



T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİ HASTALARINDA *SOD2*(RS4880) VE  
*HMOX-1*(RS2071746) GENLERİNDEKİ POLİMORFİZMLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**PINAR ÇETİNKAYA**

**MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**TIBBİ BİYOLOJİ  
ANABİLİM DALI**

**MERSİN  
AĞUSTOS- 2021**

T.C.  
MERSİN ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİ HASTALARINDA *SOD2*(RS4880) VE  
*HMOX-1*(RS2071746) GENLERİNDEKİ POLİMORFİZMLERİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**PINAR ÇETİNKAYA**

ORCID ID: 0000-0003-4107-0729

**TIBBİ BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Danışman  
PROF. DR. NURCAN ARAS**

Bu tez, Mersin Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından 2021-1-TP2-4147 nolu proje olarak desteklenmiştir.

**MERSİN  
AĞUSTOS- 2021**

## ETİK BEYAN

Mersin Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliğinde belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada,

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlâk kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak kullandığımı,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Mersin Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı,
- Tezin tüm telif haklarını Mersin Üniversitesi'ne devrettiğimi

beyan ederim.

## ETHICAL DECLARATION

This thesis is prepared in accordance with the rules specified in Mersin University Graduate Education Regulation and I declare to comply with the following conditions:

- I have obtained all the information and the documents of the thesis in accordance with the academic rules.
- I presented all the visual, auditory and written information and results in accordance with scientific ethics.
- I refer in accordance with the norms of scientific works about the case of exploitation of others' works.
- I used all of the referred works as the references.
- I did not do any tampering in the used data.
- I did not present any part of this thesis as an other thesis at Mersin University or another university.
- I transfer all copyrights of this thesis to the Mersin University.

25/08/2021



Pınar ÇETİNKAYA

## ÖZET

### DEMİR EKSİKLİĞİ ANEMİ HASTALARINDA *SOD2*(RS4880) VE *HMOX-1*(RS2071746) GENLERİNDEKİ POLİMORFİZMLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Demir eksikliği anemisi (DEA), farklı yaş gruplarındaki bireylerde görülebilen, birçok toplumun önde gelen sağlık sorunları arasında yer alan vücutta yeterli demirin bulunmamasından kaynaklanan bir anemi türüdür. Günümüzde moleküler mekanizması tam olarak aydınlatılmayan bu hastalığın patogeneğinde oksidanlarda artış veya antioksidanlarda azalma sonucu oluşan oksidatif stres olası bir rol oynayan biyokimyasal mekanizmalardan biridir. *SOD2* (Süperoksit dismutaz 2) (rs4880) ve *HMOX1*(Hem oksijenaz1) (rs2071746) genleri oksidatif stresle ilişkili olup antioksidan etkiye sahiptir. Bu bilgilerden yola çıkarak bu çalışmaya Mersin Üniversitesi Hematoloji Bölümüne başvuran demir eksikliği anemisi tanısı alan 45 hasta ve sağlıklı bireylerden oluşan 45 kontrol grubu olmak üzere 90 birey dâhil edilmiştir. Bu bireylerden alınan kan örneklerinden RT-PCR yöntemiyle *SOD2* (rs4880) ve *HMOX-1* (rs2071746) genlerinin polimorfizmlerinin dağılımını araştırmayı amaçladık.

Çalışmamızda *SOD2* (rs4880) polimorfizme ait allel istatistikleri incelendiğinde yabancı A allelinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 56,7 (n=51) iken hasta grubunda % 55,6 (n=50), polimorfik olan G allelinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 43,3 (n=39) iken hasta grubunda % 44,4 (n=40) olarak belirlenmiştir. Gruplara göre allel dağılımları farklılık göstermemektedir (p=0,881). *SOD2* (rs4880) polimorfizmine ait allel oranları ile DEA arasında ilişki olmadığı tespit edilmiştir. *SOD2* (rs4880) polimorfizmine ait genotip oranları incelendiğinde AG genotipinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 46,7 (n=21), hasta grubunda % 44,4 (n=20), AA genotipinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 33,3 (n=15), hasta grubunda % 33,3 (n=15), GG genotipinin görülme sıklığı ise kontrol grubunda % 20 (n=9) hasta grubunda % 22,2 (n=10) olarak belirlenmiştir. *SOD2* (rs4880) polimorfizmine ait genotip oranlarının DEA arasında ilişki olmadığı saptanmıştır (p=0,962). *HMOX-1* (rs2071746) polimorfizme ait allel istatistikleri incelendiğinde yabancı A allelinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 62,2 (n=56) iken hasta grubunda %45,6 (n=41), polimorfik olan T allelinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 37,8 (n=34) iken hasta grubunda % 54,4 (n=49) olarak belirlenmiştir. Gruplara göre *HMOX-1* (rs2071746) allel dağılımları farklılık göstermektedir (p=0,025). Hasta ve kontrol grubuna kıyasla T alleli A allele göre 1.968 kat daha fazla tespit edilmiştir. *HMOX1* (rs2071746) polimorfizme ait allel oranları ile DEA arasında ilişki olduğu tespit edilmiştir. *HMOX1* (rs2071746) polimorfizmine ait genotip oranları incelendiğinde AT genotipinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 40 (n=18) hasta grubunda % 42,2 (n=19), AA genotipinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 42,2 (n=19), hasta grubunda % 24,4 (n=11), TT genotipinin görülme sıklığı ise kontrol grubunda % 17,8 (n=8) hasta grubunda % 33,3 (n=15) olarak belirlenmiştir. *HMOX-1* (rs2071746) polimorfizmine ait genotip oranlarının DEA arasında ilişki olmadığı saptanmıştır (p=0,117). Çalışmamızın bulgularına göre *SOD2* (rs4880) ve *HMOX-1* (rs2071746) polimorfizmlerin genotip oranlarının DEA arasında ilişki olmadığını allel oranlarına bakıldığında *HMOX1*(rs2071746) geninde T alleli A allele göre fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu genlerin farklı polimorfizm bölgelerinin çalışılması demir eksikliği anemisi ve bu genler arasındaki ilişkinin ortaya konmasına katkı sağlayacaktır. Ancak bulguların klinik sunumlarını değerlendirebilmek için daha kapsamlı çalışmalara gereksinim vardır.

**Anahtar kelime:** DEA, *SOD2*, *HMOX1*, POLİMORFİZM, RT-PCR

**Danışman:** Prof. Dr. Nurcan ARAS, Mersin Üniversitesi, Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı, Mersin.

## ABSTRACT

### INVESTIGATION OF POLYMORPHISMS IN *SOD2* (RS4880) AND *HMOX-1* (RS2071746) GENES IN IRON DEFICIENCY ANEMIA PATIENTS

Iron deficiency anemia (IDA) is a type of anemia that can be seen in individuals of different age groups and is one of the leading health problems of many societies, resulting from the lack of sufficient iron in the body. Oxidative stress, which occurs as a result of an increase in oxidants or a decrease in antioxidants, is one of the biochemical mechanisms that play a possible role in the pathogenesis of this disease, the molecular mechanism of which is not fully elucidated today. *SOD2*(Superoxide dismutase 2) (rs4880) and *HMOX1*(Heme oxygenase1) (rs2071746) genes are associated with oxidative stress and have antioxidant effects. Based on this information, 90 individuals, 45 patients with iron deficiency anemia who applied to Mersin University Hematology Department and 45 healthy individuals, were included in this study. We aimed to investigate the distribution of polymorphisms of *SOD2* (rs4880) and *HMOX-1* (rs2071746) genes by RT-PCR method from blood samples taken from these individuals. When the allele statistics of *SOD2* (rs4880) polymorphism were examined in our study, the incidence of wild A alleles was % 56.7 (n=51) in the control group, % 55.6 (n=50) in the patient group, and in the control group, while the incidence of the polymorphic G allele was % 43.3 (n=39) while it was % 44.4 (n=40) in the patient group. Allele distributions do not differ according to the groups (p=0.881). It was determined that there was no correlation between the allele ratios of the *SOD2* (rs4880) polymorphism and DEA. When the genotype rates of the *SOD2* (rs4880) polymorphism are examined, the incidence of AG genotype is % 46.7 (n=21) in the control group, % 44.4 (n=20) in the patient group, and % 33.3 (n=15) in the control group, % 33.3 (n=15) in the patient group, and the incidence of GG genotype was determined as % 20 (n=9) in the control group and % 22,2 (n=10) in the patient group. It was determined that the genotype ratios of the *SOD2* (rs4880) polymorphism were not related to DEA (p=0.962). When the allele statistics of the *HMOX-1* (rs2071746) polymorphism were examined, the frequency of wild A alleles was % 62.2 (n=56) in the control group, % 45.6 (n=41) in the patient group, and % 37.8 (n=34) of the polymorphic T allele in the control group. while it was % 54.4 (n=49) in the patient group. The *HMOX-1* (rs2071746) allele distributions differ between the groups (p=0.025). Compared to the patient and control groups, the T allele was detected 1.968 times more than the A allele. It has been determined that there is a relationship between the allele rates of *HMOX1* (rs2071746) polymorphism and DEA. When the genotype rates of the *HMOX1* (rs2071746) polymorphism were examined, the incidence of the AT genotype was % 40 (n=18) in the control group, % 42.2 (n=19) in the patient group, and % 42.2 (n=19) in the control group. The incidence of TT genotype was determined as % 24.4 (n=11) in the patient group and % 17.8 (n=8) in the control group and % 33.3 (n=15) in the patient group. It was determined that the genotype ratios of the *HMOX-1* (rs2071746) polymorphism were not related to DEA (p=0.117). According to the findings of our study, the genotype ratios of polymorphisms in the *SOD2* (rs4880) and *HMOX1* (rs2071746) genes were not related to DEA, and when the allele ratios were examined, it was determined that the T allele was higher than the A allele in the *HMOX1*(rs2071746) gene. Studying different polymorphism regions of these genes will contribute to revealing the relationship between iron deficiency anemia and these genes. However, more comprehensive studies are needed to evaluate the clinical presentations of the findings.

**Keywords:** DEA, *SOD2*, *HMOX1*, POLYMORPHYISM, RT-PCR

**Advisor:** Prof. Dr. Nurcan ARAS, Mersin University, Department of Medical Biology, Mersin

## TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimim boyunca, bilgi birikimleriyle ve tecrübeleriyle bana yol gösteren, fikirleri ile tezimin başından sonuna kadar çalışmamın yönlendirme ve bilgilendirmeleriyle bilimsel temeller ışığında tezimi şekillendiren her türlü desteği ve ilgiyi esirgemeyen, değerli ve kıymetli danışman hocam Prof.Dr. Nurcan ARAS'a teşekkür ediyorum.

Çalışmamda öncülük eden bilgi ve tecrübesinden yararlandığım, yenilikçi ve üretken kişiliği ile örnek alabileceğim bu süreçte anlayış sabır ve hoşgörü ile davranan, her zorlukta desteğini esirgemeyen ve emek veren birlikte bu süreçte çalışmaktan keyif aldığım doktora öğrencisi Ayşegül ÇETİNKAYA'ya teşekkür ederim.

Hematoloji bölümünde hasta ve kontrol gruplarının oluşturulmasında Dr. Öğr. Üyesi Aydan AKDENİZ'e katkılarından dolayı teşekkür ediyorum.

Hayatımın her safhasında benim yanımda olan, aldığım kararları her zaman destekleyen, sadece bu çalışma sürecinde değil tüm hayatım boyunca beni cesaretlendiren moral veren topluma yararlı bir birey olmamda katkı sağlayan, hiçbir zaman maddi ve manevi desteğini esirgemeyen canım aileme bilhassa kardeşim Dilovan ÇETİNKAYA'ya sonsuz teşekkür ediyorum.



## İÇİNDEKİLER

|   | <b>Sayfa</b> |
|---|--------------|
| <b>İÇ KAPAK</b>   | i            |
| <b>ONAY</b>   | ii           |
| <b>ETİK BEYAN</b>                                       | iii          |
| <b>ÖZET</b>   | iv           |
| <b>ABSTRACT</b>   | v            |
| <b>TEŞEKKÜR</b>   | vi           |
| <b>İÇİNDEKİLER</b>                                      | vii          |
| <b>TABLolar DİZİNİ</b>                                  | ix           |
| <b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b>                                  | x            |
| <b>KISALTMALAR ve SİMGELER</b>                          | xi           |
| <b>1. GİRİŞ</b>   | 1            |
| <b>2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI</b>                          | 3            |
| 2.1. Anemi  | 3            |
| 2.1.1. Anemilerin Morfolojik Sınıflandırılması          | 3            |
| 2.2. Demir Eksikliği Anemisi                            | 4            |
| 2.2.1. Demir Eksikliği Anemisi Tanımı                   | 4            |
| 2.2.2. Demir Eksikliği Anemisi Tarihçesi                | 4            |
| 2.2.3. Demir Metabolizması                              | 4            |
| 2.2.4. Demir Eksikliği Anemisi Epidemiyoloji            | 9            |
| 2.2.5. Demir Eksikliği Anemisi Patogenezi               | 9            |
| 2.2.6. Demir Eksikliği Anemisi Etiyolojisi              | 10           |
| 2.2.7. Demir Eksikliği Anemisi Klinik Bulgular          | 11           |
| 2.2.8. Demir Eksikliği Anemisinin Laboratuvar Bulguları | 14           |
| 2.2.9. Demir Eksikliği Anemisinin Tanısı                | 16           |
| 2.2.10. Demir Eksikliği Anemisinin Tedavisi             | 18           |
| 2.3. Genetik ve Demir Eksikliği                         | 20           |
| 2.4. SOD2 (MnSOD)                                       | 22           |
| 2.4.1. SOD2 Geni Tanımı                                 | 22           |
| 2.4.2. SOD2 Geni Hakkında Genel Bilgi                   | 22           |
| 2.4.3. SOD2 Genomik Yapısı                              | 27           |
| 2.4.4. SOD2 Polimorfizmi                                | 28           |
| 2.5. HMOX-1 Geni  | 30           |
| 2.5.1. HMOX-1 Geninin Tanımı                            | 30           |
| 2.5.2. HMOX-1 Genel Bilgi                               | 30           |
| 2.5.3. HMOX-1 Genomik Yapısı                            | 34           |
|   | vii          |

|  |    |
|--|----|
| 2.5.4. HMOX-1 Polimorfizm  | 35 |
| 3. MATERYAL ve YÖNTEM  | 37 |
| 4. BULGULAR ve TARTIŞMA  | 40 |
| 4.1. Bulgular  | 40 |
| 4.1.2. SOD2 (rs4880) Polimorfizimine Ait Allel ve Genotip Frekansları      | 40 |
| 4.1.3. HMOX-1 (rs2071746) Polimorfizimine Ait Allel ve Genotip Frekansları | 41 |
| 4.2. Tartışma  | 42 |
| 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER  | 47 |
| KAYNAKLAR  | 48 |
| ÖZ GEÇMİŞ  | 55 |

---



## TABLolar DİZİNİ

|  | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| <b>Tablo 2.1.</b> Anemilerin morfolojik sınıflandırması  | 3            |
| <b>Tablo 2.2.</b> Demirin biyolojik fonksiyonları  | 5            |
| <b>Tablo 2.3.</b> Demir eksikliği anemisindeki etyolojik faktörler                                     | 11           |
| <b>Tablo 2.4.</b> Demir Eksikliği Anemisi Klinik Bulgular  | 13           |
| <b>Tablo 2.5.</b> DEA tanısında kullanılan testler   | 17           |
| <b>Tablo 2.6.</b> Hipokromik anemilerin ayırıcı tanısı   | 18           |
| <b>Tablo 2.7.</b> DEA'da Tedaviye Cevap Süresi   | 19           |
| <b>Tablo 2.8.</b> Hem Oksijenaz İzofromları ve Özellikleri   | 33           |
| <b>Tablo 3.1.</b> SOD2 ve HMOX1 genlerinin prob dizileri   | 39           |
| <b>Tablo 3.2.</b> Real-Time PCR Bileşenleri  | 39           |
| <b>Tablo 3.3.</b> Real-Time PCR Döngüsü.   | 39           |
| <b>Tablo 4.1.</b> Gruplara göre yaş ve cinsiyet dağılımları  | 40           |
| <b>Tablo 4.2.</b> Demir eksikliği anemisi hasta ve kontrol gruplarında SOD2 (rs4880) genotipleri       | 41           |
| <b>Tablo 4.3.</b> Demir eksikliği anemisi hasta ve kontrol gruplarında SOD2 (rs4880) allel dağılımları | 41           |
| <b>Tablo 4.4.</b> Demir eksikliği anemisi hasta ve kontrol gruplarında HMOX-1(rs2071746) genotipleri   | 42           |

## ŞEKİLLER DİZİNİ

|  | <b>Sayfa</b> |
|--|--------------|
| <b>Şekil 2.1.</b> Yetişkinlerde vücutta demir dağılımı   | 5            |
| <b>Şekil 2.2.</b> Demir metabolizması  | 7            |
| <b>Şekil 2.3.</b> Demirin plazmada taşınması   | 8            |
| <b>Şekil 2.4.</b> Matriptaz-2 gen yapısı ve IRIDA mutasyonlarının yerleri                      | 21           |
| <b>Şekil 2.5.</b> Matriptaz-2 ile hepsidin ekspresyonunun düzenlenmesi                         | 22           |
| <b>Şekil 2.6.</b> SOD Enzimlerinin Gen Yapısı  | 24           |
| <b>Şekil 2.7.</b> Manganez süperoksit dismutazın (Mn-SOD) işlevi                               | 25           |
| <b>Şekil 2.8.</b> SOD2 sentezi, taşınması, işlenmesi ve yerleşiminin teorik gösterimi          | 26           |
| <b>Şekil 2.9.</b> SOD2 geninin kromozomal gösterimi  | 27           |
| <b>Şekil 2.10.</b> İnsan mangan süperoksit dismutaz yapısı A,B.                                | 27           |
| <b>Şekil 2.11.</b> SOD2 Val16Ala polimorfizimi ile yapısındaki değişim                         | 28           |
| <b>Şekil 2.12.</b> Türk popülasyonu ve beyaz ırkta Mn-SOD Ala16Val genotip ve allel sıklıkları | 29           |
| <b>Şekil 2.13.</b> Hem molekülünün yapısı  | 30           |
| <b>Şekil 2.14.</b> Hem molekülünün parçalanma ürünleri ve fonksiyonları                        | 31           |
| <b>Şekil 2.15.</b> Hem Oksijenaz Proteinlerinin Yapısı   | 33           |
| <b>Şekil 2.16.</b> HMOX1 Geni için Genomik Görünümü  | 34           |
| <b>Şekil 2.17.</b> HMOX1'in transkripsiyonel düzenlemesi                                       | 35           |

## KISALTMALAR ve SİMGELER

| Kısaltma/Simge | Tanım  |
|----------------|--|
| DE             | Demir eksikliği  |
| DEA            | Demir eksikliği anemisi  |
| DMT1           | Divalent metal transporter 1   |
| EPO            | Eritropoietin  |
| Ferröz         | Fe+2   |
| Ferrik         | Fe +3  |
| GWAS           | İnsan genomu çapında ilişki çalışmaları  |
| Hb             | Hemoglobin   |
| HMOX-1         | Hem oksijenaz-1 geni   |
| MCH            | Ortalama eritrosit içi hemoglobin (Mean corpuscular hemoglobin)                              |
| MCHC           | Ortalama eritrosit içi hemoglobin konsantrasyonu (Mean corpuscular hemoglobin concentration) |
| MCV            | Ortalama eritrosit hacmi (Mean corpuscular volume)   |
| OHA            | Orak hücre anemisi   |
| RDW            | Eritrosit dağılım genişliği (Red cell distribution width)                                    |
| ROT            | Reaktif oksijen türleri  |
| qRT-PCR        | Revers Transkriptaz-Polimeraz Chain Reaction   |
| SD             | Serum demiri   |
| SNP            | Tek nükleotid polimorfizm  |
| SOD2(MnSOD)    | Süperoksit dismutaz 2  |
| sTfR           | Serum transferrin reseptörü  |
| TDBK           | Total demir bağlama kapasitesi   |
| TfR            | Transferrin reseptörü  |
| TMPRSS6        | Transmembran serin proteaz 6   |
| TS             | Transferrin satürasyonu  |
| WHO            | Dünya sağlık örgütü  |

---

## 1. GİRİŞ

Kanda bulunan hemoglobin konsantrasyonunun cinsiyet ve yaşa göre normal değerlerin altında olmasına anemi denir. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre erişkin kadınlarda hemoglobin değerinin 12 gr/dl, erişkin erkeklerde hemoglobin değerinin 13 gr/dl, gebe kadınlarda 11 g/dl altında olan bireylerde anemi olduğu kabul edilmektedir [1]. Demir eksikliği anemisi (DEA) insan vücudunda günlük alınan demir ile kaybedilen demir miktarı dengelenmediğinde ortaya çıkan, mikrositik ve hipokromik eritrositler ile serum demir ve ferritin düzeylerinin azalması sonucunda transferin saturasyonunun %15'in altına düşmesi ve total demir bağlama kapasitesinin artması ile karakterize edilen bir anemi çeşididir [2]. DEA dünya genelinde ve aynı zamanda farklı yaş gruplarında görülen (dünya popülasyonun yaklaşık %15'i) en sık anemi nedeni olup kadınlardaki oran erkeklerdeki orandan daha fazla görülmektedir [3]. Genetik ve çevresel etmenlerle ortaya çıkan DEA patogenezi henüz yeterince aydınlatılamamıştır.

*Hem oksijenaz-1 (HMOX-1)* geni bir antioksidan enzim olan hem oksijenaz-1 enzimini sentezlemektedir. *HMOX-1* hem katabolizmasının ilk aşamaya aracılık ederek biliverdin oluşturmak için hem'i anti-inflamatuar ve antioksidan özellikleri sahip olan 3 ayrı farklı son ürün olan bilirubin, demire ve karbonmonoksit'e indirgemektedir. *HMOX1* geni vücutta en fazla karaciğer ve dalakta bulunmaktadır. Özellikle karaciğer ve dalakta yüksek konsantrasyonda bulunan, hem oksijenaz ailesinin üyelerinden demir içeren Hem oksijenaz-1 (*HO-1*), oksidatif strese karşı savunmada görev alır. Hem oksijenaz-1 eritrosit döngüsü ve demir konsantrasyonunun dengede kalmasını sağlamak, hücre farklılaşması, gibi bilinen etkilerinin yanı sıra reaksiyon ürünleri üzerinde etkisini gösterip oksidatif strese karşı hücre koruyucu gibi önemli etkiye de sahiptir [4]. *HO-1* gen promotöründeki T (413) tek nükleotid polimorfizmi (SNP) ve (GT)<sub>n</sub> mikrosatellit polimorfizmi, *HO-1* gen transkripsiyonel aktivitesini modüle eder ve bu polimorfizmler diyabet, hipertansiyon, kalp hastalıkları, inflamasyon, transplantasyon, nörodejenerasyon, yaşlanma, kanser dahil olmak üzere çok sayıda hastalık için hücrel savunmada çok önemlidir [5]. Heme Oksijenaz 1 (*HMOX1*), hemoglobin, miyoglobin ve sitokrom p450 gibi bazı önemli proteinlerin yapısında bulunan hem grubunu bozan reaksiyonu katalize eden bir enzimdir. Günümüzde *HMOX1* ile ilişkilendirilen birçok hastalık bulunmaktadır. Crohn hastalığı, ülseratif kolit içeren inflamatuvar bağırsak hastalıkları, mikrobiyota dengesizlikleri, enfeksiyonlar başta olmak üzere akut ve kronik bağırsak iltihabının oluşumunu etkilemektedir[6].

Süperoksit dismutaz 2, mitokondriyal (*SOD2*), *SOD2* geni tarafından kodlanan güçlü bir antioksidan enzimdir. İnsanlarda bulunan üç SOD enziminden biri olan *SOD2*, özellikle süperoksit temizleme işlevi gördüğü mitokondride ifade edilmektedir [7]. Süperoksit dismutaz (*SOD2*), oksidatif fosforilasyon tarafından üretilen süperoksit anyonlarının toksisitesine karşı

temel savunmayı sağlar. Gelişmekte olan alyuvarların mitokondrisinde (olgun alyuvarda mitokondri bulunmaz) aşırı demir birikimi sonucu serbest radikal oluşturan güçlü oksidatif katalist olarak görev yaparak serbest radikallerin artmasını sağlamaktadır. Serbest radikal üretimindeki artış proteinlerin yapısında hasar oluşturmakta, hücrenin hayatta kalma süresini azaltmaktadır. Oksidatif stresin artması sonucunda eritrositlerde oluşan hasar, hücrenin yaşam süresini kısaltmakta, eritrosit membranındaki şekil değiştirme yeteneğini azaltmakta ve fosfatidilserin oluşumu sonucu dolaşımdan daha kısa sürede kaldırılmalarıyla anemiye neden olmaktadır. *SOD2* (rs4880) geninin T(-413)A SNP'si, insanlardaki hastalıklarda fonksiyonel öneminin belirlenmesi açısından çalışmalara ihtiyaç duyulmalıdır. Ayrıca *SOD2* geninde T47C'nin hangi alelinin hastalıklarda risk taşıdığı konusu hala belirsizdir [8].

Demir Eksikliği Anemisi farklı yaş grubunu içerirken aynı zamanda gastrointestinal hastalıklar, sinir sistemi, immün sistem, kalp hastalıklarının öncüsü olmaktadır. Bu genlerin etkisi varsa antioksidan sistemlerin hastalığın tedavisinde kullanılması ve erken tanı ile ilerleyen dönemlerde gelişebilecek kronik rahatsızlıkları en aza indirgerek erken tanı ve etkili tedavi oldukça önemlidir. Hastalığın erken tanı ve tedavisi, ülke ekonomisi, toplum sağlığı ve hasta bireylerin yaşam kalitesinin artırılması açısından faydalı olabilir. *SOD2* (rs4880) ve *HMOX1* (rs2071746) genlerindeki polimorfizmlerin Demir Eksikliği Anemi hastalarında daha önce çalışılmamış olması nedeniyle literatüre katkı sağlayacaktır.

## 2. KAYNAK ARAŞTIRMALARI

### 2.1. Anemi

Halk dilinde kansızlık olarak bilinen anemi, hemoglobin (Hb) değerinin kişinin cinsiyet ve yaşına göre normal kabul edilen değerlerin altında olması durumudur [9]. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'ne göre erişkin kadınlarda hemoglobin değerinin 12 gr/dl, erişkin erkeklerde hemoglobin değerinin 13 gr/dl, gebe kadınlarda 11 g/dl altındaki bireyler anemi hastası olarak kabul edilmektedir [1]. WHO'nun raporlarına göre dünya nüfusunun yaklaşık %25-30'unun anemi olduğu bildirilmektedir [10]. Yaş ve cinsiyet dışında, ırk, sosyoekonomik düzey, yaşanılan bölgenin rakımı, plazma hacim değişimleri gibi çeşitli faktörlerde hemoglobin değerlerinde bireysel değişikliklere neden olmaktadır [11].

#### 2.1.1. Anemilerin Morfolojik Sınıflandırılması

Morfolojik sınıflandırma, ortalama eritrosit hacmi (MCV mean corpuscular volume) değerlerine göre yapılan sınıflamadır. Normositer (MCV=80-100 fL), mikrositer (MCV<80 fL) ve makrositer (MCV>100 fL) olarak üç sınıfta ayrılır. En çok yaygın olan mikrositeranemi çeşididir. Mikrositer anemiler içinde de en çok yaygın olan anemi demir eksikliği anemisi (DEA) [12].

Anemilerin morfolojik sınıflandırması Tablo 2.1'de gösterilmektedir [13].

**Tablo 2.1.** Anemilerin morfolojik sınıflandırması

| Mikrositer Anemiler (MCV<80 fL)  | Normositer Anemiler (MCV 80-100 fL)  | Makrositer Anemiler (MCV >100 fL)   |
|--|--|---|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>Demir eksikliği anemisi</li> <li>Globin sentezi bozuklukları (Talasemiler)</li> <li>Hem sentezi bozuklukları (Sideroblastik anemiler)</li> <li>Kronik hastalık anemisi</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Akut kan kaybı</li> <li>Plazma volümünün aşırı derecede artması (gebelik, hidrasyon)</li> <li>Kronik hastalık anemisi</li> <li>Kemik iliği infiltrasyonları</li> <li>Kronik karaciğer ve böbrek hastalıkları</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>Vitamin B12 ve folik asit eksikliği</li> <li>DNA sentezinin herediter bozuklukları</li> <li>İlaçlara bağlı DNA sentezi bozuklukları (kematerapötikler, antikonvülzanlar, oral kontraseptifler)</li> <li>Eritropoezin arttığı durumlar (Akut kan kaybı, hemoliz)</li> <li>Kronik karaciğer hastalıkları</li> <li>Hipotiroidi</li> </ul> |

**MCV:** Mean corpuscular volüme fL: Femtolitre.

#### 2.1.1.1. Mikrositer Anemiler

Eritrositlerin yapısında bulunan hemoglobin molekülünün sentezi için, hem ve globin moleküllerinin oluşumu için sağlam metabolik yollarına bunun yanısıra yeterli demir desteğine ihtiyaç duyulmaktadır. Demir, globin ve hem üçlüsünden herhangi birinin eksikliğinde, ortalama eritrosit hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) ve ortalama eritrosit

hacminin (MCV) azalması sonucu mikrositer anemi meydana gelmektedir. Mikrositer anemilerin çoğunluğunu demir eksikliği ve talasemiler oluşturmaktadır [14].

## **2.2. Demir Eksikliği Anemisi**

### **2.2.1. Demir Eksikliği Anemisi Tanımı**

Vücudun günlük olarak kaybettiği demirin, gıda ile alınan demir ile tamamlanmadığı zaman ortaya çıkan anemiye demir eksikliği anemisi (DEA) denir. Demir eksikliği anemisi vücudunuzda yeterli demirin bulunmamasından kaynaklanmaktadır [15]. DEA eritrositlerde mikrositer ve hipokromi serum ferritin ve serum demir düzeyinin azalması, transferrin saturasyonunun %15' in altına inmesi ve total demir bağlama kapasitesinin artması ile karakterize edilen bir anemi çeşididir [2].

### **2.2.2. Demir Eksikliği Anemisi Tarihçesi**

Demir eksikliği anemisi M.Ö. 1500'lerde Mısır tedavi kitabında dispne ve ödemle, solukluk karakterize bir hastalık olarak tarif edilmiş olup aynı zamanda Ortaçağ tarihçileri ise bu eski zamanlardan kalma ancylostomal anemiyi demir eksikliğinin bir formu olarak tanımlamışlardır [16]. 16. yy ortalarından sonra Avrupalı bilim adamları tarafından chlorosis(kloroz) veya yeşil hastalık olarak adlandırılan demir eksikliği anemisi için Fransa'da 17.yy'ın ortalarında hastalığa yönelik tedavi geliştirip bu hastalığın tedavisinde demir tuzları kullanılmaya başlanılmıştır. Sydenham tarafından klorozun özgün tedavisi olarak önerilmiştir. 1830-1930 yılları arasında 100 yıl boyunca kloroz tedavisinde etkili olmayan dozlarda demir kullanılmıştır. 20.yüzyılın başında ise klorozun kandaki demir miktarının düşmesi sonucunda hipokromik eritrositlerin ortaya çıkması ile karakterize olduğu saptanmıştır [17]. Günümüzde demir eksikliğinin birden çok tanımına rastlanılmaktadır.

### **2.2.3. Demir Metabolizması**

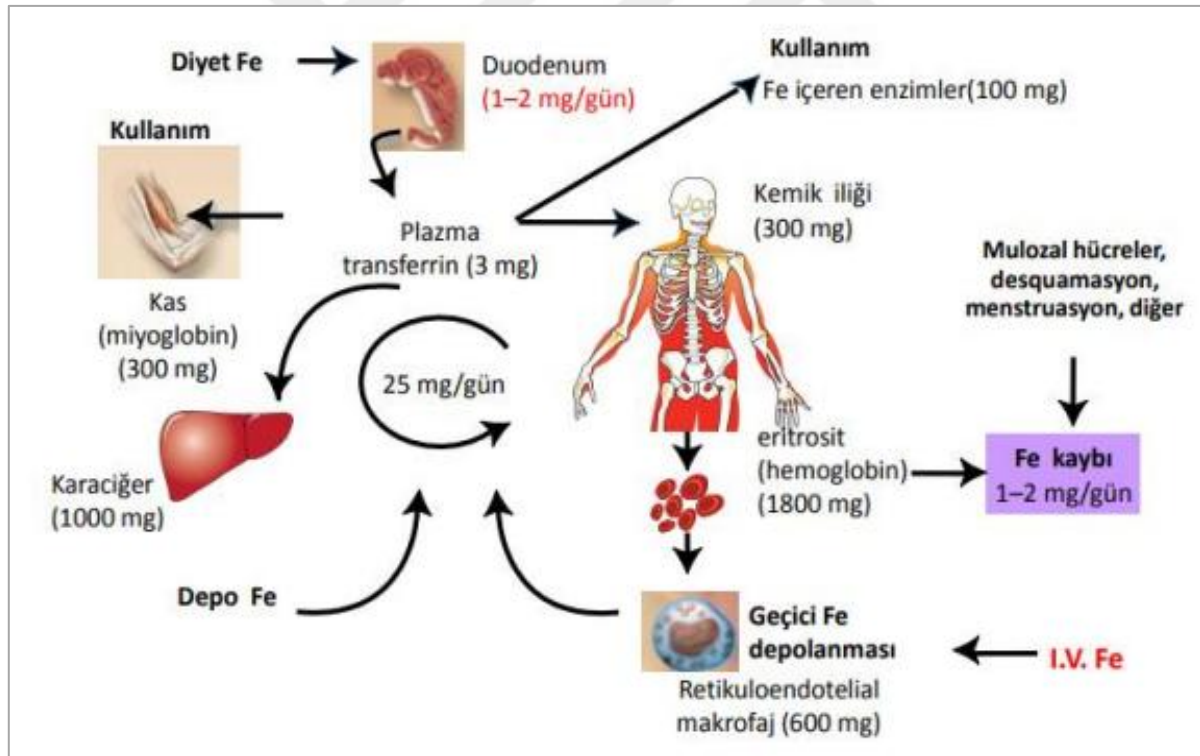
Demir esansiyel bir element olup tüm hücreler için gerekli, en önemli görevi ise kanda bulunan hemoglobin molekülünün aracılığı ile oksijen taşımaktır. Demir oksijen depolaması ve taşınması, oksidatif metabolizma, elektron taşınması, hücre çoğalmasında ve büyümesinde, esansiyel reaksiyonların katalizinde kullanılmaktadır[18]. Demir; kolaylıkla elektron alışverişinde, ferröz (Fe<sup>3+</sup>) ve ferrik (Fe<sup>2+</sup>) formlara dönüşebilme özelliğine sahip olan bir elementtir. Hem'in yapısında bulunan oksijen bağlayan molekül olup hemoglobin ve miyoglobin'nin yapısında bulunmaktadır. Ayrıca birçok enzimin yapımında ve sitokromda yer alır. Bununla beraber hidrojen peroksidin serbest iyon radikallerine dönüşmesi sonucunda protein ve DNA'da hücre membranda hasar verebilme özelliğine sahiptir. Demir-protoporfirin

(hem) ve demir sülfür bileşimleri enzim-kofaktör olarak görev almaktadır [17]. Demir içeren başlıca proteinler ve bunların fonksiyonları Tablo 2.2'de gösterilmiştir [19].

**Tablo 2.2.** Demirin biyolojik fonksiyonları [19].

| Fonksiyon                                    | Bileşik  |
|--|--|
| Oksijenin taşınması                          | Hemoglobin<br>Miyoglobin                               |
| Oksidatif enerji üretimi                     | Sitokrom a,b,c<br>Sitokrom P450<br>Katalaz, peroksidaz |
| Mitokondriyal solunum                        | Süksinat dehidrogenaz                                  |
| Zararlı oksijen radikallerinin inaktivasyonu | Ksantin oksidaz  |
| DNA sentezi                                  | Ribonükleotid redüktaz                                 |

Birçok bileşiklerin ve enzimlerin yapısında bulunan demir vücutta meydana gelen reaksiyonlarda artabilmekte veya azalabilmektedir. Vücutta demir dağılımı Şekil 2.1'de gösterilmektedir.



**Şekil 2.1.** Yetişkinlerde vücutta demir dağılımı [20]

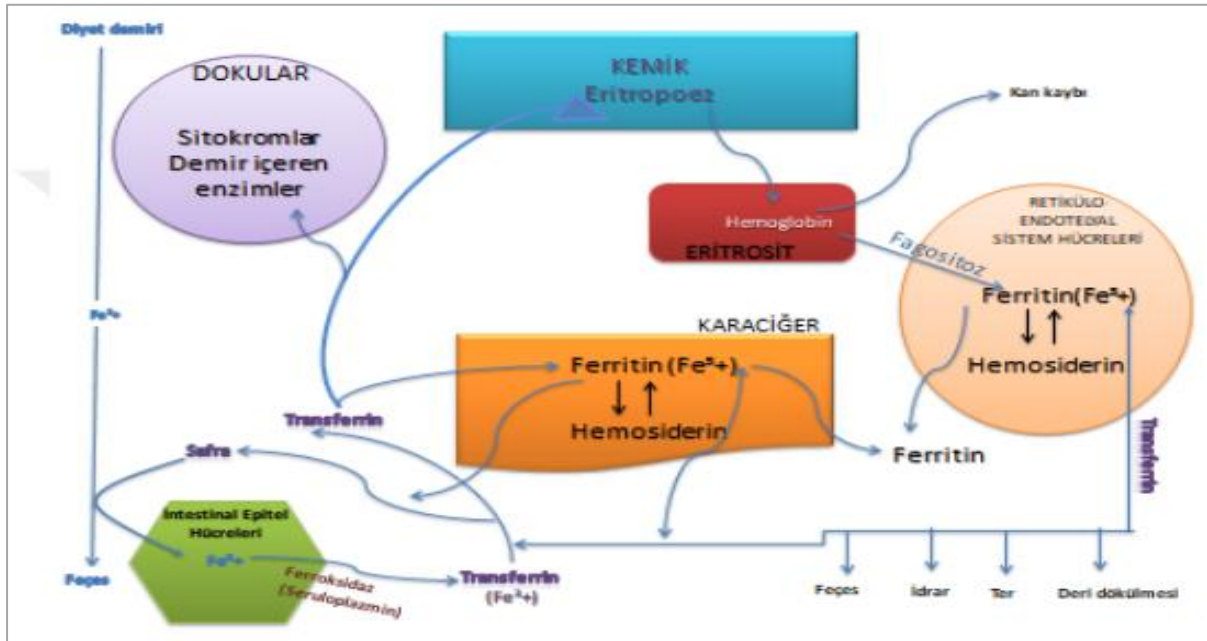
Diğer ferroproteinler tarafından kullanılmayan hücresel demir, demir kapasitesi sınırlı olması artan demir kapasitesi aşıldığında depo ferritin olarak birikmektedir. Ayrıca, makrofajla hücrelerden hızlı bir şekilde demirin salınmasıyla lokal aşırı demir yükü yaratabileceği ve lokal

doku hasarına neden olabileceği de mümkündür. Serbest demirin toksik etkileri, reaktif serbest radikallerin oluşumuna bağlı olarak gelişmektedir [21].

Gastrointestinal sistemden epitelyal, ciltten epidermal hücrelerin ve adet gören kadınlarda eritrositlerin kaybı ile demir vücuttan atılarak hücrelerde demir kaybı oluşmaktadır. Postmenapozal (menopoz sonrası) kadınlarda ve erkeklerde ortalama demir kaybı 1 mg/gün kadar olup aynı zamanda premenopozal (menopoz öncesi) kadınlarda ise ek olarak günde 0.006 mg/kg demir kaybı görülmektedir. Hamile bir kadında ise erkekteki demir kaybının 3,5 katı kadar demir kaybı görülür. Kompanzasyon mekanizması sayesinde kaybedilen demir kaybı, diyetten emilen demir ile dengelenmektedir. Demir metabolizmasının kontrolü ve demirin vücuttaki dengesi emilimi ile kontrol edilmektedir. Demir, ferröz formda duodenumdan ve proksimal jejunumdan emilir. Vücutta demir emilimi iki farklı şekilde olmaktadır. Bunlardan biri hem demirinin emilimi, diğeri ise ferröz demirin emilimidir. Besinler ile alınan demirin %90'ı non-hem demirdir ve bunun %5'i emilir. Non-hem demiri besinlerde ferrik formda bulunmaktadır. Non-hem demirin emilimi diyetteki faktörlerden ve vücutta bulunan demir durumundan etkilenmektedir. Diyetle alınan demirin %10'u hem demiri olup yüksek emilim oranına sahip, diyetteki faktörlerden ise çok az etkilenmektedir [22]. Hem demirinin emilimi tam olarak bilinmemekte yalnız diyetle alınan inorganik non-hem demir, süt ürünlerinde ve bitkilerde bulunmaktadır. Non-hem demirin emilebilmesi için ferröz forma çevrilmesi gerekmektedir. Diyetle bulunan askorbik asit ve hayvan dokuları non-hem demirin emilimini artırırken, polifenol, 11 fitat, fosfoprotein, kalsiyum, fosfat gibi maddeler non-hem demir emilimini engellemektedir [17].

Demir absorpsiyonu; diyet, eritropoez hızı, etkinliği ve vücuttaki depo miktarı ile ayarlanmaktadır. Kemik iliğindeki eritropoezi, enterositlerden demir emilimi üzerinde etkilidir. Diyetle fazla miktarda demir alındığında kompansatuar mekanizmalar birkaç gün süre ile demir emilimine engel olmaya çalışarak birlikte akut hipoksi durumunda da oksijenizasyonu sağlamak amacıyla demir emilimi artırmaktadır. Demir emilimini ek olarak enfeksiyöz ve inflamatuvar hastalıklar da etkilemektedir. Bu durumda hem makrofajlardan demir salınımı hem de ince bağırsaklardan demir emilimi baskılanmaktadır. Makrofajlardan demir salınımının enfeksiyonlara karşı direnç mekanizması olduğu düşünülmektedir [23]. Diyet demir, ağırlıklı olarak üç değerlikli ferrik formda bulunur, sadece iki değerli demir plazma zarını geçebilmektedir. Bu nedenle demir, bir zar divalent metal taşıyıcı (DMT1- divalent metal transporter 1) ile enterosit membranı boyunca taşınmadan önce ferreredüktaz (büyük Dcytb proteini tarafından) ile azaltılmaktadır. Demirin, enterosit bazolateral membranı boyunca taşınmasına, bir membran taşıyıcı olan ferroportin (Ireg1) aracılık etmektedir. Demir akışının enterositlerden ve ayrıca hepatositler ve makrofajlardan düzenlenmesine ise peptit yapısında hepsidin aracılık etmektedir [24].

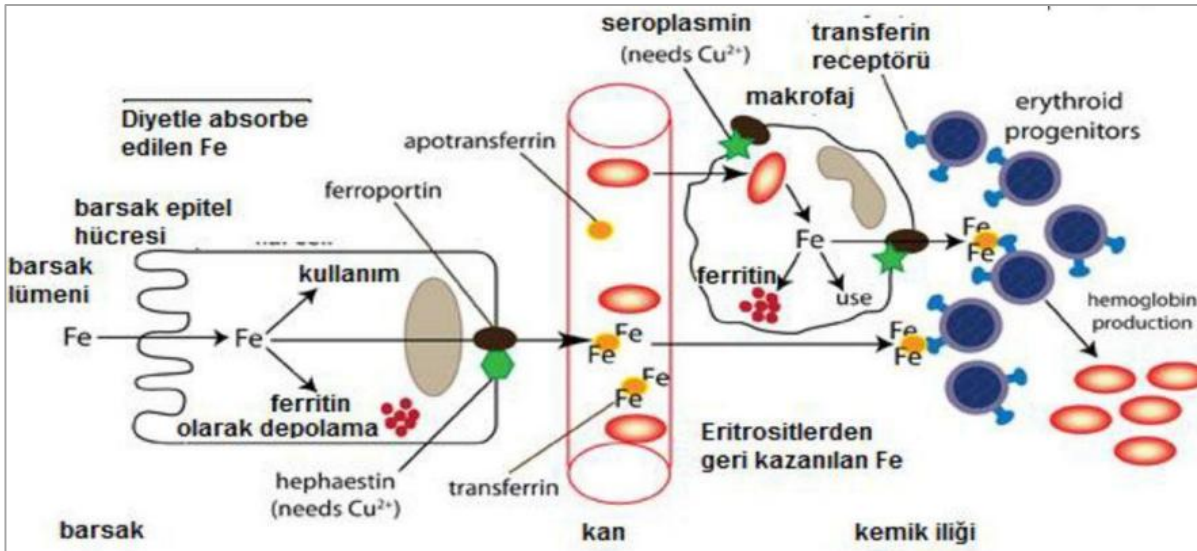
Hepsidin, karaciğerde sentezlenip ve böbrek yolu ile dışarı atılır. Görevi enterosit membranından demir emilimini azaltmaktır. Bu sebeple demir eksikliği anemisinde hepsidin ekspresyonu azalmaktadır. Demir emilimi ince bağırsakta, villus hücrelerinde bulunan iki değerli metal iyon transportu yapan DMT1 proteini aracılığıyla apikal membrandan demirin geçişini sağlamakta ve demir hücre içine girmektedir. DMT1 sadece iki değerli katyonları taşımaya sebebiyle enterositlere gelen ferrik katyonların transportunu yaptığından ince bağırsaklara ferrik halde gelen diyetdeki hem olmayan demir burada duodenal sitokrom b benzeri ferriredüktaz enzimi tarafından indirgenmektedir. Hem demiri hücreye girdiğinde porfirin halkası hem oksijenaz enzimi ile parçalanmakta ve demir serbest kalmaktadır. Sonrasında non-hem demir emilimi ile aynı şekilde mekanizma devam etmektedir. Emilen demirin bir kısmı hücrenin membranından plazmaya geçer, geri kalan kısmı ferritin olarak enterosit içinde depolanmaktadır. Demirin plazmaya geçişi ferroportin yardımı ile olmaktadır. Apikal demir emiliminde olduğu gibi bazolateral demir salınımında da demirin oksidasyon durumu değişmekte ve hücreden çıkan  $Fe^{+2}$  apotransferrine bağlanmak için bakır içeren bir oksidaz olan hephaestin ile  $Fe^{+3}$  formuna çevrilmektedir. Kalan demir ferritin olarak depo edilmektedir. Vücutta kullanılan demir, yaşam sürelerini tamamlamış olan eritrositlerin dalaktaki retikuloendotelial sisteme ait makrofajlarda parçalanmasıyla elde edilmektedir. Makrofajlardan çıkan demir ferröz formdadır ve transferrine bağlanabilmesi için seruloplazmin aracılığı ile okside olması gerekmektedir. Hücre içi demir, ferritin ve hemosiderin olarak depolanmaktadır. Ferritinin kısmi katabolizması sonrası oluşan, demirden zengin ürüne hemosiderin adı verilmektedir [25].



Şekil 2.2. Demir metabolizması [25]

Plazmada demirin taşınması transferrin proteini ile sağlanmaktadır. Başlıca karaciğer parankima hücrelerinde, testis, over, az olarak da santral sinir sistemi ve T lenfositler tarafından sentezlenmektedir. Vücutta demir depolarında azalma olduğu zaman transferrin sentezi artmaktadır. Total demir bağlama kapasitesi (TDBK) dolaşımdaki transferrinin indirekt göstergesidir. TDBK, serumdaki demir bağlayan grupların neredeyse hepsinin transferrin üzerinde bulunmasından dolayı transferrinin bağladığı demir miktarı ile ilişkilidir (17). Makrofajlardan demir salınım oranı gündüzleri daha fazladır. Bu nedenden dolayı plazmada demir düzeyinin en fazla olduğu zaman dilimi sabah saatleridir. Ferrik haldeki demir transferrine büyük bir afiniteyle bağlanmaktadır. Demir, DMT1 yardımıyla endozom membranından geçerek sitoplazmaya çıkmaktadır. Transferrin ve transferrin reseptörü ise tekrar kullanılmak üzere hücre yüzeyine geri dönmektedir. Transferrin reseptörlerinin artması demir eksikliğinin önemli nedenlerinden biridir. Hücre içindeki serbest hem konsantrasyonunda bir azalma olduğunda hücreye demir alınımı artmaktadır. Bu hücrelerden başka birçok dokunun demir içeren enzim ve proteinlerin sentezinde demire ihtiyacı vardır.

Hematopoetik olmayan hücrelerin demiri hücre içine alması için transferrin molekülüne ihtiyaç yoktur. Plasenta ise vücuttaki demir düzeyi düşük olsa da annenin kemik iliği ile yarışarak demiri temin etmektedir. Vücuttaki total demir miktarı demir emiliminden sağlanmaktadır. Emilim oranını iki faktör etkilemektedir. Birincisi vücuttaki depo demir miktarıdır. Eğer depo demir miktarı azalır ise demir emilimi 2-3 kat artmaktadır. Buna karşılık depo demiri yeterli ise demir emilimi azalmaktadır. Bu durum "depo regülatör" olarak adlandırılmaktadır. İkincisi ise eritropoezin ineffectif veya efektif olmasıdır. Bu durum ise "eritroid regülatör" olarak adlandırılmaktadır. Eğer eritrosit yapımı artarsa intestinal demir emilimi de artmaktadır (25).



Şekil 2.3. Demirin plazmada taşınması [26]

#### 2.2.4. Demir Eksikliği Anemisi Epidemiyoloji

Alyuvarlardaki hemoglobinin azalmasıyla oluşan anemi halk arasında kansızlık olarak bilinmektedir. Anemi sebepleri arasında en sık alyuvar yapımının normalin altında oluşu ya da alyuvar kaybının ve yıkımının normalden fazla olması vardır. Dünya nüfusunun üçte birinin anemi olduğu tahmin edilmekte ve çoğunluğu demir eksikliğinden kaynaklanmaktadır [28]. Demir eksikliği anemisi toplumda en fazla görülen anemi türüdür [17]. Dünya Sağlık Örgütü'ne göre demir eksikliği anemisi dünyada en sık besin eksikliğinden kaynaklanıp gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerin birçoğunda halk sağlığı sorunu olarak ortaya çıkmaktadır [29].

Dünya Sağlık Örgütü verilerine göre gelişmekte olan ülkelerdeki kadın ve çocukların yarısında erkeklerin ise % 25'nde demir eksikliği anemisi mevcut olup yaklaşık 2 milyar kişi demir eksikliği anemisi hastasıdır. Demir eksikliğini belirleyen en önemli faktörlerden biri ülkelerin gelişmişlik düzeyidir [17]. Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan çalışmada 1988-1994 yıllarındaki sonuçlarına göre demir eksikliği anemisi 50 yaşından küçük erkeklerde % 1'den az olup 50 yaşın üzerindeki erkeklerde % 2-4 olarak saptanmıştır. 12-19 yaş aralığındaki ve adet gören kadınlarda ise bu durum % 9-11 ve postmenapozal kadınlarda % 5-7 olarak saptanmaktadır. Bu durum sonucunda ABD'de demir alım azlığının engellenmesi amacıyla çeşitli gıda ürünlerine örneğin mama ve unların içerisine demir ilave edilmiş olup demir eksikliği insidansında belirgin düşüşe sebep olmuştur [30]. Ülkemizde yapılan araştırmalara göre anemi, doğurgan çağıdaki kadınlarda % 40-50 olarak saptanmış çoğunluğunun demir eksikliği anemisi olduğu öne sürülmektedir. 1974 yılında ulusal düzeyde yapılan bir beslenme araştırmasında ülkenin çoğunluğunda şehirlerde yaşayan kadınlarda % 51 oranında olup, gebelerde ve emziren kadınlarda ise % 71 oranında anemi saptanmıştır. Bu sonuçları göz önünde bulundurulduğunda anemi ülkemiz için önemli bir sağlık sorunudur [31,32]. Kısacası DEA sıklığı kıtalara, bölgelere ve ülkelere göre farklılık göstermekte olup yükseklik; yani kişinin yaşadığı coğrafyanın rakımı hemoglobin düzeyini etkilemektedir. DEA, menstrüasyon ve gebelik nedeniyle kadınlarda erkeklerden daha fazla görülmektedir.

#### 2.2.5. Demir Eksikliği Anemisi Patogenezi

DEA'den sorumlu 3 patogenetik faktör vardır:

- 1) Azalmış demir nedeniyle Hb sentezinin bozulması,
- 2) Hücre proliferasyonunun sınırlı olması ve eritrosit sayısının azalması,
- 3) Eritrosit ömrünün kısaltmasıdır (özellikle anemi ağır ise) [33].

Transferrin saturasyonu % 16'nın altına düştüğü anda kemik iliği hemoglobin sentezi için gerekli demir bulunmadığından dolayı hem sentezinde protoporfirin demirden daha öne çıkar ve serbest eritrosit protoporfirin düzeyi artar. Üretilen her hücre daha az hemoglobin içerir, mikrositer ve hipokromi meydana gelmektedir. Bunun yanısıra demir eksikliğinde hücre

proliferasyonu azalmakta ve eritrosit sayısı düşmektedir. Kemik iliğinde relatif eritroid hiperplazi bulunmasına rağmen eritroid hiperplazi derecesi ve retikülosit sayısı aneminin derinliğine göre azalmaktadır. Eritrositlerin genellikle yıkım yeri dalaktır. Kanda hücrelerin oranı artıkça eritrositlerin ömrü kısalmaktadır [34].

Demir ihtiyacının demir alımından fazla olması durumlarında vücut demirinin azalması olan demir eksikliği, üç evreden oluşmaktadır:

Birinci evrede kemik iliği demir düzeyi ve serum ferritin düzeyi düşmeye başlamıştır. Prelatent demir eksikliği olarak da adlandırılan bu evrede diğer demir parametreleri normal sınırlardadır. İkinci evrede ise Latent demir eksikliğinde depo demiri tükenmiş transferrin saturasyonu % 16'nın altına düşmüştür ancak kan Hb düzeyi normal sınırlardadır. Üçüncü evrede ise belirgin demir eksikliği hemoglobin değeri normalin altına inmiş ve DEA görülmektedir [35,36].

### **2.2.6. Demir Eksikliği Anemisi Etiyolojisi**

Demir eksikliği anemisinde etiyolojik nedenleri yaş gruplarına göre farklılık göstermekte olup bunun sonucunda birçok neden ortaya çıkmaktadır. Demir eksikliği sıklığı ve gebelikte ve menstürasyon dönemine bağlı demir depolarındaki azalmasıyla kadınlarda görülme olasılığı, erkeklere göre daha sıktır. Çocuklarda fizyolojik ihtiyacın artmasından dolayı, doğurgan yaştaki kadınlarda menstrüel kanamalar ve gebelik ileri yaşlarda gastrointestinal sistem (GIS) hastalıkları sıklık göstermektedir. Aynı zamanda paraziter hastalıklar ve beslenme bozuklukları da gelişmekte olan ülkelerde demir eksikliği anemisinin etiyolojisinde önem kazanmaktadır [37]. Vücutta yetersiz demir alınmaması sonucunda, gebelik ve lohusalık dönemde artmış ihtiyaçlar nedeniyle ve yine düşük gelir gruplarında, büyüme dönemindeki çocuklarda, vejetaryenlerde diyetle beslenen bireylerde yeterli demir bulunmadığı için, demir eksikliği anemisi gelişebilir. Fitatlardan zengin diyet ve aşırı lifli fosfat, aşırı çay tüketimi de diyetle yeterli demir olsa bile, emilimini engellemesi nedeniyle demir eksikliğine neden olmaktadır. Yetişkin yaştaki bireylerde görülen demir eksikliğinin asıl nedeni kan kaybına bağlıdır. Yetişkin kadınlarda her ay menstruasyon döngü zamanında ortalama 30 mg, bir gebelik boyunca ise menstruasyon olmamasına rağmen 600 mg yakın demir kaybedilmektedir. Emzirme dönemindeki kadınlarda ise günde 1 mg demir kaybı görülmektedir. Menopoz sonrası kadınlarda ve erkeklerde demir eksikliği sıklıkla gastrointestinal sistemden kayıplara bağlı gelişmektedir. Aspirin alma alışkanlığı, mide rahatsızlığı olanlarda örneğin gastrit, reflü gibi gastrointestinal sistemin maligniteleri hastalıklarda, divertikül ve polipler, inflamatuvar bağırsak hastalıkları ve paraziter hastalıklar bu sistemden olan kan kayıplarının en sık nedenleridir [38]. Aynı zamanda kan kayıpları dışında emilim kusurundan dolayı demir eksikliği oluşturan hastalıklar (çölyak hastalığı, ince bağırsak tutulumlu crohn hastalığı, pankreas yetersizliği gibi)

nedeni ile DEA sık görülmektedir [17]. Pernisiyöz anemide B12 vitamini tedavisi sürecinde artan eritropoezis, depoları yetersiz ve emilimi bozuk olan demiri tüketebilir. Bunun yanısıra gıdaların bağırsaklardan hızla geçmesi aklorhidri ve anastomoz yerinde ülser oluşumunu sağlar, total ve parsiyel gastrektomiler ve gastroenterostomilerden sonra emilim bozulur. Bunun sonucunda demir eksikliği anemisi ortaya çıkmaktadır [39]. Birçok nedeni gözden geçirildikten sonra bağırsak protozoonlarının da DEA nedenlerinden biri olabileceğini göz önünde bulundurmak gerekir. Parazit enfeksiyonlara neden olan kancalı kurt enfeksiyonları ise mikroskopik kan kaybına yol açarak demir eksikliğine sebep olmaktadır [40]. Tablo 2.2.6 demir eksikliği anemisindeki etyolojik faktörler gösterilmiştir

**Tablo 2.3.** Demir eksikliği anemisindeki etyolojik faktörler [41].

| <b>Azalmış Demir Alımı</b>  | <b>Artmış Demir Kaybı</b>   | <b>Artmış Demir İhtiyacı</b>          |
|---|---|---------------------------------------|
| A-Diyetle Yetersiz Alımı<br>B-Emilimin bozulması<br>Aklorhidri<br>Gastrik cerrahi<br>Çölyak hastalığı<br>Gastrik pH'ı yükselten ilaç kullanımı<br>Tannin, kepek, fitat gibi maddeler<br>Emilimde yarışan metaller (bakır, kurşun vb.)<br>Pika | Gastrointestinal kanama<br>Parazitozlar<br>Hemoroid<br>Peptik ülser<br>Gastrit<br>Hiatal herni<br>Helikobakter pylori<br>Divertikülozis<br>Neoplazi İnflamatuvar bağırsak hastalığı<br>Arteriyovenöz malformasyon<br>Varis<br>Salisilat kullanımı<br>Menoraji-metroraji<br>Jinekolojik neoplazi<br>Mesane neoplazisi<br>Epistaksis<br>Tekkik için kan verme<br>Hemoglobinüri<br>Sık flebotomi<br>Pulmoner hemosideroz<br>Koagülopatiler<br>Kronik böbrek yetmezliği ve hemodiyaliz<br>Herediter hemorajik telanjiektazi | Bebeklik çağı<br>Gebelik<br>Laktasyon |

### 2.2.7. Demir Eksikliği Anemisi Klinik Bulgular

Demir eksikliği anemisi hematolojik bir hastalık olmayıp aynı zamanda birçok sistemi de etkileyen vücutta fonksiyonel bozukluklara yol açar. Demir eksikliği anemisi hastalarına rutin laboratuvar incelemeleri sonucunda bile tanı konulabilir. Demir eksikliğinin anemisi

semptomları ve bulguları dokulardaki hipoksinin şiddetine ve süresine aynı zamanda kardiyovasküler- pulmoner kompanzasyon yanıtlarına bağlı olarak gelişmektedir. Demir eksikliği anemisinin en sık bulguları arasında solukluk, iştahsızlık, taşikardi, irritabilite, sistolik üfürüm gibi bulgular ön plana çıkmaktadır [42]. Demir eksikliği anemisinde hemoglobinin miktarının düşüklüğünden dolayı dokulara yeterince oksijen taşınmaz ve buna bağlı olarak bulgular arasında en sık görülen solukluk görülmektedir. Bu bulgu en sık görülen bulgu olup efor kapasitesinde azalma sonucunda ileri derece anemilerde ise kalp yetmezliğine neden olmaktadır. Demir eksikliği anemisinin sıklıkla rastlanan bulgularından biri de iştahsızlık olup çocuklarda büyüme yetersizliği ortaya çıkmaktadır. Yapılan çalışmalar sonucunda DEA olan çocuklarda iştah ve büyümenin negatif etkilenmesi sonucunda olabilecek nedenlerden biri ise ghrelin düzeyidir. DE'deki iştah kaybını ve büyümede azalmayı açıklayabileceği belirtilmiştir [43].

Literatürde yapılan araştırmalar arasında demir eksikliği aynı zamanda vücutta bazı fonksiyonel bozukluklara neden olduğu söz edilmektedir. Bu fonksiyonel bozukluklar arasında tiroid metabolizmasında yer almaktadır. Tiroid hormon sentezinin ilk basamaklarında yer alan katalizör olarak görev yapan tiroid peroksidaz enziminin demire bağımlı olduğu aynı zamanda demir eksikliğinin tiroid hormon metabolizmasının ise santral sinir sisteminin çalışmasında etkisini olduğu tespit edilmiştir [44].

En önemli demir eksikliği anemisini bulguları arasında yer alan çizgili kaslarda efor kapasitesinde azalma sonucunda ve egzersiz intoleransı oluşmaktadır. Bunun nedeni ise kaslara yeterince oksijen gelmediğinden ve mitokondride oksijen yetersizliğinden kaynaklanan bozukluktur. Bu nedenle elektron transport zincirindeki total bozukluk oluşmaktadır. Aynı zamanda kas çeşitlerinden bir diğeri olan kalp kasında da elektro fizyolojik değişiklikler meydana gelmektedir. Bu bulgulardan en önemlisi elektrokardiyografide ST segment çökmeleridir. Bu bulgudan yola çıkarak demir tedavisiyle tamamen bu durum düzelebilmektedir. Anemide görülebilen diğer kardiyak bulgular; kardiyak hipertrofi, kardiyak outputta artış, kalp yetmezliği, taşikardi ve plazma volümünde artış olarak bilinmektedir [45].

Demir eksikliği anemisiyle ilgili yapılan araştırmalar arasında yer alan bir diğer bulgu ise anne sütü ile beslenen bebeklerde DE'nin davranış bozukluğuna neden olan bu durumu tedaviyle düzelebileceği öne sürmektedir. Okul çağlarındaki çocuklarda bazı gelişimsel testler yapılmıştır. Bu testler sonucunda çocuklarda öğrenme güçlüğüne yetersiz olması demir eksikliğinden kaynaklanıp demir tedavisi ile düzelebileceğini göstermiştir. Demir eksikliğinde üzerinde durulan psikomotor gelişim, bilişsel ve davranışsal işlev üzerine etkisi göz önünde bulundurulmuştur. Bu durumda çocuklarda birçok nörolojik belirti görülmekte olup nörolojik değişimler genellikle demir tedavisine yanıt verip düzelmektedir [46].

DE'de gastrointestinal sistem etkilenmekte olup; mide asit sekresyonu azalmasıyla ince bağırsakta bulunan villuslardaki değişiklik sonucunda birçok besin, madde ve demir emilimi bozulmaktadır. Bu nedenle tedavide olumlu sonuç alabilmek için öncelikle gastrointestinal sistemdeki mukozal lezyonların düzelmesi gerekmektedir. Demir eksikliğine özgü olan bir diğer bulgu ise tırnak bombeliğinin kaybolması, zamanla içe çökmesi (koilonişi) dir. Tırnak hücrelerinin etkilenmesi sonucu koilonişi ve kaşık tırnak gelişmesi, tırnaklarda yumuşama ve tırnakta konkavite deformitesi gibi bulgular yanı sıra anguler stomatit, atrofik glossit, dil papillalarındaki atrofiye bağlı olarak dilde düzleşme ve parlaklık görülmektedir [39,47].

Fizik muayenede bireyde elde edilen bulgular arasında soluk cilt ve konjunktivada, mukozalarda görülen solukluk en çarpıcı bulgulardır. Mavi sklera, ağız kenarındaki çatlaklar, dil papillalarında gelişen atrofi, taşikardi, masum üfürüm, tırnaklarda uzunlamasına çizgiler, tırnak ayrılmaları, kaşık tırnak, splenomegali muayene sonucu tespit edilebilen diğer bulgular arasında yer alır. Demir eksikliği bağışıklık sisteminde bozukluğa neden olup hematolojik problemlere yol açabilmektedir [42].

Demir eksikliğinde görülen bulgulardan biri pika dikkat çekebilir; toprak (jeofaji), buz (pagofaji) gibi değişik maddeler yenilmesi hasta bireylerde dikkat çekmektedir. Pika kelimesi Latin kökenli olup pick up (toplamak)'tan gelmektedir. Pika tanım olarak en az 1 ay süreyle yiyecek olmayan maddeleri gelişimsel düzeye ve kültürel olmayarak yenilmesidir. Pika dünya çapında sıkça rastlanılan bir problem olup bütün ırklarda, coğrafi bölgelerde, kadın ve erkeklerde bu durum görülmektedir. Bu durumda hastalar kil ve buz gibi besin özelliği olmayan maddeler yerler böylelikle gastrointestinal sistemde demiri bağlar ve demirin emilimini azaltırlar. Bu durumda demir eksikliği anemisine neden olmaktadır [48].

**Tablo 2.4.** Demir Eksikliği Anemisi Klinik Bulgular [42].

|                         |   |
|-------------------------|---|
| Cilt                    | Solukluk  |
| Tırnaklar               | Kaşık tırnak  |
| Kas ve iskelet sistemi  | Efor kapasitesinde azalma<br>Egzersiz kısıtlılığı   |
| Kalp ve damar sistemi   | Kalp debisinde artış<br>Kardiyomegali<br>Kalp yetmezliği<br>Taşikardi   |
| Gastrointestinal sistem | İştahsızlık<br>Yutma güçlüğü<br>Anguler stomatit<br>Pika<br>Glutene duyarlı enteropati<br>Atrofik glosit<br>Plummer-Vinson sendromu |
| İmmün sistem            | Enfeksiyonlara karşı azalmış direnç<br>T lenfosit ve polimorf nüveli lökosit işlevbozukluğu   |

|                       |   |
|-----------------------|---|
| Merkezi sinir sistemi | İrritabilite-halsizlik<br>Katılma nöbeti<br>Senkop<br>Papil ödemi<br>Psödotümör serebri<br>Huzursuz bacak sendromu<br>Öğrenme güçlüğü<br>Uyku bozukluğu<br>Algılama<br>Dikkat eksikliği<br>Davranış bozukluğu<br>İşlevlerinde azalma<br>Motor ve mental gelişme testlerinde gerilik |
|-----------------------|---|

### 2.2.8. Demir Eksikliği Anemisinin Laboratuvar Bulguları

Anemi olan hastalarda DEA teşhisini koyabilmek için demir eksikliğinin laboratuvar bulgularının olması göz önünde bulundurulur. Laboratuvar sonuçlarına dayanarak serumferritinin düşük olması (15-20 ng/mL'nin altında olması) ve düşük hemoglobinin (kadınlarda 12 g/dL'nin ve gebelerde 11g/dL'nin, erkeklerde 13 g/dL'nin, altında olması) varlığı DEA tanısı için yeterli kabul edilmektedir [1].

**Hemoglobin:** Kana kırmızı rengini veren ve aynı zamanda solunum gazlarını taşıyan bir moleküldür. Nutrisyonel aneminin tanısı için Hb ölçümü esansiyel olup en yaygın, en kolay, en ucuz yöntemlerden birisidir. Hemoglobin ölçümü demir eksikliği için yeterli olmayabilir.

**Hematokrit:** Bu ölçüm anemi tanımlaması daha kolay, uygun olup tavsiye edilir bir metot olmasına rağmen hemoglobinden daha çok kullanılmaktadır. Hematokrit tanımı bakıldığında kanın şekilli elemanlarının hacminin toplam kan hacmine oranı olup ve yüzde olarak ifade edilir. Hematokrit için ön görülen alt sınır değerleri hemoglobin değerlerini 3 sayısı ile çarpıp elde edilen değer alt sınır değeri olarak kabul edilir [49].

**Serum demiri:** Serum demiri dolaşımdaki transferine bağlı demir miktarını göstermektedir. Serum demir konsantrasyonu demir eksikliği anemisinde genellikle düşük olup aynı zamanda bu değer normalde olabilmektedir. Serum demir konsantrasyonu diurnal ritim gösterir, sabahleyin yükselmekte akşam ise bu değer düşmektedir. Bunun nedeni ise menstrual döngüde kanamadan dolayı aynı zamanda oral kontraseptif kullanımı sonrasındaki kanamadan meydana gelmektedir. Serum demiri ölçmek için sabah, 8 saatlik açlık sonrasında oral demir preparatı alan bireyler ilaç kesildikten 24 saat sonra, parenteral demir alan bireyler ise 2-3 hafta sonra alınması gerekmektedir [26,47].

**Total Demir bağlama kapasitesi (TDBK):** Kanda bulunan proteinlere bağlanabilen toplam demir miktarı olarak ölçülmektedir. TDBK demir bağlama kapasitesi kandaki transferin miktarının ölçümü olup serumda 100 µg/dl demir bulunmaktadır. Serumda bağlamak üzere hazır 250-450 µg/dl transferin bulunup böylelikle transferinin 1/3 kısmı demir ile bağlanmaktadır.

Demire bağlı olmayan kısmı ise serum demirinin toplamı, total serum demir bağlama kapasitesini oluşturmaktadır [26,47,50].

**Transferin satürasyonu:** Serum demirininin total demir bağlama kapasitesine bölünmesi ve yüz ile çarpılması ile hesaplanmaktadır. Normal demir dengesine bakıldığında transferrin satürasyon değeri % 20-50'dir. Transferrin satürasyonu % 15'in altına düştüğü zaman eritropoez demirin eksildiğini göstermektedir [50]. Transferrin satürasyonu % 10'un altına düştüğünde ise demir eksikliği olduğunu kesin olarak göstermektedir [2].

**Ferritin:** İnvaziv olmayan testler arasında yer alan en iyi demir depo miktarını ferritin yansıtmaktadır. Ferritin'in normal referans aralığı erkeklerde 15 - 300 ng/mL olup kadınlarda ise bu değer 15-150 ng/mL 'dir. Ferritin düzeyinin 15-20 ng/mL'in altında olması ve buna eşlik eden bir hastalık yoksa demir eksikliği anemisine neden olduğunu göstermektedir. Eşlik eden hastalığı olanlarda ise ferritin düzeyinin 50µg/lt'nin altında olması demir eksikliğiyle uyumludur. Bunun yanı sıra ferritin akut faz reaktanları (AFR) olduğu için enfeksiyonlar, akut-kronik yangı, organ ve doku hasarları meydana gelip kanserli dokularda bu değer yükselebilir. Ayrıca yaşla beraber serumferritin düzeyi artmaktadır. Bu nedenle yaşlılarda ferritin düzeyi DEA tanısında çok güvenilir olmamaktadır [51].

**Serum soluble transferrin reseptör düzeyi (sTfR):** Transferin reseptörlerinin çoğunluğu hücre yüzeyinde bulunup transferine bağlı demirin hücre içine girişini kolaylaştırır disülfid bağlı transmembran proteini olup solubl protein formu plazmada tespit edilebilmektedir. Bu proteinin demir eksikliğinde miktarı artmasından dolayı kronik hastalık anemilerde solubl transferin reseptör düzeyi ölçümü bir yardımcı test olarak kullanılmaktadır [52].

**Hepsidin:** Kronik hastalık anemilerde inflamasyonlarda demir yüklenmesi ve hepsidin sentezi artmaktadır. Demir eksikliğinde hepsidin üretimi azaltmakta ve buna bağlı olarak demirin emilimi ve yeniden dolaşımını artırır[53].

#### **Eritrosit indeksleri:**

**MCV (Ortalama Eritrosit Hacmi):** Alyuvarların ortalama hacmi hematokritin alyuvar sayısına bölünmesiyle hesaplanır ve alyuvarın büyüklüğü hakkında bilgi vermektedir. Buna göre bu hücreleri mikrositer, normositer ve makrositer anemi gruplarına ayırmada olanak sağlar. MCV'nin normal değeri 80- 100 fl değerleri arasındadır. MCV değerleri nutrisyonel anemilerin nedenini belirtip bunun yanı sıra demir eksikliği anemisinde MCV düşerken, B12 ve folik asit eksikliklerine bağlı anemilerde MCV değeri yükselmektedir [49].

**MCH (Ortalama Eritrosit Hemoglobini):** Alyuvarlarda bulunan ortalama hemoglobin miktarı olup hemoglobin miktarının alyuvarlarda sayısına bölünmesiyle hesaplanmaktadır. Bu değer demir eksikliği anemisinde 27 pg'nin altında olup MCH için normal sınırlar ise 28-32 pg arasındadır.

**MCHC (Ortalama Eritrosit Hemoglobin Konsantrasyonu):** Ortalama bir alyuvarda bulunan hemoglobin yoğunluğunun yüzdelik olarak ifadesidir. MCH alyuvar hemoglobin molekülünün ağırlığıdır. MCHC ise yoğunluğun, birim hacimdeki ağırlığın g/dl olarak ifade edilmesine denir. Bu parametreler alyuvarların içerisindeki hemoglobin ve dolayısıyla rengi ile ilgili ölçütler olduğundan hücrelerin normokrom ve hipokrom olarak gruplandırılmasında kullanılır. Demir eksikliği anemisinde bu değer 30 g/dl'nin altında bulunmakta olup normal değeri ise 32-36 g/dl'dir.

**RDW (Eritrosit Dağılım Genişliği):** Alyuvarların dağılım genişliği olup gelişmiş otomatik kan sayım cihazları tarafından belirlenmektedir. Alyuvarlarda görülen anizositoz hakkında bilgi verip anizositoz ise, alyuvarların boyutlarındaki farklılığı ifade etmektedir [53].

**Kemik İliği Demiri:** İlik hücrelerinde depo demiri olarak değerlendirilip, hücre normal olup asıl bakılması gereken normoblast sayısında artış göz önünde bulundurulmaktadır. Bu durumun anemi ağırlığı ile ilişkisi yoktur. Kemik iliği aspirasyonunda kullanılan yöntemlerden demir boyası en güvenilir yöntem olup normal ilikte eritroblast sitoplazmasında her aşamada siderotik granül göstermektedir. Kemik iliğindeki eritroid öncü hücrelerin % 30-50'si siderotik eritroblast olup demir eksikliğinde sideroblast yüzdesini ve granül sayısını azaltmaktadır. Bir diğer yöntemde söz edersek kemik iliği biyopsi preparatında demir boyası: Ferritin saplanması sırasında eriyip ortadan kaybolması histolojik incelemeler sonucunda boyanan demirin çoğu hemosiderin olduğu gözlemlenmiştir. Hemosiderin ışık mikroskopunda boyanmış preparatlarda altın sarısı granül olarak görülmekte, Prusya mavisi ile boyandıktan sonra ise histiositler içinde düzensiz mavi hücreler haline dönüşmektedir. Demir eksikliğinde karakteristik olarak azalmakta ve yok olmaktadır. Yapılan çalışmalarda bazı hastalıklarda örneğin miyelofibroz ve kronik miyeloid lösemi hastalarında demir depolanmamaktadır [26,56].

### 2.2.9. Demir Eksikliği Anemisinin Tanısı

Tıpta tüm hastalıkların tanısında öncelikle hastaya yönelik sorular sorulur ve ardından fiziki muayene yapılır. Hastalığın tanısını koymak için öncelikle hastanın öyküsünden yola çıkarak demir eksikliğinin nedeninin alım azlığı mı, yoksa kan kaybı mı olduğunu ortaya çıkarmak için tanıda önemli yöntemlerin başında tam kan sayımı ve periferik yaymanın mikroskopik incelemesi gelmektedir [14]. Bununla birlikte DEA tanısında kullanılan testler kullanılmaktadır. Tablo2.5'te verilmiştir [17].

Anemiyi morfolojik olarak sınıflandırdığımızda eritrosit indekslerine bakıldığında mikrositik (MCV<80 fL) aneminin bir alt türüdür demir eksikliği anemisi en yaygın olan anemi türüdür [12]. Mikrositik anemiye bakıldığında aynı zamanda ortalama korpuskuler hemoglobin konsantrasyonu (MCHC) 27 pikogramdan küçüktür. Kısacası ilk olarak bakıldığına demir

eksikliğin en tipik laboratuvar bulgusu, MCHC 27 pikogramdan küçük, MCV 80 fl altında olması göz önünde bulundurulur. Bazen MCHC'nin 35 gr / dl'nin üzerindeki yüksek değerleri sferositoz için karakteristik olurken düşük düzeydeki değerler ise en çok DEA'nde görülmektedir. Tablo2.2.9.2.'de hipokromik anemilerin ayırıcı tanısı ile gösterilmiştir. DEA erken belirtisi anizositoz olup RDW değeride göz önünde bulundurarak RDW'nin normal değeri % 13,4'dür. Demir eksikliğinde ve megaloblastik anemilerde bu değerlerin artışı gözlemlenirken, heterozigot ise bu değer talesemide normal değerler arasında yer almaktadır. Anemi olmayan hastalarda RDW'si yüksek olsa dahi demir eksikliğin araştırılmasının yararlı olacağını, RDW değerinin yüksek olması hastalığın erken teşhis de ve diğer tetkiklerle bir parametre olarak kullanılmaktadır [44].

Demir eksikliğin tanısı için bir diğer değer ise total demir bağlama kapasitesi (TDBK), serum demiri ve transferrin saturasyonu düzeyleri demir eksikliğin tanısında kolaylık sağlamaktadır. Artmış transferrin düzeyi, düşük serum demiri ve % 10-15'den daha az transferrin saturasyonu demir eksikliğini anemisi olduğunu göstermektedir. Kısacası demir eksikliği anemisinde serum demiri (SD) azalmakta, transferrin saturasyonu (TS) azalmakta, serum demir bağlama kapasitesi (SDBK) artmaktadır [2].

Göz önünde bulundurulacak bir diğer değer ise ferritin düzeyinin azalması demir eksikliğin tanısında yardımcı olmaktadır. Demir eksikliğinde serum ferritin düzeyi genellikle bu değer 10 ng/dl'den azdır. Ferritin değeri enfeksiyon durumunda stres durumunda ve yaş ilerledikçe artmaktadır [57].

Demir eksikliğin tanısında herhangi bir kesinlik olmadığında, kemik iliğine bakılır sonra ilik içindeki demir depoları incelenir ve ilikteki makrofaj hücrelerinde demir olmaması eritrosit öncülük eden hücrelerinin % 10' dan daha az olanlarında demir yüklü granüller bulunmaktadır. Demir depolarının olmaması demir eksikliğin anemisi tespit ederek tanı koymak için önemli bir neden olmaktadır [14].

**Tablo 2.5.** DEA tanısında kullanılan testler [17].

| <b>DEA tanısında kullanılan testler</b>  |
|--|
| <ul style="list-style-type: none"><li>• Tam kan sayımı,</li><li>• Periferik yayma</li><li>• Retikülosit</li><li>• SD, SDBK, TS, Ferritin</li><li>• Serum TfR</li><li>• Eritrosit serbest çinko protoporfirini</li><li>• Kanda ve idrarda hepsidin ölçümü</li><li>• Hipokromik eritrosit yüzdesi</li><li>• Retikülosit Hb içeriği</li><li>• Kemik iliği demir boyanması</li></ul> |

**Tablo 2.6.** Hipokromik anemilerin ayırıcı tanısı [14]

| Bulgu            | Demir eksikliği | Kronik hastalık anemisi | Talasemi | Sderoblastik anemi |
|------------------|-----------------|-------------------------|----------|--------------------|
| MCV              | ↓               | N, ↓                    | ↓↓       | N, ↓, ↑            |
| Serum ferritin   | ↓               | N, ↑                    | N        | ↑                  |
| TDBK             | ↑               | ↓                       | N        | N                  |
| Serum demiri     | ↓               | ↓                       | N        | ↑                  |
| Transferrin sat. | ↓               | N, ↓                    | N        | N, ↑               |
| İlik demiri      | -               | +                       | +        | +                  |

(N: Normal ↑: Artma ↓: Azalma)

### 2.2.10. Demir Eksikliği Anemisinin Tedavisi

Demir eksikliği tedavisi için ilk olarak demir eksikliği anemisinde etiyolojik nedene bakılmaktadır. Eğer etiyolojik neden saptanması tedavi yapılırsa tedaviden olumsuz sonuç elde edilmektedir. Demir eksikliği anemisindeki asıl amaç; demir eksikliği nedenini ortadan kaldırmak, yeterli süre, etkili tedavi vermek ve tedaviye yanıtın değerlendirilmesini göz önünde bulundurmadır. Öncelikle demir eksikliğine neden olan durum araştırılmaktadır. Araştırma yapılırken demir eksikliğine neden olan kanama varlığı şüphesinin gastrointestinal, jinekolojik ve radyolojik incelemeler yapılmakta ve bunun sonucunda kanama odağı araştırılmaktadır. Sonuç olarak altta yatan nedene yönelik olarak tedavi uygulanmaktadır. Daha fazla demir kaybını ortadan kaldırmak için altta yatan neden tedavi edilmelidir. Bunun sonucunda tüm hastalardan aneminin düzelmesi ve demir depolarının dolması için demir tedavisi uygunlanmalıdır[47].

Demir eksikliğini anemisi tedavisinde kullanılan en iyi yöntem oral tedavi yöntemidir [58]. Oral demir tedavisi etkili, güvenli sonuç vermesinin yanı sıra ve ucuz olması nedeniyle DEA olan hastaların genelinde ilk seçenek olarak kullanılmaktadır. Oral demir tuzlarının ferrik (Fe+3) ve ferröz (Fe+2) olmak üzere 2 formu vardır. En etkili demir tuzu olan ferröz sulfat hala tedavide kullanılmakta ve iyi sonuçlar vermektedir. Genel olarak ferröz tuzları GİS'ten emilimi daha iyi olduğundan dolayı tercih edilir [51].

Demir preparatlarının genellikle aç karnına alınması önerilir. Ferröz tuzları etkili ve ucuz olmalarına rağmen hastalarda en çok görülen yan etkiler preparatı aldıktan 30-60 dakika sonra ortaya çıkan epigastrik rahatsızlıklar ve bulantı görülmektedir. Bu gastrointestinal sistem (GİS) etkileri dozla ilişkili olup ve genellikle tedavinin ilk 2-3 gününden sonra bu yan etkiler azalmaktadır. Bu tip yan etkiler görüldüğünde ilaç yemekle birlikte veya yemekten sonra da alınabilir ve hiçbir sakıncası yoktur [56].

Bunun yanı sıra tüketilen gıdalar demir emilimini artırabilmekte veya azaltabilmektedir. Örneğin çay, tahıllar ya da tıbbi tedaviler mide asidi pH'ını artırıp demir emilimini azaltmakta, askorbik asit, portakal suyu veya kırmızı etli gıdalar ise demir emilimini artırmaktadır [59].

Demir eksikliğinde iki yöntemle giderilmektedir.

1. Oral Demir Tedavisi
2. Parenteral Demir Tedavisi

### 2.2.10.1. Oral Demir Tedavisine Yanıt

Demir eksikliği için etkili bir tedavi yöntemi olup hemoglobin konsantrasyonunu 3-4 haftadan sonra 2gr/dl yükseltip aynı zamanda hemoglobin değerinde yükselme ise 2-3 haftadan sonra başlar ve bu değer normal düzeye ise 1-2 ayda ulaşmaktadır. Hemoglobin konsantrasyonu normal değere ulaşıncaya kadar tedavi süresince demir depolarını doldurmak için en az 3 ay daha devam edilmelidir. Tedaviye yanıtın en erken belirtisi retikülositoz (olgunlaşmamış alyuvarlar) olup ki bu tedavinin 5-7. günlerinde oluşup ve maksimum % 5-10 artmaktadır [47,51].

Demir eksikliği tedavisinde ilk öncelik anemiye neden olan halsizlik yorgunluk gibi semptomlar ortadan kalkar bunun nedeni ise hemoglobinin demirinin doyduğunu göstermektedir. Daha sonra doku demirinin doyması ile demir eksikliği sonucu oluşan belirtiler bunlar; saç dökülmesi, deri kuruluğu kırılan saçlar ve kırılan tırnaklar şeklindeki derinin trofik bozuklukları gerilemektedir. Uykusuzluk, sinirlilik, depresyon sinir sistemi işlev bozuklukları ortadan kalkmaktadır [60].

**Tablo 2.7.** DEA'da Tedaviye Cevap Süresi [61].

| Tedavi Süresi | Cevap                                       |
|---------------|---|
| 12-24 saat    | Hücre içi demir enzimlerinin yerine konması |
| 24-48 saat    | Kemik iliğinde eritroid hiperplazi          |
| 48-72 saat    | Retikülositoz (5-7 günde max)               |
| 4-30 gün      | Hemoglobin düzeyinde artma                  |
| 1-3 ay        | Depoların dolması                           |

### Oral Demir Tedavisine Yanıt Alınmamasına Yol Açan Nedenler

- Kanama kontrol altında değilse hemoglobin oluşumundan daha fazla kan kaybı vardır.
- Tedavide verilen ilaç kullanımı ile ilgili sorunlar: Hasta ilacı belirtilen şekilde almamış veya ilacı yetersiz kullanmıştır.

- Demir eksikliği ile birlikte başka bir anemi varsa örneğin; kobalamin eksikliği, bakır eksikliği, folik asit eksikliği, kurşun zehirlenmesi, böbrek yetersizliği, inflamasyon, tiroid hormonu yetersizliği, karaciğer hastalığı v.b.
- Emilim bozukluğu sonucu demirin gastrointestinal sistemden yeterli emilememesinden kaynaklanan sorun çözünür özelliğe sahip olmayan, enterik kaplı ya da az miktarda demir içeren preparatlar kullanılmış.
- Yanlış teşhis [62].

### 2.2.10.2. Parenteral Demir Tedavisi

Kronik düzelmeyen kanamalar sonucunda emilim sorunu halen devam ediyorsa oral demir tedavisine göre fazla demir açığı varsa ve oral demir tedavisi iyi tolere edilemediğinde demir depolarının hızlıca doldurulması gerektiğinde ve emilim bozukluklarını ortadan kaldırmak için parental demir tedavisi uygulanmalıdır [62]. Parenteral demir tedavisi ağırlı, pahalı bir yöntemdir. Parenteral tedavi sonucunda vücutta bazı alerjik reaksiyonlar meydana gelebilir. İntravenöz (IV) veya intramüsküler (IM) olmak üzere iki şekilde uygulanabilir. Parenteral tedavide demir dekstran ve demir sukroz kullanılmaktadır. Demir dekstran 50 mg/mL demir içermektedir [13].

Parenteral tedavi için gerekli toplam demir miktarı dozu (Ganzoni formülü)

Toplam demir açığı = (hedef Hb değeri - hastanın Hb değeri) x kg x 2.4\* + 500 mg\*2.4 = 0.0034 x 0,07 x 1000 ile hesaplanır.

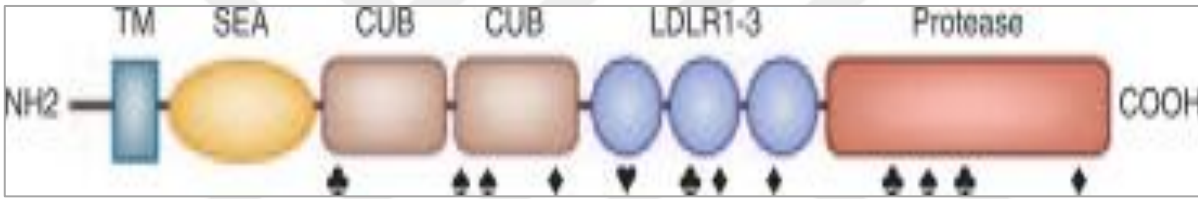
Parenteral demir tedavinin lokal ve sistemik yan etkileri olabilir. Enjeksiyon yerlerinde renk değişimi, ağrı, bölgesel lenf düğümü hassasiyeti lokal etkileri olup damar içi uygulamada ise vende ağrı kızarıklık oluşur tromboflebite yol açabilir, metalik tat hissedilmektedir. Sistemik olarak ise anafaksi, üriker, ateş, dispne, miyalji, artralji, bulantı, kusma görülmektedir [47].

### 2.3. Genetik ve Demir Eksikliği

İnsan genomu çapında ilişki çalışmaları (GWAS), yapılan çalışmalar sonucunda laboratuvar sonuçlarından elde edilen bilgilere göre hemoglobin, transferrin doygunluğu, eritrosit ortalama hücre hacmi (MCV) ve serum demir konsantrasyonları dahil olmak üzere anormal hematolojik parametrelerle ilişkili yaygın *TMPRSS6* genini tespit edip ve varyantlarını tanımlayarak demir homeostazının kontrolünde matriptaz-2'nin önemini vurgulamıştır. GWAS'ı takiben, serum demir parametreleri, demirle ilgili hastalıklar ve spesifik *TMPRSS6* tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) arasındaki ilişkiyi incelemek bazı ülkelerde yapılan çalışmalar araştırıldı. Bu araştırmalar sonucunda rs855791 (V736A) ve rs4820268 (D521D) SNP'lerin *TMPRSS6* genine ait olduğu tespit edildi. İnsanlarda *TMPRSS6*'daki mutasyonlar, oral demir tedavisine yanıt alamayan ve ebeveyn demir tedavisine yalnızca çok az yanıt veren demire

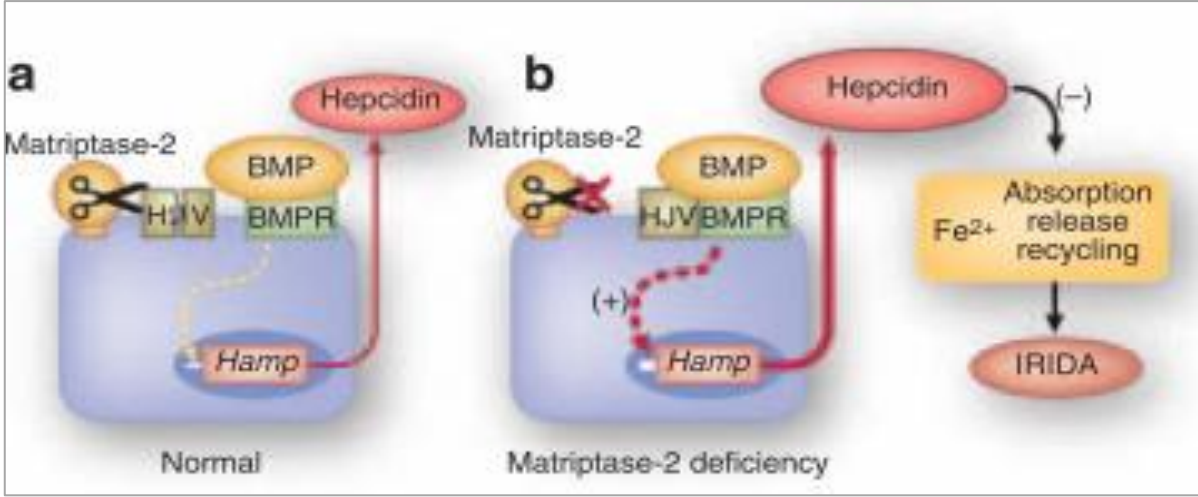
dirençli demir eksikliği anemisine (IRIDA) yol açmaktadır. IRIDA ayrıca konjenital hipokromik, mikrositik anemi, düşük ortalama korpüsküler eritrosit hacmi, düşük transferrin doygunluğu ve demir emilimi ve kullanımındaki kusurlarla karakterize edilmekte olup yapılan çalışmalarda ise şu anda, insanlarda bildirilen, tüm farklı hücre dışı alanlara dağılmış 42 farklı *TMPRSS6* mutasyonu olduğu öne sürülmüştür [64].

Kalıtısal demir metabolizması bozuklukları sıklıkla hepsidin yetersizliğine veya hepsidin artışına bağlı ortaya çıkmaktadır. *TMPRSS6* genindeki en az 40 mutasyonun, demire dirençli demir eksikliği anemisi adı verilen kalıtsal bir anemiye neden olduğu bulunmuştur. Bu durum, kan dolaşımında demir ile tedaviye dirençli (refrakter) demir eksikliğini karakterize etmiştir. Demir tedavisine dirençli demir eksikliği anemisi (IRIDA; “iron-refractory iron deficiency anemia”) ve hemokromatozis gibi genetik durumlar üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda vücuttaki demir dengesini kontrol altına alan moleküler mekanizmalarla ilgili önemli ipuçları elde edilmiştir.



**Şekil 2.4.** Matriptaz-2 gen yapısı ve IRIDA mutasyonlarının yerleri [65].

IRIDA fazla hepsidin üretimine bağlı bir hastalık olup aynı zamanda karaciğerden sentezlenen tip 2 transmembran serin proteaz olan ve diğer bir adıyla matriptase-2'yi kodlayan *TMPRSS6*'nın mutasyonuna bağlı resesif bir bozukluktur [66]. Genom içerikli yapılan çalışmalarda, *TMPRSS6*'nın, transferin saturasyonu, serum demiri, eritrosit ve hemoglobin varyasyonlarındaki genetik rolü vardır. Demir eksikliği anemisinde hepsidin düzeyi düşük veya görülmezken IRIDA'da normal veya bu değer yüksektir. *TMPRSS6* geni tarafından kodlanan tip II transmembran serin proteaz matriptaz-2, tip II transmembran serin proteaz (TTSP) ailesine ait bir genidir. Matriptaz-2 karaciğer organı tarafından üretilmekte ve *HAMP* geni tarafından kodlanan sistemik demir düzenleyici hormon olan hepsidin üretimini negatif olarak düzenlemektedir [67].



Şekil 2.5. Matriptaz-2 ile hepsidin ekspresyonunun düzenlenmesi [65].

Hepsidin, vücutta demir ihtiyacını karşılamakta ve demir emiliminin ayarlanmasında görev alan karaciğer tarafından salgılanan bir peptittir. Aynı zamanda hepsidin, ince bağırsağın epitel hücrelerinde makrofajlar ve hepatosit hücrelerinden gelen demiri bloke etmektedir. Ferroportine bağlanıp parçalayarak demirin kana girişini engellemektedir. Böylece demir emilimini ve demir salınımını sınırlandırır. Kan dolaşımında yeterli demir bulunmadığında, az miktarda hemoglobin üretilmekte olup kırmızı kan hücrelerimiz vücudun hücrelerine ve dokularına bu durumdan dolayı etkin bir şekilde oksijen taşıyamaz. Bunun sonucunda oksijen eksikliği, yorgunluk, halsizlik ve soluk cildi içerebilen anemi belirti ve semptomlarına neden olmaktadır [68].

## 2.4. SOD2 (MnSOD)

### 2.4.1. SOD2 Geni Tanımı

SOD2 geni, demir/manganez süperoksit dismutaz ailesinin bir üyesindedir. MnSOD mitokondriyal matrikste yer alan antioksidan enzim olup ROT'nin (Reaktif oksijen türleri) neden olduğu oksidatif hasara karşı önemli bir savunma sistemi sağlaması açısından önemli bir role sahiptir [69].

### 2.4.2. SOD2 Geni Hakkında Genel Bilgi

Vücudumuzda bütün hücrelerde hiçbir zorlukla karşılaşmadan giren ve en çok kullanılan özelliğe sahip molekül oksijendir. Oksijenin yapısı radikal olmaya uygun olup bundan dolayı serbest radikal denildiğinde akla ilk gelen yapı ROT'tur. İnsan vücudunda serbest radikaller fizyolojik koşullarda birçok mekanizmada ve metabolik olaylarda rol oynamaktadır [70].

Bu mekanizmalardan biri ise mitokondriyal elektron transport zincirinde elektron kaçıp oksijenle direkt olarak reaksiyona girerek süperoksit radikal meydana getirir. Mitokondriyal solunum zincirinde açığa çıkan elektronlar yaklaşık olarak % 12'si bu şekilde toksik bir ürün

oluşturur. Süperoksit radikal üretimi ve solunum, iç mitokondri membranından sitolojik tarafa doğru olmaktadır. Aynı zamanda mangan süperoksit dismutaz (MnSOD) aktivitesinin yüksek olmasıyla mitokondride süperoksit düzeyi denge halinde tutularak yalnızca hidrojen peroksit mitokondri membranından geçer ve sitoplazmaya ulaşır [71,72].

Mitokondride oksijenli solunum sonucunda birçok anabolik ve katabolik reaksiyon gerçekleşir. Bu reaksiyon sırasında moleküler düzeyde elektron kaçışları olur ve bunun sonucunda ROT'ler oluşur. ROT'ler başka moleküller ile çok kolayca elektron alışverişine giren moleküllerdir. Organizmada pek çok şekilde ROT bulunmaktadır [73]. ROT'lerin fazla üretimi sonucunda antioksidan savunma mekanizmasının dengesizliği ve oksidatif strese neden olmaktadır. Bunun sonucunda birçok lostaljin patojenizinde ve komplikasyonların gelişmesinde önemli rol oynamaktadır [74].

Oksidatif stresi ele aldığımızda organizmada serbest radikallerin oluşması, ortadan kaldırılması hızının dengeli bir şekilde olmasına oksidatif denge denir. Oksidatif denge olduğu süre içerisinde serbest radikaller etkilenmez. Bu dengenin bozulması yani radikallerin oluşum hızında artış, ortadan kaldırılmasında bir düşüş olması stres durumunu yaratır, bu olaya 'oksidatif stres' denir. Bir diğer şekilde ROT'lerin birikmesine de denir [75,76]. Fazla ROT redoks dengesini bozar ve aynı zamanda makromolekülleri, oksitleyerek doku hasarına neden olmaktadır. Peroksidasyon ürünleri örneğin lipid peroksit, gibi yapılar oluşur ve bunlar oksidatif stresin başında yer alır [77]. Oksidatif stresin oluşturduğu ROT ve antioksidan solunum ve sistemi arasındaki denge bazı biyolojik olayları ortaya çıkarır, aynı zamanda bazı hastalıklarla ilişkilidir. Örneğin; nörolojik hastalıklar, karaciğer ve akciğer hastalıkları, bağışıklık sistemine ait hastalıklar v.s gibi hastalıklara neden olmaktadır [78].

Antioksidan savunma, antioksidan okside olan subsrta göre ortamda az derişimde bulunup ve aynı zamanda substratın oksidasyonu geciktiren veya engelleyen madde olarak bilinmektedir. Fizyolojik rolü ise serbest radikalleri içeren kimyasal tepkiler sonucunda oluşan zararları önlemektir [79,80].

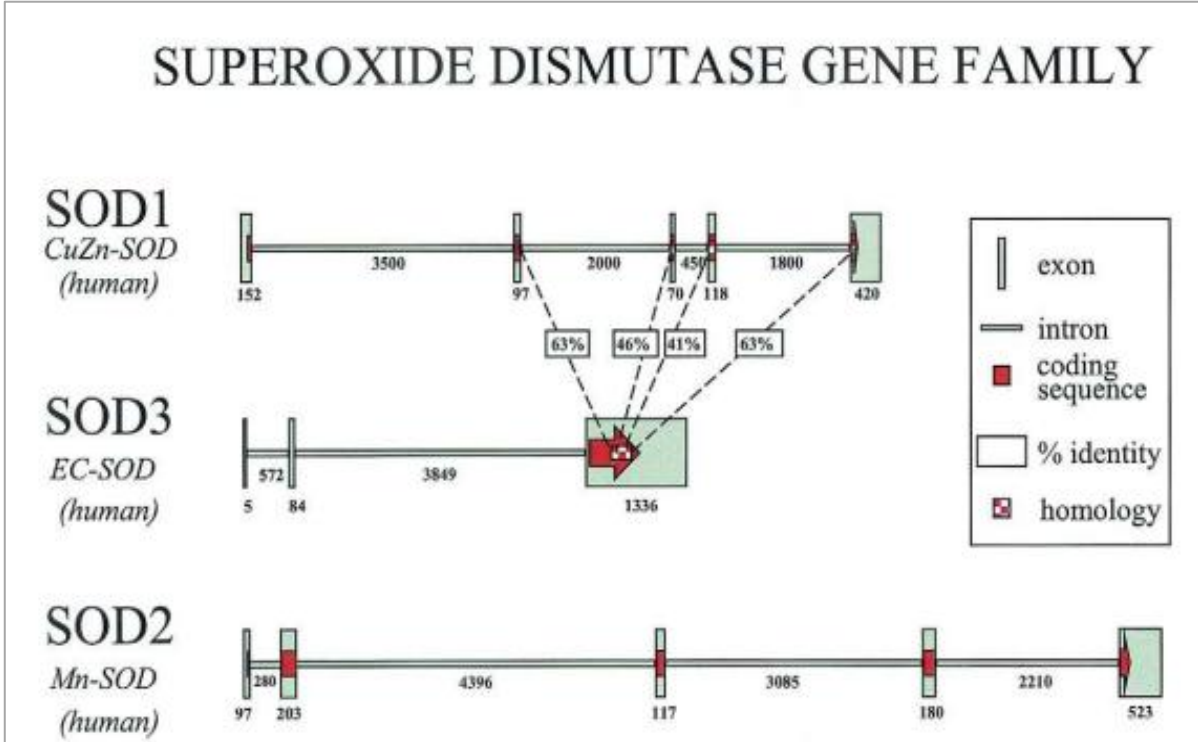
ROT'un oluşumu ve bunların meydana getirdiği hasarı engellemek için vücutta bazı savunma mekanizmaları gelişmektedir. Gelişen bu mekanizmaya 'antioksidan savunma sistemi' denir. Antioksidanlar, peroksidasyon zincir reaksiyonunu engelleyip ROT'un toplayıp aynı zamanda lipid peroksidasyonunu engeller [81].

Antioksidan molekülleri endojen ve ekzojen yapıya sahip olup aynı zamanda oksidan moleküllerin neden olduğu hasarları hem hücre içi hem de hücre dışı savunma göstererek etkisiz hale getirir [77].

İnsanda belirli hücre içi antioksidanlar bulunur. Bu antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD) katalaz (CAT), glutatyon peroksidoz (GPX)) enzimleridir. SOD'un yapısında bazı elementler yer almakta bakır, çinko ve magnezyum GPX'de ise selenyum iyonu olduğundan

dolayı bu enzimler metalloenzim olarak adlandırılır. SOD'ler oksidatif strese karşı önemli role sahiptir [73].

Süperoksit dismutaz (SOD) ailesinin proteinleri, ROT'lerin toksik etkilerinde ve oksijene gerek duyan hücreleri korumak için gerekli olup aynı zamanda bu proteinleri hücrenin fizyolojisini kontrol eden sinyalizasyon yolağında görev almaktadır. SOD'un memelilerde bilinen üç izoformu bulunmaktadır.



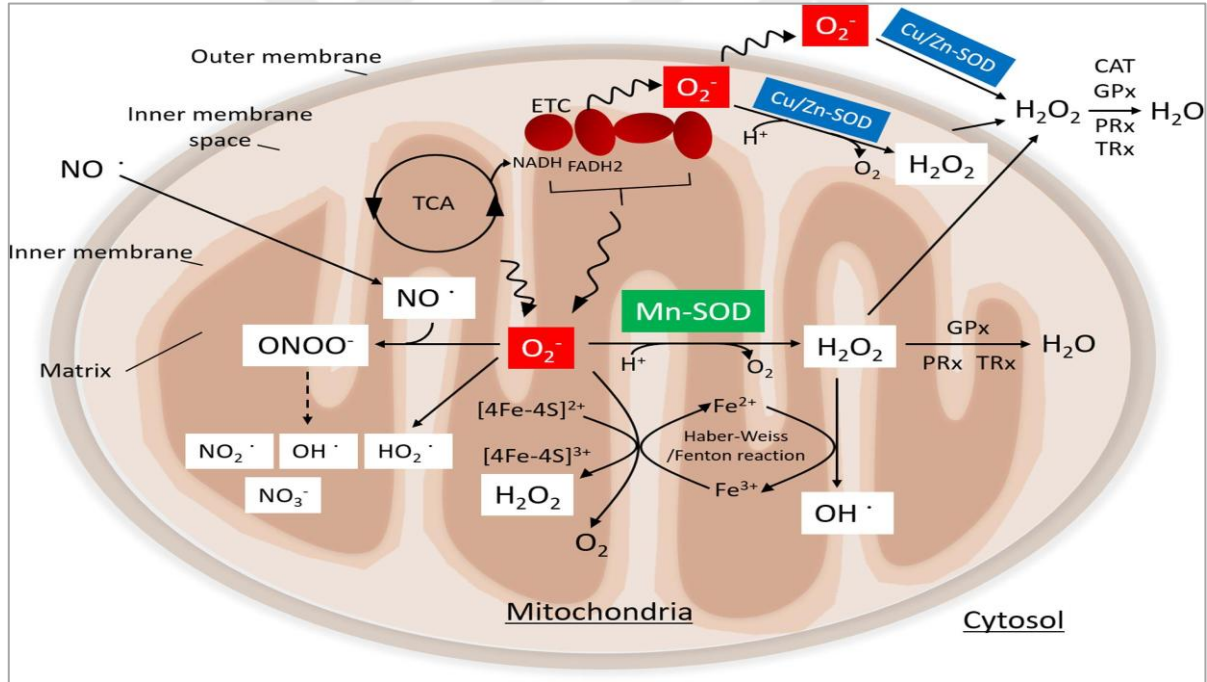
**Şekil 2.6.** SOD Enzimlerinin Gen Yapısı [82].

SOD'un izoformları:

*SOD-1* (Cu-2n SOD): Bakır çinko süper dismutaz olarak bilinen bu gen fare ve insanlarla belirlenmiş olup aynı zamanda türler arasında benzerlik görülmüştür. Genin yapısına bakıldığında beş ekzon ve dört introndan oluşur. *SOD1* geni insanlarda 21 nolu kromozomda yer alır. (21q22) de lokalizedir [82]. Bu gen aynı zamanda 32.000 dalton ağırlığında olup sitoplazmada nükleer bölmelerde ve lizozomda bulunur. *SOD1* gen mutasyonları Down Sendromu ve Amniyotrotik Laterol Skleroz (ALS) hastalıklarının patofizyolojisinde önemli rol oynamaktadır [83]. SOD ailesinin bir diğer formu *SOD3*'ün genomik yapısı belirlenmiştir. Bu gen 135.000 dalton ağırlığında olup aynı zamanda *SOD1* genlerindeki ekzon dizileri birbirine benzerlik gösterirken MnSOD ile benzerlik göstermektedir. Üç ekzon ve iki introndan meydana gelip CCAAT ve TATA dizileri eksiktir. *SOD3* geni 4. kromozomda (4p-q21) ve ekstraselüler kısımda sınırlandırılmış olup yalnızca bir tane mutasyon bulunmuştur [82].

*SOD2* (süperoksit dismutaz 2) mitokondride temizleme işlevinde görev alan antioksidan enzimidir. *SOD2*, süperoksidi daha az zararlı ürünlere dönüştürerek önemli bir rol oynar ve daha sonra mitokondri dışında işlenebilir veya temizlenebilir, böylece mitokondriyal fonksiyonun devam etmesine izin verir ve hasarı önler. *SOD2* bazen manganez bağımlı süperoksit dismutaz olarak bilinir çünkü işlev görmesi için kofaktör olarak manganez gerektirir. Süperoksit dismutazlar, süperoksit radikalini normal oksijene veya hidrojen peroksite dönüştüren enzimlerdir [84].

Süperoksit, oksijen metabolizmasının yan ürünlerinden biri olarak üretilir ve düzenlenmezse birçok hücre hasarlarına neden olur. Bu işlev, *SOD2*'nin mitokondriyal ROS temizlemesini ve hücre ölümüne karşı koruma sağlamasını sağlar. Süperoksitin vücutta olumlu birkaç işlevi vardır: enfeksiyonları temizlemek, hücresel iletişim, yeni mitokondri oluşturmak ve tümörleri yok etmek. Bununla birlikte, süperoksit gerçekten zararlıdır ve hemen hemen her kronik hastalıklarda oksidatif strese neden olmaktadır. Bu genin görevi dolaşımdaki eritrositlerin sayısında veya hemoglobin miktarında azalmayı sağlamaktadır[85].

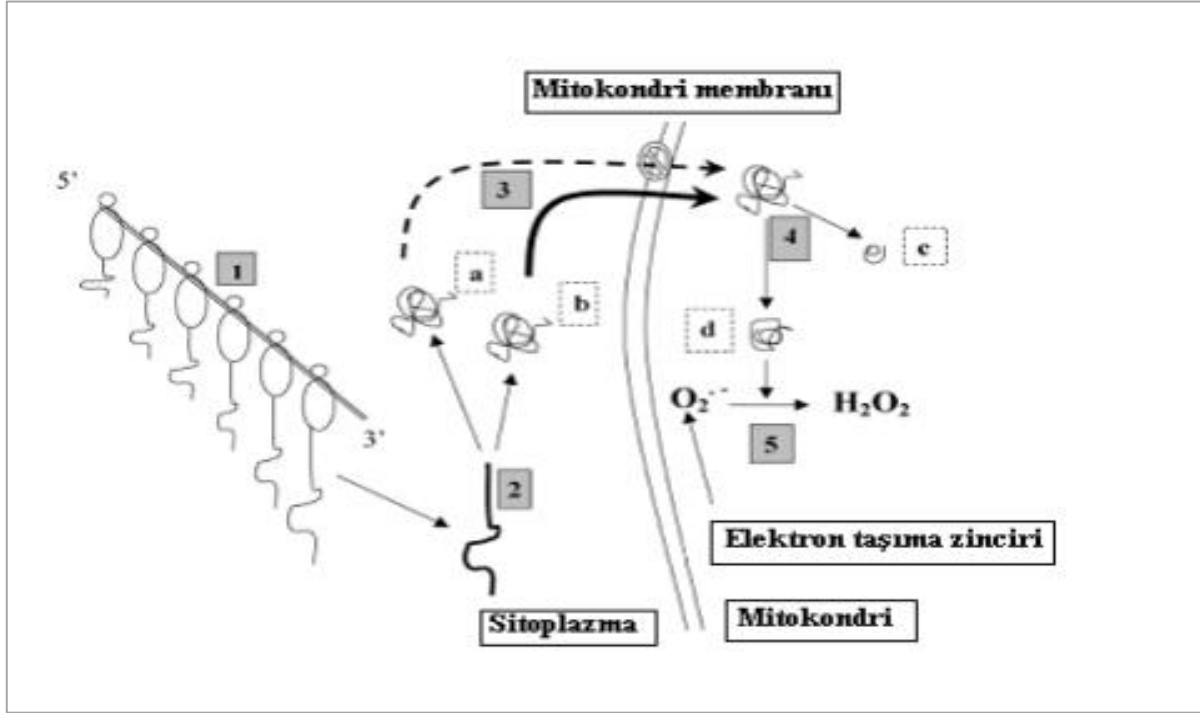


Şekil 2.7. Manganez süperoksit dismutazın (Mn-SOD) işlevi [86].

### MnSOD nasıl oluşur?

Sitoplazmada sinyal sekansını içeren öncül (prekürsör) bir molekül olarak sentezlenip daha sonra mitokondri içerisine geldiğinde bu molekül sinyal sekansını kaybeder. Ökaryot hücrelerde nükleer kromotin tarafından kodlanmaktadır. Öncelikle MnSOD mRNA sitozolüne geçip daha sonra ise ribozom içerisine gelir. MnSOD proteinin prekürsör formu yaklaşık 223

aminoasitten oluşmaktadır. Translasyon sonrasında ise bu protein prekürsör formu mitokondriyal matrikse taşınmaktadır. Bu protein mitokondriyal hedef dizisi enerji bağımlı bir proteaz tarafından kısaltılıp insan için protein şeklinde tetramer içerisine yapıştırılır. Kısacası bu protein ökaryot bir hücrede MnSOD mitokondriyal matriksle bulunur [87].



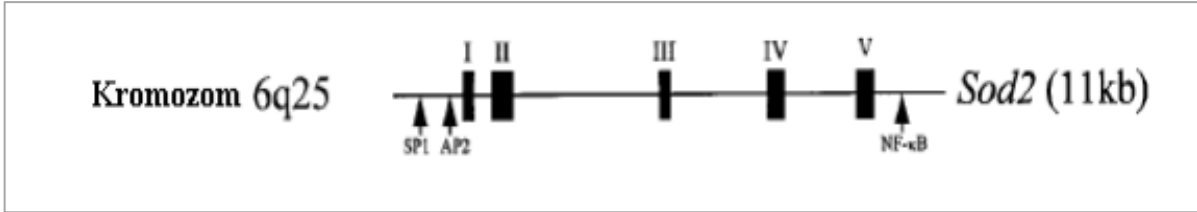
**Şekil 2.8.** SOD2 sentezi, taşınması, işlenmesi ve yerleşiminin teorik gösterimi [88]

SOD2 sentezi, işlenmesi, taşınması, yerleşiminden ele alınırsa şekilden yola çıkarak;

1. Öncelikle SOD2'nin ribozomal translasyonu olur.
2. SOD2'nin post translasyonel modifikasyonları (Proteinlerin yan zincirlerinde translasyonu ve ribozomdan çıkışı takiben meydana gelen enzimatik kovalent modifikasyonlardır.) gerçekleşir.
3. Modifikasyonlardan sonra ise SOD2'nin mitokondriyal hedef sekansı (MTS) ile sitoplazmadan mitokondriye transfer edilir.
4. Enzim mitokondriye girdikten sonra MTS nin ayrılır.
5. Süperoksit radikalinin H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye temizlenir.
  - a. SOD2 Ala aminoasit (GCT) –MTS de,
  - b. SOD2 enzimi Val amino asiti (GTT),
  - c. MTS ayrılır
  - d. Olgun enzim tam olarak reaksiyona hazır hale gelir [89].

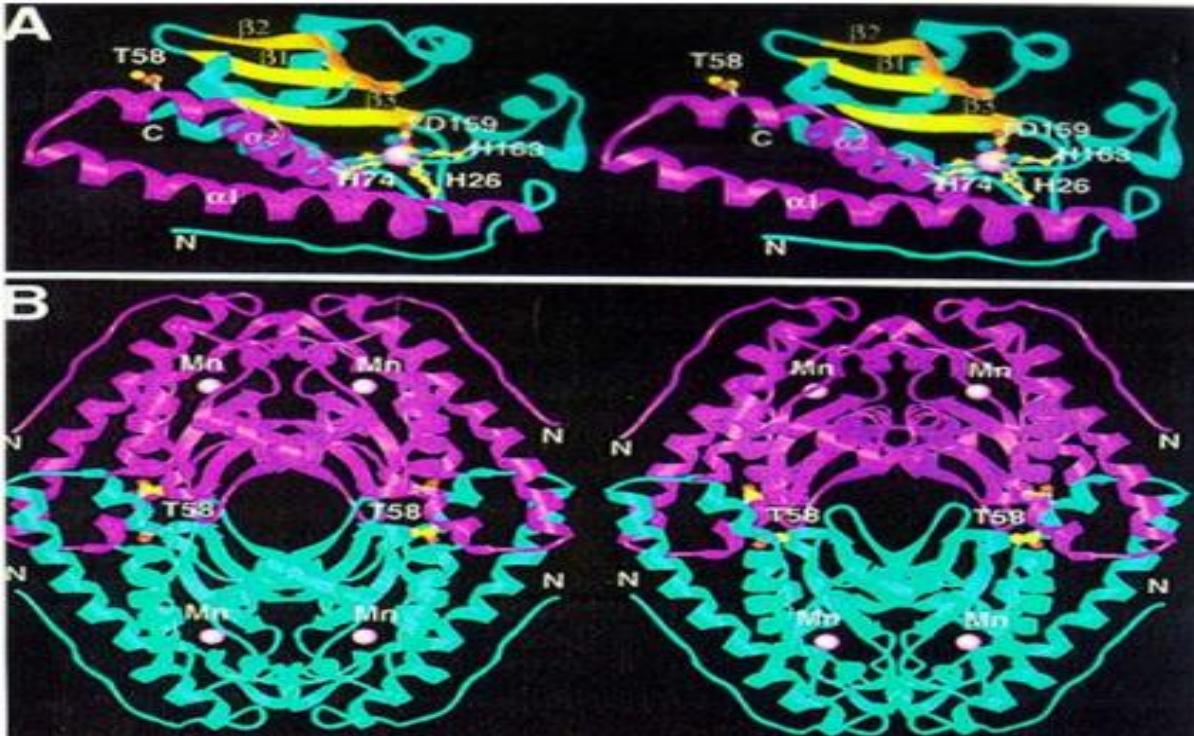
### 2.4.3. SOD2 Genomik Yapısı

*SOD2* geninin yapısı insanlarda ve sıçanlarla yapılan çalışmalar sonucu tanımlanmıştır. *SOD2* geni 4 introndan ve 5 ekzondan oluşur. CAAT ve TATA upstream kutuları bulunmayıp aynı zamanda GC-zengin olan bölgeleri bulunmaktadır. Bunlar housekeeping genlerin ayırt edici özelliğidir [82]. *SOD2* geninin kromozomal yerine bakıldığında 6q25 gen bölgesinde lokalizedir.



**Şekil 2.9.** *SOD2* geninin kromozomal gösterimi. Siyah kutular ekzonları, ekzonların aralarında kalan çizgi ise intronları ifade etmektedir [90].

*SOD2* geni memeli hücrelerinin yaşamı için esasiyel bir antioksidan enzim olup homotetromerdir. Toplam ağırlığı 88kDa'dır [82]. Bu genin yapısına bakıldığında her alt ünite de bir manganez iyonu bulunur. Çok iyi korunmuş bir protein olup aynı zamanda çoğu *MnSOD* asidikdir. *MnSOD* geni aynı zamanda inaktive edilebilir. İlk defa ise insan karaciğerinde 1984 yılında keşfedildi [91].



**Şekil 2.10.** İnsan manganez superoksit dismutaz yapısı A,B. [92].

#### 2.4.4. SOD2 Polimorfizmi

Polimorfizm, bir toplumda sadece tekrarlayan mutasyonlarla sürdürülecek oranlarda var olan nadir sıklıkla ve devamlı gösterilmeyen iki ve daha fazla genetik özelliği birlikte bir arada gösteren yapıya denir. Polimorfizimler insanlarla ilgili genetik araştırmalarda önemli role sahip olup genetik bir marker gibi görev yapmaktadır [93].

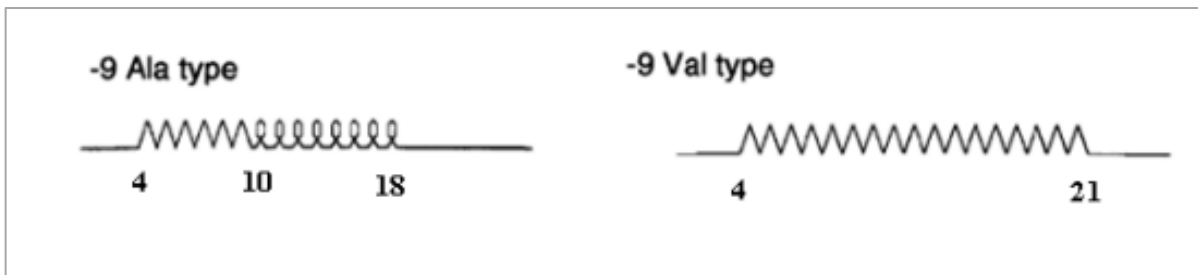
MnSOD polimorfizminin varyant ve mutasyon şeklinde üç formuna rastlanmıştır; bunlardan ilki MnSOD'un bir genetik polimorfizmin türevi olarak, sinyal peptidindeki

9. konumundaki valin yerine alanine değişmesidir. Bu değişikliğin MnSOD'un hücresel konumunu ve mitokondriyal transportunu etkilemektedir [94]. İkinci olarak ise MnSOD bir varyant/ mutasyon 58. pozisyonda izolasin aminoasidin treonine değişmesidir[95].

Üçüncü olarak bakıldığında MnSOD diğer bir mutasyon ise 60 pozisyonda lösinin fenil alanine dönüşmesidir. MnSOD proteininin intraselüler tiyollerin aracılığıyla redoks regülasyonlarını duyarlı hale getirmektedir [96].

Asıl ele alacağımız bu üç formun içindeki SOD2'de fazla görülen polimorfizmin T→C değişimi, Valin/Alanin polimorfizmi (rs 4880, V16A) dir. Bu polimorfizmde mitokondriyal sekansta kodonun 9. pozisyonda sinyal peptidinde bulunan valin (GTT) den alanin (GCT) ye değişir [97].

İkinci ekzonda metiyonin başlangıç kodonu adenozin sayıldığından 47 nükleotide bulunan mitokondriyal sinyal sekansının 24. kalıntısı COOH terminali tarafından aynı zamanda 16. aminoasitte alanin/valin polimorfizmine rastlanmaktadır. Sinyal peptidinde bu sekansın 9. aminoasitle meydana geldiği görülmektedir. Bu aminoasitlerdeki değişim proteinin ikincil yapısındaki değişimine neden olmaktadır. Alfa helikal yapıdan beta tabakalı konformasyon yapısını alır [98].



Şekil 2.11. SOD2 Val16Ala polimorfizmi ile yapısındaki değişim [98].

Bazı araştırmalarda SOD2 C(Ala) alleleri T(Val) allerine göre % 30-40 daha etkili olup mitokondriyal matrikse yer değiştirmektedir [95]. SOD2 geninin Val allellerinin mitokondriye transportunda etkisinin azalması nedeniyle süperoksit radikallere tam savunma etkisini gösterememektedir. Bu nedenle protein oksidasyonu sonucunda mitokondriyal DNA da

mutasyonlar oluşur [92]. CC (Ala/Ala) genotipli bireylerde *SOD2* geninin aktivitesi TC(Val/Ala) -TT(Val/Val) taşıyan bireylere göre daha fazladır [99].

MnSOD Ala16Val gen polimorfizmine ait allel ve genotip sıklıkları etnik kökenlerde değişiklik gösterir. Türk popülasyonunda ve beyaz ırka ait genotip ve allel sıklıkları çalışmalardan yola çıkarak aşağıdaki şekilde gösterilmektedir [90, 96].

| Ülke                   | Örnek sayısı<br>(sağlıklı birey) | Genotip sıklığı     |                     |                     | Allel frekansı  |                 | Referans  |
|------------------------|----------------------------------|---------------------|---------------------|---------------------|-----------------|-----------------|---|
|                        |                                  | <i>Ala/Ala</i><br>% | <i>Ala/Val</i><br>% | <i>Val/Val</i><br>% | <i>Ala</i><br>% | <i>Val</i><br>% |   |
| Türkiye                | 96                               | 14,6                | 52,1                | 33,3                | 40,6            | 59,4            | Bizim çalışmamız                                  |
| Türkiye                | 196                              | 23,5                | 42,3                | 34,2                | 44              | 54              | (Akyol ve diğerleri, 2005)                        |
| Türkiye                | 440                              | 17,5                | 50,5                | 32                  | 43              | 57              | (Silig ve diğerleri, 2015)                        |
| Türkiye                | 50                               | 16                  | 38                  | 46                  | 35              | 65              | (Atılğan ve diğerleri, 2014)                      |
| Türkiye                | 104                              | 12,5                | 65,4                | 22,1                | 45,2            | 54,8            | (Kalkan ve diğerleri, 2015)                       |
| Türkiye                | 40                               | 22,5                | 57,5                | 20                  | 51              | 49              | (Kadıoğlu, Sardas, Ergün, Ünal ve Karakaya, 2010) |
| Türkiye                | 50                               | 0                   | 64                  | 36                  | 18              | 82              | (Ergen, Narter, Tımcı ve Isbir, 2007)             |
| Türkiye                | 69                               | 17,4                | 47,8                | 34,8                | 41,3            | 58,7            | (Seckin ve diğerleri, 2016)                       |
| Türkiye                | 167                              | 17                  | 49                  | 34                  | 41              | 59              | (Kalkan ve diğerleri, 2014)                       |
| İtalya                 | 257                              | 21                  | 54,1                | 24,9                | 48              | 52              | (Ventriglia ve diğerleri, 2006)                   |
| Fransa                 | 214                              | 25,2                | 53,7                | 21                  | 52              | 48              | (Hung ve diğerleri, 2004)                         |
| Amerika<br>(Beyaz ırk) | 764                              | 25,5                | 49,6                | 24,9                | 50,3            | 49,7            | (Li ve diğerleri, 2005)                           |

**Şekil 2.12.** Türk popülasyonu ve beyaz ırkta Mn-SOD Ala16Val genotip ve allel sıklıkları

V-MnSOD prekürsörünün mitokondriye girerek MnSOD aktivitesi değişerek mitokondriyal elektron transport zincirinde üretilen ROT'lara karşı etkili bir mücadele sağlamaz. Mitokondri içinde MnSOD enziminin yeterli olmaması durumunda seviyesi artan süperoksit anyonu, nitrik oksit ile tepkimeye girerek nitrojen metabolitlerin oluşmasıyla

solunum zincirini inaktive eder. Nitrik oksitinin yanında O<sub>2</sub>-mitokondrideki demir-sülfür kümeleri ile de tepkimeye girer demir serbest hale geçer ve bu organel için son derecede önemli olan Fe-S kümelerini etkisiz hale getirir [93].

Ala-MnSOD alleli, hepatic demir birikimi ve artmış hepatoselüler karsinom riski ile ilişkili bulunmuştur. Ala-MnSOD varyantı, hepatic demir birikimini sağlamak için demir depolama (sitozolik ferritin), alım (transferrin reseptörleri, TfR-1 ve-2), ekstrüzyon (hepsidin) ve hücre içi dağıtım (frataksin) ile ilgili proteinlerin ekspresyonunu modüle edebilir. Sonuç olarak, Ala-MnSOD varyantı, demir homeostazında rol oynayan proteinlerin ekspresyonunu modüle ederek hepatic demir birikimini destekler [8].

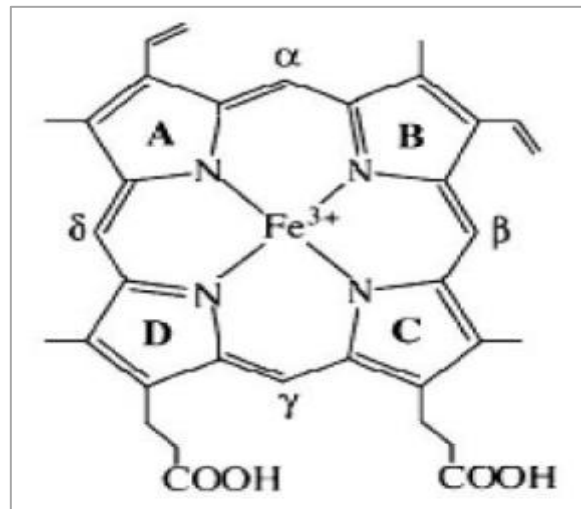
## 2.5. HMOX-1 Geni

### 2.5.1. HMOX-1 Geninin Tanımı

*Heme Oksijenaz-1*, hemoglobin, miyoglobin ve sitokrom p450 gibi birkaç önemli proteinde bulunan hem grubunu bozan reaksiyonu katalizleyen antioksidan enzimdir [99]. Hem oksijenaz-1, dokularda ve bazı hücrelerde hemi biliverdine oksidatif degradesyonu katalizleyip protein ailesinin bir üyesi olup hücrel homeostazının sürdürülmesine olanak sağlayan oksidatif strese karşı adaptif ve savunucu bir rol üstlenmektedir [101].

### 2.5.2. HMOX-1 Genel Bilgi

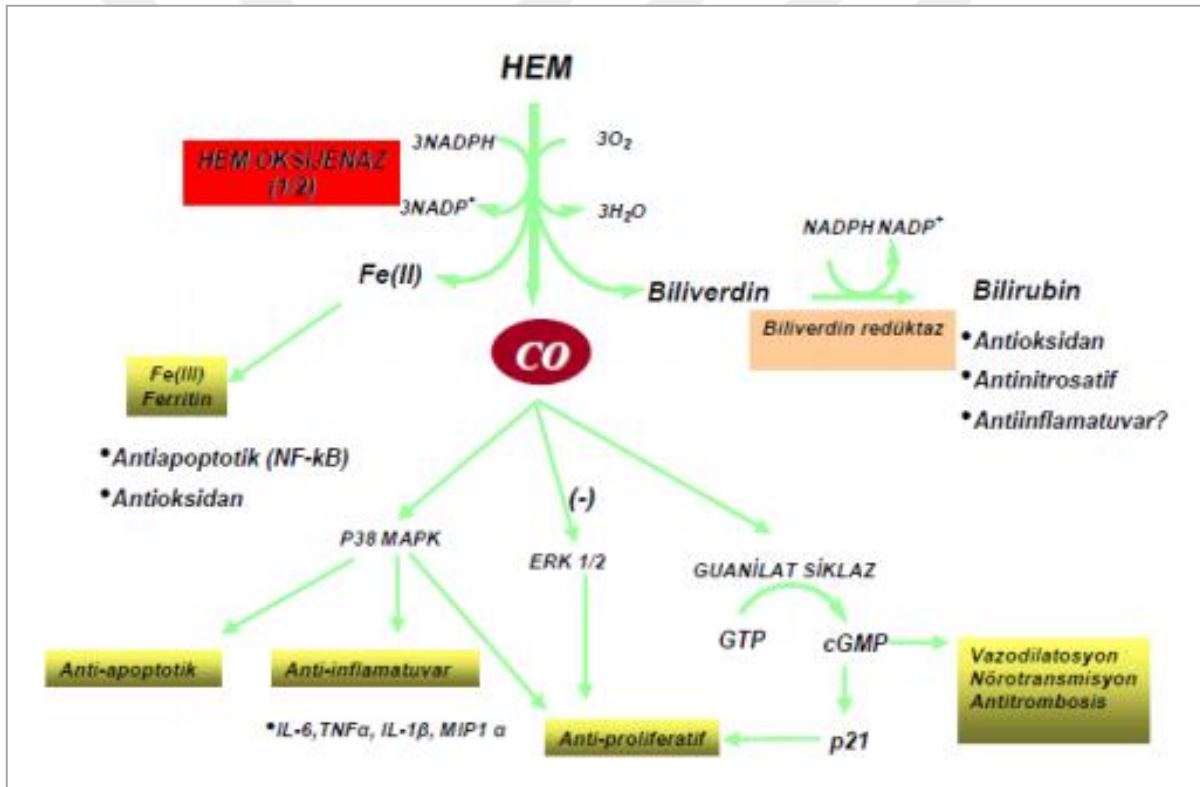
Hem oksijenaz enzim sistemini ele alırsak hem molekülü birçok protein yapısında bulunur. Örneğin; hemoglobin, miyoglobin ve sitokrom gibi özel proteinler hem grubu proteinler olarak adlandırılır. Diğer bir adıyla hemoproteinde denir. Hem (fe-protoporfirin1X) tetropirol yapısında olup merkezinde demir bulunup biyolojik aktivitelerde rol oynar [102].



Şekil 2.13. Hem molekülünün yapısı [103].

Oksijen transportunda depolanmasında, enerji üretimi ve detoksifikasyonda görev alan proteinlerin yapısında bulunup hem molekülü enzimatik sistemlerde rol oynar. Hem molekülü yüksek hidrofobik yapısıyla mitokondri, nükleus, endoplazmik retikulum, hücre membranı gibi çeşitli hücrel membranlara zarar vererek aynı zamanda lipid peroksidasyona, ROS oluşumuna neden olarak zararlı demir-bağımlı reaksiyonları başlatır. HO enzim sistemi ise hem'in bu ölümcül etkilerine karşı aynı zamanda hücreyi korur [104].

HO-sistemi hücre korumasının yanı sıra hücre içerisinde katalitik reaksiyonlar sırasında metabolitlerin meydana gelmesi, hücrel serbest hem'in azalmasını sağlar. HO izoenzimleri endoplazmik retikulum içinde NADPH, sitokrom p450 redüktaz ile birlikte bulunup hem'in metan köprüsü ile birbirine bağlanan dört pirol halkasında oluşan yapısı tetropirol halkasını ayırır [105].



Şekil 2.14. Hem molekülünün parçalanma ürünleri ve fonksiyonları [5].

Hem'in tetropirol halkasını ayırmasıyla biliverdin (BV) serbest demir (Fe<sup>+2</sup>) ve Karbonmonoksit (CO) oluşur, bunun sonucunda oluşan biliverdin molekülü daha sonra biliverdin redüktaz enzimi ile bilirubine dönüşür [105].

Hem molekülünün hem oksijenaz ile oksidatif parçalanmasından söz edecek olursak 1968 yılında Tenhunen ve arkadaşları safra pigmentlerinden biliverdin ve bilirubin uzun

yıllar önce tanımlanmasına rağmen bu reaksiyonun hem oksijenaz (HO) tarafından katalizlendiğini tespit etmiştir [106].

HO basit protein yapısında olması oksijen aktivasyonu için herhangi bir gruba gerek duymayan substrat hem ile bütün oluşturduğunda aktif olup mikrozomal bir enzim yapısına sahiptir. Ferrik hem-HO kompleksinin oluşması için başlayan tepkimede NADP-H sitokrom ile p450 redüktaz tarafından aktarılan elektron sayesinde demir molekülü indirger. Sonrasında moleküller oksijen enzimi ile bağlanmasıyla oksijen formuna geçer. Demire bağlı oksijen, redüktazdan bir elektron ve sudan ise proton alır. Bunun sonucunda Fe<sup>+3</sup>-OOH yapısını oluşturur. Oluşanbu yapı terminal oksijenin porfirin halkasına saldırır. Hidrosihem yapısı oluşur. Hidrosihem yapısı tekrar oksijen ile tepkimeye girer. Fe<sup>+3</sup>-verdo hem yapısını oluştururken, CO reaksiyonundan salınır. Tepkimenin bu basamağında bir elektron kullanılır. Daha sonra verdo hem'in ferrik biliverdin -IX $\alpha$  dönüşümü için bir molekül oksijen ile 3 elektron kullanılır. Tepkimede demir ve biliverdin serbestleşir [107].

Reaksiyon sonrası açığa çıkan demir organik bileşiklerin yapısında bulunur. Serbest demir ise İntrasellüler ROS oluşumunu engeller. Aynı zamanda lipid peroksidasyonu, nitrit oksit (NO) bağlı tiyol gruplarında nitrolizasyon, hidrojen peroksiz gibi radikallerin oluşmasında Haber-Weiss reaksiyonunda görev almaktadır [108]. Ferritin ve sitoprotektif bir molekül olup HO aktivitesine bağlı olarak hücrelerin daha dirençli hale gelmesini sağlar [109].

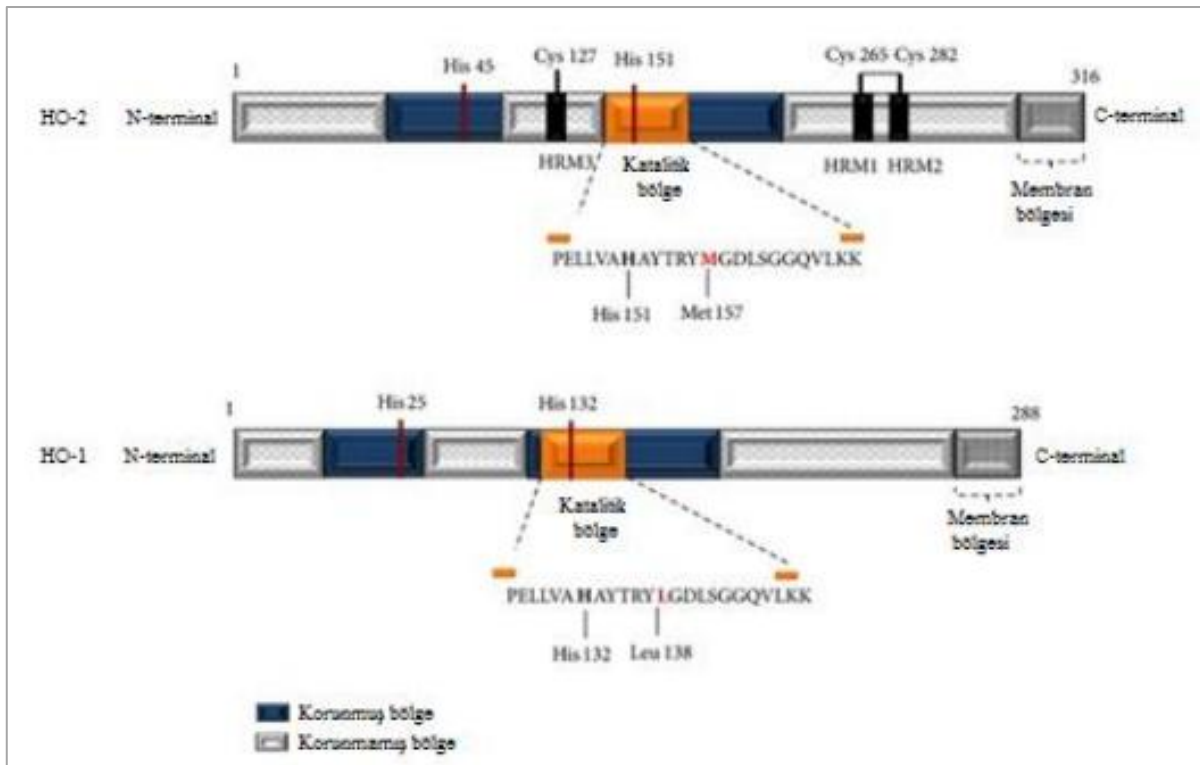
Hem oksijenaz, hem molekülüne parçalanmasından dolayı hücre farklılaşmasında, eritrosit döngüsünde ve demir konsantrasyonunu sağlar ve önemli hücre koruyucu etkilerine sahiptir. Yan ürün olarak CO bilirubin Fe/Feritin üzerindeki etkileri vardır. HO reaksiyonundaki bilirubin molekülü ise hem molekülünün parçalanması ile ilk olarak biliverdin yeşil renkli olup biliverdin redüktaz ile tepkimeye girip sarı renkli bilirubine dönüşür. Memeli hücrelerde en fazla bulunan antioksidandır. Karbonmonoksit ise hemoglobine bağlanarak oksijenin dokulara dağılımını engeller. Sinyal molekülü olup hücre fonksiyonlarını düzenler [5].

Hem oksijenazın genetik olarak farklı üç izoenzimi bulunmaktadır. HO-1 indüklenir formu sabit olarak eksprese edilen formları ise HO-2 ve HO-3'dür. Bu izoformlar farklı genler kodlar ve ekspresyon sonucu farklı hücre içi dokulara dağılır. [108].

**Tablo 2.8.** Hem Oksijenaz İzofromları ve Özellikleri [108].

|                      | HO-1  | HO-2  | HO-3        |
|----------------------|---|---|-------------|
| Fizyolojik rolü      | Heme yıkımı<br>Anti-oksidan defansda Damar tonus ayarlamasında<br>Nöral sinyal iletiminde | Hem yıkımı<br>Hem bağlama<br>Nöral sinyala                  | Hem bağlama |
| Doku dağılımı        | Dalak, karaciğer  | Beyin, retina, karaciğer, dalak, testis, akciğer, böbrek vs | Birçok doku |
| Ekspresyonu arttıran | Oksidatif stres, sitokinler, ağır metaller, hipoksi, NO, endotoksin, hem vs               | Adrenal glukokortikoidler, opiatlar                         | Bilinmiyor  |
| Enzim aktivitesi     | Km=0,24 µM  | Km=0,67 µM  | Önemsiz     |

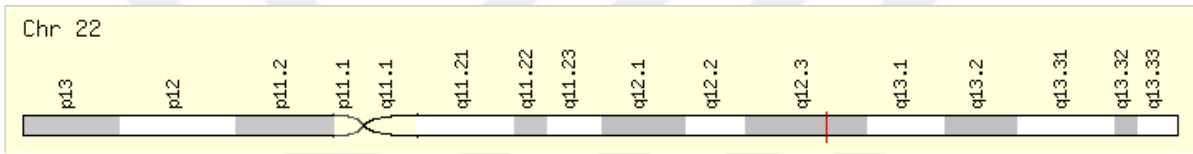
*HMOX-1* ve *HMOX-2* tek kopya genlerdir. Memelilerin çoğunda doku ve hücre tipinde HO-2 ise 1.3 kb ve 1.8 kb uzunluğunda belirlenmiş olup insanlarda HO-2 transkripti 1.3 ve 1.7 kb bulunur. Farelerde ise iki mRNA saptanmıştır [109]. HO-1 ve HO-2 benzer kimyasal tepkimeleri katalizler. Aynı zamanda bu iki izoform arasında aminoasit benzerliği ise % 45 arasında olup primer yapısı farklılık gösterir [110].

**Şekil 2.15.** Hem Oksijenaz Proteinlerinin Yapısı

HO-1 sistein grubu içermez, HO-2 sistein prolin grubu içerir. HO-2'in HO-1'den farkı fonksiyonel bir bölge içerir. Bu bölge regülatör bölge olup hem bağlanma bölgelerini sağlar. Hem oksijenaz-2 enzimi testiste beyinde, damarlarda, karaciğerde, böbreklerde ve merkezi sinir sisteminde yüksek miktarda HO-2 bulunur.

### 2.5.3. *HMOX-1* Genomik Yapısı

*Hem oksijenaz-1 (HMOX-1) geni* bir antioksidan enzim olan hem oksijenaz-1 enzimini sentezler. *HMOX-1* insan geninde 22 no'lu kromozomun 9 kolunda kodlanan bir genidir. 12.3 bandında yer alır. Bu genin yapısında 5 ekzon içeren 14 kb uzunluğunda translasyona uğradığı zaman 32 kDa. oluşan protein yapısına sahiptir. *HMOX1*, ilk iki alfa sarmal arasında bulunan bir aktif bölge ile 288 aminoasitten oluşur. Hemoglobinin, heminin ve miyoglobinin bilirubine dönüşümüne yol açan reaksiyonlarda görev alır [111].



Şekil 2.16. *HMOX1* Genomik Görünümü [112].

HO-1 proteini, hem molekülüne direkt bağlanarak hem-HO kompleksini özgü olarak 405 nm'de absorpsiyon göstermektedir. İnsanlarda HO-1'in kristal yapısına bakıldığında hem molekülünü çevreleyen hareketli çift heliks yapısıdır. Aynı zamanda HO-1 proteini içermez [113,6].

Hem oksijenaz-1 dokularda dağılımına bakıldığında dalakta HO-1 baskın form olarak bulunur. Bunun yanı sıra karaciğer kemik iliğinde çok fazla bulunur. Kanın hemoglobin düzeyi arttığı zaman HO-1 enzimi böbrek karaciğer makrofaj hücrelerinde artış olur.

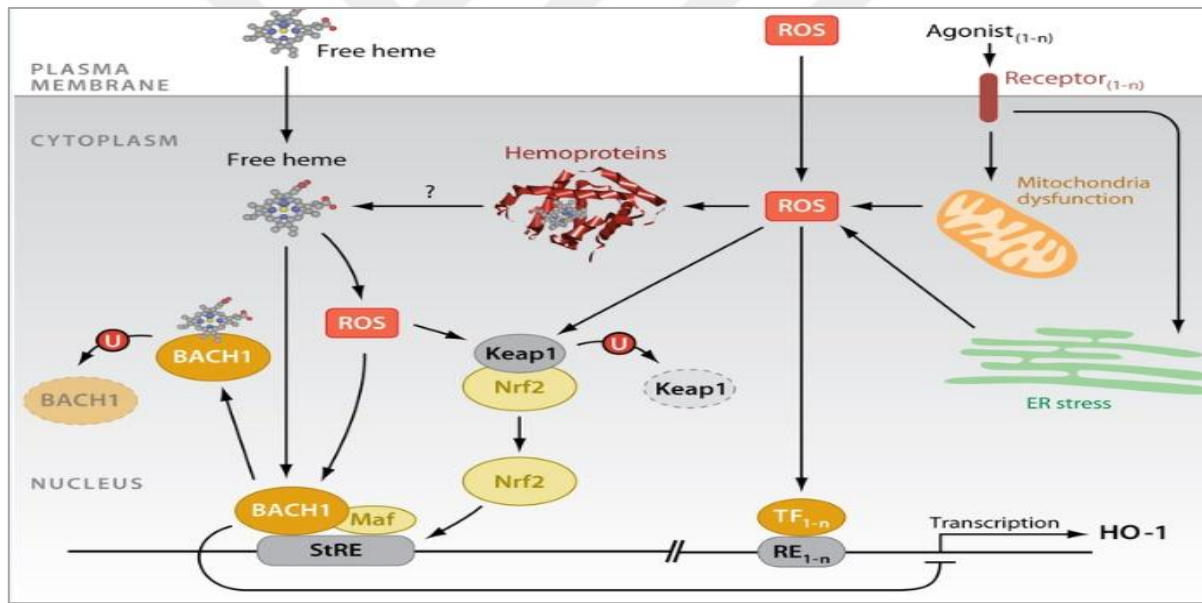
Hemoglobin ve eritrosit metabolizması ile ilgili olmayan dokularda HO-1 düzeyi normaldir. HO-1 önemli özelliği ise kimyasal ve fiziksel bir uyarıya karşı hızlı olarak transkripsiyonel aktivasyon gösterir [114].

Kısacası tüm stres cevapları ise büyük oranda *HO-1* geninin transkripsiyonel aktivasyonuna bağlı olup HO-1 stres proteinlerinin bir üyesi olarak bilinmektedir. Genelde bu protein ailesine HSP denilir. Aynı zamanda HSP32 (HSP: heat de shock proteins) proteininin yapısının bozulmasında rol oynar. Hücresel ısı direncinin oluşması hücrede bozulmuş proteinlerin taşınmasında görev alır. *HO-1* geni protein bağlayıcı olarak rol oynamaz sadece HSP'lere benzer görevlerde bulunmaktadır [115].

*HO-1* geni ROR (reaktif oksijen radikali) oluşturulan oksidatif sürece karşı yanıt veren bir yapıya sahiptir. Hiperoksit stresin oluşmasında önemli olan *HO-1* geni protein

ekspresyonuna yol açmaktadır. *HO-1* geni karaciğerde inflamasyona karşı genel sistemik cevabın bir parçası olarak kabul edilmektedir. Fizyolojik koşullar altında endoplazmik retikulum (ER) membranı ile ilişki daha sonra bu enzim için doğrulanmıştır. Bununla birlikte, stres koşulları altında, *HMOX1*, diğer hücresel membranöz bölmelere translokasyon yapabilir. Lipopolisakkarit (LPS) ve hem tedavileri altında, *HMOX1*, sitokrom c içeren fraksiyonlarla ilişkili bulunmuştur ve bu, mitokondride olası bir lokalizasyon olduğunu düşündürmektedir. Oksidatif hasarın arasında, *HO-1*, hem degradasyonundan antioksidatif yan ürünleri serbest bırakarak hücre içi ROS üretimini zayıflatmak için anahtar bir enzim olarak kabul edilmiştir.

*HO-1* ekspresyonunun indüksiyonu, Nrf2 dahil olmak üzere çok sayıda transkripsiyon faktörleri; sitokinler, endotoksinler, oksidatif stres ve hipoksi gibi uyarılar tarafından kontrol edilir. Ayrıca, *HO-1* geninin promotöründeki birkaç polimorfizm de transkripsiyonel aktivitesini modüle etmektedir [116].



Şekil 2.17. *HMOX1*'in transkripsiyonel düzenlemesi [6].

#### 2.5.4. *HMOX-1* Polimorfizmi

Hem oksijenaz-1 (*HO-1*), oksidatif strese karşı sitoproteksiyon sağlar. *HO-1* geninin üç promoter polimorfizmi tanımlanmıştır. Bunlar (GT)<sub>n</sub> mikrosatellit uzunluğu polimorfizmi ile tek nükleotid polimorfizmleri olan, G(-1135)A ve T(-413)A değişimleridir. Uzun (GT)<sub>n</sub> tekrarlarının, transkripsiyon aktivitesinin düşük olmasıyla ilişkili olduğu bulunmuştur. T(-413)A SNP'nin AA genotipi ise, daha yüksek bir *HO-1* ekspresyonuna yol açar. *HO-1* ekspresyonu üzerine yapılan çeşitli çalışmalara göre, *HO-1* promotörünün transkripsiyonel aktivitesi, hem (GT)<sub>n</sub> mikrosatellit polimorfizmi hem de T(-413)A SNP

tarafından düzenlenir. A alelinin HO-1 promoter aktivitesi, transfekte sığır endotel hücrelerinde ve insan karaciğer örneklerinde (GT)<sub>n</sub> uzunluğuna bakılmaksızın T allelinden önemli ölçüde daha yüksek olduğu bulunmuştur. Diğer veriler, uzun yerine kısa (GT)<sub>n</sub> tekrarlarının insan kanı mononükleer hücrelerde ve transfekte edilmiş sıçan düz kas hücrelerinde *HO-1* ekspresyonunun artmasıyla ilişkili olduğunu göstermiştir [5]. (GT)<sub>n</sub> tekrar uzunluğu polimorfizmi, promoter aktivitesini ve gen ekspresyonunu düzenler, kısa tekrarlarla (<27 tekrar), uzun tekrarlı alellere kıyasla (> 32 tekrar) *HMOX-1*'in transkripsiyonunda artışa neden olur [117].

Hem ve hem dışı şelale edilebilen demir demir düzenleyici proteinlerin (IRP) fonksiyonlarını etkilediğinden, HO aktivitesi sonucu meydana gelen demir molekülü IRP aktivitesi için önemli role sahiptir. Ayrıca IRP'ler, demirin taşınmasında işlevinde kritik proteinlerin mRNA stabilitesini etkilemektedir. Bu proteinler aynı zamanda hücre içi demir dengesini ayarlamaktadır. Demir-IRP sisteminde etkileri söz edilirse, ferritin sentezini ve aminolevulenat sentezini arttırıp, transferrin reseptör sentezini ise azaltır. IRP, demir eksikliği durumlarında ferritin mRNA translasyonunu engeler. Sitoplazmik demir molekülü arttığı zaman demir IRP'ye bağlanır ve ferritin mRNA sentezinin translasyonunu arttırmaktadır. Diğer bir taraftan ise demir, hücrede azaldığında ise transferrin reseptör mRNA'sı IRP ile bağlanır ve stabilitesini artırır. Hücrede demir arttığında demir IRP ile bağlanır ve transferrin mRNA stabilitesi bozulur. Bu mekanizma sonucunda hücre içinde aşırı demir olduğunda demir seviyeleri azalmaktadır. Demir dışında meydana gelen bazı olaylar ise NO, oksidatif stres, fosforilasyon, iskemi-reperfüzyon (I/R) gibi birçok faktör IRP fonksiyonunu etkilemektedir [118].

Heme Oksijenaz 1 (HMOX1), hemoglobin, miyoglobin ve sitokrom p450 gibi bazı önemli proteinlerde bulunan hem grubunu bozan reaksiyonu katalize eden bir enzim olduğundan bahsetmiştik. Aynı zamanda bazı hastalıklarda önemli rol oynar. Crohn Hastalığı (CD) ve ülseratif kolit (UC) içeren inflamatuvar bağırsak hastalıkları, *HMOX1* etkileri ile ilişkili en çok çalışılan hastalıklardandır. Bununla birlikte, mikrobiyota dengesizlikleri ve enfeksiyonlar, *HMOX1* aktivitesinin önemli bir rol oynadığı akut ve kronik bağırsak iltihabının oluşumunu etkileyen önemli faktörlerdir. Bu faktörlere ek olarak belirlenen enzim ve genlerin eksikliği hastalarda demir eksikliğine bağlı olduğu görülmüştür. Hem oksijenaz 1 eksikliği (*HMOX1*): Böbrek ve karaciğer dokularında belirgin eritrosit parçalanması ve intravasküler hemoliz, pıhtılaşma anormallikleri, endotel hasarı ve demir birikimi ile sonuçlanan, bozulmuş stres hematopoeziyle karakterize bir hastalığa neden olur. Klinik özellikler arasında kalıcı hemolitik anemi, aspleni, nefrit, yaygın eritemli döküntü, büyüme geriliği ve hepatomegali bulunur [6].

### 3. MATERYAL ve YÖNTEM

Demir eksikliği anemisi olgularında *SOD2* ve *HMOX1* gen polimorfizmlerinin araştırıldığı bu çalışmada, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hematoloji Anabilim Dalı tarafından hasta ve kontrol grupları oluşturuldu. Çalışmanın etik kurul onayı Mersin Üniversitesi Klinik Araştırmalar Etik Kurulu tarafından 30.09.2020 tarihinde 657 sayılı karar ile alındı.

Hasta ve kontrol grubu oluşturulmasında Mersin Üniversitesi Sağlık Araştırma ve Uygulama Hastanesi İç hastalıkları (Hematoloji) bölümünde yapılan muayeneler sonucu demir eksikliği anemisi saptanan 45 hasta ve yine aynı anabilim dalında demir eksikliği anemisi saptanmamış 45 sağlıklı birey olmak üzere 90 kişi (18-80 yaş) dâhil edilmiştir. Çalışmaya katılan gönüllüler, yapılan bilgilendirme sonrası onam formunu imzalayarak çalışmaya dâhil olmuşlardır.

#### Dâhil Edilme ve Dışlama Kriterleri

##### Hasta grubu Dâhil Edilme Kriterleri

- 18-80 yaş arası
- Mersin Üniversitesi Hematoloji bölümünde tedavi gören Demir Eksikliği Anemi tanısı konulan hasta bireyler
- Başka malignite tanısı olmayan hastalar
- Başka Merkezde tanısı konulmamış hastalar
- BGOF' nu imzalayan hasta bireyler

##### Kontrol grubu Dâhil Edilme Kriterleri

- 18-80 yaş arası
- Sağlıklı bireler
- Daha önce malignite tanısı konmamış hastalar
- BGOF' nu imzalayan sağlıklı bireyler

Çalışmaya katılan hasta ve kontrol grubundan alınan yaklaşık 2 ml periferik kan EDTA'lı tüplere alındı. EDTA'lı tüplere alınan kanlar deney yapılıncaya kadar -20°C'de saklandı.

## **Genotiplendirme**

### **DNA İzolasyonu**

DNA izolasyonu PureLink® Genomic DNA Kit'i (Invitrogen, ABD) kullanılarak aşağıdaki aşamalar izlenerek yapılmıştır:

1. Steril mikrosantrifüj tüpüne (1,5 mL'lik kapaklı) 200 µL tam kan alınmıştır.
2. Üzerine sırası ile 20 µL Proteinaz-K ve 20 µL RNase-A eklenmiştir, vortex kullanılarak karıştırılmıştır.
3. Oda ısısında 2 dakika inkübasyona bırakılmıştır.
4. 200 µL Genomic Lysis/Binding Buffer eklenmiş, vortex kullanılarak karıştırılmıştır.
5. 10 dakika 55 °C' de inkübe edilmiştir.
6. Tüp içerisine 200 µL %96-100 ethanol eklendi, 5 saniye vortex kullanılarak karıştırılmıştır.
7. Yaklaşık 640 µL olan lizat toplama tüpünün de bulunduğu filtreli tüpe aktarılmıştır.
8. Oda sıcaklığında 1 dakika 10.000 g'de santrifüj edilmiştir.
9. Ardından filtreli tüp yeni toplama tüpüne yerleştirilmiştir.
10. Etanolle hazırlanan 500 µL Wash Buffer 1 eklenmiştir.
11. Oda sıcaklığında 1 dakika 10.000 g'de santrifüj edilmiş. Toplama tüpü değiştirilmiştir.
12. Ardından filtreli tüpün üzerine etanolle hazırlanan 500 µL Wash Buffer 2 eklenmiştir, oda sıcaklığında 3 dakika maximum g'de santrifüj edilmiştir.
13. Son olarak filtreli tüp 1,5 mL'lik kapaklı mikrosantrifüj tüpüne yerleştirilmiştir.
14. 25-200 µL of PureLink® Genomic Elution Buffer eklendi. Oda ısısında 1 dakika inkübasyona bırakılmıştır.
15. 1 dakika maximum g'de santrifüj edilmiştir.
16. Saflaştırılmış DNA içeren tüp +4 °C'de saklanmıştır.

### **Real Time PCR (qRT-PCR) Analizi**

Bu çalışmada *SOD2* genine ait rs4880 polimorfizmi için A/G, *HMOX* genine ait rs2071746 polimorfizmi için de A/T alellerinin sıklığı araştırılmıştır. Alel sıklığını belirlemek için Tablo 3.1'de gösterilen TaqMan probolar kullanılmış, analizler LightCycler 480 II Real Time PCR (Roche, USA) cihazında yapılmıştır.

**Tablo 3.1.** *SOD2* ve *HMOX1* genlerinin prob dizileri

|                               |   |
|-------------------------------|---|
| <i>SOD2</i> gen<br>rs4880     | CTGCCTGGAGCCCAGATACCCCAA <b>[A/G]</b> CCGGAGCCAGCTGCCTGCTGGTGCT |
| <i>HMOX1</i> gen<br>rs2071746 | AGTTCCTGATGTTGCCACCAGGCT <b>[A/T]</b> TTGCTCTGAGCAGCGCTGCCTCCCA |

Polimorfizmleri belirlemek için hazırlanan, TaqMan SNP Genotyping Assays (Thermo Fisher, USA), Probe qPCR Reaction Mix (Promega, USA), ultra-saf su (Thermo Fisher, USA) ve DNA'dan oluşturulan karışım Tablo 3.2'de gösterilen ticari kullanım kılavuzunda önerilen şartlara uygun olarak hazırlanmıştır.

**Tablo 3.2.** Real-Time PCR Bileşenleri

| Real-Time PCR Bileşenleri               | Hacim ( $\mu$ L) |
|---|------------------|
| Probe qPCR Reaction Mix                 | 10 $\mu$ L       |
| TaqMan® Genotyping Assay (20 $\times$ ) | 1 $\mu$ L        |
| DNA+H <sub>2</sub> O                    | 9 $\mu$ L        |
| Toplam Karışım Hacmi                    | 20 $\mu$ L       |

Total hacmi 20  $\mu$ L olan Real-Time PCR Reaksiyon Karışımı Real-Time PCR cihazında PCR döngüsü Tablo 3.3'te gösterildiği gibi ayarlanarak analiz edilmiştir.

**Tablo 3.3.** Real-Time PCR Döngüsü.

| Basamak                         | Siklus | Sıcaklık ( $^{\circ}$ C) | Zaman |
|---------------------------------|--------|--------------------------|-------|
| GoTaq® DNA Polimeraz Aktivatörü | 1      | 95                       | 2 dk  |
| Denatürasyon                    | 40     | 95                       | 15 sn |
| Uzama                           |        | 60                       | 1 dk  |
| Soğuma                          | 1      | 40                       | 10 sn |

Her reaksiyondaki Taqman problemlerin floresan oranları F2/F1 floresan kanalında okunarak, 95 $^{\circ}$ C'erime noktası (T<sub>m</sub>) değerlendirilmiştir. rs4880 probu için A aleli floresan işaretli F2 kanalından, G aleli ise floresan işaretli F1 kanalından okunmuştur. rs2071746 probu için A aleli floresan işaretli F2 kanalından, T aleli ise floresan işaretli F1 kanalından okunmuştur. qRT-PCR cihazına F2/F1 referans değerleri girildiğinde probun içerdiği boyaya göre cihaz bir grafik oluşturarak analiz sonuçlarını vermiştir.

## 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

### 4.1. Bulgular

#### 4.1.1. Demir Eksikliği anemisi Hasta ve Kontrol grubunun Yaş ve Cinsiyet Dağılımı

Demir eksikliği anemisi hastalar ve kontrol gruplarının yaş ve cinsiyet dağılımları incelenmiştir. 45 demir eksikliği anemisi hasta ile 45 kontrol grubunun yaş ve cinsiyet dağılımları Tablo 4.1'de verilmiştir.

**Tablo 4.1.** Gruplara göre yaş ve cinsiyet dağılımları

| GRUP  |               |          |                                   |          |        |
|-------|---------------|----------|-----------------------------------|----------|--------|
|       | Kontrol grubu |          | Demir eksikliği anemisi hastaları |          |        |
|       | Ort±SS        | Min- Max | Ort±SS                            | Min- Max | p      |
| Yaş   | 55,40±12,74   | 30-69    | 44,38±10,96                       | 20-69    | <0,001 |
|       | N             | %        | N                                 | %        |        |
| Kadın | 25            | 55,6     | 27                                | 60,0     | 0,670  |
| Erkek | 20            | 44,4     | 18                                | 40,0     |        |

*p1:Student's t test, p2:Ki-Kare test*

Çalışmamızda cinsiyetin demir eksikliği anemisi ile ilişkisi değerlendirildiğinde kontrol grubunun 25'i kadın 20 tanesi erkek bireyden oluşmaktadır. Demir eksikliği anemisi hastalarının 27'si kadın 18'i ise erkek bireyden oluşmaktadır. İstatiksel analize göre gruplara göre cinsiyet dağılımları homojendir ( $p>0,05$ ). Yaş ortalaması değerlendirildiğinde ise gruplara göre yaş ortalamaları farklılık göstermektedir ( $p<0,001$ ).

#### 4.1.2. SOD2 (rs4880) Polimorfizmine Ait Allel ve Genotip Frekansları

SOD2 (rs4880) polimorfizmine ait genotip oranları incelendiğinde AG genotipinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 46,7 (n=21), hasta grubunda % 44,4 (n=20), AA genotipinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 33,3 (n=15), hasta grubunda % 33,3 (n=15), GG genotipinin görülme sıklığı ise kontrol grubunda % 20 (n=9) hasta grubunda % 22,2 (n=10) olarak belirlenmiştir. SOD2 (rs4880) polimorfizmine ait genotip oranlarının DEA arasında ilişki olmadığı saptanmıştır ( $p=0,962$ ). İstatiksel analizler Tablo 4.2'de verilmiştir.

**Tablo 4.2.** Demir eksikliği anemisi hasta ve kontrol gruplarında *SOD2* (rs4880) genotipleri

|         |    | Kontrol grubu |            | Demir eksikliği anemisi hastaları |            | P     |
|---------|----|---------------|------------|-----------------------------------|------------|-------|
|         |    | Sayı<br>n     | Yüzde<br>% | Sayı<br>n                         | Yüzde<br>% |       |
| GENOTİP | AA | 15            | 33,3       | 15                                | 33,3       | 0,962 |
|         | AG | 21            | 46,7       | 20                                | 44,4       |       |
|         | GG | 9             | 20,0       | 10                                | 22,2       |       |

*SOD2* (rs4880) polimorfizme ait allel istatistikleri incelendiğinde yabanıl A allelinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 56,7 (n=51) iken hasta grubunda % 55,6 (n=50), polimorfik olan G allelinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 43,3 (n=39) iken hasta grubunda % 44,4 (n=40) olarak belirlenmiştir. Gruplara göre allel dağılımları farklılık göstermektedir (p=0,881). *SOD2* (rs4880) polimorfizmine ait allel oranları ile DEA arasında ilişki olmadığı tespit edilmiştir. Tablo 4.3'de belirtilmiştir.

**Tablo 4.3.** Demir eksikliği anemisi hasta ve kontrol gruplarında *SOD2* (rs4880) allel dağılımları

| ALLEL    | Kontrol grubu |       |  | Demir eksikliği anemisi hastaları |       | P     |
|----------|---------------|-------|--|-----------------------------------|-------|-------|
|          | Sayı          | Yüzde |  | Sayı                              | Yüzde |       |
| A Alleli | 51            | 56,7  |  | 50                                | 55,6  | 0,881 |
| G Alleli | 39            | 43,3  |  | 40                                | 44,4  |       |

Hasta ve kontrol gruplarında *SOD2* (rs4880) genotipleri Hardy Weinberg dengesindedir (p>0,05).

#### 4.1.3. *HMOX-1* (rs2071746) Polimorfizmine Ait Allel ve Genotip Frekansları

*HMOX1* (rs2071746) polimorfizmine ait genotip oranları incelendiğinde AT genotipinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 40 (n=18) hasta grubunda % 42,2 (n=19), AA genotipinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 42,2 (n=19), hasta grubunda % 24,4 (n=11), TT genotipinin görülme sıklığı ise kontrol grubunda % 17,8 (n=8) hasta grubunda % 33,3 (n=15) olarak belirlenmiştir. *HMOX-1* (rs2071746) polimorfizmine ait genotip oranlarının DEA arasında ilişki olmadığı saptanmıştır (p=0,117).

**Tablo 4.4.** Demir eksikliği anemisi hasta ve kontrol gruplarında *HMOX-1*(rs2071746) genotipleri

|         |    | Kontrol grubu |         | Demir eksikliği anemisi hastaları |         | p     |
|---------|----|---------------|---------|-----------------------------------|---------|-------|
|         |    | Sayı n        | Yüzde % | Sayı n                            | Yüzde % |       |
| GENOTİP | AA | 19            | 42,2    | 11                                | 24,4    | 0,117 |
|         | AT | 18            | 40,0    | 19                                | 42,2    |       |
|         | TT | 8             | 17,8    | 15                                | 33,3    |       |

p:Ki-Kare test

*HMOX-1* (rs2071746) polimorfizme ait allel istatistikleri incelendiğinde yabanıl A allelinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 62,2 (n=56) iken hasta grubunda % 45,6 (n=41), polimorfik olan T allelinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 37,8 (n=34) iken hasta grubunda %54,4 (n=49) olarak belirlenmiştir. Gruplara göre *HMOX-1* (rs2071746) alel dağılımları farklılık göstermektedir(p=0,025). Hasta ve kontrol grubuna kıyasla T alleli A allele göre 1.968 kat daha fazla tespit edilmiştir. *HMOX1* (rs2071746) polimorfizme ait alel oranları ile DEA arasında ilişki olduğu tespit edilmiştir.

| ALLEL    | Kontrol grubu |       | Demir eksikliği anemisi hastaları |       | P     |
|----------|---------------|-------|-----------------------------------|-------|-------|
|          | Sayı          | Yüzde | Sayı                              | Yüzde |       |
| A Alleli | 56            | 62,2  | 41                                | 45,6  | 0,025 |
| T Alleli | 34            | 37,8  | 49                                | 54,4  |       |

#### 4.2. Tartışma

Anemi kanda bulunan hemoglobin ve alyuvar sayısının yaş ve cinsiyete göre normal değerlerin altına düşmesidir. Demir eksikliği anemisi, toplumumuzda tüm yaş gruplarında sıklıkla görülen bir sorun olup dünyada en çok görülme sebepleri arasında kadınlarda jinekolojik kayıplar, postmenapozal kadın ve erkeklerde gastrointestinal sistemden kaynaklı kayıplar, beslenme düzensizliği neden olmaktadır. Bu sebeplerden dolayı dünya nüfusunun yaklaşık % 34'üne etki etmektedir [1,9]. Oksidanların artması veya antioksidanların azalması sonucunda oksidatif stres meydana gelmektedir. Bu durum demir eksikliği anemisinin patogeneğinde olası biyokimyasal mekanizmalardan birisi olarak görülmektedir. Fizyolojik koşullarda oksidanlar ile antioksidanlar arasında bir denge vardır. Yalnız hücrenin yaşaması ve fonksiyonlarının devamı için bu dengenin devam etmesi gerekir. Oksidatif stres, oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengesizlik sonucu oluşur [119].

Çalışmamızda heme katabolizması ve antioksidan sistemlerle ilişkili olan iki enzimin demir eksiliği anemisinin oluşmasında *SOD2* (rs4880) ve *HMOX-1* (rs2071746) genlerdeki polimorfizmlerin etkisini araştırdık. *HMOX1*, dokularda bazal seviyelerde eksprese edilmesine rağmen, bu enzimin ekspresyon seviyeleri, dalak, karaciğer, kemik iliği ve böbrek gibi makrofajlar tarafından kırmızı kan hücrelerinin veya hemoglobinin parçalandığı hücrelerde veya dokularda önemli ölçüde artmasının yanı sıra *HMOX1* ekspresyonu, fiziksel ve kimyasal uyarımlarla indüklenebilir [4]. Aynı zamanda mitokondriyal konumu nedeniyle süperoksit dismutaz (*SOD2*), oksidatif fosforilasyon tarafından üretilen süperoksit anyonlarının toksisitesine karşı temel savunmayı sağlar. Belirgin özelliği gelişmekte olan kırmızı kan hücrelerin mitokondrialarında aşırı demir birikmesidir; bunun sonucunda, hücre serbest radikal üretiminde bir artış, proteinlerin yapısında hasara neden olur ve hücre ömrünü kısaltır. Oksidatif strese bağlı olarak eritrositlerde görülen hasar hücrenin yaşam ömrünü kısaltmakta olup aynı zamanda eritrosit membranındaki şekil değiştirme yeteneğinin azalması ve bununla beraber fosfatidilserin oluşumu ise anemiye neden olmaktadır [85]. Çalışmamızda *SOD2* (rs4880) polimorfizme ait allel istatistikleri incelendiğinde yabancı A allelinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 56,7 (n=51) iken hasta grubunda % 55,6 (n=50), polimorfik olan G allelinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 43,3 (n=39) iken hasta grubunda % 44,4 (n=40) olarak belirlenmiştir. Gruplara göre allel dağılımları farklılık göstermektedir (p=0,881). *SOD2* (rs4880) polimorfizmine ait allel oranları ile DEA arasında ilişki olmadığı tespit edilmiştir. *SOD2* (rs4880) polimorfizmine ait genotip oranları incelendiğinde AG genotipinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 46,7 (n=21), hasta grubunda % 44,4 (n=20), AA genotipinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 33,3 (n=15), hasta grubunda % 33,3 (n=15), GG genotipinin görülme sıklığı ise kontrol grubunda % 20 (n=9) hasta grubunda % 22,2 (n=10) olarak belirlenmiştir. *SOD2* (rs4880) polimorfizmine ait genotip oranlarının DEA arasında ilişki olmadığı saptanmıştır (p=0,962). *HMOX-1* (rs2071746) polimorfizme ait allel istatistikleri incelendiğinde yabancı A allelinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 62,2 (n=56) iken hasta grubunda % 45,6 (n=41), polimorfik olan T allelinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 37,8 (n=34) iken hasta grubunda % 54,4 (n=49) olarak belirlenmiştir. Gruplara göre *HMOX-1* (rs2071746) allel dağılımları farklılık göstermektedir (p=0,025). Hasta ve kontrol grubuna kıyasla T alleli A allele göre 1.968 kat daha fazla tespit edilmiştir. *HMOX1* (rs2071746) polimorfizme ait allel oranları ile DEA arasında ilişki olduğu tespit edilmiştir. *HMOX1* (rs2071746) polimorfizmine ait genotip oranları incelendiğinde AT genotipinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 40 (n=18) hasta grubunda % 42,2 (n=19), AA genotipinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 42,2 (n=19), hasta grubunda % 24,4 (n=11), TT genotipinin görülme sıklığı ise kontrol grubunda % 17,8 (n=8) hasta grubunda % 33,3 (n=15) olarak belirlenmiştir. *HMOX-1* (rs2071746) polimorfizmine ait genotip oranlarının DEA arasında ilişki olmadığı saptanmıştır (p=0,117). Çalışmamızın bulgularına göre

*SOD2* (rs4880) ve *HMOX-1* (rs2071746) genlerdeki polimorfizmlerin genotip oranlarının DEA arasında ilişki olmadığını allel oranlarına bakıldığında *HMOX1*(rs2071746) geninde T aleli A alleline göre daha fazla olduğu tespit edilmiştir.

Yapılan literatür çalışmalarında *SOD2* (rs4880) ve *HMOX-1* (rs2071746) polimorfizm çalışmaları kanser türlerinde, astım ve kronik obstrüktif akciğer hastalığında, eklem hastalıklarında, diyabet, şizofreni, depresyon alzheimer, parkinson hastalığıyla ilgili çalışmalar yapılmıştır. Demir eksikliği ile ilgili çalışma yapılmamıştır. Çalışmamız bu polimorfizmlerin demir eksikliği anemisi ile ilişkisini ortaya koymak amacıyla yapılan ilk çalışmadır.

Yavuz ve ark. (2015) Mangan süperoksit dismutaz (MnSOD, SOD2) hücrel metabolizmada ROS türlerinin fazla olduğu mitokondride bilinen tek süperoksit süpürücü olarak bilinen antioksidan savunma sisteminin önemli bir enzim olduğunu öne sürmektedir. Yapılan bu çalışmada toplam 440 sağlıklı birey dâhil edilmiştir. Bu bireylerden alınan kan örneklerinden PCR-RFLP yöntemi kullanarak polimorfizm dağılımlarına bakılmıştır. Yapılan çalışmada toplam 440 (kadın: 201, %46 ve erkek: 239, %54) sağlıklı birey yer almıştır. Çalışma grubunun yaş ortalaması ise 54,41±5,76 yıl (erkek, 55,34±5,76; kadın, 53,12±7,16) olarak ele alınmıştır. Mangan süperoksit dismutaz geninde elde edilen genotip frekansları sırasıyla CT: % 50,5, CC: % 17,5 ve TT için % 32,0 olarak tespit edilmiştir. Yapılan çalışma *SOD2* (rs4880)polimorfizminin genotip frekansları çalışmalarda ön bilgi olup hastalıklar üzerinde etkisini araştırmaya öncülük etmiştir [120].

İnsan genom çalışmalarında laboratuvar sonuçları göz önünde bulundurulduğunda ise yaptığımız çalışmaya yakın demir eksikliği anemisinde *SOD2* ve *HMOX1* polimorfizmin etkisine ilişkin geniş çaplı araştırma bulunmazken GWAS'ı takiben, serum demir parametreleri, demir metabolizmasıyla ilgili hastalıklar ve spesifik *TMPRSS6* tek nükleotid polimorfizmleri (SNP'ler) arasındaki ilişkiyi incelemek için bazı ülkelerde çalışmalar yapılmıştır. Çalışmalar sonucunda rs855791 (V736A) ve rs4820268 (D521D) SNP'lerin *TMPRSS6* genine ait olduğu tespit edilmiştir. İnsanlarda *TMPRSS6*'daki mutasyonlar, oral demir tedavisine yanıt alamayan ve ebeveyn demir tedavisine yalnızca çok az yanıt veren demire dirençli demir eksikliği anemisine (IRIDA) yol açtığı gözlemlenmiştir. Kalıtsal demir metabolizması bozuklukları sıklıkla hepsidin yetersizliğine veya hepsidin artışına bağlı olarak çıkmasının yanı sıra *TMPRSS6* genindeki en az 40 mutasyonda demire dirençli demir eksikliği anemisi adı verilen kalıtsal bir anemiye neden olduğu bulunmuştur [64].

Al-Jamea LH ve ark. (2021) Demir eksikliği anemisi (IDA) olan Suudi kadın hastalarda demir düzeylerini etkileyen *TMPRSS6* geninin ortak genetik varyasyonlarını belirlemeyi amaçlamışlardır. Çalışmalarında suudi kadınlardan oluşan 12-49 yaş aralığında oluşan 32 DEA'lı hasta ile 32 IRIDA hastası ve kontrol grubunu oluşturan 34 sağlıklı birey dahil edilmiştir. Hematolojik incelemeler sonucunda demir profili, serum hepsidin düzeyi ve

*TMPRSS6* gen transkripsiyonu belirlendi. *TMPRSS6* geni, tüm çalışma katılımcıları arasında analiz edildi. IDA ve IRIDA gruplarında ortalama hepsidin ve *TMPRSS6* RNA transkripsiyon seviyeleri kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük olup *TMPRSS6* gen dizi analizi sonucu 41 varyant tespit edilmiştir. Bu çalışma ise DEA'lı Suudi kadın hastalarda *TMPRSS6* geninin genetik varyantlarını araştıran ilk çalışma olup literatürde yer almaktadır [121].

Sri, W. Ve ark. (2015) Ferroportin (FPN1) gen promotör bölgesindeki -1355G/C polimorfizmi, demir eksikliği anemisi (IDA) ile kendini gösteren ferroportin ekspresyonu ve demirin artması, hemogloblin ve serum ferritin düzeylerinde azalmasına neden olmaktadır. Bu çalışmanın amacı ise DEA için bir risk faktörü olarak FPN1 -1355G/C polimorfizmini araştırmıştır. 20 anemi tanısı konmuş ergenlik çağındaki kadın birey ve 52 sağlıklı kontrol birey dâhil edilmiştir. -1355G/C polimorfizmini belirlemek için Bfa1 restriksiyon enzimi ve polimeraz zincir reaksiyonu-kısıtlama fragman uzunluğu polimorfizmi (PCR-RFLP) kullanıp kan örnekleri toplanmıştır ve tam kan sayımı için analiz edilmiştir. Serum ferritin seviyeleri ELISA ile ölçülmüştür. IDA grubunda C aleli taşıyan bireyler, IDA olmayan gruptaki bireylere göre daha düşük serum ferritin seviyelerine sahip olduğu gözlemlenmiştir (p=0.000). Bu çalışma sonucunda FPN1 -1355G/C genetik polimorfizminin C alelinin, ergenlik çağındaki kadın bireylerde demir eksikliği anemisi için bir risk faktörü olduğu tespit edilmiştir [122].

García-Martín, E. ark. (2015) İspanyol popülasyonunda nöropatolojik, nörogörüntüleme verilerinden yola çıkarak demir eksikliğinin huzursuz bacak sendromunun (HBS) patofizyolojisinde önemli bir rol oynadığını düşündürmektedir. HMOX oksidatif strese karşı önemli bir savunma mekanizması olup *HMOX1* ve *HMOX2* genlerinin RSL geliştirme riski ile ilişkili olup olmadığını araştırmışlardır. 205 RSL hasta birey ve 445 sağlıklı birey çalışmaya dâhil edilmiştir. *HMOX1* rs2071746, *HMOX1* rs2071747, *HMOX2* rs227036 ve *HMOX2* rs1051308 polimorfizmleri çalışılmıştır. Bu çalışma sonucunda *HMOX1* rs2071746 polimorfizmi ile İspanyol popülasyonunda RLS geliştirme riski arasında zayıf bir ilişki olduğu tespit edilmiştir [123].

Gilsene, G. P.ve ark. (2013) Brezilya popülasyonunda orak hücreli anemi hastalarında oksidatif stres yolağında yer alan üç polimorfizm ile fetal hemoglobin (Hb F) seviyeleri arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Orak hücre anemisi olan hastalardan genomik DNA ekstraksiyonu için alınmıştır. Aynı zamanda HbF düzeyleri, cinsiyet ve yaş parametreleri göz önünde bulundurulmuştur. Doğrudan dizileme yoluyla *CYBA* geninde rs4673:T>C ve rs9932581:G>A ve *HMOX1* geninde rs2071746:A>T olmak üzere üç polimorfizm gözlemlenmiştir. HbF seviyeleri cinsiyet, yaş veya rs4673:T>C ve rs9932581:G>A polimorfizmlerin ilişkili olmayıp çalışma sonucunda rs2071746:A>T polimorfizminin TT genotipi, artan HbF seviyeleri ile ilişkisi ortaya çıkmıştır.(p değeri = 0,0131). rs2071746:A>T polimorfizminin TT genotipi arasında bir ilişki olduğu tespit edilmiştir [124].

Hariharan, P., ve ark. (2020) yaptığı çalışmada *HMOX1* gen polimorfizmleri ile HbF seviyeleri arasındaki ilişkisini araştırmışlardır. *HMOX1* genindeki üç varyant bölgesi seçilmiştir. Bu varyantların genotiplemesi yapılmıştır. Bu çalışmada 90 SCA tanısı konmuş birey ve 50 sağlıklı birey olmak üzere toplam 140 birey çalışmaya dahil edilmiştir. Bireylerin DNA dizilimi ve SCA'lı hastaların hematolojik analizlerine bakılmıştır. Çalışma sonucunda rs2071746 (A→T) polimorfizminin TT genotipinin, yüksek HbF seviyeleri ile ilişkili olduğu tespit edilmiştir (P: 0.012). Aynı zamanda diğer bir varyantı olan, rs3074372 (GT)n tekrarlarının uzun biçiminin (> 25 GT tekrarı), artan HbF seviyeleri ile ilişkisi olduğunu tespit edilmiştir. HbF seviyeleri ile rs2071749 (A→G) polimorfizmi arasında bir ilişki bulunmamıştır. Orak hücre anemi hastaları hemolize bağlı olarak önemli oksidatif stres gösterdiğinden, *HMOX1* genindeki polimorfizmlerin incelenmesi sonucunda ortaya çıkan sonuç yüksek HbF seviyeleri için potansiyel bağımsız bir belirteç görevi görebilir [125].

Sogut, S.ve ark. (2011) oksidatif stres, orak hücreli aneminin klinik seyrinin altında yatan anormalliklerin patofizyolojisine katkıda bulunabilir. İnsan *MnSOD* genindeki fonksiyonel polimorfizm Ala-9Val ile orak hücre anemisi arasında olası bir genetik ilişkisini araştırmışlardır. Orak hücre anemisi olan 127 hasta birey ve 127 sağlıklı birey çalışmaya dâhil edilmiştir. *MnSOD* geninin sinyal peptidindeki alanine karşı valin polimorfizmi, 107-bp'lik bir primer çifti ve ardından kesme enzimi olan NgoMIV kullanılmıştır. Orak hücreli anemi hastalarındaki bireyler kontrol bireyelerine göre Val/Val genotipinin sıklığı yaklaşık 1.4 kat daha düşük ve Ala/Val'in sıklığı 1.3 kat fazla olduğu ortaya çıkmıştır. Hastalar ve kontroller arasında genotip sıklıklarında herhangi anlamlı bir fark bulunmamıştır. (p = 0.101). *MnSOD* gen polimorfizminin orak hücreli anemi ile ilişkili olmadığı tespit edilmiştir [126].

Son olarak literatürde yapılan araştırmalara dayanarak yukarıda söz edilen çalışmaların yanı sıra *SOD2* (*rs4880*) ve *HMOX-1* (*rs2071746*) genlere ait polimorfizmlerin demir eksikliği anemisiyle ilişkisi hakkında çok fazla bilgi bulunmamaktadır. Geniş çaplı araştırma sonucunda bu iki gen polimorfizmi bazı hastalıkların patogenezinde yer almaktadır. Çalışmamızda *SOD2* (*rs4880*) ve *HMOX-1* (*rs2071746*) polimorfizmi araştırılmış olup, genlerin demir eksikliği anemisi ile ilişkisi bulunmadığı tespit edilmiştir. DEA ilişkisini ortaya koymak bu gen bölgesine ait diğer polimorfizmlerinde araştırılması daha fazla ek çalışmalar yapılması gerekmektedir.

## 5. SONUÇLAR ve ÖNERİLER

Çalışmamızda *SOD2* (rs4880) polimorfizme ait allel istatistikleri incelendiğinde yabancı A allelinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 56.7 (n=51) iken hasta grubunda % 55.6 (n=50), polimorfik olan G allelinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 43.3 (n=39) iken hasta grubunda % 44.4 (n=40) olarak belirlenmiştir. Gruplara göre allel dağılımları farklılık göstermektedir (p=0,881). *SOD2* (rs4880) polimorfizmine ait allel oranları ile DEA arasında ilişki olmadığı tespit edilmiştir. *SOD2* (rs4880) polimorfizmine ait genotip oranları incelendiğinde AG genotipinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 46.7 (n=21), hasta grubunda % 44.4 (n=20), AA genotipinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 33.3 (n=15), hasta grubunda % 33.3 (n=15), GG genotipinin görülme sıklığı ise kontrol grubunda % 20 (n=9) hasta grubunda % 22.2 (n=10) olarak belirlenmiştir. *SOD2* (rs4880) polimorfizmine ait genotip oranlarının DEA arasında ilişki olmadığı saptanmıştır (p=0,962).

*HMOX-1* (rs2071746) polimorfizme ait allel istatistikleri incelendiğinde yabancı A allelinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 62.2 (n=56) iken hasta grubunda % 45.6 (n=41), polimorfik olan T allelinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 37.8 (n=34) iken hasta grubunda % 54.4 (n=49) olarak belirlenmiştir. Gruplara göre *HMOX-1* (rs2071746) allel dağılımları farklılık göstermektedir (p=0,025). Hasta ve kontrol grubuna kıyasla T alleli A allele göre 1.968 kat daha fazla tespit edilmiştir. *HMOX1* (rs2071746) polimorfizme ait allel oranları ile DEA arasında ilişki olduğu tespit edilmiştir. *HMOX1* (rs2071746) polimorfizmine ait genotip oranları incelendiğinde AT genotipinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 40 (n=18) hasta grubunda % 42.2 (n=19), AA genotipinin görülme sıklığı kontrol grubunda % 42.2 (n=19), hasta grubunda % 24.4 (n=11), TT genotipinin görülme sıklığı ise kontrol grubunda % 17.8 (n=8) hasta grubunda % 33.3 (n=15) olarak belirlenmiştir. *HMOX-1* (rs2071746) polimorfizmine ait genotip oranlarının DEA arasında ilişki olmadığı saptanmıştır (p=0,117). Çalışmamızın bulgularına göre *SOD2* (rs4880) ve *HMOX-1* (rs2071746) genlerdeki polimorfizmlerin genotip oranlarının DEA ile ilişki olmadığını allel oranlarına bakıldığında *HMOX1*(rs2071746) geninde T alleli A allele göre fazla olduğu tespit edilmiştir.

DEA patogenezinin aydınlatılmasına yönelik olarak *SOD2* (rs4880) ve *HMOX-1* (rs2071746) genlerin başka polimorfizmlerine bakılmalıdır. Ayrıca bu gen bölgelerindeki mutasyonlar da ayrıntılı şekilde daha geniş örneklem grubuna sahip hastalarda araştırılmalıdır. Çalışılan gen polimorfizmlerinin DEA ilgili herhangi bir çalışma bulunmamaktadır. Dünyada çalışılmamış olup özgün bir çalışma olarak sunulmuştur.

## KAYNAKLAR

- [1]. Eisenstaedt, R., Penninx, B. W., & Woodman, R. C. (2006). Anemia in the elderly: current understanding and emerging concepts. *Blood reviews*, 20(4), 213-226.
- [2]. Bainton, D. F., & Finch, C. A. (1964). The diagnosis of iron deficiency anemia. *The American journal of medicine*, 37(1), 62-70.
- [3]. Dilek, İ., Altun, S., Tuncer, İ., Uygan, İ., Topal, C., & Aksoy, H. (2000). Demir eksikliği anemisinde hemoglobin, hematokrit değerleri, eritrosit indeksleri ve etyolojik nedenlerin değerlendirilmesi. *Van Tıp Fak Derg*, 7(2), 51-6.
- [4]. Alam, J., Igarashi, K., Immenschuh, S., Shibahara, S., & Tyrrell, R. M. (2004). Regulation of heme oxygenase-1 gene transcription: recent advances and highlights from the International Conference (Uppsala, 2003) on Heme Oxygenase. *Antioxidants & redox signaling*, 6(5), 924-933.
- [5]. Lee, E. Y., Lee, Y. H., Kim, S. H., Chung, K. S., Kwon, O., Kim, B. S., ... & Lee, H. C. (2015). Association between heme oxygenase-1 promoter polymorphisms and the development of albuminuria in type 2 diabetes: A case-control study. *Medicine*, 94(43).
- [6]. Schuller, D. J., Wilks, A., de Montellano, P. R. O., & Poulos, T. L. (1999). Crystal structure of human heme oxygenase-1. *Nature structural biology*, 6(9), 860-867.
- [7]. Beckman, G., Lundgren, E., & Tärnvik, A. (1973). Superoxide dismutase isozymes in different human tissues, their genetic control and intracellular localization. *Human heredity*, 23(4), 338-345.
- [8]. Nahon, P., Charnaux, N., Friand, V., Prost-Squarcioni, C., Ziol, M., Lièvre, N., ... & Sutton, A. (2008). The manganese superoxide dismutase Ala16Val dimorphism modulates iron accumulation in human hepatoma cells. *Free Radical Biology and Medicine*, 45(9), 1308-1317.
- [9]. Kern WF. Introduction to Anemia. In: Kern WF, editor. PDQ Hematology. Canada: Hamilton, 2002: 35-49.
- [10]. Mims MP, Prchal JT. Divalent metal transporter 1. *Hematology*. 2005Aug;10(4):339-345.
- [11]. Soysal T. Anemilerin sınıflaması. In: Yazıcı H, Hamuryudan V, Sonsuz A. Cerrahpaşa iç hastalıkları.1.B. İstanbul: İstanbul Medikal Yayıncılık; 2010.s.142-44
- [12]. F Oğuz, TA Uzunhan, FK Binnetoğlu, HE Vehid. Hipokrom Mikrositer Anemide Demir Eksikliği Anemisi ve Talasemi Taşıyıcılığı Oranları. *J Child*. 2009; 9(3): 116- 122
- [13]. İliçin G, Ünal S, Biberoglu K, Akalın S, Gültekin G. Temel İç Hastalıkları. Özet kitabı. Güneş Yayınevi, 2017: 643-645
- [14]. Duffy TP. Hipokrom Mikrositer Anemiler. Editör: Ünal S. Cecil Textbook of Medicine Türkçesi. İstanbul: Güneş Kitabevi, 2002: 1003-1006.
- [15]. Ali R. Demir eksikliği anemisi. In Dolar E. İç hastalıkları.1.B. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri 2005; 553- 57.
- [16]. Fairbanks VF, Beutler E. Iron Deficiency. *Williams Hematology 5th edition USA Mc Grow-Hill*. 1995; 46:490-506
- [17]. Bolaman, Z. (2004). Demir Eksikliği Anemisi. 6. *Ulusal İç Hastalıkları Kongresi Kongre Program ve Bildiri Özetleri Kitabı*, 50-57.
- [18]. Neyzi O, Ertuğrul T. Pediatri. Cilt 1.2.B. İzmir: Nobel Tıp Kitapevleri; 1993. s.373.
- [19]. Wilson, D. B. (2009). Disorders of iron metabolism and sideroblastic anemia. *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood. 6th ed. Philadelphia, WB Saunders Company*, 522-542.

- [20]. Andrews, N. C. (1999). Disorders of iron metabolism. *New England Journal of Medicine*, 341(26), 1986-1995.
- [21]. Aisen, P., Enns, C., & Wessling-Resnick, M. (2001). Chemistry and biology of eukaryotic iron metabolism. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 33(10), 940-959.
- [22]. Fleming, R. E., & Bacon, B. R. (2005). Orchestration of iron homeostasis. *N Engl J Med*, 352(17), 1741-1744.
- [23]. Vyoral, D., & Petrák, J. (2005). Hcpidin: a direct link between iron metabolism and immunity. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 37(9), 1768-1773.
- [24]. Frazer, D. M., & Anderson, G. J. (2003). The orchestration of body iron intake: how and where do enterocytes receive their cues?. *Blood cells, molecules, and diseases*, 30(3), 288-297.
- [25]. Huebers, H. A., & Finch, C. A. (1987). The physiology of transferrin and transferrin receptors. *Physiological reviews*, 67(2), 520-582.
- [26]. Yiannikourides, A., & Latunde-Dada, G. O. (2019). A short review of iron metabolism and pathophysiology of iron disorders. *Medicines*, 6(3), 85.
- [27]. Karadağ A. (2018). Biyoorganik Kimya 5 Hafta Ders Notları. Erişim adresi: <https://docplayer.biz.tr/44377066-Biyoorganik-kimya-5-hafta.html>.
- [28]. Auerbach, M., & Adamson, J. W. (2016). How we diagnose and treat iron deficiency anemia. *American journal of hematology*, 91(1), 31-38.
- [29]. World Health Organization. Iron deficiency: assesment, prevention and control. Geneva, Switzerland: World Health Organization: 2001.
- [30]. Looker AC. Prevalence of Iron Deficiency in the United States. *JAMA J Am Med Assoc* [Internet]. 1997 Mar 26;277(12):973. Available from: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.1997.03540360041028>.
- [31]. Bozkurt Aİ, Koçoğlu F BH ve ark. Gaziantep kent merkezinde yaşayan 15-49 yaş kadınlarda anemi prevalansı. *Çukurova Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*. 1995;244-8.
- [32]. Köksal O. Türkiye 1974 Beslenme-Sağlık ve Gıda Tüketimi Araştırması. Ankara. 1977;
- [33]. Sipahi, T. Nutrisyonel Anemilerde Yenilikler. *Türk Hematoloji Derneği IX. Mezuniyet Sonrası Eğitim Kursu*, 9.
- [34]. Greer, J. P., Arber, D. A., Glader, B. E., List, A. F., Means, R. M., & Rodgers, G. M. (2018). *Wintrrobe's clinical hematology*. Lippincott Williams & Wilkins.
- [35]. Moussa, B. H., Woods, H. F., Mitchell, B., Grahame-Smith, D. G., & Callender, S. (1975). Human platelet monoamine oxidase activity in iron-deficiency anaemia. *Clinical science and molecular medicine*, 48(4), 289-295.
- [36]. Chuang, C. L., Liu, R. S., Wei, Y. H., Huang, T. P., & Tarng, D. C. (2003). Early prediction of response to intravenous iron supplementation by reticulocyte haemoglobin content and high-fluorescence reticulocyte count in haemodialysis patients. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 18(2), 370-377.
- [37]. Dilek, İ., Altun, S., Tuncer, İ., Uygan, İ., Topal, C., & Aksoy, H. (2000). Demir eksikliği anemisinde hemoglobin, hematokrit değerleri, eritrosit indeksleri ve etyolojik nedenlerin değerlendirilmesi. *Van Tıp Fak Derg*, 7(2), 51-6.
- [38]. Haznedar R. Hipokrom mikrositer anemiler. Editörler: İliçin G, Ünal S, Biberoğlu K, Akalın S, Süleymanlar G. *Temel İç Hastalıkları*. Ankara: Güneş Kitabevi, 2003: 1791-1795.
- [39]. Atamer T. Anemik hastaya yaklaşım. *Türkiye Klinikleri Hematoloji Dergisi* 2009; 2(2): 89-95.

- [40]. Kadir, R. A., Economides, D. L., Sabin, C. A., Owens, D., & Lee, C. A. (1998). Frequency of inherited bleeding disorders in women with menorrhagia. *The Lancet*, 351(9101), 485-489.
- [41]. Hershko, C., Ianculovich, M., & Souroujon, M. (2007). A hematologist's view of unexplained iron deficiency anemia in males: impact of *Helicobacter pylori* eradication. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 38(1), 45-53.
- [42]. Beers, M. H., Porter, R. S., Jones, T. V., Kaplan, J. L., & Berkwits, M. (2006). *The Merck Manual*, Merck & Co. Inc.: Whitehouse Station, NJ, USA.
- [43]. Akarsu, S., Ustundag, B., Gurgoze, M. K., Sen, Y., & Aygun, A. D. (2007). Plasma ghrelin levels in various stages of development of iron deficiency anemia. *Journal of pediatric hematology/oncology*, 29(6), 384-387.
- [44]. Zimmermann, M., Adou, P., Torresani, T., Zeder, C., & Hurrell, R. (2000). Iron supplementation in goitrous, iron-deficient children improves their response to oral iodized oil. *European journal of endocrinology*, 142(3), 217-223.
- [45]. Hegde, N., Rich, M. W., & Gayomali, C. (2006). The cardiomyopathy of iron deficiency. *Texas Heart Institute Journal*, 33(3), 340.
- [46]. Grantham-McGregor, S., & Ani, C. (2001). A review of studies on the effect of iron deficiency on cognitive development in children. *The Journal of nutrition*, 131(2), 649S-668S.
- [47]. Ülkü, B. (2001). Demir Eksikliği Anemisi: Klinik Hematolojinin ABC'si. *Anemiler Sempozyumu*, 23-32.
- [48]. Behrman, R. E., & Vaughan III, V. C. (1983). *Nelson textbook of pediatrics* (No. Ed. 12). WB Saunders company.
- [49]. Batkın D (2011). Gebe kadınlara verilen beslenme eğitiminin aneminin önlenmesine etkisi. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, Sivas.
- [50]. Türk Hematoloji Derneği. Çocuklarda demir eksikliği anemisi tanı ve tedavi kılavuzu 2011. <https://thd.org.tr/thdData/userfiles/file/Ertitrosit-Tani-ve-tedavi-Kilavuzu-2019.pdf> ( Erişim tarihi: 15 Mayıs 2020)
- [51]. Goddard, A. F., James, M. W., McIntyre, A. S., & Scott, B. B. (2011). Guidelines for the management of iron deficiency anaemia. *Gut*, 60(10), 1309-1316.
- [52]. Mast, A. E., Blinder, M. A., Gronowski, A. M., Chumley, C., & Scott, M. G. (1998). Clinical utility of the soluble transferrin receptor and comparison with serum ferritin in several populations. *Clinical chemistry*, 44(1), 45-51.
- [53]. Kemna, E. H., Tjalsma, H., Willems, J. L., & Swinkels, D. W. (2008). Hcpidin: from discovery to differential diagnosis.
- [54]. Ekşi, Z. (2006). Gebelikte anemilerde semptom değerlendirmesi ve hemoglobin renk skalasının (who haemoglobin colour scale) kullanımının etkinliği.
- [55]. Lanzkowsky, P., Lipton, J. M., & Fish, J. D. (Eds.). (2016). *Lanzkowsky's manual of pediatric hematology and oncology*. academic press.
- [56]. Beşışık SK, demir eksikliği, anemisi, Klinik Hematoloji Nobel Tıp Kitabevleri. 2003; 4:47-62.
- [57]. Diri H. Demir eksikliği anemili kadın hastalarda ferrik demir ve ferröz demir tedavilerinin karşılaştırılması. Uzmanlık tezi; İnönü üniversitesi tıp fakültesi; Malatya
- [58]. Beutler, E., Hoffbrand, A.V., & Cook, J. D. (2003). Iron deficiency and overload. *Hematology*, 2003 (1), 40-61.
- [59]. Killip, S., Bennett, J., & Chambers, M. D. (2007). Iron deficiency anemia. *American Family Physician*, 75(5), 1-10.

- [60]. Dietzfelbinger H. Çev Kip S. Demir eksikliği hastalıklarının tedavisi. *Deutsches Arztemagazin*; özel baskı. 1991; 39: 30-36.
- [61]. Ozon A, Yordam N. İyot eksikliğinin çocuk sağlığındaki önemi, *Katkı dergisi*, 2003;25 (3),347- 356.
- [62]. Beşışık SK. Demir eksikliği anemisi. *Türkiye Klinikleri Hematoloji Dergisi* 2004; 2(2): 96-102.
- [63]. Adamson JW. çev. Nevruz O, Güvenç B, Demir eksikliği ve diğer hipoproliferatif anemiler. In Brunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, editors. *Harrison iç hastalıkları prensipleri*, çev. ed. Sağlık Y. Cilt 1 15.B. İstanbul: Nobel Tıp Kitapevleri; 2004. s. 660- 666.
- [64]. Wang, C. Y., Meynard, D., & Lin, H. Y. (2014). The role of TMPRSS6/matriptase-2 in iron regulation and anemia. *Frontiers in pharmacology*, 5, 114.
- [65]. Cui, Y., Wu, Q., & Zhou, Y. (2009). Iron-refractory iron deficiency anemia: new molecular mechanisms. *Kidney international*, 76(11), 1137-1141.
- [66]. Finberg, K. E., Heeney, M. M., Campagna, D. R., Aydınok, Y., Pearson, H. A., Hartman, K. R., ... & Fleming, M. D. (2008). Mutations in TMPRSS6 cause iron-refractory iron deficiency anemia (IRIDA). *Nature genetics*, 40(5), 569-571.
- [67]. De Falco, L., Sanchez, M., Silvestri, L., Kannengiesser, C., Muckenthaler, M. U., Iolascon, A., ... & Beaumont, C. (2013). Iron refractory iron deficiency anemia. *haematologica*, 98(6), 845.
- [68]. Finberg, K. E. (2009, October). Iron-refractory iron deficiency anemia. In *Seminars in hematology* (Vol. 46, No. 4, pp. 378-386). WB Saunders.
- [69]. Zejnilovic, J., Akev, N., Yilmaz, H., & Isbir, T. (2009). Association between manganese superoxide dismutase polymorphism and risk of lung cancer. *Cancer genetics and cytogenetics*, 189(1), 1-4.
- [70]. Vincent, A. M., Russell, J. W., Low, P., & Feldman, E. L. (2004). Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. *Endocrine reviews*, 25(4), 612-628.
- [71]. Basaga, H. S. (1990). Biochemical aspects of free radicals. *Biochemistry and Cell Biology*, 68(7-8), 989-998.
- [72]. Grisham, M. B., & Granger, D. N. (1989). Metabolic sources of reactive oxygen metabolites during oxidant stress and ischemia with reperfusion. *Clinics in chest medicine*, 10(1), 71-81.
- [73]. Çavdar, C., & Sifil, A. (1997). Çamsar› T. Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma. *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*. *Office Journal of the Turkish Nephrology, Association* 1997; 3-4: 92, 95.
- [74]. Janssen, A. M., & Bosman, C. B. (2000). Van DW, Oostendorp-van de Ruit MM, Kubben FJ, Griffioen G, Lamers CB, van Krieken JH, van d V, Verspaget HW. Superoxide dismutases in gastric and esophageal cancer and the prognostic impact in gastric cancer. *Clin Cancer Res*, 6, 3183-3192.
- [75]. Atlan, N., Sepici Dinçel, A., & Koca, C. (2006). Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Türk Biyokimya Dergisi*, 31(2), 51-6.
- [76]. Serafini, M., & Del Rio, D. (2004). Understanding the association between dietary antioxidants, redox status and disease: is the total antioxidant capacity the right tool?. *Redox report*, 9(3), 145-152.
- [77]. Cho, H. Y., & Kleeberger, S. R. (2007). Genetic mechanisms of susceptibility to oxidative lung injury in mice. *Free Radical Biology and Medicine*, 42(4), 433-445.

- [78]. Mena, S., Ortega, A., & Estrela, J. M. (2009). Oxidative stress in environmental-induced carcinogenesis. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 674(1-2), 36-44.
- [79]. Menvielle-Bourg, F. J. (2005). Superoxide dismutase (SOD), a powerful antioxidant, is now available orally. *Phytothérapie*, 3(3), 118-121.
- [80]. Floyd, R. A. (1999). Antioxidants, oxidative stress, and degenerative neurological disorders. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 222(3), 236-245.
- [81]. Karabulut, H., & Gülay, M. Ş. (2016). Serbest radikaller. *Mehmet Akif Ersoy University Journal of Health Sciences Institute*, 4(1).
- [82]. Zelko, I. N., Mariani, T. J., & Folz, R. J. (2002). Superoxide dismutase multigene family: a comparison of the CuZn-SOD (SOD1), Mn-SOD (SOD2), and EC-SOD (SOD3) gene structures, evolution, and expression. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(3), 337-349.
- [83]. Takada, Y., Hachiya, M., Park, S. H., Osawa, Y., Ozawa, T., & Akashi, M. (2002). Role of Reactive Oxygen Species in Cells Overexpressing Manganese Superoxide Dismutase: Mechanism for Induction of Radioresistance 1. *Molecular cancer research*, 1(2), 137-146.
- [84]. McCord, J. M., & FRIDOVICH, I. (1978). The biology and pathology of oxygen radicals. *Annals of Internal Medicine*, 89(1), 122-127.
- [85]. Li, H., Kantoff, P. W., Giovannucci, E., Leitzmann, M. F., Gaziano, J. M., Stampfer, M. J., & Ma, J. (2005). Manganese superoxide dismutase polymorphism, prediagnostic antioxidant status, and risk of clinical significant prostate cancer. *Cancer research*, 65(6), 2498-2504.
- [86]. Kitada, M., Xu, J., Ogura, Y., Monno, I., & Koya, D. (2020). Manganese superoxide dismutase dysfunction and the pathogenesis of kidney disease. *Frontiers in Physiology*, 11, 755.
- [87]. Wispe, J. R., Clark, J. C., Burhans, M. S., Kropp, K. E., Korfhagen, T. R., & Whitsett, J. A. (1989). Synthesis and processing of the precursor for human mangano-superoxide dismutase. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 994(1), 30-36.
- [88]. Yuce, H., Hepsen, I. F., Tekedereli, I., Keskin, U., Elyas, H., & Akyol, O. (2007). Lack of association between pseudoexfoliation syndrome and manganese superoxide dismutase polymorphism. *Current eye research*, 32(4), 387-391.
- [89]. McIntyre, M., Bohr, D. F., & Dominiczak, A. F. (1999). Endothelial function in hypertension: the role of superoxide anion. *Hypertension*, 34(4), 539-545.
- [90]. Kinnula, V. L., & Crapo, J. D. (2003). Superoxide dismutases in the lung and human lung diseases. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 167(12), 1600-1619.
- [91]. Greenleaf, W. B., Perry, J. J. P., Hearn, A. S., Cabelli, D. E., Lepock, J. R., Stroupe, M. E., ... & Silverman, D. N. (2004). Role of hydrogen bonding in the active site of human manganese superoxide dismutase. *Biochemistry*, 43(22), 7038-7045.
- [92]. Horrobin, D. F., Glen, A. I. M., & Vaddadi, K. (1994). The membrane hypothesis of schizophrenia. *Schizophrenia research*, 13(3), 195-207.
- [93]. Rosenblum, J. S., Gilula, N. B., & Lerner, R. A. (1996). On signal sequence polymorphisms and diseases of distribution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(9), 4471-4473.
- [94]. Zhang, H. J., Yan, T., Oberley, T. D., & Oberley, L. W. (1999). Comparison of effects of two polymorphic variants of manganese superoxide dismutase on human breast MCF-7 cancer cell phenotype. *Cancer Research*, 59(24), 6276-6283.
- [95]. Hernandez-Saavedra, D., & McCord, J. M. (2003). Paradoxical effects of thiol reagents on Jurkat cells and a new thiol-sensitive mutant form of human mitochondrial superoxide dismutase. *Cancer research*, 63(1), 159-163.

- [96]. Ambrosone, C. B., Freudenheim, J. L., Thompson, P. A., Bowman, E., Vena, J. E., Marshall, J. R., ... & Shields, P. G. (1999). Manganese superoxide dismutase (MnSOD) genetic polymorphisms, dietary antioxidants, and risk of breast cancer. *Cancer research*, 59(3), 602-606.
- [97]. Shimoda-Matsubayashi, S., Matsumine, H., Kobayashi, T., Nakagawa-Hattori, Y., Shimizu, Y., & Mizuno, Y. (1996). Structural dimorphism in the mitochondrial targeting sequence in the human manganese superoxide dismutase gene: a predictive evidence for conformational change to influence mitochondrial transport and a study of allelic association in Parkinson's disease. *Biochemical and biophysical research communications*, 226(2), 561-565.
- [98]. Sutton, A., Khoury, H., Prip-Buus, C., Capanec, C., Pessayre, D., & Degoul, F. (2003). The Ala16Val genetic dimorphism modulates the import of human manganese superoxide dismutase into rat liver mitochondria. *Pharmacogenetics and Genomics*, 13(3), 145-157.
- [99]. Choi, J. Y., Neuhauser, M. L., Barnett, M., Hudson, M., Kristal, A. R., Thornquist, M., ... & Ambrosone, C. B. (2007). Polymorphisms in oxidative stress-related genes are not associated with prostate cancer risk in heavy smokers. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 16(6), 1115-1120.
- [100]. Sebastián, V. P., Salazar, G. A., Coronado-Arrázola, I., Schultz, B. M., Vallejos, O. P., Berkowitz, L., ... & Bueno, S. M. (2018). Heme oxygenase-1 as a modulator of intestinal inflammation development and progression. *Frontiers in immunology*, 9, 1956.
- [101]. Poss, K. D., & Tonegawa, S. (1997). Reduced stress defense in heme oxygenase 1-deficient cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(20), 10925-10930.
- [102]. Maines, M. D. (1997). The heme oxygenase system: a regulator of second messenger gases. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 37(1), 517-554.
- [103]. Türkseven S. "Tip 1 diyabet modelinde hem oksijenaz enzim sisteminin vasküler regülasyonu (tez)." İzmir: Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; 2007.
- [104]. Kumar, S., & Bandyopadhyay, U. (2005). Free heme toxicity and its detoxification systems in human. *Toxicology letters*, 157(3), 175-188.
- [105]. Mancuso, C., & Barone, E. (2009). The heme oxygenase/biliverdin reductase pathway in drug research and development. *Current drug metabolism*, 10(6), 579-594.
- [106]. Tenhunen, R., Marver, H. S., & Schmid, R. (1968). The enzymatic conversion of heme to bilirubin by microsomal heme oxygenase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 61(2), 748.
- [107]. Yoshida, T., Noguchi, M., & Kikuchi, G. (1980). Oxygenated form of heme. heme oxygenase complex and requirement for second electron to initiate heme degradation from the oxygenated complex. *Journal of Biological Chemistry*, 255(10), 4418-4420.
- [108]. Wagener, F. A., Volk, H. D., Willis, D., Abraham, N. G., Soares, M. P., Adema, G. J., & Figdor, C. G. (2003). Different faces of the heme-heme oxygenase system in inflammation. *Pharmacological reviews*, 55(3), 551-571.
- [109]. McCoubrey Jr, W. K., Ewing, J. F., & Maines, M. D. (1992). Human heme oxygenase-2: characterization and expression of a full-length cDNA and evidence suggesting that the two HO-2 transcripts may differ by choice of polyadenylation signal. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 295(1), 13-20.
- [110]. Kleschyov, A. L., Wendt, M., & Munzel, T. (2002). Heme Oxygenase-1-Mediated Protection: Potential Role of Nonheme Iron-Nitric Oxide Complexes. *Circulation*, 105(25), e196-e196.
- [111]. Müller, R. M., Taguchi, H., & Shibahara, S. (1987). Nucleotide sequence and organization of the rat heme oxygenase gene. *Journal of Biological Chemistry*, 262(14), 6795-6802.

- [112]. <https://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=HMOX1> ( Erişim tarihi:16 Haziran 2021)
- [113]. Yoshida, T., & Kikuchi, G. (1979). Purification and properties of heme oxygenase from rat liver microsomes. *Journal of Biological Chemistry*, 254(11), 4487-4491.
- [114]. Pimstone, N. R., Engel, P., Tenhunen, R., Seitz, P. T., Marver, H. S., & Schmid, R. (1971). Inducible heme oxygenase in the kidney: a model for the homeostatic control of hemoglobin catabolism. *The Journal of clinical investigation*, 50(10), 2042-2050.
- [115]. Lavrovsky, Y., Schwartzman, M. L., Levere, R. D., Kappas, A., & Abraham, N. G. (1994). Identification of binding sites for transcription factors NF-kappa B and AP-2 in the promoter region of the human heme oxygenase 1 gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 91(13), 5987-5991.
- [116]. Maines, M. D., Ewing, J. F., Huang, T. J., & Panahian, N. (2001). Nuclear localization of biliverdin reductase in the rat kidney: response to nephrotoxins that induce heme oxygenase-1. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 296(3), 1091-1097.
- [117]. Zhou, H., Ying, X., Liu, Y., Ye, S., Yan, J., & Li, Y. (2017). Genetic polymorphism of heme oxygenase 1 promoter in the occurrence and severity of chronic obstructive pulmonary disease: a meta-analysis. *Journal of cellular and molecular medicine*, 21(5), 894-903.
- [118]. Eisenstein, R. S. (2000). Iron regulatory proteins and the molecular control of mammalian iron metabolism. *Annual review of nutrition*, 20(1), 627-662.
- [119]. Aslan, M., Horoz, M., & Çelik, H. (2011). Evaluation of oxidative status in iron deficiency anemia through total antioxidant capacity measured using an automated method/Demir eksikliği anemisinde otomatik bir yöntem kullanılarak total antioksidan kapasite ile oksidatif durumun değerlendirilmesi. *Turkish Journal of Haematology*, 28(1), 42.
- [120]. Silig, Y., Tas, A., & Pınarbasi, H. (2015). Manganese-superoxide dismutase (MnSOD) polymorphisms/Manganez-süperoksit dismutaz (MnSOD) polimorfizmi. *Turkish Journal of Biochemistry*, 40(2), 163-168.
- [121]. Al-Jamea, L. H., Woodman, A., Heiba, N. M., Elshazly, S. A., Khalaf, N. B., Fathallah, D. M., ... & Deifalla, A. H. (2021). Genetic analysis of TMPRSS6 gene in Saudi female patients with iron deficiency anemia. *Hematology/Oncology and Stem Cell Therapy*, 14(1), 41-50.
- [122]. Sri, W., Siti, W., Arta, F., & Ahmad, H. S. (2015). The-1355G/C Polymorphism of Ferroportin (FPN1) Gene Among Adolescent Girls With Iron Deficiency Anemia. *AICSTS 2015*, 96-104
- [123]. García-Martín, E., Jiménez-Jiménez, F. J., Alonso-Navarro, H., Martínez, C., Zurdo, M., Turpín-Fenoll, L., ... & Agúndez, J. A. (2015). Heme oxygenase-1 and 2 common genetic variants and risk for restless legs syndrome. *Medicine*, 94(34).
- [124]. Gil, G. P., Ananina, G., Oliveira, M. B., Costa, F. F., Silva, M. J., Santos, M. N., ... & Melo, M. B. (2013). Polymorphism in the HMOX1 gene is associated with high levels of fetal hemoglobin in Brazilian patients with sickle cell anemia. *Hemoglobin*, 37(4), 315-324.
- [125]. Hariharan, P., Chavan, V., & Nadkarni, A. (2020). Significance of heme oxygenase-1 (HMOX1) gene on fetal hemoglobin induction in sickle cell anemia patients. *Scientific Reports*, 10(1), 1-8.
- [126]. Sogut, S., Yonden, Z., Kaya, H., Oktar, S., Tutanc, M., Yilmaz, H. R., ... & Gali, E. (2011). Ala-9Val polymorphism of Mn-SOD gene in sickle cell anemia.

## ÖZ GEÇMİŞ

**Adı ve Soyadı** :

**Doğum Tarihi** :

**E-mail**

### Öğrenim Durumu

| Derece        | Bölüm/Program | Üniversite | Yıl |
|---------------|---------------|------------|-----|
| Lisans        |               |            |     |
| Yüksek Lisans |               |            |     |

**Görevler** :

| Görev Ünvanı       | Görev Yeri | Yıl |
|--------------------|------------|-----|
| Biyoloji Öğretmeni |            |     |