili yanıtlanması gereken birçok soru daha vardır. Bu konunun aydınlatılması, hepsidin demirle ilişkili hastalıkların tanı ve tedavisindeki potansiyelinin değerlendirilmesine olanak sağlayacaktır. Bu nedenle daha fazla klinik ve laboratuvar çalışmaları ile elde olan verilerin desteklenmesi ve bu şekilde yeni tanı ve tedavi stratejilerinin geliştirilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Rossi E. Heparin the iron regulatory hormone. *Clin Biochem Rev* 2005;26:47-9
2. Siimes MA, Salmenpera L, Perheentupa J. Exclusive breast-feeding for 9 months: risk of iron deficiency. *J Pediatr* 1984; 104: 196-199
3. Iyer S, Linnardal B. Lactoferrin, lactoferrin receptors and iron metabolism. *Eur J Clin Nutr* 1993;47:232-241
4. Gonzalez-Chavez SA, Arevalo-Gallegos S, Rascón-Cruz Q. Lactoferrin: structure, function and applications. *Int J Antimicrob Agents* 2009; 33: 301-8
5. Domellöf M, Lönnerdal B, Dewey KG, Cohen RJ, Hernell O. Iron, zinc, and copper concentrations in breastmilk are independent of maternal mineral status. *Am J Clin Nutr* 2004;79:111-5
6. Domellöf M, Hernell O. Iron-deficiency anaemia during the first two years of life. *Scand J Nutr* 2002;46:20–30
7. Michaelsen KF, Weaver L, Branca F, Robertson A. Feeding and nutrition of infants and young children. Guidelines for the WHO European region, with emphasis on the former Soviet countries. World Health Organization, 2003
8. Coşkun T. Anne sütü ile beslenme. *Katkı Pediatri Dergisi* 2003;25:163-183
9. Vitolo MR, Valente Soares LM, Carvalho EB, et al. Calcium and magnesium concentrations in mature human milk: influence of calcium intake, age and socioeconomic level. *Arch Latinoam Nutr* 2004;54:118-22
10. Picciano MF, Guthrie HA. Copper, iron, and zinc contents of mature human milk. *Am J Clin Nutr* 1976;29:242-54
11. Saarinen UM, Siimes MA, Dallman PR. Iron absorption in infants: high bioavailability of breast milk iron as indicated by the extrinsic tag method of iron absorption and by the concentration of serum ferritin. *J Pediatr* 1977;91:36-9
12. McMillan JA, Oski FA, Lourie G, Tomarelli RM, Landaw SA. Iron absorption from human milk, simulated human milk, and proprietary formulas. *Pediatrics* 1977;60:896-900.

13. Pizzaro F, Yip R, Dallman PR, Olivares M, Iron status with different infant feeding regimens: relevance to screening and prevention of iron deficiency. *J Pediatr* 1991; 118:687–92
14. Dewey KG, Domellof M, Cohen RJ, Rivera LL, Hernell O, Lonnerdal B. Iron supplementation affects growth and morbidity of breast-fed infants: results of a randomized trial in Sweden and Honduras. *J Nutr* 2002; 132:3249–55.
15. Skikne BS, Flowers CH, Cook JD. Serum transferrin receptor: a quantitative measure of tissue iron deficiency. *Blood* 1990; 75:1870–6
16. Sigman M, Lonnerdal B. Response of rat mammary gland transferrin receptors to maternal dietary iron during pregnancy and lactation. *Am J Clin Nutr* 1990; 52:446–50
17. Abboud S, Haile DJ. A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular metabolism. *J Biol Chem* 2000; 275:19906–12
18. Leong WI, Lonnerdal B. Iron transporters in rat mammary gland: effects of different stages of lactation and maternal iron status. *Am J Clin Nutr* 2005; 81:445–53
19. Kelleher SL, Lonnerdal B. Low vitamin A intake affects milk iron level and iron transporters in rat mammary gland *J Nutr* 2005; 135:27–32
20. Craven CM, Alexander J, Eldridge M, Kushner JP, Bernstein S, Kaplan J. Tissue distribution and clearance kinetics of non transferrin-bound iron in the hypotransferrinemic mouse: a rodent model for hemochromatosis. *Proc Natl Acad Sci* 1987; 84:3457–61
21. Lonnerdal B. Trace element transport in the mammary gland *Annu Rev Nutr* 2007; 27:165-77
22. Lonnerdal B, Iyer S. Lactoferrin: molecular structure and biological function. *Annu Rev Nutr* 1995;15:93–110
23. Aisen P, Leibman A. Lactoferrin and transferrin: a comparative study. *Biochim Biophys Acta* 1972;257:314-23
24. Bullen JJ, Rogers HJ, Leigh L. Iron-binding proteins in milk and resistance to *Escherichia coli* infection in infants. *Br Med J* 1972;1:69-75

25. Wilson DB. Disorders of Iron Metabolism and Sideroblastic Anemia. In: Nathan D.G, Orkin S.H, Gingsburg D, Look T.A. eds. Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood. 6.th edit. W.B Saunders Company, Philadelphia, 2009; 522-42
26. Montgomery RR, Scott JP. Anemias of Inadequate Production. Iron- Deficiency Anemia. In: Behrman RE, Kliegman RM, Jenson HB, eds. Nelson Textbook of Pediatrics. 17.th edit. WB Saunders Company, Philadelphia, 2004; 1614-16
27. Finch CA, Huebers AH. Iron Methabolism. Clin Physio Biochem 1986; 4: 5-10
28. Viteri F. Iron deficiency in children. New possibilities for its control. Pediatrics.1994;53: 49-60
29. Dallman PR. Iron Deficiency and Related Nutritional Anemia. In: Nathan DG, Oski FA(eds). Hematology of Infancy and Childhood W.B. Saunders Company, London. Third Edition, 1987; 274-286
30. Graslund A, Ehrenberg A, Thelander L. Characterisation of the free radical of mammalian ribonucleotide reductase. J Biol Chem 1982; 257: 5711-22
31. Reichard P, Ehrenberg A. Ribonucleotide reductase-A radical enzyme. Science1983; 221:514-19
32. Hoffbrand AV, Ganeshaguru K, Hooton JW, Tattersall MHN. Effect of iron deficiency and desferrioxamine on DNA synthesis in human cells. Br J Haem 1976;33: 517-26
33. Seligman PA, Klausner RD, Huebers HA. Molecular mechanism of iron metabolism. In: Dyson C, editor. Molecular basis of blood diseases. Philadelphia: 1987:219-44
34. Provan D. Mechanisms and management of iron deficiency anaemia. BR J Haematol 1999;105: 19-26
35. Ünal S, Yetkin S. Demir Eksikliği Anemisi. Katkı Pediatri Dergisi 2004;16: 327; 45
36. Andrews NC. The molecular regulation of iron metabolism. Fifth Congress of the European Haematology Association. Birmingham, UK, 2000; Educational Book: 191-96

37. Ian J, Griffin MB, Steven A, Abrams MD. Iron and Breastfeeding. In: Pediatric Clinics of North America W.B. Saunders Company 2001; 48: 48-58
38. Mims MP, Guan Y, Pospisilova D, et al. Identification of a human mutation of DMT1 in a patient with microcytic anemia and iron overload. Blood 2005 ;105:1337-42
39. Hubert N, Hentze W. Previously uncharacterized isoforms of divalent metaltransporter (DMT)-1: implications for regulation and cellular function. Proc Natl Acad Sci 2002; 99: 12345-350
40. Forth W, Rummel W. Iron Absorbtion. Physiol Rev 1973; 53: 724-92
41. Donovan A, Lima CA, Pinkus JL, et al. The iron exporter ferroportin/Slc40a1 is essential for iron homeostasis. Cell Metab 2005;1: 191-200
42. De Domenico I, Ward DM, di Patti MC, et al. Ferroxidase activity is required for the stability of cell surface ferroportin in cells expressing GPIceruloplasmin. EMBO J 2007;26: 2823-31
43. De Domenico I, Ward DM, Langelier C, et al. The molecular mechanism of hepcidin-mediated ferroportin down-regulation. Mol Biol Cell 2007;18: 2569-78
44. Martin AW, Huebers E, Huebers H, Webb J, Finch CA. A mono-sited transferrin from representative deuterostome: the ascidian *Pyura stolonifera* (sub-phylum Urochordata). Blood 1984; 64: 1047-52
45. Ohgami RS, Campagna DR, Greer EL, et al. Identification of a ferrireductase required for efficient transferrin-dependent iron uptake in erythroid cells. Nat Genet 2005;37: 1264-9
46. Aĝaoĝlu L. Kan Hastalıkları. Anemiler In: Neyzi O, Ertuĝrul T. Pediyatri. Nobel Tıp Kitapevleri; İzmir:2002
47. Andrews NC. Disorders of iron metabolism. N Engl J Med 1999; 341:1986- 1995
48. Andrews NC. Iron homeostasis: insights from genetics and animal models. Nat Rev Genet 2000;1: 208-217
49. Sherwood RA, Pippard MJ, Peters TJ. Iron Homeostasis and the assesment of the iron status. Ann Clin Biochem 1998; 35: 693-708

50. Ganz T. Hcpidin and its role in regulating systemic iron metabolism. Hematology Am Soc Hematol Educ Program 2006: 29-35
51. Yalçın SS, Baykan A, Yurdakök K, Yalçın S, Gücüş AI. The factors that affect milk-to-serum ratio for iron during early lactation. J Pediatr Hematol Oncol 2009 ;31:85-90
52. Goldman L, Ausiello D. Cecil Textbook of Medicine(23rd. ed) Saunders Publishers
53. Calvo EB, Gnazo N. Prevalance of Iron Deficiency in Children Aged 9-24 Months from a Large Area of Argentina. Am Jour Clin Nutr 1990; 52:534-540
54. Siimes MA, Vuori E, Kuitunen P. Breast milk iron--a declining concentration during the course of lactation. Acta Paediatr Scand. 1979 ;68:29-31
55. Lauber, Edgar, and Michael Reinhardt. Studies on the quality of breastmilk durind 23 month of lactation in a rural comminity of the ivory cost. Am J Clin NutR 1979; 32.5 :1159-1173
56. Ergül AB, Öztürk AM, Leblebici Z. Erken ve zamanında doğmuş bebeklerin anne sütlerinin çinko, bakır ve demir düzeylerinin karşılaştırılması. Türk Ped Arş 2010;45:272-9
57. Picciano MF, Guthrie HA. Copper, iron, and zinc contents of mature human milk. Am J Clin Nutr 1976;29:242-54.
58. Maru M, Birhanu T, Tessema DA. Calcium, magnesium, iron, zinc and copper, compositions of human milk from populations with cereal and 'enset' based diets. Ethiop J Health Sci 2013; 23:90-7
59. Koksall O, Aksu-Kocaoğlu B, Kayakırılmaz K. Some trace element contents of breast milk in Turkey. Prog Clin Biol Res 1983; 129:227-33
60. Costa RS, do Carmo MG, Saunders C, Jesus EF, Lopes RT, Simabuco SM. Characterization of iron, copper and zinc levels in the colostrum of mothers of term and pre-term infants before and after pasteurization. Int J Food Sci Nutr 2003;54:111-7

61. Mendelson RA, Anderson GH, Bryan MH. Zinc, copper and iron content of milk from mothers of preterm and full-term infants. *Early Hum Dev* 1982;6:145-51
62. Pirinççi E, Açıık Y, Bostancı M, Eren S, Beritanlı H. Elazığ İl Merkezinde Yaşayan Gebelerde Anemi Prevalansı. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi*. 2001;15:449-54
63. Karaoglu L, Pehlivan E, Eğri M, et al. The prevalence of nutritional anemia in pregnancy in an east Anatolian province, Turkey *BMC Public Health* 2010, 10: 329
64. Marin GH, Mestorino N, Errecalde J, Huber B, Uriarte A, Orchueta J. Personalised iron supply for prophylaxis and treatment of pregnant women as a way to ensure normal iron levels in their breast milk. *J Med Life*. 2012 22;5:29-32
65. Feeley RM, Eitenmiller RR, Jones JB Jr, Barnhart H. Copper, iron, and zinc contents of human milk at early stages of lactation. *Am J Clin Nutr* 1983;37:443-8
66. Hannan MA, Faraji B, Tanguma J, Longoria N, Rodriguez RC. Maternal milk concentration of zinc, iron, selenium, and iodine and its relationship to dietary intakes. *Biol Trace Elem Res* 2009 ;127:6-15
67. França EL, Silva VA, Volpato RM, Silva PA, Brune MF, Honorio-França AC. Maternal anemia induces changes in immunological and nutritional components of breast milk. *J Matern Fetal Neonatal Med* 2013;26:1223-7
68. Domellof M, Lonnerdal B, Dewey KG, Cohen RJ, Hernell O. Iron, Zinc and copper concentration in breast milk are independent of maternal mineral status. *Am J Clin Nutr* 2004; 79:111-5
69. Leong W-I, Lonnerdal B. Iron transporters in rat mammary gland: effect of different stages of lactation and maternal iron status. *Am J Clin Nutr* 2005;81:445–53
70. Rossi E. Heparin the iron regulatory hormone. *Clin Biochem Rev* 2005; 26: 47-9
71. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, et al. Heparin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004; 306: 2090-3
72. Brasse-Lagnel C, Karim Z, Letteron P, Bekri S, Bado A, Beaumont C. Intestinal DMT1 cotransporter is down-regulated by heparin via proteasome internalization and degradation. *Gastroenterology* 2011;140:1261-1271

73. Ulukol B, Orhon FS, Hanoluk A, Akar N. Serum pro-hepcidin levels in infants with iron deficiency anaemia *Int Jnl Lab Hem* 2008; 30:546–7
74. Dallalio G, Fleury T, Means RT. Serum hepcidin in clinical specimens. *Br J Haematol* 2003; 122:996-1000
75. Tiker F, Çelik B, Tarcan A, Kılıçdağ H, Özbek N, Gürakan B. Serum prohepcidin levels and relationship with iron parameters in healthy preterm and term newborns *Pediatr Hematol Oncol* 2006 ; 23: 293-7
76. Koenig MD, Tussing-Humphreys L, Day J, Cadwell B, Nemeth E. Hpcidin and iron homeostasis during pregnancy. *Nutrients* 2014 ;6:3062-83.
77. Van Santen S, Kroot J.J, Zijderveld G, Wiegerinck E.T, Spaanderman M.E, Swinkels D.W. The iron regulatory hormone hepcidin is decreased in pregnancy: A prospective longitudinal study. *Clin Chem Lab Med* 2013;51:1395–401
78. Siimes MA, Salmenpera L, Perheentupa J. Exclusive breast-feeding for 9 months: risk of iron deficiency. *J Pediatr* 1984; 104: 196-9
79. Iyer S, Liinnerdal B. Lactoferrin, lactoferrin receptors and iron metabolism. *Eur J Clin Nutr* 1993;47:232-241
80. Fransson GB, Agarwal KN, Gebre-Medhin M, Hambraeus L. Increased breastmilk iron in severe maternal anemia: physiological ‘trapping’ or leakage? *Acta Paediatr Scand* 1985;74:290–1
81. Zavaleta N, Nombera J, Rojas R, Hambraeus L, Gislason J, Lonnerdal B . Iron and lactoferrin in milk of anemic mothers given iron supplements. *Nutr Res* 1995; 15:681–90
82. Shashiraj, Faridi MM, Shingh O, Rusia U. Mother’s iron status, breastmilk iron and lactoferrin are they related *Eur J Clin Nutr* 2006;60:903-8

T.C.
ERCIYES ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ DEKANLIĞI'NA

Dr. Adem DURSUN'a ait "Hepsidin ve Laktoferrinin Anne Sütüne Geçen Demir Düzeyi Üzerine Etkisi" adlı çalışma, jürimiz tarafından Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı'nda **Tıpta Uzmanlık Tezi** olarak kabul edilmiştir.

Tarih:15/10/ 2014

İmza

Başkan : Mehmet Akif Özdemir

Üye : Meda Kondolat

Üye : Yavuzhan Altunor Torun