

T.C.
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
Biyokimya ve Klinik Biyokimya
Anabilimdalı

**DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİSİ VE BETA
TALASEMİ TAŞIYICILARINDA İMMÜN SİSTEM
FONKSİYONLARI**

(Uzmanlık Tezi)

Dr. Metin DEMİR

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Naime CANORUÇ

DİYARBAKIR
2008

ÖNSÖZ

Uzmanlık eğitim süresince yetişmemde büyük katkıları olan ve tez çalışmamın yürütülmesi konusunda yol gösterici, destekleyici olan değerli hocam Prof. Dr. Naime Canoruç'a,

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalında geçirdiğim süre zarfında desteklerini hiç esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Abdurrahman Kaplan, Prof. Dr. Sabri Batun, Doç. Dr. Levent Erdiñç ve diğeri tüm hocalarıma,

Tezimin konusunun saptandığı Beta talasemi taramasında, beraber çalıştığım Yrd. Doç. Dr. Ebru Kale, Dr. Kemal Güneş ve Dr. Serpil Ekinci'ye

Tezimin hazırlık ve yazım aşamasında güler yüzlerini ve yardımlarını hiç eksik etmeyen asistan arkadaşlarıma ve tüm çalışanlara teşekkürlerimi sunarım.

Dr. Metin DEMİR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
İç Kapak	
Önsöz	I
İçindekiler Dizini	II
Şekiller Dizini	IV
Tablolar Dizini	V
Türkçe Özet	VI
İngilizce Özet	VII
1.Giriş ve Amaç	1
2.Genel Bilgiler	3
2.1. Hemoglobin	3
2.2. Talasemi	3
2.3. Demir Eksikliği Anemisi	5
2.4. Demir Metabolizması	5
2.5. Ferritin	6
2.6. Transferrin	7
2.7. Transferrin Reseptörü	7
2.8. Demir Absorpsiyonu	8
2.9. Hephaestin-Hepsidin	9
2.10. Demir Eksikliği Anemisinin Klinik Bulguları	10
2.11. Demir Eksikliği Anemisinde Tanı ve Laboratuvar Bulguları	10
2.12. Genel İmmunoloji	12
2.13. Doğal Bağışıklık	12
2.14. Kazanılmış Bağışıklık	12
2.15. T Hücreleri	13
2.16. İmmünglobulinler	13
2.17. İmmünglobulinlerin Sınıfları	14
2.18. Doku Uyuşumu Karması (MHC)	17
2.19. Sitokinler	18
2.20. İnterlökin-2 ve İnterlökin-2 Reseptör	18
2.21. İnterlökin-6	21
2.22. Demir ve İmmün Fonksiyonlar	21

3. Materyal ve Metod	24
4. Bulgular	26
5. Tartışma	30
6. Sonuç	35
7. Kaynaklar	36

ŞEKİLLER	Sayfa
Şekil 1. Demirin Emilimi.....	9
Şekil 2. IgG Yapısı.....	15
Şekil 3. İnterlökin 2'nin Uyardığı İmmün Sistem Hücreleri.....	19
Şekil 4. IL-2R Etki Mekanizması.....	20
Şekil 5. Hücreyel Demir Metabolizmasının MHC Sınıf II ile İlişkisi.....	22
Şekil 6. Çalışmamızda elde edilen IL-2R düzeyleri.....	28

TABLolar**Sayfa**

Tablo 1. Demir eksikliği anemisi ve talasemi taşıyıcılarında laboratuvar ayırıcı tanısı.....	11
Tablo 2. İmmünglobulinlerin fonksiyonları ve etkileştiği reseptörler.....	17
Tablo 3. Tanımlayıcı istatistik.....	26
Tablo 4. Tüm gruplara ait değerlerin ortalamaları ve Tekyönlü Anova testine göre sonuçları.....	27
Tablo 5. Grup ortalamalarının Dunnet (2 sided) testine göre çoklu karşılaştırma sonuçları.....	28

ÖZET

Demir eksikliği tüm dünyada görülen önemli bir sağlık sorunudur. Demir eksikliğinin önemli bir komplikasyonu da immün sistem üzerine olan etkileridir. Yapılan birçok çalışmada başta hücrel immünite olmak üzere, humoral fonksiyonların bazılarının da etkilendiği belirtilmiştir.

Talasemi dünyada en sık görülen monogenik hastalıktır. Beta talasemi majörde klinik ağır seyretmesine rağmen, beta talasemi minörde klinik bulgu yoktur. Beta talasemi minörde immün sistem fonksiyonlarını araştırmak için yapılan sınırlı sayıda çalışmada ise immün sistem fonksiyonlarının etkilenmediği belirtilmiştir.

Diyarbakır merkez ve ilçelerinde Beta talasemi taşıyıcılığı oranını saptamak amacıyla Şubat-Nisan 2004 tarihleri arasında tarama çalışması yapılmıştır. Tarama sonucunda ilköğretim çağındaki çocuklarda beta talasemi taşıyıcıları ve demir eksikliği anemisi olanlar belirlenmiştir.

Biz de demir eksikliği anemisinin ve beta talasemi taşıyıcılığının immün yanıt üzerine etkilerini araştırmak için IL-2R, IL-6, IgG ve alt gruplarının(IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄) düzeylerine baktık ve kontrol grubu ile karşılaştırdık. Sonuçları değerlendirdiğimizde, IL-2R düzeyi her iki grupta da kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü.

Demir eksikliğinde IL-2R düzeyindeki azalma, daha önce yapılan birçok çalışma ile aynı doğrultudadır ve birçok araştırmacı tarafından tanımlanan hücrel immünitedeki bozukluk IL-2R düzeyindeki düşüklük ile ilişkilendirilebilir.

Talasemi taşıyıcılarında elde edilen IL-2R düzeyindeki azalmanın, yapılacak daha kapsamlı çalışmalarla değerlendirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

ABSTRACT

Iron deficiency is an important health problem in the world. One of the complications of iron deficiency is the effect on immune system. According to the studies the effect of iron deficiency on cellular immune response is more common than humoral immune response.

Thalassemia, is the most common monogenic disease in the world. Beta thalassemia major is clinically serious although beta thalassemia minor is the mild form of the disease. Immune system functions are not affected in the few studies which had done to search the relation between beta thalassemia minor and immune system functions

A screening programme was performed to determine the ratio of beta thalassemia carriers in Diyarbakir and its towns between February-April 2004. According to screening programme the ratio of both beta thalassemia carriers and iron deficiency anemia were determined.

In this study we aimed to determine the effects of beta thalassemia minor and iron deficiency anemia on the immune response, so that we obtained the results of IL-2R, IL-6, IgG and subgroups (IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄) levels and compared them with the control group. The levels of IL-2R were statistically significant for both of two groups.

The decrease of IL-2R in iron deficiency is compatible with the literature that had been reported and associated with the deficiency of cellular immune response.

The decrease of IL-2R in beta thalassemia carriers should be supported with other comprehensive studies.

1. GİRİŞ VE AMAÇ

Sağlıklı kişilerde eritrosit sayısının azalması veya hemoglobin (Hb) konsantrasyonunun o yaş grubu için belirlenen normal değerlerin altına düşmesi anemi olarak tanımlanır. Dünya Sağlık Örgütüne göre gelişmekte olan ülkelerde 5 yaşından küçük çocukların %39'u, 5-14 yaş arası çocukların %48'i, tüm kadınların %42'si anemiktir ve bunların yarısı demir eksikliği anemisidir. Demir eksikliğinin prevalansı incelenen toplumun sosyo-ekonomik durumu, yaşı, beslenme alışkanlıkları, anne sütü ile beslenme süresi kullanılan tanı yöntemlerine göre toplumdaki değişmektedir (15,55).

Demir eksikliğinin kognitif fonksiyonlar, büyüme, endokrin sistem ve nörotransmitter sentezi üzerine etkilerinin yanı sıra, immün sistem üzerine olan etkileri de yapılan insan ve hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Demir eksikliği anemisi ile immün sistem arasındaki ilişkiyi ortaya koymak için yapılan çalışmaların bir kısmında humoral aktivitenin etkilendiği belirtilmişse de (23,19), hücre aracılı immün yanıtın etkilendiğini ortaya koyan çalışma sayısı daha fazladır.

Demir eksikliği olanlarda myeloperoksidaz, bakterisidal aktivite ve NK-hücre aktivitesinde azalma, geç tip hipersensitiviteye T lenfosit yanıtının azalması, T lenfosit ve bununla birlikte CD4⁺ düzeyleri ve CD4:CD8 oranlarının düştüğü bildirilmiştir (40, 41, 22).

Hematopoetik ve immün sistem hücrelerinin büyümesi, gelişmesi, farklılaşması ve aktivasyonunu düzenleyen sitokinlerin fonksiyonlarındaki değişiklikler birçok çalışma ile ortaya konmuştur.

Yapılan bir çok çalışmada demir eksikliği anemisinde IL-2 düzeyinin düştüğü belirtilmiştir (25, 51, 44) ve Scrimshaw ve ark. demir eksikliği ve protein-enerji malnutrasyonun özellikle T hücre, T hücre alt grupları ve interlökin 2 reseptör düzeyinin azalttığını, hücre aracılı ve nonspesifik immünitenin humoral immüniteye göre daha fazla etkilendiğini ortaya koymuşlardır (42). Serum IL-2 düzeyinin düştüğünü bildiren yayınların yanı sıra demir eksikliği anemisinde IL-6 düzeyinin azaldığını bildiren yayınlarda vardır (19).

Talasemi dünyada en sık görülen monogenik hastalıktır. Bir veya daha fazla globin zincir sentezinde azalma sonucunda anormal hemoglobin sentezi, kırmızı

hücrelerde hasar ve farklı globin alt gruplarının fazla miktarda sentezine bağlı olarak oluşan yan etkileriyle karakterize bir hastalıktır.

Beta talasemiler esas olarak iki grupta incelenebilir:

- β^0 talasemi (Beta talasemi major): Beta zincir sentezinde tam bir eksiklik söz konusudur.
- B^+ talasemi (Beta talasemi minör): Beta zincir üretiminde kısmi eksiklik söz konusudur(53).

Beta Talasemi minörde talasemi majorden farklı olarak herhangi bir klinik bulgu bildirilmemiştir. Beta talasemi minörlü çocuklarda immün fonksiyonları incelemek amacıyla yapılan sınırlı sayıda çalışmada, beta talasemi majörlülerin aksine immün sistem fonksiyonlarının etkilenmediği belirtilmiştir (30, 20).

Diyarbakır merkez ve ilçelerinde Beta talasemi taşıyıcılığını oranını saptamak amacıyla Şubat-Nisan 2004 tarihleri arasında tarama çalışması yapılmıştır. Tarama sonucunda ilköğretim çağındaki çocuklarda beta talasemi taşıyıcıları ve demir eksikliği anemisi olanlar belirlenmiştir.

Biz de çalışmamızda demir eksikliği anemisi ve beta talasemi taşıyıcısı olan 9-14 yaş arasındaki vakalarda humoral ve hücrel immün sistem arasındaki bağlantıyı değerlendirmek amacıyla IL-2R ve IL-6 düzeylerini, humoral immüniteyi incelemek için ise IgG ve altgrup (IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄) düzeylerini araştırdık ve bulduğumuz sonuçları aynı yaş grubundan sağlıklı kontrol vakalarından elde edilen değerlerle karşılaştırdık.

2. GENEL BİLGİLER

2.1.Hemoglobin (Hb)

Hemoglobin, iki çift globin polipeptid zincirinden oluşan ve her bir zincire hem grubu bağlanan bir tetramerdir. Normal hemoglobinde iki alfa (α) ve iki non- α globin zincirleri bulunur. Bu zincirler hemoglobin molekülünün kuarterner yapısını oluşturur ve dokulara oksijen taşınmasını sağlamış olur. α globin zincirinde 141 aminoasit, β globin zincirinde ise 146 aminoasit vardır.

İnsan eritroblastları 6 değişik polipeptid zinciri sentezleyebilirler. Bunlar alfa (α), beta (β), gama (γ), delta (δ), epsilon (ϵ) ve zeta'dır (ζ).

β ve β benzeri globinler olan epsilon (ϵ), gama (γ) ve delta (δ) globinleri 11. kromozom üzerindeki genler tarafından sentezlenirken, alfa (α) ve zeta (ζ) globin genleri 16. kromozom üzerinde yer almaktadır.

Gebeliğin erken evrelerinde yolk kesesindeki eritropoez sonucunda Hb Portland (zeta2-gama2), Hb Gower 1 (zeta2-epsilon2), Hb Gower 2 (alfa2-epsilon2) sentezlenirken, gebeliğin 10-11. haftalarında eritropoezin karaciğer ve dalakta başlaması ile embriyonik hemoglobinler kaybolup, HbF (alfa2-gama2) yapımı başlar. 3. trimester sırasında gama(γ) zincir yapımı giderek azalır ve Beta(β) zincirleriyle yer değiştirir.

Normal bir erişkinde yapısal olarak birbirinden farklı 3 hemoglobin vardır. Bunlar HbA(alfa2-beta2), HbF, HbA₂(alfa2-delta2),'dir. Talasemi bu üç farklı hemoglobinin yapısındaki dört ($\alpha,\beta,\delta,\gamma$) farklı globin zincirlerinden bir veya birden fazlasının yapım azlığı veya hiç yapılmamasıdır. Normal yetişkinde major hemoglobin HbA'dır, dolayısıyla, ancak alfa ve beta zincirlerinin sentezindeki patolojiler önemli bir hastalığa yol açabilir (48).

2.2.Talasemi

İnsan hemoglobin polipeptid zincirlerinden bir veya birden fazlasının eksik sentezi sonucu hipokrom anemiye sebep olan, otozomal resesif geçişli bir grup heterojen kalıtsal hastalıklardır. α -talasemide, α -globin zincir sentezi azalmıştır. β talasemi de ise β -globin zincir sentezi yoktur (β^0 -talasemi) veya çok azalmıştır (β^+ talasemi).

Bir globin zincirinin sentezindeki azalma, hemoglobin sentezinde azalmaya yol açabileceği gibi diğer globulin zincirinin sentezindeki artışla ikincil bazı belirtilere de yol açabilir.

2.2.1. Beta Talasemi Major

Her bir 11. kromozom üzerinde iki aynı veya farklı β -talasemi gen mutasyonlarının varlığı sonucu ortaya çıkan klinik durumdur. HbA sentezinin azalması sonucu, dolaşımdaki eritrositler küçük, ince düzensiz ve azalmış hemoglobin içerirler.

Hayatın ikinci 6 ayında teşhis edilebilen kan transfüzyonlarına bağımlı çok ciddi bir hipokromik anemi mevcuttur. B-talasemi geni Akdeniz kıyısındaki ülkelerde sık olarak rastlanır.

2.2.2. Beta Talasemi Minör (Talasemi Trait)

Beta talasemi minör çoğu kez klinik olarak semptom vermeyen, β globin zincirinin sentezini sağlayan genlerdeki tek bir mutasyonu kapsayan heterozigot bir bozukluktur. Aynı yaş ve cinsiyetteki kişilere göre hemoglobin düzeyleri, beta talasemi taşıyıcılarında 1 veya 2 g/dL daha düşük düzeylerde ancak şiddetli hipokromik mikrositik anemide görülebilir. Yaşamın 6. ayından itibaren HbF düzeyleri normal kişilere göre daha yavaş biçimde düşmekle beraber, HbA₂ düzeyleri artmaya başlar. Kırmızı kan hücre sayısı (RBC) artmış veya normaldir. Beta talasemi minör tanısında hemoglobin (Hb), hematokrit (Htc), ortalama eritrosit hacmi (MCV), eritrosit hacim dağılım genişliği (RDW), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH) gibi tam kan parametreleri kullanılabilir. Eritrositler karakteristik olarak hem hipokromik (MCH<26) hem de mikrositiktir (MCV <75). Osmatik frajilite azalmıştır. Periferik yaymada hedef hücreleri, poikilositoz ve bazofilik noktalanma saptanır. Retikulositler normal veya hafifçe artmıştır ve inefektif eritropoezis mevcuttur.

Ayırıcı tanıda demir eksikliği anemisi düşünülmelidir. Tam kan parametrelerinden MCV, demir eksikliği ile beta talasemi taşıyıcılığını birbirinden ayırmak için kullanılan en önemli parametredir. Genel olarak beta talasemi taşıyıcılarında MCV 75 fl'den, hemotokrit ise %30'dan daha düşük düzeylerde. Serbest eritrosit porfirini talasemi taşıyıcılarında düşük, demir eksikliği anemisi

olanlarda ise yüksektir. Serum demir düzeyleri, total demir bağlama kapasitesi ve ferritin düzeyleri de ayırıcı tanıda kullanılmaktadır.

Beta talasemi taşıyıcılığının ayırıcı tanısında en iyi laboratuvar göstergesi HbA₂ düzeyleridir. Beta talasemi taşıyıcılarında HbA₂ düzeyi %3,5 - %7 arasında dağılım göstermektedir ve %1,5 - %3,5 olan normal düzeyin yaklaşık 2 katıdır. HbA₂/HbA₁ oranı normalde 1/40 iken beta talasemi taşıyıcılarında bu oran 1/20'dir.

Beta talasemi taşıyıcılarında beraberinde demir eksikliği anemisi varsa HbA₂ düzeyleri normal aralığa düşebilir. HbF düzeyleri taşıyıcıların yarısında normal aralıkta (<%2) olmakla birlikte artmış düzeylerde de (%2.1-%5) bulunabilir (24).

2.3. Demir Eksikliği Anemisi

Sağlıklı kişilerde eritrosit sayısının azalması veya hemoglobin (Hb) konsantrasyonunun o yaş grubu için belirlenen normal değerlerin altına düşmesi anemi olarak tanımlanır.

Demir eksikliği tanımı hemoglobin yapımı için yeterli miktarda demir bulunmaması durumunu ifade eder. Demir eksikliği anemisi ise bu eksikliğin, o yaş grubu için belirlenen Hb değerlerinin 95. persentilin altına inmesiyle birlikte olan daha ağır şeklidir (15).

Dünya Sağlık Örgütüne göre gelişmekte olan ülkelerde 5 yaşından küçük çocukların %39'u, 5-14 yaş arası çocukların %48'i, tüm kadınların %42'si anemiktir ve bunların yarısı demir eksikliği anemisidir. Yine Dünya Sağlık Örgütüne göre gelişmiş ülkelerde demir eksikliği görülme sıklığı demir eksikliği anemisi görülme sıklığından 2,5 kat fazladır (55).

2 yaşından küçük çocuklarda demir eksikliğinin en önemli nedenleri doğumda demir rezervlerinin yetersizliği, hızlı büyüme sonucu demir ihtiyacının artması, diyetle yetersiz demir alımı ve kan kaybıdır (49). 3-15 yaş çocuklarda ise demir eksikliği, intestinal parazitlerin neden olduğu gastrointestinal sistemdeki gizli kanamalara ve inek sütü ile beslenmeye bağlı olarak ortaya çıkabilir (3).

2.4. Demir metabolizması:

Organizma için esansiyel olan demir, hücrel oksidatif mekanizmalar ve dokulara oksijen taşınması gibi yaşamsal önemi olan birçok olayda yer almaktadır.

Demir vücutta erkekte yaklaşık 45 mg/kg ve kadında da 35mg/kg'dır. Total demirin %60-70'i hemoglobin yapısı içerisinde yer almaktadır. %10 kısmı miyoglobinde, sitokromlarda ve diğer bazı doku enzimlerinde yer alır. Geri kalan %20 - 30'luk bölüm ise depo edilir. Serbest demir hücreler için toksik etki gösterir, bu sebeple organizmadaki birçok dokuda demir ferritin veya hemosiderin adı verilen proteinlerce depolanır.

Plazma transferrine bağlanan demir oranı total demirin %1'inden azdır; fakat demir döngüsündeki rolünden dolayı önemlidir. Transferrine bağlı plazma demirinin %80'i hemoglobin sentezi için kemik iliğine taşınır. Eritropoez için gerekli demir çoğunlukla monosit-makrofaj sisteminden sağlanmaktadır (5).

2.5.Ferritin:

Vücuttaki demirin depo şeklidir. Plazma ferritin düzeyi vücut demir depolarının bir göstergesidir. Ferritinin molekül ağırlığı 440 kD'dur ve H (ağır) ve L (hafif) zincirlerinden oluşur. H alt grubu 182 aminoasit içerir ve geni 11 nolu kromozom üzerindedir. L altgrubu ise 174 aminoasit içerir ve geni 19 nolu kromozom üzerindedir (10). Hücresel demir metabolizmasından sorumlu iki protein olan transferrin reseptörü (TfR) ve ferritinin ekspresyonları, intrasellüler demir tarafından post-transkripsiyonel düzeyde düzenlenir (31). Ferritin sentezi demir düzeyleri arttığı zaman gerçekleşir. Ferritine ait mRNA'nın 5'-ucu yakınında bir demir yanıt elemanı (IRE) bulunur ve demir yanıt elemanı bağlayan protein (IRE-BP) adlı düzenleyici bir proteine bağlanabilmektedir. IRE-BP bağlı demir taşımadığı zaman IRE'ye bağlanır ve translasyonun başlamasını önler. Demir düzeylerinin artıp IRE-BP'nin demir bağladığı zamanlarda bunun yapısı değişir ve ferritin mRNA'sı üzerindeki IRE'ye bağlanamaz. Dolayısı ile mRNA translasyona uğratılır ve ferritin üretilir (45). Retikuloendotelial sistemde hücre içerisinde ferritin birikimi gerçekleşirse, proteinler agregre olarak hemosiderin formunu oluştururlar. Hemosiderin, ferritinin kısmen deproteinize olmuş agregatıdır. Retikuloendotelial sistem hücrelerinde, hem ferritinden hem de hemosiderinden demir salınımı gerçekleşmektedir fakat hemosiderinden gerçekleşen salınım oldukça yavaştır (21).

Serum ferritin düzeyi vücuttaki toplam demir depo düzeyiyle doğru orantılıdır. Dünya sağlık örgütüne göre ferritin 15 µg/dl'den yüksek olmalıdır (54).

Serum ferritin düzeyi 10 µg/L veya daha düşük düzeyde ise bu demir eksikliği anemisi için karakteristiktir. 10–20 µg/L düzeyinde ise anemi olmadan bir demir eksikliği söz konusudur. Fairbanks ve ark'nın. 73 hastada yaptığı bir çalışmada serum ferritin düzeyi 70 µg/L altına düştüğünde kemik iliğindeki demir depolarının azaldığı gösterilmiştir. 50 yaşından büyük erişkinlerde serum ferritin düzeyi 50 µg/L altına düştüğünde, demir eksikliği lehine düşünülmesi gerektiğini belirtmişlerdir (21).

2.6. Transferrin (Tf)

Demirin emilimi, depolanması ve kullanımında, plazma proteini olan transferrin görev alır. Transferin diğer metal iyonları olan Al, Mn, Cu ve Cd taşınmasında da fonksiyon görür fakat demire karşı affinitesi daha yüksektir. Transferrin esas olarak karaciğerde daha az miktarda da beyin, testis ve fetal dokularda sentezlenir. Dolaşımında transferin 3 formda bulunur. Bunlar, demirden serbest form(apo), monoferrik (tek demir bağlayan form) ve diferrik (iki demir bağlayan form) formlardır. Transferrin-demir kompleksi reseptöre bağlanır ve endositoz ile hücre içine alınır. Di-ferrik transferin en yüksek affiniteye sahipken apotransferrin affinitesi en düşüktür.

2.7. Transferrin Reseptörü (TfR)

Transferrin reseptörü, hücrelerin kanda demiri taşıyan protein olan transferrini almasına izin veren, hücre zarlarına yerleşmiş bir proteindir.

İki çeşit transferrin reseptörü vardır. Birbirlerinden bağımsız hücrelerde yer alır ve ekspresyonları doku spesifiktir.

1) TfR1: Reseptör 1'in protein yapısı üç bölümden oluşur:

- a) Sitoplazmik bölüm (61 aminoasitlik amino terminal ucu)
- b) Transmembran bölüm (28 aminoasitlik)
- c) Ekstrasellüler karboksi-terminal bölüm (67 aminoasitlik)

Ekstrasellüler karboksi-terminal bölüme transferrin bağlanır. Transferrin-reseptör 1 özellikle immatür eritrositlerden, plasental dokulardan, karaciğer ve hızlı bölünen hücrelerden eksprese edilir.

2) TfR2:

İkinci transferrin reseptörü TfR-2 ise bir transmembran glikoproteinidir, ekstrasellüler bölümü TfR-1 ile %66 oranında benzerlik taşır. Özellikle karaciğerde yüksek düzeydedir. Demiri bağlar ve hücrel demir alımında rol oynar. Transferrinin, TfR-2 'ye affinitesi TfR-1'den fazladır (5).

Hücre içi demir düzeyleri düşük olduğu zaman transferrin reseptörünün sentezi artar ve hücrenin daha fazla demir alması sağlanır. Transferrin reseptörüne ait mRNA'nın yıkılması, transferrin reseptörü mRNA'sının 3'-ucuna yerleşmiş demir yanıt elemanlarına (IRE) demir yanıt elemanı bağlayıcı proteinin (IRE-BP) bağlanması ile önlenir. Demir düzeyleri yüksek olduğu zaman, IRE-BP demiri bağlar ve mRNA'ya bağlanmaz, mRNA hızla yıkılır ve transferrin reseptörünün sentezini önler (45). Transferine bağlanmayan demir (NTBI=Non transferin bound iron) farklı hücre reseptörlerince alınır veya hidroksi radikal oluşumuna neden olan olayları başlatabilir (5).

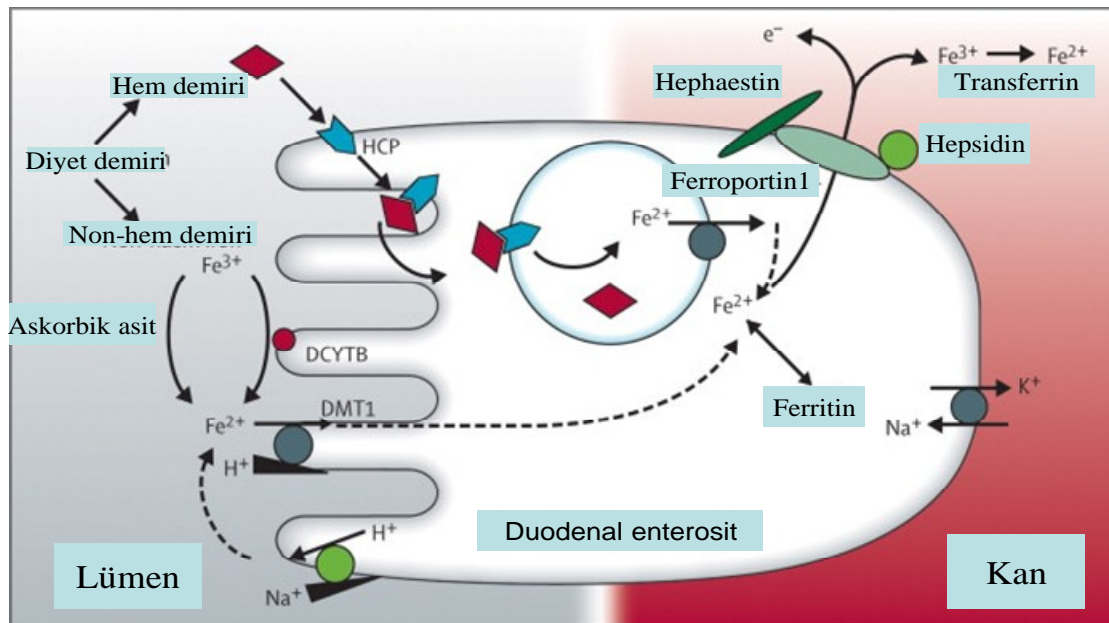
2.8.Demir Absorpsiyonu

Demir vücutta tüm hücreler için gerekli olan esansiyel bir elementtir. Demir esas olarak duodenum ve proksimal jejunumdan emilir. Besinlerle alınan demirin absorpsiyon oranları düşüktür. Kırmızı ette bulunan hem demiri ferröz (Fe^{+2}) formdadır, %30 oranında absorbe edilebilmektedir. Non hem demiri ise ferröz (Fe^{+2}) ve ferrik iyon (Fe^{+3}) içerir ve absorpsiyonu daha düşüktür (%10).

Non- hem demirin dudenumdaki absorpsiyonu, duodenal duvardaki demir transport proteinlerinin aracılığıyla up-down regülasyona uğrayabilir.

Hem demiri, hem demir taşıyıcısı (HCP) tarafından alınır, endositoza uğrar ve Fe^{+2} endozom veya lizozom içerisinde serbest kalır. Non-hem demiri Fe^{+2} ile birlikte Fe^{+3} iyonunu da içerir. Fe^{+3} , lümende askorbik asit, membranda ise duodenal sitokrom B (DCYTB) aracılığıyla Fe^{+2} 'ye indirgenir. Apikal membranda ise asit ortam elektrokimyasal H gradient farkı oluşturur ve divalanan metal-iyon taşıyıcısı (DMT1) ile demir enterosit içerisine taşınır. Bazolateral membranda ferroportin 1 ve hephaestin ile demirin dolaşımdaki transferine aktarımı sağlanır. Karaciğer tarafından sentezlenen Hepsidin ferroportin 1'e bağlanır ve dolaşıma geçen demir

miktarının artmasını sağlar (16). Demirin bağırsaktan emilimi Şekil 1'de gösterilmiştir (56).



Şekil 1. Demirin emilimi

2.9. Hephaestin-hepsidin

Hephaestin yapı olarak seruloplazmine çok benzeyen hücrenin bazolateral membranında yer alan bir proteindir. Bu protein demirin dolaşıma salınmasını ve transferrine bağlanmasını sağlar. Hephaestin bir taşıyıcı değildir fakat demirin taşınmasını kolaylaştırır. Normal demir alımına rağmen hephaestin proteininin yapısı bozuk ise mikrositik anemi gelişir.

Hepsidin ise 25 aminoasitlik disülfidden zengin bir peptiddir, karaciğerde sentezlenir ve plazmaya salınır. Dolaşıma geçen demir miktarının artmasını sağlayan hepsidinin yokluğu demirin aşırı birikimine ve şiddetli demir eksikliği anemisi oluşumuna neden olur. Hepsidindeki mutasyonlar erken dönemde demir yüklenmesine ve juvenil hemakromatozise neden olur (5).

2.10. Demir Eksikliği Anemisinin Klinik Bulguları

Demir eksikliği anemisinde semptomlar spesifik değildir ve yavaş gelişir. Hafif eksiklik durumları genellikle bulgu vermez ancak tarama veya başka amaçlarla yapılan hematolojik çalışmalarla tanı konulur. Ağır vakalarda deri ve mukozalar soluktur, huzursuzluk, anoreksi, gastrointestinal belirtiler, sık tekrarlayan enfeksiyonlar dikkati çeker. Araya giren enfeksiyonlar sonucu splenomegali ve yaygın lenfadenopati olabilir. Ağır anemilerde kalp büyümüş olabilir, sistolik üfürüm, taşikardi bulunabilir. Atrofik glossit, disfaji, kaşık tırnak bulgular arasındadır. Demir eksikliği anemisi vakalarında hücresel bağışıklık bozuklukları görülmekle birlikte düşük kognitif fonksiyonlar, motor fonksiyonların yavaşlaması, davranışsal sorunlar ve sosyal ilişkilerin azalması da görülmektedir (3, 12).

2.11. Demir Eksikliği Anemisinde Tanı ve Laboratuvar Bulguları

Hemoglobin seviyesi düşmüş ve beraberinde mikrositoz var ise demir eksikliği anemisi varlığından şüphelenilir ve tanısı azalmış demir depoları ile konulur. Demir eksikliği anemisi tanısında hemoglobin (Hb), hematokrit (Htc), ortalama eritrosit hacmi (MCV), eritrosit hacim dağılım genişliği (RDW), ortalama eritrosit hemoglobini (MCH), serum demiri (SD), serum demir bağlama kapasitesi (SDBK), transferrin saturasyonu (TS), serum ferritin (SF) ve çinko protoporfirin (ZnPP) düzeyinin belirlenmesi gibi birçok laboratuvar testinden faydalanılmaktadır. Bu testlerden Hb, Htc, MCV, RDW, MCH daha çok tarama amaçlı; SD, SDBK, TS, SF ve ZnPP tanı amaçlı testlerdir (28).

Demir eksikliği anemisinin diğer mikrositik anemi nedenleri ile ayırıcı tanısı yapılmalıdır. Demir depolarının en iyi göstergesi serum ferritin düzeyidir. Demir eksikliği anemisinde azalmış ferritin düzeyleri ile birlikte serum demiri düşük ve total demir bağlama kapasitesi artmış olarak bulunur. Ferritin düzeyleri total demir yüküyle doğru orantılıdır. Bununla birlikte inflamatuvar ve malign olaylarda ferritin sentezi artar ve düşük demir depolarına rağmen yüksek ferritin sonuçları elde edilebilir.

Demir eksikliği anemisinde çinko protoporfirin düzeyi ve spesifik bir test olan TfR düzeyleri artmış bulunabilir. Demir eksikliği anemisi için altın standart

kemik iliği aspirasyonu sonrası yapılan demir boyamasında, demir depolarının boşaldığının gösterilmesidir.

Demir eksikliği anemisi, düşük MCV'nin en sık nedeni olmasına rağmen alfa ve beta talasemi taşıyıcılarında ve daha nadir görülen bazı anemilerde de MCV ve hemoglobin düzeyleri düşmüş olarak bulunabilir. Özellikle alfa ve beta talasemi taşıyıcılığının düşük düzeylerde olduğu toplumlarda düşük 'i demir eksikliği anemisi lehine düşünülebilir.

Bununla birlikte dünyanın bazı bölgelerinde talasemi taşıyıcılığı, demir eksikliği anemisi kadar sık görülmektedir. Bu sebeple MCV'si düşük olan hastalarda ayırıcı tanı daha fazla önem kazanmaktadır (16). Demir eksikliği anemisi ve talasemi taşıyıcılarında laboratuvar ayırıcı tanısı Tablo 1'de gösterilmiştir (4).

Tablo1 : Demir eksikliği anemisi ve talasemi taşıyıcılarında laboratuvar ayırıcı tanısı

Testler	Demir Eksikliği Anemisi	Talasemi Taşıyıcılığı
Serum demiri	↓	N
Serum demir bağlama kapasitesi	↑	N
Serum ferritini	↓	N, ↑
İlik demir depoları	↓	N, ↑
İlik sideroblastları	↓	N, ↑
Serbest eritrosit protoporfirini	↑	N
Hemoglobin A ₂ veya F	N	↑
Eritrosit dağılım genişliği (RDW)	↑	N

2.12.Genel İmmunoloji:

Bağışıklık sisteminin ana işlevi; bakteri, virus, mantar ve parazitler gibi mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonları önlemek veya sınırlamaktır. Mikroorganizmalara karşı ilk savunma çizgisi sağlam bir deri ve müköz zarlardır. Mikroorganizmalar bu çizgiyi aşar ve vücuda girerse bağışıklık sisteminin doğal kolu devreye girer.

Doğal kolun mikroorganizmaları öldürme yeteneği özgül değildir. İleri derecede özgül korunma, bağışıklık sisteminin kazanılmış (uyumcul) kolu tarafından sağlanır (36).

2.13.Doğal Bağışıklık:

Bireyin bir antijene, antijenle temas etmeden önce gösterdiği dirençtir. Özgül değildir.

Doğal bağışıklığın esas bölümleri:

(1) Fiziksel ve kimyasal bariyerler (Epitel ve epitel yüzeyinde oluşan antimikrobiyal maddeler)

(2) Fagositik Hücreler (Nötrofiller,makrofajlar) ve Doğal Katil Hücreler

(3) Kan proteinleri (Kompleman sistemi ve inflamasyonda yer alan diğer elemanlar)

(4) Doğal bağışıklığın birçok aşamasında düzenleyici olarak görev alan sitokinler

Doğal bağışıklıkta bellek yoktur, kazanılmış bağışıklığın aksine organizma ile karşılaştıktan sonra fonksiyonunda gelişme gerçekleşmez.

2.14. Kazanılmış Bağışıklık:

Kazanılmış bağışıklık bir ajanla temastan sonra belirir, yinelenen temaslardan sonra bağışıklık yanıtı daha iyi gerçekleşir ve özgündür.

İki bölümde incelenir.

1)Hücresele bağışıklık (Hücre-aracılı): T lenfositler tarafından gerçekleştirilir.

2)Humoral bağışıklık (Antikor-aracılı): B lenfositler tarafından üretilen antikorlar aracılığıyla gerçekleşir (2).

2.15. T hücreleri:

T hücreleri, yüzeylerinde CD4 veya CD8 proteinlerinden birisini içerirler ve buna göre iki gruba ayrılırlar.

CD4 hücreleri yardımcı T hücreleridir. CD4 T hücreleri, B hücre üzerindeki MHC sınıf II'ye bağlı antijenik peptidleri veya dentritik hücre, makrofaj gibi diğer antijen sunan hücreleri tanırlar. Özgül immünitenin sağlanması için CD4 hücreleri IL-2, IL-4 ve IFN- γ gibi sitokinleri ortama salgırlar.

Yardımcı T hücreleri Th-1 ve Th-2 olmak üzere iki gruptur. Th-1 hücreleri, IL-2 üreterek sitotoksik T hücrelerinin etkinleşmesine ve esas olarak yine IL-2 ve gama interferon üreterek gecikmiş aşırı duyarlılık yanıtının başlamasına yardım ederken, Th-2 hücreleri esas olarak

IL-4 ve IL-5 üreterek B hücrelerine yardımcı işlev görür.

CD8 hücreleri sitotoksik T hücreleridir. MHC sınıf I moleküllerince sunulan antijenik peptidleri tanırlar. Virusla enfekte tümör ve allogreft hücrelerini öldürür. Bunu ya hücre zarlarını yıkan perforinler aracılığıyla veya programlanmış hücre ölümünü (apoptozis) uyararak gerçekleştirirler (13).

2.16. İmmünglobulinler:

İmmünglobulinler, üretimlerini uyarıcı antijen ile özgül tepkime veren globulin proteinleridir. Kan plazmasındaki proteinlerin yaklaşık %20'sini oluşturur. Kanda elektroforezdeki göç hızlarına dayalı olarak alfa, beta ve gama adı verilen üç tip globulin bulunur. Antikorlar gama globulinlerdir. Beş sınıf antikor vardır ve bunlar IgG, IgM, IgA, IgD ve IgE'dir.

İmmünglobulinler hafif (L) ve ağır (H) polipeptid zincirlerinden yapılmış glikoproteinlerdir. 'Hafif'(L) ve 'ağır'(H) deyimleri bu zincirlerin molekül ağırlığını göstermekte olup hafif zincirlerin molekül ağırlığı 25.000 D'dur. Ağır zincirlerin molekül ağırlığı ise 50.000-70.000 D'dur. En basit antikor molekülü Y harfi şeklindedir ve iki H zinciri ile iki L zinciri gibi dört polipeptid zincirinden oluşmuştur. Bu dört zincir birbirlerine disülfid bağlarıyla bağlanmıştır. Tek bir antikor molekülü daima, birbirinin aynı H zincirleri ile birbirinin aynı L zincirlerinden meydana gelir (35).

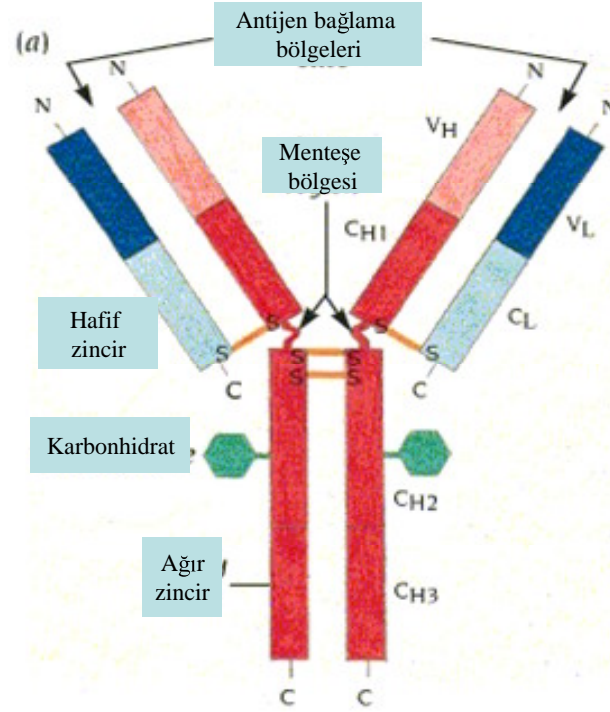
Hem hafif hem ağır zincirler değişken (V) ve sabit (C) bölgeler denilen bölgeler içerir. L ve H zincirlerinin değişken bölgeleri (V_L ve V_H) Y-şeklindeki molekülün her dalında tek bir antijen bağlanma noktası oluşturmak üzere birbirleriyle etkileşir. B hücrelerinin her klonu, değişken bölgesinde bu yanıtı uyandıran antijenin yapısına karşılık gelen farklı bir aminoasit bileşimine sahip bir antikor üretir. Antikorların kendilerine ait özgül antijenler için Kd değerleri çok düşük olduğu için antijen ve antikor çok sıkı bir şekilde bağlanır ve dolaşımdan antijen-antikor karması halinde uzaklaştırılıp makrofajlar tarafından fagosite edilir. Antikorumun Fc kısmını yapan sabit domenler antijen-antikor kompleksinin temizlenmek için fagositik hücrelere bağlanması ve bağışıklık yanıtının diğer unsurları açısından önem taşır (46).

2.17. İmmünglobulinlerin sınıfları

a) İmmünglobulin G (IgG), alt grupları (IgG_1 , IgG_2 , IgG_3 , IgG_4) ve reseptörleri

Her IgG molekülü, birbirlerine disülfid bağlarıyla bağlı iki L zinciri ve iki H zincirinden kuruludur. Birbirinin tıpatıp aynı 2 antijen-bağlama noktasına sahip olduğundan buna iki değerli (divalan) denir. IgG ikincil yanıtı başlatan antikordur ve bakteri ile virüslara karşı önemli bir savunma sağlar ayrıca komplemanı etkinleştirebilen iki immünglobulinden biri olup diğeri de IgM'dir. IgG opsonizasyon yapan immünglobulindir. Fagositlerin yüzeyinde γH zincirine ait almaçlar bulunmasından ötürü IgG opsonizasyon yapabilir yani fagositozu şiddetlendirir. Disülfid bağlarının sayısı ve yeri ile H zincirlerindeki antijenik farklılığa dayalı olarak IgG_1 (%60–70), IgG_2 (%14–20), IgG_3 (%4–8), IgG_4 (%2–6) gibi dört alt sınıf bulunmaktadır (35).

4 zincirde birbirlerine disülfid bağlarıyla bağlıdır. Değişken bölgelerin sonunda birbirinin tıpatıp aynı 2-antijen bağlama noktasına sahiptir. Antijen bağlayan bölgeler bir ağır ve bir hafif zincirin çok değişken bölgelerinden oluşmaktadır. Değişken bölgede ki hem ağır hem de hafif zincirde 3'er tane aşırı değişken bölge bulunur ve bu 6 bölge antijen bağlanma noktasını oluşturur. Şekil 2'de IgG'nin yapısı gösterilmiştir (29).



Şekil 2. IgG yapısı

İnsan IgG₁ ve IgG₃ alt grupları komplemanın klasik yolunu aktive eder. IgG₃ kompleks serum proteinidir, kompleman sistem proteinlerinden C1q molekülüne kolayca bağlanabilmektedir. Patojenlerin ortadan kaldırılmasında ve inflamasyonda yer alır. Kompleman sistemin klasik yolunu tetikleyebilen bu alt-gruplar, etkinlik derecesine göre IgG₃>IgG₁>IgG₂ şeklinde sıralanmaktadır. IgG₄ inaktiftir. İnsanda IgG'nin tüm alt grupları plasentayı geçer ve yeni doğanda pasif immüniteyi sağlar. IgG₁ ve IgG₃ fagositik hücrelerdeki Fc reseptörlerine bağlanarak antijenlerin fagositozunu kolaylaştırmaktadır (52).

IgG'nin bağlandığı reseptörler:

IgG reseptörleri fagositoz, mediatörlerin salınması ve antijen sunumunun genişletilmesi gibi

bir çok fonksiyonların gerçekleşmesinde aracılık eder.

IgG üç tip reseptör tarafından tanınır. Bu reseptörler FcγRI (CD64), FcγRIIa (CD32) ve FcγRIIIa (CD16)'dır.

Fc γ RI (CD64): Monomerik IgG'ye yüksek afinite ile bağlanır ve dağılımı diğer reseptörlere göre daha sınırlıdır. Özellikle mononükleer fagositer hücrelerden salınır ve immün komplekslerin fagositozunda görev alır.

Fc γ RIIa (CD32):Geniş bir dağılımı vardır. Sadece kompleks veya polimerik IgG'ye düşük afinite ile bağlanır. B hücrelerinde, spesifik antikor düzeyleri yükseldiği dönemde, hücre aktivasyonunun düzenlenmesinde görev alır.

Fc γ RIIIa (CD16): Glikolizlenmiş bir reseptördür. Makrofaj, NK hücreler ve bazı T hücrelerinde yer alır. Monomerik IgG ile karşılıklı etkileşime girer.

b) İmmünglobulin M (IgM)

Birincil immun yanıtta ana immünglobulindir. Pentamer halinde bulunduğu için on antijen bağlama noktasına sahiptir. Bu sebeple aglutinasyon, kompleman fiksasyonu ve diğer antikor tepkimelerinde en etkili immünglobulindir. Bakteri ve virüslere karşı savunmada önemlidir. Klasik yolun aktivatörüdür.

c) İmmünglobulin A (IgA):

IgA, kolostrum, tükürük, gözyaşı gibi salgılar ile solunum, sindirim ve üreme kanalı salgılarında bulunan başlıca immünglobulindir. IgA bakteri, virüs gibi mikroorganizmaların muköz zarlara yapışmasını engeller. Her sekretuar IgA molekülü iki H2L2 birimi ile birer molekül J zinciri ve sekretuar yapıtaşı içerir. İnsan serumunda baskın olan form IgA1'dir (%90). Aynı zamanda kolostrum, tükürük, gözyaşı gibi sekresyonlarda total IgA'nın %70-95 IgA1'dir. Bununla birlikte kolonda IgA2 daha yoğundur(%60).

d) İmmünglobulin D (IgD)

Bu immünoglobulinin bilinen bir antikor işlevi yoksa da bir antijen almacı olarak işlev gördüğü düşünülmektedir. Birçok B lenfositin yüzeyinde yer alır. Serumda düşük düzeyde bulunur.

e) İmmünglobulin E (IgE)

IgE iki nedenden dolayı tıbbi önem taşır.

1. Anaflaktik reaksiyona aracılık eder.
2. Bazı parazitlere karşı konak savunmasına katılır.

IgE Fc ϵ RI reseptörüne bağlanır. IgE kompleman fiksasyonu yapmaz ve plasentayı aşmaz.

immüoglobulinlerin fonksiyonları ve etkileştiği reseptörler özetlenmiştir Tablo 2’de belirtilmiştir (52).

Tablo 2. İmmüoglobulinlerin fonksiyonları ve etkileştiği reseptörler

Fonksiyon	İmmüoglobulin									
	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgM	IgA1	IgA2	IgD	IgE	
Kompleman fiksasyon	++	+	+++	-	+++	-	-	-	-	
Plasental geçiş	+	+	+	+	-	-	-	-	-	
Hücre yüzeyindeki bağlandığı reseptörler:										
Mononükleer hücreler	FcγRI	++	-	+++	++	-	-	-	-	
	FcγRIIa	+	+	++	-	-	-	-	-	
	FcγRIIIa	+	-	+	-	-	-	-	-	
	FcμR	-	-	-	-	+	-	-	-	
	FcεRII	-	-	-	-	-			-	++
	FcαR	-	-	-	-	-	++	++	-	-
Nötrofiller	FcγRIIa	+	-	+	-	-	-	-	-	
	FcγRIIIb	+	-	+	-	-	-	-	-	
	FcαR	-	-	-	-	-	++	++	-	-
Mast hücreleri bazofiller	FcεRI	-	-	-	-	-	-	-	+++	

2.18. Doku Uyuşumu Karması (MHC):

İnsan akyuvar antijenleri (HLA) yüksek oranda polimorfik glikoproteinlerdir. HLA proteinlerinden sorumlu genler 6. kromozomun kısa kolu üzerine yerleşmiş büyük doku-uyuşumu karmasında (MHC) kümelenmiştir.

MHC gen bölgesi 3 bölümden oluşur. Sınıf I ve Sınıf II gen bölgeleri doku uyuşumu antijenleri kodlama açısından önemlidir. Bu gen bölgelerinden sentezlenen proteinlerde 2 gruptur.

1)Sınıf I MHC Proteinleri: HLA-A, HLA-B ve HLA-C genleri tarafından kodlanır. Hemen hemen tüm hücre yüzeylerinde bulunur.

2)Sınıf II MHC Proteinleri: HLA-DR, HLA-DQ ve HLA-DP genleri tarafından kodlanır. Dendritik hücreler, endotelial hücreler, monositler, makrofajlar ve aktive T lenfositlerin yüzeyinde bulunur (50).

2.19. Sitokinler:

Sitokinler hematopoetik hücrelerin, inflamatuvar ve immün yanıtın gelişimi ve düzenlenmesinde aracılık eden peptit veya glikoprotein yapıda kimyasal ileti molekülleridir. Birçok hücreden salgılanan ve molekül kütleleri 8-110 kDa arasında bulunan sitokinler, başlıca T hücreleri ve makrofajlar tarafından üretilmektedir.

Organizmada immün yanıtların düzenlenmesi, inflamasyon, hematopoez ve yara iyileşmesi gibi hemen tüm genel sistemik reaksiyonlarda işlev görmektedirler.

2.20. Interlökin-2 (IL-2) ve Interlökin-2 Reseptör (IL-2R)

a) Interlökin-2 (IL-2)

IL-2 esas olarak yardımcı T hücreleri (CD4) tarafından üretilen bir protein olup hem yardımcı (CD4) hem de sitotoksik T hücrelerini (CD8) çoğalmasında yönlendirir.

Antijen ile uyarılan T lenfositleri için IL-2 büyüme faktörüdür bu sebeple T hücre büyüme faktörü olarak da adlandırılır. IL-2 sentezlendiği hücreler üzerine etki gösterir (otokrin büyüme faktörü).

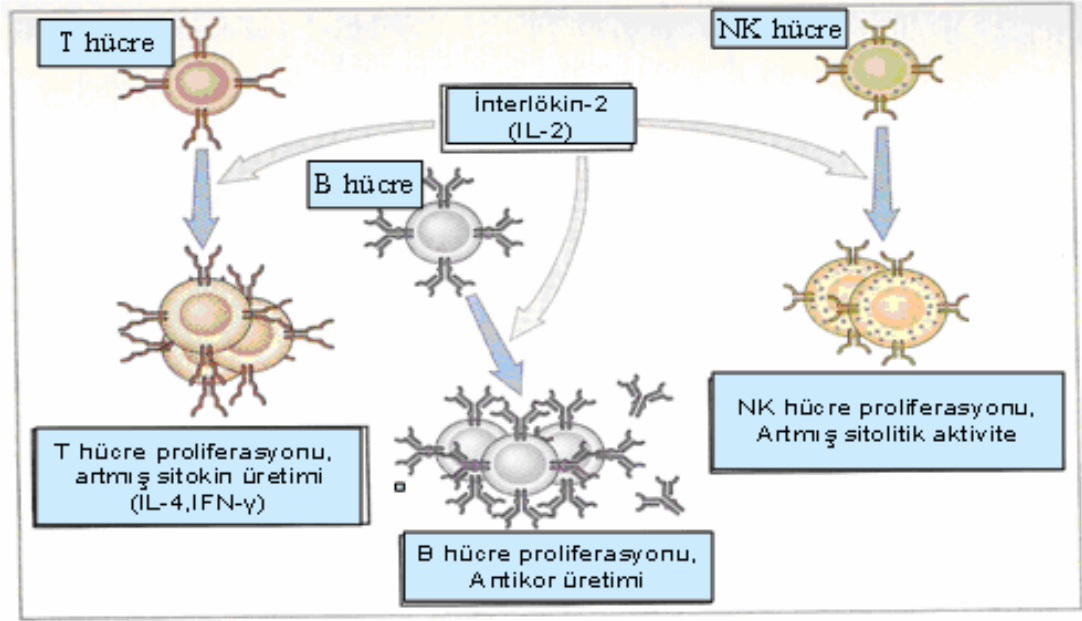
Antijen stimülasyonu ile T hücre aktivasyonu gerçekleşir ve bunun sonucu olarak IL-2 geninin uyarımı sonucu IL-2 sentez ve sekresyonu artar. Sekrete olan IL-2 14-kD -17 kD arasında bir glikoproteindir, katlanarak 4 alfa heliks yapısı oluşturur. Tip 1 sitokin reseptörleriyle etkileşir.

Bağışıklık sistemindeki etkileri:

1)Antijen tanıtımında T hücreleri tarafından salgılanan IL-2, antijen spesifik hücrelerin proliferasyonundan sorumludur.

2)NK, ve B hücreleri gibi diğer immün hücrelerin farklılaşma ve proliferasyonunda artırır.

Şekil 3'de İnterlökin 2'nin uyardığı immün sistem hücreleri gösterilmiştir (1).



Şekil 3. İnterlökin 2'nin uyardığı immün sistem hücreleri

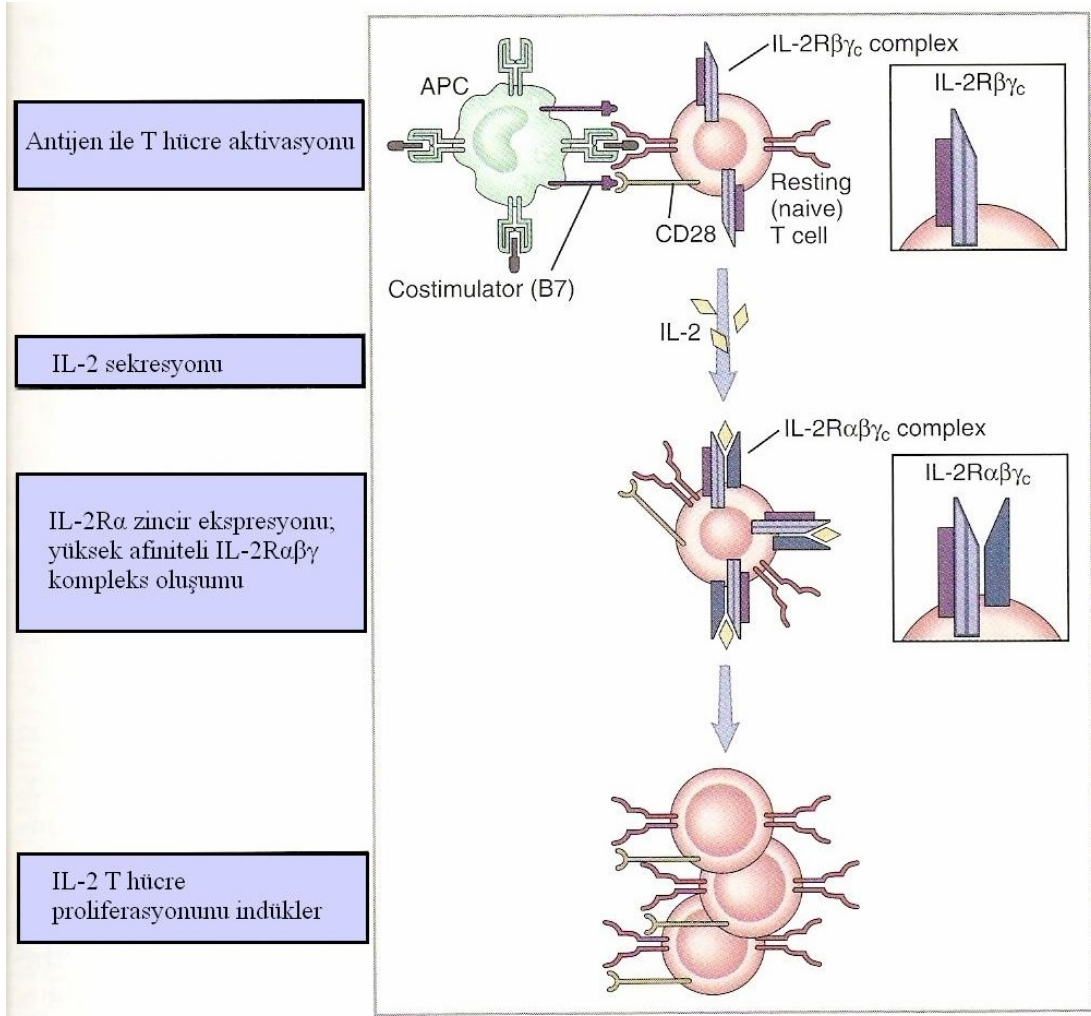
b)İnterlökin-2 Reseptör (IL-2R)

Alfa, beta ve gama proteinlerinin non-kovalent bağlarla birleşmesiyle IL-2R oluşur ve Tip 1 sitokin reseptör ailesindedir. α ve β zincirleri sitokin bağlanmasında yer alırken β ve γ zincirleri sinyal transdüksiyonunda yer alır.

IL-2R α 55 kD'luk bir polipeptittir ve T hücre aktivasyonunda yer alır ve Tac (T aktivasyonu) olarak isimlendirilir. IL-2 tek başına alfa reseptörüne düşük afinite ile bağlanır ve bunun sonucunda saptanan herhangi bir biyolojik aktivasyon yoktur.

IL-2R β proteini diğer T hücrelerinden düşük seviyelerde eksprese olur ve gama zinciri ile ilişkilidir. Gama zinciri, IL-4, IL-7 ve IL-15 gibi sitokinlerin reseptörlerinde de yer alır. Bu sebeple γ c olarak gösterilir.

IL-2R $\beta\gamma$ c kompleksi sinyal transdüksiyonunda yer alır. IL-2R α yokluğunda ise gerekli olan uyarılmayı sağlayacak interlökin konsantrasyon düzeyi artmaktadır. IL-2R etki mekanizması Şekil 4'te gösterilmiştir (1).



Şekil 4.IL-2R etki mekanizması

İnterlökin-2'nin immünolojik aktiviteleri dışında hematopoez üzerinde de minimal düzeyde etkisi vardır. Hematopoez üzerine olan etkileri konusunda çelişkili yayınlar vardır. Bazı yayınlarda IL-2'nin in vitro hematopoetik koloni formasyonu oluşumunda uyarıcı etkisi belirtilmesine rağmen bazı yayınlarda bu etkinin inhibisyon şeklinde meydana geldiği belirtilmiştir. Birçok çalışmada IL-2'nin hematopoez üzerine olan etkisinin ancak kültürde T hücre varlığında gerçekleştiğini ortaya koymaktadır. Ratlara IL-2 verilmesi ekstramedüller hematopoezde bir artış görülmesine neden olmuştur.

IL-2 reseptörü bazı hematopoetik hücrelerden salınır ve bu salınım IL-3 ile indüklenir. IL-2 düzeyi çok düşük olan ratlarda otoimmün hemolitik anemi,

inflamatuvar bağırsak hastalığı ve mitojenlere azalmış T-hücre yanıtı gelişmesine rağmen hematopoetik anormalliklere rastlanmamıştır (43).

2.21. Interlökin-6 (IL-6)

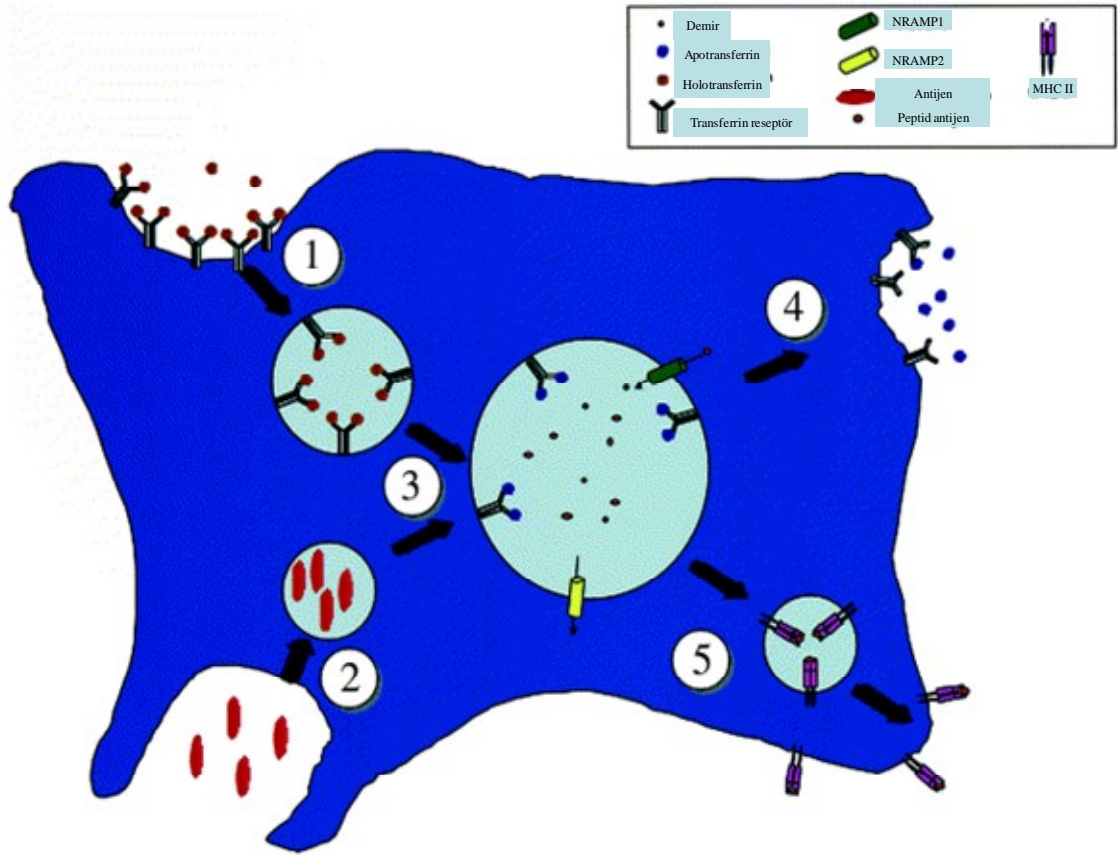
İnterlökin 6, hem doğal hem de kazanılmış bağışıklıkta yer alır. Mononükleer fagositik hücreler, vasküler endotelyal hücreler, fibroblastlar ve başka hücreler tarafından, mikroorganizmalara ve IL-1 ve TNF gibi sitokinlere yanıt olarak sentezlenir. IL-6'nın fonksiyonel formu homodimer yapısındadır ve 4 α -helikal globuler bölümden oluşmuştur. IL-6 doğal bağışık yanıtta, hepatositlerden akut faz reaktanlarının sentezlenmesini ve kemik iliğinden nötrofil yapımını sağlar. Antikor yapımı için farklılaşmış B hücrelerinin büyümesini uyarması da kazanılmış bağışıklıktaki rolüdür. Reseptörü tip 1 sitokin ailesindedir. Reseptör, sitokin bağlayan kısım ve sinyal transdüksiyonu yapan kısım olmak üzere iki bölümden oluşmuştur (1).

IL-6 reseptör heterodimer yapıdadır ve IL-6R α ve gp130'dan oluşur. Çözünebilir formdaki IL-6R α , IL-6 varlığında gp130'u bağlar ve IL-6'ya hücrenin yanıt vermesini sağlar. IL-6 tek başına hücrelerde in vitro hematopoetik aktivite göstermemesine rağmen ratlarda granülosit-makrofaj koloni formasyonunu indükler.

IL-6, IL-3 ve diğer sitokinlerle ortak etki göstererek erken hematopoetik progenitorların proliferasyonunu sağlar. GM-CSF ve M-CSF ile etkileşimi sonucu granülosit ve makrofaj kolonilerin şekillendirilmesinde rol oynar. Diğer megakaryopoetik faktörlerin varlığında IL-6 immatur megakaryositleri aktive eder. IL-6'nın direkt hematopoetik aktivitesi yoktur ve etkisi diğer sitokinlerin uyarılmasına bağlıdır. IL-6 eksikliği olan ratlarda immün yanıt fonksiyonlarında bozukluk vardır. IL-6 myelom hücre proliferasyonunda ve hepatositlerdeki akut faz reaksiyonlarında majör sitokindir (43).

2.22. Demir ve İmmün Fonksiyonlar

Hücrel demir metabolizması MHC sınıf II antijen sunumu ile ilişkilidir. Hücrel demir metabolizmasının MHC sınıf II antijen sunumu ile olan ilişkisi Şekil 5'te gösterilmiştir (9).



Şekil 5. Hücresel demir metabolizmasının MHC sınıf II antijen sunumu ile olan ilişkisi:

- 1) Transferrine bağlı demir hücreye transferrin reseptörü aracılığıyla girer.
- 2) Antijen fagositoz yoluyla hücreye alınır.
- 3) Endozomun asidifikasyonu ile demir transferrinden ayrılır ve NRAMP2 (natural resistance-associated macrophage protein 2) ile endozomdan çıkar. Endozom /fagozom içerisindeki proteazlar ile antijen yıkılır. Demir bu bölüme taşıyıcı NRAMP1 ile de geçiş yapabilir ve oksidasyon reaksiyonları ile antimikrobiyal aktivite ve antijen sunumuna katkıda bulunur.
- 4) Apotransferin ve transferin reseptörleri hücre membranına geri dönerler.
- 5) Peptid antijenleri MHC sınıf II bölümüne transfer olarak MHC moleküllerine yüklenir ve onlarda hücre yüzeyine taşınır (9).

Demir eksikliğinin immün sistemi farklı basamaklarda etkilediği yapılan farklı çalışmalarla ortaya konmuştur.

Demirin, monosit/makrofaj diferansiyasyonunda ve NADPH-bağımlı oksidatif burst hasarı gibi antimikrobiyal mekanizmalarda kofaktör görevi, farklı çalışmalarda gösterilmiştir. (32, 14). Hallquist ve ark. demir eksikliğinde, bakteri fagositozunda bir değişiklik olmadan bakterisidal fonksiyonlarda azalma (27), Spear ve ark. ise hücre içi patojenlerin öldürülmesini sağlayan, demir içeren bir enzim olan myeloperoksidaz aktivitesinin nötrofillerde azaldığını göstermişlerdir (47).

Demir eksikliği anemisinde farklı mitogenlere yanıt olarak T lenfositlerin blastogenez ve mitogenez yanıtının normal olduğunu belirten yayınlar olsa da (11), Beard bu yanıtın azaldığını belirtmiştir (7).

Kuvibidila ve ark. ise yaptıkları hayvan deneylerinde, demir eksikliğinin malnutrisyonun diğer tiplerinden farklı olarak timosit apoptozisinde artışa neden olmadığını (34) fakat timosit alt gruplarında bir değişiklik yapmadan, total timositlerde azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir (33).

Demir eksikliği anemisi sırasında birçok klinisyen demir tedavisi uygulamaktadır. Bununla birlikte birçok mikroorganizma da demir ve çinko gibi iz elementleri konakta patojenitelerini artırmak için kullanmaktadır. Mikrobiyolojik çalışmalarda da bakteriyel virulans ve demir arasındaki ilişki gösterilmiştir. Parenteral demir yerine koyma tedavisi enfeksiyon sırasında uygulanırsa organizma için zararlı olabilmektedir. Bu sebeple aktif enfeksiyon sırasında intravenöz demir tedavisi ertelenmelidir (40).

3.MATERYAL VE METOD

Bu çalışmada demir eksikliği anemisi ve beta talasemi taşıyıcılarında, hücrel ve humoral yanıtın nasıl etkilendiğini araştırmayı amaçladık. Bu nedenle demir eksikliği anemisi, beta talasemi taşıyıcıları ve kontrol grubu olmak üzere üç grup oluşturuldu. Hücrel immün yanıtındaki etkilerini araştırmak için IL-2R, IL-6; humoral yanıtındaki etkileri için ise IgG ve IgG altgrup düzeyleri belirlenip kontrol grubu ile karşılaştırıldı.

Diyarbakır merkez ve ilçelerinde Beta talasemi taşıyıcılığını oranını saptamak amacıyla Şubat-Nisan 2004 tarihleri arasında tarama çalışması yapılmıştır. 9-14 yaş grubu olan ilköğretim çağındaki 10.038 çocuktan, 1 düz tüp ve 2 EDTA'lı tüp olmak üzere 3 tüp kan alınmıştır. Bu tüplerdeki örneklerden öncelikle Abbott Cell-Dyn 3700 cihazında tam kan parametreleri (Hb, Htc, RBC, MCV, MCH) çalışıldı.

MCV<79 olan örneklerde Abbott Aeroset cihazında kolorimetrik yöntemle demir, total demir bağlama kapasitesi (TDBK); Roche E 170 cihazında elektrokemillüminisans yöntemiyle ferritin ve Bio-RAD Variant Hb testing system cihazında HPLC yöntemiyle HbA₂ düzeylerine bakıldı.

HbA₂ değerleri >%3.5 olanlar beta talasemi taşıyıcısı olarak kabul edildi (52).

MCV<79 olan 1013 kişiden, 880'inde nontalasemik mikrositoz, HbA₂ değerleri >%3.5 olan 133 ünde ise beta talasemi taşıyıcılığı saptandı.

Demir eksikliği anemisi olanlar nontalasemik mikrositoz olanlardan Dünya Sağlık Örgütü (WHO) kriterlerine uygun olarak Hb değeri 5-11 yaş grubu için <11.5 g/dl , 12-14 yaş grubu için <12 g/dl ve ferritin <15 µg/dl olan olgulardan seçildi.

Kontrol grubu ise tam kan sayımı normal aralıkta olan olgulardan seçildi (54).

Bu çalışmada bu sonuçlara göre 3 grup oluşturuldu.

- Grup 1:Demir eksikliği anemisi(n=78)
- Grup 2:Beta talasemi taşıyıcılığı(n=91)
- Grup 3:Kontrol grubu(n=37)

Demir eksikliği anemisi olan 78 hastanın; 40'ı erkek, 38'i ise kızdı.

Beta talasemi taşıyıcısı olan 91 hastanın; 56'ısı erkek, 35'i kızdı.

Kontrol grubunda 37 çocuğun; 22'si erkek, 15'i kızdı.

Bu oluşturulan üç grupta IL-2R, IL-6, IgG ve IgG subgrup düzeylerine bakıldı ve bu sonuçlar birbirleriyle karşılaştırıldı.

IL-2R, IL-6 düzeyleri Immulite 1000 cihazında, kemillüminisans immünometrik yöntemle çalışıldı.

IgG ve subgrup düzeyleri ise Beckman-Coulter cihazında nefolometrik yöntemle çalışıldı.

İstatiksel Değerlendirme:

Demir eksikliği anemisi, beta talasemi taşıyıcıları ve kontrol grubu arasında IL-2R, IL-6, IgG ve IgG alt gruplarının(IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄) değerlendirilmesi amacıyla Tek yönlü Anova testi yapıldı. Anlamlı bulunan sonuçlar için ileri değerlendirmeye yönelik Dunnett t (2-sided) testi uygulandı. Hipotezler çift yönlü olup, 0.05 yanılma olasılığı dikkate alındı. İstatistiksel değerlendirmede SPSS 15,0 kullanıldı.

3. BULGULAR

Demir eksikliği anemisi, beta talasemi taşıyıcıları ve kontrol grubunun hematolojik parametrelerinin ortalama değerleri Tablo 3’de verilmiştir:

Tablo 3: Tanımlayıcı istatistik

Hematolojik parametreler	Demir eksikliği anemisi	Beta talasemi taşıyıcısı	Kontrol	
	X±SD	X±SD	X±SD	
WBC(X10 ³ µl)	7.48±1.91	7.47±2.13	7.64±0.86	
RBC	4.90±0.69	5.85±0.47	5.07±0.30	
Hemoglobin(gr/dl)	10.6±1.36	11.58±0.84	14.42±0.95	
Hematokrit(%)	34.88±4.81	36.60±2.61	43.01±2.90	
MCV(fl)	71.76±8.10	62.84±4.76	84.86±2.95	
MCH(pg)	23.12±3.15	19.82±1.82	28.44±1.04	
RDW(%)	17.50±2.57	17.61±1.43	16.02±1.17	
Demir(µg/dl)	32.60±23.91	84.18±37.16		
TDBK(µg/dl)	390.41±64.52	244.30±56.65		
Ferritin(ng/ml)	6.34±3,17	45.66±26.57		
HbA2(%)	2.53±0.60	5.08±0.87		

IL-2R, IL-6, IgG ve IgG alt grupların (IgG₁, IgG₂, IgG₃ ve IgG₄) düzeyleri her üç grupta Oneway Anova testi ile değerlendirildi. Her üç gruba ait IL-2R, IL-6, IgG ve IgG altgrup (IgG₁, IgG₂, IgG₃, IgG₄) değerleri Tablo 4’te gösterilmiştir.

Tablo 4: Tüm gruplara ait değerlerin ortalamaları ve Tekyönlü Anova testine göre sonuçları

	n	X±SD	Min-Max	F	p
IL-2R Fe eks. (U/ml) B-TT	78	803,94 ± 307,11	299–2337	6,154	,003*
Kontrol	91	864,73 ± 307,38	339–1677		
Total	37	1103,51 ± 789,50	399–3520		
Total	206	884,60 ± 444,62	299–3520		
IL-6 Fe eks. (pg/ml) B-TT	63	14,41 ± 13,79	2,02 – 54	1,122	,286
Kontrol	80	13,77 ± 12,28	2,41 – 47,6		
Total	34	13,75 ± 9,84	2,48 – 28,7		
Total	177	13,93 ± 12,35	2,02 – 54		
Ig-G Fe eks. (mg/dl) B-TT	78	1555,22 ± 338,13	897 – 2740	3,789	,024*
Kontrol	91	1670,30 ± 412,10	877- 3100		
Total	37	1518,91 ± 360,80	1030- 2520		
Total	206	1599,53 ± 380,13	877- 3100		
IgG ₁ Fe eks. (mg/dl) B-TT	78	1100,49 ± 305,81	520 – 2020	2,146	,077
Kontrol	91	1122,91 ± 258,22	641 – 1890		
Total	37	1049,65 ± 215,19	508 – 1440		
Total	206	1093,42 ± 271,32	508 – 2020		
IgG ₂ Fe eks. (mg/dl)B-TT	78	270,01 ± 89,20	111 – 482	2,786	,064
Kontrol	91	295,75 ± 103,25	124 – 616		
Total	37	312,05 ± 94,28	153 – 561		
Total	206	288,93 ± 97,38	111 – 616		
IgG ₃ Fe eks. (mg/dl) B-TT	78	101,97 ± 49,05	20,1 – 425,9	1,336	,265
Kontrol	91	116,24 ± 62,94	29,2 – 466,8		
Total	37	105,10 ± 65,81	12,6 – 350,0		
Total	206	108,84 ± 58,72	12,6 – 466,8		
IgG ₄ Fe eks. (mg/dl) B-TT	78	24,62 ± 21,28	2,2 – 87	5,108	,007*
Kontrol	91	39,02 ± 35,65	4,3 – 192,8		
Total	37	36,29 ± 30,30	7,0 – 94,3		
Total	206	33,08 ± 30,56	2,2 – 192,8		

IL-2R, IgG ve IgG₄ için sonuçlar demir eksikliği anemisi ve beta talasemi taşıyıcılarında Tek yönlü Anova testinde kontrol grubuna göre anlamlıydı ($p < 0.05$). Bu parametreler için daha ileri değerlendirmeye yönelik Dunnett t (2-sided) testi yapıldı.

Tablo 5: Grup ortalamalarının Dunnett (2-sided) testine göre çoklu karşılaştırma sonuçları

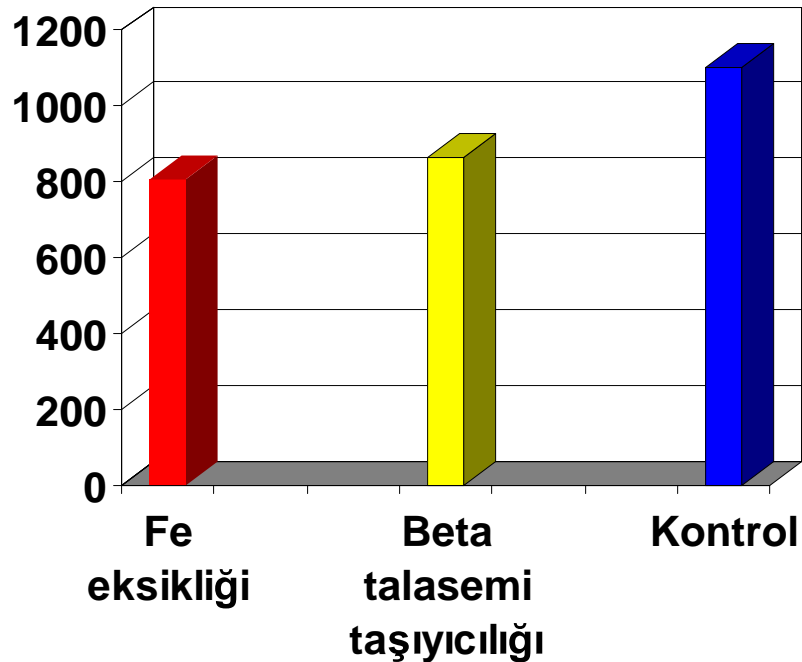
	Gruplar	Ortalama Fark	Standart Hata	p
IL-2R	I-III	-299,58	86,60	,001*
	II-III	-238,79	84,59	,009*
IgG	I-III	71,43	75,92	,506
	II-III	186,51	74,16	,022*
IgG ₄	I-III	-11,662	5,982	,088
	II-III	2,739	5,843	,830

Grup 1:Demir eksikliği anemisi(n=78)

Grup 2:Beta talasemi taşıyıcılığı(n=91)

Grup 3:Kontrol grubu(n=37)

Her 3 gruba ait IL-2R düzeyleri (U/ml) Şekil 6'da gösterilmiştir.



IL-2R, demir eksikliği anemisi olan grupta ortalama $803,94 \pm 307,11$ U/ml, beta talasemi taşıyıcılarında ortalama $864,73 \pm 307,38$ U/ml kontrol grubunda ise ortalama $1103 \pm 789,56$ U/ml idi. Her iki grup ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı derecede düşüktü ($p < 0.05$).

IgG, beta talasemi taşıyıcı grubunda ortalama $1670 \pm 412,10$ mg/dl, demir eksikliği anemisi olan grupta $1555,22 \pm 338,13$ mg/dl kontrol grubunda ise ortalama $1518,91 \pm 360,80$ mg/dl idi. Beta talasemi taşıyıcılarında IgG düzeyi istatistiksel olarak anlamlı derecede yüksekti ($p < 0.05$).

IgG₄, demir eksikliği anemisi grubunda ortalama $24,62 \pm 21,28$ mg/dl, beta talasemi taşıyıcı grubunda ortalama $39,32 \pm 35,65$ mg/dl, kontrol grubunda ise ortalama $36,29 \pm 30,3$ mg/dl idi. Her iki grup ile kontrol grubu arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$).

TARTIŞMA

Demir eksikliği dünyada en sık görülen iz element eksikliğidir. Dünya popülasyonunun %20-50'sinin etkilendiği düşünülmektedir. Bebeklerde, çocuklarda ve doğurgan dönemdeki kadınlarda görülme sıklığı fazladır (55).

Demir eksikliğinin kognitif fonksiyonlar, büyüme, endokrin sistem ve nörotransmitter sentezi üzerine etkilerinin yanı sıra, immün sistem üzerine olan etkileri de yapılan insan ve hayvan çalışmalarında gösterilmiştir. Demir eksikliğinde özellikle hücre aracılı immün yanıtın etkilendiği ortaya konmuştur. Myeloperoksidaz ve bakterisidal aktivitede azalmayla birlikte nötrofil aktivitesinde bozukluk ve NK-hücre aktivitesinde azalma (40) geç tip hipersensitiviteye (DTH) T lenfosit yanıtının azalması ve polimorfonükleer lökositlerin bakterisidal aktivitesinin azalması bildirilmiştir (22). Yine demir eksikliği anemili hastalarda yapılan başka bir çalışmada tedavi öncesi ve sonrası T ve B lenfosit yüzdeleri değerlendirilmiş ve tedavi sonrası T lenfosit oranlarında anlamlı derecede bir artış görülürken B lenfosit oranlarında her hangi bir farklılık olmamıştır. Tuberkülün deri testinin yine tedavi sonrası düzeldiği belirtilmiştir (39). Başka bir çalışmada ise; serum immünglobulin konsantrasyonları ve salgısal IgA normal aralıkta bulunmuş fakat C3 konsantrasyonları artmıştır. Nötrofil fonksiyonları ile ilgili yapılan testlerde ise bakterisidal fonksiyonun azaldığı ve kemotaktik aktivitenin arttığı saptanmıştır (38). T lenfosit düzeyleri, CD4⁺ ve CD8⁺ alt grupları ve CD4:CD8 oranlarının değerlendirildiği bir çalışmada ise T lenfosit ve bununla birlikte CD4⁺ düzeyleri ve CD4:CD8 oranı demir eksikliği olan grupta anlamlı derecede düşük bulunmuştur. Böylece bu çalışma ile Çocuklarda demir eksikliğinde T hücre alt gruplarında ki değişiklik hemotolojik ve immünolojik sistemler arasındaki ilişki ortaya konmuştur (41).

Dhur ve arkının. yaptığı çalışmada ise, demir eksikliği olan insanlarda ve ratlarda hücrel immünitenin etkilendiği, humoral immünitenin ise yalnız farelerde etkilendiğini belirtmişlerdir. Ratlarda bakterisidal aktivite ve natural killer hücre aktivasyonu ile birlikte lenfosit üretimi de azalmıştır (17).

Genel olarak demir eksikliğinde hücrel immün yanıtın humoral yanıtla göre daha fazla etkilendiği ortaya konmuşsa da (17, 22, 42, 6, 26) bazı çalışmalarda humoral aktivitenin de etkilendiği belirtilmiştir.

Feng XB ve ark. yaptığı çalışmada demir eksikliği olan 47 vakada IgG subgrupları ve 18 vakada pnömokokkal polisakkaridlere karşı antikorlar (PnPs)değerlendirilmiştir. Kontrol grubuyla yapılan karşılaştırmada demir eksikliği bulunan grupta serum IgG₄ ve IgG₁ ve. PnPs'ye spesifik IgG₁ ve IgG₂ antikorları düşük düzeyde bulunmuştur. Sonuçta demir eksikliği anemisi olan çocuklarda ki artmış tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonlarının bu sonuçlarla ilişkilendirilebileceğini belirtmişlerdir (23).

Ekiz ve ark. yaptığı çalışmada IgG₄ düzeyini demir eksikliği anemisi olan grupta anlamlı derecede düşük bulmuşlardır (19).

Talasemi dünyada en sık görülen monogenik hastalıktır. Bir veya daha fazla globin zincir sentezinde azalma sonucunda anormal hemoglobin sentezi, kırmızı hücrelerde hasar ve farklı globin alt gruplarının fazla miktarda sentezine bağlı olarak oluşan yan etkileriyle karakterize bir hastalıktır. Beta talasemiler esas olarak iki grupta incelenebilir:

- β^0 talasemi: Beta zincir sentezinde tam bir eksiklik söz konusudur.
- B^+ talasemi: Beta zincir üretiminde kısmi eksiklik söz konusudur.

Beta talasemi majorde doğumda normal bebeklerde genellikle üç aylıktan sonra anemi belirir ve Hb düzeyleri ilk altı ay ve bir yıl arasında transfüzyon gerektirecek düzeylere iner. Klinikte sıklıkla hepatosplenomegali ve anemi görülür. Uygun transfüzyon yapılmayan hastalarda immün sistemi de içine alan birçok klinik bulgu ortaya çıkar.

Beta talasemi minörde klinik bir bulgu yoktur ve anormallik rutin kontrollerde tam kan sayımı ile ortaya çıkar. Çoğunlukla gebelik veya ciddi enfeksiyon gibi stres yaratan durumlarda aneminin şiddetinin artmasına bağlı olarak da tanısı konabilir. Bazı talasemi minörlü hastalarda demir depoları artmıştır, bunun esas sebebi de var olan mikrositik aneminin demir eksikliği olarak düşünülüp, demir tedavisi uygulanmasından kaynaklanır(53).

Biz bu çalışmada demir eksikliği anemisi ve beta talasemi taşıyıcılarında hücrel ve humoral immün yanıtın nasıl etkilendiğini araştırdık. Bu amaçla demir

eksikliği anemisi, beta talasemi taşıyıcıları ve kontrol grubu olmak üzere üç grup oluşturup hücresele immün yanıtta ki etkilerini araştırmak için IL-2R, IL-6 humoral yanıtta ki etkileri için ise IgG ve IgG altgrup düzeylerini belirleyip, kontrol grubu ile karşılaştırdık.

Hücresele yanıtta yer alan IL-2R düzeyini, serumda, demir eksikliği anemisi olan grupta kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulduk. Humoral yanıtta yer alan Immünglobulin G ve alt grupları ile kontrol grubu arasında ise anlamlı bir fark yoktu. Demir eksikliği anemisinde sitokinlerle ilgili yapılan çalışmalarda bizim çalışmamıza benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Scrimshaw ve ark. demir eksikliği ve protein-enerji malnutrisyonun, immünglobulin düzeylerini, lenfosit, interferon, kompleman formasyonunu düşürdüğünü, fakat özellikle T hücre, T hücre alt grupları ve interlökin 2 reseptör düzeyinin azalttığını belirtmişlerdir. Sonuç olarak da demir eksikliği ve protein-enerji malnutrisyonun da hücre aracılı ve nonspesifik immünitinin humoral immüniteye göre daha fazla etkilendiğini ortaya koymuşlardır (42).

Galan ve ark. 53 demir eksikliği olan ve 28'i kontrol grubu olmak üzere 81 çocukta yaptığı çalışmada fitohemaglutinin (PHA) ile aktive edilmiş ve edilmemiş T lenfositlerden IL-2 salgılanmasını ölçmüşlerdir. PHA ile uyarım gerçekleşmediği müddetçe iki grup arasında IL-2 üretiminde herhangi bir farklılığın bulunmadığını saptamışlardır. Çalışmanın devamında PHA ile lenfosit stimülasyonu ile IL-2 üretimi ve bununla birlikte stimülasyon indeksi demir eksikliği olan grupta anlamlı derecede düşük bulmuşlardır. Aktive lenfositlerin IL-2 üretimindeki bu düşüklüğünün özellikle hücresele immün yanıtın yetersizliğinden dolayı oluşabileceğini belirtmişlerdir (25).

Thiabault ve ark. 81 çocukta yaptığı in vitro çalışmada, demir eksikliği bulunan grupta lenfositlerin daha düşük oranda IL-2 ürettiğini ortaya koymuşlardır. Çalışma grubuna 2 ay süresince demir tedavisi uygulanmış; MCV, serum ferritin ve serum transferrin düzeylerinde artış olmasına rağmen T hücre aracılı immün yanıt parametrelerinde herhangi bir değişiklik olmamıştır. Sonuç olarak demir eksikliğindeki, T hücre aracılı immün yanıtın eksikliğinden düşük IL-2 düzeylerinin sorumlu olduğunu düşünmüşlerdir (51).

Sipahi ve ark. yaptığı çalışmada; demir eksikliği anemisi olan 25 çocukta tedavi öncesi ve sonrası interlökin-2 ve interlökin-6 düzeylerine bakılmıştır. IL-2 düzeyleri kontrol gruplarından anlamlı derecede düşük ($P<.001$) ve demir yüklemesinden sonra normal düzeylere ulaşmıştır. Interlökin-6 düzeylerinde ise; tedavi öncesi ve sonrası anlamlı derecede fark olmadığını ($P>.05$) belirtmişlerdir (44).

Bergman ve ark. yaptığı in vitro çalışmada ise, demir eksikliği anemisi olan grupta tedavi öncesi ve sonrası dönemde periferik kan mononükleer hücrelerinin (PBMC) ürettiği IL-1beta, IL-6, IL-10, TNFalfa düzeylerine, bakılmış ve kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. Demir eksikliği anemisi olanlarda IL-2 düzeyleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olmasına rağmen diğer değişkenlerde istatistiksel olarak önemli bir fark yoktu. Demir eksikliği anemisindeki bazı enfeksiyonlara karşı artan duyarlılığın, IL-2 düzeyindeki bu düşüklük ile ilişkili olabileceğini belirtmişlerdir (8).

Tüm bu çalışmalarda serum IL-2 düzeyinin düştüğünü bildiren yayınların yanı sıra demir eksikliği anemisinde IL-6 düzeyinin azaldığını bildiren yayınlarda vardır.

Ekiz ve arkının.32 demir eksikliği, 29 sağlıklı çocukta yaptığı çalışmada T lenfosit subgruplarında anlamlı derecede fark olmamasına rağmen IL-6 düzeylerinin demir eksikliği grubunda kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olduğu ($P<0.001$) bulunmuştur (19). Bizim çalışmamızda, IL-2R düzeyini demir eksikliği anemisi olan grupta anlamlı derecede düşük bulundu oysa Liu W ve ark'nın. yaptıkları çalışmada farklı sonuçlar ortaya çıkmıştır. Tekrarlayan solunum yolu enfeksiyonu olan, 63 demir eksikliği anemili çocukta yaptıkları çalışmada, IL-2 aktivitesi CD3 ve CD4 hücreleri ve $CD4^+/CD8^+$ oranları anlamlı derecede düşük ($P<0.01$), sIL-2R düzeyini ise kontrol grubundan anlamlı derecede yüksek bulunmuştur ($P<0.01$). $CD8^+$ hücrelerinde ise anlamlı bir değişiklik tespit edilmemiştir. Sonuç olarak tekrarlayan solunum enfeksiyonu olan demir eksikliği anemili çocuklarda hücrel immün yanıtın bozulduğunu belirtmişlerdir (37).

Beta Talasemi minörde talasemi majorden farklı olarak herhangi bir klinik bulgu bildirilmemiştir. Yaptığımız bu çalışmada demir eksikliğinin yanı sıra beta talasemi taşıyıcılarında da immün sistemde olası değişiklikleri değerlendirebilmek

için IL-2R, IL-6, IgG ve alt grup düzeylerine baktık. Demir eksikliği anemisinde olduğu gibi Beta talasemi minörlü olgularda da IL-2R düzeyi kontrol grubundan anlamlı derecede düşük bulduk. IgG düzeyleri ise beta talasemi taşıyıcılarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede yüksekti.

Khalifa ve ark'nın. 35 beta talasemi majorlü ve 12 beta talasemi taşıyıcısı çocukta yaptığı çalışmada T hücre ortalama sayısının beta talasemi majorlü çocuklarda azalmasına rağmen beta talasemi taşıyıcılarında değişiklik olmadığını ortaya koymuşlardır (30).

Ezer ve ark'nın. 38 beta talasemi majorlü, 12 beta talasemi taşıyıcısı ve 17 sağlıklı çocukta immün fonksiyonları araştırmak amacıyla yaptığı çalışmada CD4⁺/CD8⁺ oranlarının yalnız beta talasemi majorlü grupta azaldığı görülmüş, absolu ve aktive T lenfosit sayısında ve humoral immünitede herhangi bir farklılık bulunmamıştır (20).

Beta talasemi taşıyıcılarında yapılan az sayıdaki çalışmalarda hücrel ve humoral düzeyde ki immün yanıtta herhangi bir değişiklik olmadığı ortaya konmuştur. Bizim yaptığımız çalışmada ise IL-2R düzeyi anlamlı derecede düşük, IgG düzeyleri ise anlamlı derecede yüksekti.

IL-2'nin antijen spesifik hücrelerin proliferasyonundan ve NK, LAK ve B hücreleri gibi diğer immün hücrelerin farklılaşma ve proliferasyonundan sorumlu olduğu göz önüne alınırsa talasemi taşıyıcılarında da hücrel immün fonksiyonların etkilenebileceği söylenebilir (1).

Bütün bulgularımız ve diğer çalışmaların sonuçları göz önüne alındığında demir eksikliğinde, immün fonksiyonlarda meydana gelen değişikliklerden, hücre aracılı immün yanıtta ve immünolojik mekanizmalarda önemli role sahip olan sitokinlerin rol oynadığı söylenebilir. Demir eksikliği anemisinin ülkemiz için önemli bir sorun olduğu için, demir eksikliğinin sitokinlerle ve hücrel tip immün yetmezlikle olan ilişkisi, önemini daha da artırmaktadır.

Beta talasemi taşıyıcılarında ise bulduğumuz sonuçlarla ilgili daha önce yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır, bu çalışmanın beta talasemi taşıyıcılarında yapılacak daha kapsamlı çalışmalarla değerlendirilmesi gerektiğini ve beta talasemi taşıyıcılarında klinik ve laboratuvar bulgularının ne derecede etkilendiği ve immün sistemdeki olası değişikliklerin daha iyi değerlendirilebileceğini düşünmekteyiz.

6. SONUÇ

Biz bu çalışmada demir eksikliği anemisi ve beta talasemi taşıyıcılarında hücrel ve humoral immün yanıtın nasıl etkilendiğini araştırdık

Hücrel yanıtta yer alan IL-2R düzeyi, hem demir eksikliği anemisi olan grupta hem de beta talasemi taşıyıcılarında kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük bulduk.

Bütün bulgularımız ve diğer çalışmaların sonuçları göz önüne alındığında demir eksikliğinde, immün fonksiyonlarda meydana gelen değişikliklerden, hücre aracılı immün yanıtta ve immünolojik mekanizmalarda önemli role sahip olan sitokinlerin rol oynadığı söylenebilir.

Beta talasemi taşıyıcılarında ise bulduğumuz sonuçlarla ilgili daha önce yapılmış bir çalışmaya rastlanmamıştır, bu çalışmanın beta talasemi taşıyıcılarında yapılacak daha kapsamlı çalışmalarla değerlendirilmesi gerektiğini düşünmekteyiz.

7. KAYNAKLAR

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. Cytokines. In: Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, eds. Cellular and molecular immunology, 4th edn. Philadelphia. W.B Saunders, 2000: 235-269
2. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS. General properties of immune responses. In: Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS, eds. Cellular and molecular immunology, 4th edn. Philadelphia. W.B Saunders, 2000: 3- 16
3. Ağaoğlu L, Gedikoğlu G. In: Anemiler, Neyzi O, Ertuğrul TY, Pediatri 2, İstanbul, Nobel Tıp Kitabevi, 1990, 1080- 1102
4. Androli TE, Carpenter CCJ, Plum F Cecil Essentials of Medicine. Philadelphia, WB Saunders, 1993; 360
5. Atanassova BD, Tzatchev KM. Iron: The dual element. Turk J Biochem ,2007; 32: 135-140
6. Bagchi K, Mohanram M, Reddy V. Humoral immune response in children with iron-deficiency anaemia. Br Med J. 1980 May 24; 280(6226):1249 -1251
7. Beard JL. Iron biology in immune function, muscle metabolism and neuronal functioning. J Nutr 2001; 131: 568- 580
8. Bergman M, Besler H, Salman H, Siomin D, Straussberg R, Djaldetti M. In vitro cytokine production in patients with iron deficiency anemia. Clin Immunol, 2004 Dec; 113(3):340- 344
9. Bowlus CL. The role of iron in T cell development and autoimmunity. Elsevier Science B.V. 2003; 2(2): 73 -78
10. Boyd D, Vecoli C, Belcher DM, Jain SK, Drysdale JW. Structural and functional relationships of human ferritin H and L chains deduced from cDNA clones. J. Biol. Chem. , 1985; 260:11755- 1761
11. Canonne-Hergaux F, Gruenheid S, Govoni G, Gros P. The NRAMP 1 protein and its role in resistance to infection and macrophage function. Proc Assoc Am Phys 1999; 111: 283- 289
12. Centers for Disease Control - CDC. Recommendations to prevent and control iron deficiency in the United States. MMWR 1998; 47(RR - 3):1- 36

13. Clayberger C, Krensky AM. T-cell and NK-cell immunity. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, McGlave P eds. Hematology Basic Principles and Practice, 4th edn. Philadelphia:Elsevier, 2005:135- 147
14. Collins HL. The role of iron in infections with intracellular bacteria. Immunol Lett 2003; 85: 193- 195
15. Dallman PR, Yip R, Oski A. Iron deficiency and related nutritional anemias. In: Nathan DG, Oski FA eds. Hematology of Infancy and Childhood. 5th edn. Philadelphia: WB Saunders, 1998: 430- 476
16. Denic S, Agarwal MM. Nutritional iron deficiency: an evolutionary perspective . Elsevier B.V. 2007;23:603- 614
17. Dhur A, Galan P, Hercberg S. Iron status, immune capacity and resistance to infections. Comp. Biochem Physiol A. 1989;94:11-19
18. Farthing M J. Iron and immunity. Acta Paediatr. Scand. Suppl. 1989;361: 44- 52
19. Ekiz C, Agaoglu L, Karakas Z, Gurel N, Yalcın I. The effect of iron deficiency anemia on the function of the immune system. Hematol J, 2005;5(7):579- 583
20. Ezer U, Gülderen F, Culha VK, Akgül N, Gürbüz O. Immunological status of thalassemia syndrome. Pediatr Hematol Oncol. 2002 Jan-Feb; 19(1):51- 58
21. Fairbanks VF, Beutler E. Iron metabolism. In:Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U. Williams Hematology, 6th edn.USA:McGraw-Hill,2001:295-304
22. Farthing M J. Iron and immunity. Acta Paediatr. Scand. Suppl. 1989; 361: 44- 52
23. Feng XB, Yang XQ, Shen J. Influence of iron deficiency on serum IgG subclass and pneumococcal polysaccharides specific IgG subclass antibodies. Chin Med J(Engl). 1994 Nov; 107(11):813- 816
24. Forget BG, Cohen AR. Thalassemia Syndromes. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, McGlave P eds. Hematology Basic Principles and Practice, 4th edn. Philadelphia. Elsevier, 2005:557- 589
25. Galan P, Thibault H, Preziosi P, Hercberg S. Interleukin 2 production in iron-deficient children. Biol Trace Elem Res, 1992 Jan-Mar;32: 421- 426
26. Grosch-Wörner I, Grosse-Wilde H, Bender-Götze C, Schafer KH. Lymphocyte function in children with iron deficiency. Klin Wochenschr. 1984 Nov 15;62(22):1091- 1093

27. Hallquist NA, McNeil LK, Lockwood JF, Sherman AR. Maternal-iron-deficiency effects on peritoneal macrophage and peritoneal natural-killer-cell cytotoxicity in rat pups. *Am J Clin Nutr* 1992; 55: 741- 746
28. Herbert V. Everyone should be tested for iron disorders. *J Am Diet Assoc* 1992; 92: 1502- 1509
29. <http://pps00.cryst.bbk.ac.uk/course/section11/immunog.html>
30. Khalifa AS, Magged Z, Khalil R, Sabri F, Hassan O, el-Alfy M. T cell functions in infants and children with beta-thalassemia. *Acta Haematol*, 1988;79(3):153- 156
31. Klausner RD, Rouault TA, Harford JB. Regulating the fate of mRNA: The control of cellular iron metabolism. Elsevier B.V 1993;72: 19- 28
32. Kramer JL, Baltathakis I, Alcantara OS, Boldt DH. Differentiation of functional dendritic cells and macrophages from human peripheral blood monocyte precursors is dependent on expression of p21 (WAF1/CIP1) and requires iron. *Br J Haematol* 2002; 117: 727–734
33. Kuvibidila S.R. , Dardenne M. , Savino W. and Lepault F., Influence of iron-deficiency anemia on selected thymus functions in mice: thymulin biological activity, T-cell subsets, and thymocyte proliferation. *Am J Clin Nutr* 1990, 51; 228–232
34. Kuvibidila S.R. , Porretta C. , Surendra Baliga B. and Leiva L.E., Reduced thymocyte proliferation but not increased apoptosis as a possible cause of thymus atrophy in iron-deficient mice. *Br J Nutr* 2001, 86; 157–162
35. Levinson W, Jawetz E, Antikorlar. *Tıbbi mikrobiyoloji ve immünoloji*, 6. baskı Ankara. Güneş Kitabevi, 2001: 428- 438
36. Levinson W, Jawetz E, Bağışıklık. *Tıbbi mikrobiyoloji ve immünoloji*, 6. baskı Ankara. Güneş Kitabevi, 2001: 395- 405
37. Liu W, Jiang A, Guo C. Cellular immunity in childhood iron deficiency anemia with recurrent respiratory infections. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*, 1997 Nov;18(11): 566- 567
38. Macdougall LG, Anderson R, McNab GM, Katz J. The immune response in iron-deficient children: Impaired cellular defense mechanisms with altered humoral components. *J Pediatr*, 1975 Jun; 86(6): 833- 843

- 39.** Moraes-de-Souza H, Kerbaux J, Yamamoto M., da- Silva M. P. , dos-Santos MR. Depressed cell-mediated immunity in iron-deficiency anemia due to chronic loss of blood. *Braz. J. Med. Biol. Res.* 1984;17(2): 143- 150
- 40.** Morse CG, High KP. Nutrition, Immunity, and Infection. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R eds. *Principles and Practice of Infectious Diseases*, 6th edn. Philadelphia:Elsevier, 2005: 139-148
- 41.** Mullick S, Rusia U, Sika M, Faridi MA. Impact of iron deficiency anaemia on T lymphocytes and their subsets in children. *Indian J Med Res*, 2006 Dec;124(6): 647-654
- 42.** Scrimshaw NS, San Giovanni JP. Synergism of nutrition, infection, and immunity: an overview. *Am. J. Clin. Nutr.* 1997;66:464S-477S
- 43.** Shaheen M, Broxmeyer HE, . The humoral regulation of hematopoiesis. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, McGlave P eds. *Hematology Basic Principles and Practice*, 4th edn. Philadelphia:Elsevier, 2005: 233-265
- 44.** Sipahi T, Akar N, Eğin Y, Cin S. Serum interleukin-2 and interleukin-6 levels in iron deficiency anemia. *Pediatr Hematol Oncol*, 1998;15(1):69- 73.)
- 45.** Smith C, Marks A, Lieberman M. Gen ifadesinin düzenlenmesi. In: Smith C, Marks A, Lieberman M, eds. *Marks' Temel tıbbi biyokimyası*, 2. baskı. Ankara. Güneş Kitabevi, 2007:274- 296
- 46.** Smith C, Marks A, Lieberman M, Proteinlerde yapı-işlev ilişkileri. In: Smith C, Marks A, Lieberman M, eds. *Marks' Temel tıbbi biyokimyası*, 2. baskı. Ankara. Güneş Kitabevi, 2007: 92- 114
- 47.** Spear AT, Sherman AR. Iron deficiency alters DMBAinduced tumor burden and natural killer cell cytotoxicityrats. *J Nutr* 1992; 122: 46–55
- 48.** Steinberg MH. , Benz EJ, Adewoye HA, Ebert B. Pathobiology of the human erythrocyte and its hemoglobins. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, Silberstein LE, McGlave P eds. *Hematology Basic Principles and Practice*, 4th edn. Philadelphia:Elsevier, 2005: 442- 454
- 49.** Stekel A. Prevention of iron deficiency. In: Stekel A, eds. *Iron nutrition in infancy and childhood*. New York: Raven Press; 1984: 179- 194

50. Sullivan KA, Kipps TJ. Human Leukocyte and Platelet Antigens. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U. Williams Hematology, 6th edn. USA: McGraw-Hill, 2001: 1859- 1870
51. Thiabault H, Galan P, Selz F, Preziosi P, Olivier C, Badoual J, Hercberg S. The immune response in iron-deficient young children: effect of iron supplementation on cell-mediated immunity. Eur J Pediatr, 1993 Feb;152(2): 120- 124
52. Turner M. Antibodies. In: Roitt I, Brostoff J, Male D, eds. Immunology, 6th edn. Edinburgh. Mosby, 2001: 65- 85
53. Weatherall DJ. The Thalassemias. Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U. In: Williams Hematology, 6th edn. USA: McGraw-Hill, 2001: 547- 580
54. World Health Organization. Iron deficiency anemia: Methods of assessing iron status, 2001
55. World Health Organization. Iron deficiency anemia: Prevalence and epidemiology of iron deficiency, 2001
56. Zimmermann MB, Hurrell RF. Nutritional iron deficiency . Elsevier B.V. 2007; 370 (9586) : 511- 520